

**Herstellung von  $^{18}\text{F}$ -markierten Aminosäuren als  
potenzielle PET-Tracer zur Diagnostik neurologischer und  
onkologischer Erkrankungen**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Niklas Kolks

aus Bocholt

Berichterstatter (Gutachter): Prof. Dr. Bernd Neumaier  
Prof. Dr. Hans-Günther Schmalz  
Tag der mündlichen Prüfung: 25.04.2023

## Kurzzusammenfassung

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist ein wichtiges nuklearmedizinisches Verfahren für die präklinische und klinische Bildgebung, bei dem mit Positronen-Emittern markierte Verbindungen (sogenannte PET-Tracer) zur Visualisierung biochemischer Prozesse auf molekularer Ebene eingesetzt werden. Entscheidend für die effektive Anwendung von PET-Tracern ist neben geeigneten pharmakokinetischen Eigenschaften in den meisten Fällen eine hohe Bindungsaffinität und Selektivität für die jeweiligen Targets, bei denen es sich um Transporter, Rezeptoren oder Enzyme handeln kann. Zur Erweiterung des diagnostischen Spektrums der PET-Bildgebung besteht daher ein unverändert hoher Bedarf an neuartigen PET-Tracern, wobei radiofluorierte Verbindungen aufgrund der guten Zugänglichkeit und günstigen Zerfallseigenschaften des Radionuklids Fluors-18 von besonderem Interesse sind. So stellen etwa radiofluorierte aromatische Aminosäuren (AAS) vielversprechende potenzielle PET-Tracer dar, von denen sich einige, wie zum Beispiel 6- $[^{18}\text{F}]$ Fluordopamin und  $[^{18}\text{F}]$ Fluorethyltyrosin, bereits in der klinischen Anwendung befinden. Entsprechend ist die Herstellung von radiofluorierten aromatischen Aminosäuren von hoher klinischer Relevanz. Aus radiochemischer Sicht stellt allerdings die Markierung mit  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid eine nicht-triviale Herausforderung dar, für die entsprechende Konzepte erarbeitet werden müssen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Herstellung einer Gruppe von neuen radiofluorierten aromatischen Aminosäuren, welche sich von Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan oder Phenylserin ableiten.

Die ausgewählten  $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanine und  $[^{18}\text{F}]$ Fluortyrosine sollten zur Bildgebung des Aminosäure-Transporters LAT1 dienen, welcher in vielen Tumoren überexprimiert wird. Die entsprechenden  $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanine,  $\alpha$ -Methyl- $[^{18}\text{F}]$ fluorphenylalanine und  $[^{18}\text{F}]$ Fluortyrosine wurden mittels Alkohol-verstärkter Cu-vermittelter Radiofluorierung produziert. Eine der Verbindungen (3- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin) wurde darüber hinaus einer ersten *in vivo*-Untersuchung in gesunden Ratten sowie in tumortragenden Mäusen und Ratten unterzogen.

Außerdem sollte eine Reihe potenzieller Tryptophan-basierter Tracer zur Darstellung und Abgrenzung der zwei alternativen Pfade des Tryptophan-Metabolismus (Serotonin-Synthese und Kynurenin-Stoffwechselweg) entwickelt werden, welche bei verschiedenen onkologischen und neurologischen Erkrankungen zum Teil gegensätzliche Veränderungen aufweisen. In diesem Rahmen wurden 5-Hydroxy-7-

[<sup>18</sup>F]fluortryptophan und *M<sub>n</sub>*-Methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan als potenziell selektive Sonden für die Serotonin-Synthese bzw. den Kynurenin-Stoffwechselweg synthetisiert. Zusätzlich wurden die Difluortryptophan-Derivate 5,7-[5-<sup>18</sup>F]-, 5,7-[7-<sup>18</sup>F]- und 5,6-[6-<sup>18</sup>F]Difluortryptophan hergestellt und in Zellversuchen mittels Radiometabolitenanalyse hinsichtlich ihrer Eignung zur Darstellung verschiedener Aspekte des Tryptophan-Metabolismus untersucht.

Zuletzt sollten <sup>18</sup>F-markierte Fluorphenylserin-basierte Verbindungen für die Visualisierung des adrenergen Systems entwickelt werden, dessen Funktion bei bestimmten Krebserkrankungen und verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen, wie der Parkinson- und Alzheimer-Krankheit, Veränderungen aufweist. In diesem Rahmen wurden mit 3-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylserin und 5-Hydroxy-3-[<sup>18</sup>F]fluorphenylserin zwei potentielle PET-Tracer dargestellt und in ersten präklinischen Untersuchungen hinsichtlich ihrer Eignung zur Bildgebung der Noradrenalin-Synthese und des -Metabolismus verwendet.

Zusammenfassend konnte im Rahmen der Arbeit eine Reihe neuer radiofluorierten aromatischer Aminosäuren als potenzielle PET-Tracer für die Darstellung verschiedener Stoffwechselwege entwickelt und zum Teil in ersten präklinischen Untersuchungen eingesetzt werden. Obwohl die bisherigen präklinischen Studien noch in einem frühen Stadium und daher weitere Studien zur tatsächlichen Eignung der Tracer-Kandidaten für die PET-Bildgebung erforderlich sind, stellen die entwickelten Verfahren zu ihrer Herstellung einen wichtigen Baustein zur Verbesserung der Zugänglichkeit von radiofluorierten Aminosäuren und damit eine Grundlage für die weitere Anwendung dieser Tracer dar.

## Abstract

Positron-Emission-Tomography (PET) is an important method for preclinical and clinical imaging in nuclear medicine, in which molecules labeled with positron-emitters (so called PET-Tracers) are used to visualize biochemical processes at the molecular level. Aside from their suitable pharmacokinetic properties, in most cases a critical point for the effective application of PET-tracers is a high affinity and selectivity for their respective targets, such as transporters, receptors or enzymes. Thus, to increase the diagnostic scope of PET-imaging, there is a high demand for novel PET-tracers, for which radiofluorinated structures, due to the advantageous decay-properties and half-life of Fluorine-18, are of special interest. As such, radiofluorinated aromatic amino acids represent promising potential PET-tracers, some of which, like 6-[<sup>18</sup>F]Fluorodopamine and [<sup>18</sup>F]Fluoroethyltyrosine, are already being applied clinically. Consequently, the accessibility of radiofluorinated aromatic amino acids is a topic of high clinical relevance, not least because of the non-trivial challenge of labeling structures with [<sup>18</sup>F]fluorine.

The aim of the present work was the production of a group of novel radiofluorinated aromatic amino acids derived from phenylalanine, tyrosine, tryptophane and phenylserine.

The [<sup>18</sup>F]fluorophenylalanines and [<sup>18</sup>F]fluorotyrosines were selected for the potential visualization of the LAT1 amino acid transporter, which is frequently overexpressed in tumors. For this purpose, several [<sup>18</sup>F]fluorophenylalanines,  $\alpha$ -methyl-[<sup>18</sup>F]fluorophenylalanines und [<sup>18</sup>F]fluorotyrosines were successfully prepared via alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination. Furthermore, one of these structures (3-[<sup>18</sup>F]fluorophenylalanine) was used for preliminary *in vivo*-examinations in healthy rats, as well as tumor mouse- and rat-models.

Additionally, multiple potential tryptophan-based tracers for the imaging and delineation of the two pathways of the tryptophan metabolism (serotonin synthesis and kynurenine metabolism), which are differentially altered in various neurological and oncological pathologies, were developed. As part of this project, 5-hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluorotryptophan and *N*<sub>m</sub>-methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluorotryptophan were synthesized as potentially selective probes for the serotonin biosynthesis and kynurenine metabolism, respectively. In addition, the difluorotryptophan-derivatives 5,7-[5-<sup>18</sup>F]-, 5,7-[7-<sup>18</sup>F]- and 5,6-[6-<sup>18</sup>F]difluorotryptophan were produced and investigated in cell-experiments with

radiometabolite analysis in respect to their suitability for the visualization of different parts of the tryptophan metabolism.

Finally,  $^{18}\text{F}$ -labeled fluorophenylserine-based compounds for the visualization of the adrenergic system, whose function shows deviations in certain cancers and neurodegenerative processes like Parkinson's and Alzheimer's disease, were developed. The two potential PET-tracers 3- $^{18}\text{F}$ fluorophenylserine und 5-hydroxy-3- $^{18}\text{F}$ fluorophenylserine were prepared for this purpose and supplied for a first preclinical evaluation of their suitability as tracers for imaging of the noradrenalin-synthesis and -metabolism.

In conclusion, a group of radiofluorinated aromatic amino acids as novel PET-tracers for the visualization of different metabolic pathways have been developed and evaluated in initial preclinical studies in the framework of this work. While further studies will be needed to determine their suitability for their use in PET-imaging, the developed procedures for their syntheses represent an important step towards simplified accessibility of radiofluorinated amino acids and thus a foundation for further research in this field.

## Danksagung

Hier möchte ich allen danken, die Beiträge zum Gelingen dieser Arbeit geleistet haben. An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Bernd Neumaier für die Bereitstellung interessanter Fragestellungen und Themen danken, sowie für den Zugang zu gut ausgestatteten Arbeitsplätzen und die Ermöglichung der Teilnahme an nationalen und internationalen Konferenzen.

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. Hans-Günther Schmalz für die Übernahme des Zweitgutachtens und die Unterstützung durch Denkanstöße bei komplizierten Problemen und Frau Prof. Dr. Ines Neundorf für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Großer Dank gebührt auch PD Dr. Boris Zlatopolskiy, ohne dessen unerschöpfliche wissenschaftliche Diskussionen und Anregungen diese Arbeit nicht in dieser Form zu Stande gekommen wäre. Die Bereitstellung vieler Substanzen durch ihn und Elizaveta Urusova war außerdem eine große Hilfe.

Ich möchte den Mitarbeitern Rund um Analytik und Zyklotron des INM-5 für ihre Arbeit und Hilfe bei der Bestimmung von analytischen Daten und für die Bereitstellung von  $^{18}\text{F}$ -Fluorid für die Radiosynthesen danken.

Felix Neumaier danke ich für seine Hilfe bei der Verfassung und Korrektur von Texten. Für die Durchführung der biologischen Evaluation der Tracer danke ich Prof. Dr. Heike Endepols und Lukas Vieth für die Durchführung der *in vivo*-Untersuchungen, sowie Melanie Brugger für die Unterstützung mit Zellversuchen.

Meinen Mitdoktoranden und -doktorandinnen danke ich herzlich für die gute Zusammenarbeit, Unterstützung bei theoretischen und praktischen Unterfangen und das gute Klima am Arbeitsplatz und darüber hinaus.

Zuletzt danke ich meiner Familie, die mich in allen Lebenslagen unterstützt hat. Gerade meiner Mutter, die die Beendigung meines Studiums nicht mehr miterleben konnte, gebührt der größte Dank von allen.

# Inhaltsverzeichnis

|        |  |     |
|--------|--|-----|
| 1.     | Einleitung.....  | 3   |
| 1.1.   | Positronen-Emissions-Tomographie (PET) .....   | 3   |
| 1.2.   | Bildgebung von biologischen Prozessen mit PET-Tracern.....   | 6   |
| 1.3.   | Biologische Bedeutung von Aminosäuren.....   | 8   |
| 1.3.1. | L-Typ Aminosäuretransporter 1 (LAT1) .....   | 8   |
| 1.3.2. | Phenylalanin-Metabolismus.....   | 9   |
| 1.3.3. | Tryptophan-Metabolismus.....   | 10  |
| 1.3.4. | Noradrenalin- und Phenylserin-Metabolismus .....   | 13  |
| 1.4.   | PET-Nuklide .....  | 14  |
| 1.5.   | Radiomarkierung mit <sup>18</sup> F .....  | 16  |
| 1.5.1. | Elektrophile Radiofluorierung .....  | 17  |
| 1.5.2. | Nukleophile Radiofluorierung .....   | 18  |
| 1.5.3. | Heteroatomare Radiofluorierung.....  | 21  |
| 1.5.4. | Metall-vermittelte aromatische Radiofluorierung .....  | 23  |
| 1.6.   | Radiofluorierung von aromatischen Aminosäuren .....  | 33  |
| 1.6.1. | Radiosynthese von Phenylalanin-Derivaten.....  | 33  |
| 1.6.2. | Radiosynthese von Tryptophan-Derivaten.....  | 36  |
| 1.6.3. | Radiosynthese von Phenylserin- und Noradrenalin-Derivaten und -Prodrugs .....  | 42  |
| 2.     | Zielsetzung.....   | 45  |
| 3.     | Ergebnisse.....  | 49  |
| 3.1.   | Abdrucke von Publikationen und Manuskripten.....   | 49  |
| 3.1.1. | [ <sup>18</sup> F]Fluor- und α-Methyl-[ <sup>18</sup> F]fluorphenylalanine und [ <sup>18</sup> F]Fluortyrosine ([ <sup>18</sup> F]1-8) ..... | 49  |
| 3.1.2. | <i>N</i> <sub>in</sub> -Methyl-6- und 5-Hydroxy-7-[ <sup>18</sup> F]Fluortryptophan ([ <sup>18</sup> F]9 und [ <sup>18</sup> F]10) .....     | 56  |
| 3.2.   | Weitere Ergebnisse .....   | 71  |
| 3.2.1. | 5,7-[5- <sup>18</sup> F]- und 5,7-[7- <sup>18</sup> F]Difluortryptophan ([5- <sup>18</sup> F]11 und [7- <sup>18</sup> F]11) .....            | 71  |
| 3.2.2. | 5,6-[6- <sup>18</sup> F]Difluortryptophan ([6- <sup>18</sup> F]12).....  | 79  |
| 3.2.3. | 3-[ <sup>18</sup> F]Fluor- und 3-[ <sup>18</sup> F]Fluor-5-hydroxyphenylserin ([ <sup>18</sup> F]13 und [ <sup>18</sup> F]14) .....          | 83  |
| 4.     | Zusammenfassung.....   | 86  |
| 5.     | Experimentalteil .....   | 89  |
| 5.1.   | Allgemeines .....  | 89  |
| 5.2.   | Organische Synthesen .....   | 95  |
| 5.3.   | Radiofluorierungen.....  | 118 |
| 6.     | Analytische Daten.....   | 122 |
| 6.1.   | NMRs .....   | 122 |
| 6.2.   | HPLC-Daten.....  | 168 |



|      |   |     |
|------|---|-----|
| 6.3. | Radioaktive Dünnschichtchromatographie..... | 183 |
| 7.   | Literaturverzeichnis.....                   | 185 |
| 8.   | Anhang.....                                 | 190 |

## 1. Einleitung

Die Verwendung von Radioaktivität für die Beobachtung von biologischen Prozessen ist auf die Arbeit von *George Hevesy* zurückzuführen, bei der er die Verteilung von radioaktivem  $^{210}\text{Pb}$  in Pflanzen untersuchte.<sup>[1]</sup> Diese Forschung war das erste Beispiel für die Anwendung des Tracerprinzips. Das Tracerprinzip beschreibt die Verwendung von Radionukliden oder radioaktiv markierten Substanzen, sogenannten „Tracern“, zur Verfolgung biologischer Prozesse. Die Bezeichnung „Tracer“ hat hierbei zweierlei Bedeutung. Einerseits beschreibt es die Verfolgung (vom engl. Verb: „trace“) von biologischen Prozessen im Körper mit markierten Strukturen. Andererseits spielt es auf die Verwendung von nur geringen Mengen der Tracer für die funktionelle Bildgebung an, da diese im Körper nur in Spuren (vom engl. Nomen: „trace“) vorliegen. *Hevesy* wurde für seine bahnbrechenden Arbeiten mit  $^{210}\text{Pb}$  mit dem Nobelpreis ausgezeichnet. Anzumerken ist in diesem Zusammenhang, dass Tracer nicht unbedingt radioaktiv markiert sein müssen. Allerdings sind Radiotracer aber wegen ihrer guten Detektierbarkeit besonders gut für verschiedene Anwendungen geeignet. Solche radioaktiven Tracer werden in bildgebenden Verfahren wie der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und Einzelphoton-Emissionscomputertomographie (SPECT) verwendet. Dadurch ist es möglich, biologische Prozesse nicht-invasiv *in vivo* auf molekularer Ebene zu verfolgen. Dies steht im Gegensatz zu den anderen bildgebenden Verfahren wie z.B. dem Röntgen (X-Ray) oder der Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT), welche sich primär zur Darstellung Struktur und Morphologie eignen.

Die Nutzung von radioaktiven Sonden für die PET wurde stetig weiterentwickelt und wird daher in den Lebenswissenschaften auf vielfältige Weise eingesetzt.

### 1.1. Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

In der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) kommen Positronen-emittierende Nuklide, die an bioaktive Moleküle, die eine pharmakophore Gruppe enthalten, gebunden sind. Dieses Pharmakophor dient zur Adressierung eines spezifischen biologischen Ziels durch spezifische Wechselwirkung mit dem Target, was zur Bindung des Pharmakophors (Vehikels) an das Zielgewebe führt (Abb. 1). Der Ort dieser Anreicherung kann dann aufgrund der Strahlenemission des Radionuklids sensitiv detektiert werden.

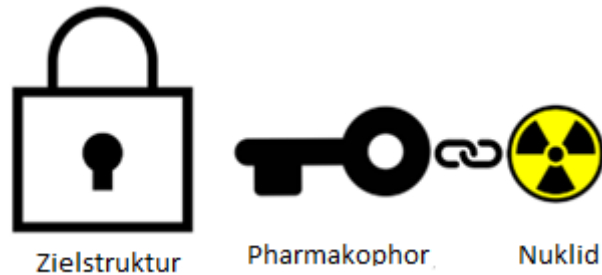
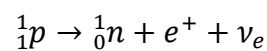


Abbildung 1: Schematische Darstellung von radioaktiv-basierten Sonden und Zielstrukturen.

In der PET erfolgt die Detektion mit Hilfe des  $\beta^+$ -Zerfalls, der durch Protonenumwandlung in protonenreichen Kernen auftritt. Unter Emission eines Positrons und Elektron-Neutrinos zerfällt ein Proton in ein Neutron (Formel 1).



Formel 1: Zerfallsgleichung eines Protons durch  $\beta$ -Zerfall.

Das zusätzliche Neutrino tritt aufgrund der Impulserhaltung auf. Da seine Wechselwirkung mit Materie äußerst gering ist, kann es für die weiteren Prozesse vernachlässigt werden. Die kinetische Energie des Positrons variiert und ist abhängig vom jeweiligen Mutternuklid. Die maximale Positronenenergie ist charakteristisch für jeden individuellen Positronenemitter (s. Kapitel 1.4.). Das Positron wird nach Emission im umliegenden Gewebe vorwiegend durch inelastische Stöße thermalisiert, wobei es eine Entfernung von wenigen Millimetern zurücklegen kann. Die Reichweite ist hierbei abhängig von seiner maximalen kinetischen Energie und der Dichte des Mediums. Zuletzt annihiliert das Positron mit einem Elektron der umliegenden Materie. Ca. 60% der Positronen annihilieren dabei direkt mit einem Elektron, ca. 10% bilden ein *para*-Positronium, welches sich selbst auslöscht (nach ca. 0,12 ns) und ca. 30% bilden ein *ortho*-Positronium mit einem Elektron. (Lebenszeit: ca. 140 ns).<sup>[2]</sup> In ca. 0,5% der Fälle annihiliert ein *ortho*-Positronium mit sich selbst bevor es auf ein umliegendes Elektron treffen kann, wobei drei Photonen emittiert werden. Dieser Prozess ist wegen seiner Seltenheit aber in den meisten Fällen vernachlässigbar.<sup>[2]</sup>

Bei der statistisch überwiegenden Annihilation entstehen zwei  $\gamma$ -Quanten mit einer quantisierten Energie von jeweils 511 keV, der Energieäquivalenz ( $E = mc^2$ ) der Ruhemasse von Elektron und Positron. Diese werden antiparallel zueinander in einem Winkel von annähernd  $180^\circ$  emittiert. Abweichungen von diesem Winkel entstehen durch die Erhaltung der kinetischen Energie des Positrons vor der Annihilierung.

Bei PET werden diese Photonenpaare durch ringförmig angeordnete Detektoren im PET-Scanner detektiert (Abb. 2). Um die Detektion von zufällig eintreffenden einzelnen

$\gamma$ -Quanten, die nicht auf einen  $\beta^+$ -Zerfall zurückzuführen sind, zu minimieren sind räumlich gegenüberliegende Detektoren im Ring in Koinzidenz geschaltet. So werden nur Annihilationen registriert, deren Photonen innerhalb eines bestimmten Zeitfensters auf gegenüberliegende Detektoren treffen. Die Linie zwischen den Detektoren, die diese beiden  $\gamma$ -Quanten registrieren, wird als „Line of Response“ bezeichnet und dient zur räumlichen Extrapolation der Zerfallsereignisse, nachdem ausreichend viele Daten während der Messung gesammelt wurden (mehrere Millionen bis Milliarden Zerfallsereignisse). Daraus resultierende PET-Bilder werden durch iterative Rekonstruktion mit geeigneter Software erhalten.

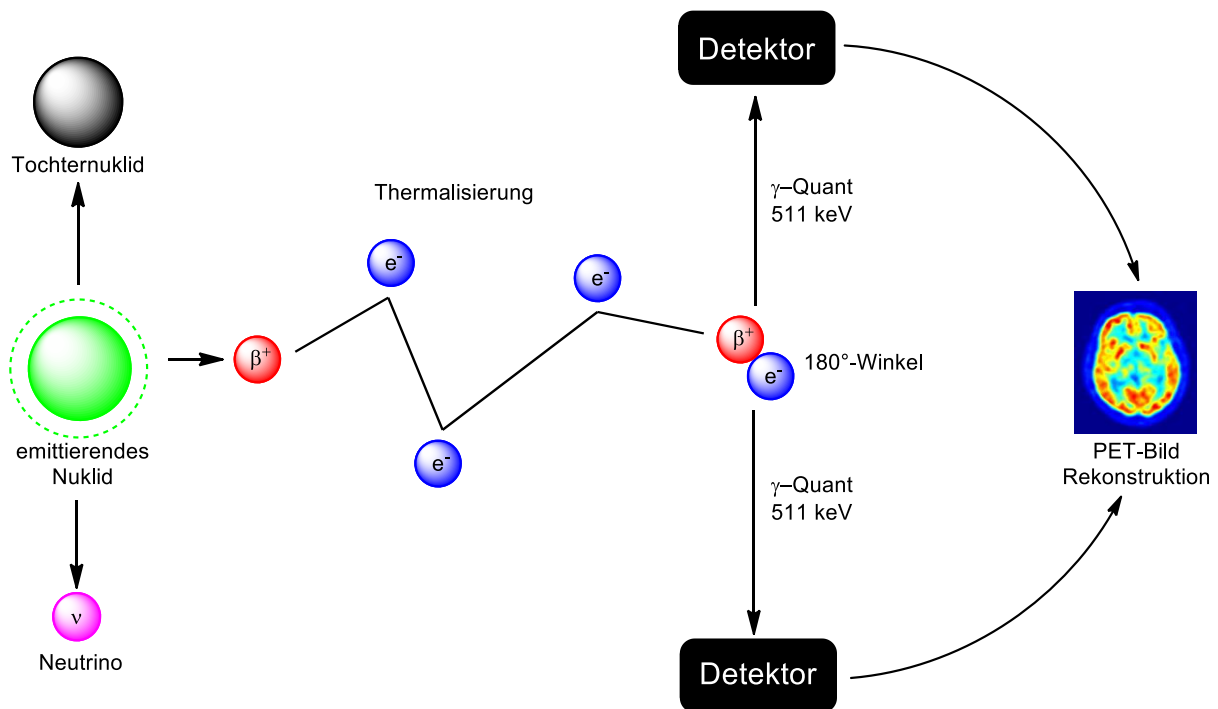


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines  $\beta^+$ -Zerfalls und der PET.

## 1.2. Bildgebung von biologischen Prozessen mit PET-Tracern

Biologische Prozesse, die mittels PET visualisiert werden können, sind z.B. der Glukose-Metabolismus, der durch [ $^{18}\text{F}$ ]Fluordesoxyglucose ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG) verfolgt werden kann. Dieser ist besonders wichtig für die Diagnostik von Tumoren. Diese weisen entsprechend der „Warburg-Hypothese“ einen veränderten Glukose-Stoffwechsel auf, bei dem Krebszellen primär ihre Energie durch Glykolyse und Ausscheidung von Laktat gewinnen, anstatt entstehendes Pyruvat in Mitochondrien zu verbrennen (Abb. 3).<sup>[3]</sup>

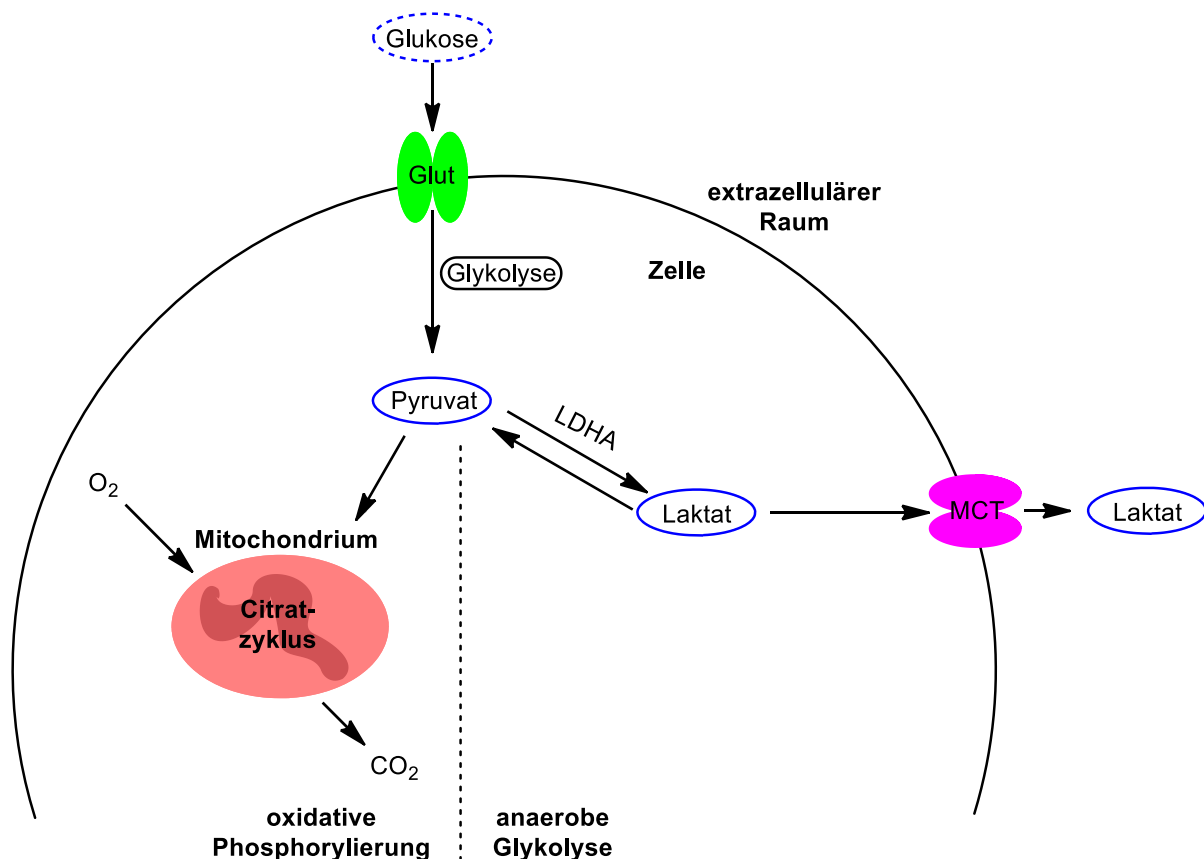


Abbildung 3: Schematische Glukosemetabolisierung in Zellen.

Der dadurch erhöhte Bedarf an Glukose von Tumorzellen kann diagnostisch genutzt werden, um sie mit FDG-PET zu lokalisieren. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG wird nach seiner Aufnahme und Phosphorylierung in der Zelle metabolisch „getrappt“, da das [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-6-phosphat nicht weiter metabolisiert werden kann (Abb. 4).

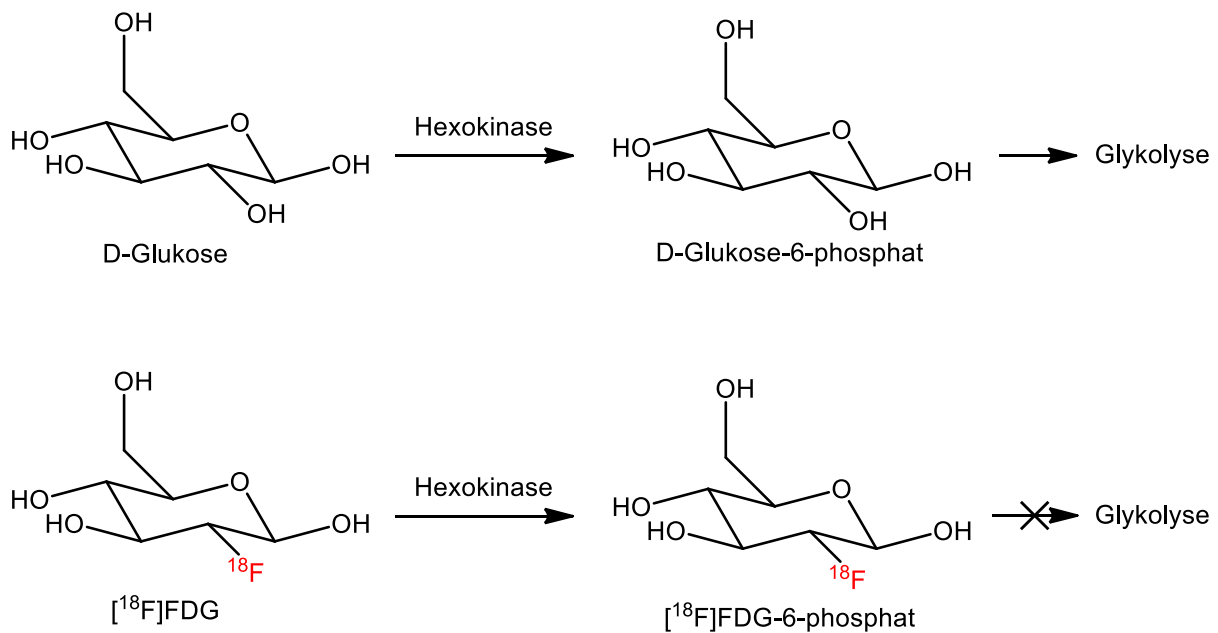


Abbildung 4: Initiale Metabolisierung von D-Glukose und [<sup>18</sup>F]FDG.

Die dadurch resultierende Anreicherung von radiomarkiertem [<sup>18</sup>F]FDG-6-phosphat kann durch die molekulare Bildgebung visualisiert werden.

Weitere gängige Radiotracer für funktionelle molekulare Bildgebung mit PET sind beispielsweise [<sup>18</sup>F]Fluorcholin, [<sup>18</sup>F]FDOPA, [<sup>18</sup>F]FES (16α-[<sup>18</sup>F]Fluorestradiol), [<sup>68</sup>Ga]DOTATOC ([<sup>68</sup>Ga]Edotretotid) und [<sup>18</sup>F]FAZA ([<sup>18</sup>F]Fluorazomycinarabinosid) (Abb. 5).<sup>[4]</sup>

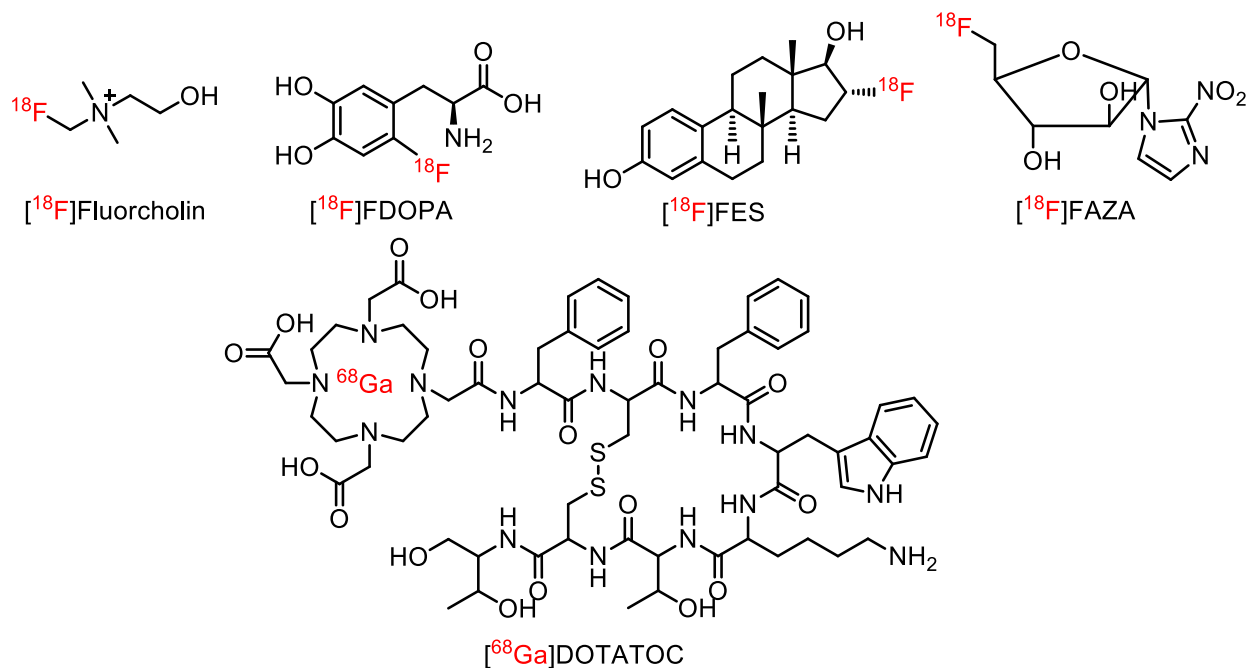


Abbildung 5: Beispiele für weitere PET-Tracer.<sup>[4]</sup>

### **1.3. Biologische Bedeutung von Aminosäuren**

Als molekulare Targets für die PET-Bildgebung werden z.B. Enzyme, Transporter oder Rezeptoren genutzt für die spezifische Radiotracer entwickelt werden müssen. Im Rahmen dieser Arbeit lag der Fokus vor allem auf aromatischen Aminosäuren.

Aromatische Aminosäuren sind Bausteine für viele verschiedene biologische Prozesse, wie die Protein- und Neurotransmitterbiosynthese. Aus diesem Grund stellen sie vielversprechende PET-Tracer-Kandidaten dar, da sie es ermöglichen, diese Prozesse mittels PET zu erfassen. Wichtig für die Nutzung von Aminosäuren als PET-Tracer ist die enantioselektive Synthese dieser Tracer, da im menschlichen Körper ausschließlich Enzyme vorkommen, die L-Aminosäuren umsetzen. Die Verwendung von Aminosäuren als Tracer setzt deshalb die Bereitstellung von enantiomerenreinen Tracern voraus. Die enantioselektive Synthese von Aminosäuren ist allerdings oft herausfordernd, da mehrere Syntheseschritte notwendig sind. Darüber hinaus werden hohe Ansprüche an die Entwicklung neuer radiosynthetischer Methoden aufgrund der Notwendigkeit, Schutzgruppen einzuführen, die später wieder entfernt werden müssen, gestellt.

Wichtig zur Nutzung von aromatischen Aminosäuren zu diesem Zweck ist das Verständnis ihrer metabolischen Pfade zur effektiven Auswahl und Verwendung der entsprechenden Substrate.

#### **1.3.1. L-Typ Aminosäuretransporter 1 (LAT1)**

LAT1 ist ein heterodimerisches Protein, das für den pH- und Natrium-unabhängigen Transport von großen, neutralen und aromatischen Aminosäuren verantwortlich ist.<sup>[5]</sup> Es ist kovalent an das Protein 4f2hc in der Plasma-Membran gebunden und wird dadurch in der Membran lokalisiert und stabilisiert. LAT1 ist besonders stark an der Blut-Hirn-Schranke (BHS) exprimiert und reguliert den Transport von Hormonen und anderen biologisch aktiven Molekülen über die BHS. LAT1 wird in malignen Tumorzellen wegen ihres erhöhten Bedarfs an essenziellen Aminosäuren überexprimiert. Deshalb wird LAT1 als Target sowohl für die Behandlung als auch die Bildgebung von Krebserkrankungen genutzt.<sup>[6]</sup> Die in dieser Arbeit betrachteten Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan und deren Derivate werden ausschließlich über den LAT1 transportiert.

### 1.3.2. Phenylalanin-Metabolismus

Phenylalanin ist eine essenzielle proteinogene aromatische Aminosäure, kann also nicht vom Körper synthetisiert werden. Über Aminotransferase steht Phenylalanin in einem Gleichgewicht mit Phenylpyruvat. Von Phenylalanin-Hydroxylase wird es zu Tyrosin metabolisiert. Tyrosin ist ein wichtiger Ausgangsstoff für Katecholamine wie Adrenalin und Noradrenalin (Kapitel 1.3.4.). Tyrosin wird auch durch Tyrosinaminotransferase zu p-Hydroxyphenylpyruvat metabolisiert. Weitere Metaboliten dieses Stoffwechsels sind Homogentisat, Maleylacetessigsäure und Fumarat (Abb. 6).

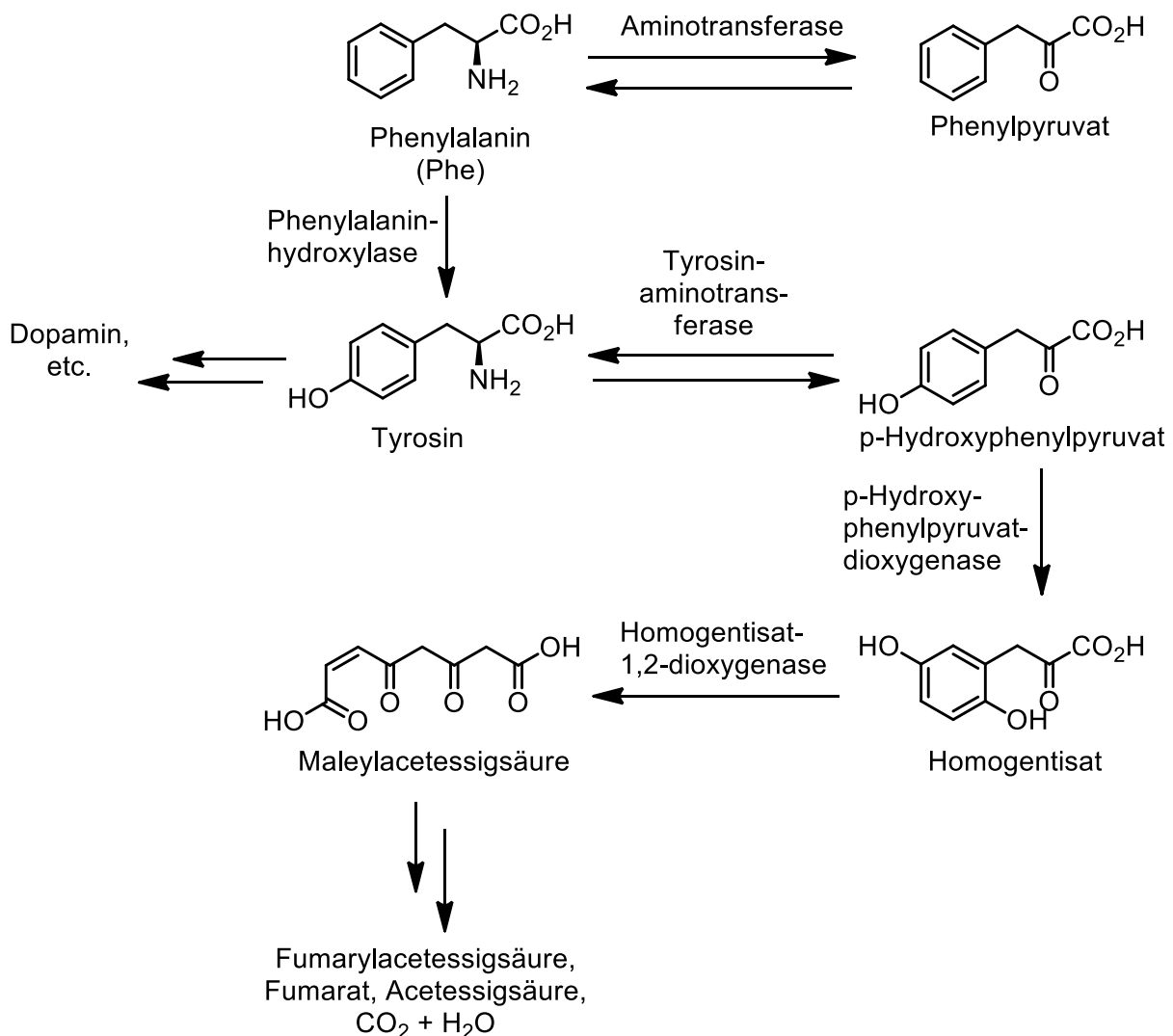


Abbildung 6: Metabolismus des Phenylalanin.

Wegen der Überexpression von LAT1 in malignen Tumorzellen kann die Phenylalanin-PET potenziell zur Orts- und Größenbestimmung von Tumoren verwendet werden. Die Aufnahme von diesen Aminosäuren in das Tumorgewebe sollte im Vergleich zu gesundem Gewebe deutlich erhöht sein.<sup>[7]</sup> Dabei ist die Tatsache, dass Aminosäuren



hirngängig sind, vor allem für die Diagnose von cerebralen Tumoren ein wichtiges Kriterium. Zur Passage durch die Blut-Hirn-Schranke muss die Aminosäure intakt sein. Durch die Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase kann dann die Carbonsäure-Gruppe abgespalten werden, wodurch neurologisch aktive Metaboliten entstehen. Im Fall von Phenylalanin entsteht so z.B. Dopamin, dessen weitere Metabolisierung im Gehirn visualisiert werden kann.

### 1.3.3. Tryptophan-Metabolismus

Tryptophan ist ebenfalls eine essenzielle aromatische Aminosäure (Abb. 7). Es ist die Aminosäure mit dem geringsten Vorkommen in Proteinen (ca. 1.3%) und ist vorrangig ein Vorläufer für verschiedene biologisch und neurologisch aktive Moleküle.

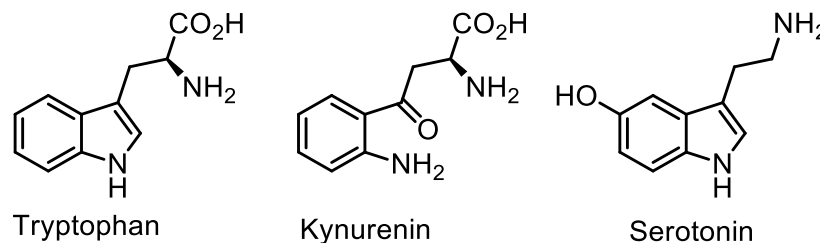


Abbildung 7: Tryptophan, Kynurenin und Serotonin.

Der Tryptophan Metabolismus besteht aus 2 primären Pfaden, dem Kynurenin- und Serotonin-Pfad.<sup>[8]</sup> Über 95% des Tryptophans werden außerhalb der Protein Biosynthese über den Kynurenin-Pfad (KYN) metabolisiert (Abb. 8). Im ersten geschwindigkeitsbegrenzenden Schritt dieses Weges wird der Indolring des Tryptophans durch Tryptophan-2,3-dioxygenase (TDO) oder Indolamin-2,3-dioxygenase (IDO) oxidativ geöffnet, wodurch *N*-Formylkynurenin entsteht.<sup>[9]</sup> Das daraus synthetisierte L-Kynurenin kann über drei verschiedene Zweige weiter metabolisiert werden. Durch Kynureninaminotransferase entsteht Kynureninsäure (KYNA), ein Agonist für NMDA- und  $\alpha$ 7nACh-Rezeptoren.<sup>[10]</sup> Die Metabolisierung durch Kynurenin-3-monooxygenase (KMO) ist der Hauptpfad des KYN-Metabolismus wegen der hohen Affinität von KYN zu KMO. Auf diesem Weg entstehen die Radikalgeneratoren 3-Hydroxy-L-kynurenin (3-HK) und 3-Hydroxyanthranilsäure (3-HANA). Bei hohen KYN-Konzentrationen ist auch die Verstoffwechslung von Kynurenin durch KYNU zu Anthranilsäure vorhanden. Durch Anthranilat-3-monooxygenase wird auch Anthranilsäure zu 3-HANA umgewandelt. Das Endprodukt des KYN-Stoffwechsels ist das wichtige Co-Enzym Nicotinamidadenindinukleotid (NAD<sup>+</sup>).

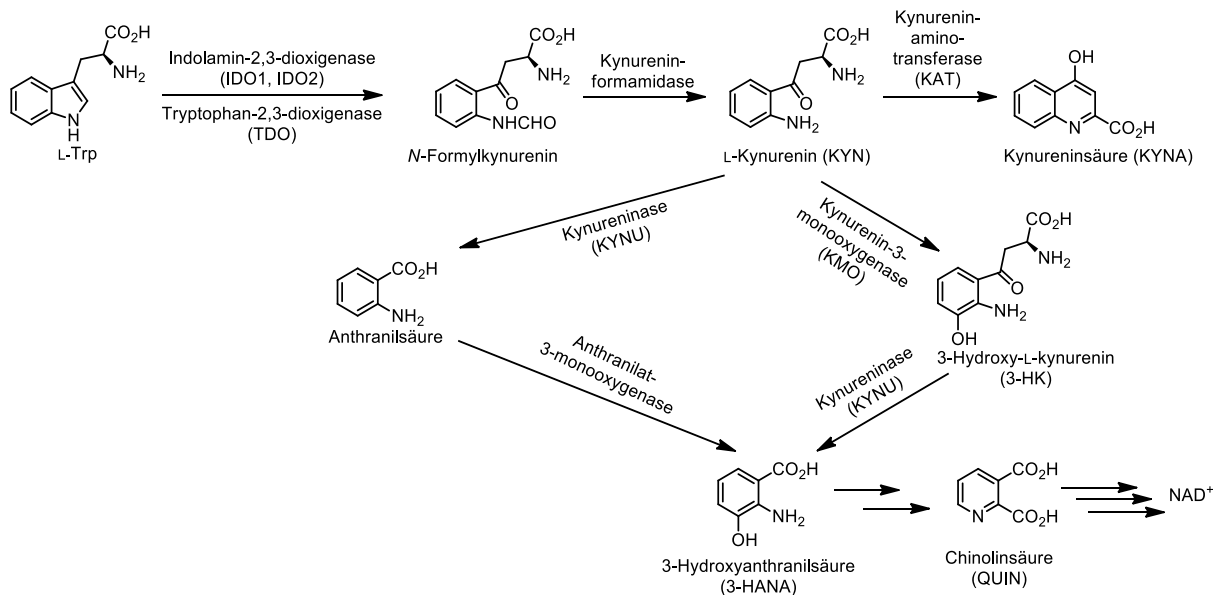


Abbildung 8: Kynurenin-Metabolismus.

Von diagnostischem Interesse ist der KYN-Metabolismus unter anderem wegen der Überexpression von IDO unter neuroinflammatorischen Bedingungen und zudem steht es im Zusammenhang mit der Immunevasion von Tumorzellen.<sup>[11]</sup> Darüber hinaus wird der KYN-Pfad durch die Alzheimer-assoziierten akkumulierten  $\beta$ -Oligomere stimuliert und die Überproduktion von pro-apoptotischen Metaboliten wie 3-Hydroxykynurenin und Chinolinsäure trägt zur pathologischen Entwicklung der Parkinson-Krankheit (PD) bei.<sup>[12]</sup>

Der Serotonin Pfad produziert wichtige Neurotransmitter wie Serotonin und Melatonin, die für eine Vielzahl von autonomen und kognitiven Funktionen im Hirn verantwortlich sind.<sup>[13]</sup> Der Serotonin-Pfad wird durch das Enzym Tryptophan-Hydroxylase (TPH) eingeleitet (Abb. 9). Dabei wird das Tryptophan durch TPH in 5-Position hydroxyliert und anschließend durch Aromatische-Aminosäure-Decarboxylase (AADC) decarboxyliert, um Serotonin (5-HT) zu erhalten. Durch Wiederaufnahme von Serotonin in Zellen kann es weiter metabolisiert werden. In der Epiphyse wird es zunächst zu *N*-Acetylserotonin acetyliert und dann von Hydroxyindol-O-methyltransferase zum Hormon Melatonin methyliert. In Neuronen kann es durch Monoaminoxidase in Hydroxyindolacetaldehyd umgewandelt werden, welches anschließend entweder zu 3-(2-Hydroxyethyl)indol-5-ol reduziert oder zu 5-Hydroxyindolessigsäure oxidiert wird.

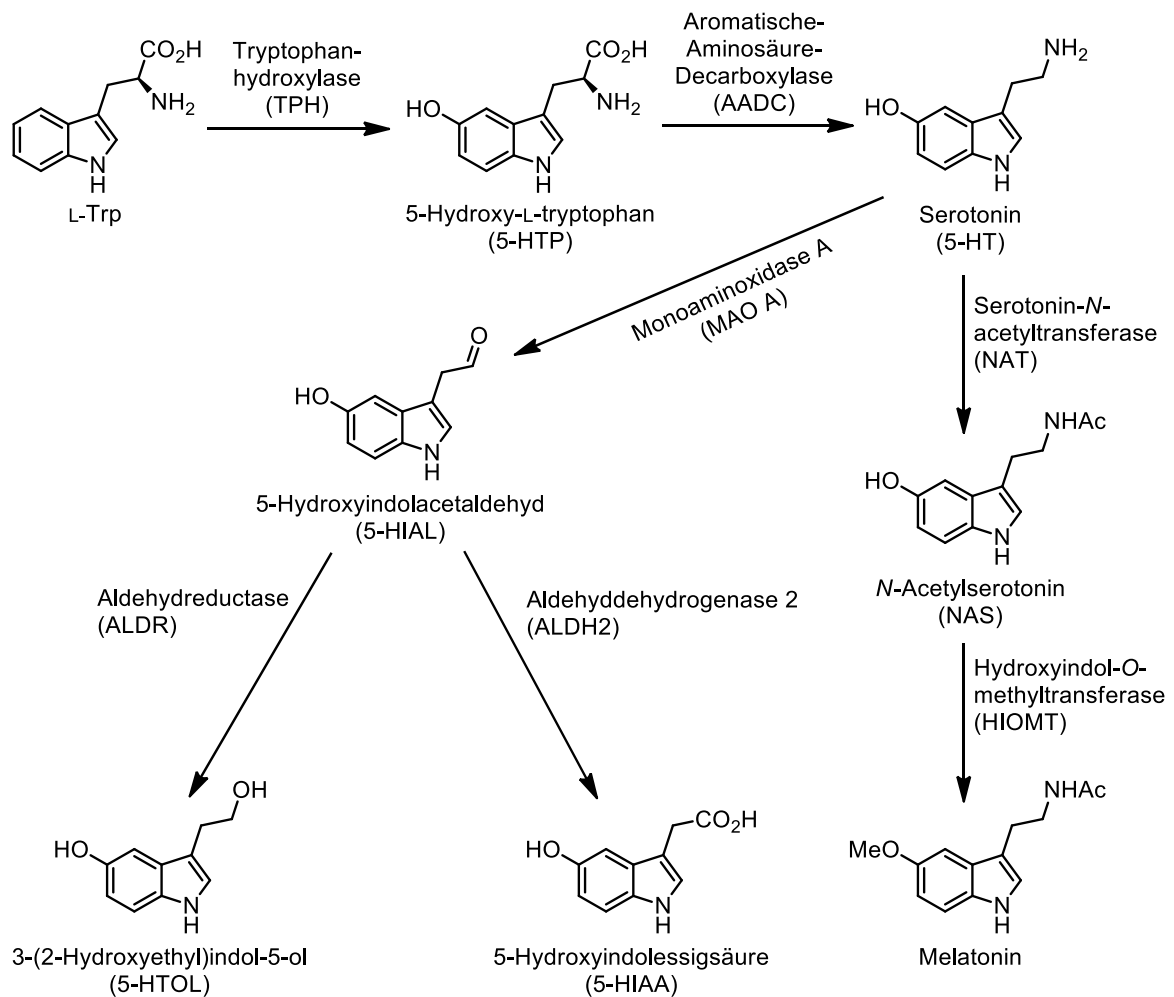


Abbildung 9: Serotonin-Metabolismus.

Eine verringerte Serotonin-Biosynthese steht im Zusammenhang mit erhöhter IDO-Aktivität. Die Alzheimer-Krankheit (AD) ist charakterisiert durch erhebliche Verluste von serotonergen Neuronen und damit einhergehend einer starken Abnahme von Serotonin in den betroffenen Regionen.<sup>[14]</sup> PD weist ebenfalls eine stetige Abnahme von serotonergen Neuronen auf.<sup>[15]</sup>

Aus diesen Gründen ist besonders die getrennte Visualisierung der Tryptophan-Metabolismus Pfade von großem Interesse, zusätzlich zur generellen Visualisierung des gesamten Tryptophan Metabolismus im Hirn. Periphere Bildung des Trp-Metabolismus ist wegen der hohen Metabolisierung von Trp im Gastrointestinaltrakt unspezifisch und hat daher keine klinische Relevanz.

### 1.3.4. Noradrenalin- und Phenylserin-Metabolismus

Noradrenalin ist ein körpereigener Neurotransmitter, der allgemein mit Wachzuständen, Fokussierung von Aufmerksamkeit und Informationsaufnahme und der Kampf-oder-Flucht-Reaktion assoziiert ist. Es handelt sich um ein Katecholamin, wie z.B. auch Adrenalin, mit einer Katecholgruppe und Amin-Seitenkette (Abb. 10). Es wurde in verschiedenen Studien mit Pathologien, die mit dem Verlust dopaminerger Neuronen, wie z.B. bei AD und PD, einhergehen, in Verbindung gebracht.<sup>[16]</sup> Im Noradrenalin-Metabolismus wird ausgehend von Tyrosin durch Tyrosinhydroxylase L-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) hergestellt, ein Neurotransmitter, der an wichtigen Funktionen wie Erinnerungsvermögen, Bewegung und Motivation beteiligt ist. Durch Decarboxylierung entsteht aus DOPA Dopamin, das allgemein als „Glückshormon“ bekannt ist und Antriebs- und Motivationsfunktionen im menschlichen Körper erfüllt. Für die PET ist es aber nicht relevant, da es wegen seiner schnellen Metabolisierung schnell abgebaut wird. In den nächsten beiden Schritten entstehen durch  $\beta$ -Hydroxylierung und anschließende Methylierung durch *N*-Methyltransferase die zu Beginn erwähnten Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin. Diese werden vorwiegend in postganglionären sympathischen Nervenzellen und chromaffinen Zellen der adrenalen Medulla synthetisiert.<sup>[17]</sup>

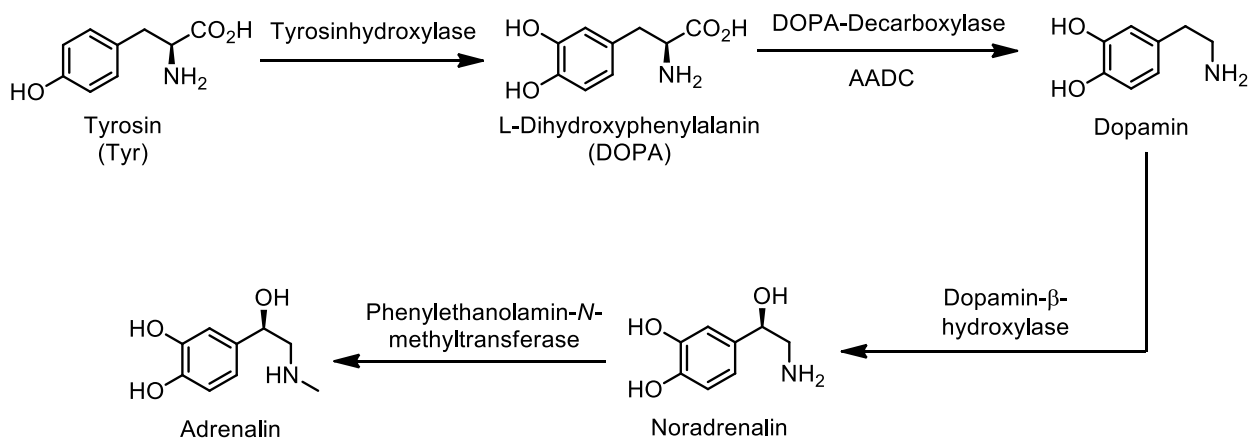


Abbildung 10: Adrenerger/noradrenerger Metabolismus von Katecholaminen.

Während Noradrenalin primär Funktionen als Neurotransmitter übernimmt, ist Adrenalin vorrangig ein Hormon, das im Fall von Alarmierungszuständen vermehrt ausgeschüttet wird. Strukturell weisen diese beiden Katecholamine noch eine Verwandtschaft zu aromatischen Aminosäuren, insbesondere Phenylserin, auf. Hydroxylierung der aromatischen Funktion und Decarboxylierung solcher Aminosäuren führt ebenfalls zu Noradrenalin. Phenylserin und seine Derivate sind deshalb potenzielle Prodrugs für die Biosynthese von Noradrenalin und Adrenalin,

wobei durch die Präsenz der  $\beta$ -Hydroxygruppe die Produktion von DOPA und Dopamin vermieden wird.

## 1.4. PET-Nuklide

Die Auswahl von Nukliden für die PET ist abhängig von verschiedenen Eigenschaften der verfügbaren Positronenstrahler. Besonders die Halbwertszeit (HWZ) ist entscheidend. Diese hat einerseits Auswirkung auf die möglichen Synthesen zur Anwendung der Nuklide in Tracern und die mit ihnen durchführbaren Messungen. Auch wirkt sie sich auf die Strahlenbelastung von Probanden und Patienten aus, denen Tracer mit diesen Nukliden appliziert werden. Darüber hinaus ist die Verfügbarkeit von Nukliden wichtig. Für die Synthese von PET-Tracern werden Radionuklide benötigt, die in unmittelbarer Nähe zum Syntheseort und Anwendungsort der Tracer in einem Zyklotron oder Generator hergestellt werden können. Der Anteil der Positronen-Emission im Zerfallsprofil der Nuklide ist auch zu berücksichtigen, da PET-Nuklide zum überwiegenden Teil unter  $\beta^+$ -Emission zerfallen müssen.<sup>[18]</sup> Beispiele für PET-Nuklide sind in Tabelle 1 gezeigt.

**Tabelle 1: PET-Radionuklide<sup>[19]</sup>**

| Nuklid           | $t_{1/2}$ | $E(\beta^+_{max})$ (MeV) | $\beta^+$ -Anteil | Gewinnung (Bsp.)  |
|------------------|-----------|--------------------------|-------------------|---|
| $^{11}\text{C}$  | 20,4 min  | 0,960                    | 99,8%             | $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$  |
| $^{13}\text{N}$  | 10,0 min  | 1,198                    | 99,8%             | $^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$  |
| $^{15}\text{O}$  | 2,0 min   | 1,732                    | 99,9%             | $^{14}\text{N}(d,n)^{15}\text{O}$<br>$^{15}\text{N}(p,n)^{15}\text{O}$        |
| $^{18}\text{F}$  | 109,8 min | 0,634                    | 96,7%             | $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$<br>$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$  |
| $^{68}\text{Ga}$ | 67,6 min  | 1,899                    | 87,7%             | Generatorkern ( $^{68}\text{Ge}$ )  |
| $^{89}\text{Zr}$ | 3,3 d     | 0,900                    | 22,7%             | $^{89}\text{Y}(p,n)^{89}\text{Zr}$<br>$^{89}\text{Y}(d,2n)^{89}\text{Zr}$     |
| $^{124}\text{I}$ | 4,2 d     | 2,135                    | 23,0%             | $^{124}\text{Te}(p,n)^{124}\text{I}$<br>$^{124}\text{Te}(d,2n)^{124}\text{I}$ |

$^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$  und  $^{15}\text{O}$  sind Positronen-emittierende Isotope der Elemente Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff, die Hauptbestandteile aller Proteine und anderer Biomoleküle sind. Daher können diese Radionuklide zur Markierung einer Vielzahl von Biomolekülen, z.B. von metabolischen Substraten, eingesetzt werden, ohne ihre

chemischen und biologischen Eigenschaften zu verändern, was einen großen Vorteil dieser Nuklide darstellt. Neben der teilweise schwierigen Markierungschemie ist ihre praktische Anwendung aber auch durch ihre relativ kurze Halbwertszeit limitiert.  $^{13}\text{N}$  wird zum Beispiel in  $^{13}\text{N}$ Ammoniak zur Beobachtung der myokardialen Blutperfusion für PET-Messungen verwendet.<sup>[20]</sup>  $^{15}\text{O}$  mit seiner zweiminütigen HWZ kann nur als  $^{15}\text{O}$ Sauerstoff oder als  $^{15}\text{O}$ Wasser verwendet werden, da hier eine aufwendige Synthesechemie nicht durchführbar ist.  $^{11}\text{C}$  bietet mit seiner längeren HWZ von 20,4 Minuten bereits Möglichkeiten zur Synthese komplexerer Tracermoleküle wie z.B.  $^{11}\text{C}$ Methionin<sup>[21]</sup> oder  $^{11}\text{C}$ Cholin.<sup>[22]</sup> Auch können diese Radionuklide nur in unmittelbarer Nähe zu einem Zyklotron für Radiosynthesen und PET-Messungen verwendet werden, da keine Möglichkeiten für lange Transportwege bestehen.

$^{89}\text{Zr}$  und  $^{124}\text{I}$  ermöglichen mit ihrer deutlich längeren Halbwertszeit die Beobachtung langsamerer biologischer Prozesse und können auch über größere Distanzen transportiert werden. Beide Nuklide besitzen aber nur einen  $\beta^+$ -Anteil von jeweils ca. 23% und führen zu einer längeren Strahlenexposition von Patienten und Probanden.

$^{18}\text{F}$  bietet in diesem Zusammenhang deutlich vorteilhaftere Charakteristika. Seine Halbwertszeit von 109,8 Minuten ermöglicht nicht nur die Synthese von komplexen Tracern, sondern auch die Belieferung von mehreren Einrichtungen ausgehend von einem Zyklotron („Satellitenprinzip“).<sup>[23]</sup> Dies bietet deutliche ökonomische Vorteile, da sowohl der finanzielle als auch logistische Aufwand stark reduziert werden kann.<sup>[24]</sup>

$^{18}\text{F}$  zerfällt zu fast 100% unter Positronenemission (siehe Tabelle 1) und hat unter allen gängigen PET-Nukliden die geringste maximale Positronenenergie [ $E(\beta^+_{\text{max}}) = 634 \text{ keV}$ ], was zu einer hohen potenziell erreichbaren Auflösung damit erzeugter PET-Bilder führt. Emittierte Positronen legen in Gewebe aufgrund der geringen Energie nur kurze Wegstrecken zurück ( $\leq 2,3 \text{ mm}$ ), wodurch die vom PET-Scanner registrierten Annihilationspositionen nächstmöglich zum Ort der tatsächlichen Positronenemission liegen.<sup>[25]</sup>

20% aller Pharmazeutika enthalten Fluor, dienen aber üblicherweise wegen ihrer pharmazeutischen Wirkung nicht direkt als potenzielle Radiotracer.<sup>[26]</sup> Durch die breite pharmazeutische Anwendung von fluorierten Strukturen ist der Einfluss von Fluor-Substituenten aber oft gut vorhersagbar, was von Vorteil für die Entwicklung von fluorierten Radiotracern ist. Radiofluorierte Analoga von bereits bekannten, nicht pharmazeutisch aktiven fluorierten Strukturen bieten sich aus diesem Grund in vielen Fällen als potenzielle PET-Tracer an, sofern ihre Radiomarkierung mit den bereits

bekanntesten radiochemischen Methoden durchführbar ist. Darüber hinaus besitzen Fluor und Wasserstoff relativ ähnliche Van-der-Waals Radien und Bindungslängen mit Kohlenstoff.<sup>[27]</sup> Unterschiede wie die deutlich veränderte Elektronegativität zwischen Fluor und Wasserstoff (3,98 vs. 2,2) und das Wasserstoffbrücken-Verhalten müssen dennoch bei der Entwicklung von Analogtracern aufgrund der Fremdmarkierung mit  $^{18}\text{F}$  berücksichtigt werden. Dies ist ein Nachteil von fluorierten Tracern gegenüber mit  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$  und  $^{15}\text{O}$  markierten Strukturen, deren chemisches und biologisches Verhalten durch die Markierung nicht verändert wird (hier erfolgt formell lediglich ein Isotopenaustausch).

Ein weiterer Nachteil von  $^{18}\text{F}$  als PET-Nuklid in der Anwendung ist die mit  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$  und  $^{15}\text{O}$  verglichen lange Halbwertszeit, die zu einer längeren Präsenz von emittierendem  $^{18}\text{F}$  im Körper und somit höherer Exposition eines Probanden/Patienten führt. Für einen nahezu vollständigen Zerfall von radioaktivem Material werden üblicherweise 10 Halbwertszeiten veranschlagt (entspricht einer Abnahme der Radioaktivität auf das  $2^{-10}$ -fache). Für  $^{18}\text{F}$  entspricht dies nahezu einem gesamten Tag.

In der allgemeinen Anwendung überwiegen allerdings die Vorteile von  $^{18}\text{F}$ , weshalb es mit Abstand das meistverwendete PET-Nuklid ist.<sup>[28]</sup> Seine im Vergleich zu  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$  und  $^{15}\text{O}$  längere HWZ ermöglicht sowohl die Möglichkeit zur Anwendung aufwendiger Radiosynthesemethoden, als auch die Verteilung von  $^{18}\text{F}$ -Radiotracern an verschiedene PET-Zentren über größere Entfernungen. Die geringe Energie der Positronen, die beim  $\beta^+$ -Zerfall von  $^{18}\text{F}$  auftreten, führt zu einer potenziell hohen erreichbaren Auflösung der resultierenden PET-Bilder.

## 1.5. Radiomarkierung mit $^{18}\text{F}$

Die Isotope eines Elements sind in fast allen Fällen chemisch nicht voneinander zu unterscheiden (mit der Ausnahme von Wasserstoff). Fundamental folgen Fluorierungen mit  $^{19}\text{F}$  und  $^{18}\text{F}$  deshalb den gleichen Gesetzen. Praktisch ist es aber nicht möglich, organisch-präparative Fluorierungsmethoden direkt auf Radiofluorierungen zu übertragen. Die kurze Halbwertszeit von  $^{18}\text{F}$  schließt längere Syntheszeiten aus und dadurch, dass kein nicht-radioaktives  $^{19}\text{F}$  zugegeben wird (no-carrier-added, n.c.a.) ergibt sich eine sehr niedrige Konzentration an Fluorid-Ionen, die im sub-nanomolaren Bereich liegt und die Reaktionskinetik entsprechend beeinflusst.  $^{18}\text{F}$ -Radiochemie erfordert wegen der geringen Fluorid-Konzentration schnelle Reaktionsraten, die oft in präparativen Maßstäben durch Temperaturerhöhungen

erreicht werden. Dies kann für kleine komplexe Moleküle, wie sie beispielsweise als Tracer für PET verwendet werden, zu Nebenreaktionen und Zersetzungen führen. Eine Erhöhung der Reaktionsraten muss deshalb bei Radiofluorierungen auf anderen Wegen erreicht werden.<sup>[29]</sup> [<sup>18</sup>F]Fluor kann sowohl in elektrophiler, als auch nukleophiler Form produziert werden, aber nur nukleophiles [<sup>18</sup>F]Fluorid ist in hohen spezifischen Aktivitäten verfügbar. Das ist besonders für Bildgebung von biologischen Targets wie z.B. Neurotransmitter-Rezeptoren entscheidend.<sup>[29]</sup> Nukleophiles Fluorid mit hohen spezifischen Aktivitäten wird durch Bestrahlung von [<sup>18</sup>H]H<sub>2</sub>O in einem Zyklotron hergestellt, und wird somit in wässriger Lösung erhalten. Es liegt dementsprechend wegen seiner hohen Hydratationsenergie<sup>[30]</sup> stark solvatisiert vor und das Wasser muss entsprechend entfernt werden, um seine Nukleophilie zu erhöhen. Aufwendige Trocknungen sind aber wegen der geringen Menge verfügbarem [<sup>18</sup>F]Fluorids von Nachteil. Allen Radiosynthesen gemein ist es, <sup>18</sup>F möglichst spät („late-stage“) und direkt („direct radiofluorination“) in die Struktur einzuführen, was allerdings nicht immer möglich ist.

Für die Verwendung von Radiotracer in der klinischen Praxis müssen Radiofluorierungen außerdem auf automatisierte Module übertragen werden, da die für die Anwendung benötigten Aktivitätsmengen eine manuelle Synthese wegen der hohen Strahlenbelastung ausschließen und nur fernbedient durchführbar sind. Der Gebrauch von Radiotracer in humanen Probanden und Patienten setzt eine Synthese unter GMP („Good Manufacturing Practice“) und Konformität mit den entsprechenden arzneirechtlichen Anforderungen an die Radiotracer voraus.

Daraus ergeben sich zahlreiche Herausforderungen, zu deren Bewältigung sich verschiedene Arbeitsmethoden in der Praxis etabliert haben.

Radiofluorierungsmethoden lassen sich in elektrophile, nukleophile, heteroatomare und Metall-vermittelte Techniken unterteilen, auf die im Folgenden näher eingegangen wird.

### **1.5.1. Elektrophile Radiofluorierung**

Für die elektrophile Radiofluorierung wird [<sup>18</sup>F]F<sub>2</sub> oder davon abgeleitete Strukturen verwendet.<sup>[31]</sup> Dieses wird typischerweise über eine <sup>20</sup>Ne(d,α)<sup>18</sup>F oder <sup>18</sup>O(p,n)<sup>18</sup>F Kernreaktion in Gastargets produziert. In beiden Fällen kann das durch die Kernreaktion gebildete <sup>18</sup>F erst durch die Zugabe von einem Auswaschgas, das



stabiles  $[^{19}\text{F}]\text{F}_2$  in Konzentrationen von 10 – 50% enthält, aus dem Target erhalten werden. Dabei bildet sich durch Isotopenaustausch gasförmiges  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ .<sup>[32]</sup> Dies hat zur Folge, dass die theoretisch maximal erhältliche radiochemische Ausbeuten auf 50% begrenzt ist, da das nicht-radioaktive  $^{19}\text{F}$  in jedem  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ -Molekül mit der gleichen Wahrscheinlichkeit mit dem Vorläufer reagieren kann. Der Zusatz von nicht-radioaktivem Träger hat des Weiteren zur Folge, dass nur geringe  $A_S$  und  $A_M$  von 100 – 600 MBq/ $\mu\text{mol}$  erzielt werden können.<sup>[33]</sup> Weiterhin führt die hohe Reaktivität von  $\text{F}_2$  in vielen Fällen zu geringer Selektivität und zahlreichen Nebenprodukten, die aufwändig vom Produkt getrennt werden müssen. Ein geschichtlich bedeutendes Beispiel der elektrophilen Radiofluorierung war die erste Synthese von 2- $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  von *Ido et al.* (Abb. 11), welches aber die zuvor erwähnten Nachteile von geringer Stereoselektivität und Bildung von Nebenprodukten aufwies.<sup>[34]</sup>

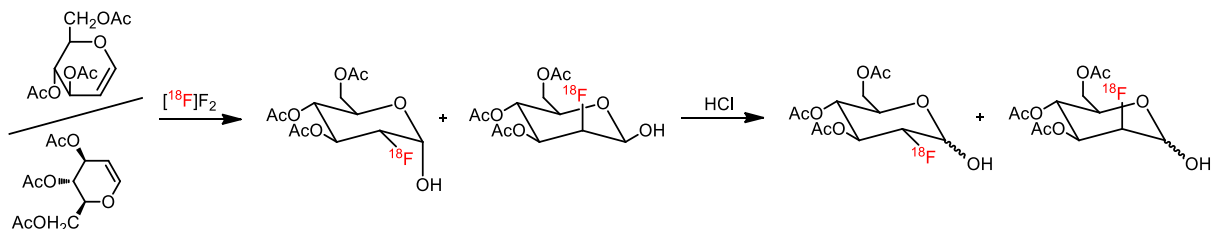


Abbildung 11: Elektrophile Radiosynthese von 2- $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  nach *Ido et al.*<sup>[34]</sup>

### 1.5.2. Nukleophile Radiofluorierung

Die nukleophile Radiofluorierung ist heutzutage die Methode der Wahl zur Einführung von  $^{18}\text{F}$ . Zu diesem Zweck wird nukleophiles  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  über die  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  Kernreaktion durch den Beschuss von angereichertem  $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$  mit Protonen in wässriger Lösung ohne Trägerzusatz produziert. So gewonnenes  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  liegt solvatisiert vor und besitzt eine Hydrathülle, die seinen nukleophilen Charakter stark reduziert. Es ist deshalb nötig, seine Nukleophilie zu erhöhen, indem das Wasser und damit die Hydrathülle vollständig entfernt wird.

Die azeotrope Trocknung kann verwendet werden, um  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  direkt im Reaktionsgefäß von Wasser zu befreien.<sup>[35]</sup> Dabei wird die wässrige Lösung mehrfach mit einem Lösungsmittel, das ein Azeotrop mit Wasser bildet, verdampft. Das gängigste, zu diesem Zweck verwendete Lösungsmittel ist Acetonitril. Nachteile dieser Methode sind der zusätzliche Zeitaufwand, der für die mehrfache Verdampfung des Lösungsmittels benötigt wird und der Verlust von  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  durch Adsorption an der Gefäßwand.

Anionenaustauscher sind eine Alternative zur Trocknung von wässrigen Fluoridlösungen, um das  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid vom  $[^{18}\text{O}]$ Wasser zu trennen. Dabei wird das wässrige  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid über eine Anionenaustauscherkartusche geleitet, auf der das  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid fixiert wird. Die Kartusche wird anschließend mit z.B. MeOH gespült und getrocknet. Das  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid kann dann mit einer geringen Menge Base oder mit einem Onium-Vorläufer in einem geeigneten Lösungsmittel von der Kartusche eluiert werden, wonach es entweder unter Schutzgasstrom getrocknet wird oder sofort als Medium zur Durchführung der Radiofluorierung verwendet werden kann.<sup>[36]</sup>

Mit dem so gewonnenen „nackten“ und reaktiven  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid kann die nukleophile Radiofluorierung durchgeführt werden.

### **S<sub>N</sub>2-Mechanismus**

Die verbreitetste Methode zur Produktion von  $^{18}\text{F}$ -markierten Radiotracern ist die nukleophile aliphatische Substitution, die zur Synthese von z.B.  $[^{18}\text{F}]$ FDG und  $[^{18}\text{F}]$ FET verwendet wird.<sup>[37]</sup> Für diese Substitutionsreaktion wird ein Vorläufer mit einer geeigneten Abgangsgruppe benötigt. Gängige Substituenten zu diesem Zweck sind Halogene, Triflate, Tosylate oder Sulfonate. Der S<sub>N</sub>2-Mechanismus, über den diese Methode abläuft, kann auch zur Einführung von definierter Stereoinformation in den finalen Tracer über die Walden-Inversion verwendet werden. Dies ist über elektrophile Radiofluorierung nicht möglich. Der Mechanismus einer nukleophilen Substitution mit Walden-Inversion ist in Abb. 12 anhand des Beispiels von  $[^{18}\text{F}]$ FDG dargestellt.<sup>[37a]</sup>

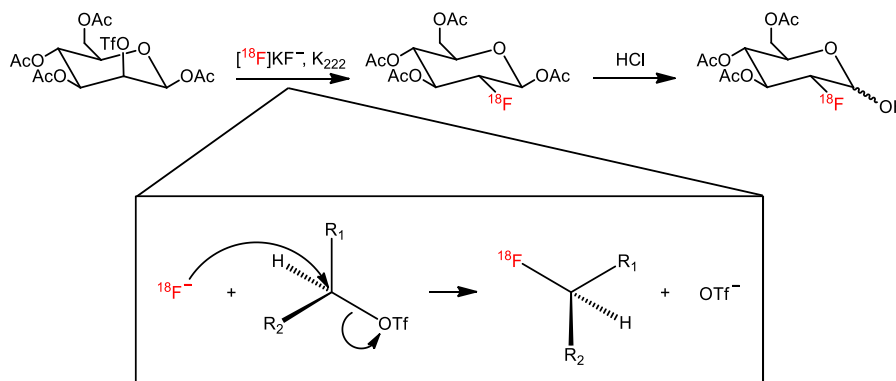


Abbildung 12: Synthese von 2- $[^{18}\text{F}]$ FDG nach Hamacher et al und Mechanismus der Walden-Umkehr.<sup>[37a]</sup>

### **S<sub>N</sub>Ar-Mechanismus**

Biologisch und pharmakologisch aktive Moleküle enthalten sehr oft aromatische Strukturen. Aus diesem Grund ist die nukleophile aromatische Substitution eine wichtige Methode zur Radiofluorierung und ihre Implementierungen sind deshalb von

großem Interesse. Sie findet üblicherweise durch einen  $S_NAr$ -Mechanismus statt. Frühe Beispiele dieser aromatischen Radiofluorierung weisen geringe Ausbeuten und aufwendige Syntheseschritte auf.<sup>[38]</sup>

Der Mechanismus einer  $S_NAr$  ist in Abb. 13 dargestellt.

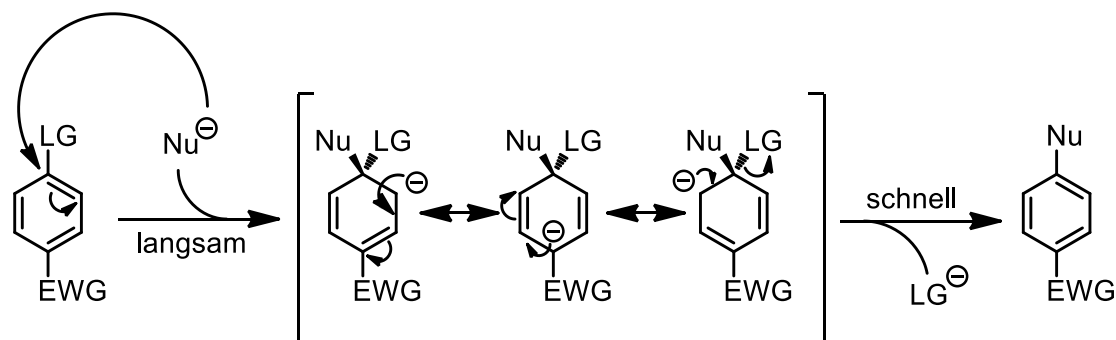


Abbildung 13: Schematischer Mechanismus einer  $S_NAr$  (LG: Abgangsgruppe, Nu: Nukleophil, EWG: Elektronenziehende Gruppe).

Voraussetzungen für die nukleophile aromatische Radiofluorierung sind typischerweise eine elektronenziehende Abgangsgruppe und ein elektronenarmer Aromat. Geeignete Abgangsgruppen für  $S_NAr$  sind z.B. Halogene, Nitro-, Triethylamin- und Aryliodoniumgruppen. Dies schränkt den Anwendungsbereich der  $S_NAr$ -Radiofluorierung stark ein, besonders, weil viele Zielverbindungen elektronenreiche Aromaten enthalten. Unter solchen Umständen werden bei traditionellen  $S_NAr$ -Reaktionen zusätzliche elektronenziehende Gruppen in ortho- oder para-Position zur Abgangsgruppe benötigt, um den Aromaten zu aktivieren und zufriedenstellende Ausbeuten zu erhalten. Dadurch werden aber sehr oft zusätzliche Komplikationen und Reaktionsschritte in die Synthese eingeführt, falls die elektronenziehenden Gruppen wieder entfernt oder weitere Reaktionsschritte nach der Radiofluorierung durchgeführt werden müssen. Wegen der hohen Relevanz von elektronenreichen Aromaten sind deshalb besonders Methoden für die Radiofluorierung dieser von Interesse, mit denen solche aufwändigen Schritte umgangen oder vereinfacht werden können.

Methoden der Radiofluorierung durch konventionelle  $S_NAr$  verwenden beispielsweise Diaryliodonium-Vorläufer, um [ $^{18}F$ ]Fluorareyle zu erhalten (Abb. 14).<sup>[39]</sup>

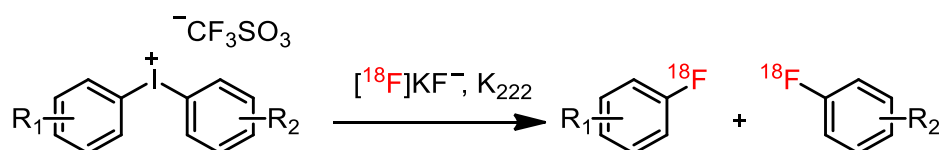


Abbildung 14: Radiofluorierung von Diaryliodonium-Vorläufern via  $S_NAr$ .<sup>[39]</sup>

Diese Methode von *Shah et al.* führt abhängig von den eingesetzten Arylen zu unterschiedlichen Verhältnissen zwischen den beiden möglichen Produkten. Bei der Radiofluorierung von einem (4-Methoxyphenyl)(phenyl)iodonium-Vorläufer wird beispielsweise ausschließlich [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorbenzol als Produkt in einer radiochemischen Ausbeute von 96% in Lösung erhalten. (4-Bromphenyl)(phenyl)iodonium-Salz führt unter den gleichen Bedingungen zu [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorbenzol und 1-Brom-4- $^{18}\text{F}$ Fluorbenzol einem Verhältnis von 3:7, was den elektronenziehenden Einfluss von Halogensubstituenten in *p*-Position illustriert. Dies stellt einen von der Abgangsgruppe abhängigen Nachteil der nukleophilen Substitution dar. Durch die Verwendung eines Fluor-Substituenten als Abgangsgruppe bei  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  kann eine Radiofluorierung durch Isotopenaustausch durchgeführt werden (Abb. 15).<sup>[40]</sup> *Hashizume et al.* erreichten mit dieser Methode eine radiochemische Ausbeute von bis zu 21%.

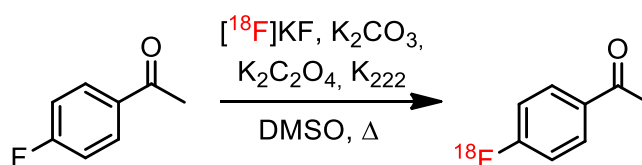


Abbildung 15: Beispiel für  $^{19}\text{F}$ - $^{18}\text{F}$ -Isotopenaustausch nach Hashizume et al.<sup>[40]</sup>

Allerdings ist allgemein anzumerken, dass elektronenreiche Aromaten mit  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$  nicht gut fluorierbar sind.

### 1.5.3. Heteroatomare Radiofluorierung

Die Affinität von Fluor zu bestimmten Heteroatomen kann in der Radiochemie zur Einführung von  $^{18}\text{F}$  in aromatische Strukturen verwendet werden. Die Markierung von Molekülen an Heteroatomen eröffnet weitere potenzielle Möglichkeiten für die Synthese von Radiotracern gegenüber der ausschließlichen Markierung an Kohlenstoffatomen.

*Sharpless et al.* veröffentlichten in 2014 eine Methode zur Synthese von Sulfonylfluoriden aus Sulfonylchloriden (Abb. 16).<sup>[41]</sup>

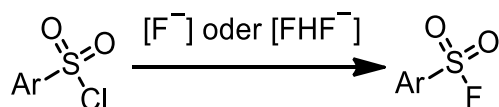


Abbildung 16: „Sulfur(IV)-Fluoride-Exchange“ (SuFEx) nach Sharpless et al.<sup>[41]</sup>

Diese SuFEx genannte Reaktion ermöglicht auch durch Übertragung in die Radiochemie den Zugang zu neuen  $^{18}\text{F}$ -markierten Strukturen. Dieser Halogen-

Halogen-Austausch ist auch für einen  $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$  Isotopenaustausch zur Synthese neuartiger PET-Tracer anwendbar. *Zheng et al.* waren so in der Lage, mehrere neue potenzielle Tracer durch SuFEx-Click-Chemie an Arylsulfonaten darzustellen (Abb. 17).<sup>[42]</sup>



Abbildung 17: Radiofluorierung via SuFEx-Click-Chemie nach Zhang et al.<sup>[42]</sup>

Diese Radiofluorierung ist bei Raumtemperatur innerhalb von wenigen Sekunden Reaktionszeit durchführbar. Die Autoren gaben in diesem Fall aber keine isolierten Ausbeuten an. *Walter et al.* präsentierten 2022 eine optimierte Version dieses Protokolls um eine Gruppe potenzieller PET-Tracer in Aktivitätsausbeuten von > 30% in insgesamt < 30 min Syntheszeit zu erhalten (Abb. 18).<sup>[43]</sup>

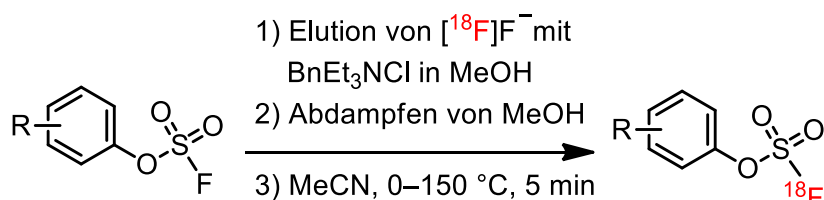


Abbildung 18: Radiofluorierung via SuFEx-Click-Chemie nach Walter et al.<sup>[43]</sup>

Ein weiteres geeignetes Heteroatom als Ziel für Fluorierungsreaktionen ist Bor. *An et al.* konnten durch  $^{18}\text{F}/^{19}\text{F}$  Isotopenaustausch an Difluoro-dioxaborininen die entsprechenden radiofluorierten  $^{18}\text{F}$  Difluoro-dioxaborinine erhalten.<sup>[44]</sup> Zu diesem Zweck wurden  $\beta$ -Diketone mit Bortrifluorid-diethyletherat modifiziert, um die geeigneten Vorläufer zu erhalten. Diese wurden bei Raumtemperatur sehr schnell mit  $^{18}\text{F}$  Fluorid in Gegenwart von katalytischem  $\text{SnCl}_4$  markiert (Abb. 19). Das wässrige  $^{18}\text{F}$  Fluorid wurde in diesem Fall von den Autoren in einem  $\text{N}_2$ -Strom bei Raumtemperatur getrocknet.

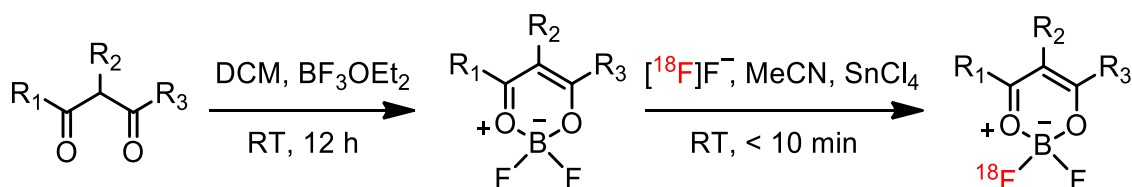


Abbildung 19: Radiofluorierung via Isotopenaustausch an Borininen nach An et al.<sup>[44]</sup>

Diese Isotopenaustauschreaktion besitzt wie die SuFEx-Chemie eine kurze Reaktionszeit, was einen großen Vorteil für Radiofluorierungen darstellt. In diesem Fall

wurden die radiochemischen Ausbeuten durch Radio-DC bestimmt und lagen bei bis zu > 50%.

Durch den Einsatz von Chelatoren kann auch das radioaktive Salz  $\text{Al}[^{18}\text{F}]\text{F}$  zur Synthese von Radiotracer angewandt werden. Diese Markierungsstrategie ist durch die hohe sterische Anforderung durch Chelatoren vorrangig auf größere Moleküle und Makromoleküle wie Peptide begrenzt. Die Aluminium-Fluor-Bindung besitzt eine Bindungsenergie von 670 kJ/mol und ist *in vivo* stabil.<sup>[45]</sup> Solche  $\text{Al}[^{18}\text{F}]\text{F}$ -Komplexe wurden beispielsweise für die Markierung von Peptiden mit z.B. DTPA- und NOTA-Chelatoren ausgenutzt.<sup>[46]</sup>  $^{18}\text{F}$ Fluorid wird bei diesen Anwendungen mit  $\text{AlCl}_3$  umgesetzt, um  $\text{Al}[^{18}\text{F}]\text{F}$  zu erhalten. Bei der anschließenden Bildung der AlF-Chelat-Komplexe ist der pH-Wert besonders wichtig, da sich bei zu hohen pH-Werten schwerlösliche Metall-Hydroxid Komplexe bilden, während bei zu niedrigen pH-Werten Fluor vorrangig in Form von HF vorliegt.<sup>[47]</sup> *D´Souza et al.* z.B. synthetisierten so z.B. NODA-IMP485 markiert mit  $\text{Al}[^{18}\text{F}]\text{F}$  in 15 min bei 105 °C in einer RCA von 74,1% in wässriger Lösung (Abb. 20).<sup>[48]</sup>

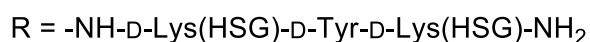
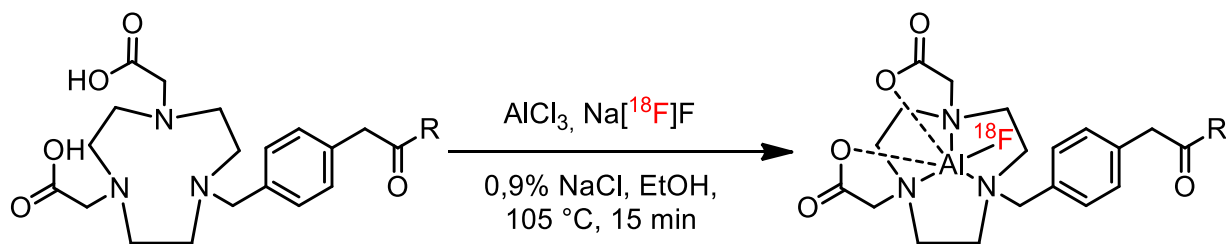


Abbildung 20: Radiosynthese von  $\text{Al}[^{18}\text{F}]\text{F}$ -NODA-IMP485 nach *D´Souza et al.*<sup>[48]</sup>

Heteroatomare Radiofluorierungen sind durch die Notwendigkeit von zusätzlichen Heteroatomen, die nicht in der natürlichen Form der Zielmoleküle vorliegen, eingeschränkt. Dadurch kann unter Umständen eine andere biologische Aktivität oder Verteilung der resultierenden Radiotracer entstehen, die nicht der gewünschten entspricht.

#### 1.5.4. Metall-vermittelte aromatische Radiofluorierung

Übergangsmetall-vermittelte Radiofluorierungen wurden implementiert, um die Schwierigkeit der Markierung elektronenreicher aromatischer Systeme zu umgehen und hat zur Entwicklung zahlreicher neuer Fluorierungsmethoden geführt. Die Verwendung von Übergangsmetall-Vermittlung erlaubt eine Radiofluorierung

aromatischer Strukturen mit [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid durch Umpolung. „Umpolung“ beschreibt den Prozess der Umkehrung der Polarität einer funktionellen Gruppe. Die radiomarkierten elektronenreichen aromatischen Verbindungen können nicht ausgehend von nukleophilem [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid direkt hergestellt werden. Durch Umpolung des [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorids zu einem Elektrophil können Aromaten und Heteroaromaten unabhängig von ihrem Elektronenreichtum zu Zielen für einen Angriff durch die resultierende elektrophile Spezies gemacht werden.

### 1.5.4.1. Pd- und Ni-vermittelte aromatische Radiofluorierung

Lee *et al.* haben durch diesen Ansatz der Übergangsmetall-vermittelten Radiofluorierung wegweisende Protokolle entwickelt, die Pd-<sup>[35]</sup> (Abb. 21) und Ni-Komplexe<sup>[49]</sup> (Abb. 24) für die Radiofluorierung verwenden.

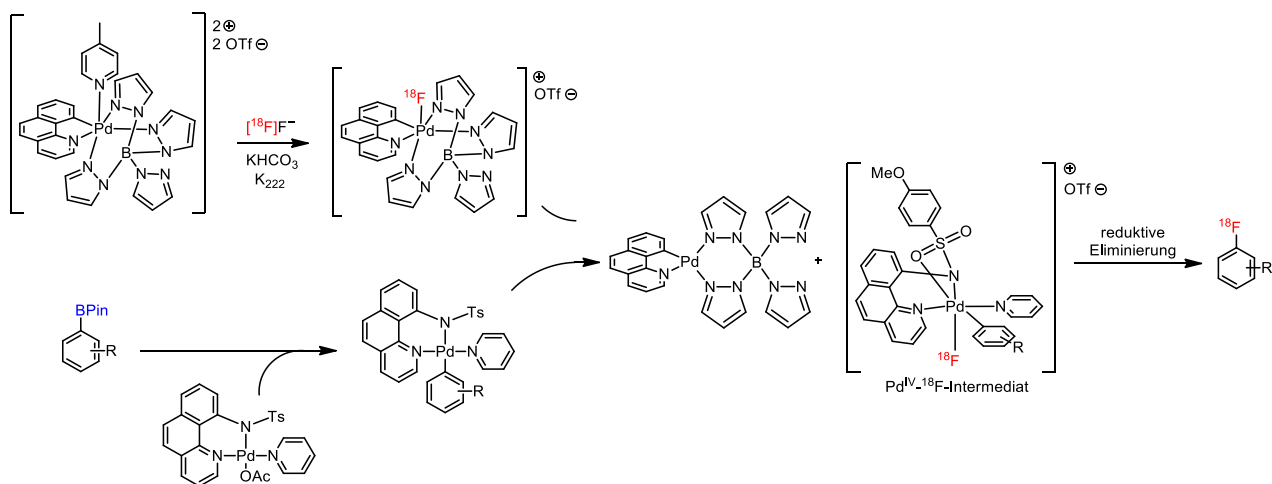


Abbildung 21: Pd-vermittelte Radiofluorierung nach Lee *et al.*<sup>[35]</sup>

Die Pd-vermittelte Radiofluorierung nach Lee *et al.* verwendet hochvalente, *in situ* generierte Pd<sup>IV</sup>-Komplexe, die als Fluorierungsagenzien dienen.<sup>[35]</sup> Das an den Pd<sup>IV</sup>-Komplex gebundene  $^{18}\text{F}$ -Fluorid wird durch Transmetallierung auf einen Pd<sup>II</sup>-Komplex übertragen. Durch reduktive Eliminierung innerhalb des dadurch entstehenden Pd<sup>IV</sup>-Komplexes wird das zu markierende Aryl radiofluoriert und die  $^{18}\text{F}$ -fluorierte Zielstruktur erhalten. 2013 veröffentlichten Mazzotti *et al.* eine weitere Pd-vermittelte Fluorierungsmethode und sie konnten in diesem Fall ein Pd<sup>III</sup>-Intermediat isolieren (Abb. 22).<sup>[50]</sup>

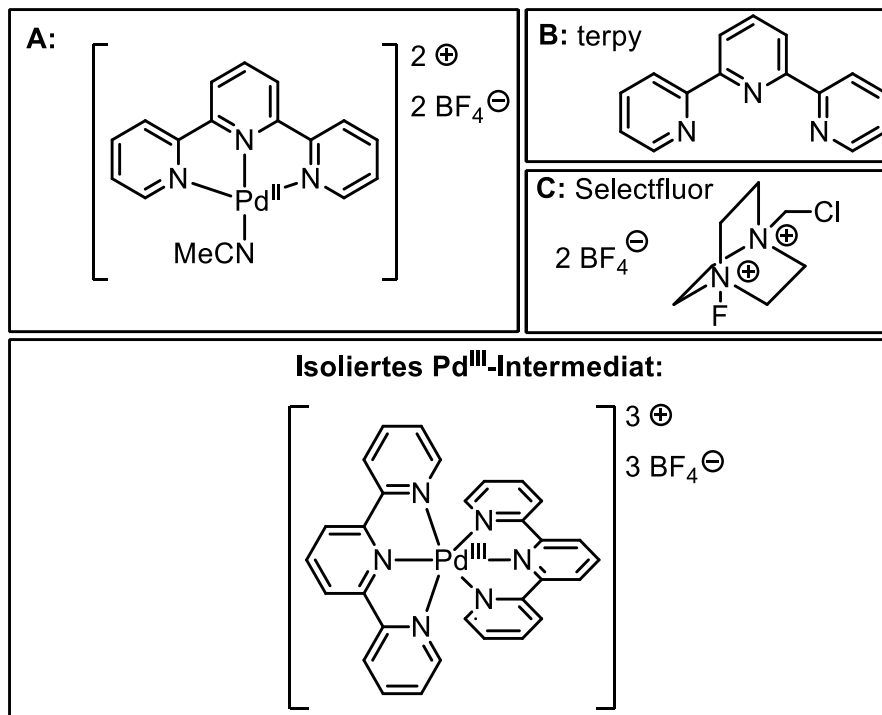
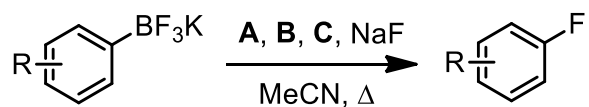


Abbildung 22: Aromatische Fluorierung mit Selectfluor via Pd<sup>III</sup> nach Mazzotti et al.<sup>[50]</sup>

Sie schlossen deshalb darauf, dass der Pd-vermittelte Mechanismus über eine Einelektronenübertragung (single-electron-transfer, SET) abläuft (Abb. 23).



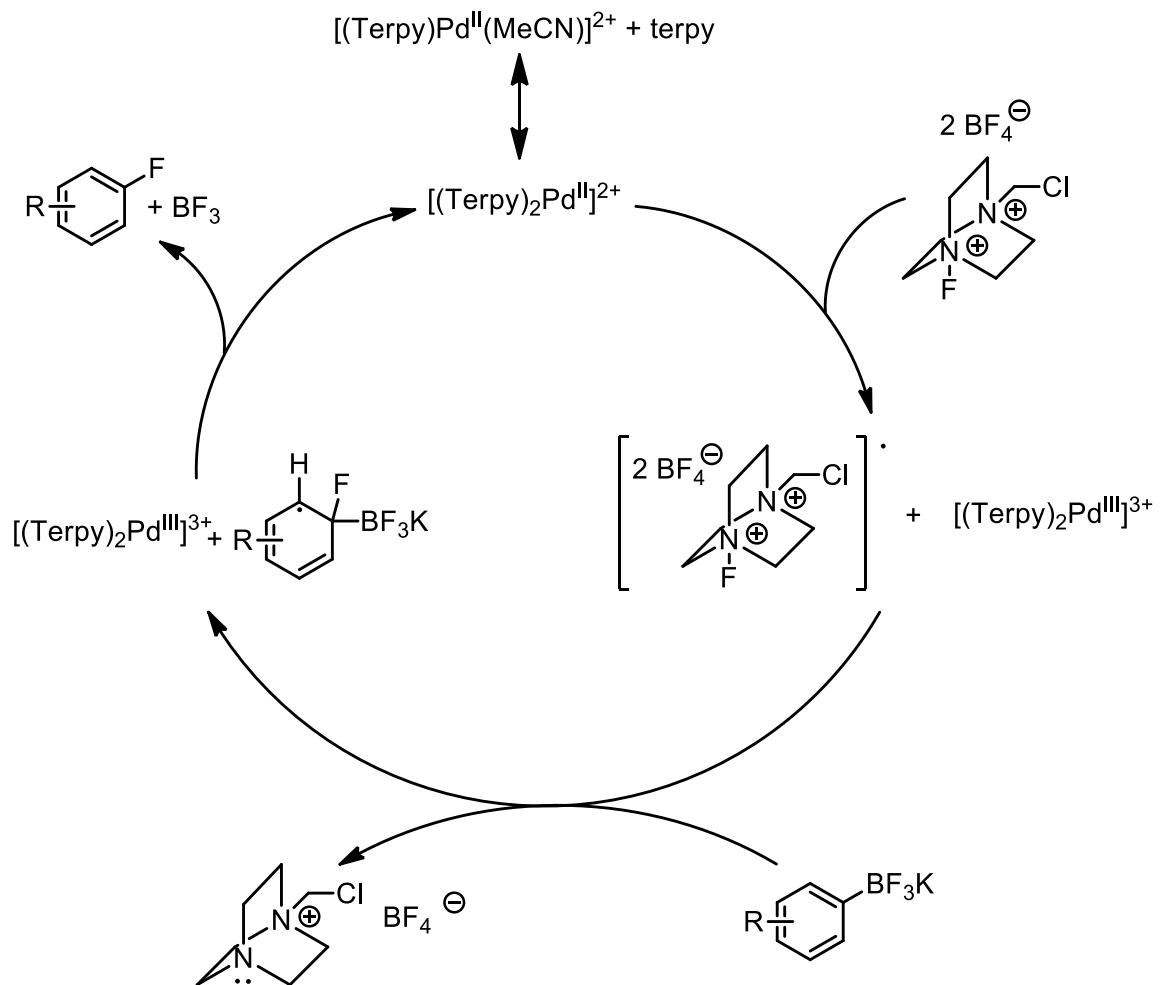


Abbildung 23: Mechanismus der Fluorierung nach Mazzotti et al. über Pd<sup>II</sup>-Spezies.<sup>[50]</sup>

Limitierend für Pd-vermittelte Ansätze ist die schwierige Zugänglichkeit der Pd-Komplexe in hohen Oxidationsstufen und ihre Empfindlichkeit gegenüber Luft und Feuchtigkeit sowie die zusätzlichen Reaktionsschritte zur Generierung der Intermediate.

Aufbauend auf diesem Verfahren entwickelte deshalb dieselbe Arbeitsgruppe ein Jahr später eine Ni-vermittelte Methode zur Radiofluorierung (Abb. 24).

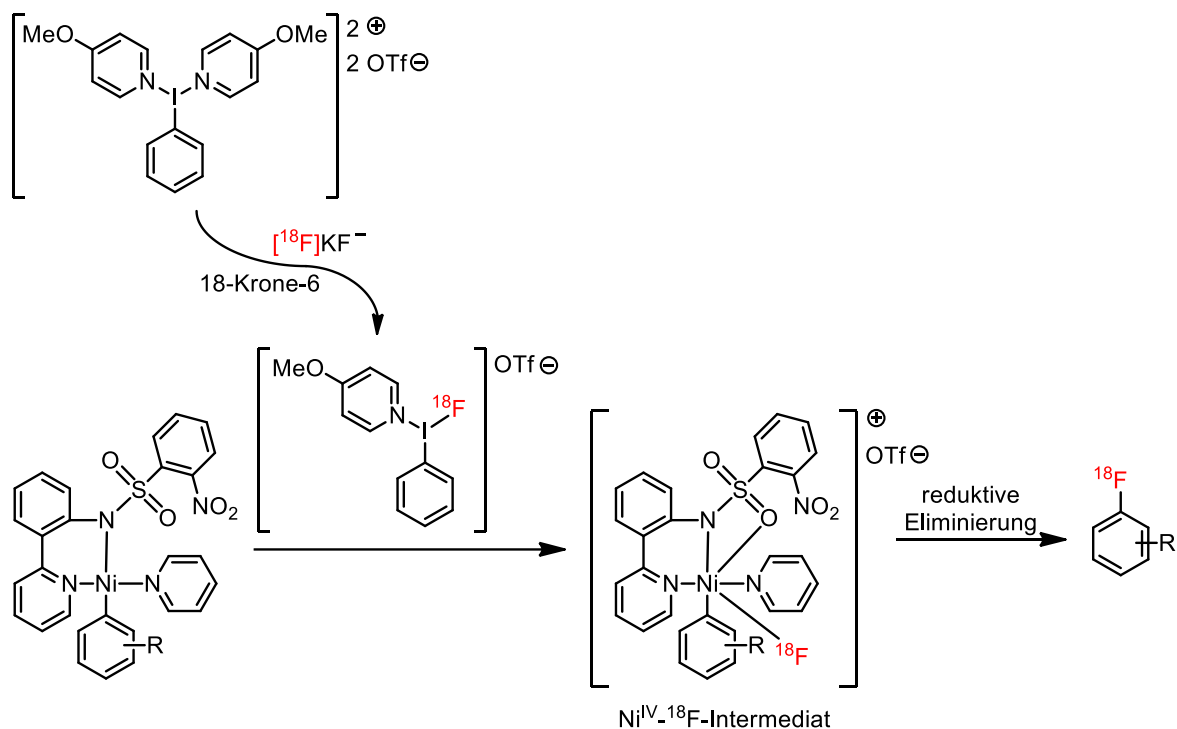


Abbildung 24: Ni-vermittelte Radiofluorierung nach Lee et al.<sup>[49]</sup>

In diesem Ni-vermittelten Verfahren ist das zu markierende Aryl an einen Ni-Komplex koordiniert und eine hypervalente Iodverbindung dient als Oxidationsmittel, wodurch die Verwendung der besonders feuchtigkeitsempfindlichen Pd-Komplexe umgangen wird. Gegenüber der Pd-vermittelten oxidativen Radiofluorierung wird bei dieser Methode ein Reaktionsschritt und somit Zeit eingespart, was bei dem Umgang mit kurzlebigen  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorid}$  wie bereits erwähnt von hoher Bedeutung ist. Die Übertragung des  $[^{18}\text{F}]\text{Fluorids}$  von der Iodverbindung auf den  $\text{Ni}^{\text{IV}}$ -Komplex geschieht auch hier via Transmetallierung und durch reduktive Eliminierung entsteht das  $^{18}\text{F}$ -fluorierte aromatische Produkt. Die Reaktionsbedingungen müssen allerdings auch bei diesem Protokoll inert gehalten werden und die Reaktion weist ebenfalls keine Toleranz gegenüber Feuchtigkeit auf.<sup>[49]</sup> Die in der Veröffentlichung verwendeten Aktivitätsmengen waren außerdem sehr gering ( $< 20 \text{ MBq}$ ) und sind nicht für praktische Anwendungen ausreichend.

Das Ni-Protokoll wurde unter „low-base“-Bedingungen (verringerte Basenmenge) auch von *Zlatopolskiy et al.* zur Synthese von  $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-L-dopamin}$  in radiochemischen Ausbeuten von  $12 \pm 2\%$  angewendet. Ein Ziel war es, stabilere Alternativen für die hypervalente, stark feuchtigkeitsempfindliche Iodverbindung zu finden. Allerdings führten keine der getesteten neuen Iod-Oxidationsmittel zu einer  $^{18}\text{F}$ -Inkorporation. Da auch hier die entsprechenden Ni-Komplexe zur Anwendung kamen und die radiochemischen Ausbeuten gering blieben konnte dieses Verfahren trotz Eintopf-

Charakter auch nicht in der Praxis angewendet und auf automatische Radiosyntheseapparaturen übertragen werden.<sup>[51]</sup>

#### **1.5.4.2. Cu-vermittelte Radiofluorierung**

Die Radiofluorierung mit Cu-Komplexen weist im Gegensatz zu den Ni- und Pd-Komplexen eine deutlich größere Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen, Luft und Feuchtigkeit auf. Schon die ersten Protokolle von *Ichishii et al.*<sup>[36]</sup> und *Tredwell et al.*<sup>[52]</sup> konnten ohne inerte Bedingungen durchgeführt werden und waren gegenüber den bisher bekannten Übergangsmetall-vermittelten Methoden robuster und deutlich einfacher durchzuführen. Später wurde von *Mossine et al.* und *Makaravage et al.* das Spektrum der Cu-vermittelten Radiofluorierung um Boronsäure- und Trimethylstannylsubstrate erweitert.<sup>[53]</sup> *Lee et al.* veröffentlichten weiterhin eine Methode zur direkten Radiofluorierung von C-H-Positionen (Abb. 25).<sup>[54]</sup> Nachteile dieser C-H-<sup>18</sup>F-Fluorierung sind Einschränkungen bei möglichen Substraten und stark basische Entschützungsbedingungen.

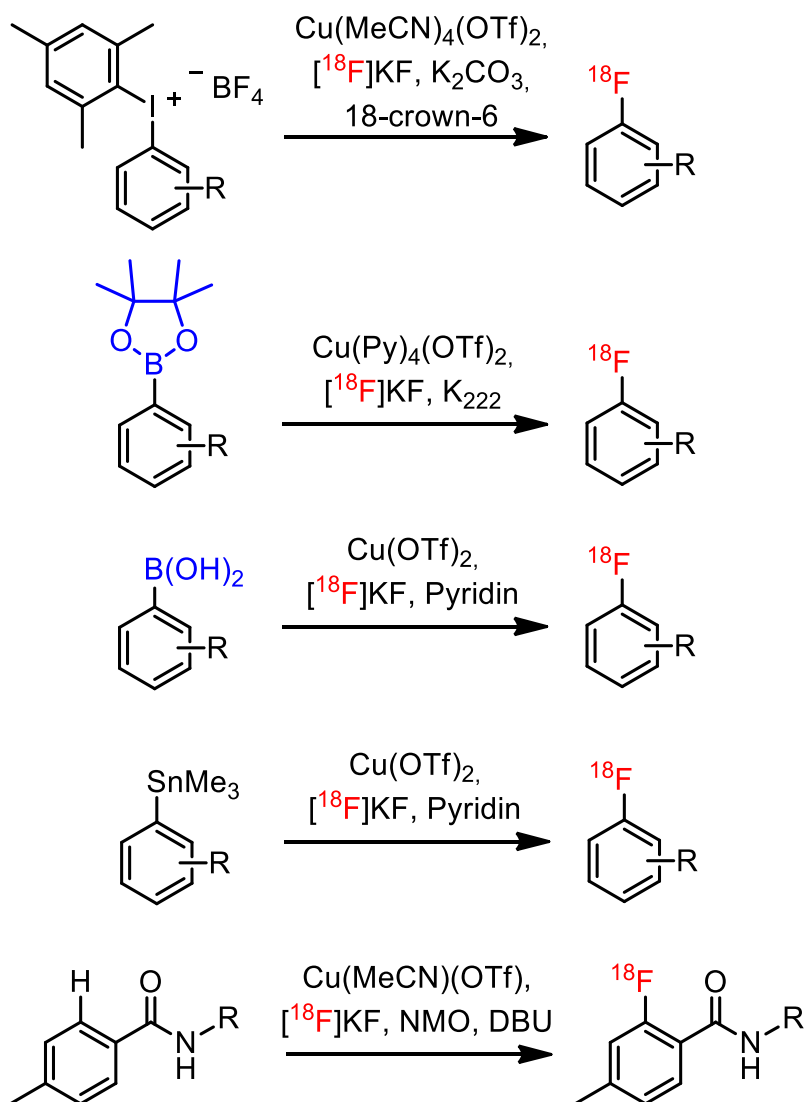


Abbildung 25: Cu-vermittelte Radiofluorierung nach Ichishii et al.<sup>[36]</sup>, Tredwell et al.<sup>[52]</sup>, Mossine et al.<sup>[53a]</sup>, Makaravage et al.<sup>[53b]</sup> und Lee et al.<sup>[54]</sup>

Der Mechanismus der von *Ichishii et al.* verwendeten Radiofluorierung für eine Reihe von Arylmesityliodoniumsalz-Vorläufern ist in Abb. 26 dargestellt.<sup>[55]</sup> Das eingesetzte  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Reagenz (z.B.  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ ) wird dabei im ersten Schritt durch Cu- oder Lösungsmitteldisproportionierung zu  $\text{Cu}^{\text{I}}$  reduziert.<sup>[56]</sup>

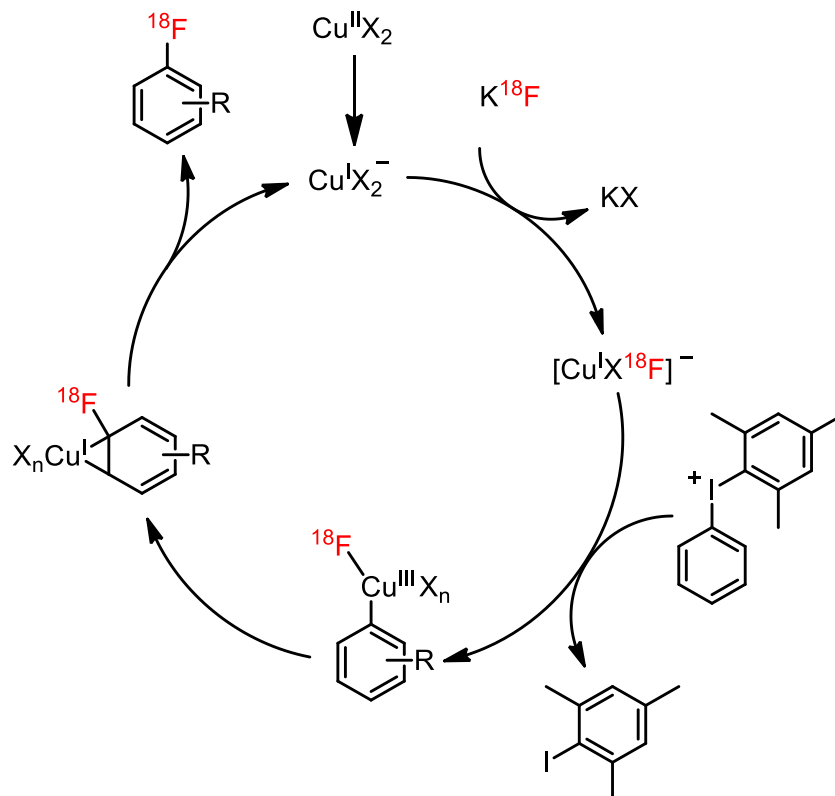


Abbildung 26: Vorgeschlagener Mechanismus der Cu-vermittelten Radiofluorierung an Aryliodoniumsalzen.<sup>[55]</sup>

Tredwell et al. entwickelten darauf aufbauend eine Methode zur Radiofluorierung von Boronsäurepinakolestern (BPin).<sup>[52]</sup> Beide dieser Methoden verwenden üblicherweise  $\text{CuL}_n(\text{OTf})_2$ -Komplexe, die deutlich weniger wasser- und luftempfindlich sind als  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ . Der Einsatz von leicht einzuführenden BPin-Abgangsgruppen hat außerdem das Spektrum von möglichen Zielverbindungen deutlich erweitert. Ein hypothetischer Reaktionsmechanismus der Radiofluorierung von BPin-Vorläufern ist in Abbildung 27 dargestellt.

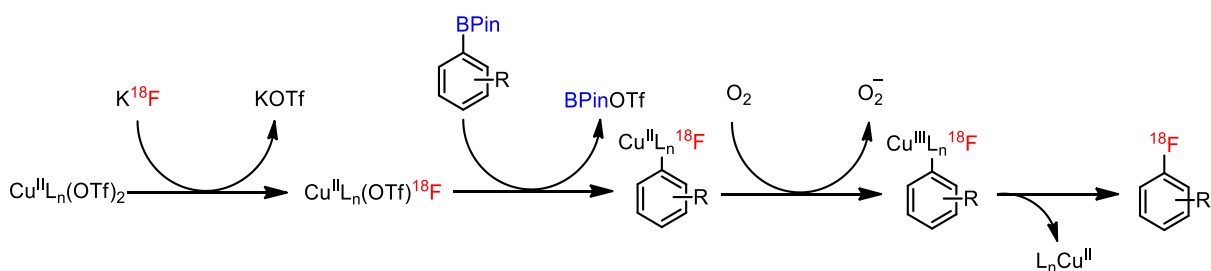


Abbildung 27: Vorgeschlagener Mechanismus der Cu-vermittelten Radiofluorierung an BPin-Vorläufern.

Wie in Abb. 27 ersichtlich ist, toleriert diese Cu-vermittelte Radiofluorierung Luft nicht nur, sondern benötigt sogar Sauerstoff für den oxidativen Schritt der Reaktion unter bestimmten Voraussetzungen. Sauerstoff aus der Umgebung ist dafür üblicherweise ausreichend und es ist keine separate Einleitung synthetischer Luft nötig. Dennoch blieb die Etablierung im präparativen Maßstab eine Herausforderung. Die relative

Basenempfindlichkeit der Cu-Mediatoren schränkte die Verwendung dieser Methode ein, weshalb von *Zlatopolskiy et al.* ein „low-base“-Verfahren entwickelt wurde, um die Menge der verwendeten Base  $K_2CO_3$  deutlich zu verringern.<sup>[57]</sup> Darüber hinaus wurde in derselben Veröffentlichung auch der minimalistische Ansatz auf Cu-vermittelte Methoden angewandt, wobei durch vollständigen Verzicht auf azeotrope Trocknung und Basenzusatz höhere Ausbeuten erzielt werden konnten. Dabei wird das  $[^{18}F]$ Fluorid mit einem Onium-Vorläufer statt einer Base von dem Anionenaustauscher eluiert. Radiochemische Umsätze für die verwendeten Modellverbindungen konnten so auf bis zu das zehnfache gegenüber den bis dato publizierten Ergebnissen mit größeren Basenmengen verbessert werden.<sup>[57]</sup>

### 1.5.4.3. Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung

Die Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung wurde auf Basis der bisherigen Ergebnisse von *Zlatopolskiy et al.* von *Zischler et al.* in 2017 veröffentlicht.<sup>[58]</sup> Gängige Methoden der Cu-vermittelten Radiofluorierung verwendeten zuvor beispielsweise DMF oder MeCN als Lösungsmittel. Ein Beispiel dieser Cu-vermittelten Radiofluorierung ist die Veröffentlichung von *Schäfer et al.*<sup>[59]</sup> Diese verwendet  $Cu(Py)_4(OTf)_2$  und beispielsweise eine 10:1 Mischung aus DMF und MeCN (Abb. 28).

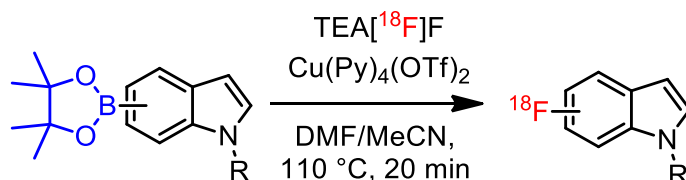


Abbildung 28: Cu-vermittelte Radiofluorierung nach Schäfer et al.<sup>[59]</sup>

Unter diesen Bedingungen wurden RCUs für Indolderivate von maximal 17% erreicht. Beste Ergebnisse wurden von *Schäfer et al.* in Sulfolan und MeCN (10:1) erhalten (RCU =  $53 \pm 10\%$ ). Die Elution des Fluorids erfolgte bei dieser Methode mit Methanol und Tetraethylammoniumtriflat.

Alkohole stellten bis dahin suboptimale Lösungsmittel für aromatische Radiofluorierungen dar. Jedoch zeigte die Arbeit aus 2017, dass der Zusatz von Alkoholen zum Reaktionsmedium eine Ausbeutensteigerung zur Folge hat. So wurde in diesem Syntheseprotokoll als alkoholisches Additiv *n*BuOH, welches verglichen mit anderen untersuchten Alkoholen die besten Ergebnisse zeigte, für die Elution und als Co-Lösungsmittel DMA (Verhältnis DMA/*n*BuOH: 2:1) verwendet, wodurch die sonst notwendige Verdampfung nach der Elution umgangen wurde (Abb. 29). Der

verwendete Komplex  $\text{Cu}(\text{Py})_4(\text{OTf})_2$  ist seitdem als gängigster verwendeter Cu-Mediator in der Cu-vermittelten Radiofluorierung etabliert.

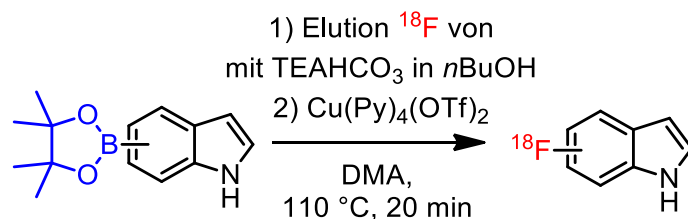


Abbildung 29: Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung nach Zischler et al.<sup>[58]</sup>

Mit diesem Verfahren konnten für Indol-Derivate RCUs von >95% im Vergleich zur Methode von Schäfer et al mit den besten RCUs von 53% erreicht werden.<sup>[60]</sup> Die Elution mit  $n\text{BuOH}$  führt allerdings zu einer erhöhten Gesamtmenge des Lösungsmittels, da ein Verhältnis von 2:1 zwischen DMA und  $n\text{BuOH}$  eingehalten werden muss. Diese Methode benötigt auch eine erhöhte Menge Vorläufer. Spätere Verfahren zur Alkohol-verstärkten Cu-vermittelten Radiofluorierung ziehen daher die Elution mit MeOH mit anschließender Verdampfung vor. Das Spektrum verwendeter Cu-Mediatoren wurde seit der Veröffentlichung von Zischler et al. stetig erweitert. In 2022 stellten Hoffmann et al. eine Studie zu insgesamt 36 verschiedenen Cu-Komplexen für die Cu-vermittelte Radiofluorierung vor.<sup>[61]</sup> Für die Alkohol-unterstützte Cu-vermittelte Radiofluorierung wurden in diesem Zusammenhang  $\text{Cu}(4\text{-Ph-Py})_4(\text{ClO}_4)_2$ ,  $\text{Cu}(3,4\text{-Me}_2\text{-Py})_4(\text{OTf})_2$  und  $\text{Cu}(3,4\text{-Me}_2\text{-Py})_4(\text{ClO}_4)_2$  als besonders geeignete, neue Mediatoren entdeckt. DMI wurde darüber hinaus als gutes Co-Lösungsmittel zu  $n\text{BuOH}$  bei der Fluorierung von BPin- und  $\text{B}(\text{OH})_2$ -Substraten identifiziert (Abb. 30).<sup>[61]</sup>

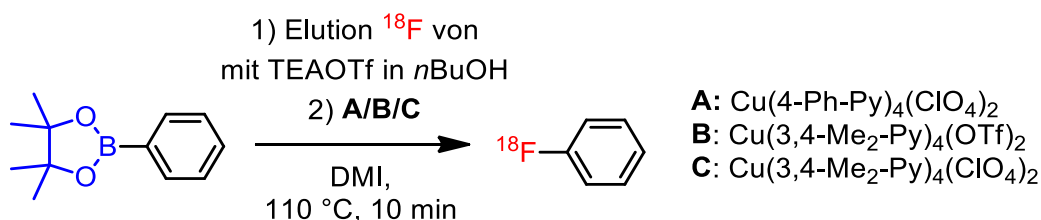


Abbildung 30: Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung mit neuartigen Cu-Mediatoren nach Hoffmann et al.<sup>[61]</sup>

In der vorliegenden Arbeit werden die klassischen und neuen Methoden entsprechend ihrer Effektivität für die vorliegenden Substrate zur Synthese von radiofluorierten Aminosäuren verwendet.

## 1.6. Radiofluorierung von aromatischen Aminosäuren

Wegen ihrer diagnostischen Relevanz sind aromatische Aminosäuren von besonderem Interesse bei der Entwicklung neuer Radiofluorierungsmethoden. Die radiosynthetische Zugänglichkeit dieser Strukturen ist seit vielen Jahren ein wichtiges Thema der Radiochemie.

### 1.6.1. Radiosynthese von Phenylalanin-Derivaten

Während erste Radiosynthesen vor allem auf die Markierung von Phenylalaninen mit  $[^{11}\text{C}]$ Kohlenstoff beschränkt waren,<sup>[62]</sup> wurden bereits in den 70er und 80er Jahren frühe Protokolle zur Radiofluorierung von Phenylalanin-Derivaten veröffentlicht. *Lemaire et al.* entwickelten beispielsweise ein erstes Protokoll für die Synthese von n.c.a. *rac* 4- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin mit anschließender chiraler Trennung der Enantiomere.<sup>[63]</sup> Hierbei wurde im ersten Schritt ein Nitrobenzaldehyd in DMSO radiofluoriert und anschließend mit 2-Phenyl-5-oxazolone gekuppelt, um die geschützte Aminosäure-Gruppe einzuführen. Dieses Intermediat wurde mit Essigsäure, Iodwasserstoff und Phosphor reduziert und hydrolysiert. Die Enantiomere der gebildeten racemischen Aminosäure wurden dann mittels chiraler HPLC getrennt und lieferten das enantiomerenreine (S)-4- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin (Abb. 31).

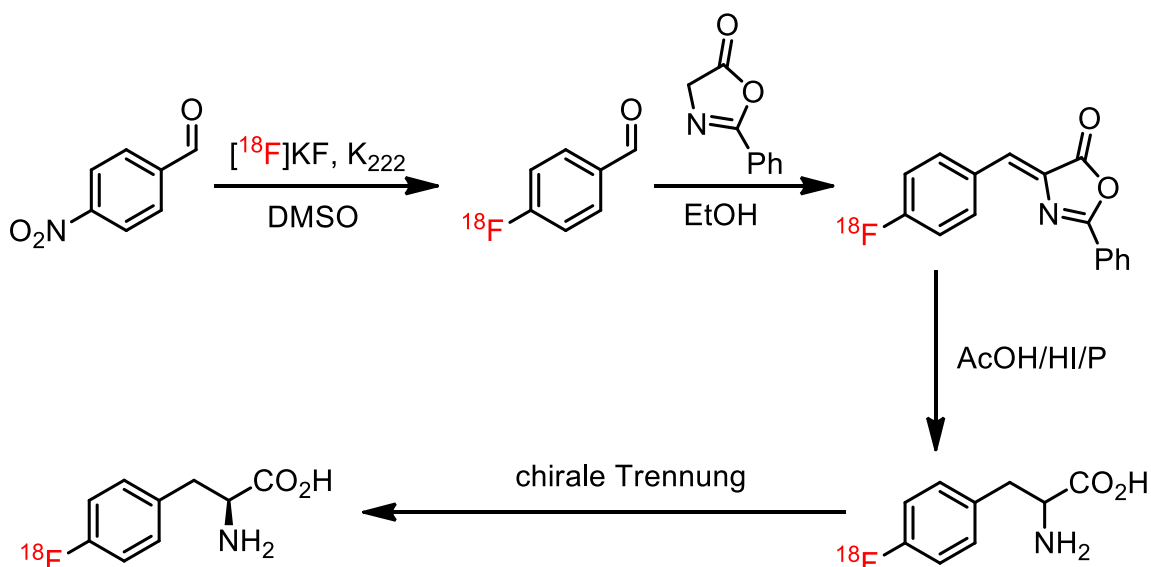


Abbildung 31: Synthese von (S)-4- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin nach Lemaire et al.<sup>[63]</sup>

Diese Synthese führte allerdings nur zu einer radiochemischen Ausbeute von 10% und benötigte eine Vielzahl von Schritten und dauert insgesamt 2 Stunden.

Zur Umgehung der aufwendigen chiralen Trennung racemischer radiofluorierter Verbindungen wurde in den Jahren seit den ersten veröffentlichten Synthesen



radiofluorierter aromatischer Aminosäuren fortlaufend nach Möglichkeiten gesucht, diese stereoselektiv zu synthetisieren.

Möglichkeiten dazu sind z.B. die Verwendung geschützter Aminosäuren mit geeigneten Abgangsgruppen für die Radiofluorierung. *Neumann et al.* verwendeten in 2013 ein Boc- und Methoxy-geschütztes Phenylalanin-diaryliodonium Salz und setzten dieses mit  $[^{18}\text{F}]\text{KF}/\text{K}_{222}$  in Toluol um. Dadurch erhielten sie (S)-4- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin in einer Ausbeute von  $20 \pm 2\%$  (Abb. 32).<sup>[64]</sup>

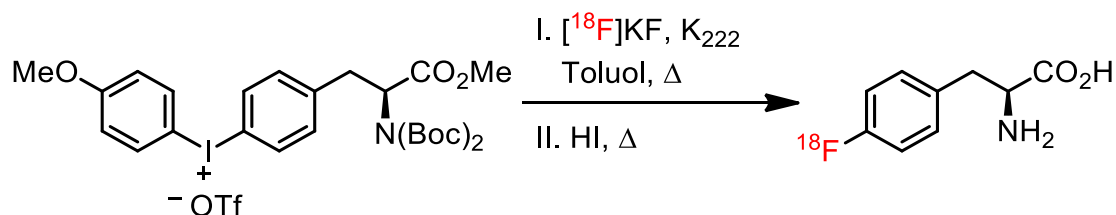


Abbildung 32: Synthese von (S)-4- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin nach *Neumann et al.*<sup>[64]</sup>

Diese Methode wurde mit einem ähnlichen Vorläufer in 2015 von *Zlatopolskiy et al.* auf die Cu-vermittelte Radiofluorierung übertragen, um die Zugänglichkeit von (S)-4- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin durch nukleophile Radiofluorierung zu verbessern (Abb. 33). Dabei wurde der minimalistische Ansatz verwendet, bei dem das Fluorid direkt mit dem Vorläufer eluiert wurde.<sup>[57]</sup>

Die radiochemische Ausbeute des Tracers konnte so im Vergleich zu *Neumann et al.* auf bis zu 66% verbessert werden, was die Möglichkeit für zukünftige präklinische und klinische Untersuchungen des Tracers eröffnete. Diese Methode wurde in derselben Arbeitsgruppe 2019 von *Modemann et al.* auch zur Radiosynthese von (S)-2- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin benutzt (Abb. 33). Die beste radiochemische Ausbeute wurde in diesem Fall unter „low-base“-Bedingungen mit  $48 \pm 8\%$  erreicht.<sup>[65]</sup> Im Fall von (S)-2- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanin wurde  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid mit  $\text{TEAHCO}_3$  statt mit dem Vorläufer eluiert, um den Kontakt des Vorläufers mit dem Anionenaustauscher zu vermeiden. Bei der Elution mit dem Vorläufer des 2-Fluor-Derivates wurde eine Racemisierung beobachtet, die auf die Abstrahierung des  $\alpha$ -Protons der Aminosäure durch die Gegenwart von  $\text{HCO}_3^-$  auf der Anionenaustauscherkartusche zurückzuführen war. Bei Elution entsprechend der „low-base“-Methode wurde keine Racemisierung beobachtet.

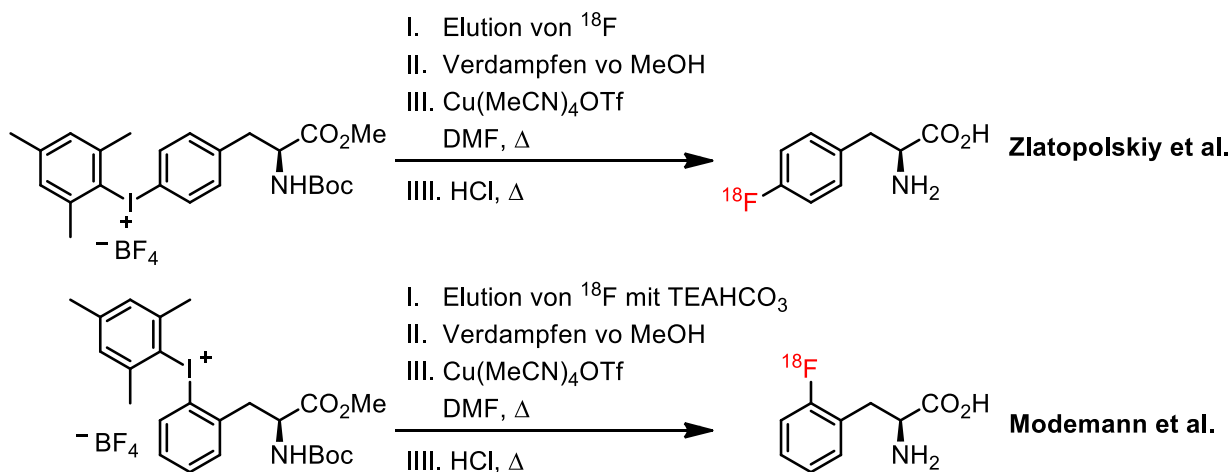


Abbildung 33: Synthese von (S)-4-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylalanin und (S)-2-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylalanin nach Zlatopolskiy et al.<sup>[57]</sup> und Modemann et al.<sup>[65]</sup>

Antuganov et al. verwendeten das Cu-vermittelte Protokoll mit einem BPin-Vorläufer für die Synthese von *rac*-4-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylalanin und erhielten die Zielstruktur in einer radiochemischen Ausbeute von 35 – 38% in 90 min. In diesem Fall wurde das Racemat als „proof-of-concept“-Studie synthetisiert und nicht chiral abgetrennt (Abb. 34).<sup>[66]</sup>

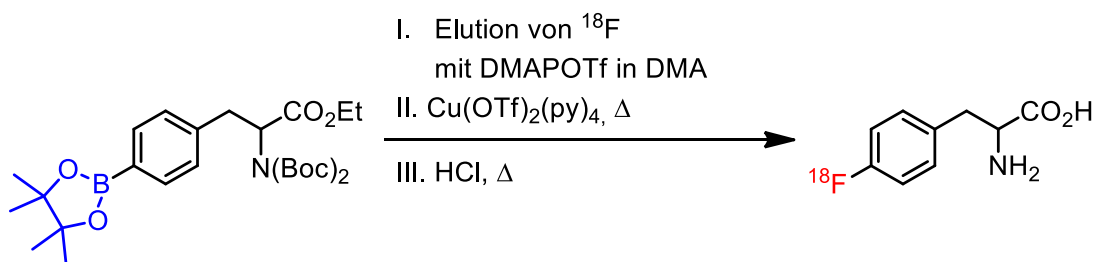


Abbildung 34: Synthese von *rac*-4-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorphenylalanin nach Antuganov et al.<sup>[66]</sup>

Eine weitere leicht zugängliche Form für stereoselektive Vorläufer radiofluorierter aromatischer Aminosäuren basiert auf (S)-Ni-BPB-Gly-Komplexen. Dieser Komplex wurde von Belokon et al. 1985 in einer wegweisenden Veröffentlichung publiziert.<sup>[67]</sup> Solche Komplexe können durch Alkylierung mit einem entsprechend substituierten Phenyl in stabile, leicht zugängliche Vorläufer für (S)-Phenylalanine umgesetzt werden (Abb. 35).

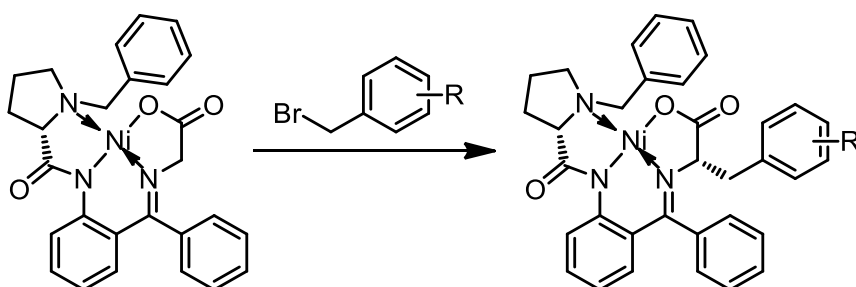


Abbildung 35: Form des (S)-Ni-BPB-Gly-Komplexes nach Belokon et al.<sup>[67]</sup> und eines schematischen (S,S)-Ni-BPB-Phe-Derivates.

Die Stereoinformation bei der Alkylierung der  $\alpha$ -Position wird durch den sterischen Anspruch der Phenylgruppe der Prolin-Einheit induziert.

Solche Ni-Belokon-AS-Komplexe können zur Radiosynthese von Phenylalanin-Derivaten verwendet werden. *Orlovskaya et al.* verwendeten solche Strukturen als Intermediate bei der Bereitstellung von Mesitylaryliodonium-Vorläufern für Radiofluorierung von Phenylalaninen unter „minimalistischen“ Bedingungen.<sup>[68]</sup>

*Krasikova et al.* verwendeten solche Ni-BPB-Komplexe als direkte Vorläufer für den Phenylalanin-verwandten Radiotracer [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorethyltyrosin und erreichten so radiochemische Ausbeuten von 40 – 45% (Abb. 36).<sup>[69]</sup>

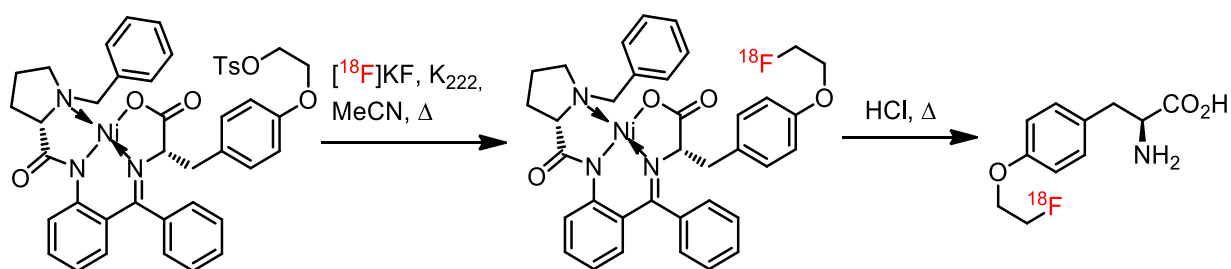


Abbildung 36: Synthese von [ $^{18}\text{F}$ ]FET nach Krasikova et al

Die Verwendung von Ni-BPB-Komplexen als Vorläufer sollte auch in der vorliegenden Dissertation in den Untersuchungen zu Phenylalanin-Derivaten evaluiert werden.

### 1.6.2. Radiosynthese von Tryptophan-Derivaten

Erste Radiofluorierungen von Tryptophan waren auf die Herstellung von racemischen Tryptophanen beschränkt. *Atkins et al.* stellten 1972 die Radiosynthese von racemischem 5- und 6- $^{18}\text{F}$ Fluortryptophan aus einem geeigneten Vorläufer, der aus einem Nitrogramin gewonnen wurde, und  $\text{LiB}^{18}\text{F}_4$  über eine Balz-Schiemann Reaktion her (Abb. 37).  $^{18}\text{F}$  wurde hierbei über eine  $^{19}\text{F}(p,pn)^{18}\text{F}$ -Kernreaktion gewonnen.<sup>[70]</sup>

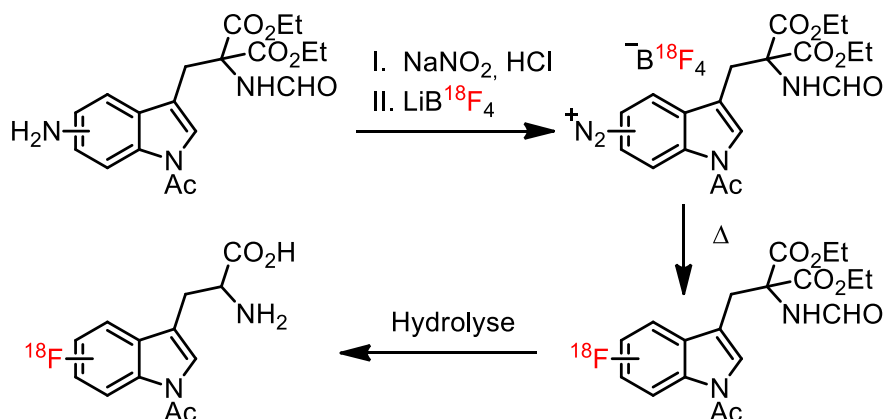


Abbildung 37: Radiosynthese von rac 5- und 6- $^{18}\text{F}$ FTrp nach Atkins et al.<sup>[70]</sup>

Diese Synthese wurde in derselben Veröffentlichung auch mit [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid in  $\text{H}_2\text{O}$ , das über die  $^{16}\text{O}(^3\text{He},\text{p})^{18}\text{F}$ -Kernreaktion gebildet wurde, durchgeführt. In beiden Fällen ist die spezifische Aktivität allerdings durch den Zusatz von Träger stark begrenzt.  $\text{LiB}^{18}\text{F}_4$  enthält von Natur aus Träger und das zugegebene [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorid in Wasser enthält eine geringe Menge an Kaliumfluorid als Träger. Die radiochemischen Ausbeuten lagen in diesem Fall entsprechend *Atkins et al.* in einem Bereich von 17 – 27%.

In den folgenden Jahren wurde weiterhin an vereinfachten Synthesen für radiomarkierte Tryptophane geforscht. Unter anderem wurden dabei Methoden für die Synthese von  $^{11}\text{C}$ -markierten Tryptophan-Derivaten entwickelt, wie z.B. ein enzymatisches Protokoll von *Bjurling et al.* in 1989 (Abb. 38).<sup>[71]</sup> Bei diesem Verfahren wurde zunächst aus [ $^{11}\text{C}$ ]Methyliodid und *N*-(Diphenylmethylen)glycin *tert*-Butylester [ $^{11}\text{C}$ ]Alanin hergestellt, welches enzymatisch mit D-Aminosäureoxidase (D-AAO), Katalase und Glutamin-pyruvat-transaminase (GPT) in [ $^{11}\text{C}$ ]Brenztraubensäure umgewandelt wurde. Durch Kupplung mit einem Indol mithilfe von Tryptophanase (TPase) wurde das entsprechende (*S*)- $\beta$ - $^{11}\text{C}$ -Tryptophan oder -5-hydroxytryptophan in radiochemischen Ausbeuten von ca. 25% erhalten.

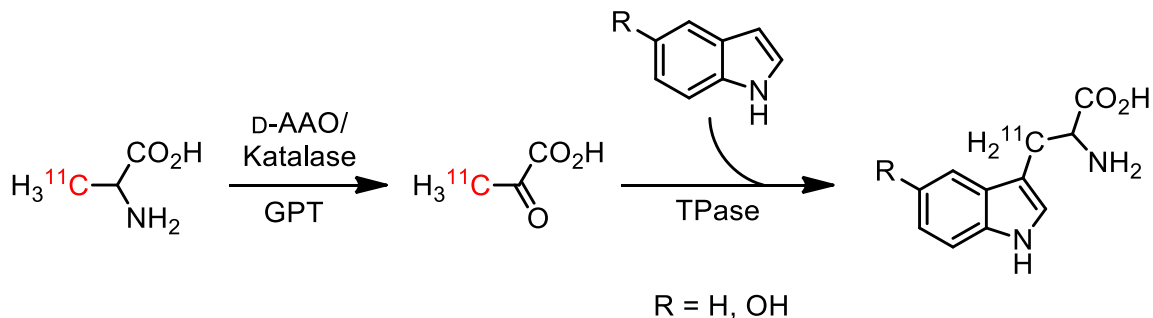


Abbildung 38: Enzymatische Radiosynthese von (*S*)- $\beta$ - $^{11}\text{C}$ -Tryptophan und -5-hydroxytryptophan aus  $\beta$ - $^{11}\text{C}$ -Alanin nach *Bjurling et al.*<sup>[71]</sup>

Nachteile dieses Verfahrens sind beispielsweise Komplikationen durch Verfügbarkeit und Handhabung von benötigten Enzymen sowie die genaue Kontrolle des pH-Wertes. Ein weiterer für  $^{11}\text{C}$  typischer Nachteile ist dessen kurze Halbwertszeit. Dieses Problem wird durch die zusätzlichen benötigten Reaktionsschritte und die damit einhergehende zusätzliche Synthesezeit, um aus dem anfänglich verfügbaren [ $^{11}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> die benötigte [ $^{11}\text{C}$ ]Brenztraubensäure herzustellen, noch vergrößert, was zusätzlich einen negativen Einfluss auf die maximale RCA hat.

Die Nutzung der  $^{18}\text{F}$ -Markierung von Trp-Derivaten wurde ebenfalls weiterentwickelt. *Shih et al.* synthetisierten [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorpropoxytryptophan ([ $^{18}\text{F}$ ]FPT), ein Tryptophan mit

einer prosthetischen Propylgruppe, aus geschütztem Tosylpropoxytryptophan mit der klassischen Kryptofix-Radiofluorierungsmethode (Abb. 39).<sup>[72]</sup>

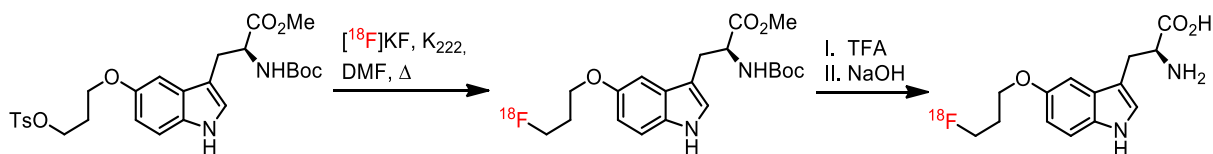


Abbildung 39: Radiosynthese von  $[^{18}\text{F}]$ FPT nach Shih et al.<sup>[72]</sup>

In diesem Verfahren wurde das wässrige  $[^{18}\text{F}]$ Fluorid durch azeotrope Trocknung vom Wasser getrennt und mit Kaliumcarbonat und Kryptofix<sub>222</sub> in Acetonitril aufgenommen. Für die Radiofluorierung wurde ein Aliquot dieser Lösung in das Reaktionsgefäß mit dem Vorläufer gegeben. Diese Radiosynthese wurde für die Verwendung auf einem automatisierten Synthesemodul entworfen, weshalb die Verwendung eines Aliquots einer  $[^{18}\text{F}]$ KF/ $\text{K}_{222}$  ihre Skalierbarkeit einschränkt. Der Aliquot wurde manuell in das Modul injiziert, was die verfügbare Aktivität trotz Automatisierung auf einige GBq oder weniger für diese Methode beschränkt. Die radiochemische Ausbeute lag entsprechend der Angaben von *Shih et al* bei 38%.<sup>[72]</sup> Darüber hinaus fand die Radiomarkierung des Trp-Derivates in diesem Fall an einer prosthetischen Gruppe und nicht direkt an der Struktur des Tryptophans statt.

Die Markierung von Trp-Derivaten in aromatischen Positionen ohne die Verwendung prosthetischer Gruppen ist von großem Interesse und mit diesem Ziel wurde beispielsweise von *Weiss et al.* ein Verfahren unter Verwendung von Isotopenaustausch entwickelt.<sup>[73]</sup> Die Arbeitsgruppe von *Weiss et al.* untersuchte zunächst die Radiosynthese von verschiedenen Fluorindolcarbaldehyden mit unterschiedlichen Schutzgruppen und Substitutionsmustern (Abb. 40). Anhand eines 6-Fluorindols als Modellsubstrat wurde zunächst der Einfluss von Benzyl-, Methyl-, Boc-, Tosyl- und TIPS-Schutzgruppen auf die Radiofluorierung mit  $[^{18}\text{F}]$ TBAF in DMF bei 130 °C untersucht. Die beste RCA wurde dabei mit dem Benzyl-substituierten Derivat mit  $25 \pm 7\%$  erreicht. Im nächsten Schritt wurde der Einfluss der Position des Fluor- und Aldehyds substituenten evaluiert. Die besten Ergebnisse lieferte hier bei 110 – 150 °C das 1-Benzyl-4-fluorindol-5-carbaldehyd mit einer RCA von ca. 95% (Abb. 40). Trotz dieser guten Ausbeute konnte diese Struktur allerdings nicht für die weiteren Schritte zur Radiosynthese von  $[^{18}\text{F}]$ Fluortryptophan verwendet werden, da keine der verwendeten Folgereaktionen in der Lage waren, das Indol zu debenzylisieren. Die Autoren wichen deshalb ersatzweise auf eine Boc-Gruppe für weitere Untersuchungen aus, da diese leicht abzuspalten ist (Abb. 40).

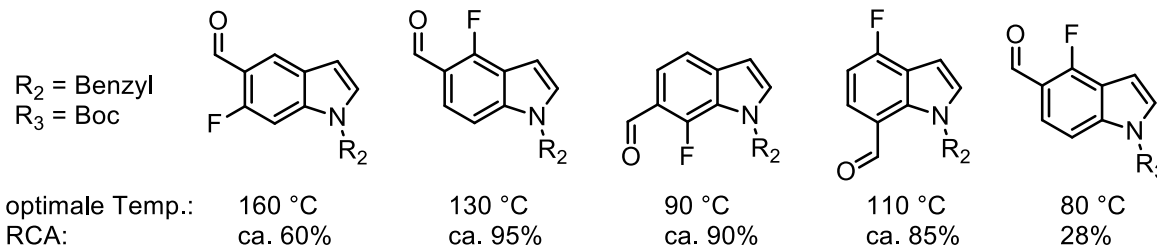
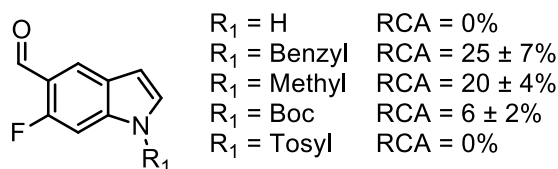


Abbildung 40: Untersuchungen von verschiedenen Fluorindolcarbaldehyden für  $^{18}\text{F}$ - $^{19}\text{F}$ -Isotopenaustausch von Weiss et al.<sup>[73]</sup>

Entsprechend dieser Daten wandten Weiss et al. diese Methode auf die Radiosynthese von (S)-4- $^{18}\text{F}$ Fluortryptophan an (Abb. 41). Ein Benzyl-(2S,5S)-2-tert-butyl-5-[(1-Boc-4-fluor-5-formyl-1H-indol-3-yl)methyl]-3-methyl-4-oxoimidazolidin-1-carboxylat-Vorläufer wurde in DMF mit TBA $^{18}\text{F}$ F bei 80°C (Mikrowellenheizung) fluoriert und anschließend in 2 Schritten mit Rh(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl und HCl decarboxyliert und hydrolysiert.

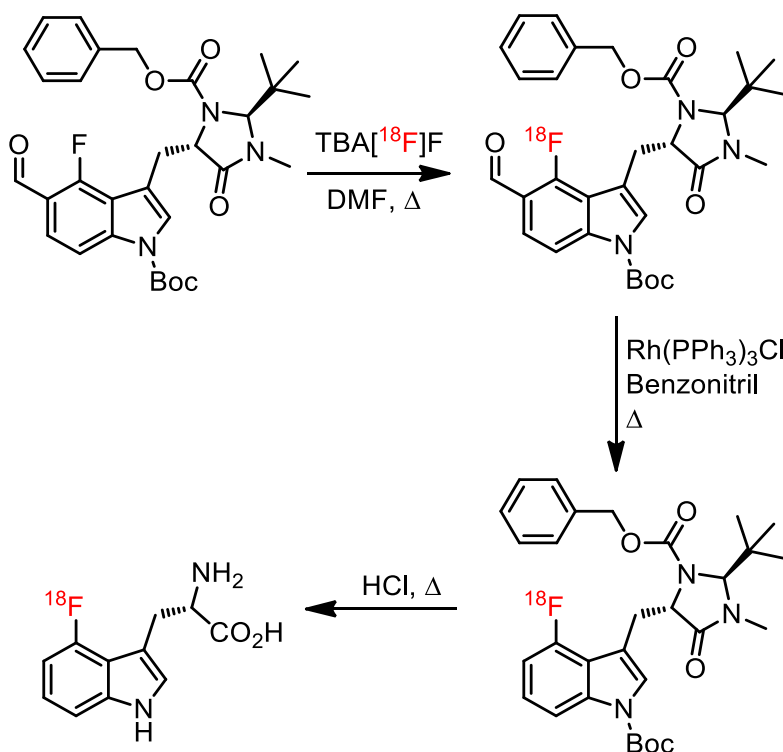
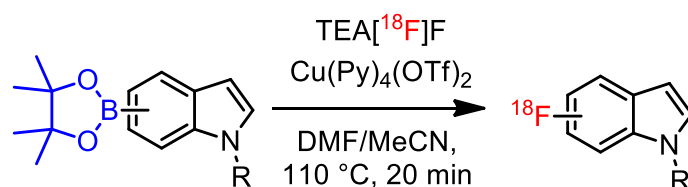


Abbildung 41: Radiosynthese von (S)-4- $^{18}\text{F}$ Fluortryptophan durch Isotopenaustausch nach Weiss et al.<sup>[73]</sup>

Die gesamte radiochemische Ausbeute lag bei 13% nach einer Syntheszeit von nur 27 Minuten. Durch die getrennte Entfernung der Carbonyl- und Schutzgruppen werden

allerdings insgesamt 3 Reaktionsschritte für diese Methode benötigt, da die Entschützung des Intermediates nicht in einem Schritt möglich war.

Schäfer *et al.* wandten 2016 die Cu-vermittelte Radiofluorierung auf Indol-Derivate mit BPin-Abgangsgruppen an, um die Reaktivität der aromatischen Positionen gegenüber Substitution zu untersuchen, und stellten schließlich 6-[<sup>18</sup>F]Fluortryptophan mit dieser Methode her.<sup>[59]</sup> Vier Indole wurden, wenn möglich, mit Tosyl-Schutzgruppen am Stickstoff und BPin-Gruppen in 4-, 5-, 6- und 7-Position verglichen (Abb. 42). Der 7-[<sup>18</sup>F]Fluorindol-Vorläufer konnte wegen sterischer Behinderung nicht geschützt werden. Das [<sup>18</sup>F]Fluorid wurde mit TEAHCO<sub>3</sub> von einer QMA-Kartusche eluiert und nach Entfernung des Lösungsmittel wurde der gewählte Vorläufer mit Cu(Py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> in DMF/MeCN bei 110 °C radiomarkiert. Die Effizienz der Radiofluorierungsreaktion wurde über den radiochemischen Umsatz bestimmt (Abb. 42).



- 4-[<sup>18</sup>F], R = Tos, RCU = 7%
- 5-[<sup>18</sup>F], R = Tos, RCU = 11%
- 6-[<sup>18</sup>F], R = Tos, RCU = 17%
- 7-[<sup>18</sup>F], R = H, RCU = 2%

Abbildung 42: Radiosynthese von 4-, 5-, 6- und 7-[<sup>18</sup>F]Fluorindol-Derivaten nach Schäfer *et al.*<sup>[59]</sup>

Für die Entwicklung einer Methode zur Synthese von [<sup>18</sup>F]Fluortryptophan wurde auf Basis dieser Daten 6-[<sup>18</sup>F]Fluortryptophan von den Autoren als Zielstruktur gewählt. Ausgehend von via Schöllkopf-Methode produziertem *tert*-Butyl-3-[[*(2R,5S)*-3,6-dimethoxy-5(propan-2-yl)-2,5-dihydropyrazin-2-yl]methyl]-6-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl-1H-indol-1-carboxylat wurde die Cu-vermittelte Radiofluorierung verwendet (Abb. 43).

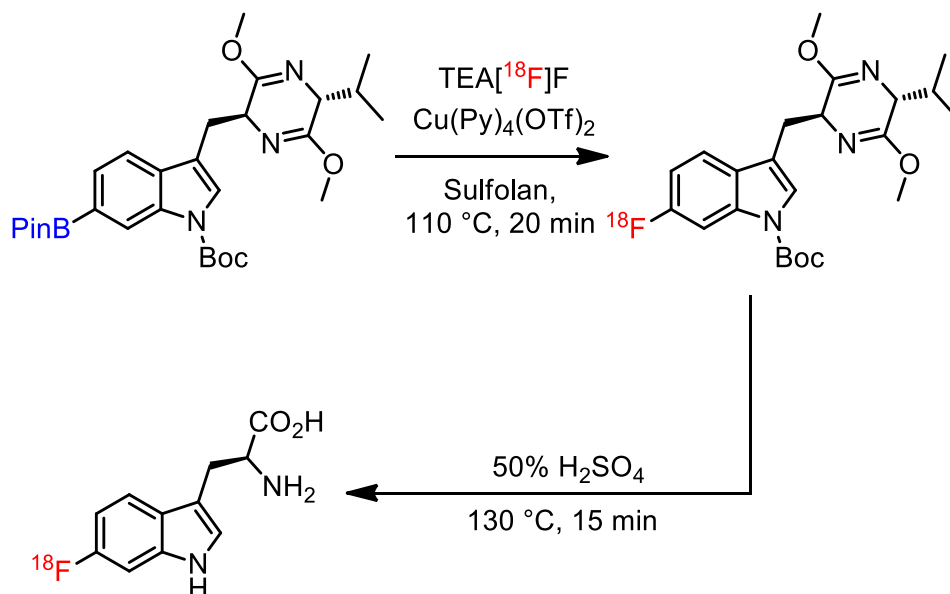


Abbildung 43: Radiosynthese von 6- $^{18}\text{F}$ Fluortryptophan unter optimierten Bedingungen nach Schäfer et al.<sup>[59]</sup>

Nach Hydrolyse mit 50%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  wurde (S)-6- $^{18}\text{F}$ Fluortryptophan in  $16 \pm 4\%$  RCA mit einer molaren Aktivität von 280 GBq/ $\mu\text{mol}$  erhalten. Diese robuste Methode besteht aus nur 2 Schritten und ist potenziell auf automatisierte Systeme übertragbar. Im Jahr darauf wurde in derselben Arbeitsgruppe Neumaier von *Zlatopolskiy et al.* die neu entwickelte Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung für die Darstellung weiterer  $^{18}\text{F}$ Fluortryptophane angewandt.<sup>[74]</sup> Durch die Elution von  $^{18}\text{F}$ Fluorid mit  $\text{TEAHCO}_3$  in MeOH mit anschließender Verdampfung und Radiofluorierung in DMA/*n*BuOH (2:1) wurden in dieser Veröffentlichung RCUs von 90% für Indole mit 10  $\mu\text{mol}$  Vorläufer erreicht (Abb. 44). Die Verwendung von MeOH zur Elution diente zur Vorbeugung gegen den Einbruch des radiochemischen Umsatzes bei der Verringerung der Vorläufermenge entsprechend *Richarz et al.*<sup>[75]</sup>

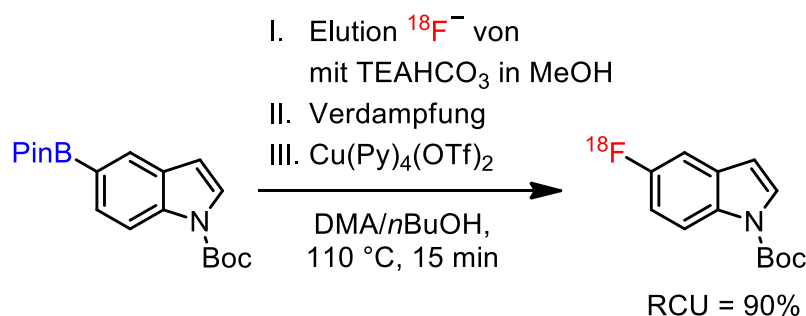


Abbildung 44: Radiochemischer Umsatz für die Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung nach *Zlatopolskiy et al.*<sup>[74]</sup>

Für die Synthese von  $^{18}\text{F}$ Fluortryptophanen wurden (S)-*N*-Boc-BPinTrp-O*t*Bu-Vorläufer verwendet. *Zlatopolskiy et al.* produzierten auf diesem Weg 4-, 5-, 6- und 7- $^{18}\text{F}$ Fluortryptophan in Ausbeuten von 40 – 53% (Abb. 45).



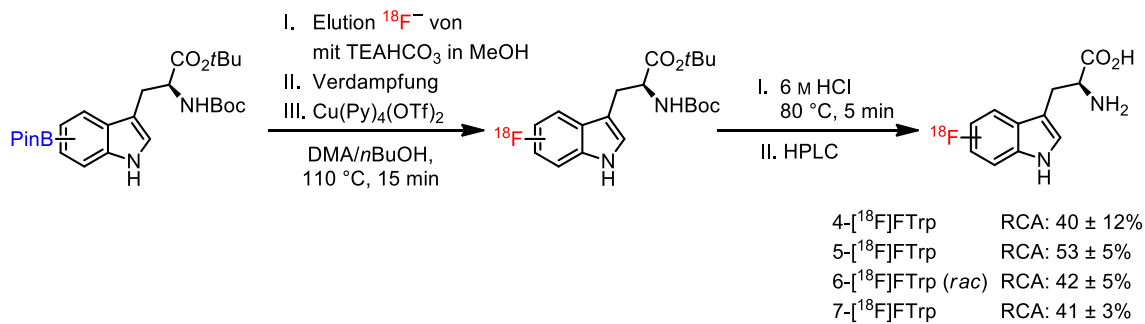


Abbildung 45: Radiosynthese von 4-, 5-, 6- und 7- $^{18}\text{F}$ ]Fluorotryptophan nach Zlatopolskiy et al.<sup>[75]</sup>

Die Tryptophane wurden nach der HPLC-Reinigung in sofort verwendbaren Lösungen mit 6 – 8% EtOH erhalten und nachfolgend in präklinischen Untersuchungen evaluiert. 4-, 5- und 6- $^{18}\text{F}$ ]FTrps wiesen eine ausgeprägte *in vivo* Instabilität auf. Dies wurde von *Zlatopolskiy et al.* auf die Tatsache zurückgeführt, dass 6-FTRp und 5-FTRp jeweils sehr gut bekannte Substrate für die TDO darstellen und somit schnell metabolisiert werden. 4-FTRp ist kein TDO Substrat, wird aber wie 5- und 6-FTRp durch IDO metabolisiert.<sup>[75]</sup> 7-FTRp ist hingegen ein Inhibitor für sowohl die TDO, als auch für IDO. Aus diesem Grund wurde eine hohe *in vivo*-Stabilität von 7- $^{18}\text{F}$ ]FTRp beobachtet. Auch beobachteten *Zlatopolskiy et al.* dabei eine hohe zelluläre Aufnahme von 7-FTRp in Krebszellen mit erhöhtem Trp-Metabolismus. Daher schlussfolgerten sie, dass 7- $^{18}\text{F}$ ]FTRp ein vielversprechender Kandidat für die Bildgebung des Trp-Metabolismus ist.

Die Weiterführung dieser Arbeit an radiofluorierten Tryptophan-Derivaten war ein Bestandteil der vorliegenden Dissertation.

### 1.6.3. Radiosynthese von Phenylserin- und Noradrenalin-Derivaten und -Prodrugs

Zur Radiofluorierung von Phenylserin-Derivaten ist bisher noch wenig bekannt. Durch seine strukturelle Verwandtschaft zu bereits radiochemisch besser erforschten Molekülen und deren Derivaten wie Phenylalanin, DOPA und FET kann die Hypothese aufgestellt werden, dass sich Phenylserin-Derivate synthetisch ähnlich zu den bekannten aromatischen Aminosäuren verhalten. Bisherige Studien zum noradrenergen System beschäftigten sich primär mit noradrenerger Rezeptordichte und Norepinephrintransportern (NET).

Von *Jang et al.* wurde beispielsweise Verfahren zur Synthese von 2-[2-(4-Fluor-3-hydroxyphenyl)ethyl]guanidin (4- $^{18}\text{F}$ ]F-MHPG), einem fluorierten Guanidin-Derivat

von Noradrenalin, entwickelt, welches später von *Jung et al.* optimiert wurde (Abb.46).<sup>[76]</sup> Über einen spirozyklischen Vorläufer konnte 4-<sup>[18F]</sup>F-MHPG in zwei Schritten automatisiert in einer radiochemischen Ausbeute von  $7,8 \pm 1,4\%$  erhalten werden. Der Tracer zeigte eine signifikante Aufnahme in adrenerg-innerviertem Gewebe wie dem Nebennierenmark.<sup>[76a]</sup>

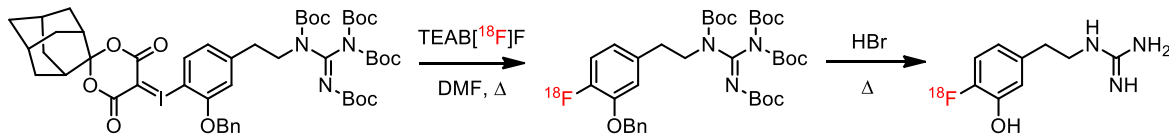


Abbildung 46: Radiosynthese von 4-<sup>[18F]</sup>F-MHPG nach Jung et al.<sup>[76b]</sup>

Weitere radiosynthetische Ansätze zur Visualisierung von NET bedienen sich beispielsweise des NET-Liganden <sup>[18F]</sup>FMeNER-D<sub>2</sub>.<sup>[77]</sup>

Ein Weg zur Synthese von (2*S*,3*R*)-6-<sup>[18F]</sup>Fluor-3,4-dihydroxyphenylserin (6-<sup>[18F]</sup>FDOPS) als Tracer für NET wurde von *Fedorova et al.* 2014 veröffentlicht (Abb. 47).<sup>[78]</sup> Bei dieser Methode verwendeten die Autoren chirale Ni-Belokon-Komplexe, die *in situ* mit radiofluorierten aromatischen Intermediaten gekuppelt werden. Dies entspricht einer analogen Synthese von (S)-6-<sup>[18F]</sup>FDOPA von *Krasikova et al.*<sup>[79]</sup> Dabei wurde zunächst <sup>18</sup>F in das geeignete aromatische Fragment eingeführt. Die Abgangsgruppe dabei ist entweder NO<sub>2</sub> oder <sup>19</sup>F (Isotopenaustausch). Die Radiofluorierung wurde unter optimierten Bedingungen mit Kryptofix<sub>222</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> oder 18-crown-6/KHCO<sub>3</sub> in DMF oder DMSO je nach entsprechendem Vorläufer durchgeführt (siehe Abb. 47). Radiochemische Ausbeuten des ersten Schrittes variierten je nach Vorläufer von 15 – 90%. Die so radiofluorierten Intermediate mussten über Festphasenextraktion (SPE) gereinigt werden, um sie im nächsten Schritt unter stark basischen Bedingungen an einen (R)-Ni-BPB-Gly-Komplex zu binden, wodurch ausschließlich die (S)-*threo*-Konfiguration der Aminosäure gebildet wurde. Die anschließende Hydrolyse führte zum gewünschten 6-<sup>[18F]</sup>FDOPS.

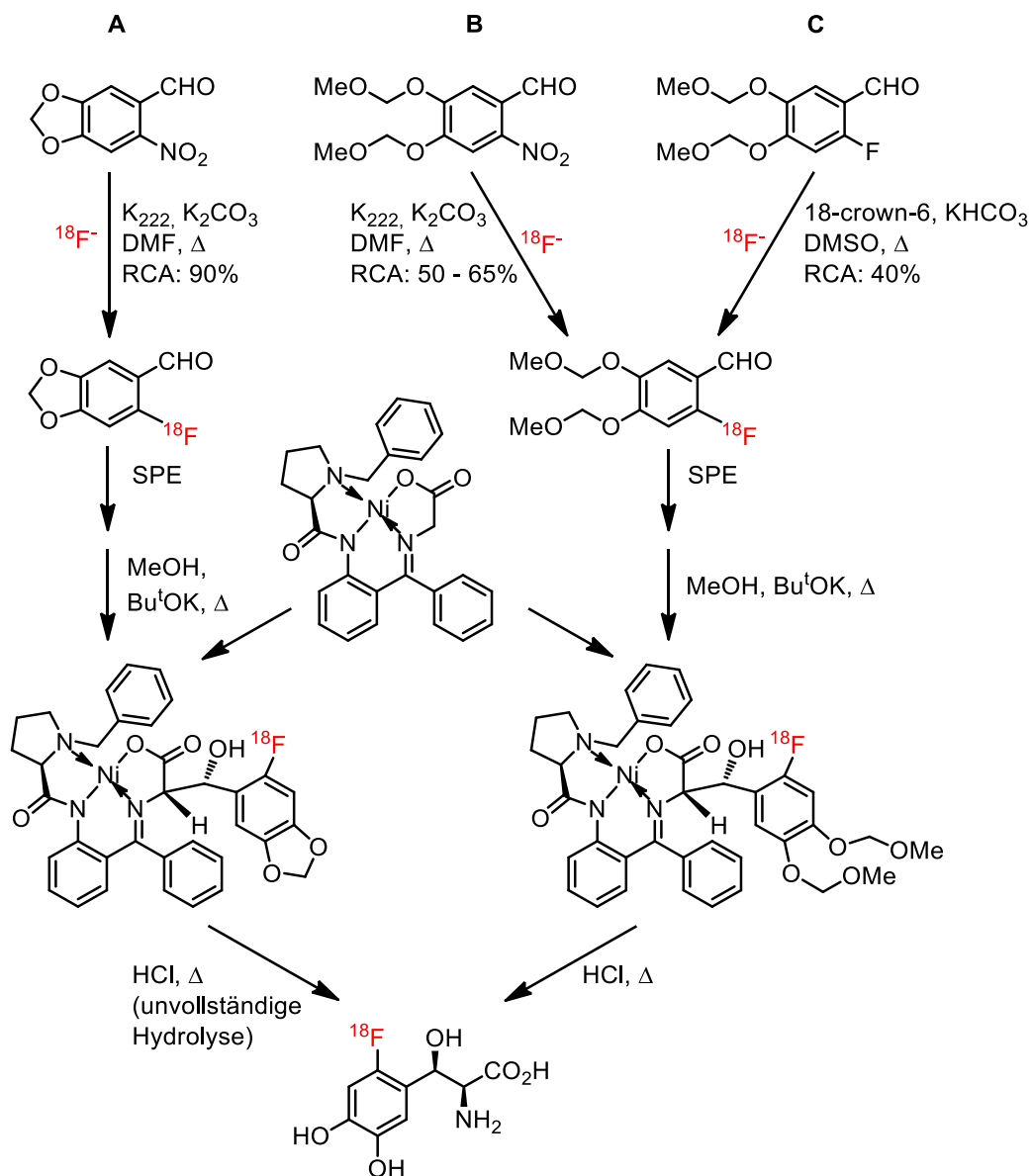


Abbildung 47: Synthese von (2S,3R)-6-[<sup>18</sup>F]FDOPS nach Fedorova et al.<sup>[78]</sup>

Die beiden Ni-Belokon-Intermediate und das Hydrolyseprodukt wurden via DC identifiziert. Die Hydrolyse des durch die Methode **A** erhaltenen Ni-Belokon-Intermediates war auch mit 6 M HCl nicht vollständig möglich, mit Methode **B** und **C** konnte aber das gewünschte [<sup>18</sup>F]Fluorhydroxyphenylserin erhalten werden. Die Autoren gaben in diesem Fall keine isolierte RCA an und führten auch keine präklinischen Untersuchungen durch. Allerdings kommt es aufgrund der Mehrstufen-Synthese mit Sicherheit zu hohen Verlusten und damit zu geringen RCAs. Die zusätzliche Reinigung und Kupplung der radiofluorierten aromatischen Bausteine mit (*R*)-Ni-BPB-Komplexen führte darüber hinaus zu zusätzlichen Syntheseschritten, die diese Methode noch komplizierter machen. Dieses Verfahren benötigte weitere Optimierungen zur Anwendung und Übertragung auf automatisierte Module. Die

direkte Fluorierung von Vorläufern, die bereits eine Aminosäurefunktion enthalten, wäre für diese Zwecke von Vorteil, um die Synthese auf idealerweise 2 Schritte (Radiofluorierung und Hydrolyse) zu verkürzen.

Zur weiteren Aufklärung der radiosynthetischen Zugänglichkeit und biologischen Distribution von radiofluorierten Phenylserinen sollten im Rahmen dieser Arbeit zwei Fluorphenylserin-Derivate (3-[<sup>18</sup>F]Fluor-5-hydroxy und 3-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylserin) ausgehend von geschützten Aminosäure-Vorläufern radiosynthetisiert werden.

## 2. Zielsetzung

Das übergeordnete Ziel der vorliegenden Arbeit war die Synthese <sup>18</sup>F-markierter aromatischer Aminosäuren zur Verwendung als Tracer für die Positronen-Emission-Tomographie (PET). Den Schwerpunkt stellten dabei Tracer zur selektiven Darstellung unterschiedlicher Stoffwechselwege für die neurologische bzw. onkologische Bildgebung dar, welche durch Radiofluorierung geeigneter Tryptophan- und Phenylalanin-Derivate unter gezielter Variation des Substitutionsmusters erhalten werden sollten. Zusätzlich sollten zur Visualisierung der Neurotransmittersynthese im (nor)adrenergen System verschiedene <sup>18</sup>F-markierte Phenylserin-Derivate radiosynthetisiert werden. Die so erhaltenen Radiotracer sollten anschließend durch *in vitro* und *in vivo* Verfahren hinsichtlich ihrer Eignung zur Erfassung physiologischer und/oder pathophysiologischer Prozesse im Gehirn charakterisiert werden.

Der erste Teil der Arbeit sollte sich mit der Entwicklung verschiedener radiofluorierter Phenylalanin-Analoga als Tracer für die neurologische Bildgebung und/oder die Detektion von Tumoren mittels PET-Bildgebung beschäftigen. Dazu wurde eine Gruppe von radiofluorierten (S)-Phenylalaninen, (S)- $\alpha$ -Methylphenylalaninen und (S)-Tyrosinen ([<sup>18</sup>F]1 – 8) ausgewählt, deren Strukturen in Abb. 48 dargestellt sind. Radiofluorierte Phenylalanin-Derivate, wie das bereits bekannte (S)-[<sup>18</sup>F]Fluorethyltyrosin, sind vielversprechende und zum Teil schon erforschte Tracer zur Visualisierung der Überexpression von LAT1 in Tumorzellen oder neurodegenerativer Pathologien wie PD und AD. Die beobachtete ausschließliche Aufnahme von  $\alpha$ -Methylphenylalaninen über LAT1 in Zellen macht darüber hinaus auch solche Moleküle zu interessanten Zielstrukturen für die PET.<sup>[80]</sup> Die Erweiterung des Spektrums bekannter radiofluorierter Phenylalanin- und  $\alpha$ -Methylphenylalanin-

Derivate, die Analyse derer Metaboliten und die Evaluation des *in vivo*-Verhaltens mittels PET ist deshalb von großem Interesse.

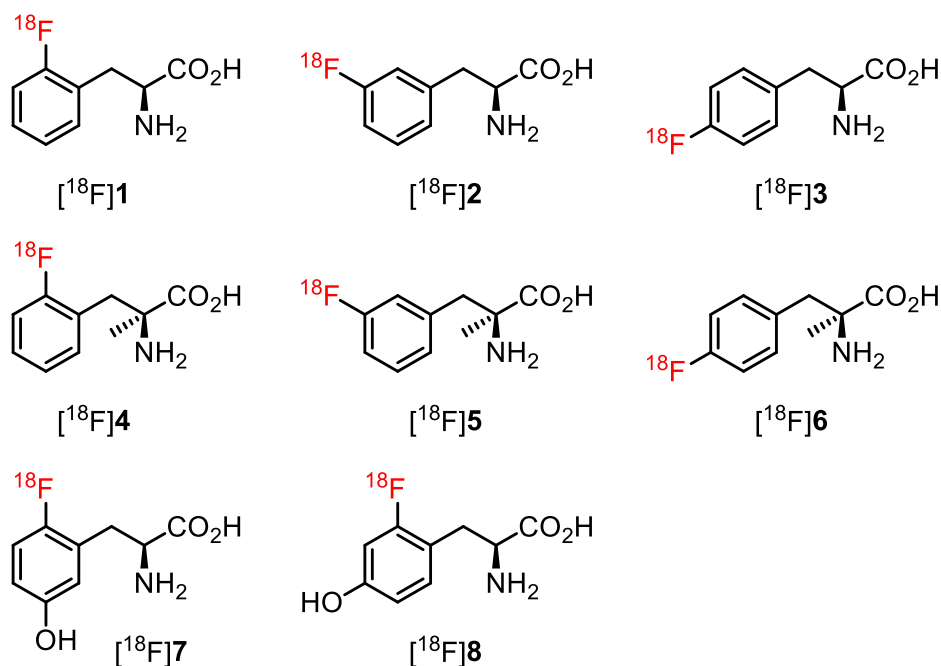


Abbildung 48: (S)-2-, 3- und 4-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylalanin ([<sup>18</sup>F]1–3), (S)- $\alpha$ -Methyl-2-, 3- und 4-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylalanin ([<sup>18</sup>F]4–6) und (S)-2-[<sup>18</sup>F]Fluortyrosin und (S)-2-[<sup>18</sup>F]Fluor-m-tyrosin ([<sup>18</sup>F]7–8).

In einem weiteren Teil der Arbeit sollten Tracer hergestellt werden, die eine selektive Darstellung des Kynurenin- oder des Serotonin-Stoffwechselweges ermöglichen, wofür fünf verschiedene Tryptophan-Derivate als Zielstrukturen ausgewählt wurden. Zur Erfassung des Kynurenin-Pfads wurde zunächst (S)-N-Methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]9) ausgewählt, da N-Methyltryptophan als gutes Substrat für das entsprechende Schlüsselenzym Indolamin-2,3-dioxygenase gilt, aber nicht durch die Tryptophanhydroxylase (TPH) als Schlüsselenzym für die Serotonin-Synthese verstoffwechselt wird (Abb. 49).

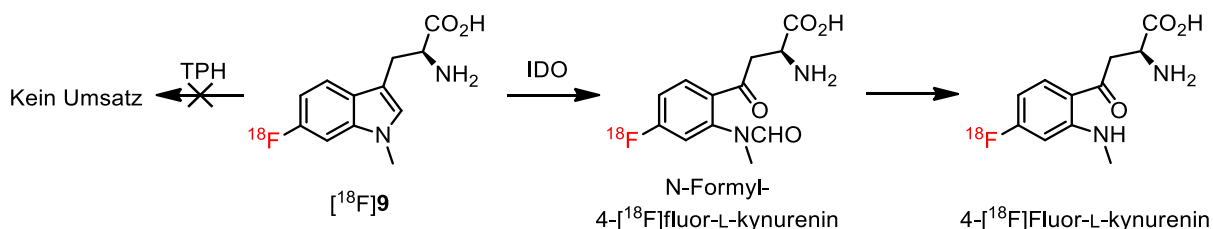


Abbildung 49: (S)-N-Methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]9) und dessen vorgeschlagene Metabolisierung.

Da 5-Hydroxytryptophane hingegen eine geringe Affinität für IDO aufweisen wurde 5-Hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]10) als potenzieller selektiver Tracer für den Serotonin-Pfad gewählt (Abb. 50).

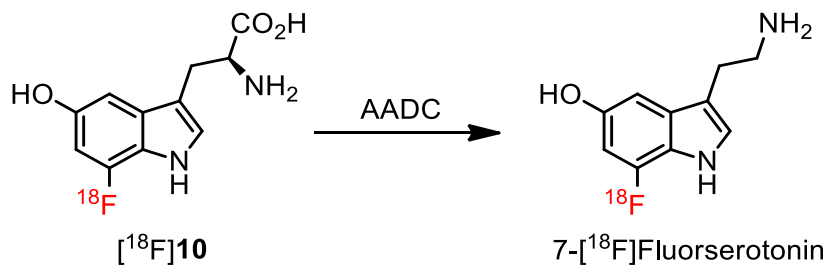


Abbildung 50: (S)-5-Hydroxy-7- $[^{18}\text{F}]$ fluorotryptophan ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{2}$ ) und dessen vorgeschlagene Metabolisierung.

Als alternative Strategie zur Abgrenzung verschiedener Tryptophan-Stoffwechselwege wurden difluorierte Analoga mit aromatischen Fluor-Substituenten in 5- und 7-Position gewählt und in jeweils einer Position selektiv mit  $^{18}\text{F}$  markiert (Abb. 51). Bei der Radiofluorierung in 5-Position (5,7- $[5\text{-}^{18}\text{F}]$ -Difluortryptophan,  $[5\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$ ) sollte die  $^{18}\text{F}$ -Markierung durch TPH-vermittelte 5-Hydroxylierung im Rahmen der Serotonin-Biosynthese abgespalten werden, während sie bei Verstoffwechslung durch Enzyme des Kynurenin-Pfades im Molekül verbleiben und somit eine Visualisierung dieses Stoffwechsels ermöglichen sollte. Bei Radiomarkierung in 7-Position (5,7- $[7\text{-}^{18}\text{F}]$ -Difluortryptophan,  $[7\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$ ) sollte die  $^{18}\text{F}$ -Markierung dagegen im Rahmen beider Stoffwechselwege im Molekül verbleiben und somit ihre gemeinsame Visualisierung sowie (nach Subtraktion entsprechender Messungen mit  $[5\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$ ) potenziell auch eine isolierte Betrachtung der Serotonin-Synthese ermöglichen. Zum Vergleich mit Difluortryptophanen, die in 7-Position fluoriert sind, wurde darüber hinaus auch 5,6- $[6\text{-}^{18}\text{F}]$ -Difluortryptophan ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{12}$ ) als eine weitere Zielstruktur ausgewählt. Dieser Tracer sollte einen direkten Vergleich zu  $[7\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$  liefern, da beide Strukturen bei 5-Hydroxylierung ihre  $^{18}\text{F}$ -Markierung behalten und sich nur in der Position ihrer Radiofluorierung unterscheiden (Abb. 51).

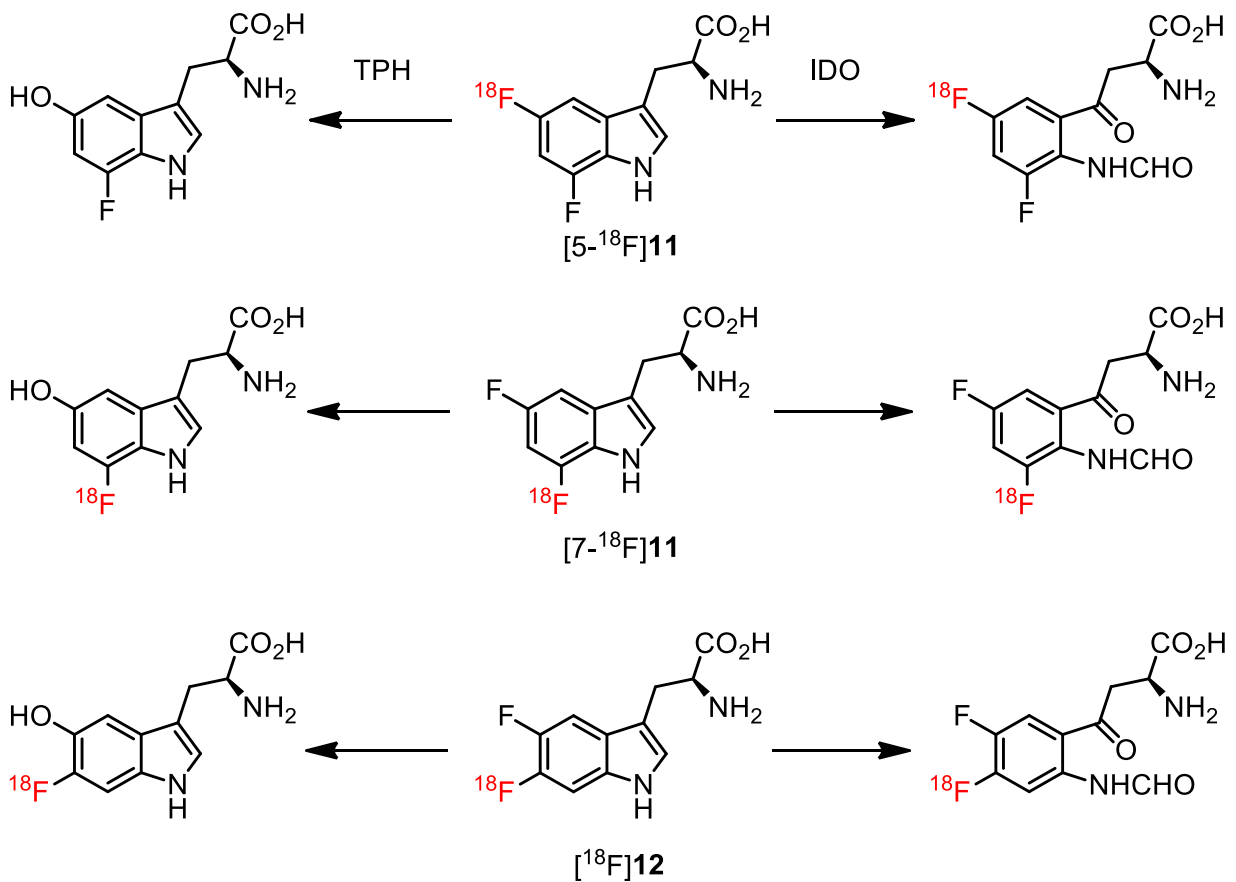


Abbildung 51: (S)-5,7-[5- $^{18}\text{F}$ ]- ( $[5\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$ ), (S)-5,7-[7- $^{18}\text{F}$ ]- ( $[7\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$ ) und (S)-5,6-[6- $^{18}\text{F}$ ]Difluortryptophan ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{12}$ ) als Tracer für den KYN- und 5HT-Tryptophan-Stoffwechselwege und dessen vorgeschlagene Metaboliten.

Der letzte Teil der Arbeit sollte sich schließlich mit Radiotracern zur Untersuchung des noradrenergen Systems beschäftigen. Dazu sollten (2S,3R)-3- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylserin und (2S,3R)-3- $[^{18}\text{F}]$ Fluor-5-hydroxyphenylserin (Abb. 52,  $[^{18}\text{F}]\mathbf{13}$  –  $\mathbf{14}$ ) synthetisiert und anschließend in geeigneten *in vivo* Modellen untersucht werden. Die Phenylserin-Derivate sollten als metabolische Prodrugs für entsprechende Amine dienen, die auf den Noradrenalin- und Adrenalin-Metabolismus abzielen. Die  $\beta$ -Hydroxy-Funktion der Phenylserin-Struktur verhindert außerdem die Metabolisierung zu DOPA und Dopamin und ermöglicht die selektive Adressierung des Noradrenalin/Adrenalin-Metabolismus.

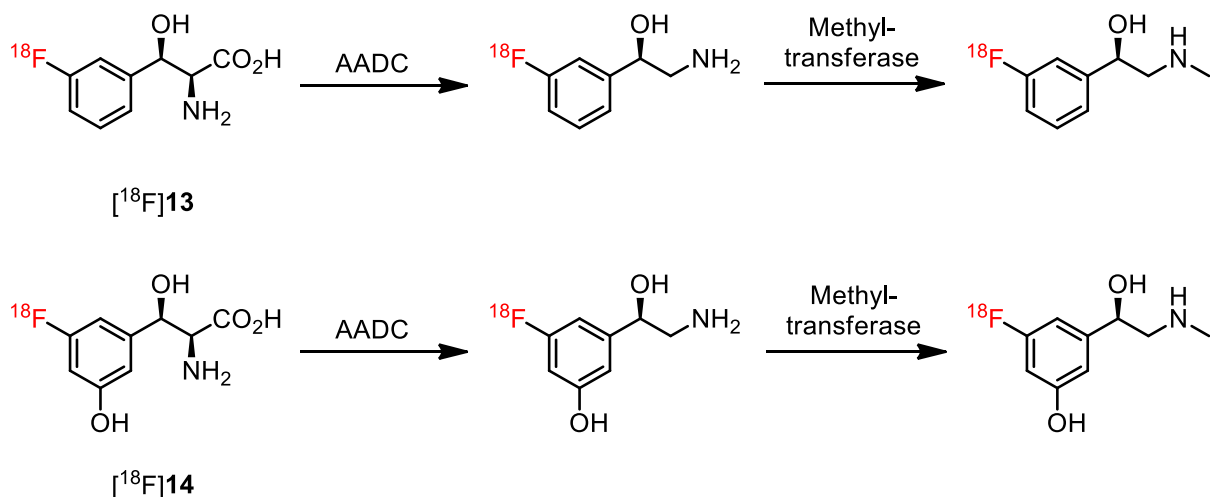


Abbildung 52: (2S,3R)-3- $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylserin ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{13}$ ) und (2S,3R)-3- $[^{18}\text{F}]$ Fluor-5-hydroxyphenylserin ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{14}$ ) und deren vorgeschlagene Metabolisierung.

In allen Fällen sollten für die untersuchten radiofluorierten Strukturen auch nicht-radioaktive Referenzstrukturen synthetisiert werden, wenn diese nicht kommerziell erhältlich waren. Diese dienen zur Identifikation der Radiotracer und Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Abdrucke von Publikationen und Manuskripten

##### 3.1.1. $[^{18}\text{F}]$ Fluor- und $\alpha$ -Methyl- $[^{18}\text{F}]$ fluorphenylalanine und $[^{18}\text{F}]$ Fluortyrosine ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{1-8}$ )

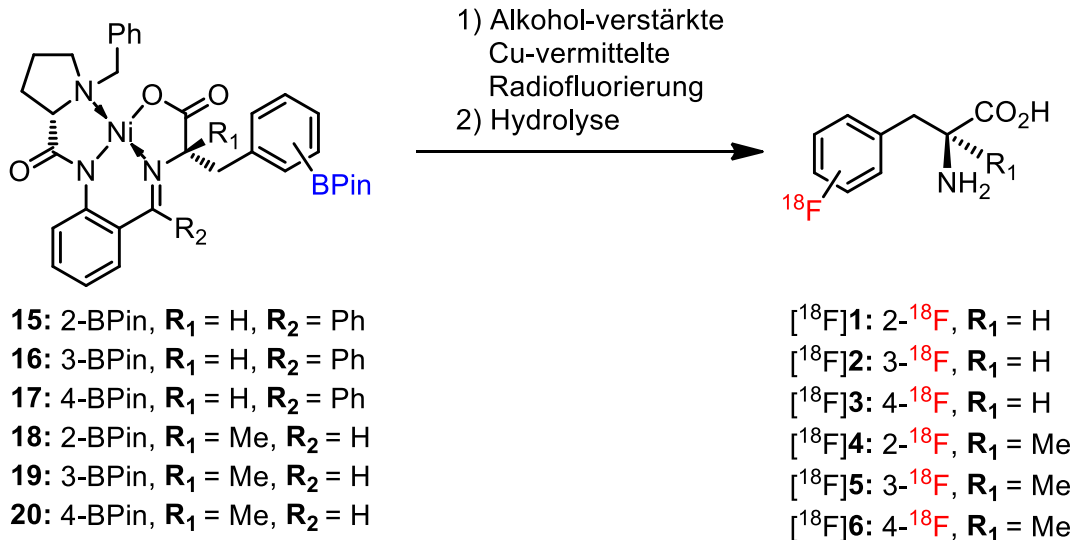
Ein großer Teil maligner Tumore weist einen erhöhten Aminosäure-Metabolismus und eine damit zusammenhängende Überexpression der „L-Type amino acid transporter 1“ (LAT1) auf. Diese zellulären Transporter sind verantwortlich für den Transport von Aminosäuren, weshalb schnell vermehrende Tumorzellen wegen ihres großen Energiebedarfs deutlich mehr LAT1 ausbilden, um ihren Bedarf an Aminosäuren zu decken.<sup>[7]</sup> Deshalb ist die Visualisierung des Transportes von Aminosäuren wie Phenylalanin und Tyrosin von großem Interesse für die Diagnose und für das Staging solcher Tumore.

Als Alternative zur Visualisierung der Überexpression des LAT1 Transporters durch z.B.  $[^{18}\text{F}]\text{FET}$  sollten in diesem Projekt deshalb verschiedene  $[^{18}\text{F}]$ Fluorphenylalanine und  $[^{18}\text{F}]$ Fluortyrosine durch Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung hergestellt werden (Abb. 53;  $[^{18}\text{F}]\mathbf{1-8}$ ). Diese radiofluorierten aromatischen



Aminosäuren sollten neben der Darstellung onkologischer Pathologien als potenzielle Tracer für die zuvor erwähnten Neuropathologien dienen.

### Phenylalanin-Derivate:



### Tyrosin-Derivate:

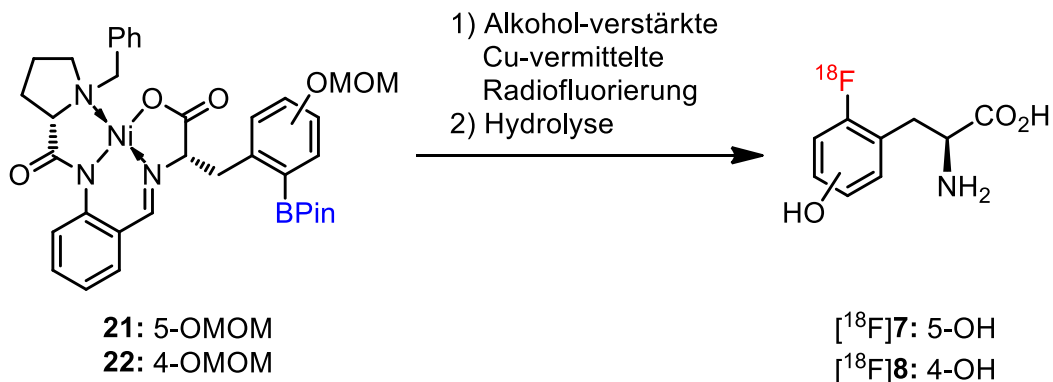


Abbildung 53: Vorläufer 15-22 und Tracer  $[^{18}F]1-8$  für die Untersuchung des Phenylalanin- und Tyrosin-Transportes.

Das Konzept der nachfolgenden Publikation wurde gemeinschaftlich von A. Craig, N. Kolks, J. Zischler und PD Dr. B. D. Zlatopolskiy, unterstützt von Prof. Dr. B. Neumaier, entwickelt. Die organischen Vorläufersynthesen und Radiosynthesen wurden von N. Kolks und A. Craig durchgeführt. Optimierungen der Radiosynthesen wurden von N. Kolks durchgeführt. Präklinische biologische Untersuchungen wurden von H. Endepols und M. Brugger durchgeführt. Der Artikel wurde gemeinschaftlich von A. Craig, N. Kolks, PD Dr. B. D. Zlatopolskiy, Prof. Dr. H. Endepols und Prof. Dr. B. Neumaier verfasst.

Im Rahmen dieser Dissertation erhobene analytische und experimentelle Daten wurden als Teile des eingebundenen folgenden Artikels und der „Supporting Information“ eingefügt (siehe Anhang **8.** für „Supporting Information“).<sup>[81]</sup>

**Copyright:**

A. Craig, N. Kolks, E. A. Urusova, J. Zischler, M. Brugger, H. Endepols, B. Neumaier, B. D. Zlatopolskiy, "Preparation of labeled aromatic amino acids via late-stage <sup>18</sup>F-fluorination of chiral nickel and copper complexes.", *Chemical Communications*, **2020**, *56*, 9505-9508, Reproduced with permission from the Royal Society of Chemistry.


 Cite this: *Chem. Commun.*, 2020, 56, 9505

 Received 26th March 2020,  
 Accepted 9th July 2020

DOI: 10.1039/d0cc02223c

rsc.li/chemcomm

## Preparation of labeled aromatic amino acids via late-stage $^{18}\text{F}$ -fluorination of chiral nickel and copper complexes†

 Austin Craig,<sup>‡abc</sup> Niklas Kolks,<sup>‡ab</sup> Elizaveta A. Urusova,<sup>ab</sup> Johannes Zischler,<sup>ab</sup> Melanie Brugger,<sup>a</sup> Heike Endepols,<sup>idabd</sup> Bernd Neumaier,<sup>id\*abc</sup> and Boris D. Zlatopolskiy,<sup>idabc</sup>

**A general protocol for the preparation of  $^{18}\text{F}$ -labeled AAAs and  $\alpha$ -methyl-AAAs applying alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination of Bpin-substituted chiral complexes using Ni/Cu-BPX templates as double protecting groups is reported. The chiral auxiliaries are easily accessible from commercially available starting materials in a few synthetic steps. The versatility of the method was demonstrated by the high-yielding preparation of a series of  $^{18}\text{F}$ -AAAs and the successful implementation of the protocol into automated radiosynthesis modules.**

Positron emission tomography (PET) has gained great importance as a prominent non-invasive imaging modality in clinical practice. Using tracers containing a suitable  $\beta^+$ -emitting radionuclide, PET may provide real-time visualization of complex biochemical processes at the molecular level, with high sensitivity and excellent image quality. Fluorine-18 has been established as an advantageous  $\beta^+$ -emitting radionuclide for PET, mainly due to its efficient large-scale cyclotron production in the form of  $^{18}\text{F}$ fluoride, relatively long half-life (109.7 min), low maximum positron energy of 0.635 MeV, and high  $\beta^+$ -decay branching intensity (97%).<sup>1</sup>

For decades,  $^{18}\text{F}$ -labeled aromatic amino acids (AAA) including *O*-(2- $^{18}\text{F}$ fluoroethyl)-*L*-tyrosine ( $^{18}\text{F}$ FET), 3,4-dihydroxy-6- $^{18}\text{F}$ fluoro-*L*-phenylalanine (6- $^{18}\text{F}$ FDOPA), and 2- $^{18}\text{F}$ fluoro-*L*-tyrosine (2- $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub>Tyr) have played a significant role in clinical diagnostics of cancer and neurodegenerative disorders using

PET.<sup>2–4</sup> In combination with MRI and CT,  $^{18}\text{F}$ F-AAA-PET has been demonstrated to be a sensitive tool for effective tumor diagnosis and staging.<sup>5,6</sup> In addition, 6- $^{18}\text{F}$ FDOPA, 6- $^{18}\text{F}$ fluoro-*m*-*L*-tyrosine (6- $^{18}\text{F}$ FMT), and 7- $^{18}\text{F}$ fluoro-*L*-tryptophan (7- $^{18}\text{F}$ FTrp) have been used as neurotracers for the visualization of the dopaminergic and serotonergic systems.<sup>7,8</sup>

Accordingly, a significant amount of research has been devoted to the development of convenient and versatile protocols for the production of  $^{18}\text{F}$ -labeled AAAs. Despite the substantial effort, the majority of the published protocols lack efficacy and are too impractical for routine applications. Consequently, the potential of  $^{18}\text{F}$ -labeled AAAs has not been fully explored.

Selected recent preparations of  $^{18}\text{F}$ -labeled AAAs (shown in Scheme 1) highlight challenges including multi-step precursor syntheses, low RCYs, and regioselectivity issues. The group of DiMaggio reported the use of diaryliodonium salts towards 6- $^{18}\text{F}$ FDOPA ( $^{18}\text{F}$ 7) and 4- $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub>Phe preparation, although lengthy precursor synthesis and fair RCYs limited these approaches (Scheme 2A).<sup>9,10</sup> Liang *et al.* accessed  $^{18}\text{F}$ -labeled AAAs *via* spirocyclic iodonium(m) ylides; unfortunately, demanding precursor synthesis also reduced the practicality of this method.<sup>11</sup> Tsushima and co-workers applied an electrophilic radiofluorination towards  $\alpha$ - $^{18}\text{F}$ FMePhe despite giving rise to multiple  $^{18}\text{F}$ -labeled products and low specific activities ( $A_s$ ).<sup>12</sup>

In recent years, Cu-mediated radiofluorination strategies have received much attention, owing to high RCYs, the wide substrate scope and their facile implementations.<sup>13–15</sup> More recently, additives including alcoholic co-solvents and pyridinium salts have been demonstrated to further enhance the efficiency of Cu-mediated radiofluorination reactions.<sup>16,17</sup> Cu-mediated radiolabeling of (aryl)(mesityl) iodonium salts proved a promising method, although possible epimerization and multistep precursor synthesis remained significant drawbacks (Scheme 2D).<sup>18,19</sup> Gouverneur and coworkers prepared 6- $^{18}\text{F}$ FMT ( $^{18}\text{F}$ 4d) *via* Cu-mediated radiofluorination of the corresponding pinacol arylboronate (Bpin) in  $15 \pm 1\%$  RCY

<sup>a</sup> Forschungszentrum Jülich GmbH, Institute of Neuroscience and Medicine, INM-5 Nuclear Chemistry, 52425 Jülich, Germany. E-mail: b.neumaier@fz-juelich.de

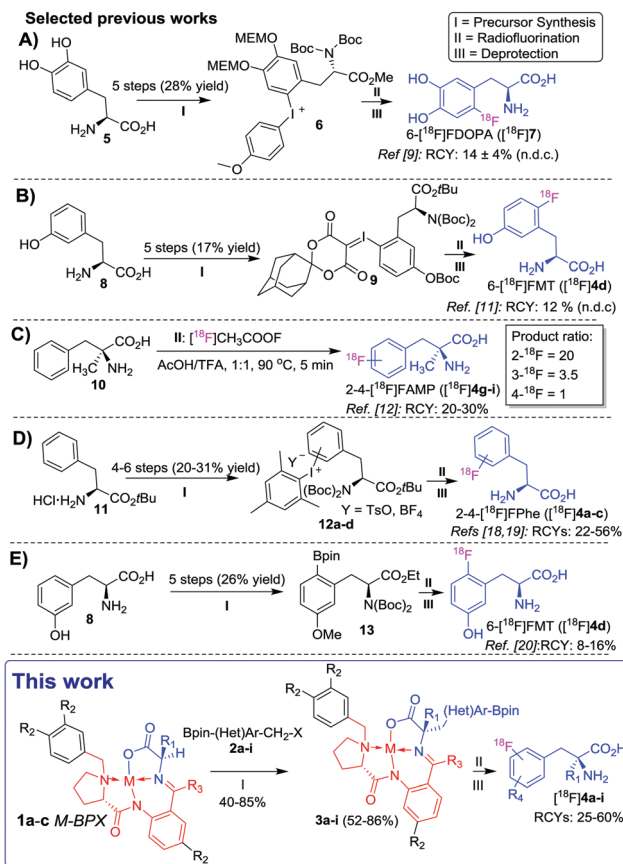
<sup>b</sup> Institute of Radiochemistry and Experimental Molecular Imaging, University Hospital Cologne, Kerpener Str. 62, 50937 Cologne, Germany

<sup>c</sup> Max Planck Institute for Metabolism Research, Gleueler Str. 50, 50931 Cologne, Germany

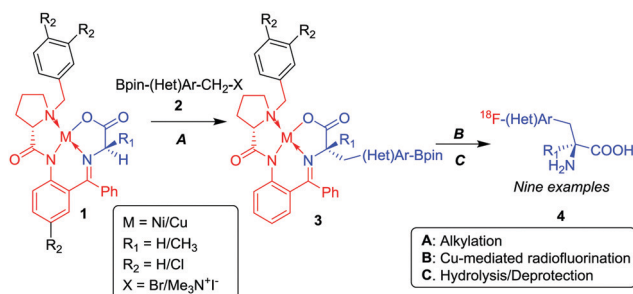
<sup>d</sup> Department of Nuclear Medicine, University Hospital Cologne, Kerpener Str. 62, 50937 Cologne, Germany

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/d0cc02223c

‡ Contributed equally.



**Scheme 1** Selected examples of  $^{18}\text{F}$ -labeled AAA preparations. Conditions for radiolabeling steps (II): (A) (1) azeotropic drying of  $^{18}\text{F}$ KF/K<sub>2</sub>.2.2 ( $\times 3$ ), (2) diglyme, 140 °C, 5 min; (B) (1) azeotropic drying of  $^{18}\text{F}$ Et<sub>4</sub>NF ( $\times 3$ ), (2) DMF, 120 °C, 20 min; (C)  $^{18}\text{F}$ AcOF, AcOH/TFA 1:1, 90 °C, 5 min; (D)  $^{18}\text{F}$ Et<sub>4</sub>NF, Cu(MeCN)<sub>4</sub>OTf, DMF or MeOH/DMF, 85–95 °C, 20 min, air or Ar; (E) (1) azeotropic drying of  $^{18}\text{F}$ KF/K<sub>2</sub>.2.2 ( $\times 5$ ), (2) Cu(py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub>, DMF, 120 °C, 20 min, air; this work:  $^{18}\text{F}$ Et<sub>4</sub>NF, Cu(py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub>, *n*BuOH/DMA, 110 °C, 15 min, air. Procedure D and the novel procedure (this work) avoid any azeotropic drying steps.



**Scheme 2** Application of Ni/Cu-BPX templates for the late-stage preparation of  $^{18}\text{F}$ -labeled AAAs.

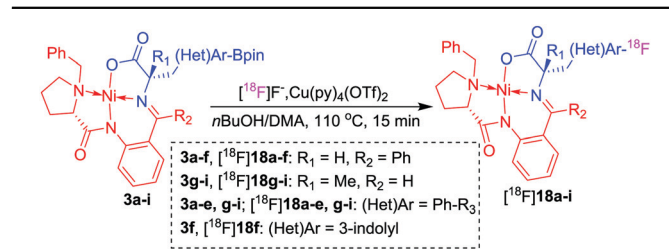
(Scheme 2E); however, the five-step precursor synthesis was low-yielding and required HPLC purification.<sup>20</sup> In our previous work, we have successfully employed a chiral Schöllkopf auxiliary (**14**) towards 6- $^{18}\text{F}$ fluoro-L-tryptophan (6- $^{18}\text{F}$ FTrp,  $^{18}\text{F}$ **15**); however, we encountered several challenges.<sup>21</sup> The

laborious six-step precursor synthesis (overall yield 37%) was expensive and time-consuming, the enantiomeric purity of 6- $^{18}\text{F}$ FTrp was suboptimal (89% ee). Moreover, the harsh deprotection conditions (50% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 130 °C, 15 min) led to the partial decomposition of the tracer. In our revised strategy, we were attracted by the possibility of using Ni-BPX complexes to overcome these limitations.

Developed by Belokon *et al.* as early as the 1980s, the chiral Ni-BPB-Gly (**1a**) and Ni-BPA-(*RS*)-Ala complexes (**1b**) were designed to enable the stereoselective synthesis of  $\alpha$ -amino and  $\alpha$ -amino- $\alpha$ -methyl acids.<sup>22</sup> In particular, the commercial availability/simplicity of their multi-gram scale preparations, high crystallinity, moisture stability, facile purification and rapid decomposition (to yield the free AAA) under rather mild acidic conditions is advantageous for synthetic as well as radiosynthetic purposes. Whilst multi-step AAA radiosyntheses using Belokon complexes have been reported,<sup>4,23,24</sup> the application of late-stage Cu-mediated radiofluorination upon Ni/Cu-BPX complexes has never been previously disclosed. The Bpin-substituted precursors (**3a–i**) were accessed *via* alkylation upon (*S*)-M-BPX (**1a–c**) (Scheme 2) using NaH in DMF/MeCN, furnishing the desired (*S*)-M-BPX-AAA complexes **3a–i** in good yields. Three of the requisite alkylating agents used for the synthesis of six tracer precursors were commercially available [Scheme 2; Bpin-substituted benzyl bromides (**2a–c**)]. The synthetic routes towards 6- $^{18}\text{F}$ FMT ( $^{18}\text{F}$ **4d**), 2- $^{18}\text{F}$ Ftyr ( $^{18}\text{F}$ **4e**), 4- $^{18}\text{F}$ FTrp ( $^{18}\text{F}$ **4f**) precursors using alkylating agents (**2d–f**) are outlined in the ESI.† We also investigated the use of the bromomethyl substituted phenylboronic acids ( $^{18}\text{F}$ **16a–c**) as alkylating agents; however, problems with the purification of the corresponding Ni-BPX complexes prevented us from pursuing this pathway.

We considered various protecting groups, bearing in mind that rapid and high yielding deprotection would be most practical for

**Table 1**  $^{18}\text{F}$ -Labeling: Ni-BPX-AAA (**3a–i**, 10  $\mu\text{mol}$ ), Cu(py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> (20  $\mu\text{mol}$ ),  $^{18}\text{F}$ F<sup>-</sup>/Et<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub> (50–1500 MBq), 250  $\mu\text{L}$  *n*BuOH/750  $\mu\text{L}$  DMA, air, 110 °C, 15 min. All experiments were carried out at least six times. Radio-HPLC was used to determine RCYs, given in the form of mean  $\pm$  standard deviation



| Entry | Precursor                                   | Product (RCY%)                          |
|-------|---|---|
| 1     | <b>3a</b> , R <sub>3</sub> = H, 2-Bpin      | $^{18}\text{F}$ <b>18a</b> (92 $\pm$ 5) |
| 2     | <b>3b</b> , R <sub>3</sub> = H, 3-Bpin      | $^{18}\text{F}$ <b>18b</b> (90 $\pm$ 2) |
| 3     | <b>3c</b> , R <sub>3</sub> = H, 4-Bpin      | $^{18}\text{F}$ <b>18c</b> (86 $\pm$ 4) |
| 4     | <b>3d</b> , R <sub>3</sub> = 5-OMOM, 2-Bpin | $^{18}\text{F}$ <b>18d</b> (90 $\pm$ 3) |
| 5     | <b>3e</b> , R <sub>3</sub> = 4-OMOM, 2-Bpin | $^{18}\text{F}$ <b>18e</b> (90 $\pm$ 6) |
| 6     | <b>3f</b> , R <sub>3</sub> = H, 4-Bpin      | $^{18}\text{F}$ <b>18f</b> (94 $\pm$ 2) |
| 7     | <b>3g</b> , R <sub>3</sub> = H, 2-Bpin      | $^{18}\text{F}$ <b>18g</b> (84 $\pm$ 6) |
| 8     | <b>3h</b> , R <sub>3</sub> = H, 3-Bpin      | $^{18}\text{F}$ <b>18h</b> (89 $\pm$ 7) |
| 9     | <b>3i</b> , R <sub>3</sub> = H, 4-Bpin      | $^{18}\text{F}$ <b>18i</b> (92 $\pm$ 4) |

radiosynthesis and selected *O*-methoxymethyl (MOM) groups, which could be introduced in near quantitative yields and rapidly cleaved. Suzuki–Miyaura borylation was used to incorporate the Bpin leaving groups at the desired aryl positions.

An alternative synthetic approach *via* the direct Suzuki–Miyaura borylation upon Ni-BPB-AAA (**18**) also proved to be feasible, affording the desired precursor **3f** in an unoptimized yield of 17% (Scheme 3).

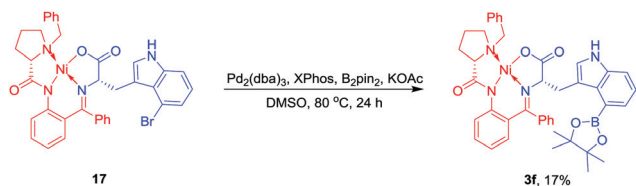
Radiosynthesis commenced with the loading of [<sup>18</sup>F]fluoride onto an anion exchange resin followed by its subsequent elution with Et<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub> in MeOH. The amount of Et<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub> required for successful elution was minimized considering the base-sensitivity of Cu(py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub>. The low boiling point of MeOH (65 °C) facilitated its subsequent rapid removal within 2–3 min, which was followed by the addition of the corresponding Ni-BPX-AAA precursor and Cu(py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> in *n*BuOH/DMA (1:2). The elution of <sup>18</sup>F<sup>−</sup> using Et<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub> in *n*BuOH/DMA avoiding any evaporation steps was also evaluated. However, in this case, <sup>18</sup>F<sup>−</sup> recovery was slightly lower (90–95%) and higher amounts of precursor (30 instead of 10 μmol) were necessary for the subsequent radiolabeling step. The precursor/Cu-complex ratio of 1:2 provided the highest <sup>18</sup>F-incorporation rates (Table 1).<sup>25</sup> The removal of volatiles after radiolabeling required to achieve efficient decomposition of the radiolabeled complexes ([<sup>18</sup>F]**18a–i**) and simultaneous cleavage of protecting groups. The latter was carried out using 37% HCl at 110 °C for 15 min.<sup>26</sup> Complete hydrolysis was pleasantly indicated by a sharp color change from deep red to pale yellow.

It was also found that higher temperatures caused a partial decomposition of 6-[<sup>18</sup>F]FMT ([<sup>18</sup>F]**4d**), 2-[<sup>18</sup>F]FTyr ([<sup>18</sup>F]**4e**) and 4-[<sup>18</sup>F]FTrp ([<sup>18</sup>F]**4f**). Purification of the resulting AAA tracers ([<sup>18</sup>F]**4a–i**) was achieved by semi-preparative HPLC applying aqueous EtOH as a mobile phase yielded AAA tracers ([<sup>18</sup>F]**4a–i**) in decay-corrected radiochemical yields (RCYs) of 25–60% within approximately 90 min with a radiochemical purity (RCP) and enantiomeric excess (ee) of > 95% as ready-to-use solutions.

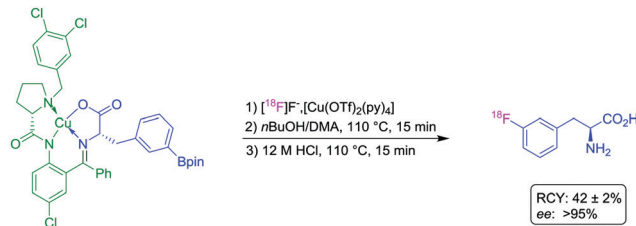
Molar activities (A<sub>m</sub>) of [<sup>18</sup>F]AAAs prepared using the novel method were comparable to or better than those for [<sup>18</sup>F]AAAs produced using published protocols (Fig. 1).

The implementation of the protocol into automated modules was straightforward owing to the simplicity of the radiosynthesis. The procedure allowed the rapid preparation of a series of <sup>18</sup>F-labeled AAAs shown in Scheme 2 under general conditions without the need for further optimization.

Additionally, the applicability of a Cu complex **19** as an alternative to Ni-BPX radiolabelling precursors was investigated (Scheme 4).<sup>27</sup> The use of Cu- instead of Ni-containing precursors



Scheme 3 Suzuki–Miyaura borylation upon Ni-BPB-AAA.



Scheme 4 Preparation of [<sup>18</sup>F]**4b** *via* alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination of (*S*)-Cu-BPB-AAA complex **19**.

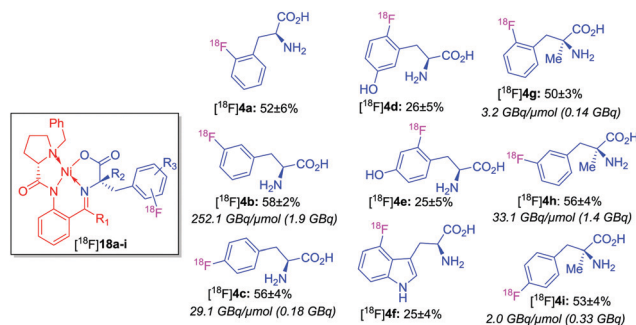


Fig. 1 <sup>18</sup>F-Labeled AAAs ([<sup>18</sup>F]**4a–i**) prepared using the novel method. All RCYs are isolated yields corrected for decay and determined at least in triplicate. All tracers were enantiomerically pure (ee > 95%). Furthermore, for [<sup>18</sup>F]**4b**, **c** and [<sup>18</sup>F]**4g–i** molar activities (A<sub>m</sub>) are provided. For [<sup>18</sup>F]**4b** and [<sup>18</sup>F]**4h** A<sub>m</sub> values at different activity amounts were additionally determined: 4.6 GBq μmol<sup>−1</sup> (0.13 GBq), 76.3 GBq μmol<sup>−1</sup> (1.1 GBq) ([<sup>18</sup>F]**4b**) and 61.2 GBq μmol<sup>−1</sup> (0.5 GBq) ([<sup>18</sup>F]**4h**), respectively.

would mean that only a single trace metal determination is required for quality control in *c*GMP production. The test radiosynthesis furnished 3-[<sup>18</sup>F]FPhe in a good RCY of 42% and confirmed the applicability of the appropriate Cu-complexes for radiolabeling. The Ni & Cu content amounted to 0.001–0.37 mg/preparation (determined by ICP-MS) and was significantly below any level of concern according to the ICH Guideline of Elemental Impurities (Q3D).<sup>28</sup>

The AAA PET-tracers were compared to clinically established [<sup>18</sup>F]FET, which provides information on the LAT1 transporter expression. As the majority of malignant tumor cells overexpress such transporters, [<sup>18</sup>F]FET can afford invaluable information on the location and size of tumors.<sup>2,29</sup> The uptake of 3-[<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]**4b**) in PC3 and MCF7 cells was significantly higher than of [<sup>18</sup>F]FET (Chart S1; ESI<sup>†</sup>). Uptake of 3-[<sup>18</sup>F]FPhe and [<sup>18</sup>F]FET in MDA-MB-231 cells was comparable.

One of the most important applications of radiolabeled AAAs is the detection of cerebral tumors. Consequently, high tracer uptake in the brain is a necessary property of a successful candidate probe. Brain accumulation of [<sup>18</sup>F]**4b** in healthy rats during the first 30 min p.i. (SUV<sub>bw</sub> 57.7 ± 2.9) was comparable to that of [<sup>18</sup>F]FET (SUV<sub>bw</sub> 55.7 ± 2.2). A distinct pattern was visible with high uptake in the olfactory bulb, frontal cortex, occipital cortex, thalamus, inferior colliculus, cerebellum, and in the areas around the 4th ventricle (Fig. 2). This brain distribution pattern was similar to that of [<sup>18</sup>F]FET.

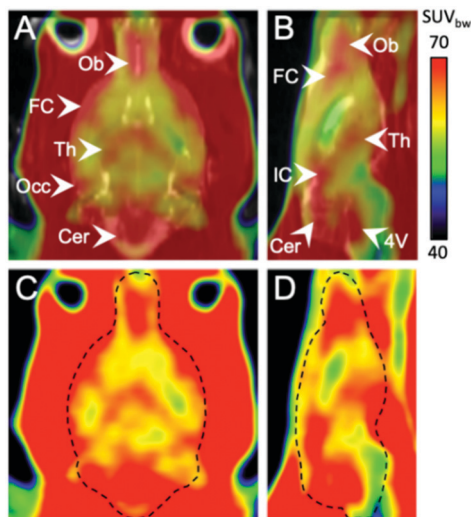


Fig. 2 PET image of 3- $^{18}\text{F}$ FPhe uptake in rat brain; average of  $n = 3$  healthy rats, 0–30 min p.i. Upper row: Projection of the PET image onto an MRI template in horizontal (A) and sagittal view (B). Lower row: The same PET image in horizontal (C) and sagittal view (D) with brain contour (dashed line). Abbreviations: 4 V: areas around the 4th ventricle, Cer: cerebellum, FC: frontal cortex, IC: inferior colliculus, Ob: olfactory bulb, Occ: occipital cortex, Th: thalamus.

In summary, alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination of Bpin-substituted Ni-BPX-AAA complexes is a simple, yet powerful method for the fast production of structurally diverse radiolabeled AAAs. The attractiveness of the procedure is highlighted by an efficient precursor synthesis, high RCYs, and amenability to automation. The utilization of M-BPX complexes facilitates precursor synthesis and allows a series of AAA tracers to be accessed in a short time and practical manner. In addition, the use of chiral Cu(II) complexes towards radiofluorinated AAAs has been described for the first time. The proposed protocol could be easily implemented also for the preparation of radiofluorinated D-AAAs owing to accessibility of the corresponding BPX-AA complexes. Notably, 3- $^{18}\text{F}$ FPhe showed higher or similar uptake in tumor cells compared to the clinically established PET-tracer  $^{18}\text{F}$ FET.

This work was supported by the DFG grants ZL 65/1-1, ZL 65/3-1 and EN 439/6-1. The authors thank Dr. H. Frauendorf and G. Udvarnoki (University of Göttingen), Prof. M. Schäfer and M. Neihls University of Cologne for the measurement of mass spectra, and Prof. A. Berkessel and C. Schmitz University of Cologne for the measurement of elementary analyses. Open Access funding provided by the Max Planck Society.

## Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

## Notes and references

- 1 A. Sánchez-Crespo, P. Andreo and S. A. Larsson, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2004, **31**, 44–51.

- 2 V. Dunet, C. Rossier, A. Buck, R. Stupp and J. O. Prior, *J. Nucl. Med.*, 2012, **53**, 207–214.
- 3 W. Chen, D. H. Silverman, S. Delaloye, J. Czernin, N. Kamdar, W. Pope, N. Satyamurthy, C. Schiepers and T. Cloughesy, *J. Nucl. Med.*, 2006, **47**, 904–911.
- 4 O. S. Fedorova, O. F. Kuznetsova, I. K. Mosevich, S. V. Shatik, G. V. Kataeva, Y. N. Belokon and R. N. Krasikova, *Radiochemistry*, 2006, **48**, 509–514.
- 5 O. Kertels, A. Stolzenburg, M. Mihovilovic, A. Kessler, S. Samnick, C. Monoranu, M. Löhner, A. Buck and C. Lapa, *J. Nucl. Med.*, 2018, **59**(suppl 1), 1690.
- 6 D. Pauleit, A. Zimmermann, G. Stoffels, D. Bauer, J. Risse, M. O. Flüss, K. Hamacher, H. H. Coenen and K.-J. Langen, *J. Nucl. Med.*, 2006, **47**, 256–261.
- 7 J. L. Eberling, K. S. Bankiewicz, J. P. O'Neil and W. J. Jagust, *Front. Hum. Neurosci.*, 2008, **1**, 9.
- 8 B. D. Zlatopolskiy, J. Zischler, D. Schäfer, E. A. Urusova, M. Guliyev, O. Bannykh, H. Endepols and B. Neumaier, *J. Med. Chem.*, 2018, **61**, 189–206.
- 9 W.-J. Kuik, I. P. Kema, A. H. Brouwers, R. Zijlma, K. D. Neumann, R. A. J. O. Dierckx, S. G. DiMaggio and P. H. Elsinga, *J. Nucl. Med.*, 2015, **56**, 106–112.
- 10 K. Neumann, K. Glaspy, A. Vavere, S. Snyder and S. DiMaggio, *J. Nucl. Med.*, 2013, **54**(suppl 2), 1069.
- 11 B. H. Rotstein, L. Wang, R. Y. Liu, J. Patteson, E. E. Kwan, N. Vasdev and S. H. Liang, *Chem. Sci.*, 2016, **7**, 4407–4417.
- 12 H. Hanaoka, Y. Ohshima, A. Yamaguchi, H. Suzuki, N. S. Ishioka, T. Higuchi, Y. Arano and Y. Tsushima, *Mol. Pharmaceutics*, 2019, **16**, 3609–3616.
- 13 N. Ichiishi, A. F. Brooks, J. J. Topczewski, M. E. Rodnick, M. S. Sanford and P. J. Scott, *Org. Lett.*, 2014, **16**, 3224–3227.
- 14 M. Tredwell, S. M. Preshlock, N. J. Taylor, S. Gruber, M. Huiban, J. Passchier, J. Mercier, C. Génicot and V. Gouverneur, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2014, **53**, 7751–7755.
- 15 K. J. Makaravage, A. F. Brooks, A. V. Mossine, M. S. Sanford and P. J. H. Scott, *Org. Lett.*, 2016, **18**, 5440–5443.
- 16 J. Zischler, N. Kolks, D. Modemann, B. Neumaier and B. D. Zlatopolskiy, *Chem. – Eur. J.*, 2017, **23**, 3251–3256.
- 17 D. Antuganov, M. Zykov, V. Timofeev, K. Timofeeva, Y. Antuganova, V. Orlovskaya, O. Fedorova and R. N. Krasikova, *Eur. J. Org. Chem.*, 2019, 918–922.
- 18 D. J. Modemann, B. D. Zlatopolskiy, E. A. Urusova, J. Zischler, A. Craig, J. Ermert, M. Guliyev, H. Endepols and B. Neumaier, *Synthesis*, 2019, 664–676.
- 19 V. V. Orlovskaya, D. J. Modemann, O. F. Kuznetsova, O. S. Fedorova, E. A. Urusova, N. Kolks, B. Neumaier, R. N. Krasikova and B. D. Zlatopolskiy, *Molecules*, 2019, **24**, 3197.
- 20 S. Preshlock, S. Calderwood, S. Verhoog, M. Tredwell, M. Huiban, A. Hienzsch, S. Gruber, T. C. Wilson, N. J. Taylor, T. Cailly, M. Schedler, T. L. Collier, J. Passchier, R. Smits, J. Mollitor, A. Hoepfing, M. Mueller, C. Génicot, J. Mercier and V. Gouverneur, *Chem. Commun.*, 2016, **52**, 8361–8364.
- 21 D. Schäfer, P. Weiß, J. Ermert, J. C. Meleán, F. Zarrad and B. Neumaier, *Eur. J. Org. Chem.*, 2016, 4621–4628.
- 22 Y. N. Belokon, V. I. Bakmutov, N. I. Chernoglazova, K. A. Kochetkov, S. V. Vitt, N. S. Garbalinskaya and V. M. Belikov, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1988, 305–312.
- 23 R. N. Krasikova, O. F. Kuznetsova, O. S. Fedorova, V. I. Maleev, T. F. Saveleva and Y. N. Belokon, *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, **16**, 4994–5003.
- 24 A. Popkov, *Development of new precursors for asymmetric preparation of  $\alpha$ - $^{11}\text{C}$  methyl amino acids for PET*, PhD thesis, University of Groningen, Netherlands, 2008.
- 25 F. Zarrad, B. D. Zlatopolskiy, P. Krapf, J. Zischler and B. Neumaier, *Molecules*, 2017, **22**, 2231.
- 26 B. D. Zlatopolskiy, K. Loscha, P. Alvermann, S. I. Kozhushkov, S. V. Nikolaev, A. Zeeck and A. de Meijere, *Chem. – Eur. J.*, 2004, **10**, 4708–4717.
- 27 D. J. Smith, G. P. A. Yap, J. A. Kelley and J. P. Schneider, *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 1513–1520.
- 28 ICH guidelines Q3D on elemental impurities, European Medicines Agency, accessed 2020-01-13, 11:00.
- 29 P. Häflicher and R.-P. Charles, *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, **20**, 2428.

### 3.1.2. *N*-Methyl-6- und 5-Hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]Fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]9 und [<sup>18</sup>F]10)

Der Tryptophan-Metabolismus ist von entscheidender Bedeutung bei verschiedenen onkologischen und neurologischen Pathologien.

Die getrennte Visualisierung der Zweige des Tryptophan-Metabolismus ist wegen ihrer unterschiedlichen Expression bei Auf- oder Abregulierung von großem Interesse. Während es bereits Möglichkeiten zur Visualisierung des gesamten Trp-Metabolismus via PET gibt, sind Tracer für die selektive Visualisierung des KYN- und Serotonin-Pfades noch selten und größtenteils <sup>11</sup>C-markiert.<sup>[71, 82]</sup> Ziel dieses Projektes war deshalb die Synthese von 2 potenziellen neuen <sup>18</sup>F-markierten Trp-Tracern, *N*-Methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]9) und 5-Hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]10) (Abb. 54).

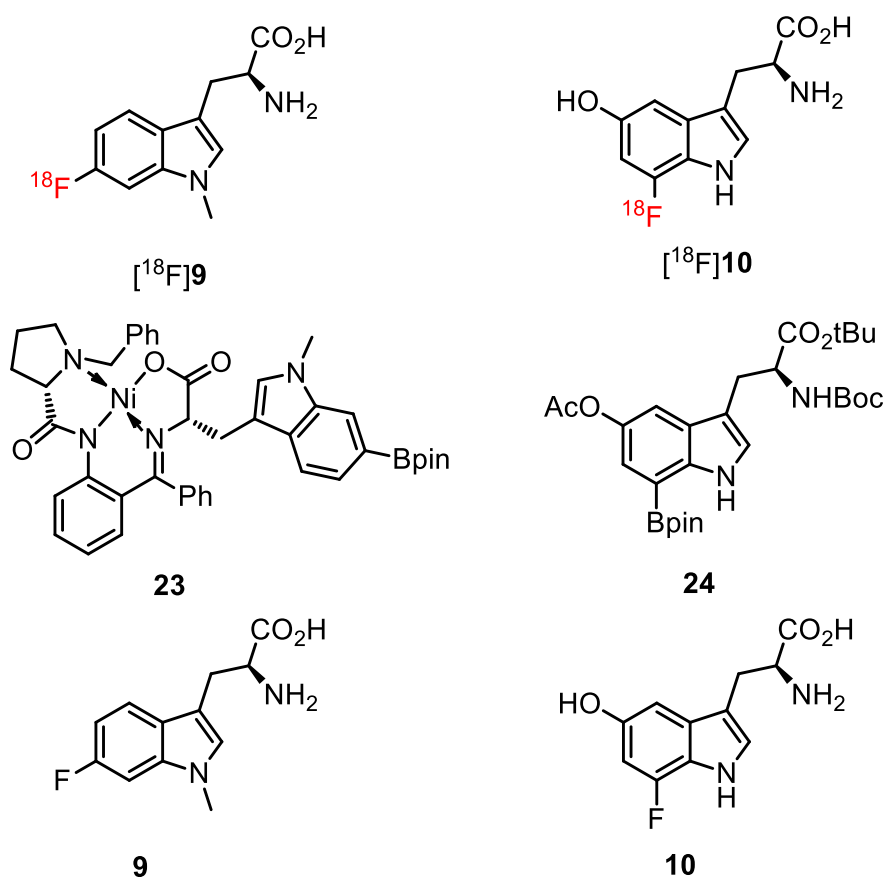


Abbildung 54: (S)-*N*-Methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]9) und (S)-5-Hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]10), der Vorläufer (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-N-Me-Trp (23) und Boc-5-AcO-7-BPin-Trp-tBu (24) und der Referenzstrukturen *N*-Methyl-6-fluortryptophan (9) und 5-Hydroxy-7-fluortryptophan (10).

Diese zwei aromatischen Aminosäuren wurden auf Grund ihrer projizierten Selektivität für die zwei Trp-Metabolismus-Pfade gewählt. *N*-Me-Trp wurde als gutes Substrat für IDO1 identifiziert, ist aber kein Substrat für TPH, weshalb davon abgeleitete Strukturen

potenziell attraktive Tracer für den KYN-Pfad darstellen.<sup>[83]</sup> Auf Basis dieser Daten wurde [<sup>18</sup>F]**9** deshalb für dieses Projekt als eine Zielstruktur gewählt.

Durch ihre geringe Affinität für IDO stellen 5-Hydroxytryptophane potenzielle Tracer für die Adressierung der Serotonin-Biosynthese dar.<sup>[84]</sup> 5-Hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan ([<sup>18</sup>F]**10**) wurde deshalb als möglicher Serotonin-Tracer gewählt unter Berücksichtigung der bekannten Daten für 7-[<sup>18</sup>F]FTp.<sup>[74]</sup>

Des Weiteren wurden in diesem Projekt die beiden Vorläufer (*S,S*)-Ni-BPB-6-BPin-*N*-Me-Trp (**23**) und Boc-5-AcO-7-BPin-Trp-*t*Bu (**24**) für [<sup>18</sup>F]**9** und [<sup>18</sup>F]**10** und die nicht-radioaktiven Referenzstrukturen *N*-Methyl-6-fluortryptophan (**9**) und 5-Hydroxy-7-fluortryptophan (**10**) hergestellt.

Das Konzept des nachfolgenden Manuskripts wurde gemeinschaftlich von N. Kolks und PD Dr. B. D. Zlatopolskiy, unterstützt von Prof. Dr. B. Neumaier, entwickelt. Die organischen Vorläufersynthesen und Radiosynthesen, einschließlich aller Optimierungen, wurden von N. Kolks durchgeführt. Das Manuskript wurde gemeinschaftlich von N. Kolks, PD Dr. B. D. Zlatopolskiy, F. Neumaier und Prof. Dr. B. Neumaier verfasst.

Im Rahmen dieser Dissertation erhobene analytische und experimentelle Daten wurden als Teile des eingebundenen folgenden Manuskripts und der „Supporting Information“ eingefügt (siehe Anhang **8**. für „Supporting Information“).



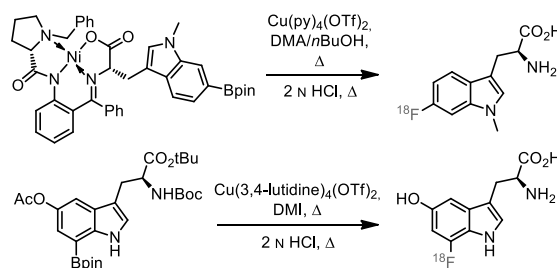
# Preparation of *N*<sub>1</sub>-methyl-6-[<sup>18</sup>F]F- and 5-hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]F-tryptophans as candidate PET-tracers for pathway-specific visualization of tryptophan metabolism

Niklas Kolks<sup>†,‡</sup>, Felix Neumaier<sup>†,‡</sup>, Bernd Neumaier<sup>\*†,‡</sup> and Boris D. Zlatopolskiy<sup>†,‡</sup>

<sup>†</sup>Institute of Radiochemistry and Experimental Molecular Imaging, University Clinic Cologne, Cologne 50937, Germany

<sup>‡</sup>Institute of Neuroscience and Medicine, INM-5: Nuclear Chemistry, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich 52428, Germany

**Abstract:** Tryptophan (Trp) is an essential proteinogenic amino acid and precursor for several signaling molecules that has been implicated in many physiological and pathophysiological processes. The two main branches of Trp-metabolism – serotonin and kynurenine pathway – are differently affected by a variety of neurological and oncologic diseases. Positron emission tomography (PET) with radiofluorinated Trp-derivatives is a promising avenue for selective assessment of different Trp metabolic pathways, but suitable probes for this approach are still lacking. In this work, we describe the preparation of two novel PET tracers, *N*<sub>1</sub>-methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluorotryptophan (*N*<sub>1</sub>-Me-6-[<sup>18</sup>F]FTrp) and 5-hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluorotryptophan (5-HO-7-[<sup>18</sup>F]FTrp) in radiochemical yields of 45 ± 7% and 29 ± 4%, respectively, which are promising candidates for pathway-specific visualization of Trp metabolism, as well as synthetic routes to access the respective boronate precursors and non-radioactive reference structures. The two candidate tracers were obtained by alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination, which provides fast and easy access to these novel probes and will enable their biological evaluation in future studies.



## Introduction

Tryptophan (Trp, **1**) (Fig. 1) is an essential proteinogenic amino acid with an indole side chain that represents the least abundant amino acid in proteins (ca. 1.3%) but serves as key metabolic precursor for serotonin (**2**) and several other bioactive molecules (Fig. 1).<sup>1</sup>

Under physiological conditions, over 95% of dietary Trp is metabolized via the kynurenine pathway, which represents one of the two key Trp-metabolic pathways. The first and rate-limiting step in this pathway is cleavage of the indole ring by tryptophan-2,3-dioxygenase (TDO) or indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO).<sup>2</sup> Depending on the exact downstream metabolic route, subsequent steps can produce an array of bioactive intermediates like kynurenine (KYN, **3**), quinolinic acid (QUIN, **4**), 3-hydroxykynurenine (3-HK, **5**), 3-hydroxyanthranilic acid (3-HANA, **6**) or kynurenic acid (KYNA, **7**), which either exert neuroprotective or neurotoxic effects (Fig. 1). While the concentration of neurotoxic KYN-pathway metabolites in the normal brain is low, local upregulation of IDO or changes in the activity of downstream enzymes under pathophysiological conditions can result in significant build up of kynurenine (**3**) and other intermediates.<sup>3,4</sup> Thus, dysregulation of the KYN pathway with increased production of toxic metabolites has been observed under

conditions of neuroinflammation and implicated in a number of neurodegenerative and neuropsychiatric disorders.<sup>5,6</sup> In addition, accelerated Trp-metabolism due to upregulation of IDO has been linked to tumor immune escape and shown to correlate with a poor prognosis in several types of cancer.<sup>7,8</sup>

A minor fraction (1–2%) of dietary Trp enters the serotonin pathway and is converted into the neurotransmitter serotonin (5-HT, **2**), which is mainly (~90%) formed in the gastrointestinal tract but also present in the brain (~5%).<sup>9</sup> Serotonin is biosynthesized through 5-hydroxylation of the indole ring in Trp by the rate-limiting enzyme tryptophan-hydroxylase (TPH) followed by decarboxylation, after which it may be further transformed to melatonin in the pineal gland. Serotonergic signaling is well known for its multifaceted role in emotional and cognitive processing, and a number of neuropsychiatric and neurodegenerative disorders have been shown to be associated with dysfunction or loss of serotonergic neurons in the brain.<sup>10,11</sup> In addition, neuroinflammation-driven changes of KYN-pathway activity in patients with neuropsychiatric disorders have been shown to reduce serotonin synthesis through lowered availability of the substrate Trp and through changes in TPH activity.<sup>12</sup>

Given that several pathophysiological conditions are associated with simultaneous and often opposite changes in

KYN-pathway activity and serotonin synthesis, selective visualization of the two pathways of Trp-metabolism remains an attractive goal for positron emission tomography (PET) imaging that could aid in understanding, prognosis and therapy of many disorders.

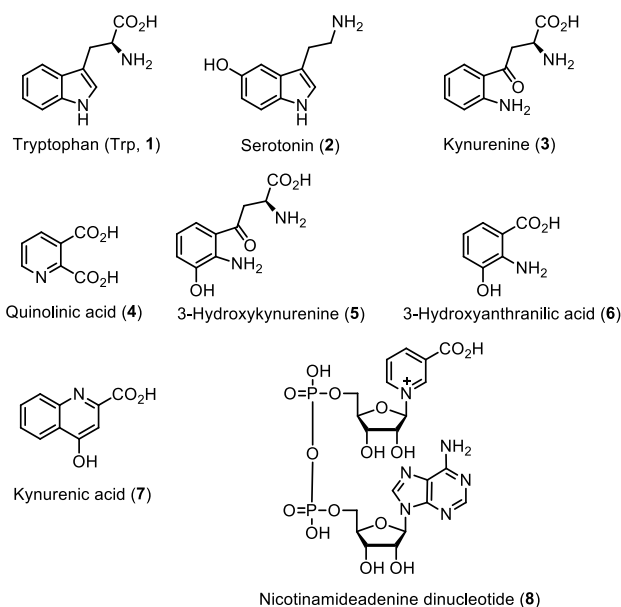


Figure 1. Tryptophan (Trp) and examples of metabolites of the Trp-metabolism.

However, optimal PET tracers for assessment of Trp-metabolism and especially for selective visualization of the different metabolic pathways are still lacking. Thus, while  $^{11}\text{C}$ -labeled tracers like  $\alpha$ - $^{11}\text{C}$ -methyl- $(S)$ -tryptophan ( $^{11}\text{C}$ AMT,  $^{11}\text{C}$ 9, Fig. 2)<sup>13</sup> and 5-hydroxy- $(S)$ - $\beta$ - $^{11}\text{C}$ tryptophan ( $^{11}\text{C}$ HTP,  $^{11}\text{C}$ 10, Fig. 2)<sup>14</sup> have clearly proven useful for imaging Trp-metabolism and serotonin synthesis, their application is limited by several inherent shortcomings, such as the short half-life of carbon-11 ( $t_{1/2} = 20$  min) and cumbersome production routes. Fluorine-18 possesses more favorable characteristics, such as a longer half-life ( $t_{1/2} = 109$  min) and lower kinetic energy of emitted positrons. Although the first  $^{18}\text{F}$ -labeled fluorotryptophans (*rac*-5- and *rac*-6- $^{18}\text{F}$ fluorotryptophan,  $^{11}\text{C}$ 11 and  $^{11}\text{C}$ 12, Fig. 2) were already described in 1972, their preparation suffered from low molar activities and RCYs as well as long reaction times and complex synthetic procedures involving dangerous diazonium salts.<sup>15</sup> A more recent example of an  $^{18}\text{F}$ -labeled tracer that is thought to preferentially target the KYN-pathway is 1-(2- $^{18}\text{F}$ fluoroethyl)- $(S)$ -tryptophan ( $^{18}\text{F}$ FETrp,  $^{18}\text{F}$ 13, Fig. 2), a substrate for IDO1 with high uptake and retention in IDO1-expressing cells in vitro and in IDO1-positive tumor xenografts in vivo.<sup>16</sup> However,  $^{18}\text{F}$ FETrp needs to be produced by an elaborate radiosynthesis, which includes a separation of enantiomers by preparative HPLC and gives only moderate yields of  $19.0 \pm 7.0\%$  for the  $S$ -enantiomer.<sup>17</sup> In addition, our group used Cu-mediated alcohol enhanced radiofluorination<sup>18</sup> to prepare 4-7- $^{18}\text{F}$ fluorotryptophans (4-7- $^{18}\text{F}$ FTrp,  $^{18}\text{F}$ 14–17, Fig. 2) in yields of up to  $53.0 \pm 5.0\%$  after 110 min.<sup>19</sup> While 4-, 5-, and 6- $^{18}\text{F}$ FTrp were defluorinated in vivo, 7- $^{18}\text{F}$ FTrp was stable and showed increased uptake in serotonergic areas of the brain as well as the ability to visualize changes in kynurenine-pathway activity in a 6-OHDA-induced Parkinson model, making it a potential tracer for both Trp-metabolic

pathways.<sup>20</sup> However, there is still a need for PET tracers that could be used to address either the serotonin- or the kynurenine-pathway in isolation.

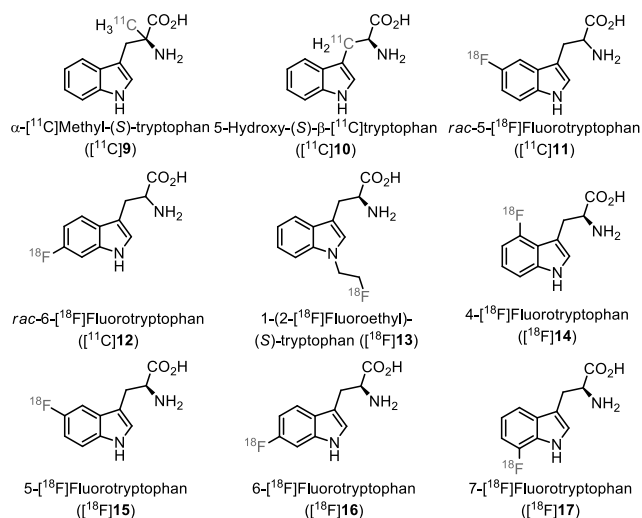


Figure 2. Select examples of  $^{11}\text{C}$ - and  $^{18}\text{F}$ -labeled Trp-analogues evaluated as PET-Tracers.

As such, the aim of this work was to prepare  $N_{in}$ -methyl-6- $^{18}\text{F}$ fluorotryptophan ( $N_{in}$ -Me-6- $^{18}\text{F}$ FTrp,  $^{18}\text{F}$ 18) and 5-hydroxy-7- $^{18}\text{F}$ fluorotryptophan (5-HO-7- $^{18}\text{F}$ FTrp,  $^{18}\text{F}$ 19) as candidate PET tracers for selective visualization of the kynurenine- or serotonin-pathway of Trp-metabolism, respectively.  $N_{in}$ -Me-6- $^{18}\text{F}$ FTrp was chosen based on previous findings that  $N_{in}$ -methyl-tryptophan is a substrate for IDO1<sup>21</sup> but not TPH, suggesting that probes derived from this compound could be used for selective visualization of the KYN-pathway. Conversely, 5-hydroxy-7- $^{18}\text{F}$ fluorotryptophan was chosen based on the low affinity of 5-hydroxytryptophanes for IDO<sup>16</sup> and our previous studies with 7- $^{18}\text{F}$ FTrp<sup>19</sup>, which suggest that this candidate could be used to specifically target the second step in serotonin biosynthesis while keeping metabolism via the KYN pathway to a minimum. In addition to the radiolabeled structures,  $N_{in}$ -methyl-6-fluorotryptophan ( $N_{in}$ -Me-6-FTrp, 18) and 5-hydroxy-7-fluorotryptophan (5-HO-7-FTrp, 19), the non-radioactive reference compounds for the two candidate tracers, were prepared as well (Fig. 3).

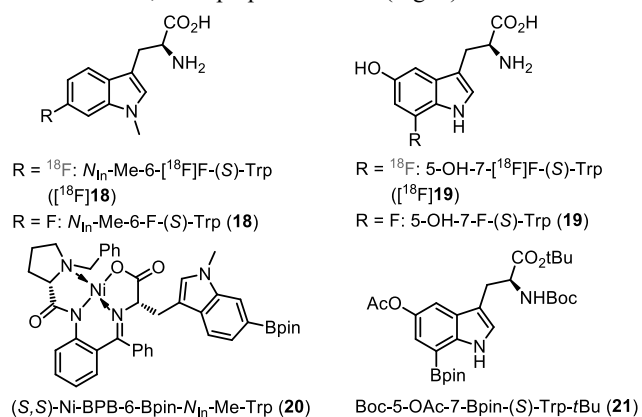
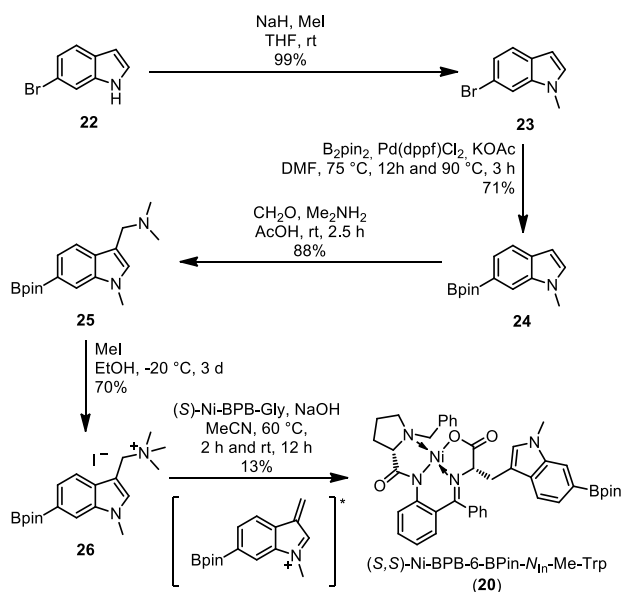


Figure 3. Tracers ( $^{18}\text{F}$ 18,  $^{18}\text{F}$ 19), reference structures (18, 19) and precursors (20, 21) prepared in this study.

## Results and Discussion

**Chemistry.** To prepare the radiolabeling precursor for  $N_{in}$ -Me-6- $^{18}F$ Trp ( $^{18}F$ **18**), commercially available 6-bromoindole (**22**) was methylated using MeI and NaH, which afforded intermediate **23** in a quantitative yield (Scheme 1). Next, the Bpin-leaving group was introduced by Miyaura-borylation to give 6-Bpin- $N$ -methylindole (**24**)<sup>22</sup>, followed by a Mannich-type reaction<sup>23</sup> that afforded 6-Bpin- $N_{in}$ -methylgramine (**25**) in a yield of 88%. Subsequent addition of MeI at low temperature resulted in the quaternized gramine **26**, which could be used for stereoselective alkylation of a (*S*)-Ni-BPB-Gly complex.<sup>24</sup> In the latter reaction, the *N*-benzylproline moiety directs the alkylating agent, resulting in selective formation of (*S,S*)-Ni-BPB-6-Bpin- $N_{in}$ -Me-Trp (**20**).<sup>25</sup> The yield for this reaction step was comparatively low (13%) and the product had to be purified via NP and RP chromatography, so that precursor **20** was obtained in a total yield of 6% over 5 steps (Scheme 1). However, given that presence of the  $N_{in}$ -methyl group destabilizes the necessary transition state, this was considered as acceptable.

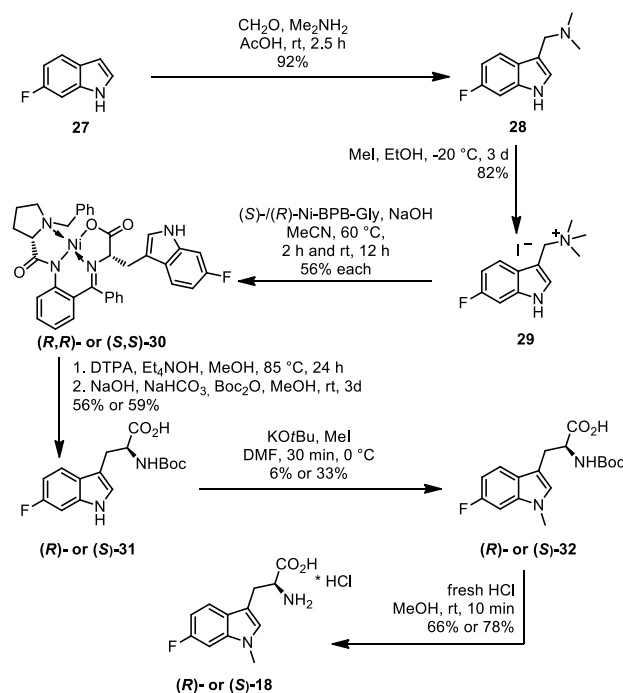
**Scheme 1. Synthesis of precursor 20 for  $^{18}F$ **18**.**



The initial steps for preparation of the reference compound  $N_{in}$ -Me-6- $F$ Trp (**18**) were similar to those for preparation of **20** described above (Scheme 2). In particular, 6-fluoroindole (**27**) was subjected to a Mannich-type reaction (92% yield) followed by quaternization of the resulting intermediate (**28**) with MeI (82%) to furnish 1-(6-fluoro-1H-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (**29**). Initial attempts to utilize this quaternized gramine for alkylation of an achiral Ni-BPA-Gly complex<sup>26</sup> were unsuccessful, as the solubility of the complex under the reaction conditions proved to be insufficient. Since direct production of racemic intermediates through this method was accordingly not feasible, we instead opted to synthesize  $N_{in}$ -Me-6- $F$ -(*R*)- and -(*S*)-Trp [(*R*)- and (*S*)-**18**] separately. To this end, either (*R*)- or (*S*)-Ni-BPB-Gly were alkylated with **29**, furnishing (*R,R*)- or (*S,S*)-**30** in a yield of 56%. These complexes were then decomposed with DTPA and Et<sub>4</sub>NOH,<sup>27</sup> followed by *in situ* Boc-protection to give the respective Boc-protected Trps (*R*)- and (*S*)-**31** in 56% and 59% yield, respectively. Subsequent  $N_{in}$ -methylation and deprotection yielded the desired reference compounds (*R*)- and

(*S*)- $N_{in}$ -Me-6- $F$ Trp [(*R*)- and (*S*)-**18**] in a total yield of 1% and 6% over 6 steps, respectively (Scheme 2).

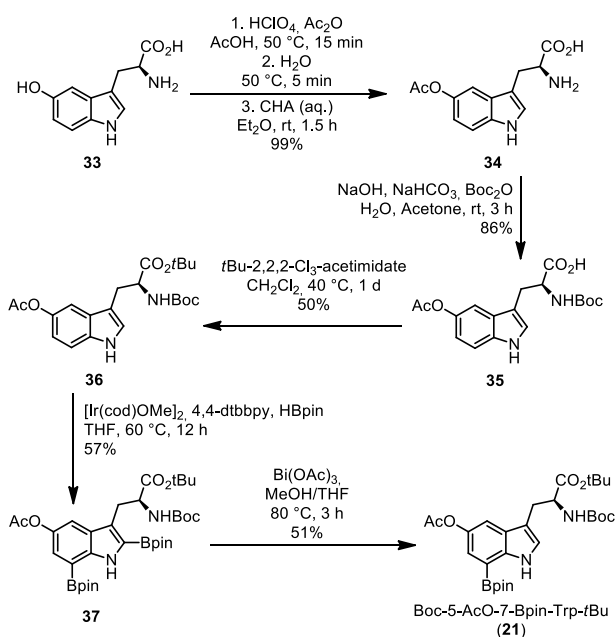
**Scheme 2. Synthesis of  $N_{in}$ -Me-6- $F$ -(*R*)- and (*S*)-Trp [(*R*)- and (*S*)-**18**].**



To access the radiolabeling precursor for 5-HO-7- $^{18}F$ Trp, ( $^{18}F$ **19**), the hydroxy-, amino- and carboxyl-groups in 5-hydroxytryptophan were protected by successive introduction of an acetoxy-, a Boc- and finally a *tert*-butyl-group, which afforded the corresponding intermediates in yields of 99% (**34**), 86% (**35**), and 50% (**36**), respectively (Scheme 3).<sup>28-30</sup> The resulting Boc-5-AcO-Trp-*t*Bu (**36**) was then 2,7-diborylated under Ir-catalysis to obtain the diborylated tryptophan **37**.<sup>31</sup> According to previous reports, diborylated tryptophans can usually be selectively 2-deborylated *in situ* using Pd<sup>19</sup>, but **37** proved to be completely stable towards Pd-catalyzed deborylation. However, when Bi(OAc)<sub>3</sub> was used as deborylating agent<sup>32</sup>, the desired radiolabeling precursor Boc-5-AcO-7-Bpin-Trp-*t*Bu (**21**) was obtained in a yield of 51%, corresponding to a total yield of 12% over 5 steps (Scheme 3).

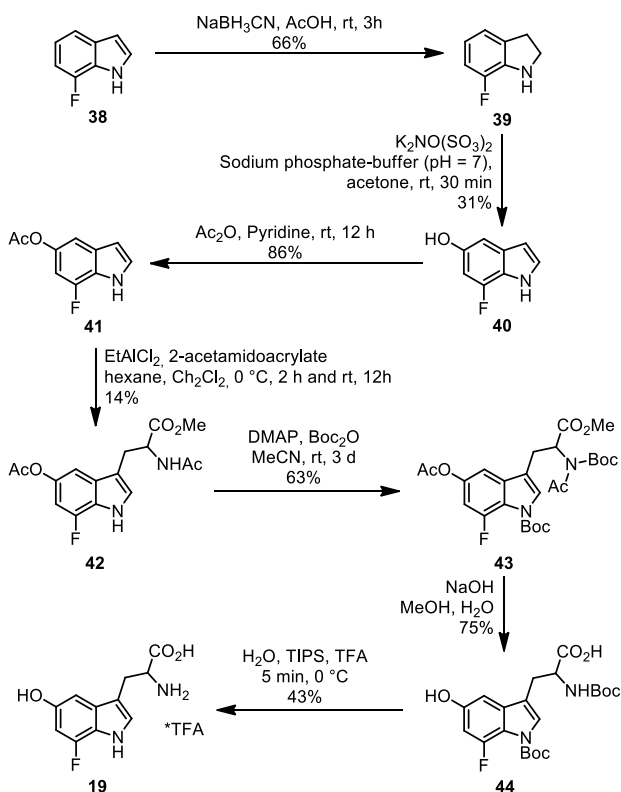
Due to the difficulty of introducing a hydroxy-group into the indole ring together with the low stability of substituted 5-OH-indoles and -tryptophans, synthesis of the reference compound 5-HO-7- $F$ Trp (**19**) proved to be particularly challenging. However, we eventually obtained the desired product using a combination of oxidation via Fremy's Salt<sup>33</sup> and Friedel-Crafts-alkylation<sup>34</sup> (Scheme 4). To this end, 7-fluoroindole (**38**) was initially reduced to 7-fluoroindoline (**39**) using sodium cyanoborohydride in acetic acid (66% yield) as described by Lohray et al.<sup>35</sup> Indoline **39** could then be used as a substrate for stereoselective introduction of a hydroxy-groups in the 5-position of the indole ring by utilizing potassium nitrosodisulfate (Fremy's Salt).<sup>35</sup> This reaction was performed in phosphate buffer at pH 7 and allowed to proceed for 30 minutes, which was found to provide the best conversions with minimal formation of side products. The yield of 5-hydroxy-7-fluoroindole (**40**) thus obtained was 31% and subsequent protection with an acetoxy group afforded intermediate **41** in a yield of 86%.<sup>36</sup> Transformation of indole **41** to a tryptophan-

### Scheme 3. Synthesis of precursor 21 for [<sup>18</sup>F]19.



derivative was accomplished according to a publication by Angelini et al.<sup>34</sup>, by employing the Friedel-Crafts-reaction for introduction of a protected amino acid moiety. Thus, reaction of **41** with  $\text{EtAlCl}_2$  and 2-acetamidoacrylate furnished methyl 2-acetamido-3-(5-acetoxy-7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (**42**) in a yield of 14%, which was then Boc-protected at both nitrogen-positions to obtain **43** (63% yield) in a second step. Subsequent saponification and hydrolysis with TFA and TIPS afforded the reference compound 5-OH-7-F-Trp  $\times$  TFA (**19**) in a total yield of 1% over 7 steps.

### Scheme 4. Synthesis of 5-HO-7-F-Trp (**19**).



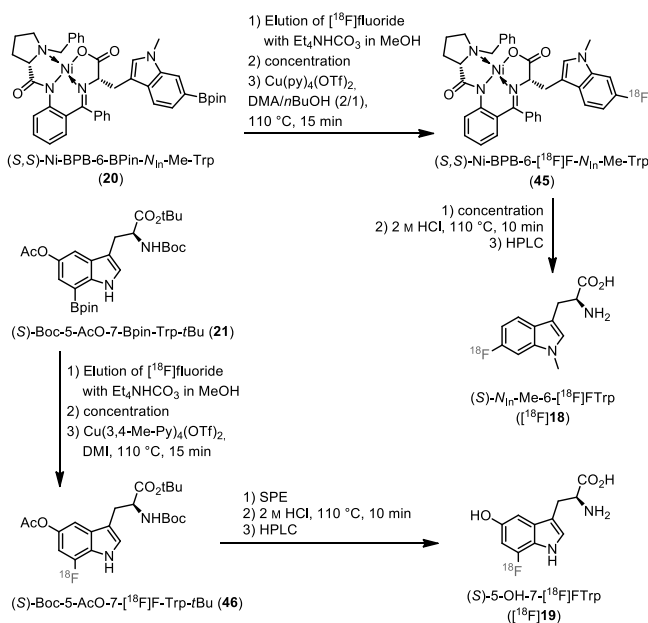
**Radiochemistry.** According to a modified protocol for alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination, [<sup>18</sup>F]fluoride ( $[\text{}^{18}\text{F}]\text{F}^-$ ) was eluted from a QMA-carbonate anion exchange cartridge using  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$  (5.2  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{MeOH}$  (0.5 mL) into a V-vial.<sup>18,37,38</sup> Use of  $n\text{BuOH}$  instead of  $\text{MeOH}$  for [<sup>18</sup>F]F<sup>-</sup> elution reduced the elution efficiency and radiochemical yields, as also described in the original procedure for alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination. Following evaporation of  $\text{MeOH}$  under reduced pressure, the corresponding boronate precursor and a Cu-mediator, such as e.g.  $\text{Cu}(\text{Py})_4(\text{OTf})_2$ , (10  $\mu\text{mol}$  each) in  $\text{DMA}$  and  $n\text{BuOH}$  (0.5 mL and 0.25 mL, respectively) were added to the vial and the mixture was directly heated at  $110\text{ }^\circ\text{C}$  for 15 min under air, followed by removal of the solvents and deprotection/decomposition of any protecting groups to obtain the final product.<sup>19</sup>

For radiosynthesis of  $N_{\text{in}}\text{-Me-6-}[\text{}^{18}\text{F}]\text{FTrp}$  ( $[\text{}^{18}\text{F}]\text{18}$ ), the approach laid out by Zlatopolskiy et al. was followed using the same Cu-mediator as described previously.<sup>19</sup> After elution of [<sup>18</sup>F]F<sup>-</sup> and removal of  $\text{MeOH}$  as described above, boronate precursor **20** (10  $\mu\text{mol}$ ) and  $\text{Cu}(\text{Py})_4(\text{OTf})_2$  (10  $\mu\text{mol}$ ) in a mixture of  $\text{DMA}/n\text{BuOH}$  (2/1, 0.75 mL) were added and the resulting mixture was immediately heated at  $110\text{ }^\circ\text{C}$  for 15 min under air. This furnished the intermediate **45** in radiochemical conversions (RCCs) of  $75 \pm 9\%$ . After evaporation of the solvents, **45** was decomposed with 2 M  $\text{HCl}$  (0.3 mL) at  $110\text{ }^\circ\text{C}$  for 10 min.<sup>39</sup> The final tracer was isolated by HPLC and obtained as a ready-to-use solution in 30%  $\text{EtOH}$  and acetate-buffer (see experimental section for the buffer composition). This afforded  $N_{\text{in}}\text{-Me-6-}[\text{}^{18}\text{F}]\text{FTrp}$  ( $[\text{}^{18}\text{F}]\text{18}$ ) in radiochemical yields (RCYs) of  $45 \pm 7\%$  after  $83 \pm 8$  min with excellent radiochemical (>99%) and enantiomeric purities (>99% ee). Molar activities ( $A_m$ ) were  $66 \pm 33\text{ GBq}/\mu\text{mol}$  (1000–1500 MBq) (Scheme 5).

Radiosynthesis of 5-HO-7- $[\text{}^{18}\text{F}]\text{FTrp}$  ( $[\text{}^{18}\text{F}]\text{19}$ ) was initially attempted using the alcohol-enhanced Cu-mediated protocol with  $\text{Cu}(\text{Py})_4(\text{OTf})_2$  as well, but intermediate **46** was only obtained in unsatisfactory RCCs of 11%. As such, we investigated modified reaction conditions using other, novel Cu-mediators and solvents. Initially, using  $\text{Cu}(4\text{-Ph-Py})_4(\text{ClO}_4)_2$  and  $\text{Cu}(3,4\text{-Me}_2\text{-Py})_4(\text{OTf})_2$  as the most promising candidates from a pool of potential Cu-mediators previously identified by our lab<sup>40</sup>, we observed no incorporation of <sup>18</sup>F and formation of **48** at all. Since we suspected that this was due to unfavorable interactions between the Cu-mediators and the solvent used in our initial experiments ( $\text{DMA}$ ), we evaluated alternative reaction solvents. Upon replacement of  $\text{DMA}$  by  $\text{DMI}$ , we indeed achieved immediate improvements of the RCCs to 57% and 55% for  $\text{Cu}(4\text{-Ph-Py})_4(\text{ClO}_4)_2$  and  $\text{Cu}(3,4\text{-Me}_2\text{-Py})_4(\text{OTf})_2$ , respectively. However, under these conditions, we observed formation of unidentified radiolabeled byproducts that accounted for up to 18% of the measured activity. Gratifyingly, by omitting the addition of  $n\text{BuOH}$  as co-solvent, the formation of byproducts could be suppressed completely while the RCCs were not significantly affected ( $50 \pm 10\%$  and  $55 \pm 7\%$ , respectively). After further evaluation of the two Cu-mediators and different solvents, we ultimately settled on using  $\text{Cu}(3,4\text{-Me}_2\text{-Py})_4(\text{OTf})_2$  and pure  $\text{DMI}$  for the synthesis. Thus, boronate precursor **21** and  $\text{Cu}(3,4\text{-Me}_2\text{-Py})_4(\text{OTf})_2$  (10  $\mu\text{mol}$  each) in  $\text{DMI}$  (0.75 mL) were added to the eluted and dried [<sup>18</sup>F]F<sup>-</sup> and  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$ , and the resulting solution was heated under air at  $110\text{ }^\circ\text{C}$  for 15 min. In this case, due to  $\text{DMI}$ 's significantly higher boiling point as compared to  $\text{DMA}$ , the solvent had to be separated from intermediate **46** using SPE, followed by elution of **46** with  $\text{MeOH}$  (1 mL) and concentration under reduced pressure, before the addition of

2 M HCl (0.3 mL) and deprotection at 110 °C for 10 min. After subsequent HPLC-purification, the final tracer was obtained as a ready-to-use solution in 8% EtOH and acetate-buffer. This afforded 5-HO-7- $^{18}\text{F}$ FTTrp ( $^{18}\text{F}$ 19) in RCYs of  $29 \pm 4\%$  after  $81 \pm 3$  min with excellent radiochemical (>99%) and enantiomeric purities (>99% ee), and an  $A_m$  of  $46 \pm 17$  GBq/ $\mu\text{mol}$  (1050–1350 MBq) (Scheme 5).

**Scheme 5. Radiosynthesis of  $N_{in}$ -Me-6- $^{18}\text{F}$ FTTrp (18) and 5-HO-7- $^{18}\text{F}$ FTTrp (19) by Cu-mediated radiofluorination.**



**Conclusion**

In summary, alkylation of a (*S*)-Ni-BPB-Gly complex and protection of 5-OH-Trp allowed for convenient and fast preparation of the boronate precursors (*S,S*)-Ni-BPB-6-Bpin- $N_{in}$ -Me-Trp (20) and Boc-5-AcO-7-Bpin-Trp-*t*Bu (21) in sufficient amounts and yields. The hitherto unknown reference structures  $N_{in}$ -Me-6-FTrp (18) and 5-HO-7-FTrp (19) were successfully prepared as well. In the case of  $N_{in}$ -Me-6-FTrp (18), use of a racemic complex did not prove feasible, but alkylation of (*R*)- and (*S*)-Ni-BPB-Gly followed by decomposition afforded  $N_{in}$ -Me-6-F-(*R*)- and -(*S*)-Trp [(*R*)-18 and (*S*)-18], which then be used in conjunction with each other. Synthesis of 5-HO-7-FTrp (19) proved to be difficult and several synthetic strategies evaluated failed (see Supporting Information), but the product was eventually obtained using Fremy's salt and Friedel-Crafts-alkylation.

Finally, the tracers  $N_{in}$ -Me-6- $^{18}\text{F}$ FTTrp ( $^{18}\text{F}$ 18) and 5-HO-7- $^{18}\text{F}$ FTTrp ( $^{18}\text{F}$ 19) were successfully prepared in good RCY,  $A_m$  and ee by Cu-mediated radiofluorination of the respective boronate precursors, using either the standard method for alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination with methanol elution (for  $^{18}\text{F}$ 18), or a modification of our original protocol with a novel Cu-mediator [ $\text{Cu}(4\text{-Ph-Py})_4(\text{ClO}_4)_2$ ] and the thermally more stable solvent DMI (for  $^{18}\text{F}$ 19).

**Experimental section**

**General information.** Unless noted otherwise, all chemicals and solvents were purchased from VWR International (Radnor,

PA, USA), Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany), ChemPUR (Karlsruhe, Germany), ABCR GmbH (Karlsruhe, Germany) or Fluka AG (Buchs, Switzerland) and used without further purification. NMR-Spectra were measured at ambient temperature in deuterium oxide ( $\text{D}_2\text{O}$ ), deuteriochloroform ( $\text{CDCl}_3$ ), deuteromethanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ), deuterioacetonitrile ( $\text{MeCN-}d_3$ ) or deuterodimethylsulfoxide ( $\text{DMSO-}d_6$ ) as indicated, using a Bruker Ascend™ 400. The measured chemical shifts are reported in  $\delta$  [ppm] relative to residual peaks of non-deuterated solvents. The observed signal multiplicities are characterized as follows: s = singlet,  $s_b$  = broad singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet and dd = doublet of doublet. Coupling constants *J* are reported in Hertz (Hz). High resolution mass spectra were measured with a FTICR “LTQ FT Ultra” (Thermo Fisher Scientific Inc., Bremen, Germany). Manual column chromatography was performed with silica gel, 60 Å, 230–400 mesh particle size from Fluka AG (Buchs, Switzerland) or silica gel (w/ 0.1% Ca), 60 Å, 230–400 mesh particle size from Sigma-Aldrich GmbH (Steinheim, Germany). Automated column chromatography was either performed on a Grace Reverelis X1 (Columbia, Maryland, USA) or on a Büchi Pure C-815 Flash system, using Si60 FlashPure cartridges or Reveleris™ C<sub>18</sub> reversed phase cartridges, respectively. TLC was performed using aluminium sheets coated with silica gel 0.25 mm SIL G/UV 254 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Chromatograms were inspected under UV light ( $\lambda = 254$  nm) and/or stained with phosphomolybdic acid (20% in EtOH). All reactions were carried out with magnetic stirring. Organic extracts were dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$ . Air or moisture sensitive reagents were handled under argon (>99.999%, Air Liquide GmbH). Solutions were concentrated under reduced pressure (1–900 mbar) at 40–50 °C using a rotary evaporator (Büchi Labortechnik, Essen, Germany). Solvent proportions are indicated in a volume/volume ratio.

**6-Bromo-1-methyl-1H-indole (23).**<sup>41</sup> 6-Bromoindole (2.5 g, 12.8 mmol, 1 eq) was dissolved in dry THF (26 mL) and placed in a stream of Ar. NaH in mineral oil (0.6 g, 15.3 mmol, 1.2 eq, 60 wt% in oil) was added in portions over 15 min and the mixture was stirred for 20 min. Iodomethane (2.27 g, 1.0 mL, 16.0 mmol, 1.25 eq) was then added and the mixture was stirred for an additional 20 min. The mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was taken up in sat.  $\text{NaHCO}_3$ -solution (25 mL). The mixture was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 20$  mL) and the organic phases were combined, dried and concentrated under reduced pressure. The residue was filtered over a layer of silica gel and the crude product was obtained as a brown oil (2.68 g, 12.8 mmol, 99%):  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 7.64 – 7.45 (m, 2H), 7.33 – 7.14 (m, 1H), 7.05 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 6.49 (dd, *J* = 3.1, 0.9 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 137.52 (C), 129.45 (CH), 127.29 (C), 122.52 (CH), 122.06 (CH), 115.13 (C-Br), 112.28 (CH), 101.21 (CH), 32.91 ( $\text{CH}_3$ ); MS (ESI) *m/z* [ $\text{M}+\text{H}$ ]<sup>+</sup> calcd. For  $\text{C}_9\text{H}_8\text{BrN}^+$  210.07, found 210.20; Elemental analysis Calcd. For  $\text{C}_9\text{H}_7\text{BrN}$ : C, 51.46; H, 3.84; N, 6.67. Found: C,  $51.7 \pm 0.3$ ; H,  $3.83 \pm 0.06$ ; N,  $6.64 \pm 0.04$ .

**1-Methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (24).**<sup>42</sup> *N*-Methyl-6-bromoindole (4 g, 19 mmol, 1 eq), bis(pinacolato)diboron (5.79 g, 22.8 mmol, 1.2 eq), Pd(dppf) $\text{Cl}_2$  (1.39 g, 1.9 mmol, 0.1 eq) and KOAc (3.9 g, 40 mmol, 2.1 eq) were dissolved in DMF (100 mL) in an Ar atmosphere and the mixture was stirred at 75 °C overnight and at 90 °C for 3 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was taken up in  $\text{Et}_2\text{O}$  (200 mL). The solution was washed with brine ( $3 \times 200$  mL) and water ( $3 \times 200$  mL), dried and concentrated under reduced pressure.

The residue was purified by column chromatography (silica gel, 0.1% Ca, hexane/EtOAc: 4:1). The product was obtained as a clear oil (3.5 g, 13.6 mmol, 71%):  $R_f = 0.35$  (silica gel, chloroform/acetone: 10:1);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 7.88 (q,  $J = 0.9$  Hz, 1H), 7.67 (dd,  $J = 8.0, 0.8$  Hz, 1H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.13 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 6.51 (dd,  $J = 3.0, 0.9$  Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 1.42 (s, 12H), 1.30 (s, 3H);  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 136.45 (C), 131.07 (C), 130.20 (CH), 125.18 (CH), 120.17 (CH), 116.20 (CH), 100.99 (CH), 83.55 (C  $\times$  2), 32.98 (CH<sub>3</sub>), 24.93 (CH<sub>3</sub>  $\times$  4), C-B was not observed; HRMS (ESI)  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{BNO}_2^+$  258.16599, found 258.16632.

***N,N*-Dimethyl-1-(1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanamine (25).**<sup>23</sup> 1-Methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (3.5 g, 13.6 mmol, 1 eq) was dissolved in AcOH (15 mL), formaldehyde-sol. (37%, 1.16 g, 1.27 mL, 17 mmol, 1.25 eq) and dimethylamine-sol. (40%, 3.36 g, 2.99 mL, 23.8 mmol, 1.75 eq) at 0 °C. The mixture was stirred at ambient temperature for 2.5 h and basified to pH = 10 with 3 M NaOH at 0 °C. The mixture was extracted with EtOAc (4  $\times$  75 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was obtained as a yellow solid (3.77 g, 12 mmol, 88%):  $^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 7.84 (q,  $J = 0.8$  Hz, 1H), 7.72 – 7.55 (m, 2H), 7.13 (s, 1H), 3.83 (d,  $J = 0.7$  Hz, 3H), 3.70 (s, 2H), 2.32 (d,  $J = 0.7$  Hz, 6H), 1.39 (d,  $J = 0.7$  Hz, 12H), 1.25 (d,  $J = 0.6$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C NMR}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm:  $\delta$  136.65 (C), 130.89 (C), 130.38 (CH), 125.11 (CH), 118.48 (CH), 116.32 (CH), 110.75 (C), 83.59 (C), 53.96 (CH<sub>2</sub>), 44.88 (CH<sub>3</sub>  $\times$  2), 32.94 (CH<sub>3</sub>), 24.93 (CH<sub>3</sub>  $\times$  4), C-B was not observed; HRMS (ESI)  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd. for  $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{BN}_2\text{O}_2^+$  315.22384, found 315.22430.

***N,N,N*-Trimethyl-1-(1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanaminium iodide (26).** *N,N*-dimethyl-1-(1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-methanamine (3.77 g, 12 mmol, 1 eq) was dissolved in EtOH (30 mL) and cooled to 0 °C. Iodomethane (8.5 g, 3.72 mL, 60 mmol, 5 eq) was added and the mixture was stored at –20 °C for 3 d in the fridge. The precipitate was filtered off and washed with cold Et<sub>2</sub>O. The product was obtained as a colorless solid (3.78 g, 8.3 mmol, 70%):  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 7.96 – 7.74 (m, 3H), 7.49 (dd,  $J = 8.0, 0.9$  Hz, 1H), 4.69 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.04 (s, 9H), 2.51 (p,  $J = 1.8$  Hz, 3H), 1.32 (s, 12H);  $^{13}\text{C NMR}$  (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 141.45 (C), 140.80 (CH), 135.91 (C), 131.06 (CH), 123.44 (CH), 122.20 (CH), 106.17 (C), 88.71 (C  $\times$  2), 65.36 (CH<sub>2</sub>), 56.36 (CH<sub>3</sub>  $\times$  3), 38.18 (CH<sub>3</sub>), 29.94 (CH<sub>3</sub>  $\times$  4), C-B was not observed; HRMS (ESI)  $m/z$   $[\text{M}-\text{I}]^+$  calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{BN}_2\text{O}_2^+$  329.23949, found 329.23984.

***(S,S)*-Ni-BPB-6-Bpin-*N*<sub>n</sub>-Me-Trp (20).**<sup>25</sup> *N,N,N*-Trimethyl-1-(1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-methanaminium iodide (2.3 g, 5 mmol, 1 eq), (*S*)-[Ni(II)-BPB-Gly] (2.56 g, 5 mmol, 1 eq) and ground up NaOH (0.5 g, 12.5 mmol, 2.5 eq) were dissolved in dry MeCN (125 mL) and stirred under Ar at 60 °C for 2 h and at ambient temperature overnight. Sat. NH<sub>4</sub>Cl-sol. (300 mL) was added and the mixture was extracted with EtOAc (3  $\times$  300 mL), dried and purified via column chromatography (silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/acetone: 2:1) and RP flash chromatography (CHROMABOND Sorbent C<sub>18</sub>, water/MeCN: gradient). The product was obtained as a red solid (0.5 g, 0.65 mmol, 13%):  $R_f = 0.35$  (silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Aceton: 10:1);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 8.24 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.84 (d,  $J = 17.5$  Hz, 1H), 7.69 – 7.06 (m, 8H), 7.01 –

6.86 (m, 1H), 6.69 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H), 4.43 – 4.14 (m, 1H), 3.80 (d,  $J = 24.7$  Hz, 3H), 3.49 – 3.02 (m, 3H), 2.91 – 2.66 (m, 1H), 2.25 – 2.04 (m, 1H), 1.96 (dq,  $J = 15.9, 7.6, 6.7$  Hz, 1H), 1.76 (dtd,  $J = 32.1, 11.6, 10.9, 6.3$  Hz, 1H), 1.38 (s, 12H), (Contains trace amounts of boronic acid-derivative after RP chromatography);  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 180.14 (C), 179.41 (C), 170.84 (C), 142.84 (C), 136.94 (C), 134.78 (CH), 134.14 (C), 133.46 (CH), 133.16 (C), 132.29 (CH), 131.55 (CH), 131.22 (C), 130.29 (CH), 129.65 (CH), 129.04 (CH), 128.79 (CH), 128.72 (CH), 128.21 (CH), 128.03 (CH), 127.69 (CH), 127.33 (CH), 126.23 (C), 125.54 (CH), 123.50 (CH), 120.52 (CH), 118.93 (CH), 117.69 (CH), 116.14 (CH), 108.62 (C), 83.57 (C  $\times$  2), 70.26 (CH), 63.07 (CH), 56.90 (CH<sub>2</sub>), 32.94 (CH<sub>3</sub>), 30.62 (CH<sub>2</sub>), 30.27 (CH<sub>2</sub>), 24.87 (CH<sub>3</sub>  $\times$  4), 22.66 (CH<sub>2</sub>), C-B was not observed (Contains trace amounts of boronic acid-derivative after RP chromatography); HRMS (ESI)  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd. for  $\text{C}_{43}\text{H}_{46}\text{BN}_4\text{NiO}_5^+$  767.29093, found 767.29184.

**1-(6-Fluoro-1H-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (28).** 6-Fluoroindole (2.0 g, 14.78 mmol, 1 eq) was dissolved in AcOH (15 mL), formaldehyde-sol. (37%, 1.08 g, 1.18 mL, 18.48 mmol, 1.25 eq) and dimethylamine-sol. (40%, 2.89 g, 2.48 mL, 24.87 mmol, 1.75 eq) at 0 °C. The mixture was stirred at ambient temperature for 2.5 h and basified to pH = 10 with 3 M NaOH-sol. at 0 °C. The mixture was extracted with EtOAc (4  $\times$  40 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The product was obtained as a lightly colored solid (2.61 g, 13.5 mmol, 92%):  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 7.58 (dd,  $J = 8.7, 5.6$  Hz, 1H), 7.21 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 7.12 (dd,  $J = 10.2, 2.4$  Hz, 1H), 6.83 (ddd,  $J = 9.9, 8.6, 2.4$  Hz, 1H), 3.50 (d,  $J = 0.8$  Hz, 2H), 2.14 (s, 6H);  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 159.27 (d,  $J = 233.6$  Hz, C-F), 136.62 (d,  $J = 12.8$  Hz, C), 125.31 (d,  $J = 3.2$  Hz, CH), 124.79 (C), 120.55 (d,  $J = 10.2$  Hz, CH), 112.48 (C), 107.22 (d,  $J = 24.4$  Hz, CH), 97.69 (d,  $J = 25.4$  Hz, CH), 54.88 (CH<sub>2</sub>), 45.38 (CH<sub>3</sub>  $\times$  2);  $^{19}\text{F NMR}$  (376 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: –122.46; HRMS (ESI)  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd. for  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{FN}_2^+$  193.11410, found 193.11367.

**1-(6-Fluoro-1H-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (29).** 1-(6-Fluoro)-*N,N,N*-dimethylmethanamine (2.61 g, 13.5 mmol, 1 eq) was dissolved in EtOH (30 mL) and cooled to 0 °C. Iodomethane (9.6 g, 4.2 mL, 67.5 mmol, 5 eq) was added and the mixture was stored at –20 °C for 12 h in the fridge. The mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was treated with EtOAc until a solid precipitate formed. The precipitate was filtered off, rinsed with Et<sub>2</sub>O and dried. The product was obtained as a colorless solid (3.7 g, 11.1 mmol, 82%):  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: 7.98 – 7.60 (m, 2H), 7.36 – 6.90 (m, 2H), 4.76 (d,  $J = 47.7$  Hz, 2H), 3.09 (d,  $J = 32.5$  Hz, 9H);  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm:  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO}$ )  $\delta$  159.51 (d,  $J = 235.9$  Hz, C-F), 136.47 (d,  $J = 11.8$  Hz, C), 131.40 (CH), 124.99 (C), 121.54 – 117.99 (m, CH), 109.17 (d,  $J = 24.4$  Hz, CH), 102.55 (C), 98.56 (d,  $J = 25.7$  Hz, CH), 60.81 (CH<sub>2</sub>), 51.72 (CH<sub>3</sub>  $\times$  3);  $^{19}\text{F NMR}$  (376 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm: –121.12; HRMS (ESI)  $m/z$   $[\text{M}-\text{I}]^+$  calcd. for  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{FN}_2^+$  207.12920, found 207.12930.

***(R,R)*- or *(S,S)*-Ni(II)-BPB-6-F-Trp (*(R,R)*- or *(S,S)*-30).**<sup>25</sup> (*R,R*)-32: 1-(6-Fluoro-1H-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (1.0 g, 3 mmol, 1 eq), (*R*)-[Ni(II)-BPB-Gly] (1.5 g, 3 mmol, 1 eq) and NaOH powder (0.3 g, 7.5 mmol, 2.5 eq) were dissolved in dry MeCN (80 mL) under Ar and stirred at 60 °C for 3 h and at ambient temperature overnight. A sat. NH<sub>4</sub>Cl-sol. (200 mL) was added and the mixture was extracted with EtOAc (3  $\times$  100 mL). The organic phases were

combined, dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (silica gel, chloroform/acetone: 30:1). The product was obtained as a red solid (1.12 g, 1.7 mmol, 56%);

(*S,S*)-32: Identical method using 1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (1.0 g, 3 mmol, 1 eq), (*S*)-[Ni(II)-BPB-Gly] (1.5 g, 3 mmol, 1 eq) and NaOH powder (0.3 g, 7.5 mmol, 2.5 eq) in dry MeCN (80 mL) to obtain the product as a red solid (1.12 g, 1.7 mmol, 56%):

Spectroscopic/analytical data was identical for both isomers. Only data for (*R,R*)-32 are shown: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.24 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.12 – 7.90 (m, 2H), 7.65 – 7.48 (m, 2H), 7.40 – 7.27 (m, 4H), 7.26 – 7.11 (m, 3H), 7.04 (dd, *J* = 9.6, 2.3 Hz, 1H), 6.94 – 6.81 (m, 2H), 6.81 – 6.61 (m, 3H), 4.35 – 4.12 (m, 2H), 3.56 – 3.40 (m, 2H), 3.29 (ddd, *J* = 27.7, 12.4, 5.7 Hz, 2H), 3.09 (dd, *J* = 14.7, 5.8 Hz, 1H), 2.87 (ddd, *J* = 10.4, 6.3, 3.4 Hz, 1H), 2.28 – 1.71 (m, 5H), 1.50 (dtq, *J* = 12.1, 8.4, 4.9, 4.2 Hz, 1H), 1.33 – 1.12 (m, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 180.20 (C), 179.52 (C), 170.85 (C), 160.06 (d, *J* = 237.6 Hz, C-F), 142.68 (C), 136.45 (d, *J* = 12.5 Hz, C), 134.03 (C), 133.55 (CH), 133.25 (C), 132.36 (CH), 131.50 (CH), 129.76 (CH), 129.11 (CH), 128.78 (CH), 127.93 (CH), 127.30 (CH), 126.22 (C), 124.81 (C) 123.47 (CH), 120.69 (CH), 109.63 (CH), 108.51 (d, *J* = 24.6 Hz, CH), 97.48 (d, *J* = 26.0 Hz, CH), 71.32 (CH), 70.41 (CH), 63.31 (CH<sub>2</sub>), 57.02 (CH<sub>2</sub>), 30.76 (CH<sub>2</sub>), 30.51 (CH<sub>2</sub>), 22.81 (CH<sub>2</sub>); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -121.32; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>N<sub>4</sub>FNi<sup>+</sup> 645.18119, found 645.18112.

#### **Boc-6-fluoro-(*R*)- or -(*S*)-tryptophan [(*R*)- or (*S*)-31].<sup>27</sup>**

(*R,R*)-33: (*R,R*)-Ni(II)-BPB-6-F-Trp (0.62 g, 1 mmol, 1 eq) was dissolved in MeOH (30 mL). DTPA (4.13 g, 10.5 mmol) in Et<sub>4</sub>NOH (25%, 12.1 mL) was added and the mixture was stirred at 85 °C for 24 h. MeOH was removed under reduced pressure and the aq. phase was cooled to 0 °C. The precipitate was filtered off and washed with cold H<sub>2</sub>O. The filtrate was basified to pH = 9 – 9.5 with 1 M NaOH and extracted with Et<sub>2</sub>O (3 × 20 mL). Sat. NaHCO<sub>3</sub> (4.5 mL) was added to the aq. phase followed by Boc<sub>2</sub>O (0.66 g, 3 mmol, 3 eq) and MeOH until the mixture was homogeneous. The mixture was stirred for 3 d at ambient temperature and MeOH was removed under reduced pressure. The aqueous phase was washed with Et<sub>2</sub>O (3 × 20 mL), acidified to pH = 2 with solid NaHSO<sub>4</sub> and extracted with Et<sub>2</sub>O (2 × 30 mL). The organic phase was washed with 1 M NaHSO<sub>4</sub> (3 ×), water (3 ×) and brine (2 ×), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was obtained as a colorless solid (0.18 g, 0.56 mmol, 56%);

(*S,S*)-33: Identical method using (*S,S*)-Ni(II)-BPB-6-F-Trp (0.57 g, 0.9 mmol, 1 eq), MeOH (30 mL), DTPA (3.75 g, 9.5 mmol) and Et<sub>4</sub>NOH (25%, 11 mL) to obtain the product as a colorless solid (0.17 g, 0.53 mmol, 59%):

Spectroscopic/analytical data was identical for both isomers. Only data for (*R*)-33 are shown; NMR spectra showed a mixture of rotamers. Only data for major rotamer were recorded: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 7.51 (dd, *J* = 8.7, 5.4 Hz, 1H), 7.22 – 7.06 (m, 2H), 7.00 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.90 – 6.78 (m, 1H), 4.23 – 4.06 (m, 1H), 3.18 – 3.07 (m, 1H), 2.97 (dd, *J* = 14.6, 9.3 Hz, 1H), 1.33 (s, 9H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 174.33 (C), 159.29 (d, *J* = 233.6 Hz, C-F), 155.86 (C), 136.42 (C), 124.70 (CH), 124.56 (C), 119.59 (CH), 110.99 (C), 107.26 (d, *J* = 24.3 Hz, CH), 97.78 (d, *J* = 25.4 Hz, CH), 78.49 (C), 54.96 (CH), 28.63 (CH<sub>3</sub> × 3), 27.79

(CH<sub>2</sub>); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -122.52; Elemental analysis: Calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C, 59.62; H, 5.94; N, 8.69. Found: C, 59.4 ± 0.1; H, 6.02 ± 0.05; N, 8.35 ± 0.02.

#### **Boc-6-fluoro-*N*<sub>in</sub>-methyl-(*R*)- or -(*S*)-tryptophan ((*R*)- or (*S*)-32).**

(*R*)-34: (*R*)-2-((*Tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)propanoic acid (0.29 g, 0.9 mmol, 1 eq) was dissolved in DMF (10 mL) under Ar. KO*t*Bu (1 M in *t*BuOH, 1.6 g, 1.8 mL, 2 eq) was added under ice-cooling and the mixture was stirred for 15 min. MeI (0.19 g, 0.084 mL, 1.35 mmol, 1.5 eq) was added and the mixture was stirred for an additional 15 min and subsequently quenched with 1 M NaHSO<sub>4</sub> and extracted with EtOAc. The organic phase was washed with 1 M NaHSO<sub>4</sub>, dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (silica gel, hexane/EtOAc: 2:1, 3% AcOH). The product was obtained as a colorless foam (17 mg, 0.05 mmol, 6%);

(*S*)-34: Identical method using (*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)propanoic acid (0.29 g, 0.9 mmol, 1 eq), DMF (10 mL), KO*t*Bu (1 M in *t*BuOH, 1.8 mL, 2 eq) and MeI (0.19 g, 0.084 mL, 1.35 mmol, 1.5 eq) to obtain the product as a colorless foam (96 mg, 0.3 mmol, 33%):

Spectroscopic/analytical data was identical for both isomers. Only data for (*S*)-34 are shown: R<sub>f</sub> = 0.34 (silica gel, hexane/EtOAc: 2:1, 3% AcOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.51 (dd, *J* = 8.7, 5.2 Hz, 1H), 7.28 (s, 0H), 6.96 (dd, *J* = 9.8, 2.3 Hz, 1H), 6.91 – 6.81 (m, 2H), 5.09 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.66 (q, *J* = 6.2 Hz, 1H), 3.66 (d, *J* = 15.9 Hz, 3H), 3.30 (qd, *J* = 14.7, 5.5 Hz, 2H), 1.45 (s, 6H), 1.25 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 176.49 (C), 159.99 (d, *J* = 237.8 Hz, C-F), 155.54 (C), 136.98 (d, *J* = 11.9 Hz, C), 128.39 (CH), 127.93 (CH), 124.76 (C), 119.74 (d, *J* = 10.0 Hz, CH), 108.78 (C), 107.89 (d, *J* = 24.9 Hz, CH), 95.66 (d, *J* = 26.1 Hz, CH), 80.26 (C), 54.14 (CH), 32.78 (CH<sub>3</sub>), 28.32 (CH<sub>3</sub> × 3), 27.89 (CH<sub>2</sub>); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -120.83; Elemental analysis: Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 60.70; H, 6.29; N, 8.33. Found: C, 60.3 ± 0.3; H, 6.3 ± 0.02; N, 8.12 ± 0.04.

#### ***N*<sub>in</sub>-Methyl-6-fluoro-(*R*)- or -(*S*)-tryptophan hydrochloride [(*R*)- or (*S*)-18].**

Preparation of fresh HCl-sol.: MeOH (1.66 mL, 0.041 mol, 1 eq) was dissolved in EtOAc (8.34 mL) under Ar and acetylchloride (3,124 g, 2.84 mL, 0.04 mol, 0.97 eq) was added under ice-cooling. The mixture was stirred at 0 °C for 10 min and at ambient temperature for 20 min.

(*R*)-20: (*R*)-2-((*Tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1-methyl-1*H*-indol-3-yl)propanoic acid (20 mg, 0.06 mmol) was dissolved in approx. 0.6 mL of the freshly prepared HCl-sol. and the mixture was left for 10 min and then centrifuged for 10 min at 9000 rpm. The solvent was decanted off and the residue was successively washed with EtOAc (2 × 1 mL), Et<sub>2</sub>O (1 mL) and pentane (1 mL). The residue was dried and the product was obtained as a colorless solid (11 mg, 0.04 mmol, 66%);

(*S*)-20: Identical method using (*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1-methyl-1*H*-indol-3-yl)propanoic acid (20 mg, 0.06 mmol) and 0.6 mL of the freshly prepared HCl-sol. to obtain the product as a colorless solid (13 mg, 0.047 mmol, 78%):

Spectroscopic/analytical data was identical for both isomers. Only data for (*S*)-20 are shown: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 8.46 (s, 2H), 7.61 (dd, *J* = 8.7, 5.4 Hz, 1H), 7.30 (dd,

$J = 10.4, 2.3$  Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.90 (ddd,  $J = 9.8, 8.7, 2.4$  Hz, 1H), 4.06 (d,  $J = 28.0$  Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.29 (d,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.51 (p,  $J = 1.8$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 171.12 (C), 159.56 (d,  $J = 234.6$  Hz, C-F), 137.20 (d,  $J = 12.4$  Hz, C), 130.43 (d,  $J = 3.4$  Hz, C), 124.62 (CH), 120.22 (d,  $J = 10.3$  Hz, CH), 107.56 (d,  $J = 24.6$  Hz, CH), 106.96 (C), 96.59 (d,  $J = 26.1$  Hz, CH), 52.97 (CH), 33.08 (CH<sub>3</sub>), 26.18 (CH<sub>2</sub>);  $^{19}\text{F}$  NMR (376 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: -121.37; HRMS (ESI)  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> 237.10338, found 237.10363.

**5-Acetoxy-(S)-tryptophan (34).**<sup>28</sup> 5-Hydroxytryptophan (5.0 g, 22.5 mmol, 1 eq) was dissolved in 0.1 M perchloric acid (225 mL) in glacial acetic acid. 20% Acetic anhydride (22.5 mL, 44 mmol) in acetic acid was slowly added and the mixture was heated to 50 °C and stirred at this temperature for 15 min. H<sub>2</sub>O (4.6 mL) was added and the mixture was stirred at 50 °C for 5 min. After cooling to ambient temperature, cyclohexylamine-sol. (40%, 9 mL) and Et<sub>2</sub>O (225 mL) were added slowly under ice cooling. The mixture was stirred at ambient temperature for 1.5 h and the precipitate was filtered off and rinsed with Et<sub>2</sub>O/AcOH (1/1, 35 mL) and Et<sub>2</sub>O (10 mL). The crude product was then suspended in EtOH/water (1/1, 25 mL). The suspension was refluxed for 5 min, stirred at ambient temperature for 1 h and stored at 5 °C overnight. The solid was filtered off, rinsed with EtOH/water (1/1, 3 × 10 mL) and dried under reduced pressure. The product was obtained as a colorless solid (5.9 g, 22.4 mmol, 99%):  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 7.49 – 7.21 (m, 3H), 6.82 (dd,  $J = 8.6, 2.3$  Hz, 1H), 3.64 – 3.43 (m, 1H), 3.28 (dd,  $J = 15.1, 4.3$  Hz, 1H), 3.12 – 2.95 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 1.92 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 172.70 (C), 171.32 (C), 170.43 (C), 143.83 (C), 134.60 (C), 127.83 (C), 126.37 (CH), 115.79 (CH), 112.11 (CH), 111.02 (CH), 109.90 (C), 54.97 (CH), 27.40 (CH<sub>2</sub>), 21.35 (CH<sub>3</sub>); HRMS (ESI)  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> 263.10263, observed 263.10283.

**Boc-5-acetoxy-(S)-tryptophan (35).**<sup>29</sup> 3-(5-Acetoxy-1H-indol-3-yl)-2-aminopropanoic acid acetate monohydrate (5.93 g, 17.4 mmol, 1 eq) was suspended in 1 M NaOH (35 mL, 2 eq), and NaHCO<sub>3</sub> (1.5 g, 17.4 mmol, 1 eq) and Boc<sub>2</sub>O (5.7 g, 26.3 mmol, 1.5 eq) were added. The mixture was diluted with water (~130 mL) and acetone (~200 mL) until all components were dissolved and stirred for 3 h. The acetone was removed under reduced pressure and the aqueous phase was washed with Et<sub>2</sub>O (3 × 50 mL). The aqueous phase was then acidified to pH = 2 with 1 M NaHSO<sub>4</sub> and extracted with Et<sub>2</sub>O (3 × 60 mL). The organic phase was washed with 1 M NaHSO<sub>4</sub> (50 mL), sat. NaCl-sol. (2 × 50 mL) and water (3 × 50 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The product was obtained as a colorless foam (5.42 g, 14.9 mmol, 86%): NMR spectra showed a mixture of rotamers. Only data for major rotamer were recorded:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 7.35 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.23 (dd,  $J = 4.1, 2.2$  Hz, 2H), 7.14 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.06 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.95 (dd,  $J = 10.3, 8.0$  Hz, 2H), 6.88 – 6.79 (m, 2H), 6.61 (dd,  $J = 8.6, 2.3$  Hz, 1H), 4.30 – 4.04 (m, 2H), 3.19 – 2.81 (m, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.35 (d,  $J = 3.3$  Hz, 14H), 1.17 – 1.03 (m, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 174.60 (C), 174.34 (C), 170.38 (C), 155.93 (C), 155.85 (C), 150.78 (C), 143.90 (C), 134.32 (C), 131.13 (C), 128.28 (C), 127.79 (C), 125.72 (CH), 124.64 (CH), 115.85 (CH), 112.19 (CH), 111.73 (CH), 111.00 (C), 110.77 (C), 109.63 (CH), 102.54 (CH), 78.51 (C), 65.39 (C), 55.06 (CH), 54.82 (CH), 28.66 (CH<sub>3</sub>), 28.62 (CH<sub>3</sub>), 28.25 (CH<sub>3</sub>), 27.44 (CH<sub>2</sub>), 27.21 (CH<sub>2</sub>), 21.36 (CH<sub>3</sub>), 15.63 (CH<sub>3</sub>); HRMS (ESI)  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup> 385.13701, found 385.13715.

**Boc-5-acetoxy-(S)-tryptophan-tBu (36).**<sup>30</sup> 3-(5-Acetoxy-1H-indol-3-yl)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-propanoic acid (5.42 g, 14.9 mmol, 1 eq) and *tert*-butyl 2,2,2-trichloroacetimidate (6.51 g, 29.8 mmol, 2 eq) were dissolved in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (75 mL) and stirred at 40 °C for 1 d. Approximately half of the solvent was removed under reduced pressure and the mixture was stored at -20 °C for 12 h. The precipitate was filtered off and washed with cold CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL). The filtrate was washed with sat. NaHCO<sub>3</sub>-sol. (30 mL), 1 M NaHSO<sub>4</sub> (30 mL), H<sub>2</sub>O (30 mL) and brine (30 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, hexane/EtOAc: 3:1) and the product was obtained as a yellow foam (3.13 g, 7.5 mmol, 50%): R<sub>f</sub> = 0.23 (silica gel, hexane/EtOAc: 1:1); NMR spectra showed a mixture of rotamers. Only data for major rotamer were recorded:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 8.45 (s, 1H), 7.35 – 7.15 (m, 2H), 7.01 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 6.89 (dd,  $J = 8.7, 2.2$  Hz, 1H), 5.11 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 3.20 (qd,  $J = 14.9, 5.8$  Hz, 2H), 2.33 (s, 3H), 1.42 (d,  $J = 21.9$  Hz, 18H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 171.35 (C), 170.56 (C), 155.26 (C), 144.20 (C), 133.98 (C), 128.29 (C), 124.22 (CH), 116.18 (CH), 111.59 (CH), 111.10 (CH), 110.83 (C), 81.95 (C), 79.66 (C), 54.67 (CH), 28.33 (CH<sub>3</sub> × 3), 28.01 (CH<sub>2</sub>), 27.94 (CH<sub>3</sub> × 3), 21.15 (CH<sub>3</sub>); HRMS (ESI)  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup> 419.21766, found 419.21789.

**Boc-5-acetoxy-2,7-bis(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-(S)-tryptophan-tBu (37).**<sup>31</sup> *Tert*-butyl 3-(5-acetoxy-1H-indol-3-yl)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-propanoate (2.9 g, 6.9 mmol, 1 eq), [Ir(cod)OMe]<sub>2</sub> (112.3 mg, 172.6 μmol, 2.5 mol%) and 4,4'-di-*tert*-butyl-2,2'-bipyridine (92.0 mg, 345.1 μmol, 5 mol%) were suspended in dry THF (70 mL) under an Ar atmosphere. Pinacolborane (4.3 g, 5.03 mL, 34.5 mmol, 5 eq) was added to the solution in one portion and the vessel was sealed and heated at 60 °C overnight. The mixture was concentrated under reduced pressure and taken up in Et<sub>2</sub>O (170 mL). The solution was washed with sat. NaHCO<sub>3</sub>-solution (3 × 150 mL) and brine (3 × 150 mL). The organic phase was dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (Silica gel, 0.1% Ca, hexane/EtOAc: 4:1). The product was obtained as a colorless foam (2.61 g, 3.9 mmol, 57%): R<sub>f</sub> = 0.38 (silica gel, hexane/EtOAc: 2:1); NMR spectra showed a mixture of rotamers. Only data for major rotamer were recorded:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 7.48 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 7.42 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.26 – 4.00 (m, 1H), 3.46 – 3.17 (m, 2H), 2.44 – 2.21 (m, 4H), 1.54 – 1.38 (m, 42H), 1.38 – 1.16 (m, 14H);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 172.29 (C), 170.39 (C), 155.59 (C), 143.96 (C), 140.84 (C), 127.54 (C), 125.32 (CH), 123.50 (C), 115.04 (CH), 84.39 (C × 2), 84.09 (C × 2), 81.04 (C), 78.91 (C), 56.11 (CH), 28.30 (CH<sub>3</sub> × 3), 28.00 (CH<sub>3</sub> × 3), 27.46 (CH<sub>2</sub>), 25.07 (CH<sub>3</sub> × 3), 24.59 (CH<sub>3</sub> × 4), 21.09 (CH<sub>3</sub> × 4), 14.21 (CH<sub>3</sub>), C-B was not observed; HRMS (ESI)  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>34</sub>H<sub>53</sub>B<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub><sup>+</sup> 671.38808, found 671.38871.

**Boc-5-acetoxy-7-bis(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-(S)-tryptophan-tBu (21).**<sup>32</sup> *Tert*-butyl 3-(5-acetoxy-2,6-bis(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoate (0.5 g, 0.75 mmol, 1 eq) and Bi(OAc)<sub>3</sub> (58 mg, 0.15 mmol, 20 mol%) were dissolved in MeOH/THF (5:4, 5 mL) and stirred at 80 °C for 3 h. The mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography (silica gel, 0.1% Ca, hexane/EtOAc: 2:1) followed by RP-chromatography (CHROMABOND Sorbent



C<sub>18</sub>, MeCN/water: 60:40). The product was obtained as a colorless solid (0.21 g, 0.38 mmol, 51%); R<sub>f</sub> = 0.27 (silica gel, hexane/EtOAc: 1:1); NMR spectra showed a mixture of rotamers. Only data for major rotamer were recorded: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 9.10 (s, 1H), 7.57 – 6.95 (m, 3H), 5.06 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.59 – 4.45 (m, 1H), 3.25 (qd, J = 14.9, 5.4 Hz, 2H), 2.31 (s, 3H), 1.53 – 1.30 (m, 30H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 171.26 (C), 170.43 (C), 155.20 (C), 143.96 (C), 139.12 (C), 127.67 (C), 124.02 (CH), 122.87 (CH), 114.85 (CH), 110.31 (C), 84.07 (C), 81.88 (C), 79.50 (C), 54.66 (CH), 28.32 (CH<sub>3</sub> × 3), 28.00 (CH<sub>3</sub> × 3), 27.81 (CH<sub>2</sub>), 25.00 (CH<sub>3</sub> × 4), 21.05 (CH<sub>3</sub>), C-B was not observed; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>28</sub>H<sub>42</sub>BN<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup> 545.30287, found 545.30306.

**7-Fluoroindoline (39).**<sup>35</sup> 7-Fluoroindole (5 g, 37 mmol, 1 eq) was dissolved in AcOH (20 mL) and sodium cyanoborohydride (4.7 g, 74 mmol, 2 eq) was added in portions. The mixture was stirred for 3 h, poured into 2 M NaOH (375 mL), extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 100 mL), washed with brine (100 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (silica gel, hexane/EtOAc: 10:1). The product was obtained as a clear liquid (3.36 g, 24.5 mmol, 66%); R<sub>f</sub> = 0.45 (silica gel, hexane/EtOAc: 10:1); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 6.94 (dq, J = 7.3, 1.1 Hz, 1H), 6.84 (ddq, J = 10.0, 8.2, 0.8 Hz, 1H), 6.67 (ddd, J = 8.2, 7.3, 4.6 Hz, 1H), 3.83 (s, 1H), 3.65 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.11 (t, J = 8.4 Hz, 2H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 149.41 (d, J = 239.8 Hz, C-F), 138.41 (d, J = 12.6 Hz, C), 133.14 (d, J = 4.7 Hz, C), 120.11 (d, J = 2.9 Hz, CH), 119.21 (d, J = 5.7 Hz, CH), 113.86 (d, J = 17.4 Hz, CH), 47.99 (C), 30.21 (d, J = 2.2 Hz, C); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -135.86; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>FN<sup>+</sup> 138.07135, found 138.07120.

**5-Hydroxy-7-fluoroindole (40).**<sup>33</sup> Potassium nitrosodisulfonate (7.75 g, 28.9 mmol, 2.2 eq) in 0.1 M pH 7 sodium phosphate buffer (350 mL) was added slowly over 20 min to a solution of 7-fluoroindoline (1.8 g, 13.1 mmol, 1 eq) in acetone (180 mL). TLC/HPLC-control was performed after every 10 min to monitor consumption of the starting material (30 min total reaction time). After complete conversion, the mixture was diluted with EtOAc (140 mL) and the org. layer was separated. The aq. layer was extracted with EtOAc (6 × 140 mL) and the combined organic phases were washed with H<sub>2</sub>O (2 × 100 mL) and brine (100 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (silica gel, hexane/EtOAc: 4/1). The product was obtained as a purple liquid (0.62 g, 4.1 mmol, 31%); R<sub>f</sub> = 0.32 (silica gel, hexane/EtOAc: 4:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.24 (s, 1H), 7.21 (t, J = 2.8 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 2.1, 0.7 Hz, 1H), 6.61 (dd, J = 11.8, 2.1 Hz, 1H), 6.48 (td, J = 3.3, 2.1 Hz, 1H), 5.06 (s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 150.45 (C), 148.75 (d, J = 146.8 Hz, C-F), 131.22 (d, J = 6.4 Hz, C), 125.79 (CH), 119.61 (d, J = 13.2 Hz, C), 102.79 (d, J = 2.7 Hz, CH), 100.75 (d, J = 3.6 Hz, CH), 98.15 (d, J = 19.6 Hz, CH), 29.73 (C); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm: -133.07; Elemental analysis; Calcd. for C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>FNO: C, 63.57; H, 4.00; N, 9.27. Found: C, 61.9 ± 0.5; H, 4.28 ± 0.08; N, 9.02 ± 0.1; larger than expected deviation, product highly unstable under ambient conditions.

**5-Acetoxy-7-fluoroindole (41).**<sup>36</sup> 5-Hydroxy-7-fluoroindole (0.33 g, 2.1 mmol, 1 eq) dissolved in pyridine (4.2 mL) was treated with acetic anhydride (0.47 g, 0.44 mL, 4.62 mmol, 2.2 eq) and stirred at ambient temperature overnight. The mixture was diluted with water (42 mL), treated with 3 M HCl

to pH = 2 and extracted with EtOAc (4 × 20 mL). The org. phase was washed with sat. NaHCO<sub>3</sub> (40 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, hexane/EtOAc: 4:1). The product was obtained as a purple oil (0.25 g, 1.8 mmol, 86%); R<sub>f</sub> = 0.43 (silica gel, hexane/EtOAc: 3:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.45 (s, 1H), 7.23 (t, J = 2.8 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 1.9, 0.7 Hz, 1H), 6.74 (dd, J = 11.1, 1.9 Hz, 1H), 6.57 (td, J = 3.3, 2.1 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 170.30 (C), 148.67 (d, J = 245.6 Hz, C-F), 143.68 (C), 130.56 (d, J = 6.1 Hz, C), 126.01 (CH), 122.26 (d, J = 13.1 Hz, C), 108.61 (d, J = 3.9 Hz, CH), 103.68 (d, J = 2.6 Hz, CH), 102.31 (d, J = 19.5 Hz, CH), 21.12 (C); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -123.81; Elemental analysis; Calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>FNO<sub>2</sub>: C, 62.18; H, 4.17; N, 7.25. Found: C, 62.3 ± 0.1; H, 4.21 ± 0.04; N, 7.36 ± 0.02.

**Methyl 2-acetamido-3-(5-acetoxy-7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (42).**<sup>34</sup> 1 M EtAlCl<sub>2</sub> in hexane (20 g, 26 mL, 26 mmol, 5 eq) was added dropwise to a stirred and cooled solution (0 °C) of methyl 2-acetamidoacrylate (0.74 g, 5.2 mmol, 1 eq) and 5-acetoxy-7-fluoroindole (1 g, 5.2 mmol, 1 eq) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) under a stream of Ar. The mixture was stirred at 0 °C for 2 h and overnight at ambient temperature and then poured into cold saturated NaHCO<sub>3</sub> (50 mL). The suspension was filtered through a layer of celite and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic phase was dried, concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography (silica gel, hexane/EtOAc: gradient, 1:2 to 100% EtOAc). The product was obtained as a colorless foam (0.26 g, 0.77 mmol, 14%); R<sub>f</sub> = 0.38 (silica gel, hexane/EtOAc: 1:2); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.56 (s, 1H), 7.28 (s, 0H), 7.07 – 6.99 (m, 2H), 6.71 (dd, J = 11.0, 1.9 Hz, 1H), 6.09 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.94 (dt, J = 7.8, 5.2 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.37 – 3.15 (m, 2H), 2.33 (s, 3H), 2.00 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 172.18 (C), 170.18 (C), 169.99 (C), 148.69 (d, J = 246.5 Hz, C), 143.84 (d, J = 8.8 Hz, C), 130.58 (C), 124.60 (CH), 122.40 (C), 111.42 (d, J = 2.3 Hz, C), 106.89 (d, J = 3.7 Hz, CH), 102.70 (d, J = 19.4 Hz, CH), 53.07 (CH), 52.50 (CH<sub>3</sub>), 27.56 (CH<sub>2</sub>), 23.19 (CH<sub>3</sub>), 21.06 (CH<sub>3</sub>); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -132.62; HRMS (ESI) *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. For C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> 337.11943, found 337.11935.

**Tert-butyl 5-acetoxy-3-(2-(N-(tert-butoxycarbonyl)acetamido)-3-methoxy-3-oxopropyl)-7-fluoro-1H-indole-1-carboxylate (43).** Methyl 2-acetamido-3-(5-acetoxy-7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (0.26 g, 0.77 mmol, 1 eq), DMAP (9.4 mg, 0.077 mmol, 0.1 eq) and Boc<sub>2</sub>O (1.01 g, 4.62 mmol, 6 eq) were dissolved in dry acetonitrile (2.5 mL). The mixture was stirred at ambient temperature for 3 d. The solvent was removed under reduced pressure and the residue taken up in Et<sub>2</sub>O (25 mL). The organic phase was washed with 1 M NaHSO<sub>4</sub> (25 mL), sat. NaHCO<sub>3</sub> (25 mL), sat. NaCl-sol. (25 mL) and water (25 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (silica gel, hexane/EtOAc: 3:1). The product was obtained as a clear yellow oil (0.263 g, 0.49 mmol, 63%); R<sub>f</sub> = 0.37 (silica gel, hexane/EtOAc: 3:1); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.47 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.06 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.84 (dd, J = 12.4, 2.1 Hz, 1H), 5.42 (dd, J = 9.6, 5.1 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.50 (ddd, J = 15.1, 5.1, 1.0 Hz, 1H), 3.29 – 3.18 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 1.64 (s, 9H), 1.39 (s, 9H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 172.75 (C), 170.40 (C), 169.42 (C), 151.36 (d, J = 126.5 Hz, C), 148.48 (C), 148.20 (C), 146.39 (C), 134.52 (C), 127.72 (CH), 120.05 (C), 116.66 (C), 107.25 (d, J = 4.1 Hz, CH), 106.58 (d, J = 25.5 Hz, CH),

84.29 (d,  $J = 8.6$  Hz, C), 56.11 (CH), 52.40 (CH<sub>3</sub>), 27.96 (CH<sub>3</sub> × 3), 27.69 (CH<sub>3</sub> × 3), 26.56 (CH<sub>3</sub>), 24.97 (CH<sub>2</sub>), 21.05 (CH<sub>3</sub>); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm: -113.08; HRMS (ESI)  $m/z$  [M+Na]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>26</sub>H<sub>33</sub>FN<sub>2</sub>NaO<sub>9</sub><sup>+</sup> 559.2623, found 559.20601.

**3-(1-(*Tert*-butoxycarbonyl)-7-fluoro-5-hydroxy-1H-indol-3-yl)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propanoic acid (44).** *Tert*-butyl 5-acetoxy-3-(2-(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)acetamido)-3-methoxy-3-oxopropyl)-7-fluoro-1H-indole-1-carboxylate (0.263 g, 0.49 mmol, 1 eq) was dissolved in a MeOH/H<sub>2</sub>O (1.64/0.82 mL) mixed system and NaOH (0.1 g, 2.45 mmol, 5 eq) was added. The mixture was stirred at 50 °C overnight and then concentrated to approx. 1.15 mL. It was then washed with Et<sub>2</sub>O (10 mL). The pH of the reaction system was adjusted to 6 with 1 M NaHSO<sub>4</sub> and then extracted with EtOAc (3 × 15 mL). The organic phase was dried and concentrated under reduced pressure to give the product as a colorless oil (0.162 g, 0.37 mmol, 75%); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm: 9.66 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.16 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.74 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 6.59 (dd,  $J = 13.8, 2.1$  Hz, 1H), 4.15 (ddd,  $J = 10.3, 8.3, 4.2$  Hz, 1H), 3.00 (dd,  $J = 14.8, 4.3$  Hz, 1H), 2.85 (dd,  $J = 14.8, 10.2$  Hz, 1H), 2.60 – 2.42 (m, 3H), 1.57 (s, 9H), 1.33 (s, 9H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm: 173.95 (C), 155.29 (d,  $J = 123.7$  Hz, C), 150.90 (C), 148.61 (C), 148.40 (C), 135.26 (C), 127.30 (CH), 116.88 (C), 115.41 (C), 101.40 (d,  $J = 24.1$  Hz, CH), 100.24 (CH), 83.81 (C), 78.58 (C), 53.52 (CH), 28.58 (CH<sub>3</sub> × 3), 28.00 (CH<sub>3</sub> × 3), 26.82 (CH<sub>2</sub>); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  ppm: -114.47; HRMS (ESI)  $m/z$  [M+Na]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>2</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup> 461.16945, found 461.16956.

**5-Hydroxy-7-fluorotryptophan triflate (19).** 3-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)-7-fluoro-5-hydroxy-1H-indol-3-yl)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propanoic acid (100 mg, 0.23 mmol) was placed in a flask followed by sequential addition of H<sub>2</sub>O (7.5  $\mu$ L, 2.5 vol% of total solution), triisopropylsilane (7.5  $\mu$ L, 2.5 vol% of total solution) and TFA (285  $\mu$ L, 95 vol% of total solution) at 0 °C in a stream of Ar. The mixture was stirred by hand for 5 min at 0 °C and concentrated under reduced pressure at ambient temperature. The residue was taken up in Et<sub>2</sub>O and treated in an ultrasound bath. The precipitate was centrifuged off and the crude product was purified by prep. HPLC and freeze dried. The product was obtained as a colorless solid (33.4 mg, 0.1 mmol, 43%); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  ppm: 7.19 (s, 1H), 6.80 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 6.50 (dd,  $J = 12.4, 2.0$  Hz, 1H), 4.23 (dd,  $J = 8.2, 4.7$  Hz, 1H), 3.44 (ddd,  $J = 15.3, 4.8, 0.8$  Hz, 1H), 3.26 (dd,  $J = 15.3, 8.2$  Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  ppm: 170.21 (C), 150.82 (d,  $J = 8.8$  Hz, C), 149.41 (d,  $J = 243.5$  Hz, C), 130.57 (d,  $J = 6.9$  Hz, C), 125.64 (CH), 119.65 (d,  $J = 13.8$  Hz, C), 106.73 (d,  $J = 2.5$  Hz, C), 97.63 (d,  $J = 3.5$  Hz, CH), 97.44 (d,  $J = 19.1$  Hz, CH), 52.98 (CH), 26.25 (CH<sub>2</sub>); <sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  ppm: -77.09 (TFA), -135.25; HRMS (ESI)  $m/z$  [M+H-TFA]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> 239.08264, found 293.08298.

**Radiochemistry: General information.** No-carrier-added aqueous [<sup>18</sup>F]fluoride was produced by the <sup>18</sup>O(*p,n*)<sup>18</sup>F reaction by bombardment of enriched [<sup>18</sup>O]water with 17 MeV protons at the BC1710 cyclotron (The Japan Steel Works, Tokyo, Japan) or at a GE PETtrace (GE Healthcare, Chicago, USA), both at the INM-5 (Forschungszentrum Jülich). Radioactivity was measured using a CRC-55tR Dose Calibrator from Capintec, Inc. (Florham Park, Netherlands) and/or a Curiementor 2 (PTW, Freiburg, Germany). QMA carbonate light plus cartridges (130 mg, Waters GmbH, Germany) were

preconditioned with 2 mL H<sub>2</sub>O. SepPak C18 light cartridges (130 mg, Waters GmbH, Germany) were preconditioned with 5 mL EtOH and 5 mL H<sub>2</sub>O.

**Semi-preparative HPLC.** Semi-preparative HPLC was performed on a dedicated semi-preparative system consisting of a Knauer K-100 pump, a Knauer K-2501 UV Detector, a Rheodyne 6 port injection valve equipped with a 2 mL injection loop and a custom-made Geiger counter. HPLC columns were purchased from Phenomenex (Aschaffenburg, Germany) and Merck KGaA (Darmstadt, Germany). The identity of <sup>18</sup>F-labeled tracers and ee was determined by co-injection of an authentic sample of the respective reference compound. The UV and radioactivity detectors were connected in series, giving a time delay of 0.2–0.9 min between the corresponding responses depending on the flow rate.

**Method A:** Column: Luna C18(2), 5  $\mu$ m, 100 Å, 250 × 10 mm equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 30% EtOH in acetate-buffer; flow rate: 3.5 mL/min.

**Method B:** Column: Luna C18(2), 5  $\mu$ m, 100 Å, 250 × 10 mm equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 8% EtOH in acetate-buffer; flow rate: 3.5 mL/min.

**Acetate-buffer:** AcOH (11 mL, 192.34 mmol) was added to a solution of NaOAc (10 g, 122 mmol) in H<sub>2</sub>O (60 mL) and the resulting solution was filled up with H<sub>2</sub>O to 100 mL. 10 mL of this solution was diluted with H<sub>2</sub>O to 1 L and used as HPLC eluent. Ca. pH 5.

**Analytical HPLC.** HPLC analyses were carried out on a Dionex Ultimate® 3000 System with Ultimate® 3000 variable wavelength detector coupled in series with a Berthold LB500 NaI detector. Two Rheodyne 6 port injection valves equipped with equal sample loops were installed before and behind the chromatographic column. The UV and radioactivity detectors were connected in series, giving a time delay of 0.1–0.2 min between the corresponding responses, depending on the flow rate.

**Method C:** Column: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu$ m, 80 Å, 250 × 4.6 mm equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 20% MeCN (0.1% TFA); flow rate: 1 mL/min.

**Method D:** Column: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu$ m, 80 Å, 250 × 4.6 mm equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 10% MeCN (0.1% TFA); flow rate: 1.5 mL/min.

**Method E:** Column: Astec Chitobiotic T, 5  $\mu$ m, 250 × 10 mm (Supelco Analytical) equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); eluent: 70% MeOH (0.02% formic acid); flow rate: 3 mL/min.

**N<sub>m</sub>-Me-6-[<sup>18</sup>F]FTrp ([<sup>18</sup>F]18).** [<sup>18</sup>F]Fluoride (0.5–10 GBq) in H<sub>2</sub>[<sup>18</sup>O]O was loaded (from the male side) onto a QMA carbonate light plus cartridge (130 mg, Waters GmbH, Germany; preconditioned with 2 mL H<sub>2</sub>O). The cartridge was washed with MeOH (2 mL), dried with air (10 mL), and eluted (from the female side) with a solution of Et<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub> (1 mg, 5.23  $\mu$ mol) in MeOH (0.5 mL). If the QMA cartridge was loaded, flushed, and eluted from the female side only, a significant amount of [<sup>18</sup>F]fluoride sometimes remained on the resin (probably because QMA-light cartridges have a single frit on the male side but four frits on the female side). MeOH was removed within 5 min at 80 °C under reduced pressure (300 – 400 mbar) in a stream of Ar. A solution of the precursor (*S,S*-

Ni-BPB-(*N*-Me-6-Bpin)Trp, (7.7 mg, 10  $\mu$ mol) and [Cu(OTf)<sub>2</sub>(Py)<sub>4</sub>] (6.8 mg, 10  $\mu$ mol) in DMA/*n*BuOH 2:1 (0.75 mL) was added, and the reaction mixture was stirred under air at 110 °C for 15 min. The mixture was concentrated at the same temperature under reduced pressure (300–400 mbar) in a stream of Ar for 10 min. Then, the residue was taken up in 2 M HCl (0.3 mL) and stirred at 110 °C for 10 min. The HCl was removed under reduced pressure (300–400 mbar) in a stream of Ar for 10 min, the residue was diluted with HPLC mobile phase (30% EtOH/Ac-Buffer, 1.5 mL) and the radiolabeled product was isolated by semi-preparative HPLC (**Method A**, Product fraction: 11.5 – 12.5 min). The purity of the isolated product was analyzed according to **Method C** (R<sub>t</sub>(*N*-Me-6-[<sup>18</sup>F]F-(*S*)-Trp): 13.5 min). Enantiomeric excess was determined according to **Method E** (R<sub>t</sub>(*N*-Me-6-[<sup>18</sup>F]F-(*S*)-Trp): 9.7 min). The product [<sup>18</sup>F]**18** was obtained as a ready-to-use solution in radiochemical yields (RCYs) of 45 ± 7% after 83 ± 8 min with a radiochemical purity of >99% and enantiomeric purity of >99% (ee). Molar activities (A<sub>m</sub>) were 66 ± 33 GBq/ $\mu$ mol (1000–1500 MBq).

**5-OH-7-[<sup>18</sup>F]FTrp ([<sup>18</sup>F]**19**).** [<sup>18</sup>F]Fluoride (0.5–10 GBq) in H<sub>2</sub>[<sup>18</sup>O]O was loaded (from the male side) onto a QMA carbonate light plus cartridge (130 mg, Waters GmbH, Germany; preconditioned with 2 mL H<sub>2</sub>O). The cartridge was washed with MeOH (2 mL), dried with air (10 mL), and eluted (from the female side) with a solution of Et<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub> (1 mg, 5.23  $\mu$ mol) in MeOH (0.5 mL). If the QMA cartridge was loaded, flushed, and eluted from the female side only, a significant amount of [<sup>18</sup>F]fluoride sometimes remained on the resin (probably because QMA-light cartridges have a single frit on the male side but four frits on the female side). MeOH was removed within 5 min at 80 °C under reduced pressure (300–400 mbar) in a stream of Ar. A solution of the precursor Boc-5-OAc-7-BPin-Trp-*t*Bu (5.4 mg, 10  $\mu$ mol) and [Cu(OTf)<sub>2</sub>(3,4-Me<sub>2</sub>-Py)<sub>4</sub>] (6.8 mg, 10  $\mu$ mol) in DMI (0.75 mL) was added, and the reaction mixture was stirred under air at 110 °C for 15 min and subsequently quenched with 7 mL H<sub>2</sub>O. The mixture was loaded (from the female side) onto a SepPak C18 light cartridge (130 mg, Waters GmbH, Germany; preconditioned with 5 mL EtOH and 5 mL H<sub>2</sub>O). The cartridge was washed with H<sub>2</sub>O (5 mL), dried with air (20 mL), and eluted (from the female side) with MeOH (1 mL). MeOH was removed within 5 min at 80 °C under reduced pressure (300–400 mbar) in a stream of Ar. Then, the residue was taken up in 2 M HCl (0.3 mL) and stirred at 110 °C for 10 min. 2 M NaOH (0.25 mL) was added, the mixture was diluted with HPLC mobile phase (8% EtOH/Ac-Buffer, 1 mL) and the radiolabeled product was isolated by semi-preparative HPLC (**Method B**, Product fraction: 13 – 14 min). The purity of the isolated product was analyzed according to **Method D** (R<sub>t</sub>(5-OH-7-[<sup>18</sup>F]F-(*S*)-Trp): 7.9 min). Enantiomeric excess was determined according to **Method E** (R<sub>t</sub>(5-OH-7-[<sup>18</sup>F]F-(*S*)-Trp): 7.7 min). The product [<sup>18</sup>F]**19** was obtained as a ready-to-use solution in radiochemical yields (RCYs) of 29 ± 4% after 81 ± 3 min with a radiochemical purity of >99% and enantiomeric purity of >99% (ee). Molar activities (A<sub>m</sub>) were 46 ± 17 GBq/ $\mu$ mol (1050–1350 MBq).

Associated content

Supporting Information

HPLC chromatograms and <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>19</sup>F NMR spectra of all compounds. Experimental data for additional unsuccessful syntheses of 5-hydroxy-7-fluorotryptophan (**19**). (PDF)

## Acknowledgements

The German Research Foundation (DFG) is gratefully acknowledged for providing funding support for this project with the following grant: ZL65/3-1

## References

- (1) Agus, A.; Planchais, J.; Sokol, H. Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. *Cell Host & Microbe* **2018**, *23*, 716-724.
- (2) Zlatopolskiy, B. D.; Endepols, H.; Krasikova, R. N.; Fedorova, O. S.; Ermert, J.; Neumaier, B. 11C- and 18F-labelled tryptophans as PET-tracers for imaging of altered tryptophan metabolism in age-associated disorders. *Russian Chemical Reviews* **2020**, *89*, 879-896.
- (3) Yeung, A. W.; Terentis, A. C.; King, N. J.; Thomas, S. R. Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in health and disease. *Clinical science (London, England : 1979)* **2015**, *129*, 601-72.
- (4) Bartoli, F.; Misiak, B.; Callovini, T.; Cavaleri, D.; Cioni, R. M.; Crocarno, C.; Savitz, J. B.; Carrà, G. The kynurenine pathway in bipolar disorder: a meta-analysis on the peripheral blood levels of tryptophan and related metabolites. *Molecular Psychiatry* **2021**, *26*, 3419-3429.
- (5) Tan, L.; Yu, J.-T.; Tan, L. The kynurenine pathway in neurodegenerative diseases: Mechanistic and therapeutic considerations. *Journal of the Neurological Sciences* **2012**, *323*, 1-8.
- (6) Guillemin, G. J.; Williams, K. R.; Smith, D. G.; Smythe, G. A.; Croitoru-Lamoury, J.; Brew, B. J. In *Developments in Tryptophan and Serotonin Metabolism*; Allegri, G., Costa, C. V. L., Ragazzi, E., Steinhart, H., Varesio, L., Eds.; Springer US: Boston, MA, 2003, p 167-176.
- (7) Zamanakou, M.; Germenis, A. E.; Karanikas, V. Tumor immune escape mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunology Letters* **2007**, *111*, 69-75.
- (8) Gostner, J. M.; Becker, K.; Überall, F.; Fuchs, D. The potential of targeting indoleamine 2,3-dioxygenase for cancer treatment. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* **2015**, *19*, 605-615.
- (9) Olivier, B. Serotonin: A never-ending story. *European Journal of Pharmacology* **2015**, *753*, 2-18.
- (10) Buzlaff, M.; Ponimaskin, E. The Role of Serotonin Receptors in Alzheimer's Disease. *Opera Medica et Physiologica* **2016**, *2*, 77-86.
- (11) Politis, M.; Wu, K.; Loane, C.; Kiferle, L.; Molloy, S.; Brooks, D. J.; Piccini, P. Staging of serotonergic dysfunction in Parkinson's Disease: An in vivo 11C-DASB PET study. *Neurobiology of Disease* **2010**, *40*, 216-221.
- (12) Vancassel, S.; Capuron, L.; Castanon, N. Brain Kynurenine and BH4 Pathways: Relevance to the Pathophysiology and Treatment of Inflammation-Driven Depressive Symptoms. *Frontiers in neuroscience* **2018**, *12*, 499.
- (13) Muzik, O.; Chugani, D. C.; Chakraborty, P.; Mangner, T.; Chugani, H. T. Analysis of [<sup>11</sup>C]Alpha-Methyl-Tryptophan Kinetics for the Estimation of Serotonin Synthesis Rate In Vivo. **1997**, *17*, 659-669.
- (14) Bjurling, P.; Watanabe, Y.; Tokushige, M.; Oda, T.; Långström, B. Syntheses of  $\beta$ -11C-labelled L-tryptophan and 5-hydroxy-L-tryptophan using a multi-enzymatic reaction route. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1989**, 1331-1334.

- (15) Atkins, H. L.; Christman, D. R.; Fowler, J. S.; Hauser, W.; Hoyte, R. M.; Klopper, J. F.; Lin, S. S.; Wolf, A. P. Organic Radiopharmaceuticals Labeled with Isotopes of Short Half-Life. V. 18F-Labeled 5- and 6-Fluorotryptophan. *Journal of Nuclear Medicine* **1972**, *13*, 713-719.
- (16) Henrottin, J.; Zervosen, A.; Lemaire, C.; Sapunaric, F.; Laurent, S.; Van den Eynde, B.; Goldman, S.; Plenevaux, A.; Luxen, A. N1-Fluoroalkyltryptophan Analogues: Synthesis and in vitro Study as Potential Substrates for Indoleamine 2,3-Dioxygenase. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2015**, *6*, 260-265.
- (17) Xin, Y.; Cai, H. Improved Radiosynthesis and Biological Evaluations of L- and D-1-[18F]Fluoroethyl-Tryptophan for PET Imaging of IDO-Mediated Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism. *Molecular Imaging and Biology* **2017**, *19*, 589-598.
- (18) Zischler, J.; Kolks, N.; Modemann, D.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Alcohol-Enhanced Cu-Mediated Radiofluorination. *Chemistry – A European Journal* **2017**, *23*, 3251-3256.
- (19) Zlatopolskiy, B. D.; Zischler, J.; Schäfer, D.; Urusova, E. A.; Guliyev, M.; Bannykh, O.; Endepols, H.; Neumaier, B. Discovery of 7-[18F]Fluorotryptophan as a Novel Positron Emission Tomography (PET) Probe for the Visualization of Tryptophan Metabolism in Vivo. *Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *61*, 189-206.
- (20) Endepols, H.; Zlatopolskiy, B. D.; Zischler, J.; Alavinejad, N.; Apetz, N.; Vus, S.; Drzezga, A.; Neumaier, B. Imaging of cerebral tryptophan metabolism using 7-[(18F)F]Trp-PET in a unilateral Parkinsonian rat model. *NeuroImage* **2022**, *247*, 118842.
- (21) Röhrig, U. F.; Majjigapu, S. R.; Vogel, P.; Zoete, V.; Michielin, O. Challenges in the Discovery of Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 (IDO1) Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *58*, 9421-9437.
- (22) Ishiyama, T.; Ishida, K.; Miyaura, N. Synthesis of pinacol arylboronates via cross-coupling reaction of bis(pinacolato)diboron with chloroarenes catalyzed by palladium(0)-tricyclohexylphosphine complexes. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9813-9816.
- (23) Somei, M.; Kizu, K.; Kunimoto, M.; Yamada, F. The Chemistry of Indoles. XXIV. Syntheses of 3-Indoleacetic Acid and 3-Indoleacetonitrile Having a Halogeno Group and a Carbon Functional Group at the 4-Position. *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* **1985**, *33*, 3696-3708.
- (24) Belokon, Y. N.; Bulychev, A. G.; Vitt, S. V.; Struchkov, Y. T.; Batsanov, A. S.; Timofeeva, T. V.; Tsyryapkin, V. A.; Ryzhov, M. G.; Lysova, L. A. General method of diastereo- and enantioselective synthesis of  $\beta$ -hydroxy- $\alpha$ -amino acids by condensation of aldehydes and ketones with glycine. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, *107*, 4252-4259.
- (25) Belokon, Y. N.; Bakmutov, V. I.; Chernoglazova, N. I.; Kochetkov, K. A.; Vitt, S. V.; Garbalinskaya, N. S.; Belikov, V. M. General method for the asymmetric synthesis of [small alpha]-amino acids via alkylation of the chiral nickel(II) Schiff base complexes of glycine and alanine. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1988**, 305-312.
- (26) Ellis, T. K.; Hochla, V. M.; Soloshonok, V. A. Efficient Synthesis of 2-Aminoindane-2-carboxylic Acid via Dialkylation of Nucleophilic Glycine Equivalent. *The Journal of Organic Chemistry* **2003**, *68*, 4973-4976.
- (27) Modemann, D. J.; Zlatopolskiy, B. D.; Urusova, E. A.; Zischler, J.; Craig, A.; Ermert, J.; Guliyev, M.; Endepols, H.; Neumaier, B. 2-[18F]Fluorophenylalanine: Synthesis by Nucleophilic 18F-Fluorination and Preliminary Biological Evaluation. *Synthesis* **2019**, *51*, 664-676.
- (28) Viret, J.; Organization, E. P., Ed.; Laboratoires Merck Clevenot SA France, 1982.
- (29) Lutz, C.; Simon, W.; Werner-Simon, S.; Müller, C.; Hechler, T.; Kulke, M.; Office, E. P., Ed.; HEIDELBERG PHARMA RESEARCH GMBH: Germany, 2019.
- (30) Orlovskaya, V. V.; Modemann, D. J.; Kuznetsova, O. F.; Fedorova, O. S.; Urusova, E. A.; Kolks, N.; Neumaier, B.; Krasikova, R. N.; Zlatopolskiy, B. D. Alcohol-Supported Cu-Mediated 18F-Fluorination of Iodonium Salts under "Minimalist" Conditions. **2019**, *24*, 3197.
- (31) Loach, R. P.; Fenton, O. S.; Amaike, K.; Siegel, D. S.; Ozkal, E.; Movassaghi, M. C7-Derivatization of C3-Alkylindoles Including Tryptophans and Tryptamines. *The Journal of Organic Chemistry* **2014**, *79*, 11254-11263.
- (32) Shen, F.; Tyagarajan, S.; Perera, R. E.; Krska, S. W.; Maligres, P. E.; Smith, M. R.; Maleczka, R. D. Bismuth Acetate as a Catalyst for the Sequential Protodeboronation of Di- and Triborylated Indoles. *Organic Letters* **2016**, *18*, 1554-1557.
- (33) Zimmer, H.; Lankin, D. C.; Horgan, S. W. Oxidations with potassium nitrosodisulfonate (Fremy's radical). Teuber reaction. *Chemical Reviews* **1971**, *71*, 229-246.
- (34) Angelini, E.; Balsamini, C.; Bartocchini, F.; Lucarini, S.; Piersanti, G. Switchable Reactivity of Acylated  $\alpha$ ,  $\beta$ -Dehydroamino Ester in the Friedel-Crafts Alkylation of Indoles by Changing the Lewis Acid. *The Journal of Organic Chemistry* **2008**, *73*, 5654-5657.
- (35) Lohray, B. B.; Bhushan, V.; Rao, B. P.; Madhavan, G. R.; Murali, N.; Rao, K. N.; Reddy, A. K.; Rajesh, B. M.; Reddy, P. G.; Chakrabarti, R.; Vikramadithyan, R. K.; Rajagopalan, R.; Mamidi, R. N. V. S.; Jajoo, H. K.; Subramaniam, S. Novel Euglycemic and Hypolipidemic Agents. 1. *Journal of Medicinal Chemistry* **1998**, *41*, 1619-1630.
- (36) Nagano, T.; Okabe, T.; Kojima, H.; Saito, N.; Nakano, H.; Abe, M.; Tanaka, A.; Honma, T.; Yokoyama, S.; Tsuganezawa, K.; Yuki, H.; Office, E. P., Ed.; University of Tokyo NUC, RIKEN Institute of Physical and Chemical Research: Japan, 2013.
- (37) Zischler, J.; Krapf, P.; Richarz, R.; Zlatopolskiy, B. D.; Neumaier, B. Automated synthesis of 4-[18F]fluoroanisole, [18F]DAA1106 and 4-[18F]FPhe using Cu-mediated radiofluorination under "minimalist" conditions. *Applied Radiation and Isotopes* **2016**, *115*, 133-137.
- (38) Richarz, R.; Krapf, P.; Zarrad, F.; Urusova, E. A.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Neither azeotropic drying, nor base nor other additives: a minimalist approach to 18F-labeling. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2014**, *12*, 8094-8099.
- (39) Craig, A.; Kolks, N.; Urusova, E. A.; Zischler, J.; Brugger, M.; Endepols, H.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Preparation of labeled aromatic amino acids via late-stage 18F-fluorination of chiral nickel and copper complexes. *Chemical Communications* **2020**, *56*, 9505-9508.
- (40) Hoffmann, C.; Kolks, N.; Smets, D.; Haseloer, A.; Gröner, B.; Urusova, E. A.; Endepols, H.; Neumaier, F.; Ruschewitz, U.; Klein, A.; Neumaier, B.; Zlatopolskiy, B. D. Next Generation Copper Mediators for the

Efficient Production of <sup>18</sup>F-Labeled Aromatics. *n/a*, e202202965.

(41) Iver, P.; Lucas, M.; Schoenfeld, R.; Villa, M.; Weikert, R.; Office, U. S. P., Ed.; ROCHE PALO ALTO LLC: United States of America, 2007.

(42) Stadlwieser, J. F.; Dambaur, M. E. Convenient Synthesis of 1H-Indol-1-yl Boronates via Palladium(0)-Catalyzed Borylation of Bromo-1H-indoles with 'Pinacolborane'. **2006**, *89*, 936-946.

## 3.2. Weitere Ergebnisse

### 3.2.1.5,7-[5-<sup>18</sup>F]- und 5,7-[7-<sup>18</sup>F]Difluortryptophan ([5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11)

Ziel dieses Projektes war die Synthese der zwei chemisch äquivalenten Tracer 5,7-[5-<sup>18</sup>F]- und 5,7-[7-<sup>18</sup>F]Difluortryptophan (Abb. 55, [5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11) zur Untersuchung des Verhaltens von TPH im Tryptophan-Metabolismus auf 5,7-Difluortryptophan. 5-Fluortryptophan ist ein bekanntes Substrat für TPH, das in 5-Hydroxytryptophan umgewandelt wird. Vergleichende PET-Untersuchungen von [5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11 sollen zeigen, ob auch diese Substrate für TPH sind. Im Fall von 5,7-[5-<sup>18</sup>F]Difluortryptophan ([5-<sup>18</sup>F]11) würde das radioaktive Label dabei im Serotonin-Pfad abgespalten (Abb. 55), über den Kynurenin-Pfad allerdings nicht. [<sup>18</sup>F]3 wäre unter diesen Bedingungen ein potenzieller selektiver Tracer zur Bildgebung des Kynurenin-Pfades. 5,7-[7-<sup>18</sup>F]Difluortryptophan ([7-<sup>18</sup>F]11) würde bei der Metabolisierung durch beide Pfade das <sup>18</sup>F-Label behalten und wäre somit ein möglicher Tracer für den gesamten Tryptophan-Metabolismus.

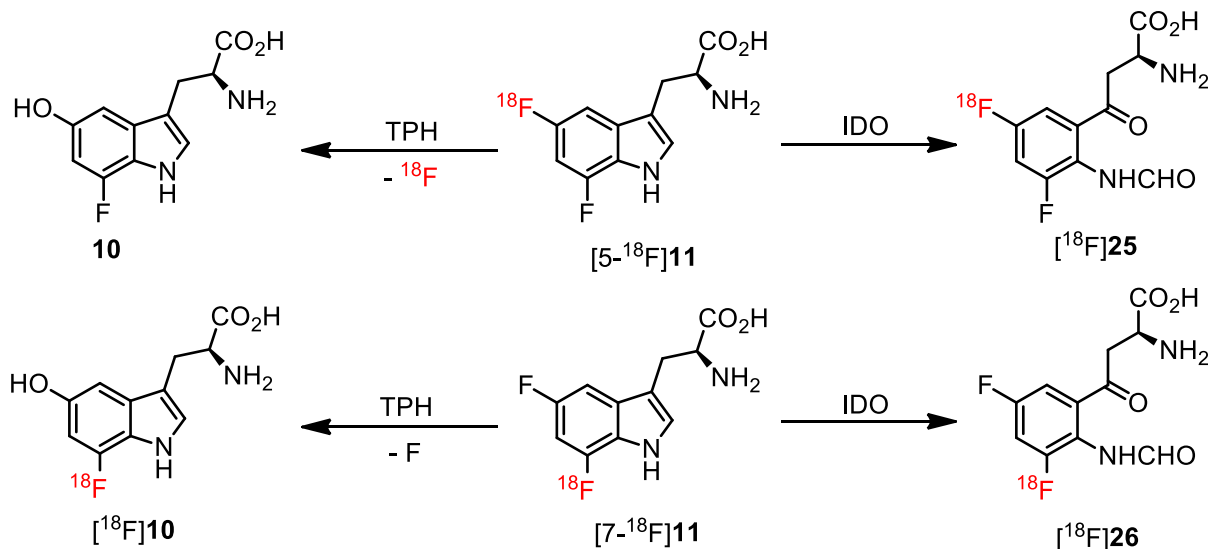


Abbildung 55: (S)-5,7-[5-<sup>18</sup>F]- und (S)-5,7-[7-<sup>18</sup>F]Difluortryptophan ([5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11) und metabolische Produkte nach Umwandlung durch TPH oder IDO.

Wenn die PET-Bilder, die mit der Bildgebung durch diese beiden Tracer erhalten werden, sich deutlich unterscheiden, kann der Schluss gezogen werden, dass die Tracer Substrate für TPH sind und die im vorherigen Abschnitt erläuterte Hypothese bestätigt ist. Sollten die PET-Bilder sich allerdings nicht unterscheiden, kann daraus geschlossen werden, dass weder [5-<sup>18</sup>F]11, noch [7-<sup>18</sup>F]11 TPH-Substrate sind und nur über den Kynurenin-Pfad metabolisiert werden. Nur unter diesen Umständen

behalten beide Tracer ihre radioaktiven Fluor-Substituenten. Sowohl [5-<sup>18</sup>F]**11**, als auch [7-<sup>18</sup>F]**11** wären somit potenzielle selektive KYN-Pfad Tracer.

Zur Klärung dieser Ausgangsfragen sollten sowohl (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-F- und (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTrp (**27** und **28**), als auch 5,7-Difluortryptophan (**11**) und anschließend [5-<sup>18</sup>F]**11** und [7-<sup>18</sup>F]**11** via Cu-vermittelter alkohol-verstärkter Radiofluorierung hergestellt werden (Abb. 56).

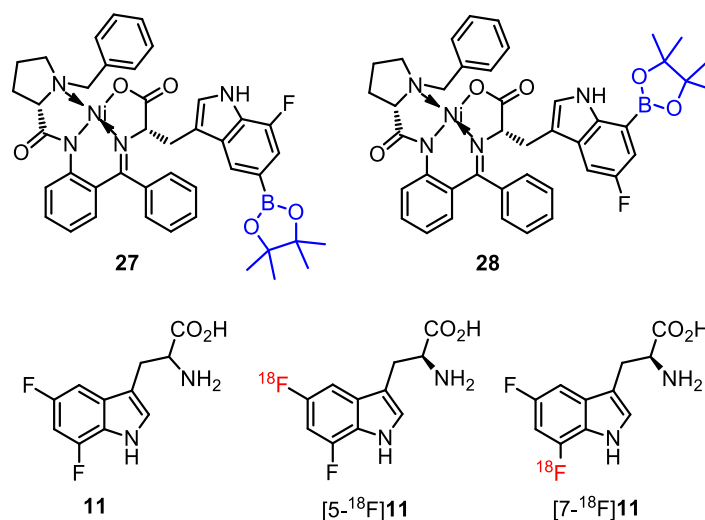


Abbildung 56: Zielstrukturen dieses Teilprojektes.

### 3.2.1.1. Synthese der Vorläufer (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-F- und (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTrp (**27** und **28**)

Die beiden Vorläufer wurden ausgehend von kommerziell erhältlichem 4-Brom-2-fluor oder 2-Brom-4-fluoranilin (**29**, **30**) synthetisiert (Abb. 57). Im ersten Schritt wurden diese Aniline mit I<sub>2</sub>/Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> entsprechend einer Methode von *Dohle et al.* iodiert um **31** und **32** in Ausbeuten von 87% und 58% zu erhalten.<sup>[85]</sup> Sonogashira-Kupplung dieser beiden Produkte mit Trimethylsilylacetylen führte zu den Brom-fluor-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilinen **33** und **34** in je 74%iger und 64%iger Ausbeute<sup>[86]</sup>, welche im Anschluss durch Abspaltung der TMS-Gruppe mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in die Brom-fluor-ethynylaniline **35** und **36** umgewandelt wurden.<sup>[87]</sup> Bei diesen Reaktionen wurden auch Nebenprodukte beobachtet, die durch Kupplung des TMS-acetylen an sowohl der Br-, als auch der I-Position entstanden. Diese konnten nicht vollständig vom Produkt getrennt werden, hatten aber auf den Folgeschritt keinen negativen Einfluss. Anschließende Zyklisierung dieser Ethynylaniline mit Kupferiodid führte zu den Br-F-Indolen **37** und **38**. Diese Indolsynthese hat sich in diesem Projekt als robust und

skalierbar erwiesen, anders als beispielsweise Methoden von *Schlosser et al.*, die nicht in den angegebenen Ausbeuten reproduziert werden konnten.<sup>[88]</sup>

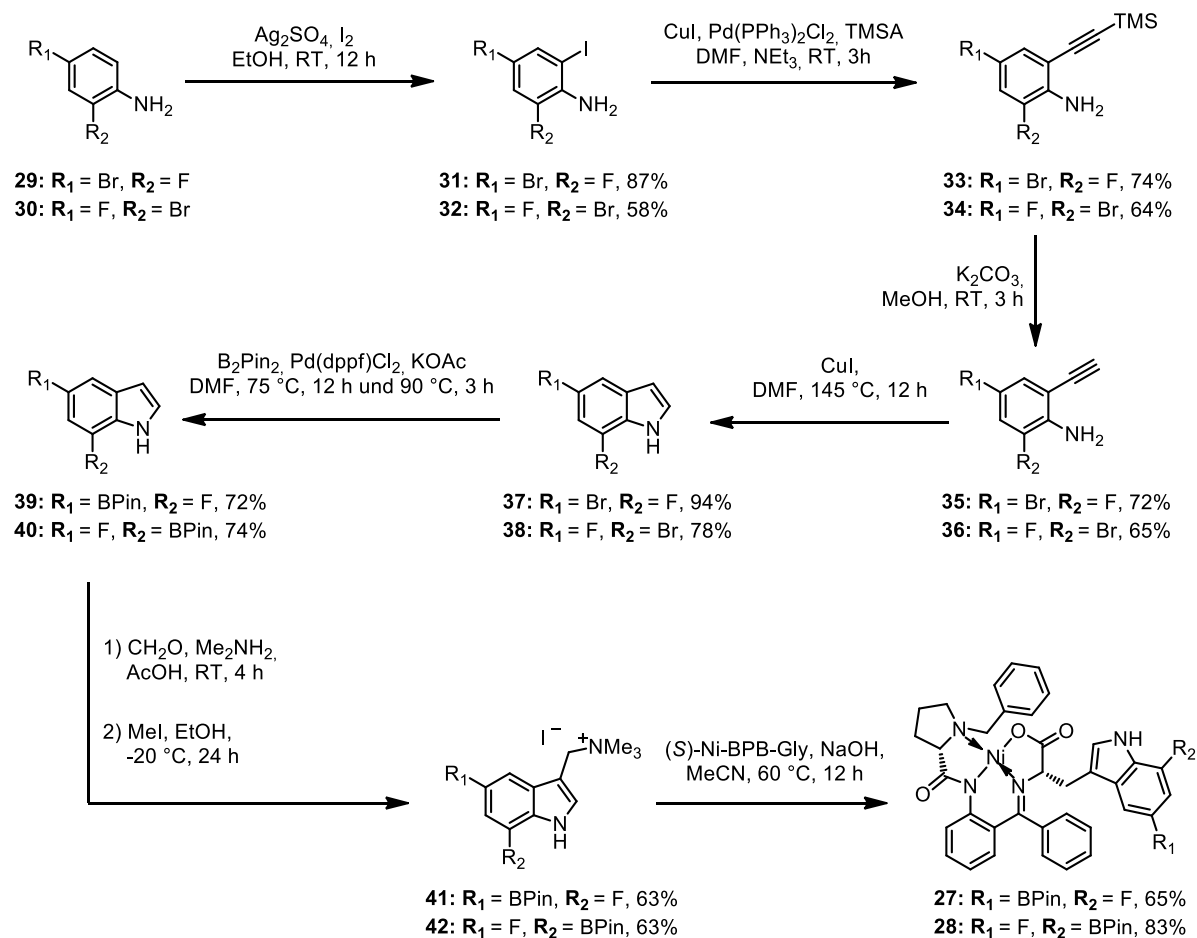


Abbildung 57: Synthese von (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-F- und (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTp (**27** und **28**).

Die Einführung der Abgangsgruppe wurde durch Miyaura-Borylierung durchgeführt<sup>[89]</sup> und die erhaltenen BPin-F-Indole wurden durch eine Mannich-Reaktion in Gramine umgewandelt, die mit Methyljodid quaternisiert wurden (**41**, **42**). Diese quaternären Gramine wurden als Alkylierungsreagenzien für (S,S)-Ni-BPB-Gly-Komplexe entsprechend der Methode von *Belokon et al.* benutzt, wodurch die beiden Vorläufer (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-F- und (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTp (**27** und **28**) stereoselektiv synthetisiert werden konnten.<sup>[67]</sup> Die Gesamtausbeute dieser Synthesen betrug jeweils 13% und 7% für die Vorläufer **27** und **28** nach insgesamt 7 Syntheseschritten.

### 3.2.1.2. Synthese von 5,7-Difluortryptophan (**11**)

Die Synthese der Referenzstruktur 5,7-Difluortryptophan (**11**) folgte größtenteils der gleichen Methode wie die in 3.2.1.1. beschriebene Vorläufersynthese von **27** und **28**. Die fünfschrittige Synthese des Difluorgramins **48** war identisch zur Synthese von **41**



und **42** ausgehend von kommerziell erhältlichem 5,7-Difluoranilin ohne anschließende Quaternisierung (Abb. 58).<sup>[85-87]</sup>

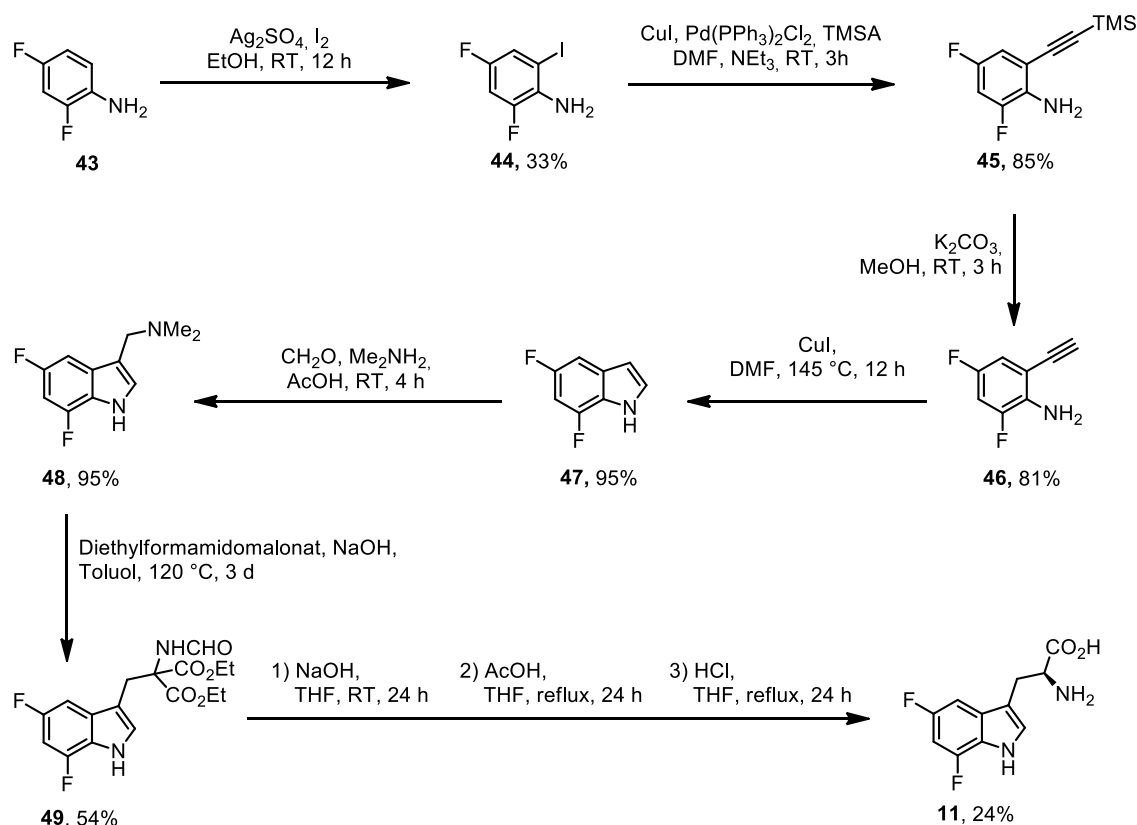


Abbildung 58: Synthese der Referenzstruktur 5,7-Difluortryptophan (**11**).

Durch Umsetzung mit Diethylformamidomalonat wurde die Zwischenstufe **49** erhalten, welche entschützt wurde, um die finale Referenzstruktur **11** nach 7 Syntheseschritten in einer Gesamtausbeute von 3% zu produzieren.

### 3.2.1.3. Radiosynthese von 5,7-[5- $^{18}\text{F}$ ]- und 5,7-[7- $^{18}\text{F}$ ]Difluortryptophan ([5- $^{18}\text{F}$ ]**11** und [7- $^{18}\text{F}$ ]**11**)

Die Radiofluorierung der Vorläufer (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-F- und (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTrp (**27** und **28**) wurde zunächst mit der bekannten Methode zur alkohol-verstärkten Cu-vermittelten Radiofluorierung von *Zlatopolskiy et al.* getestet.<sup>[74]</sup> Diese Fluorierungsmethode ist bekanntermaßen in der Lage Tryptophane wie 4-, 5-, 6- und 7-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluortryptophan<sup>[74]</sup> und *N*-Methyl-6-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluortryptophan zu synthetisieren (Kapitel 3.1.2.). Im Fall der Synthese der Strukturen [5- $^{18}\text{F}$ ]**50** und [7- $^{18}\text{F}$ ]**50** konnte allerdings kein Umsatz festgestellt werden. Dies ist vermutlich auf den durch Fluor bedingten sehr elektronenarmen Charakter der aromatischen Struktur zurückzuführen (Abb. 59).

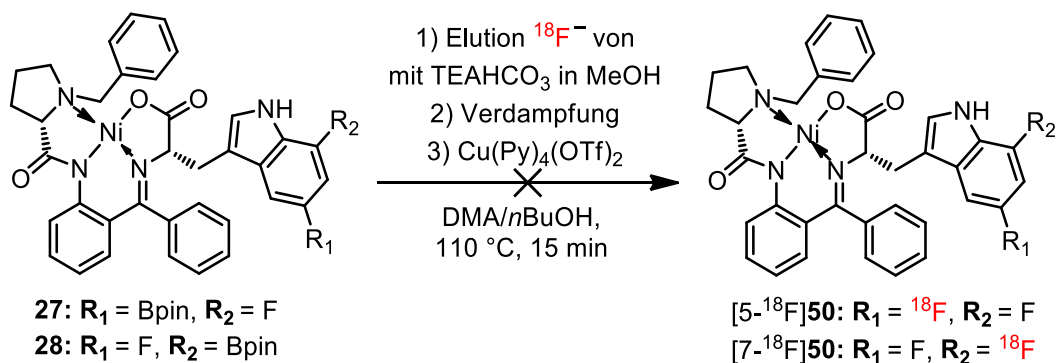


Abbildung 59: Erster Syntheseansatz zur Radiofluorierung von **27** und **28** mit der klassischen Methode zur alkohol-verstärkten Cu-vermittelten Radiofluorierung.

Aus diesem Grund wurde ein neuer Cu-Mediator in der Form von Cu(4-Ph-Py)<sub>4</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> herangezogen, der in deutlich bessere Ergebnisse für elektronenarme Systeme verspricht.<sup>[61]</sup> Radiofluorierung mit Cu(4-Ph-Py)<sub>4</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> in DMA produzierte ebenfalls keine Umsätze, weshalb DMI als alternatives Lösungsmittel verwendet wurde. Auf Grund seines deutlich höheren Siedepunktes erforderte die Radiofluorierung dadurch allerdings einen zusätzlichen Festphasenextraktionsschritt, da das DMI unter den synthetischen Bedingungen nicht durch Verdampfung entfernt werden konnte (Abb. 60).

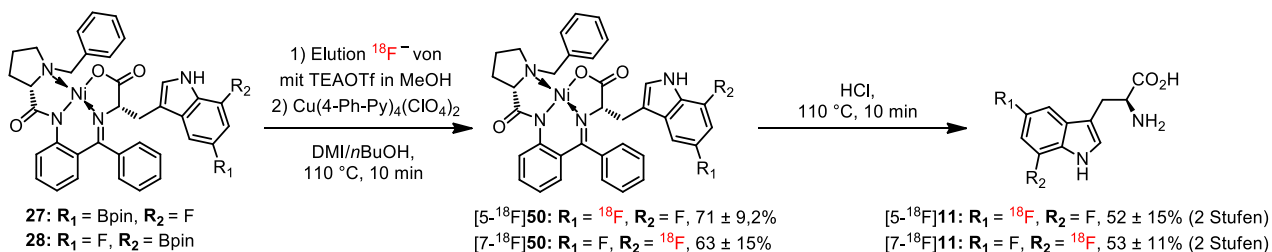


Abbildung 60: Radiosynthese von [5- $^{18}\text{F}$ ]11 und [7- $^{18}\text{F}$ ]11

Auf diesem Weg konnten die beiden Tracer [5- $^{18}\text{F}$ ]11 und [7- $^{18}\text{F}$ ]11 in sehr guten Aktivitätsausbeuten und radiochemischen Ausbeuten erhalten werden. Ni- und Cu-Gehalt lagen deutlich unter den vorgeschriebenen Grenzwerten (Tabelle 2).<sup>[90]</sup> Auffällig ist aber die geringe molare Aktivität ( $A_M$ ) der beiden Tracer, die mehr als eine Größenordnung unter typischen Werten für Vergleichbare Tracer lagen (z.B. 7-FTrp, 5-HO-7-FTrp und *N*-M-6-FTrp).

**Tabelle 2: Ergebnisse der Radiosynthese von [5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11.**

| Tracer                 | RCU [%]  | AA [%]   | RCA [%] | A <sub>M</sub> [GBq/μmol] | Ni [ng/batch] | Cu [ng/batch] | ee [%] |
|------------------------|----------|----------|---------|---------------------------|---------------|---------------|--------|
| [5- <sup>18</sup> F]11 | 71 ± 9,2 | 34 ± 9,3 | 52 ± 15 | 0.51 ± 0,3                | 58 ± 4        | 202 ± 10      | >99    |
| [7- <sup>18</sup> F]11 | 63 ± 15  | 34 ± 5,6 | 53 ± 11 | 1.78 ± 1,1                | 262 ± 14      | 343 ± 21      | >93    |

Um den Grund für diese starke Abweichung zu finden, wurden mögliche Quellen von nicht-radioaktivem <sup>19</sup>F in der Synthese untersucht. Kontamination von Lösungsmitteln, Kupferverbindungen und Elutionssalz mit Fluor konnte ausgeschlossen werden, da diese auch für andere Synthesen mit deutlich höheren molaren Aktivitäten verwendet wurden.

Zur Bestimmung des Fluoridgehaltes in der Reaktionslösung wurde eine Methode verwendet, die auf einer Publikation von *Zhou et al* beruht.<sup>[91]</sup> Bei dieser Bestimmung wurde der zu analysierenden Lösung ein Sulfonylchlorid zugegeben, welches quantitativ mit dem Fluorid in Lösung reagiert und Sulfonylfluorid formt (Abb. 61). Dieses Sulfonylfluorid absorbiert bei einer bekannten Wellenlänge (238 nm) so stark, dass es selbst bei geringen Konzentrationen wie 0,1 ppm nachweisbar ist.

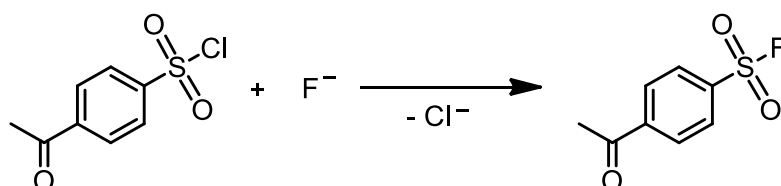


Abbildung 61: Reaktion von Sulfonylchlorid mit Fluorid zum detektierbaren Sulfonylfluorid.<sup>[91]</sup>

Mit Hilfe dieser Methode konnte der Fluorgehalt verschiedener synthesesrelevanter Lösungen bestimmt werden (Tabelle 3).

**Tabelle 3: Ergebnisse der Bestimmung des Fluoridgehaltes bei der Radiosynthese von [5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11 (RG = Reaktionsgemisch).**

| Lösung   | <sup>19</sup> F-Konzentration [μg/mL] | <sup>19</sup> F-Konzentration [nmol/mL] |
|--|---------------------------------------|---|
| Bestrahltes [ <sup>18</sup> O]H <sub>2</sub> O | 0,38                                  | 20                                      |
| RG mit Vorläufer ohne Cu-Mediator              | 0,01                                  | 0,5                                     |
| RG mit Vorläufer <b>27</b> mit Cu-Mediator     | 6,04                                  | 318                                     |
| RG mit Vorläufer <b>28</b> mit Cu-Mediator     | 4,86                                  | 256                                     |

Die Konzentration von [ $^{19}\text{F}$ ]Fluorid im [ $^{18}\text{O}$ ]H $_2\text{O}$ -Targetwasser des Zyklotron lag bei 0,38  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Dies kann in diesem Zusammenhang als Benchmark für die übliche Menge  $^{19}\text{F}$  bei normalen Radiosynthesen mit hohen  $A_M$  angesehen werden. Die Vorläufer **27** und **28** in DMI/ $n\text{BuOH}$  zeigten keine signifikante Menge freien [ $^{19}\text{F}$ ]Fluorids in Lösung, wodurch eine Verunreinigung dieser nach Reinigung ausgeschlossen werden konnte. In Gegenwart des Cu-Mediators wurden allerdings um mehr als eine Größenordnung erhöhte Mengen [ $^{19}\text{F}$ ]Fluorid verglichen mit dem bestrahlten [ $^{18}\text{O}$ ]Wasser beobachtet worden. Die höhere gemessene Menge [ $^{19}\text{F}$ ]Fluorid bei Vorläufer **27** von 6,04  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Tabelle 3) deckte sich mit der geringeren bestimmten  $A_M$  des entsprechenden Tracers [ $5\text{-}^{18}\text{F}$ ]**11** von 0,51 GBq/ $\mu\text{mol}$  (Tabelle 2) im Vergleich zur  $A_M$  von 1,78 GBq/ $\mu\text{mol}$  bei Tracer [ $7\text{-}^{18}\text{F}$ ]**11**, dessen Vorläufer **28** eine niedrigere Menge [ $^{19}\text{F}$ ]Fluorid von 4,86  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in Reaktionslösung aufwies. Anhand dieser Ergebnisse wurde auf einen Angriff durch den Cu-Mediator am Vorläufermolekül geschlossen, der das vorhandene [ $^{19}\text{F}$ ]Fluorid abspaltet und in Lösung bringt (Abb. 62).

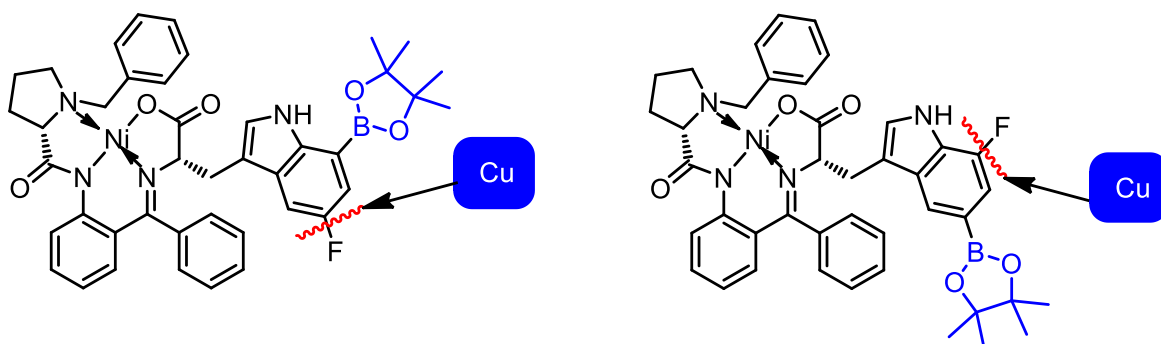


Abbildung 62: Angriff des *in situ* gebildeten Cuprats am [ $^{19}\text{F}$ ]Fluor des Vorläufers.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurden Versuche zum Downscaling der Vorläufermenge durchgeführt. Da die Menge des vorhandenen [ $^{19}\text{F}$ ]Fluorids in Lösung proportional zur verwendeten Menge Vorläufer war, war die Reduzierung dessen der direkteste Weg zur Erhöhung molarer Aktivität. Verglichen mit BPin-Vorläufern sind Vorläufer mit B(OH) $_2$ -Abgangsgruppen robuster gegenüber Downscaling. Deshalb wurden komparative Untersuchungen zwischen BPin-Vorläufer **27** und B(OH) $_2$ -Vorläufer **51** durchgeführt (Abb. 63), um die Auswirkung von verringerter Vorläufermengen auf die Reaktionsausbeuten zu dokumentieren.

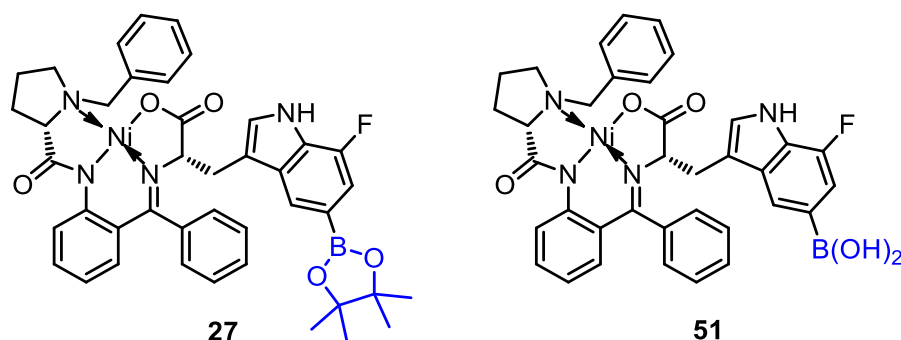


Abbildung 63: Vorläufer **27** und **52** für die Downscaling-Experimente.

Es wurden jeweils die radiochemischen Ausbeuten mit 10  $\mu\text{mol}$ , entsprechend den typischen Reaktionsbedingungen, und 5  $\mu\text{mol}$  Vorläufer verglichen (Tabelle 4).

**Tabelle 4: Ergebnisse des Downscalings mit 27 und 51.**

| Abgangs-<br>gruppe         | Vorläufer-<br>menge [ $\mu\text{mol}$ ] | RCU [%]      | AA [%]       | RCA<br>[%]  | $A_M$<br>[GBq/ $\mu\text{mol}$ ] |
|----------------------------|---|--------------|--------------|-------------|----------------------------------|
| BPin (n = 5)               | 10                                      | 74 $\pm$ 8.4 | 31 $\pm$ 10  | 49 $\pm$ 17 | 0,39 $\pm$ 0,2                   |
| BPin (n = 1)               | 5                                       | 54           | -            | -           | -                                |
| B(OH) <sub>2</sub> (n = 1) | 10                                      | 63           | -            | -           | -                                |
| B(OH) <sub>2</sub> (n = 2) | 5                                       | 56 $\pm$ 16  | 19 $\pm$ 3,5 | 31 $\pm$ 10 | 0,61 $\pm$ 0,2                   |

Auffällig ist, dass **27** bei 10  $\mu\text{mol}$  einen höheren Umsatz aufwies, beim Downscaling zu 5  $\mu\text{mol}$  aber stärker einbrach als **51**. Im Vergleich des Downscalings und der Verwendung von B(OH)<sub>2</sub> war dabei ersichtlich, dass die molare Aktivität dabei zwar von 0,39 GBq/ $\mu\text{mol}$  auf 0,61 GBq/ $\mu\text{mol}$  anstieg, aber RCU, AA und RCA deutlich anken, weshalb dieses Downscaling nicht erfolgreich war.

Da eine hohe molare Aktivität nicht entscheidend für die biologische Untersuchung von Aminosäuretracern ist, wurde mit den vorhandenen Ergebnissen für präklinische Zwecke fortgefahren.

Mit den Tracern [5-<sup>18</sup>F]**11** und [7-<sup>18</sup>F]**11** wurden *in vitro* Untersuchungen mit den Brustkrebszelllinien MCF-7 und MDA-MB-231 durchgeführt. Unter Zugabe von Interferon wird in MCF-7-Zellen TPH hochreguliert, in MDA-MB-231 dagegen IDO. Auf diesem Weg konnte die Aufnahme der Tracer [5-<sup>18</sup>F]**11** und [7-<sup>18</sup>F]**11** über den Kynurenin- und Serotonin-Pfad beobachtet werden. Nach der Aufnahme und Metabolisierung der Tracer in den Zellen wurden die Metaboliten ausgefällt und mit Radioaktiver Dünnschichtchromatographie analysiert (dokumentiert in Kapitel **7.3**).

Diese Untersuchungen via DC (Kapitel 7.3., Abb. 96 und Abb. 97) dieser Zellversuche zeigten in MCF-7-Zellen unter Zugabe von Interferon (Hochregulierung von TPH) keine signifikant veränderte Metabolisierung oder Vorkommen zusätzlicher Metaboliten gegenüber der nativen Form der Zellen. Dies lässt den Schluss zu, dass [5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11 keine Substrate für TPH sind.

In MDA-Zellen hingegen war ein deutlich verändertes Muster bei Zugabe von Interferon zu erkennen. Der Tracer wurde bei Hochregulierung vonIDO stark metabolisiert und es waren insgesamt zwei zusätzliche Spots zum Tracer selbst zu erkennen. Dies wies auf Metabolisierung der Tracer via IDO hin.

Diese Ergebnisse waren für [5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11 identisch.

Entsprechend der Ausgangshypothese sind diese Ergebnisse Hinweise darauf, dass beide Tracer nur via Kynurenin-Metabolismus verstoffwechselt werden oder IDO-Inhibitoren darstellen und potenziell als selektive Tracer für IDO-Aktivität verwendet werden können.

### 3.2.2.5,6-[6-<sup>18</sup>F]Difluortryptophan ([6-<sup>18</sup>F]12)

Zum Vergleich mit dem Verhalten von radiofluorierten 5,7-Difluortryptophanen wurde auch 5,6-[6-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan synthetisiert. Dies sollte dazu dienen, den Einfluss der Fluorierung in der 7-Position auf den Transport und die Metabolisierung via IDO und TPH der Difluortryptophane zu untersuchen (Abb. 64).

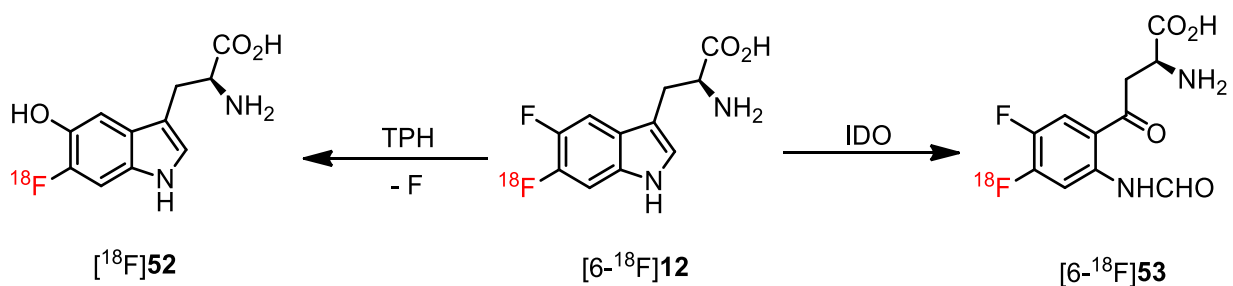


Abbildung 64: 5,6-[6-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan ([6-<sup>18</sup>F]12) und metabolische Produkte nach Umwandlung durch TPH oder IDO.

Zu diesem Zweck sollten (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTrp (**54**), 5,6-Difluortryptophan (**12**) und anschließend 5,6-[6-<sup>18</sup>F]Difluortryptophan ([6-<sup>18</sup>F]12) hergestellt werden (Abb. 65).

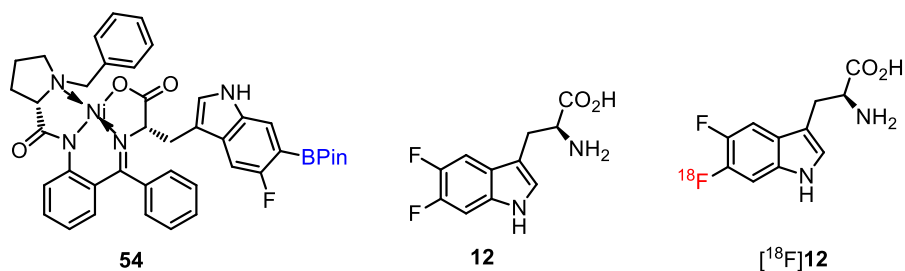


Abbildung 65: Zielstrukturen des Teilprojektes.

### 3.2.2.1. Synthese des Vorläufers (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTTrp (54)

Die Synthese des Vorläufers **54** wurde entsprechend der in 3.2.1.1. beschriebenen Methode ausgehend von 6-Brom-5-fluorindol durchgeführt. In diesem Fall wurde die Synthese von Indol **55** aus einem entsprechendem Difluoranilin durch den Kauf von kommerziell erhältlichem 6-Brom-5-fluorindol übersprungen.

Die BPin-Abgangsgruppe wurde durch Miyaura-Borylierung eingeführt<sup>[89]</sup> und das erhaltene 6-BPin-5-fluorindol (**56**) wurde durch eine Mannich-artige Reaktion in ein Gramin umgewandelt und mit Methyljodid in einer Ausbeute von 48% zu **57** quaternisiert. Mit **57** wurde der (S)-Ni-BPB-Gly-Komplex nach der Methode von *Belokon et al.* alkyliert, um den Vorläufer (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTTrp (**54**) stereoselektiv zu synthetisieren.<sup>[67]</sup> Die Gesamtausbeute dieser Synthesen betrug 3% über 3 Syntheseschritte (Abb. 66).

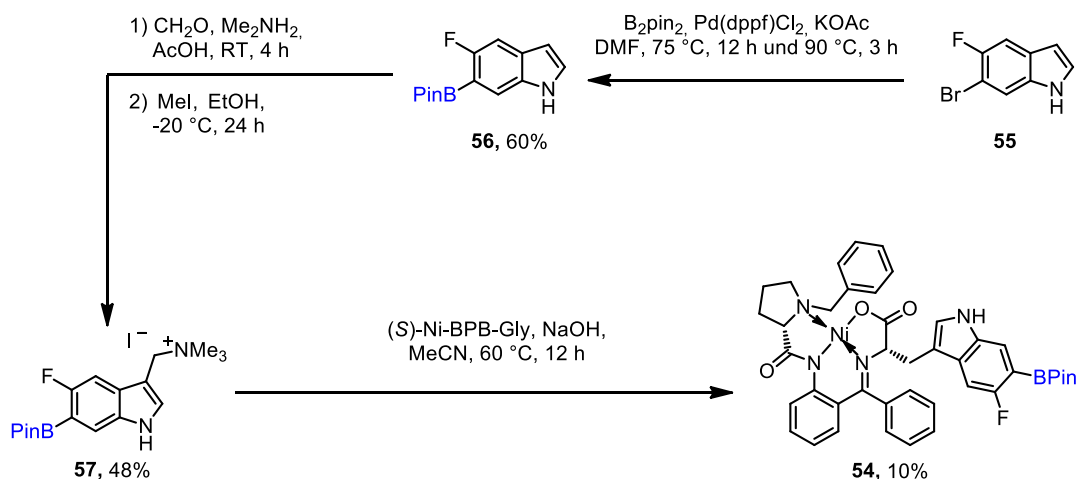


Abbildung 66: Synthese von (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTTrp ([<sup>18</sup>F]**54**).

Auffällig war hierbei die deutlich geringere Ausbeute bei der Alkylierung im letzten Schritt verglichen mit **27** und **28**. Die Substitution des Alkylierungsreagenz in 6-Position hinderte demnach möglicherweise die Reaktion, was auch in den Ergebnissen für die Synthese von **23** in Kapitel 3.1.1. ersichtlich ist. Im hier vorliegenden Fall ist allerdings keine *N*<sub>in</sub>-Methylgruppe in Struktur **57** vorhanden, was darauf hinweist, dass die

Destabilisierung des Übergangszustandes durch die eine  $N_{in}$ -Methylgruppe nicht der alleinige Grund für die niedrige Ausbeute in diesen Fällen ist. Da der Umsatz der Synthese von **54** mit 10% im gleichen Bereich lag wie der Umsatz der Synthese von **16** (13%), ließ sich darauf schließen, dass die BPin-Gruppe in 6-Position in diesem Fall ebenfalls negativen Einfluss auf die Ausbeute hat.

### 3.2.2.2. Synthese von 5,6-Difluortryptophan (**12**)

Die Synthese der Referenzstruktur 5,6-Difluortryptophan (**12**) wurde nach der in Kapitel 3.2.1.2. beschriebenen Methode für **28** durchgeführt. Auch hier wurde durch den Kauf eines entsprechenden 5,6-Difluorindols (**58**) auf die Synthese ausgehend von 5,6-Difluoranilin verzichtet.

5,6-Difluorgramin (**59**) wurde identisch wie in 3.2.2.1. synthetisiert und mit Diethylformamidomalonat zu **60** umgesetzt. Dies wurde entschützt, um die Referenzstruktur **12** nach 3 Syntheseschritten in einer Gesamtausbeute von 6% zu erhalten (Abb. 67).

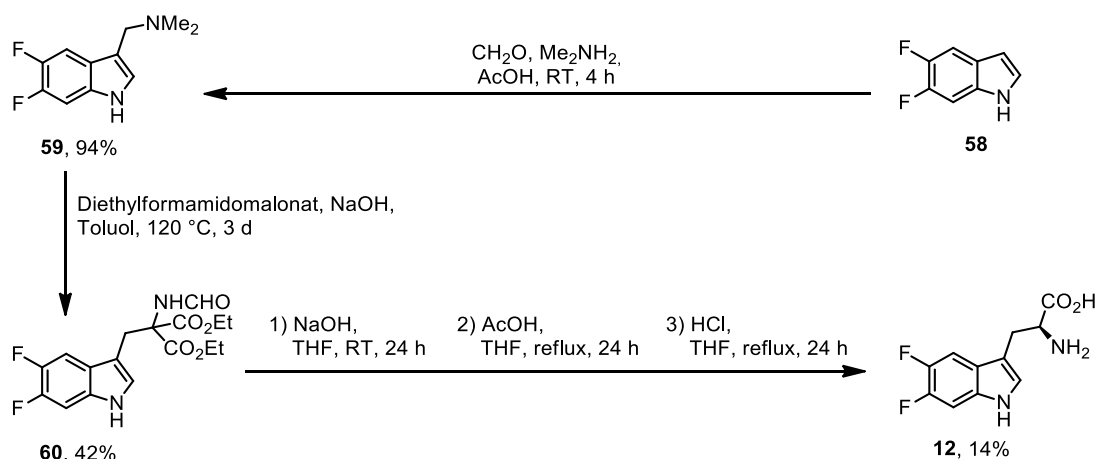


Abbildung 67: Synthese der Referenzstruktur 5,6-Difluortryptophan (**12**).

### 3.2.2.3. Radiosynthese von 5,6-[ $^{18}\text{F}$ ]Difluortryptophan ( $[\text{6-}^{18}\text{F}]\text{12}$ )

Die Radiosynthese von  $[\text{6-}^{18}\text{F}]\text{12}$  wurde zunächst mit derselben Methode durchgeführt wie die Synthese der 5,7-[ $^{18}\text{F}$ ]Difluortryptophane. Bei einer Testsynthese mit  $\text{Cu}(\text{4-Ph-Py})_4(\text{ClO}_4)_2$  als Cu-Mediator konnte allerdings nur ein radiochemischer Umsatz von ca. 15% beobachtet werden. Die Radiofluorierung in 6-Position war durch den Fluorsubstituenten in der angrenzenden 5-Position behindert. Aus diesem Grund wurden insgesamt sechs Screenings mit verschiedenen Mediatoren und



Elutionssalzen durchgeführt (Tabelle 5). Die verwendeten Cu-Mediatoren setzten sich aus den drei besten von *Hoffmann et al.* untersuchten Kandidaten zusammen. [61]

**Tabelle 5: Testsynthesen zur Bestimmung des RCU mit verschiedenen Mediatoren und Salzen.**

| Cu-Mediator   | Elutionssalz        | RCU [%] |
|---|---------------------|---------|
| Cu(4-Ph-Py) <sub>4</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>   | TEAOTf              | 15      |
| Cu(3,4-Me <sub>2</sub> -Py) <sub>4</sub> (OTf) <sub>2</sub> | TEAOTf              | 29      |
| Cu(4-OMe-Py) <sub>4</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>  | TEAOTf              | 22      |
| Cu(4-Ph-Py) <sub>4</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>   | TEAHCO <sub>3</sub> | 21      |
| Cu(3,4-Me <sub>2</sub> -Py) <sub>4</sub> (OTf) <sub>2</sub> | TEAHCO <sub>3</sub> | 22      |
| Cu(4-OMe-Py) <sub>4</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>  | TEAHCO <sub>3</sub> | 12      |

Tabelle 5 zeigt, dass der radiochemische Umsatz zu [<sup>18</sup>F]61 durchgehend schlechter war als bei der Synthese der 5,7-[<sup>18</sup>F]Difluortryptophane ([<sup>18</sup>F]3 und [<sup>18</sup>F]4). Bei diesem Screening wurde mit Cu(3,4-Me<sub>2</sub>-Py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> und TEAOTf der beste Umsatz erzielt, weshalb die Radiosynthese von [6-<sup>18</sup>F]12 mit diesen Additiven durchgeführt wurde (Abb. 68).

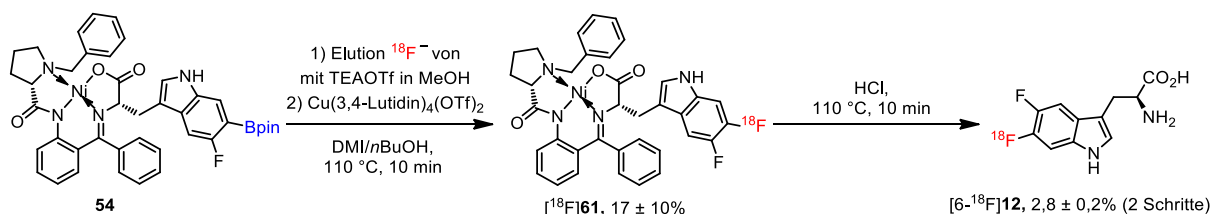


Abbildung 68: Radiosynthese von [6-<sup>18</sup>F]12.

Der Umsatz der Synthese lag dabei nach n = 3 Wiederholungen bei 17 ± 10% und die radiochemische Gesamtausbeute bei 2,8 ± 0,2% (Tabelle 6).

**Tabelle 6: Ergebnisse der Radiosynthese von [6-<sup>18</sup>F]12.**

| Tracer               | RCU [%] | AA [%]  | RCA [%]   | A <sub>M</sub> [GBq/μmol] | Ni [ng/batch] | Cu [ng/batch] | ee [%] |
|----------------------|---------|---------|-----------|---------------------------|---------------|---------------|--------|
| [ <sup>18</sup> F]AT | 17 ± 10 | 3 ± 0,4 | 4,5 ± 0,6 | 2,7 ± 0,7                 | 91 ± 3,9      | 69 ± 9,2      | >97    |

Auch bei dem Tracer [6-<sup>18</sup>F]12 war eine niedrige molare Aktivität zu sehen, die im gleichen Bereich wie die in 3.2.1.3. beschriebenen Werte für die 5,7-[<sup>18</sup>F]Difluortryptophane lag. Dies war als Folge der für [5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11 beobachteten Defluorierung des Vorläufers *in situ* durch den Kupfermediator auch hier der Fall.

Radiochemische Umsätze und Ausbeuten waren wie in Tabelle 6 ersichtlich gegenüber  $[5\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$  und  $[7\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$  deutlich geringer. Die Substituierung mit Fluor in ortho-Position zur Markierungsposition hinderte entsprechend dieser Ergebnisse die Cu-vermittelte Radiofluorierung. Eine größere Entfernung im Molekül zwischen dem Fluor und dem Label ist demnach für die Cu-vermittelte Radiofluorierung von Vorteil, um den Einfluss des induktiven Effekts des Fluors zu verringern.

Die geringe molare Aktivität ist wie bei  $[5\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$  und  $[7\text{-}^{18}\text{F}]\mathbf{11}$  nicht entscheidend für präklinische Untersuchungen, die geringe Aktivitätsausbeute von  $3 \pm 0,4\%$  muss aber als limitierender Faktor betrachtet werden.

### 3.2.3.3- $[^{18}\text{F}]\text{Fluor-}$ und $3\text{-}[^{18}\text{F}]\text{Fluor-5-hydroxyphenylserin}$ ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{13}$ und $[^{18}\text{F}]\mathbf{14}$ )

Das Ziel der Nutzung von  $(2S,3R)\text{-}3\text{-}[^{18}\text{F}]\text{Fluor-}$  und  $(2S,3R)\text{-}3\text{-}[^{18}\text{F}]\text{Fluor-5-hydroxyphenylserin}$  ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{13}$  und  $[^{18}\text{F}]\mathbf{14}$ ) als PET-Tracer war die Adressierung des noradrenergen und adrenergen Systems zu dessen Visualisierung.  $[^{18}\text{F}]\mathbf{13}$  und  $[^{18}\text{F}]\mathbf{14}$  sollten dabei als Prodrugs für  $[^{18}\text{F}]\mathbf{62-65}$  dienen (Abb. 69).

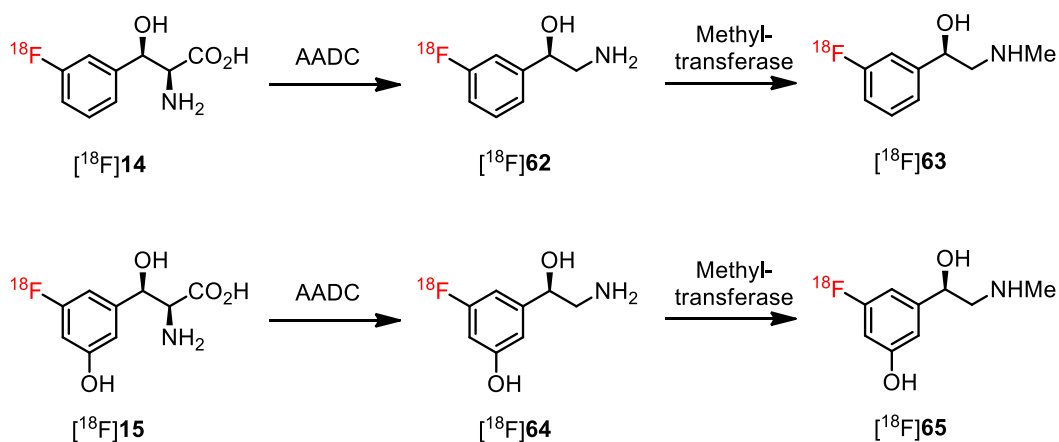


Abbildung 69: Metabolisierung von  $[^{18}\text{F}]\mathbf{14}$  und  $[^{18}\text{F}]\mathbf{15}$  zu  $3\text{-}[^{18}\text{F}]\text{-Fluoradrenalin-}$  ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{62}$  und  $[^{18}\text{F}]\mathbf{64}$ ) und  $3\text{-}[^{18}\text{F}]\text{-Fluoradrenalin-Derivaten}$  ( $[^{18}\text{F}]\mathbf{63}$  und  $[^{18}\text{F}]\mathbf{65}$ ).

$[^{18}\text{F}]\mathbf{14}$  und  $[^{18}\text{F}]\mathbf{15}$  sollten für präklinische Untersuchungen an Ratten unter Berücksichtigung des Alarmierungszustandes der Tiere im Rahmen dieses Projektes hergestellt werden. Die Tracer wurden ausgehend von den bereits vorliegenden Vorläufern *N*-Boc-3-BPin-PhSer-O*t*Bu ( $\mathbf{66}$ ) und *N*-Boc-3-BPin-5-OMOM-PhSer-O*t*Bu ( $\mathbf{67}$ ) synthetisiert (Abb. 70).

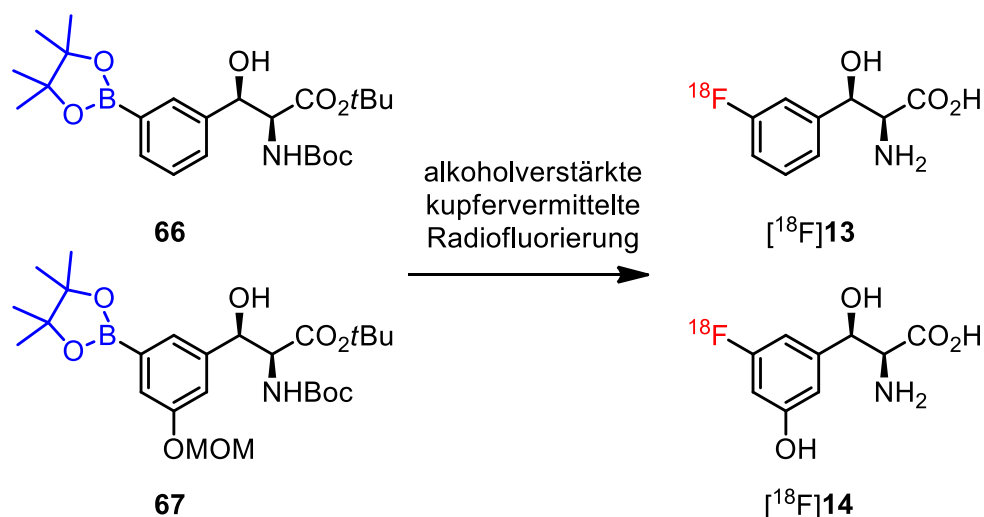


Abbildung 70: Zielstrukturen des Teilprojektes [ $^{18}\text{F}$ ]13 und [ $^{18}\text{F}$ ]14 und deren Vorläufer 66 und 67.

### 3.2.3.1. Radiosynthese von 3- $^{18}\text{F}$ Fluor- und 3- $^{18}\text{F}$ Fluor-5-hydroxyphenylserin ([ $^{18}\text{F}$ ]13 und [ $^{18}\text{F}$ ]14)

Vorläufer **66** und **67** wurden gestellt durch PD Dr. B. D. Zlatopolskiy, zusammen mit nicht radioaktiv markierten Referenzen. Die Radiosynthese von [ $^{18}\text{F}$ ]13 und [ $^{18}\text{F}$ ]14 wurde entsprechend der Methode von *Zlatopolskiy et al.* zur Alkohol-verstärkten Cu-vermittelten Radiofluorierung durchgeführt (Abb. 71).<sup>[74]</sup>

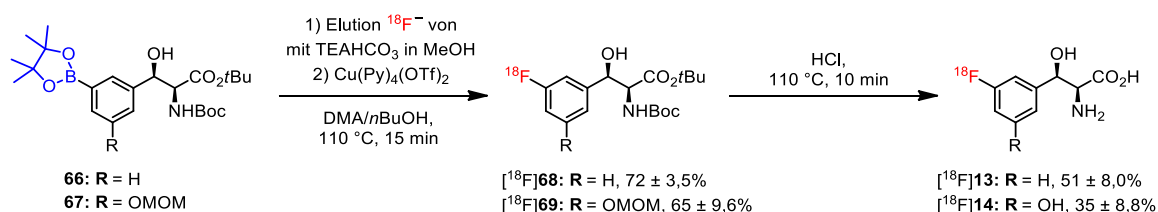


Abbildung 71: Radiosynthese von [ $^{18}\text{F}$ ]13 und [ $^{18}\text{F}$ ]14.

Die radiofluorierten Intermediate [ $^{18}\text{F}$ ]68 und [ $^{18}\text{F}$ ]69 konnten so in radiochemischen Umsätzen von jeweils  $72 \pm 3,5\%$  und  $65 \pm 9,6\%$  erhalten werden. Nach verdampfen der Lösungsmittel wurden die Intermediate mit HCl entschützt und die finalen Tracer [ $^{18}\text{F}$ ]13 und [ $^{18}\text{F}$ ]14 konnten in sehr guten radiochemischen Ausbeuten isoliert werden (Tab. 7).

Tabelle 7: Ergebnisse der Radiosynthese von [ $^{18}\text{F}$ ]14 und [ $^{18}\text{F}$ ]15.

| Tracer                | RCU [%]  | AA [%]   | RCA [%]  | A <sub>M</sub> [GBq/μmol] | Cu [μg/batch] | ee [%] |
|-----------------------|----------|----------|----------|---------------------------|---------------|--------|
| [ $^{18}\text{F}$ ]13 | 72 ± 3,5 | 32 ± 6,2 | 51 ± 8,0 | 94 ± 18                   | 1,7 ± 0,1     | >99    |
| [ $^{18}\text{F}$ ]14 | 65 ± 9,6 | 24 ± 6,0 | 35 ± 8,8 | 80 ± 49                   | 1,9 ± 0,1     | >99    |

Molare Aktivitäten und Enantiomerenüberschüsse der Tracer waren sehr gut und der Kupfergehalt der gesamten Batches lag unter den festgelegten Grenzwerten.<sup>[92]</sup>

## 4. Zusammenfassung

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) als Methode zur Visualisierung biochemischer Prozesse auf molekularer Ebene ist ein integraler Bestandteil der klinischen Bildgebung. Ihr Anwendungspotential ist jedoch aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit geeigneter PET-Tracer für viele klinisch relevante Stoffwechselprozesse immer noch stark limitiert. Daher besteht nach wie vor ein hoher Bedarf an neuen Techniken für die effiziente Markierung von bioaktiven Molekülen und innovativen Radiotracer. Dazu gehören auch radiomarkierte aromatische Aminosäuren, die als Biomarker für die Detektion einer Vielzahl an physiologischen und pathophysiologischen Prozessen eingesetzt werden können und somit attraktive Leitstrukturen für die Entwicklung von neuen PET-Tracern darstellen.

In der vorliegenden Arbeit sollten daher Methoden zur Radiosynthese von [<sup>18</sup>F]Fluorphenylalanin-, [<sup>18</sup>F]Fluortyrosin-, [<sup>18</sup>F]Fluortryptophan- und [<sup>18</sup>F]Fluorphenylserin-Derivaten entwickelt werden.

Durch Anwendung der Alkohol-verstärkten Cu-vermittelten Radiofluorierung konnte eine Reihe von 2-, 3- und 4-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylalaninen, deren  $\alpha$ -Methyl-Derivate sowie 2-[<sup>18</sup>F]Fluortyrosin und 6-[<sup>18</sup>F]Fluor-*m*-tyrosin erfolgreich aus den entsprechenden chiralen Metall-Komplex-Vorläufern hergestellt werden. Für  $\alpha$ -Methyl-[<sup>18</sup>F]fluor- und [<sup>18</sup>F]Fluorphenylalanine konnten auf diesem Weg radiochemische Ausbeuten (RCAs) von >50% erreicht werden, während die RCAs für 2-[<sup>18</sup>F]Fluortyrosin und 6-[<sup>18</sup>F]Fluor-*m*-tyrosin bei >25% lagen. Die entwickelten Herstellungsverfahren ermöglichten somit die Radiosynthese der neuen Tracer-Kandidaten in Aktivitätsmengen, die für präklinische Untersuchungen ausreichend waren.

Als potenzielle Tracer für die selektive Visualisierung der Serotonin-Synthese oder des Kynurenin-Stoffwechselwegs als Pfade des Tryptophan-Metabolismus wurden *M<sub>n</sub>*-Methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluor-, 5-Hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluor- und drei <sup>18</sup>F-markierte Difluortryptophane synthetisiert. *M<sub>n</sub>*-Methyl-6-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan wurde als Tracer-Kandidat zur Darstellung des Kynurenin-Pfades ausgewählt und konnte analog zur Synthese der [<sup>18</sup>F]Fluorphenylalanine durch Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung ausgehend vom entsprechenden BPin-substituierten Ni-BPB-Komplex in RCAs von 45 ± 7% hergestellt werden. 5-Hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluortryptophan als potentieller Tracer für die selektive Visualisierung des Serotonin-Pfades wurde aus einem geschützten BPin-Vorläufer synthetisiert. Mit dem gängigen Radiofluorierungsmediator Cu(Py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> wurden dabei nur geringe Umsätze beobachtet. Jedoch führte der

Einsatz des neuen Mediators ( $\text{Cu}(3,4\text{-Me}_2\text{-Py})_4(\text{OTf})_2$ ) in DMI statt DMA zu einem signifikanten Anstieg der Umsätze. Die dabei beobachtete Bildung von radiofluorierten Nebenprodukten konnte durch den Verzicht auf *n*BuOH als Additiv ohne signifikante Umsatzeinbußen vollständig unterbunden werden. Mit dieser Methode konnte 5-Hydroxy-7- $^{18}\text{F}$ fluortryptophan in RCAs von  $29 \pm 4\%$  dargestellt werden.

5,7-[5- $^{18}\text{F}$ ]- und -[7- $^{18}\text{F}$ ]Difluortryptophan sollten sich entsprechend ihres zu erwartenden unterschiedlichen biologischen Verhaltens ebenfalls zur Visualisierung verschiedener Aspekte des Tryptophan-Metabolismus eignen. So sollte 5,7-[5- $^{18}\text{F}$ ]Difluortryptophan im Rahmen der Serotonin-Synthese durch die 5-Hydroxylierung durch Tryptophan-Hydroxylase (TPH) seine  $^{18}\text{F}$ -Markierung in 5-Position verlieren, und somit potentiell nur eine selektive Darstellung des Kynurenin-Stoffwechselwegs ermöglichen. 5,7-[7- $^{18}\text{F}$ ]Difluortryptophan sollte hingegen seine  $^{18}\text{F}$ -Markierung in 7-Position in beiden Metabolisierungspfaden behalten und somit eine Darstellung des gesamten Tryptophan-Metabolismus ermöglichen. Für beide Difluortryptophane führte die Verwendung des ursprünglichen Protokolls für die Alkohol-verstärkte Cu-vermittelte Radiofluorierung nicht zum Erfolg. Unter optimierten Bedingungen mit  $\text{Cu}(4\text{-Ph-Py})_4(\text{ClO}_4)_2$  als Mediator und DMI/*n*BuOH als Reaktionsmedium wurden jedoch RCAs von jeweils  $52 \pm 15\%$  und  $53 \pm 11\%$  erreicht. Zum Vergleich des Metabolisierungsmusters von 5,7-Difluortryptophanen wurde 5,6-[6- $^{18}\text{F}$ ]Difluortryptophan hergestellt, wobei dieser Tracer-Kandidat nicht in den für präklinischen Versuche notwendigen Ausbeuten hergestellt werden konnte. Auffällig bei der Radiosynthese der  $^{18}\text{F}$ ]-Difluortryptophane war außerdem ihre sehr niedrige molare Aktivität, die mehr als eine Größenordnung unter der von vergleichbaren Tracern lag. Dies konnte auf eine *in situ*-Defluorierung des Vorläufers durch den Cu-Mediator und eine daraus resultierende signifikante Bildung von  $^{19}\text{F}^-$  im Reaktionsgemisch zurückgeführt werden, welche zur nicht-radioaktiven Fluorierung des verbleibenden Vorläufers führte. Die molare Aktivität der resultierenden Tracer war dementsprechend proportional zur eingesetzten Vorläufermenge unter den Reaktionsbedingungen.

Zuletzt wurden 3- $^{18}\text{F}$ ]-Fluor- und 3- $^{18}\text{F}$ ]-Fluor-5-hydroxyphenylserin als potenzielle neue Tracer für das adrenerge System aus den entsprechenden Boronat-Vorläufern hergestellt. Diese beiden radiomarkierten Strukturen waren mittels konventioneller Alkohol-verstärkter Cu-vermittelter Radiofluorierung in RCAs von je  $51 \pm 8,0\%$  und  $35 \pm 8,8\%$  zugänglich und konnten somit in Mengen hergestellt werden, die für weiterführende biologische Evaluierungen notwendig waren.

In den Fällen aller im Rahmen dieser Arbeit hergestellten radiofluorierten Aminosäuren lagen die Cu- und Ni-Gehalte deutlich unter den vorgeschriebenen Grenzwerten für eine klinische Anwendung. Die Enantiomerenüberschüsse lagen zwischen 93 – 99%. Die radiochemische Reinheit betrug für alle Tracer >99%. Somit sollten sich alle entwickelten Radiosyntheseprotokolle für eine GMP-konforme Produktion der entsprechenden PET-Tracer für klinische Anwendungen eignen.

## 5. Experimententeil

### 5.1. Allgemeines

Kommerziell erhältliche Lösungsmittel und Reagenzien wurden von Alfa Aesar, Fluka, VWR-International und Sigma-Aldrich gekauft und ohne Reinigung verwendet.

Alle Reaktionen wurden mit magnetischem Rührer durchgeführt. Organische Extrakte wurden über wasserfreiem  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Luft- und feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden in unter inerter Atmosphäre in einer Glovebox mit Argon angesetzt. Lösungen wurden unter verringertem Druck (1–900 mbar) bei 40–50 °C mit einem Rotationsverdampfer (Büchi Labortechnik, Essen, Deutschland) konzentriert.

Dünnschicht Chromatographie wurde auf Aluminiumplatten beschichtet mit Kieselgel von *Merck* durchgeführt und aufgetragene Substanzen wurden mit UV-Licht ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ), Phosphormolybdänsäure oder Ninhydrin detektiert.

Normalphasenchromatographie wurde manuell mit Kieselgel von Fluka (grade 60, mesh 230 – 400, mit oder ohne 0,1% Ca) durchgeführt.

Umkehrphasenchromatographie wurde auf einem Büchi Pure C-815 Flash-System mit FlashPure C18 Kartuschen (Si-60, 40  $\mu\text{m}$ ) durchgeführt.

NMR-Spektren wurden bei Raumtemperatur in Deuteriumoxid, Deuteriochloroform, Deuteromethanol, Deuteroacetonitril oder Deuterodimethylsulfoxid mit einem Bruker Ascend™ 400 gemessen. Die bestimmten chemischen Verschiebungen sind als  $\delta$  [ppm] relativ zu Restpeaks nicht deuterierter Lösungsmittel angegeben. Die beobachteten Signale wurden wie folgt charakterisiert: s = Singulett,  $s_b$  = breites Singulett, d = Dublett, t = Triplett, m = Multiplett und dd = Dublett von Dublett. Kupplungskonstanten  $J$  sind in Hertz (Hz) angegeben.

Niedrig aufgelöste Massenspektren (LRMS) wurden mit einem MSQ Plus™ Massenspektrometer (Thermo Electron Corporation, San Jose, USA) aufgenommen. Hochaufgelöste Massenspektren (HRMS) wurden mit einem FTICR „LTQ FT Ultra“ (Thermo Fischer Scientific Inc., Bremen, Deutschland) aufgenommen.



Molare Aktivitäten wurden anhand der angegebenen Kalibrationskurven via HPLC bestimmt (**6.2.**, detektiert bei 210 nm).

Analytische HPLC wurde auf einem Dionex Ultimate<sup>®</sup> 3000 System mit Ultimate<sup>®</sup> 3000 variable wavelength detector und einem Berthold LB500 NaI detector durchgeführt. Verwendete HPLC-Systeme wurden mit Rheodyne 6 Injektoren mit identischen Probenschleifen vor und hinter der Säule ausgestattet zur Bestimmung radiochemischer Umsätze (RCU). UV- und Radiodetektor sind in Serie geschaltet und aufgezeichnete Signale besitzen eine Zeitverschiebung von 0,1 – 0,2 min, abhängig von der Flussrate.

Semipräparative HPLC wurde entweder auf demselben Dionex Ultimate<sup>®</sup> 3000 System mit Ultimate<sup>®</sup> 3000 variable wavelength detector und einem Berthold LB500 NaI detector mit größerer Probenschleife und Mischkammer oder einem eigens dafür konstruierten System bestehend aus einer Knauer K-100 Pumpe, einem Knauer K-2501 UV-Detektor, einem Rheodyne 6 Injektor mit einer 2 mL Injektionsschleife und einem eigens angefertigten Geiger-Zähler durchgeführt.

HPLC-Säulen wurden von Phenomenex (Aschaffenburg, Deutschland) und Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland) gekauft.

Präparative HPLC:

**Methode A:** Säule: Luna C18(2), 5 µm, 100 Å, 250 × 10 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard<sup>™</sup> Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 30% EtOH in Acetat-Puffer; Flussrate: 3,5 mL/min.

**Methode B:** Säule: Luna C18(2), 5 µm, 100 Å, 250 × 10 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard<sup>™</sup> Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 5% EtOH in Acetat-Puffer; Flussrate: 3 mL/min.

**Methode C:** Säule: Synergi Hydro RP, 10 µm, 100 Å, 250 × 10 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard<sup>™</sup> Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 100% Acetat-Puffer; Flussrate: 3 mL/min.

**Methode D:** Säule: Luna C18(2), 5 µm, 100 Å, 250 × 10 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard<sup>™</sup> Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 25% EtOH in Acetat-Puffer; Flussrate: 3,5 mL/min.

Acetat-Puffer:

AcOH (11 mL, 192.34 mmol) wurden zu einer Lösung von NaOAc (10 g, 122 mmol) in H<sub>2</sub>O (60 mL) und die resultierende Lösung wurde mit Wasser auf 100 mL aufgefüllt. 10 mL dieser Stammlösung wurden mit H<sub>2</sub>O auf 1 L aufgefüllt und als Eluens verwendet.

Analytische HPLC:

**Methode E:** Säule: Synergi Hydro RP, 4 µm, 80 Å, 250 × 4,6 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard™ Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 20% MeCN and 0,1% TFA in Wasser; Flussrate: 1,5 mL/min.

**Methode F:** Säule: Kinetex F5 5 µm, 250 × 4,6 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard™ Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 0,1% TFA in Wasser; Flussrate: 1 mL/min.

**Methode G:** Säule: Synergi Hydro RP, 4 µm, 80 Å, 250 × 4,6 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard™ Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 17% MeCN and 0,1% TFA in Wasser; Flussrate: 1,5 mL/min.

Analytische HPLC zur Bestimmung von Enantiomerenüberschuss:

**Methode H:** Säule: Chirobiotic T, 5 µm, 250 × 10 mm (Supelco Analytical, Bellefonte, USA), ausgestattet mit einem passenden SecurityGuard™ cartridge; (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 70% MeOH in 0,02% Ameisensäure; Flussrate: 3 mL/min.

**Methode I:** Säule: Chirex 3126 (D)-Penicillamin, 5 µm, 250 × 4,6 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard™ Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 15% *i*PrOH in 2 mM CuSO<sub>4</sub>; Flussrate: 1 mL/min.

**Methode J:** Säule: Chirex 3126 (D)-Penicillamin, 5 µm, 250 × 4,6 mm, ausgestattet mit einer passenden SecurityGuard™ Vorsäule (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland); Eluens: 20% *i*PrOH in 2 mM CuSO<sub>4</sub>; Flussrate: 1 mL/min.

### Allgemeine Methoden (General Procedures, GP):

Allgemeine Angaben je beispielhaft bezogen auf 1 mmol Edukt.

**GP1:** Edukt (1 mmol, 1 Äq) wurde in EtOH (4 mL) gelöst.  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  (1,1 mmol, 1,1 Äq) wurden hinzugefügt, gefolgt von portionsweiser Zugabe von  $\text{I}_2$  (1,1 mmol, 1,1 Äq). Die Mischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die Mischung filtriert und das Filtrat wurde unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde in EtOAc aufgenommen und mit ges.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (2 x 2 mL), ges.  $\text{NaHCO}_3$  (2 x 2 mL) und  $\text{H}_2\text{O}$  (2 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EtOAc: 10:1).

**GP2:** Edukt (1 mmol, 1 Äq) wurde in trockenem DMF (0,3 mL) und  $\text{NEt}_3$  (3 mmol, 3 Äq) unter Argon gelöst.  $\text{CuI}$  (0,1 mmol, 0,1 Äq) und  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (0,1 mmol, 0,1 Äq) wurden hinzugefügt und die Mischung wurde auf 0 °C herabgekühlt. Trimethylsilylacetylen (2 mmol, 2 Äq) wurden tropfenweise hinzugefügt und die Mischung wurde unter Ar 3 h bei RT gerührt (Reaktionsfortschritt durch DC beobachtet). Die Mischung wurde in kaltes Wasser gegeben (2 mL) und extrahiert mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 x 4 mL). Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges.  $\text{NaCl}$  (2 x 4 mL) gewaschen, getrocknet, unter vermindertem Druck konzentriert und säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EtOAc: 20:1).

**GP3:** Edukt (1 mmol, 1 Äq) wurde in trockenem MeOH (5 mL, entgast) unter Ar (durch Lösemittel geblasen) gelöst.  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1 mmol, 1 Äq) wurden zugegeben und die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Nach DC-Kontrolle der Reaktionslösung wurde das MeOH unter vermindertem Druck entfernt und Wasser (5 mL) und EtOAc (5 mL) wurden zugegeben. Die Phasen wurden getrennt und die org. Phase wurde mit Wasser (2 x 5 mL) und ges.  $\text{NaCl}$  (5 mL) gewaschen, getrocknet und konzentriert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EtOAc: 10:1).

**GP4:** Edukt (1 mmol, 1 Äq) in trockenem DMF (2,6 mL) wurde 10 Minuten mit Argon geflutet.  $\text{CuI}$  (0,1 mmol, 0,1 Äq) wurde zugegeben und die Mischung wurde für weitere 10 Minuten mit Argon geflutet und anschließend über Nacht bei 145 °C gerührt. Die Mischung wurde unter vermindertem Druck bei 60 °C konzentriert, um den Großteil

DMF zu entfernen. Der Rückstand wurde mit Wasser (3,33 mL) und Et<sub>2</sub>O (2,6 ) verdünnt. Die Suspension wurde durch eine Schicht Celite filtriert, welches mit Et<sub>2</sub>O (0,65 mL) nachgespült wurde. Die wässrigen und org. Phasen des Filtrats wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit Et<sub>2</sub>O (2 × 1,3 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl (3,33 mL) gewaschen, getrocknet und konzentriert unter vermindertem Druck. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, Hexan/EtOAc: 10:1).

**GP5** Edukt (1 mmol, 1 Äq), Bis(pinacolato)diboron (1,2 mmol, 1,2 Äq), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0,07 mmol, 0,07 Äq) und KOAc (2,1 mmol, 2,1 Äq) wurden unter Ar in DMF (3,5 mL) gelöst und die Mischung wurde bei 75 °C über Nacht und 90 °C für 3 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wurde in Et<sub>2</sub>O (5,5 mL) aufgenommen. Die Mischung wurde mit ges. NaCl (3 × 5,5 mL) und Wasser (3 × 5,5 mL) gewaschen, getrocknet und konzentriert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, 0,1% Ca, Hexan/EtOAc: 4:1).

**GP6:** Edukt (1 mmol, 1 Äq) wurde in AcOH (2,4 mL) gelöst. Formaldehyd-Lsg. (37%ig, 1,25 mmol, 1,25 Äq) und Dimethylamin-Lsg. (40%ig, 1,75 mmol, 1,75 Äq) wurden unter Eiskühlung zugefügt und die Mischung wurde 4 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Mischung unter Eiskühlung mit 3 M NaOH auf pH = 10 gebracht. Die Suspension wurde mit EtOAc (5 × 1,9 mL) extrahiert und die org. Phase wurde getrocknet und unter vermindertem Druck konzentriert.

**GP7:**

**1. Schritt:** Edukt (1 mmol, 1 Äq) wurde in AcOH (2,4 mL) gelöst. Formaldehyd-Lsg. (37%ig, 1,25 mmol, 1,25 Äq) und Dimethylamin-Lsg. (40%ig, 1,75 mmol, 1,75 Äq) wurden unter Eiskühlung zugefügt und die Mischung wurde 4 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Mischung unter Eiskühlung mit 3 M NaOH auf pH = 10 gebracht. Die Suspension wurde mit EtOAc (5 × 1,9 mL) extrahiert und die org. Phase wurde getrocknet und unter vermindertem Druck konzentriert. Das Zwischenprodukt wurde sofort weiterverwendet.

**2. Schritt:** Das erhaltene Zwischenprodukt (1 mmol, 1 Äq) wurde in EtOH (13 mL) gelöst und eisgekühlt. Iodmethan (5 mmol, 5 Äq) wurde zugegeben und die Mischung wurde 1 d bei -20 °C im Tiefkühlschrank verwahrt. Die Mischung wurde anschließend

bei vermindertem Druck konzentriert und der Rückstand wurde mit Et<sub>2</sub>O und Pentan behandelt, bis sich ein Niederschlag gebildet hat. Der Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet.

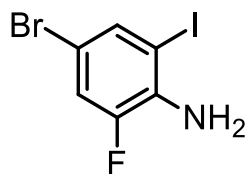
**GP8:** Edukt (1 mmol, 1 Äq), (S)-Ni-BPB-Gly (1 mmol, 1 Äq) und NaOH (3,5 mmol, 3,5 Äq) wurden unter Ar in trockenem MeCN (15,6 mL) gelöst und bei 60 °C über Nacht gerührt. Ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. (31,3 mL) wurde zugegeben und die Mischung wurde mit EtOAc (3 × 14 mL) extrahiert. Die vereinten org. Phasen wurden getrocknet und unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch über Normalphase (Kieselgel, 0,1% Ca, Chloroform/Aceton: 6:1) und über einen Säulenautomaten über Umkehrphase (Wasser/Acetonitril: gradient) gereinigt.

**GP9:** Edukt (1 mmol, 1 Äq), Diethylformamidomalonat (1,1 mmol, 1,1 Äq) und NaOH (0,25 mmol, 0,25 Äq) wurden in trockenem Toluol (8,4 mL) gelöst und 3 d bei 120 °C unter Ar gerührt. EtOAc (4,2 mL) wurde hinzugefügt und die Mischung wurde mit 1 M NaHSO<sub>4</sub>-Lsg. (2 × 8,4 mL), ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lsg. (2 × 8,4 mL) und ges. NaCl-Lsg. (2 × 8,4 mL) gewaschen. Die org. Phase wurde abgetrennt, getrocknet und konzentriert. Der Rückstand wurde mit Et<sub>2</sub>O behandelt und der weiße Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet. Das übrige Filtrat wurde konzentriert und der Rückstand wurde säulenchromatographisch (Kieselgel, Hexan/EtOAc: 1:1) und die Produkte aus Niederschlag und Chromatographie wurden zusammengelegt.

**GP10:** Edukt (1 mmol, 1 Äq) wurde in THF (9,5 mL) gelöst und 0,75 M NaOH-Lsg. (4,6 mL) wurde zugefügt. Die Mischung wurde bei RT 1 d gerührt. Die Mischung wurde mit AcOH (2,3 mL) angesäuert und 1 d refluxiert. Die Mischung wurde anschließend unter vermindertem Druck eingeeengt und in 3 M HCl (4,6 mL) aufgenommen und 1 d refluxiert. Die Mischung wurde auf RT gekühlt, mit 2 M KOH oder Pyridin auf pH = 6 gebracht und unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und der ausfallende Feststoff wurde abfiltriert und getrocknet.

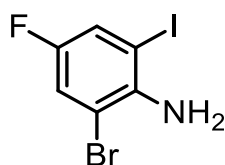
## 5.2. Organische Synthesen

### 5.2.1. 4-Brom-2-fluor-6-iodanilin (**31**), 2-Brom-4-fluor-6-iodanilin (**32**) und 2,4-Difluor-6-iodanilin (**44**)<sup>[85]</sup>



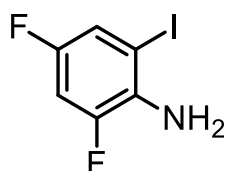
**31**

**GP1** mit 4-Brom-2-fluoranilin (10 g, 52 mmol, 1 Äq)  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  (18 g, 57 mmol, 1,1 Äq) und  $\text{I}_2$  (14,6 g, 57 mmol, 1,1 Äq) in 200 mL EtOH. Das Produkt wurde als braune Kristalle erhalten (14,2 g, 45 mmol, 87%).



**32**

**GP1** mit 2-Brom-4-fluoranilin (10 g, 52 mmol, 1 Äq),  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  (18 g, 57 mmol, 1,1 Äq) und  $\text{I}_2$  (14,6 g, 57 mmol, 1,1 Äq) in 200 mL EtOH. Das Produkt wurde als braune Kristalle erhalten (9,5 g, 30 mmol, 58%).



**44**

**GP1** mit 2,4-Difluoranilin (10 g, 77,5 mmol, 1 Äq),  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  (26,5 g, 85 mmol, 1,1 Äq) und  $\text{I}_2$  (21,5 g, 85 mmol, 1,1 Äq) in 300 mL EtOH. Das Produkt wurde als braune Kristalle erhalten (6,5 g, 25,5 mmol, 33%).

**Ausbeute** 87% (**31**), 58% (**32**), 33% (**44**).

**R<sub>f</sub>** 0,47 (**31**, **32**, **44**) (Kieselgel, Hexan/EtOAc: 10:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (**31**): (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 7.59 – 7.53 (m, 1H), 7.17 (dd,  $J = 10.1$ , 2.1 Hz, 1H), 4.13 (s, 2H).

(32): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.25 (dd, J = 8.8, 1.9 Hz, 1H), 7.05 (dd, J = 8.9, 1.9 Hz, 1H), 4.35 (s, 2H).

(44): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.23 (ddd, J = 7.7, 2.8, 2.0 Hz, 1H), 6.85 (ddd, J = 10.9, 8.4, 2.8 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR**

(31): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 149.25 (d, J = 247.8 Hz), 135.73 (d, J = 3.6 Hz), 118.65 (d, J = 22.1 Hz), 108.87 (d, J = 9.4 Hz), 83.64 (d, J = 2.8 Hz).

(32): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 154.29 (d, J = 244.3 Hz), 141.16 (s), 125.00 (d, J = 24.2 Hz), 119.98 (d, J = 25.1 Hz), 106.08 (d, J = 9.8 Hz), 81.31 (d, J = 8.8 Hz).

(44): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 154.58 (dd, J = 242.6, 11.8 Hz), 149.02 (dd, J = 246.0, 12.1 Hz), 132.93 (dd, J = 14.2, 3.8 Hz), 120.44 (dd, J = 24.3, 4.0 Hz), 104.28 (dd, J = 26.3, 23.4 Hz), 82.43 (dd, J = 10.4, 3.6 Hz).

**<sup>19</sup>F NMR**

(31): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -126.75.

(32): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -124.69.

(44): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -123.83, -125.42.

**LRMS (ESI)**

(31): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>BrFIN<sup>+</sup>: 315.86, gefunden: 337.78.

(32): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>BrFIN<sup>+</sup>: 315.86, gefunden: 337.83.

(44): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>F<sub>2</sub>IN<sup>+</sup>: 255.94, gefunden: 256.03.

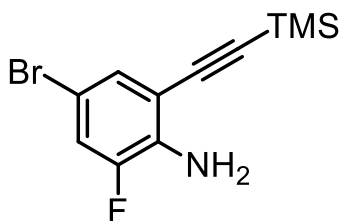
**HRMS (EI)**

(31): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>BrFIN<sup>+</sup>: 314.85503, gefunden: 314.85471.

(32): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>BrFIN<sup>+</sup>: 314.85503, gefunden: 314.85462.

(44): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>F<sub>2</sub>IN<sup>+</sup>: 254.93510, gefunden: 254.93483.

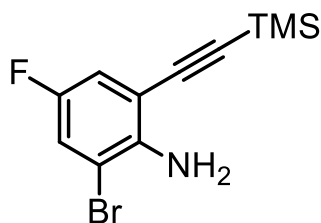
**5.2.2. 4-Brom-2-fluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (33), 2-Brom-4-fluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (34) und 2,4-Difluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (45)<sup>[86]</sup>**



**33**

**GP2** mit 4-Brom-2-fluor-6-iodanilin (1,58 g, 5 mmol, 1 Äq), trockenem DMF (1,5 mL), NEt<sub>3</sub> (1,5 mL, 1,1 g, 15 mmol, 3 Äq), CuI (0,1 g, 0,5 mmol, 0,1 Äq), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,35 g, 0,5 mmol, 0,1 Äq) und Trimethylsilylacetylen (1 g, 1,44 mL, 10 mmol, 2 Äq). Das Produkt wurde als orangefarbene Flüssigkeit erhalten.

Die Reinheit betrug ca. 85%. Das Produkt enthielt entsprechend der analytischen Daten das Nebenprodukt 2-Fluor-4,6-bis[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin. Dieses Nebenprodukt hatte keinen negativen Einfluss auf den folgenden Schritt (1,07 g, 3,7 mmol, 74%, korrigierte Ausbeute).

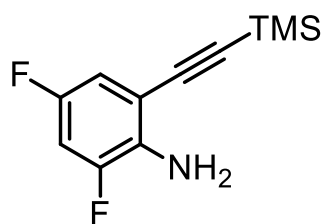


**34**

**GP2** mit 2-Brom-4-fluor-6-iodanilin (9,4 g, 30 mmol, 1 Äq), trockenem DMF (10 mL), NEt<sub>3</sub> (9,13 g, 12,5 mL, 3 Äq), CuI (0,57 g, 3 mmol, 0,1 Äq), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2,1 g, 3 mmol, 0,1 Äq) und Trimethylsilylacetylen (5,9 g, 8,5 mL, 60 mmol, 2 Äq). Das Produkt wurde als orangefarbene Flüssigkeit erhalten.

Die Reinheit betrug ca. 70%. Das Produkt enthielt entsprechend der analytischen Daten das Nebenprodukt 4-Fluor-2,6-bis[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin. Dieses Nebenprodukt hatte keinen negativen Einfluss auf den folgenden Schritt. (5,25 g, 18,2 mmol, 64%, korrigierte Ausbeute).





**45**

**GP2** mit 2,4-Difluor-6-iodanilin (6,5 g, 25,5 mmol, 1 Äq), trockenem DMF (7,7 mL), NEt<sub>3</sub> (7,9 g, 10,8 mL, 3 Äq), CuI (0,51 g, 2,55 mmol, 0,1 Äq), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,8 g, 2,55 mmol, 0,1 Äq) und Trimethylsilylacetylen (5 g, 7,3 mL, 60 mmol, 2 Äq). Das Produkt wurde als orangefarbene Flüssigkeit erhalten (4,9 g, 21,7 mmol, 86%).

**Ausbeute** 74% (**33**), 64% (**34**), 86% (**45**).

**R<sub>f</sub>** 0,7 (**33**), 0,57 (**34**), 0,75 (**45**) (silica gel, Hexan/EtOAc: 20:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (**33**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.24 (dd, J = 2.2, 1.4 Hz, 1H), 7.12 (dd, J = 10.3, 2.1 Hz, 1H), 4.28 (s, 3H), 0.29 (s, 9H).

(**34**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.30 – 7.15 (m, 1H), 7.06 – 6.96 (m, 1H), 4.61 (s, 2H), 0.29 (d, J = 2.9 Hz, 10H).

(**45**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 6.92 – 6.70 (m, 2H), 4.01 (s, 2H), 0.30 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (**33**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 136.28 (d, J = 13.4 Hz), 130.18 – 129.57 (m), 119.03 (d, J = 21.7 Hz), 111.03 (d, J = 5.8 Hz), 107.18 (d, J = 9.9 Hz), 102.41 (s), 98.81 (d, J = 4.4 Hz), –0.04 (s).

(**34**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 153.77 (d, J = 258.6 Hz), 146.70 (s), 142.72 (s), 120.51 (d, J = 25.5 Hz), 119.11 (d, J = 23.9 Hz), 117.57 (d, J = 23.3 Hz), 107.91 (s), 101.66 (d, J = 56.1 Hz), 100.10 (d, J = 13.9 Hz), –0.02 (s).

(**45**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 153.62 (dd, J = 237.8, 12.3 Hz), 150.45 (dd, J = 241.7, 12.6 Hz), 133.64 (d, J = 16.5 Hz), 113.34 (dd, J = 23.4, 3.8 Hz), 109.59 (dd, J = 11.0, 6.5 Hz), 104.91 (dd, J = 26.9, 22.7 Hz), 102.17 (s), 99.30 (d, J = 8.1 Hz), –0.05 (s).

**<sup>19</sup>F NMR** (**33**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –132.03, –134.56.

(**34**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –126.18, –127.54.

(**45**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –125.03, –130.29.

**LRMS (ESI) (33):**  $m/z$   $[M+H_3O]^+$  berechnet für  $C_{11}H_{16}BrFNOSi^+$ : 304.02, gefunden: 304.17.

**(34):**  $m/z$   $[M+H_3O]^+$  berechnet für  $C_{11}H_{16}BrFNOSi^+$ : 304.02, gefunden: 304.17.

**(45):**  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{11}H_{14}F_2NSi^+$ : 226.09, gefunden: 226.18.

**HRMS (EI) (33):**  $m/z$   $[M]^+$  berechnet für  $C_{11}H_{13}BrFNSi^+$ : 284.99792, gefunden: 284.99786.

Nebenprodukt:

$m/z$   $[M]^+$  berechnet für  $C_{16}H_{22}FNSi_2^+$ : 303.12748, gefunden: 303.12680.

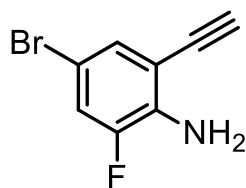
**(34):**  $m/z$   $[M]^+$  berechnet für  $C_{11}H_{13}BrFNSi^+$ : 284.99792, gefunden: 284.99789.

Nebenprodukt:

$m/z$   $[M]^+$  berechnet für  $C_{16}H_{22}FNSi_2^+$ : 303.12748, gefunden: 303.12671.

**(45):**  $m/z$   $[M]^+$  berechnet für  $C_{11}H_{13}F_2NSi^+$ : 225.07789, gefunden: 225.07794.

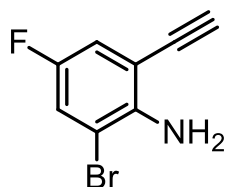
### 5.2.3. 4-Brom-2-ethinyl-6-fluoranilin (35), 2-Brom-6-ethinyl-4-fluoranilin (36) und 2-Ethinyl-4,6-fluoranilin (46)<sup>[87, 93]</sup>



**35**

**GP3** mit 4-Brom-2-fluor-6-[(trimethylsilyl)ethinyl]anilin (0,6 g, 85% Reinheit, 1,7 mmol, 1 Äq), trockenem MeOH (9 mL) und  $K_2CO_3$  ( $K_2CO_3$  (0,24 g, 1,7 mmol, 1 Äq)). Das Produkt wurde als gelbe Kristalle erhalten.

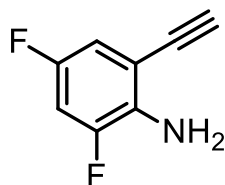
Die Reinheit beträgt ca. 76%. Das Produkt enthielt entsprechend der analytischen Daten das Nebenprodukt 2,4-Diethinyl-6-fluorodanilin. Dieses Nebenprodukt hatte keinen negativen Einfluss auf den folgenden Zyklisierungsschritt (0.27 g, 1.26 mmol, 74%, korrigierte Ausbeute).



**36**

**GP3** mit 2-Brom-4-fluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (7,4 g, 70% Reinheit, 18,1 mmol, 1 Äq), trockenem MeOH (80 mL) und  $K_2CO_3$  (3,57 g, 25,8 mmol, 1 Äq). Das Produkt wurde als gelbe Kristalle erhalten.

Die Reinheit beträgt ca. 60%. Das Produkt enthielt entsprechend der analytischen Daten das Nebenprodukt 2,6-Diethynyl-4-fluoriodanilin. Dieses Nebenprodukt hatte keinen negativen Einfluss auf den folgenden Zyklisierungsschritt (2,52 g, 11,82 mmol, 65%, korrigierte Ausbeute).



**46**

**GP3** mit 2,4-Difluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (4,7 g, 20,9 mmol, 1 Äq), trockenem MeOH (100 mL) und  $K_2CO_3$  (4,26 g, 30,8 mmol, 1,5 Äq). Das Produkt wurde als orange Kristalle erhalten (2,6 g, 17 mmol, 81%).

**Ausbeute** 74% (**35**), 65% (**36**), 81% (**46**).

**R<sub>f</sub>** 0,36 (**35**), 0,31 (**36**), 0,28 (**46**) (silica gel, Hexan/EtOAc: 10:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (**35**): (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 7.26 (dd,  $J = 2.2, 1.4$  Hz, 1H), 7.16 (dd,  $J = 10.3, 2.1$  Hz, 1H), 4.32 (s, 2H), 3.48 (s, 1H).

(**36**): (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 7.33 – 7.19 (m, 0H), 7.07 (dd,  $J = 8.5, 4.9$  Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 3.47 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H).

(**46**): (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 6.94 – 6.74 (m, 2H), 4.09 (s, 2H), 3.48 (s, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (**35**): (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 150.66 (d,  $J = 243.5$  Hz), 136.71 (d,  $J = 13.5$  Hz), 130.20 (d,  $J = 3.4$  Hz), 119.38 (d,  $J = 21.7$  Hz), 109.71 (s), 107.17 (d,  $J = 10.1$  Hz), 84.17 (d,  $J = 64.8$  Hz), 75.82 (s).

(**36**): (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 156.77 – 151.49 (m), 145.11 (dd,  $J = 413.2, 1.8$  Hz), 120.92 (d,  $J = 25.5$  Hz), 119.97 (d,  $J = 24.0$  Hz), 118.02

(d, J = 23.7 Hz), 108.03 (d, J = 10.7 Hz), 106.95 (d, J = 9.9 Hz), 83.91 (d, J = 24.8 Hz).

**(46):** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 153.60 (dd, J = 238.1, 12.2 Hz), 150.46 (dd, J = 241.9, 12.6 Hz), 134.09 (dd, J = 13.9, 3.2 Hz), 113.71 (dd, J = 23.6, 3.8 Hz), 108.28 (dd, J = 10.9, 6.6 Hz), 105.27 (dd, J = 26.9, 22.6 Hz).

**<sup>19</sup>F NMR** **(35):** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -131.83, -134.18.

**(36):** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -126.06, -127.31.

**(46):** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -124.89, -130.09.

**LRMS (ESI)** **(35):** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>BrFN<sup>+</sup>: 213.97, gefunden: 214.05.

**(36):** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>BrFN<sup>+</sup>: 213.97, gefunden: 214.21.

**(46):** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>F<sub>2</sub>N<sup>+</sup>: 154.05, gefunden: 154.10.

**HRMS (EI)** **(35):** *m/z* [M]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>BrFN<sup>+</sup>: 212.95839, gefunden: 212.95825.

Nebenprodukt:

*m/z* [M]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>FN<sup>+</sup>: 159.04843, gefunden: 159.04764.

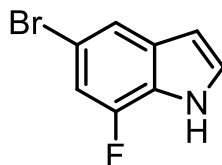
**(36):** *m/z* [M]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>BrFN<sup>+</sup>: 212.95839, gefunden: 212.95836.

Nebenprodukt:

*m/z* [M]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>FN<sup>+</sup>: 159.04843, gefunden: 159.04764.

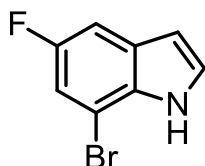
**(46):** *m/z* [M]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>F<sub>2</sub>N<sup>+</sup>: 153.03846, gefunden: 153.03833.

**5.2.4. 5-Brom-7-fluorindol (37)<sup>[88]</sup>, 7-Brom-5-fluorindol (38)<sup>[88]</sup>  
und 5,7-Difluorindol (47)<sup>[93]</sup>**



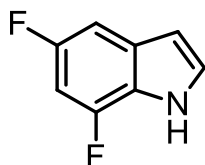
**37**

**GP4** mit 4-Brom-2-ethinyl-6-fluoranilin (0,33 g, Reinheit 76%, 1,17 mmol, 1 Äq), trockenem DMF (3 mL) und CuI (0,023 g, 0,11 mmol, 0,1 Äq). Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten (0,24 g, 1,1 mmol, 94%).



**38**

**GP4** mit 2-Brom-6-ethinyl-4-fluoranilin (4,12 g, Reinheit 60%, 11,6 mmol, 1 Äq), trockenem DMF (50 mL) und CuI (0,37 g, 1,93 mmol, 0,1 Äq). Das Produkt wurde als gelbes Öl erhalten (1,94 g, 9,1 mmol, 78%).



**47**

**GP4** mit 2-Ethinyl-4,6-fluoranilin (2,5 g, 16,3 mmol, 1 Äq), trockenem DMF (40 mL) und CuI (0,31 g, 1,63 mmol, 0,1 Äq). Das Produkt wurde als gelbes Öl erhalten (2,27 g, 14,8 mmol, 95%).

**Ausbeute** 94% (**37**), 78% (**38**), 95% (**47**).

**R<sub>f</sub>** 0,27 (**37**), 0,3 (**38**), 0,28 (**47**) (silica gel, Hexan/EtOAc: 10:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (**37**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.39 (s, 1H), 7.59 (dd, J = 1.6, 0.7 Hz, 1H), 7.28 – 7.24 (m, 1H), 7.09 (dd, J = 10.3, 1.6 Hz, 1H), 6.56 (td, J = 3.3, 2.1 Hz, 1H).

(**38**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.32 (s, 1H), 7.36 – 7.25 (m, 2H), 7.20 (ddd, J = 8.8, 2.3, 0.5 Hz, 1H), 6.63 (dd, J = 3.2, 2.2 Hz, 1H), 2.21 (s, 0H).

(**47**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.36 (s, 1H), 7.35 – 7.23 (m, 1H), 7.13 (ddt, J = 9.0, 2.1, 0.6 Hz, 1H), 6.85 – 6.71 (m, 1H), 6.59 (td, J = 3.3, 2.1 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (**37**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 149.02 (d, J = 248.3 Hz), 132.41 (d, J = 5.8 Hz), 125.89 (s), 123.17 (d, J = 13.1 Hz), 119.22 (d, J = 3.6 Hz), 111.64 (d, J = 8.0 Hz), 110.58 (d, J = 19.6 Hz), 103.07 (d, J = 2.2 Hz).

(**38**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 157.39 (d, J = 238.2 Hz), 131.54 (s), 128.41 (d, J = 10.7 Hz), 126.44, 119.00 (d, J = 28.7 Hz), 113.20 (d, J = 29.2 Hz), 105.03 (d, J = 23.3 Hz), 104.14 (d, J = 4.9 Hz), 103.97 (d, J = 12.3 Hz).

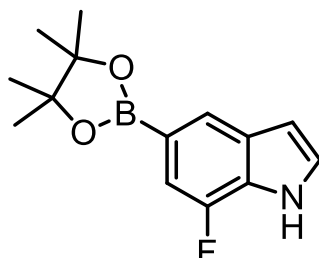
(**47**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 157.00 (dd, J = 236.4, 9.9 Hz), 148.62 (dd, J = 246.2, 14.5 Hz), 126.30, 103.63 (dd, J = 5.0, 2.5 Hz), 101.29 (dd, J = 23.4, 4.2 Hz), 97.20 (dd, J = 30.4, 20.4 Hz).

**<sup>19</sup>F NMR** (**37**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –132.66.

(**38**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –122.91.

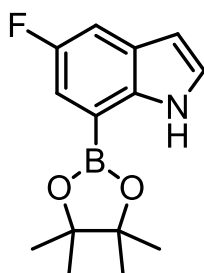
(**47**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –122.11, –131.94.

**5.2.5. 7-Fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol (39), 5-Fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol (40) und 5-Fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol (56)<sup>[89, 94]</sup>**



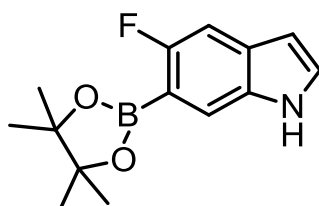
**39**

**GP5** mit 5-Brom-7-fluorindole (3,1 g, 14,5 mmol, 1 Äq), Bis(pinacolato)diboron (4,4 g, 17,4 mmol, 1,2 Äq), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0,76 g, 1 mmol, 0,07 Äq) und KOAc (3,05 g, 30,5 mmol, 2,1 Äq) in DMF (50 mL). Das Produkt wurde als grau-weißer Feststoff erhalten (2,73 g, 10,5 mmol, 72%).



**40**

**GP5** mit 7-Brom-5-fluorindol (1,1 g, 5,1 mmol, 1 Äq), Bis(pinacolato)diboron (1,55 g, 6,12 mmol, 1,2 Äq), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0,26 g, 0,357 mmol, 0,07 Äq) und KOAc (1 g, 10,7 mmol, 2,1 Äq) in DMF (50 mL). Das Produkt wurde als roter Feststoff erhalten (1 g, 3,8 mmol, 74%).



**56**

**GP5** mit 6-Brom-5-fluorindol (2,5 g, 11,7 mmol, 1 Äq), Bis(pinacolato)diboron (3,57 g, 14,04 mmol, 1,2 Äq), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0,6 g, 0,82 mmol, 0,07 Äq) und KOAc (2,4 g,

24,6 mmol, 2,1 Äq) in DMF (50 mL). Das Produkt wurde als roter Feststoff erhalten (1,85 g, 7,1 mmol, 60%).

**Ausbeute** 72% (**39**), 74% (**40**), 60% (**56**).

**R<sub>f</sub>** 0,27 (**39**), 0,34 (**40**), 0,35 (**56**) (silica gel, Hexan/EtOAc: 10:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (**39**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.51 (s, 1H), 7.96 (q, J = 0.9 Hz, 1H), 7.46 – 7.17 (m, 2H), 6.61 (td, J = 3.3, 2.1 Hz, 1H), 1.39 (s, 11H), 1.28 (s, 9H).

(**40**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 9.23 (s, 1H), 7.49 – 7.39 (m, 2H), 7.33 (t, J = 2.8 Hz, 1H), 6.54 (dd, J = 3.2, 2.1 Hz, 1H), 1.43 (d, J = 1.4 Hz, 12H).

(**56**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.32 (s, 1H), 7.81 (dt, J = 4.7, 0.7 Hz, 1H), 7.34 – 7.24 (m, 2H), 6.52 (ddd, J = 3.1, 2.0, 0.9 Hz, 1H), 1.41 (s, 12H).

**<sup>13</sup>C NMR** (**39**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 149.35 (d, J = 244.1 Hz), 131.52 (d, J = 5.1 Hz), 126.34 (d, J = 13.6 Hz), 125.91 – 123.67 (m), 111.79 (d, J = 14.2 Hz), 103.85 (d, J = 2.1 Hz), 83.63 (d, J = 18.0 Hz), 24.96 (d, J = 13.6 Hz). Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

(**40**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 157.70 (d, J = 234.5 Hz), 137.63 (s), 127.52 (d, J = 9.7 Hz), 125.83 (s), 116.43 (d, J = 24.2 Hz), 109.14 (d, J = 23.6 Hz), 102.01 (d, J = 4.5 Hz), 84.18 (s), 25.01 (s).

Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

(**56**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 161.95 (d, J = 238.9 Hz), 132.41 (s), 131.34 (d, J = 11.2 Hz), 127.54 (s), 118.91 (d, J = 9.9 Hz), 105.28 (d, J = 26.7 Hz), 102.76 (d, J = 4.9 Hz), 83.68 (s), 24.87 (s).

Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

**<sup>19</sup>F NMR** (**39**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –136.53.

(**40**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –125.96.

(**56**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –115.88.

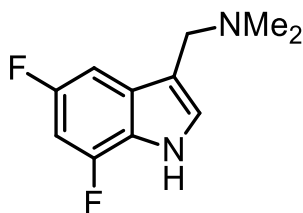
**LRMS (ESI)** (**39**): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>BFNO<sub>2</sub><sup>+</sup>: 262.14, gefunden: 262.19.

(**40**): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>BFNO<sub>2</sub><sup>+</sup>: 262.14, gefunden: 262.17.



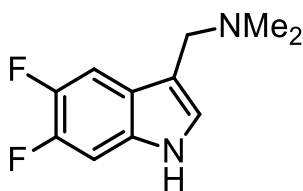
(56):  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{14}H_{18}BFNO_2^+$ : 262.14, gefunden: 262.26.

### 5.2.6. 1-(5,7-Difluor-1H-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamin (48) und 1-(5,6-Difluor-1H-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamin (59)



48

**GP6** mit 5,7-Difluorindol (2,18 g, 14,24 mmol, 1 Äq), AcOH (15 mL), Formaldehyd-Lsg. (1,48 g, 1,36 mL) und Dimethylamin-Lsg. (2,82 g, 3,17 mL). Das Produkt wurde als rotes Öl erhalten und ohne Reinigung weiterverwendet (2,84 g, 13,5 mmol, 95%).



59

**GP6** mit 5,6-Difluorindol (2,18 g, 14,24 mmol, 1 Äq), AcOH (15 mL), Formaldehyd-Lsg. (1,48 g, 1,36 mL) und Dimethylamin-Lsg. (2,82 g, 3,17 mL). Das Produkt wurde als rotes Öl erhalten und ohne Reinigung weiterverwendet (2,82 g, 13,4 mmol, 94%).

**Ausbeute** 95% (48), 94% (59).

**$^1H$  NMR** (48): (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 7.35 (s, 1H), 7.21 (ddd,  $J = 9.5, 5.3, 2.3$  Hz, 1H), 6.92 (ddd,  $J = 11.7, 9.7, 2.3$  Hz, 1H), 3.49 (s, 2H), 2.13 (s, 6H).

(59): (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 7.55 – 7.46 (m, 1H), 7.40 – 7.29 (m, 1H), 7.28 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H), 3.53 – 3.39 (m, 2H), 2.13 (s, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (48): (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 155.92 (dd,  $J = 233.7, 10.0$  Hz), 148.62 (dd,  $J = 245.9, 14.8$  Hz), 131.20 – 130.17 (m), 127.75 (s), 121.35

(d,  $J = 13.0$  Hz), 114.14 – 113.30 (m), 100.51 (dd,  $J = 23.0, 3.9$  Hz), 96.49 (dd,  $J = 30.4, 20.9$  Hz), 54.48 (s), 45.24 (s).

**(59):** (101 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm: 147.31 (dd,  $J = 165.8, 15.4$  Hz), 146.08 – 143.99 (m), 131.73 (d,  $J = 10.5$  Hz), 126.62 (s), 123.37 (s), 112.73 (s), 106.00 (d,  $J = 18.7$  Hz), 99.61 (d,  $J = 21.1$  Hz), 54.69 (s), 45.28 (s).

**$^{19}\text{F}$  NMR** **(48):** (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: –122.99, –130.21.

**(59):** (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: –145.92, –145.98, –146.32, –149.38.

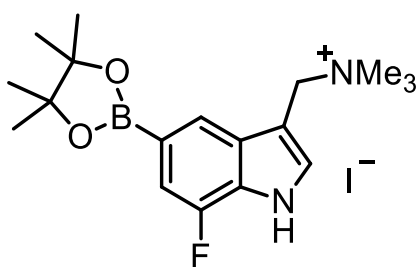
**LRMS (ESI)** **(48):**  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{N}_2^+$ : 211.10, gefunden: 211.19.

**(59):**  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{N}_2^+$ : 211.10, gefunden: 211.27.

**HRMS (EI)** **(48):**  $m/z$   $[\text{M}-\text{NMe}_2]^+$  berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_6\text{F}_2\text{N}^+$ : 166.04628, gefunden: 166.04608.

**(59):**  $m/z$   $[\text{M}-\text{NMe}_2]^+$  berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_6\text{F}_2\text{N}^+$ : 166.04628, gefunden: 166.04611.

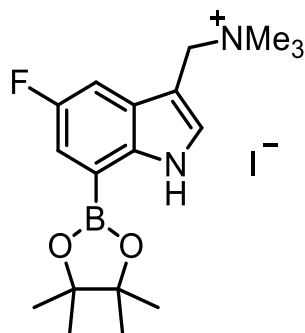
5.2.7. 1-[7-fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl]-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodid (41), 1-[5-fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl]-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodid (42) und 1-[5-fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl]-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodid (57)



41

**GP7 (1. Schritt)** mit 5-BPin-7-fluorindole (2,73 g, 10,5 mmol, 1 Äq), AcOH (25 mL), Formaldehyd-Lsg. (1,09 g, 1 mL) und Dimethylamin-Lsg. (2,07 g, 2,33 mL). Das Zwischenprodukt (2,8 g, 8,7 mmol) wurde als farbloser öliger Feststoff erhalten und ohne Reinigung weiterverwendet.

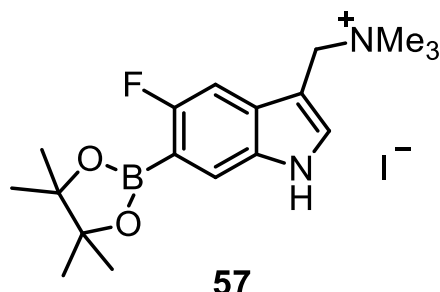
**GP7 (2. Schritt)** mit 1-(7-fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-*N,N*-di-methylmethanamin (2,8 g, 8,7 mmol, 0,83 Äq) in EtOH (110 mL) und Iodmethan (6,2 g, 2,71 mL, 43,5 mmol, 4,15 Äq). Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten (3,04 g, 6,6 mmol, 63%, Ausbeute nach 2 Schritten).



42

**GP7 (1. Schritt)** mit 7-BPin-5-fluorindol (1,7 g, 6,5 mmol, 1 Äq), AcOH (20 mL), Formaldehyd-Lsg. (0,68 g, 0,62 mL) und Dimethylamin-Lsg. (1,28 g, 1,44 mL). Das Zwischenprodukt wurde als rotes Öl erhalten und ohne Reinigung weiterverwendet (1,66 g, 5,23 mmol, 80%).

**GP7 (2. Schritt)** mit 1-(5-fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N-di-methylmethanamin (1,66 g, 5,2 mmol, 0,8 Äq) in EtOH (20 mL) und Iodmethan (3,7 g, 1,62 mL, 26 mmol, 4 Äq). Das Produkt wurde als orangefarbener Feststoff erhalten (1,9 g, 4,1 mmol, 63%, Ausbeute nach 2 Schritten).



**GP7 (1. Schritt)** mit 6-BPin-5-fluorindol (1,7 g, 6,5 mmol, 1 äq), AcOH (25 mL), Formaldehyd-Lsg. (0,68 g, 0,62 mL) und Dimethylamin-Lsg. (1,28 g, 1,44 mL). Das Zwischenprodukt wurde als rotes Öl erhalten und ohne Reinigung weiterverwendet (1,41 g, 4,43 mmol, 68%).

**GP7 (2. Schritt)** mit 1-(5-fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N-di-methylmethanamin (1,4 g, 4,4 mmol, 0,68 Äq) in EtOH (15 mL) und Iodmethan (3,1 g, 1,37 mL, 26 mmol, 3,4 Äq). Das Produkt wurde als orangefarbener Feststoff erhalten (1,45 g, 3,15 mmol, 48%, Ausbeute nach 2 Schritten).

**Ausbeute** 63% (**41**), 63% (**42**), 48% (**57**).

**<sup>1</sup>H NMR** (**41**): (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 8.04 (s, 1H), 7.82 (dd, *J* = 13.1, 2.7 Hz, 1H), 7.20 (dd, *J* = 11.6, 5.1 Hz, 1H), 4.76 (s, 1H), 3.13 (d, *J* = 0.8 Hz, 2H), 3.06 (s, 6H), 3.01 (s, 1H), 1.32 (d, *J* = 4.3 Hz, 12H).

(**42**): (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 7.87 (dd, *J* = 10.0, 2.6 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 9.3, 2.6 Hz, 1H), 4.70 (s, 2H), 3.05 (s, 9H), 1.37 (s, 12H).

(**57**): (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 7.87 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.77 (dd, *J* = 4.9, 2.9 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.66 (s, 2H), 3.04 (s, 8H), 1.31 (s, 12H).

**<sup>13</sup>C NMR** (**41**): (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 149.47 (d, *J* = 245.5 Hz), 132.16, 126.62 (d, *J* = 13.9 Hz), 124.63 – 121.63 (m), 111.77 (d, *J* = 13.7 Hz), 104.11 (s), 84.19 (d, *J* = 3.7 Hz), 69.56 (s), 60.26 (s), 54.89 (d, *J* = 7.9 Hz), 51.71 (d, *J* = 7.8 Hz), 25.21 (s).

Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

(42): (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 157.78 (d, J = 234.3 Hz), 137.00 (s), 133.43 (s), 128.88 (d, J = 9.6 Hz), 116.34 (d, J = 24.1 Hz), 107.99 (d, J = 24.2 Hz), 102.54 (d, J = 4.4 Hz), 84.68 (s), 60.67 (s), 51.68 (s), 25.12 (s).

Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

(57): (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 162.00 (d, J = 238.9 Hz), 134.15 (s), 133.05 (s), 131.84 (d, J = 10.8 Hz), 120.56 (s), 103.95 (d, J = 26.8 Hz), 102.68 (d, J = 4.9 Hz), 83.88 (s), 60.73 (s), 51.63 (s), 25.12 (s).

Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

**<sup>19</sup>F NMR** (41): (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -133.96.

(42): (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -123.93.

(57): (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -113.79.

**LRMS (ESI)** (41): *m/z* [M-I]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 333.21, gefunden: 333.20.

(42): *m/z* [M-I]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 333.21, gefunden: 333.23.

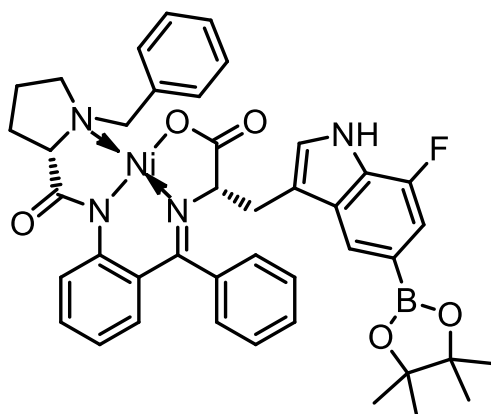
(57): *m/z* [M-I]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 333.21, gefunden: 333.19.

**HRMS (ESI)** (41): *m/z* [M-I]<sup>+</sup> C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 333.21441, gefunden: 333.21480.

(42): *m/z* [M-I]<sup>+</sup> C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 333.21441, gefunden: 333.21480.

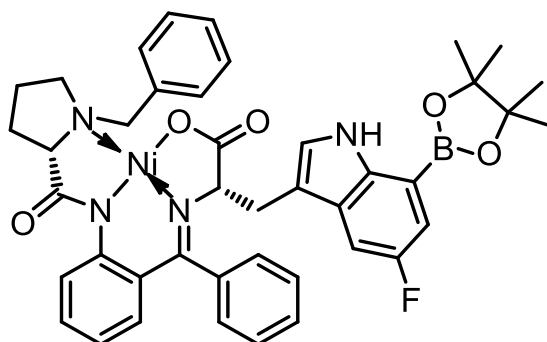
(57): *m/z* [M-I]<sup>+</sup> C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 333.21441, gefunden: 333.21479.

**5.2.8. (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-FTrp (27), (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTrp (28) und (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTrp (54)<sup>[67]</sup>**



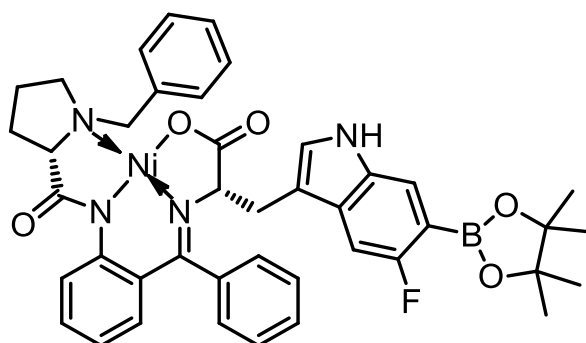
**27**

**GP8** mit 1-(7-fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (2,95 g, 6,4 mmol, 1 Äq), (S)-Ni-BPB-Gly (3,2 g, 6,4 mmol, 1 Äq) und NaOH (0,9 g, 22,4 mmol, 3,5 Äq) in trockenem MeCN (100 mL). Das Produkt wurde als roter Feststoff erhalten (3,2 g, 4,2 mmol, 65%).



**28**

**GP8** mit 1-(7-fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (1,8 g, 3,9 mmol, 1 Äq), (S)-Ni-BPB-Gly (1,95 g, 3,9 mmol, 1 Äq) und NaOH (0,55 g, 13,7 mmol, 3,5 Äq) in trockenem MeCN (65 mL). Das Produkt wurde als roter Feststoff erhalten (2,5 g, 3,3 mmol, 83%).



## 54

**GP8** mit 1-(7-fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (1,2 g, 2,6 mmol, 1 Äq), (S)-Ni-BPB-Gly (1,3 g, 2,6 mmol, 1 Äq) und NaOH (0,37 g, 9,1 mmol, 3,5 Äq) in trockenem MeCN (45 mL). Das Produkt wurde als roter Feststoff erhalten (0,19 g, 0,25 mmol, 10%).

**Ausbeute** 65% (**27**), 83% (**28**), 10% (**54**).

**R<sub>f</sub>** 0,21 (**27**), 0,55 (**28**), 0,20 (**54**) (Kieselgel, 0,1% Ca, Chloroform/Aceton: 6:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (**27**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.20 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.10 – 7.93 (m, 3H), 7.62 (s, 1H), 7.51 (td, J = 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.45 – 7.40 (m, 1H), 7.35 – 7.25 (m, 6H), 7.22 – 7.06 (m, 3H), 6.84 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.74 – 6.62 (m, 2H), 4.40 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 4.28 (d, J = 12.7 Hz, 1H), 3.51 – 3.36 (m, 2H), 3.32 – 3.16 (m, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.91 (d, J = 0.6 Hz, 3H), 2.29 – 2.16 (m, 1H), 1.96 – 1.78 (m, 5H), 1.27 (s, 7H), 1.19 (s, 6H).

(**28**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.26 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.05 – 7.93 (m, 2H), 7.62 – 7.47 (m, 2H), 7.43 – 7.35 (m, 2H), 7.35 – 7.28 (m, 4H), 7.17 (tdd, J = 8.8, 6.4, 2.1 Hz, 5H), 6.89 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 4.1 Hz, 2H), 4.37 – 4.15 (m, 2H), 3.51 – 3.30 (m, 2H), 3.26 (dd, J = 9.9, 7.3 Hz, 1H), 3.01 (dd, J = 14.7, 5.8 Hz, 1H), 2.76 (dd, J = 9.4, 4.9 Hz, 1H), 2.18 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 2.06 – 1.95 (m, 1H), 1.84 (dd, J = 11.4, 7.2 Hz, 3H), 1.41 (s, 12H).

(**54**): (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.88 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 8.26 – 8.14 (m, 1H), 8.08 – 7.98 (m, 2H), 7.75 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.62 – 7.47 (m, 2H), 7.39 – 7.25 (m, 5H), 7.22 – 7.10 (m, 2H), 7.02 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.82 – 6.61 (m, 4H), 4.38 – 4.21 (m, 2H), 3.46 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 3.40 – 3.20

(m, 3H), 3.06 (ddd, J = 10.3, 6.4, 2.9 Hz, 1H), 2.59 – 2.46 (m, 1H), 2.42 – 2.22 (m, 2H), 1.91 (td, J = 10.6, 6.4 Hz, 1H), 1.38 (s, 12H).

**<sup>13</sup>C NMR**

(**27**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 179.84, 179.17, 171.06, 150.59, 148.16, 142.95, 133.90, 133.44, 133.13, 132.12, 131.87 (d, J = 4.8 Hz), 131.53, 129.63, 128.77 (t, J = 4.4 Hz), 128.02, 127.30, 126.51 (d, J = 9.5 Hz), 124.91, 123.68, 122.92 (d, J = 2.5 Hz), 120.42, 112.04 (d, J = 14.1 Hz), 111.56, 83.52, 70.85 (d, J = 113.5 Hz), 63.05, 56.93, 30.54 (d, J = 40.8 Hz), 24.87, 22.96.

Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

(**28**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 179.85 (d, J = 88.2 Hz), 170.78, 157.87 (d, J = 236.4 Hz), 142.81, 138.09, 134.15, 133.53, 133.18, 132.34, 131.55, 129.80, 129.09, 128.94 – 128.53 (m), 128.05 (d, J = 9.2 Hz), 127.89, 127.31, 126.19, 125.64, 123.35, 120.60, 117.46 – 116.62 (m), 109.55 (d, J = 4.6 Hz), 108.47 (d, J = 24.0 Hz), 84.24, 70.63 (d, J = 60.4 Hz), 63.28, 57.04, 30.45 (d, J = 44.8 Hz), 24.94 (d, J = 20.4 Hz), 22.81.

Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

(**54**): (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 180.39 (s), 179.14 (s), 170.73 (s), 163.18 (s), 160.79 (s), 142.57 (s), 133.81 (s), 133.49 (s), 133.28 (s), 132.84 (s), 132.30 (s), 131.54 (s), 131.29 (d, J = 10.6 Hz), 129.95 (s), 128.97 (d, J = 26.7 Hz), 127.89 (s), 127.45 (d, J = 8.1 Hz), 126.34 (s), 123.56 (s), 120.71 (s), 119.13 (d, J = 9.8 Hz), 109.85 (s), 103.82 (d, J = 27.0 Hz), 83.59 (s), 70.64 (d, J = 41.3 Hz), 63.23 (s), 57.14 (s), 31.11 (d, J = 69.6 Hz), 24.86 (d, J = 6.3 Hz), 23.17 (s).

Das an Bor gebundene Kohlenstoffatom wurde nicht beobachtet.

**<sup>19</sup>F NMR**

(**27**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –137.15.

(**28**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –124.50.

(**54**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –115.03.

**LRMS (ESI)**

(**27**): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>BFN<sub>4</sub>NiO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 771.27, gefunden: 771.35.

(**28**): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>BFN<sub>4</sub>NiO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 771.27, gefunden: 771.07.

(**54**): *m/z* [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>BFN<sub>4</sub>NiO<sub>5</sub><sup>+</sup>: 771.27, gefunden: 771.10.



**HRMS (ESI) (27):**  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{42}H_{43}BFN_4NiO_5^+$ : 771.26585, gefunden: 771.26690.

$m/z$   $[M+Na]^+$  berechnet für  $C_{42}H_{42}BFNaN_4NiO_5^+$ : 793.24780, gefunden: 793.24835.

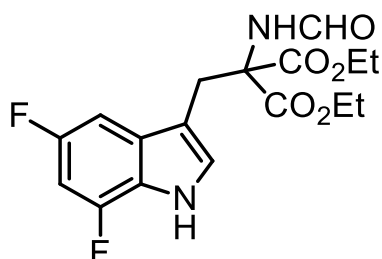
**(28):**  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{42}H_{43}BFN_4NiO_5^+$ : 771.26585, gefunden: 771.26689.

$m/z$   $[M+Na]^+$  berechnet für  $C_{42}H_{42}BFNaN_4NiO_5^+$ : 793.24780, gefunden: 793.24840.

**(54):**  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{42}H_{43}BFN_4NiO_5^+$ : 771.26585, gefunden: 771.26731.

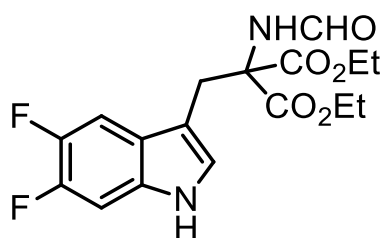
$m/z$   $[M+Na]^+$  berechnet für  $C_{42}H_{42}BFNaN_4NiO_5^+$ : 793.24780, gefunden: 793.24910.

### 5.2.9. Diethyl-2-[(5,7-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (49) und Diethyl-2-[(5,6-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (60)



**49**

**GP9** mit 1-(5,7-Difluor-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamin (2,5 g, 11,9 mmol, 1 Äq), Diethylformamidomalonat (2,67 g, 13,1 mmol, 1,1 Äq) und NaOH (120 mg, 2,98 mmol, 0,25 eq) in trockenem Toluol (100 mL). Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten (2,34 g, 6,4 mmol, 54%).



## 60

**GP9** mit 1-(5,6-Difluor-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamin (2,76 g, 13,1 mmol, 1 Äq), Diethylformamidomalonat (2,93 g, 14,4 mmol, 1,1 Äq) und NaOH (131 mg, 3,28 mmol, 0,25 eq) in trockenem Toluol (110 mL). Das Produkt wurde als roter Feststoff erhalten (2,02 g, 5,5 mmol, 42%).

**Ausbeute** 54% (**49**), 42% (**60**).

**R<sub>f</sub>** 0,43 (**49**), 0,26 (**60**) (Kieselgel, Hexan/EtOAc: 1:1).

**<sup>1</sup>H NMR** (**49**): (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 11.66 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.64 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.17 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.02 – 6.79 (m, 2H), 4.23 – 4.04 (m, 4H), 3.34 (s, 1H), 2.51 (p, *J* = 1.9 Hz, 1H), 1.16 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H).

(**60**): (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 11.17 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.61 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.34 (dd, *J* = 11.2, 7.0 Hz, 1H), 7.18 (dd, *J* = 11.5, 8.0 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.14 (qd, *J* = 7.1, 4.5 Hz, 4H), 3.59 (s, 2H), 1.16 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (**49**): (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 167.41 (s), 161.57 (s), 156.11 (dd, *J* = 233.8 (s), 10.2 Hz), 148.71 (dd, *J* = 246.1, 14.7 Hz), 131.04 (d, *J* = 7.2 Hz), 127.84 (s), 120.92 (d, *J* = 13.2 Hz), 109.23 (d, *J* = 7.5 Hz), 99.58 (d, *J* = 26.9 Hz), 98.26 – 94.31 (m), 66.65 (s), 62.42 (s), 28.44 (s), 14.19 (s).  
(**60**): (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 167.44 (s), 161.54 (s), 147.37 (dd, *J* = 139.7, 15.3 Hz), 145.03 (dd, *J* = 136.9, 15.4 Hz), 131.22 (d, *J* = 10.8 Hz), 126.82 (d, *J* = 3.4 Hz), 123.67 (d, *J* = 7.8 Hz), 108.08 (d, *J* = 4.1 Hz), 105.05 (d, *J* = 18.8 Hz), 99.75 (d, *J* = 21.1 Hz), 66.75 (s), 62.40 (s), 28.46 (s), 14.21 (s).

**<sup>19</sup>F NMR** (**49**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –122.68, –130.16.

(**60**): (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –145.89, –145.49, –149.02, –149.08

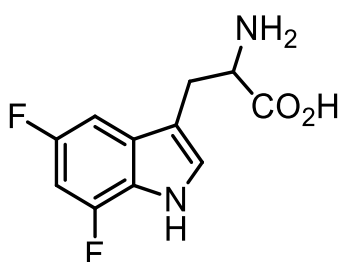
**LRMS (ESI) (49):**  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{17}H_{19}F_2N_2O_5^+$ : 369.13, gefunden: 369.13.

**(60):**  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{17}H_{19}F_2N_2O_5^+$ : 369.13, gefunden: 369.13.

**LRMS (ESI) (49):**  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{17}H_{19}F_2N_2O_5^+$ : 369.12565, gefunden: 369.12595.

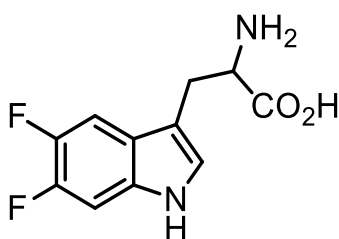
**(60):**  $m/z$   $[M+H]^+$  berechnet für  $C_{17}H_{19}F_2N_2O_5^+$ : 369.12565, gefunden: 369.12592.

### 5.2.10. 5,7-Difluortryptophan (11) und 5,6-Difluortryptophan (12)



**11**

**GP10** mit Diethyl-2-[(5,7-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (0,77 g, 2,1 mmol, 1 Äq), THF (20 mL), 0,75 M NaOH-Lsg. (9,6 mL), AcOH (4,8 mL) und 3 M HCl (9,6 mL). Mit Pyridin auf pH = 6 gebracht. Isoliertes Rohprodukt mit RP-Chromatographie gereinigt (Wasser/Acetonitril: gradient, 0,1% TFA). Das Produkt wurde als beiger Feststoff erhalten (0,125 g, 0,52 mmol, 24%).



**12**

**GP10** mit Diethyl-2-[(5,6-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (1,2 g, 3,26 mmol, 1 Äq), THF (30 mL), 0,75 M NaOH-Lsg. (15 mL), AcOH (7,5 mL) und 3 M HCl (15 mL). Mit Pyridin auf pH = 6 gebracht. Isoliertes Rohprodukt mit RP-Chromatographie gereinigt (Wasser/Acetonitril: gradient, 0,1% TFA). Das Produkt wurde als beiger Feststoff erhalten (0,111 g, 0,46 mmol, 14%).

**Ausbeute** 24% (**11**), 14% (**12**).

**<sup>1</sup>H NMR** (**11**): (400 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: 7.33 (s, 1H), 7.30 (dd, J = 9.5, 2.2 Hz, 1H), 6.76 (ddd, J = 11.5, 9.5, 2.2 Hz, 1H), 3.85 (dd, J = 8.7, 4.3 Hz, 1H), 3.44 (ddd, J = 15.3, 4.3, 0.9 Hz, 1H), 3.19 (dd, J = 15.3, 8.7 Hz, 1H).  
(**12**): (400 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: 7.46 (dd, J = 11.2, 7.8 Hz, 1H), 7.33 – 7.21 (m, 2H), 4.21 (dd, J = 7.4, 5.0 Hz, 1H), 3.43 (ddd, J = 15.3, 5.0, 0.8 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (**11**): (101 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: 174.63, 172.73, 156.66 (dd, J = 235.1, 9.8 Hz), 148.82 (dd, J = 246.0, 14.5 Hz), 130.06 (d, J = 11.2 Hz), 126.64, 110.46 – 108.39 (m), 98.96 (dd, J = 23.7, 4.0 Hz), 96.01 (dd, J = 30.6, 20.8 Hz), 55.00, 26.76, 19.89.  
(**12**): (101 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: 170.52 (s), 149.21 – 147.10 (m), 146.75 – 144.77 (m), 131.93 (d, J = 10.5 Hz), 125.93 (d, J = 3.5 Hz), 122.33 (s), 107.15 (s), 104.38 (d, J = 19.7 Hz), 98.86 (d, J = 21.7 Hz), 53.23 (s), 29.28 (s), 26.07 (s), 22.81 (s).

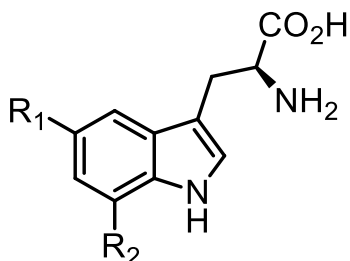
**<sup>19</sup>F NMR** (**11**): (376 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: –124.38, –133.51.  
(**12**): (376 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: –76.95 (TFA), –147.01, –147.06, –150.35, –154.41.

**LRMS (ESI)** (**11**):  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 241.08, gefunden: 241.15.  
(**12**):  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 241.08, gefunden: 241.18.

**HRMS (ESI)** (**11**):  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 241.07831, gefunden: 241.07861.  
 $m/z$  [M+Na]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>F<sub>2</sub>NaN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 263.06026, gefunden: 263.06065.  
(**12**):  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> berechnet für for C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 241.07831, gefunden: 241.07840.  
 $m/z$  [M+Na]<sup>+</sup> berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>F<sub>2</sub>NaN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>: 263.06026, gefunden: 263.06047.

### 5.3. Radiofluorierungen

#### 5.3.1. 5,7-[5-<sup>18</sup>F]- und 5,7-[7-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan ([5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11)



[5-<sup>18</sup>F]11: R<sub>1</sub> = <sup>18</sup>F, R<sub>2</sub> = F

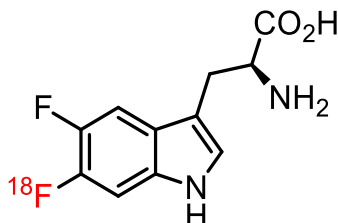
[7-<sup>18</sup>F]11: R<sub>1</sub> = F, R<sub>2</sub> = <sup>18</sup>F

<sup>18</sup>F<sup>-</sup> wurde in [<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>O von einem Zyklotron geliefert und auf einer Sep-Pak Accell Plus QMA Carbonate Plus Light-Kartusche (130 mg, konditioniert mit 1 mL H<sub>2</sub>O) durch Einleitung über die männliche Seite fixiert. Die Kartusche wurde anschließend mit MeOH (2 mL) gespült und mit Luft (10 mL) getrocknet. Das <sup>18</sup>F<sup>-</sup> wurde mit TEAOTf (1,0 mg, 3,5 μmol) in MeOH (0,5 μL) von der Kartusche in ein V-Vial eluiert und das MeOH wurde unter Argon-Strom bei 80 °C innerhalb von 5 min verdampft. (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-FTrp (**27**) oder (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTrp (**28**) (7,7 mg, 10 μmol) und Cu(4-Ph-Py)<sub>4</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (8,8 mg, 10 μmol) in 0,75 mL DMI/*n*BuOH (2:1) wurde unter Luft zum V-Vial hinzugefügt und der Reaktor wurde verschlossen. Die Mischung wurde 10 min bei 110 °C erhitzt und gerührt und anschließend mit 5 mL H<sub>2</sub>O verdünnt und von der weiblichen Seite auf eine Sep-Pak C18 Plus Light-Kartusche (130 mg, konditioniert mit 2 mL MeOH und 5 mL H<sub>2</sub>O) aufgetragen, um das Intermediat vom Lösungsmittel zu trennen. Die Kartusche wurde mit H<sub>2</sub>O (5 mL) gespült und mit 10 mL Luft getrocknet. Das Intermediat wurde mit 1 mL MeOH von der Kartusche in ein V-Vial eluiert und MeOH wurde unter Argon-Strom bei 80 °C innerhalb von 5 min verdampft. 2 M HCl (0,3 mL) wurden zugegeben und der Reaktor wurde verschlossen. Die Mischung wurde 10 min bei 110 °C erhitzt und gerührt. HCl wurde mit 2 M NaOH (0,25 mL) neutralisiert und die Reaktionsmischung wurde in 1 mL mobiler Phase der präparativen HPLC-**Methode A** aufgenommen. Das Produkt wurde mittels HPLC isoliert (**Methode A**) und wurde als sofort verwendbare Lösung erhalten. Analytische HPLC für [5-<sup>18</sup>F]11 und [7-<sup>18</sup>F]11 wurde mit **Methode E** und Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wurde mit **Methode H** durchgeführt.

Die Ergebnisse sind zusammengefasst in **Tabelle 2 (Kapitel 3.2.1.3.)**

Chromatogramme sind in **6.2.** dokumentiert.

### 5.3.2. 5,6-[6-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan ([6-<sup>18</sup>F]12)



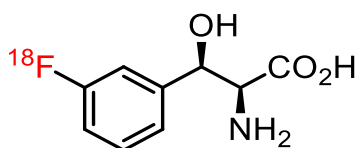
<sup>18</sup>F<sup>-</sup> wurde in [<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>O von einem Zyklotron geliefert und auf einer Sep-Pak Accell Plus QMA Carbonate Plus Light-Kartusche (130 mg, konditioniert mit 1 mL H<sub>2</sub>O) durch Einleitung über die männliche Seite fixiert. Die Kartusche wurde anschließend mit MeOH (2 mL) gespült und mit Luft (10 mL) getrocknet. Das <sup>18</sup>F<sup>-</sup> wurde mit TEAOTf (1,0 mg, 3,5 μmol) in MeOH (0,5 μL) von der Kartusche in ein V-Vial eluiert und das MeOH wurde unter Argon-Strom bei 80 °C innerhalb von 5 min verdampft. (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTrp (**54**) (7,7 mg, 10 μmol) und Cu(3,4-Me<sub>2</sub>-Py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> (7,9 mg, 10 μmol) in 0,75 mL DMI/*n*BuOH (2:1) wurde unter Luft zum V-Vial hinzugefügt und der Reaktor wurde verschlossen. Die Mischung wurde 10 min bei 110 °C erhitzt und gerührt. Die Mischung wurde mit 5 mL H<sub>2</sub>O verdünnt und von der weiblichen Seite auf eine Sep-Pak C18 Plus Light-Kartusche (130 mg, konditioniert mit 2 mL MeOH und 5 mL H<sub>2</sub>O) aufgetragen um das Intermediat vom Lösungsmittel zu trennen. Die Kartusche wurde mit H<sub>2</sub>O (5 mL) gespült und mit 10 mL Luft getrocknet. Das Intermediat wurde mit 1 mL MeOH von der Kartusche in ein V-Vial eluiert und MeOH wurde unter Argon-Strom bei 80 °C innerhalb von 5 min verdampft. 2 M HCl (0,3 mL) wurden zugegeben und der Reaktor wurde verschlossen. Die Mischung wurde 10 min bei 110 °C erhitzt und gerührt. HCl wurde mit 2 M NaOH (0,25 mL) neutralisiert und die Reaktionsmischung wurde in 1 mL mobiler Phase der präparativen HPLC-**Methode D** aufgenommen. Das Produkt wurde mittels HPLC isoliert (**Methode D**) und wurde als sofort verwendbare Lösung erhalten.

Analytische HPLC für [6-<sup>18</sup>F]12 wurde mit **Methode E** und Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wurde mit **Methode H** durchgeführt.

Die Ergebnisse sind zusammengefasst in **Tabelle 6 (Kapitel 3.2.2.3.)**

Chromatogramme sind in **6.2.** dokumentiert.

### 5.3.3. 3-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylserin [<sup>18</sup>F]13



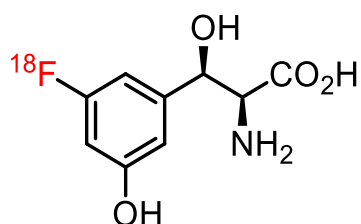
<sup>18</sup>F<sup>-</sup> wurde in [<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>O von einem Zyklotron geliefert und auf einer Sep-Pak Accell Plus QMA Carbonate Plus Light-Kartusche (130 mg, konditioniert mit 1 mL H<sub>2</sub>O) durch Einleitung über die männliche Seite fixiert. Die Kartusche wurde anschließend mit MeOH (2 mL) gespült und mit Luft (10 mL) getrocknet. Das <sup>18</sup>F<sup>-</sup> wurde mit TEAHCO<sub>3</sub> (1,0 mg, 5,2 μmol) in MeOH (0,5 μL) von der Kartusche in ein V-Vial eluiert und das MeOH wurde unter Argon-Strom bei 80 °C innerhalb von 5 min verdampft. *N*-Boc-3-BPin-PhSer-*O*tBu (**66**) (4,7 mg, 10 μmol) und Cu(Py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> (6,8 mg, 10 μmol) in 0,75 mL DMA/*n*BuOH (2:1) wurde unter Luft zum V-Vial hinzugefügt und der Reaktor wurde verschlossen. Die Mischung wurde 15 min bei 110 °C erhitzt und gerührt und die Lösungsmittel wurden anschließend unter Argon-Strom bei 110 °C innerhalb von 10 min verdampft. 2 M HCl (0,3 mL) wurden zugegeben und der verschlossene Reaktor wurde 10 min bei 110 °C erhitzt und gerührt. HCl wurde mit 2 M NaOH (0,25 mL) neutralisiert und die Reaktionsmischung wurde in 1 mL mobiler Phase der präparativen HPLC-**Methode B** aufgenommen. Das Produkt wurde mittels HPLC isoliert (**Methode B**) und wurde als sofort verwendbare Lösung erhalten.

Analytische HPLC für [<sup>18</sup>F]13 wurde mit **Methode F** und Bestimmung des Diastereomerenüberschusses wurde mit **Methode I** durchgeführt.

Die Ergebnisse sind zusammengefasst in **Tabelle 7 (Kapitel 3.2.3.1)**

Chromatogramme sind in **6.2.** dokumentiert.

### 5.3.4. 3-[<sup>18</sup>F]Fluor-5-hydroxyphenylserin [<sup>18</sup>F]14



<sup>18</sup>F<sup>-</sup> wurde in [<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>O von einem Zyklotron geliefert und auf einer Sep-Pak Accell Plus QMA Carbonate Plus Light-Kartusche (130 mg, konditioniert mit 1 mL H<sub>2</sub>O) durch Einleitung über die männliche Seite fixiert. Die Kartusche wurde anschließend mit MeOH (2 mL) gespült und mit Luft (10 mL) getrocknet. Das <sup>18</sup>F<sup>-</sup> wurde mit TEAHCO<sub>3</sub> (1,0 mg, 5,2 μmol) in MeOH (0,5 μL) von der Kartusche in ein V-Vial eluiert und das MeOH wurde unter Argon-Strom bei 80 °C innerhalb von 5 min verdampft. *N*-Boc-3-BPin-5-OMOM-PhSer-O*t*Bu (**67**) (5,3 mg, 10 μmol) und Cu(Py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> (6,8 mg, 10 μmol) in 0,75 mL DMA/*n*BuOH (2:1) wurde unter Luft zum V-Vial hinzugefügt und der Reaktor wurde verschlossen. Die Mischung wurde 15 min bei 110 °C erhitzt und gerührt und die Lösungsmittel wurden anschließend unter Argon-Strom bei 110 °C innerhalb von 10 min verdampft. 2 M HCl (0,3 mL) wurden zugegeben und der verschlossene Reaktor wurde 10 min bei 110 °C erhitzt und gerührt. HCl wurde mit 2 M NaOH (0,25 mL) neutralisiert und die Reaktionsmischung wurde in 1 mL mobiler Phase der präparativen HPLC-**Methode C** aufgenommen. Das Produkt wurde mittels HPLC isoliert (**Methode C**) und wurde als sofort verwendbare Lösung erhalten. Analytische HPLC für [<sup>18</sup>F]14 wurde mit **Methode F** und Bestimmung des Diastereomerenüberschusses wurde mit **Methode J** durchgeführt.

Die Ergebnisse sind zusammengefasst in **Tabelle 7 (Kapitel 3.2.3.1.)**

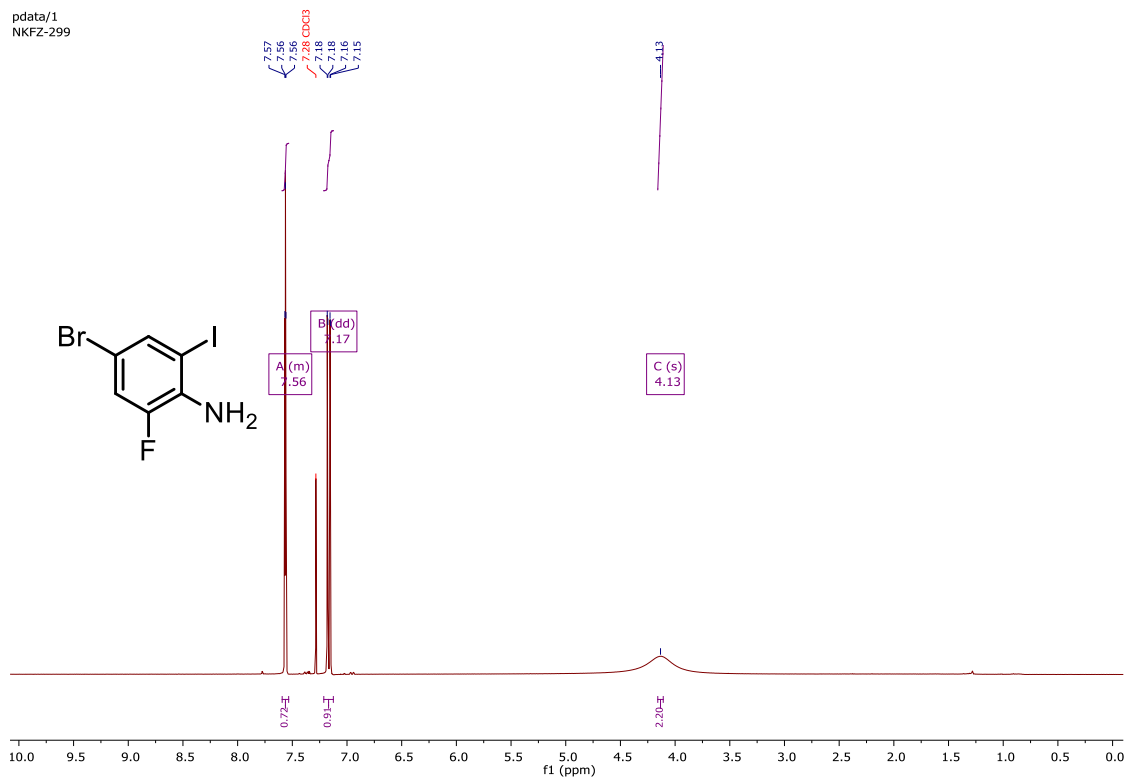
Chromatogramme sind in **6.2.** dokumentiert.



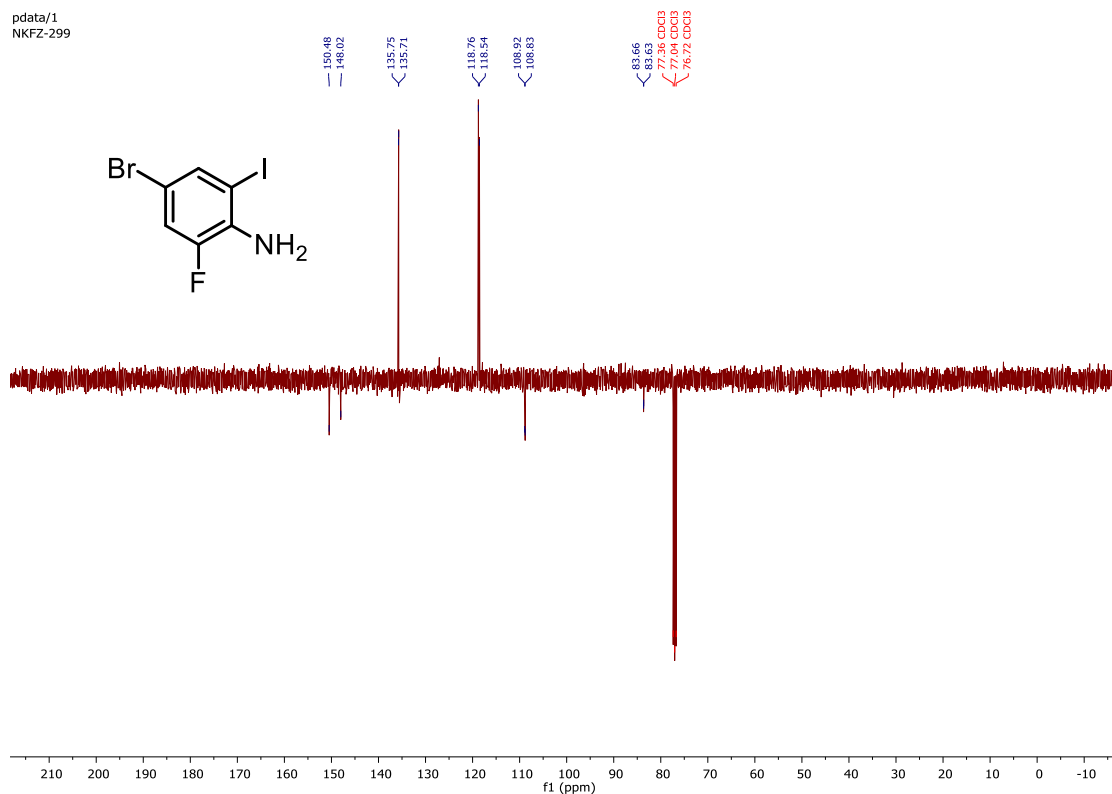
## 6. Analytische Daten

### 6.1. NMRs

#### 6.1.1. $^1\text{H}$ NMR von 4-Brom-2-fluor-6-iodanilin (31)

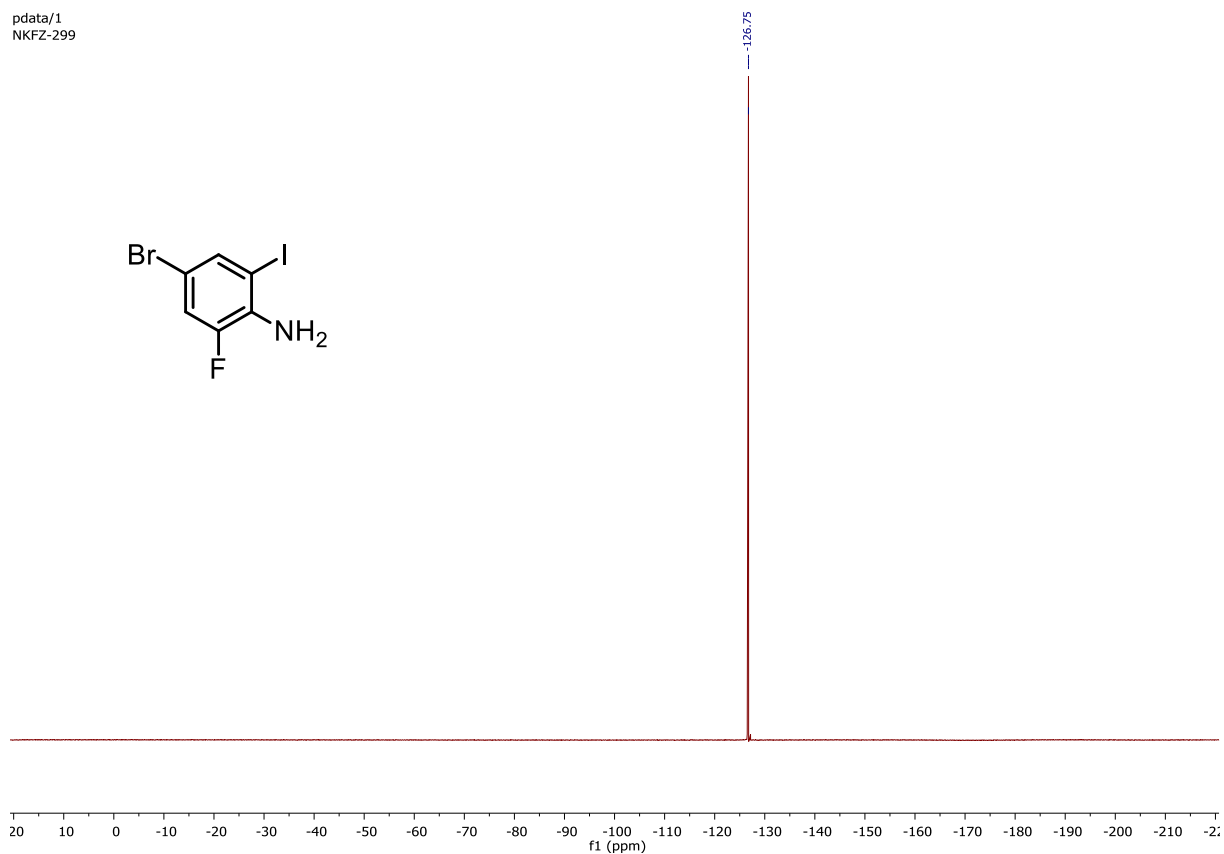
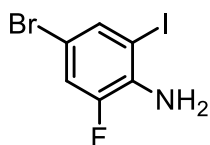


#### 6.1.2. $^{13}\text{C}$ NMR von 4-Brom-2-fluor-6-iodanilin (31)



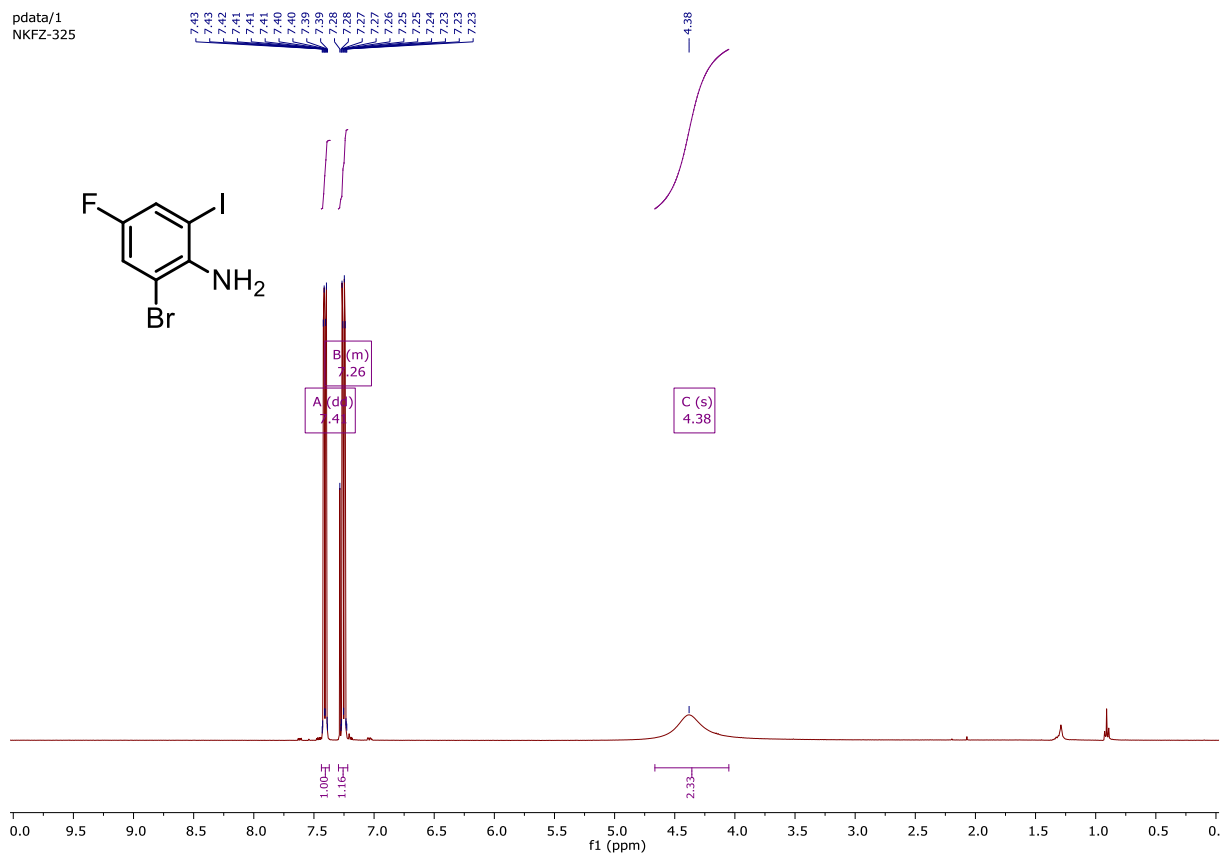
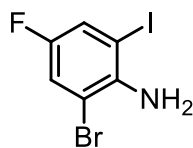
### 6.1.3. $^{19}\text{F}$ NMR von 4-Brom-2-fluor-6-iodanilin (31)

pdata/1  
NKFZ-299



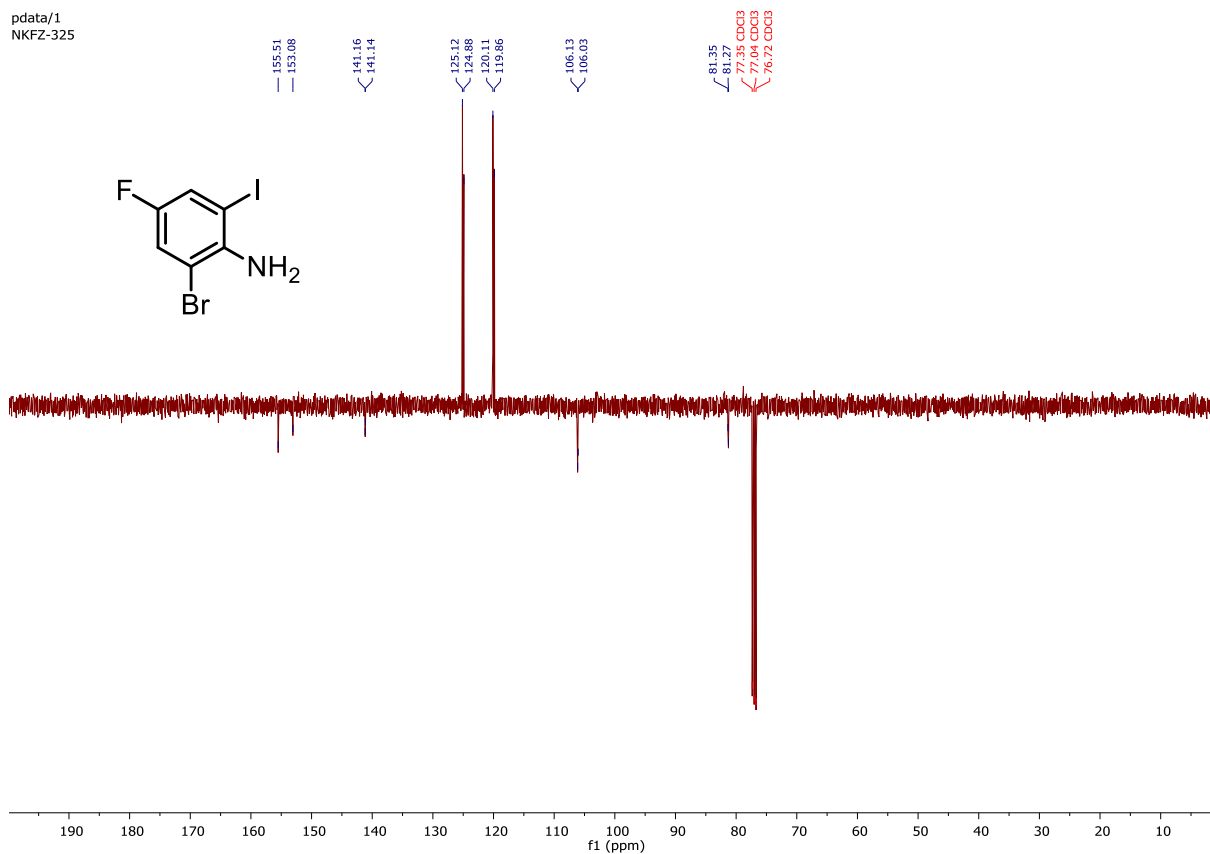
### 6.1.4. $^1\text{H}$ NMR von 2-Brom-4-fluor-6-iodanilin (32)

pdata/1  
NKFZ-325



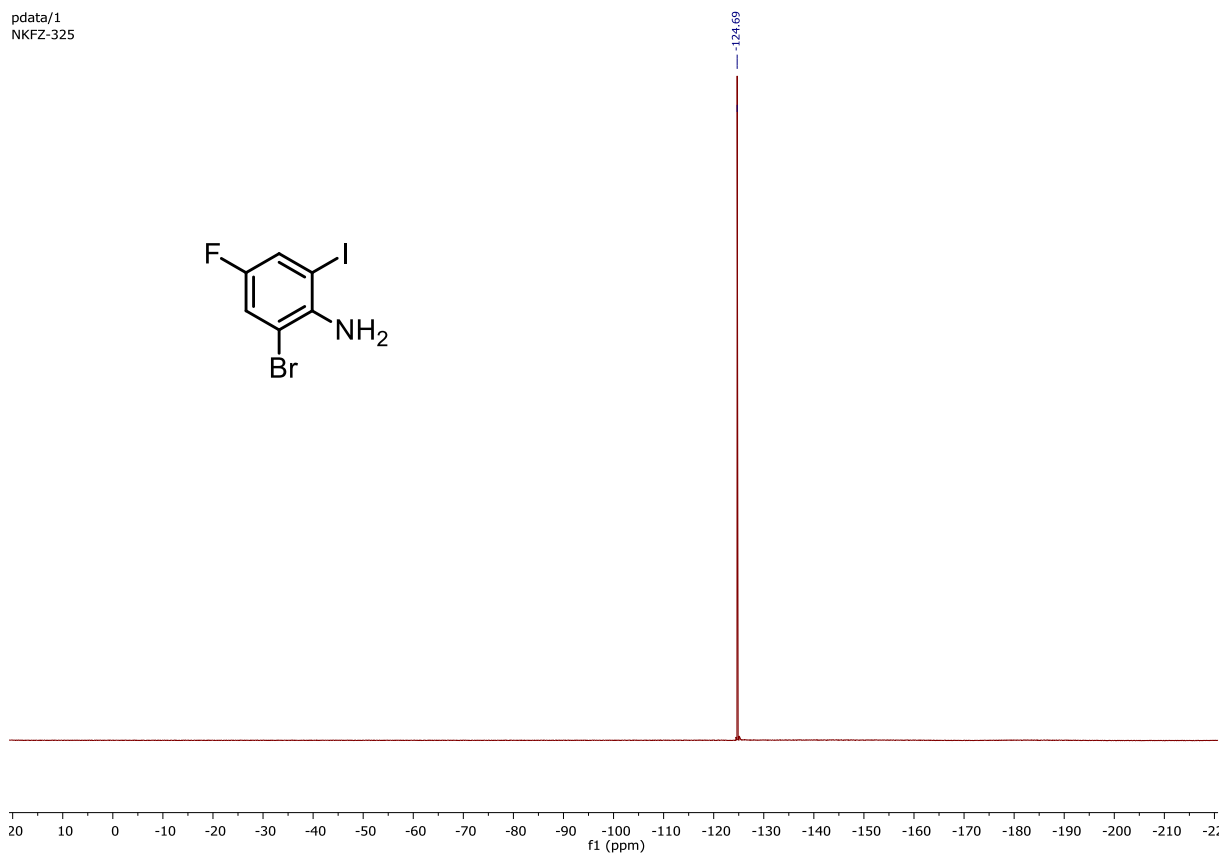
### 6.1.5. $^{13}\text{C}$ NMR von 2-Brom-4-fluor-6-iodanilin (32)

pdata/1  
NKFZ-325



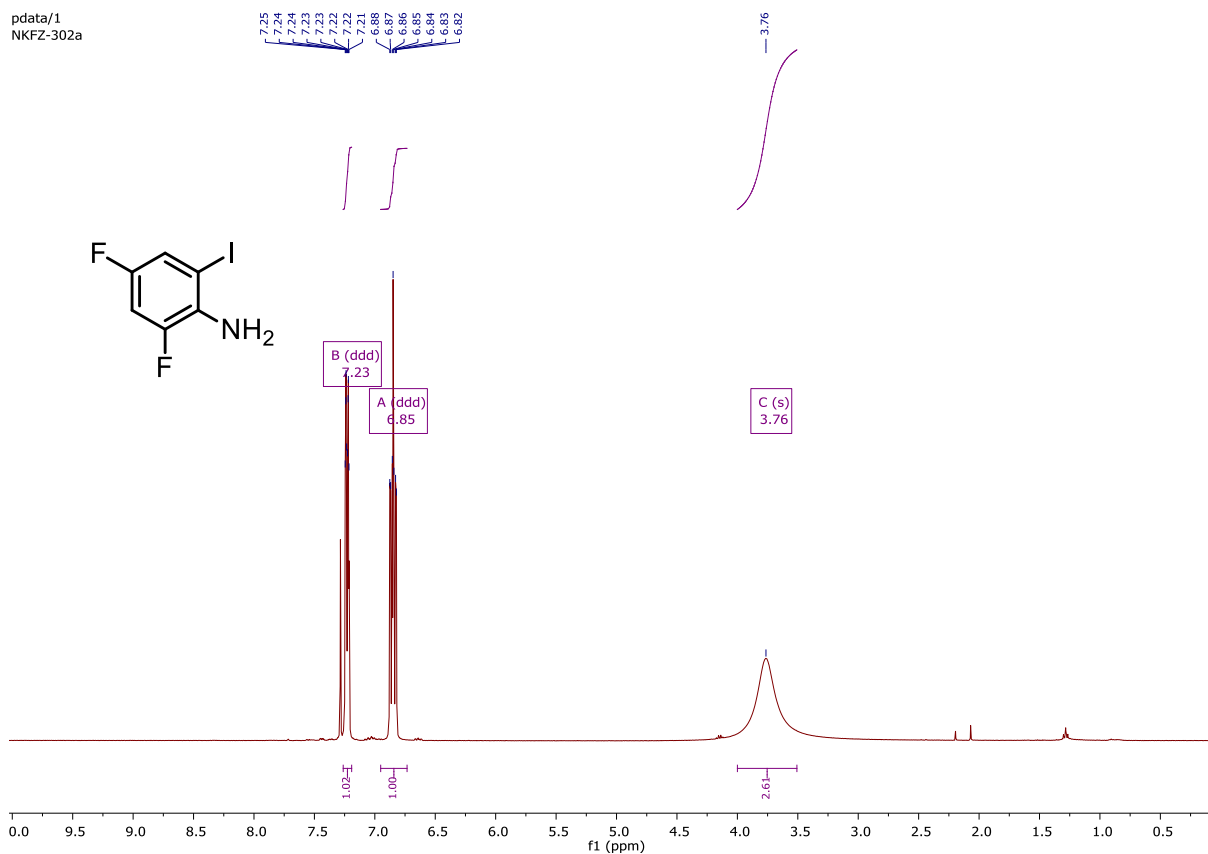
### 6.1.6. $^{19}\text{F}$ NMR von 2-Brom-4-fluor-6-iodanilin (32)

pdata/1  
NKFZ-325



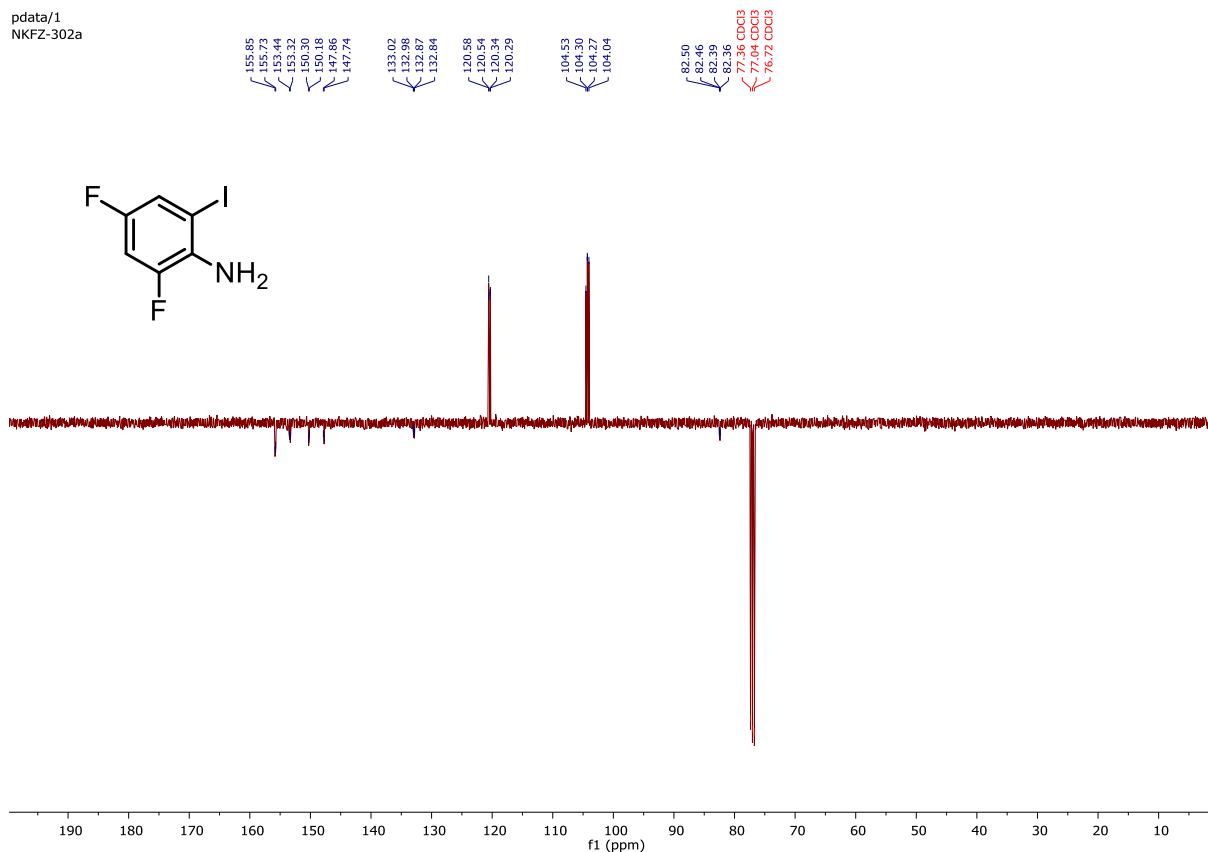
### 6.1.7. $^1\text{H}$ NMR von 2,4-Difluor-6-iodanilin (44)

pdata/1  
NKfZ-302a



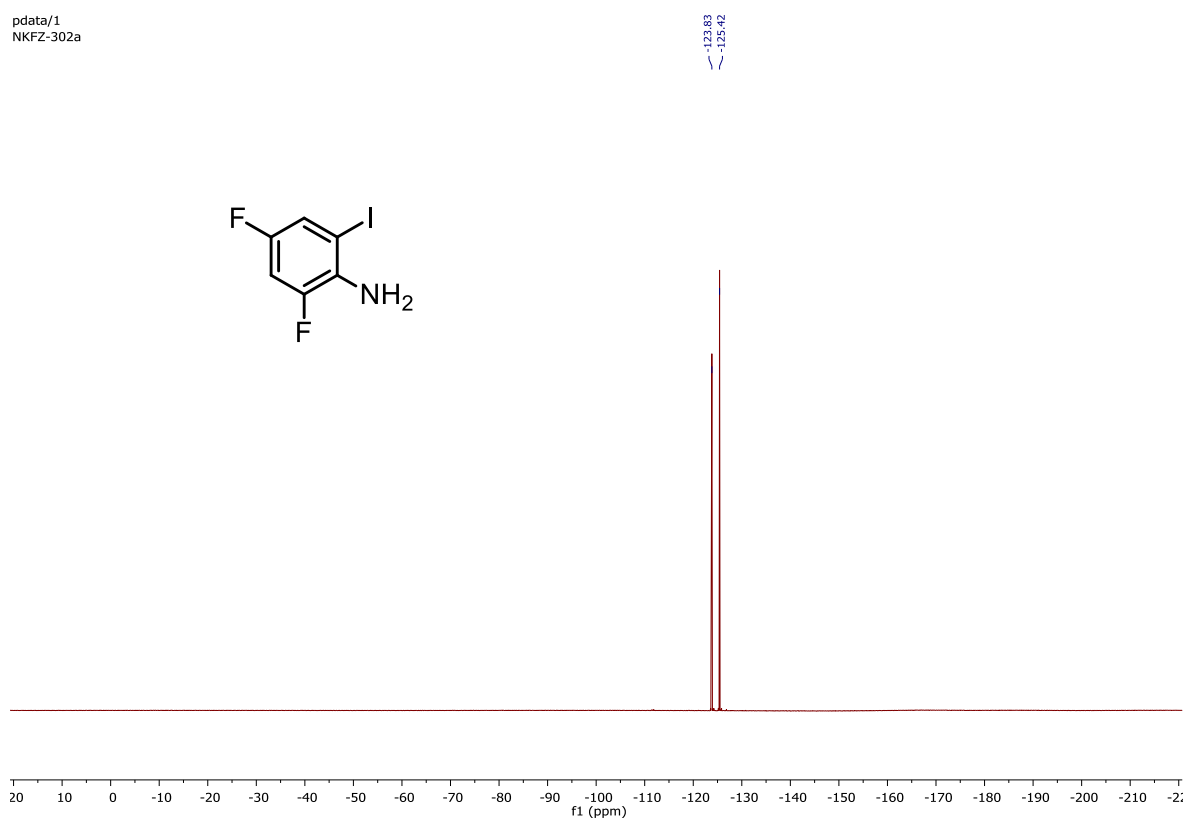
### 6.1.8. $^{13}\text{C}$ NMR von 2,4-Difluor-6-iodanilin (44)

pdata/1  
NKfZ-302a



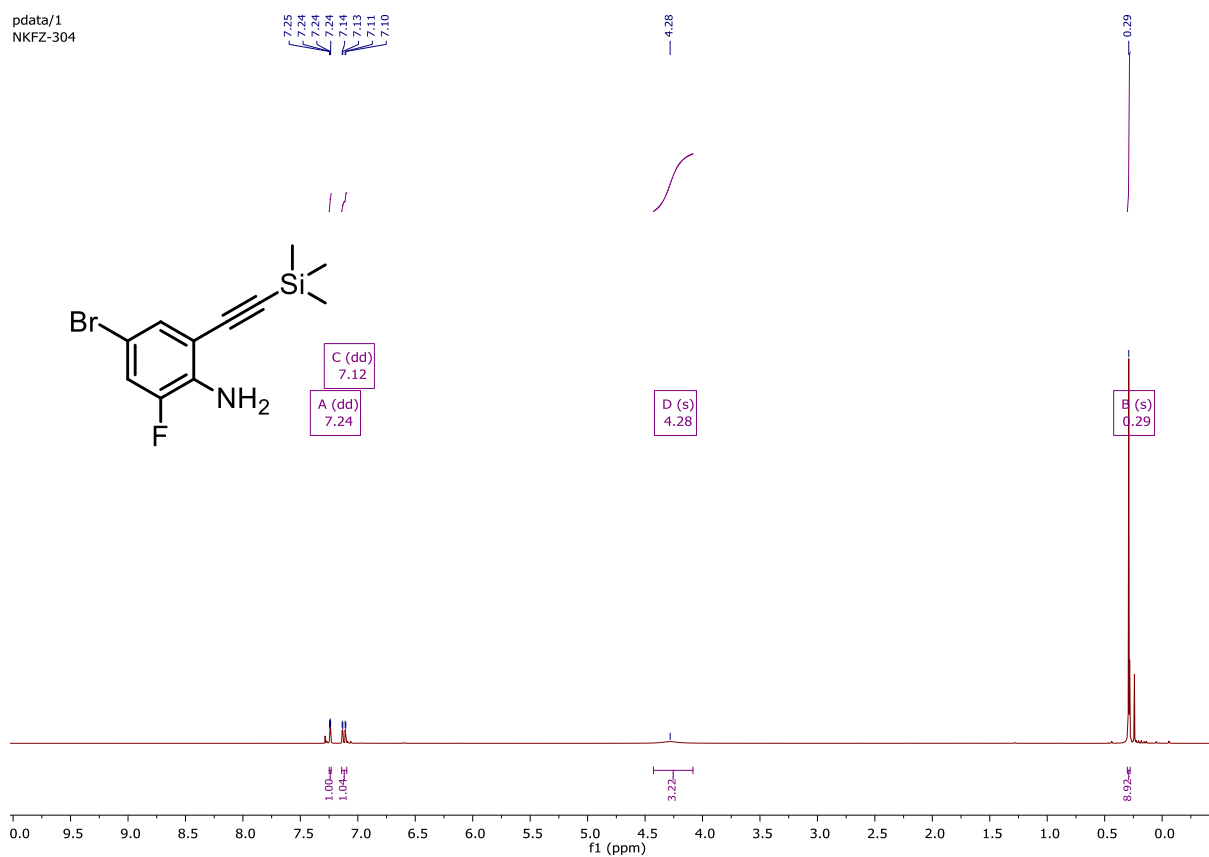
### 6.1.9. $^{19}\text{F}$ NMR von 2,4-Difluor-6-iodanilin (44)

pdata/1  
NKfZ-302a



### 6.1.10. $^1\text{H}$ NMR von 4-Brom-2-fluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (33)

pdata/1  
NKfZ-304

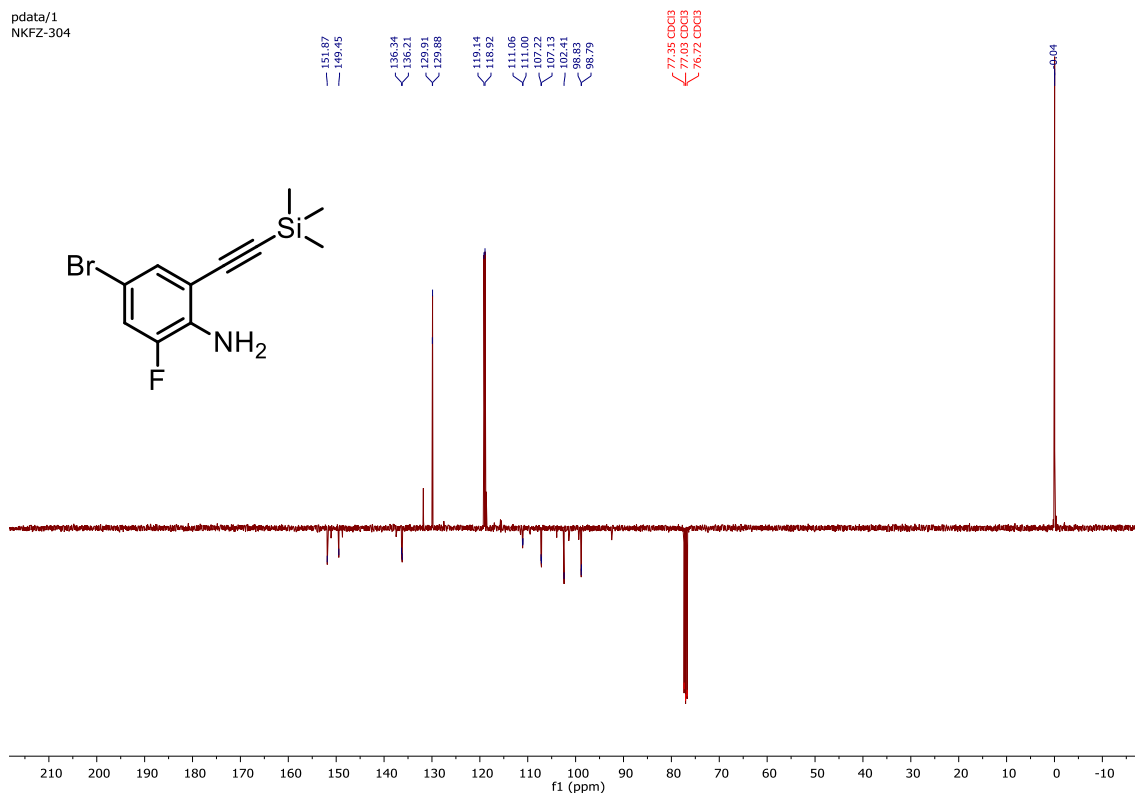


6.1.11. <sup>13</sup>C NMR

von

4-Brom-2-fluor-6-

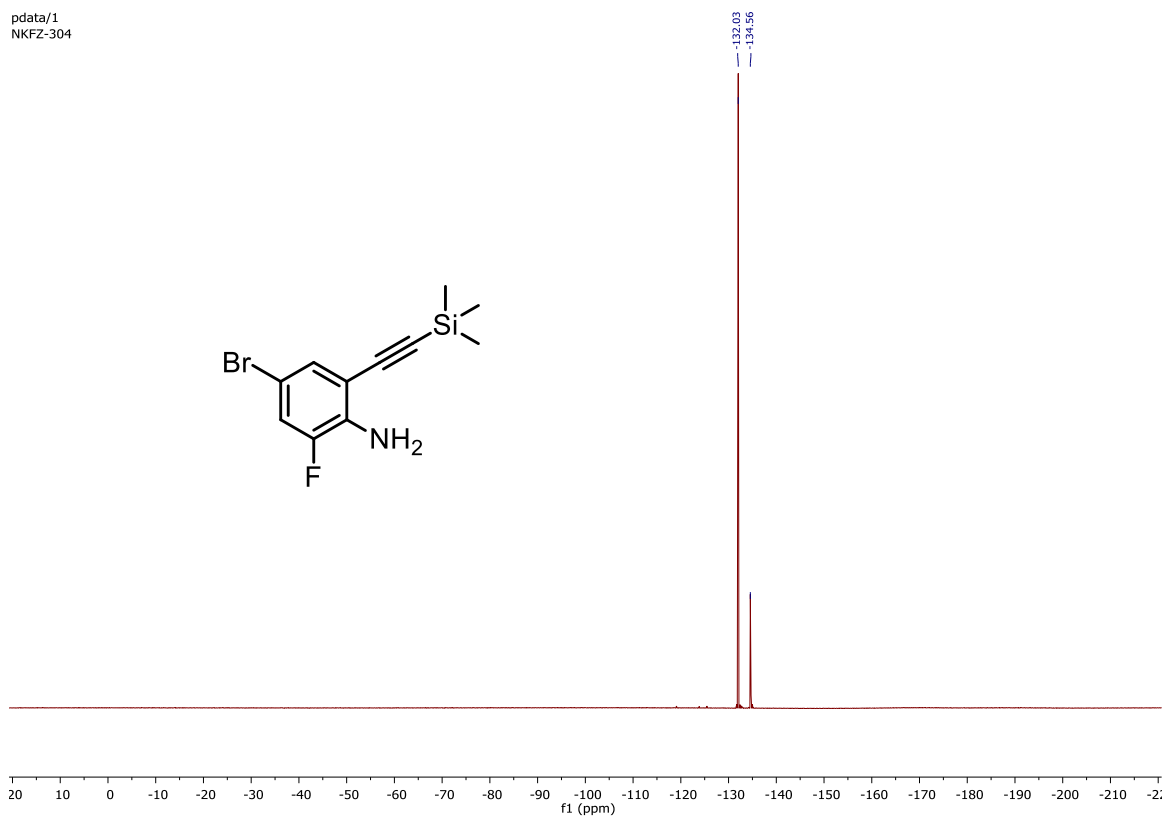
[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (33)

pdata/1  
NKFZ-3046.1.12. <sup>19</sup>F NMR

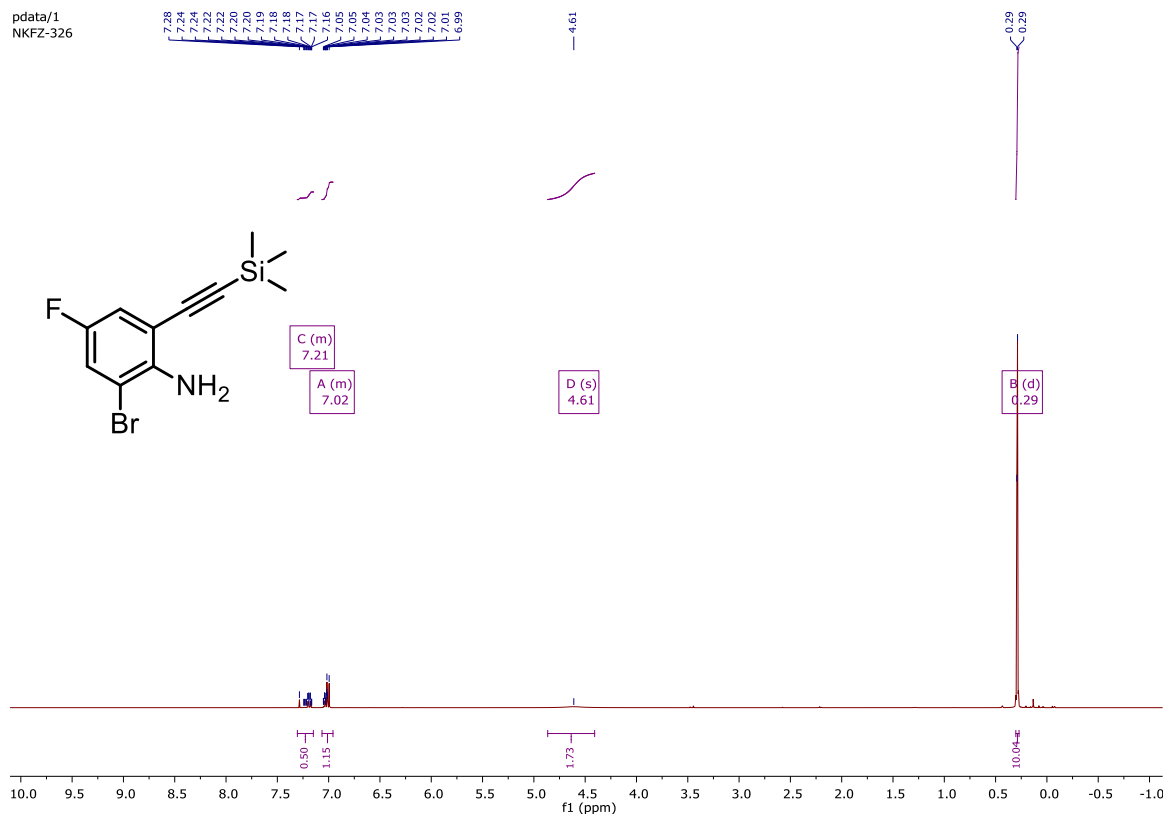
von

4-Brom-2-fluor-6-

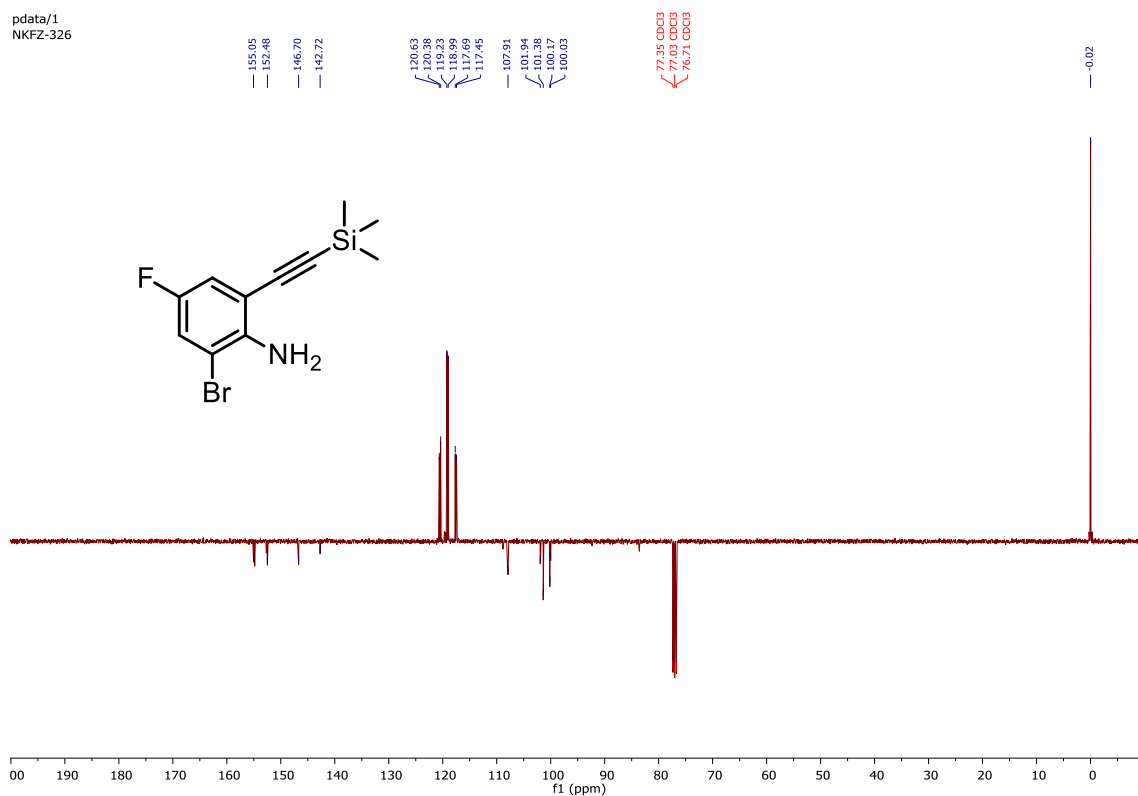
[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (33)

pdata/1  
NKFZ-304

### 6.1.13. <sup>1</sup>H NMR von 2-Brom-4-fluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (34)



### 6.1.14. <sup>13</sup>C NMR von 2-Brom-4-fluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (34)

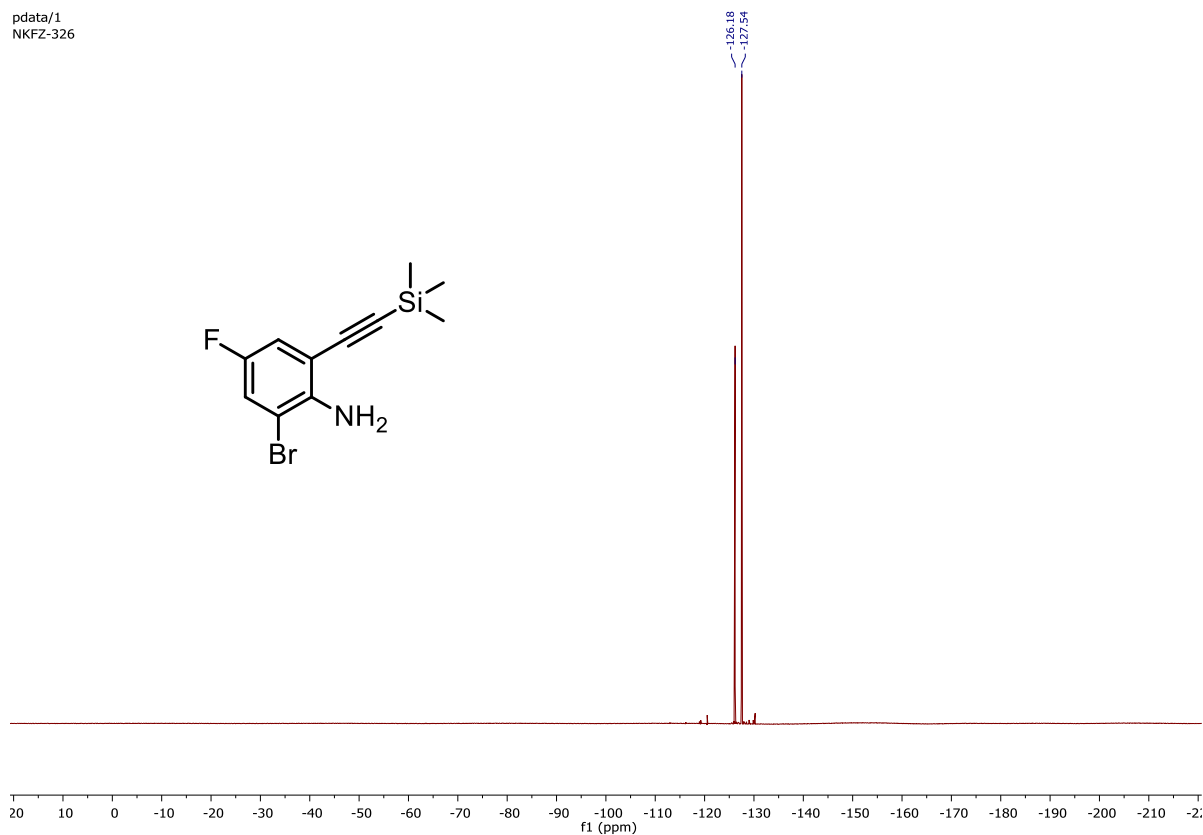
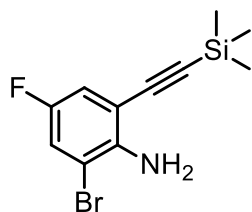
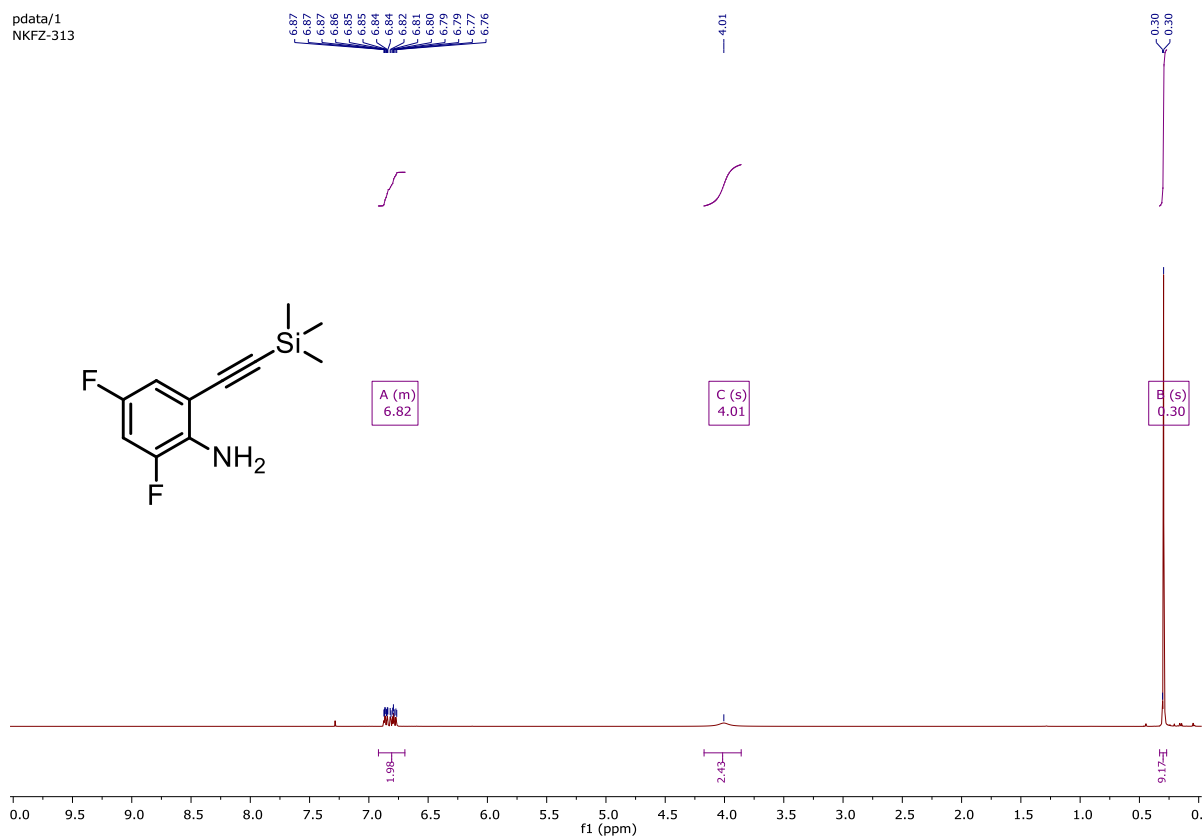
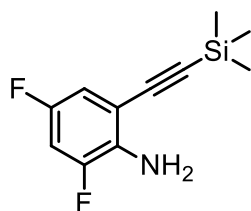


6.1.15. <sup>19</sup>F NMR

von

2-Brom-4-fluor-6-

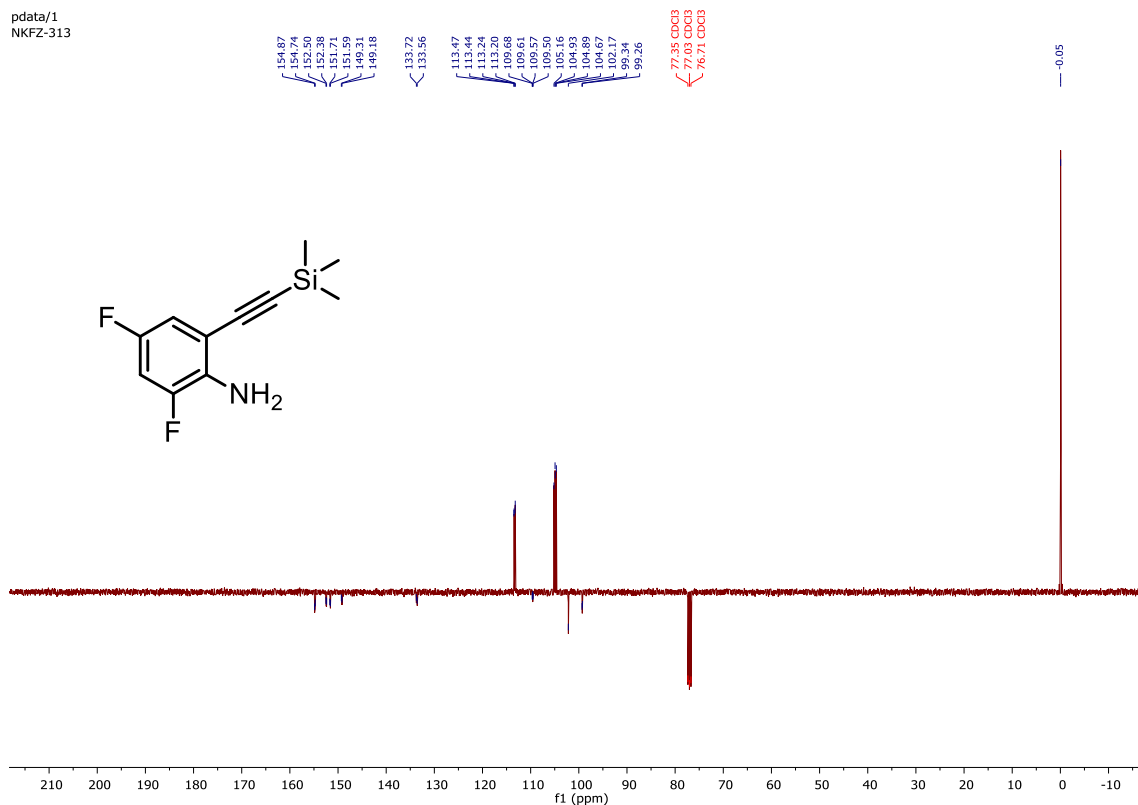
[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (34)

pdata/1  
NKFZ-3266.1.16. <sup>1</sup>H NMR von 2,4-Difluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (45)pdata/1  
NKFZ-313



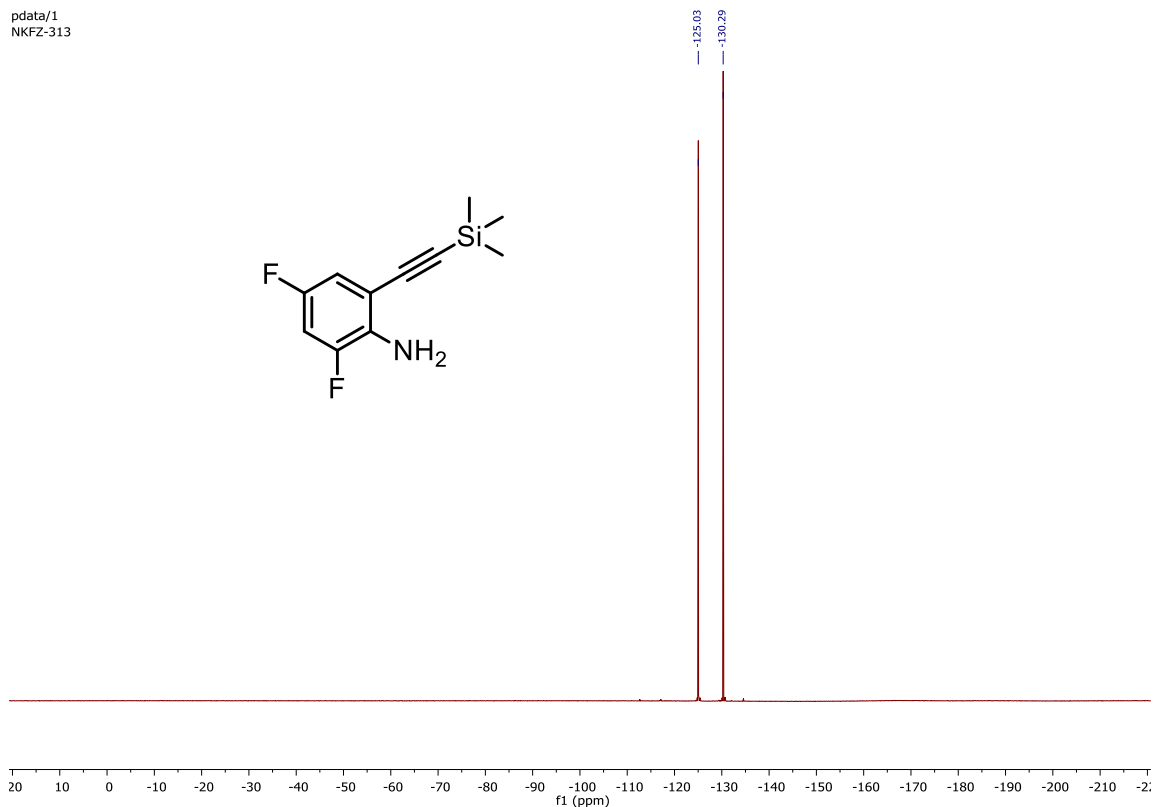
### 6.1.17. $^{13}\text{C}$ NMR von 2,4-Difluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (45)

pdata/1  
NKFZ-313



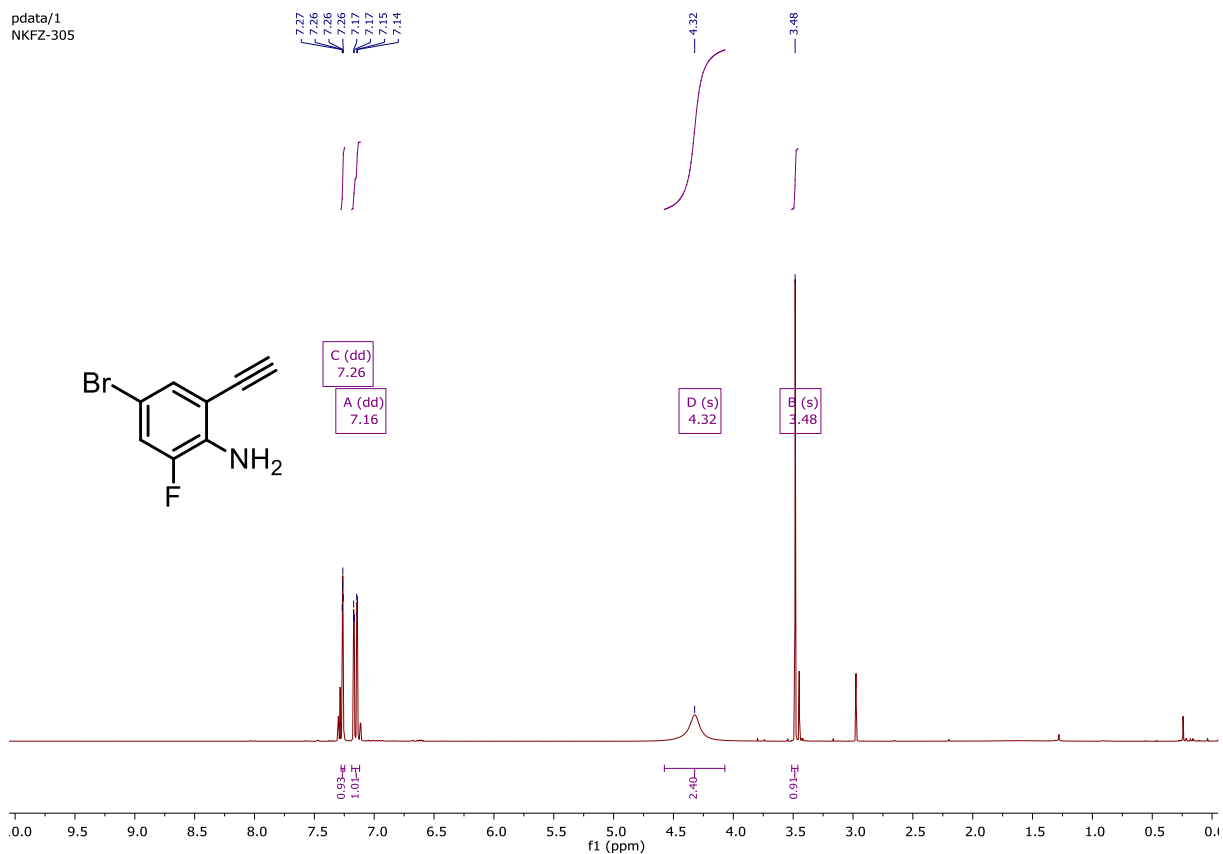
### 6.1.18. $^{19}\text{F}$ NMR von 2,4-Difluor-6-[(trimethylsilyl)ethynyl]anilin (45)

pdata/1  
NKFZ-313



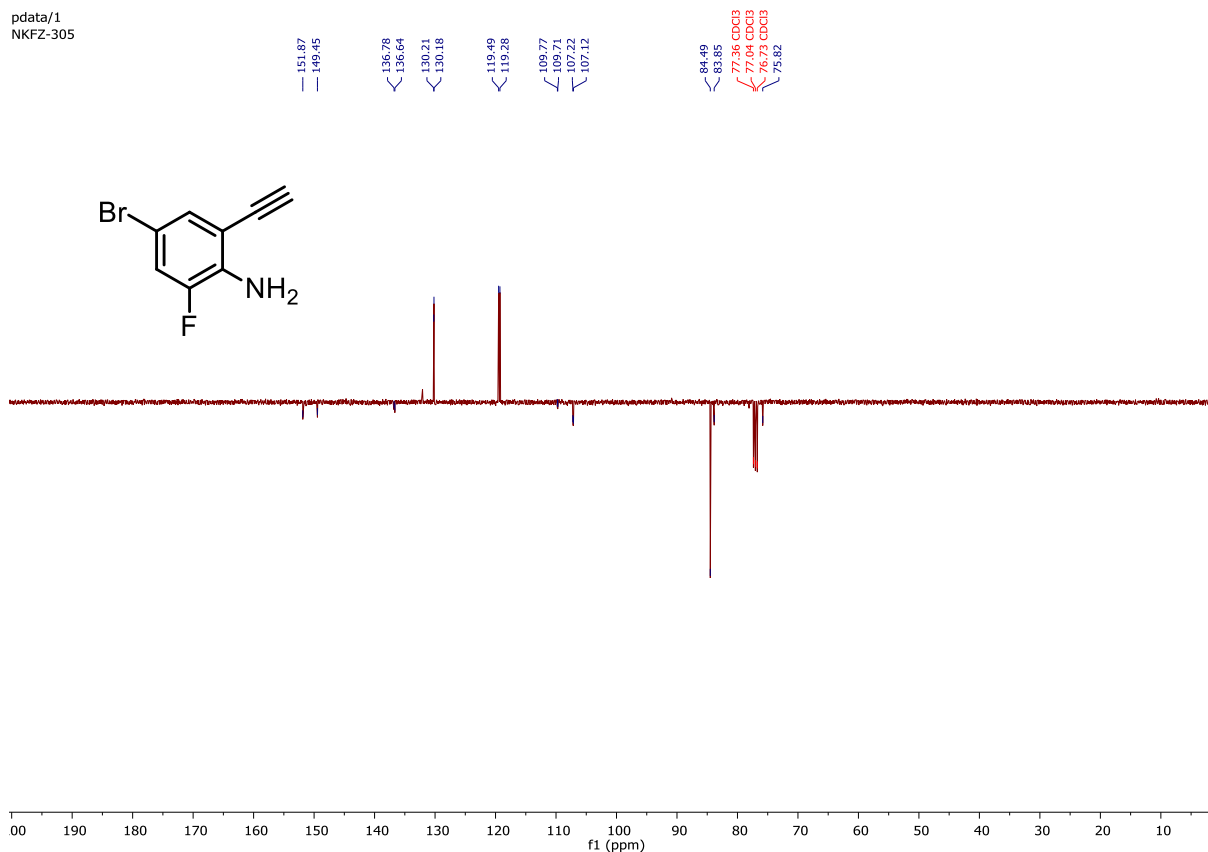
### 6.1.19. $^1\text{H}$ NMR von 4-Brom-2-ethynyl-6-fluoranilin (35)

pdata/1  
NKFZ-305



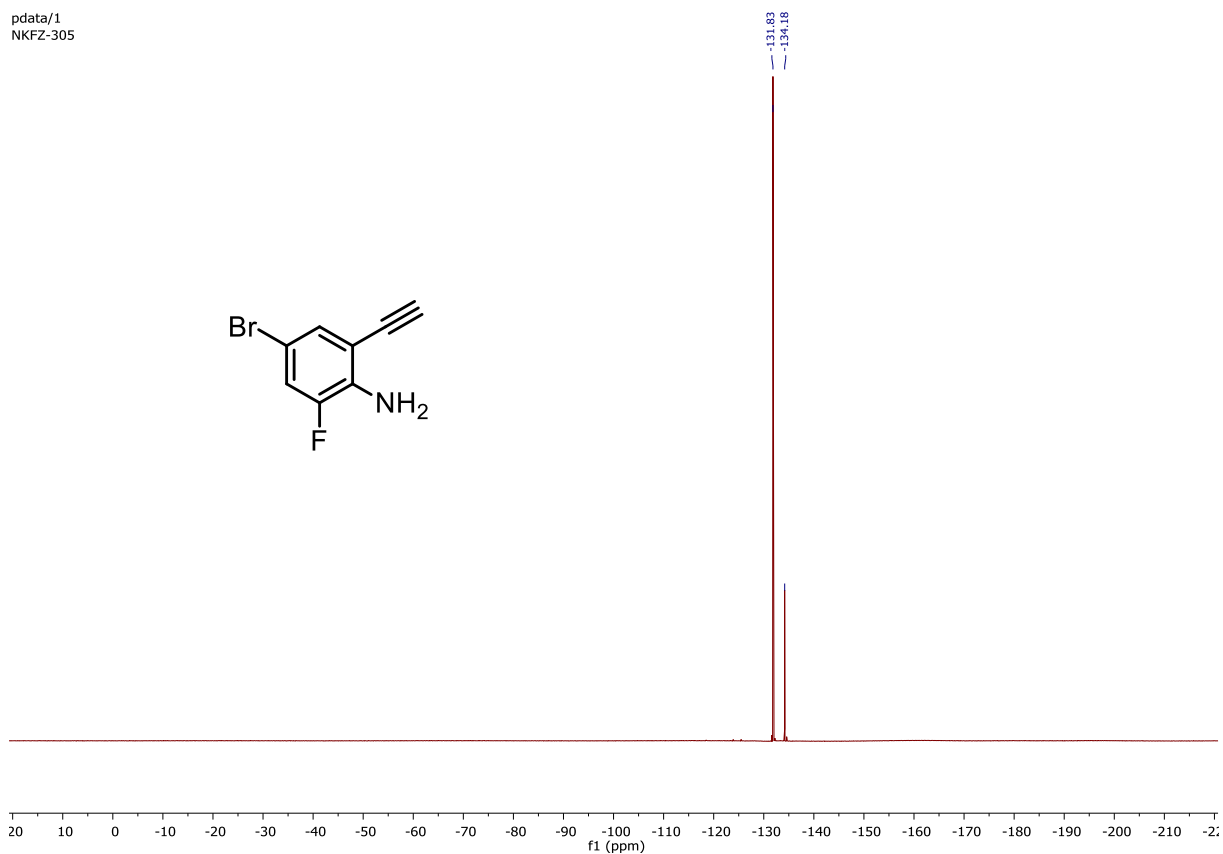
### 6.1.20. $^{13}\text{C}$ NMR von 4-Brom-2-ethynyl-6-fluoranilin (35)

pdata/1  
NKFZ-305



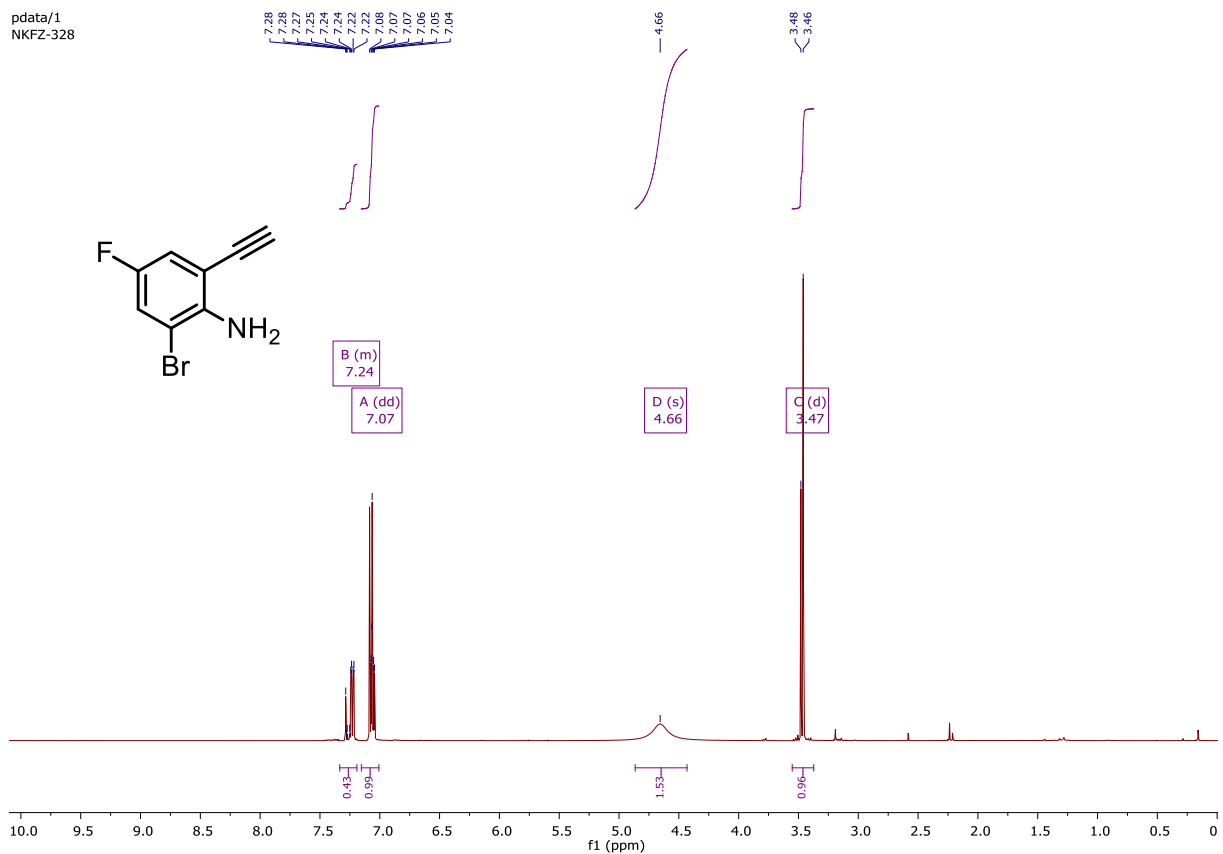
### 6.1.21. $^{19}\text{F}$ NMR von 4-Brom-2-ethinyl-6-fluoranilin (35)

pdata/1  
NKfZ-305



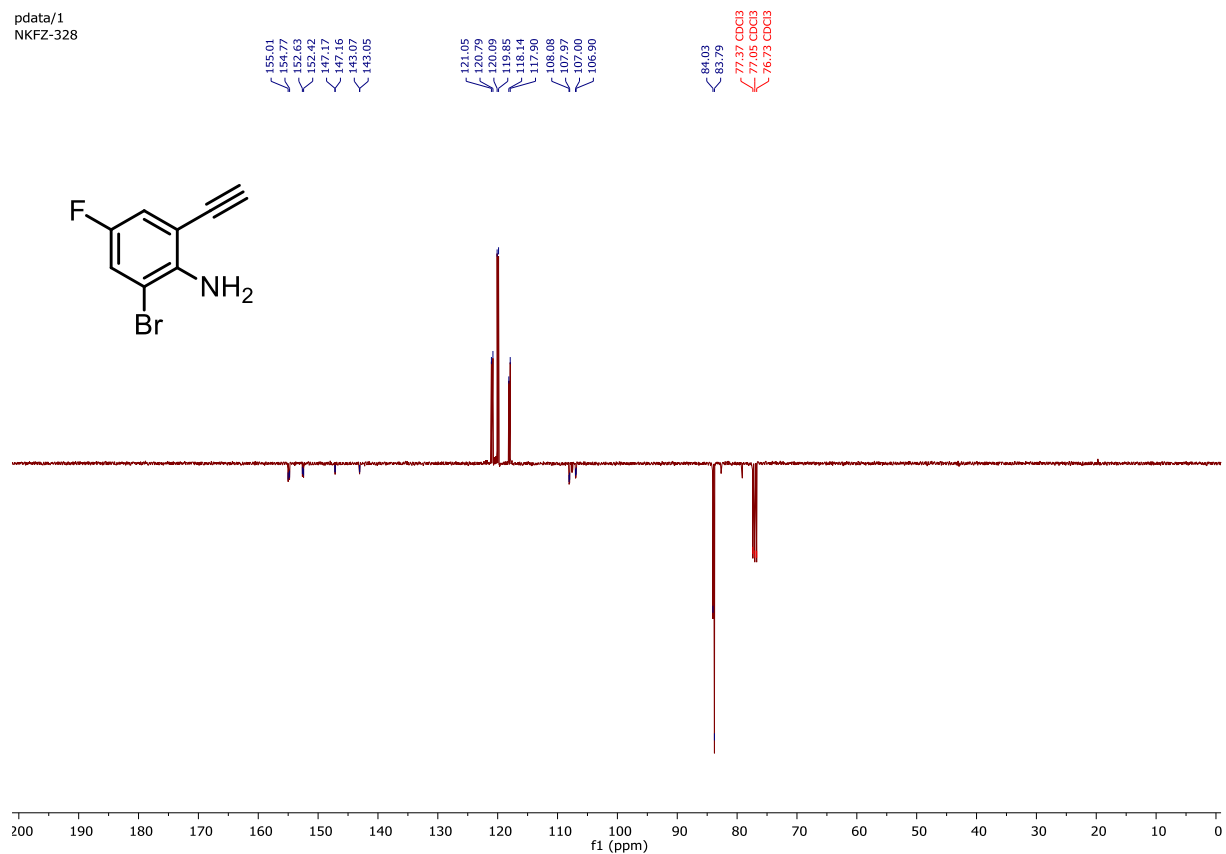
### 6.1.22. $^1\text{H}$ NMR von 2-Brom-6-ethinyl-4-fluoranilin (36)

pdata/1  
NKfZ-328



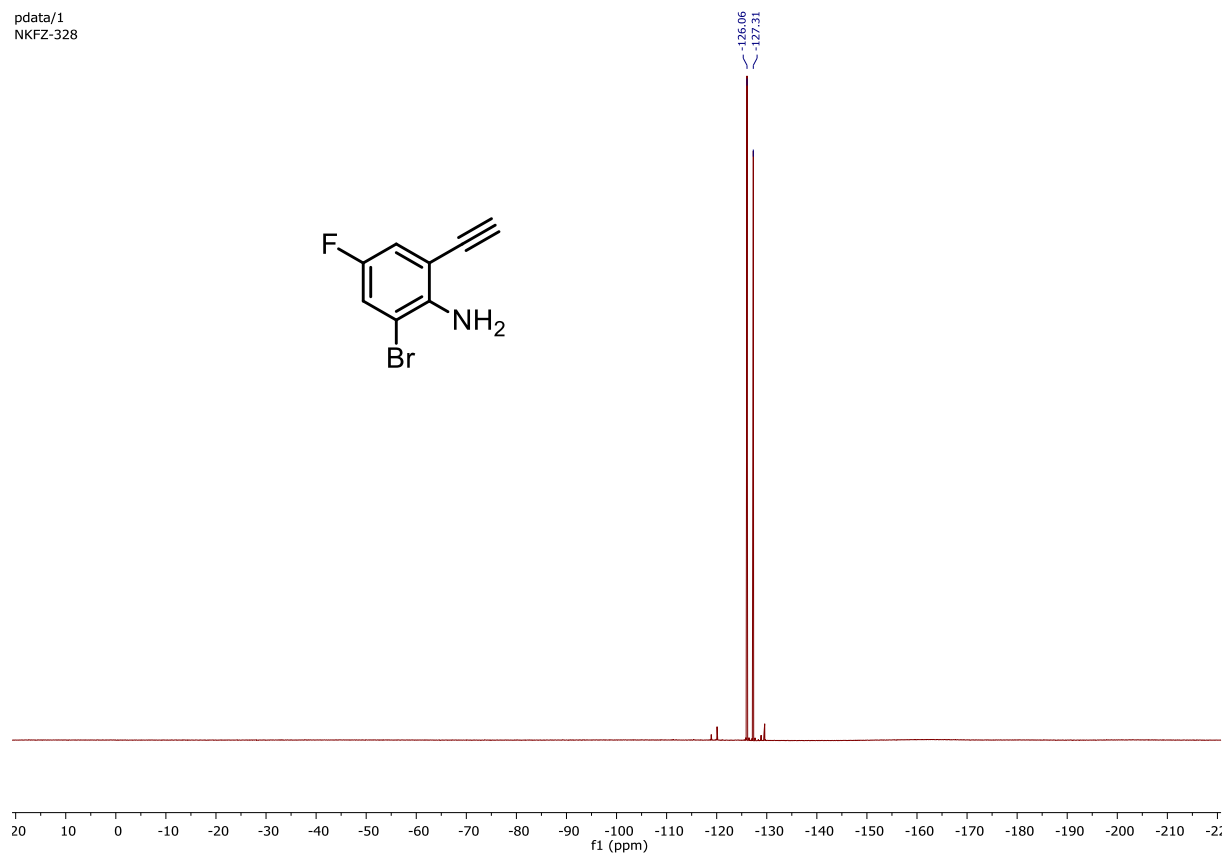
### 6.1.23. $^{13}\text{C}$ NMR von 2-Brom-6-ethinyl-4-fluoranilin (36)

pdata/1  
NKFZ-328

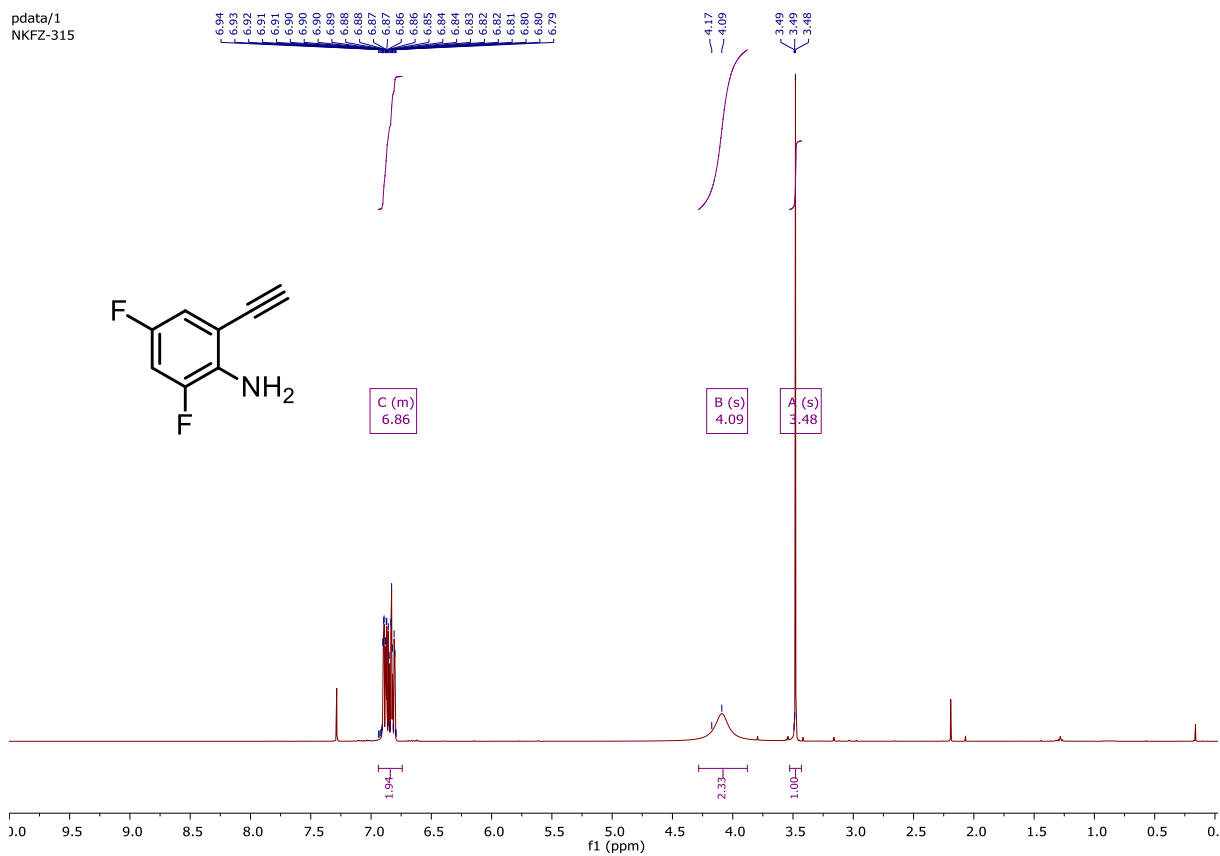


### 6.1.24. $^{19}\text{F}$ NMR von 2-Brom-6-ethinyl-4-fluoranilin (36)

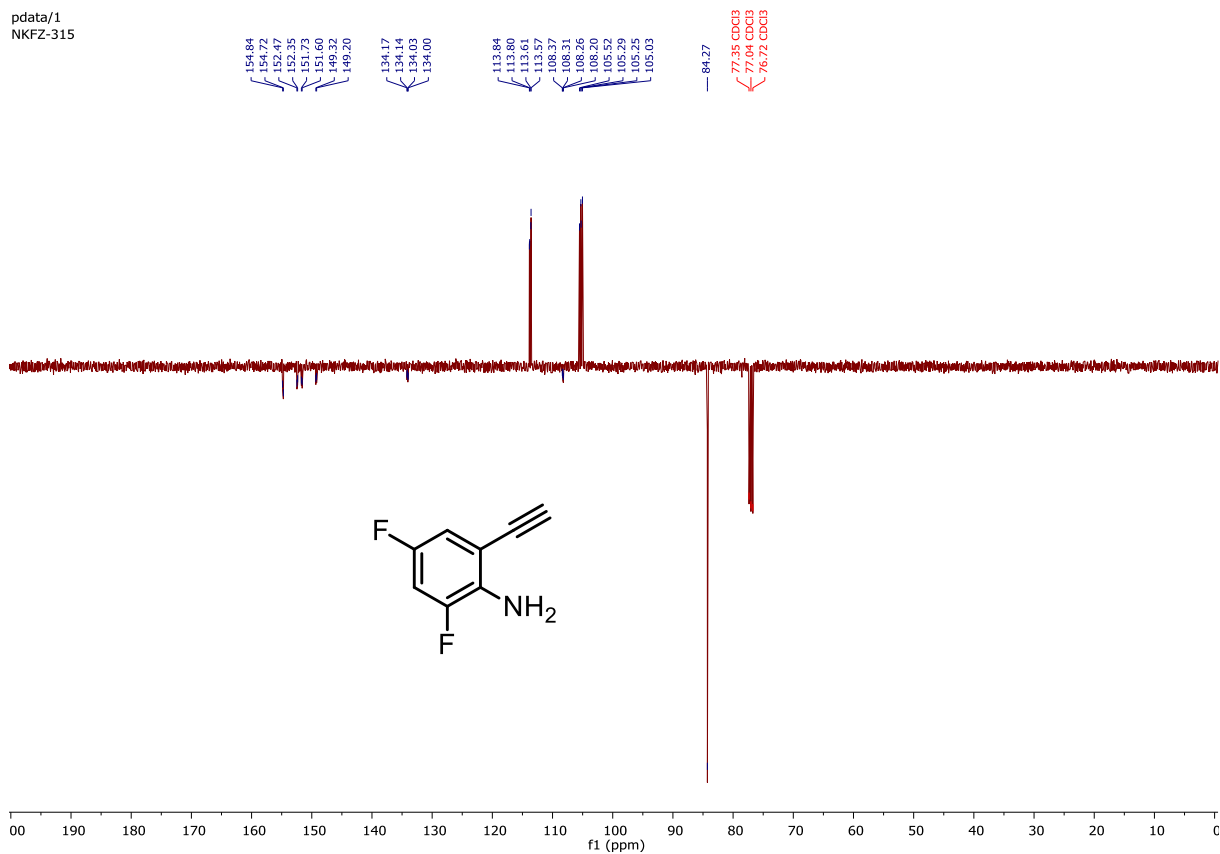
pdata/1  
NKFZ-328



### 6.1.25. <sup>1</sup>H NMR von 2-Ethynyl-4,6-fluoranilin (46)

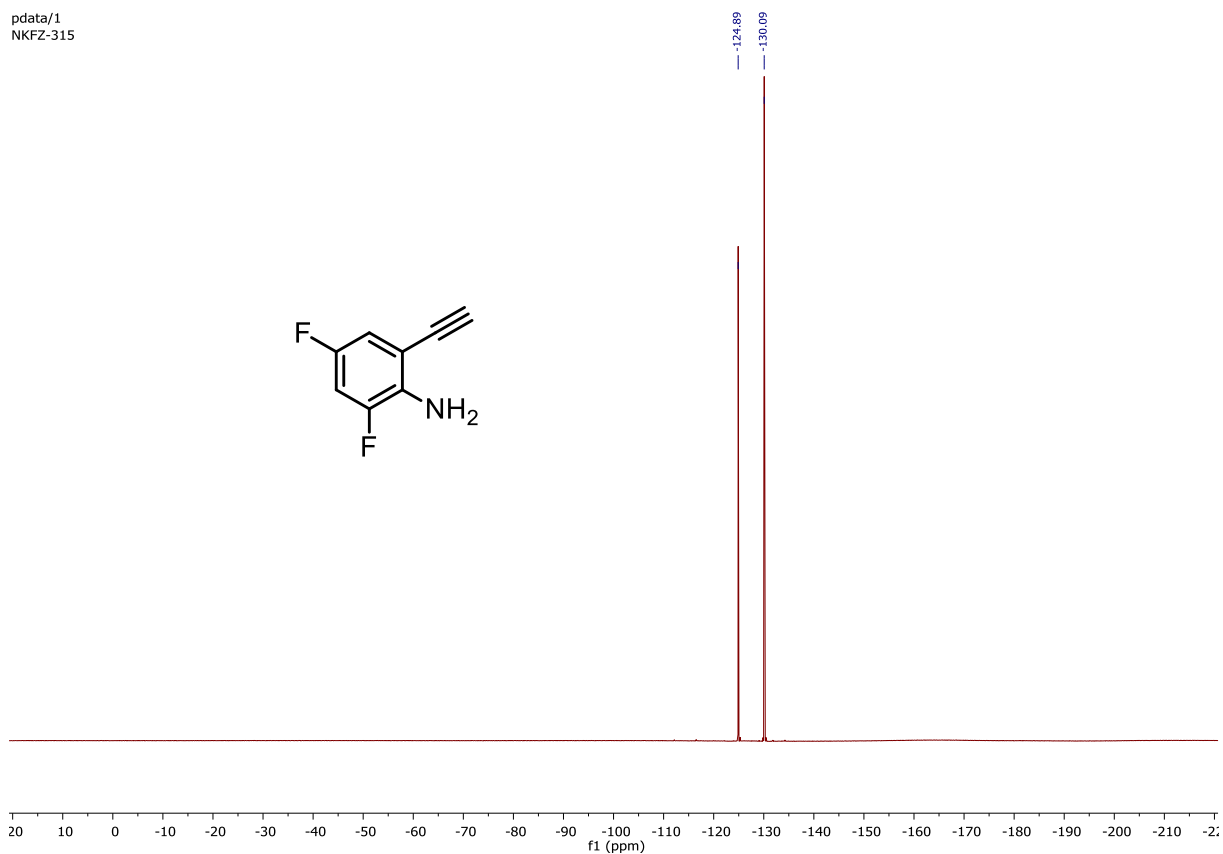


### 6.1.26. <sup>13</sup>C NMR von 2-Ethynyl-4,6-fluoranilin (46)



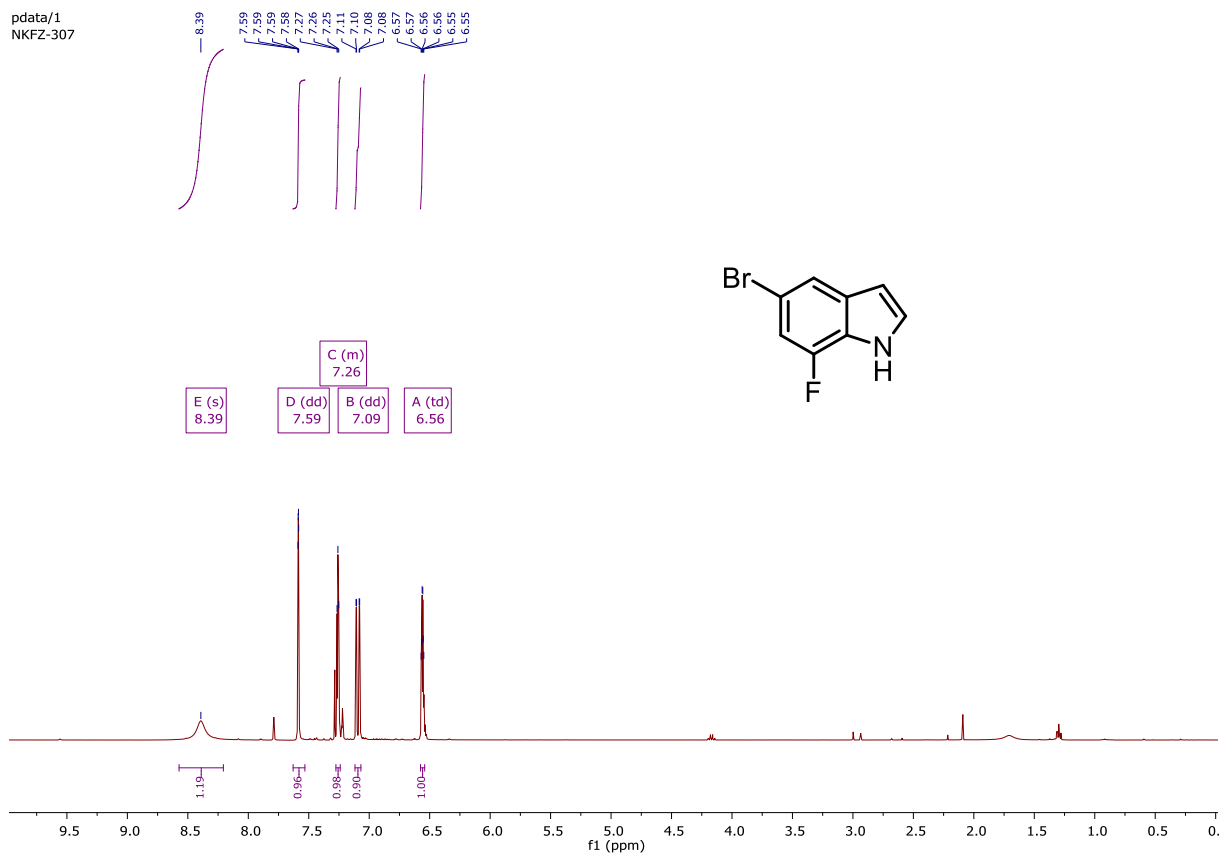
### 6.1.27. $^{19}\text{F}$ NMR von 2-Ethynyl-4,6-fluoranilin (46)

pdata/1  
NKFZ-315



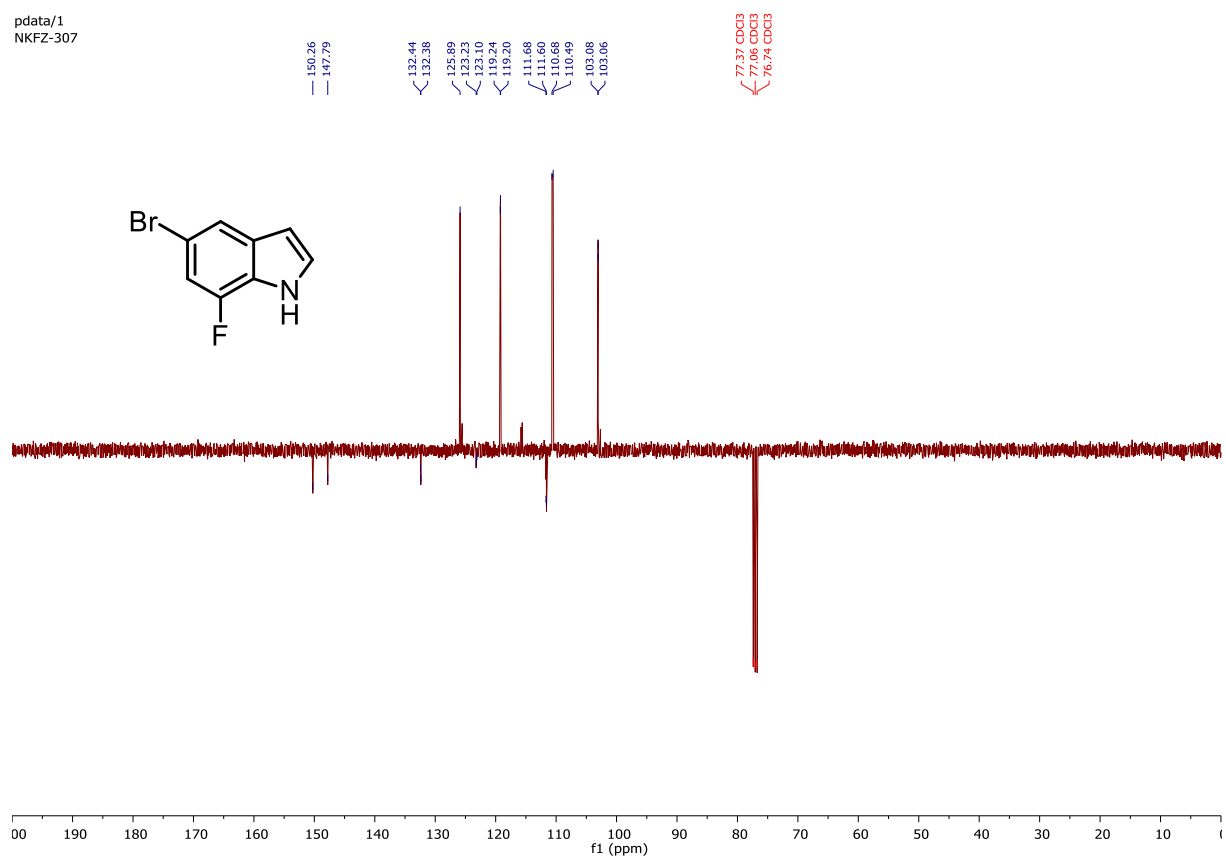
### 6.1.28. $^1\text{H}$ NMR von 5-Brom-7-fluorindol (37)

pdata/1  
NKFZ-307



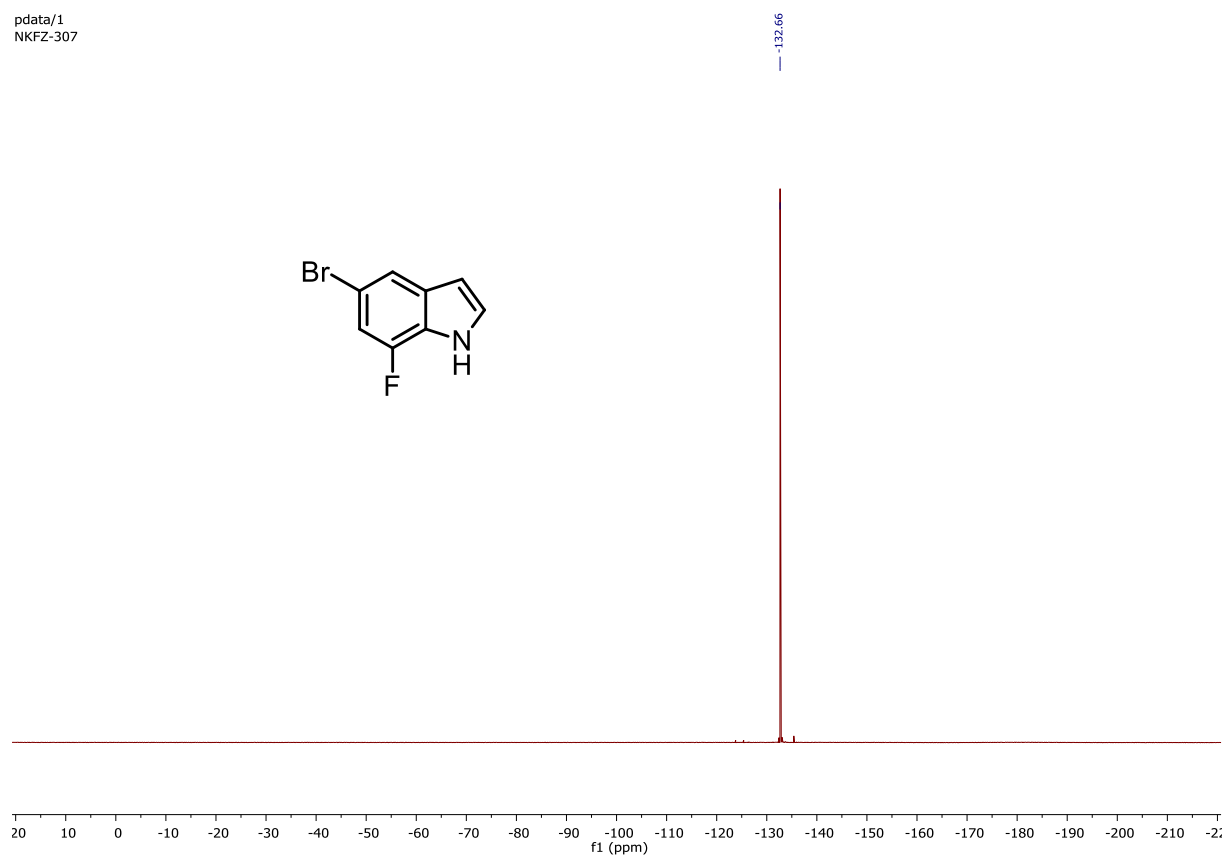
## 6.1.29. $^{13}\text{C}$ NMR von 5-Brom-7-fluorindol (37)

pdata/1  
NKfZ-307

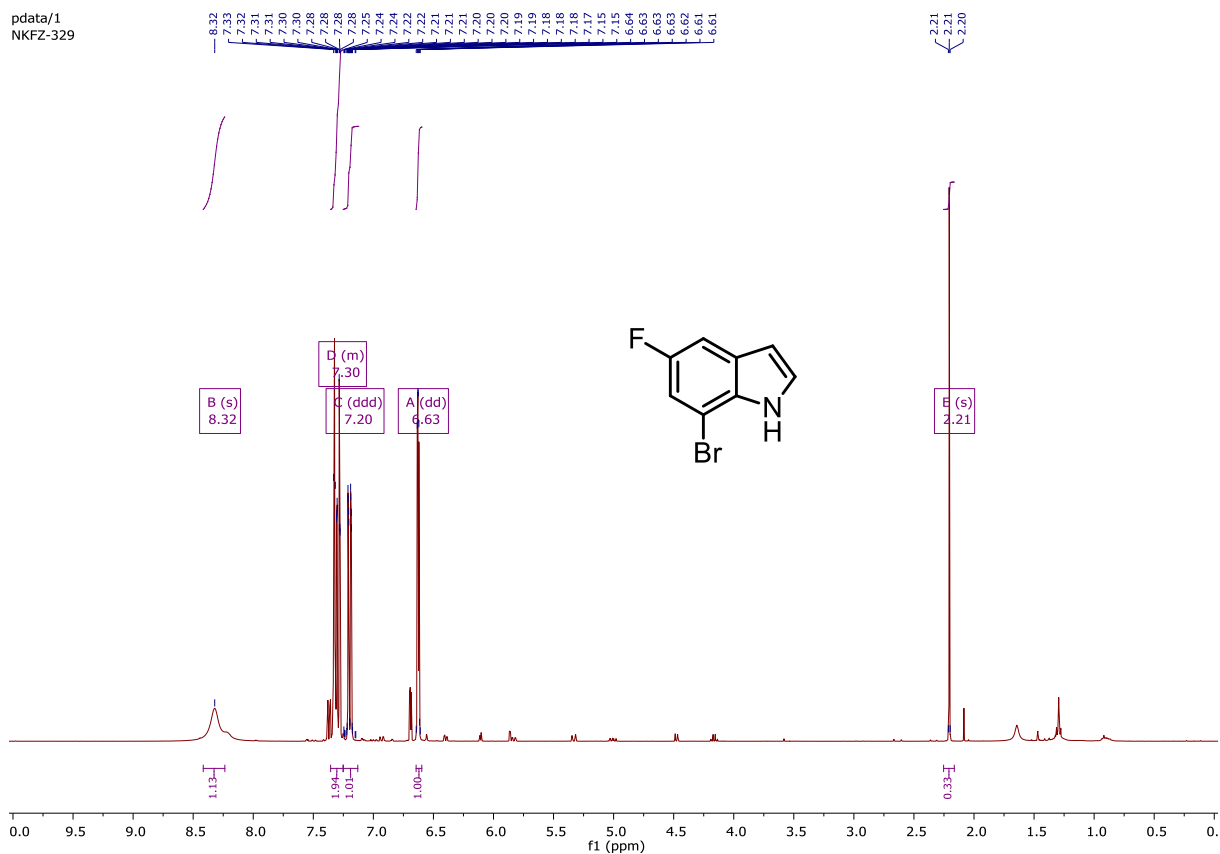


## 6.1.30. $^{19}\text{F}$ NMR von 5-Brom-7-fluorindol (37)

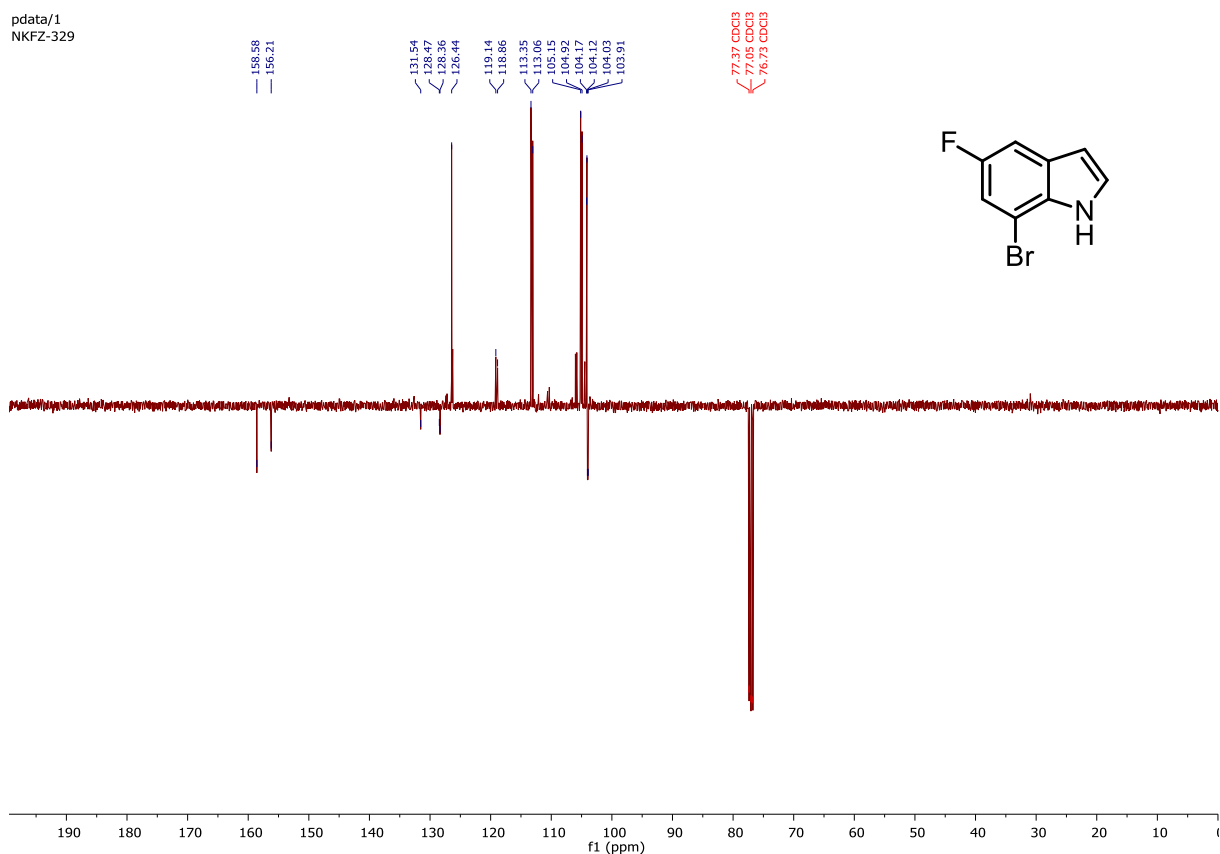
pdata/1  
NKfZ-307



### 6.1.31. <sup>1</sup>H NMR von 7-Brom-5-fluorindol (38)



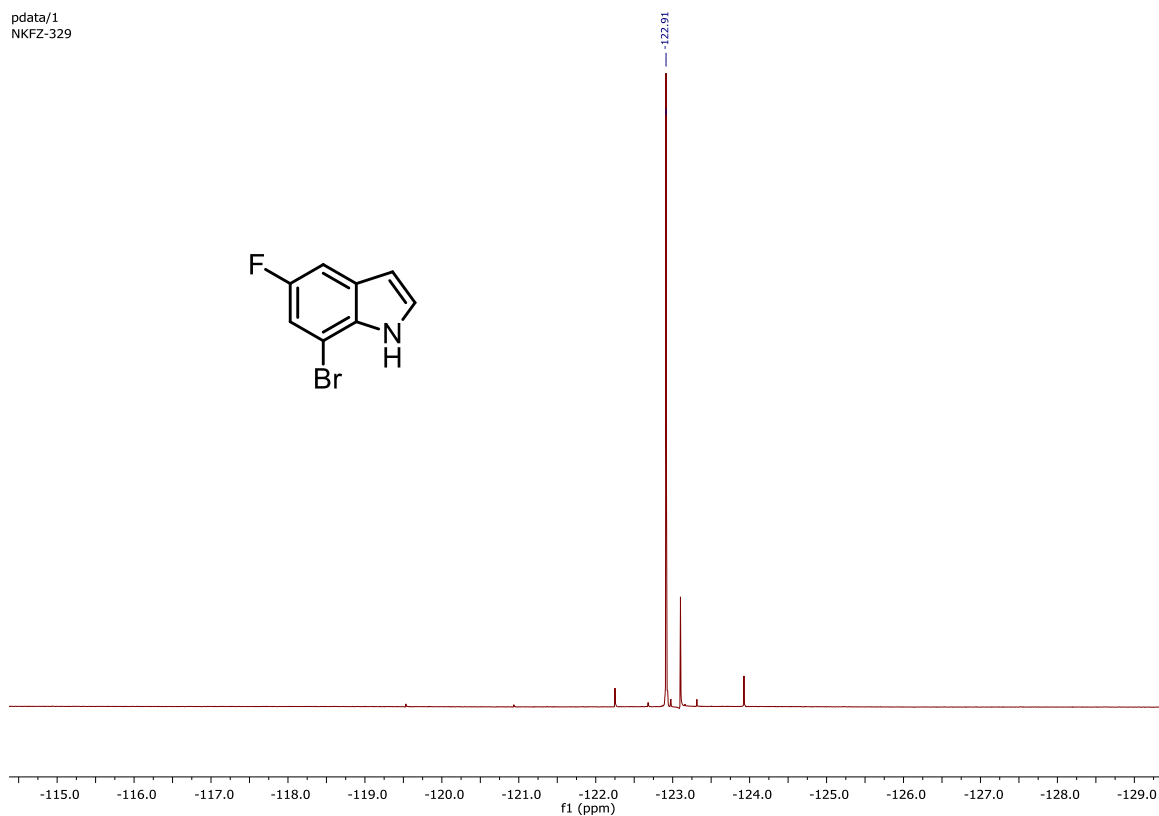
### 6.1.32. <sup>13</sup>C NMR von 7-Brom-5-fluorindol (38)





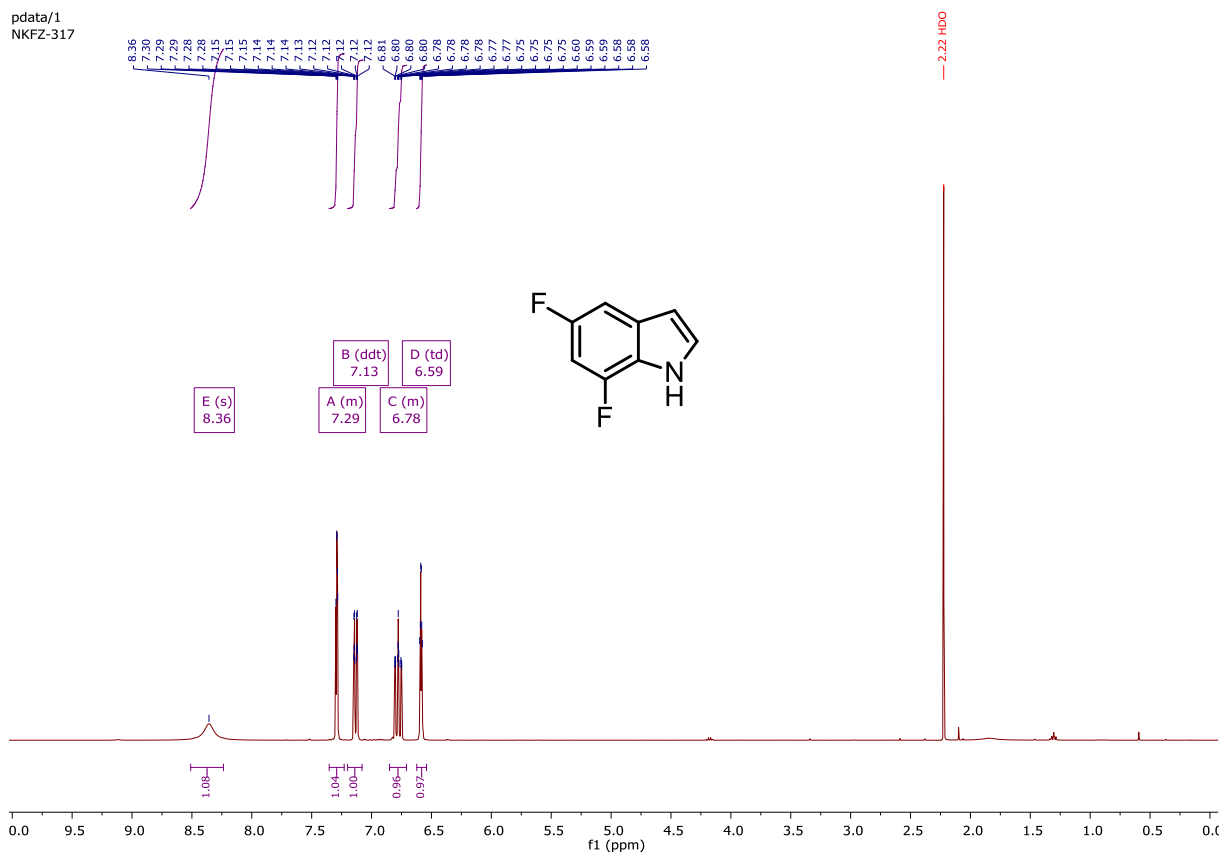
### 6.1.33. $^{19}\text{F}$ NMR von 7-Brom-5-fluorindol (38)

pdata/1  
NKFZ-329



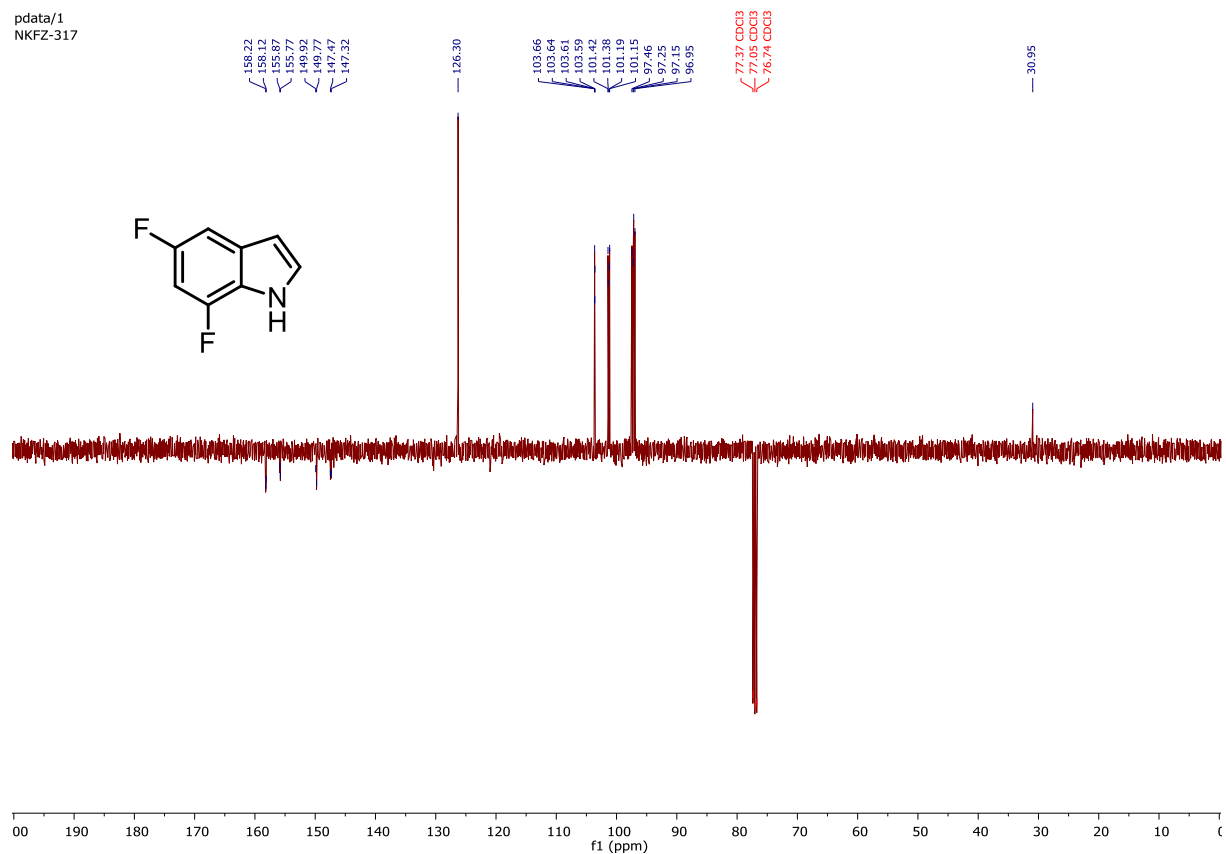
### 6.1.34. $^1\text{H}$ NMR von 5,7-Difluorindol (47)

pdata/1  
NKFZ-317



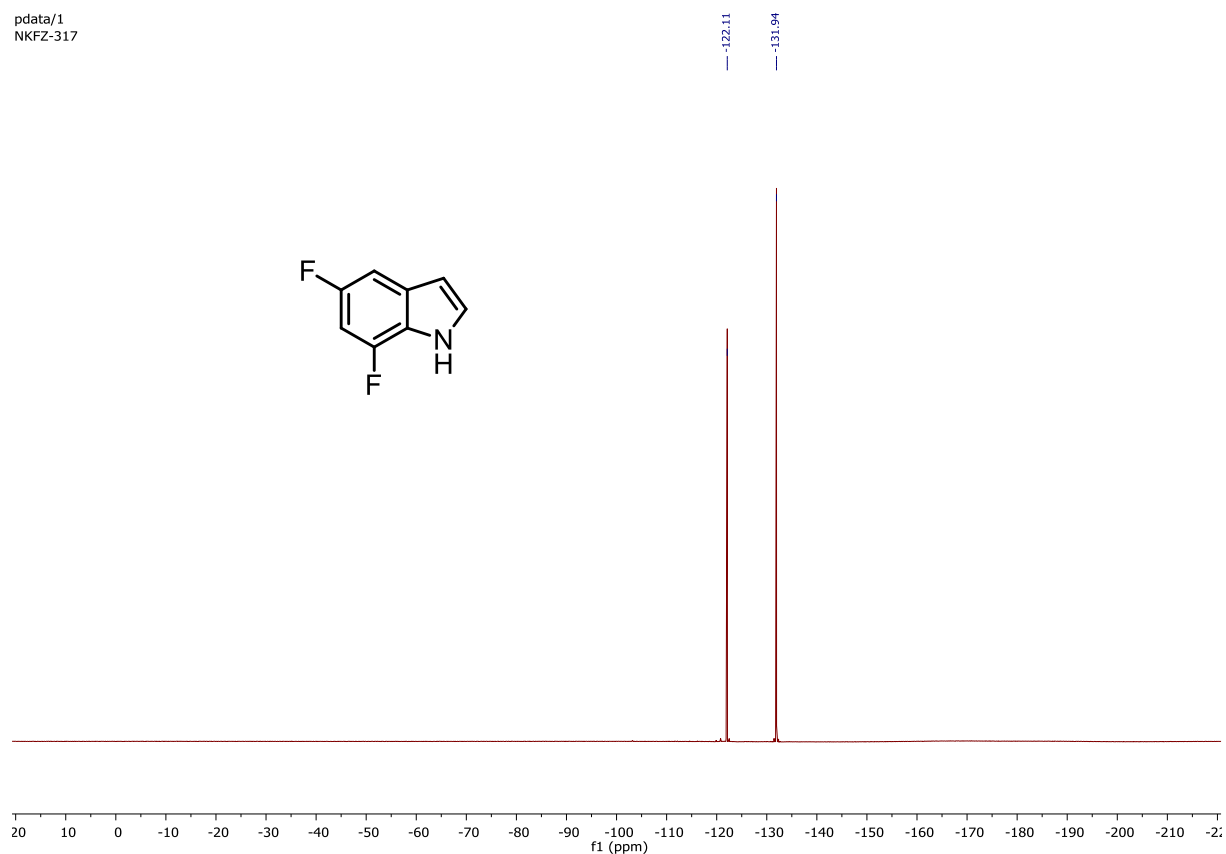
### 6.1.35. $^{13}\text{C}$ NMR von 5,7-Difluorindol (47)

pdata/1  
NKFZ-317



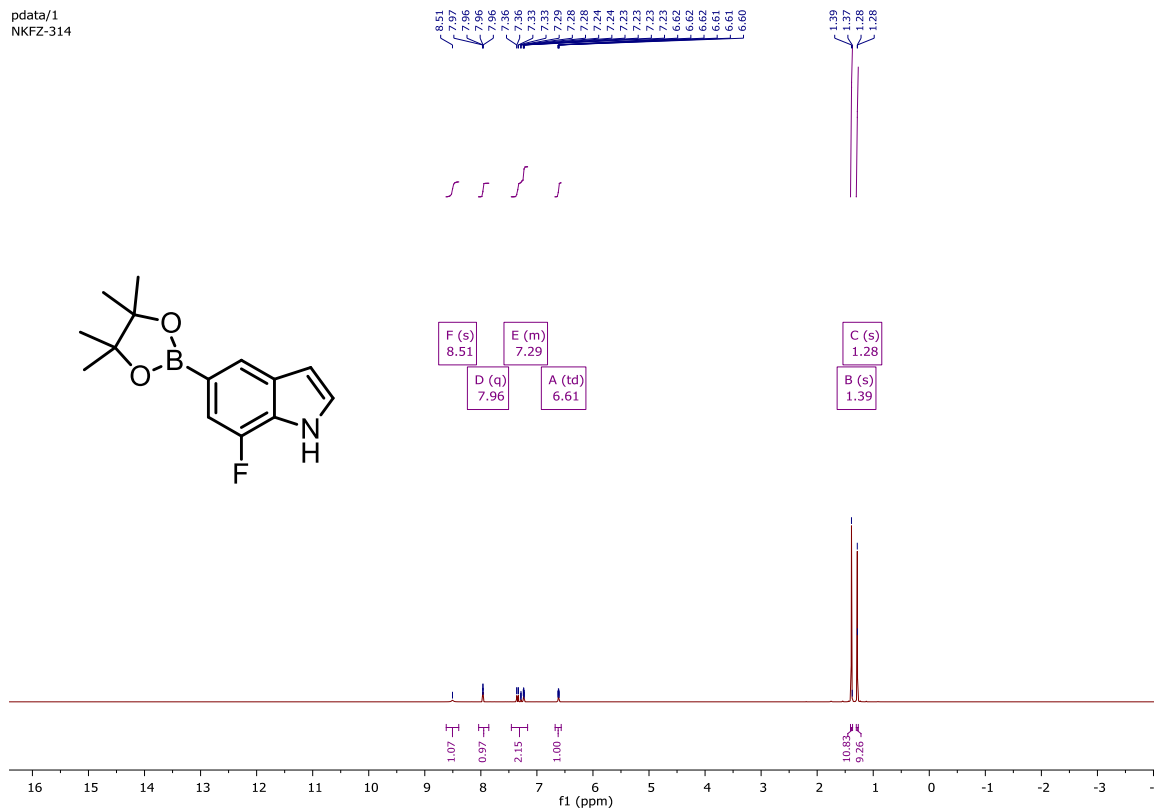
### 6.1.36. $^{19}\text{F}$ NMR von 5,7-Difluorindol (47)

pdata/1  
NKFZ-317



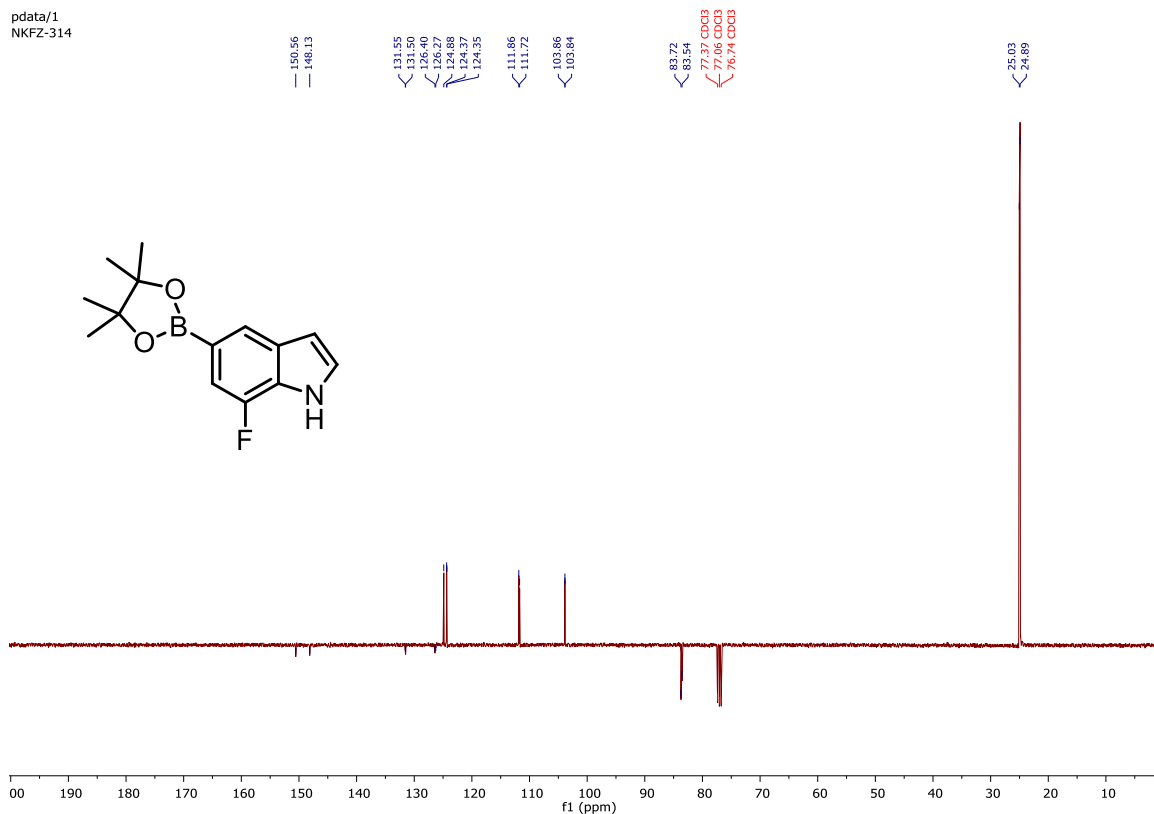
### 6.1.37. <sup>1</sup>H NMR von 7-Fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (39)

pdata/1  
NKFZ-314



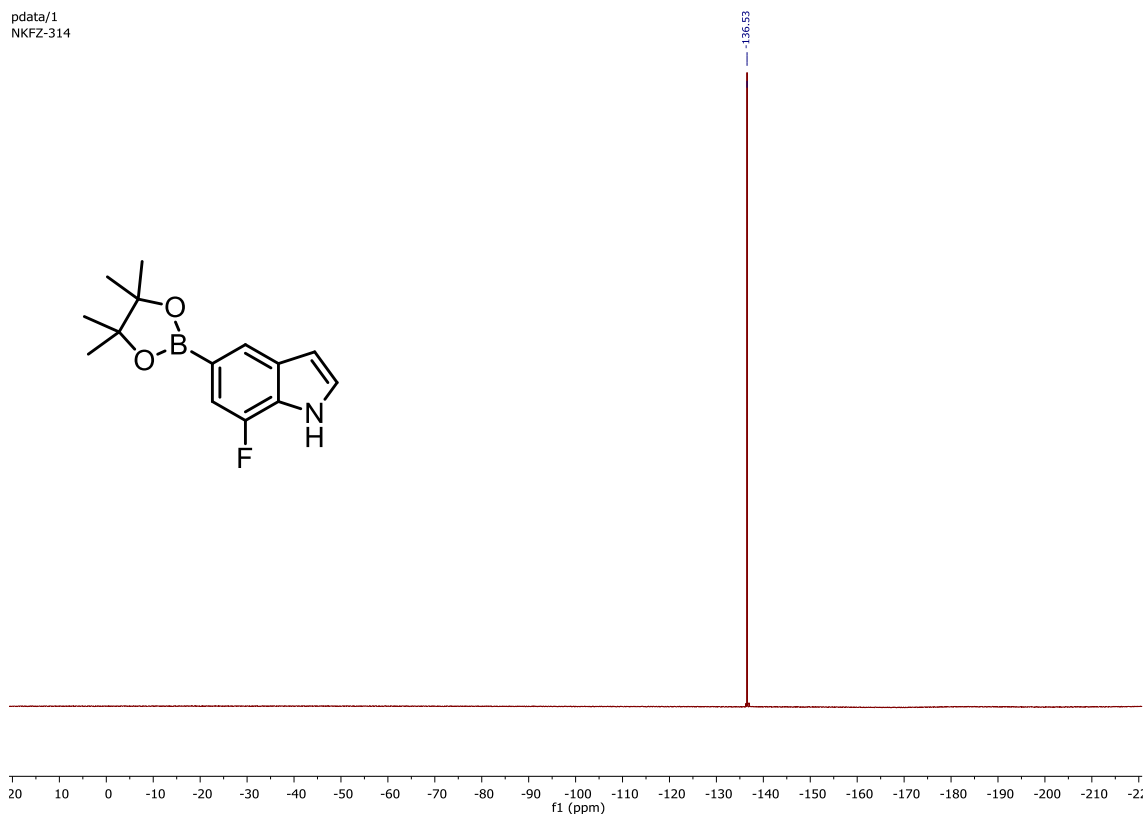
### 6.1.38. <sup>13</sup>C NMR von 7-Fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (39)

pdata/1  
NKFZ-314



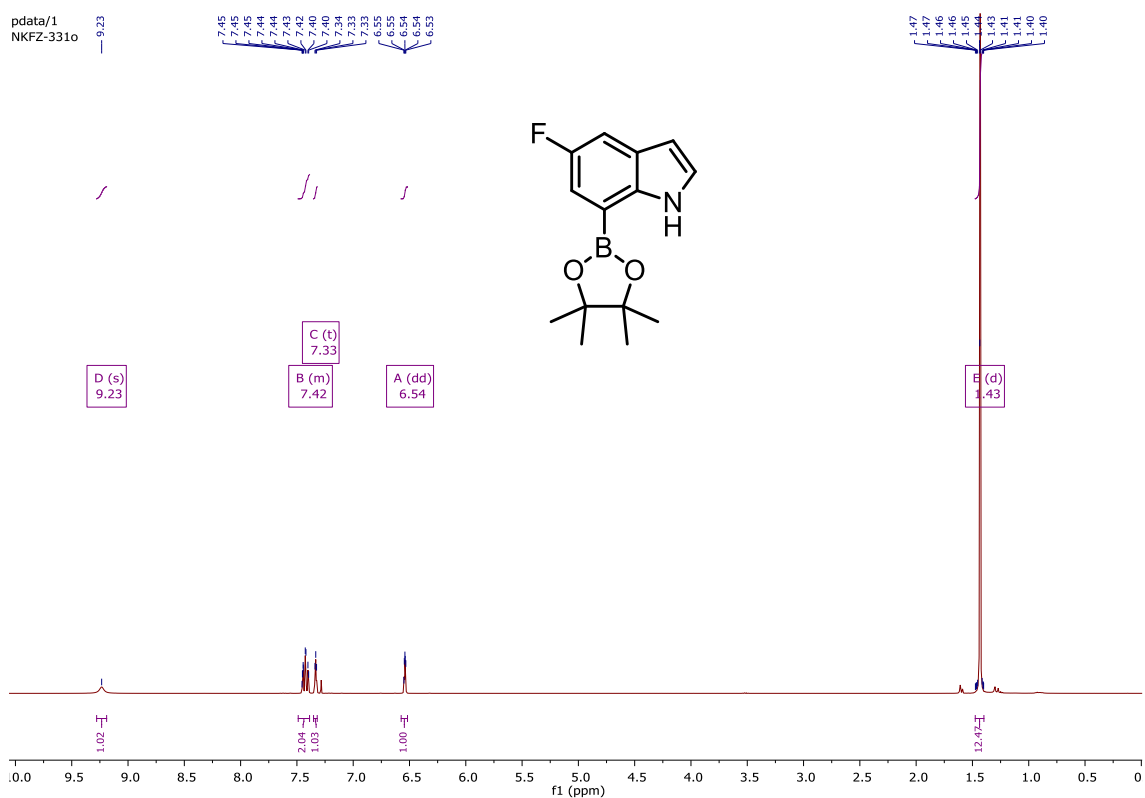
### 6.1.39. $^{19}\text{F}$ NMR von 7-Fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (39)

pdata/1  
NKFZ-314



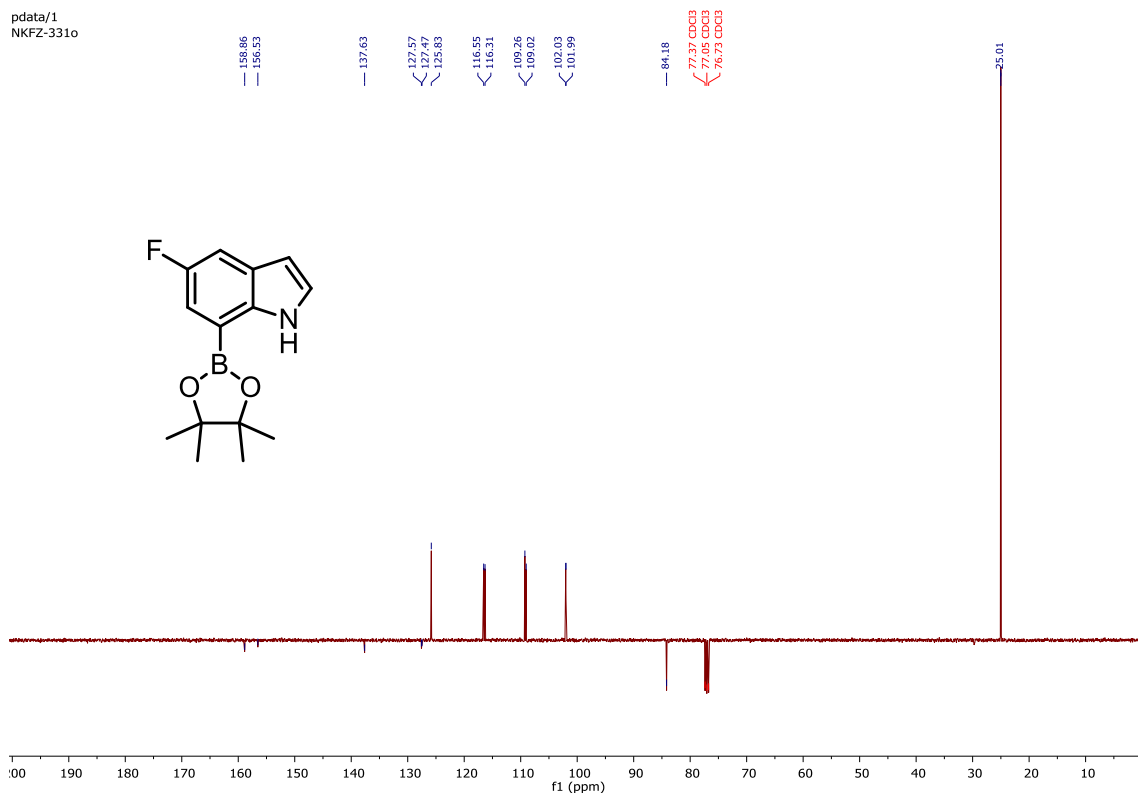
### 6.1.40. $^1\text{H}$ NMR von 5-Fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (40)

pdata/1  
NKFZ-331o



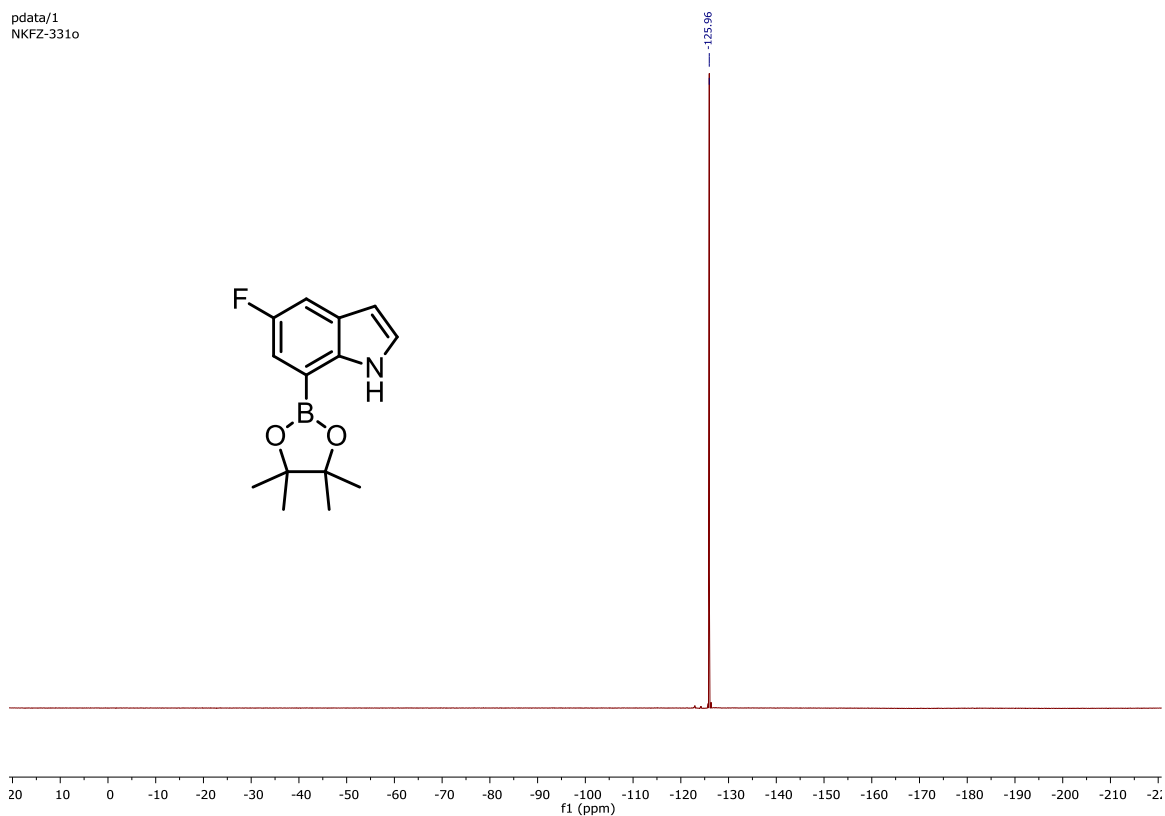
### 6.1.41. <sup>13</sup>C NMR von 5-Fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (40)

pdata/1  
NKfZ-331o

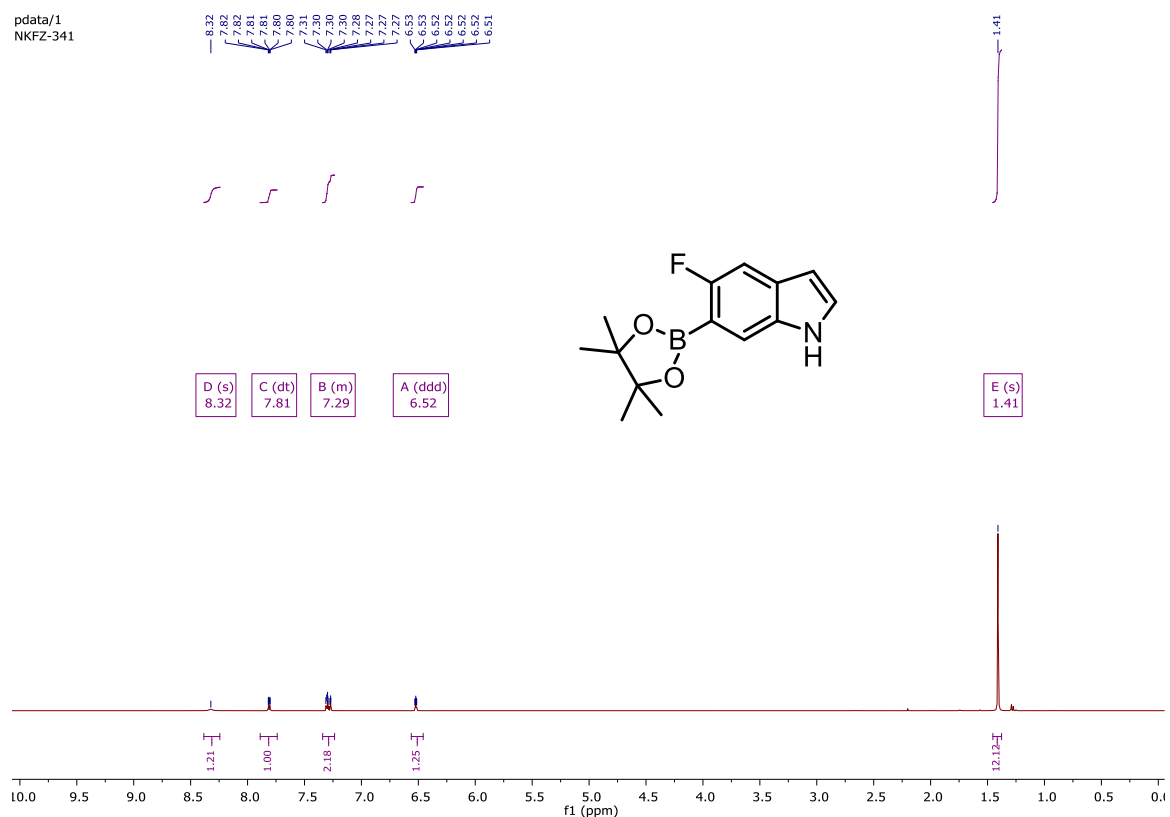


### 6.1.42. <sup>18</sup>F NMR von 5-Fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (40)

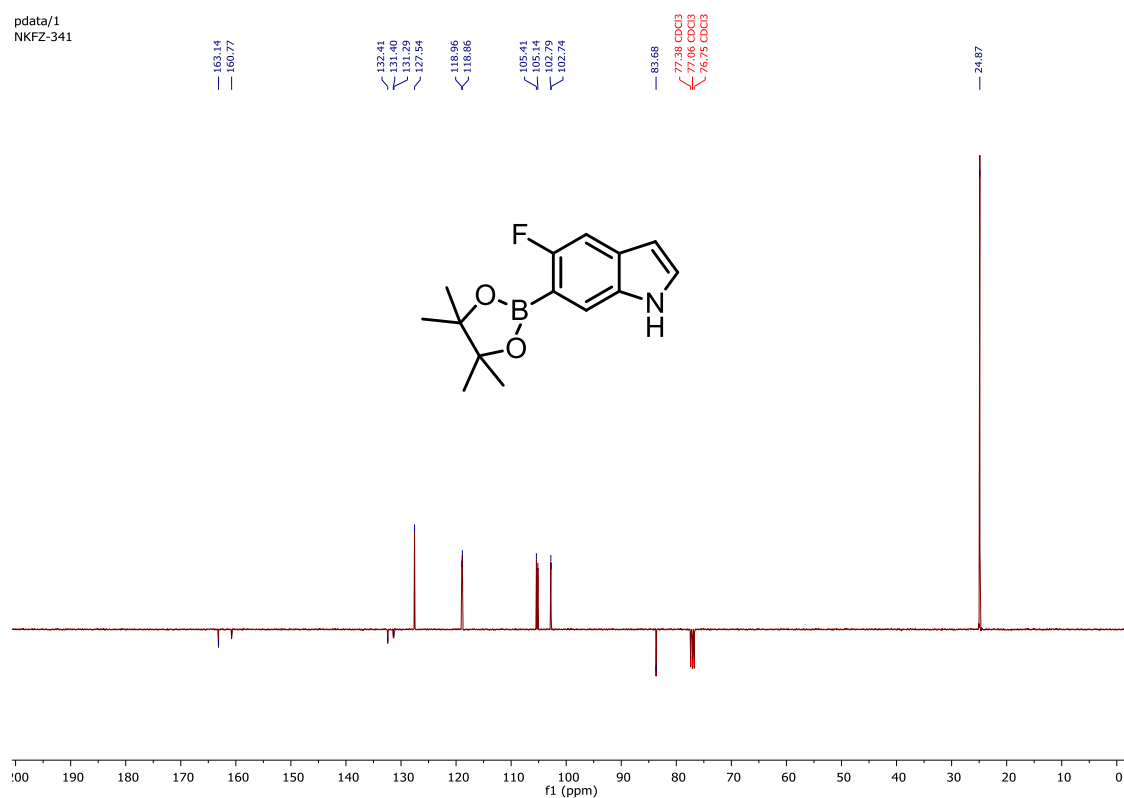
pdata/1  
NKfZ-331o



### 6.1.43. <sup>1</sup>H NMR 5-Fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (56)

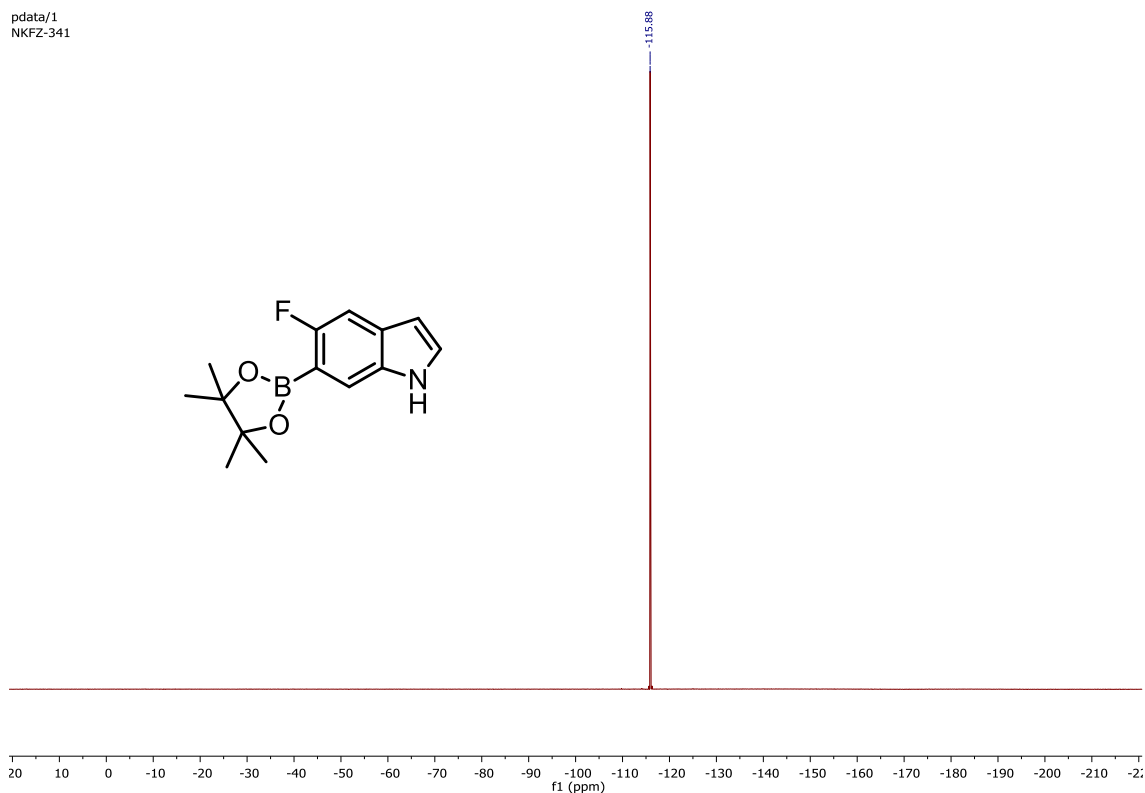


### 6.1.44. <sup>13</sup>C NMR 5-Fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (56)



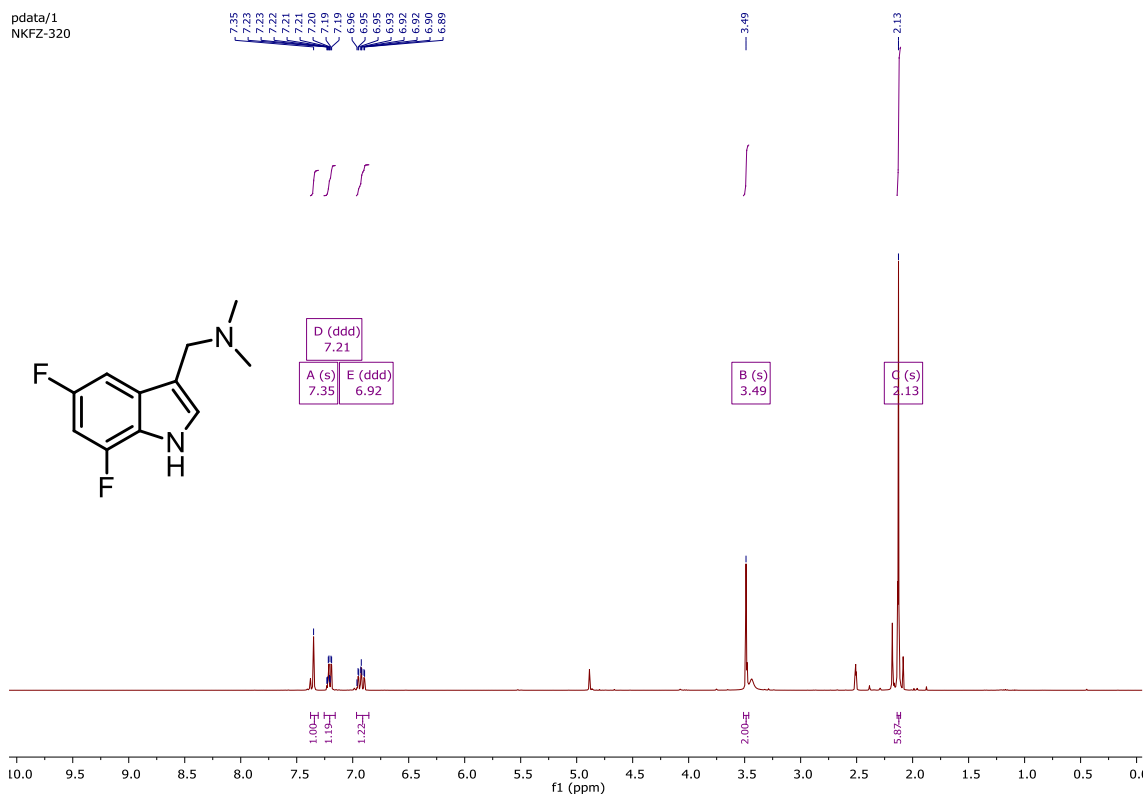
### 6.1.45. <sup>19</sup>F NMR 5-Fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (56)

pdata/1  
NKFZ-341



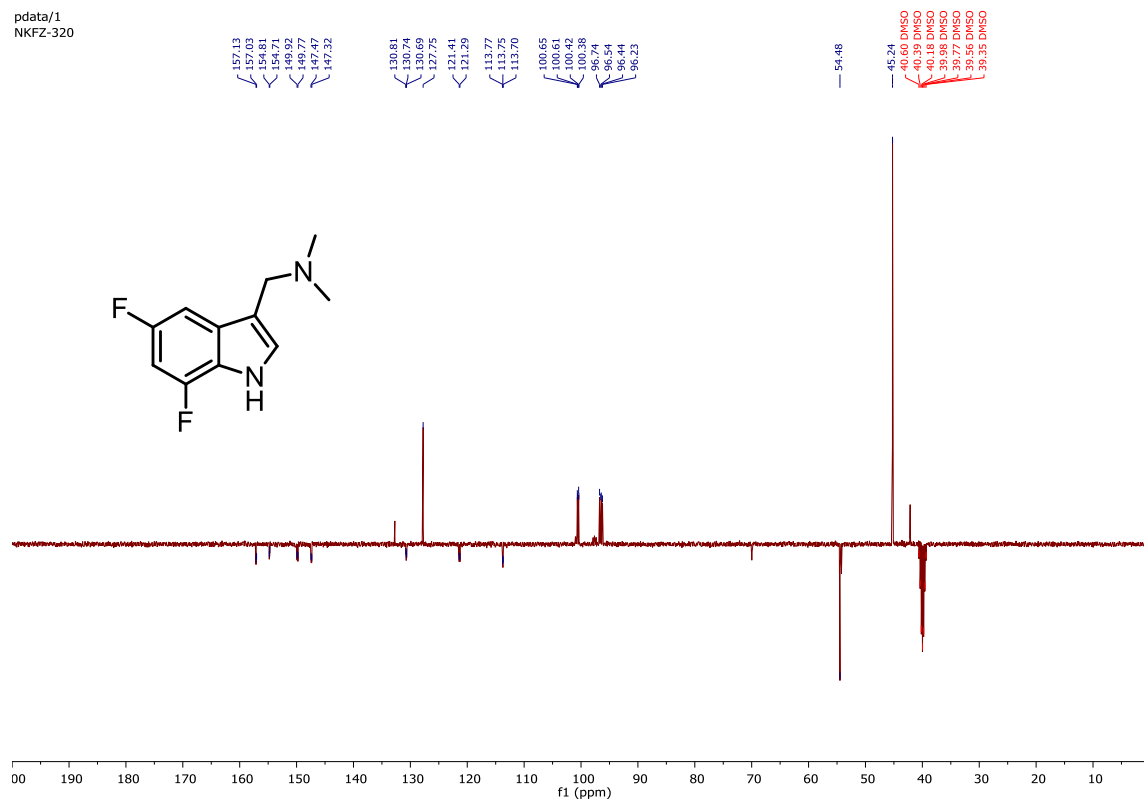
### 6.1.46. <sup>1</sup>H NMR von 1-(5,7-Difluor-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamin (48)

pdata/1  
NKFZ-320



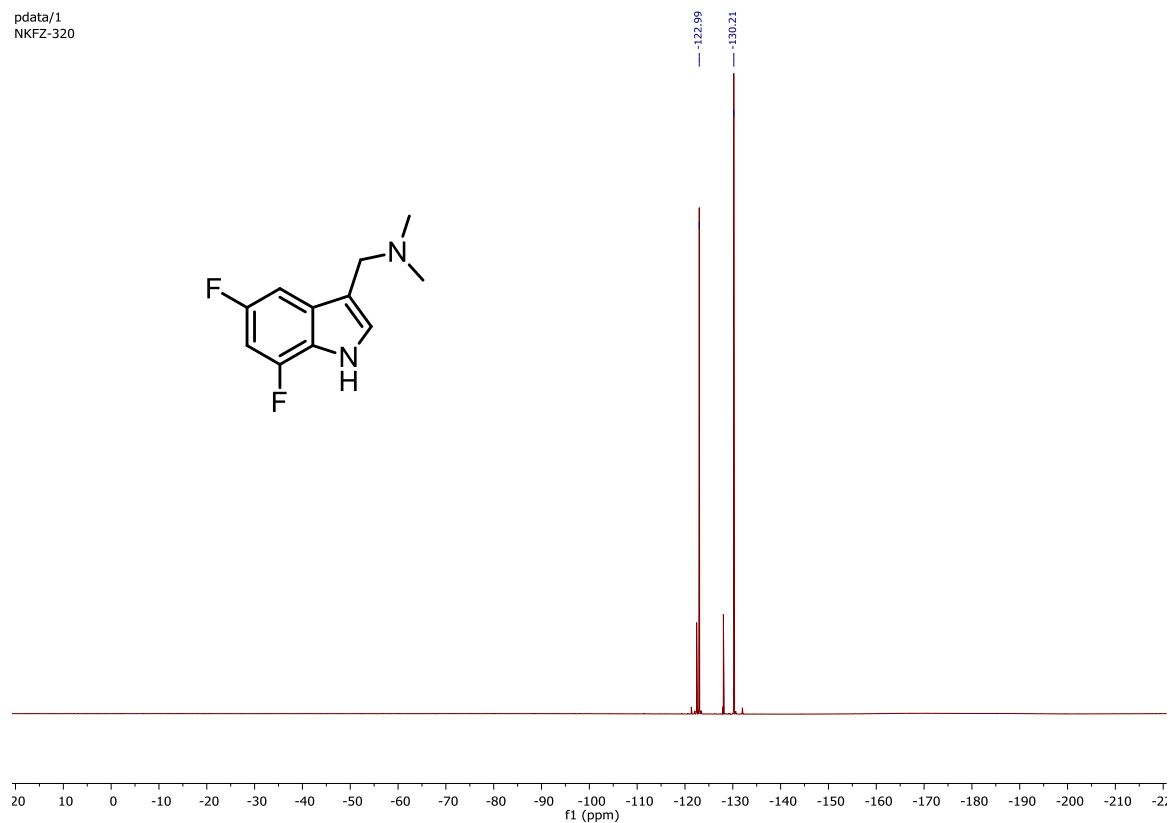
### 6.1.47. <sup>13</sup>C NMR von 1-(5,7-Difluor-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamin (48)

pdata/1  
NKFZ-320



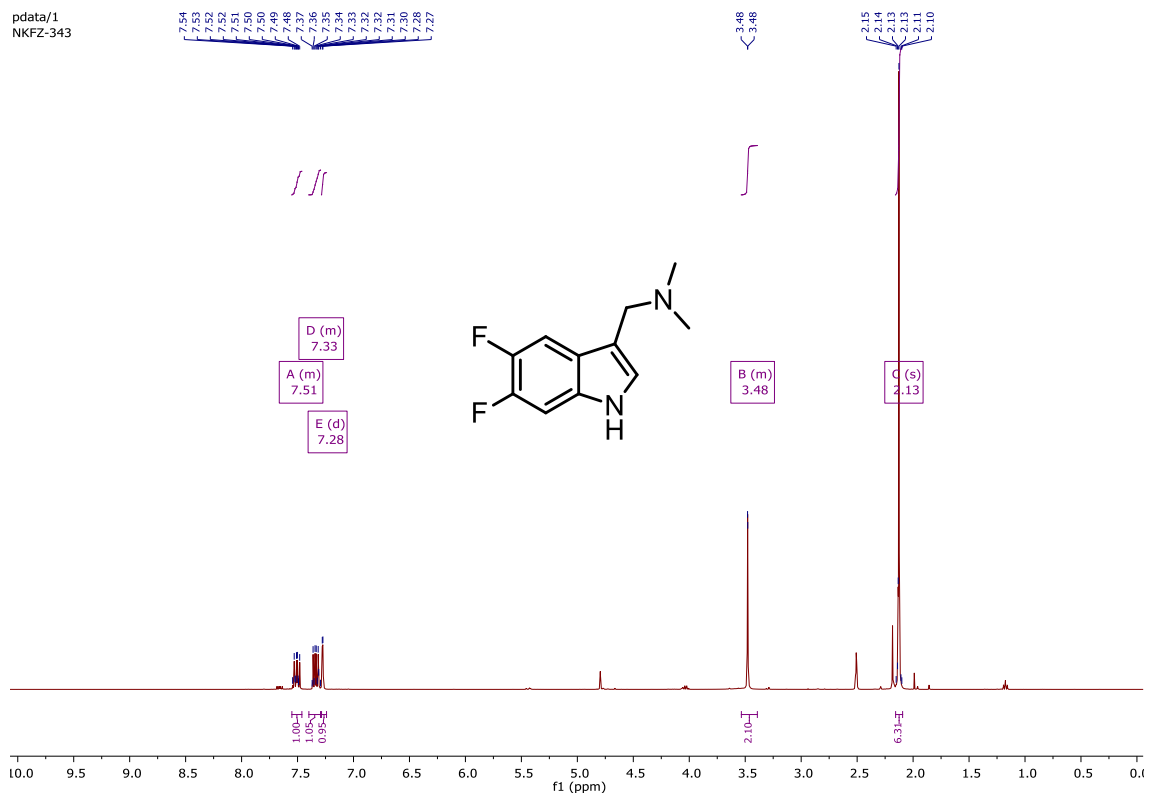
### 6.1.48. <sup>19</sup>F NMR von 1-(5,7-Difluor-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamin (48)

pdata/1  
NKFZ-320

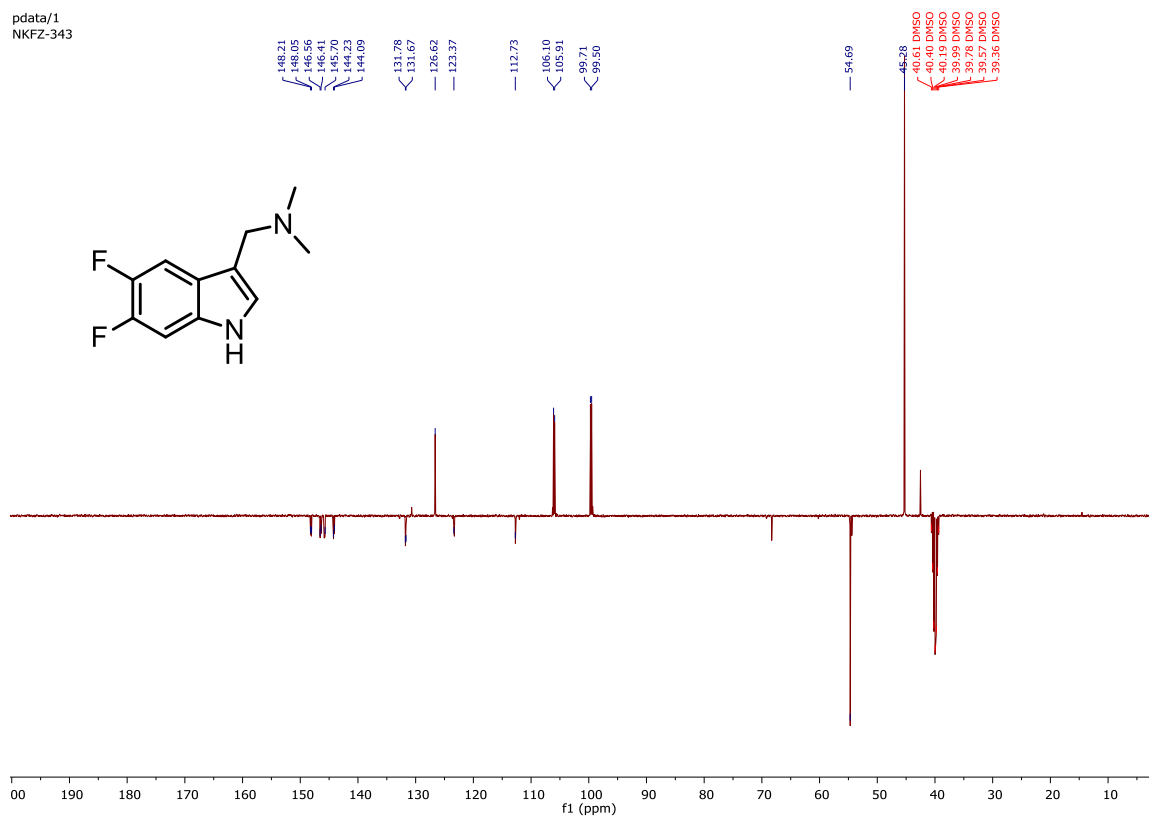




6.1.49. <sup>1</sup>H 1-(5,6-Difluor-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamin  
(59)

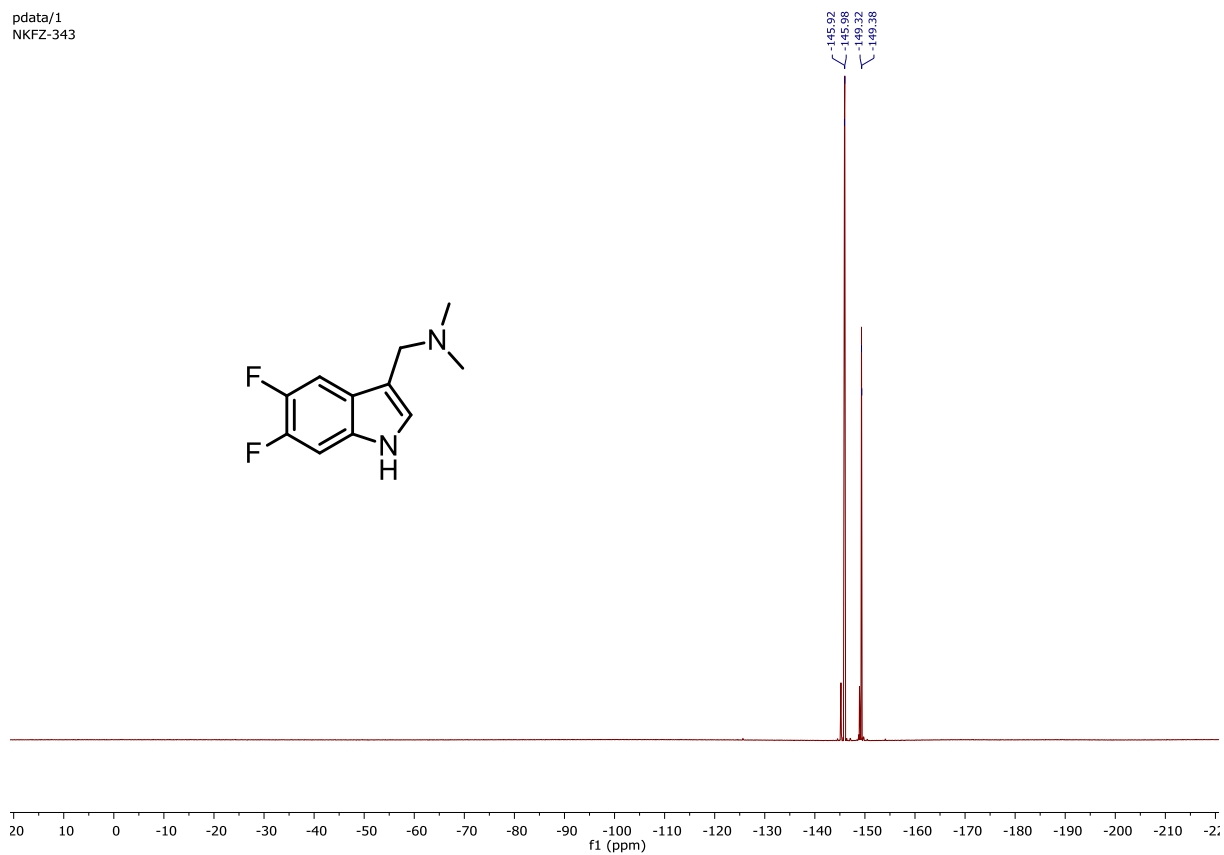
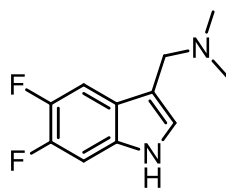


6.1.50. <sup>13</sup>C 1-(5,6-Difluor-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamin  
(59)



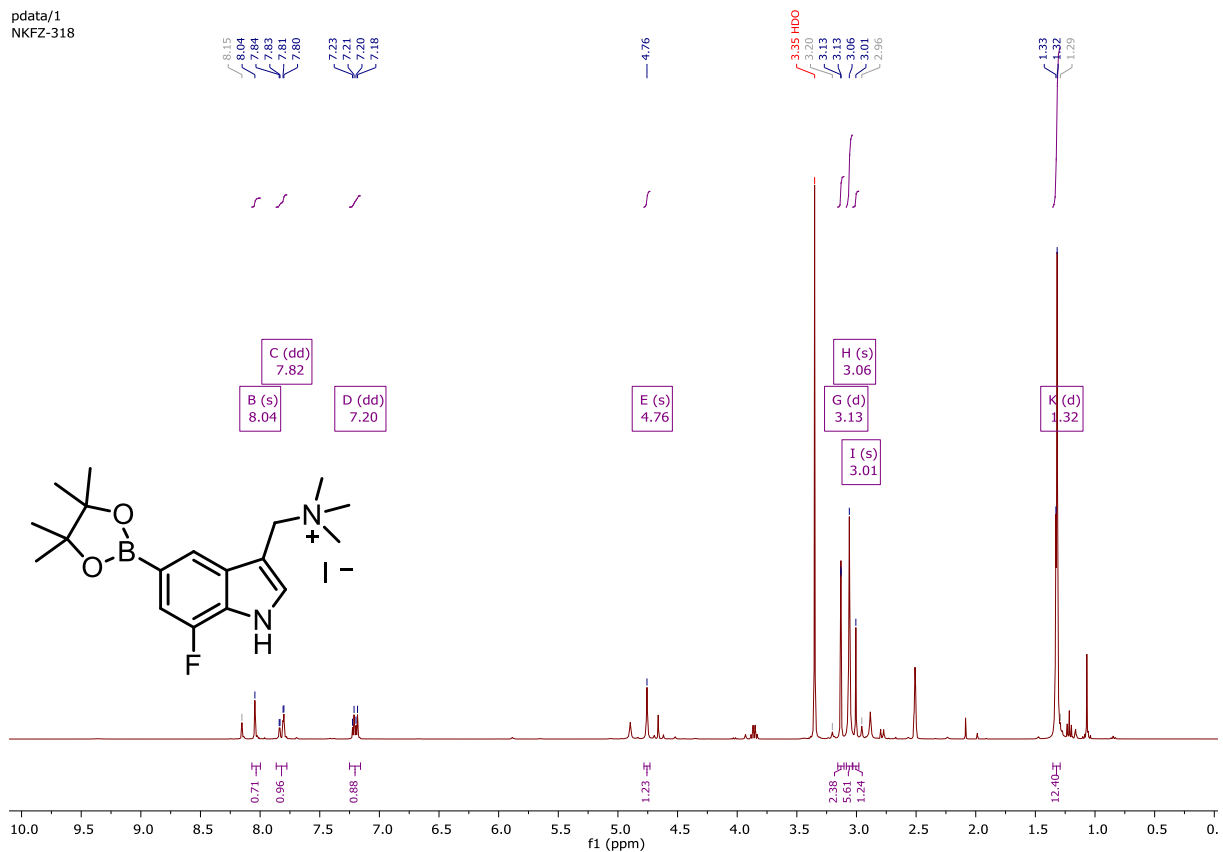
# 6.1.51. <sup>19</sup>F 1-(5,6-Difluor-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamin (59)

pdata/1  
NKfZ-343



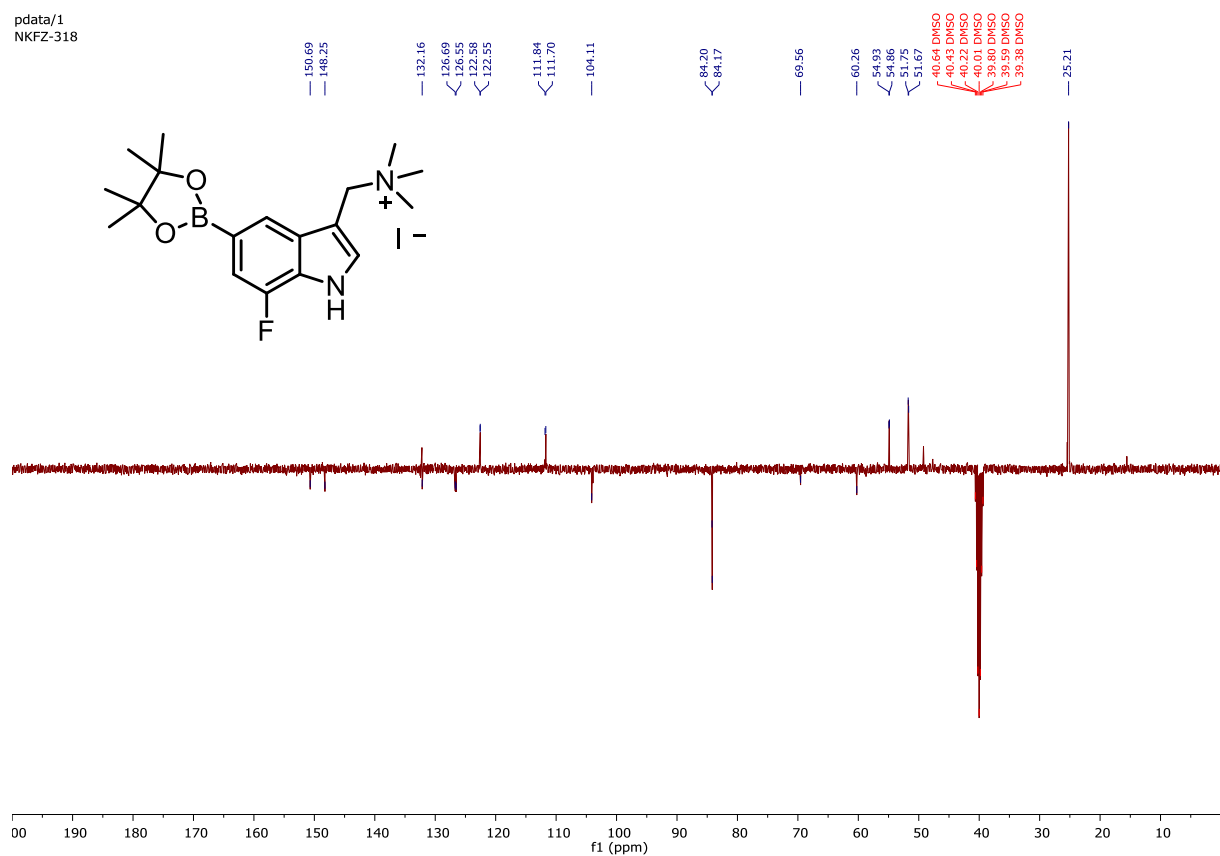
# 6.1.52. <sup>1</sup>H NMR von 1-(7-fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (41)

pdata/1  
NKFZ-318



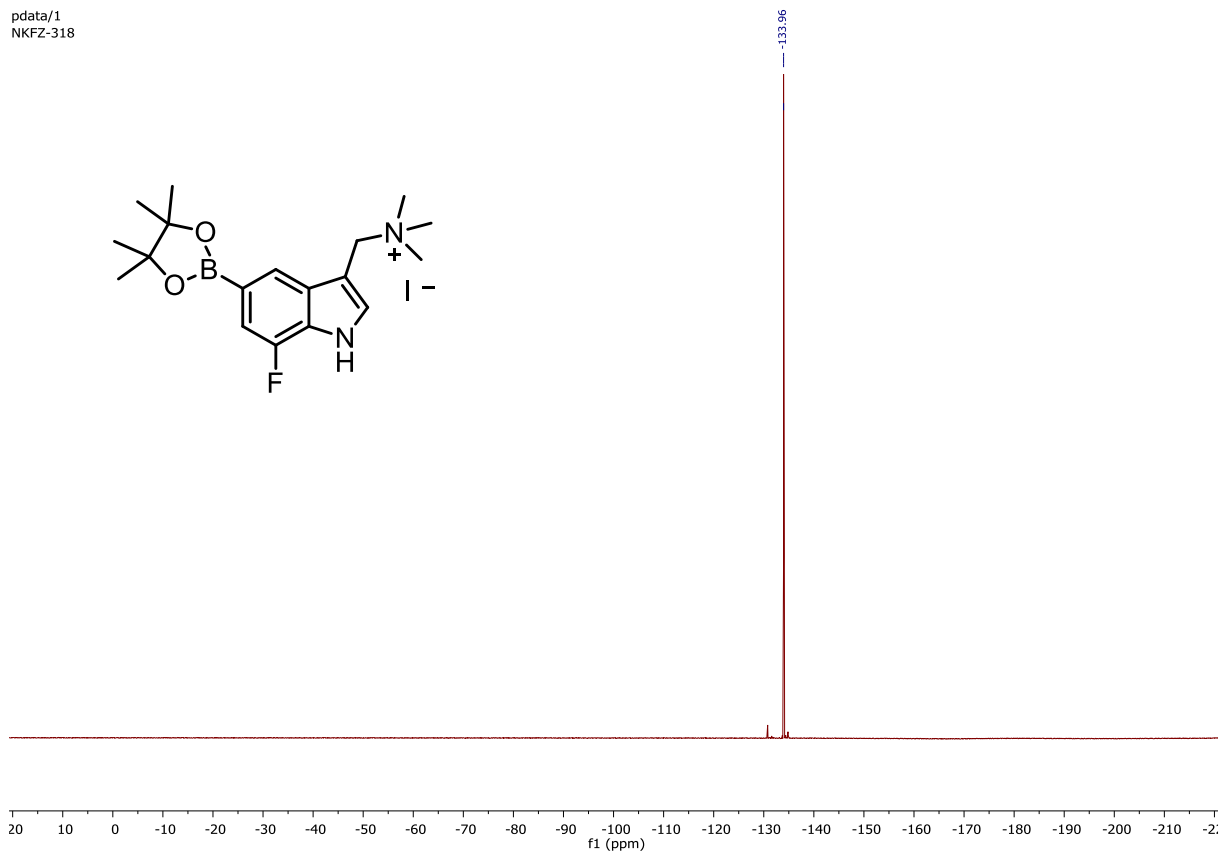
### 6.1.53. $^{13}\text{C}$ NMR von 1-(7-fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (41)

pdata/1  
NKFZ-318



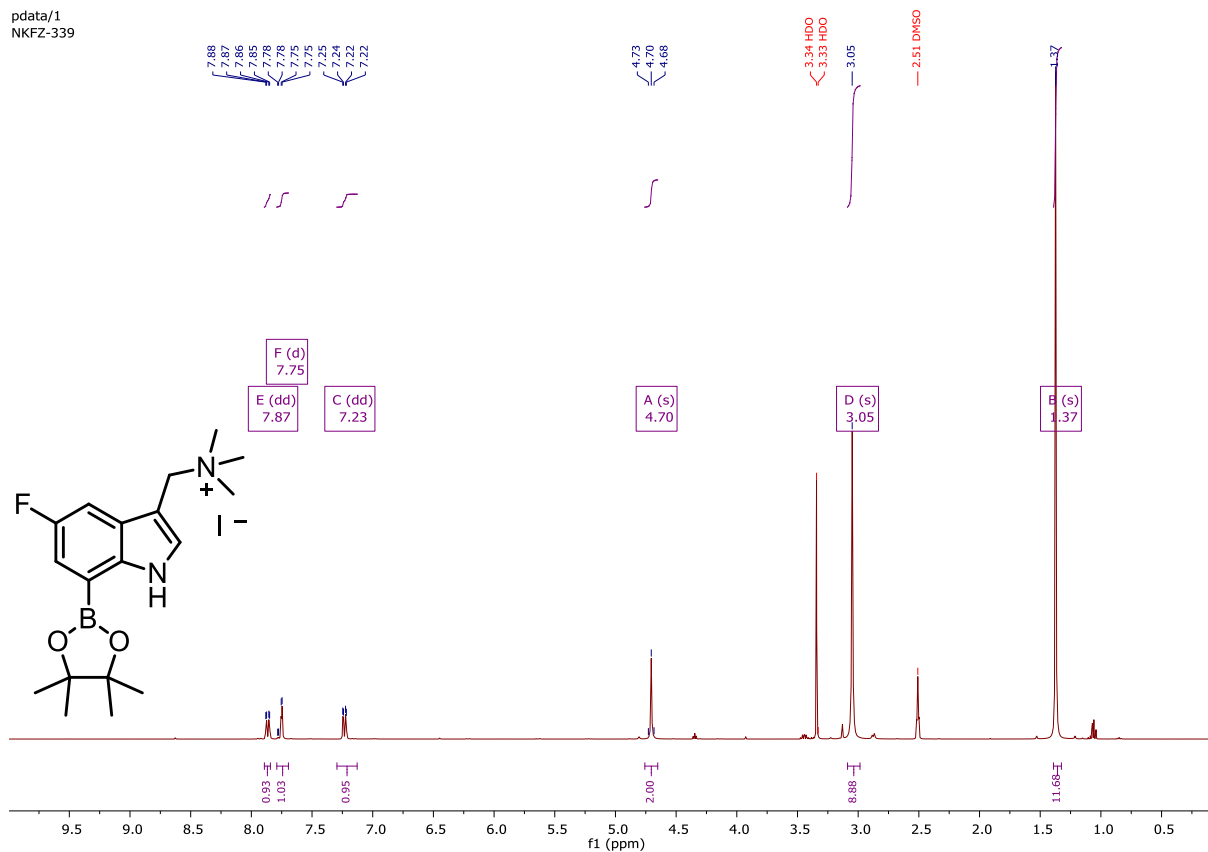
6.1.54.  $^{19}\text{F}$  NMR von 1-(7-fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (41)

pdata/1  
NKFZ-318



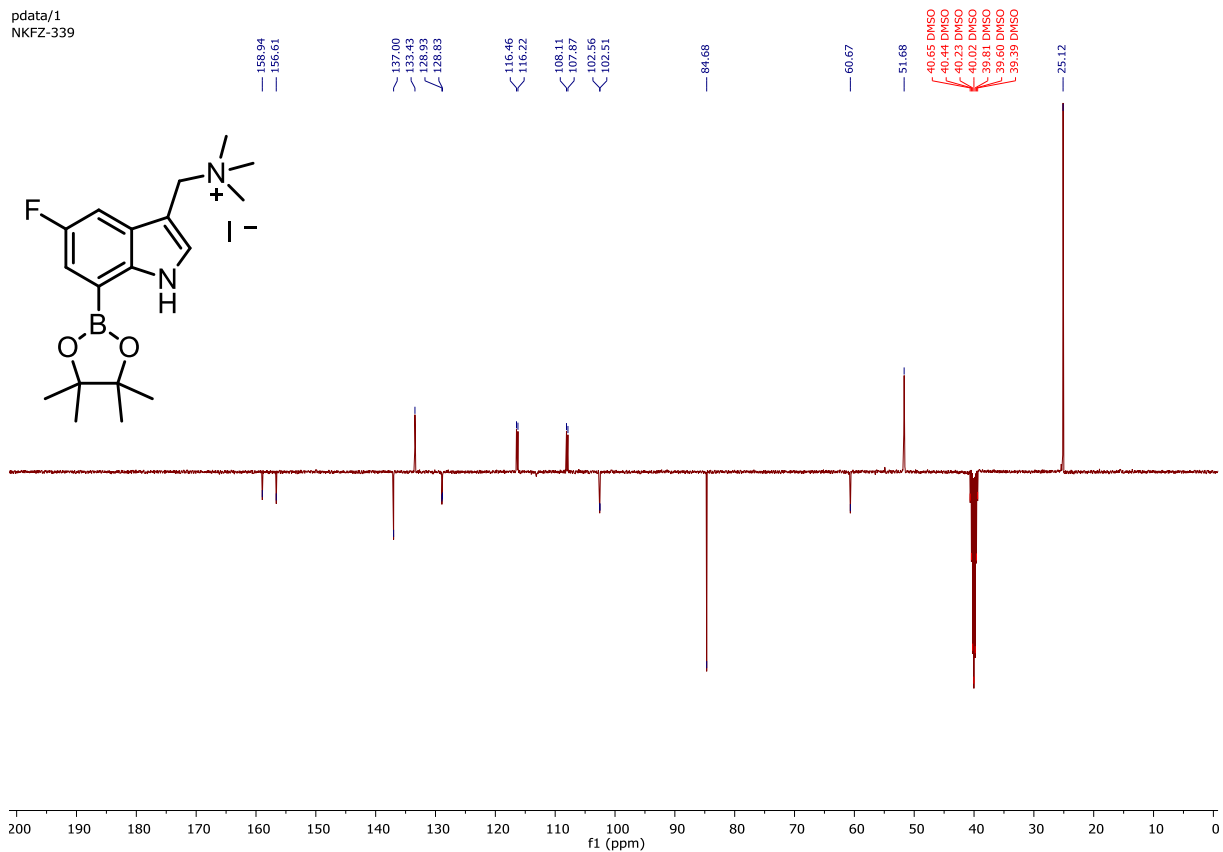
# 6.1.55. $^1\text{H}$ NMR von 1-(5-fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (42)

pdata/1  
NKFZ-339



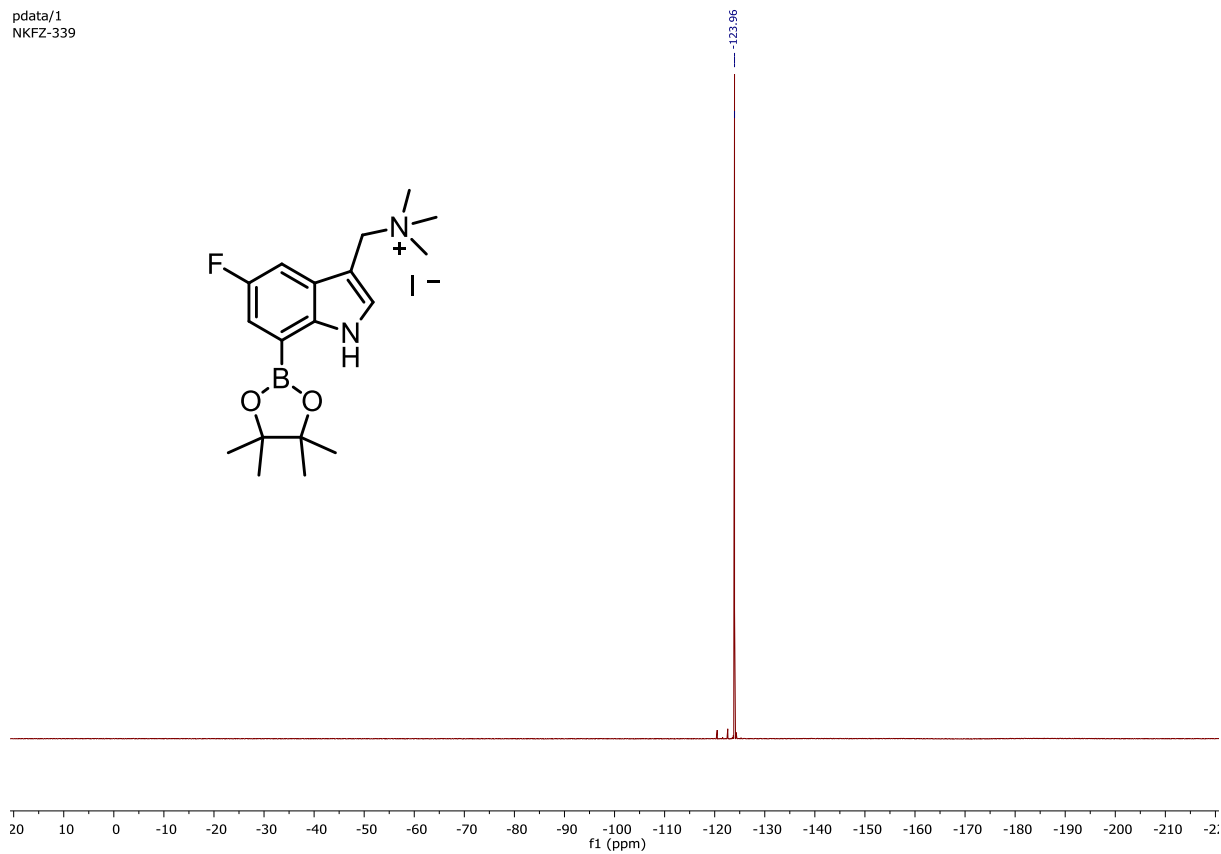
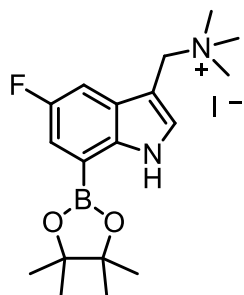
# 6.1.56. $^{13}\text{C}$ NMR von 1-(5-fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (42)

pdata/1  
NKfZ-339



6.1.57.  $^{19}\text{F}$  NMR von 1-(5-fluor-7-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (42)

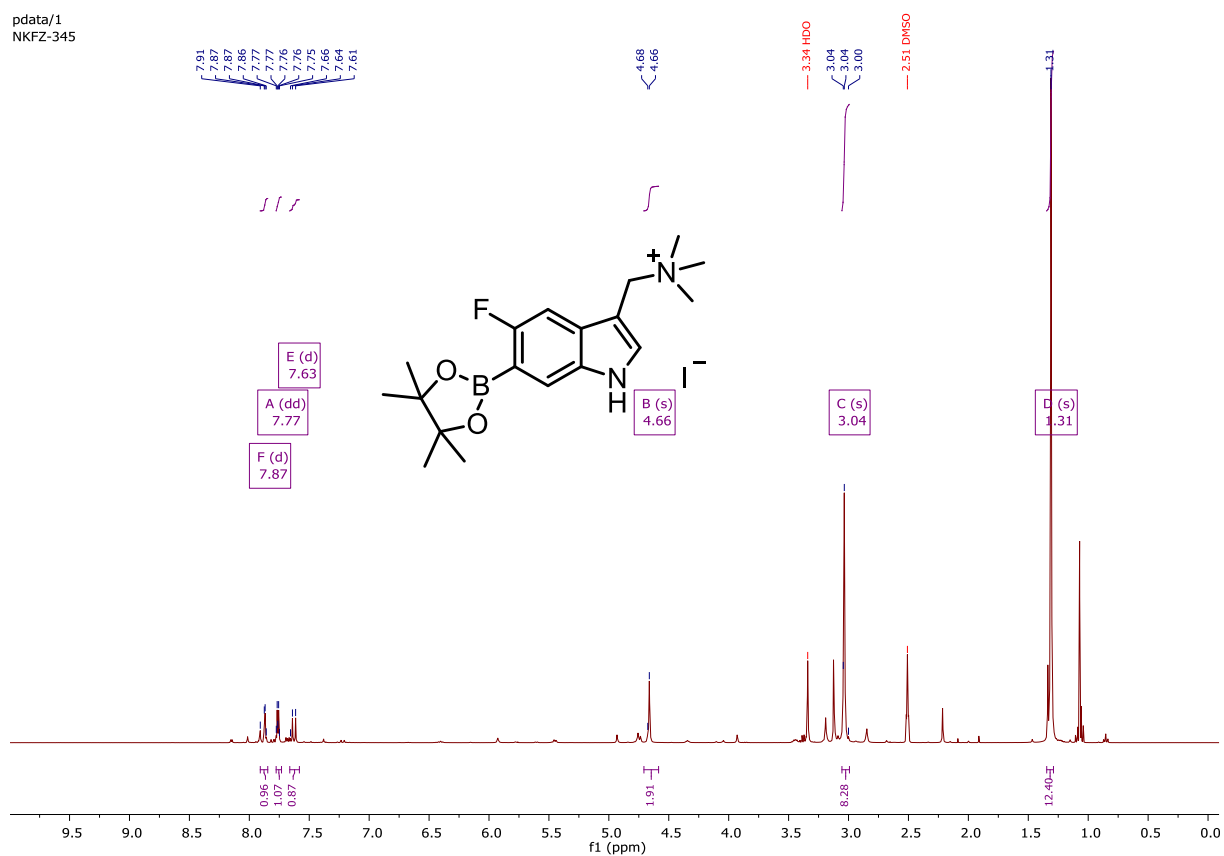
pdata/1  
NKFZ-339





# 6.1.58. <sup>1</sup>H NMR von 1-(5-fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (57)

pdata/1  
NKFZ-345



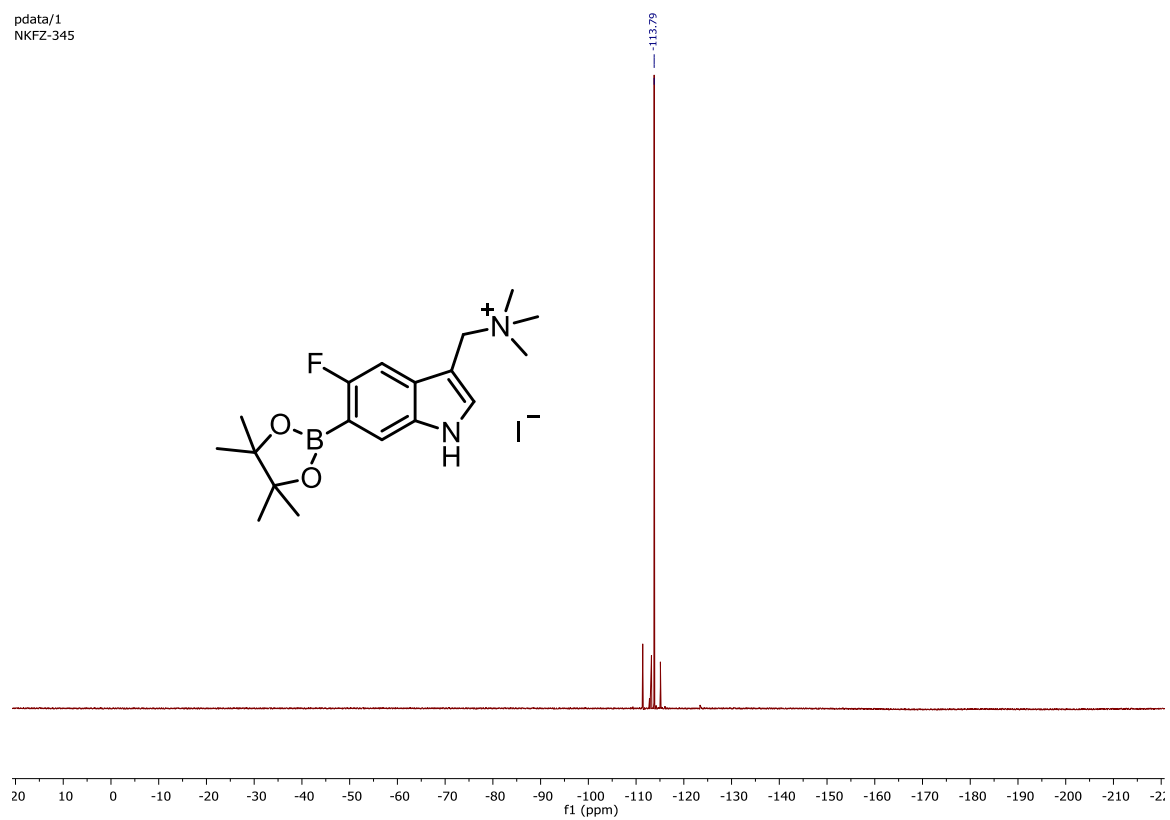
# 6.1.59. <sup>13</sup>C NMR von 1-(5-fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (57)

pdata/1  
NKfZ-345

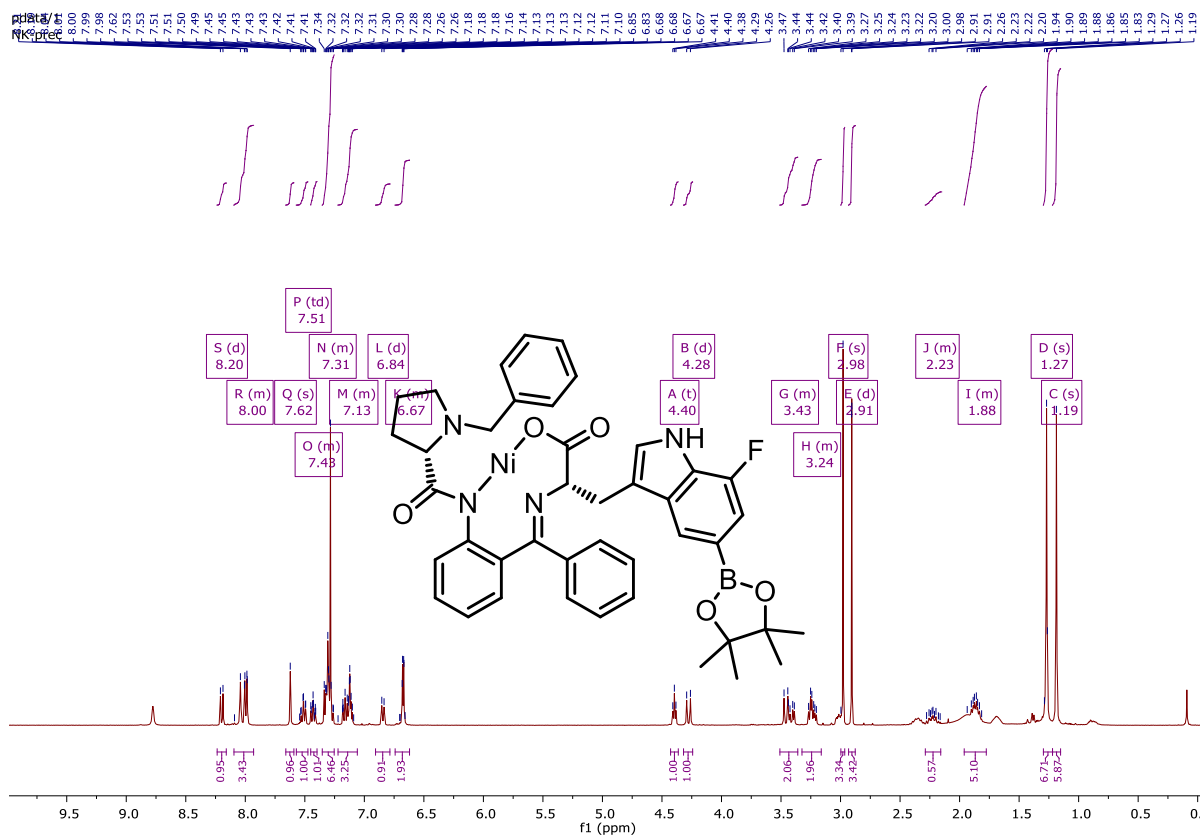


### 6.1.60. $^{19}\text{F}$ NMR von 1-(5-fluor-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodid (57)

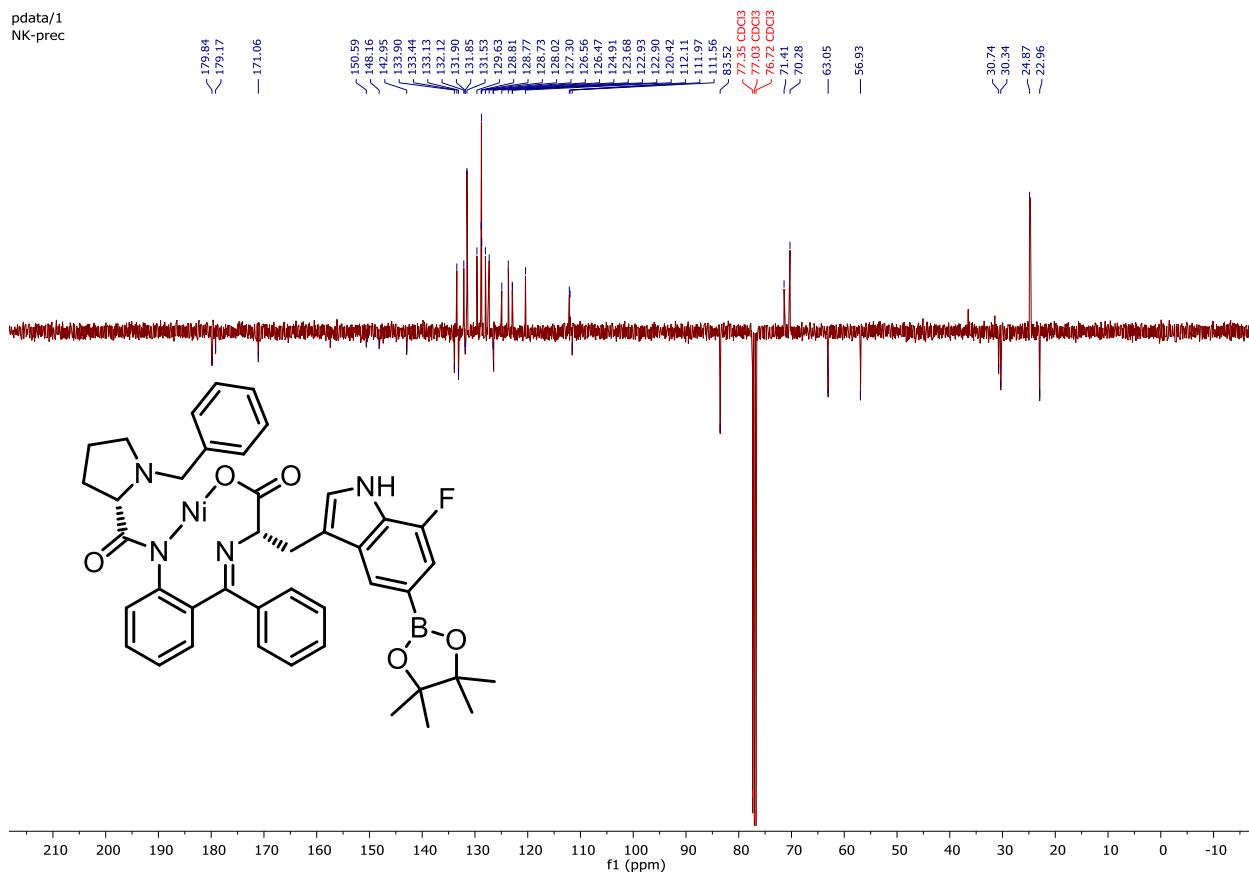
pdata/1  
NKFZ-345



### 6.1.61. <sup>1</sup>H NMR von (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-FTrp (27)

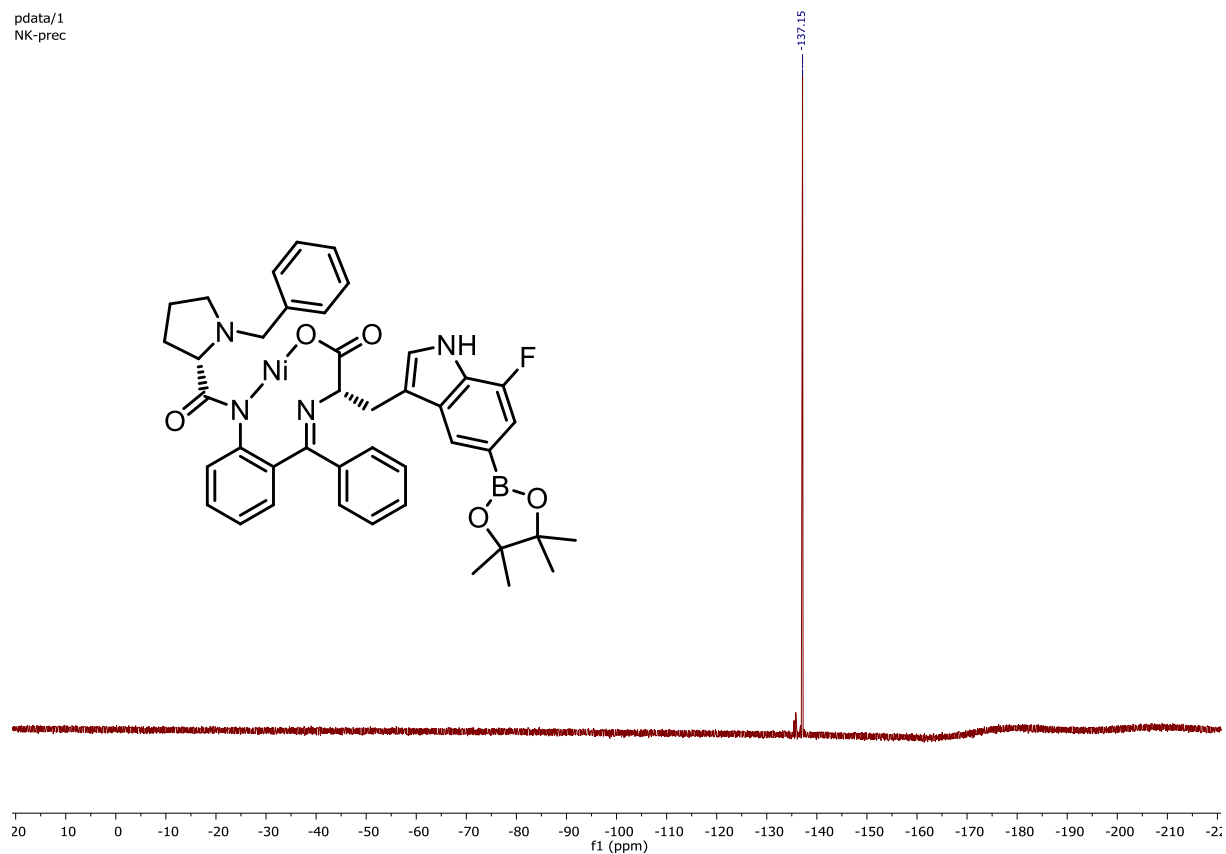


### 6.1.62. <sup>13</sup>C NMR von (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-FTrp (27)

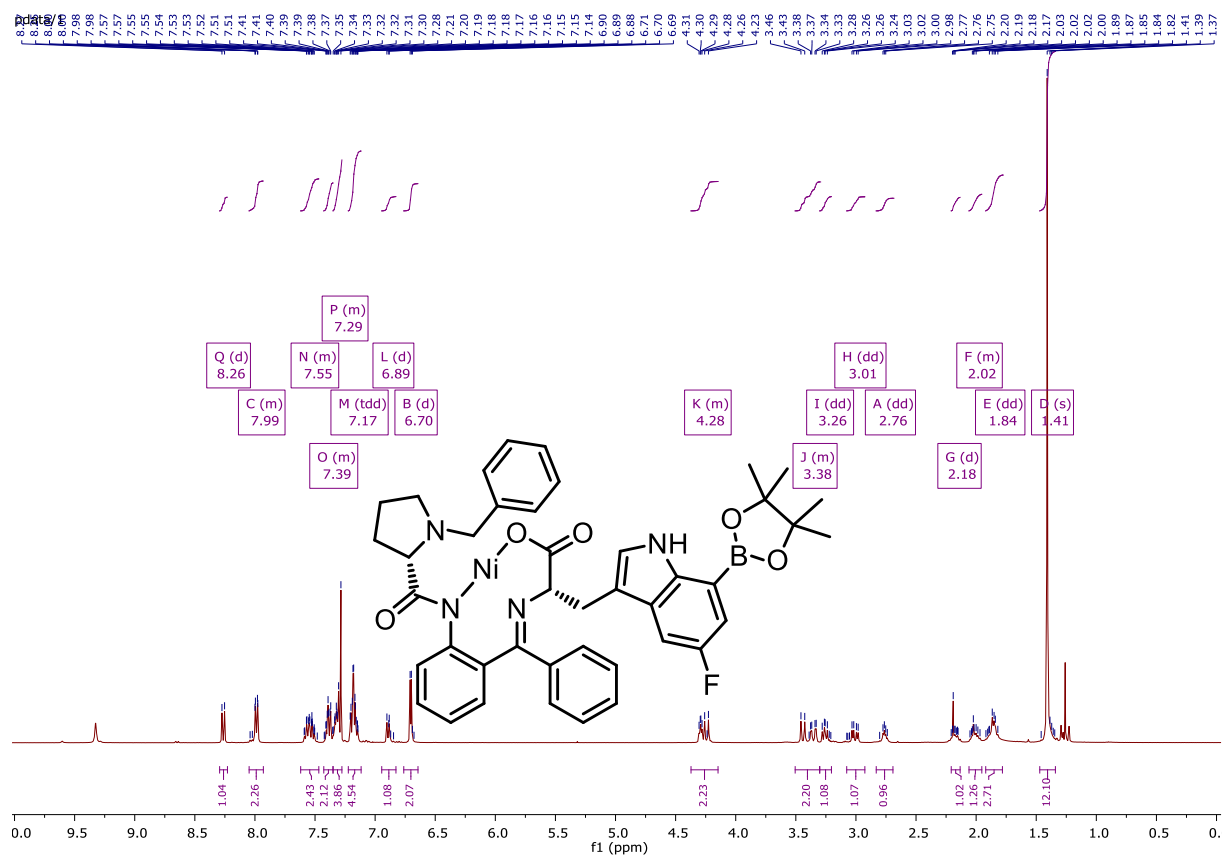


### 6.1.63. $^{19}\text{F}$ NMR von (S,S)-Ni-BPB-5-BPin-7-FTrp (27)

pdata/1  
NK-prec

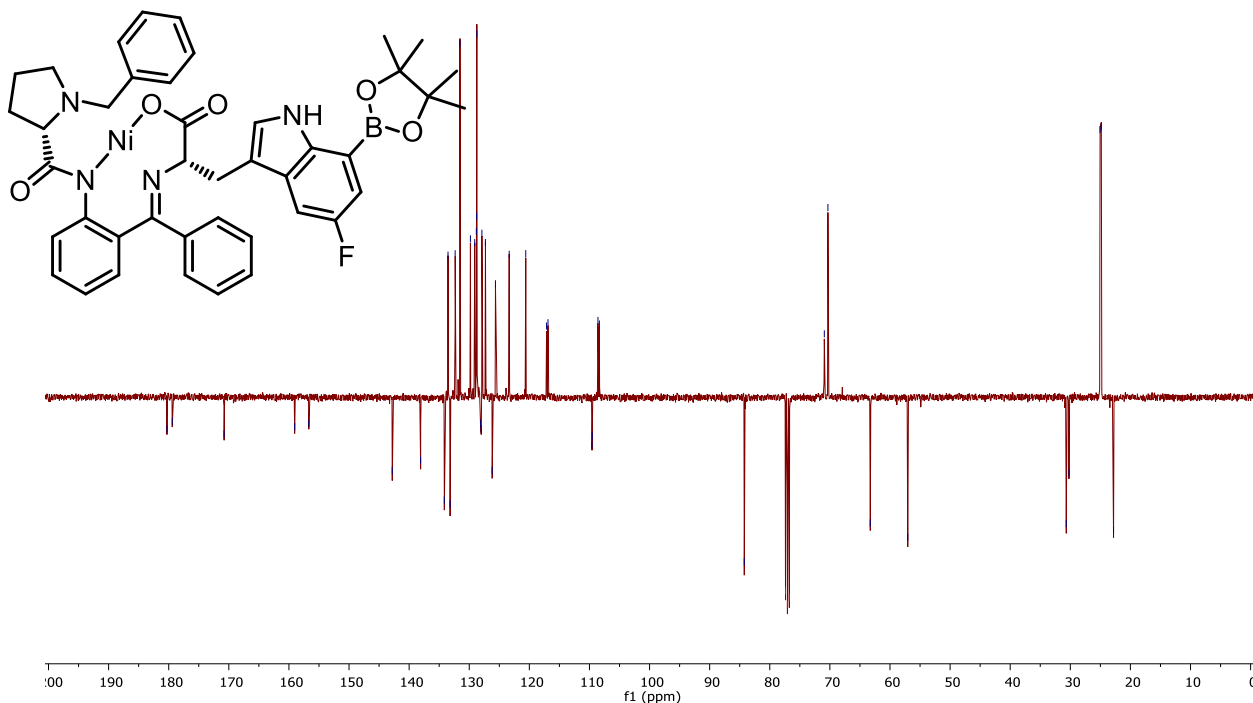


### 6.1.64. $^1\text{H}$ NMR von (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTrp (28)



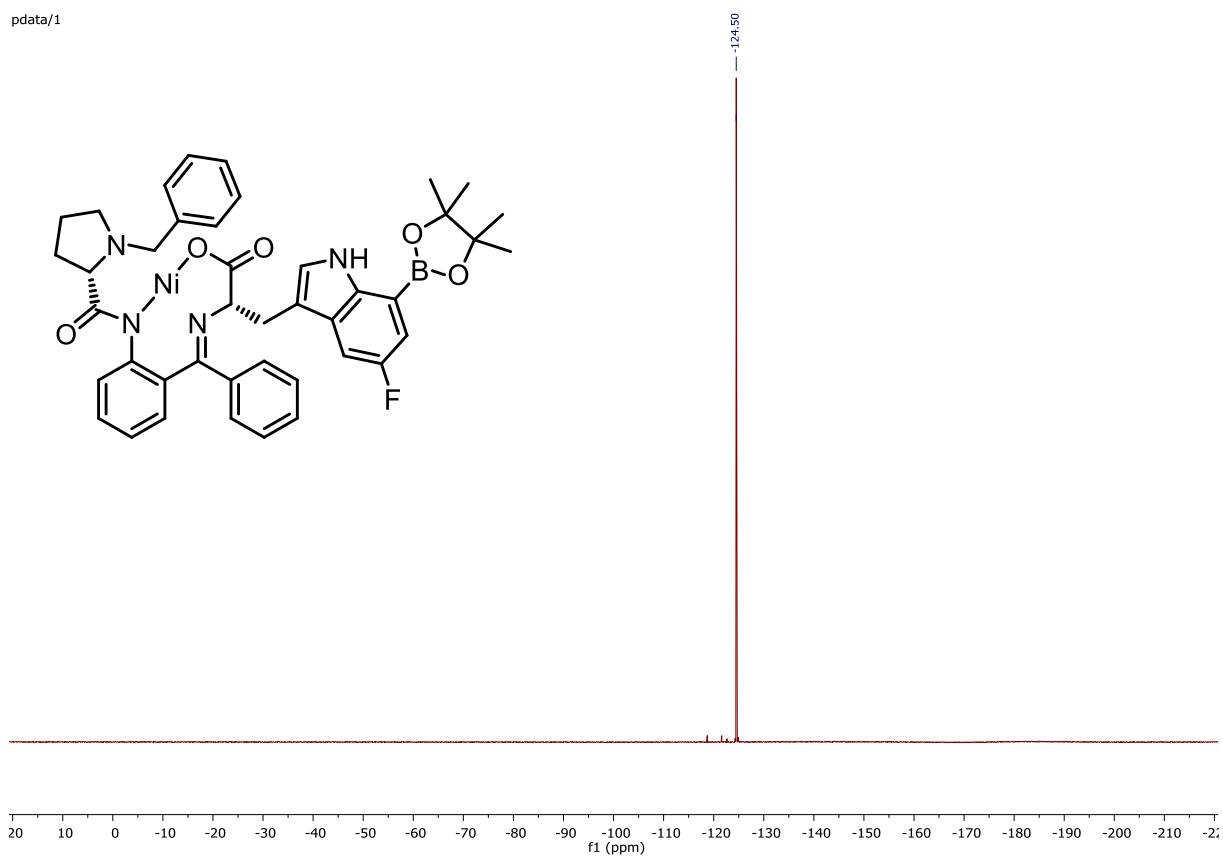
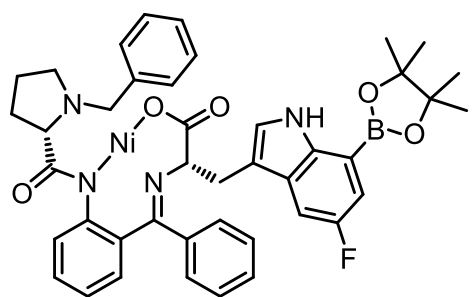
### 6.1.65. $^{13}\text{C}$ NMR von (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTrp (28)

pdata/1

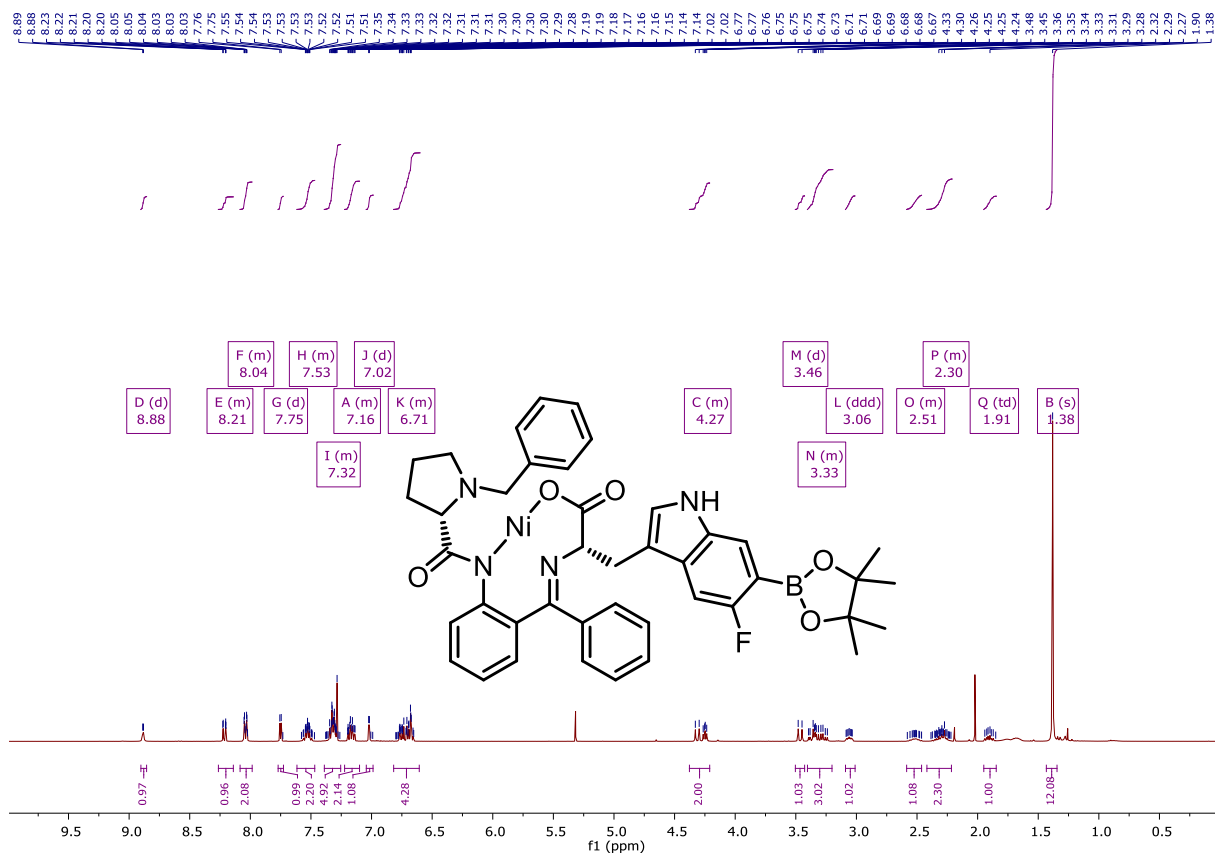


### 6.1.66. $^{19}\text{F}$ NMR von (S,S)-Ni-BPB-7-BPin-5-FTrp (28)

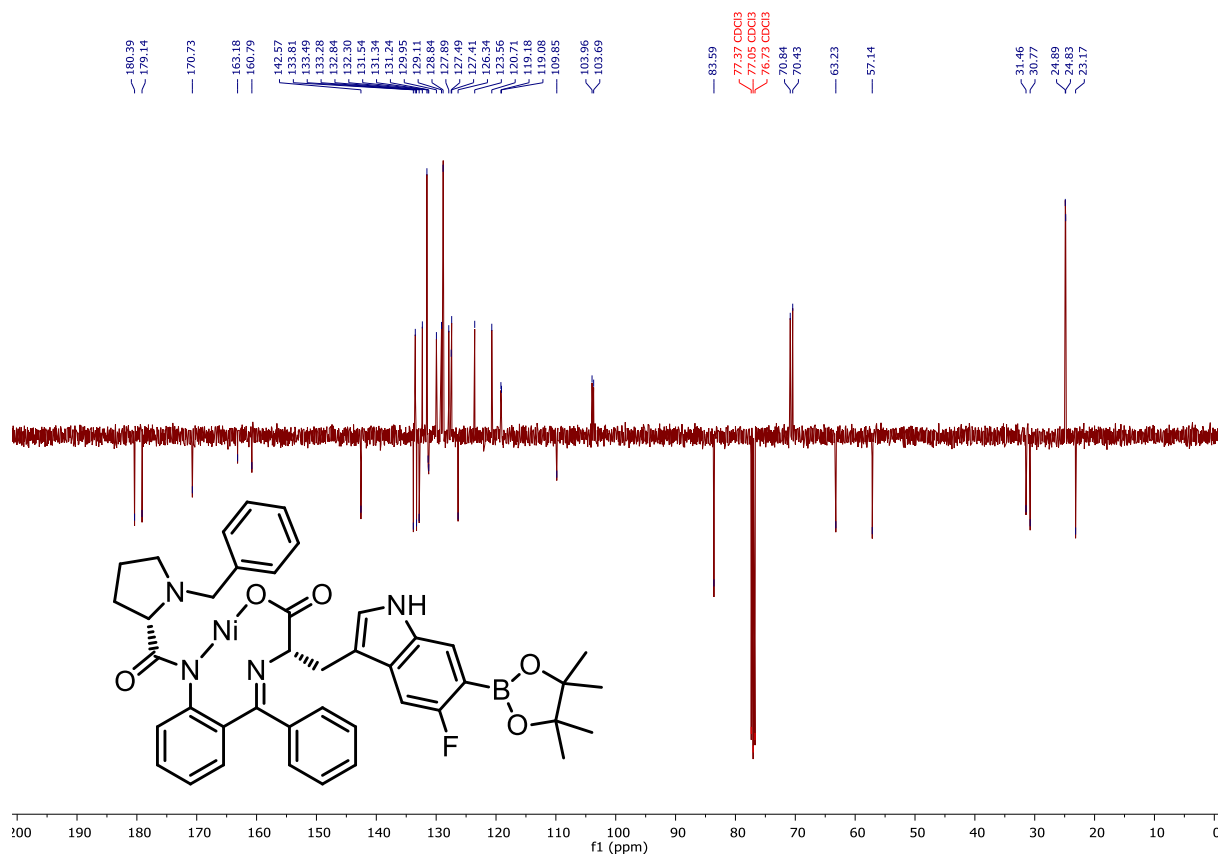
pdata/1



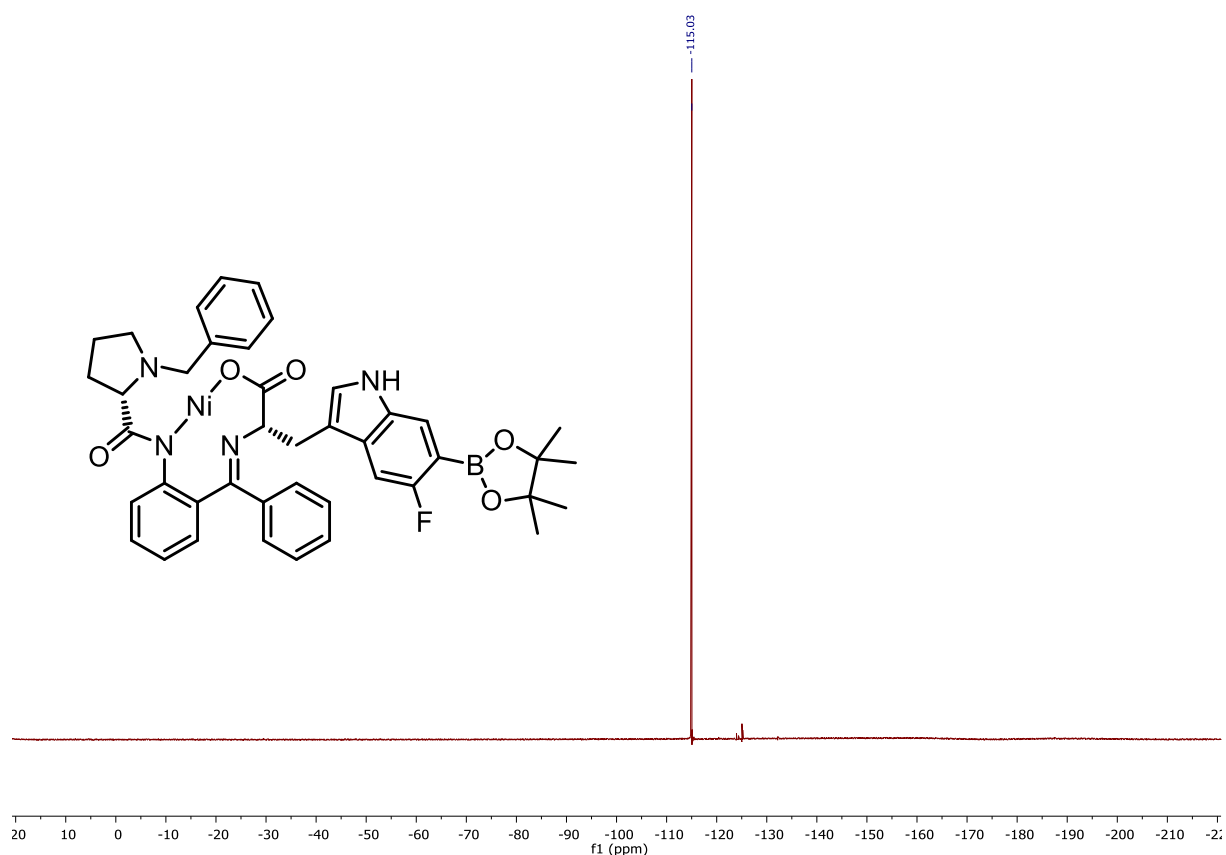
### 6.1.67. <sup>1</sup>H NMR von (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTrp (54)



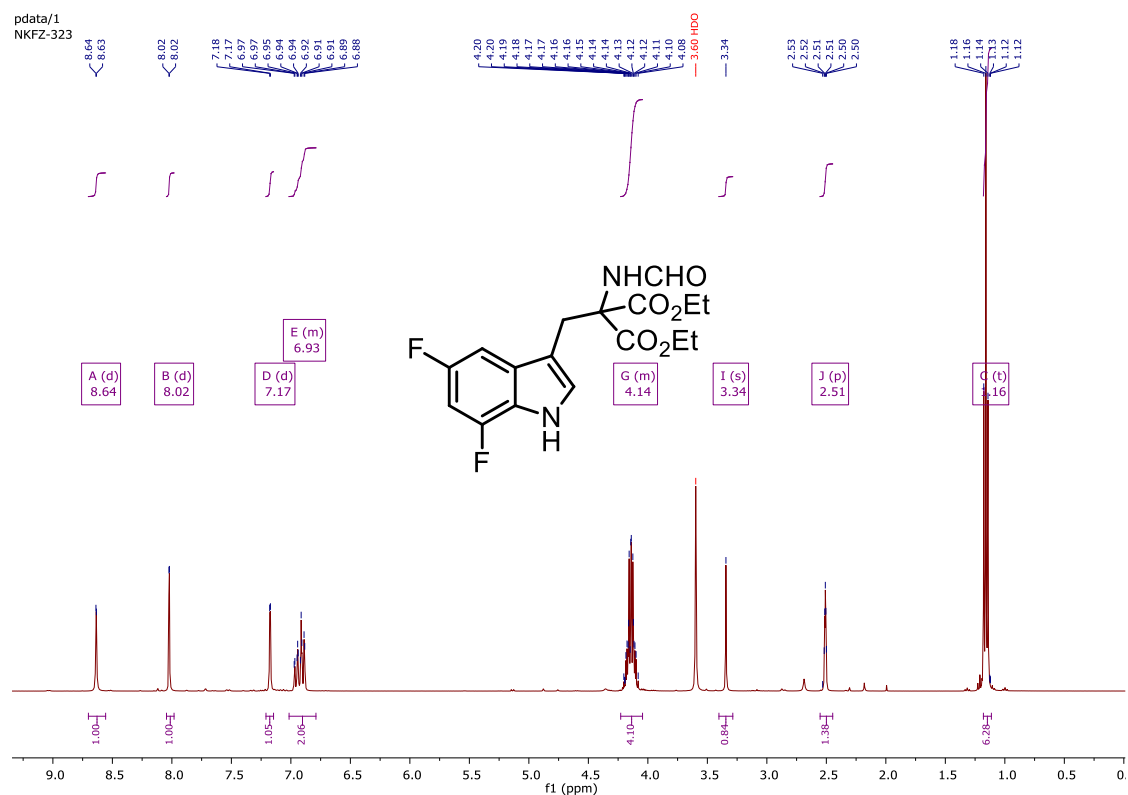
### 6.1.68. <sup>13</sup>C NMR von (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTrp (54)



### 6.1.69. $^{19}\text{F}$ NMR von (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-5-FTrp (54)

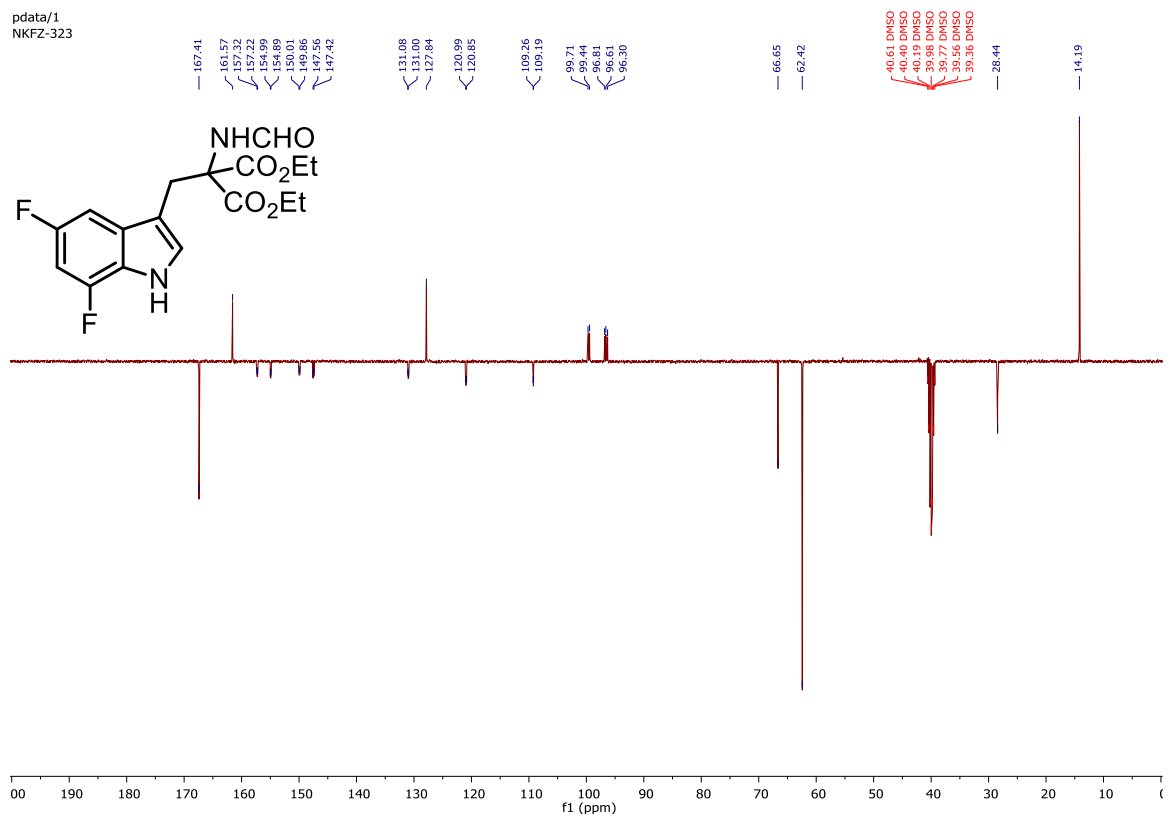


### 6.1.70. $^1\text{H}$ NMR von Diethyl-2-[(5,7-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (49)

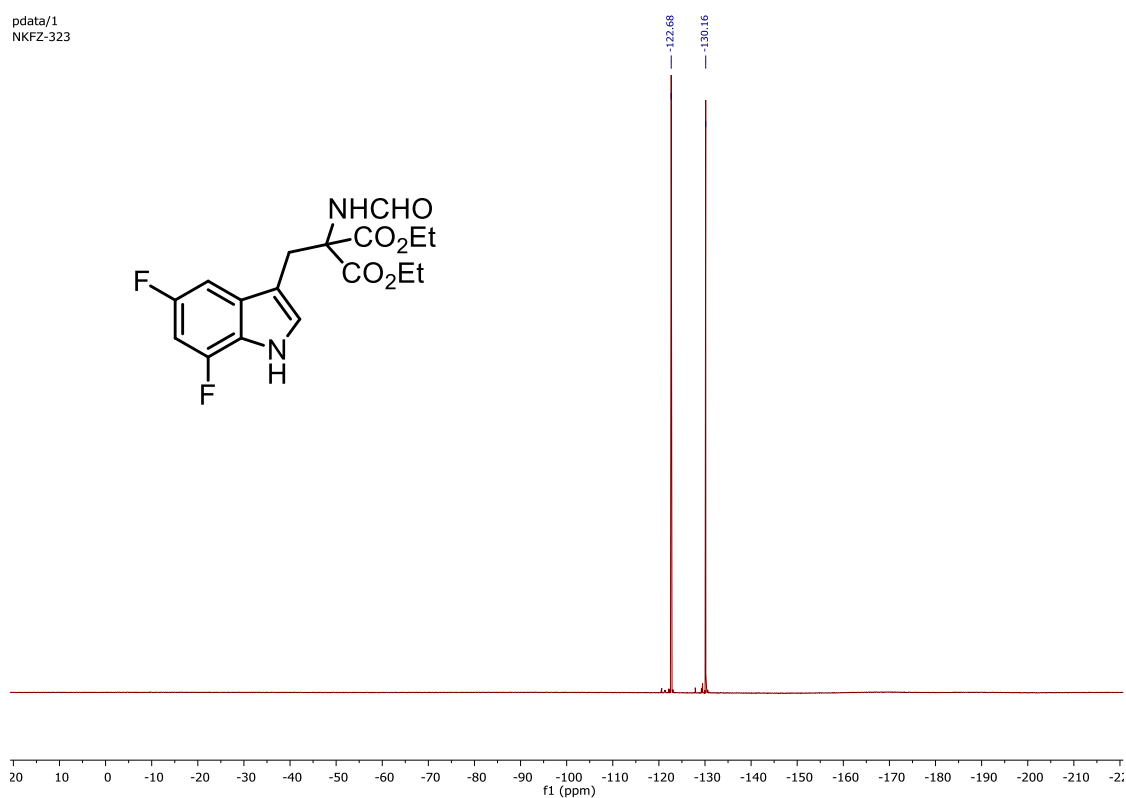




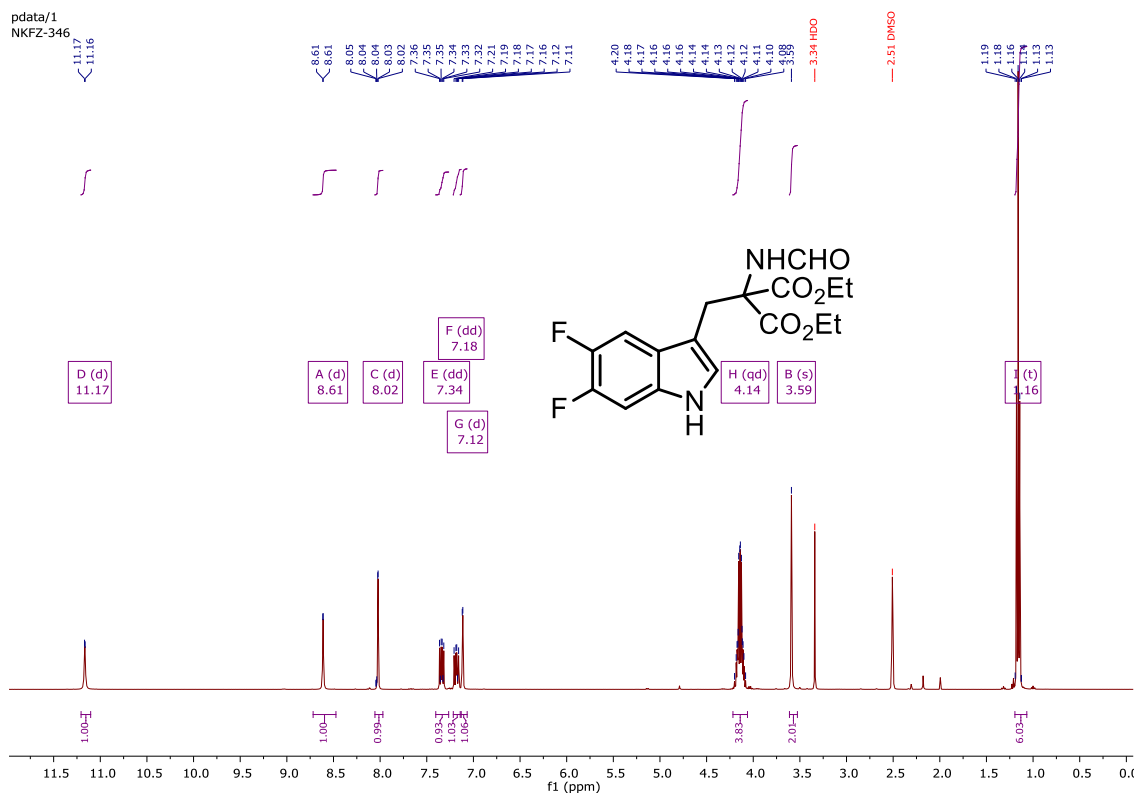
### 6.1.71. <sup>13</sup>C NMR von Diethyl-2-[(5,7-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (49)



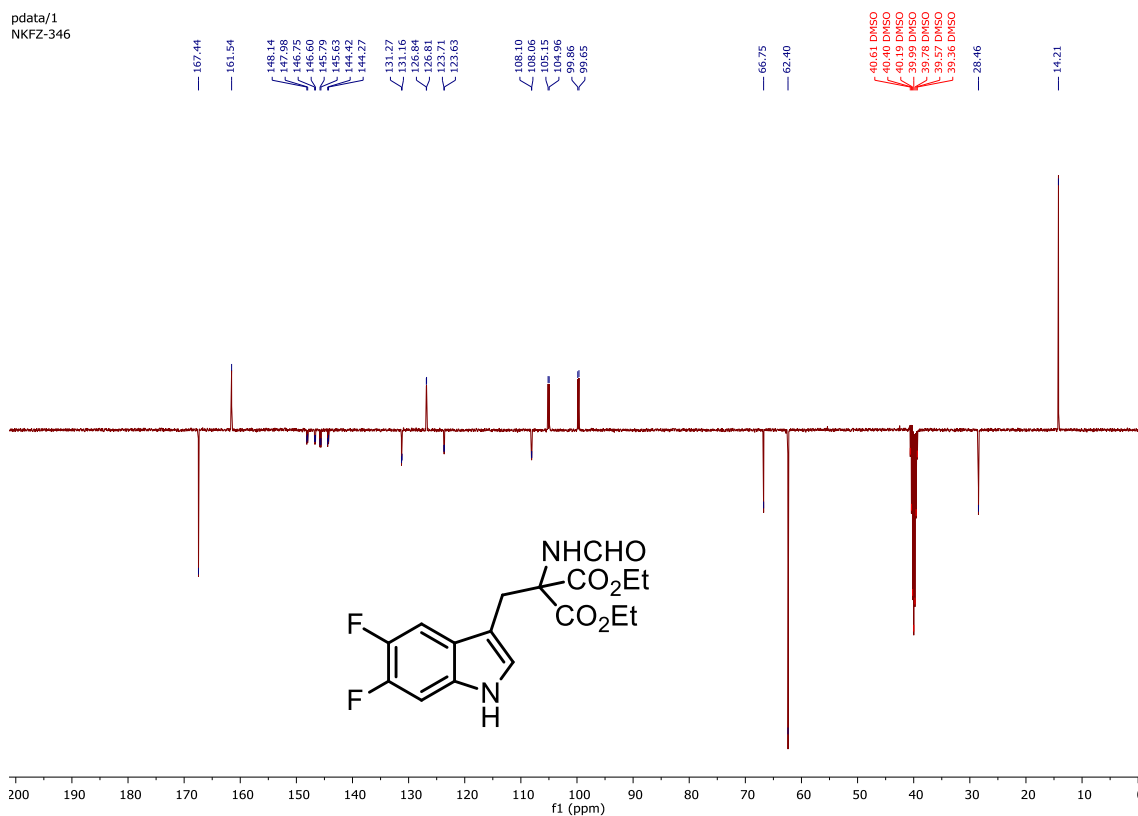
### 6.1.72. <sup>19</sup>F NMR von Diethyl-2-[(5,7-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (49)



### 6.1.73. <sup>1</sup>H NMR von Diethyl-2-[(5,6-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (60)

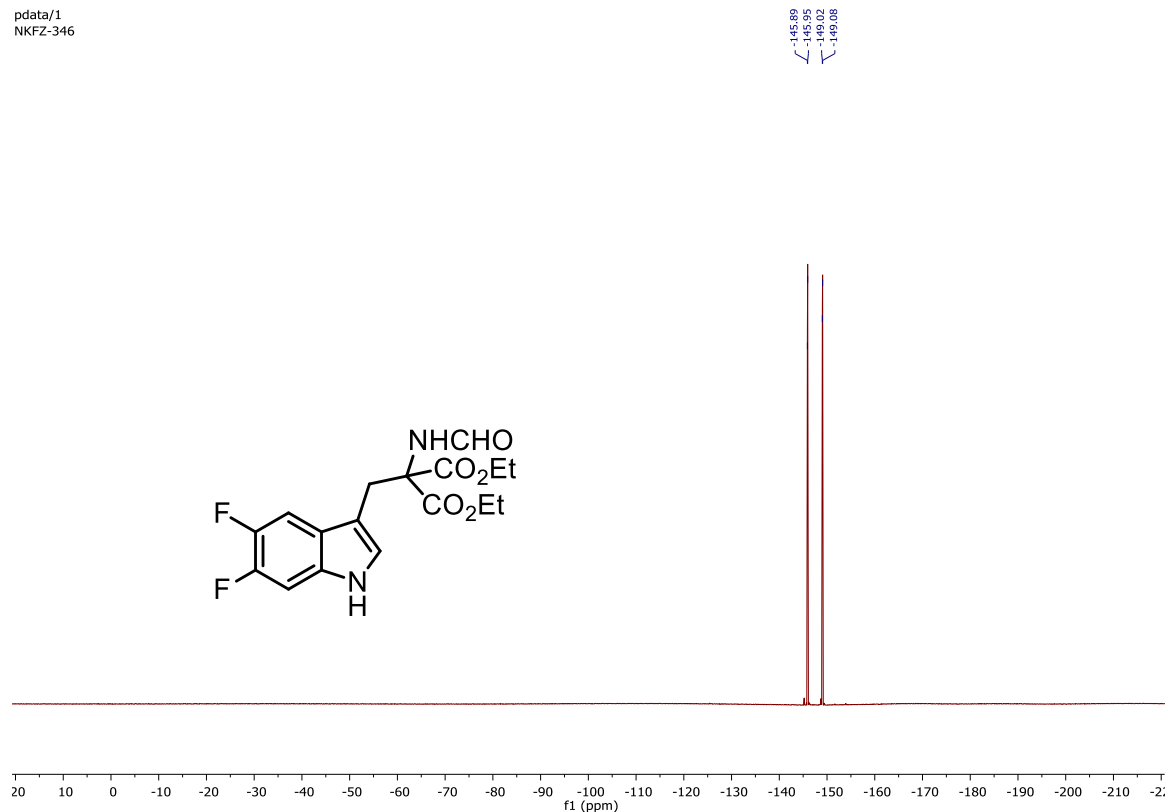


### 6.1.74. <sup>13</sup>C NMR von Diethyl-2-[(5,6-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (60)



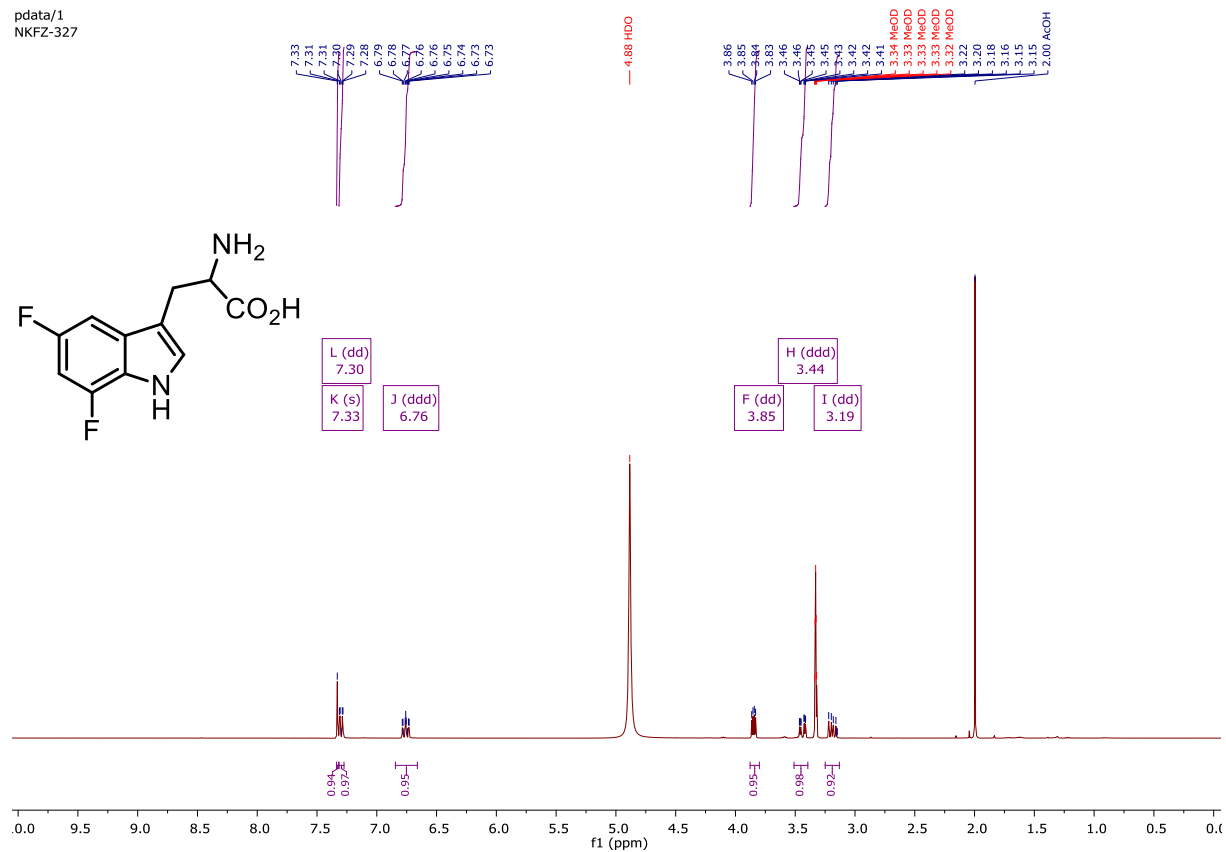
## 6.1.75. $^{19}\text{F}$ NMR von Diethyl-2-[(5,6-difluor-1H-indol-3-yl)methyl]-2-formamidomalonat (60)

pdata/1  
NKFZ-346

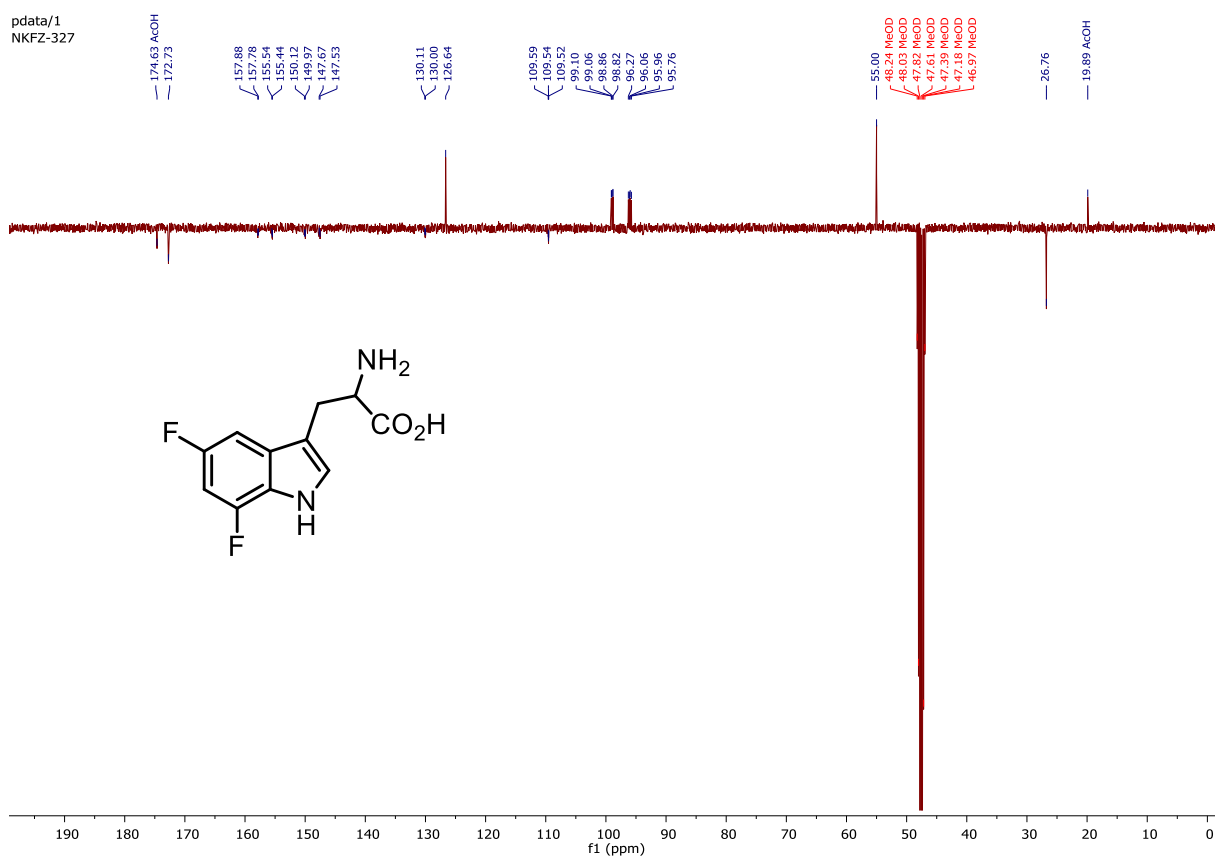


## 6.1.76. $^1\text{H}$ NMR von 5,7-Fluortryptophan (11)

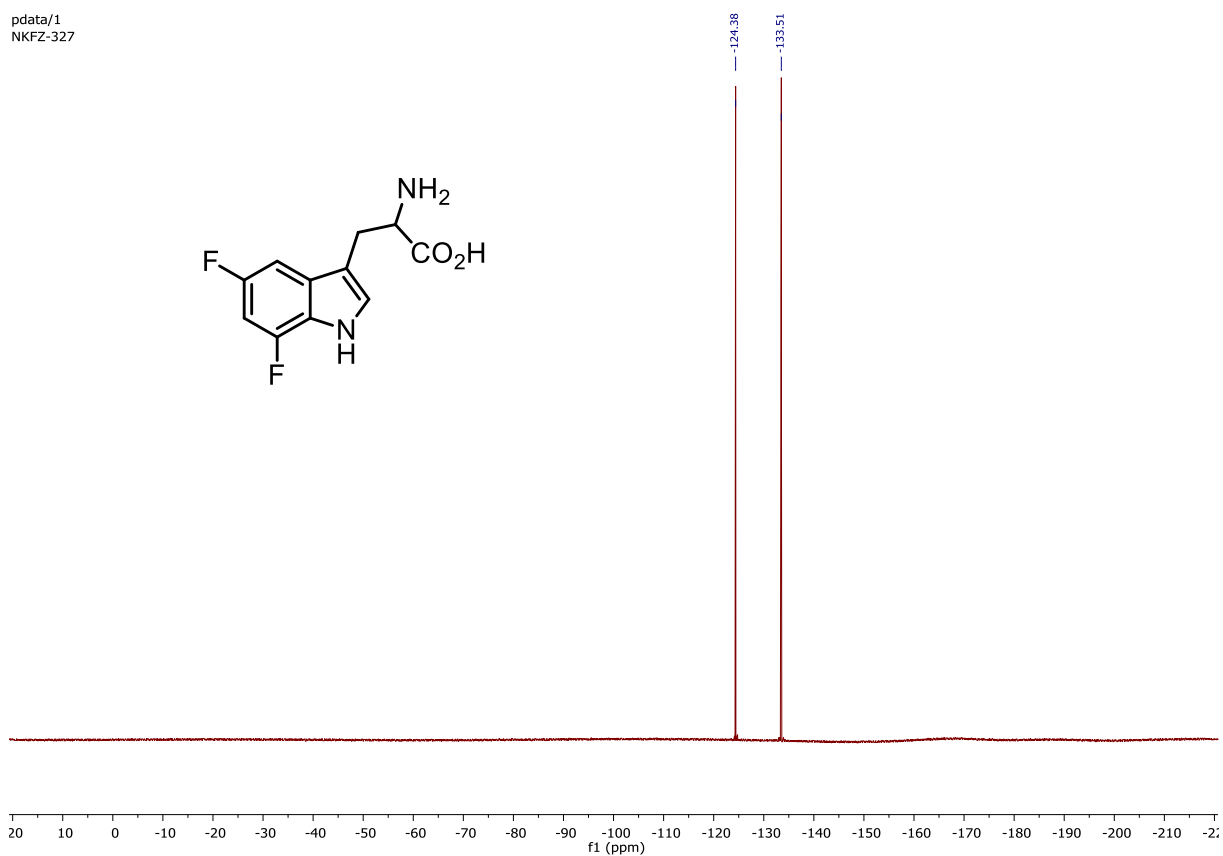
pdata/1  
NKFZ-327



## 6.1.77. <sup>13</sup>C NMR von 5,7-Fluortryptophan (11)

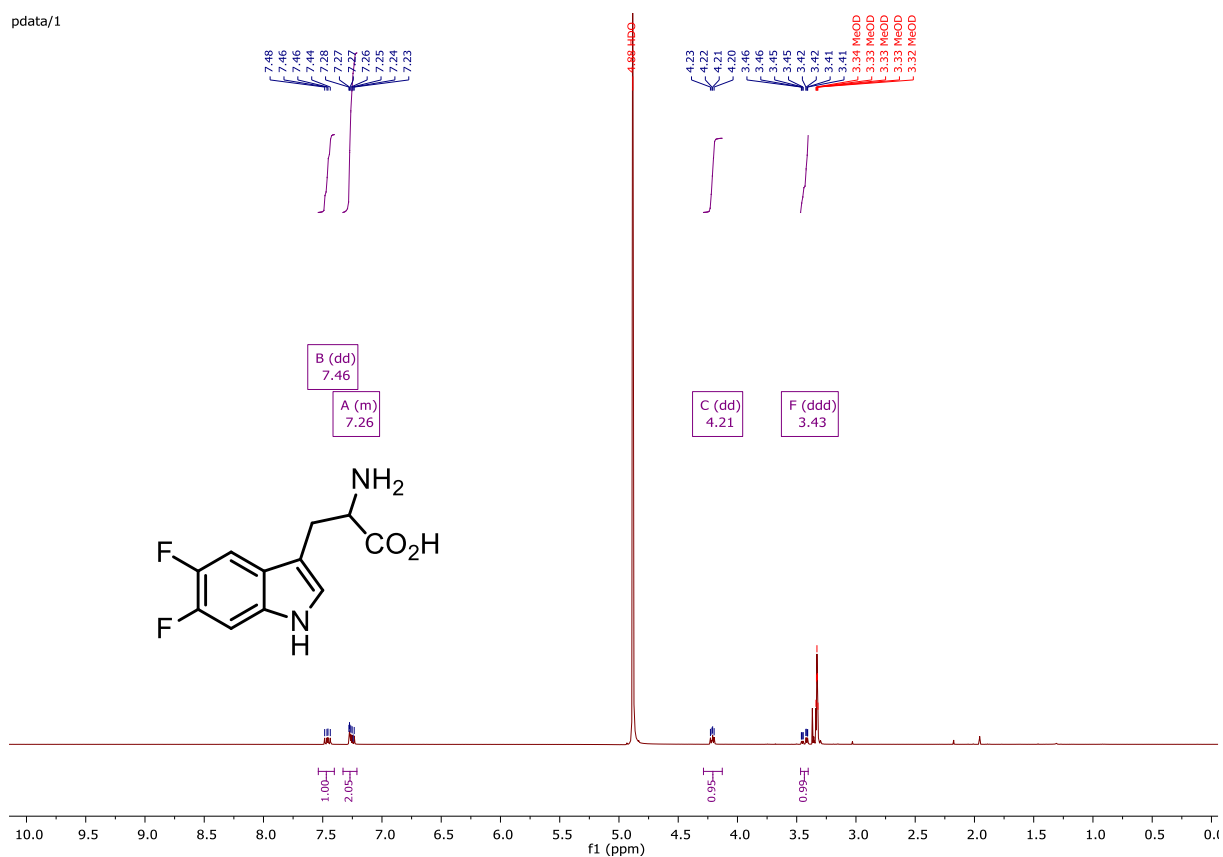


## 6.1.78. <sup>19</sup>F NMR von 5,7-Fluortryptophan (11)



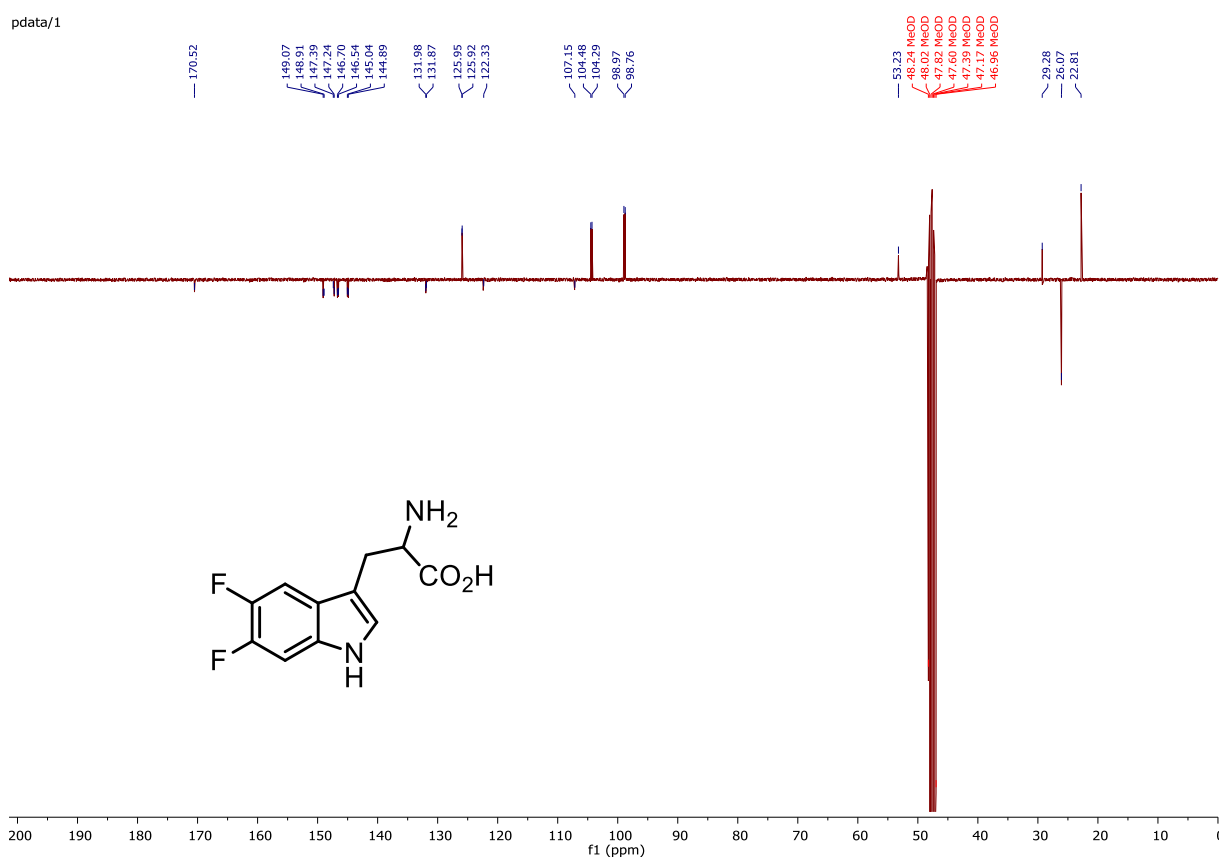
## 6.1.79. <sup>1</sup>H NMR von 5,6-Fluortryptophan (12)

pdata/1



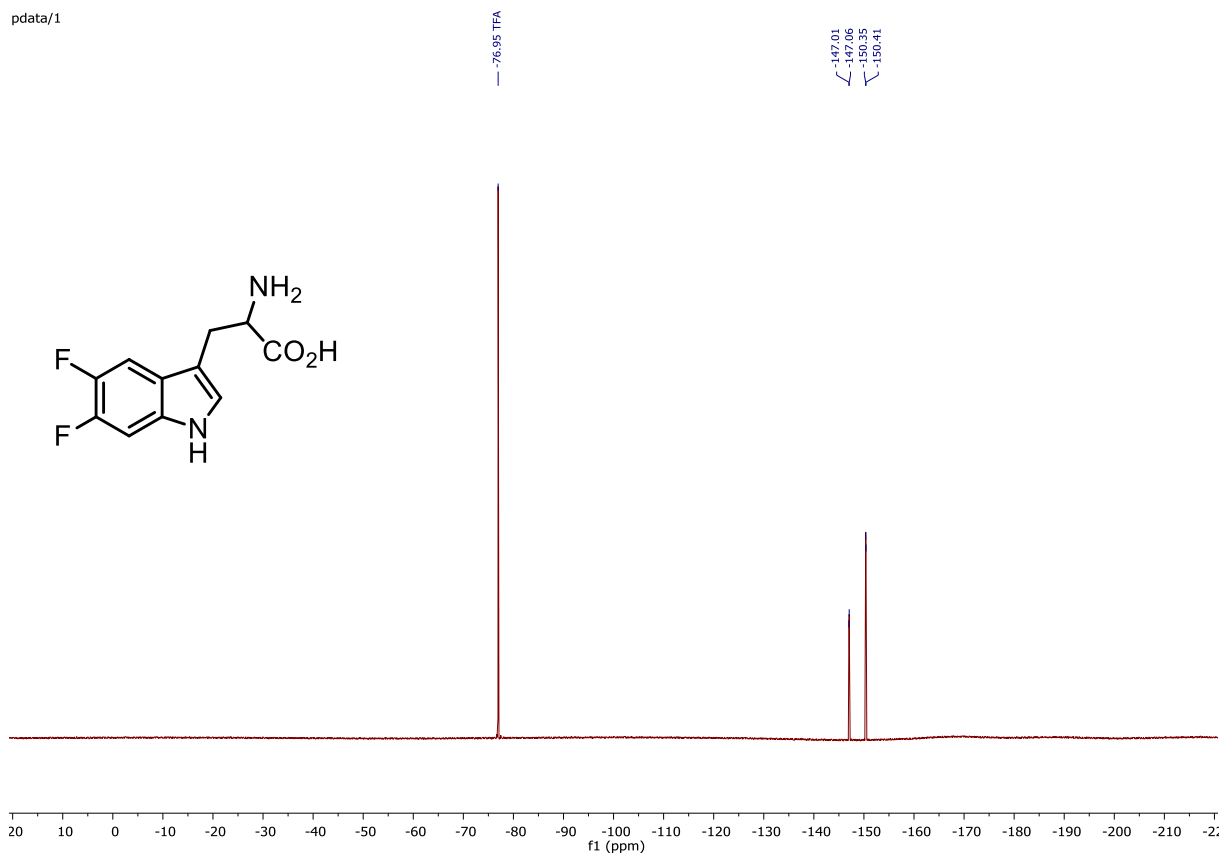
## 6.1.80. <sup>13</sup>C NMR von 5,6-Fluortryptophan (12)

pdata/1



## 6.1.81. $^{19}\text{F}$ NMR von 5,6-Fluortryptophan (12)

pdata/1



## 6.2. HPLC-Daten

### 6.2.1. Chromatogramm von (S,S)-Ni-BPB-5,7-[5-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([5-<sup>18</sup>F]50)

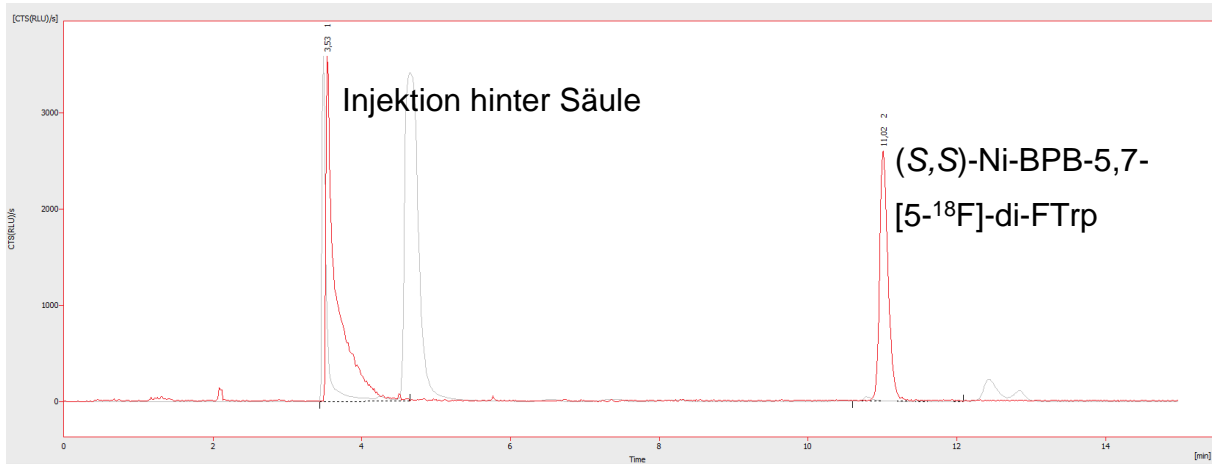


Abbildung 72: Chromatogramm des radiofluorierten Intermediates (S,S)-Ni-BPB-5,7-[5-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([5-<sup>18</sup>F]50) Vergleich mit 20  $\mu$ L Reaktionslösung injiziert hinter der HPLC-Säule zur Bestimmung des radiochemischen Umsatzes (61%). (Säule: Synergi Hydro RP, 4  $\mu$ m, 80  $\text{Å}$ , 250  $\times$  4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: gradient 5% to 80% over 10 min and 80% for 3 min; Flussrate: 1,5 mL/min.)

### 6.2.2. Chromatogramm von (S,S)-Ni-BPB-5,7-[7-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([7-<sup>18</sup>F]50)

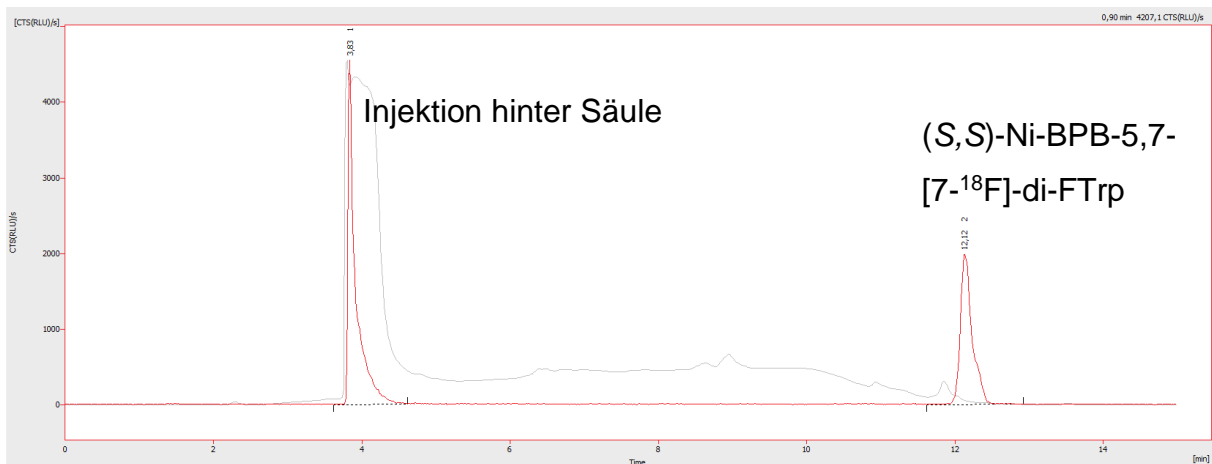


Abbildung 73: Chromatogramm des radiofluorierten Intermediates (S,S)-Ni-BPB-5,7-[7-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([7-<sup>18</sup>F]50) Vergleich mit 20  $\mu$ L Reaktionslösung injiziert hinter der HPLC-Säule zur Bestimmung des radiochemischen Umsatzes (69%). (Säule: Synergi Hydro RP, 4  $\mu$ m, 80  $\text{Å}$ , 250  $\times$  4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: gradient 5% to 80% over 10 min and 80% for 3 min; Flussrate: 1,5 mL/min.)

### 6.2.3. Chromatogramme von (S)-5,7-[5-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([5-<sup>18</sup>F]11)

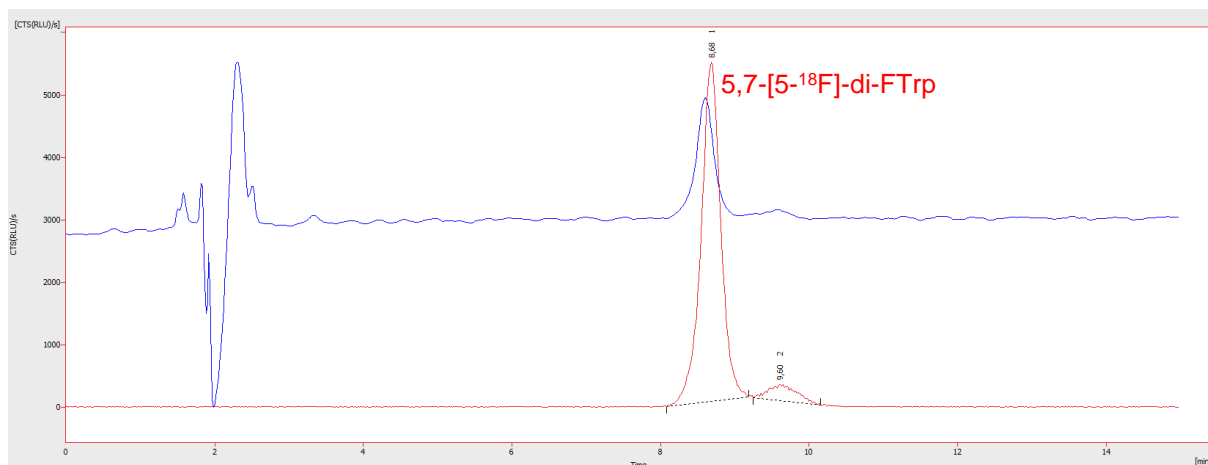


Abbildung 74: Chromatogramm des isolierten Tracers (S)-5,7-[5-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([5-<sup>18</sup>F]11) zur Bestimmung der chemischen und radiochemischen Reinheit (Radioaktives Signal in rot, UV-Signal in blau). Zweiter Peak des Produktes pH-abhängig. (Säule: Synergi Hydro RP, 4  $\mu$ m, 80  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: gradient 20% MeCN (0,1% TFA); Flussrate: 1,5 mL/min.)

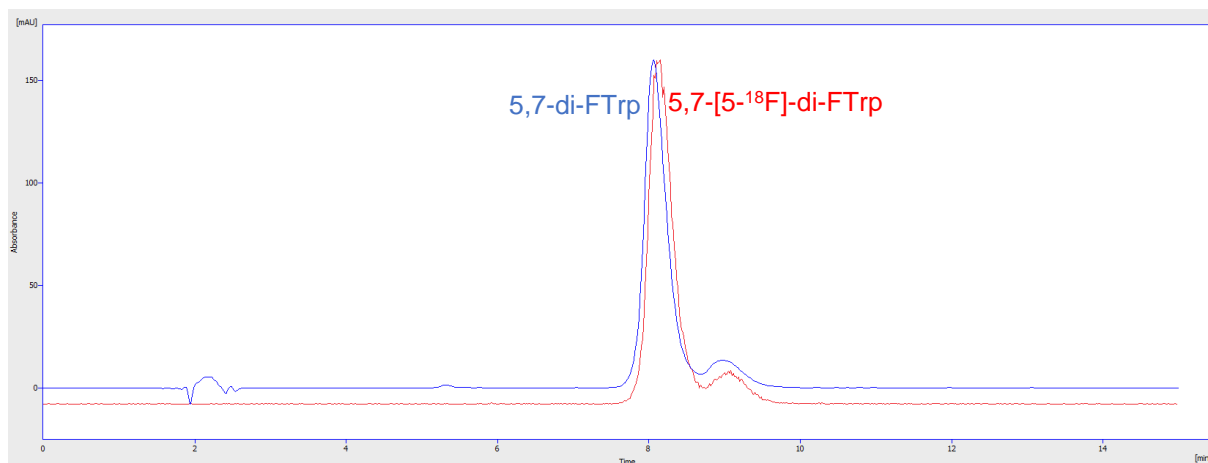


Abbildung 75: Chromatogramm des isolierten Tracers (S)-5,7-[5-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([5-<sup>18</sup>F]11) zusammen mit der Referenzstruktur zur Identifikation des Produktes (Radioaktives Signal in rot, UV-Signal in blau). Zweiter Peak des Produktes und der Referenz pH-abhängig. (Säule: Synergi Hydro RP, 4  $\mu$ m, 80  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: gradient 20% MeCN (0,1% TFA); Flussrate: 1,5 mL/min.)



## 6.2.4. Chromatogramme von (S)-5,7-[7-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([7-<sup>18</sup>F]11)

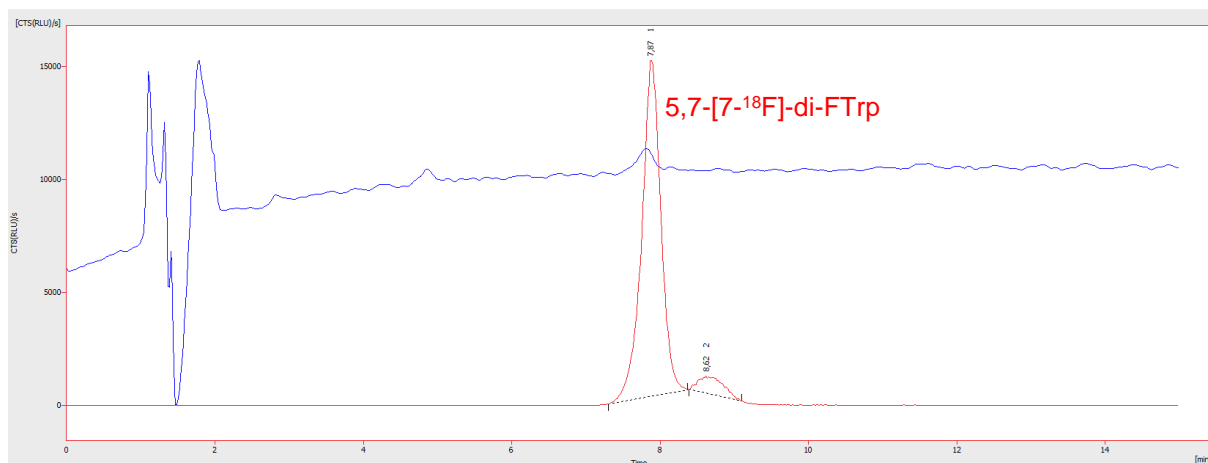


Abbildung 76: Chromatogramm des isolierten Tracers (S)-5,7-[7-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([7-<sup>18</sup>F]11) zur Bestimmung der chemischen und radiochemischen Reinheit (Radioaktives Signal in rot, UV-Signal in blau). Zweiter Peak des Produktes pH-abhängig. (Säule: Synergi Hydro RP, 4 µm, 80 Å, 250 x 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 x 3 mm); Eluens: gradient 20% MeCN (0,1% TFA); Flussrate: 1,5 mL/min.)

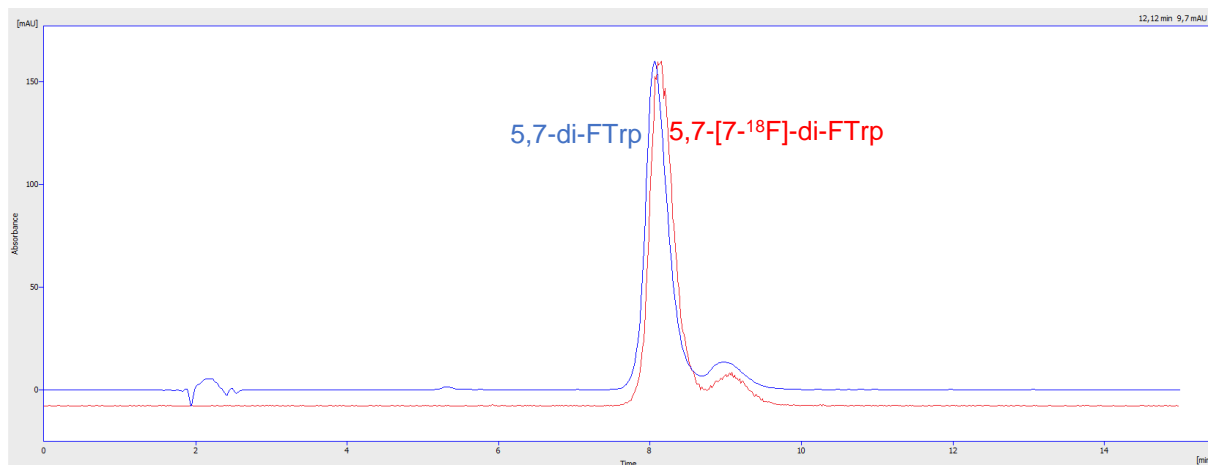


Abbildung 77: Chromatogramm des isolierten Tracers (S)-5,7-[7-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([7-<sup>18</sup>F]11) zusammen mit der Referenzstruktur zur Identifikation des Produktes (Radioaktives Signal in rot, UV-Signal in blau). Zweiter Peak des Produktes und der Referenz pH-abhängig. (Säule: Synergi Hydro RP, 4 µm, 80 Å, 250 x 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 x 3 mm); Eluens: gradient 20% MeCN (0,1% TFA); Flussrate: 1,5 mL/min.)

### 6.2.5. Kalibrationskurve für (S)-5,7-[5-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([5-<sup>18</sup>F]11) und (S)-5,7-[7-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([7-<sup>18</sup>F]11)

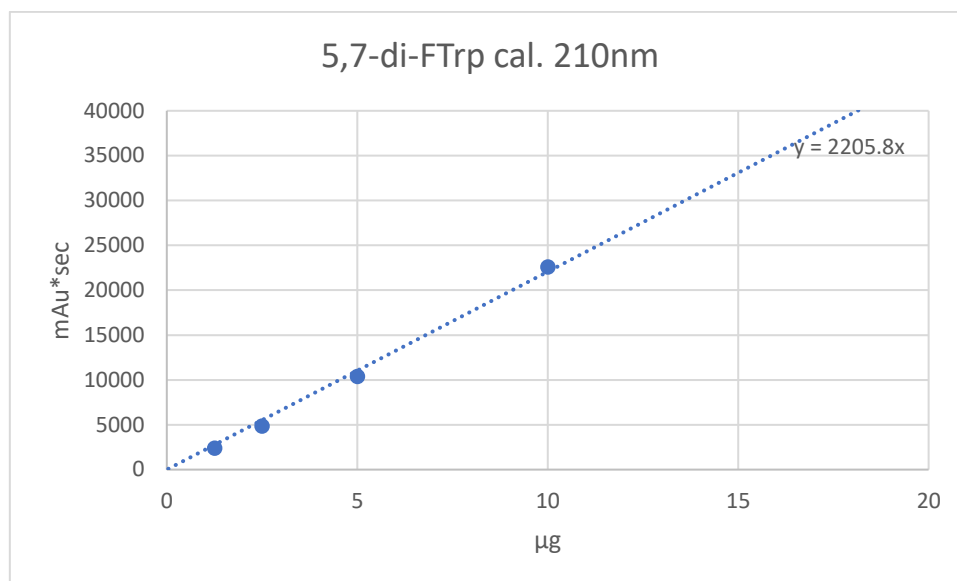


Abbildung 78: Kalibrationskurve von 5,7-di-FTrp (11) zur Bestimmung der molaren Aktivität (Säule: Synergi Hydro RP, 4 µm, 80 Å, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: 20% MeCN (0.1% TFA); Flussrate: 1,5 mL/min.)

## 6.2.6. Chromatogramme zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von (S)-5,7-[5-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([5-<sup>18</sup>F]11)

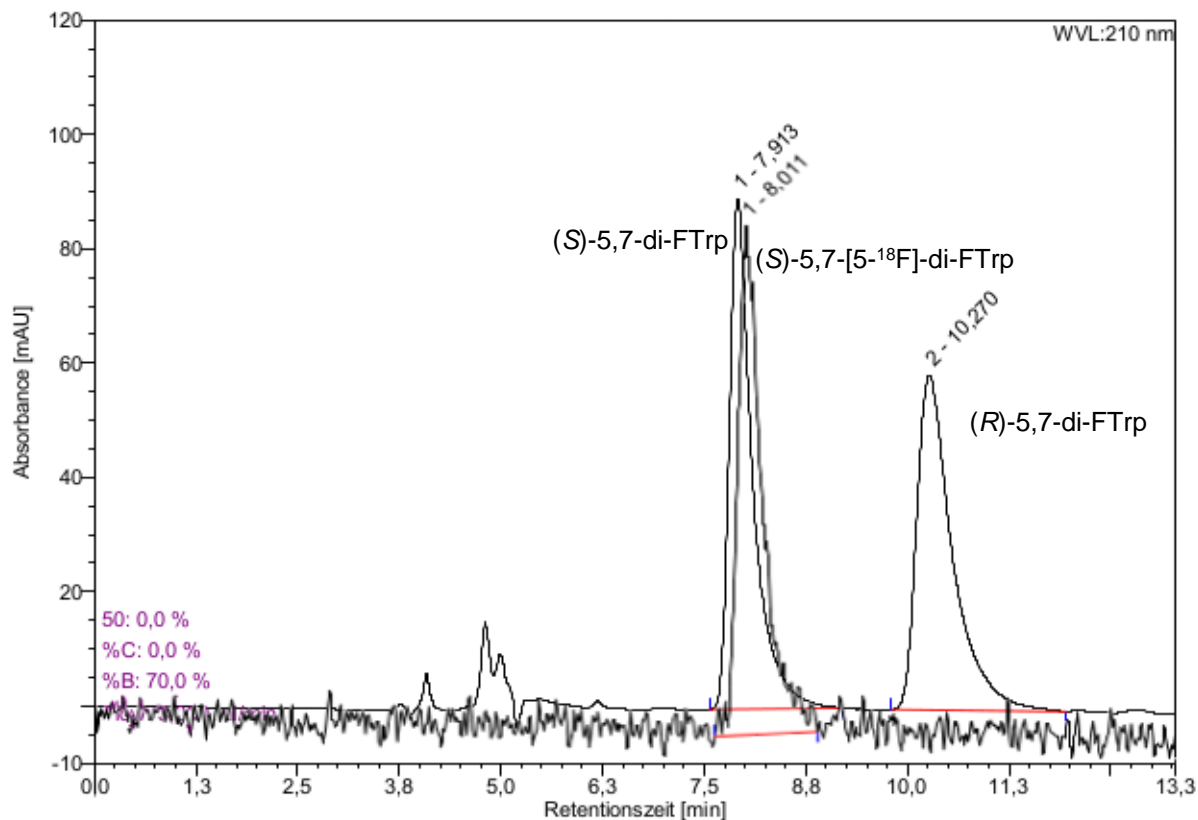


Abbildung 79: Bestimmung des Enantiomerenüberschusses via HPLC. UV-Signale für racemische Referenzverbindung (5,7-di-FTrp,  $\lambda=210$  nm) und radioaktive Signale für isolierten Tracer ([5-<sup>18</sup>F]11) bei Koinjektion angegeben. (Säule: Astec Chirobiotic T, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  10 mm (Supelco Analytical, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: 70% MeOH (0.02% Ameisensäure); Flussrate: 3 mL/min.)

## 6.2.7. Chromatogramme zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von (S)-5,7-[7-<sup>18</sup>F]-diFTrp ([7-<sup>18</sup>F]11)

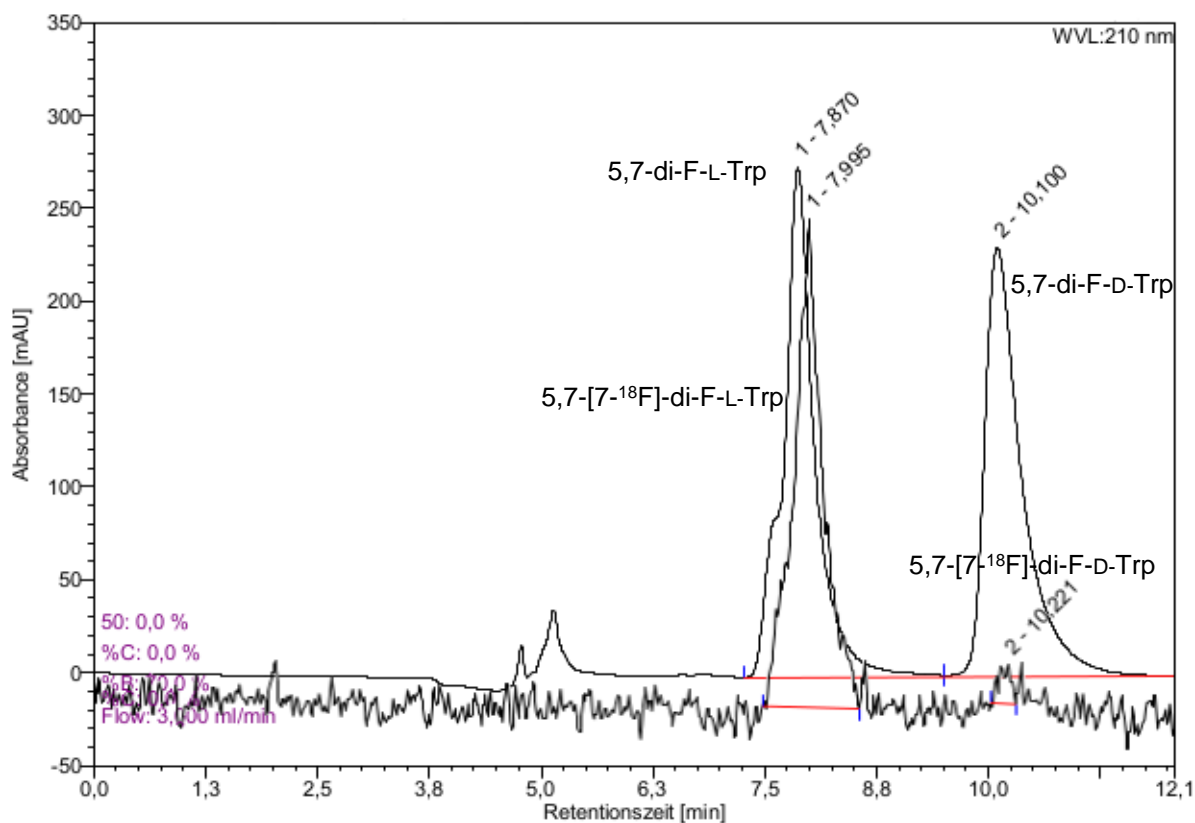
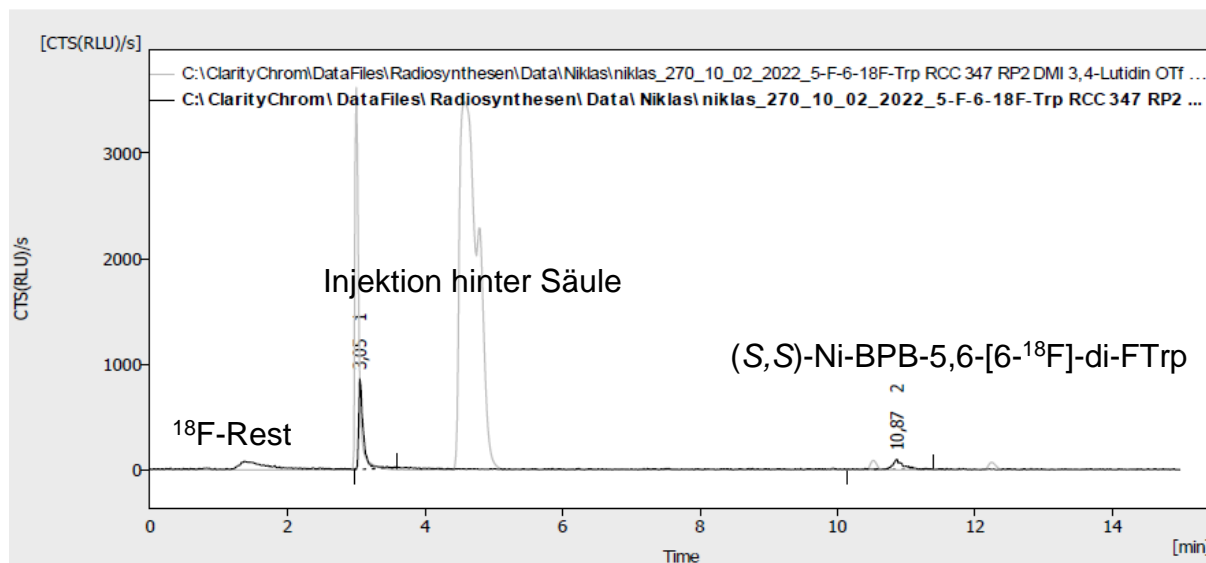


Abbildung 80: Bestimmung des Enantiomerenüberschusses via HPLC. UV-Signale für racemische Referenzverbindung (5,7-di-FTrp,  $\lambda=210$  nm) und radioaktive Signale für isolierten Tracer (7-<sup>18</sup>F]11) bei Koinjektion angegeben. (Säule: Astec Chirobiotic T, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  10 mm (Supelco Analytical, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: 70% MeOH (0.02% Ameisensäure); Flussrate: 3 mL/min.)

## 6.2.8. Chromatogramm von (S,S)-Ni-BPB-5,6-[6-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([6-<sup>18</sup>F]54)



Result Table (Uncal -  
C:\ClarityChrom\DataFiles\Radiosynthesen\Data\Niklas\niklas\_270\_10\_02\_2022\_5-F-6-18F-Trp RCC 347 RP2 DMI 3,4-Lutidin OTF - HERM)

|   | Reten. Time<br>[min] | Area<br>[CTS(RLU)/s.s<br>] | Height<br>[CTS(RLU)/s] | Area<br>[%] | RCC<br>[%] |
|---|----------------------|----------------------------|------------------------|-------------|------------|
| 1 | 3,050                | 4080,000                   | 856,378                | 77,3        | 100,000    |
| 2 | 10,867               | 1201,000                   | 96,842                 | 22,7        | 29,436     |
|   | Total                | 5281,000                   | 953,220                | 100,0       | 129,436    |

Abbildung 81: Chromatogramm des radiofluorierten Intermediates (S,S)-Ni-BPB-5,6-[6-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([6-<sup>18</sup>F]54) Verglichen mit 20  $\mu$ L Reaktionslösung injiziert hinter der HPLC-Säule zur Bestimmung des radiochemischen Umsatzes (29%). (Säule: Synergi Hydro RP, 4  $\mu$ m, 80 Å, 250 x 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 x 3 mm); Eluens: gradient 5% to 80% over 10 min and 80% for 3 min; Flussrate: 1,5 mL/min.)

## 6.2.9. Chromatogramme von (S)-5,6-[6-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([6-<sup>18</sup>F]12)

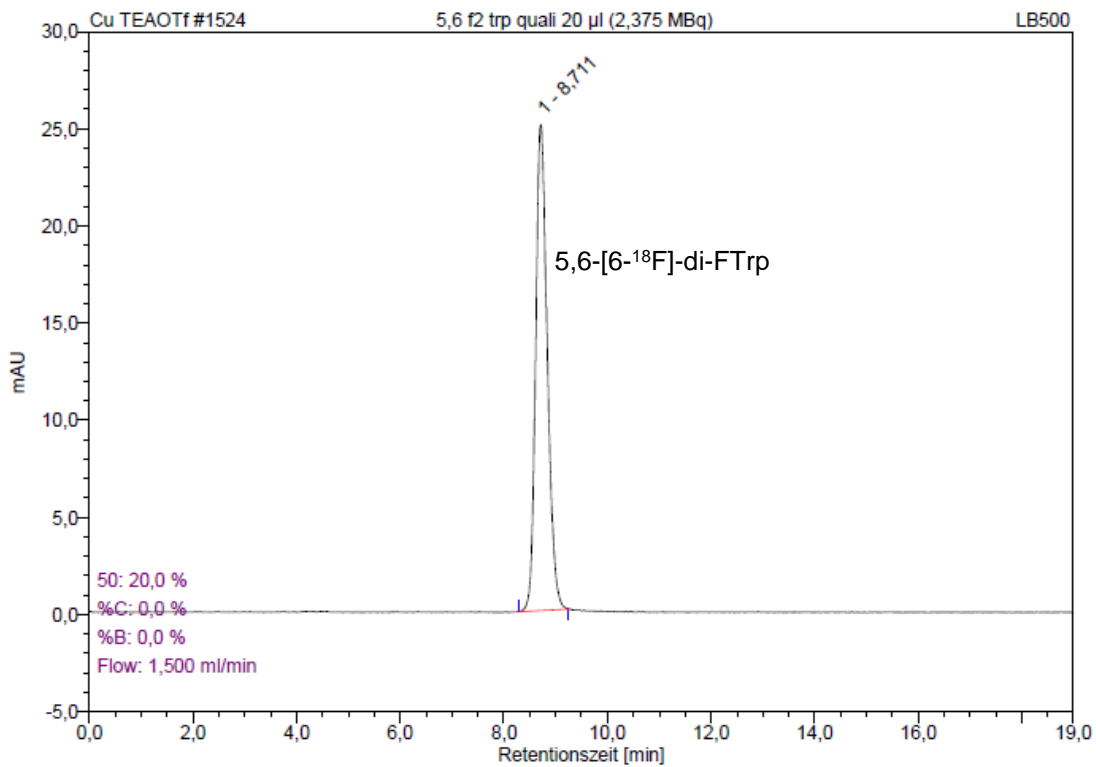


Abbildung 82: Radiochromatogramm des isolierten Tracers (S)-5,6-[6-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([6-<sup>18</sup>F]12) zur Bestimmung der radiochemischen Reinheit. (Säule: Synergi Hydro RP, 4 µm, 80 Å, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: gradient 20% MeCN (0,1% TFA); Flussrate: 1,5 mL/min.)

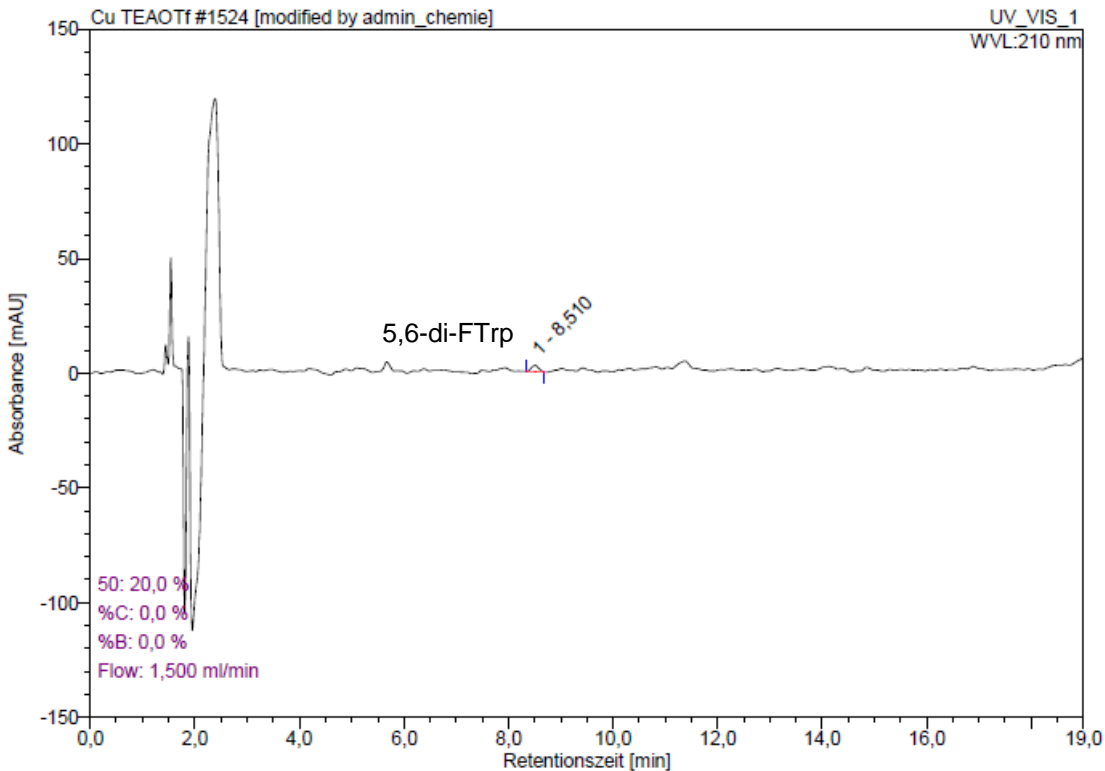


Abbildung 83: Chromatogramm des isolierten Tracers (S)-5,6-[6-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([6-<sup>18</sup>F]12) zur Bestimmung der Chemischen Reinheit und Identifikation. (Säule: Synergi Hydro RP, 4 µm, 80 Å, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: gradient 20% MeCN (0,1% TFA); Flussrate: 1,5 mL/min.)

## 6.2.10. Kalibrationskurve für (S)-5,6-[6-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([6-<sup>18</sup>F]12)

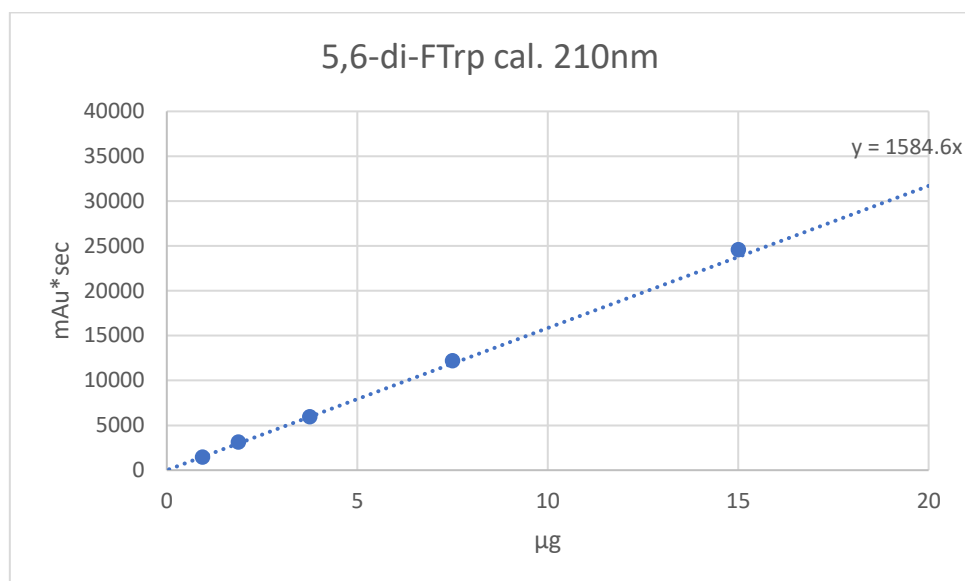


Abbildung 84: Kalibrationskurve von 5,6-di-FTrp (**12**) zur Bestimmung der molaren Aktivität (Säule: Synergi Hydro RP, 4 µm, 80 Å, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: 20% MeCN (0.1% TFA); Flussrate: 1,5 mL/min.)

## 6.2.11. Chromatogramm zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von (S)-5,6-[6-<sup>18</sup>F]-di-FTrp ([6-<sup>18</sup>F]12)

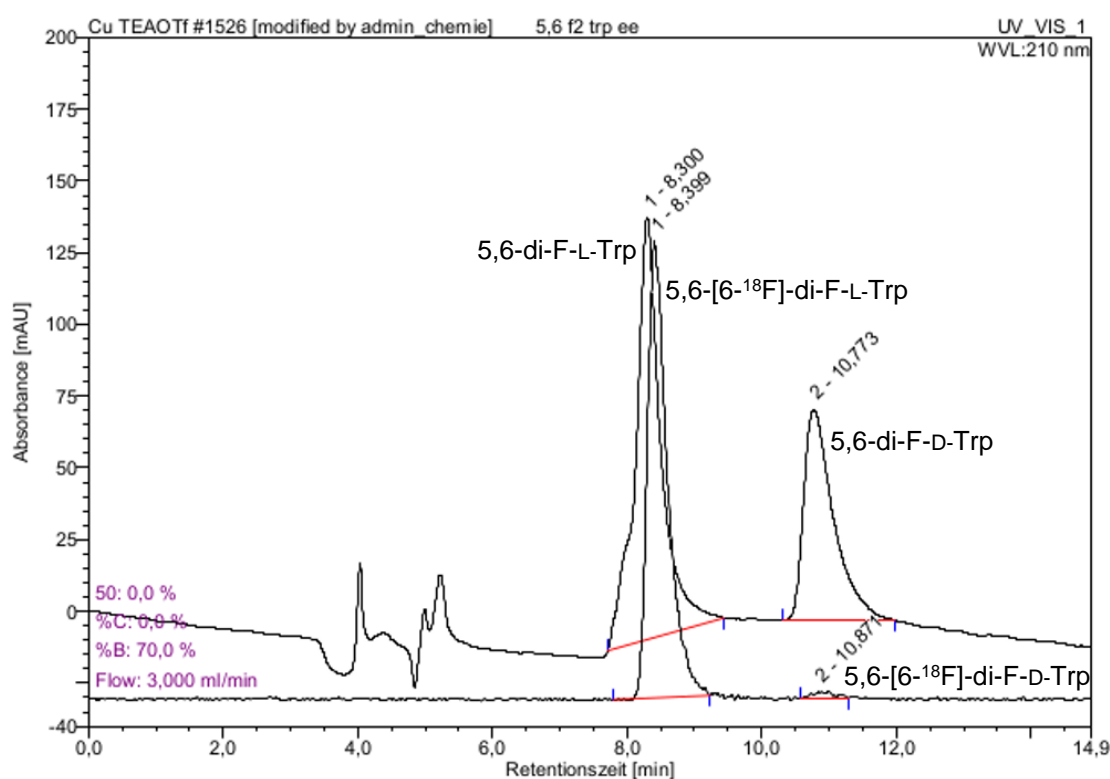


Abbildung 85: Bestimmung des Enantiomerenüberschusses via HPLC. UV-Signale für racemische Referenzverbindung (5,6-di-FTrp,  $\lambda=210$  nm) und radioaktive Signale für isolierten Tracer ([6-<sup>18</sup>F]12) bei Koinjektion angegeben. (Säule: Astec Chirobiotic T, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  10 mm (Supelco Analytical, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: 70% MeOH (0.02% Ameisensäure); Flussrate: 3 mL/min.)

## 6.2.12. Chromatogramm von (2S,3R)-NBoc-3-[<sup>18</sup>F]FPhSer-OtBu ([<sup>18</sup>F]68)

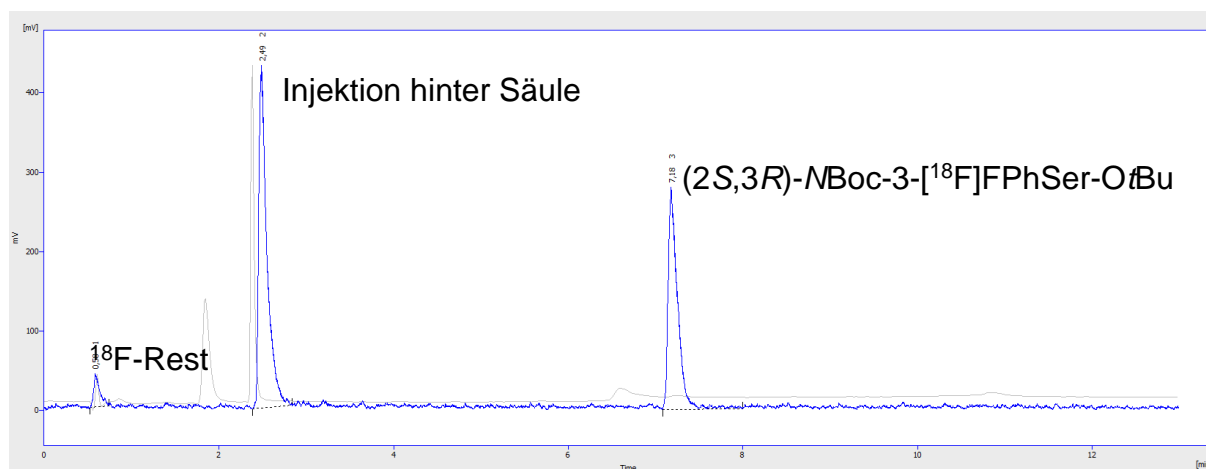


Abbildung 86: Chromatogramm des radiofluorierten Intermediates (2S,3R)-NBoc-3-[<sup>18</sup>F]fluorphenylserin-OtBu ([<sup>18</sup>F]68) verglichen mit 20  $\mu$ L Reaktionslösung injiziert hinter der HPLC-Säule zur Bestimmung des radiochemischen Umsatzes (74%). (Säule: Synergi Hydro RP, 4  $\mu$ m, 80  $\text{Å}$ , 250  $\times$  4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: gradient 5% to 80% over 10 min and 80% for 3 min; Flussrate: 1,5 mL/min.)



### 6.2.13. Chromatogramm von (2S,3R)-NBoc-3-[<sup>18</sup>F]F-5-OMOM-PhSer-OtBu ([<sup>18</sup>F]69)

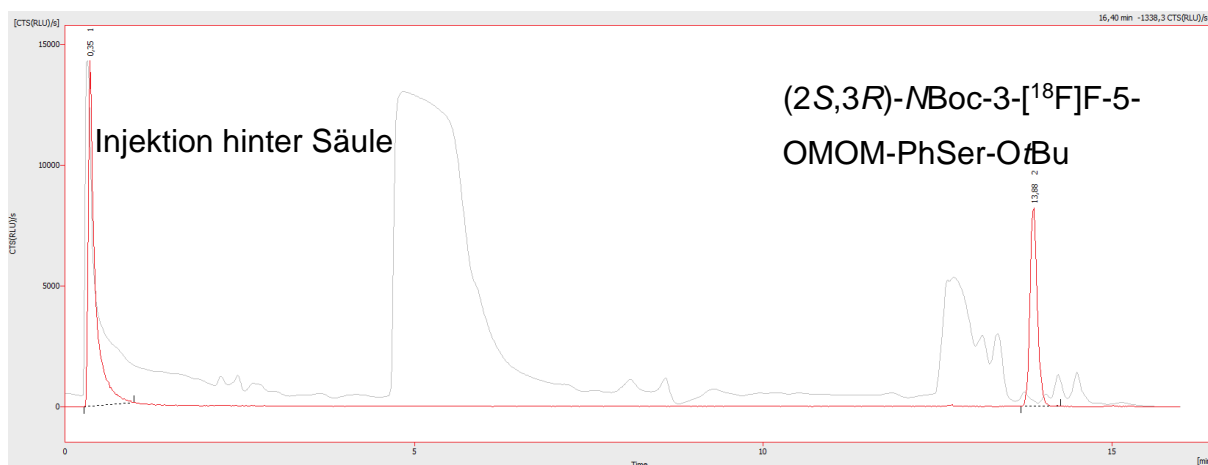


Abbildung 87: Chromatogramm des radiofluorierten Intermediates NBoc-L-3-[<sup>18</sup>F]fluor-5-OMOM-phenylserin-OtBu ([<sup>18</sup>F]69) verglichen mit 20  $\mu$ L Reaktionslösung injiziert hinter der HPLC-Säule zur Bestimmung des radiochemischen Umsatzes (62%). (Säule: Synergi Hydro RP, 4  $\mu$ m, 80 Å, 250  $\times$  4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: gradient 5% to 80% over 10 min and 80% for 3 min; Flussrate: 1,5 mL/min.)

### 6.2.14. Chromatogramme von (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]FPhSer ([<sup>18</sup>F]13)

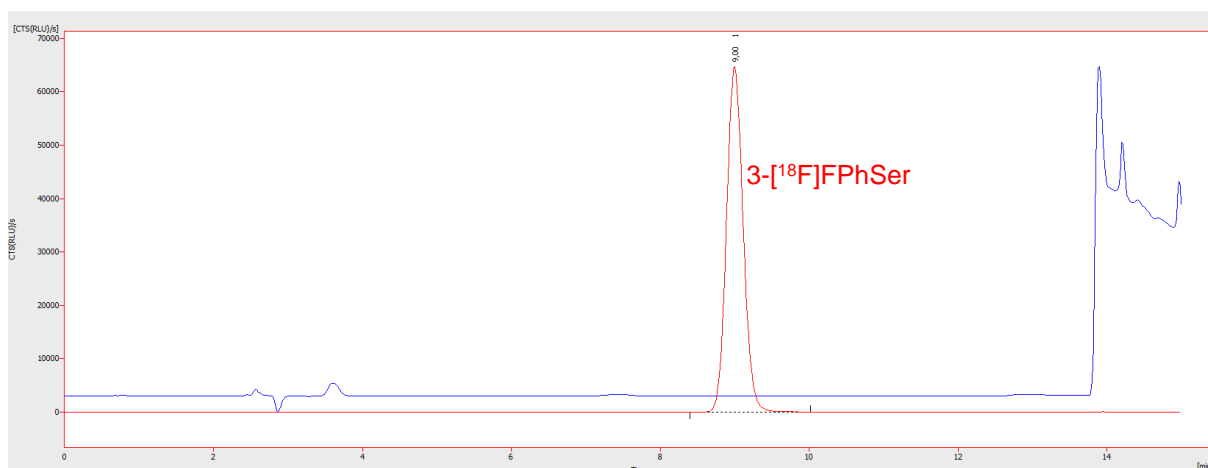


Abbildung 88: Chromatogramm des isolierten Tracers (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylserin ([<sup>18</sup>F]13) zur Bestimmung der chemischen und radiochemischen Reinheit (Radioaktives Signal in rot, UV-Signal in blau). Signale ab 14 min resultieren von Säulenspülung. (Säule: Kinetex F5, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: gradient 100% Wasser (0,1% TFA); Flussrate: 1 mL/min.)

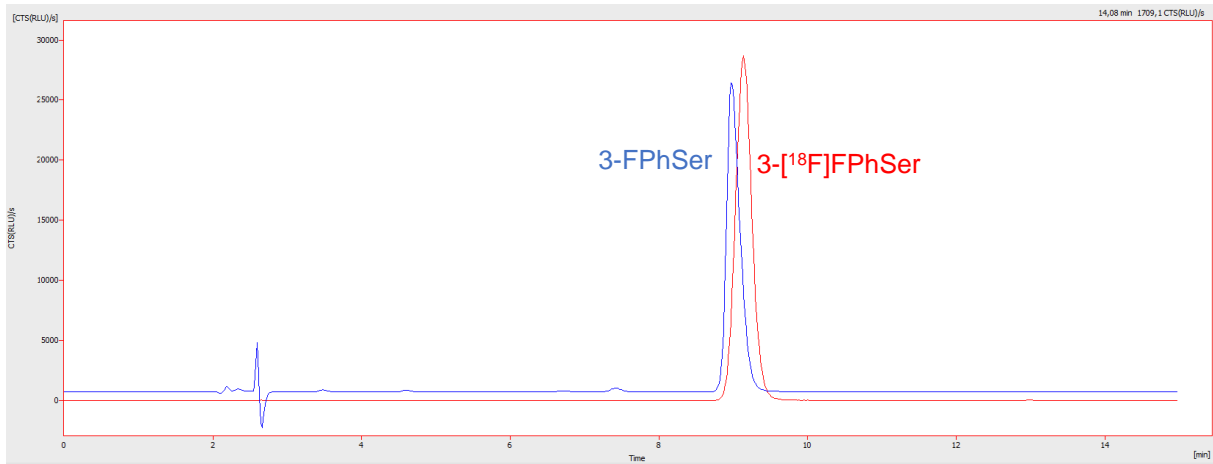


Abbildung 89: Chromatogramm des isolierten Tracers (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]Fluorphenylserin ([<sup>18</sup>F]13) zusammen mit der Referenzstruktur zur Identifikation des Produktes (Radioaktives Signal in rot, UV-Signal in blau). (Säule: Kinetex F5, 5 µm, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: gradient 100% Wasser (0,1% TFA); Flussrate: 1 mL/min.)

### 6.2.15. Kalibrationskurve für (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]FPhSer ([<sup>18</sup>F]13)

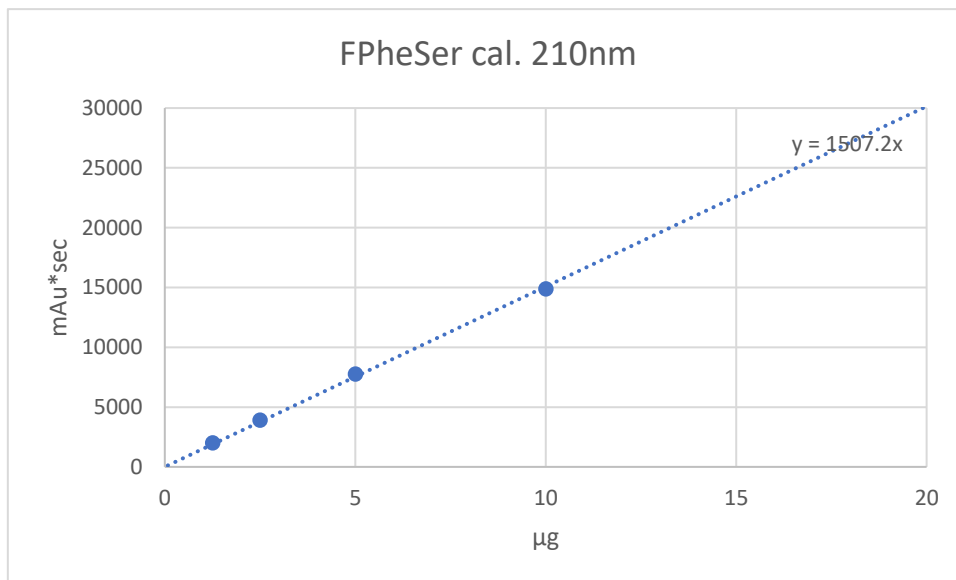


Abbildung 90: Kalibrationskurve von 3-FPhSer zur Bestimmung der molaren Aktivität (Säule: Kinetex F5, 5 µm, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: gradient 100% Wasser (0,1% TFA); Flussrate: 1 mL/min.)

## 6.2.16. Chromatogramme von (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]F-5-HOPhSer ([<sup>18</sup>F]14)

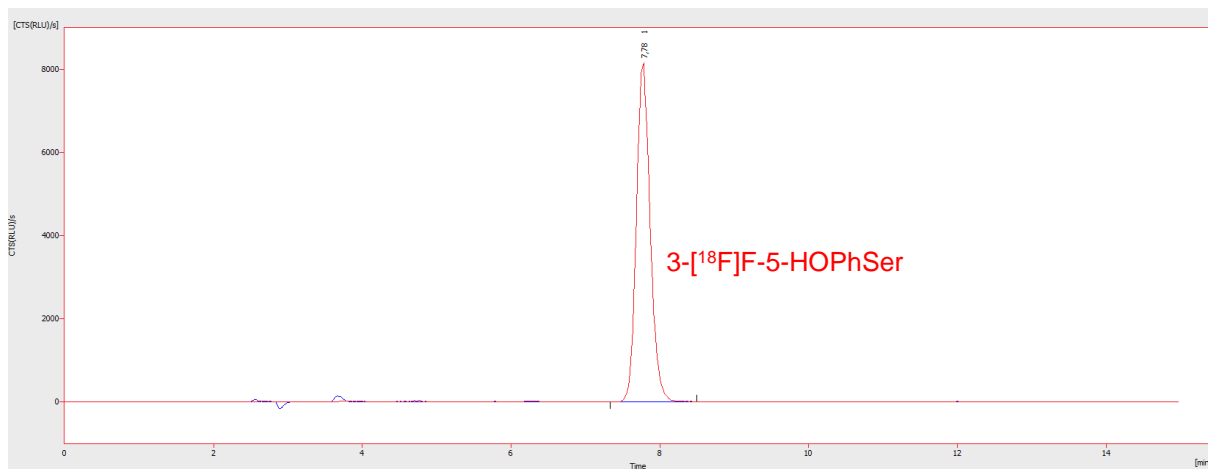


Abbildung 91: Chromatogramm des isolierten Tracers (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]Fluor-5-hydroxyphenylserin ([<sup>18</sup>F]14) zur Bestimmung der chemischen und radiochemischen Reinheit (Radioaktives Signal in rot, UV-Signal in blau). (Säule: Kinetex F5, 5 µm, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: gradient 100% Wasser (0,1% TFA); Flussrate: 1 mL/min.)

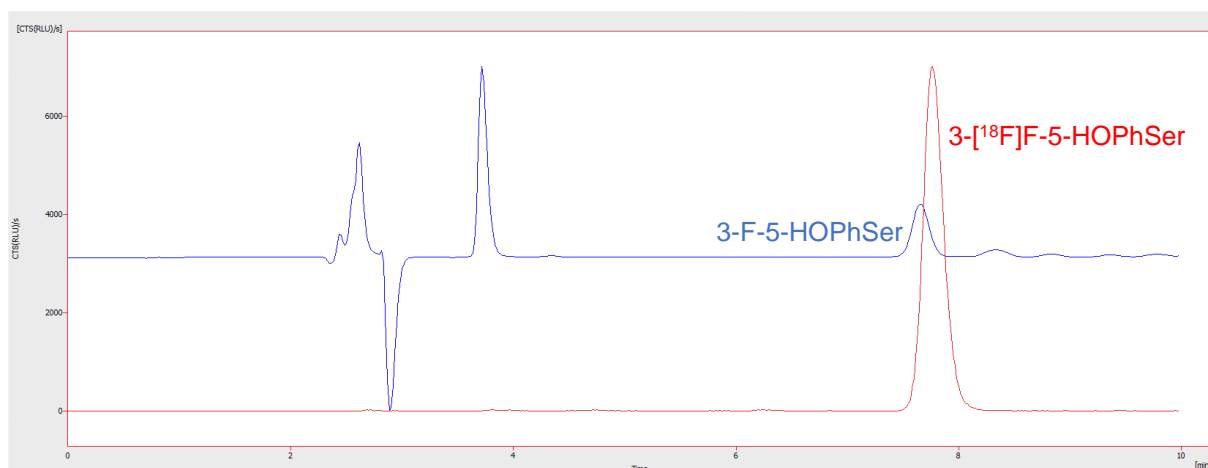


Abbildung 92: Chromatogramm des isolierten Tracers (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]Fluor-5-hydroxyphenylserin ([<sup>18</sup>F]14) zusammen mit der Referenzstruktur zur Identifikation des Produktes (Radioaktives Signal in rot, UV-Signal in blau). Injektionspeak bei 4 min auffällig groß wegen geringer injizierter Menge Referenz (hohe Skalierung des UV-Signals) (Säule: Kinetex F5, 5 µm, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: gradient 100% Wasser (0,1% TFA); Flussrate: 1 mL/min.). Peaks vor 4 Minuten Elutionszeit sind Injektionspeaks/Matrixartefakte.

## 6.2.17. Kalibrationskurve für (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]F-5-HOPhSer ([<sup>18</sup>F]14)

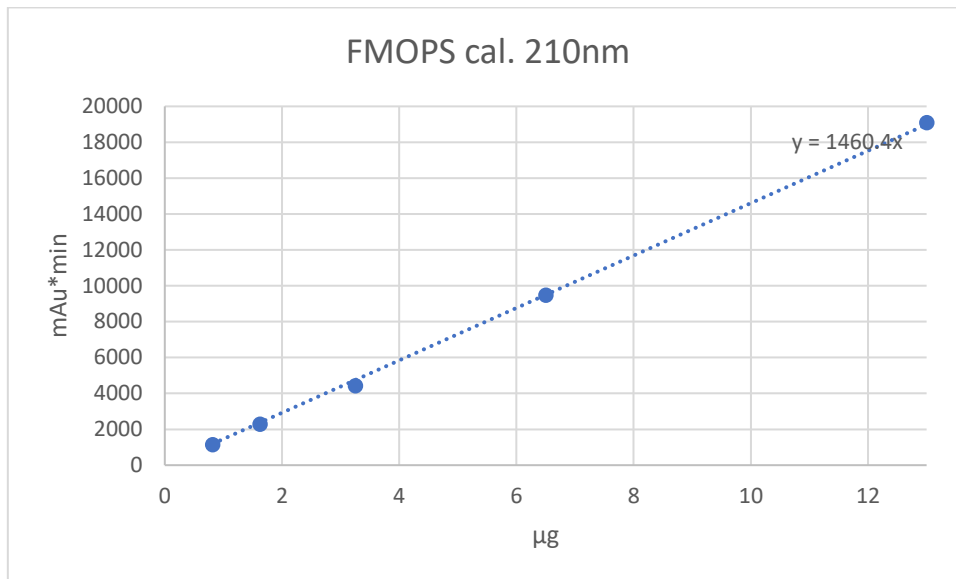


Abbildung 93: Kalibrationskurve von 3-F-5-HOPhSer zur Bestimmung der molaren Aktivität (Säule: Kinetex F5, 5 µm, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: gradient 100% Wasser (0,1% TFA); Flussrate: 1 mL/min.)

## 6.2.18. Chromatogramme zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]FPhSer ([<sup>18</sup>F]13)

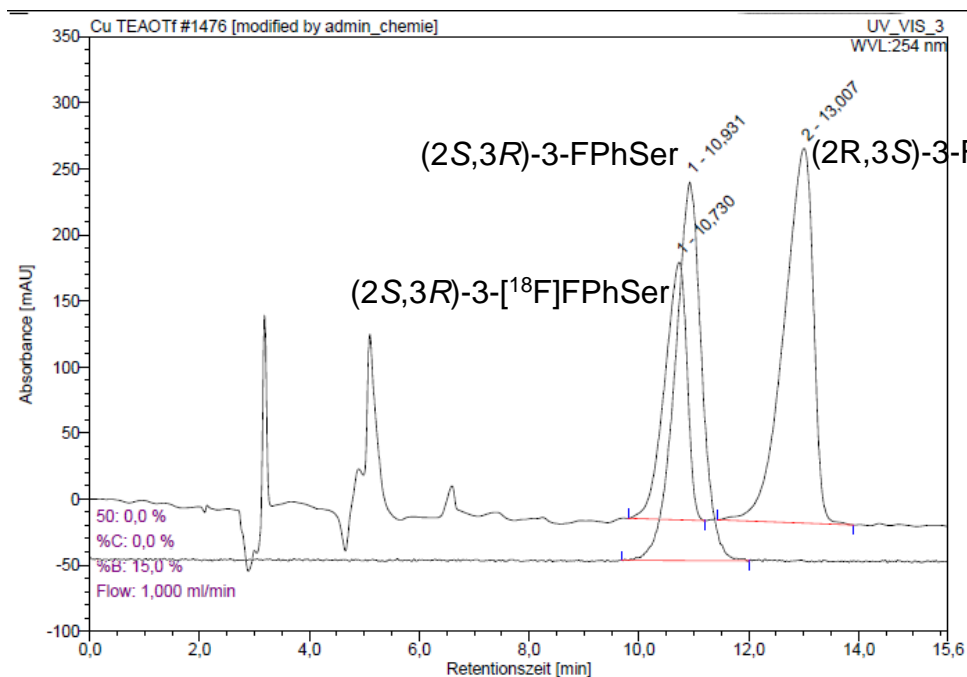


Abbildung 94: Bestimmung des Enantiomerenüberschusses via HPLC. UV-Signale für racemische Referenzverbindung (3-Fluorphenylserin, λ=210 nm) und radioaktive Signale für isolierten Tracer ([<sup>18</sup>F]13) bei Koinjektion angegeben. (Säule: Chirex 3126, 5 µm, 250 × 4,6 mm (Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); Eluens: 15% iPrOH (in 2 nM CuSO<sub>4</sub>); Flussrate: 1 mL/min.)

## 6.2.19. Chromatogramme zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses von (2S,3R)-3-[<sup>18</sup>F]F-5-HOPheSer ([<sup>18</sup>F]14)

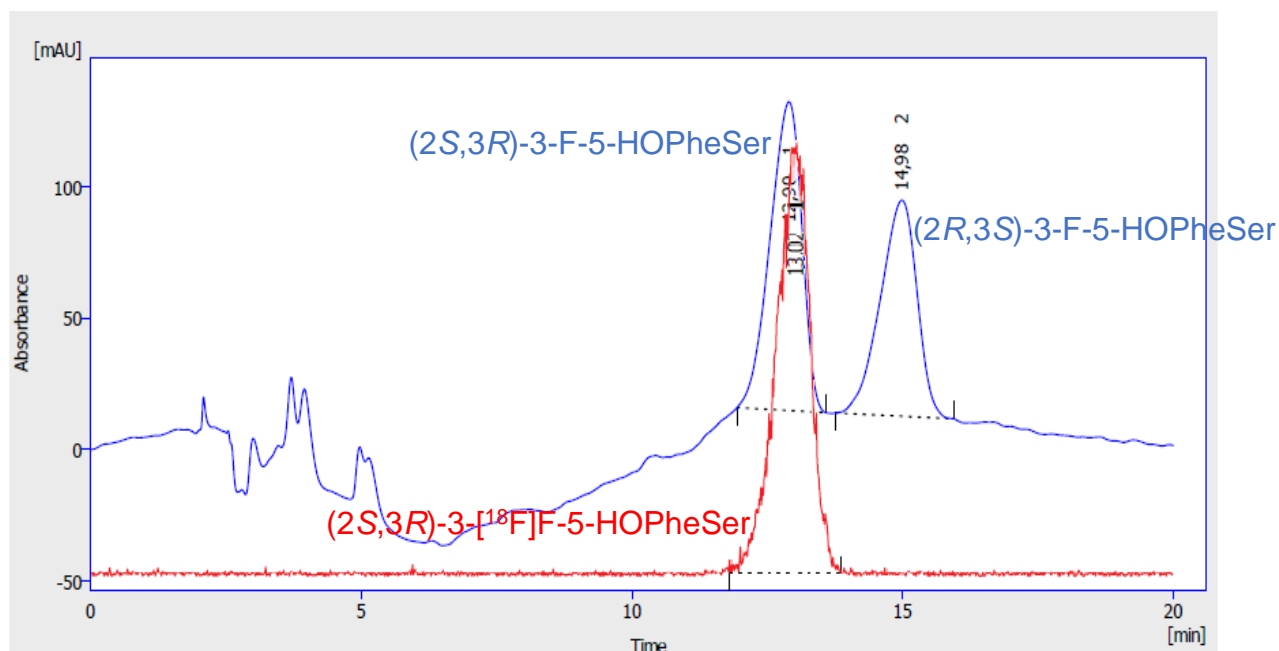


Abbildung 95: Bestimmung des Enantiomerenüberschusses via HPLC. UV-Signale für racemische Referenzverbindung (3-Fluor-5-hydroxyphenylserin,  $\lambda=210$  nm) und radioaktive Signale für isolierten Tracer (<sup>18</sup>F]14) bei Koinjektion angegeben. (Säule: Chirex 3126, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  4,6 mm (Phenomenex, ausgestattet mit SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); Eluens: 20% iPrOH (in 2 nM CuSO<sub>4</sub>); Flussrate: 1 mL/min.)

### 6.3. Radioaktive Dünnschichtchromatographie

#### 6.3.1. Radio DC von 5,7-[5-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan ([5-<sup>18</sup>F]11)

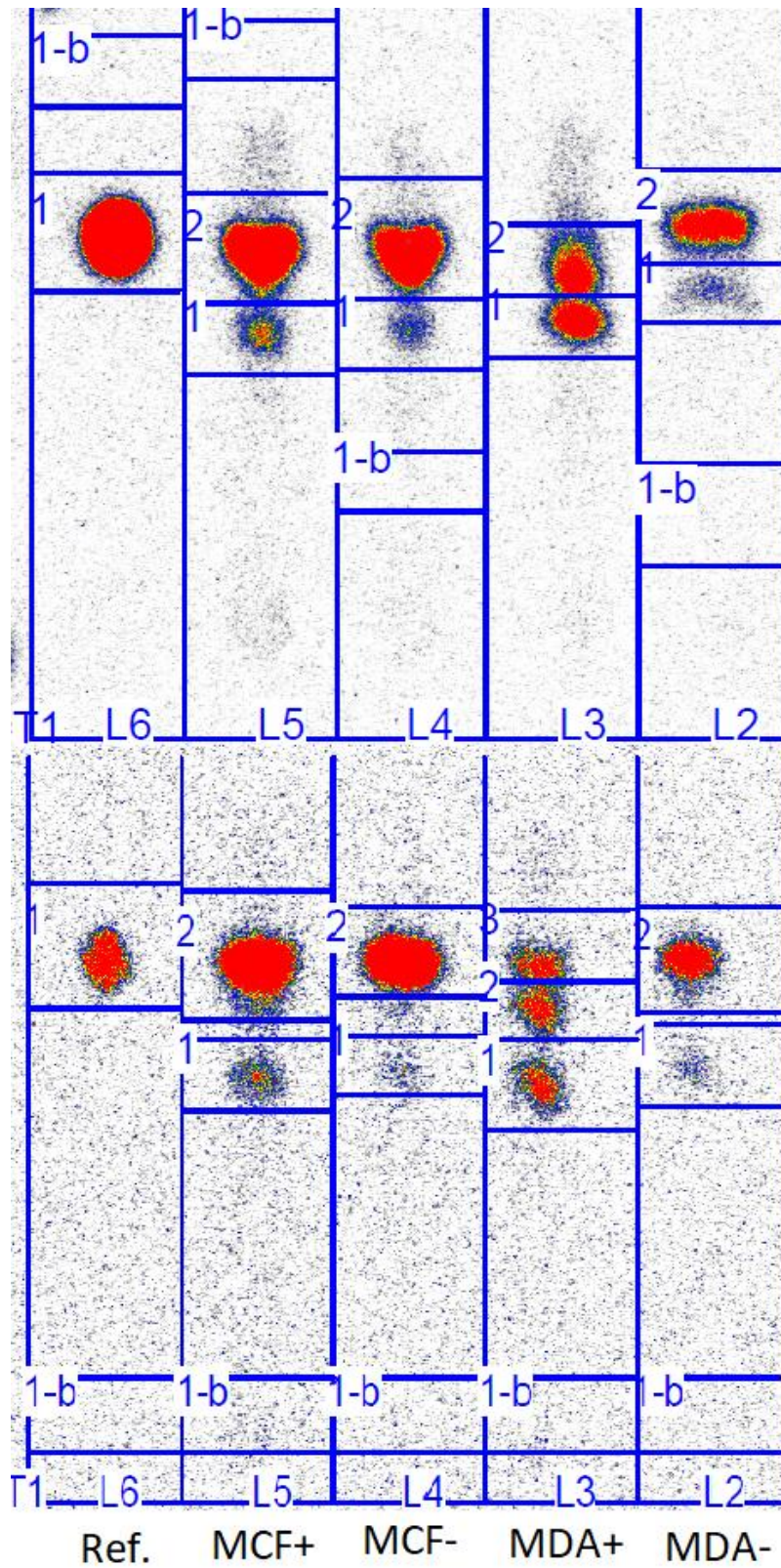


Abbildung 96: Radioaktive DCs (n = 2) von (S)-5,7-[5-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan ([5-<sup>18</sup>F]11) und Metaboliten nach Zelluptake-Experimenten mit MCF-7 und MDA-Zelllinien.

### 6.3.2. Radio DC von 5,7-[7-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan ([7-<sup>18</sup>F]11)

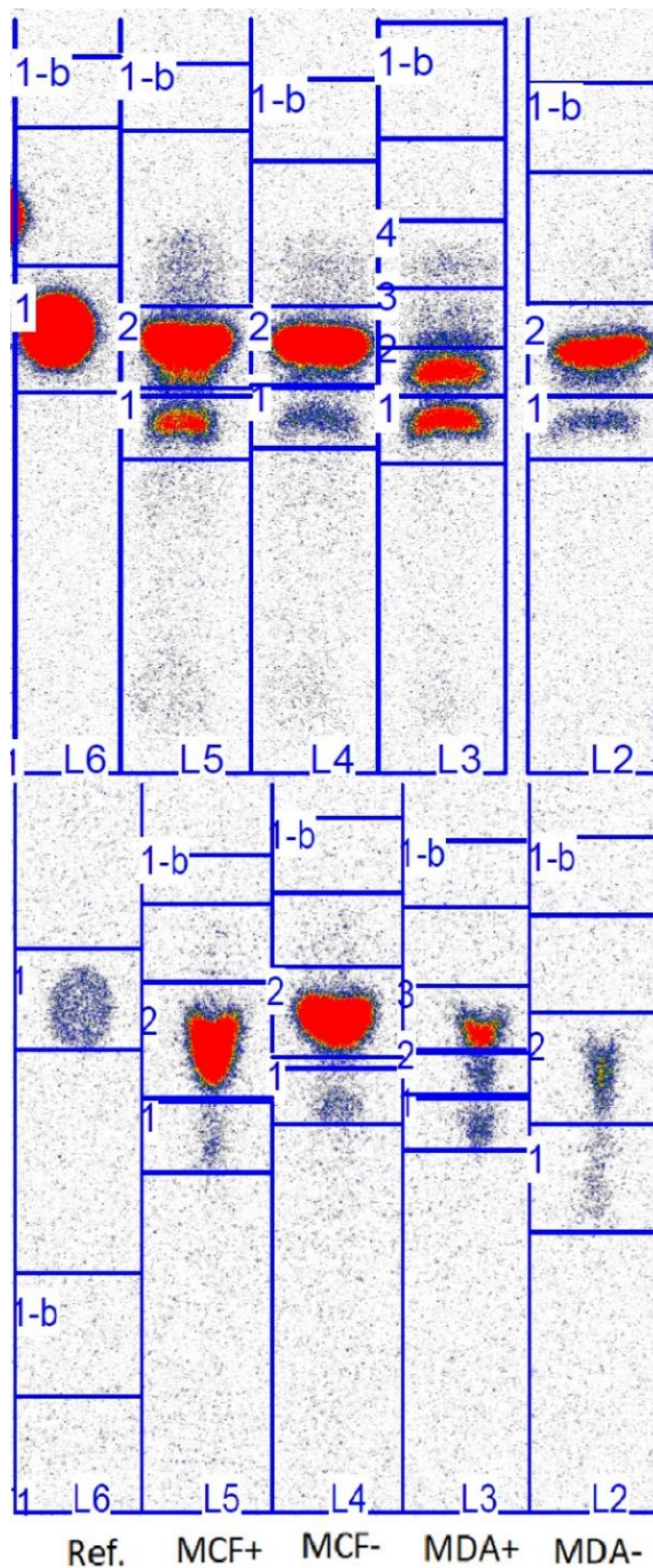


Abbildung 97: Radioaktive DCs ( $n = 2$ ) von (S)-5,7-[7-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan ([7-<sup>18</sup>F]11) und Metaboliten nach Zelluptake-Experimenten mit MCF-7 und MDA-Zelllinien.

## 7. Literaturverzeichnis

- [1] G. Hevesy, *Biochemical Journal* **1923**, *17*, 439-445.
- [2] M. D. Harpen, *Medical Physics* **2004**, *31*, 57-61.
- [3] O. Warburg, *Science* **1956**, *123*, 309-314.
- [4] aO. Schillaci, F. Calabria, M. Tavolozza, C. Ciccio, M. Carlani, C. R. Caracciolo, R. Danieli, A. Orlacchio, G. Simonetti, *Nuclear medicine communications* **2010**, *31*, 39-45; bH. Minn, S. Kauhanen, M. Seppänen, P. Nuutila, **2009**, *50*, 1915-1918; cL. Evangelista, V. Guarneri, P. F. Conte, *Current radiopharmaceuticals* **2016**, *9*, 244-257; dU. Hennrich, M. Benešová, *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* **2020**, *13*; eE. Melsens, E. De Vlieghere, B. Descamps, C. Vanhove, K. Kersemans, F. De Vos, I. Goethals, B. Brans, O. De Wever, W. Ceelen, P. Pattyn, *Radiation oncology (London, England)* **2018**, *13*, 39.
- [5] R. Yan, Y. Li, J. Müller, Y. Zhang, S. Singer, L. Xia, X. Zhong, J. Gertsch, K.-H. Altmann, Q. Zhou, *Cell Discovery* **2021**, *7*, 16.
- [6] O. Yanagida, Y. Kanai, A. Chairoungdua, D. K. Kim, H. Segawa, T. Nii, S. H. Cha, H. Matsuo, J. Fukushima, Y. Fukasawa, Y. Tani, Y. Taketani, H. Uchino, J. Y. Kim, J. Inatomi, I. Okayasu, K. Miyamoto, E. Takeda, T. Goya, H. Endou, *Biochimica et biophysica acta* **2001**, *1514*, 291-302.
- [7] P. Häfliger, R.-P. Charles, **2019**, *20*, 2428.
- [8] A. Agus, J. Planchais, H. Sokol, *Cell Host & Microbe* **2018**, *23*, 716-724.
- [9] B. D. Zlatopolskiy, H. Endepols, R. N. Krasikova, O. S. Fedorova, J. Ermert, B. Neumaier, *Russian Chemical Reviews* **2020**, *89*, 879-896.
- [10] L. Amori, P. Guidetti, R. Pellicciari, Y. Kajii, R. Schwarcz, *Journal of Neurochemistry* **2009**, *109*, 316-325.
- [11] aA. W. Yeung, A. C. Terentis, N. J. King, S. R. Thomas, *Clinical science (London, England : 1979)* **2015**, *129*, 601-672; bF. Bartoli, B. Misiak, T. Callovini, D. Cavaleri, R. M. Cioni, C. Crocamo, J. B. Savitz, G. Carrà, *Molecular Psychiatry* **2021**, *26*, 3419-3429.
- [12] aL. Tan, J.-T. Yu, L. Tan, *Journal of the Neurological Sciences* **2012**, *323*, 1-8; bG. J. Guillemin, G. A. Smythe, L. A. Veas, O. Takikawa, B. J. Brew, **2003**, *14*, 2311-2315.
- [13] B. Olivier, *European Journal of Pharmacology* **2015**, *753*, 2-18.
- [14] M. Buzlaff, E. Ponimaskin, *Opera Medica et Physiologica* **2016**, *2*, 77-86.
- [15] M. Politis, K. Wu, C. Loane, L. Kiferle, S. Molloy, D. J. Brooks, P. Piccini, *Neurobiology of Disease* **2010**, *40*, 216-221.
- [16] aC. Zarow, S. A. Lyness, J. A. Mortimer, H. C. Chui, *Archives of neurology* **2003**, *60*, 337-341; bM. Iba, J. D. McBride, J. L. Guo, B. Zhang, J. Q. Trojanowski, V. M. Lee, *Acta neuropathologica* **2015**, *130*, 349-362.
- [17] R. Mittal, L. H. Debs, A. P. Patel, D. Nguyen, K. Patel, G. O'Connor, M. h. Grati, J. Mittal, D. Yan, A. A. Eshraghi, S. K. Deo, S. Daunert, X. Z. Liu, **2017**, *232*, 2359-2372.
- [18] A. Sánchez-Crespo, P. Andreo, S. A. Larsson, *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **2004**, *31*, 44-51.
- [19] J. S. Fowler, A. P. Wolf, *Accounts of Chemical Research* **1997**, *30*, 181-188.
- [20] M. Fiechter, J. R. Ghadri, C. Gebhard, T. A. Fuchs, A. P. Pazhenkottil, R. N. Nkoulou, B. A. Herzog, C. A. Wyss, O. Gaemperli, P. A. Kaufmann, *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **2012**, *53*, 1230-1234.
- [21] A. Popkov, B. De Spiegeleer, *Dalton Transactions* **2012**, *41*, 1430-1440.



- [22] C. L. Welle, E. L. Cullen, P. J. Peller, V. J. Lowe, R. C. Murphy, G. B. Johnson, L. A. Binkovitz, **2016**, 36, 279-292.
- [23] G. Lottes, O. Schober, *Nuklearmedizin* **2000**, 39, 72-76.
- [24] G. Lottes, P. Gorschlüter, T. Kuwert, D. Adam, O. Schober, *Nuklearmedizin* **1998**, 37, 159-164.
- [25] H. Alva-Sánchez, C. Quintana-Bautista, A. Martínez-Dávalos, M. A. Ávila-Rodríguez, M. Rodríguez-Villafuerte, *Physics in Medicine and Biology* **2016**, 61, 6307-6321.
- [26] M. Inoue, Y. Sumii, N. Shibata, *ACS Omega* **2020**, 5, 10633-10640.
- [27] A. Bondi, *The Journal of Physical Chemistry* **1964**, 68, 441-451.
- [28] E. Miele, G. P. Spinelli, F. Tomao, A. Zullo, F. De Marinis, G. Pasciuti, L. Rossi, F. Zoratto, S. Tomao, *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* **2008**, 27, 52.
- [29] A. S. Kamlet, C. N. Neumann, E. Lee, S. M. Carlin, C. K. Moseley, N. Stephenson, J. M. Hooker, T. Ritter, *PLOS ONE* **2013**, 8, e59187.
- [30] J. Emsley, *Chemical Society Reviews* **1980**, 9, 91-124.
- [31] R. Chirakal, G. Firnau, J. Couse, E. S. Garnett, *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes* **1984**, 35, 651-653.
- [32] E. Hess, G. Blessing, H. H. Coenen, S. M. Qaim, *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine* **2000**, 52, 1431-1440.
- [33] H. H. Coenen, in *PET Chemistry* (Eds.: P. A. Schubiger, L. Lehmann, M. Friebe), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2007**, pp. 15-50.
- [34] T. Ido, C.-N. Wan, V. Casella, J. S. Fowler, A. P. Wolf, M. Reivich, D. E. Kuhl, **1978**, 14, 175-183.
- [35] E. Lee, A. S. Kamlet, D. C. Powers, C. N. Neumann, G. B. Boursalian, T. Furuya, D. C. Choi, J. M. Hooker, T. Ritter, *Science* **2011**, 334, 639-642.
- [36] N. Ichiishi, A. F. Brooks, J. J. Topczewski, M. E. Rodnick, M. S. Sanford, P. J. H. Scott, *Organic Letters* **2014**, 16, 3224-3227.
- [37] aK. Hamacher, H. H. Coenen, G. Stöcklin, *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **1986**, 27, 235-238; bO. S. Fedorova, O. F. Kuznetsova, S. V. Shatik, M. A. Stepanova, Y. N. Belokon, V. I. Maleev, R. N. Krasikova, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* **2009**, 35, 306-314.
- [38] G. Balz, G. Schiemann, *Chemische Berichte* **1927**, 60, 1186-1190.
- [39] A. Shah, V. W. Pike, D. A. Widdowson, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1998**, 2043-2046.
- [40] K. Hashizume, H. Tamakawa, N. Hashimoto, Y. Miyake, *Applied Radiation and Isotopes* **1997**, 48, 1179-1185.
- [41] J. Dong, L. Krasnova, M. G. Finn, K. B. Sharpless, **2014**, 53, 9430-9448.
- [42] Q. Zheng, H. Xu, H. Wang, W.-G. H. Du, N. Wang, H. Xiong, Y. Gu, L. Noodleman, K. B. Sharpless, G. Yang, P. Wu, *Journal of the American Chemical Society* **2021**, 143, 3753-3763.
- [43] N. Walter, J. Bertram, B. Drewes, V. Bahutski, M. Timmer, M. B. Schütz, F. Krämer, F. Neumaier, H. Endepols, B. Neumaier, B. D. Zlatopolskiy, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2022**, 237, 114383.
- [44] F. An, F. Nurili, H. Sayman, Z. Ozer, H. Cakiroglu, O. Aras, R. Ting, *Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, 63, 12693-12706.
- [45] aL. Li, *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists* **2003**, 14, 100-114; bR. Bruce Martin, *Coordination Chemistry Reviews* **1996**, 149, 23-32.

- [46] W. J. McBride, R. M. Sharkey, D. M. Goldenberg, *EJNMMI research* **2013**, *3*, 36.
- [47] R. B. Martin, *Biochemical and biophysical research communications* **1988**, *155*, 1194-1200.
- [48] C. A. D'Souza, W. J. McBride, R. M. Sharkey, L. J. Todaro, D. M. Goldenberg, *Bioconjugate chemistry* **2011**, *22*, 1793-1803.
- [49] E. Lee, J. M. Hooker, T. Ritter, *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 17456-17458.
- [50] A. R. Mazzotti, M. G. Campbell, P. Tang, J. M. Murphy, T. Ritter, *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*, 14012-14015.
- [51] B. D. Zlatopolskiy, J. Zischler, E. A. Urusova, H. Endepols, E. Kordys, H. Frauendorf, F. M. Mottaghy, B. Neumaier, *ChemistryOpen* **2015**, *4*, 457-462.
- [52] M. Tredwell, S. M. Preshlock, N. J. Taylor, S. Gruber, M. Huiban, J. Passchier, J. Mercier, C. Génicot, V. Gouverneur, *Angewandte Chemie International Edition* **2014**, *53*, 7751-7755.
- [53] aA. V. Mossine, A. F. Brooks, K. J. Makaravage, J. M. Miller, N. Ichiishi, M. S. Sanford, P. J. H. Scott, *Organic Letters* **2015**, *17*, 5780-5783; bK. J. Makaravage, A. F. Brooks, A. V. Mossine, M. S. Sanford, P. J. H. Scott, *Organic Letters* **2016**, *18*, 5440-5443.
- [54] S. J. Lee, K. J. Makaravage, A. F. Brooks, P. J. H. Scott, M. S. Sanford, **2019**, *58*, 3119-3122.
- [55] N. Ichiishi, A. J. Canty, B. F. Yates, M. S. Sanford, *Organometallics* **2014**, *33*, 5525-5534.
- [56] J. S. Wright, T. Kaur, S. Preshlock, S. S. Tanzey, W. P. Winton, L. S. Sharninghausen, N. Wiesner, A. F. Brooks, M. S. Sanford, P. J. H. Scott, *Clinical and Translational Imaging* **2020**, *8*, 167-206.
- [57] B. D. Zlatopolskiy, J. Zischler, P. Krapf, F. Zarrad, E. A. Urusova, E. Kordys, H. Endepols, B. Neumaier, *Chemistry – A European Journal* **2015**, *21*, 5972-5979.
- [58] J. Zischler, N. Kolks, D. Modemann, B. Neumaier, B. D. Zlatopolskiy, *Chemistry – A European Journal* **2017**, *23*, 3251-3256.
- [59] D. Schäfer, P. Weiß, J. Ermert, J. Castillo Meleán, F. Zarrad, B. Neumaier, **2016**, *2016*, 4621-4628.
- [60] A. G. Wong-Foy, O. Lebel, A. J. Matzger, *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 15740-15741.
- [61] C. Hoffmann, N. Kolks, D. Smets, A. Haseloer, B. Gröner, E. A. Urusova, H. Endepols, F. Neumaier, U. Ruschewitz, A. Klein, B. Neumaier, B. D. Zlatopolskiy, *n/a*, e202202965.
- [62] M. R. Kilbourn, D. D. Dischino, M. J. Welch, *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes* **1984**, *35*, 603-605.
- [63] C. Lemaire, M. Guillaume, L. Christiaens, A. J. Palmer, R. Cantineau, *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part A. Applied Radiation and Isotopes* **1987**, *38*, 1033-1038.
- [64] K. Neumann, K. Glaspy, A. Vavere, S. Snyder, S. DiMagno, **2013**, *54*, 1069-1069.
- [65] D. J. Modemann, B. D. Zlatopolskiy, E. A. Urusova, J. Zischler, A. Craig, J. Ermert, M. Guliyev, H. Endepols, B. Neumaier, *Synthesis* **2019**, *51*, 664-676.
- [66] D. Antuganov, M. Zykov, V. Timofeev, K. Timofeeva, Y. Antuganova, V. Orlovskaya, O. Fedorova, R. Krasikova, **2019**, *2019*, 918-922.
- [67] Y. N. Belokon, A. G. Bulychev, S. V. Vitt, Y. T. Struchkov, A. S. Batsanov, T. V. Timofeeva, V. A. Tsyryapkin, M. G. Ryzhov, L. A. Lysova, *Journal of the American Chemical Society* **1985**, *107*, 4252-4259.

- [68] V. V. Orlovskaya, D. J. Modemann, O. F. Kuznetsova, O. S. Fedorova, E. A. Urusova, N. Kolks, B. Neumaier, R. N. Krasikova, B. D. Zlatopolskiy, **2019**, *24*, 3197.
- [69] R. N. Krasikova, O. F. Kuznetsova, O. S. Fedorova, V. I. Maleev, T. F. Saveleva, Y. N. Belokon, *Bioorg Med Chem* **2008**, *16*, 4994-5003.
- [70] H. L. Atkins, D. R. Christman, J. S. Fowler, W. Hauser, R. M. Hoyte, J. F. Klopper, S. S. Lin, A. P. Wolf, *Journal of Nuclear Medicine* **1972**, *13*, 713-719.
- [71] P. Bjurling, Y. Watanabe, M. Tokushige, T. Oda, B. Långström, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1989**, 1331-1334.
- [72] I. H. Shih, X.-D. Duan, F.-L. Kong, M. D. Williams, K. Yang, Y.-H. Zhang, D. J. Yang, *Biomed Res Int* **2014**, *2014*, 492545-492545.
- [73] P. S. Weiss, J. Ermert, J. Castillo Meleán, D. Schäfer, H. H. Coenen, *Bioorg Med Chem* **2015**, *23*, 5856-5869.
- [74] B. D. Zlatopolskiy, J. Zischler, D. Schäfer, E. A. Urusova, M. Guliyev, O. Bannykh, H. Endepols, B. Neumaier, *Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *61*, 189-206.
- [75] R. Richarz, P. Krapf, F. Zarrad, E. A. Urusova, B. Neumaier, B. D. Zlatopolskiy, *Organic & Biomolecular Chemistry* **2014**, *12*, 8094-8099.
- [76] aK. S. Jang, Y.-W. Jung, P. S. Sherman, C. A. Quesada, G. Gu, D. M. Raffel, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 1612-1616; bY.-W. Jung, G. Gu, D. M. Raffel, **2019**, *62*, 835-842.
- [77] aC. Rami-Mark, M. R. Zhang, M. Mitterhauser, R. Lanzenberger, M. Hacker, W. Wadsak, *Nucl Med Biol* **2013**, *40*, 1049-1054; bB. Gulyás, D. Brockschneider, S. Nag, E. Pavlova, P. Kása, Z. Beliczai, Á. Légrádi, K. Gulya, A. Thiele, T. Dyrks, C. Halldin, *Neurochemistry International* **2010**, *56*, 789-798.
- [78] O. S. Fedorova, V. V. Orlovskaya, V. I. Maleev, Y. N. Belokon', T. F. Savel'eva, C. V. Chang, C. L. Chen, R. S. Liu, R. N. Krasikova, *Russian Chemical Bulletin* **2014**, *63*, 1169-1177.
- [79] R. N. Krasikova, O. F. Kuznetsova, O. S. Fedorova, I. K. Mosevich, V. I. Maleev, Y. N. Belokon, T. F. Savel'eva, A. S. Sagiyan, S. A. Dadayan, A. A. Petrosyan, *Radiochemistry* **2007**, *49*, 512-518.
- [80] H. Hanaoka, Y. Ohshima, A. Yamaguchi, H. Suzuki, N. S. Ishioka, T. Higuchi, Y. Arano, Y. Tsushima, *Molecular Pharmaceutics* **2019**, *16*, 3609-3616.
- [81] A. Craig, N. Kolks, E. A. Urusova, J. Zischler, M. Brugger, H. Endepols, B. Neumaier, B. D. Zlatopolskiy, *Chemical Communications* **2020**, *56*, 9505-9508.
- [82] O. Muzik, D. C. Chugani, P. Chakraborty, T. Mangner, H. T. Chugani, **1997**, *17*, 659-669.
- [83] U. F. Röhrig, S. R. Majjigapu, P. Vogel, V. Zoete, O. Michielin, *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *58*, 9421-9437.
- [84] J. Henrotin, A. Zervosen, C. Lemaire, F. Sapunovic, S. Laurent, B. Van den Eynde, S. Goldman, A. Plenevaux, A. Luxen, *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2015**, *6*, 260-265.
- [85] W. Dohle, A. Staubitz, P. Knochel, **2003**, *9*, 5323-5331.
- [86] J. Ezquerro, C. Pedregal, C. Lamas, J. Barluenga, M. Pérez, M. A. García-Martín, J. M. González, *The Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61*, 5804-5812.
- [87] C. Shu, L. Li, X.-Y. Xiao, Y.-F. Yu, Y.-F. Ping, J.-M. Zhou, L.-W. Ye, *Chemical Communications* **2014**, *50*, 8689-8692.
- [88] M. Schlosser, A. Ginanneschi, F. Leroux, *European Journal of Chemistry* **2006**, *2006*, 2956-2969.
- [89] T. Ishiyama, K. Ishida, N. Miyaura, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9813-9816.
- [90] *ICH guideline Q3D (R1) on elemental impurities*, **2019**.

- [91] D. Zhou, S. Schwarz, J. A. Katzenellenbogen, *Applied Radiation and Isotopes* **2021**, 176, 109865.
- [92] National Nuclear Data Center, Brookhave National Laboratory.
- [93] A. Arcadi, G. Bianchi, F. Marinelli, *Synthesis* **2004**, 2004, 610-618.
- [94] P. Betschmann, A. Burchat, D. J. Calderwood, M. L. Curtin, S. K. Davidsen, H. M. Davis, R. R. Frey, H. R. Heyman, G. C. Hirst, P. Hrnciar, M. R. Michaelides, M. A. Muckey, P. Rafferty, C. K. Wada, (Ed.: U. P. Office), USA, **2005**.

## 8. Anhang

### Abkürzungen

|                |   |
|----------------|---|
| 3-HANA         | <i>3-Hydroxyanthranilic acid</i><br>(3-Hydroxyanthranilsäure)       |
| 3-HK           | 3-Hydroxykynurenin  |
| 5-HIAA         | 5-Hydroxyindolessigsäure  |
| 5-HIAL         | 5-Hydroxyindolacetaldehyd   |
| 5-HT           | 5-Hydroxytryptamin (Serotonin)                                      |
| 5-HTOL         | 3-(2-Hydroxyethyl)indol-5-ol  |
| 5-HTP          | 5-Hydroxytryptophan   |
| Å              | Ångström  |
| AA             | Aktivitätsausbeute (radiochemische Ausbeute ohne Zerfallskorrektur) |
| AADC           | Aromatische-Aminosäure-Decarboxylase                                |
| AAS            | Aromatische Aminosäure  |
| Abb.           | Abbildung   |
| Ac             | Acetyl  |
| AcOH           | Essigsäure  |
| AD             | <i>Alzheimer's disease</i><br>(Alzheimer-Krankheit)                 |
| ALDH2          | Aldehyddehydrogenase 2  |
| ALDS           | Aldehydreductase  |
| A <sub>M</sub> | Molare Aktivität  |
| Äq             | Äquivalente   |
| AS             | Aminosäure  |
| BHS            | Blut-Hirn-Schranke  |
| Bn             | Benzyl  |
| Boc            | <i>Tert</i> -Butoxycarbonyl   |
| BPB            | Benzylprolinbenzophenon   |
| BPin           | Boronsäurepinakolester  |
| ca.            | Circa   |
| d              | Tag   |

|       |  |
|-------|--|
| DBU   | 1,8-Diazabicyclo(5.4.0)undec-7-en  |
| DC    | Dunnschichtchromatographie   |
| DCM   | Dichlormethan  |
| DMA   | Dimethylacetamid   |
| DMAP  | 4-Dimethylaminopyridin   |
| DMF   | Dimethylformamid   |
| DMI   | Dimethyl-2-imidazolidin  |
| DMSO  | Dimethylsulfoxid   |
| DOPA  | Dihydroxyphenylalanin  |
| DOTA  | 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure                       |
| dppf  | 1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen  |
| DTPA  | <i>Diethylenetriamine pentaacetate</i><br>(Diethylenetriaminpentaessigsäure) |
| E     | Energie  |
| ee    | <i>Enantiomeric excess</i><br>(Enantiomerenüberschuss)                       |
| Et    | Ethyl  |
| EtOH  | Ethanol  |
| FAZA  | Fluorazomycin Arabinosid   |
| FDG   | 2-Fluor-2-desoxyglucose  |
| FDOPA | Fluordopa  |
| FES   | Fluorestradiol   |
| FET   | Fluorethyltyrosin  |
| FPT   | Fluorpropoxytryptophan   |
| g     | Gramm  |
| GBq   | Gigabecquerel  |
| ges.  | gesättigt  |
| GMP   | <i>Good manufacturing practice</i><br>(Gute Herstellungspraxis)              |
| GPT   | Glutamin-pyruvat-transaminase  |
| h     | Stunden  |
| HIOMT | Hydroxyindol-O-methyltransferase   |
| HPLC  | <i>High performance liquid chromatography</i>                                |

|                  |   |
|------------------|---|
|                  | (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)                                  |
| HRMS             | <i>High resolution mass spectrum</i><br>(Hochaufgelöstes Massenspektrum)    |
| HWZ              | Halbwertszeit   |
| Hz               | Hertz   |
| IDO              | Indolamin-2,3-dioxygenase   |
| iPrOH            | Isopropanol   |
| K <sub>222</sub> | 4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexaacosan                  |
| KAT              | Kynureninaminotransferase   |
| keV              | Kiloelektronenvolt  |
| kJ               | Kilojoule   |
| KMO              | Kynurenin-3-monooxygenase   |
| KYN              | Kynurenin   |
| KYNA             | <i>Kynurenic acid</i><br>(Kynureninsäure)                                   |
| KYNU             | Kynureninase  |
| L                | Liter   |
| LAT1             | L-Typ Aminosäuretransporter   |
| LRMS             | <i>Low resolution mass spectrum</i><br>(Niedrig aufgelöstes Massenspektrum) |
| Lys              | Lysin   |
| MAO A            | Monoaminoxidase A   |
| mbar             | Millibar  |
| MBq              | Megabecquerel   |
| Me               | Methyl  |
| MeCN             | Acetonitril   |
| MeOH             | Methanol  |
| mg               | Milligramm  |
| MHz              | Megahertz   |
| min              | Minuten   |
| mL               | Milliliter  |
| mM               | Millimol pro Liter  |
| mmol             | Millimol  |

|                  |   |
|------------------|---|
| mol              | Mol   |
| MOM              | Methoxymethyl                                       |
| MRT              | Magnet-Resonanz-Tomographie                         |
| µg               | Mikrogramm  |
| µm               | Mikrometer  |
| µmol             | Mikromol  |
| n.c.a.           | <i>no-carrier-added</i><br>(ohne Trägerzusatz)      |
| NAD <sup>+</sup> | Nicotinamidadenindinucleotid                        |
| NAS              | <i>N</i> -Acetylserotonin                           |
| NAT              | Serotonin- <i>N</i> -acetyltransferase              |
| <i>n</i> BuOH    | <i>n</i> -Butanol                                   |
| NET              | Norepinephrintransporter                            |
| nm               | Nanometer   |
| NMO              | <i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid           |
| nmol             | Nanomol   |
| NOTA             | 1,4,7-Triazacyclononan-1,4,7-triessigsäure          |
| NP               | Normalphase   |
| ns               | Nanosekunden  |
| OTf              | Triflat   |
| PD               | <i>Parkinson's disease</i><br>(Parkinson-Krankheit) |
| PET              | Positronen-Emissions-Tompgraphie                    |
| Ph               | Phenyl  |
| Phe              | Phenylalanin  |
| ppm              | <i>Parts per million</i><br>(Millionstel)           |
| Py               | Pyridin   |
| QMA              | Quaternäres Methylammonium                          |
| QUIN             | <i>Quinolinic acid</i><br>(Chinolinsäure)           |
| R                | Rest  |
| RCA              | Radiochemische Ausbeute                             |



|       |  |
|-------|--|
| RCU   | Radiochemischer Umsatz   |
| RP    | <i>Reversed Phase</i><br>(Umkehrphase)   |
| RT    | Raumtemperatur   |
| s     | Sekunden   |
| SET   | <i>Single-electron-transfer</i><br>(Eielektronenübertragung)                                       |
| SPECT | <i>Single photon emission computed tomography</i><br>(Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie) |
| SuFEx | <i>Sulfur-Fluoride-Exchange</i><br>(Schwefel-Fluor-Austausch)                                      |
| TBA   | Tetrabutylammonium   |
| tBu   | <i>Tert-Butyl</i>  |
| TDO   | Tryptophan-2,3-dioxygenase   |
| TEA   | Tetraethylammonium   |
| Terpy | Terpyridin   |
| TFA   | <i>Trifluoroacetic acid</i><br>(Trifluoressigsäure)  |
| THF   | Tetrahydrofuran  |
| TIPS  | Triisopropylsilyl  |
| TMS   | Trimethylsilyl   |
| TMSA  | Trimethylsilylacetylen   |
| TPase | Tryptophanase  |
| TPH   | Tryptophanhydroxylase  |
| Trp   | Tryptophan   |
| Tyr   | Tyrosin  |
| UV    | Ultraviolett   |

## Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne die Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten und nicht veröffentlichten Werken dem Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht. Ich versichere an Eides statt, dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie - abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen und eingebundenen Artikeln und Manuskripten - noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, dass ich eine Veröffentlichung der Dissertation vor Abschluss der Promotion nicht ohne Genehmigung des Promotionsausschusses vornehmen werde. Die Bestimmungen dieser Ordnung sind mir bekannt. Darüber hinaus erkläre ich hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten der Universität zu Köln gelesen und sie bei der Durchführung der Dissertation zugrundeliegenden Arbeiten und der schriftlich verfassten Dissertation beachtet habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen. Ich versichere, dass die eingereichte elektronische Fassung der eingereichten Druckfassung vollständig entspricht.

.....  
*Niklas Kolks*

Niklas Kolks

### Tagungsbeiträge:

N. Kolks, B. Zlatopolskiy, E. Urusova, B. Neumaier, "SP-002 - Synthesis of N-methyl- and 5-OH-[<sup>18</sup>F]fluorotryptophans." *Nuclear Medicine and Biology* **2021**, 96-97, S34-S35. (Abstract und Vortrag, eSRS 2021)

N. Kolks, B. Zlatopolskiy, B. Neumaier, "O-52 - Preparation of 5-[<sup>18</sup>F],7-difluoro- and 5,7-[<sup>18</sup>F]difluorotryptophans." *Nuclear Medicine and Biology* **2022**, 108-109, S35. (Abstract und Vortrag, iSRS 2022)

N. Kolks, B. Zlatopolskiy, B. Neumaier, „Radiosynthese von 5,7-[5-<sup>18</sup>F]- und 5,7-[7-<sup>18</sup>F]-Difluortryptophan“ [Abstract und Vortrag, AGRR 2022, Preis für den besten Vortrag (Nachwuchswissenschaftler)]



## Supporting Information

### Preparation of Labeled Aromatic Amino Acids via Late-Stage $^{18}\text{F}$ -Fluorination of Chiral Nickel and Copper Complexes

Austin Craig,<sup>†,‡,§,†</sup> Niklas Kolks,<sup>†,‡,†</sup> Elizaveta A. Urusova,<sup>†,‡</sup> Johannes Zischler,<sup>†,‡</sup> Melanie Brugger,<sup>†</sup> Heike Endepols,<sup>†,‡</sup> Bernd Neumaier,<sup>†,‡,§\*</sup> and Boris D. Zlatopolskiy<sup>†,‡,§</sup>

<sup>†</sup>Forschungszentrum Jülich GmbH, Institute of Neuroscience and Medicine, INM-5 Nuclear Chemistry, 52425 Jülich, Germany

<sup>‡</sup>Institute of Radiochemistry and Experimental Molecular Imaging, University Hospital Cologne, Kerpener Str. 62, 50937 Cologne, Germany

<sup>§</sup>Max Planck Institute for Metabolism Research, University Hospital Cologne, Gleueler Str. 50, 50931 Cologne, Germany

<sup>†</sup>contributed equally

\*Corresponding Author

# Table of Contents

|  |    |
|--|----|
| Organic Synthesis .....  | 5  |
| General Experimental Information .....   | 5  |
| General procedure for alkylation upon Ni/Cu-BPX-Gly or Ala (GP1) .....   | 6  |
| General procedure for radical bromination (GP2) .....  | 7  |
| Experimental Procedures and Characterization Data .....  | 8  |
| Synthesis of Ni-/Cu-BPX complexes .....  | 8  |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-2-BpinPhe ( <b>3a</b> ) .....  | 10 |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-2-FPhe ( <b>18a</b> ) .....  | 11 |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-3-BpinPhe ( <b>3b</b> ) .....  | 12 |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-3-FPhe ( <b>18b</b> ) .....  | 14 |
| ( <i>S,S</i> )-Cu-BPB-3-BpinPhe ( <b>19</b> ) .....  | 15 |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-4-BpinPhe ( <b>3c</b> ) .....  | 16 |
| 4,4,5,5-Tetramethyl-2-(2-methyl-4-hydroxyphenyl)-1,3,2-dioxaborolane ( <b>S11</b> ) .....  | 17 |
| 2-(4-(Methoxymethoxy)-2-methylphenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane ( <b>S12</b> ) .....                                   | 18 |
| 2-(4-(Methoxymethoxy)-2-bromomethylphenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane ( <b>2d</b> ) ...                                 | 19 |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-2-Bpin-5-MOMO-Phe ( <b>3d</b> ) .....  | 20 |
| 2-Bromo-4-(methoxymethoxy)-1-methylbenzene ( <b>S14</b> ) .....  | 21 |
| 2-[5-(Methoxymethoxy)-2-methylphenyl]-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane ( <b>S15</b> ) .....                                   | 22 |
| 2-(2-(Bromomethyl)-5-(methoxymethoxy)phenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane ( <b>2e</b> ) .                                 | 23 |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-2-Bpin-4-MOMO-Phe ( <b>3e</b> ) .....  | 24 |
| 2-Fluoro-4-(methoxymethoxy)-1-methylbenzene ( <b>S17</b> ) .....   | 25 |
| 1-(Bromomethyl)-2-fluoro-4-(methoxymethoxy)benzene ( <b>S18</b> ) .....  | 26 |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-2-F-4-MOMO-Phe ( <b>18e</b> ) .....  | 27 |
| 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole ( <b>S20</b> ) .....   | 28 |
| <i>N,N</i> -Dimethyl-1-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanamine ( <b>S21</b> )<br>.....            | 29 |
| <i>N,N,N</i> -Trimethyl-1-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanaminium<br>iodide ( <b>2f</b> ) ..... | 30 |
| ( <i>S,S</i> )-Ni-BPB-4-Bpin-Trp ( <b>3f</b> ) .....   | 31 |
| $\alpha$ -Methyl-2-[ <sup>18</sup> F]FPhe precursor ( <b>3g</b> ) .....  | 33 |
| Ni-BPB $\alpha$ -methyl-2-FPhe reference compound ( <b>18g</b> ) .....   | 34 |
| Ni-PBP-( <i>RS</i> )-Ala ( <b>S22</b> ) .....  | 35 |
| General procedure for alkylation upon Ni-PBP-( <i>RS</i> )-Ala (GP3) .....   | 37 |

|  |     |
|--|-----|
| General procedure for decomposition of Ni-PBP- $\alpha$ Me-n-FPhe complexes (n = 2–4) (GP4).....                           | 37  |
| Ni-PBP- $\alpha$ Me-2-FPhe ( <b>S24</b> ) .....  | 38  |
| ( <i>RS</i> )- $\alpha$ -Methyl-2-fluorophenylalanine [( <i>RS</i> )- <b>4g</b> ] .....                                    | 39  |
| $\alpha$ -Methyl-3-[ $^{18}$ F]FPhe precursor ( <b>3h</b> ).....   | 40  |
| Ni-BPB $\alpha$ -methyl 3-FPhe ( <b>18h</b> ) .....  | 41  |
| Ni-PBP- $\alpha$ Me-3-FPhe ( <b>S25</b> ) .....  | 42  |
| ( <i>RS</i> )- $\alpha$ -Methyl-3-fluorophenylalanine [( <i>RS</i> )- <b>4h</b> ] .....                                    | 43  |
| $\alpha$ -Methyl-4-[ $^{18}$ F]FPhe precursor ( <b>3i</b> ).....   | 44  |
| Ni-BPB $\alpha$ -methyl-4FPhe Reference Compound ( <b>18i</b> ) .....  | 45  |
| Ni-PBP- $\alpha$ Me-4-FPhe ( <b>S27</b> ) .....  | 46  |
| ( <i>RS</i> )- $\alpha$ -Methyl-4-fluorophenylalanine [( <i>RS</i> )- <b>4i</b> ] .....                                    | 47  |
| NMR Spectra.....   | 48  |
| Radiochemistry.....  | 97  |
| General Information and Procedures.....  | 97  |
| Preprocessing of [ $^{18}$ F]fluoride .....  | 97  |
| Synthesis of FET.....  | 97  |
| HPLC.....  | 97  |
| General procedure for the preparation of $^{18}$ F-labeled aromatic amino acids from Ni-BPX-(Bpin)AAA complexes (GP5)..... | 100 |
| Automated Radiosyntheses .....   | 100 |
| Optimization of Radiofluorination Conditions .....   | 101 |
| Automated Synthesis of Radiofluorinated Amino Acids .....  | 103 |
| Radio HPLC traces and RCC data for $^{18}$ F-labeled Products.....   | 105 |
| Deprotection Optimization .....  | 110 |
| Quality Control of Products.....   | 110 |
| Determination of Enantiomeric Excess for AAA PET tracers.....  | 120 |
| General Procedure for determination of carrier amount and molar activity (GP 6) .....                                      | 122 |
| Determination of specific activity and carrier amount for 3-[ $^{18}$ F]FPhe ([ $^{18}$ F] <b>4b</b> ). .....              | 123 |
| Determination of specific activity and carrier amount for 4-[ $^{18}$ F]FPhe ([ $^{18}$ F] <b>4c</b> ).....                | 125 |
| Determination of specific activity and carrier amount for $\alpha$ Me-2-[ $^{18}$ F]FPhe ([ $^{18}$ F] <b>4g</b> ). .....  | 126 |
| Determination of specific activity and carrier amount for $\alpha$ Me-3-[ $^{18}$ F]FPhe ([ $^{18}$ F] <b>4h</b> ). .....  | 127 |
| Determination of specific activity and carrier amount for $\alpha$ Me-4-[ $^{18}$ F]FPhe ([ $^{18}$ F] <b>4i</b> ). .....  | 129 |
| Induced-Coupled Plasma Mass Spectrometry Results.....  | 130 |
| <i>In vitro</i> experiments .....  | 131 |
| General Information.....   | 131 |

|   |     |
|---|-----|
| Cellular uptake studies .....   | 131 |
| General .....   | 134 |
| Comparison of brain uptake of 3-[ <sup>18</sup> F]FPhe in healthy rats with/without benserazide ..... | 136 |
| References .....  | 137 |



# Organic Synthesis

## General Experimental Information

If not otherwise stated, all chemical compounds, including reference compounds and solvents were obtained from Merck (Sigma-Aldrich, Germany), Thermo-Fisher Scientific (Alfa Aesar and Acros, Germany) and Fluorochem (United Kingdom). They were used directly without prior purification. Thin-layer chromatography (TLC) experiments were carried out using pre-coated plates of silica gel 60 F254 (Merck, Darmstadt, Germany), and analyzed under a UV lamp at 254 nm. Moisture sensitive reactions were carried out in pre-heated glassware (2 h at 140 °C) and proceeded under an argon atmosphere. All reactions were stirred magnetically and the organic layers were dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub>. <sup>1</sup>H NMR spectra were collected applying a Bruker Avance II 300 (Bruker Corporation, MA, USA) (300 MHz), Bruker Avance (600 MHz), Bruker Avance 200 (200 MHz), or Varian Inova (400 MHz) spectrometer. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C chemical shifts are reported in ppm relative to residual peaks of deuterated solvents. Higher-order NMR spectra were approximately interpreted as first-order spectra, if possible. The observed signal multiplicities are characterized as follows: s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, quin = quintet, m = multiplet, and br = broad. Coupling constants (*J*) were reported in hertz (Hz). <sup>13</sup>C NMR spectra [additional APT (Attached ProtonTest)] were collected via Bruker Avance II 300 (75.5 MHz), Varian Inova (101 MHz), Bruker Avance 200 (50.3 MHz), and Bruker Avance II 600 (125.9 MHz). <sup>19</sup>F NMR spectra were collected applying a Bruker Avance II 300 and Bruker Avance II 600 (376 MHz). All chemical shifts ( $\delta$ , ppm) are provided with respect to the residual deuterated solvent peaks. Low-resolution electron spray ionization mass spectrometry [LRMS (ESI)] analyses of compounds were obtained using a LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany). High-resolution electron spray ionization mass spectrometry [HRMS (ESI)] analyses of compounds were obtained using a Fourier-transform ion-cyclotron resonance LTQ FT Ultra (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany). Low resolution electron impact ionization mass spectrometry gas chromatography (LRMS/GC) analyses were carried out using a ISQ GCMS system (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) equipped with ISQ (single quadrupole mass spectrometer) and Trace 1310 (GC-chromatograph) under the following conditions: ionization potential: 70 eV; detecting ion polarity: positive; scan: m/z 50–500; GC column: Optima 5 Accent 30 m×0.25 mm ID×0.25  $\mu$ m FD (Macherey-Nagel, Düren, Germany), temperature gradient (°C): 0–5 min: 70; 5–10 min: 70→270; 10–15 min: 270; GC injector + transfer line: isotherm 300 °C; flow rate (carrier gas): 1.2 mL/min (He, splitting: 1:10). High resolution electron impact ionization mass spectrometry gas chromatography (HRMS/GC) analyses were carried out using a Exactive GC

system (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) equipped with Orbitrap mass analyzer, Trace 1310 (GC-chromatograph) and TriPlus (RSH autoinjector) under the following conditions: ionization potential: 70 eV; detecting ion polarity: positive; ion source temperature: 250 °C; resolution: 60000; scan: m/z 50–500; GC column: TraceGold-5 SIL MS 30 m×0.25 mm ID×0.25 µm FD (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany), temperature gradient (°C): 0–1 min: 40; 1–17 min: 40→280; 17–22 min: 280; GC injector + transfer line: isotherm 300 °C; flow rate (carrier gas): 1 mL/min (He, split: 1:20). Elemental analysis (C, H): Vario MICRO Cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Langenselbold, Germany). Elemental analysis (C, H, O): Vario EL Cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Langenselbold, Germany); analyses were carried out in triplicate.

The C-Bpin signal was unobservable in the <sup>13</sup>C NMR spectra.

The preparation of the MOMCl solution (2.1 M, 18% w/w, 0.91 g/mL) in toluene was carried out according to the protocol described by Berliner *et al.*<sup>1</sup>

#### General procedure for alkylation upon Ni/Cu-BPX-Gly or Ala (GP1)

NaH (60% suspension in mineral oil) (1.6 equiv) was added in small portions to a solution of Cu/Ni-(*S*)-BPX-Gly or -Ala (1 equiv) and the *corresponding alkylating agent 2a–i* (1.6 equiv) in DMF/MeCN (1:2) at 0 °C and the reaction mixture was stirred at 0 °C for 20 min and thereafter, stirred at room temperature for an additional 2 hours. The reaction mixture was poured into an ice-cold 0.5 M pH 5.5 sodium phosphate buffer, the resulting emulsion was extracted thrice with EtOAc, and washed thrice with brine. The organic fraction was dried and concentrated under reduced pressure to give a red residue, which was purified by column chromatography on silica gel using a gradient elution of acetone/CHCl<sub>3</sub> to afford the crude product which was further purified by chromatography on C<sub>18</sub> silica gel using a gradient elution with aqueous MeCN and, finally, triturated with EtOAc/hexane to yield green Cu-BPB-AA or red Ni-BPX-AA solid, respectively. RP Chromatography using aqueous MeCN and subsequent evaporation of the eluent at 40 °C (under reduced pressure) sometimes caused hydrolysis of the Bpin group furnishing the corresponding boronic acids as side products (e.g., in the case of **3b**, **3h** and **3i**; in these cases we provide NMR-spectra of the respective products before and after RP chromatography; prolonged heating (> 3 h) of solutions of Bpin-substituted Ni-BPB-AAAs in 50% MeCN at 50 °C caused complete hydrolysis of the Bpin group). As boronic acids are generally better suited substrates for alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination than the corresponding Bpin esters, no attempts to separate them (or to convert them back into the Bpin

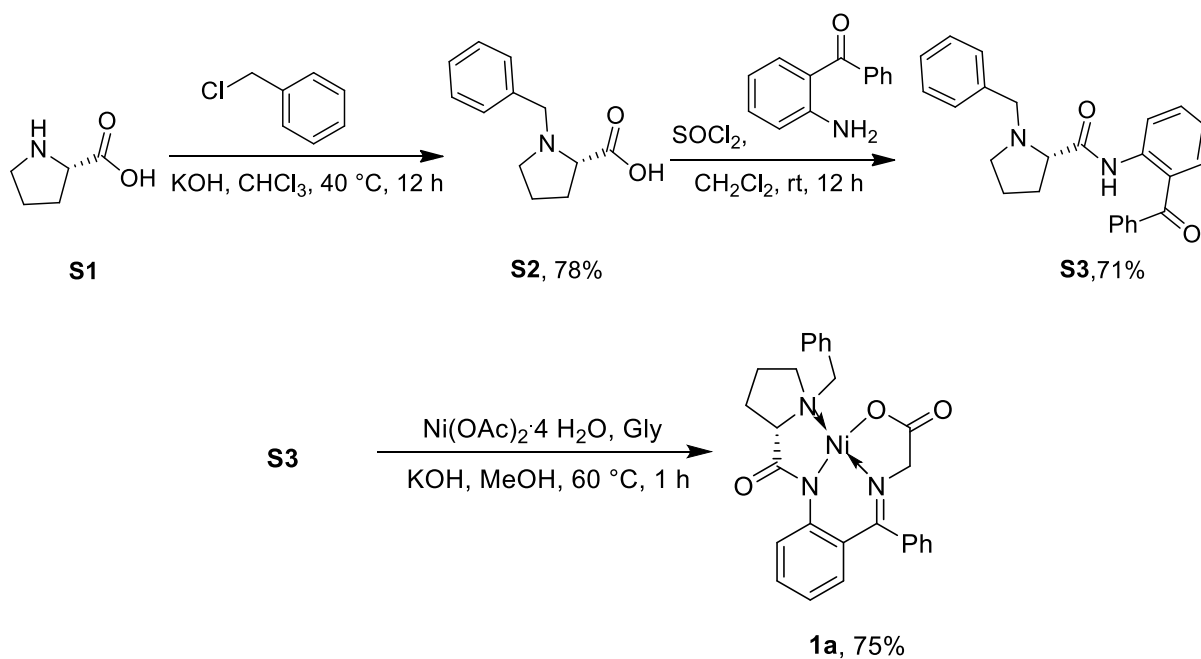
ester) were performed and the mixtures were directly used for the radiolabeling step. Omission of the RP purification step led in some cases to substantially lower  $^{18}\text{F}$ -incorporation rates.

### General procedure for radical bromination (GP2)

A solution of the corresponding substituted toluene (14.3 mmol), NBS (14.3 mmol) and AIBN (2.25 mmol) in cyclohexane (40 mL) was stirred under Ar under irradiation with a light source (550 W) in a quartz reaction vessel for 3 hours. The reaction mixture was filtered, and the filter cake was washed with hexane. The organic extract was dried and concentrated under reduced pressure to give a yellow oil, which was purified by column chromatography on silica gel using a gradient elution of EtOAc/hexane to give the desired product.

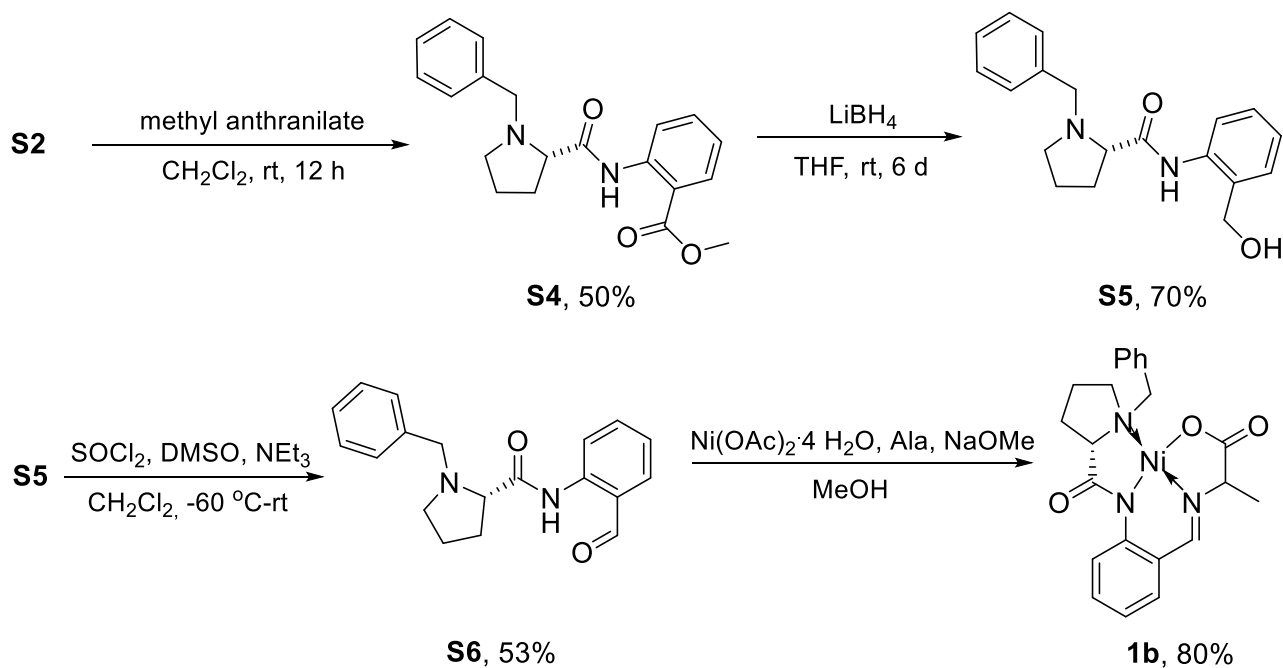
## Experimental Procedures and Characterization Data

### Synthesis of Ni-/Cu-BPX complexes



Scheme S1. The preparation of *(S)*-Ni-BPB-Gly (**1a**).<sup>2</sup>

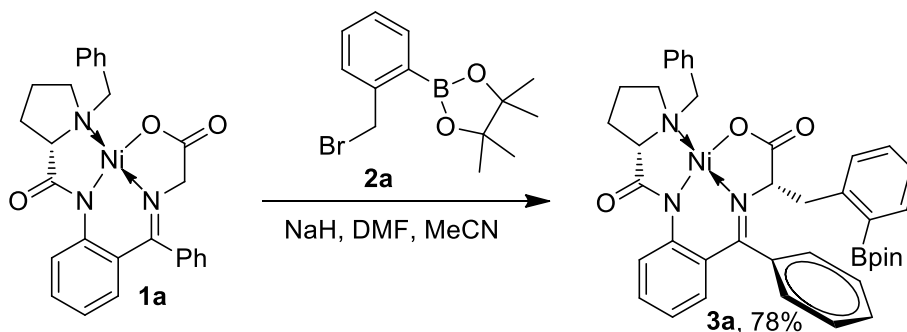
The preparation of *(S)*-Ni-BPB-Gly (**1a**)<sup>3</sup> was carried out according to the protocol described by Belokon *et al.* (Scheme S1)<sup>2</sup>. A similar protocol allowed *(S,S/R)*-Ni-BPX-Ala (**1b**) to be accessed (Scheme S2).<sup>4</sup>



Scheme S2. The preparation of *(S,S/R)*-Ni-BPX-Ala (**1b**).



### (*S,S*)-Ni-BPB-2-BpinPhe (**3a**)



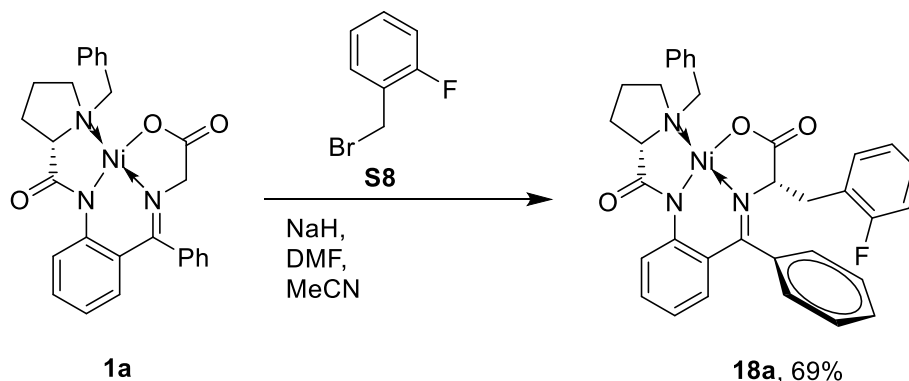
The above compound (**3a**) was prepared according to GP1 whereby, **1a** (0.52 g, 1.05 mmol), **2a** (0.5 g, 1.68 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (70 mg, 17.5 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (10 mL) were utilized. Yield: 78% (0.59 g, 0.82 mmol).

R<sub>f</sub> 0.42, (1:20 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.32 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.89 – 7.76 (m, 1H), 7.55 – 7.21 (m, 8H), 7.19 – 7.00 (m, 3H), 6.60 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.54 – 6.47 (m, 1H), 5.95 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 4.36 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 4.27 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 3.87 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.55 – 3.35 (m, 2H), 3.32 – 3.04 (m, 2H), 2.84 – 2.66 (m, 1H), 2.62 – 2.44 (m, 1H), 2.15 – 1.86 (m, 2H), 1.19 (s, 6H), 1.11 (s, 6H). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 180.34, 178.47, 170.73, 142.74, 142.50, 136.92, 134.00, 133.72, 133.34, 132.05, 131.47, 131.36, 131.09, 129.01, 128.76, 128.70, 128.56, 128.35, 127.90, 127.32, 126.44, 126.18, 123.05, 120.38, 83.64, 72.96, 70.80, 62.99, 57.13, 42.35, 31.06, 24.94, 24.34, 23.80. *C*-Bpin was not observed. Pairs of methyl groups of the Bpin residue were inequivalent. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine fragment were inequivalent.

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>40</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>NiB<sup>+</sup> calcd.714.2644, observed 714.2642; correct isotopic pattern.

**(*S,S*)-Ni-BPB-2-FPhe (**18a**)**



The above compound (**18a**)<sup>6</sup> was prepared according to GP1 whereby, **1a** (0.94 g, 1.89 mmol), 1-(bromomethyl)-2-fluorobenzene (**S8**, 0.5 g, 2.65 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (120 mg, 3.0 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (20 mL) were utilized. Yield: 69% (0.83 g, 1.29 mmol); according to the <sup>1</sup>H-NMR solvate with 0.5 mol. Et<sub>2</sub>O).

R<sub>f</sub> 0.35, (1:8 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

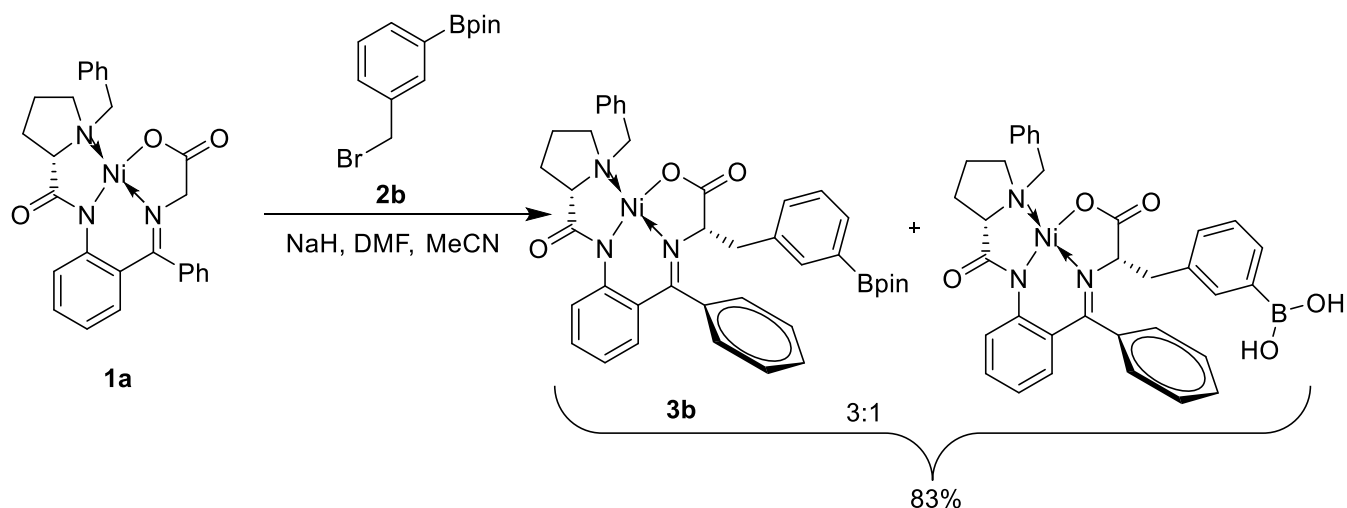
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.28 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.61 – 7.47 (m, 2H), 7.46 – 7.40 (m, 1H), 7.40 – 7.09 (m, 9H), 6.98 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.65 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H), 4.29 (dd, *J* = 9.1, 3.5 Hz, 2H), 3.56 – 3.43 (m, 1H), 3.31 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H), 3.22 – 3.06 (m, 2H), 3.02 – 2.89 (m, 1H), 2.47 – 2.23 (m, 3H), 2.01–1.87 (m, 1H), 1.78 – 1.58 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 180.25, 178.41, 171.98, 162.03 (d, *J* = 246.6 Hz), 142.90, 134.07, 133.56, 133.18, 132.89 (d, *J* = 4.4 Hz), 132.32, 131.53, 129.70, 129.34 (d, *J* = 8.1 Hz), 128.95, 128.91, 128.76, 128.19 (d, *J* = 3.1 Hz), 127.14, 126.21, 124.73 (d, *J* = 3.2 Hz), 123.25, 123.09 (d, *J* = 15.8 Hz), 120.49, 115.74, 115.52, 70.79, 70.34, 63.23, 57.03, 33.28, 30.76, 23.11. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ –115.29.

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>34</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NiF<sup>+</sup> calcd. 606.1698, observed 606.1698; correct isotopic pattern.

### (*S,S*)-Ni-BPB-3-BpinPhe (**3b**)



The above compound (**3b**) was prepared according to GP1 whereby, **1a** (0.78 g, 1.56 mmol), **2b** (0.65 g, 2.20 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (100 mg, 2.50 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (10 mL) were utilized. Yield: 83% (0.90 g; total yield of **3b** and the corresponding boronic acid). In this instance partial hydrolysis of the pinacol boronate moiety to boronic acid was observed during reversed-phase purification. As boronic acids are typically even better substrates for the alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination than the corresponding Bpin esters, no attempt to separate it (or to convert it back into the Bpin ester) was made and the mixture was directly used for the radiolabeling step. Omission of the RP purification step could lead to lower  $^{18}\text{F}$ -incorporation rates.

$R_f$  0.42, (1:20 acetone/ $\text{CHCl}_3$ ).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; before RP purification)  $\delta$  8.33 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 8.02 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 7.82 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.59 – 7.47 (m, 2H), 7.45 – 7.37 (m, 2H), 7.35 – 7.22 (m, 4H), 7.20 – 7.12 (m, 2H), 6.81 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 6.68 (d,  $J = 3.9$  Hz, 2H), 4.32 (d,  $J = 13.5$  Hz, 1H), 4.26 (dt,  $J = 13.5, 7.2$  Hz, 1H), 3.48 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 9.6, 7.6$  Hz, 1H), 3.20 (dd,  $J = 13.7, 4.6$  Hz, 1H), 3.16 – 3.09 (m, 1H), 2.95 (dd,  $J = 13.7, 6.0$  Hz, 1H), 2.60 – 2.42 (m, 1H), 2.40 – 2.26 (m, 2H), 2.02 – 1.90 (m, 1H), 1.83 – 1.71 (m, 1H), 1.31 (s, 6H), 1.29 (s, 6H).

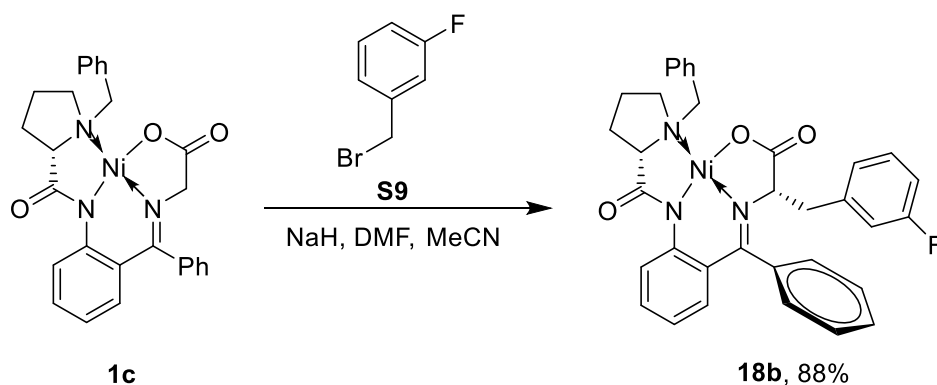
$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; before RP purification)  $\delta$  180.30, 178.60, 171.11, 143.02, 136.82, 135.08, 134.14, 133.71, 133.50, 133.29, 133.18, 132.24, 131.54, 129.67, 128.98, 128.86, 128.76, 128.73, 128.15, 127.91, 127.17, 126.00, 123.40, 120.40, 83.82, 71.51, 70.33, 63.13,



57.15, 40.15, 30.74, 24.86, 24.77, 23.28. C-Bpin was not observed. Pairs of methyl groups of the Bpin residue were inequivalent. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

HRMS (ESI)  $m/z$   $[M + H]^+$ ,  $C_{40}H_{43}N_3O_5NiB^+$  calcd. 714.2644, observed 714.2643; correct isotopic pattern.

**(*S,S*)-Ni-BPB-3-FPhe (**18b**)**



The above compound (**18b**)<sup>6</sup> was prepared according to GP1 whereby, **1a** (0.52 g, 1.04 mmol), 1-(bromomethyl)-3-fluorobenzene (**S9**, 0.32 g, 1.68 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (70 mg, 1.75 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (10 mL) were utilized. Yield: 88% (0.59 g, 0.85 mmol; according to the <sup>1</sup>H-NMR solvate with 0.5 mol. Et<sub>2</sub>O).

R<sub>f</sub> 0.42, (1:20 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

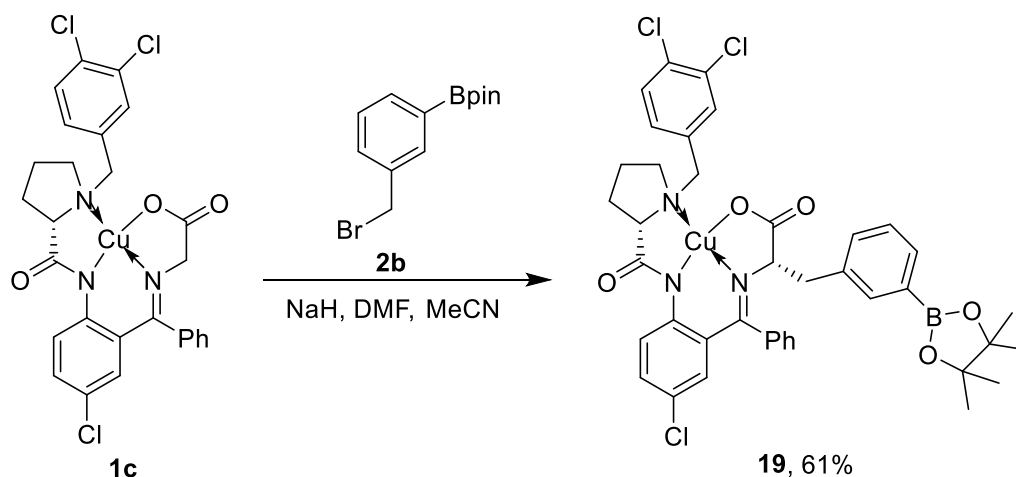
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.23 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 7.65 – 7.49 (m, 2H), 7.48 – 7.38 (m, 1H), 7.39 – 7.22 (m, 4H), 7.21 – 7.00 (m, 3H), 6.98 – 6.78 (m, 3H), 6.73 – 6.59 (m, 2H), 4.38 – 4.12 (m, 2H), 3.58 – 3.40 (m, 2H), 3.32 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.23 – 3.11 (m, 1H), 3.06 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 2.87 (dd, *J* = 12.1, 4.9 Hz, 1H), 2.62 – 2.43 (m, 1H), 2.43 – 2.28 (m, 2H), 2.08 – 1.89 (m, 1H), 1.86 – 1.69 (m, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 180.37, 178.22, 171.36, 163.07 (d, *J* = 246.6 Hz), 142.91, 138.32 (d, *J* = 7.4 Hz), 134.07, 133.53, 133.25, 132.49, 131.51, 130.15 (d, *J* = 8.2 Hz), 129.90, 129.08 (d, *J* = 22.6 Hz), 128.83, 128.80, 127.76, 127.17, 126.23, 126.20, 126.06, 123.44, 120.63, 117.34 (d, *J* = 21.0 Hz), 114.37 (d, *J* = 20.9 Hz), 71.13, 65.83, 63.32, 57.23, 39.53, 30.73, 23.20. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -112.49.

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>34</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NiF<sup>+</sup> calcd. 606.1698, observed 606.1698; correct isotopic pattern.

### (*S,S*)-Cu-BPB-3-BpinPhe (**19**)



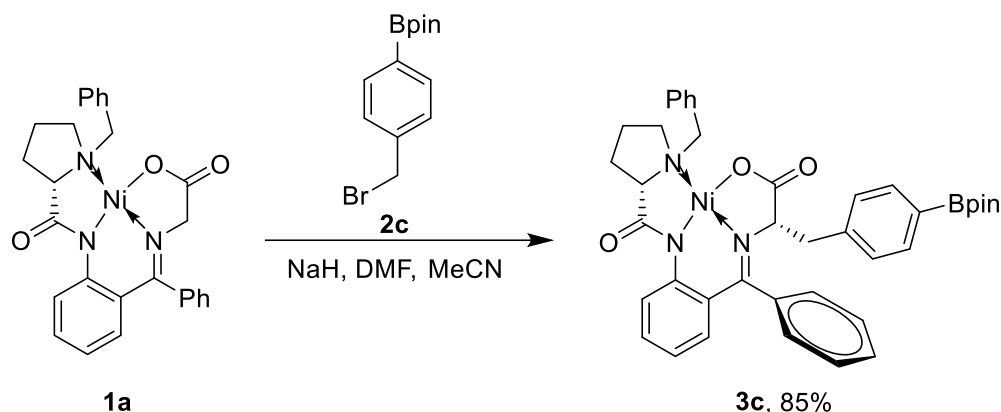
The above compound (**19**) was prepared according to GP1 whereby, **1c** (0.40 g, 0.66 mmol), **2b** (0.314 g, 1.06 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (42 mg, 1.06 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (10 mL) were utilized. Yield: 61% (0.33 g, 0.40 mmol).

The paramagnetic nature of Cu(II) rendered characterization by NMR spectroscopy inapplicable.

R<sub>f</sub> 0.42, (1:20 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>40</sub>H<sub>40</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>CuCl<sub>3</sub>B<sup>+</sup> calcd. 823.1405, observed 823.1386; correct isotopic pattern.

### (*S,S*)-Ni-BPB-4-BpinPhe (**3c**)



The above compound (**3c**) was prepared according to GP1 whereby, **1a** (1.00 g, 2.00 mmol), **2c** (0.95 g, 3.2 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (130 mg, 3.2 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (20 mL) were utilized. Yield: 85% (1.22 g, 1.70 mmol).

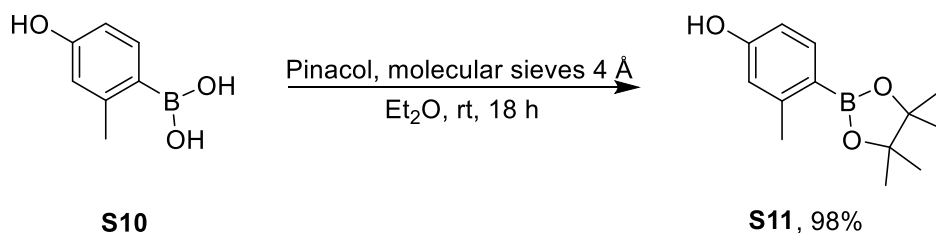
R<sub>f</sub> 0.42, (1:20 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.28 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.89 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.61 – 7.52 (m, 2H), 7.52 – 7.45 (m, 1H), 7.35 – 7.29 (m, 3H), 7.23 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.20 – 7.14 (m, 2H), 7.00 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.70 (d, *J* = 3.9 Hz, 2H), 4.34 – 4.25 (m, 2H), 3.45 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 3.29 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.12 – 2.97 (m, 2H), 2.83 (dd, *J* = 13.2, 6.2 Hz, 1H), 2.25 (dd, *J* = 15.5, 7.1 Hz, 2H), 2.20 – 2.08 (m, 1H), 2.07 – 1.97 (m, 1H), 1.65 – 1.50 (m, 1H), 1.36 (s, 6H) 1.35 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 180.42, 178.65, 171.23, 142.94, 138.91, 135.32, 134.19, 133.50, 133.14, 132.37, 131.54, 130.00, 129.80, 129.12, 128.95, 128.77, 128.72, 127.83, 127.12, 126.03, 123.41, 120.57, 83.78, 71.28, 70.34, 63.34, 57.41, 39.54, 30.66, 24.90, 24.67, 23.19. C-Bpin was not observed. Pairs of methyl groups of the Bpin residue were inequivalent. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>40</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>NiB<sup>+</sup> calcd. 714.2644, observed 714.2643; correct isotopic pattern.

#### 4,4,5,5-Tetramethyl-2-(2-methyl-4-hydroxyphenyl)-1,3,2-dioxaborolane (**S11**)



Following a literature procedure,<sup>7</sup> a suspension of molecular sieves (4 Å) (7 g) in a solution of (2-methyl-4-hydroxyphenyl)boronic acid (**S10**, 5.00 g, 32.9 mmol), and pinacol (4.14 g, 35.0 mmol) in anhydrous Et<sub>2</sub>O (100 mL) was stirred under Ar at ambient temperature for 18 hours. The reaction mixture was filtered, and the filter cake was washed with Et<sub>2</sub>O. The filtrate was dried and concentrated under reduced pressure to give an oily residue, which was purified by column chromatography using gradient elution with EtOAc/hexane affording the *title compound* in 98% yield (7.61 g, 32.5 mmol) as a colorless solid.<sup>7</sup>

R<sub>f</sub> 0.62, (1:10 EtOAc/hexane).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.68 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H), 6.66 – 6.58 (m, 2H), 5.24 (s, 1H), 2.49 (s, 3H), 1.33 (s, 12H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 157.80, 147.57, 138.02, 116.78, 111.83, 83.25, 24.82, 22.17.

C-Bpin was not observed.

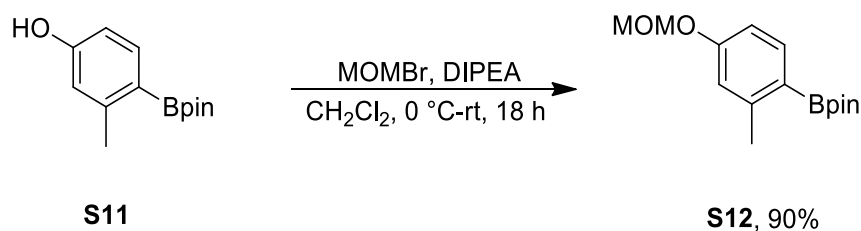
LRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>B<sup>+</sup> calcd. 235.15, observed 235.26.

LRMS/GC: *R*<sub>t</sub> 11.82 min, C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>B<sup>+</sup>, [M]<sup>+</sup> calcd. 234.14, observed 234.16.

HRMS/GC: *R*<sub>t</sub> 12.90 min, C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>B<sup>+</sup>, [M]<sup>+</sup> calcd. 234.1422, observed 234.1421; correct isotopic pattern.

Elemental analysis calcd (%) for C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>B (234.4): C 66.70, H 8.18; found C 66.69, H 8.17.

2-(4-(Methoxymethoxy)-2-methylphenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (**S12**)



MOMBr (0.7 mL, 1.07 g, 8.56 mmol) was slowly added to a stirred ice-cold solution of 4,4,5,5-tetramethyl-2-(2-methyl-4-hydroxyphenyl)-1,3,2-dioxaborolane (**S11**) (1.00 g, 4.27 mmol) and DIPEA (1.49 mL, 1.11 g, 8.55 mmol) in anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 mL) under Ar. Thereafter, the cooling bath was removed and the reaction mixture was stirred for 18 hours. The reaction mixture was washed with H<sub>2</sub>O (2 × 30 mL), washed with brine (2 × 30 mL) and dried and concentrated under reduced pressure to give an oily brown residue, which was purified by column chromatography using gradient elution with EtOAc/hexane (0–20%) affording the *title compound* in 90% yield (1.07 g, 3.85 mmol) as a yellow oil.<sup>8</sup>

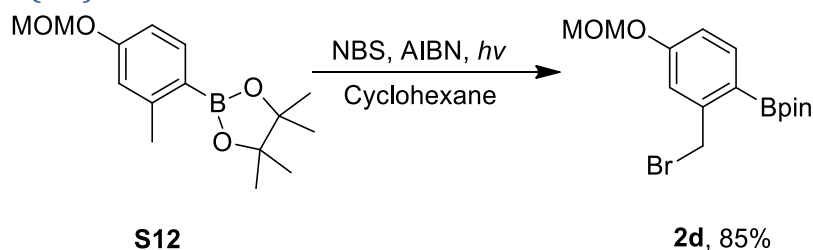
R<sub>f</sub> 0.31, (1:20 EtOAc/hexane).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.75 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.90 – 6.82 (m, 2H), 5.21 (s, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.56 (s, 3H), 1.36 (s, 12H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 159.27, 147.27, 137.75, 117.41, 112.32, 93.96, 83.18, 55.98, 24.88, 22.38.

HRMS (ESI) *m/z* [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>BO<sub>4</sub>Na<sup>+</sup> calcd. 301.1582, observed 301.1584; correct isotopic pattern.

2-(4-(Methoxymethoxy)-2-bromomethylphenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (**2d**)



The above compound (**2d**) was prepared according to GP2 whereby, **S12** (4.00 g, 14.4 mmol), NBS (2.55 g, 14.3 mmol), AIBN (0.40 g, 2.44 mmol) and cyclohexane (40 mL) were utilized. Yield: 85% (4.36 g, 1.70 mmol). **2d** was directly used in the next step owing to its instability.

$R_f$  0.14, (1:10 EtOAc/hexane).

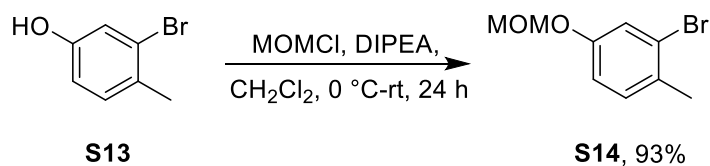
$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.77 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.07 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.96 (dd,  $J = 8.3, 2.4$  Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.89 (s, 2H), 3.47 (s, 3H), 1.36 (s, 12H).

$^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  159.56, 146.36, 138.31, 117.81, 115.16, 83.68, 56.15, 56.03, 33.75, 24.89. C-Bpin was not observed.





## 2-Bromo-4-(methoxymethoxy)-1-methylbenzene (**S14**)



A solution of 2.1 M MOMCl solution in toluene (20 mL) prepared according to a literary procedure<sup>1</sup> was slowly added to a stirred ice-cold solution of 3-bromo-4-methylphenol (**S13**, 4.6 g, 24.6 mmol) and DIPEA (10 mL, 7.42 g, 57.4 mmol) in anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 mL). Thereafter, the cooling bath was removed and the reaction mixture was stirred for 24 hours. The mixture was washed with H<sub>2</sub>O (3 × 30 mL), brine (3 × 30 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (EtOAc/hexane, gradient elution 20–50%), affording the *title compound*<sup>9</sup> (5.30 g, 23 mmol) in 93% yield.

R<sub>f</sub>: 0.75, (1:2 EtOAc/hexane).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.28 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J* = 8.4, 0.5 Hz, 1H), 6.92 (dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.35 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 155.76, 131.06, 130.97, 124.76, 120.24, 115.42, 94.65, 55.99, 21.89.

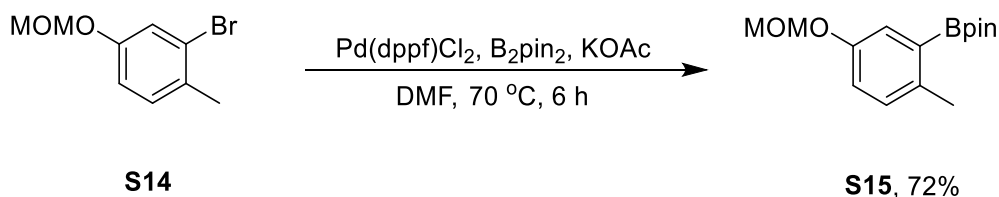
LRMS/GC: *R*<sub>t</sub> 10.44 min, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>BrO<sub>2</sub><sup>+</sup>, [M]<sup>+</sup> calcd. 229.99, observed 229.99.

HRMS/GC: *R*<sub>t</sub> 12.90 min, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>BrO<sub>2</sub><sup>+</sup>, [M]<sup>+</sup> calcd. 229.9937, observed 229.9935; correct isotopic pattern.

Elemental analysis calcd (%) for C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>BrO<sub>2</sub> (231.09): C 46.78, H 4.80; found C 46.73, H 4.96.

Elemental analysis calcd (%) for C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>BrO<sub>2</sub> (231.09): C 46.78, H 4.80, O 13.85; found C 46.7 ± < 0.1, H 4.79 ± 0.17, O 14.2 ± < 0.1.

2-[5-(Methoxymethoxy)-2-methylphenyl]-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (**S15**)



A suspension of KOAc (0.44 g, 4.54 mmol), 2-bromo-4-(methoxymethoxy)-1-methylbenzene (**S14**) (0.5 g, 2.16 mmol), B<sub>2</sub>pin<sub>2</sub> (0.66 g, 2.6 mmol), and Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0.1 g, 0.15 mmol) in anhydrous DMF (10 mL) was stirred at 75 °C for 12 h, followed by 90 °C for 3 h. Thereafter, the solvent was removed under reduced pressure and the residue was taken up in Et<sub>2</sub>O (10 mL). The mixture was washed with H<sub>2</sub>O (3 × 10 mL), brine (3 × 10 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (1:20 EtOAc/hexane) to furnish the *title compound* (0.43 g, 1.55 mmol) in 72% yield as a light yellow oil.

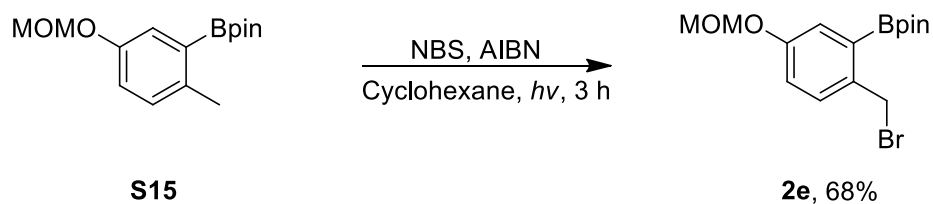
R<sub>f</sub>: 0.45, (1:10 EtOAc/hexane).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.41 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.01 (dd, *J* = 8.3, 2.8 Hz, 1H), 5.17 (s, 2H), 3.48 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 1.34 (s, 12H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 154.38, 138.18, 130.85, 123.27, 118.84, 94.58, 83.47, 77.00, 55.87, 24.86, 21.23.

HRMS (ESI) *m/z* [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>O<sub>4</sub>BNa<sup>+</sup> calcd. 301.1582, observed 301.1584; correct isotopic pattern.

2-(2-(Bromomethyl)-5-(methoxymethoxy)phenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (**2e**)

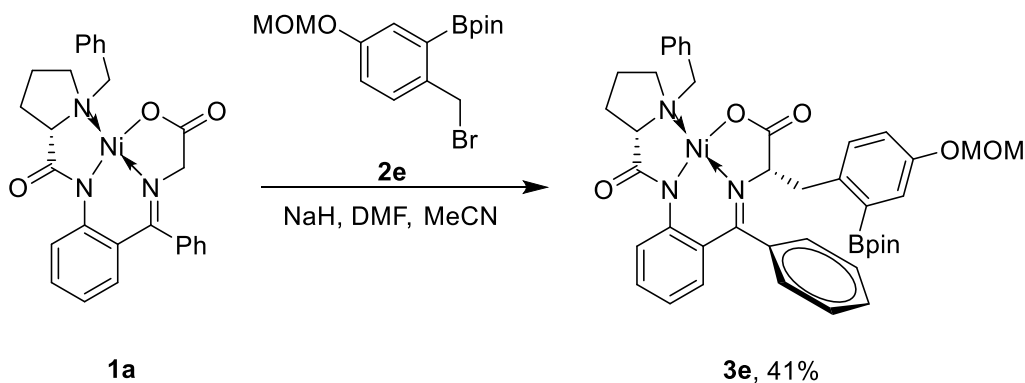


The above compound (**2e**) was prepared according to the general procedure 2 (GP2) whereby, **S15** (0.62 g, 2.25 mmol), NBS (0.40 g, 2.45 mmol), AIBN (44 mg, 0.27 mmol) and cyclohexane (40 mL) were utilized. Yield: 68% (0.55 g, 1.54 mmol). **2e** was directly used for the next step owing to its instability.

R<sub>f</sub>: 0.60, (1:3 EtOAc/hexane).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.49 (dd, *J* = 9.9, 2.6 Hz, 1H), 7.17 – 7.02 (m, 2H), 5.20 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.50 (s, 3H), 2.53 (s, 2H), 1.37, 1.39 (2×s, 12H).

(*S,S*)-Ni-BPB-2-Bpin-4-MOMO-Phe (**3e**)



The above compound (**3e**) was prepared according to GP1 whereby, **1a** (0.58 g, 1.16 mmol), **2e** (0.5 g, 1.40 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (56 mg, 1.40 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (15 mL) were utilized. Yield: 41% (0.37 g, 0.48 mmol).

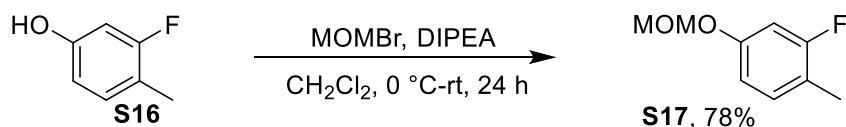
R<sub>f</sub> 0.71, (1:10 acetone/ CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.36 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.72 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.47 – 7.27 (m, 4H), 7.23 – 6.99 (m, 5H), 6.90 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.57 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 5.90 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.91 (dd, *J* = 32.9, 6.6 Hz, 2H), 4.35 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 4.28 – 4.19 (m, 1H), 3.96 – 3.78 (m, *J* = 20.8 Hz, 2H), 3.48 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 3.44 – 3.36 (m, 1H), 3.34 – 3.23 (m, 2H), 3.18 (s, 3H), 2.89 – 2.71 (m, 1H), 2.59 – 2.41 (m, 1H), 2.14 – 1.92 (m, 2H), 1.15 (s, 6H), 1.08 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 180.19, 178.49, 170.61, 159.21, 144.55, 142.84, 138.36, 133.91, 133.72, 133.34, 132.00, 131.48, 129.07, 128.75, 128.67, 128.52, 128.25, 128.13, 127.33, 126.10, 123.12, 120.27, 118.59, 114.71, 93.85, 83.38, 72.71, 70.80, 62.90, 57.12, 55.84, 42.56, 30.79, 24.86, 24.39, 23.85. *C*-Bpin was not observed. Pairs of methyl groups of the Bpin residue were inequivalent. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine fragment were inequivalent.

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>42</sub>H<sub>47</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>NiB<sup>+</sup> calcd. 774.2856, observed 774.2853; correct isotopic pattern.

## 2-Fluoro-4-(methoxymethoxy)-1-methylbenzene (**S17**)



MOMBr (11.2 mL, 17.1 g, 136.8 mol) was slowly added to a stirred ice-cold solution of 3-fluoro-4-methylphenol (**S16**, 8.63 g, 68.42 mmol) and DIPEA (24.4 mL, 18.09 g, 140.0 mmol) in anhydrous  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL). Thereafter, the cooling bath was removed and the reaction mixture was stirred for 24 hours. The reaction mixture was washed with  $\text{H}_2\text{O}$  ( $3 \times 30$  mL), brine ( $3 \times 30$  mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude orange residue was purified by column chromatography (EtOAc/hexane, gradient elution 10–40%), affording the *title compound*<sup>10</sup> as a colorless oil (9.07 g, 78%).

R<sub>f</sub>: 0.32, (1:10 EtOAc/hexane).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.14 – 7.04 (m, 1H), 6.81 – 6.72 (m, 2H), 5.15 (s, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.23 (d,  $J = 1.9$  Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161.44 (d,  $J = 244.3$  Hz), 156.33 (d,  $J = 10.8$  Hz), 131.42 (d,  $J = 6.8$  Hz), 117.85 (d,  $J = 17.4$  Hz), 111.64 (d,  $J = 3.2$  Hz), 103.86 (d,  $J = 25.5$  Hz), 94.63, 55.95, 13.76 (d,  $J = 3.1$  Hz).

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -115.15.

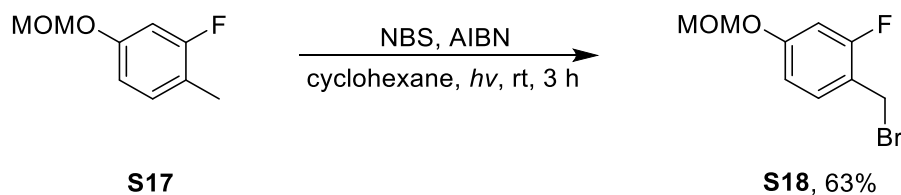
LRMS/GC:  $R_t$  8.38 min,  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FO}_2^+$ ,  $[\text{M}]^+$  calcd. 170.07, observed 170.06.

HRMS/GC:  $R_t$  7.91 min,  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FO}_2^+$ ,  $[\text{M}]^+$  calcd. 170.0738, observed 170.0737.

Elemental analysis calcd (%) for  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FO}_2$  (170.18): C 63.52, H 6.52; found C 63.67, H 6.49.

Elemental analysis calcd (%) for  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FO}_2$  (170.18): C 63.52, H 6.52, O 18.80; found C 63.7  $\pm$  0.22, H 6.84  $\pm$  0.01, O 21.4  $\pm$  0.22.

### 1-(Bromomethyl)-2-fluoro-4-(methoxymethoxy)benzene (**S18**)



The above compound (**S18**) was prepared according to the general procedure 2 (GP2) whereby, **S17** (1 g, 5.88 mmol), NBS (1.15 g, 6.46 mmol), AIBN (100 mg, 0.61 mmol) and cyclohexane (40 mL) were utilized. Yield: 63% (0.93 g, 3.73 mmol). **S18** was obtained as a colorless semisolid.

R<sub>f</sub>: 0.63, (1:3 EtOAc/hexane).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.32 – 7.24 (m, 1H), 6.83 – 6.76 (m, 2H), 5.16 (s, 2H), 4.50 (d, *J* = 0.7 Hz, 2H), 3.47 (s, 3H).

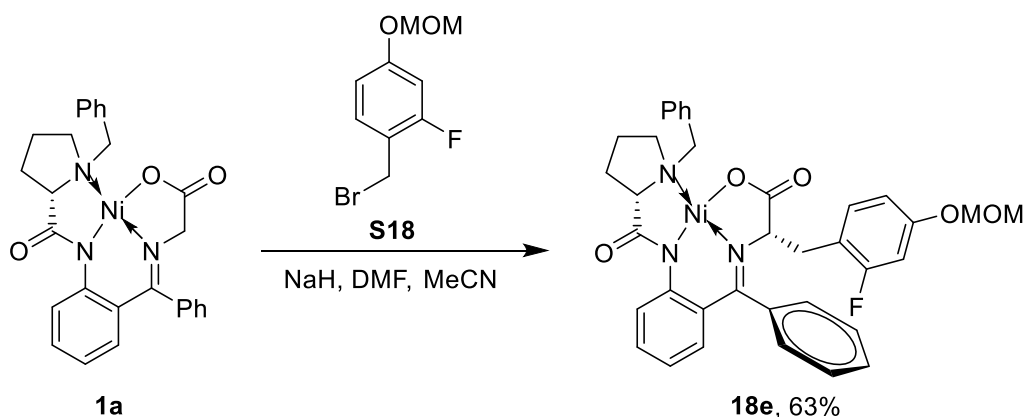
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 161.20 (d, *J* = 250.1 Hz), 158.89 (d, *J* = 10.9 Hz), 131.67 (d, *J* = 5.0 Hz), 118.28 (d, *J* = 14.6 Hz), 112.33 (d, *J* = 3.1 Hz), 104.19 (d, *J* = 24.8 Hz), 94.42, 56.15, 26.09 (d, *J* = 3.9 Hz).

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ –114.27.

LRMS/GC: *R*<sub>t</sub> 10.59 min, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>BrFO<sub>2</sub><sup>+</sup>, [M]<sup>+</sup> calcd. 247.98, observed 248.00.

HRMS/GC: *R*<sub>t</sub> 10.97 min, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>FO<sub>2</sub><sup>+</sup>, [M]<sup>+</sup> calcd. 247.9843, observed 247.9840; correct isotopic pattern.

### (*S,S*)-Ni-BPB-2-F-4-MOMO-Phe (**18e**)



The above compound (**18e**) was prepared according to GP1 whereby, **1a** (1.06 g, 2.13 mmol), **S18** (0.85 g, 3.41 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (136 mg, 3.40 mmol) DMF/MeCN 1:2 (30 mL) were utilized. Yield: 63% (0.89 g, 1.34 mmol).

R<sub>f</sub>: 0.57, (1:8 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

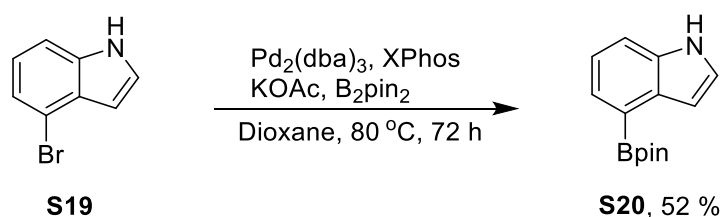
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.26 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.59 – 7.47 (m, 2H), 7.42 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.31 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.27 – 7.22 (m, 2H), 7.20 – 7.10 (m, 2H), 7.08 – 6.98 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.91 – 6.85 (m, *J* = 3.1 Hz, 1H), 6.71 – 6.56 (m, 2H), 5.06 (dd, *J* = 23.4, 6.7 Hz, 2H), 4.30 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 4.25 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.51 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 3.42 (s, 3H), 3.37 – 3.29 (m, 1H), 3.16 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 3.11 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.03 – 2.90 (m, 1H), 2.65 – 2.46 (m, *J* = 9.6 Hz, 1H), 2.46 – 2.27 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 180.21, 178.36, 171.91, 157.13 (d, *J* = 240.9 Hz), 153.68 (d, *J* = 1.8 Hz), 142.83, 133.97, 133.55, 133.13, 132.31, 131.51, 129.68, 128.88, 128.81, 128.77, 128.20, 128.17, 127.15, 126.20, 123.76 (d, *J* = 17.8 Hz), 123.28, 120.52, 120.25 (d, *J* = 4.1 Hz), 116.95 (d, *J* = 8.0 Hz), 116.06 (d, *J* = 24.3 Hz), 95.00, 70.72, 70.36, 63.18, 57.06, 56.02, 33.55, 30.78, 23.10. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -124.36.

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>36</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>NiF<sup>+</sup> calcd. 666.1909, observed 666.1910; correct isotopic pattern.

#### 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (**S20**)



A suspension of KOAc (5.88 g, 60 mmol), 4-bromoindole (**S19**, 4 g, 20 mmol), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0.72 g, 0.8 mmol), XPhos (0.76 g, 1.6 mmol), bis(pinacolato)diboron (6 g, 24 mmol) in anhydrous DMSO (120 mL) was stirred at 80 °C for 72 h. The resulting suspension was cooled to ambient temperature and added to H<sub>2</sub>O (100 mL) before being extracted with EtOAc (2×100 mL). The combined organic fractions were washed with H<sub>2</sub>O (2×100 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography to furnish the *title compound*<sup>11</sup> (2.54 g, 10.46 mmol) in 52% yield as a grey solid.

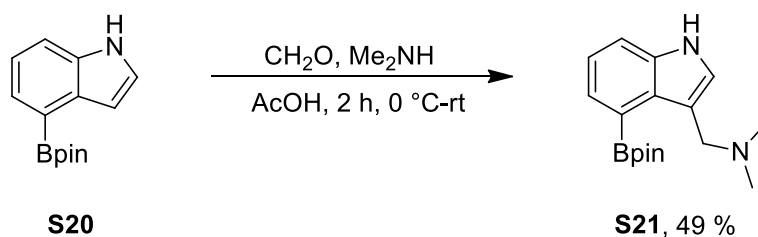
R<sub>f</sub>: 0.56, (1:10 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.21 (br, 1H), 7.68 (dd, *J* = 7.0, 1.0 Hz, 1H), 7.58 – 7.47 (m, 1H), 7.34 – 7.18 (m, 2H), 7.13 – 7.05 (m, *J* = 1.0 Hz, 1H), 1.43 (s, 12H).

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>BNO<sub>2</sub><sup>+</sup> calcd. 244.1503, observed 244.1507; correct isotopic pattern.



*N,N*-Dimethyl-1-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)methanamine (**S21**)



40% Dimethylamine (1.42 mL) was added to an ice-cold solution of 4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indole (**S20**) (2.0 g, 8.22 mmol), an aqueous solution of formaldehyde (37%) and AcOH (8.4 mL). Thereafter, the cooling bath was removed and the reaction mixture was stirred for 2 hours. The resulting reaction mixture was cooled with an ice-bath and the pH value was adjusted to 10 using 3 M NaOH. The mixture was extracted with EtOAc (4 × 50 mL), dried, and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by aluminum oxide chromatography on aluminum oxide to furnish the *title compound* (1.20 g, 3.99 mmol) in 49% yield as a colorless solid.

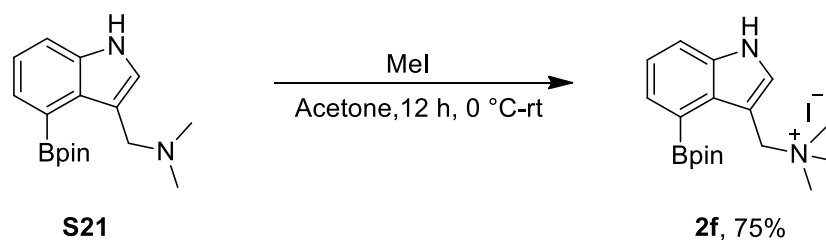
R<sub>f</sub>: 0.34, (95:5 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.69 (br, 1 H), 7.57 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 7.73 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 7.21 – 7.11 (m, 2H) 3.98 (s, 2 H), 2.66 (s, 6 H), 1.43 (s, 12 H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 143.36, 134.89, 127.49, 124.10, 121.13, 114.12, 113.40, 83.25, 55.90, 45.34, 25.34. C-Bpin was not observed.

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>BN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> calcd. 301.2082, observed 301.2085; correct isotopic pattern.

*N,N,N*-Trimethyl-1-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanaminium iodide (**2f**)



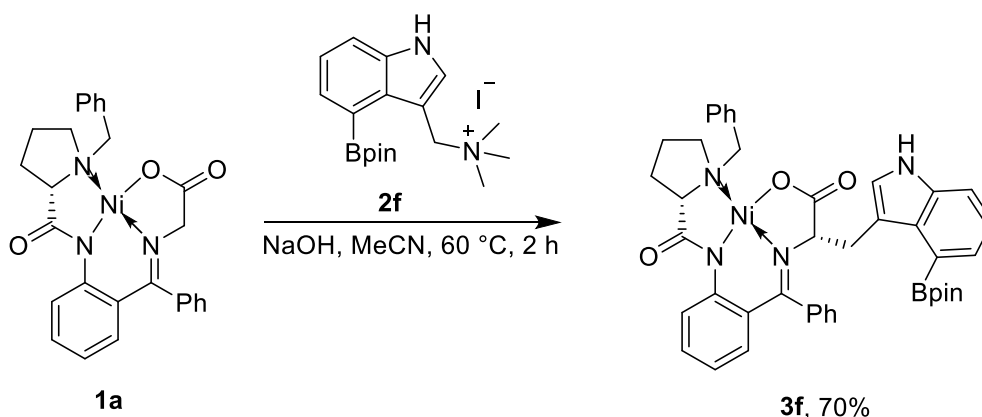
MeI (0.81 g, 5.75 mmol) was added to an ice-cold solution of *N,N*-dimethyl-1-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanamine (**S21**) (0.36 g, 1.15 mmol) in acetone (20 mL) under the protection from light. Thereafter, the cooling bath was removed and stirring was continued for 12 hours at ambient temperature. The reaction mixture was placed in a fridge (4 °C) for 2 hours and the precipitate was filtered and washed with cold Et<sub>2</sub>O (50 mL) to furnish the *title compound* (0.38 g, 0.86 mmol) in 75% yield as a colorless solid.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 11.84 (br, 1 H), 7.95 – 7.77 (m, 1 H), 7.74–7.66 (m, 2 H), 7.21 (t, *J* = 8.0, 1 H), 3.3 (s, 2 H), 3.00 (s, 9 H), 1.44 (s, 12 H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 136.74, 132.19, 131.60, 130.96, 121.46, 116.62, 103.33, 84.39, 61.81, 51.63, 25.24. C-Bpin was not observed.

HRMS (ESI) *m/z* [M – I]<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>BN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> calcd. 315.2239, observed 315.2243; correct isotopic pattern.

### (*S,S*)-Ni-BPB-4-Bpin-Trp (**3f**)



NaOH (0.08 g, 2.03 mmol) powder was added to a solution of *N,N,N*-trimethyl-1-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)methane-aminium iodide (**2f**) (0.36 g, 0.81 mmol) and **1a** (0.41 g, 0.81 mmol) in anhydrous MeCN (20 mL) under Ar and the reaction mixture was stirred for 2 hours. Sat. NH<sub>4</sub>Cl (60 mL) was added and the mixture was extracted with EtOAc (3 × 60 mL). The combined organic fractions were dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by silica gel chromatography to furnish the *title compound* (0.43 g, 0.57 mmol) in 70% yield as a red solid.

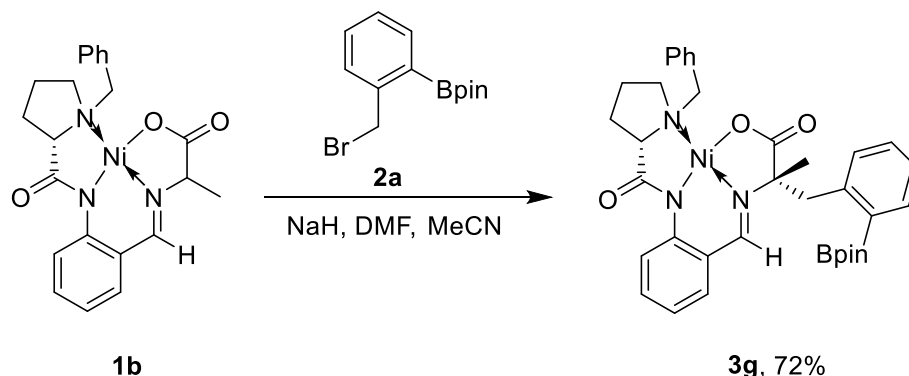
R<sub>f</sub>: 0.60, (1:2 acetone/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.23 – 8.06 (m, 4H), 7.51 (dd, *J* = 7.1, 1.1 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.2, 1.1 Hz, 1H), 7.34 – 7.27 (m, 2H), 7.24 – 7.16 (m, 2H), 7.15 – 7.06 (m, 2H), 7.05 – 6.94 (m, 3H), 6.56 (ddd, *J* = 8.2, 7.1, 1.1 Hz, 1H), 6.40 (dd, *J* = 8.2, 1.6 Hz, 1H), 6.00 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.79 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.50 (dd, *J* = 8.8, 5.4 Hz, 1H), 4.38 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 4.32 – 4.23 (m, 2H), 3.89 – 3.61 (m, 1H), 3.58 – 3.48 (m, 2H), 2.96 – 2.78 (m, 1H), 2.73 – 2.53 (m, 1H), 2.30 – 2.14 (m, 1H), 2.14 – 2.00 (m, 1H), 1.30 (s, 6H), 1.28 (s, 6H). *N-H* of the indole ring was not observed.

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 180.31, 179.23, 170.08, 142.14, 136.05, 133.50, 132.95, 131.67, 131.37, 130.80, 129.53, 128.82, 128.73, 128.51, 127.95, 127.46, 126.93, 126.66, 125.63, 122.94, 121.06, 120.58, 114.23, 111.89, 83.71, 71.33, 70.89, 63.11, 57.19, 35.74, 31.10, 24.65, 24.18, 24.06. *C*-Bpin was not observed. Pairs of methyl groups of the Bpin residue were inequivalent. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

HRMS (ESI)  $m/z$   $[M + H]^+$ ,  $C_{42}H_{44}BN_4NiO_5^+$  calcd. 753.2753, observed 753.2758; correct isotopic pattern.

### $\alpha$ -Methyl-2-[ $^{18}\text{F}$ ]Phe precursor (**3g**)



The above compound (**3g**) was prepared according to GP1 whereby, **1b** (0.40 g, 0.92 mmol), **2a** (0.44 g, 1.48 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (70 mg, 1.75 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (10 mL) were utilized. Yield: 72% (0.50 g, 0.77 mmol).

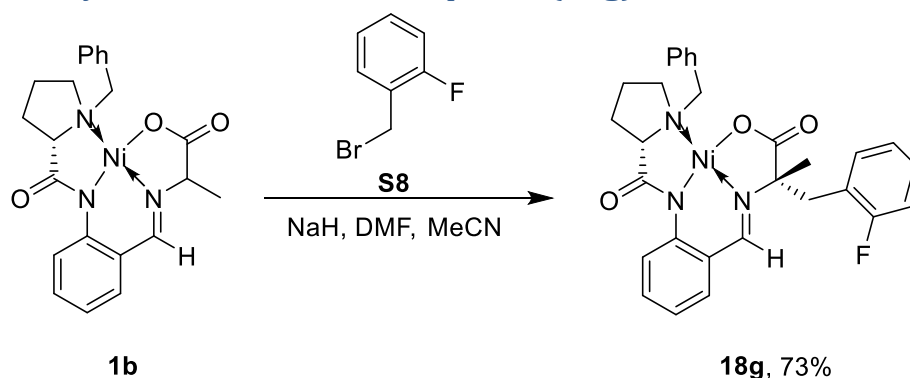
R<sub>f</sub>: 0.42, (1:10 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.49 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.89 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.47 – 7.39 (m, 2H), 7.37 – 7.30 (m, 4H), 7.28 – 7.20 (m, 2H), 7.13 (dd,  $J = 7.9$ , 1.6 Hz, 1H), 6.92 – 6.86 (m,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 4.36 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H), 3.73 (d,  $J = 13.4$  Hz, 1H), 3.55 (dd,  $J = 13.4$ , 3.5 Hz, 2H), 3.43 (ddt,  $J = 14.8$ , 7.5, 3.5 Hz, 1H), 3.30 (t,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 2.83 – 2.67 (m, 1H), 2.36 – 2.24 (m, 2H), 2.12 – 2.00 (m, 1H), 1.91 – 1.77 (m, 1H), 1.60 (s, 3H), 1.26 (s, 6H), 1.20 (s, 6H).

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  182.00, 181.45, 161.94, 142.57, 141.88, 136.84, 133.68, 133.33, 133.24, 131.65, 130.95, 130.93, 128.88, 128.68, 126.52, 123.53, 123.34, 120.88, 83.69, 74.69, 70.17, 62.92, 57.29, 44.70, 30.85, 25.65, 25.25, 24.24, 23.36. C-Bpin was not observed. Pairs of methyl groups of the Bpin residue were inequivalent.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>NiB<sup>+</sup> calcd. 652.2488, observed 652.2484; correct isotopic pattern.

### Ni-BPB $\alpha$ -methyl-2-FPhe reference compound (**18g**)



The above compound (**18g**) was prepared according to GP1 whereby, **1b** (0.29 g, 0.66 mmol), 1-(bromomethyl)-2-fluorobenzene (**S8**, 0.17 g, 0.90 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (36 mg, 0.90 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (10 mL) were utilized. Yield: 73% (263 mg, 0.48 mmol).

R<sub>f</sub>: 0.61, (1:10 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

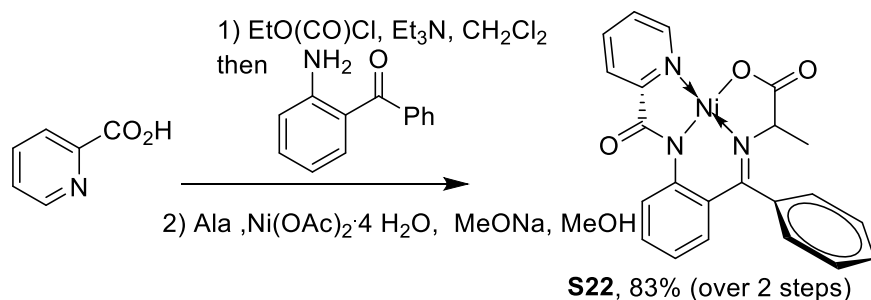
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.49 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H), 7.93 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 2H), 7.54 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 7.45 – 7.29 (m, 5H), 7.26 – 7.23 (m, 2H), 7.19 (td,  $J$  = 7.5, 1.1 Hz, 1H), 7.06 – 6.99 (m, 1H), 6.96 – 6.90 (m, 1H), 4.30 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1H), 3.56 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1H), 3.34 – 3.16 (m, 4H), 2.53 – 2.35 (m, 1H), 2.30 – 2.13 (m, 2H), 1.92 (td,  $J$  = 10.8, 6.4 Hz, 1H), 1.76 – 1.68 (m, 1H), 1.63 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  181.47, 181.16, 161.99 (d,  $J_{\text{F}, \text{C}=\text{NH}}$  = 2.6 Hz, ), 161.13 (d,  $J$  = 248.5 Hz), 142.81, 133.84, 133.62, 133.07, 132.46 (d,  $J$  = 4.1 Hz), 131.64, 129.31 (d,  $J$  = 8.3 Hz), 128.98, 128.74, 124.54 (d,  $J$  = 3.4 Hz), 123.60, 123.42, 122.68 (d,  $J$  = 15.2 Hz), 121.21, 115.53 (d,  $J$  = 22.7 Hz), 74.13, 70.04, 62.81, 57.02, 39.60, 30.73, 25.61, 22.93.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -116.72.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NiF<sup>+</sup> calcd. 544.1541, observed 544.1542; correct isotopic pattern.

### Ni-PBP-(*RS*)-Ala (**S22**)



Ethyl chloroformate (7.7 mL, 8.75 g, 80.63 mmol) was added to an ice-cold solution of picolinic acid (9.97 g, 80.98 mmol) and Et<sub>3</sub>N (11.3 mL, 8.2 g, 81.04 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (130 mL) and the reaction mixture was stirred for 20 min at ambient temperature. Afterwards, 2-aminobenzophenone (13.4 g, 67.94 mmol) was added and the reaction mixture was stirred at 40 °C for 16 h. Thereafter, the mixture was cooled to ambient temperature washed with H<sub>2</sub>O (3×100 mL), brine (2×50 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was triturated with Et<sub>2</sub>O, the formed precipitate was filtered, washed with Et<sub>2</sub>O and dried to give *N*-(2-benzoylphenyl)pyridine-2-carboxamide (**S23**)<sup>12</sup> as a colorless solid (17.5 g, 85%), which was used for the next step without any characterization and purification.

5.4 N MeONa in MeOH (120 mL) was added to a suspension of **S23** (17.5 g, 57.88 mmol), (*RS*)-Ala (11.04 g, 123.92 mmol) and Ni(OAc)<sub>2</sub>×4 H<sub>2</sub>O (30.84 g, 123.94 mmol) in MeOH (150 mL) and the reaction mixture was stirred at 55 °C for 90 min. The resulting deep-red solution was cooled to ambient temperature and poured to an ice-cold solution of AcOH (40 mL in 1.5 L H<sub>2</sub>O) and the resulting suspension was allowed to stay at ambient temperature for 16 h and filtered. The precipitate was washed with H<sub>2</sub>O (1 L), hexane (3×100 mL), dried, washed with Et<sub>2</sub>O (5×100 mL) and dried affording the title compound<sup>13</sup> (24.3 g, 98%).

R<sub>f</sub>: 0.33, (1:8 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.95 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.97 (d, *J* = 33.4 Hz, 2H), 7.61 – 7.06 (m, 7H), 6.79 (s, 2H), 4.04 (s, 1H), 1.59 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 180.60, 171.97, 169.99, 153.35, 146.90, 143.00, 140.52, 134.46, 133.73, 133.37, 129.78, 129.17, 128.74, 127.90, 127.03, 126.93, 126.62, 124.03, 123.53, 121.38, 67.29, 21.58. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

LRMS (ESI)  $m/z$   $[M + H]^+$   $C_{22}H_{18}N_3O_3Ni^+$  calcd. 430.15, observed 430.07; correct isotopic pattern.

HRMS (ESI)  $m/z$   $[M + Na]^+$ ,  $C_{22}H_{17}N_3O_3NaNi^+$  calcd. 452.05136, observed 452.05156;  $[M + H]^+$ ,  $C_{22}H_{18}N_3O_3Ni^+$  calcd. 430.06962, observed 430.06938; correct isotopic pattern.



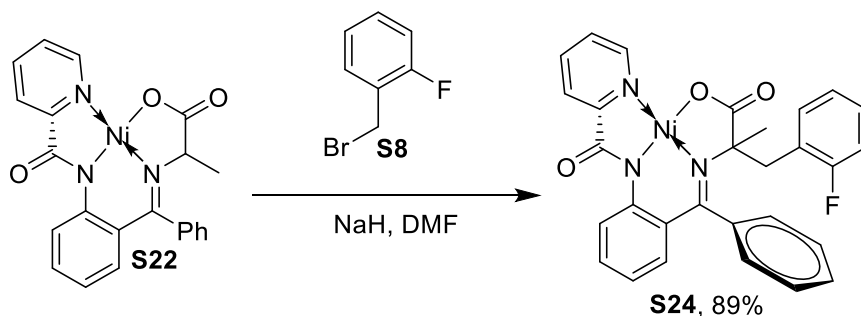
### General procedure for alkylation upon Ni-PBP-(*RS*)-Ala (GP3)

NaH (0.37 g, 9.3 mmol; 60% suspension in mineral oil) was added to a suspension of **S22** (2 g, 4.65 mmol) in DMF (20 mL) and the mixture was stirred for 5 min. The corresponding fluorobenzyl bromide (1.41 g, 7.44 mmol) was added to the resulting black solution and the mixture was stirred for further 60 min. Thereafter, the deep red reaction mixture was poured into an ice-cold solution of AcOH (0.6 mL in 300 mL H<sub>2</sub>O) and the resulting suspension was stirred at ambient temperature for 3 h and filtered. The precipitate was washed with H<sub>2</sub>O (300 mL), hexane (3×50 mL), dried, washed with Et<sub>2</sub>O (3×40 mL) and dried affording the corresponding Ni-PBP- $\alpha$ Me-*n*-FPhe complex (*n* = 2–4) as a red solid.

### General procedure for decomposition of Ni-PBP- $\alpha$ Me-*n*-FPhe complexes (*n* = 2–4) (GP4)

4 M HCl was added dropwise to a boiling red suspension of the corresponding Ni-PBP-*n*- $\alpha$ Me-FPhe complex (*n* = 2–4) (1.0 g, 1.86 mmol) in 80% MeOH (15 mL) until a light green solution formed. The solution was concentrated under reduced pressure, the solid residue was dried at 50 °C and 2 mbar under dynamic vacuum, taken up in MeOH (30 mL) and the resulting solution was concentrated under reduced pressure (×3). The residue was taken up with a cold water (10 mL), the precipitate of **S23**×HCl was filtered, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The rest was taken up with H<sub>2</sub>O (40 mL), the pH of the resulting solution was carefully adjusted to 7–8 with 25% NH<sub>3</sub> and the precipitated **S23** was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×5 mL;  $\alpha$ Me-2-FPhe partially co-precipitated with **S23**; it was however insoluble in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Preswollen Amberlite IRA-120 in the H<sup>+</sup> form [30 mL; the resin was preliminary washed with 1 M HCl (150 mL) and thereafter with H<sub>2</sub>O until pH 5] was added to the water fraction, and the mixture was shaken for 45 min at 40–50 °C. The ion-exchange resin was filtered off, washed with water until the eluent reached pH 5 and treated with 7 % NH<sub>3</sub> (2×100 mL) for 1 h. The combined filtrates were concentrated under reduced pressure to give a colorless to offwhite solid, which was triturated acetone. The formed precipitate was filtered off to give the appropriate  $\alpha$ Me-*n*-FPhe as a colorless solid.

### Ni-PBP- $\alpha$ Me-2-FPhe (**S24**)



The title compound (2.23 g, 89%) was prepared according to GP3.

R<sub>f</sub>: 0.39, (1:8 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.56 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.86 (td,  $J$  = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.77 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 1H), 7.75 – 7.69 (m, 1H), 7.54 – 7.42 (m, 5H), 7.26 (s, 3H), 7.05 – 6.97 (m, 1H), 6.81 (dd,  $J$  = 8.4, 1.4 Hz, 1H), 6.79 – 6.73 (m, 2H), 6.73 – 6.67 (m, 1H), 3.48 (d,  $J$  = 13.6 Hz, 1H), 2.87 (d,  $J$  = 13.6 Hz, 1H), 1.04 (s, 3H).

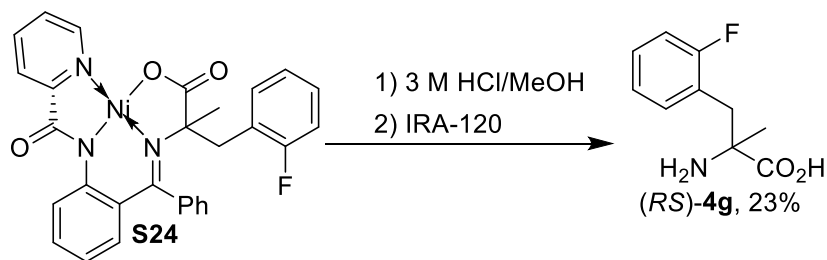
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  179.71, 173.37, 168.98, 162.85 (d,  $J$  = 245.6 Hz), 153.38, 146.93, 142.60, 139.83, 136.99, 134.83, 133.05 (d,  $J$  = 4.5 Hz), 132.86, 130.44, 129.57, 129.32, 129.15 (d,  $J$  = 8.5 Hz), 128.93, 127.46, 126.88, 126.80, 126.23, 124.41 (d,  $J$  = 15.1 Hz), 124.06 (d,  $J$  = 3.2 Hz), 123.35 (d,  $J$  = 5.3 Hz), 121.27, 115.43 (d,  $J$  = 23.0 Hz), 81.01, 41.61, 28.74. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent. The signal of one of the *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue has C-F splitting.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.58.

LRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup> C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 538.20, observed 538.20; correct isotopic pattern.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NaNi<sup>+</sup> calcd. 560.08909, observed 560.08907; [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 538.10714, observed 538.10729; correct isotopic pattern.

*(RS)*- $\alpha$ -Methyl-2-fluorophenylalanine [*(RS)*-**4g**]



The title compound<sup>14</sup> (85 mg, 23%) was prepared according to GP4.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  7.44 – 7.31 (m, 2H), 7.17 (ddd,  $J = 20.7, 13.1, 4.7$  Hz, 2H), 3.30 (q,  $J = 13.7$  Hz, 2H), 1.63 (s, 3H).

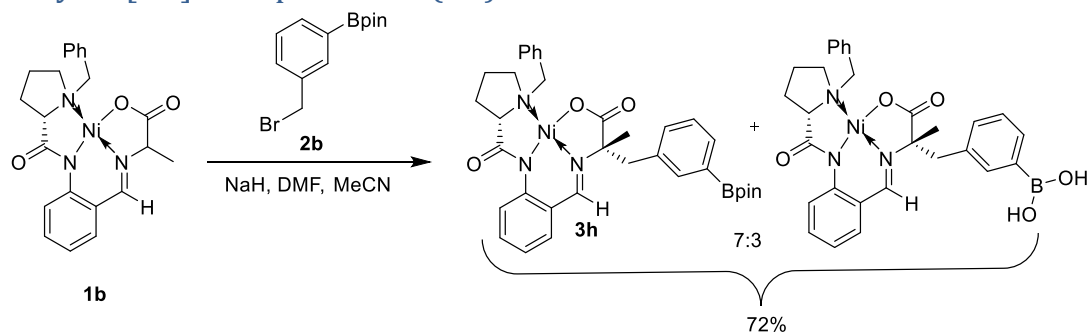
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  173.15, 162.76 (d,  $J = 244.8$  Hz), 133.77 (d,  $J = 3.8$  Hz), 131.37 (d,  $J = 8.3$  Hz), 125.76 (d,  $J = 3.5$  Hz), 121.44 (d,  $J = 15.9$  Hz), 116.64 (d,  $J = 22.2$  Hz), 61.45, 37.01, 22.13.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  -116.88.

LRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>FNO<sub>2</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 198.09, observed 198.29.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>FNO<sub>2</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 198.09248, observed 198.09246.

### $\alpha$ -Methyl-3-[ $^{18}\text{F}$ ]Phe precursor (**3h**)



The above compound (**3h**) was prepared according to GP1 whereby, **1b** (0.55 g, 1.26 mmol), **2b** (0.50 g, 1.68 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (74 mg, 1.85 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (10 mL) were utilized. Yield: 72% (0.57 g, 0.91 mmol; total yield of **3h** and the corresponding boronic acid). RP Chromatography using aqueous MeCN and subsequent evaporation of the eluent at 40 °C caused hydrolysis of Bpin ester to give the corresponding boronic acid as side product. As boronic acids are typically even better substrates for the alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination than Bpin esters, no attempt to separate it (or to convert it back into the Bpin ester) was performed and the mixture was directly used for the radiolabeling step. Omission of the RP purification step could lead to lower  $^{18}\text{F}$ -incorporation rates.

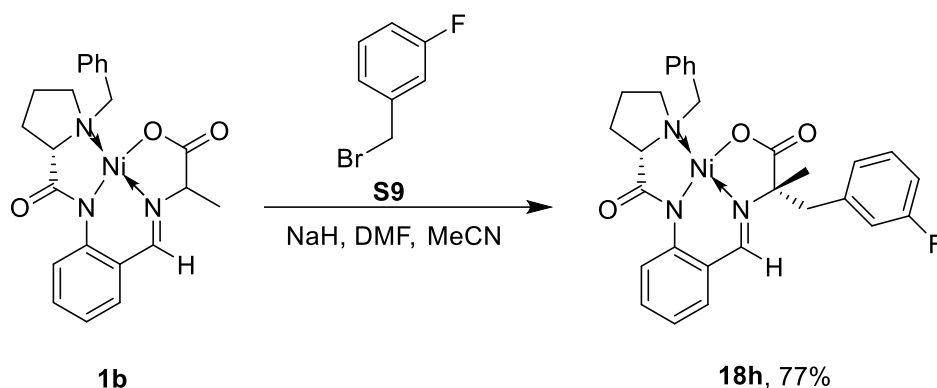
R<sub>f</sub>: 0.45, (1:10 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; before RP purification)  $\delta$  8.60 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.80 (d,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.40 – 7.22 (m, 8H), 6.93 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 4.33 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H), 3.55 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H), 3.39 (d,  $J = 13.3$  Hz, 1H), 3.31 – 3.18 (m, 2H), 2.94 – 2.86 (m, 1H), 2.51 – 2.36 (m, 1H), 2.30 – 2.16 (m, 2H), 2.00 – 1.89 (m, 1H), 1.76 – 1.66 (m, 1H), 1.62 (s, 3H), 1.22 (s, 6H), 1.18 (s, 6H).

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>; before RP purification)  $\delta$  181.51, 181.12, 161.19, 143.08, 137.32, 134.53, 133.88, 133.61, 133.55, 133.43, 133.08, 131.66, 128.90, 128.67, 128.09, 123.65, 123.00, 120.96, 83.75, 74.23, 70.00, 62.70, 57.11, 47.53, 30.77, 24.84, 24.80, 24.61, 23.04. C-Bpin was not observed. Pairs of methyl groups of the Bpin residue were inequivalent.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>NiB<sup>+</sup> calcd. 652.2488, observed 652.2484; correct isotopic pattern.

### Ni-BPB $\alpha$ -methyl 3-FPhe (**18h**)



The above compound (**18h**) was prepared according to GP1 whereby, **1b** (0.20 g, 0.46 mmol), 1-(bromomethyl)-3-fluorobenzene (**S9**, 0.15 g, 0.79 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (33 mg, 0.83 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (7 mL) were utilized. Yield: 77% (0.194 g, 0.35 mmol).

R<sub>f</sub>: 0.55, (1:10 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

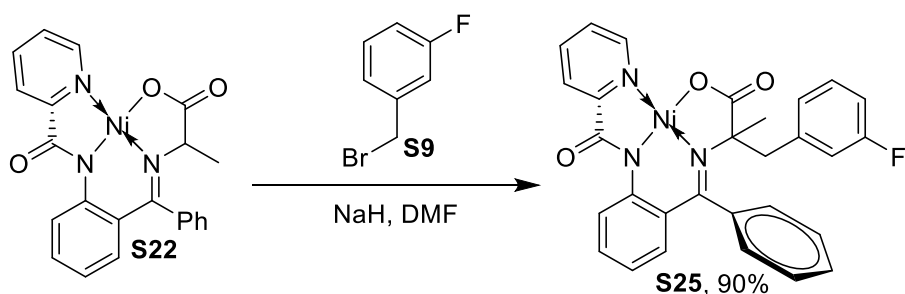
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.52 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.40 – 7.29 (m, 4H), 7.26 – 7.20 (m, 2H), 7.07 (td,  $J = 8.4, 1.8$  Hz, 1H), 7.01 – 6.91 (m,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 6.86 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 4.29 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H), 3.54 (d,  $J = 12.7$  Hz, 1H), 3.34 (d,  $J = 13.5$  Hz, 1H), 3.29 – 3.19 (m, 2H), 2.82 (d,  $J = 13.5$  Hz, 1H), 2.52 – 2.33 (m, 1H), 2.33 – 2.13 (m, 2H), 2.00 – 1.87 (m, 1H), 1.80 – 1.69 (m, 1H), 1.62 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  181.61, 180.81, 162.93 (d,  $J = 246.8$  Hz), 161.13, 143.01, 137.89 (d,  $J = 7.3$  Hz), 133.92, 133.82, 133.11, 131.63, 130.01 (d,  $J = 8.1$  Hz), 129.00, 128.75, 126.45 (d,  $J = 2.7$  Hz), 123.76, 123.06, 121.29, 117.38 (d,  $J = 21.2$  Hz), 114.38 (d,  $J = 21.0$  Hz), 74.28, 70.06, 62.91, 57.20, 47.21, 30.78, 25.64, 22.91.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -112.42.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NiF<sup>+</sup> calcd. 544.1541, observed 544.1541; correct isotopic pattern.

### Ni-PBP- $\alpha$ Me-3-FPhe (**S25**)



The title compound (2.25 g, 90%) was prepared according to GP3.

R<sub>f</sub>: 0.48, (1:8 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.57 (dd,  $J = 8.6, 0.9$  Hz, 1H), 7.90 (td,  $J = 7.7, 1.5$  Hz, 1H), 7.85 – 7.81 (m, 1H), 7.76 (dd,  $J = 7.7, 0.7$  Hz, 1H), 7.58 – 7.47 (m, 3H), 7.36 – 7.13 (m, 7H), 6.81 (dd,  $J = 8.4, 1.6$  Hz, 1H), 6.72 (ddd,  $J = 8.3, 6.9, 1.2$  Hz, 1H), 6.52 (dq,  $J = 8.4, 1.2$  Hz, 1H), 3.09 (q,  $J = 13.6$  Hz, 2H), 1.09 (s, 3H).

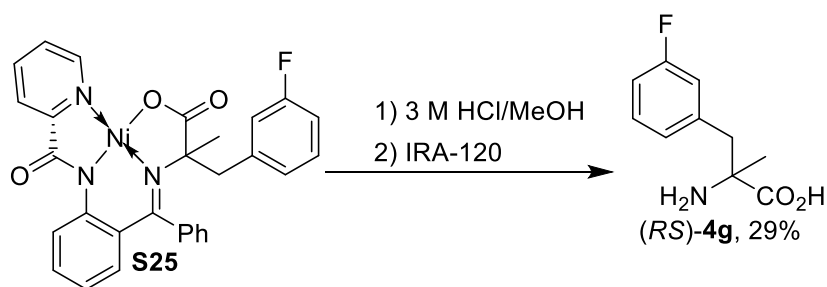
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  179.52, 172.45, 169.03, 162.91 (d,  $J = 246.5$  Hz), 153.01, 146.76, 142.45, 139.88, 139.24 (d,  $J = 7.3$  Hz), 136.59, 134.61, 132.90, 130.45, 129.63, 129.62 (d,  $J = 8.0$  Hz), 128.84, 128.46, 127.60, 126.81 (d,  $J = 2.8$  Hz), 126.55, 126.42, 123.45 (d,  $J = 19.1$  Hz), 121.26, 118.00, 117.79, 113.99 (d,  $J = 21.0$  Hz), 80.82, 47.59 (d,  $J = 1.0$  Hz), 28.82. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -112.72.

LRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup> C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 538.20, observed 538.20; correct isotopic pattern.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NaNi<sup>+</sup> calcd. 560.08909, observed 560.08907; [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 538.10714, observed 538.10728; correct isotopic pattern.

**(*RS*)- $\alpha$ -Methyl-3-fluorophenylalanine [(*RS*)-4h]**



The title compound<sup>15</sup> (106 mg, 29%) was prepared according to GP4.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  7.42 – 7.35 (m, 1H), 7.11 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.10 – 7.02 (m,  $J = 8.1, 7.5, 1.7$  Hz, 2H), 3.26 (dd,  $J = 56.9, 14.1$  Hz, 2H), 1.65 (s, 3H).

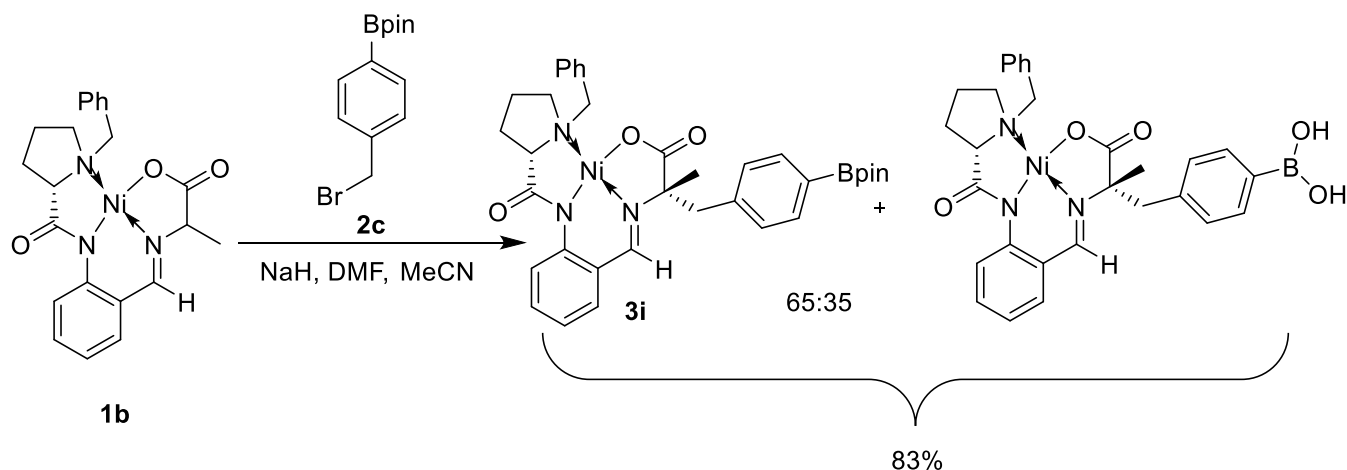
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  173.15, 164.20 (d,  $J = 245.2$  Hz), 137.18 (d,  $J = 7.3$  Hz), 131.82 (d,  $J = 8.3$  Hz), 127.29 (d,  $J = 2.8$  Hz), 118.01 (d,  $J = 21.8$  Hz), 115.88 (d,  $J = 21.2$  Hz), 61.62, 43.26, 22.84.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  –114.46.

LRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>FNO<sub>2</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 198.09, observed 198.31.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>FNO<sub>2</sub>NaNi<sup>+</sup> calcd. 220.07443, observed 220.07455; [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>FNO<sub>2</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 198.09248, observed 198.09245.

### $\alpha$ -Methyl-4-[ $^{18}\text{F}$ ]Phe precursor (**3i**)



The above compound (**3i**) was prepared according to GP1 whereby, **1b** (0.50 g, 1.15 mmol), **2c** (0.55 g, 1.85 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (74 mg, 1.85 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (10 mL) were utilized. Yield: 83% (0.59 g, 0.95 mmol; total yield of **3i** and the corresponding boronic acid). RP Chromatography using aqueous MeCN and subsequent evaporation of MeCN at 40 °C under reduced pressure caused partial hydrolysis of Bpin ester to give the corresponding boronic acid as side product. As boronic acids are typically even better substrates for the alcohol-enhanced Cu-mediated radiofluorination than Bpin esters, no attempt to separate it (or to convert it back into the Bpin ester) was performed and the mixture was directly used for the radiolabeling step. Omission of the RP purification step could lead to substantially lower  $^{18}\text{F}$ -incorporation rates.

R<sub>f</sub>: 0.49, (1:10 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

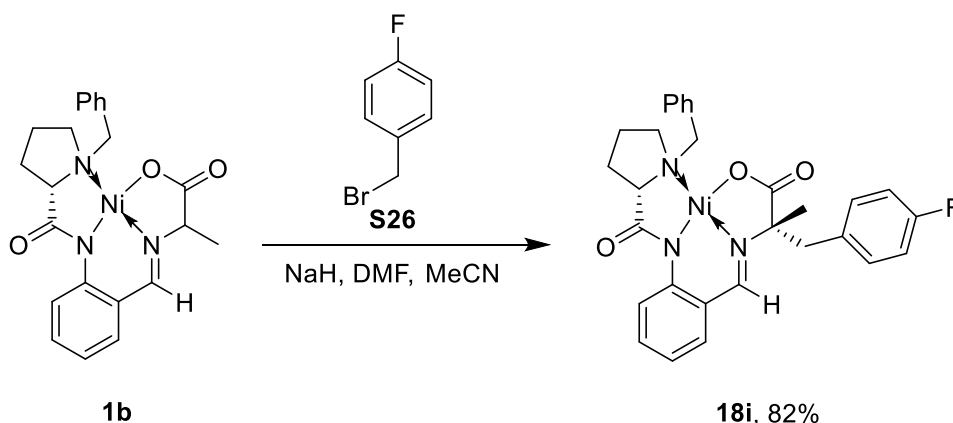
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; before RP purification)  $\delta$  8.54 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.97 – 7.91 (m, 2H), 7.83 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.56 (s, 1H), 7.37 – 7.26 (m, 5H), 7.16 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 6.96 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 1H), 4.30 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1H), 3.51 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1H), 3.39 (d,  $J$  = 13.3 Hz, 1H), 3.27 – 3.14 (m, 2H), 2.83 (d,  $J$  = 13.3 Hz, 1H), 2.27 – 2.10 (m, 3H), 2.01 – 1.89 (m, 1H), 1.64 (s, 3H), 1.62 – 1.54 (m, 1H), 1.33 (s, 12H).

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>; before RP purification)  $\delta$  181.55, 180.88, 161.00, 142.97, 138.55, 135.08, 133.82, 133.72, 133.10, 131.63, 130.02, 128.90, 128.67, 123.70, 123.13, 121.18, 83.72, 74.52, 70.04, 62.87, 57.30, 48.05, 30.73, 25.43, 24.79, 24.72, 22.94.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>NiB<sup>+</sup> calcd. 652.2488, observed 652.2485; correct isotopic pattern.



### Ni-BPB $\alpha$ -methyl-4FPhe Reference Compound (**18i**)



The above compound (**18i**) was prepared according to GP1 whereby, **1b** (0.235 g, 0.54 mmol), 1-(bromomethyl)-4-fluorobenzene (**S26**, 0.165 g, 0.87 mmol), NaH (60% suspension in mineral oil) (36 mg, 0.90 mmol) and DMF/MeCN 1:2 (7 mL) were utilized. Yield: 82% (0.26 g, 0.48 mmol).

R<sub>f</sub>: 0.53, (1:10 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

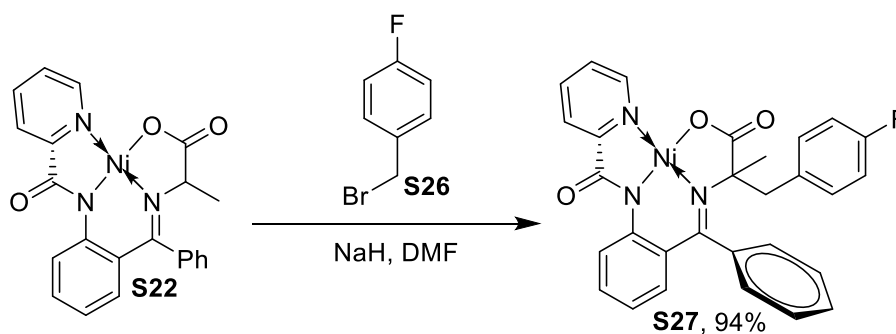
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.53 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.42 – 7.21 (m, 5H), 7.16 – 7.04 (m, 4H), 6.97 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.30 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 3.54 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H), 3.33 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 3.29 – 3.20 (m, 2H), 2.81 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 2.48 – 2.32 (m, 1H), 2.32 – 2.15 (m, 2H), 1.95 (td, *J* = 10.7, 6.4 Hz, 1H), 1.76 (dtd, *J* = 8.8, 6.4, 3.2 Hz, 1H), 1.63 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  181.64, 180.89, 162.53 (d, *J* = 246.2 Hz), 161.07, 143.00, 133.91, 133.89 (d, *J* = 4.8 Hz), 132.24, 132.16, 131.65, 131.21 (d, *J* = 3.4 Hz), 129.03, 128.78, 123.79, 123.12, 121.33, 115.49 (d, *J* = 21.2 Hz), 74.58, 70.03, 62.97, 57.26, 46.93, 30.83, 25.36, 22.87.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -115.23.

HRMS (ESI) *m/z* [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NiF<sup>+</sup> calcd. 544.1541, observed 544.1541; correct isotopic pattern.

### Ni-PBP- $\alpha$ Me-4-FPhe (**S27**)



The title compound (2.36 g, 94%) was prepared according to GP3.

R<sub>f</sub>: 0.22, (1:8 acetone/CHCl<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.51 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.91 (td,  $J$  = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 7.77 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 7.74 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 7.55 – 7.46 (m, 5H), 7.37 – 7.20 (m, 4H), 6.81 (ddd,  $J$  = 14.4, 9.2, 5.0 Hz, 3H), 6.75 – 6.69 (m, 1H), 3.08 (dd,  $J$  = 30.0, 13.6 Hz, 2H), 1.07 (s, 3H).

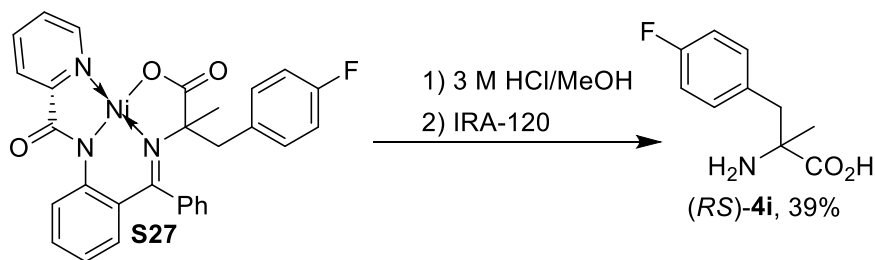
<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  179.46, 172.28, 168.95, 162.15 (d,  $J$  = 246.6 Hz), 153.01, 146.73, 142.33, 140.01, 136.61, 134.57, 132.81, 132.70, 132.63 (d,  $J$  = 8.0 Hz), 130.47, 129.60, 129.02, 128.48, 127.59, 126.48, 126.18, 123.50 (d,  $J$  = 10.2 Hz), 121.29, 114.91 (d,  $J$  = 21.2 Hz), 81.16, 47.34, 28.67. *o*- and *m*-Carbons of the phenyl group of the [(2-amido)phenyl]phenylmethanimine residue were inequivalent.

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -114.53.

LRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup> C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 538.20, observed 538.20; correct isotopic pattern.

HRMS (ESI)  $m/z$  [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>NaNi<sup>+</sup> calcd. 560.08909, observed 560.08908; [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 538.10714, observed 538.10726; correct isotopic pattern.

**(RS)- $\alpha$ -Methyl-4-fluorophenylalanine [(RS)-4i]**



The title compound<sup>14</sup> (142 mg, 39%) was prepared according to GP4.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  7.34 – 7.28 (m, 2H), 7.13 – 7.05 (m, 2H), 3.23 (dd,  $J = 53.7, 14.2$  Hz, 2H), 1.65 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  173.26, 163.90 (d,  $J = 245.2$  Hz), 133.21 (d,  $J = 8.3$  Hz), 130.58 (d,  $J = 3.4$  Hz), 116.65 (d,  $J = 21.7$  Hz), 61.70, 42.82, 22.70.

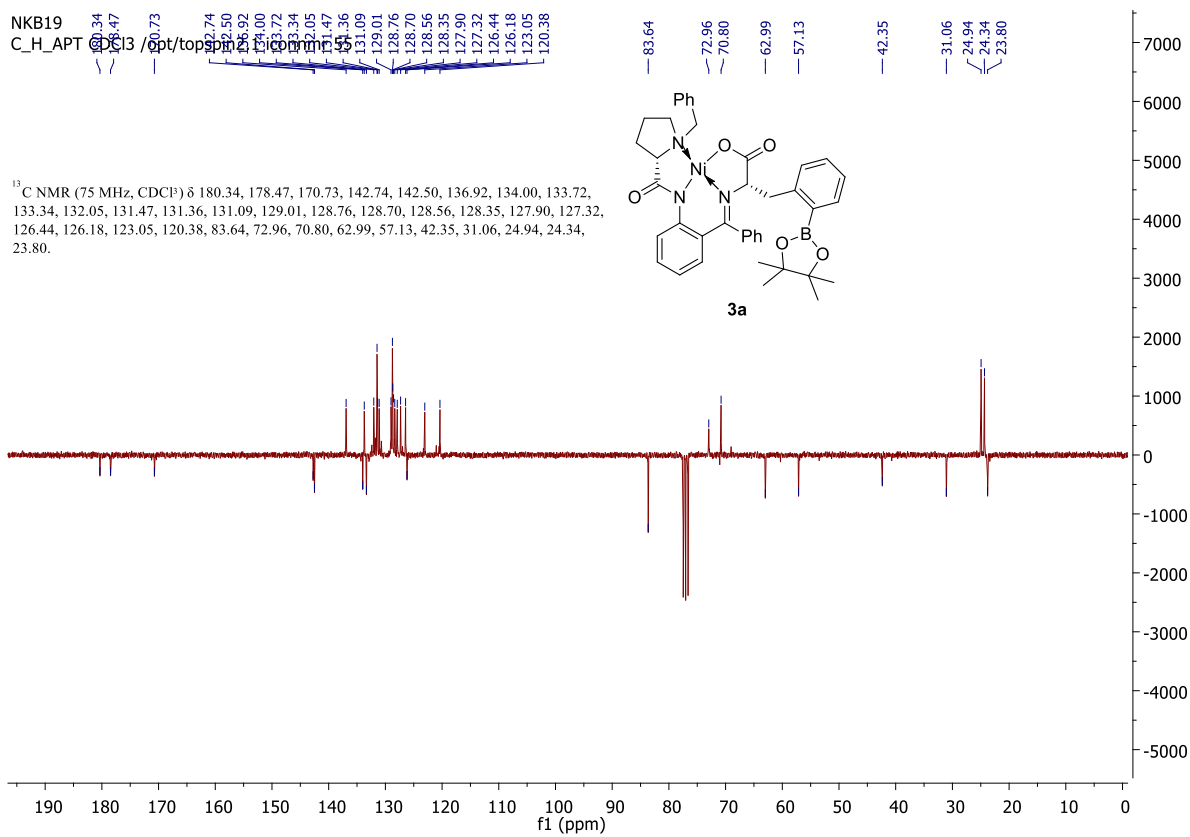
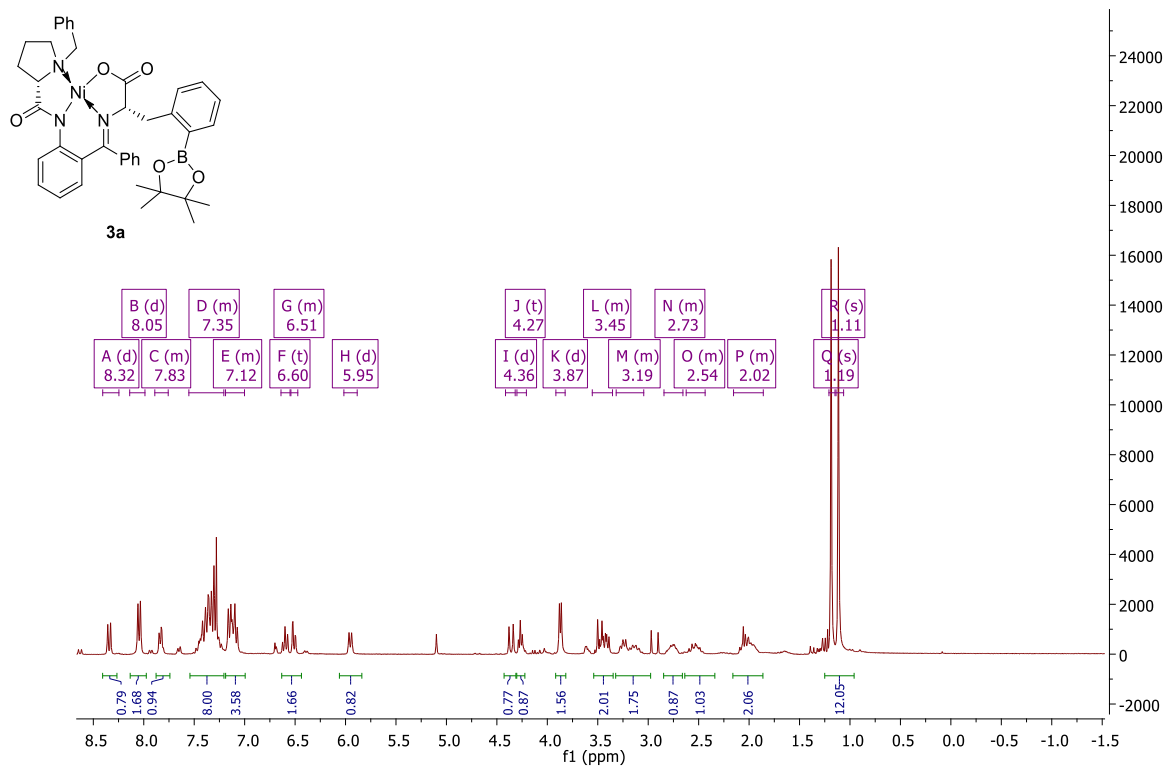
<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, MeOD + 20% DCl)  $\delta$  -114.45.

LRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>FNO<sub>2</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 198.09, observed 198.27.

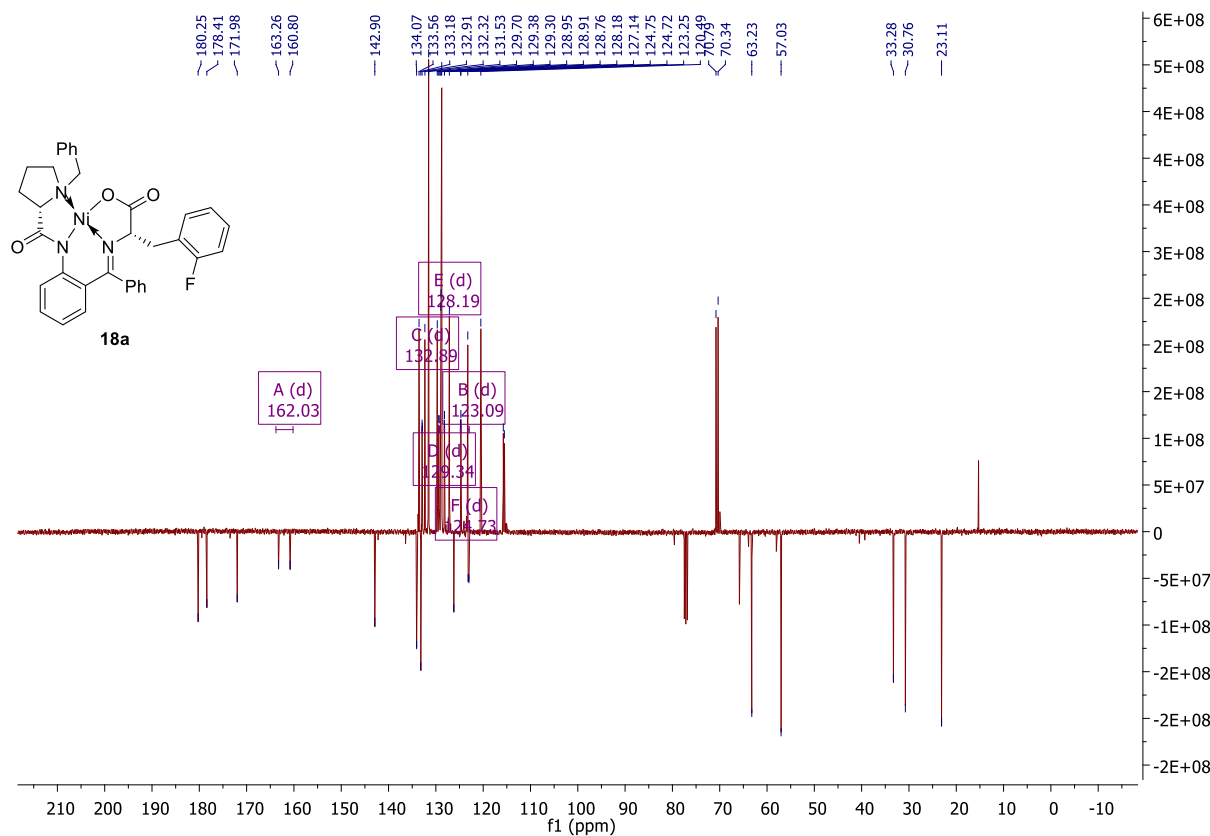
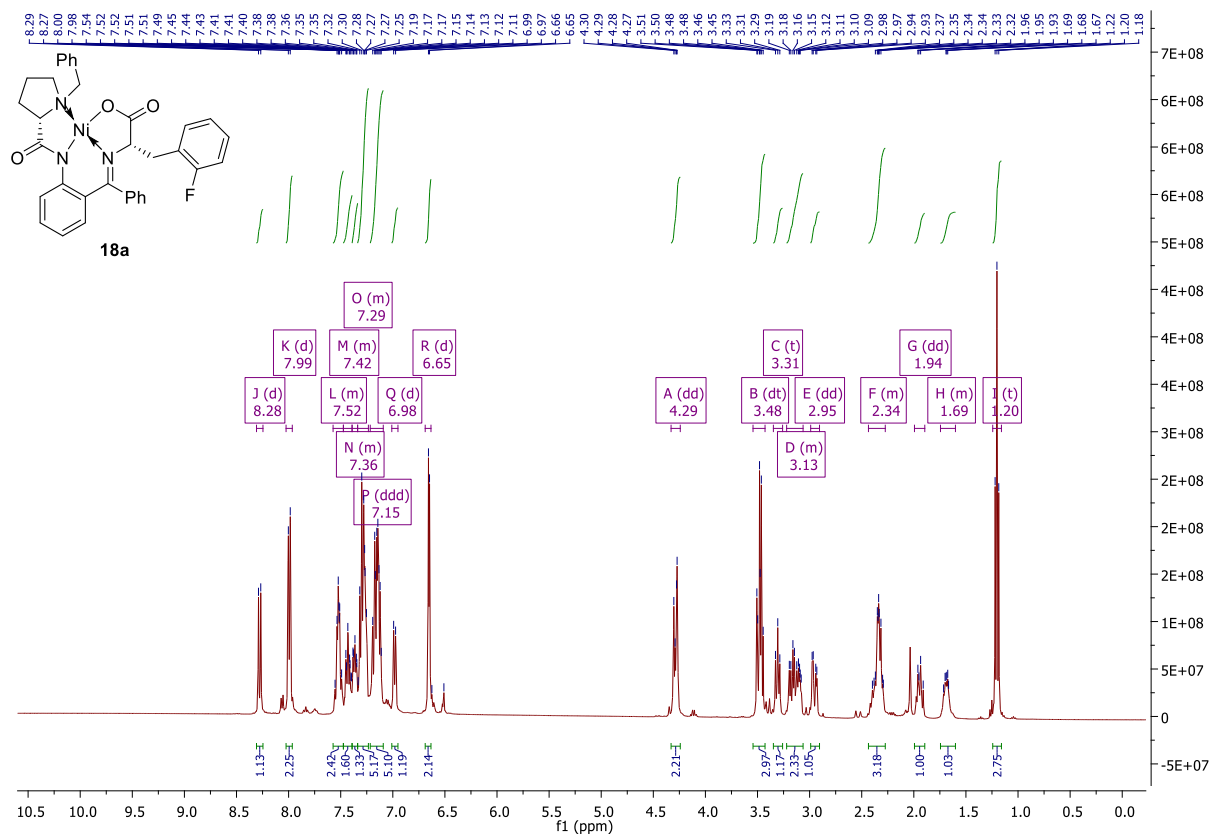
HRMS (ESI)  $m/z$  [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>FNO<sub>2</sub>Ni<sup>+</sup> calcd. 198.09248, observed 198.09251.

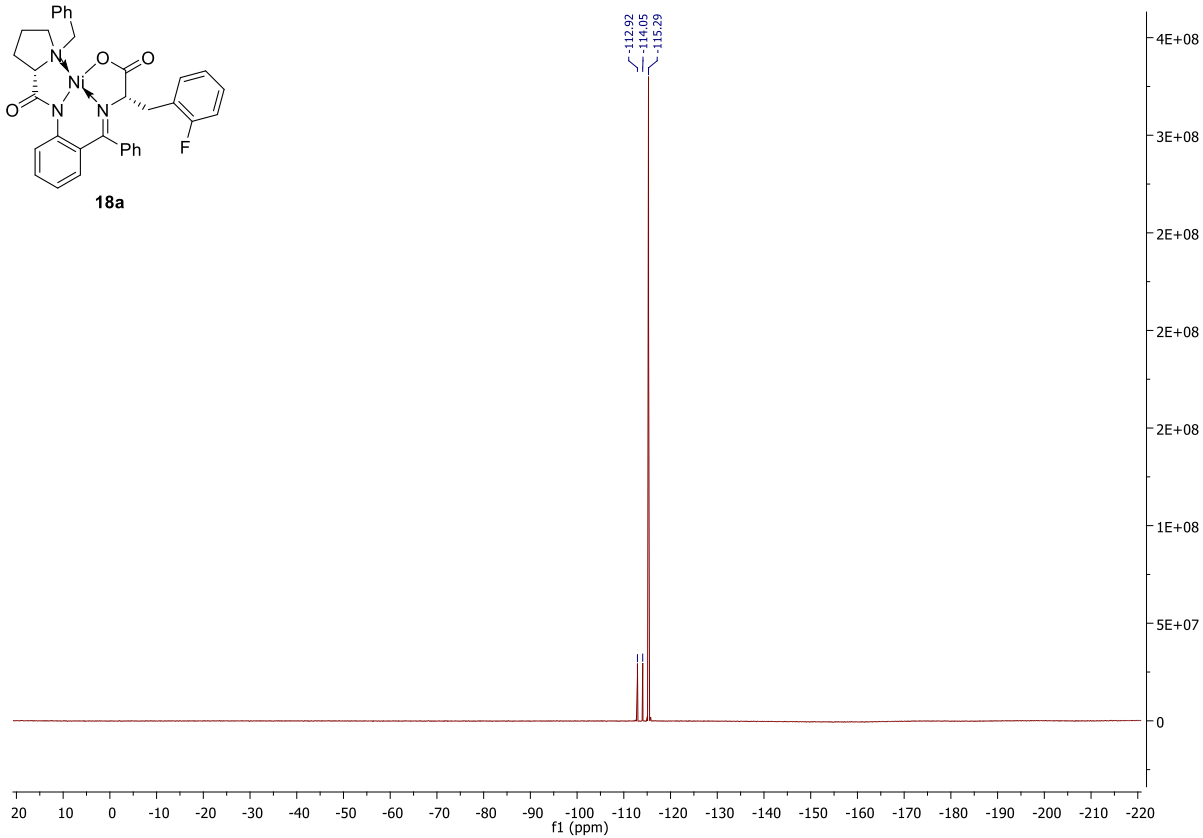
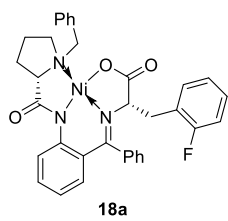
# NMR Spectra

**(*S,S*)-Ni-BPB-2-BpinPhe (3a)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) and <sup>13</sup>C NMR (75 MHz)

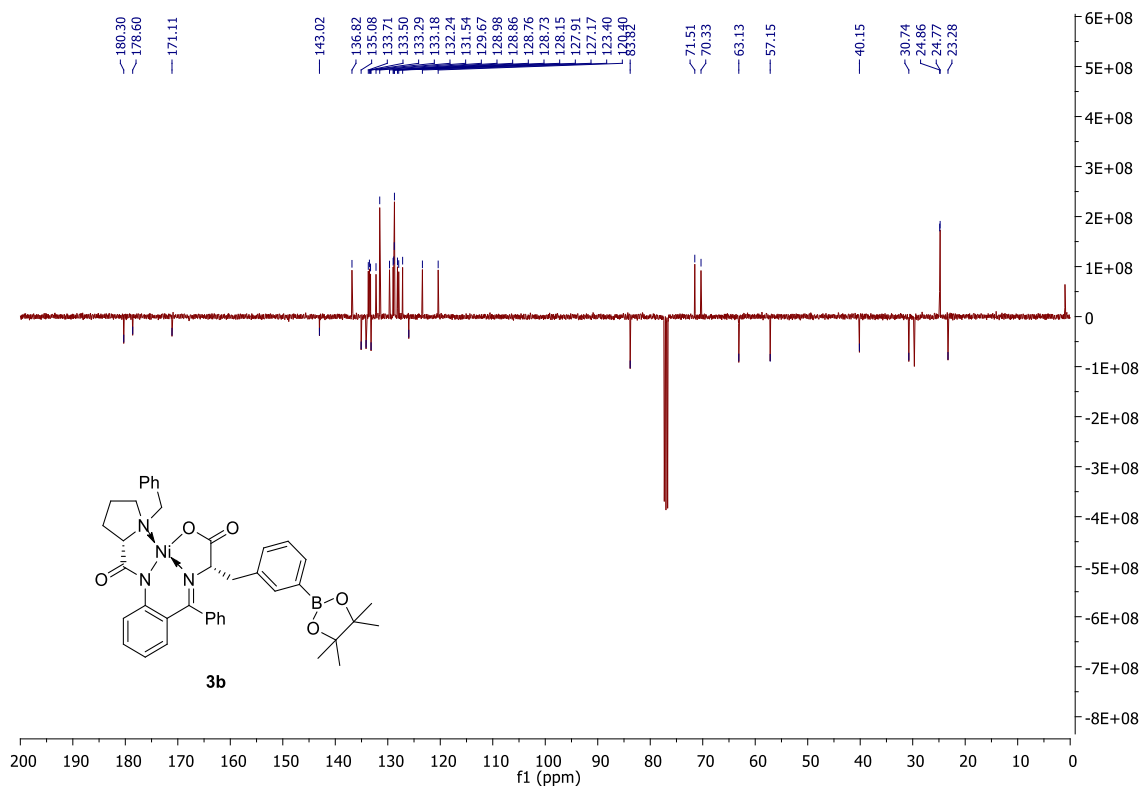
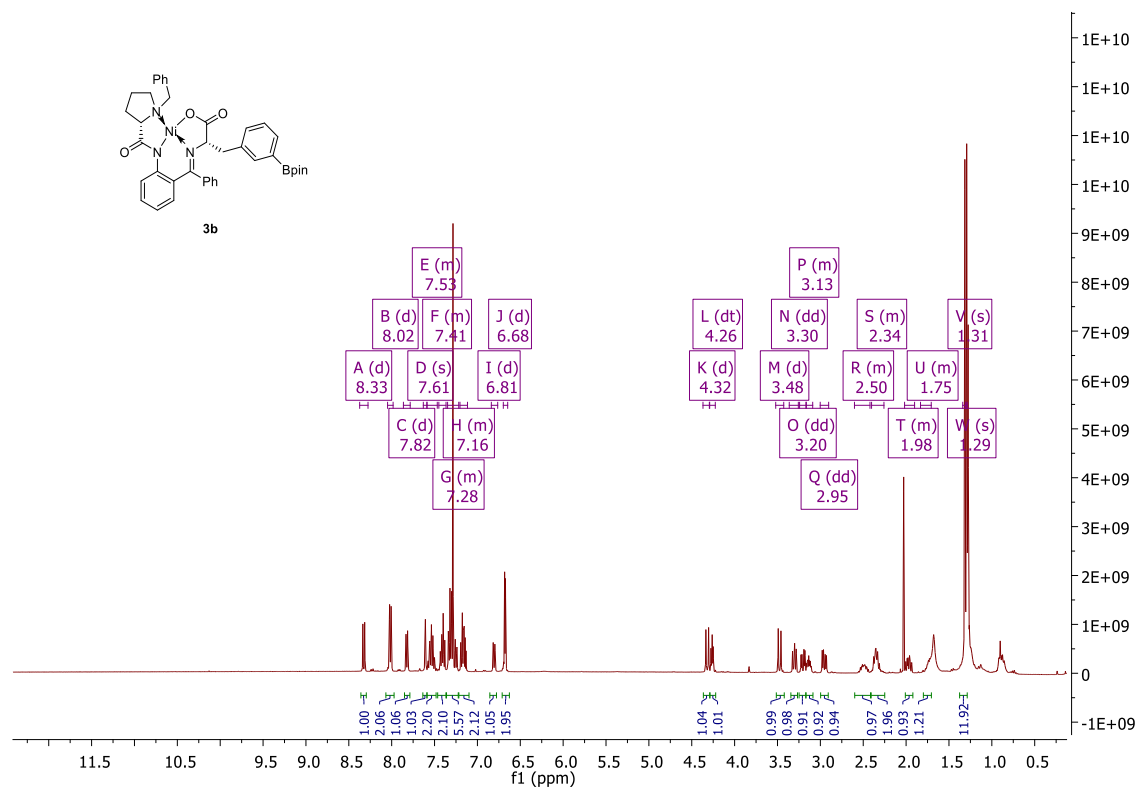


**(*S,S*)-Ni-BPB-2-FPhe (18a)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

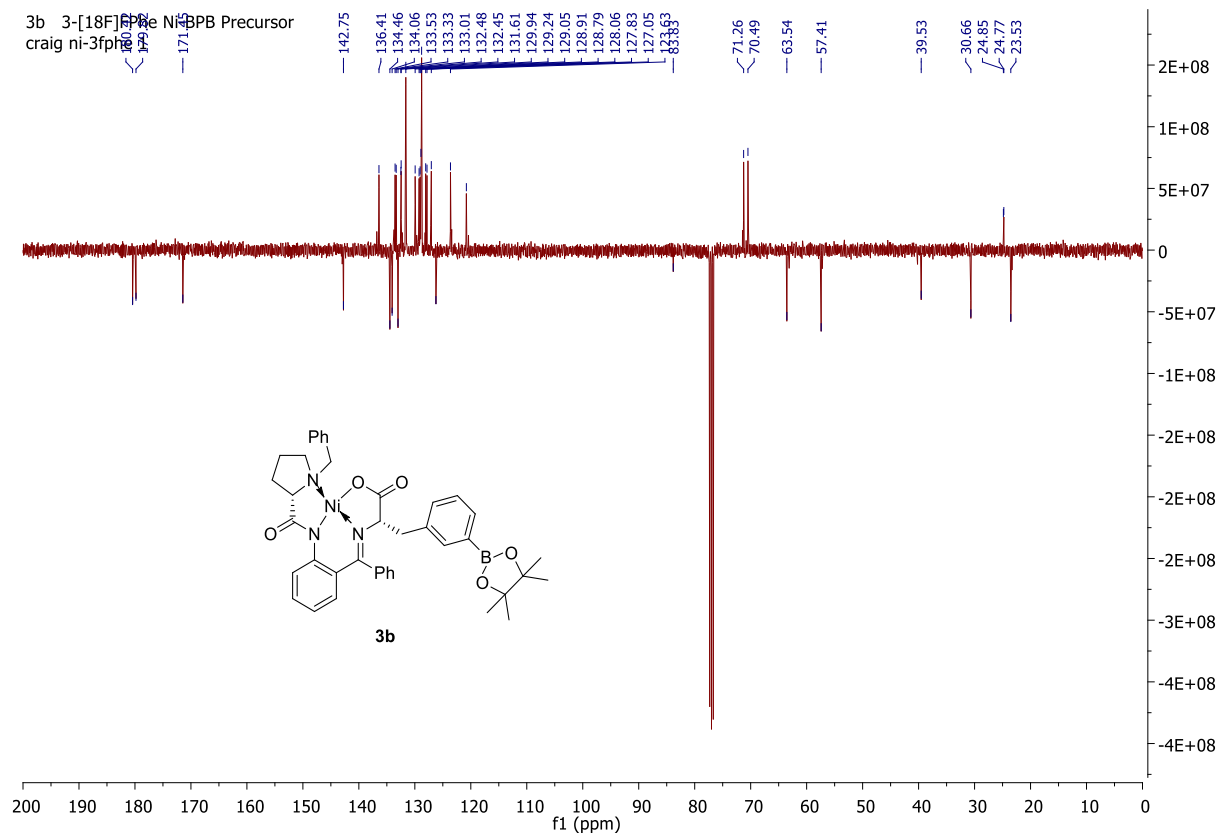
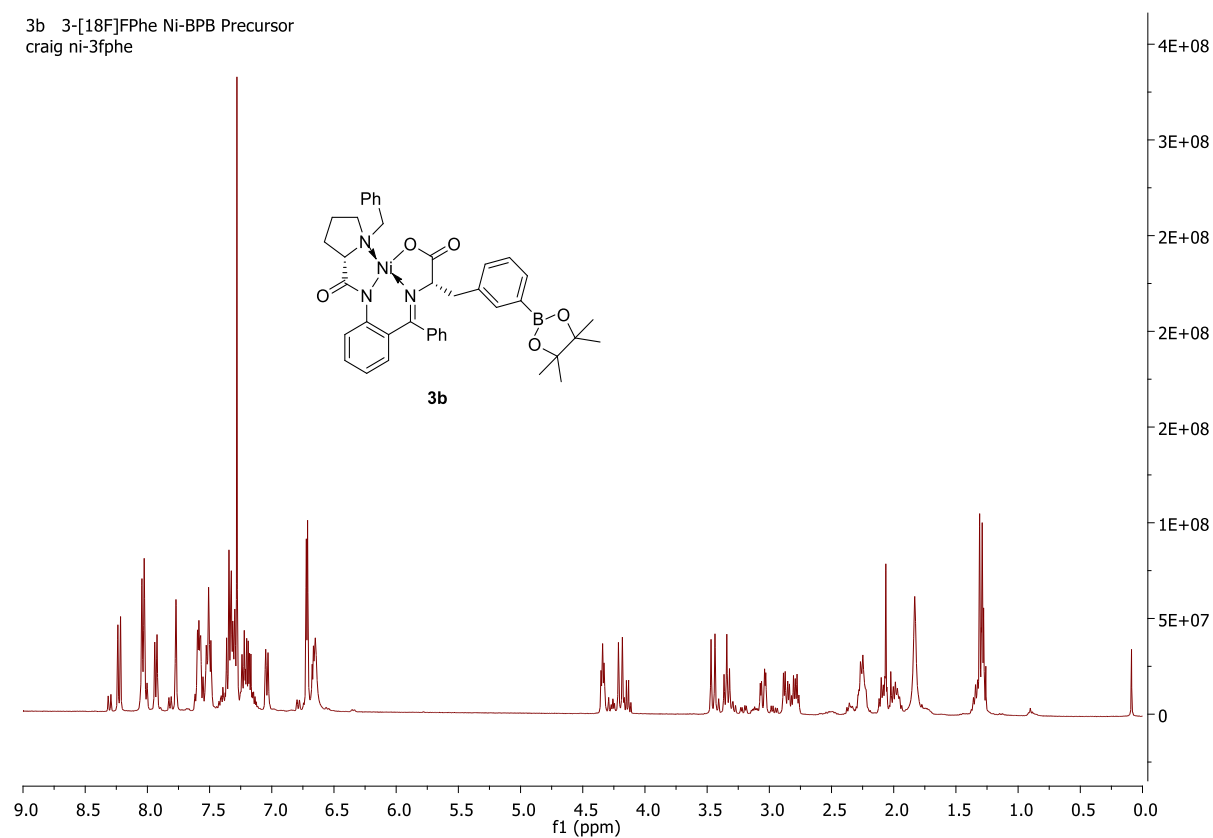




**(*S,S*)-Ni-BPB-3-BpinPhe (3b)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz) (before RP purification)

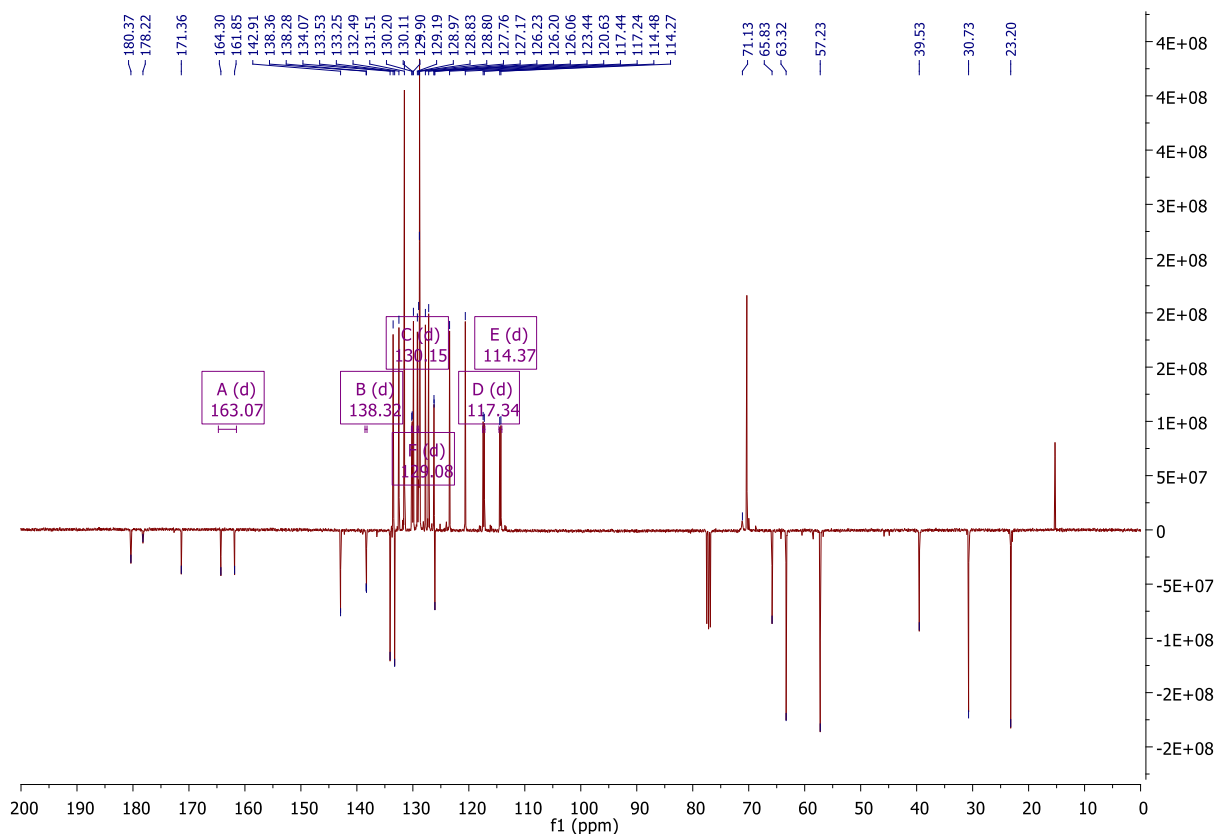
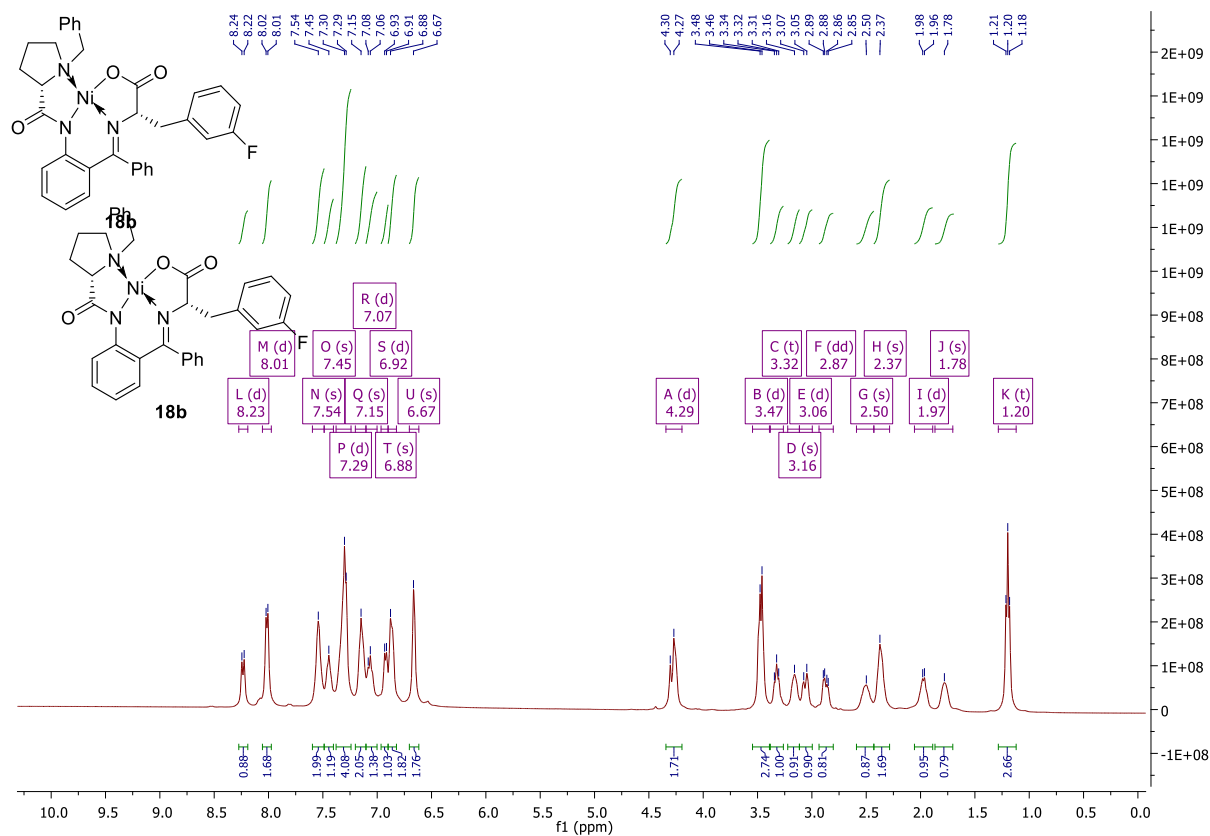


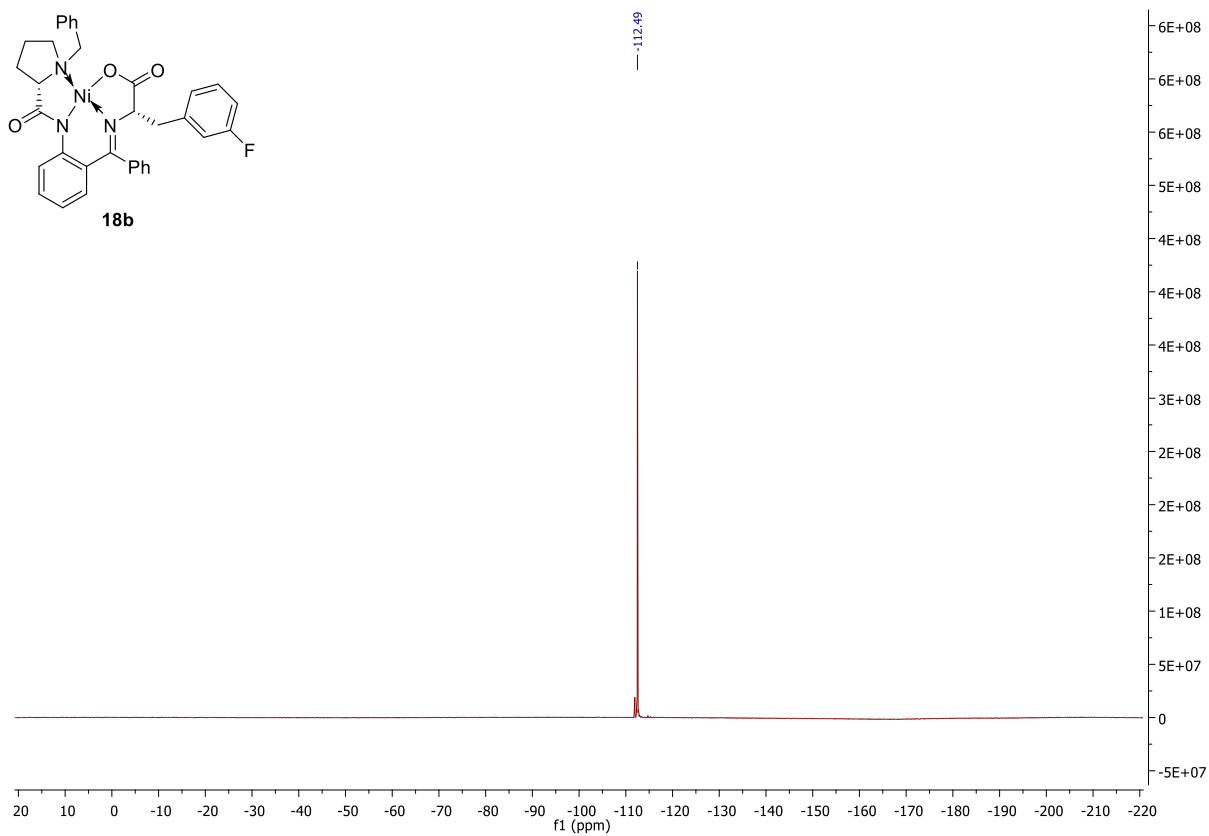
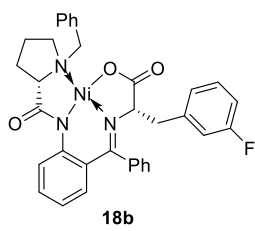
**(*S,S*)-Ni-BPB-3-BpinPhe (3b)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz) (after RP purification)



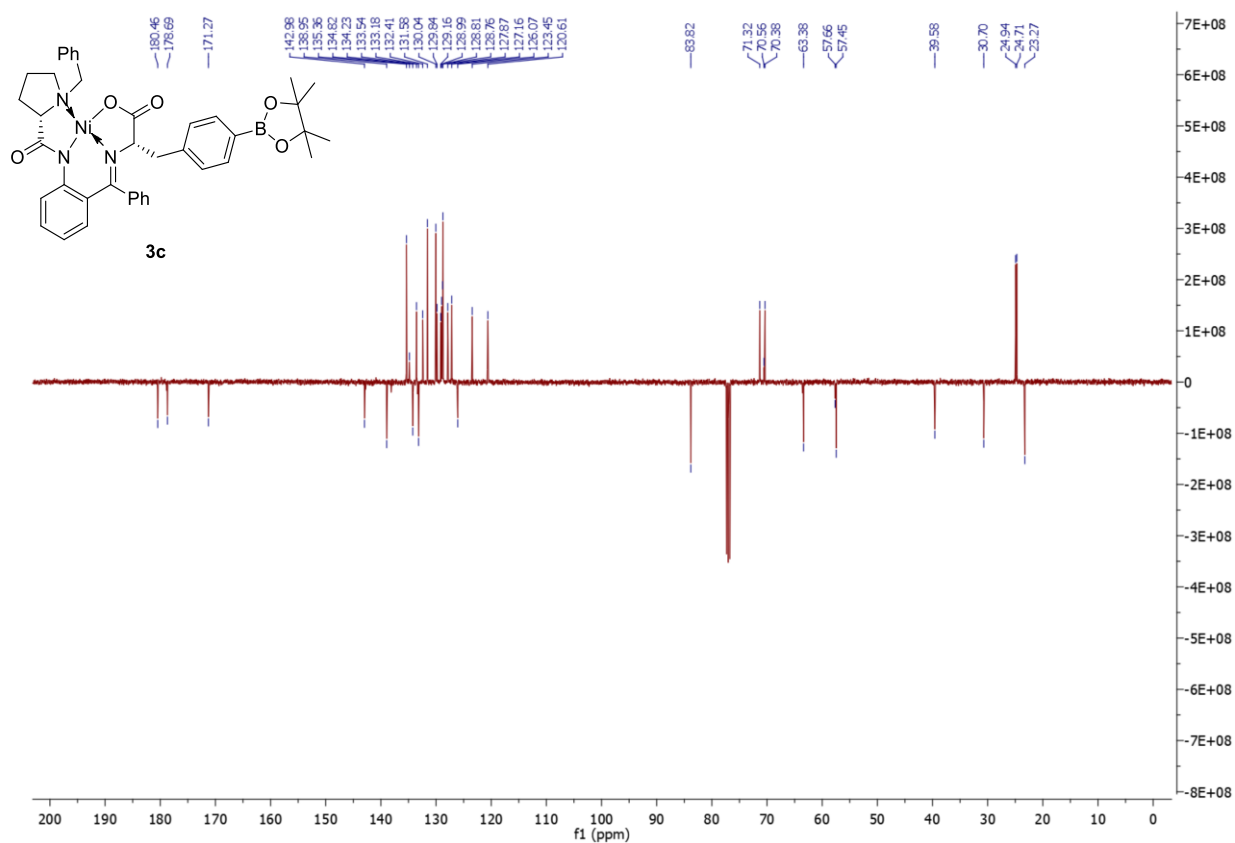
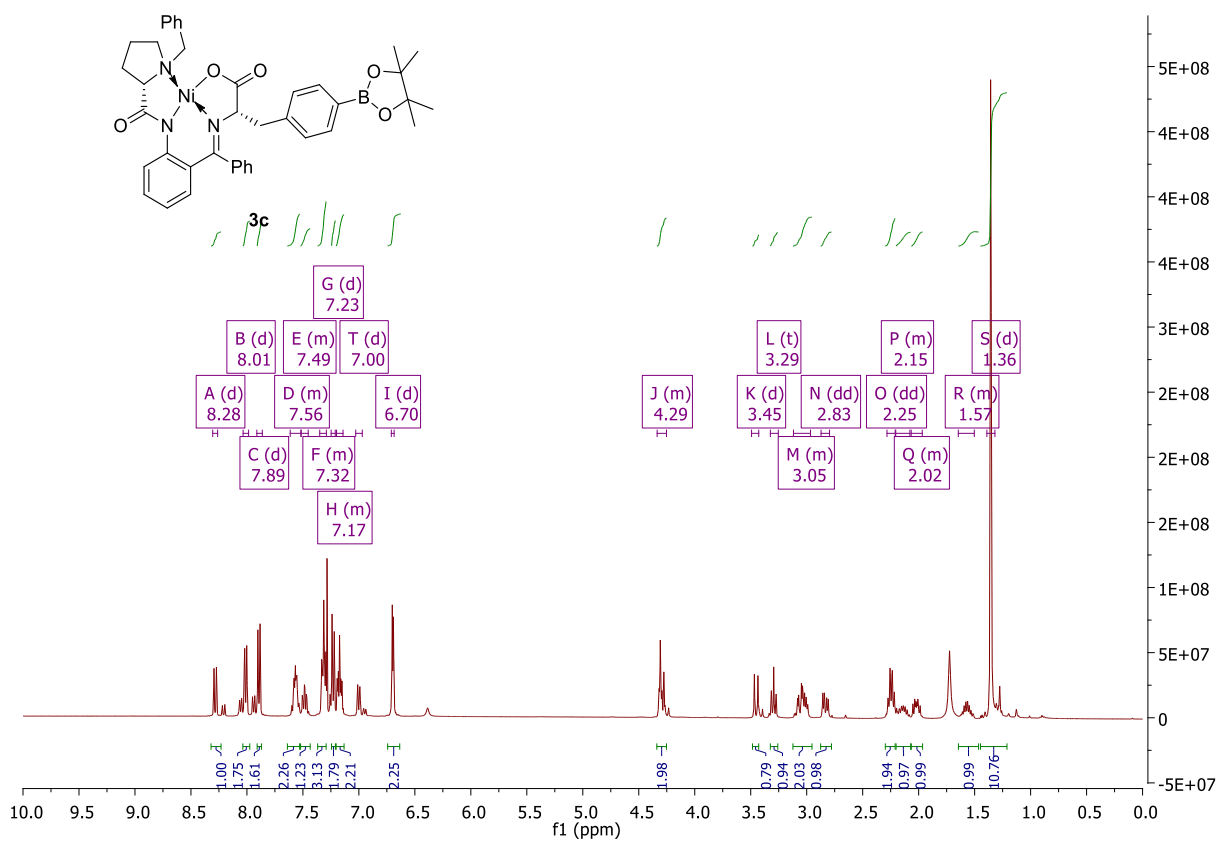


(*S,S*)-Ni-BPB-3-FPhe (**18b**) (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)



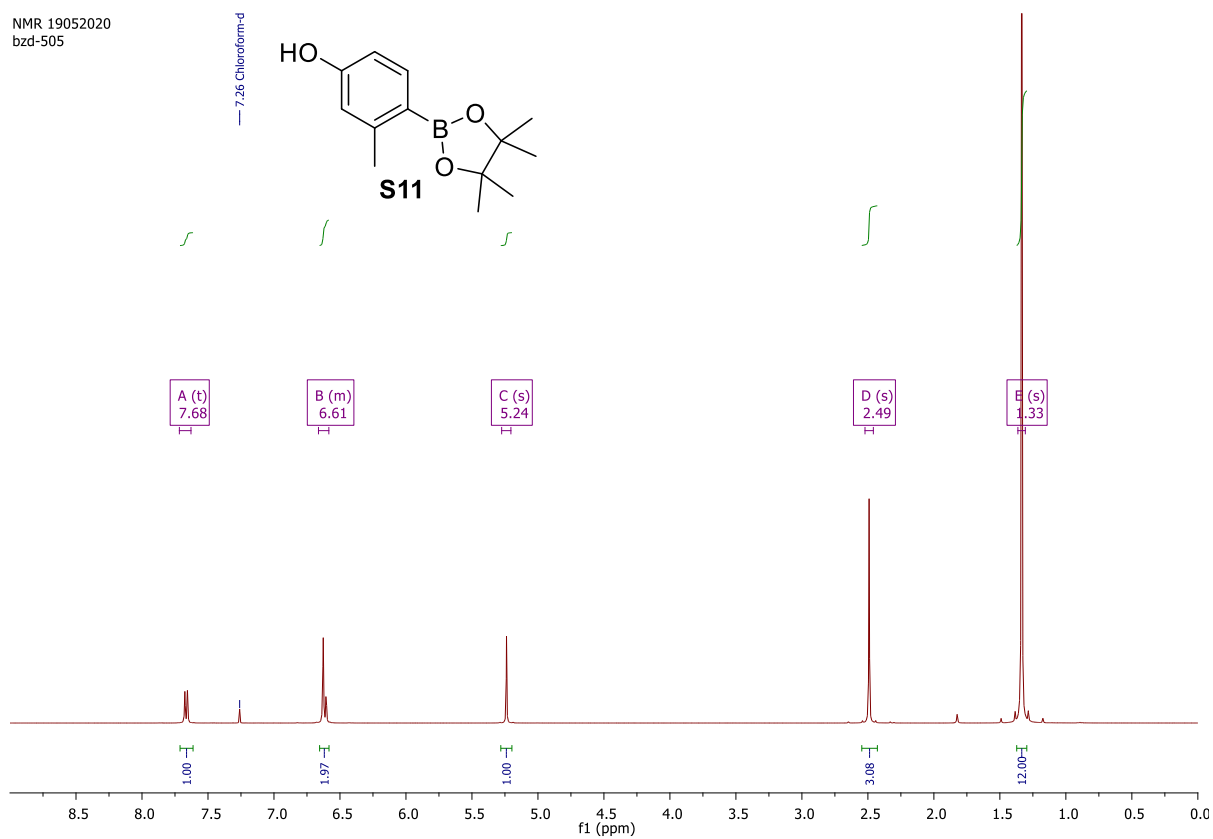


**(*S,S*)-Ni-BPB-4-BpinPhe (3c)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)

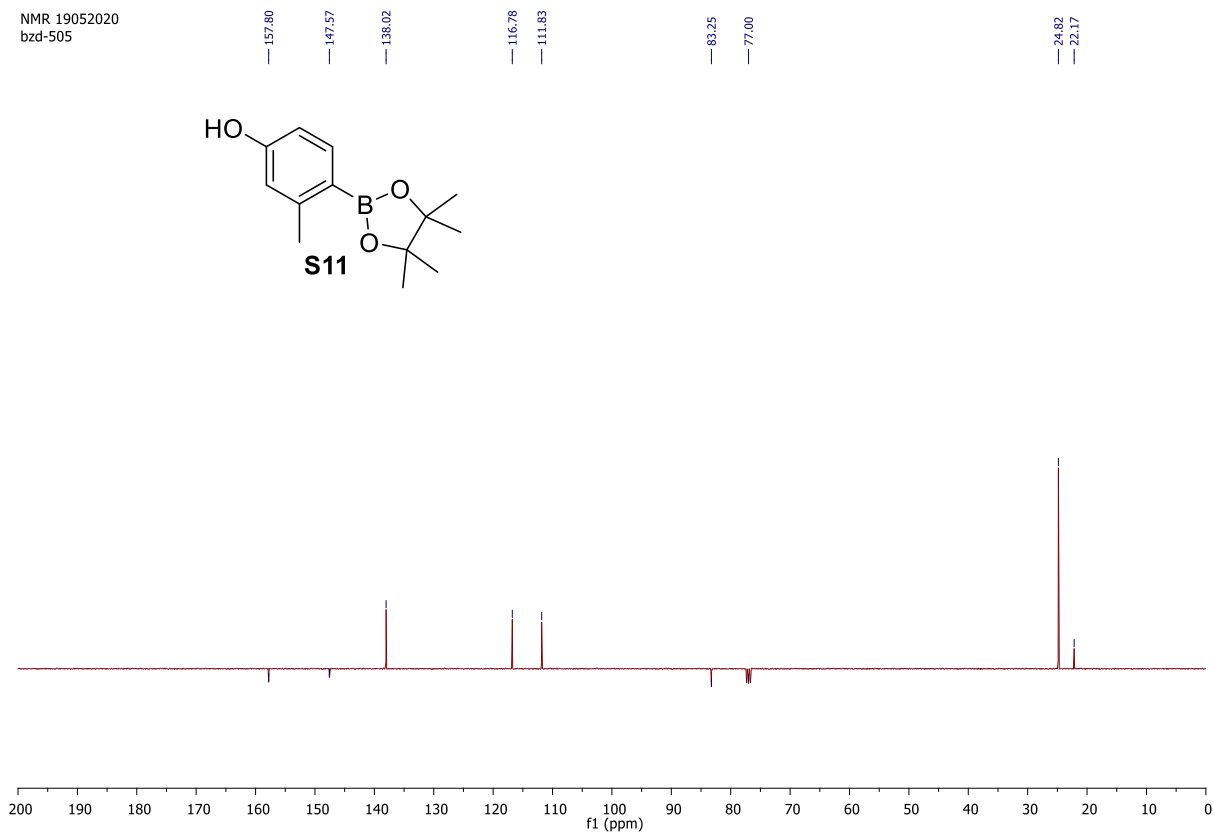


**4,4,5,5-Tetramethyl-2-(2-methyl-4-hydroxyphenyl)-1,3,2-dioxaborolane (S11)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)

NMR 19052020  
bzd-505

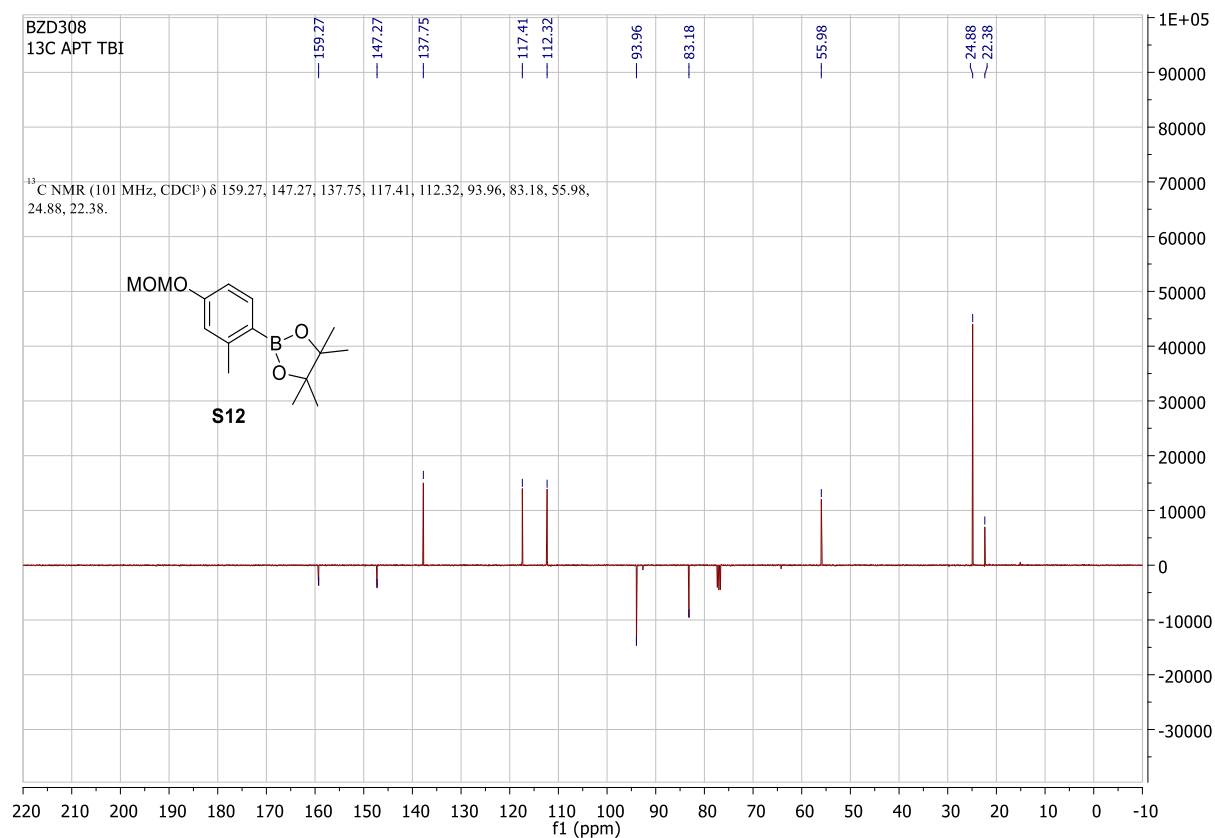
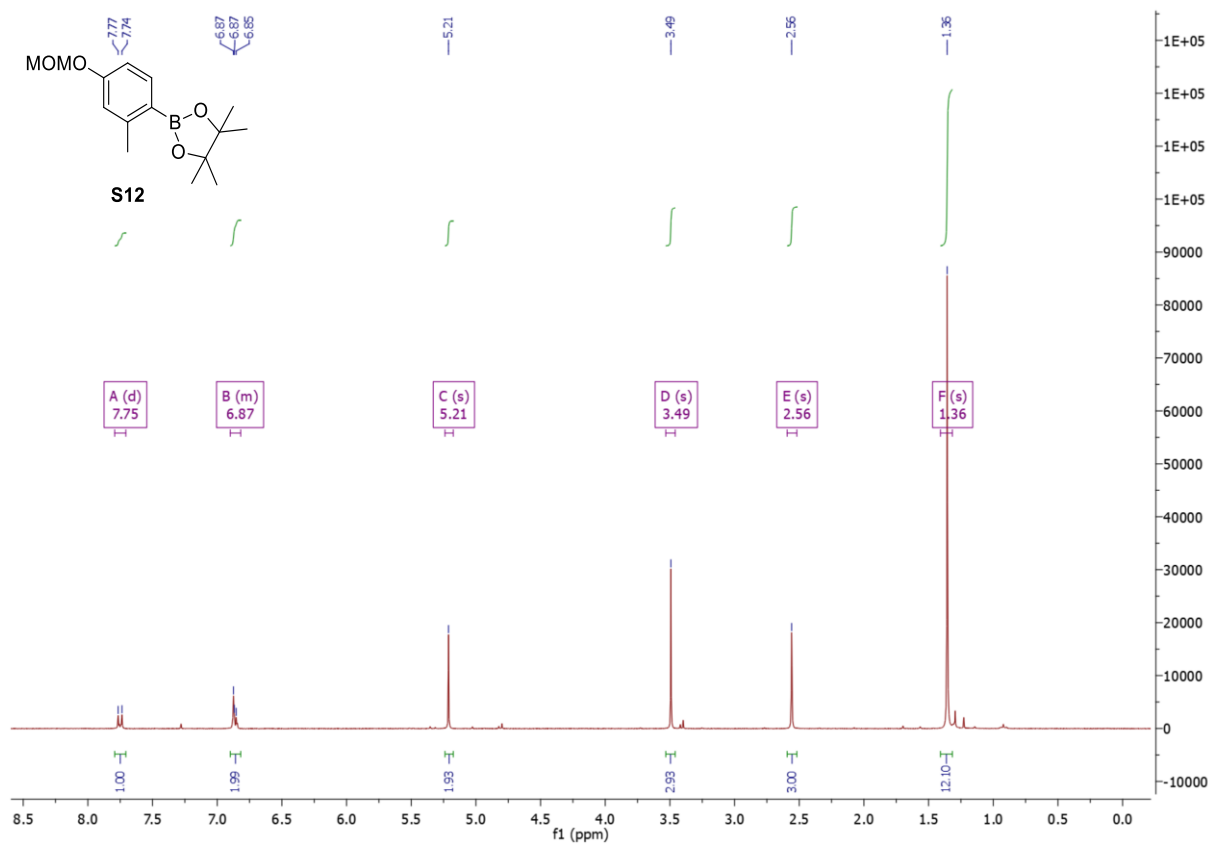


NMR 19052020  
bzd-505

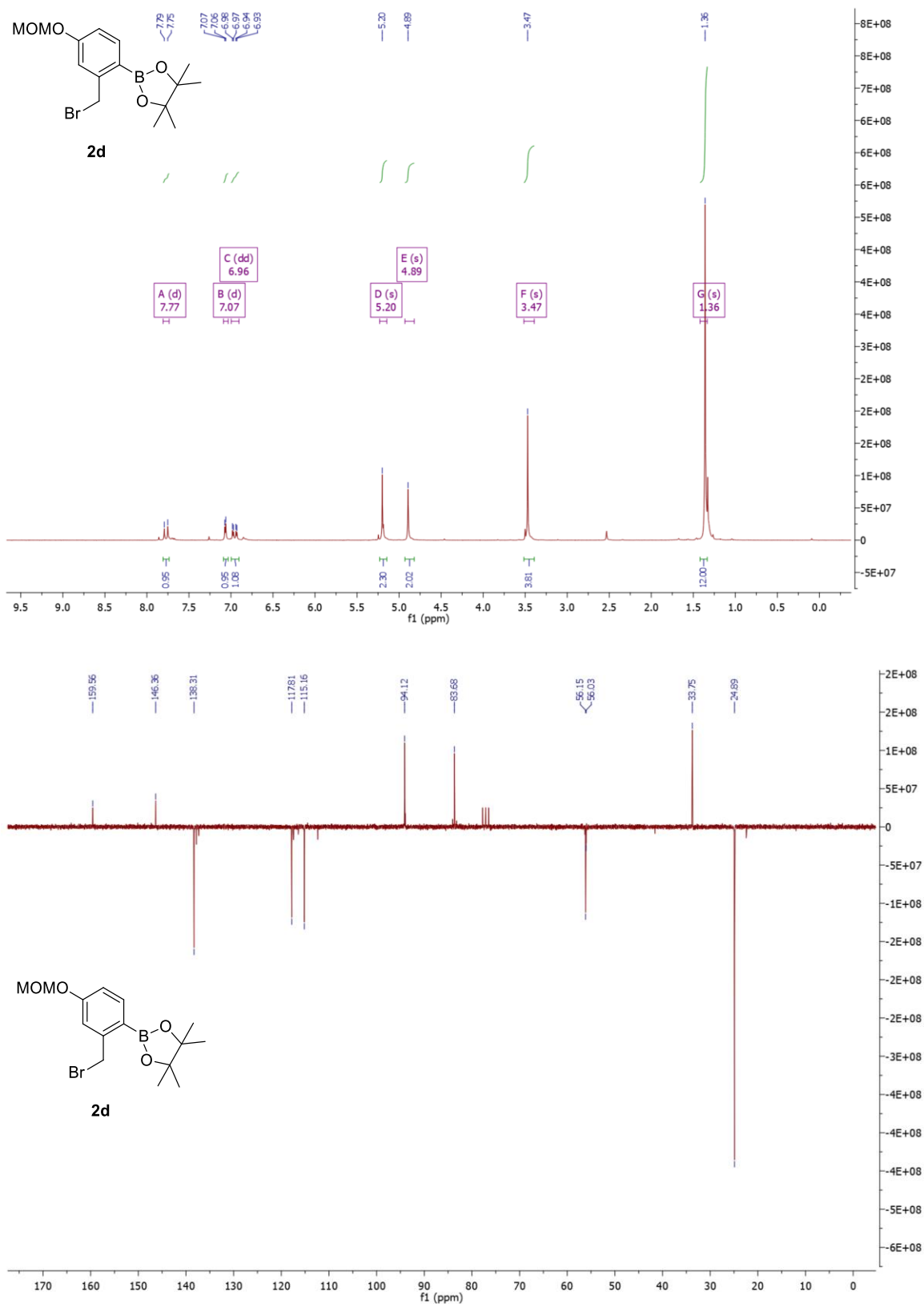


## 2-(4-(Methoxymethoxy)-2-methylphenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (S12)

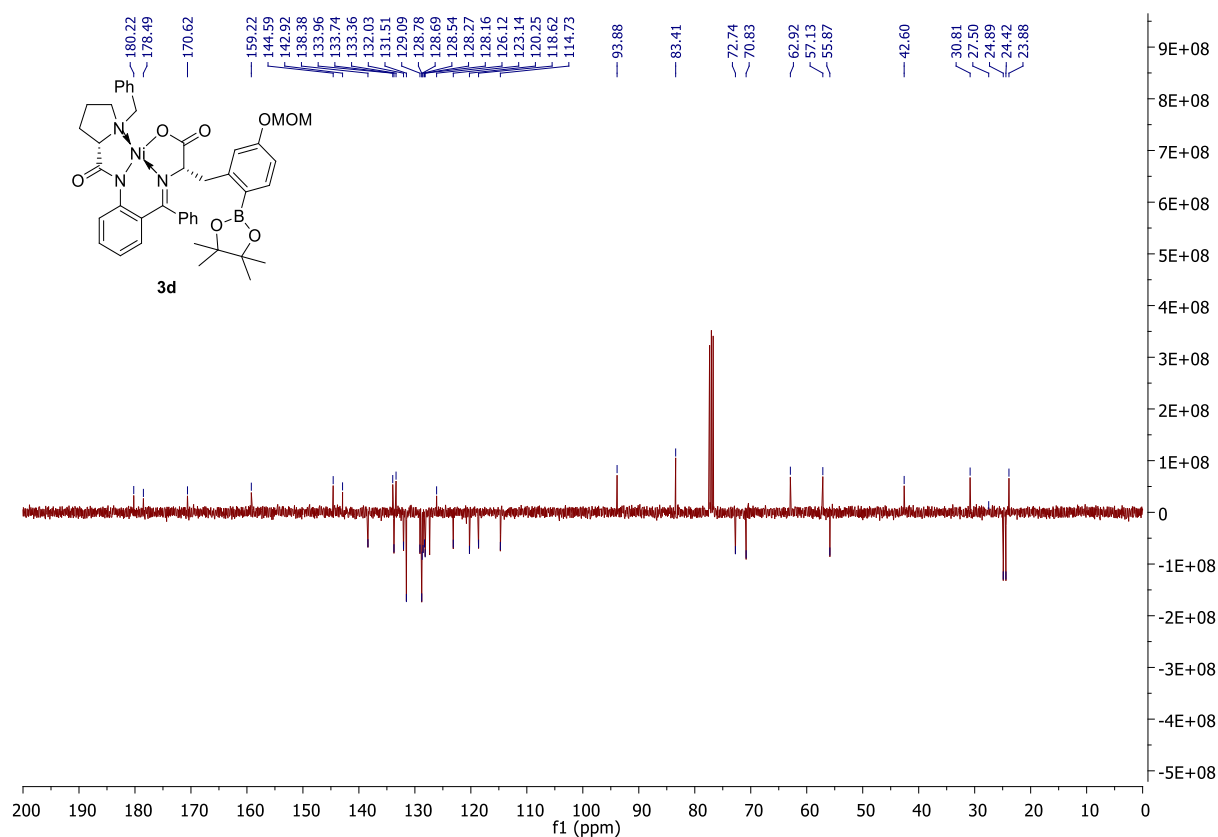
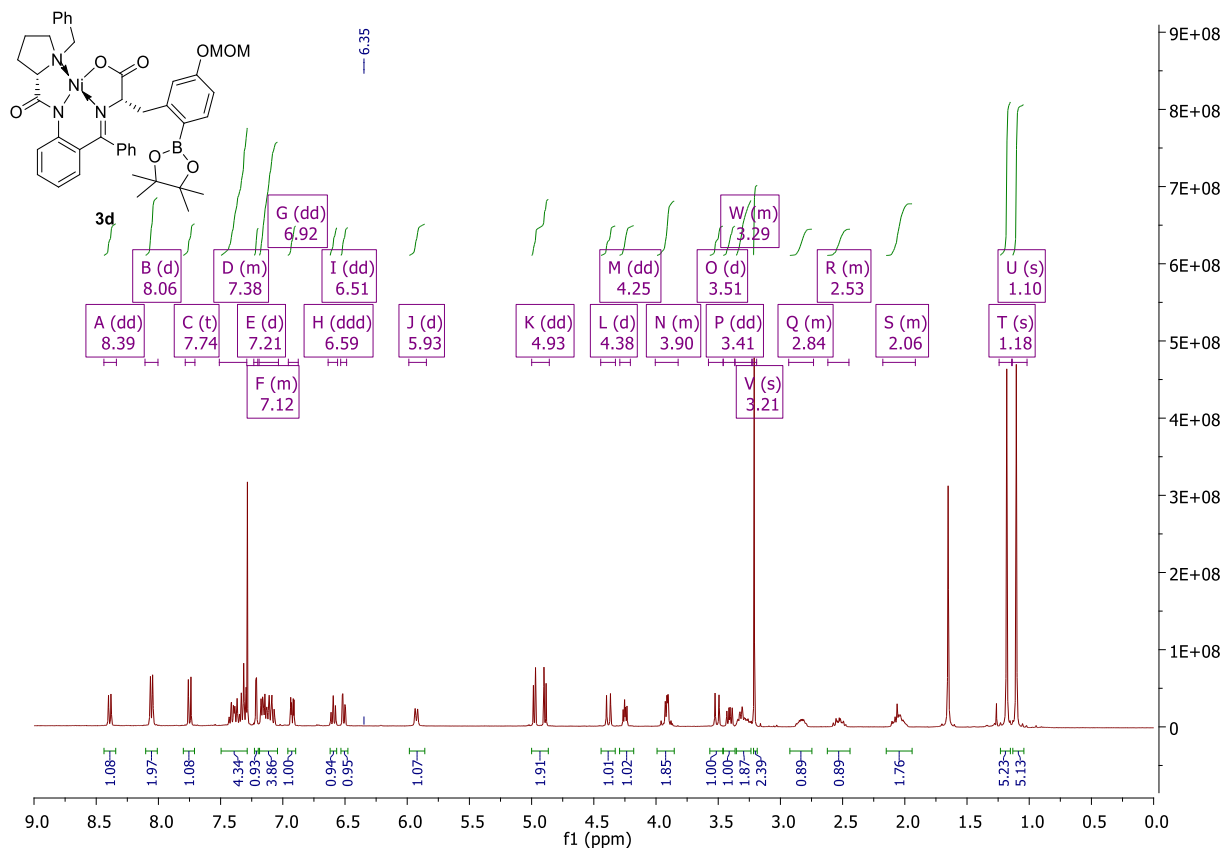
(CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)



**2-(2-(Bromomethyl)-4-(methoxymethoxy)phenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (2d)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)

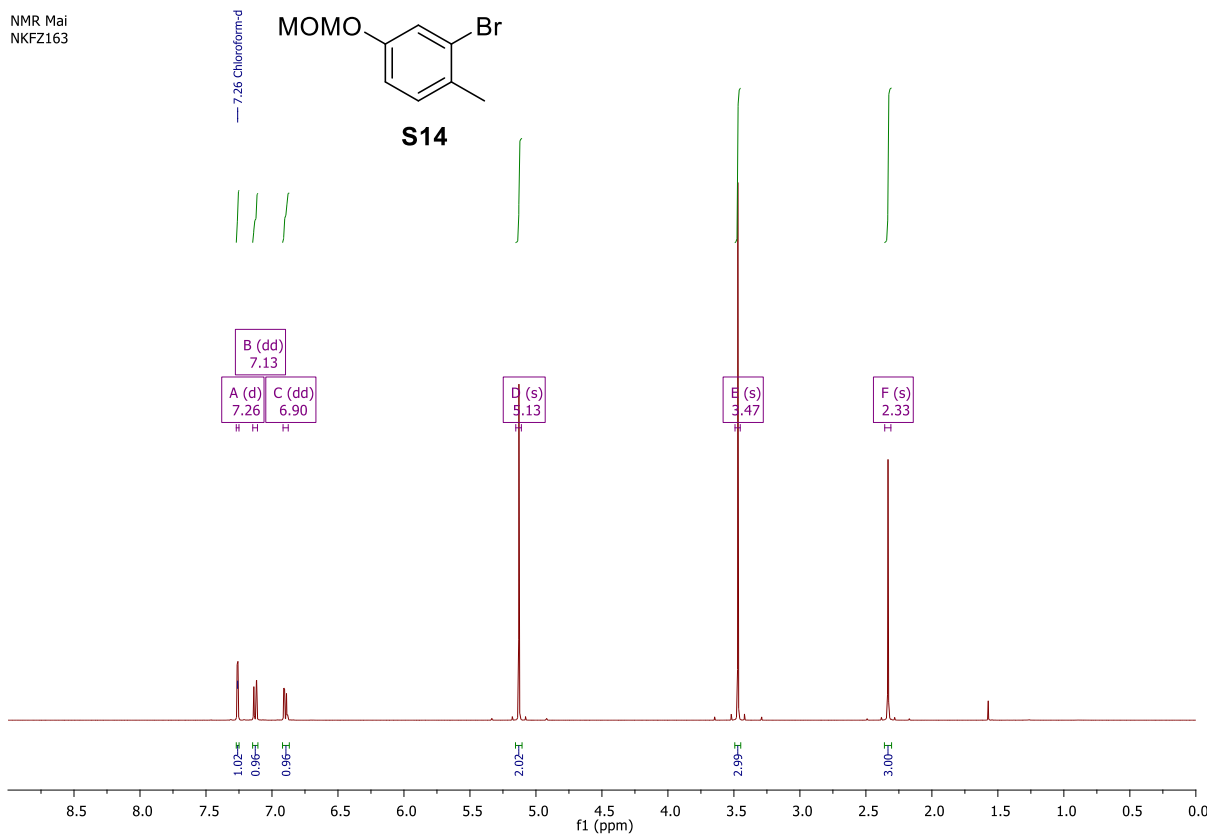


**(S,S)-Ni-BPB-2-Bpin-5-MOMO-Phe (3d)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)

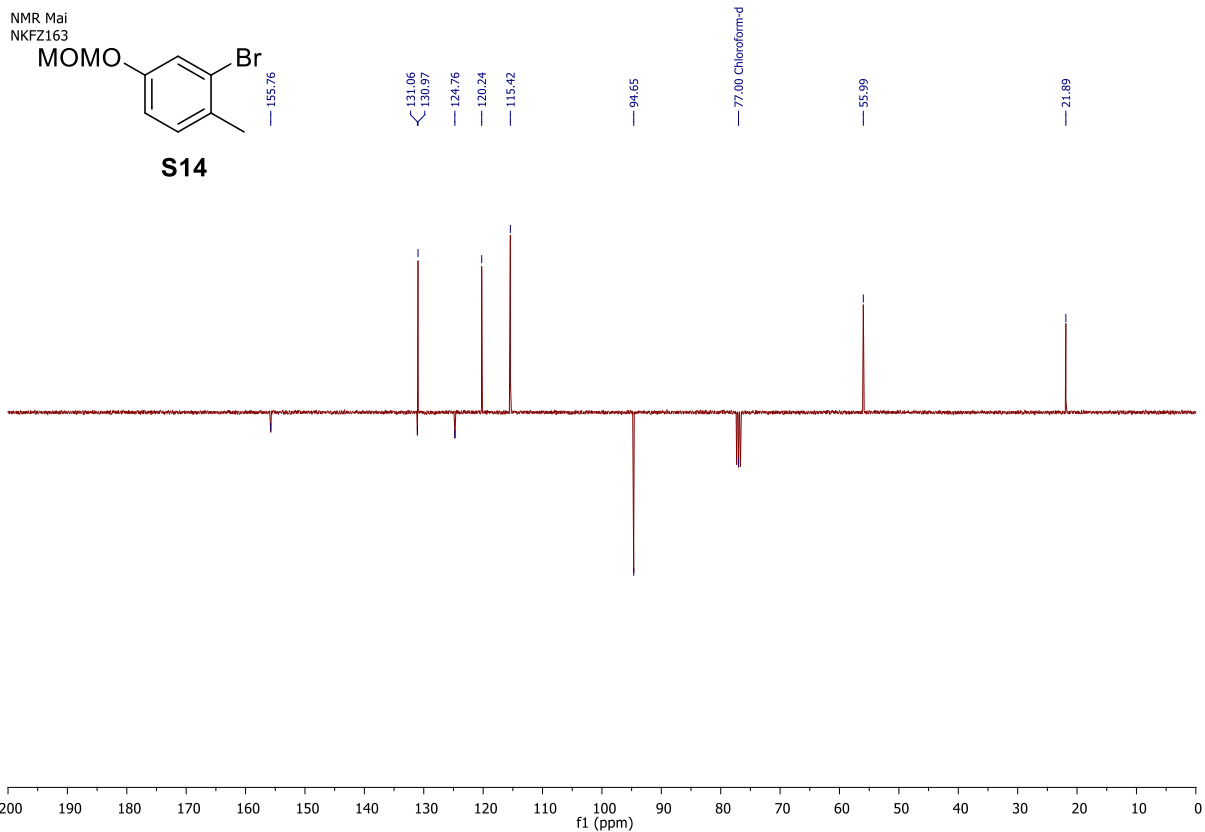


**2-Bromo-4-(methoxymethoxy)-1-methylbenzene (S14)**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz),  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz)

NMR Mai  
NKFZ163



NMR Mai  
NKFZ163

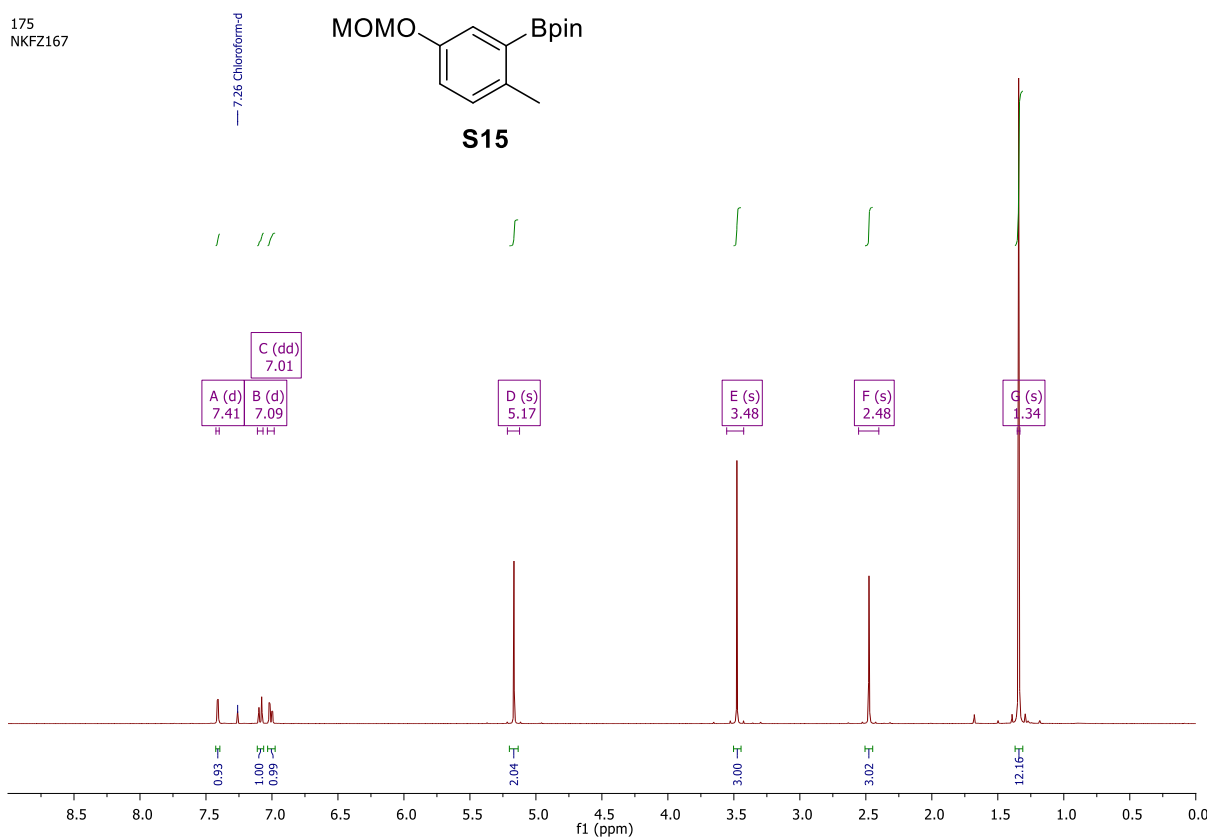




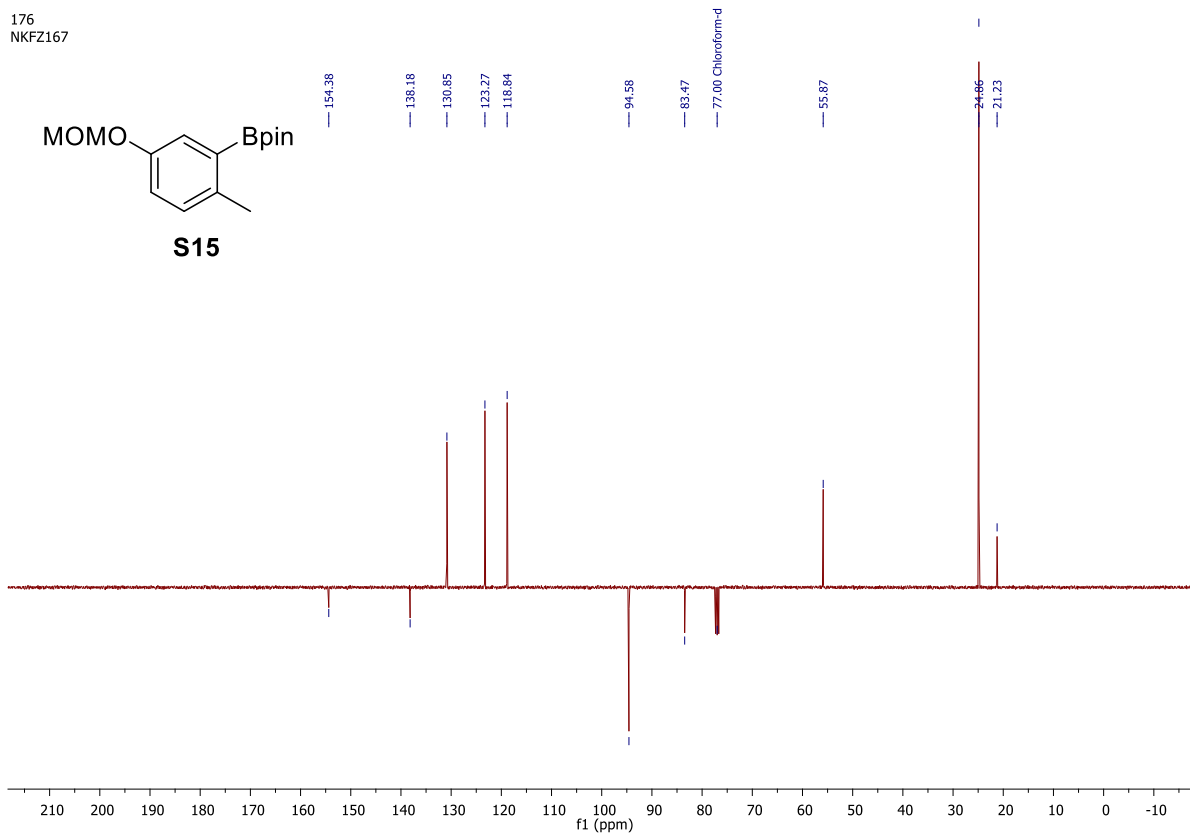
# 2-[5-(Methoxymethoxy)-2-methylphenyl]-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (S15)

(CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)

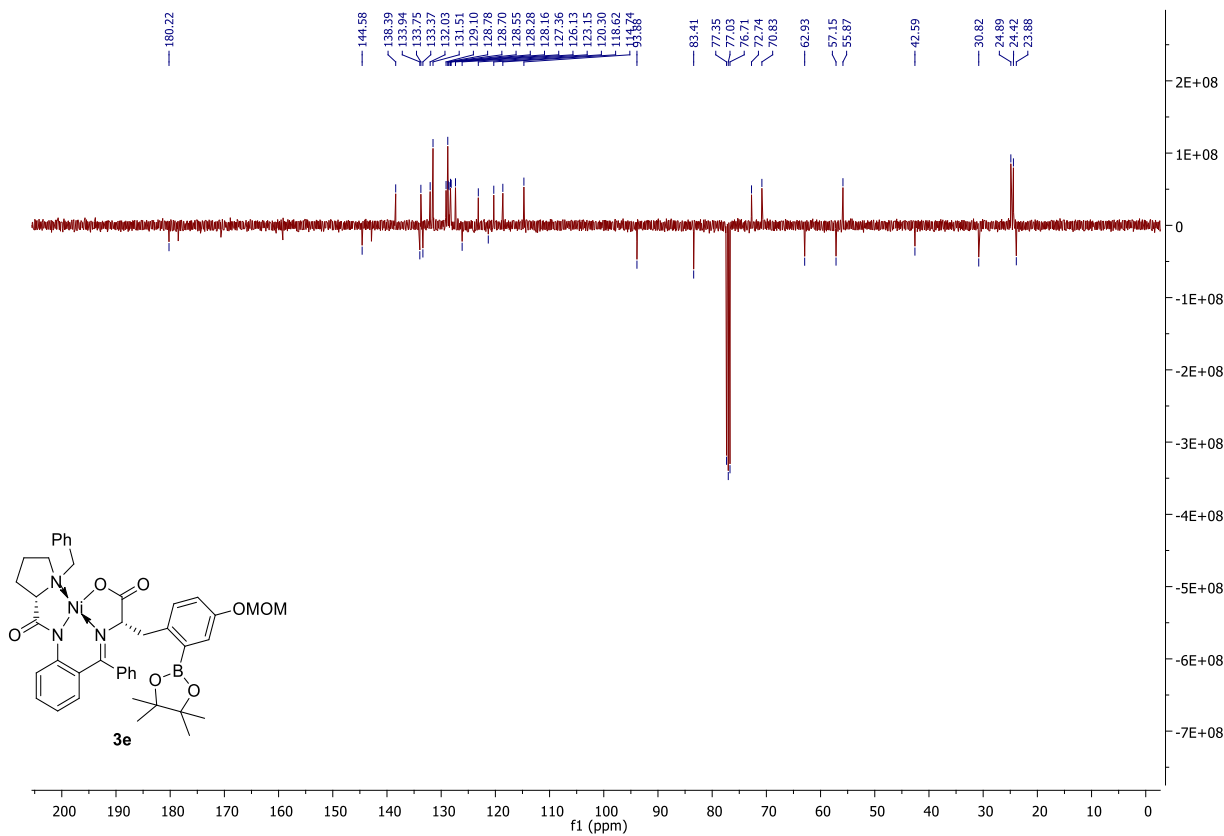
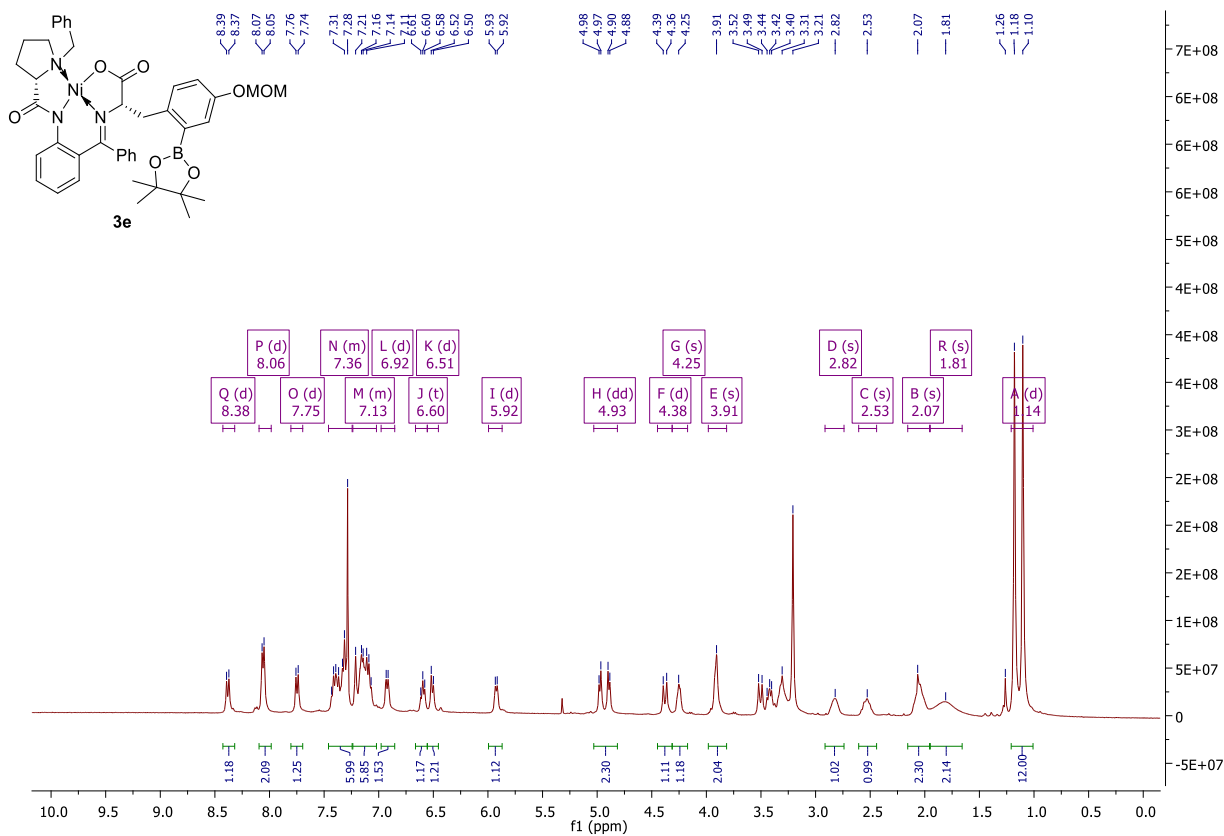
175  
NKFZ167



176  
NKFZ167

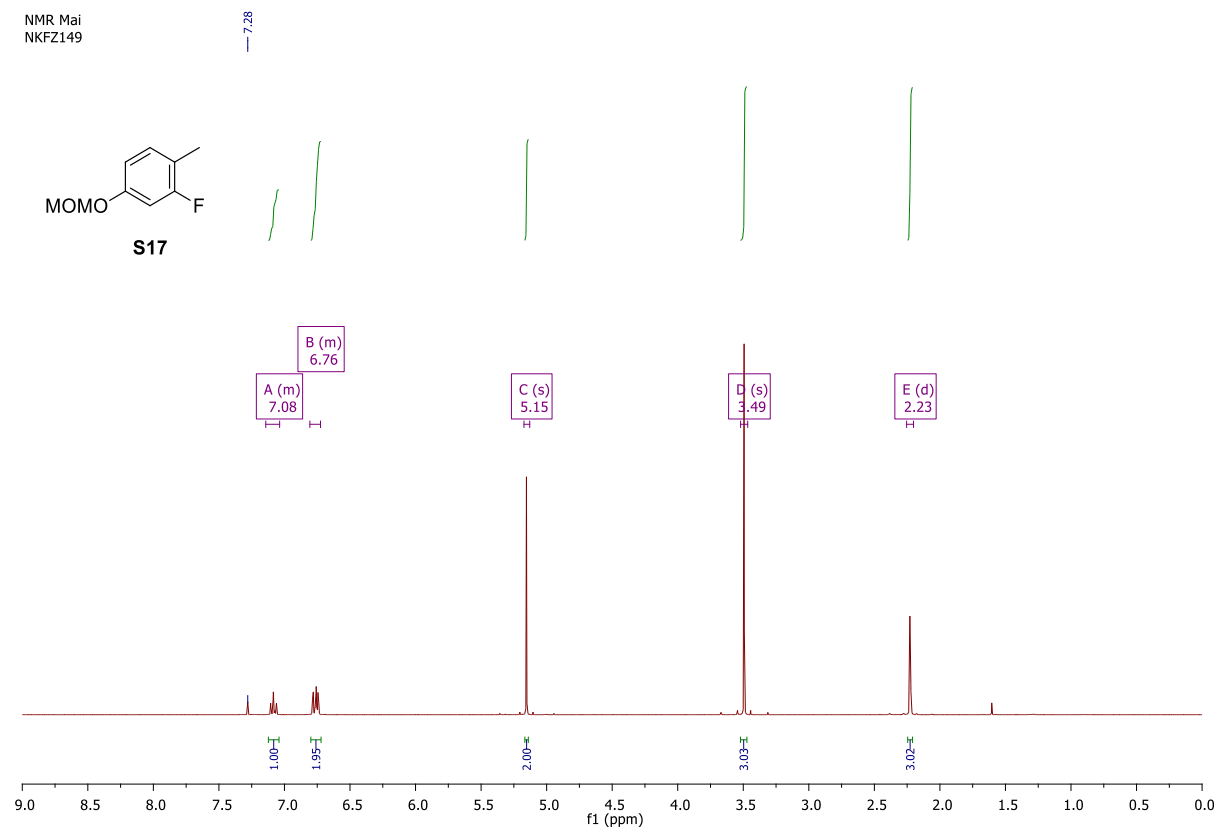


(*S,S*)-Ni-BPB-2-Bpin-OMOM-Tyr (**3e**) (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)

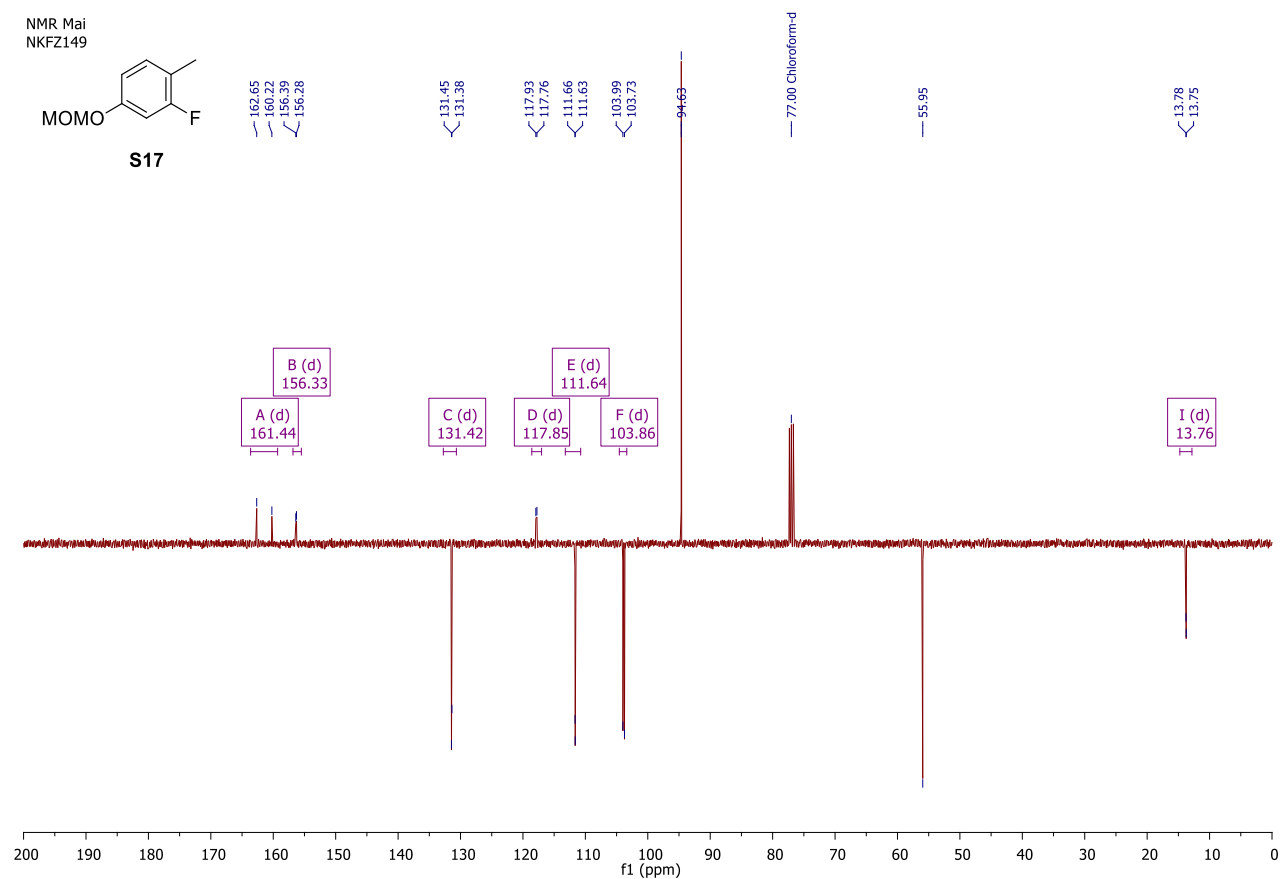


**1-Fluoro-4-(methoxymethoxy)-2-methylbenzene (S17)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

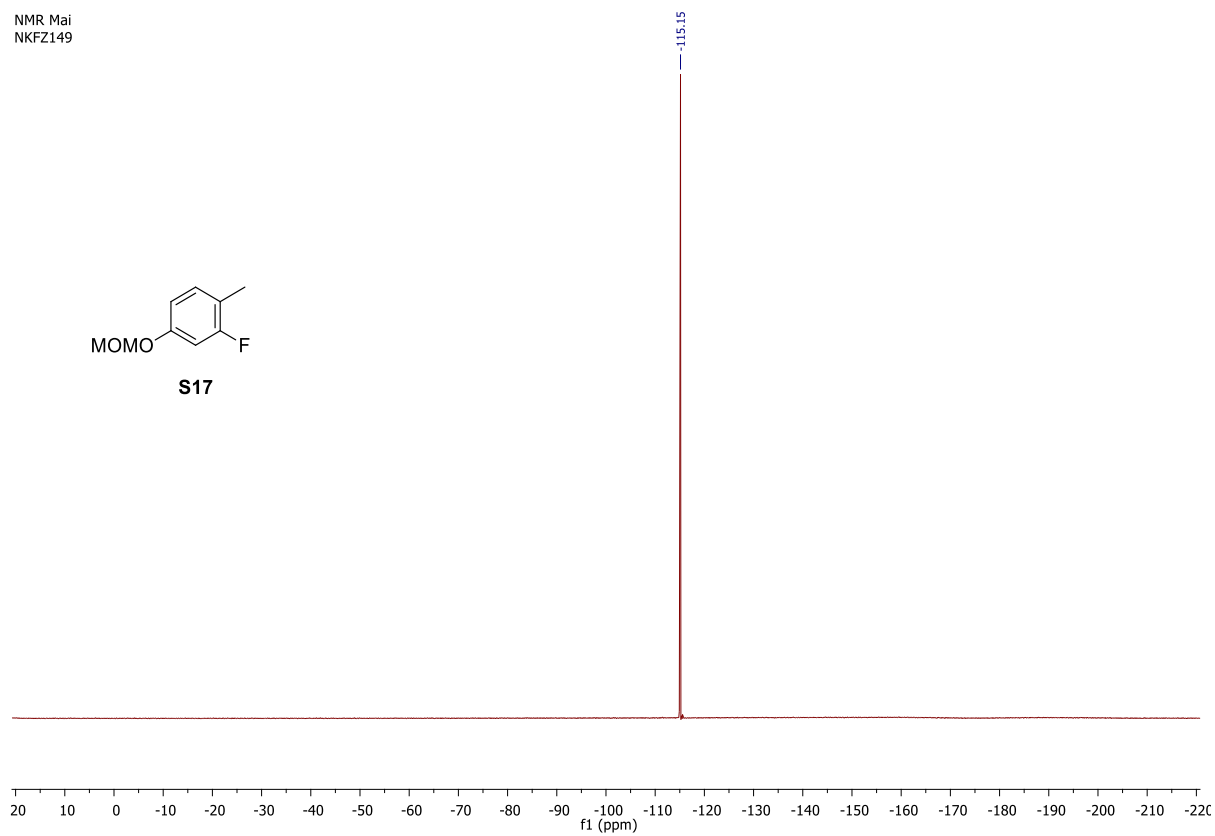
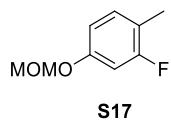
NMR Mai  
NKFZ149



NMR Mai  
NKFZ149

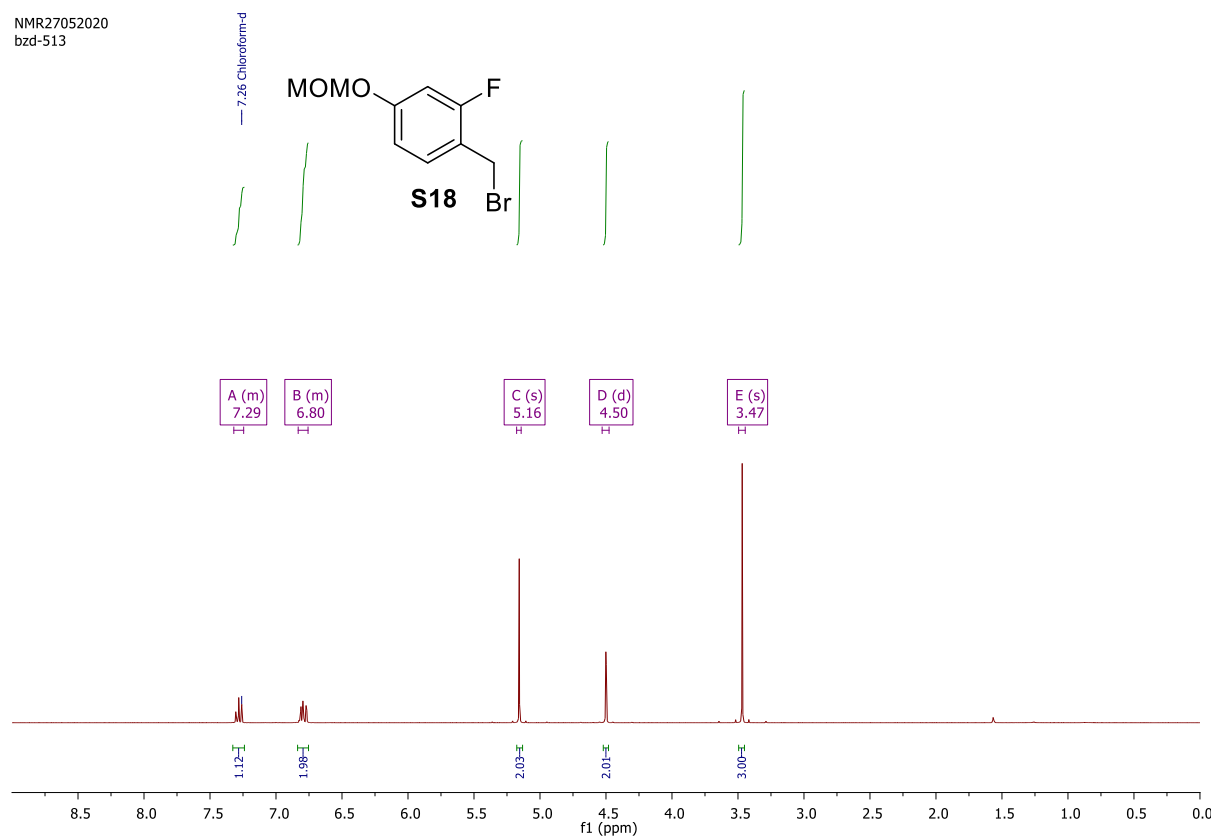


NMR Mai  
NKFZ149

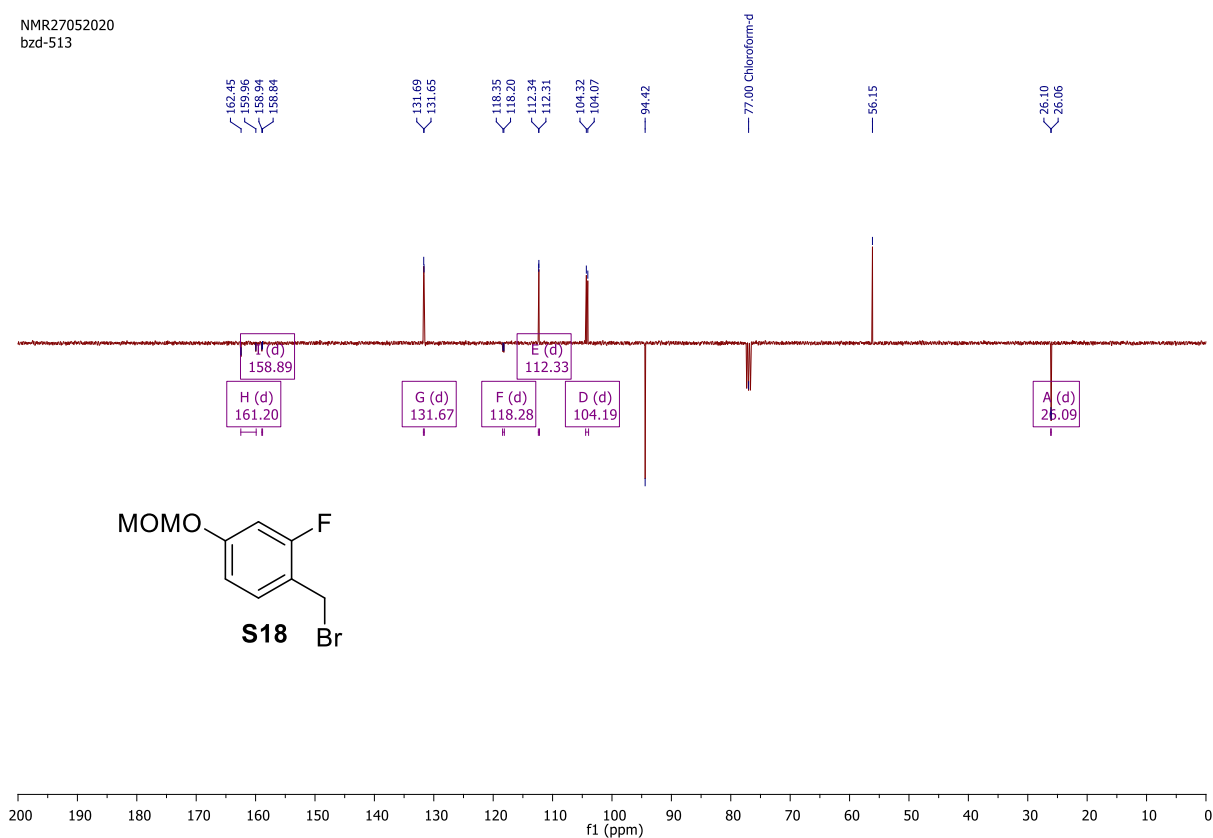


**1-(Bromomethyl)-2-fluoro-4-(methoxymethoxy)benzene (S18)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

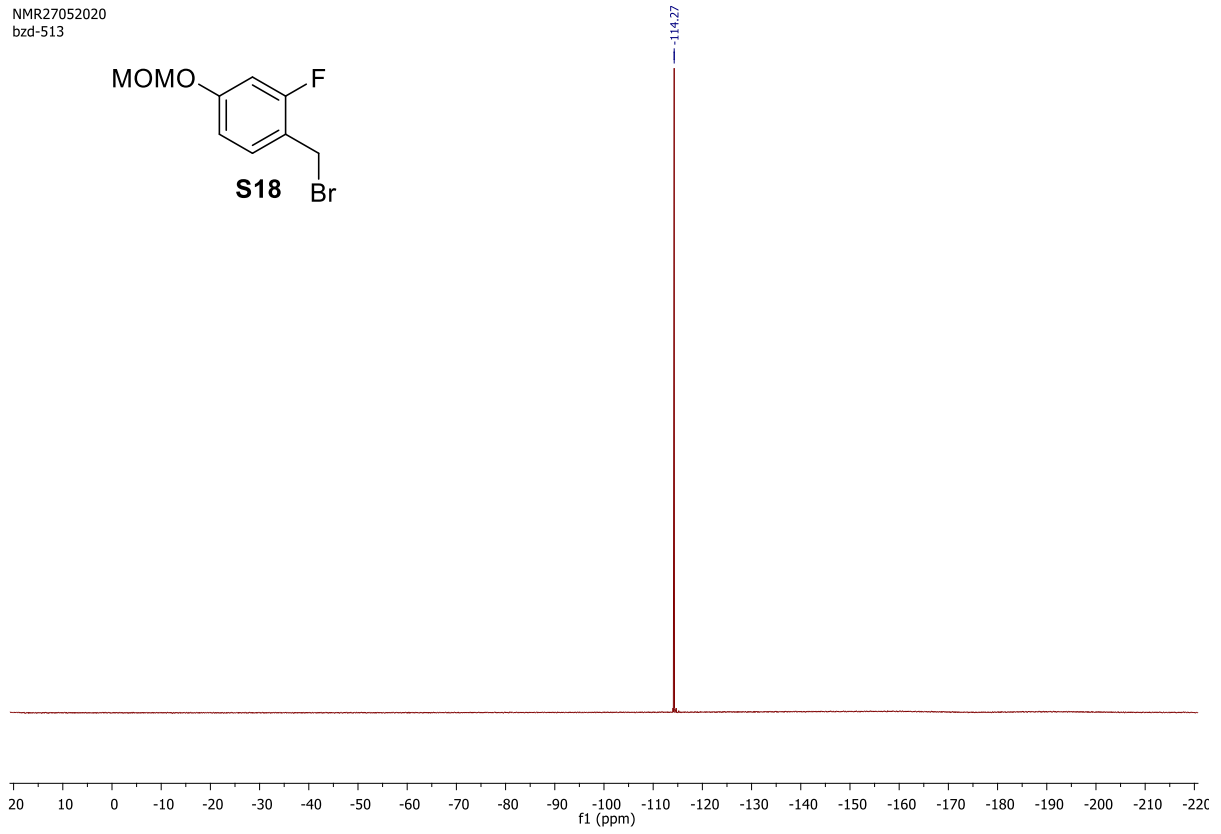
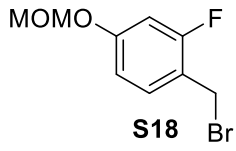
NMR27052020  
bzd-513



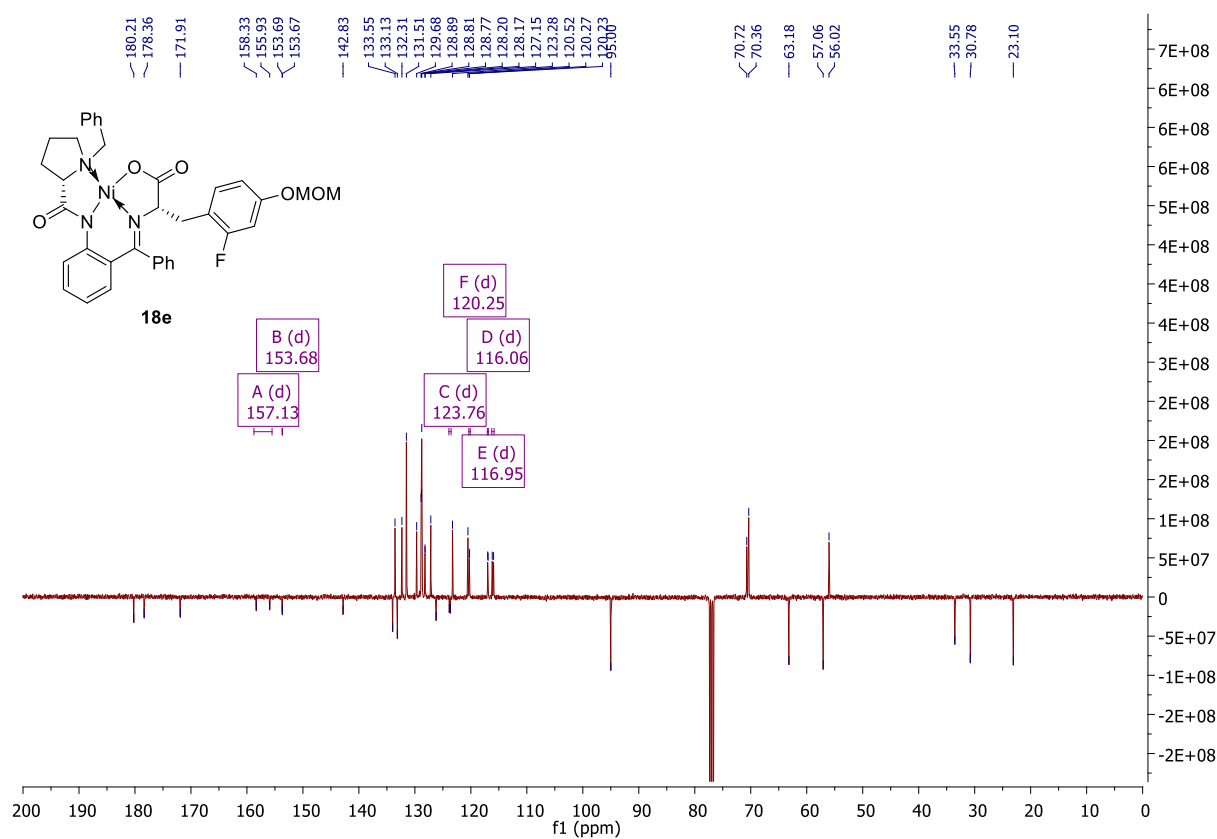
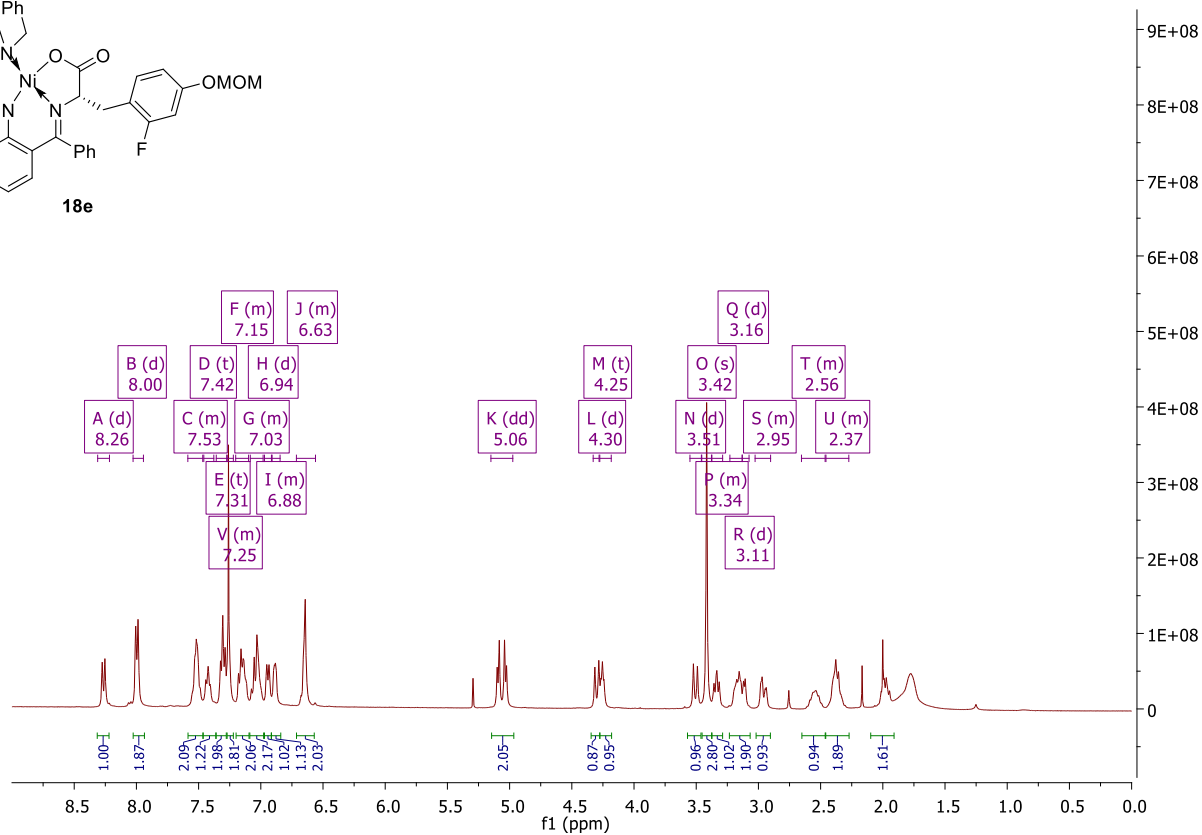
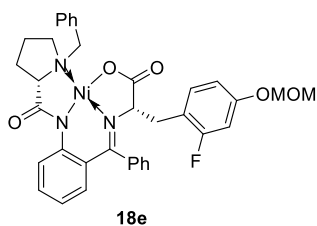
NMR27052020  
bzd-513

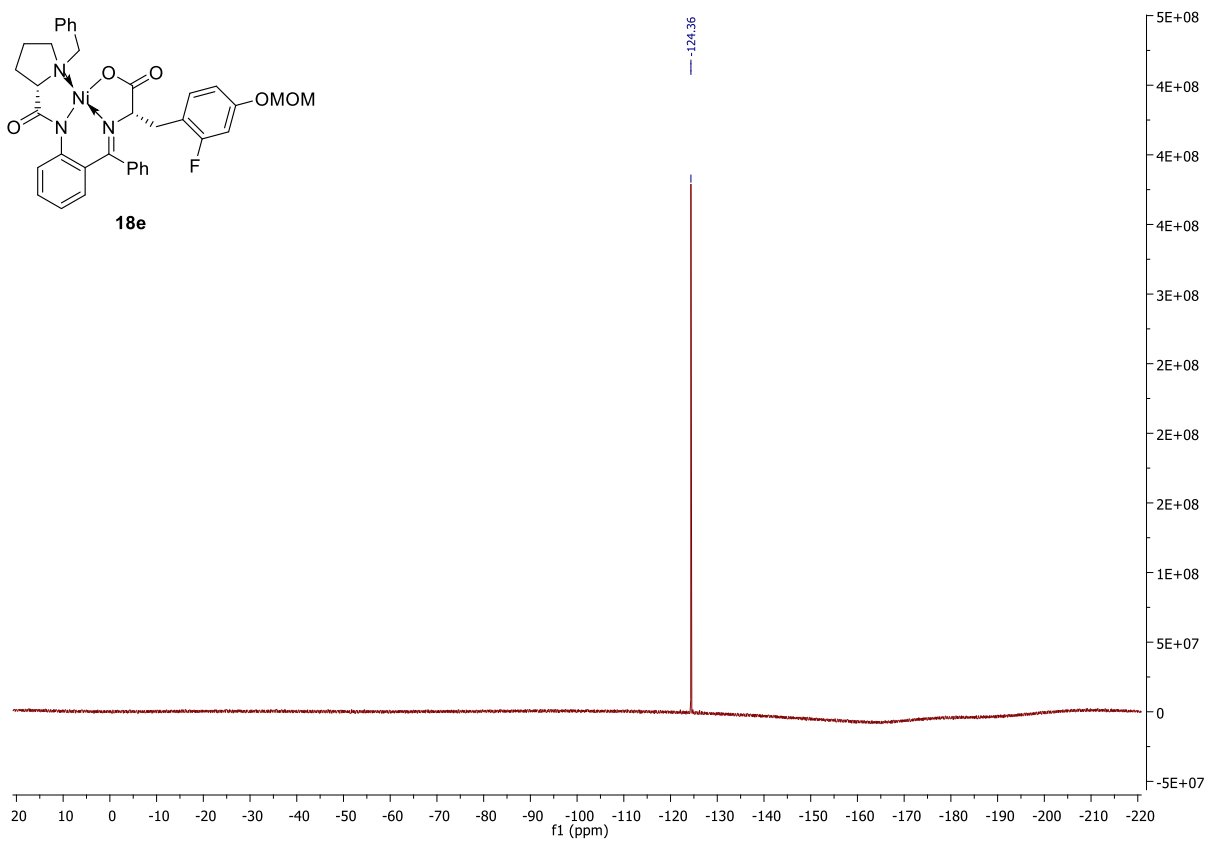
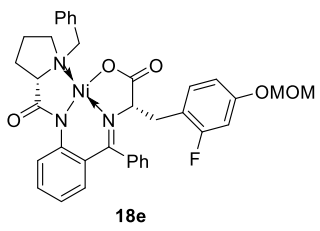


NMR27052020  
bzd-513



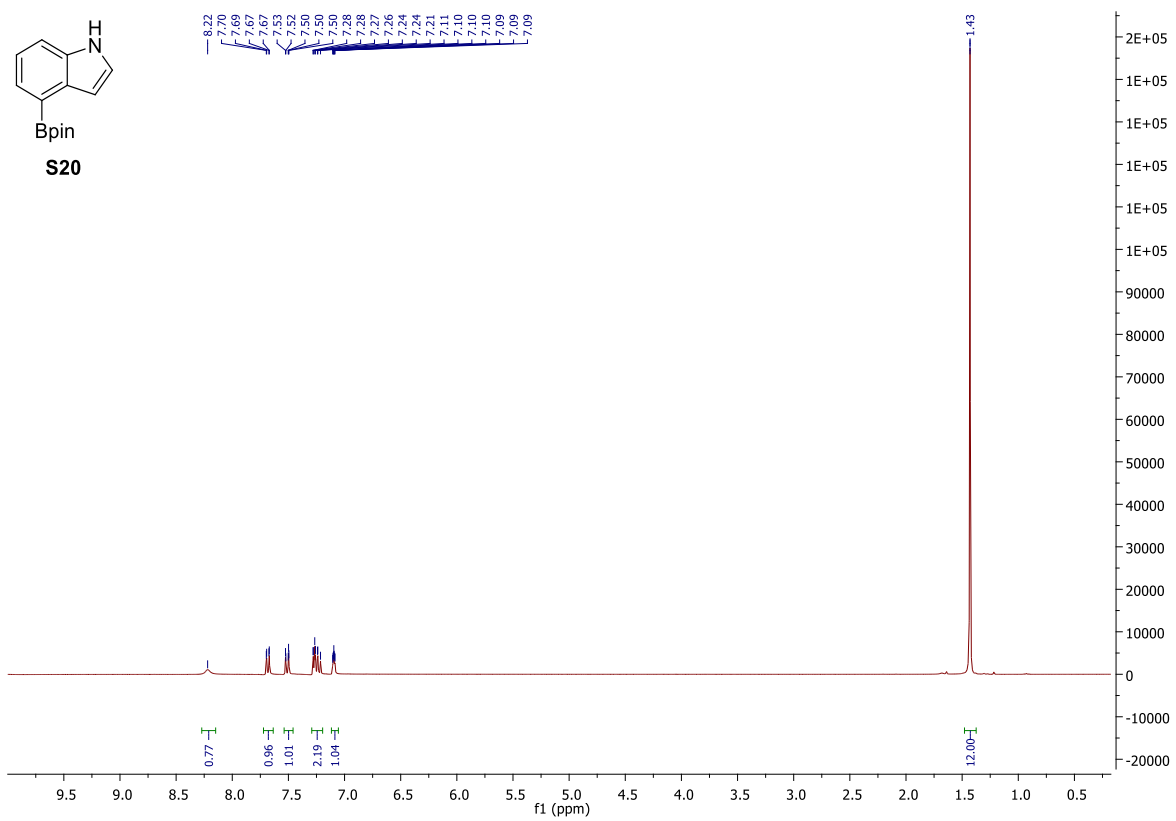
**(*S,S*)-Ni-BPB-2-F-OMOM-Tyr (18e)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)



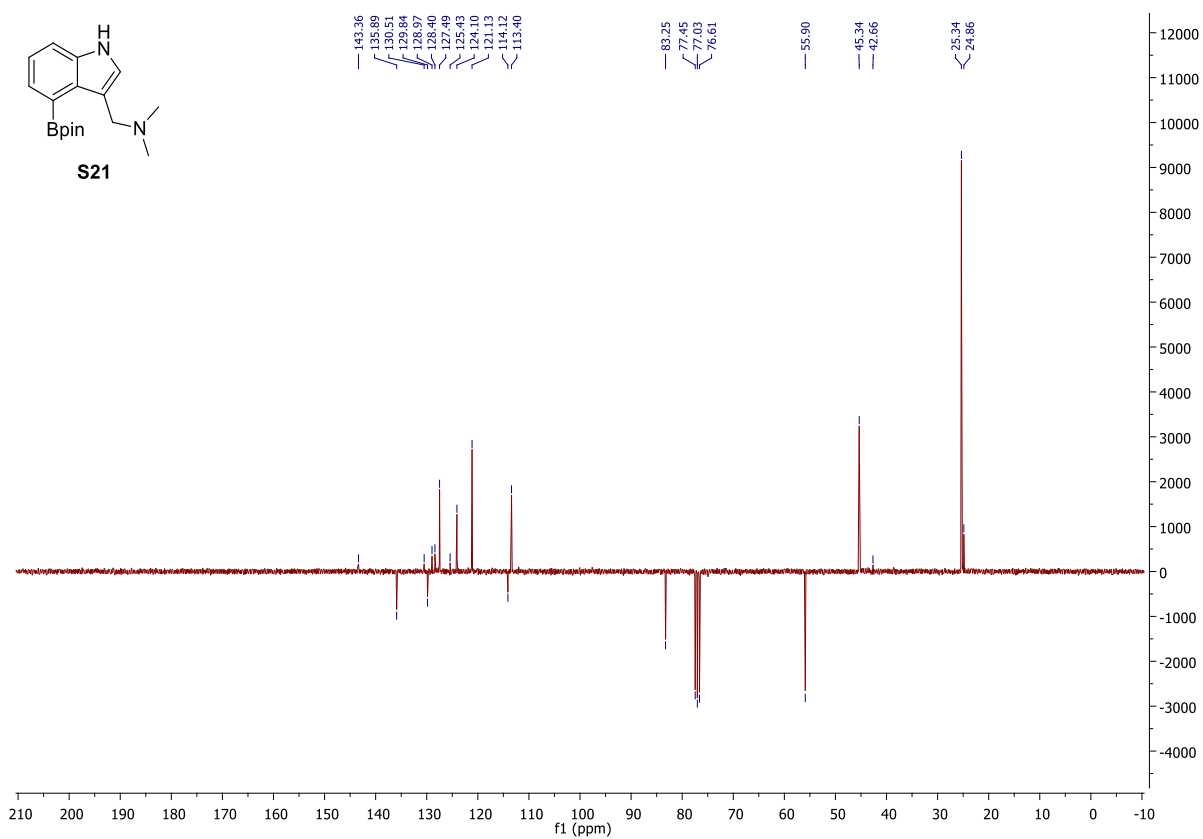
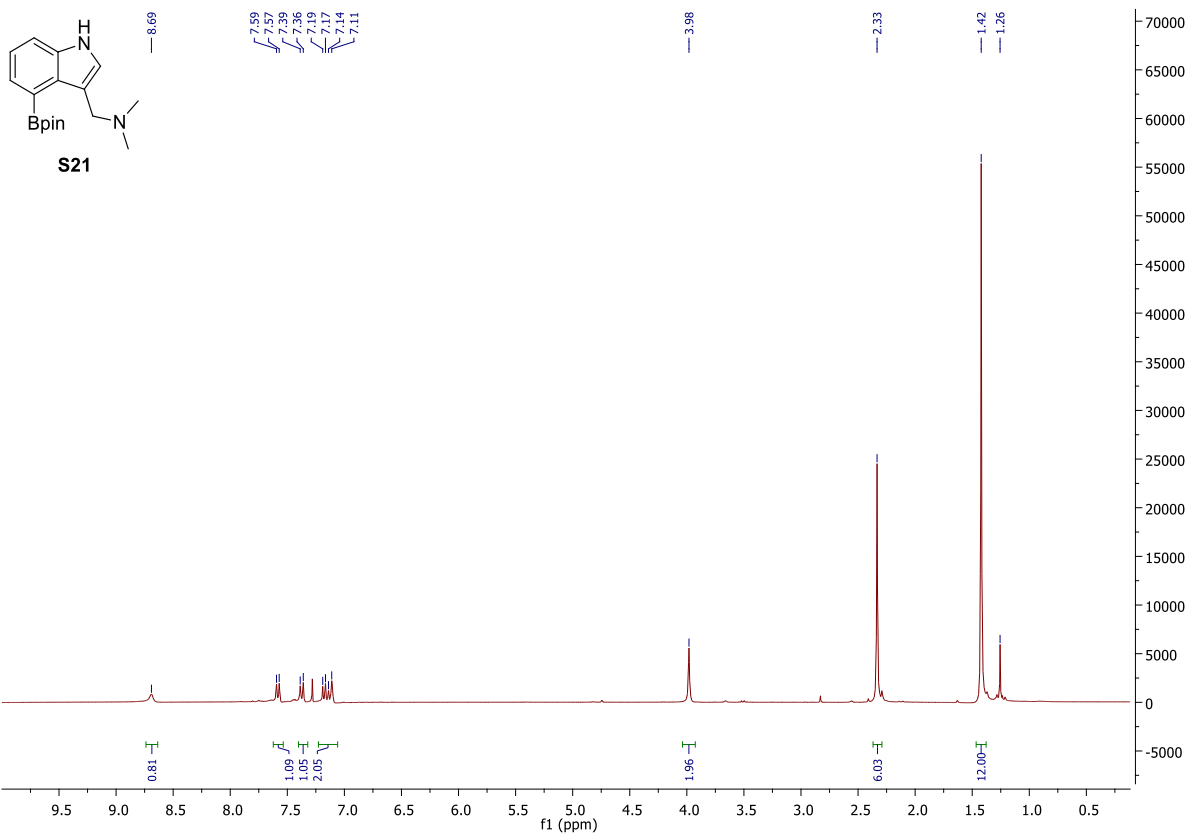




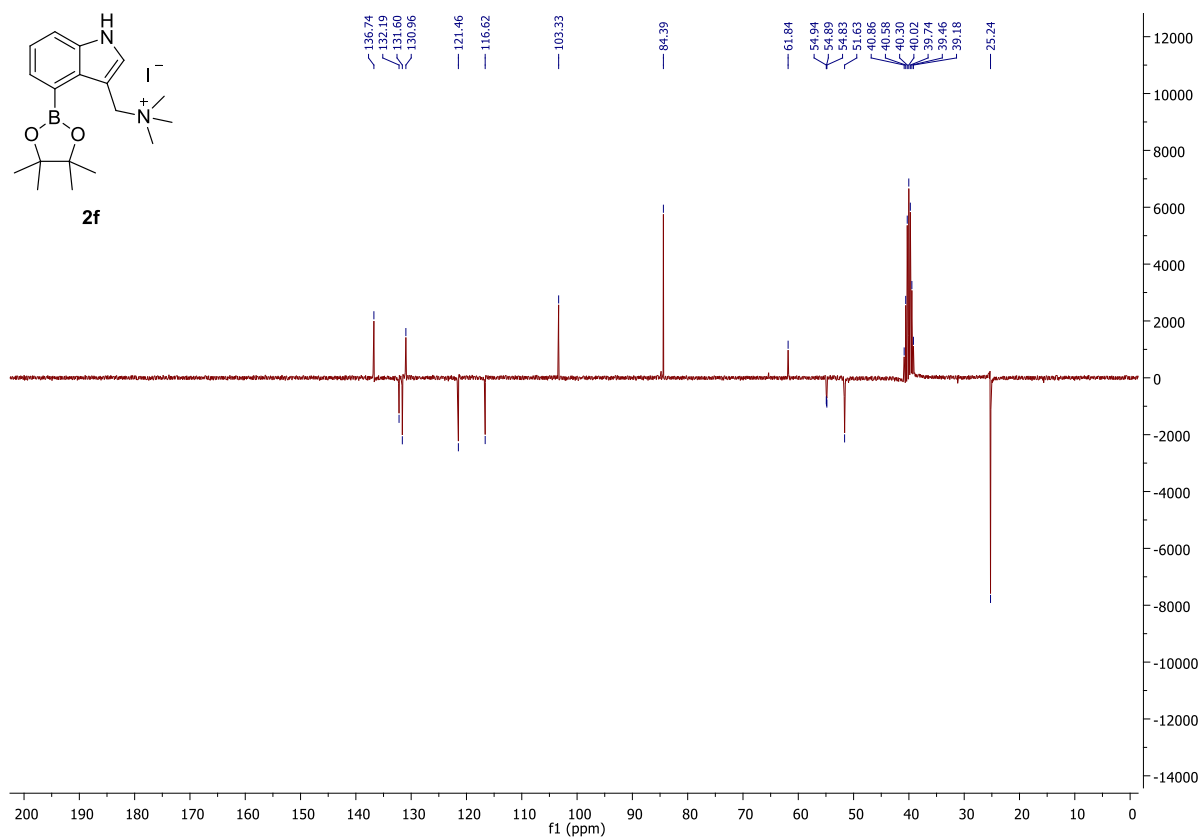
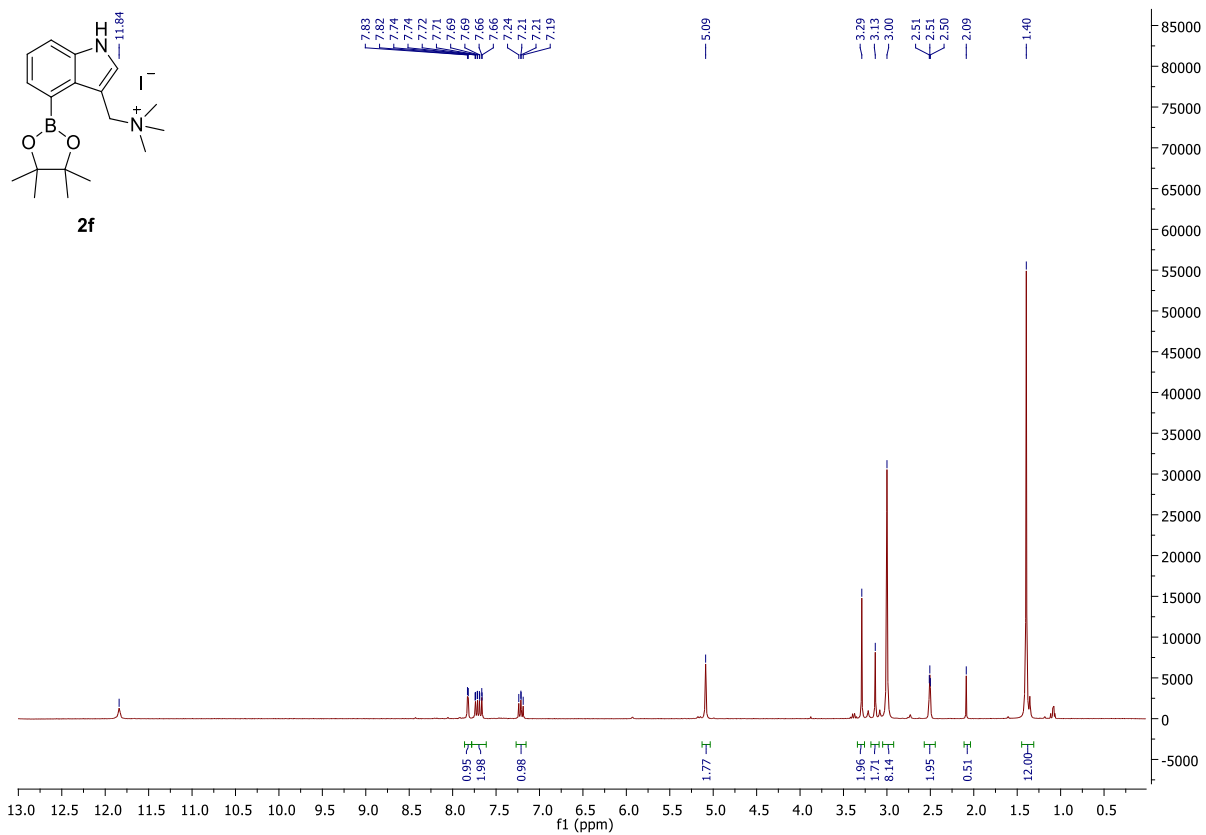
**4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (S20)** <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>),



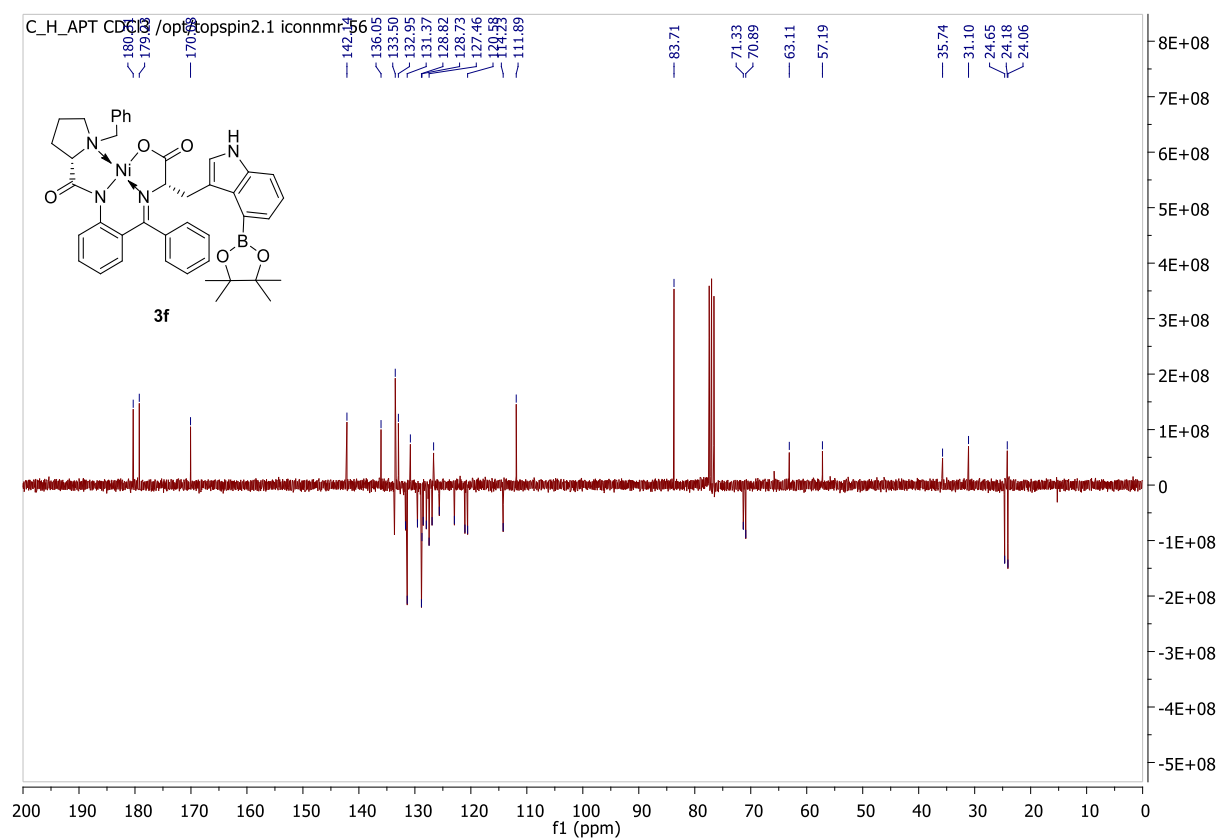
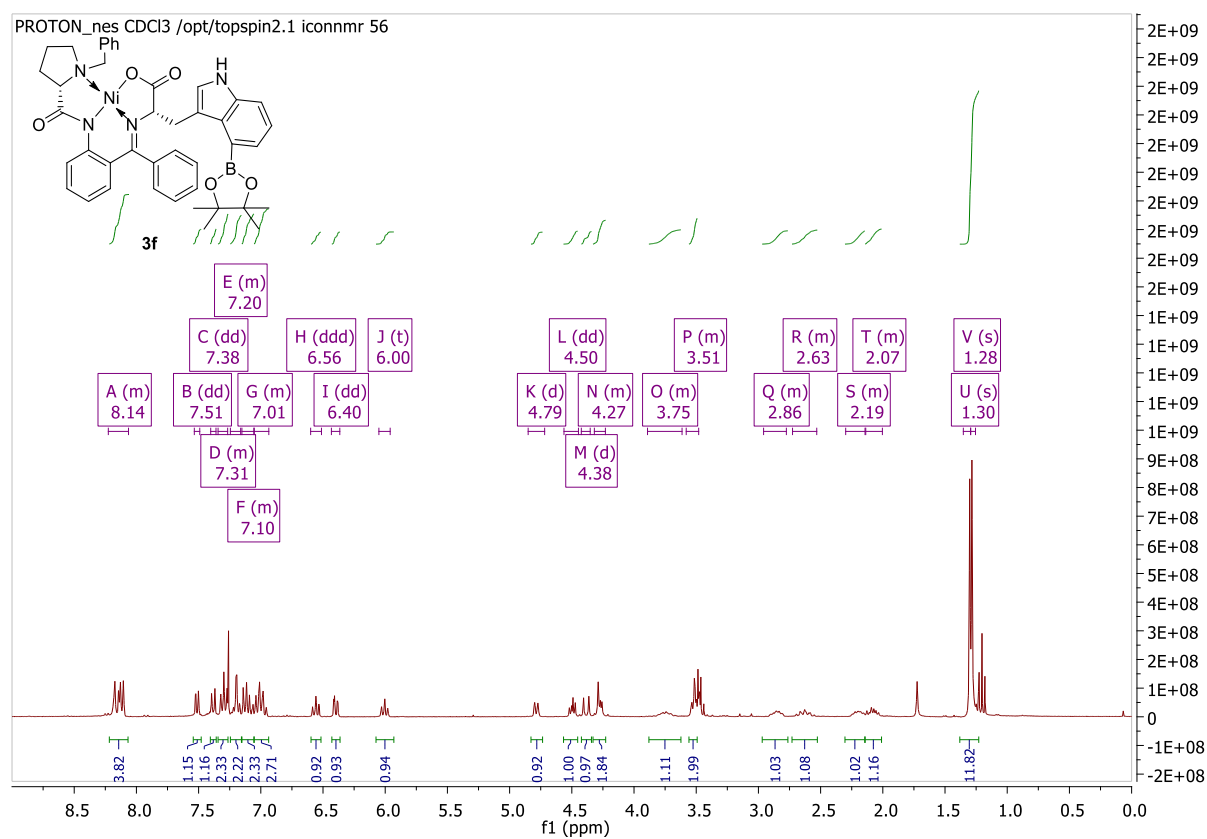
***N,N*-Dimethyl-1-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanamine (S21) (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)**



***N,N,N*-Trimethyl-1-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)methanaminium iodide (2f)** (DMSO,  $d_6$ )  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz),  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz)

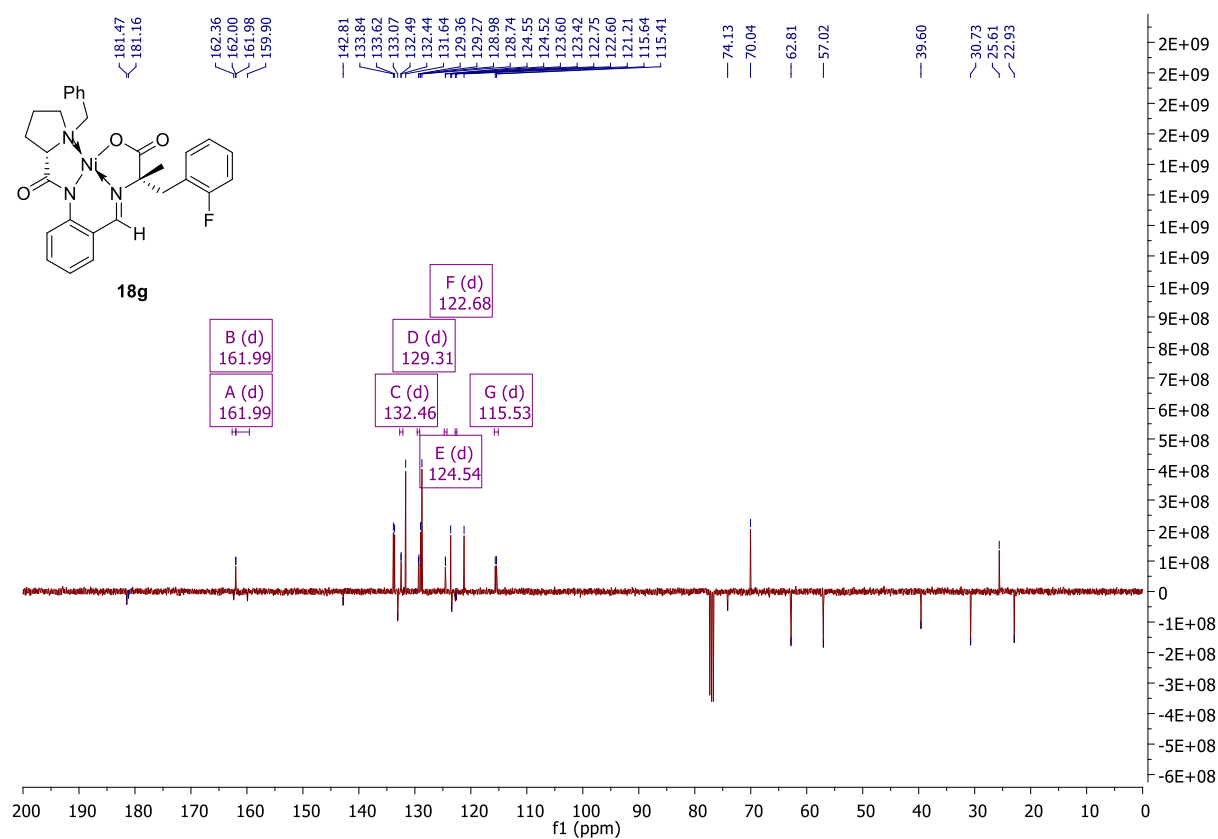
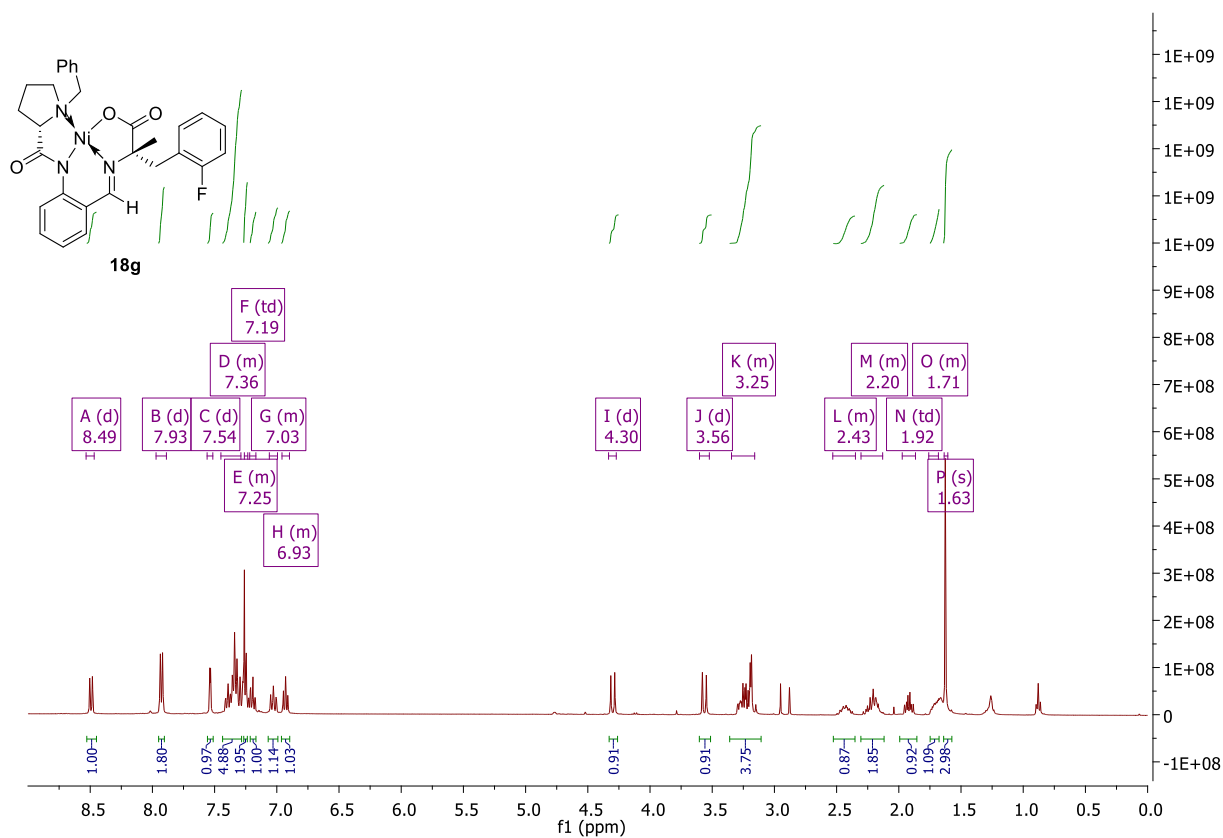


**(S,S)-Ni-BPB-4-Bpin-Trp (3f)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)





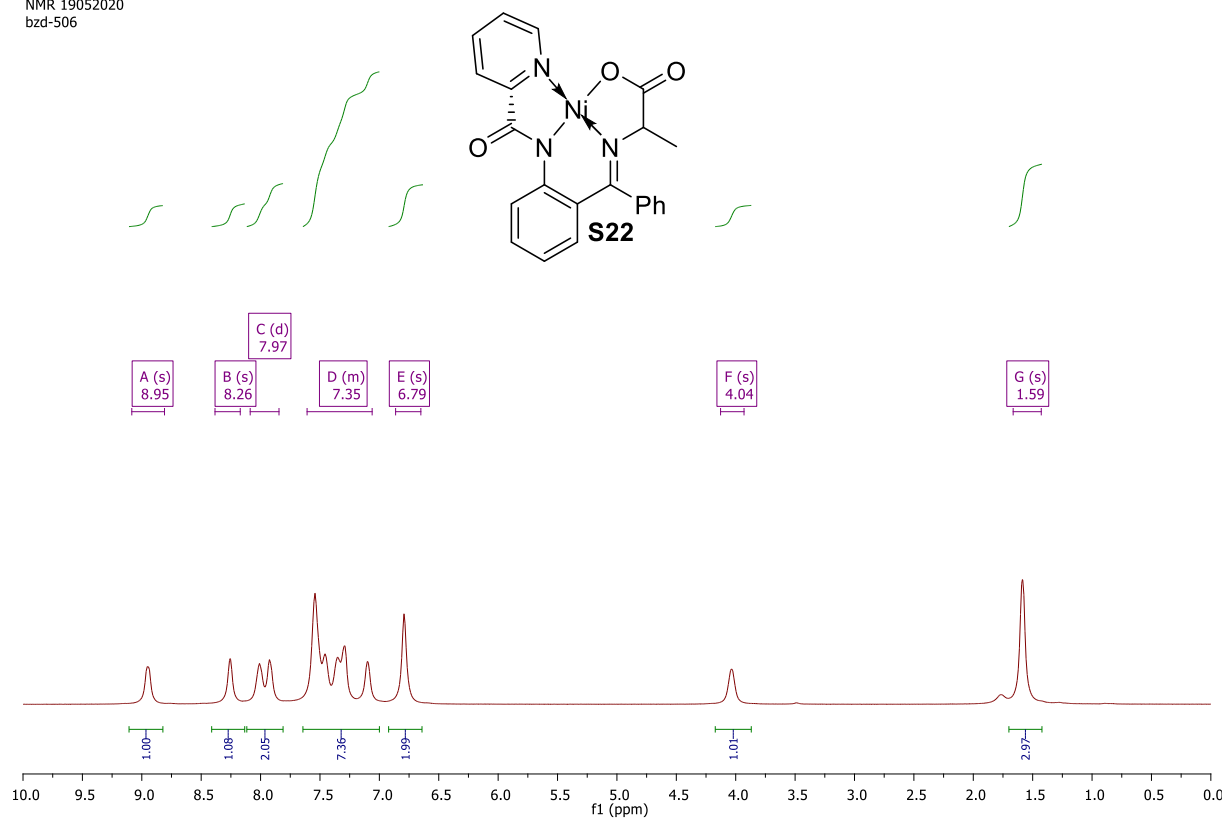
**$\alpha$ -Methyl-2-FPhe reference compound (18g)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz),  
<sup>19</sup>F NMR (376 MHz)



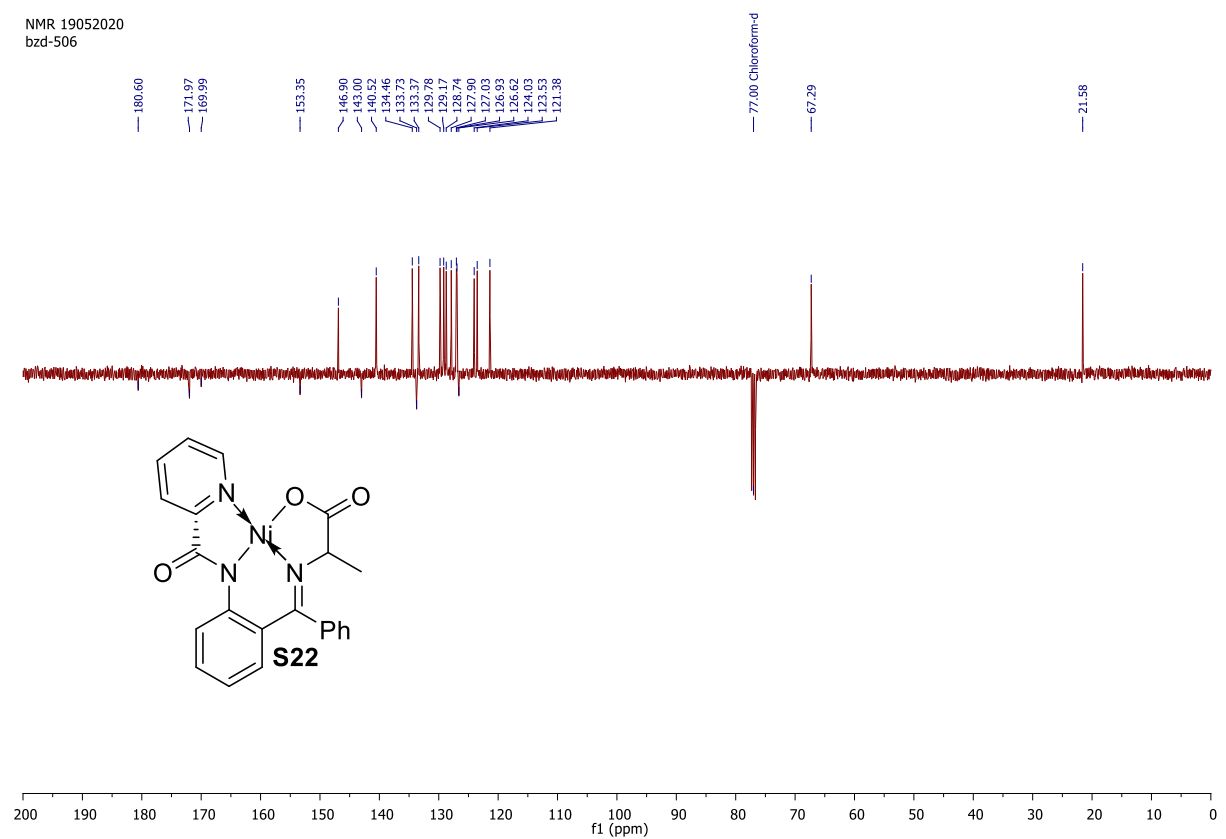


# Ni-PBP-(*RS*)-Ala (S22) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz) <sup>13</sup>C NMR (101 MHz)

NMR 19052020  
bzd-506



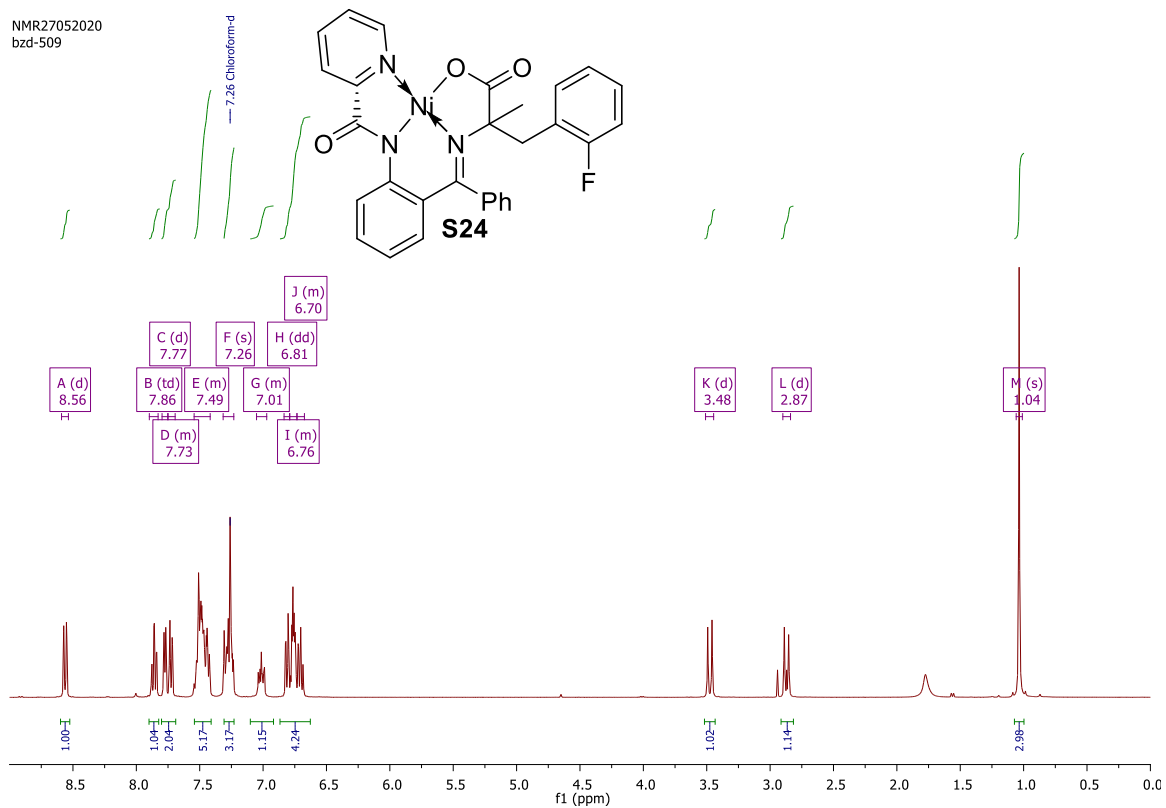
NMR 19052020  
bzd-506



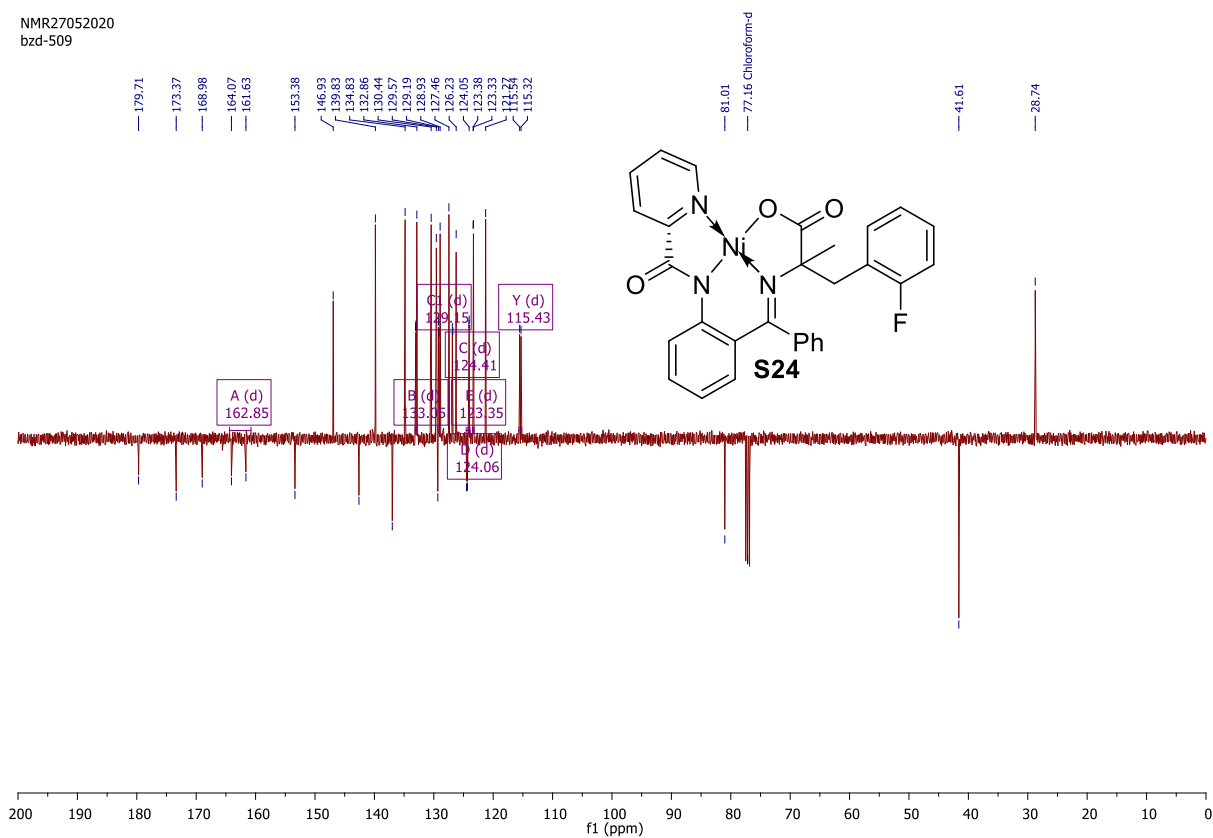


**Ni-PBP- $\alpha$ Me-2-FPhe (S24)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

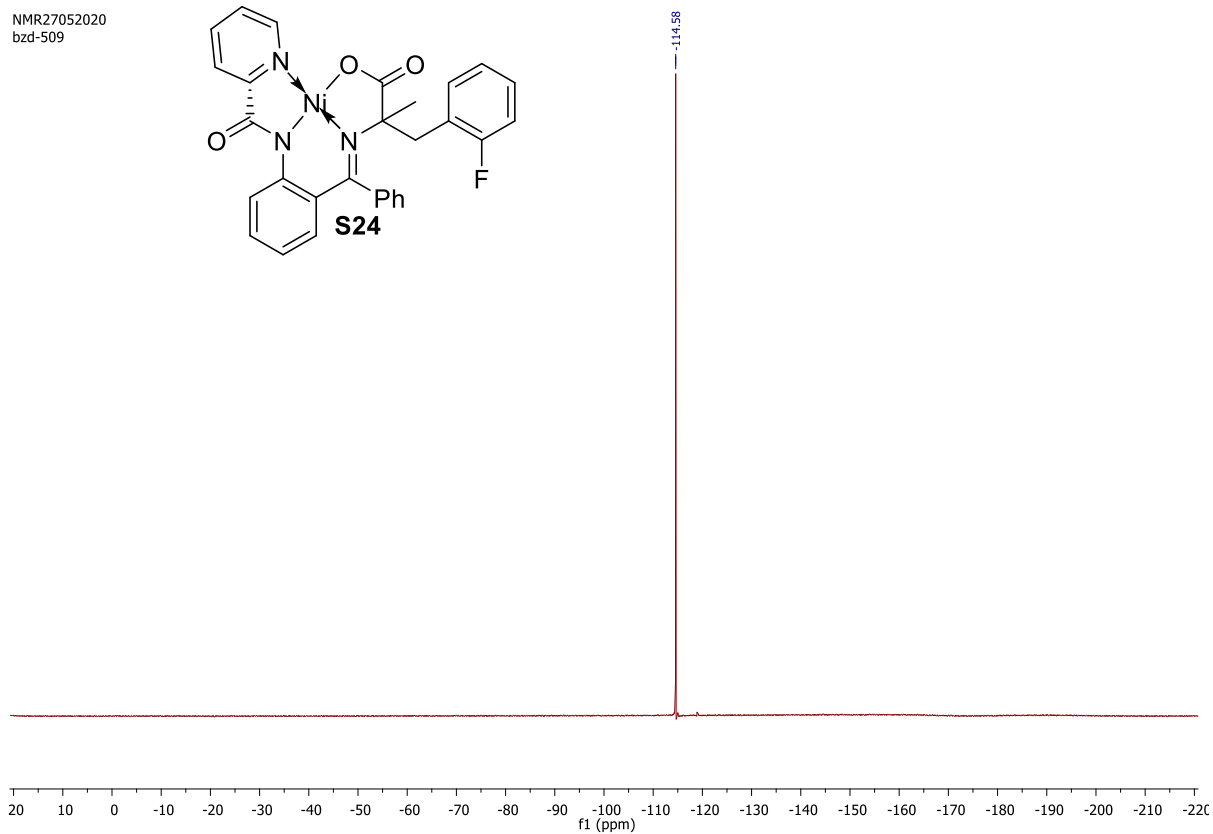
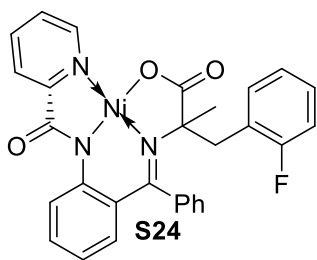
NMR27052020  
bzd-509



NMR27052020  
bzd-509

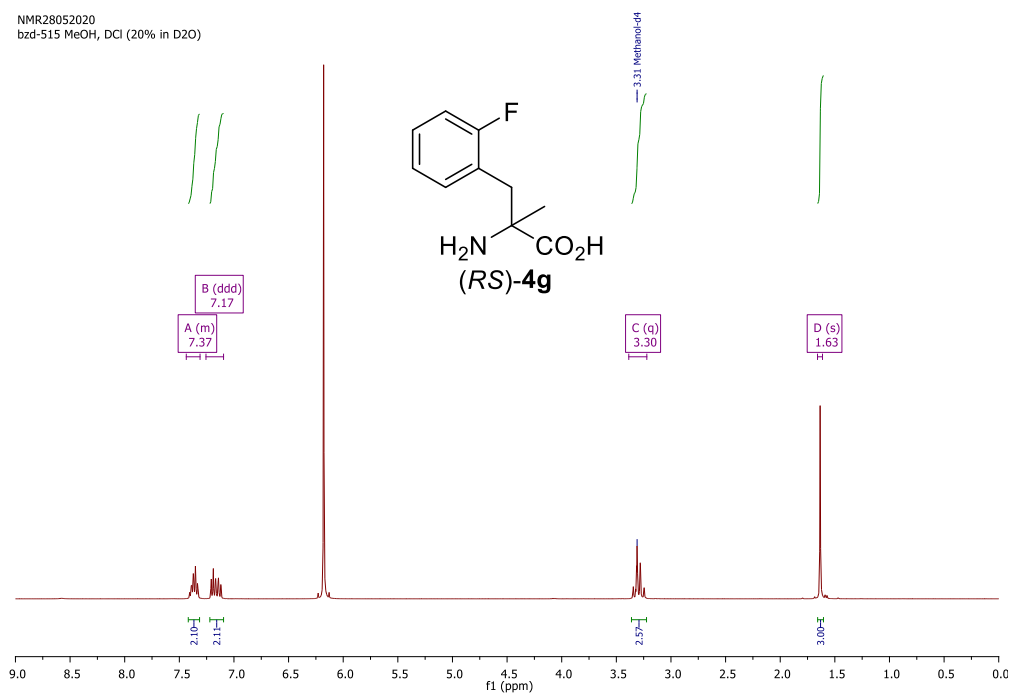


NMR27052020  
bzd-509

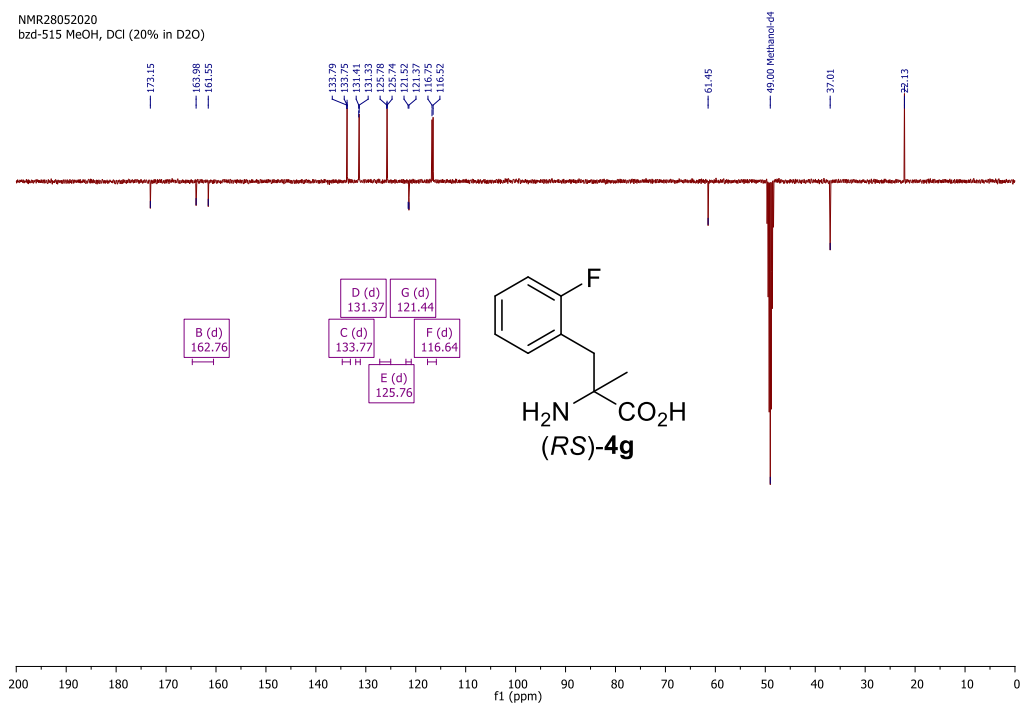


**(*RS*)- $\alpha$ -Methyl-2-fluorophenylalanine [(*RS*)-4g]** (CD<sub>3</sub>OD + 20% DCI) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

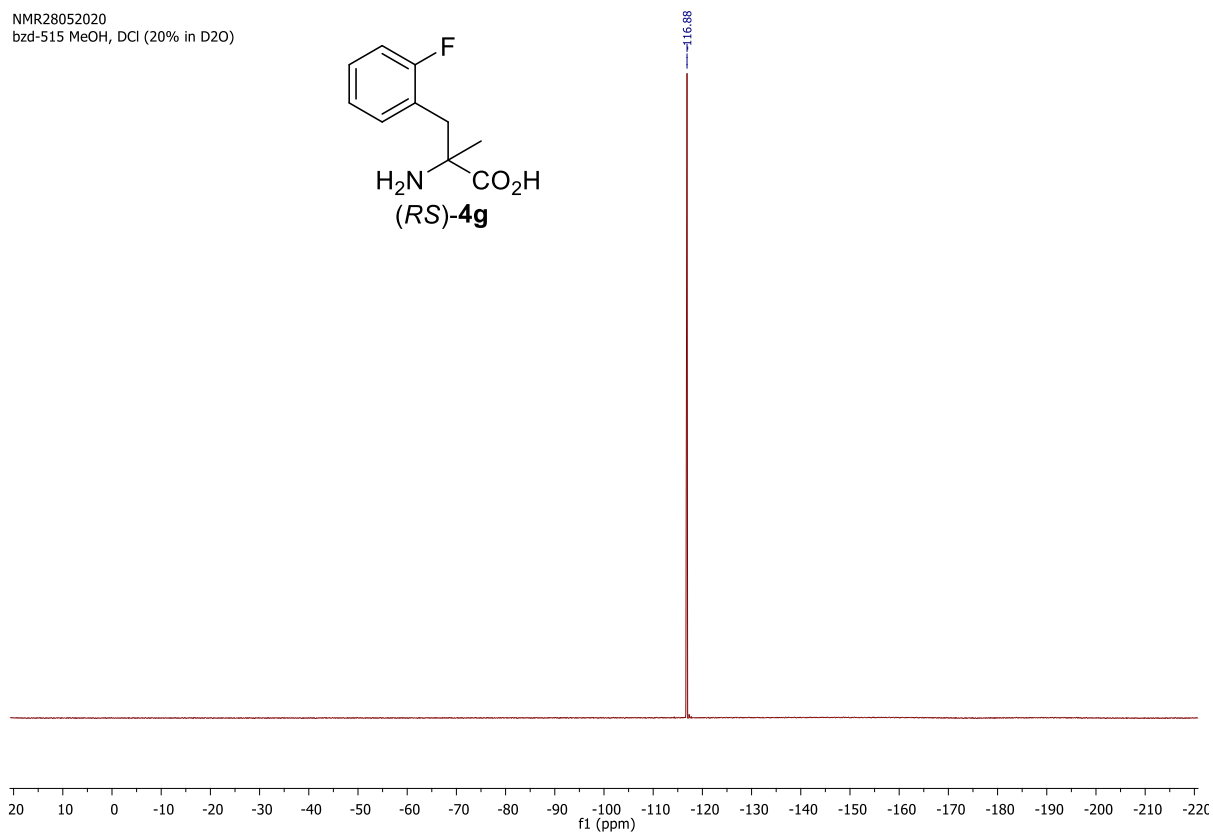
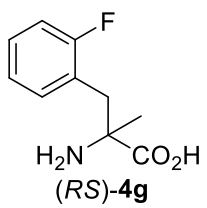
NMR28052020  
bzd-515 MeOH, DCI (20% in D2O)



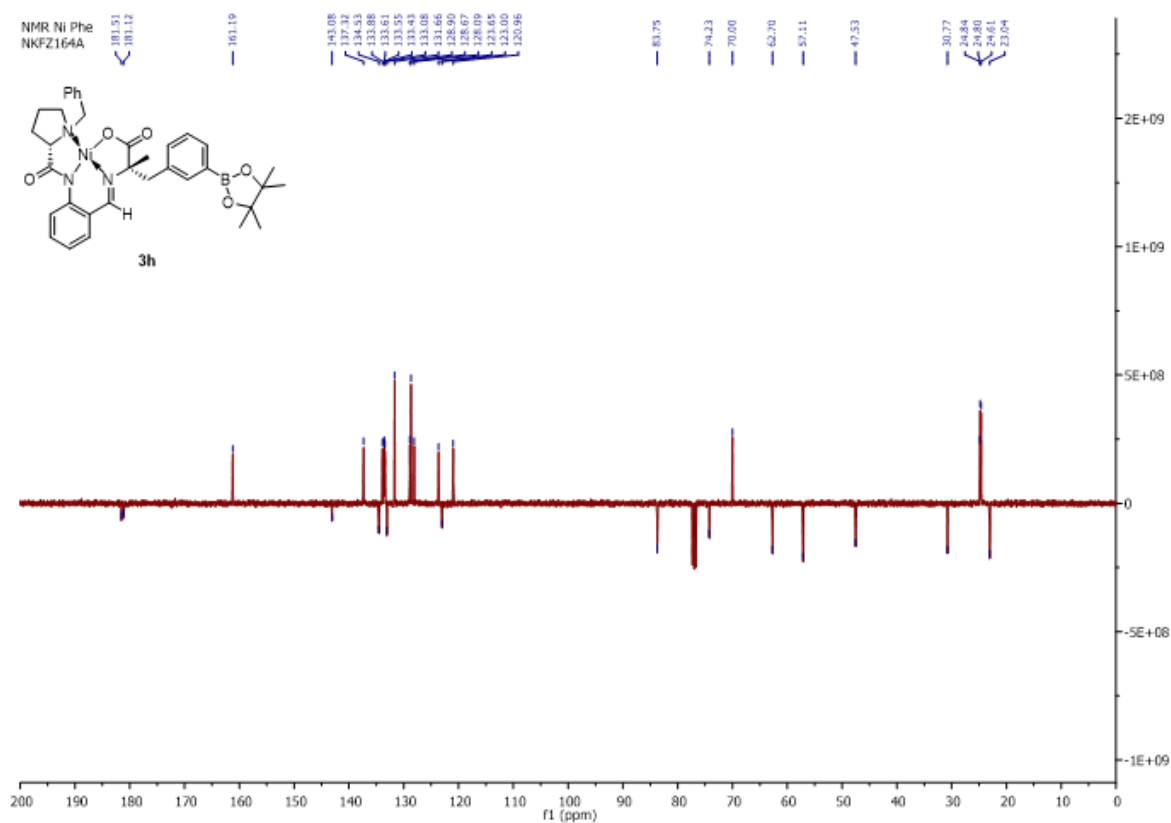
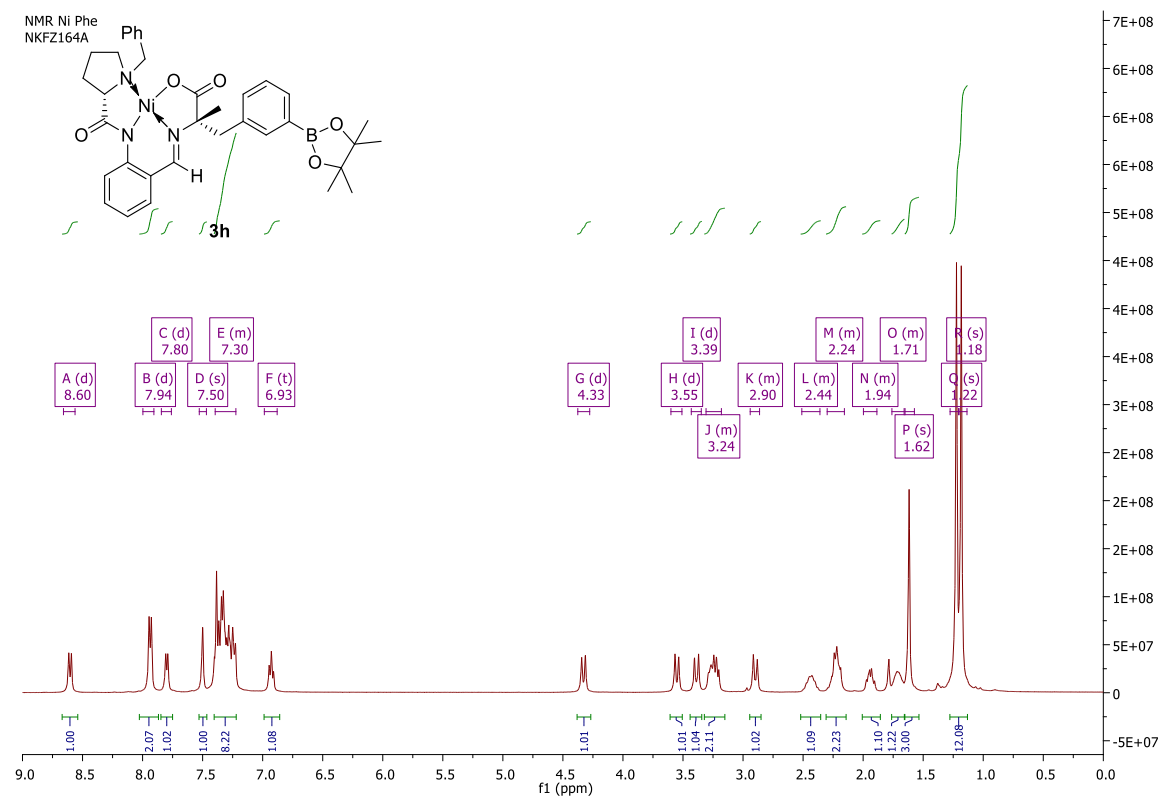
NMR28052020  
bzd-515 MeOH, DCI (20% in D2O)



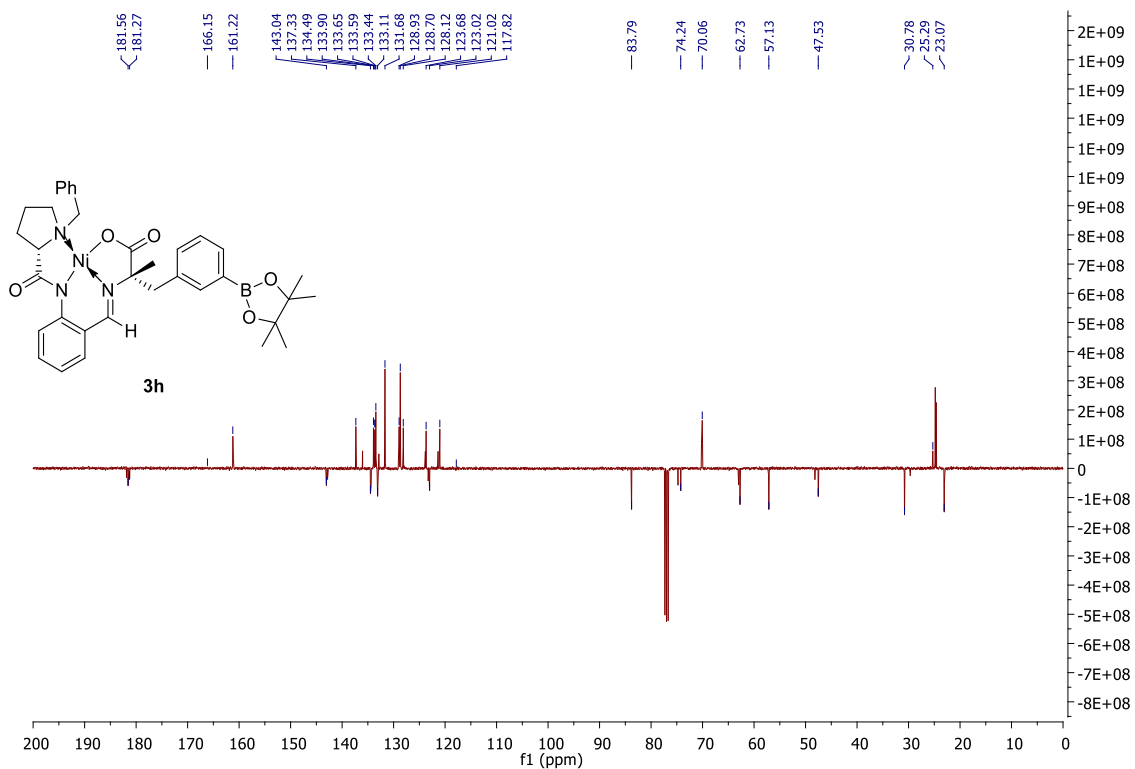
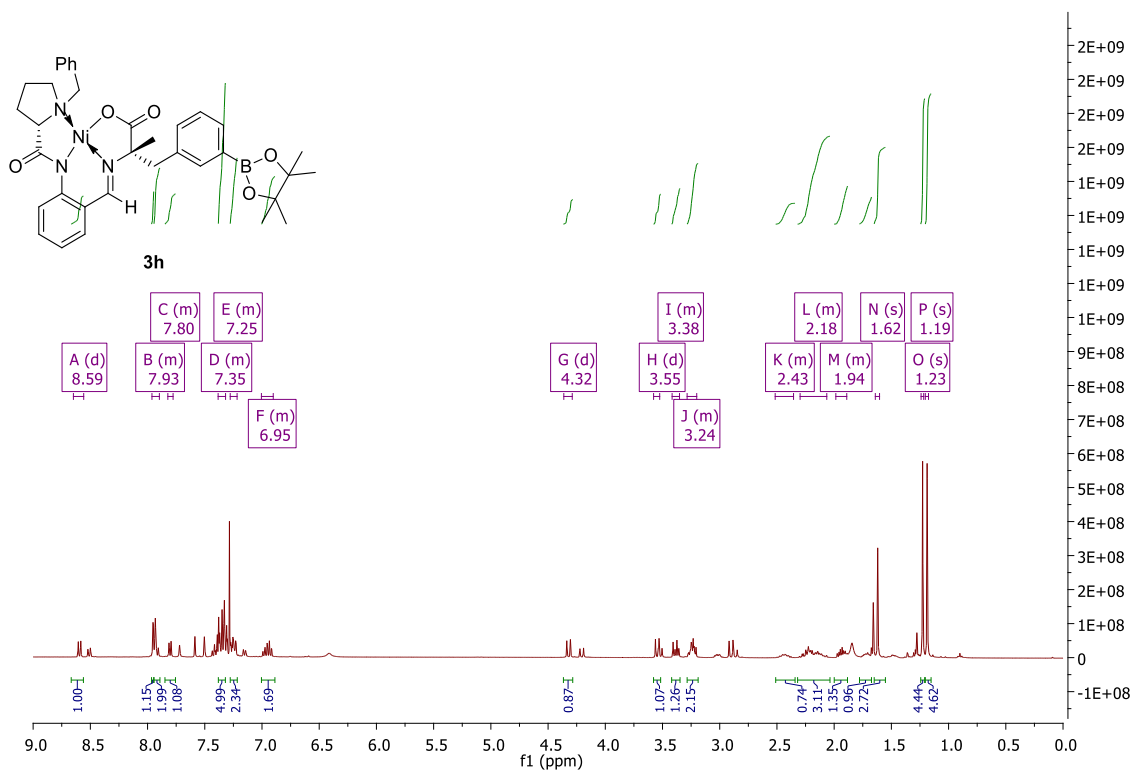
NMR28052020  
bzd-515 MeOH, DCI (20% in D2O)



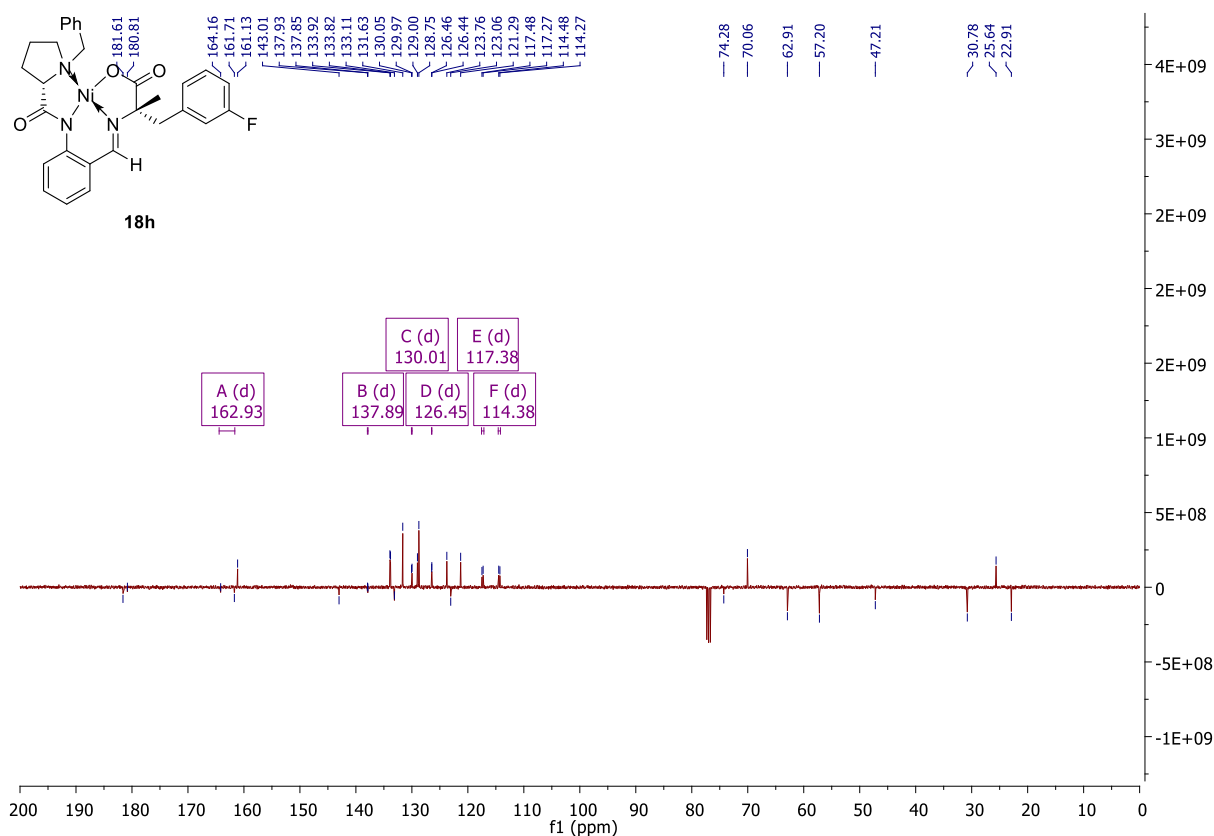
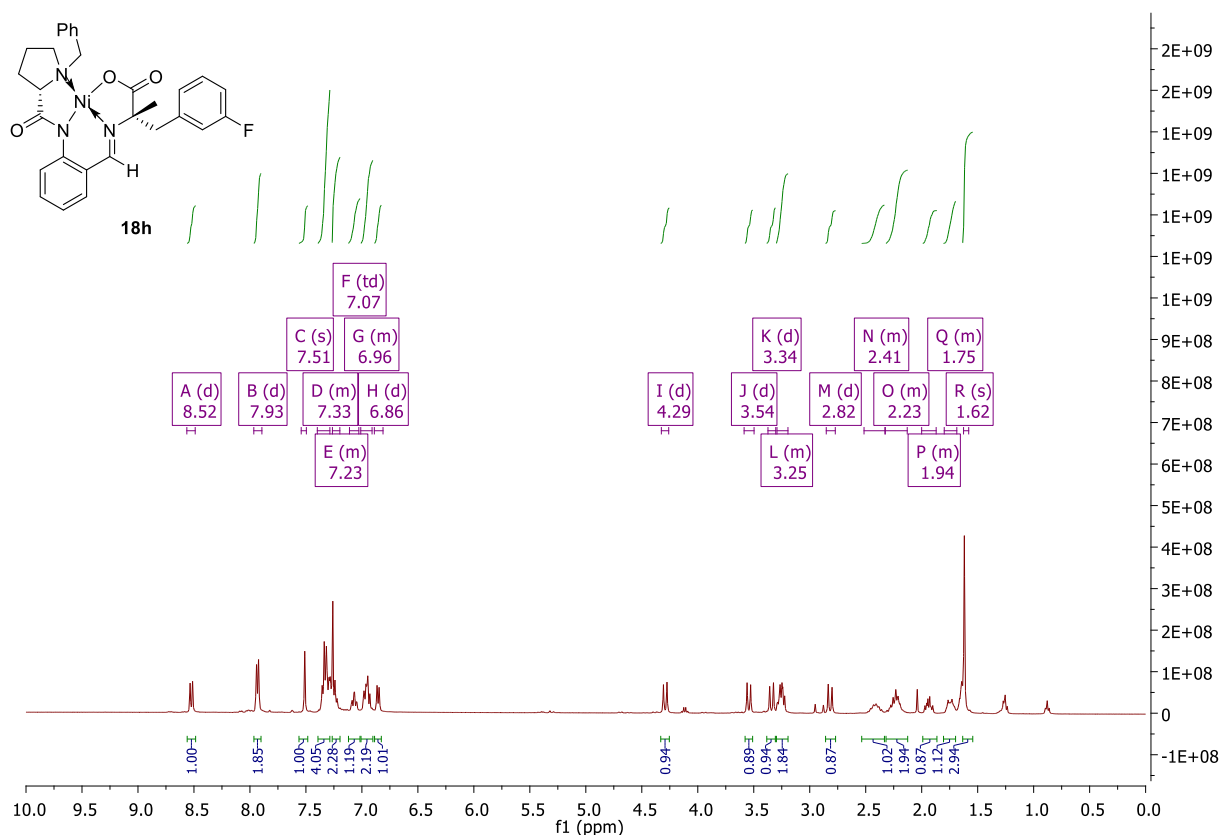
**$\alpha$ -Methyl-3-[ $^{18}\text{F}$ ]FpHe Precursor (3h)** ( $\text{CDCl}_3$ )  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz)  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz) (before RP chromatography)



**$\alpha$ -Methyl-3-[ $^{18}\text{F}$ ]FpHe Precursor (3h) ( $\text{CDCl}_3$ )  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz)  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz) (after RP chromatography)**



**$\alpha$ -Methyl-3-FPhe reference compound (18h)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

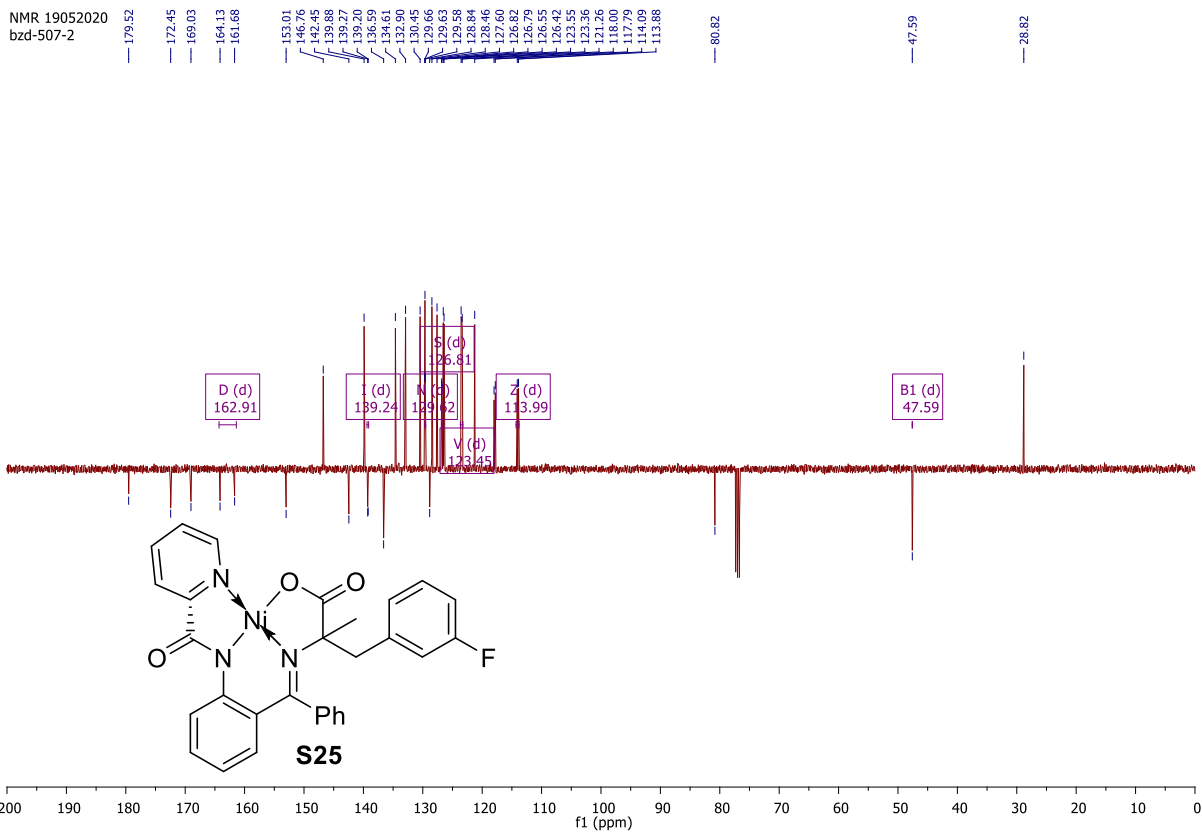
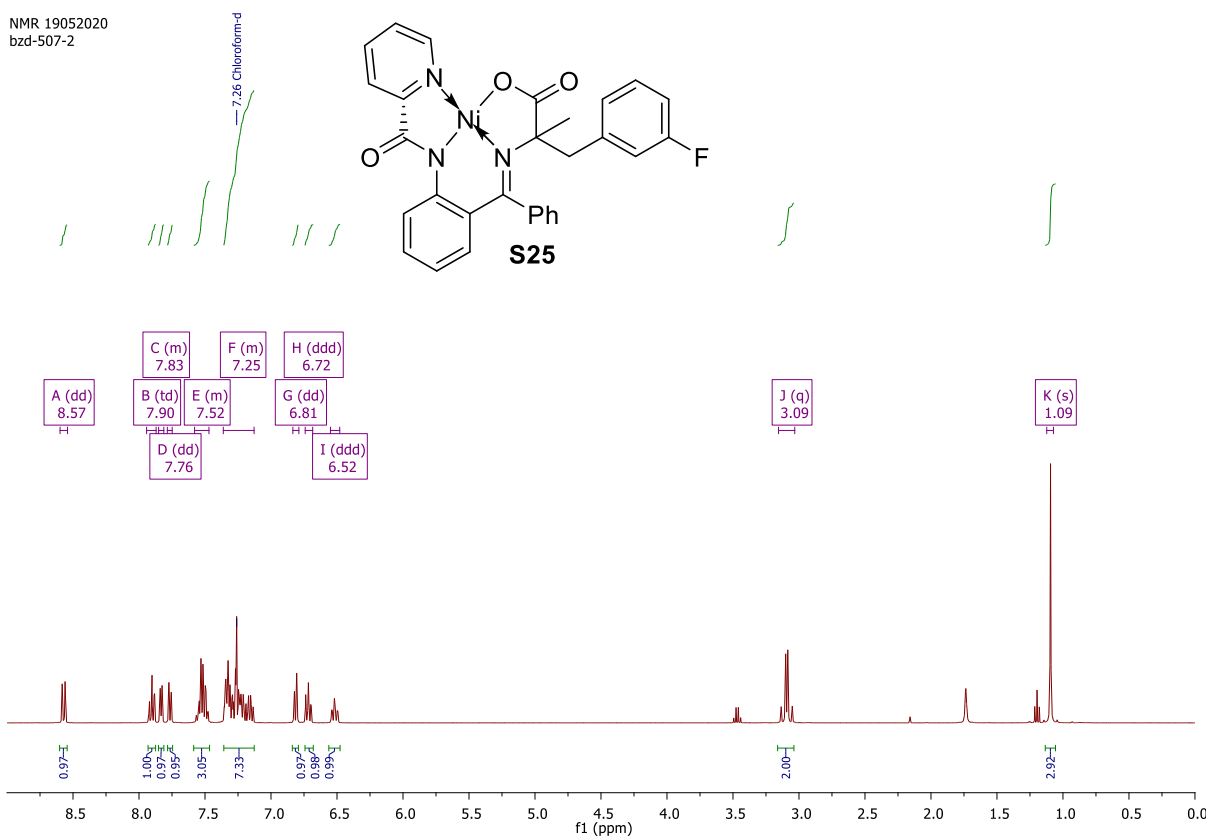




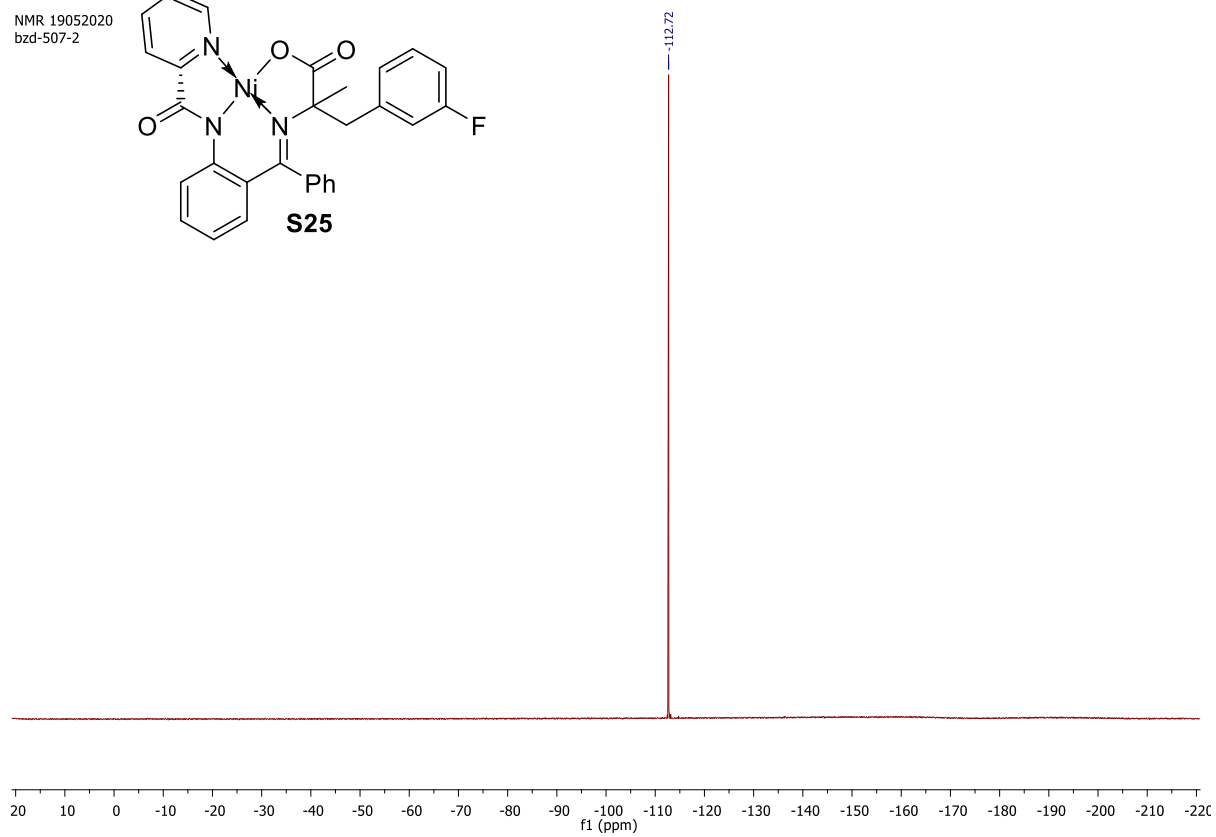
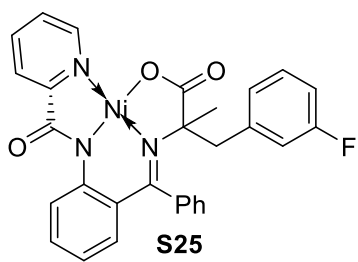


**Ni-PBP- $\alpha$ Me-3-FPhe (S25)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

NMR 19052020  
bzd-507-2

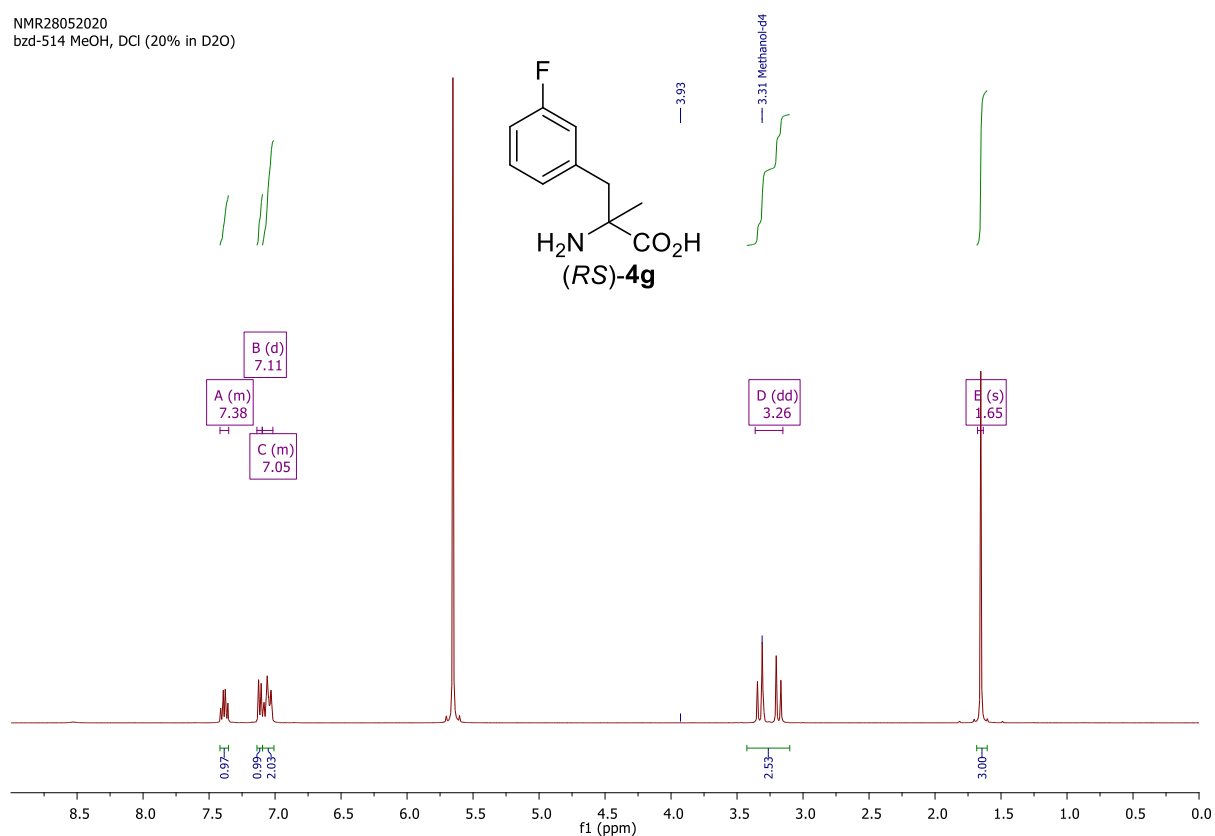


NMR 19052020  
bzd-507-2

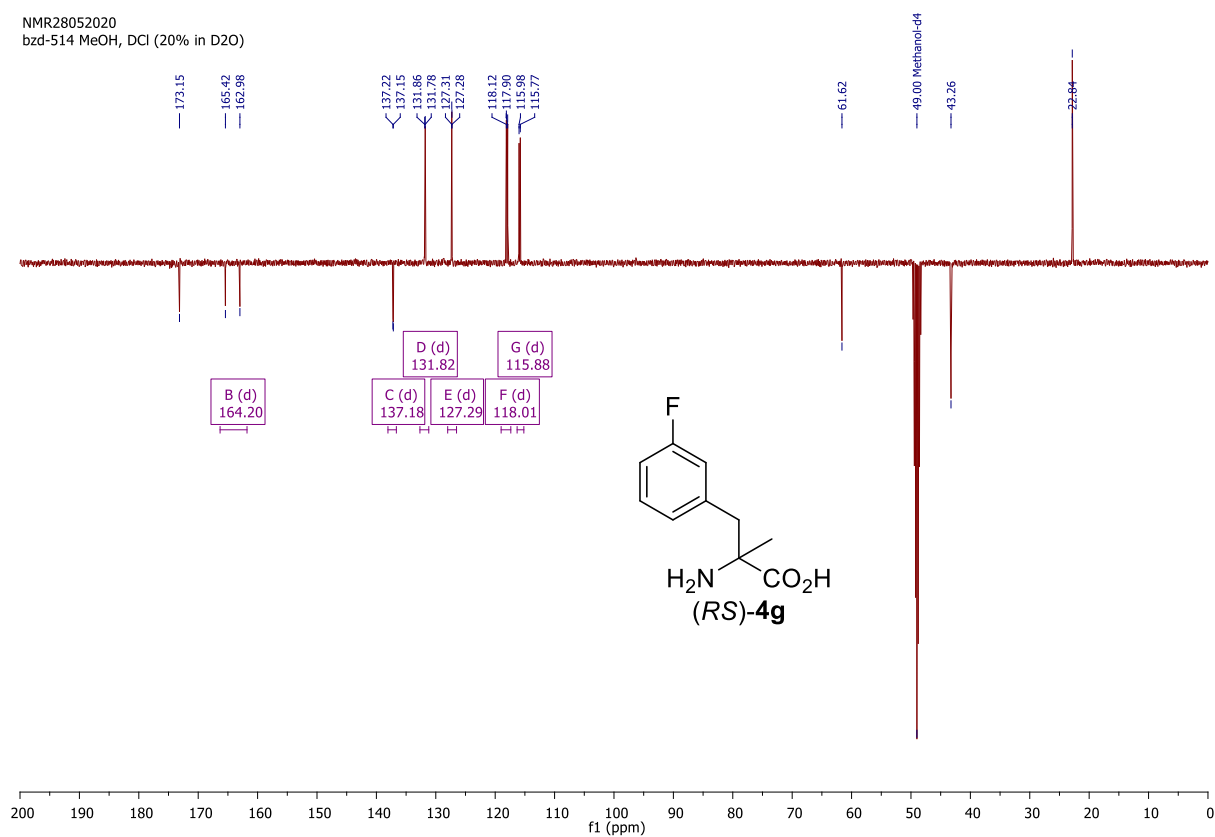


**(*RS*)- $\alpha$ -Methyl-3-fluorophenylalanine [(*RS*)-4h]** (CD<sub>3</sub>OD + 20% DCI) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

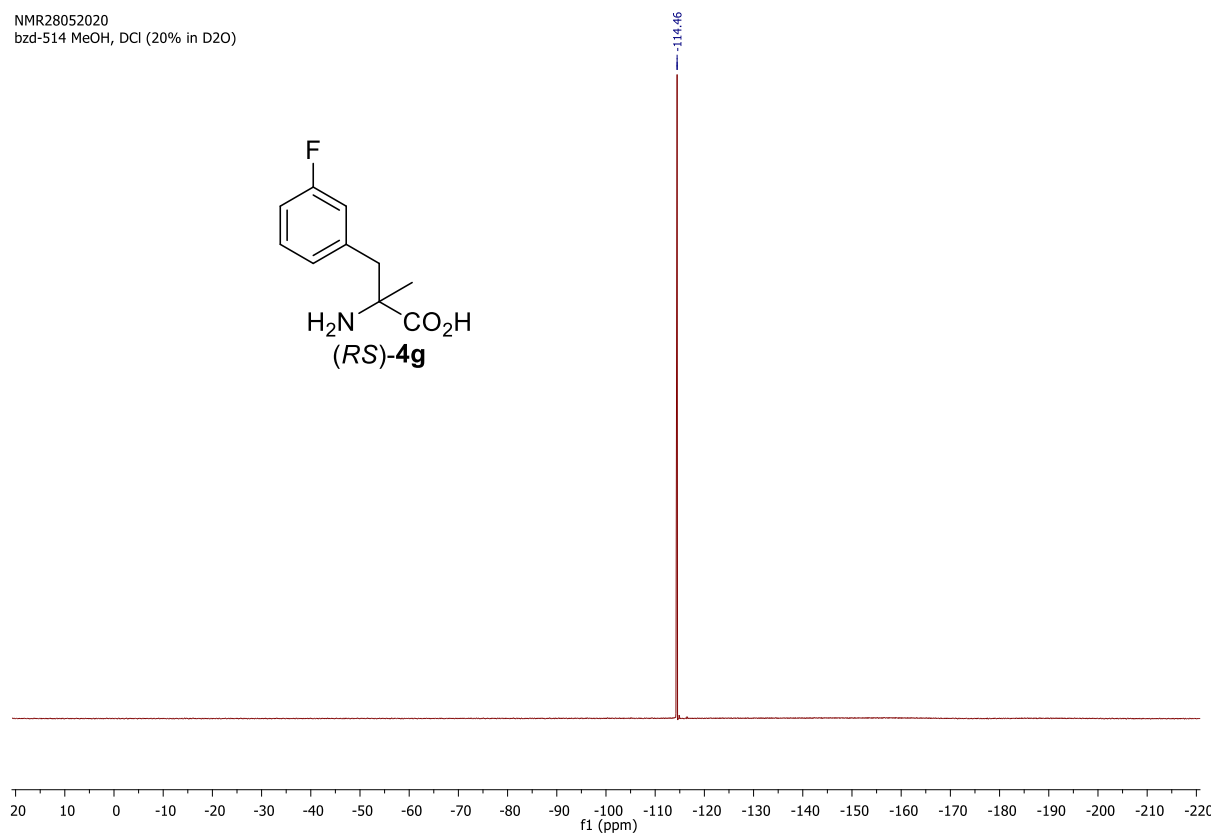
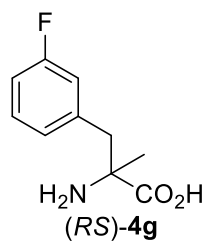
NMR28052020  
bzd-514 MeOH, DCI (20% in D2O)



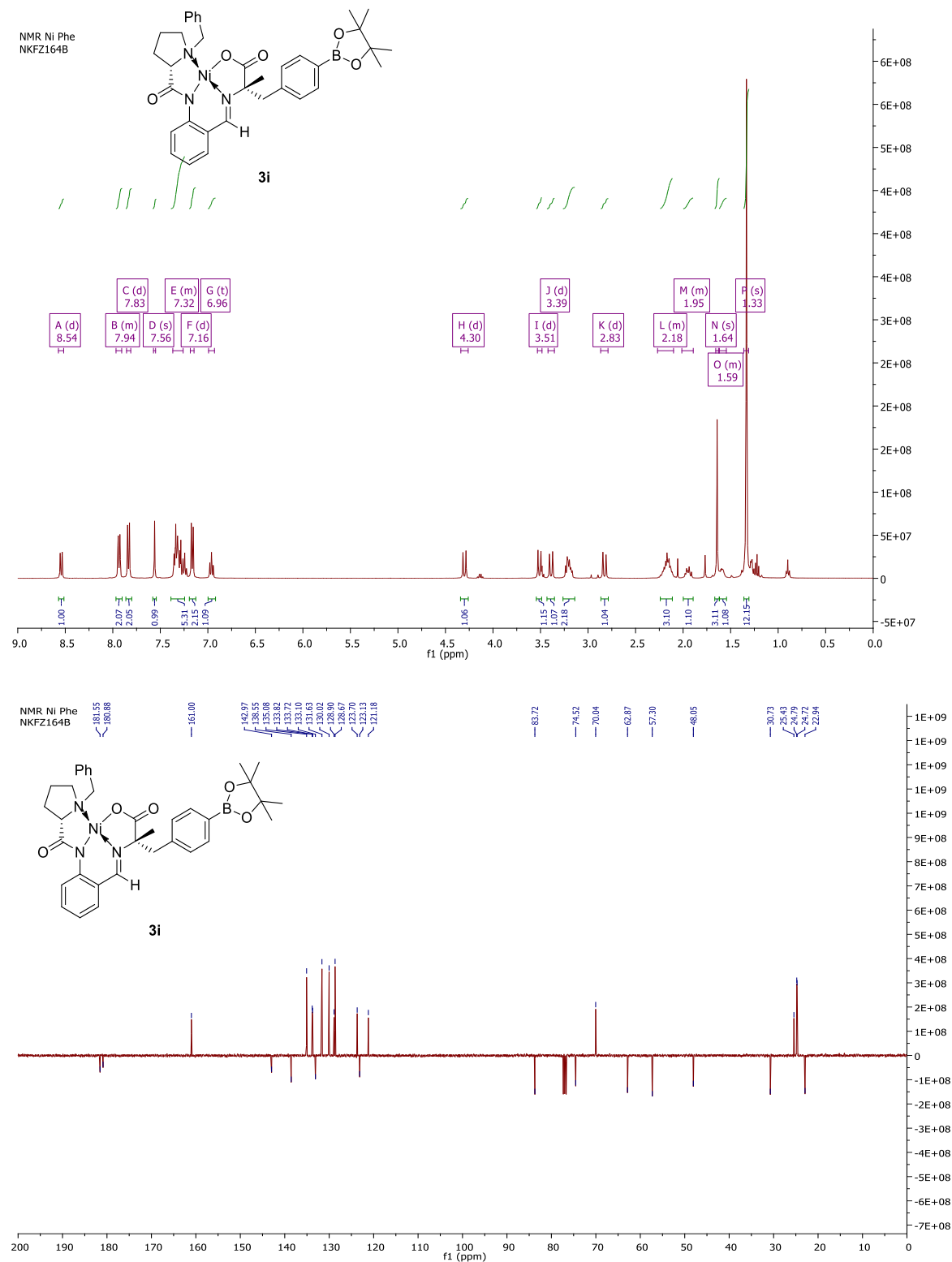
NMR28052020  
bzd-514 MeOH, DCI (20% in D2O)



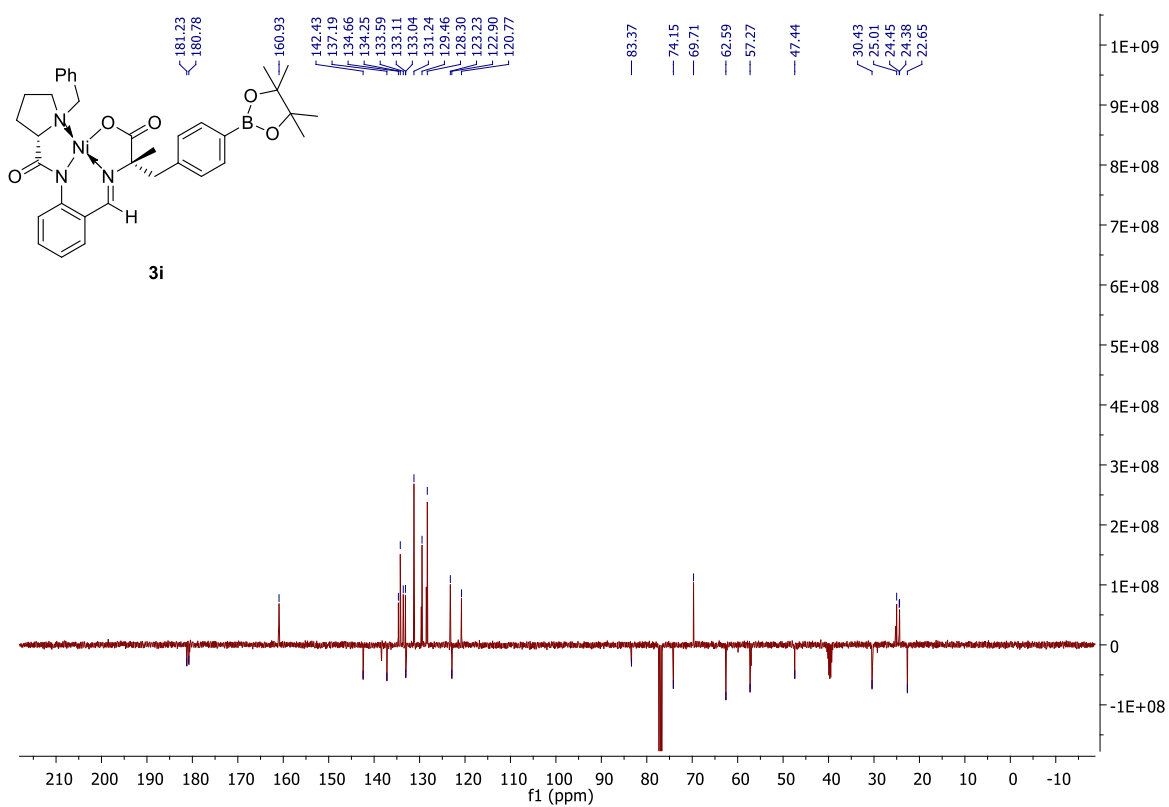
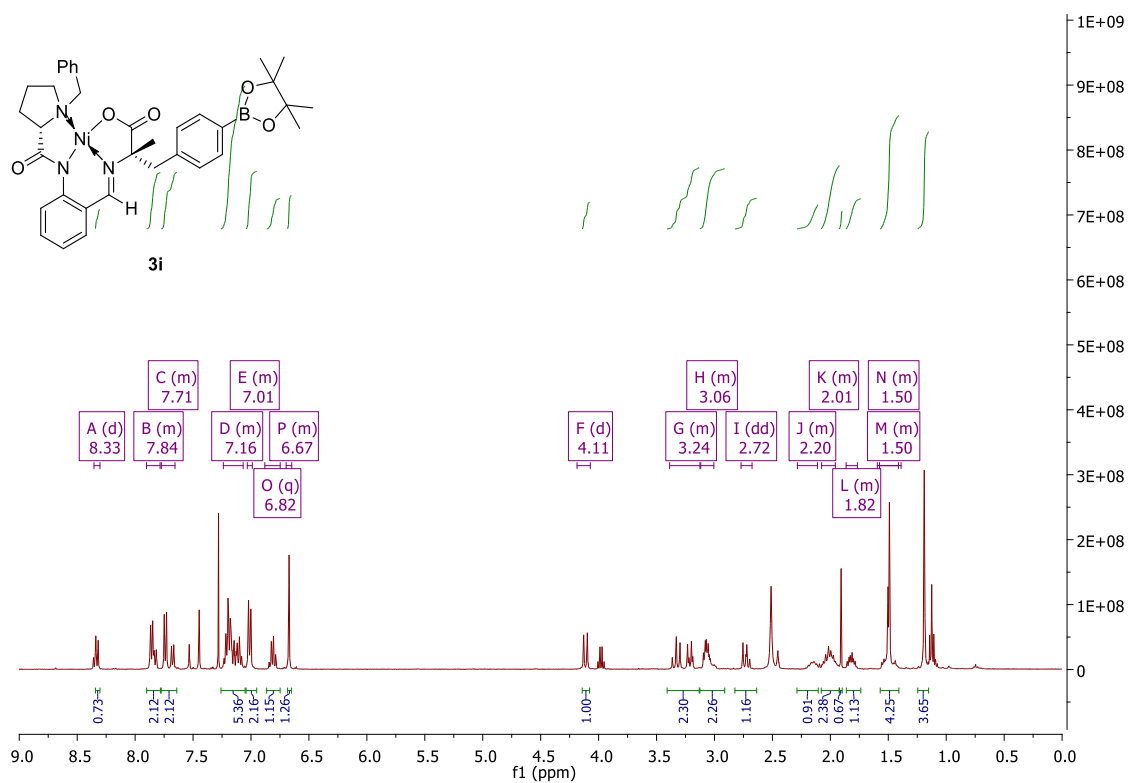
NMR28052020  
bzd-514 MeOH, DCI (20% in D2O)



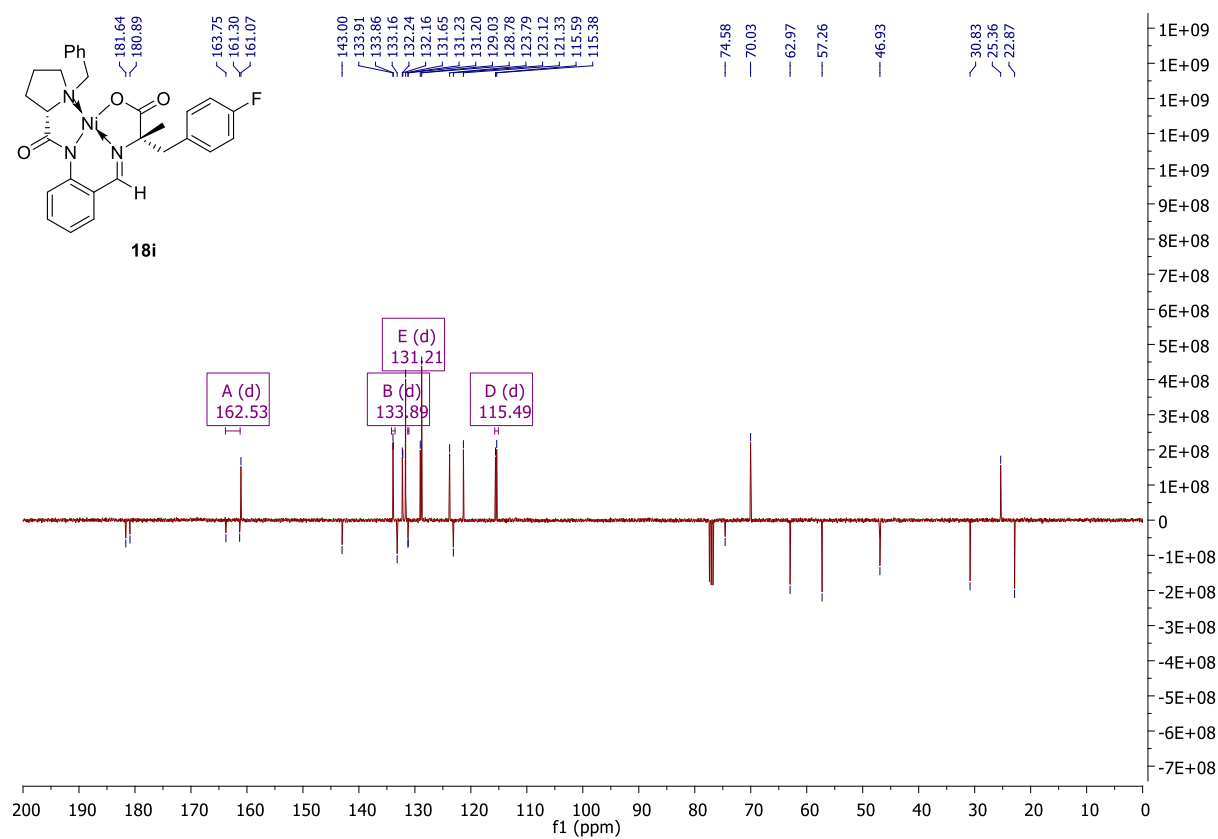
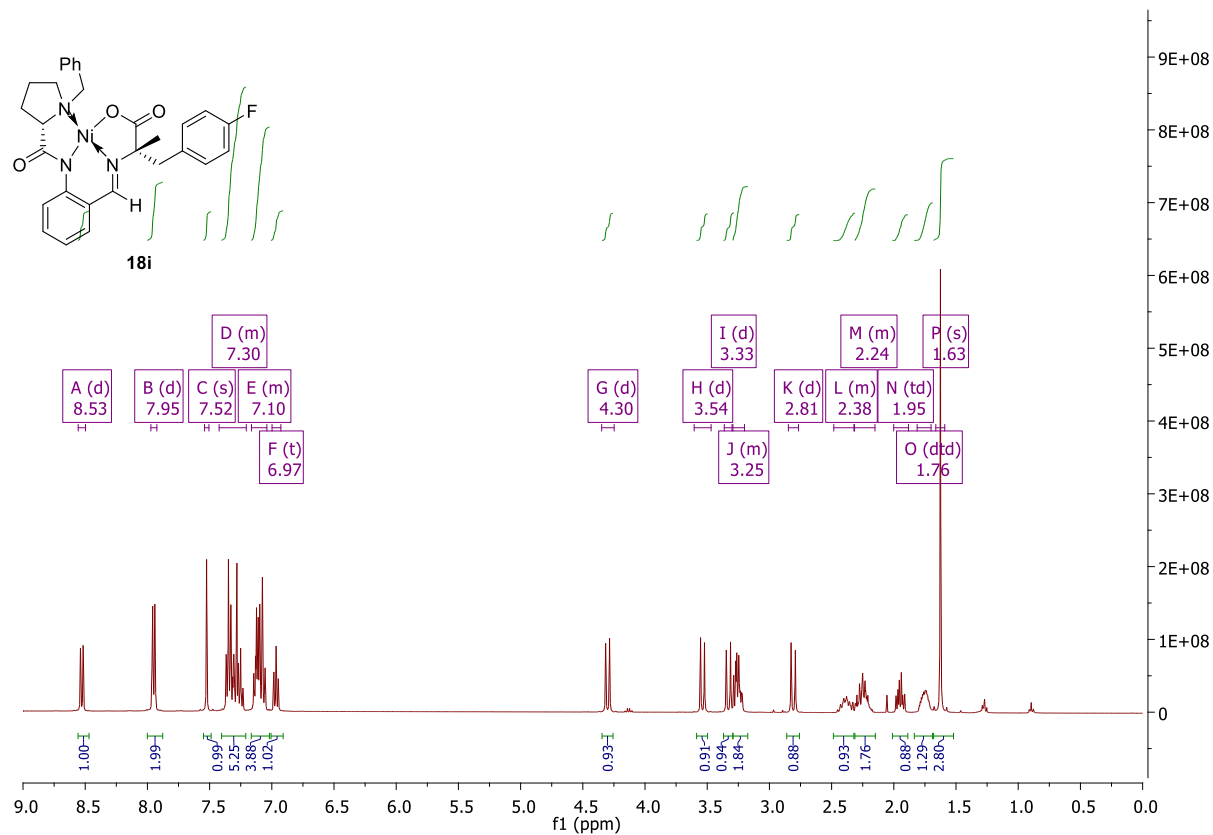
**$\alpha$ -Methyl-4-[ $^{18}\text{F}$ ]Phe Precursor (3i)** ( $\text{CDCl}_3$ )  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz)  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz) (before RP chromatography)

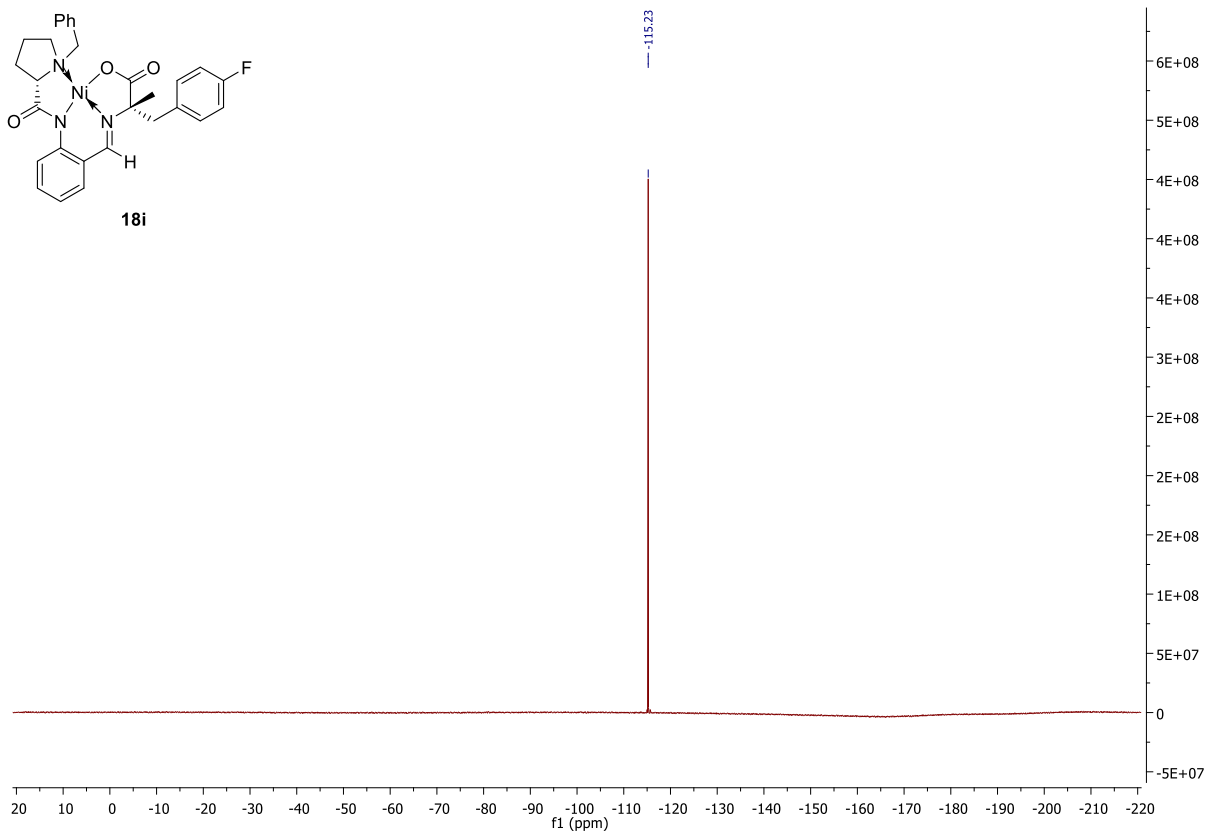
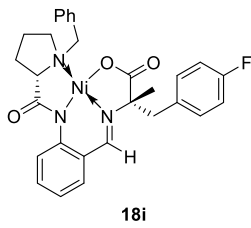


**$\alpha$ -Methyl-4-[ $^{18}\text{F}$ ]FpHe Precursor (**3i**)** ( $\text{CDCl}_3$ )  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz)  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz) (after RP chromatography)



**$\alpha$ -Methyl-4-FPhe reference compound (18i)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

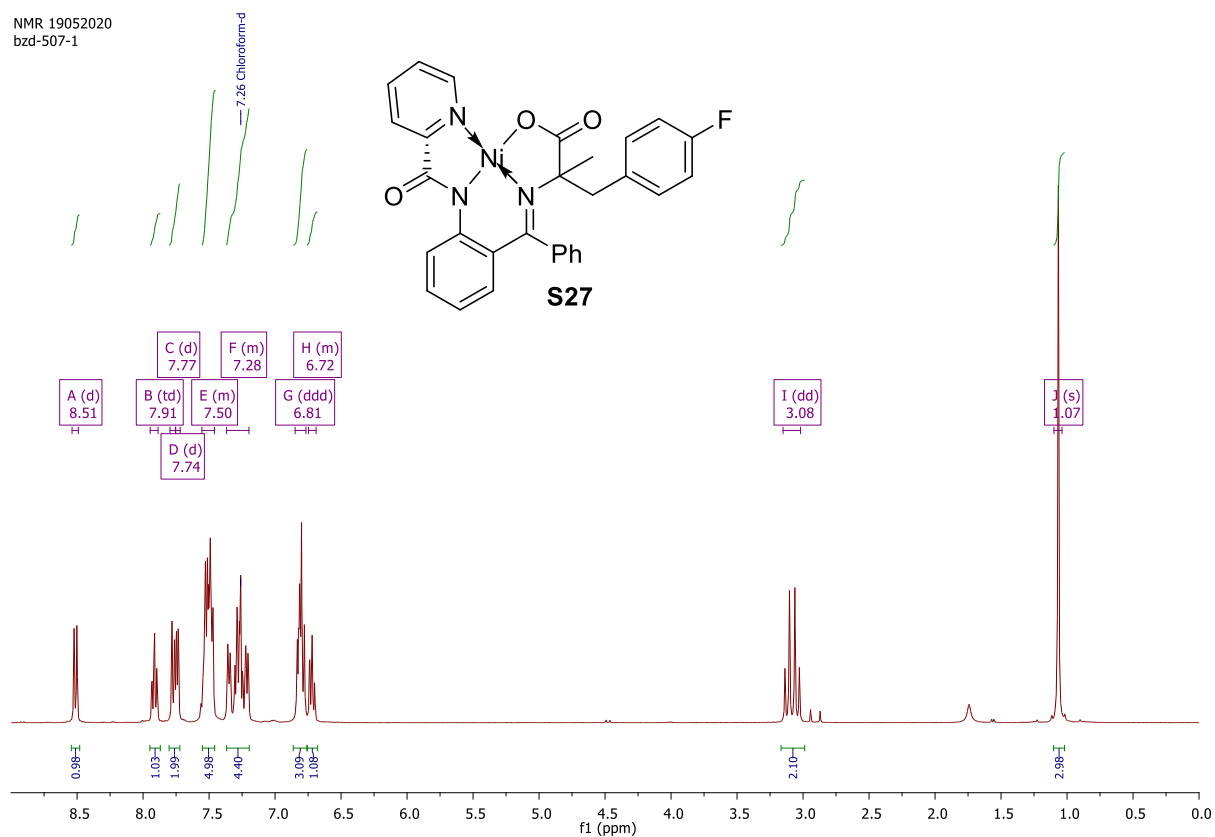




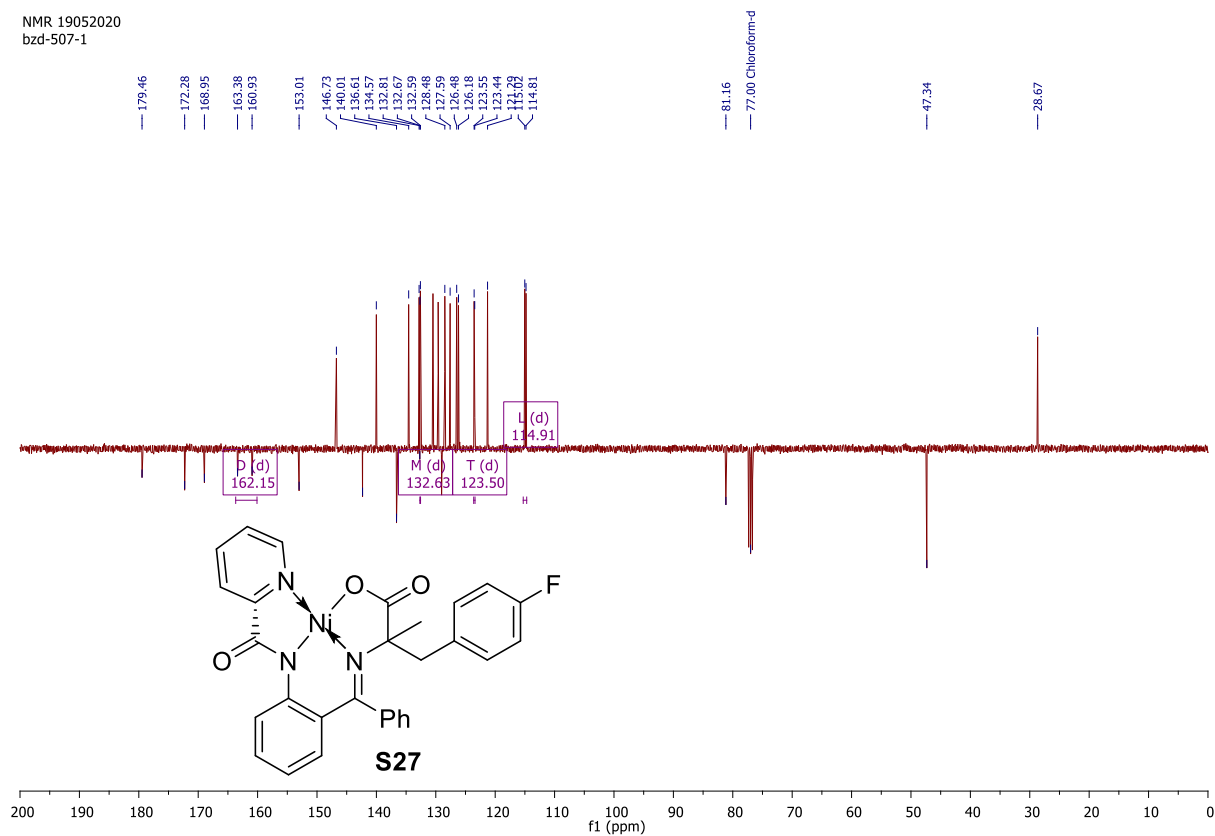


**Ni-PBP- $\alpha$ Me-4-FPhe (S27)** (CDCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

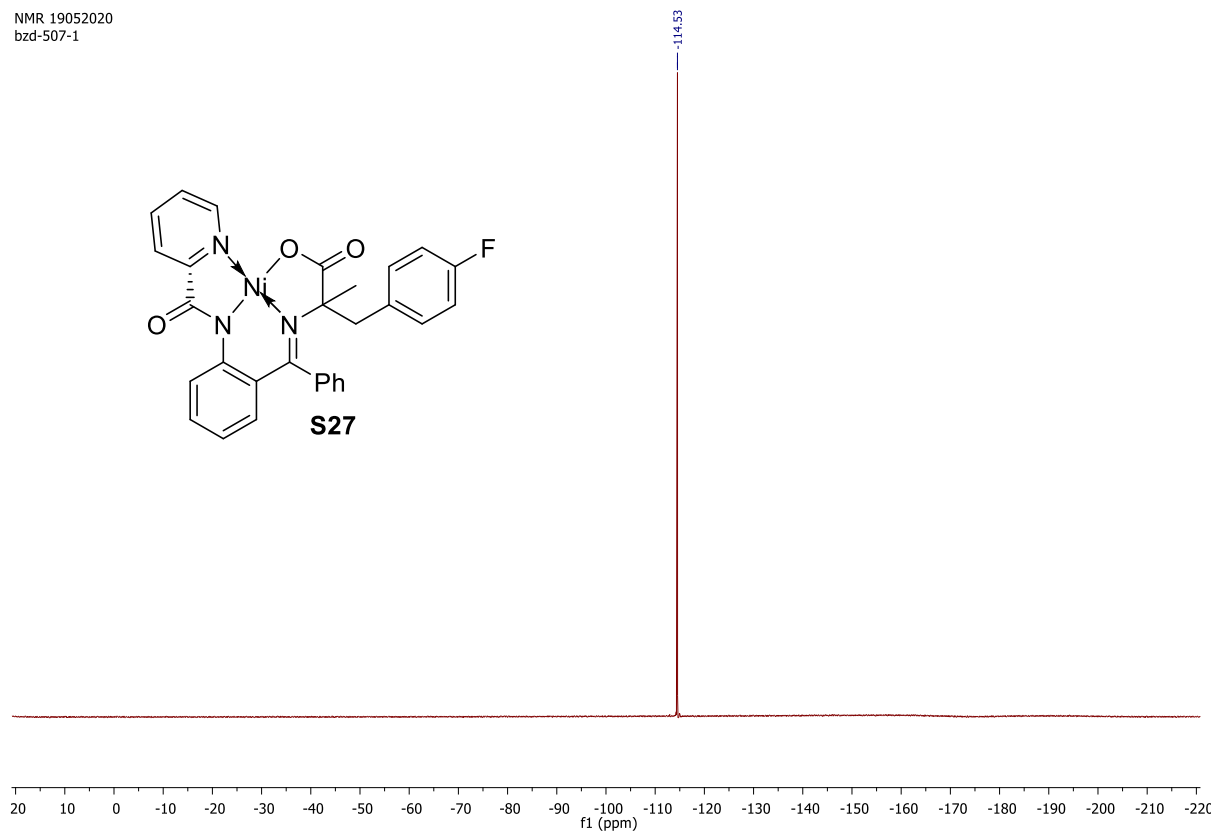
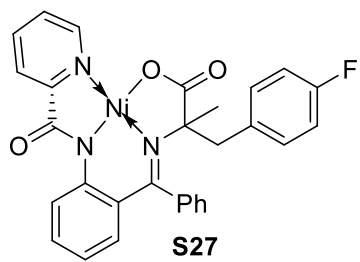
NMR 19052020  
bzd-507-1



NMR 19052020  
bzd-507-1

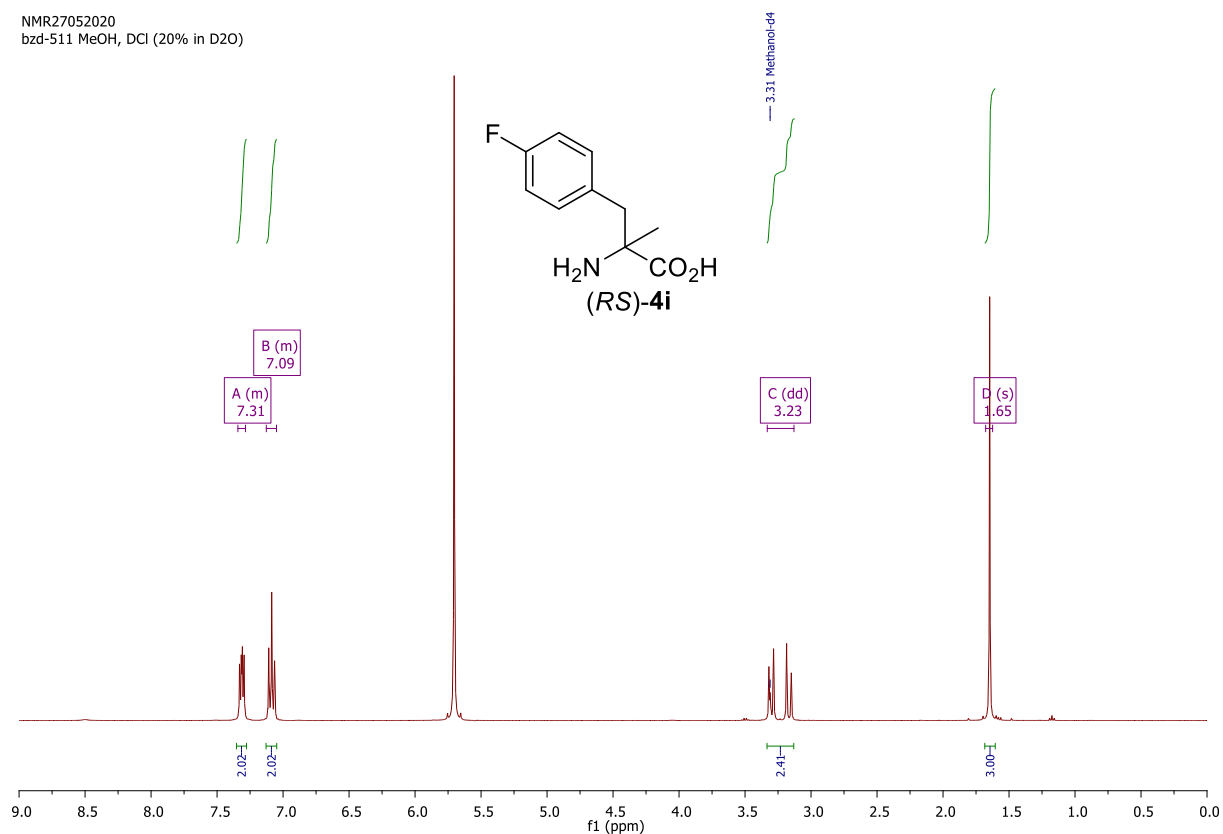


NMR 19052020  
bzd-507-1

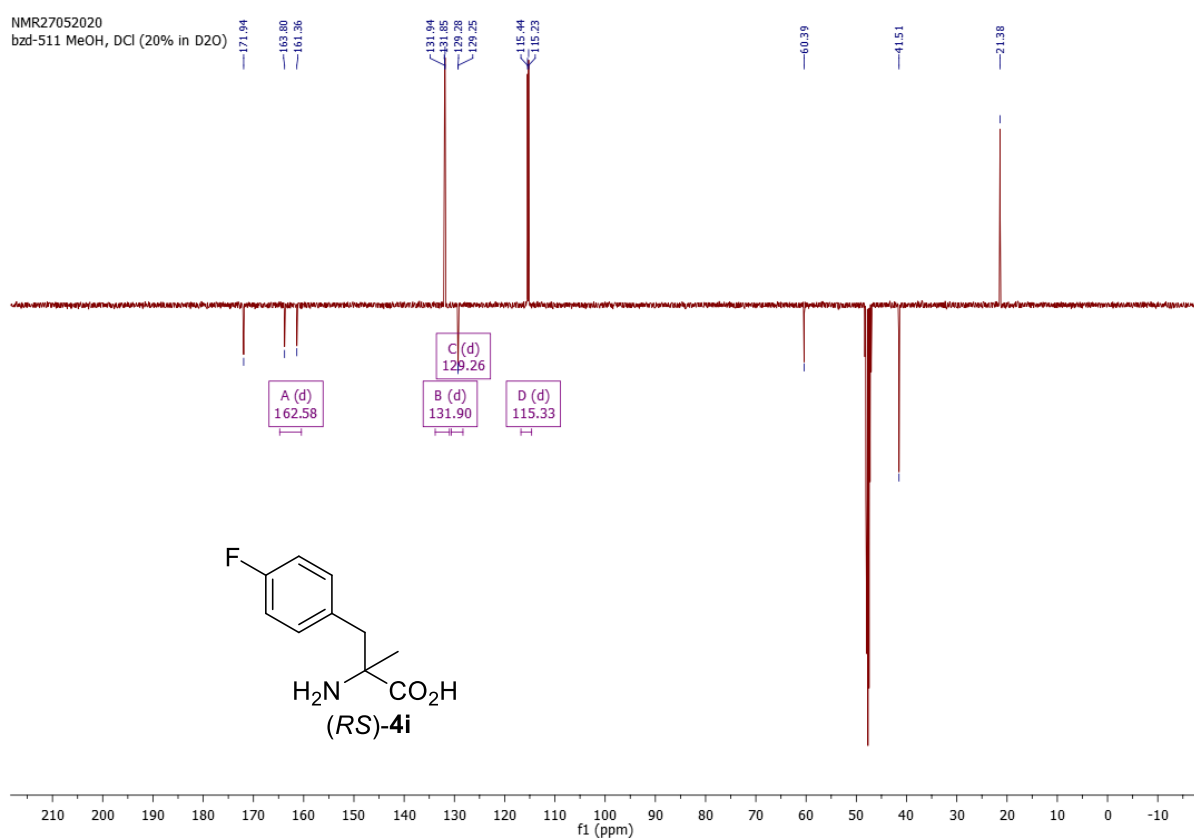


**(*RS*)- $\alpha$ -Methyl-4-fluorophenylalanine [(*RS*)-4i]** (CD<sub>3</sub>OD + 20% DCl) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz), <sup>13</sup>C NMR (101 MHz), <sup>19</sup>F NMR (376 MHz)

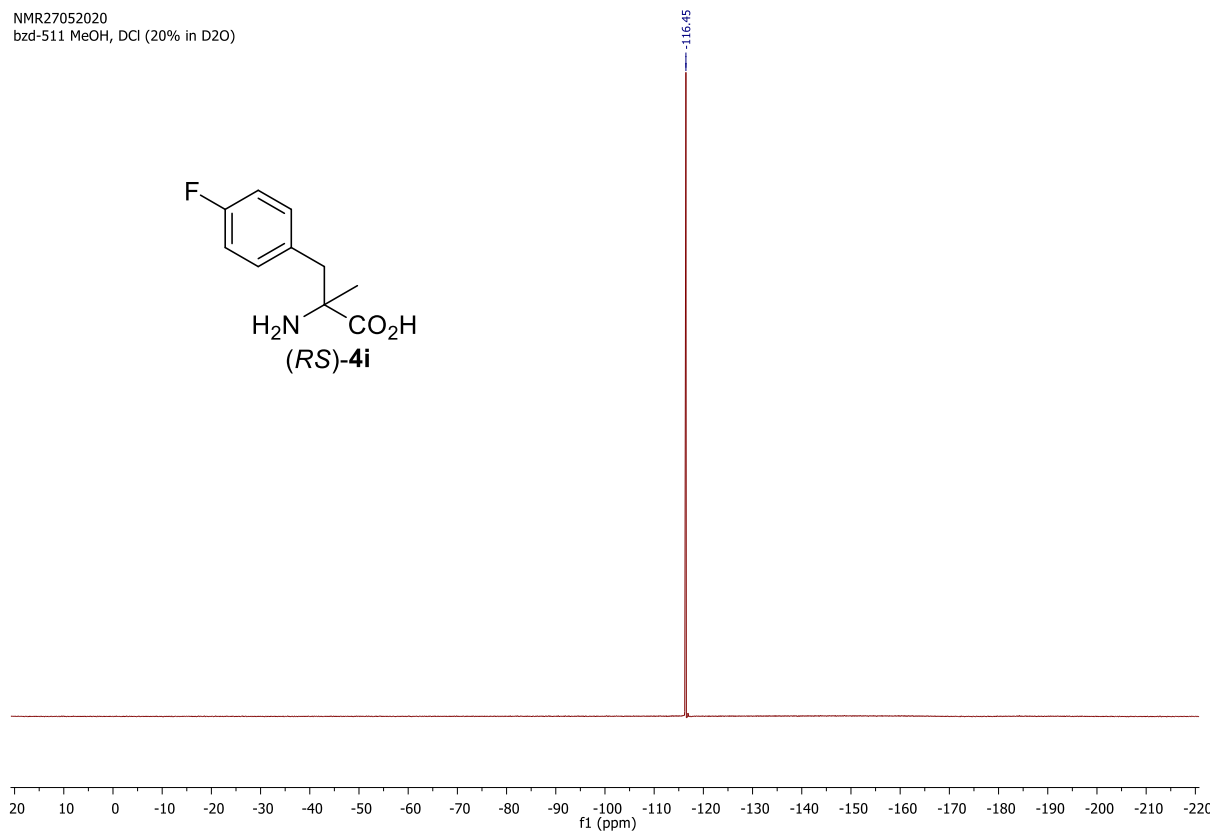
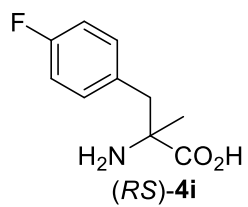
NMR27052020  
bzd-511 MeOH, DCl (20% in D2O)



NMR27052020  
bzd-511 MeOH, DCl (20% in D2O)



NMR27052020  
bzd-511 MeOH, DCI (20% in D2O)



## Radiochemistry

### General Information and Procedures

[<sup>18</sup>F]Fluoride was produced by bombardment of enriched [<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>O by 16.5 MeV protons *via* <sup>18</sup>O(p,n)<sup>18</sup>F reaction at the BC1710 cyclotron (The Japan Steel Works Ltd., Shinagawa, Japan) at the INM-5 (Forschungszentrum Jülich).

All radiosyntheses were carried out using anhydrous *n*-BuOH and DMA stored over molecular sieves in Acrosealed<sup>®</sup> flasks (Thermo-Fisher Scientific, Acros, Germany) and under ambient air. Cu(py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> was prepared according to the literature procedure<sup>16</sup> and stored under ambient conditions. Sep-Pak Accell Plus QMA light carbonate cartridges (46 mg) were purchased from Waters GmbH (Eschborn, Germany).

### Preprocessing of [<sup>18</sup>F]fluoride

[<sup>18</sup>F]Fluoride was processed prior to radiosynthesis as follows: A solution of aqueous [<sup>18</sup>F]fluoride was loaded onto a QMA light carbonate (anion-exchange cartridge) from the male side. Washing and flushing was also carried out from the male side. The [<sup>18</sup>F]fluoride was eluted from the female to the male side.

### Synthesis of FET

[<sup>18</sup>F]FET was prepared at the cyclotron and GMP facility of the INM-5 (Forschungszentrum, Jülich GmbH) as previously reported<sup>17</sup>.

### HPLC

Gradient A1: column: Chromolith SpeedROD<sup>®</sup>, 50 × 4.6 mm (Merck Millipore, Germany); gradient: 0–2 min: 5% MeCN, 2–2.5 min 5→20% MeCN, 2.5–6 min: 20% MeCN, 6–7 min 20→70% MeCN, 7–9 min: 70% MeCN, 9–12 min 70→5% MeCN, flow rate: 2 mL/min.

Gradient A2: column: Chromolith SpeedROD<sup>®</sup>, 50 × 4.6 mm (Merck Millipore, Germany); gradient: 0–2 min: 5% MeCN, 2–2.5 min: 5→70% MeCN, 2.5–7 min: 70% MeCN, 7–8 min: 70→5% MeCN, 8–9 min: 5% MeCN, flow rate: 3 mL/min.

Gradient B1: Synergi Hydro-RP, 4 μm, 80 Å, 250 mm × 4.6 mm (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany), eluent: 6% EtOH (0.2% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), flow rate: 1.3 mL/min. These conditions were used for the isolation of 2-[<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]**4a**)

Gradient B2: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu\text{m}$ , 80  $\text{\AA}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany), eluent: 4% EtOH (0.2%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), flow rate: 1.3 mL/min. These conditions were used for the isolation of 6- $^{18}\text{F}$ FMT ( $^{18}\text{F}$ **4d**).

Gradient B3: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu\text{m}$ , 80  $\text{\AA}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany), eluent: 10% EtOH (0.2%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), flow rate: 1.0 mL/min.

Gradient B4: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu\text{m}$ , 80  $\text{\AA}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany), eluent: 7% EtOH, flow rate: 1.0 mL/min. These conditions were used for the isolation of 4- $^{18}\text{F}$ FTrp ( $^{18}\text{F}$ **4f**) for animal experiments.

Gradient B5: Hydro RP Synergi 250 mm  $\times$  10 mm Synergi Hydro-RP, 4  $\mu\text{m}$ , 80  $\text{\AA}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany), eluent: 10% EtOH (0.1% TFA), flow rate: 6 mL/min. These conditions were used for the isolation of 3–4- $^{18}\text{F}$ Phes ( $^{18}\text{F}$ **4a–c**), 2–4- $\alpha$ Me- $^{18}\text{F}$ Phes ( $^{18}\text{F}$ **4a–c**), and 2- $^{18}\text{F}$ FTyr ( $^{18}\text{F}$ **4e**).

Gradient B6: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu\text{m}$ , 80  $\text{\AA}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany), eluent: 7% EtOH, flow rate: 1.0 mL/min. Gradient C: 1 mL/min 60% EtOH Chirobiotic T column (Astec<sup>®</sup>), 5  $\mu\text{m}$ , 100  $\text{\AA}$  isocratic 1–12 min. A precolumn protector was not utilized in this case.

HPLC analyses were carried out on a Dionex Ultimate 3000 HPLC system and a DAD UV detector coupled in series with a Berthold NaI detector or on a homemade HPLC system consisting of a Knauer 80-P pump, a Knauer K-2500 UV/vis detector (Knauer, Berlin, Germany), and a Rheodyne manual injector coupled in series with a NaI(Tl) well-type scintillation detector model 276 photomultiplier base with an ACE mate amplifier and BIAS supply (EG&G Ortec Ametek, Meerbusch, Germany). Semipreparative HPLC separations were carried out using the same HPLC systems or a homemade HPLC system equipped with a Hitachi L-6000 pump (Merck, Darmstadt), a Knauer K-2500 UV/vis detector (Knauer, Berlin, Germany), and a Rheodyne manual injector (5 mL loop) coupled in series with a NaI(Tl) well-type scintillation detector model 276 photomultiplier base with an ACE mate amplifier and BIAS supply (EG&G Ortec Ametek, Meerbusch, Germany). The unselective adsorption of  $^{18}\text{F}$  onto HPLC columns was determined to be  $< 10\%$  in each case. The UV and radioactivity detectors were connected in sequence, giving a time delay of 0.1–0.9 min between the corresponding responses, depending on the flow rate. The identity of the  $^{18}\text{F}$ -labeled products was confirmed by the co-injection of the respective non-radioactive reference compound. All

radiosyntheses were carried out at least three times. In most cases, the standard deviation (SD) of RCCs did not exceed 10% of the mean values.

| Gradient | Compound                        | Retention time (min) |
|----------|---------------------------------|----------------------|
| A1       | [ <sup>18</sup> F] <b>18a</b>   | 8.1                  |
| A1       | [ <sup>18</sup> F] <b>18b</b>   | 8.0                  |
| A1       | [ <sup>18</sup> F] <b>18c</b>   | 8.0                  |
| A1       | [ <sup>18</sup> F] <b>18d</b>   | 8.1                  |
| A1       | [ <sup>18</sup> F] <b>18e</b>   | 8.4                  |
| A2       | [ <sup>18</sup> F] <b>18f</b>   | 3.2                  |
| A2       | [ <sup>18</sup> F] <b>18g</b>   | 4.4                  |
| A2       | [ <sup>18</sup> F] <b>18h</b>   | 4.6                  |
| A2       | [ <sup>18</sup> F] <b>18i</b>   | 4.5                  |
| A1       | Cu-BPB-3-[ <sup>18</sup> F]FPhe | 8.7                  |

Table S1. Retention times of radiolabeled intermediates [<sup>18</sup>F]**18a–i** and Cu-BPB-3-[<sup>18</sup>F]FPhe.

| Gradient | Compound                     | Retention time (min) |
|----------|------------------------------|----------------------|
| B1       | [ <sup>18</sup> F] <b>4a</b> | 4.2                  |
| B1       | [ <sup>18</sup> F] <b>4b</b> | 4.1                  |
| B1       | [ <sup>18</sup> F] <b>4c</b> | 5.0                  |
| B2       | [ <sup>18</sup> F] <b>4d</b> | 4.0                  |
| B2       | [ <sup>18</sup> F] <b>4e</b> | 4.8                  |
| B4       | [ <sup>18</sup> F] <b>4f</b> | 12.2                 |
| B1       | [ <sup>18</sup> F] <b>4g</b> | 5.4                  |
| B1       | [ <sup>18</sup> F] <b>4h</b> | 5.8                  |
| B1       | [ <sup>18</sup> F] <b>4i</b> | 6.5                  |

Table S2. Retention times of radiolabeled amino acids [<sup>18</sup>F]**4a–i** (analytic HPLC).

| Gradient | Compound                     | Retention time (min) |
|----------|------------------------------|----------------------|
| B1       | [ <sup>18</sup> F] <b>4a</b> | 4.2                  |
| B5       | [ <sup>18</sup> F] <b>4b</b> | 8.2                  |
| B5       | [ <sup>18</sup> F] <b>4c</b> | 8.3                  |
| B2       | [ <sup>18</sup> F] <b>4d</b> | 4.0                  |
| B5       | [ <sup>18</sup> F] <b>4e</b> | 6.9                  |
| B4       | [ <sup>18</sup> F] <b>4f</b> | 12.2                 |
| B5       | [ <sup>18</sup> F] <b>4g</b> | 9.7                  |
| B5       | [ <sup>18</sup> F] <b>4h</b> | 11.7                 |
| B5       | [ <sup>18</sup> F] <b>4i</b> | 12.5                 |

Table S3. Approximate retention times of radiolabeled amino acids [<sup>18</sup>F]**4a–i** (semi-preparative HPLC separations).

### General procedure for the preparation of <sup>18</sup>F-labeled aromatic amino acids from Ni-BPX-(Bpin)AAA complexes (GP5)

The radiosynthesis commenced with the loading of [<sup>18</sup>F]fluoride (500–5000 MBq) onto a QMA<sup>®</sup> light carbonate cartridge (preconditioned with 1 mL H<sub>2</sub>O) followed by subsequent elution with Et<sub>4</sub>NHCO<sub>3</sub> (3 mg, 15.7 μmol) in MeOH (0.75 mL). Thereafter, all volatiles were removed under reduced pressure at 80 °C for 5 minutes, a solution of the corresponding precursor (10 μmol) and Cu(py)<sub>4</sub>(OTf)<sub>2</sub> (20 μmol) in DMA/*n*BuOH 2:1 (0.75 mL) added, and the reaction mixture was stirred at 110 °C for 15 min. The mixture was then concentrated under reduced pressure at 110 °C for 10 min. 12 M HCl (0.3 mL) was added, the reaction mixture was stirred at 110 °C for 15 min and concentrated at the same temperature under reduced pressure. Thereafter, the residue was taken up in the suitable eluent (1 mL; please refer to Table S3) and purified using high-performance liquid chromatography (HPLC). Unless otherwise stated, all columns were fitted with a precolumn protector (Phenomenex, SecurityGuard Cartridge System). If the produced tracer should be used for the *in vivo* studies the product fraction was concentrated under reduced pressure and the flow of argon, and the residue was taken up into saline or in PBS {in the case of 6-[<sup>18</sup>F]FMT ([<sup>18</sup>F]**4d**)}. Some of <sup>18</sup>F-labeled amino acids, especially 3-[<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]**4b**), were sensitive to radiolysis. If tracer was not intended to be used immediately, it was stabilized by the addition of sodium ascorbate (10 mg) into the product vial.

### Automated Radiosyntheses

All automated radiosyntheses were carried out in a home-made synthesis module. FFKM valves (Christian Bürkert GmbH&Co. KG, Ingelfingen, Germany) were applied. All connections between the valves were made using PTFE tubes and PEEK fittings. The flow scheme for the preparation of radiolabeled amino acids is depicted in Figure S3. Synthetic air and He (Westfalen AG, Muenster, Germany) were used as operating gases.



## Optimization of Radiofluorination Conditions

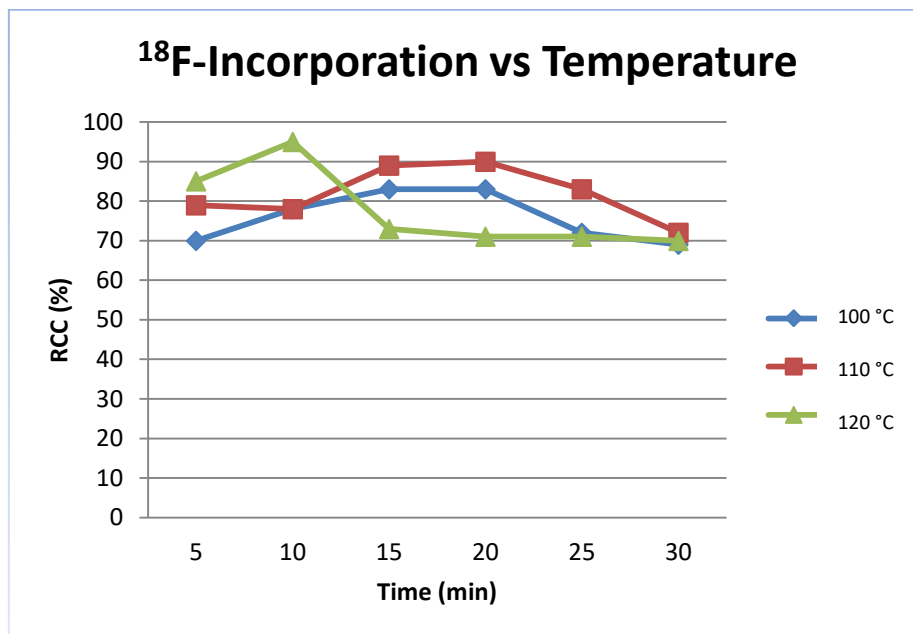


Figure S1. The dependency of  $^{18}\text{F}$ -incorporation on temperature. Conditions: [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoride ( $\sim 50$  MBq) was loaded onto a QMA- $\text{CO}_3^-$  cartridge from the male side. The cartridge was washed with water (1 mL) in the same direction and flushed with air (5 mL). Thereafter,  $^{18}\text{F}^-$  was eluted from the female side with a solution of  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$  (3 mg) in MeOH (0.7 mL). The MeOH was evaporated under a flow of air within 5 min. A solution of **3b** (7.1 mg, 10  $\mu\text{mol}$ ) and  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  (13.6 mg, 20  $\mu\text{mol}$ ) in  $n\text{BuOH}/\text{DMA}$  (1:2, 750  $\mu\text{L}$ ) was added, the reaction mixture was heated at the corresponding temperature for the specified time under air, diluted with water (1 mL) and analyzed by HPLC. All experiments were carried out in triplicate.

Optimization with respect to reaction temperature was carried out with precursor **3b** at 100 °C, 110 °C, and 120 °C. It was found that 110 °C for 15 minutes afforded the highest  $^{18}\text{F}$ -incorporation of the three temperatures.

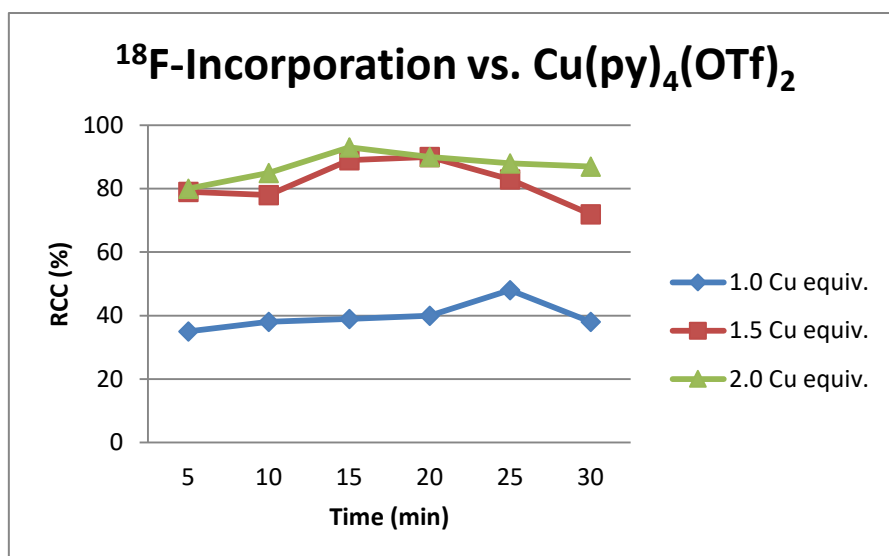


Figure S2. The dependency of  $^{18}\text{F}$ -incorporation on Cu mediator concentration. Conditions:  $[^{18}\text{F}]\text{Fluoride}$  ( $\sim 50$  MBq) was loaded onto a  $\text{QMA-CO}_3^-$  cartridge from the male side. The cartridge was washed with water (1 mL) in the same direction and flushed with air (5 mL). Thereafter,  $^{18}\text{F}^-$  was eluted from the female side with a solution of  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$  (3 mg) in MeOH (0.7 mL). The MeOH was evaporated under a flow of air within 5 min. A solution of **3b** (7.1 mg, 10  $\mu\text{mol}$ ) and the corresponding  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  amount in  $n\text{BuOH/DMA}$  (1:2, 750  $\mu\text{L}$ ) was added, the reaction mixture was heated at the 110  $^\circ\text{C}$  for 15 min under air, diluted with water (1 mL) and analyzed by HPLC. All experiments were carried out in triplicate.

Optimization with respect to the equivalents of  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  was carried out with precursor **3b** at 110  $^\circ\text{C}$ . It was found that the application of 2 molar equivalents of  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  at 110  $^\circ\text{C}$  for 15 minutes afforded the highest  $^{18}\text{F}$ -incorporation among the tested conditions.

## Automated Synthesis of Radiofluorinated Amino Acids

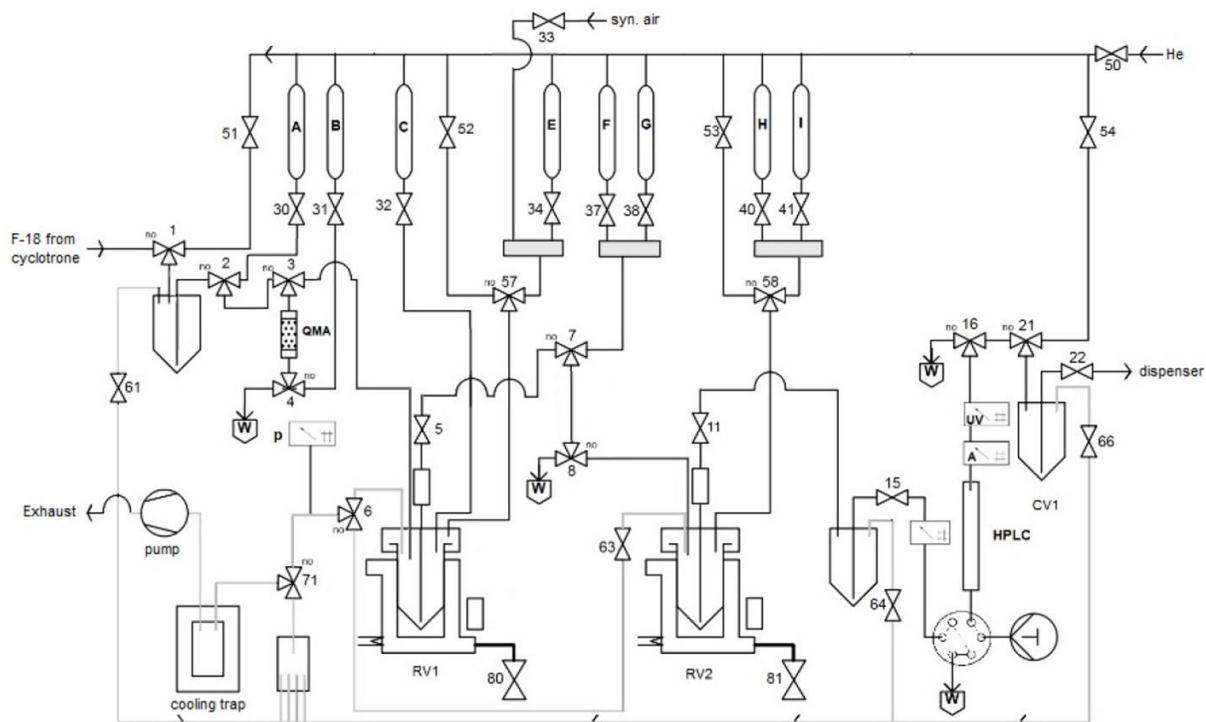
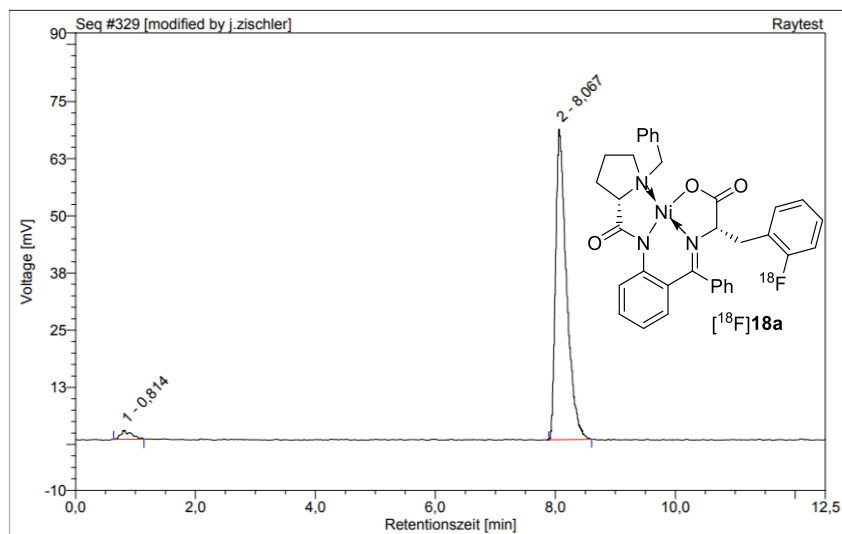


Figure S3. Process flow diagram (PFD) for the automated radiosynthesis of  $^{18}\text{F}$ -labeled AAAs. A: MeOH (2 mL); B:  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$  (3 mg,  $15.7\ \mu\text{mol}$ ) in MeOH (0.75 mL); C:  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  (13.6 mg,  $20\ \mu\text{mol}$ ) and radiolabeling precursor ( $10\ \mu\text{mol}$ ) in DMA/*n*BuOH (2:1) (0.75 mL); E: 37% HCl (1 mL); F: 6% EtOH<sub>aq</sub> (1 mL).

1. Loading of [ $^{18}\text{F}$ ]fluoride onto an QMA ion exchange cartridge;
2. Washing of the QMA with MeOH (2 mL);
3. Closing air valve (50), and system venting;
4. Elution of [ $^{18}\text{F}$ ]fluoride from the ion-exchange cartridge with a methanolic solution of  $\text{Et}_4\text{NHCO}_3$  into RV 1;
5. Open air valve (50) to completely transfer methanolic solution from QMA to RV 1;
6. Evaporation of MeOH in RV1 at  $80\ ^\circ\text{C}$  for 3–5 min using a flow of synthetic air under reduced pressure;
7. Addition of a solution of the radiolabeling precursor ( $10\ \mu\text{mol}$ ) and  $\text{Cu}(\text{py})_4(\text{OTf})_2$  ( $20\ \mu\text{mol}$ ) in *n*BuOH/DMA 1:2 (0.75 mL);
8. Heating of the reaction mixture in RV1 at  $110\ ^\circ\text{C}$  for 15 min;
9. Evaporation of reaction mixture in RV1 at  $110\ ^\circ\text{C}$  for 10 min;
10. Addition of 37% HCl (1 mL) and heating at  $110\ ^\circ\text{C}$  for 15 min;
11. Evaporation of reaction mixture in RV1 at  $130\ ^\circ\text{C}$  for 10 min;
12. Addition of the appropriate eluent (please, refer to Table S3) in RV1;

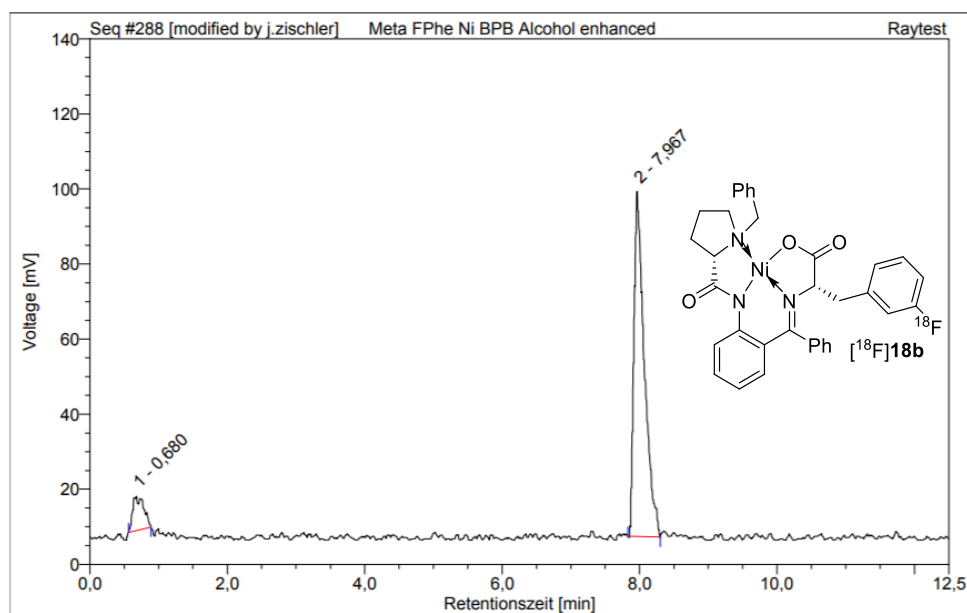
13. Injection of the loop content onto the HPLC column and elution of the tracer with the appropriate eluent (please, refer to Table S3);
14. Manual collection of the product fraction in a collection vial (CV1).

Radio HPLC traces and RCC data for  $^{18}\text{F}$ -labeled Products  
 $[^{18}\text{F}]18\text{a}$  (Gradient A1)



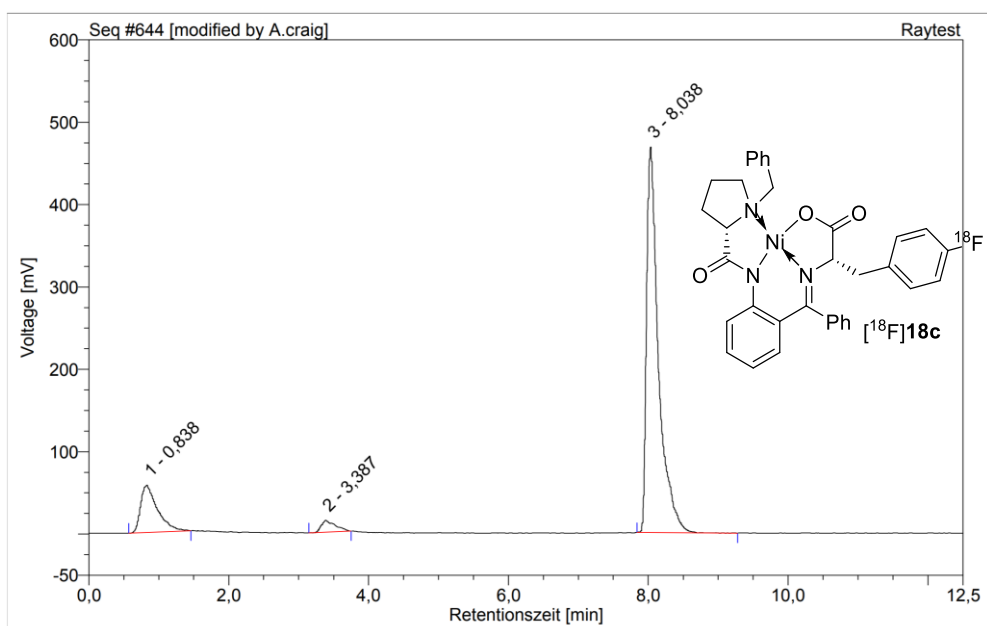
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,81                  | 1,965             | 2,76          |
| 2             | 8,07                  | 67,890            | 97,24         |
| <b>Total:</b> |                       | 69,855            | 100,00        |

$[^{18}\text{F}]18\text{b}$  (Gradient A1)



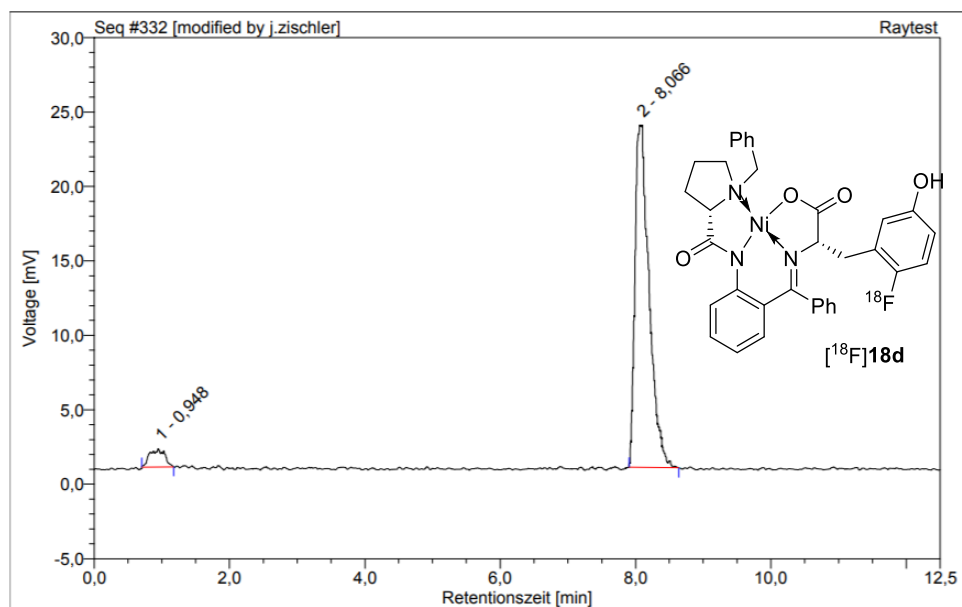
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,68                  | 9,128             | 9,45          |
| 2             | 7,97                  | 91,921            | 90,55         |
| <b>Total:</b> |                       | 101,048           | 100,00        |

### [<sup>18</sup>F]18c (Gradient A1)



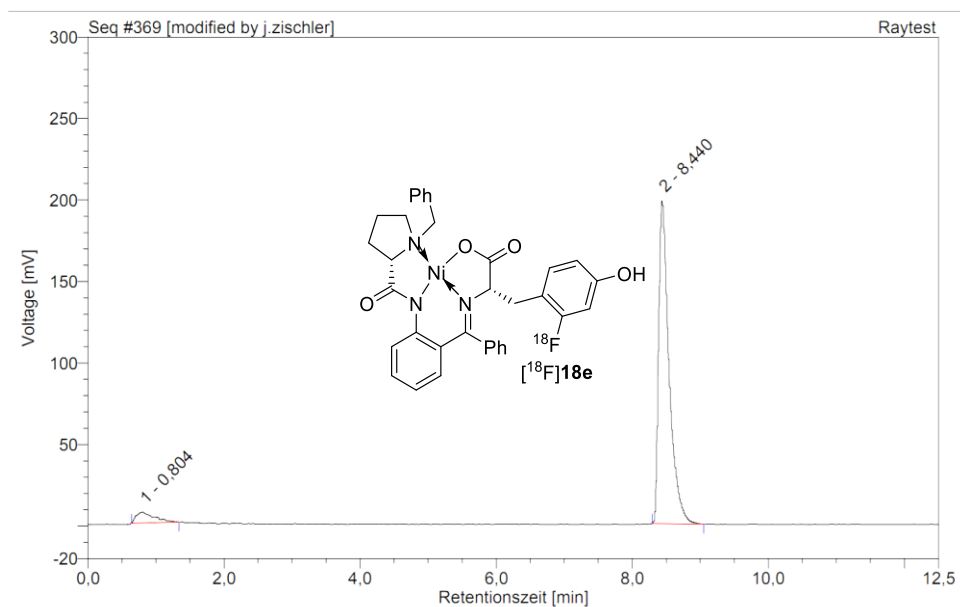
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,84                  | 57,485            | 14,38         |
| 2             | 3,39                  | 14,358            | 2,94          |
| 3             | 8,04                  | 468,332           | 82,68         |
| <b>Total:</b> |                       | 540,175           | 100,00        |

### [<sup>18</sup>F]18d (Gradient A1)



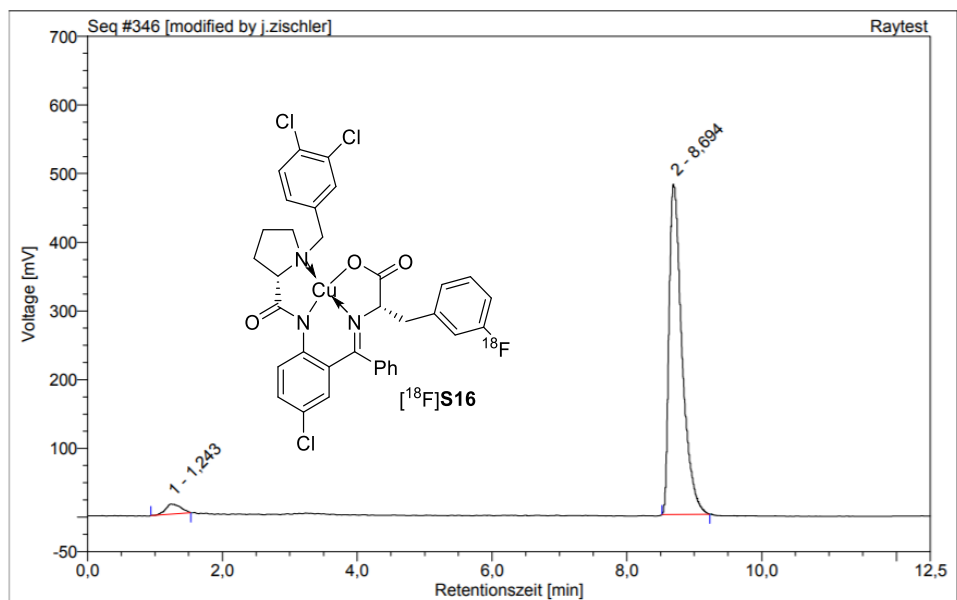
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,95                  | 1,222             | 5,28          |
| 2             | 8,07                  | 22,987            | 94,72         |
| <b>Total:</b> |                       | 24,209            | 100,00        |

### [<sup>18</sup>F]18e (Gradient A1)



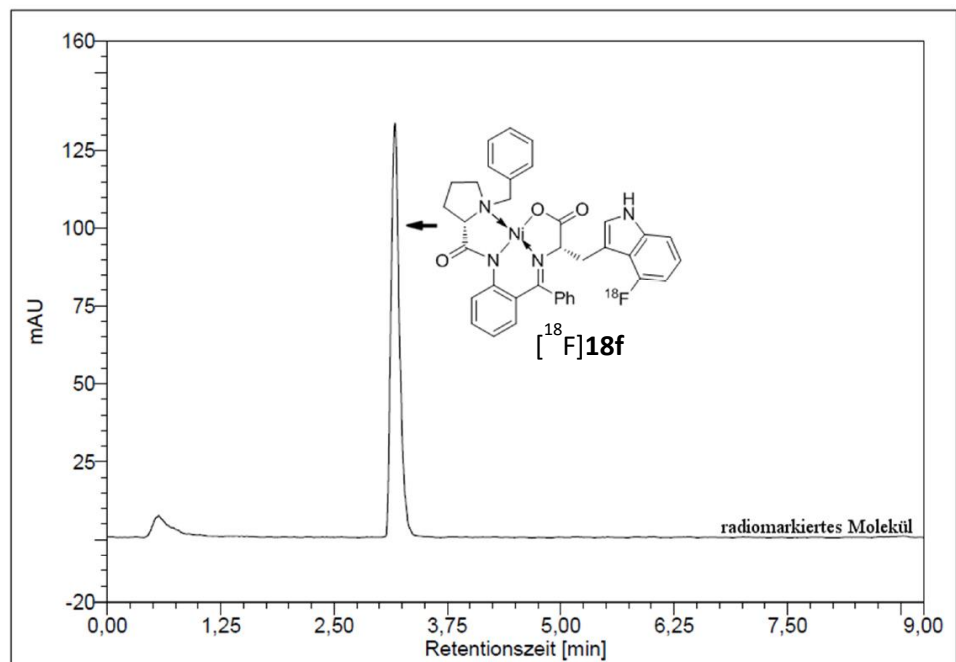
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,80                  | 6,724             | 5,48          |
| 2             | 8,44                  | 198,105           | 94,52         |
| <b>Total:</b> |                       | 204,829           | 100,00        |

### [<sup>18</sup>F]S16 (Gradient A1)



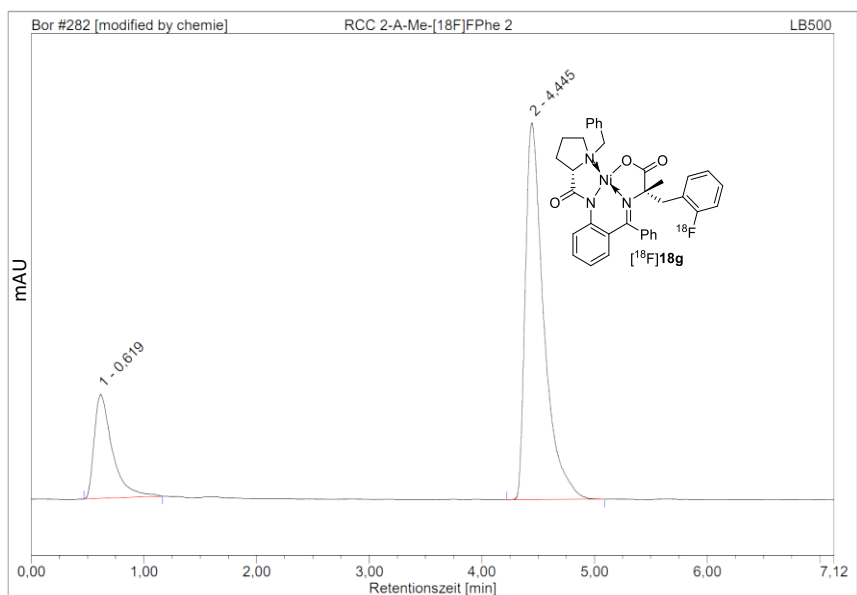
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 1,24                  | 14,748            | 3,41          |
| 2             | 8,69                  | 480,914           | 96,59         |
| <b>Total:</b> |                       | 495,662           | 100,00        |

**[<sup>18</sup>F]18f (Gradient A2)**



| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,57                  | 5,813             | 6,39          |
| 2             | 3,17                  | 132,733           | 93,61         |
| <b>Total:</b> |                       | 138,546           | 100,00        |

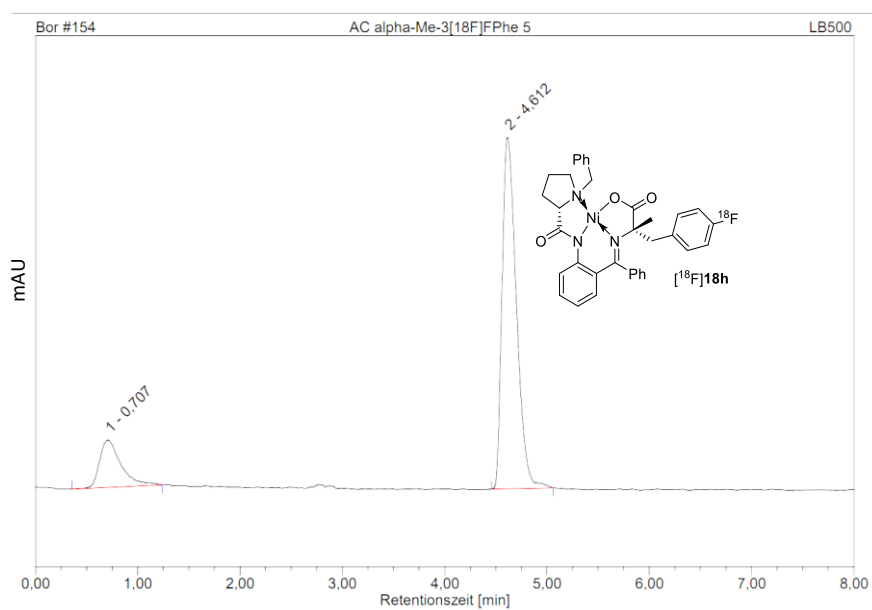
**[<sup>18</sup>F]18g (Gradient A1)**



| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,62                  | 198,870           | 21,28         |
| 2             | 4,45                  | 722,458           | 78,72         |
| <b>Total:</b> |                       | 921,328           | 100,00        |

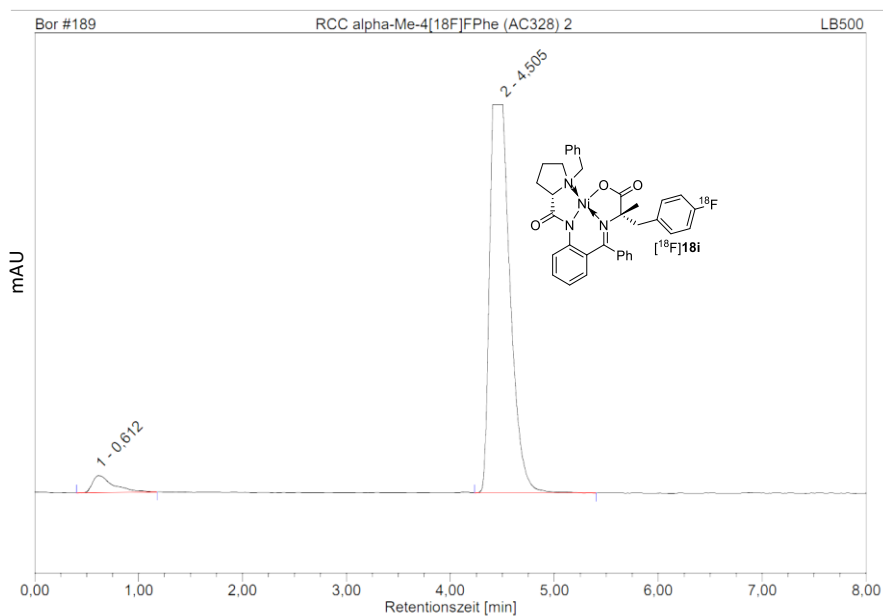


### [<sup>18</sup>F]18h (Gradient A1)



| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,71                  | 71,571            | 16,76         |
| 2             | 4,61                  | 529,945           | 83,24         |
| <b>Total:</b> |                       | 601,516           | 100,00        |

### [<sup>18</sup>F]18i (Gradient A1)



| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 0,61                  | 44,688            | 4,31          |
| 2             | 4,50                  | 1006,396          | 95,69         |
| <b>Total:</b> |                       | 1051,084          | 100,00        |

## Deprotection Optimization

The deprotection step was optimized with respect to time, temperature and HCl concentration. It was found that 12 M HCl (1 mL) at 110 °C for 15 min provided the highest deprotection yield (Figure S4). Exceeding any of these parameters usually resulted in the loss of product or infeasibility of the procedure towards automated module implementation.

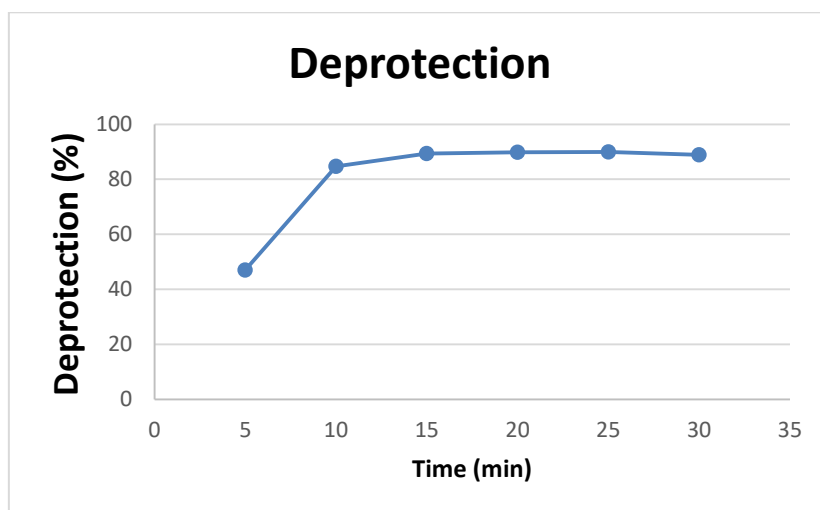
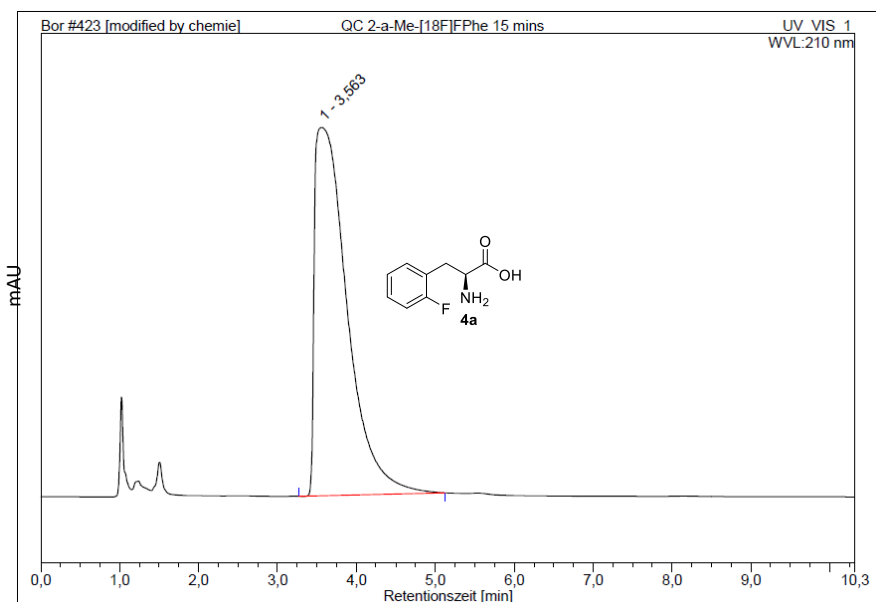


Figure S4. Deprotection of Cu/Ni-BPB-AAA at 110 °C.

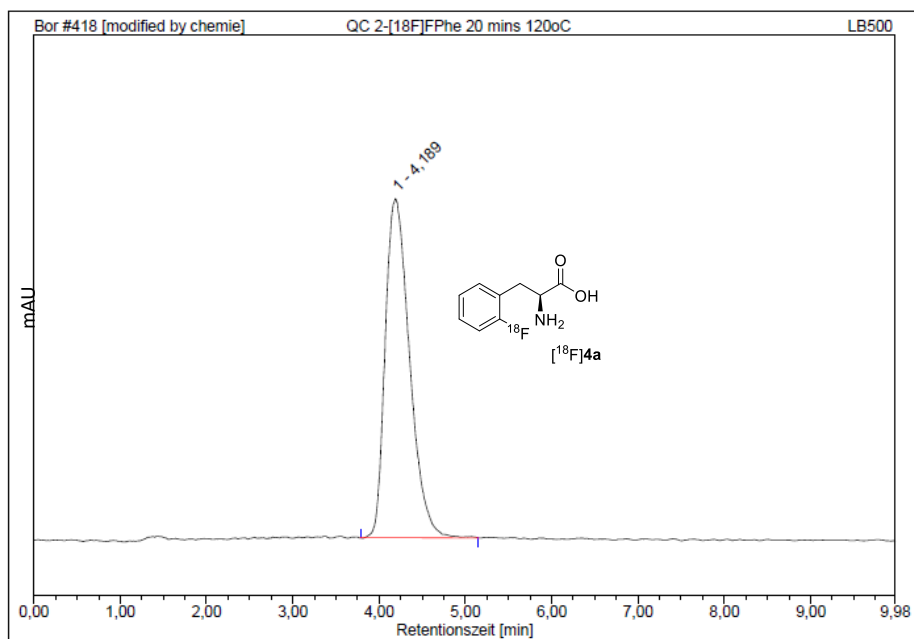
## Quality Control of Products

### 2-FPhe (4a) (Gradient B1)



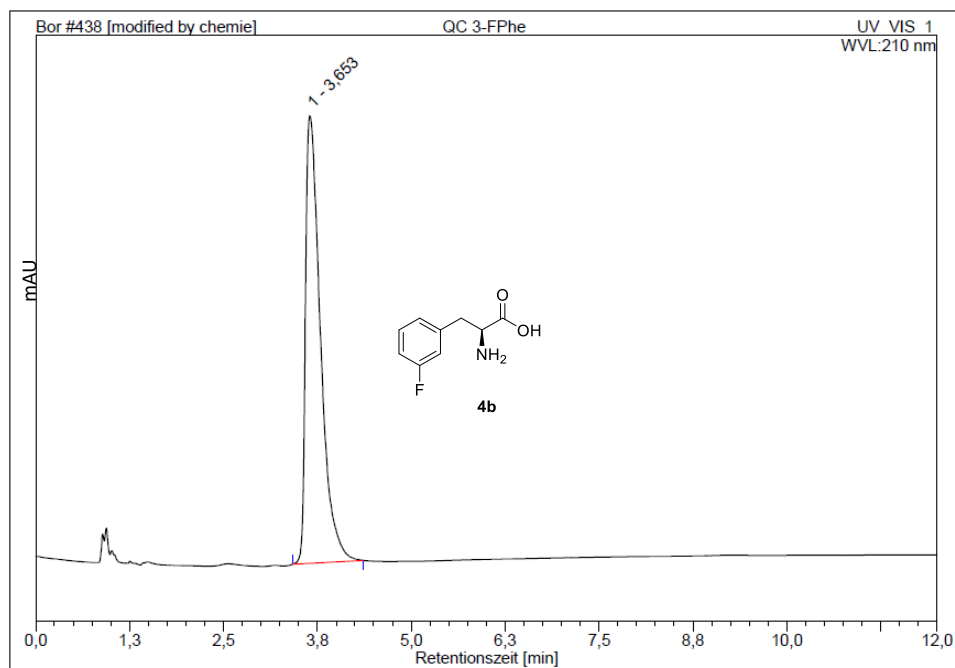
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 3,56                  | 2782,507          | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 2782,507          | 100,00        |

## 2-[<sup>18</sup>F]Phe ([<sup>18</sup>F]4a) (Gradient B1)



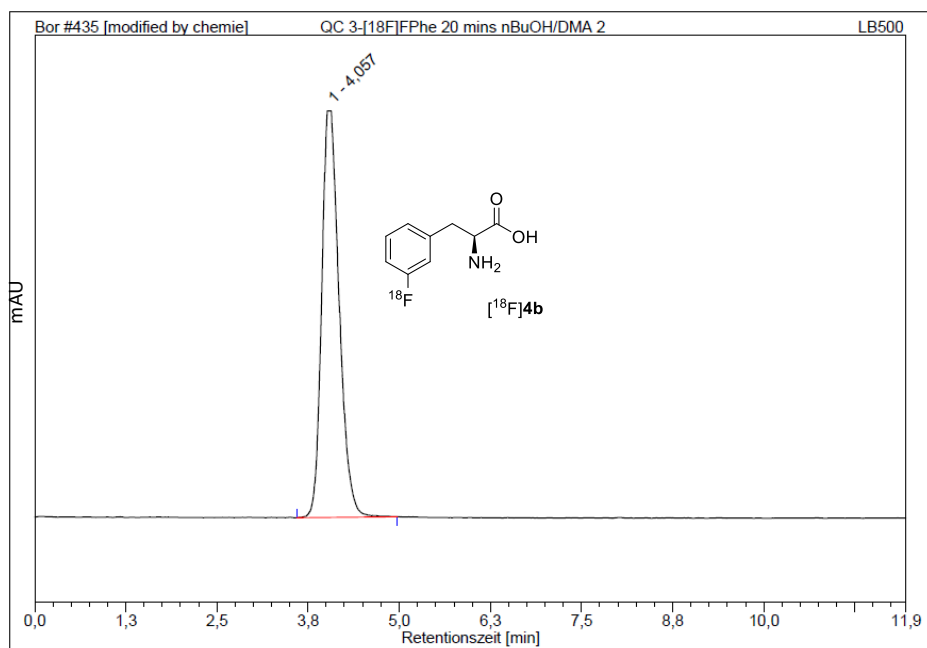
| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 4,19                  | 163,696           | 100,00        |
| Total: |                       | 163,696           | 100,00        |

## 3-FPhe (4b) (Gradient B1)



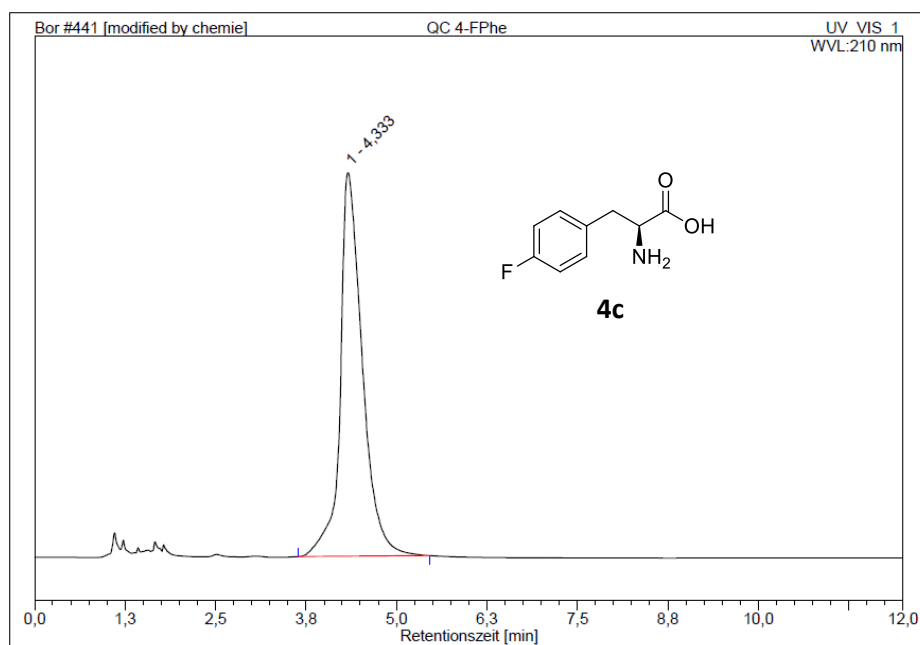
| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 3,65                  | 687,692           | 100,00        |
| Total: |                       | 687,692           | 100,00        |

### 3-[<sup>18</sup>F]Phe ([<sup>18</sup>F]4b) (Gradient B1)



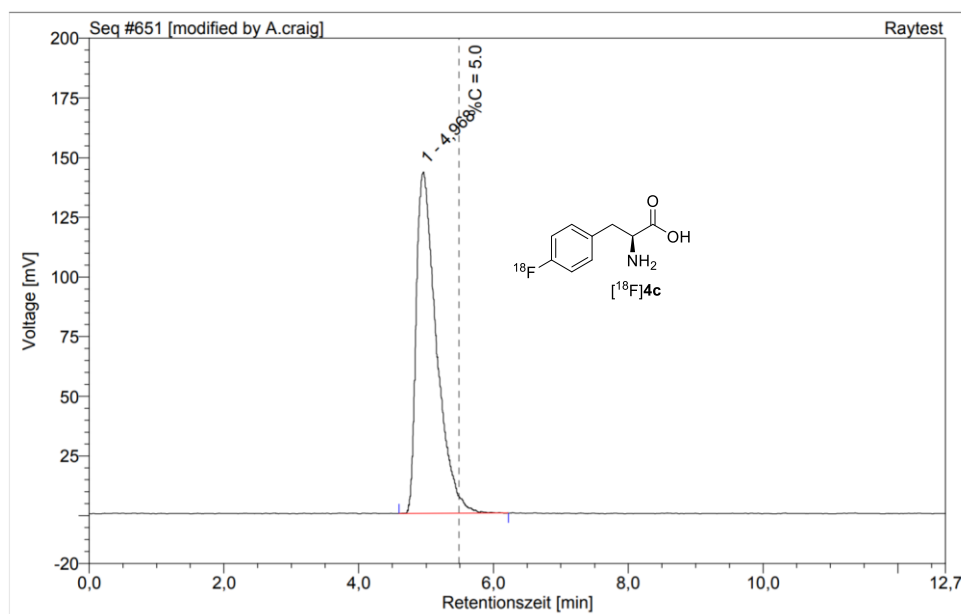
| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 4,06                  | 1004,256          | 100,00        |
| Total: |                       | 1004,256          | 100,00        |

### 4-FPhe (4c) (Gradient B1)



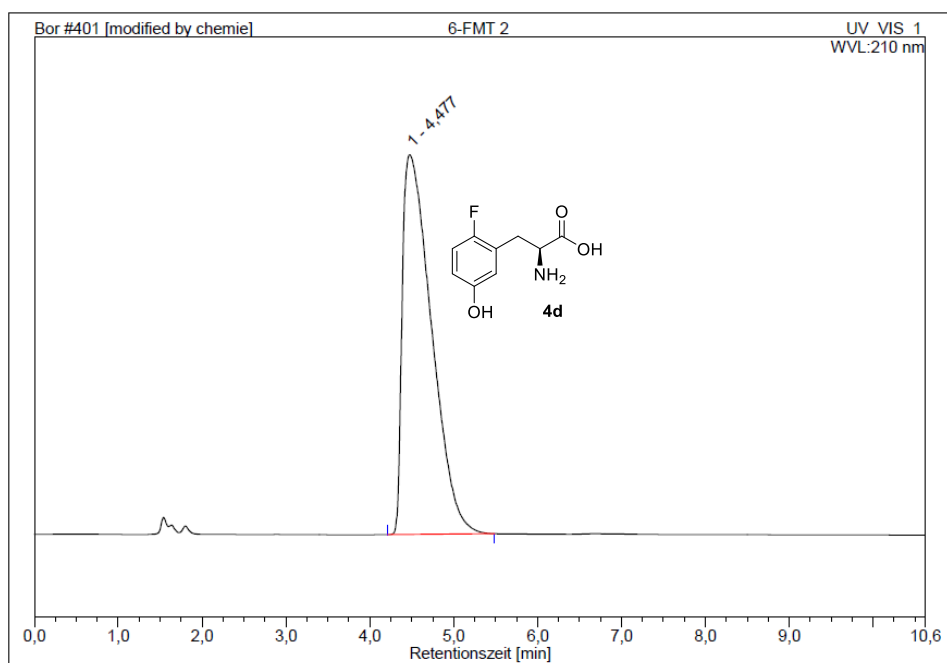
| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 4,33                  | 441,810           | 100,00        |
| Total: |                       | 441,810           | 100,00        |

### 4-[<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]4c) (Gradient B1)



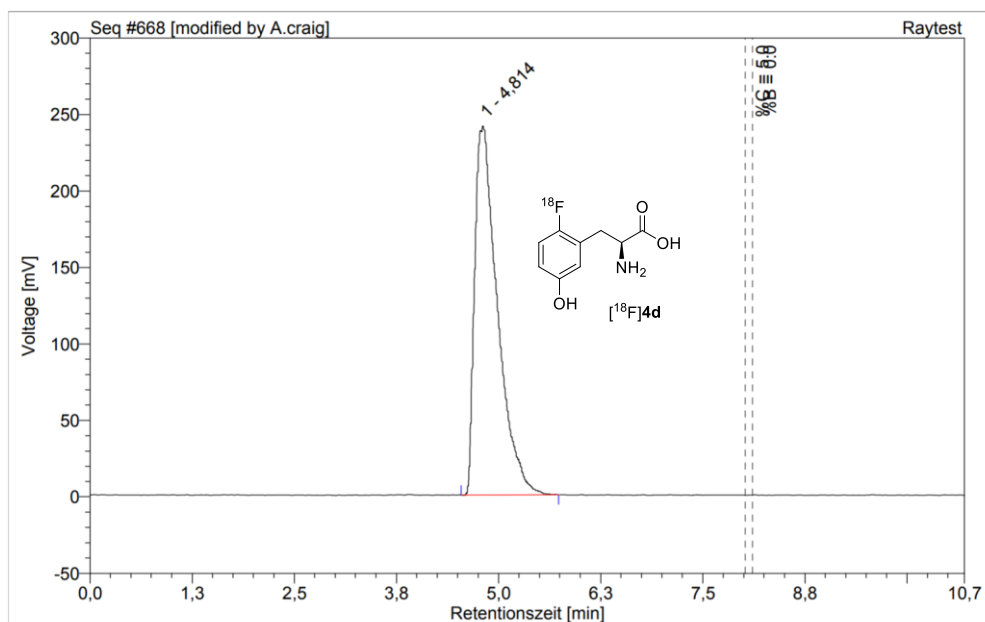
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 4,97                  | 143,092           | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 143,092           | 100,00        |

## 6-FMT (4d) (Gradient B2)



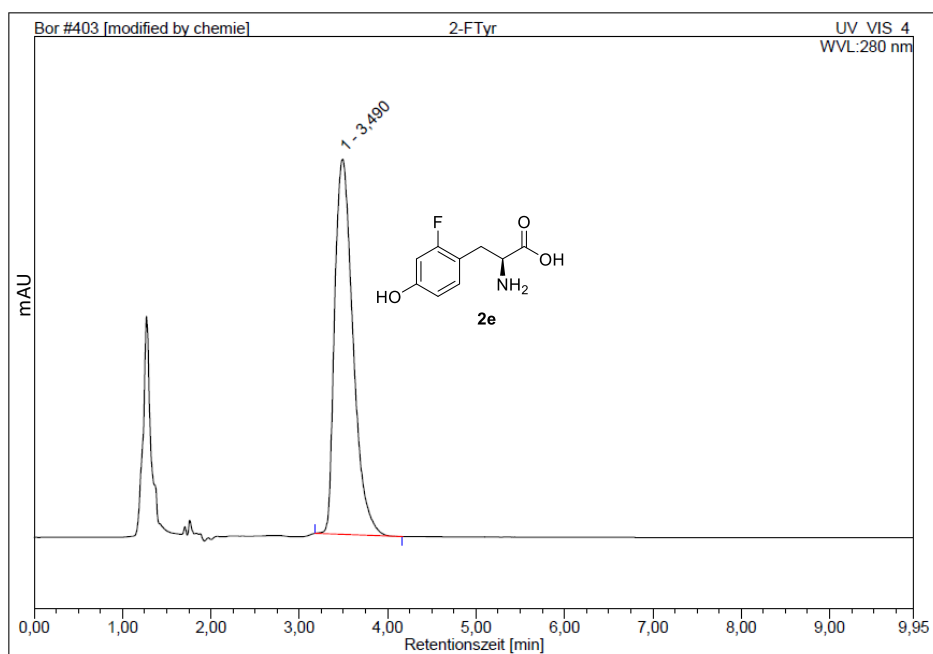
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 4.48                  | 2291,784          | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 2291,784          | 100,00        |

## 6-[<sup>18</sup>F]FMT ([<sup>18</sup>F]4d) (Gradient B2)



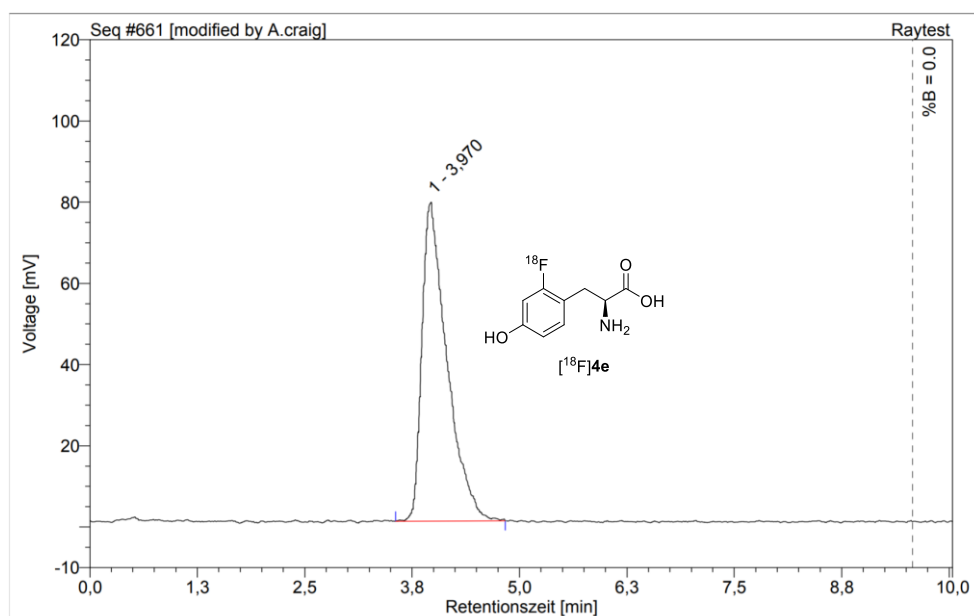
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 4,81                  | 241,305           | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 241,305           | 100,00        |

## 2-FTyr (2e) (Gradient B2)



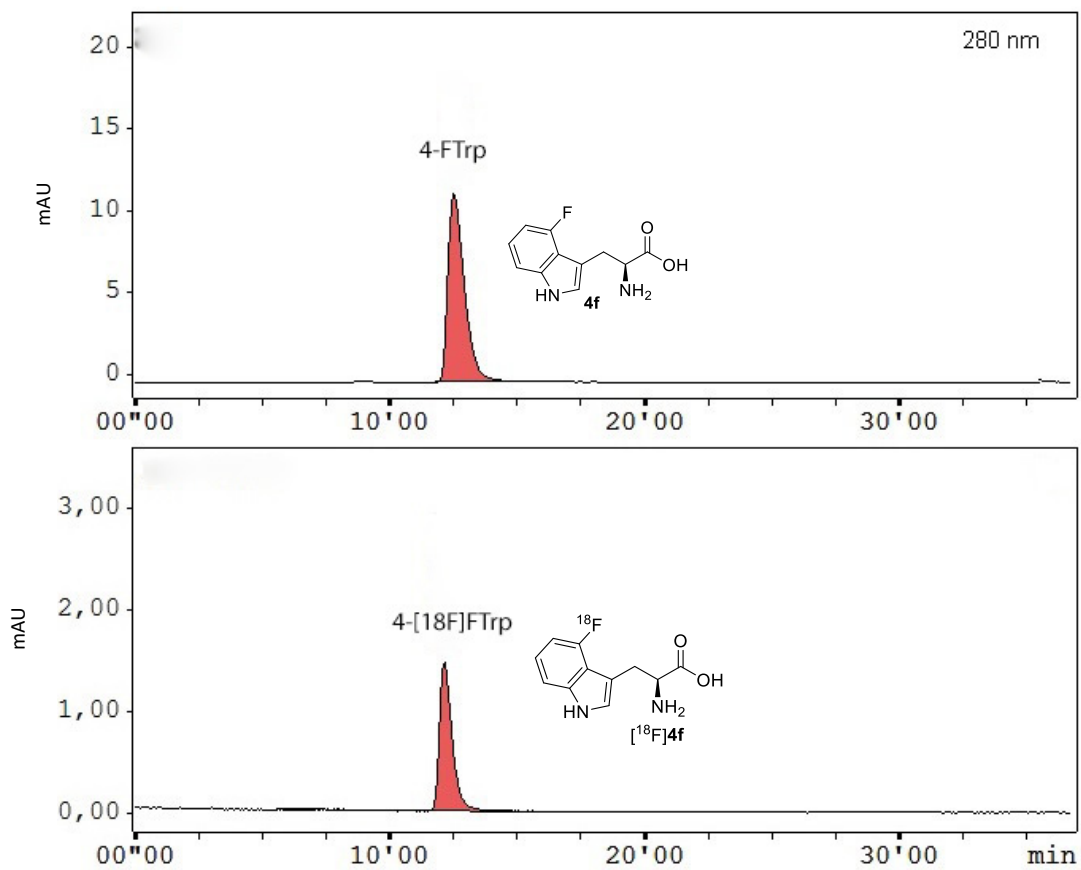
| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 3,49                  | 104,956           | 100,00        |
| Total: |                       | 104,956           | 100,00        |

## 2-[<sup>18</sup>F]FTyr ([<sup>18</sup>F]4e) (Gradient B2)



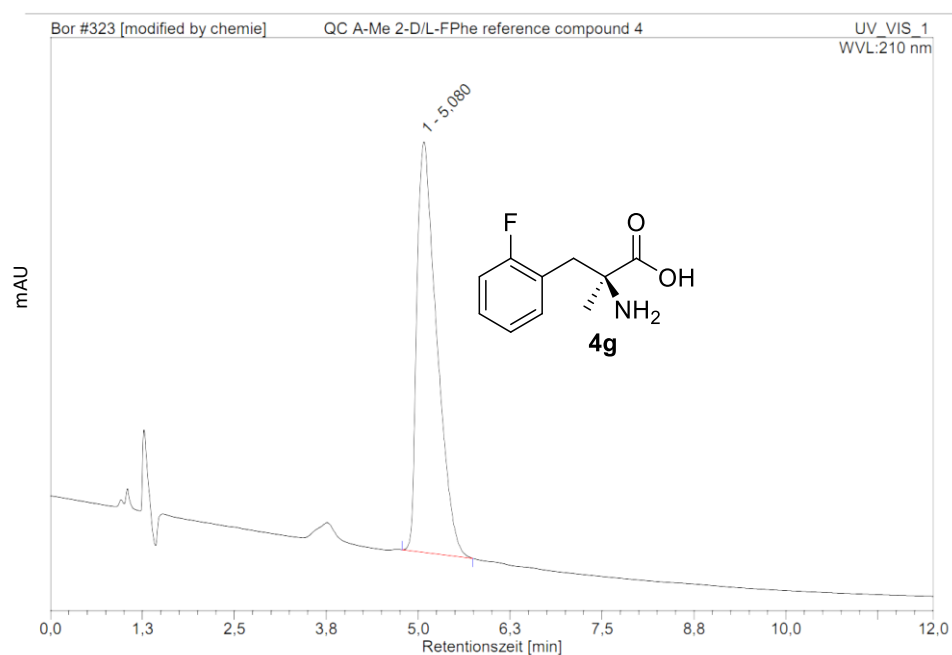
| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 3,97                  | 78,543            | 100,00        |
| Total: |                       | 78,543            | 100,00        |

### 4-FTrp (4f) and 4-[<sup>18</sup>F]FTrp ([<sup>18</sup>F]4f) (Gradient B3)



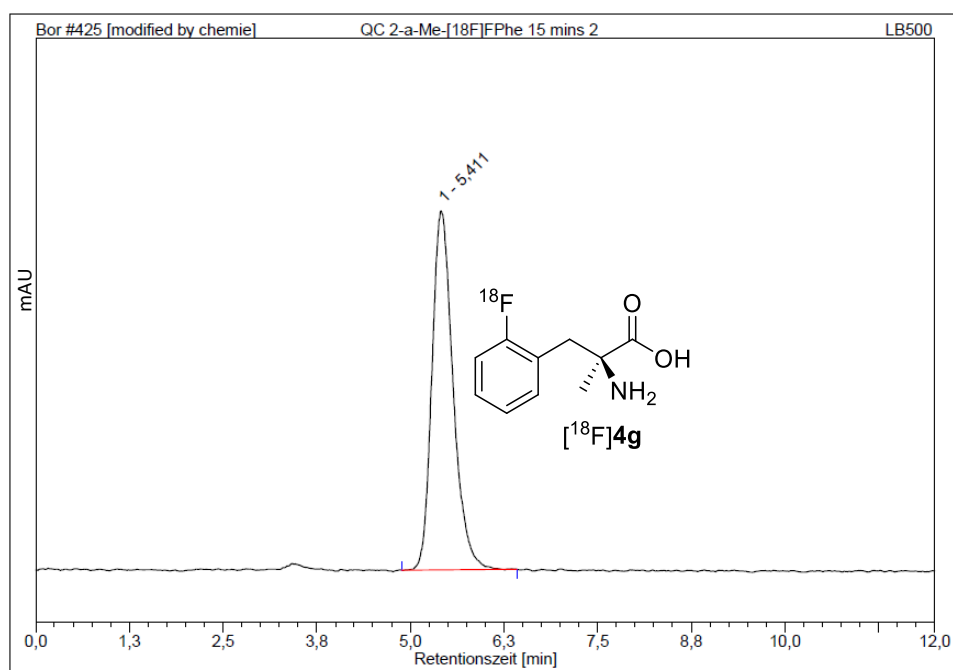


### $\alpha$ -Methyl-2-FPhe (4g) (Gradient B1)



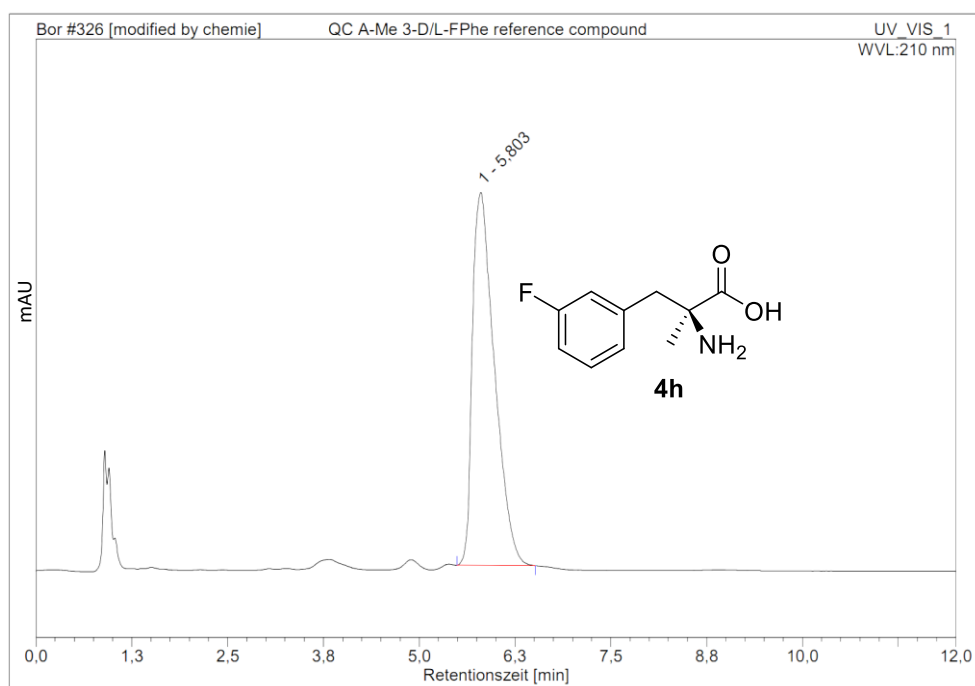
| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 5,08                  | 358,252           | 100,00        |
| Total: |                       | 358,252           | 100,00        |

### $\alpha$ -Methyl-2-[ $^{18}$ F]FPhe ([ $^{18}$ F]4g) (Gradient B1)



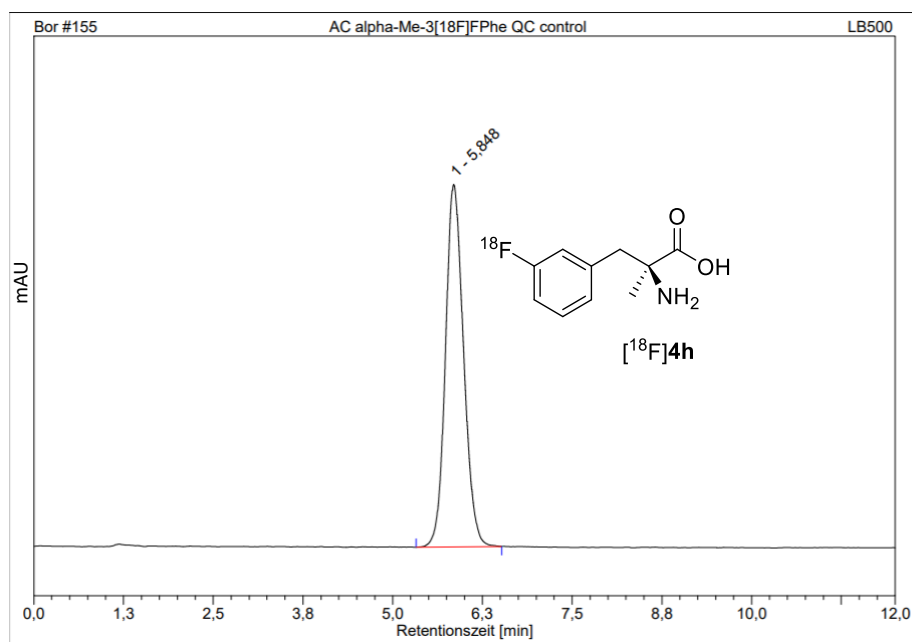
| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 5,41                  | 196,987           | 100,00        |
| Total: |                       | 196,987           | 100,00        |

### $\alpha$ -Methyl-3-FPhe (4h) (Gradient B1)



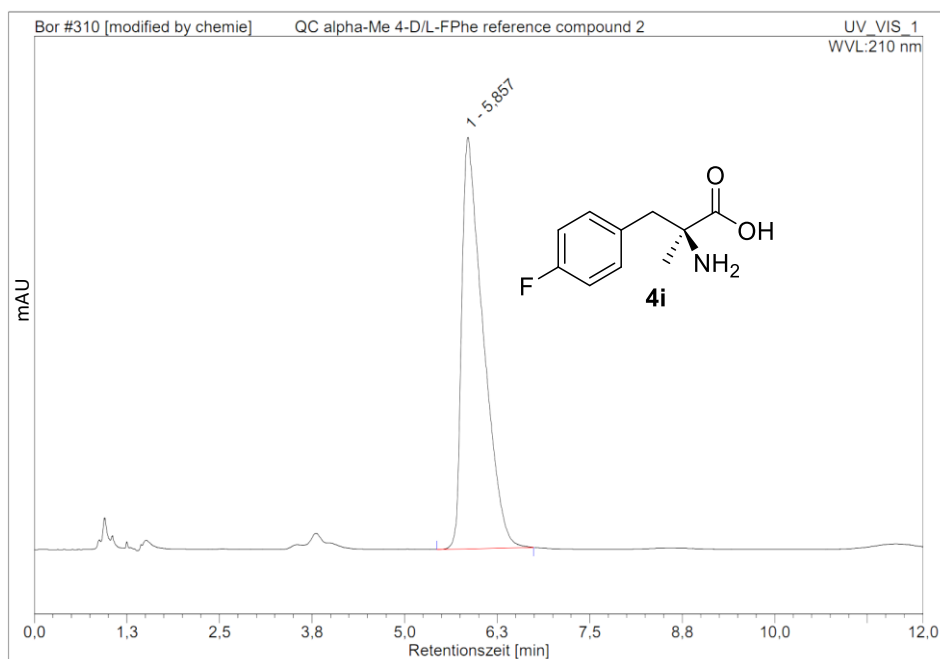
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 5.80                  | 280,639           | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 280,639           | 100,00        |

### $\alpha$ -Methyl-3-[ $^{18}$ F]FPhe ([ $^{18}$ F]4h) (Gradient B1)



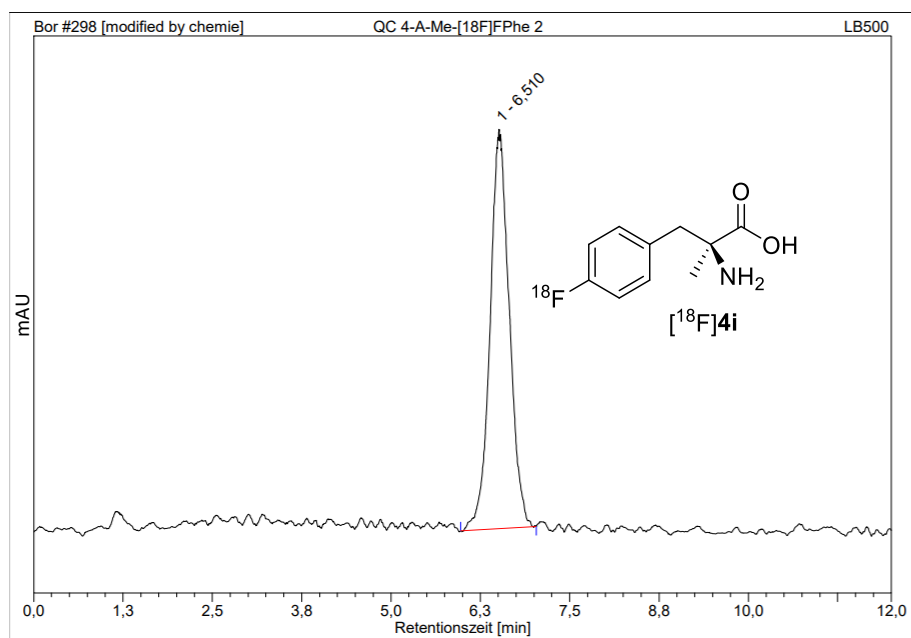
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 5.85                  | 842,027           | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 842,027           | 100,00        |

### $\alpha$ -Methyl-4-FPhe (**4i**) (Gradient B1)



| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 5.86                  | 320,770           | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 320,770           | 100,00        |

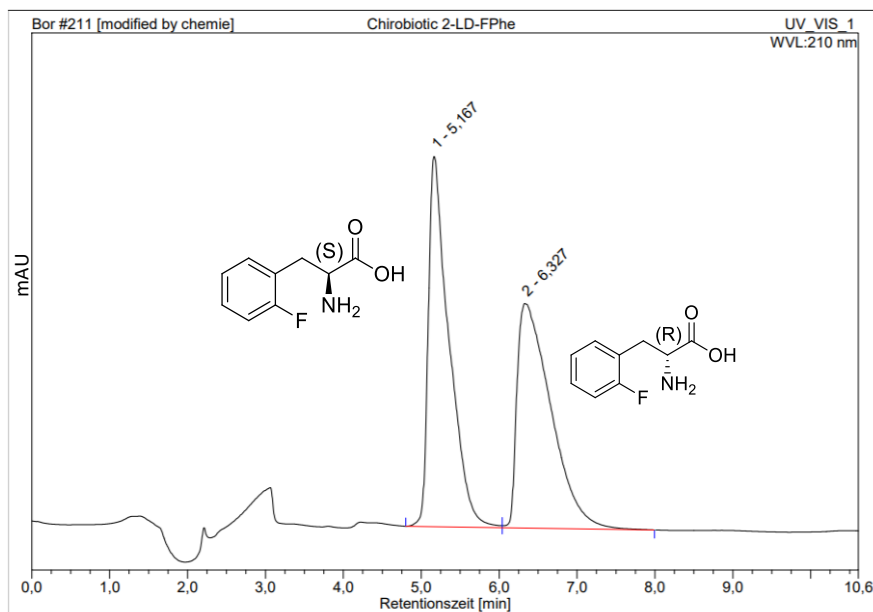
### $\alpha$ -Methyl-4-[ $^{18}\text{F}$ ]FPhe ([ $^{18}\text{F}$ ]4i) (Gradient B1)



| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 6,51                  | 35,846            | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 35,846            | 100,00        |

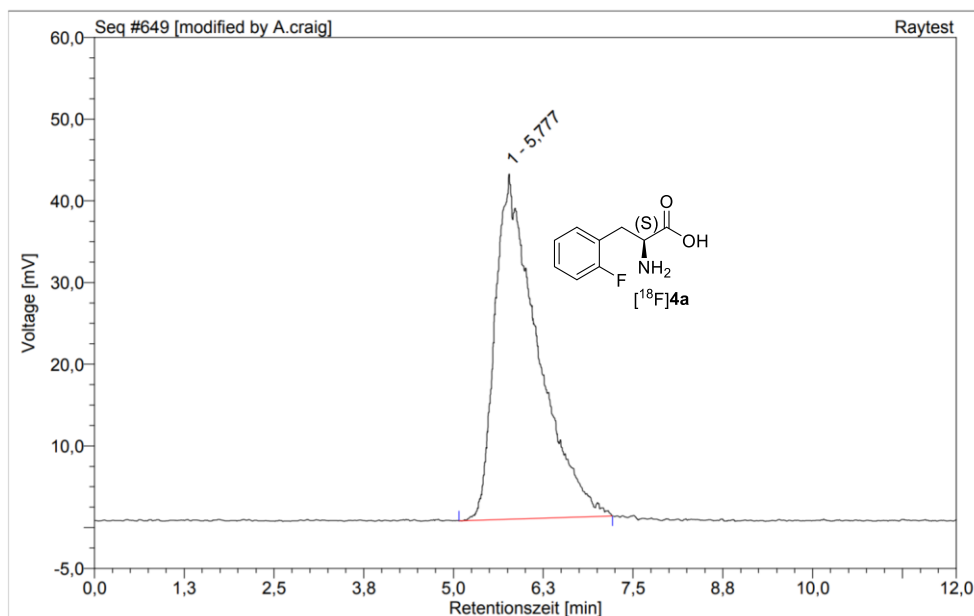
## Determination of Enantiomeric Excess for AAA PET tracers

### *rac*-2-FPhe (Gradient C)



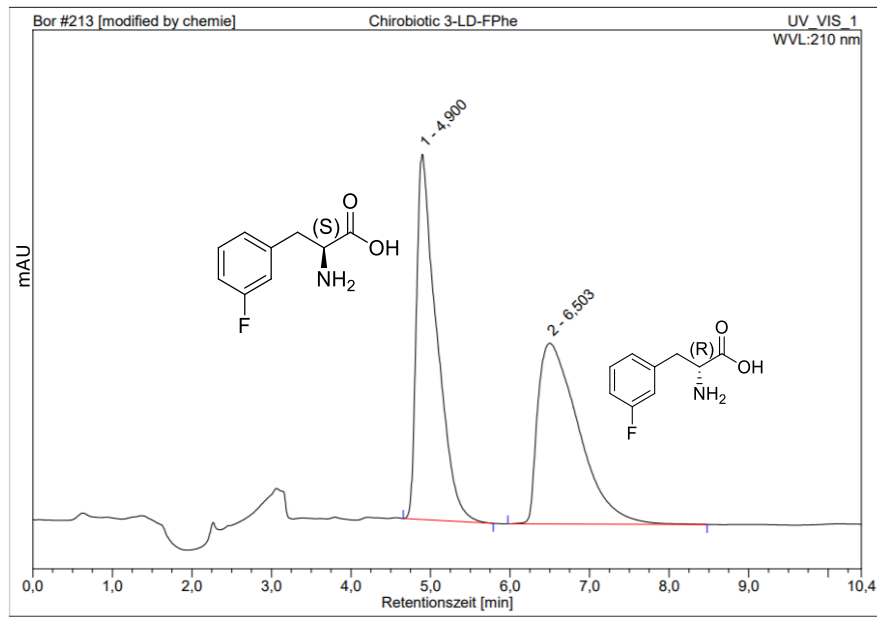
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 5,17                  | 379,213           | 50,19         |
| 2             | 6,33                  | 230,063           | 49,81         |
| <b>Total:</b> |                       | 609,276           | 100,00        |

### 2-<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]4a) (Gradient C)



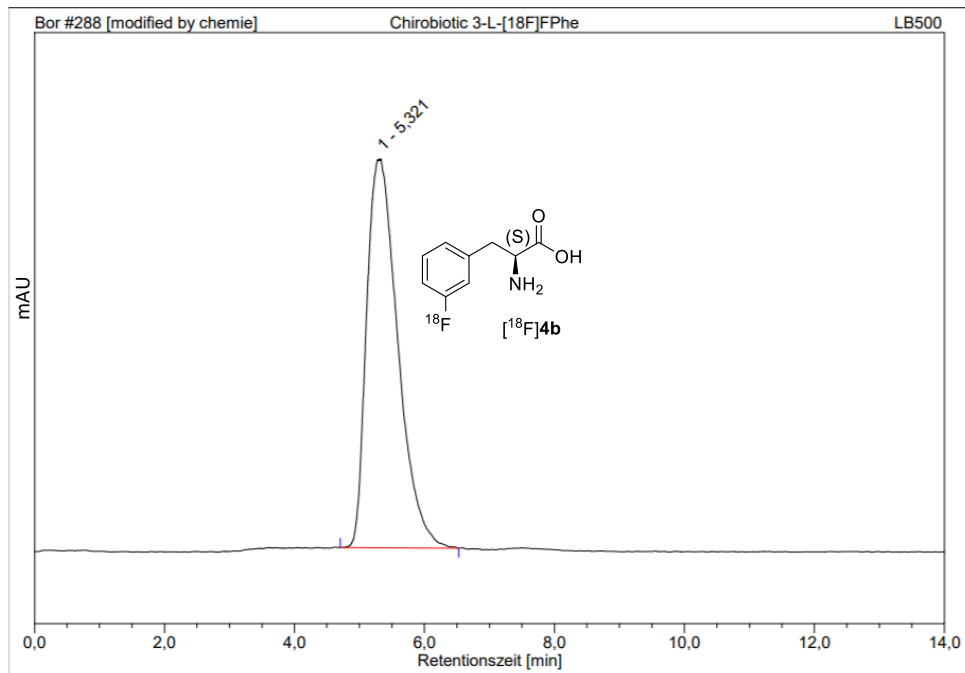
| Nr.           | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|---------------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1             | 5,78                  | 42,251            | 100,00        |
| <b>Total:</b> |                       | 42,251            | 100,00        |

### *rac*-3-FPhe (Gradient C)



| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 4,90                  | 373,068           | 50,00         |
| 2      | 6,50                  | 184,506           | 50,00         |
| Total: |                       | 557,574           | 100,00        |

### 3-<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]4b) (Gradient C)



| Nr.    | Retentionszeit<br>min | Intensität<br>mAU | Integral<br>% |
|--------|-----------------------|-------------------|---------------|
| 1      | 5,32                  | 592,219           | 100,00        |
| Total: |                       | 592,219           | 100,00        |

### General Procedure for determination of carrier amount and molar activity (GP 6)

An aliquot of the tracer obtained after HPLC purification was set aside for 24 h and thereafter concentrated under reduced pressure. The residue was re-dissolved in 10% MeOH (0.1% TFA) and completely injected into the HPLC system. The peak area was determined and the carrier amount<sup>18</sup> as well as the molar activity were calculated according to the calibration curves ( $\lambda=210$  nm, Fig. S5–S9).

| Tracer                               | Carrier amount (nmol/batch) | Molar activity (GBq/ $\mu$ mol) | Tracer amount (GBq) |
|--------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------|
| 3- <sup>18</sup> F]FPhe              | 27.3                        | 4.6                             | 0.127               |
| 3- <sup>18</sup> F]FPhe              | 14.4                        | 76.3                            | 1.1                 |
| 3- <sup>18</sup> F]FPhe              | 7.5                         | 252.1                           | 1.9                 |
| 4- <sup>18</sup> F]FPhe              | 6.2                         | 29.1                            | 0.179               |
| 2- $\alpha$ Me- <sup>18</sup> F]FPhe | 43.7                        | 3.23                            | 0.14                |
| 3- $\alpha$ Me- <sup>18</sup> F]FPhe | 8.2                         | 61.2                            | 0.5                 |
| 3- $\alpha$ Me- <sup>18</sup> F]FPhe | 42.3                        | 33.1                            | 1.4                 |
| 4- $\alpha$ Me- <sup>18</sup> F]FPhe | 164.2                       | 2.0                             | 0.33                |

Table S4. Carrier amounts and molar activities for [<sup>18</sup>F]**4b,c** and [<sup>18</sup>F]**4g-i**.

## Determination of specific activity and carrier amount for 3-[<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]**4b**).

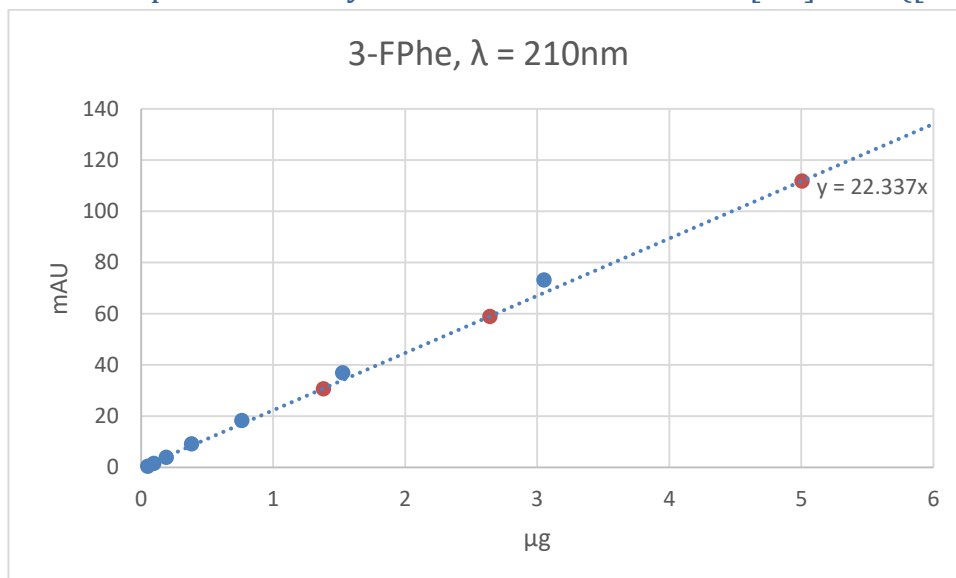


Figure S5. Calibration curve for 3-FPhe (**4b**). Blue points: calibration points; peak areas in mAU which correspond to definite masses of 3-FPhe (Y and X values, respectively), red points; peak areas in mAU which correspond to masses of 3-FPhe in the whole batches.

Sample 1: 42 MBq aliquot was taken from 127 MBq batch of the tracer.

Peak area of the 3-FPhe peak in the injected aliquot: 37.27 mAU.

Mass of injected 3-FPhe: 1.67  $\mu\text{g}$ .

3-FPhe in the whole batch: 5.01  $\mu\text{g}$ .

$M_r(3\text{-FPhe}) = 183.18 \text{ Da}$ .

Carrier amount: 27.3 nmol/batch

Molar activity: 4.6 GBq/ $\mu\text{mol}$ .

Sample 2: 0.2 GBq aliquot was taken from 1.1 GBq batch of the tracer.

Peak area of the 3-FPhe peak in the injected aliquot: 10.7 mAU.

Mass of injected 3-FPhe: 0.48  $\mu\text{g}$ .

3-FPhe in the whole batch: 2.64  $\mu\text{g}$ .

Carrier amount: 14.4 nmol/batch

Molar activity: 76.3 GBq/ $\mu\text{mol}$ .

Sample 3: 0.25 GBq aliquot was taken from 1.9 GBq batch of the tracer.

Peak area of the 3-FPhe peak in the injected aliquot: 4.1 mAU.

Mass of injected 3-FPhe: 0.18  $\mu\text{g}$ .

3-FPhe in the whole batch: 1.38  $\mu\text{g}$ .

Carrier amount: 7.5 nmol/batch

Molar activity: 252.1 GBq/ $\mu\text{mol}$ .



Determination of specific activity and carrier amount for 4-[<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]**4c**).

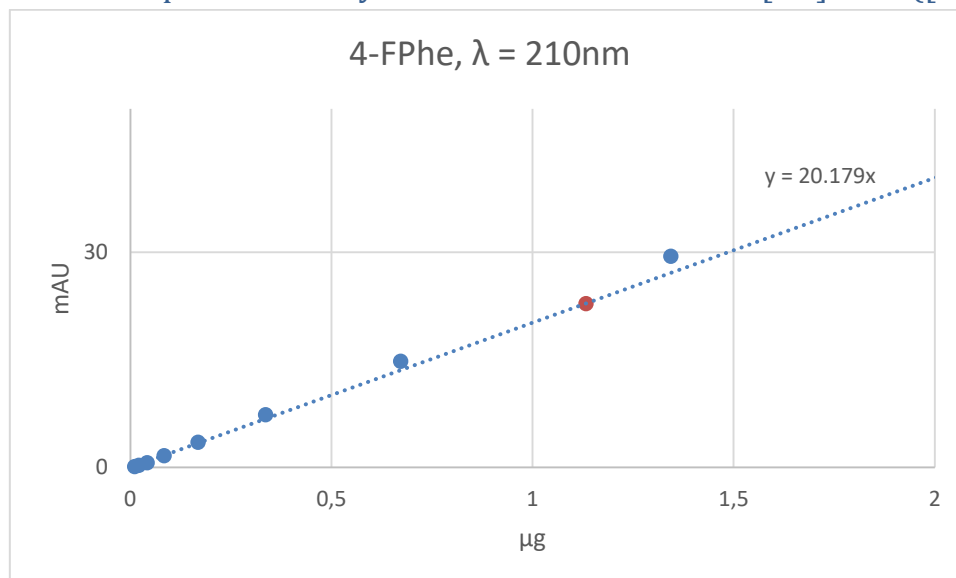


Figure S6. Calibration curve for 4-FPhe (**4b**). Blue points: calibration points; peak areas in mAU which correspond to definite masses of 4-FPhe (Y and X values, respectively), red points; peak areas in mAU which correspond to mass of 4-FPhe in the whole batch.

Sample: 60 MBq aliquot was taken from 179 MBq batch of the tracer.

Peak area of the 4-FPhe peak in the injected aliquot: 7.62 mAU.

Mass of injected 4-FPhe: 0.38  $\mu\text{g}$ .

4-FPhe in the whole batch: 1.13  $\mu\text{g}$ .

$M_r(4\text{-FPhe}) = 183.18 \text{ Da}$ .

Carrier amount: 6.2 nmol/batch

Molar activity: 29.1 GBq/ $\mu\text{mol}$ .

Determination of specific activity and carrier amount for  $\alpha$ Me-2- $^{18}\text{F}$ FPhe ( $^{18}\text{F}$ 4g).

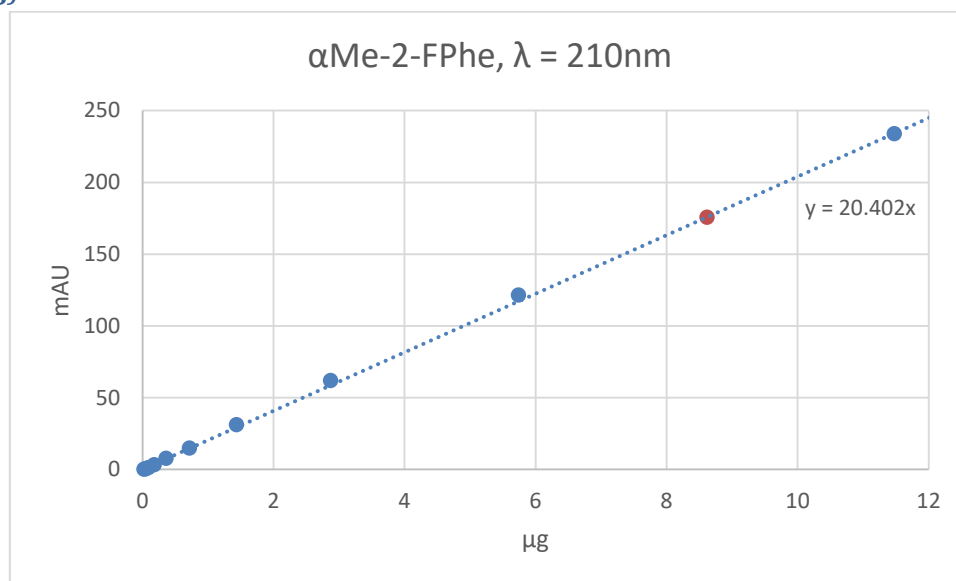


Figure S7. Calibration curve for  $\alpha$ Me-2-FPhe (4g). Blue points: calibration points; peak areas in mAU which correspond to definite masses of  $\alpha$ Me-2-FPhe (Y and X values, respectively), red points; peak areas in mAU which correspond to mass of  $\alpha$ Me-2-FPhe in the whole batch.

Sample: 47 MBq aliquot was taken from 140 MBq batch of the tracer.

Peak area of the  $\alpha$ Me-2-FPhe peak in the injected aliquot: 58.6 mAU.

Mass of injected  $\alpha$ Me-2-FPhe: 2.87  $\mu\text{g}$ .

$\alpha$ Me-2-FPhe in the whole batch: 8.62  $\mu\text{g}$ .

$M_r(\alpha\text{Me-2-FPhe}) = 197.21 \text{ Da}$ .

Carrier amount: 43.7 nmol/batch

Molar activity: 3.23 GBq/ $\mu\text{mol}$ .

Determination of specific activity and carrier amount for  $\alpha$ Me-3- $^{18}\text{F}$ FPhe ( $^{18}\text{F}$ 4h).

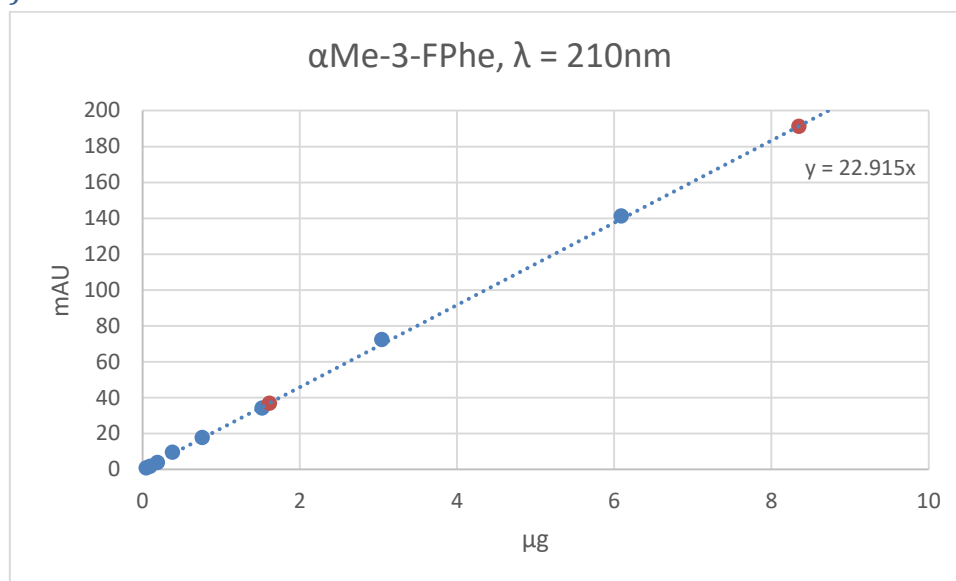


Figure S8. Calibration curve for  $\alpha$ Me-3-FPhe (**4h**). Blue points: calibration points; peak areas in mAU which correspond to definite masses of  $\alpha$ Me-3-FPhe ( $Y$  and  $X$  values, respectively), red points; peak areas in mAU which correspond to masses of  $\alpha$ Me-3-FPhe in the whole batches.

Sample 1: 167 MBq aliquot was taken from 500 MBq batch of the tracer.

Peak area of the  $\alpha$ Me-3-FPhe peak in the injected aliquot: 12.3 mAU.

Mass of injected  $\alpha$ Me-3-FPhe: 0.54  $\mu\text{g}$ .

$\alpha$ Me-3-FPhe in the whole batch: 1.61  $\mu\text{g}$ .

$M_r(\alpha\text{Me-3-FPhe}) = 197.21 \text{ Da}$ .

Carrier amount: 8.2 nmol/batch

Molar activity: 61.2 GBq/ $\mu\text{mol}$ .

Sample 2: 0.2 GBq aliquot was taken from 1.4 GBq batch of the tracer.

Peak area of the  $\alpha$ Me-3-FPhe peak in the injected aliquot: 27.3 mAU.

Mass of injected  $\alpha$ Me-3-FPhe: 1.16  $\mu\text{g}$ .

$\alpha$ Me-3-FPhe in the whole batch: 8.35  $\mu\text{g}$ .

Carrier amount: 42.3 nmol/batch

Molar activity: 33.1 GBq/ $\mu$ mol.

Determination of specific activity and carrier amount for  $\alpha$ Me-4- $^{18}\text{F}$ FPhe ( $^{18}\text{F}$ 4i).

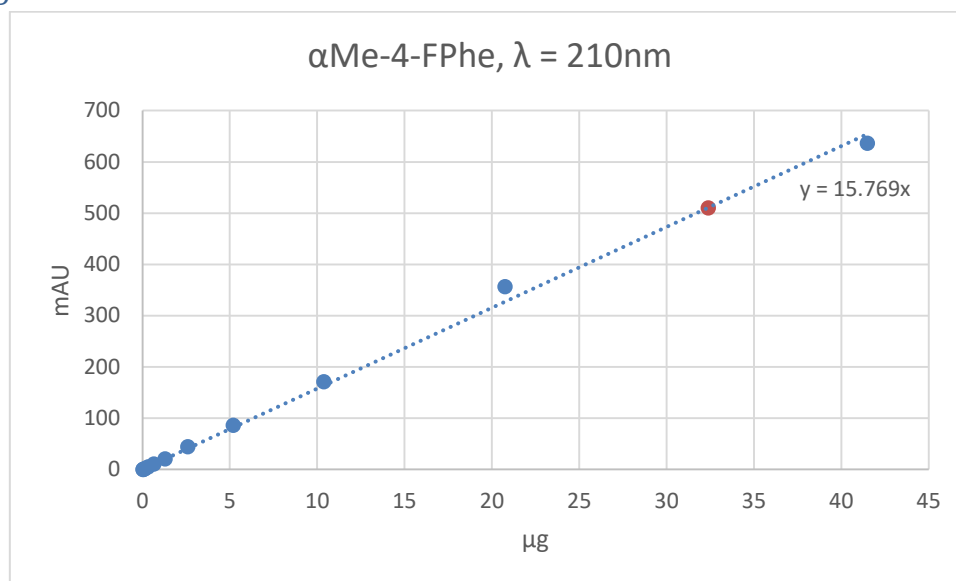


Figure S9. Calibration curve for  $\alpha$ Me-4-FPhe (4i). Blue points: calibration points; peak areas in mAU which correspond to definite masses of  $\alpha$ Me-4-FPhe (Y and X values, respectively), red points; peak areas in mAU which correspond to mass of  $\alpha$ Me-3-FPhe in the whole batch.

Sample 1: 110 MBq aliquot was taken from 330 MBq batch of the tracer.

Peak area of the  $\alpha$ Me-4-FPhe peak in the injected aliquot: 170.2 mAU.

Mass of injected  $\alpha$ Me-4-FPhe: 10.79  $\mu\text{g}$ .

$\alpha$ Me-4-FPhe in the whole batch: 32.38  $\mu\text{g}$ .

$M_r(\alpha\text{Me-4-FPhe}) = 197.21 \text{ Da}$ .

Carrier amount: 164.2 nmol/batch

Molar activity: 2.0 GBq/ $\mu\text{mol}$ .

## Induced-Coupled Plasma Mass Spectrometry Results

| Sample                       | Ni             |                                  | Cu          |                                  |
|------------------------------|----------------|----------------------------------|-------------|----------------------------------|
|                              | Mean<br>[mg/L] | Amount per<br>product batch (mg) | Mean [mg/L] | Amount per product<br>batch (mg) |
| 2-[ <sup>18</sup> F]FPhe     | 0.125          | 0.004                            | 0.703       | 0.021                            |
| 3-[ <sup>18</sup> F]FPhe     | 0.215          | 0.006                            | 1.803       | 0.054                            |
| 4-[ <sup>18</sup> F]FPhe     | 0.041          | 0.001                            | 0.82        | 0.024                            |
| 2-[ <sup>18</sup> F]FTyr     | 2.016          | 0.060                            | 4.413       | 0.013                            |
| 6-[ <sup>18</sup> F]FMT      | 27.4           | 0.082                            | 84.6        | 0.2538                           |
| αMe-2-[ <sup>18</sup> F]FPhe | 0.845          | 0.025                            | 1.213       | 0.036                            |
| αMe-3-[ <sup>18</sup> F]FPhe | 9.42           | 0.028                            | 15          | 0.045                            |
| αMe-4-[ <sup>18</sup> F]FPhe | 58.3           | 0.1749                           | 124         | 0.372                            |
| 3-[ <sup>18</sup> F]FPhe*    | -              | -                                | 0.248       | 0.007                            |

\*Prepared via **19**.

*Table S5. Induced-Coupled Plasma Mass Spectrometry results.*

## *In vitro* experiments

### General Information

#### *MDA-MB-231*

MDA-MB-231 cells were purchased from the Leibniz-Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH) and cultured in a mixture Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)/Ham's F12 medium (1:1) supplemented with L-glutamine (2 mM), FBS (10%), and penicillin/streptomycin (1%).

#### *MCF-7*

Human breast adenocarcinoma MCF-7 cells were purchased from the Leibniz-Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH) and cultured in minimum essential medium (Gibco, 41090028) supplemented with 10% fetal bovine serum (Sigma Aldrich F 2442), 100 U/ml penicillin/streptomycin (Gibco 15140122), 1% sodium pyruvate (Gibco 11360070), 1% non-essential amino acid and 10 µg/mL human insulin at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> in air.

#### *PC-3*

Human prostate carcinoma PC-3 cells were purchased from the Leibniz-Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH) and cultured in F-12 K Nutrit Mix Medium (Gibco, 21127022) supplemented with 10% fetal bovine serum (Sigma Aldrich F 2442) and 100 U/ml penicillin/streptomycin (Gibco 15140122) at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> in air.

#### *HD-MB03*

Human medulloblastoma HD-MB03 cells were purchased from the Leibniz-Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH) and cultured in RPMI 1640 Medium (Gibco, 6187010) supplemented with 10% fetal bovine serum (Sigma Aldrich F 2442), 100 U/ml penicillin/streptomycin (Gibco 15140122) and 1 % non-essential amino acid at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> in air.

### Cellular uptake studies

Cells were used in their exponential growth phase. 48 hours prior to the start of the uptake studies the cells were seeded to obtain a cell density of  $2.5 \times 10^5$  cells per vial. The culture medium was then replaced by an incubation medium. Cell viability assays were performed

according to a standard protocol using trypan blue (95% of cells vital). The incubation medium was aspirated and cells were incubated with 1 mL of radiotracer containing medium (150  $\mu$ Ci radiotracer/mL medium) each for 20, 40, 60, 80, 100 and 120 minutes at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub> in air.

At the respective time points, the supernatant medium was aspirated, cells were washed three times with 1 mL ice-cold PBS each, detached with trypsin and suspended in medium. Radiotracer uptake was determined by counting in a gamma counter. Radioactivity was referenced to a 1 mL sample of medium containing 150  $\mu$ Ci of the radiotracer (100% value). All determinations were performed in triplicate. For direct comparison, all given percentages have been normalized to 250,000 cells.

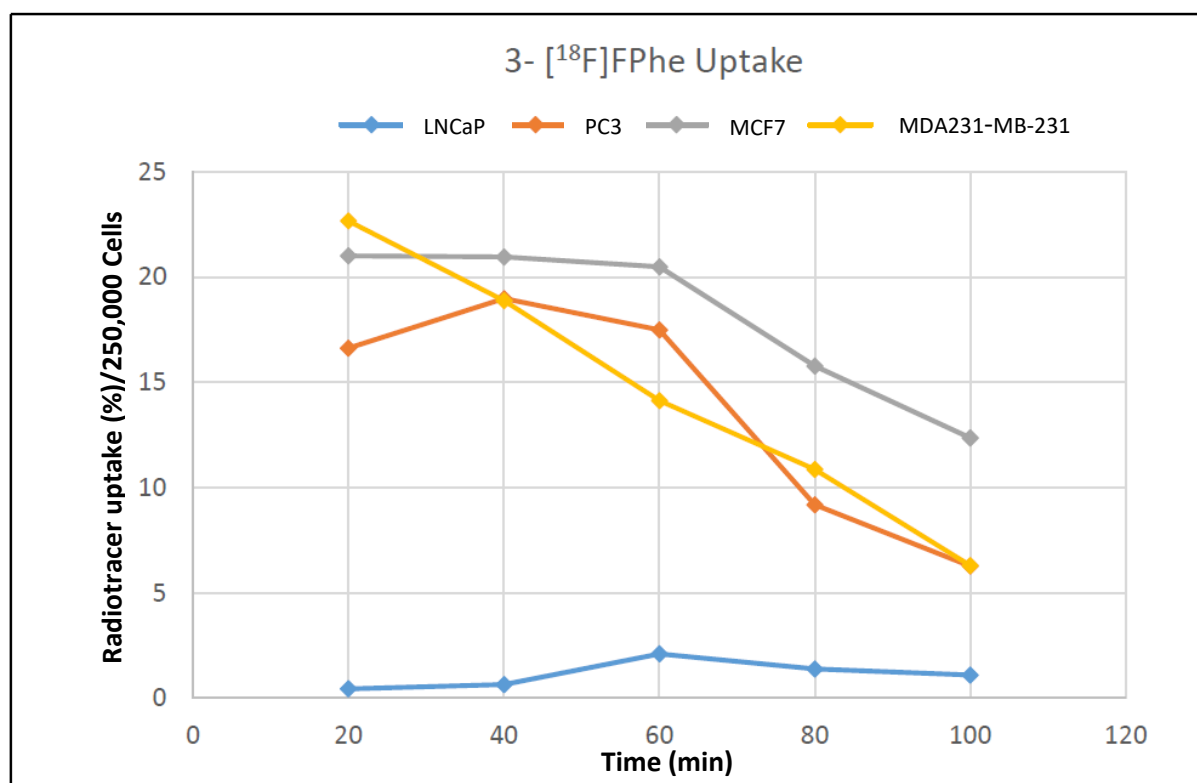


Figure S10. 3-<sup>18</sup>F]FPhe (**4b**) uptake in various cell lines.



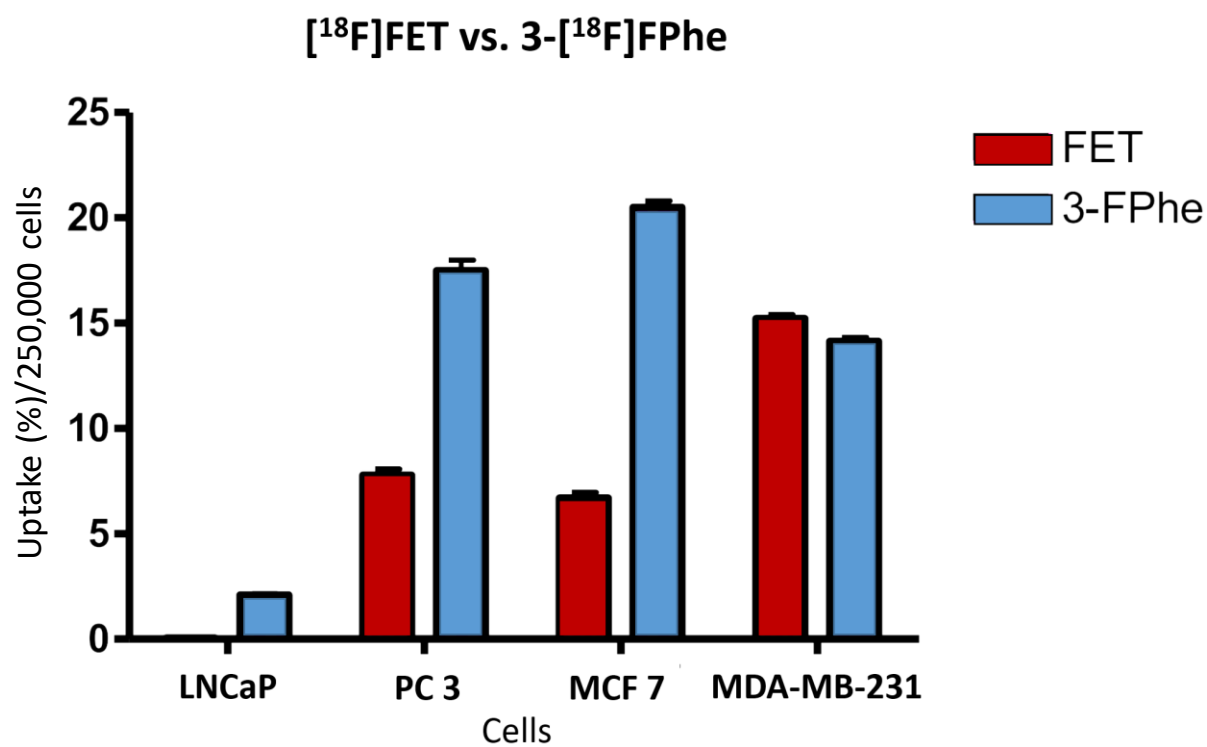


Chart S1. Uptake of [<sup>18</sup>F]FET and 3-[<sup>18</sup>F]FPhe (<sup>18</sup>F**4b**) in different tumor cell lines after 1 h incubation.

## PET Evaluation

### General

#### *Animals*

Experiments were carried out in accordance with the EU directive 2010/63/EU for animal experiments and the German Animal Welfare Act (TierSchG, 2006) and were approved by regional authorities (LANUV NRW, 84-02.04.2017.A288). Six healthy male Long Evans rats (243–534 g body weight) were used for this study. Rats were housed in pairs in individually ventilated cages (NexGen Ecoflo, cages RAT1800 with 1805 cm<sup>2</sup> floor space and 41 cm height; Allentown Inc., Allentown, NJ, USA) under controlled ambient conditions ( $22 \pm 1$  °C and  $55 \pm 5\%$  relative humidity) on an inversed 12 h light/dark schedule (lights on 9:00 p.m. to 9:00 a.m.). Food and water were available at all times.

#### *PET Imaging*

The six rats were assigned to two groups (n=3 each): With and without AADC inhibition. In the AADC inhibition group, rats received an intraperitoneal injection of 15 mg/kg benserazide in 0.5 mL NaCl 1 h before tracer injection. Prior to PET measurements, animals were anesthetized (initial dosage, 5% isoflurane in O<sub>2</sub>/air (3:7), then reduction to 2%), and a catheter for tracer injection was inserted into the lateral tail vein. Rats were placed on an animal holder (Minerve, Esternay, France) and fixed with a tooth bar in a respiratory mask. Dynamic PET scans in list mode were performed using a Focus 220 micro-PET scanner (CTI-Siemens, Germany) with a resolution at center of field of view of 1.4 mm. Data acquisition started with tracer injection ( $65.5 \pm 2.6$  MBq of 3-[<sup>18</sup>F]FPhe ([<sup>18</sup>F]**4b**) in 0.5 mL, i.v.), continued for 120 min, and was followed by a 10 min transmission scan using a [<sup>57</sup>Co] point source. The breathing rate was monitored and kept around 60/min by adjusting isoflurane concentration (1.5–2.5%). Body temperature was maintained at 37 °C by warm airflow through the animal bed. Following Fourier rebinning, data were reconstructed using an iterative OSEM3D/MAP procedure including attenuation and decay correction in two different ways: (1) 28 frames (2 × 1 min, 2 × 2 min, 6 × 4 min, 18 × 5 min) for a compilation of time-activity curves; (2) 4 frames (4 × 30 min) for visual display. Resulting voxel sizes were always 0.38 mm × 0.38 mm × 0.79 mm.

### *Image analysis and statistics*

Data analysis was performed using the software VINCI 4.72. Images were manually co-registered with a structural MR image template, Gauss filtered (1 mm FWHM), and  $SUV_{bw}$  was determined by dividing each image by the injected dose and multiplying the result by bodyweight times 100. To obtain bone TACs, an elliptical  $4\text{ mm}^3$  (36 voxels) volume of interest (VOI) was placed over the lambdoidal crest of the skull. For brain TACs, a  $620\text{ mm}^2$  (5400 voxels) VOI was used, which was carefully placed to avoid areas with radioactivity spillover from bones. VOI mean  $SUV_{bw}$  values were extracted from each of the 28 frames and plotted over time.

Differences in 3- $[^{18}\text{F}]$ FPhe brain uptake were evaluated using a two-way ANOVA (Graphpad Prism 6.0) with the factors AADC inhibition (no repeated measures) and timepoint (repeated measures), followed by Sidak's multiple comparison test.

## Comparison of brain uptake of 3-<sup>[18F]</sup>FPhe in healthy rats with/without benserazide

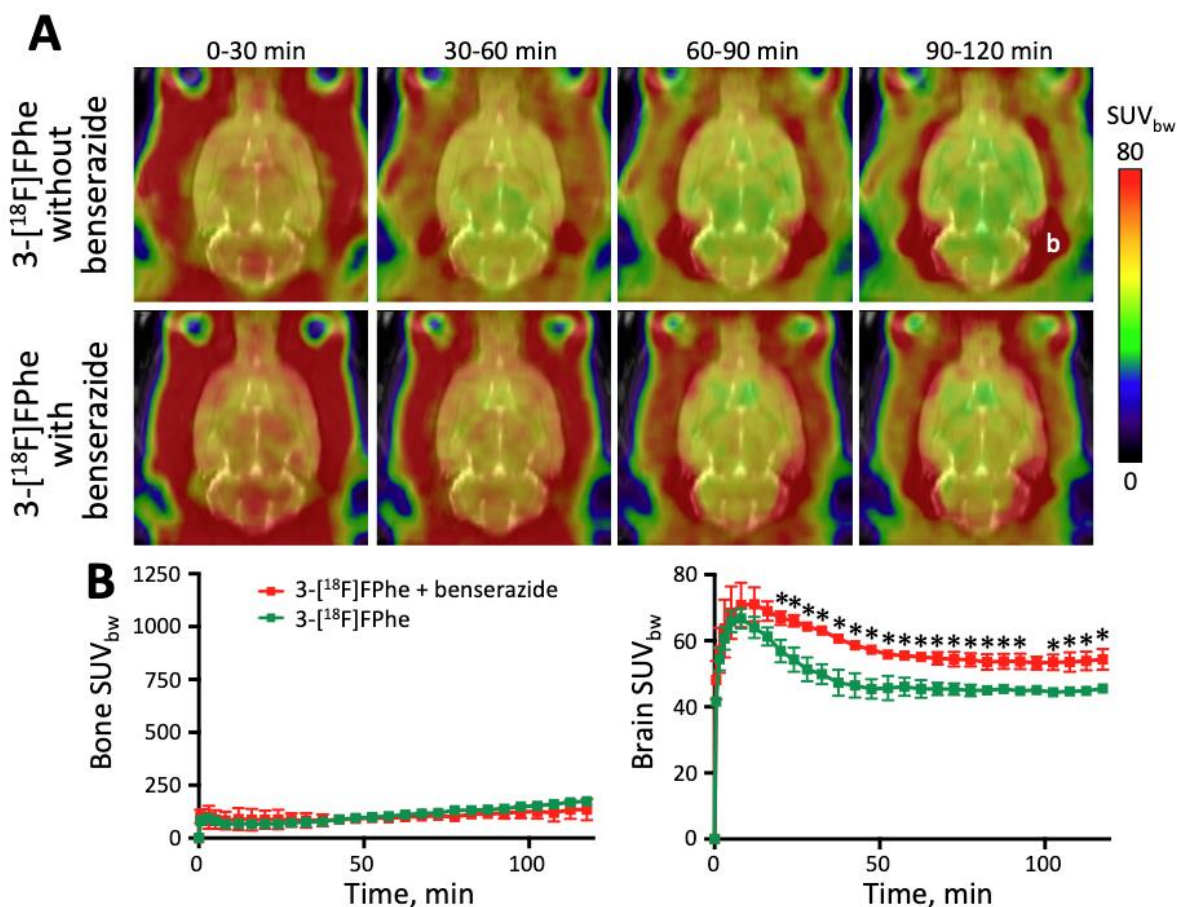


Figure S11: Biodistribution of 3-<sup>[18F]</sup>FPhe in healthy rat brains with and without the peripheral amino acid decarboxylase (AADC) inhibitor benserazide. A: Horizontal PET images displayed in frames of 30 min and projected onto an MRI template. b: Lambdoidal crest where bone uptake was measured for time-activity curves (TACs). B: TACs (n=3 each) for bone (left) and whole brain (right). Asterisks: significantly different 3-<sup>[18F]</sup>FPhe (<sup>[18F]</sup>4b) uptake at the respective time points.

While bone uptake of 3-<sup>[18F]</sup>FPhe (<sup>[18F]</sup>4b) was similar in the two groups, brain uptake was significantly higher when peripheral AADC was blocked with benserazide. Two-way ANOVA revealed a significant main effect of factor AADC inhibition: F(1,4)=26.4; p=0.0068. Sidak's post-hoc comparison showed significant differences in 3-<sup>[18F]</sup>FPhe uptake (p<0.05) from 20 min p.i. through 120 min p.i. (except 95 min p.i.).

## References

1. M. A. Berliner and K. Belecki, *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 9618-9621.
2. Y. N. Belokon, V. I. Tararov, V. I. Maleev, T. F. Savel'eva and M. G. Ryzhov, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1998, **9**, 4249-4252.
3. Y. N. Belokon, V. I. Bakhmutov, N. I. Chernoglazova, K. A. Kochetkov, S. V. Vitt, N. S. Garbalinskaya and V. M. Belikov, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1988, 305-312.
4. Y. N. Belokon, S. M. Motsishkite, V. I. Tararov and V. I. Maleev, *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci.*, 1991, **40**, 1355-1360.
5. D. J. Smith, G. P. A. Yap, J. A. Kelley and J. P. Schneider, *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 1513-1520.
6. V. P. Kukhar, Y. N. Belokon, V. A. Soloshonok, N. Yu. Svistunova, A. B. Rozhenko and N. A. Kuz'mina, *Synthesis*, 1993, 117-120.
7. J. Zischler, N. Kolks, D. Modemann, B. Neumaier and B. D. Zlatopolskiy, *Chem. Eur. J.*, 2017, **23**, 3251-3256.
8. Janssen Pharmaceutica NV; G.-H. Kuo, M. R. Player, S.-M. Yang, Y.-M. Zhang, and H. Huang, WO/2016/057731, 2016, A1 *Location in patent: 85-86*, 102.
9. Laboratoire Biodim; R. Benarous, F. Chevreuil, B. Ledoussal, S. Chasset and F. Le Strat, WO/2014/057103, 2014, A1.
10. Hoffmann-La Roche Inc.; P. Barbier, I. Huber, F. Schneider, J. Stadlwieser and S. Taylor, US5583222, 1996, A.
11. S. Bartolucci, F. Bartocchini, M. Righi and G. Piersanti, *Org. Lett.*, 2012, **14**, 600-603.
12. H. Ueki, T. K. Ellis, C. H. Martin, and V. A. Soloshonok, *Eur. J. Org. Chem.*, 2003, 1954-1957.
13. Y. N. Belokon, N. B. Bespalova, T. D. Churkina, I. Císařová, M. G. Ezernitskaya, S. R. Harutyunyan, R. Hrdina, H. B. Kagan, P. Kočovský, K. A. Kochetkov, O. V. Larionov, K. A. Lyssenko, M. North, M. Polášek, A. S. Peregudov, V. V. Prisyazhnyuk and Štěpán Vyskočil, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 12860-12871.
14. W. S. Saari, J. Williams, S. F. Britcher, D. E. Wolf and F. A. Kuehl, *J. Med. Chem.*, 1967, **10**, 1008-1014.
15. R. E. Counsell, P. Desai, T. D. Smith and P. S. Chan, *J. Med. Chem.*, 1970, **13**, 1040-1042.
16. J. S. Haynes, S. J. Rettig, J. R. Sams, J. Trotter and R. C. Thompson, *Inorg. Chem.* 1988, **27**, 1237-1241.
17. K. Hamacher and H. H. Coenen, *Appl. Radiat. Isot.*, 2002, **57**, 853-856.
18. D. J. Modemann, B. D. Zlatopolskiy, E. A. Urusova, J. Zischler, A. Craig, J. Ermert, M. Guliyev, H. Endepols and B. Neumaier, *Synthesis*, 2019, **51**, 664-676.

**Preparation of *N*<sub>1</sub>-methyl-6-[<sup>18</sup>F]F- and 5-hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]F-tryptophans  
as candidate PET-tracers for pathway-specific visualization of  
tryptophan metabolism**

**Supporting Information**

**Table of Contents**

|  |     |
|--|-----|
| 1. Materials and Methods   | S2  |
| 2. Organic syntheses   |     |
| Unsuccessful synthetic pathways towards 5-HO-7-FTrp                    | S4  |
| 3. Characterization  | S32 |
| 3.1. <sup>1</sup> H-, <sup>13</sup> C- and <sup>19</sup> F-NMR-spectra | S32 |
| 3.2. HPLC-Data   | S94 |

## **1. Materials and Methods**

### **1.1. General**

Unless noted otherwise, all chemicals and solvents were purchased from VWR International (Radnor, PA, USA), Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany), ChemPUR (Karlsruhe, Germany), ABCR GmbH (Karlsruhe, Germany) or Fluka AG (Buchs, Switzerland) and used without further purification.

### **1.2. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy**

NMR-Spectra were measured at ambient temperature in deuterium oxide ( $D_2O$ ), deuteriochloroform ( $CDCl_3$ ), deuteromethanol ( $CD_3OD$ ), deuterioacetonitrile ( $MeCN-d_3$ ) or deuterodimethylsulfoxide ( $DMSO-d_6$ ) as indicated using a BRUKER Ascend™ 400. The measured chemical shifts are reported in  $\delta$  [ppm] relative to residual peaks of non-deuterated solvents. The observed signal multiplicities are characterized as follows: s = singlet,  $s_b$  = broad singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet and dd = doublet of doublet. Coupling constants  $J$  are reported in Hertz (Hz).

### **1.3. Mass spectrometry (MS)**

Low resolution mass spectra (LRMS) were measured with an MSQ Plus™ mass spectrometer (Thermo Electron Corporation, San Jose, USA).

High resolution mass spectra were measured with a FTICR “LTQ FT Ultra” (Thermo Fisher Scientific Inc., Bremen, Germany).

### **1.4. Column chromatography**

Manual column chromatography was performed with silica gel, 60 Å, 230–400 mesh particle size from Fluka AG (Buchs, Switzerland) or silica gel (with 0.1% Ca), 60 Å, 230–400 mesh particle size from Sigma-Aldrich GmbH (Steinheim, Germany).

Automated column chromatography was either performed on a Grace Reverelis X1 (Columbia, Maryland, USA) or on a Büchi Pure C-815 Flash system using Si60 FlashPure cartridges or Reveleris™ C<sub>18</sub> reversed phase cartridges.

### **1.5. Thin layer chromatography (TLC)**

TLC was performed using aluminium sheets coated with silica gel 0.25 mm SIL G/UV 254 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Chromatograms were inspected under UV light ( $\lambda = 254$  nm) and/or stained with phosphomolybdic acid (20% in EtOH).

### **1.6. High-performance liquid chromatography (HPLC)**

HPLC analyses were carried out on a Dionex Ultimate® 3000 System with Ultimate® 3000 variable wavelength detector coupled in series with a Berthold LB500 NaI detector. Two Rheodyne 6 port injection valves equipped with equal sample loops were installed in front of and behind the chromatographic column. The UV and radioactivity detectors were connected in series, giving a time delay of 0.1 – 0.2 min between the corresponding responses, depending on the flow rate. Semi-preparative HPLC was performed on a dedicated semi-preparative system consisting of a Knauer K-100 pump, a Knauer K-2501 UV Detector, a Rheodyne 6 port injection valve equipped with a 2 mL injection loop and a custom-made Geiger counter. HPLC columns were purchased from Phenomenex (Aschaffenburg, Germany) and Merck KGaA (Darmstadt, Germany).

### **1.7. Chemistry**

All reactions were carried out with magnetic stirring. Organic extracts were dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$ . Air or moisture sensitive reagents were handled under argon (>99.999%, Air Liquide GmbH). Solutions were concentrated under reduced pressure (1 – 900 mbar) at 40 – 50 °C using a rotary evaporator (Büchi Labortechnik, Essen, Germany). Solvent proportions are indicated in a volume/volume ratio.



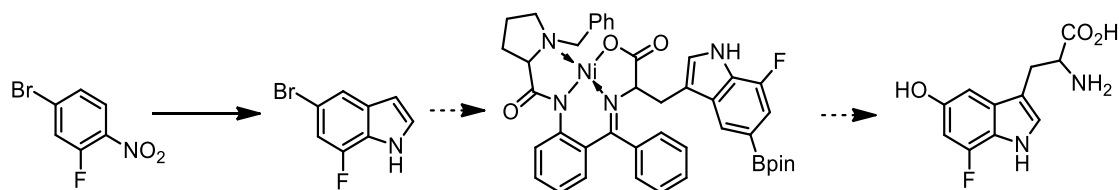
## 2. Organic syntheses

### Unsuccessful synthetic pathways towards 5-hydroxy-7-fluorotryptophan

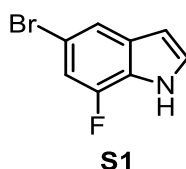
Several other synthetic pathways towards the reference structure 5-HO-7-FTrp were attempted unsuccessfully and are documented here.

#### 2.1. Via Indole synthesis using Bartoli-reaction

Proposed synthetic route:



##### 2.1.1. 5-Bromo-7-fluoroindole (S1)<sup>[1]</sup>



Magnesium (1 eq, 16.36 mmol, 0.39 g) was placed in a three necked flask with a thermometer, a reflux-condenser and dropping-funnel and the Mg and apparatus was dried and inertised under Ar. The Mg was suspended in dry THF (8 mL), the funnel was filled with 1.0 M vinylbromide in THF (1.1 eq, 18 mmol, 18 mL) and the reaction was started with slow addition of the vinylbromide and heating of the flask. When the reaction began (temperature increase and color change from clear to yellow) the flask was placed in a cooling bath to keep the reaction temperature at 50 – 60 °C. After complete addition of vinylbromide the reaction was cooled to ambient temperature. (Titration against iodine in THF: 0.46 M)

4-Bromo-2-fluoronitrobenzene (1 g, 4.5 mmol, 1 eq) was dissolved in THF (17 mL) and fresh vinylmagnesiumbromide-solution (29.3 mL, 13.5 mmol, 3 eq) was added slowly over 30 min at –40 °C. The mixture was stirred for 1 h at –40 °C, poured into sat. NH<sub>4</sub>Cl-solution (10 mL) and extracted with EtOAc. The organic phase was dried and concentrated under reduced pressure and the residue was purified by column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / gradient, 20:1 to 10:1) and RP chromatography (MeCN/water, gradient) to obtain 5-Br-7-F-indole as a yellow oil (0.115 g, 0.54 mmol, 12%).

**Yield** 12%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.39 (s, 1H), 7.59 (dd, J = 1.6, 0.7 Hz, 1H), 7.32 – 7.20 (m, 1H), 7.09 (dd, J = 10.3, 1.6 Hz, 1H), 6.56 (td, J = 3.3, 2.1 Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 149.02 (d, J = 248.3 Hz, C-F), 132.41 (d, J = 5.7 Hz, C), 125.88 (CH), 123.11 (CH), 119.22 (d, J = 3.6 Hz, CH), 111.65 (d, J = 8.0 Hz, C), 110.59 (d, J = 19.7 Hz, CH), 103.07 (d, J = 2.2 Hz, CH).

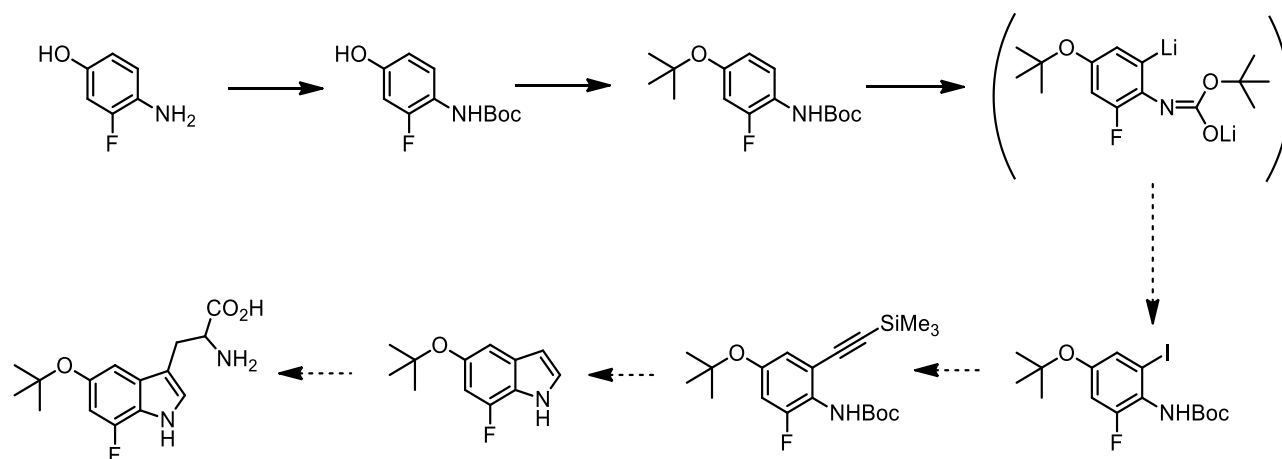
**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: –132.66.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>BrFN<sup>+</sup> 213.97, found 214.05.

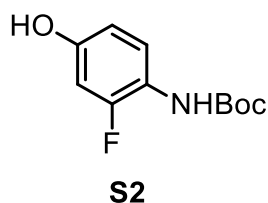
It was not possible to reproduce the yield given in literature<sup>[1]</sup> with either commercial or freshly prepared vinylmagnesiumbromide. Producing the required amount of indole would have required more starting material than available.

## 2.2. Via Indole synthesis using iodinated aniline for Cassar-Sonogashira-reaction

Proposed synthetic route:



### 2.2.1. *Tert*-butyl (2-fluoro-4-hydroxyphenyl)carbamate (S2)<sup>[1]</sup>



4-Amino-3-fluorophenol (2.5 g, 19.6 mmol, 1 eq) was added to Boc<sub>2</sub>O (4.3 g, 19.6 mmol, 1 eq) and InCl<sub>3</sub> (43 mg, 0.196 mmol, 1 mol%) at 35 °C. The mixture was stirred for 1 h (until complete conversion was observed via TLC/HPLC). The mixture was diluted with EtOAc (200 mL) and washed with water (80 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / 3:1). The product was obtained as a clear, light-brown oil (3.951 g, 17.4 mmol, 89%).

**Yield** 89%.

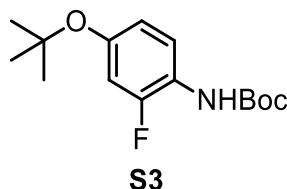
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.56 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 6.62 – 6.49 (m, 2H), 6.42 (s, 1H), 2.21 (s, 1H), 1.53 (d, J = 1.2 Hz, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 154.62 (d, J = 164.8 Hz, C-F), 153.30 (d, J = 11.0 Hz, C), 153.02 (C), 123.65 (CH), 118.37 (d, J = 11.5 Hz, C), 111.30 (d, J = 3.2 Hz, CH), 103.35 (d, J = 22.5 Hz, CH), 81.14 (C), 28.32 (CH<sub>3</sub> × 3).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -127.39.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>FNO<sub>3</sub><sup>+</sup> 228.24, found 228.28.

### 2.2.2. *Tert*-butyl (4-(*tert*-butoxy)-2-fluorophenyl)carbamate (S3)<sup>[1]</sup>



*Tert*-butyl (2-fluoro-4-hydroxyphenyl)carbamate (3.45 g, 15 mmol, 1 eq) was dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (24 mL). Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (0.345 g, 1.5 mmol, 0.1 eq, dried at 150 °C for 2 h) and Boc<sub>2</sub>O (7.85 g, 34.5 mmol, 2.3 eq) were added and the mixture was stirred at 40 °C overnight (Progress was monitored via TLC and HPLC). Additional Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (0.345 g, 1.5 mmol, 0.1 eq, dried at 150 °C for 2 h) and Boc<sub>2</sub>O (7.85 g, 34.5 mmol, 2.3 eq) were added and the mixture was stirred at 40 °C for 3 d. The mixture was subsequently diluted with H<sub>2</sub>O (80 mL), extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 × 150 mL), dried and concentrated under reduced pressure and purified via column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / 4:1). The product was obtained as a yellowish solid (2.05 g, 7.2 mmol, 48%).

**Yield** 48%.

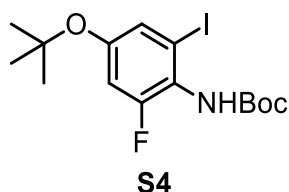
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.90 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 6.87 – 6.70 (m, 2H), 6.58 (s, 1H), 1.54 (s, 9H), 1.34 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 152.65 (C), 151.98 (d, J = 232.7 Hz, C-F), 150.72 (C), 122.46 (d, J = 10.5 Hz, C), 120.16 (d, J = 3.0 Hz, CH), 111.30 (d, J = 19.5 Hz, CH), 80.83 (C), 79.10 (C), 28.69 (CH<sub>3</sub> × 3), 28.29 (CH<sub>3</sub> × 3).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -133.52.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>FNO<sub>3</sub><sup>+</sup> 284.35, found 284.37.

### 2.2.3. *Tert*-butyl (4-(*tert*-butoxy)-2-fluoro-6-iodophenyl)carbamate (S4)<sup>[1]</sup>

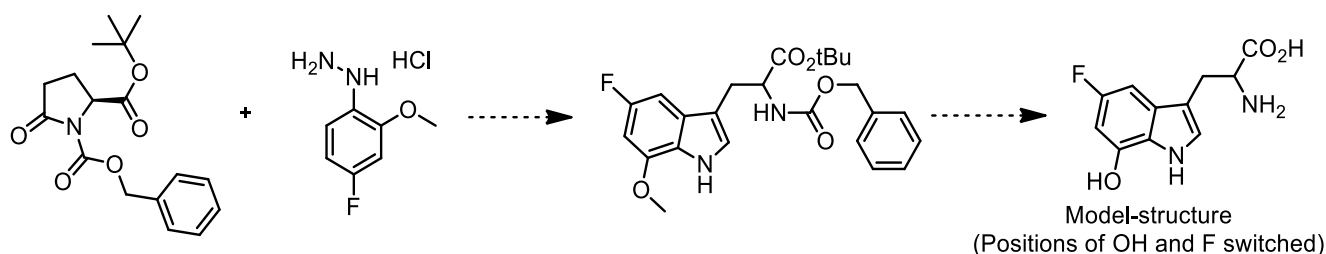


At dry-ice temperature, *tert*-butyllithium in pentane (25 mL, 42.5 mmol, 2 eq, 1.7 M) was added to a solution of *tert*-butyl (4-(*tert*-butoxy)-2-fluorophenyl)carbamate (6 g, 21.25 mmol, 1 eq) in anhydrous tetrahydrofuran (40 mL). After 3 h at  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ , the mixture was treated with iodine [2.7 g, 21.25 mmol, 1 eq (mmol and eq calculated for monoatomic iodine)] and, at  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , with a saturated aqueous solution (50 mL) of sodium thiosulfate before being extracted with diethyl ether ( $3 \times 50\text{ mL}$ ). Evaporation and crystallization from hexanes did not give the desired product.

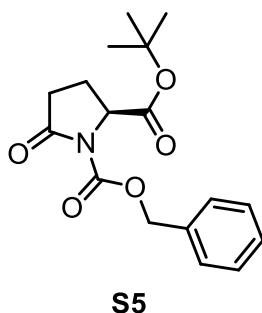
It was not possible to obtain the product by reproducing the synthesis given in literature<sup>[1]</sup>.

### 2.3. Via cyclization to form tryptophan

Proposed synthetic route:



### 2.3.1. (*S*)-1-Benzyl 2-*tert*-butyl 5-oxopyrrolidine-1,2-dicarboxylate (S5)



*Tert*-butyl L-pyrroglutamate (5 g, 26.9 mmol, 1 eq) and NaH (1.18 g, 29.6 mmol, 1.1 eq, 60% in Oil) were dissolved in THF (80 mL) and stirred for 30 min. The mixture was cooled to

-50 °C and benzylchloroformate (5 g, 4.2 mL, 29.6 mmol, 1.1 eq) was added. The mixture was stirred for 20 h at ambient temperature. The solvent was removed under reduced pressure and sat. NH<sub>4</sub>Cl-sol. (200 mL) was added. The mixture was extracted with EtOAc (2 × 200 mL) and the organic phases were dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / 2:1). The product was obtained as a colorless oil (7.05 g, 22.1 mmol, 82%).

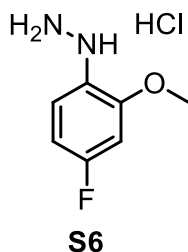
**Yield** 82%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.46 – 7.27 (m, 5H), 5.39 – 5.18 (m, 2H), 4.56 (dd, J = 9.4, 2.6 Hz, 1H), 2.65 (ddd, J = 17.6, 10.6, 9.5 Hz, 1H), 2.50 (ddd, J = 17.5, 9.3, 3.2 Hz, 1H), 2.33 (ddt, J = 13.4, 10.6, 9.4 Hz, 1H), 2.11 – 2.00 (m, 1H), 1.40 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 173.12 (C), 170.08 (C), 150.94 (C), 135.09 (C), 128.56 (CH × 2), 128.41 (CH), 128.22 (CH × 2), 82.57 (C), 68.23 (CH<sub>2</sub>), 59.40 (CH), 31.03 (CH<sub>2</sub>), 27.80 (CH<sub>3</sub> × 3), 21.91 (CH<sub>2</sub>).

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> 320.15, found 320.25.

### 2.3.2. (4-Fluoro-2-methoxyphenyl)hydrazine hydrochloride (S6)



4-Fluoro-2-methoxyaniline (4.66 g, 33 mmol, 1 eq) was dissolved in conc. HCl (20 mL) and cooled to 0 °C. 2 N Sodium nitrite-sol. (24.5 mL, 49 mmol) was added and the mixture was stirred at 0 °C for 30 min. 1 M Tin(II)Cl<sub>2</sub> × 2 H<sub>2</sub>O in conc. HCl (99 mL, 99 mmol) was added and the mixture was stirred at ambient temperature for 5h. Afterwards, the precipitate was filtered off and dried. The product was obtained as a brown solid (6.06 g, 31.04 mmol, 95%).

**Yield** 95%.

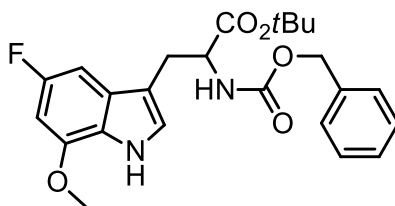
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ ppm: 6.99 (dd, J = 8.7, 5.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, J = 10.6, 2.7 Hz, 1H), 6.60 (td, J = 8.6, 2.7 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, D<sub>2</sub>O) δ ppm: 161.04 (d, J = 242.3 Hz, C-F), 152.24 (d, J = 10.5 Hz, C), 121.04 (d, J = 10.5 Hz, CH), 106.86 (d, J = 23.0 Hz, CH), 100.36 (d, J = 27.6 Hz, CH), 56.02 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, D<sub>2</sub>O) δ ppm: -114.24.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H-HCl]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>FNO<sup>+</sup> 142.15, found 142.22.

**2.3.3. *Tert*-butyl 2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-(5-fluoro-7-methoxy-1*H*-indol-3-yl)propanoate (S7)**

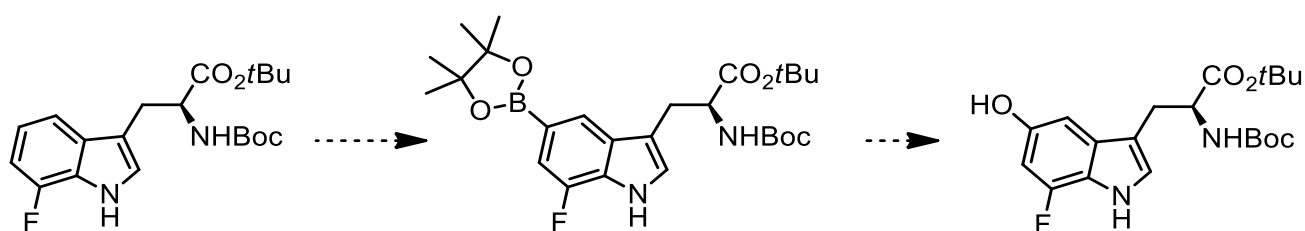


**S7**

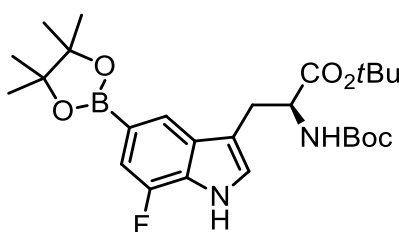
Ortho-methoxy-para-fluoro-phenylhydrazine hydrochloride (0.6 g, 3.1 mmol, 1 eq) and (2*S*)-1-benzyl 2-*tert*-butyl 5-hydroxypyrrolidine-1,2-dicarboxylate (1.61 g, 5 mmol, 1.65 eq) were dissolved in acetic acid/water/EtOH (25/40/35, 16 mL) and refluxed for 2 days with reaction monitoring via TLC. H<sub>2</sub>O (50 mL) was added and the mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The organic layers were washed with sat. NaHCO<sub>3</sub>, dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / 6:1). None of the fractions contained the desired product.

## 2.4. Via borylation of protected 7-fluorotryptophan

### Proposed synthetic route:



### 2.4.1. (*S*)-*N*Boc-5-acetoxy-7-bis(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-tryptophan-*t*Bu (S8)



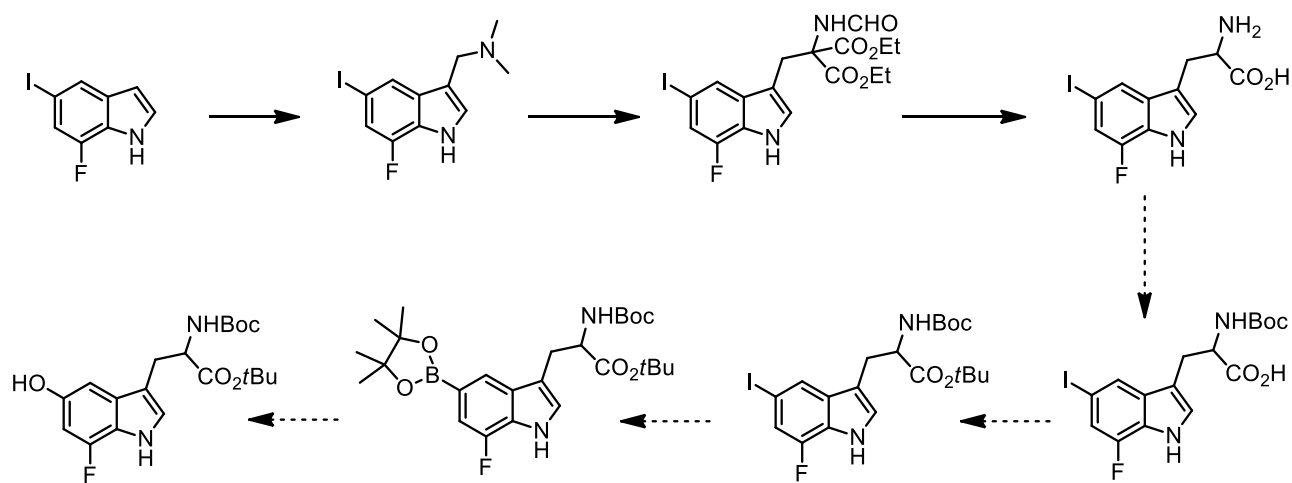
S8

*N*Boc- $\text{CO}_2t\text{Bu}$ -7-FTrp (0.35 g, 0.93 mmol, 1 eq),  $[\text{Ir}(\text{cod})\text{OMe}]_2$  (0.016 g, 0.023 mmol, 2.5 mol%) and 4,4'-di-*tert*-butyl-2,2'-bipyridine (0.013 g, 0.047 mmol, 5 mol%) were suspended in dry THF (8 ml) under Ar-atmosphere. Pinacolborane (0.98 mL, 0.59 g, 4.63 mmol, 5 eq) was added to the solution in one portion and the vessel was sealed and heated at 60 °C for 3 days. Additional  $[\text{Ir}(\text{cod})\text{OMe}]_2$  (0.016 g, 0.023 mmol, 2.5 mol%), 4,4'-di-*tert*-butyl-2,2'-bipyridine (0.013 g, 0.047 mmol, 5 mol%), pinacolborane (0.59 mL, 2.78 mmol, 3 eq) and  $\text{B}_2\text{Pin}_2$  (0.7 g, 2.78 mmol, 3 eq) were added under argon and the mixture was stirred at 60 °C for 7 days.  $\text{Et}_2\text{O}$  (15 mL) was added and the solution was washed with sat.  $\text{NaHCO}_3$ -solution ( $3 \times 10$  mL) and brine ( $3 \times 10$  mL). The organic Phase was dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, 0.1% Ca, Hexane:EtOAc / 3:1).

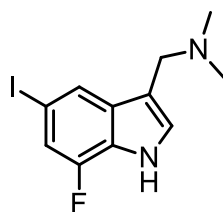
The intermediate product was dissolved in acetic acid (3.5 mL).  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (33 mg, 0.14 mmol, 5 mol%) was added and the mixture was heated at 30 °C under Ar-atmosphere for 20 h.  $\text{Et}_2\text{O}$  (35 mL) was added and the solution was washed with sat.  $\text{NaHCO}_3$ -solution ( $3 \times 20$  mL) and brine ( $3 \times 20$  mL). The organic phase was dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, 0.1% Ca, Hexane:EtOAc / 4:1). None of the fractions contained the desired product.

## 2.5. Via synthesis of *rac*-5-iodo-7-fluorotryptophan

### Proposed synthetic route:



### 2.5.1. 1-(7-Fluoro-5-iodo-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (S9)<sup>[2]</sup>



**S9**

5-I-7-F-indole (1.0 g, 3.8 mmol, 1 eq) was dissolved in AcOH (4 mL). Formaldehyde-sol. (37%, 0.35 mL, 4.75 mmol, 1.25 eq) and dimethylamine-sol. (40%, 0.84 mL, 6.65 mmol, 1.75 eq) were added at 0 °C. The mixture was stirred at ambient temperature overnight and basified to pH = 10 with 3 N NaOH-sol. at 0 °C. The mixture was extracted with EtOAc (4 × 15 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The product was obtained as a colorless solid (1.2 g, 3.7 mmol, 97%).

**Yield** 97%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 11.64 (s, 1H), 7.79 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.23 (dd, *J* = 10.5, 1.4 Hz, 1H), 3.48 (s, 2H), 2.12 (s, 6H).

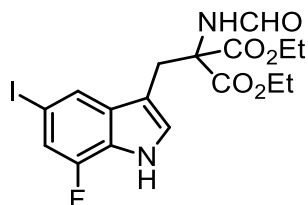
**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 149.37 (d, *J* = 248.7 Hz, C-F), 133.89 (C), 126.96 (CH), 124.68 (d, *J* = 3.1 Hz, CH<sub>2</sub>), 124.13 (d, *J* = 12.7 Hz, C), 114.79 – 114.29 (m, CH), 113.01 (C), 80.47 (d, *J* = 6.6 Hz, C-I), 54.60 (CH<sub>2</sub>), 45.36 (CH<sub>3</sub> × 2).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -130.88.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>FIN<sub>2</sub><sup>+</sup> 319.01, found 319.13.



**2.5.2. Diethyl 2-((7-fluoro-5-iodo-1*H*-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (S10)**



**S10**

1-(7-Fluoro-5-iodo-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (1.6 g, 5 mmol, 1 eq), diethylformamidomalonate (1.12 g, 5.5 mmol, 1.1 eq) and NaOH (50 mg, 1.25 mmol, 0.25 eq) were dissolved in dry toluene (40 mL). The mixture was stirred at 120 °C (reflux) under Ar for 3 d. EtOAc (50 mL) was added and the mixture was washed with 1 M NaHSO<sub>4</sub>-sol. (2 × 50 mL), sat. NaHCO<sub>3</sub>-sol. (2 × 50 mL) and sat. NaCl-sol. (2 × 50 mL). The organic phase was dried and concentrated under reduced pressure. The residue was treated with Et<sub>2</sub>O and colorless solid was filtered off. The precipitate was purified via column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / 1:1, v/v) and the product was obtained as a colorless solid (1.5 g, 3.2 mmol, 64%).

**Yield** 97%.

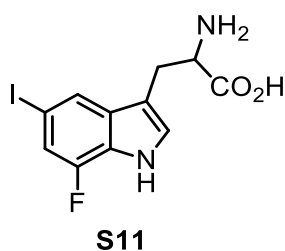
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 8.63 (d, *J* = 1.6 200Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 10.4, 1.3 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.21 – 4.02 (m, 4H), 3.58 (s, 2H), 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 167.38 (C × 2), 161.45 (CH), 149.41 (d, *J* = 249.0 Hz, C-F), 134.09 (C), 127.23 (CH), 123.73 (d, *J* = 3.0 Hz, CH), 123.59 (d, *J* = 13.2 Hz, C), 114.50 (d, *J* = 18.9 Hz, CH), 108.18 (C), 80.71 (C-I), 66.54 (C), 62.46 (CH<sub>2</sub>), 28.36 (CH<sub>2</sub>), 14.23 (CH<sub>3</sub> × 2).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -130.97.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>FIN<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> 477.03, found 477.10.

### 2.5.3. 2-Amino-3-(7-fluoro-5-iodo-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S11)



Diethyl 2-((7-fluoro-5-iodo-1H-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (1.4 g, 3 mmol, 1 eq) was suspended in 2.5 N NaOH (12.5 mL, 31.25 mmol) and heated at 125°C under Ar for 6 h. AcOH (1.78 mL, 31.25 mmol) was added and the mixture was heated at 125 °C for an additional 2 h and then stirred at ambient temperature for 12 h. The product was filtered off. The product was obtained as a colorless solid (0.73 g, 2.1 mmol, 70%)

**Yield** 97%.

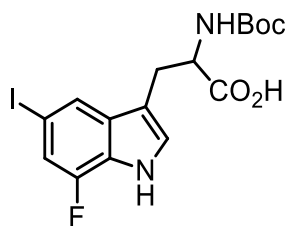
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ ppm: 8.01 (s, 0H), 7.44 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.02 (dd, J = 11.4, 2.7 Hz, 2H), 3.37 (d, J = 3.8 Hz, 2H), 1.86 (s, 0H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, D<sub>2</sub>O) δ ppm: 167.73 (C), 148.19 (d, J = 124.4 Hz, C-F), 127.48 (d, J = 4.5 Hz, CH), 123.20 (CH), 115.32 (d, J = 20.3 Hz, CH), 104.60 (C), 80.14 (d, J = 6.6 Hz, C-I), 66.53 (C), 29.41 (CH<sub>2</sub>).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, D<sub>2</sub>O) δ ppm: -131.48.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>FIN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> 348.98, found 349.05.

#### 2.5.4. NBoc-5-iodo-7-fluorotryptophan (S12)



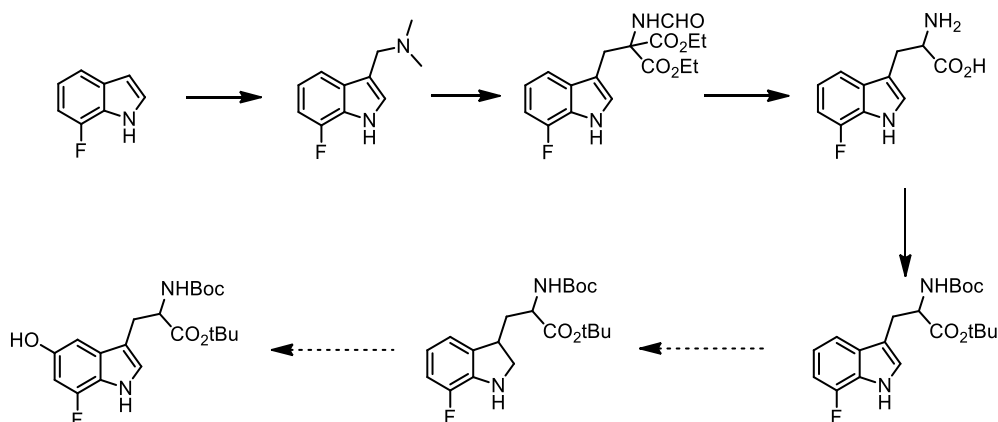
**S12**

5-Iodo-7-fluorotryptophan (75 mg, 0.2 mmol, 1 eq) was suspended in 1 N NaOH (0.3 mL, 1.5 eq) and NaHCO<sub>3</sub> (16.8 mg, 0.2 mmol, 1 eq) and Boc<sub>2</sub>O (66 mg, 0.3 mmol, 1.5 eq) in MeOH (0.5 mL) was added. The mixture was diluted with water (~1 mL) and MeOH (~1 mL) until all components were dissolved and stirred for 3 d. MeOH was removed under reduced pressure and the aqueous phase was washed with Et<sub>2</sub>O (3 × 2 mL). The aqueous phase was acidified to pH = 2 with 1N NaHSO<sub>4</sub> and extracted with Et<sub>2</sub>O (3 × 10 mL). The organic phase was washed with 1N NaHSO<sub>4</sub> (10 mL), sat. NaCl-sol. (2 × 10 mL) and water (3 × 10 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was obtained as a slightly yellow residue (30 mg, 0.06 mmol, 30%).

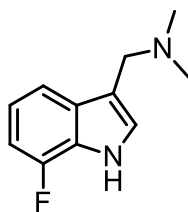
**This path proved too low yielding for the planned follow-up-steps, requiring large amounts of expensive 5-iodo-7-fluoroindole to produce enough NBoc-5-iodo-7-fluorotryptophan.**

## 2.6. Synthesis via 7-FTrp-reduction followed by hydroxylation with Fremy's salt

Proposed synthetic route:



### 2.6.1. 1-(7-Fluoro-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamine (S13)<sup>[2]</sup>



**S13**

7-Fluoroindole (2 g, 14.8 mmol, 1 eq) was dissolved in AcOH (15 mL). Formaldehyde-sol. (37%, 1.37 mL, 18.5 mmol, 1.25 eq) and dimethylamine-sol. (40%, 3.25 mL, 25.9 mmol, 1.75 eq) were added at 0 °C. The mixture was warmed to ambient temperature and stirred at ambient temperature overnight. The mixture was basified to pH 10 – 12 with 3 N NaOH-sol. at 0 °C. The mixture was extracted with EtOAc (4 × 30 mL), washed with brine (15 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was obtained as a brown sticky solid (2.2 g, 11.4 mmol, 77%).

**Yield** 77%.

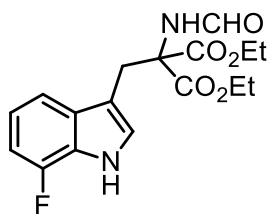
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 7.51 – 7.45 (m, 1H), 7.39 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.02 – 6.86 (m, 2H), 3.75 (s, 2H), 2.28 (s, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 149.69 (d, *J* = 242.7 Hz, C-F), 131.96 (C), 127.12 (CH), 124.48 (d, *J* = 13.1 Hz, C), 119.44 (d, *J* = 6.1 Hz, CH), 115.71 (d, *J* = 3.2 Hz, CH), 111.11 (C), 106.39 (d, *J* = 16.0 Hz, CH), 53.76 (CH<sub>2</sub>), 44.33 (CH<sub>3</sub> × 2).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: –133.71.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>2</sub><sup>+</sup> 193.11, found 193.32.

## 2.6.2. Diethyl 2-((7-fluoro-1H-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (S14)



**S14**

1-(7-Fluoro-1H-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (1.2 g, 6.2 mmol, 1 eq), diethylformamidomalonate (1.4 g, 6.82 mmol, 1.1 eq) and NaOH (62 mg, 1.55 mmol, 0.25 eq) were dissolved in dry toluene (50 mL). The mixture was refluxed under an Ar-stream for 3 d. EtOAc (55 mL) was added and the mixture was washed with 1M NaHSO<sub>4</sub>-sol. (2 × 55 mL), sat. NaHCO<sub>3</sub>-sol. (2 × 55 mL) and sat. NaCl-sol. (2 × 55 mL). The organic phase was dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / 1:1, v/v) and the product was obtained as a colorless solid (0.95 g, 2.7 mmol, 44%).

**Yield** 44%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.55 (s, 1H), 8.20 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.32 – 7.25 (m, 1H), 7.05 – 6.96 (m, 2H), 6.92 – 6.84 (m, 2H), 4.36 – 4.12 (m, 4H), 3.89 (s, 2H), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 167.36 (C), 160.18 (CH), 149.60 (d, J = 243.7 Hz, C-F), 131.68 (C), 124.27 (d, J = 13.3 Hz, C), 124.13 (CH), 119.80 (d, J = 6.2 Hz, C), 114.60 (d, J = 3.3 Hz, CH), 109.75 (C), 106.87 (d, J = 16.0 Hz, CH), 66.67 (C), 62.86 (CH<sub>2</sub>), 28.26 (CH<sub>2</sub>), 13.93 (CH<sub>3</sub> × 2).

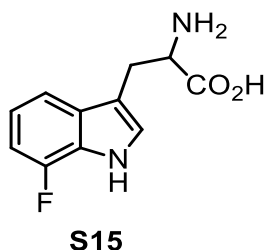
**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -135.45.

**HRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> 351.13563, found 351.13508.

*m/z* [M+Na]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup> 373.11757, found 373.11702.

*m/z* [M+K]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>FKN<sub>2</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup> 389.09151, found 389.09094.

### 2.6.3. 7-Fluorotryptophan (S15)



Diethyl 2-((7-fluoro-1H-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (0.4 g, 1.14 mmol, 1 eq) was dissolved in THF (10.4 mL) and 0.75 N NaOH (5.2 mL) was added. The mixture was stirred at ambient temperature for 24 h. The mixture was slowly acidified with 2.6 mL acetic acid and refluxed for 24 h. The mixture was concentrated under reduced pressure, treated with 3 N HCl (5.2 mL) and refluxed for 24 h. The mixture was cooled to ambient temperature, adjusted to pH 6.0 with 2M KOH-solution and concentrated under reduced pressure. The residue was taken up in water, filtered off and dried under reduced pressure. The product was obtained as a colorless solid (0.21 g, 0.94 mmol, 82%).

**Yield** 82%.

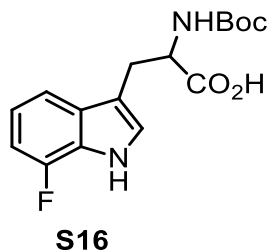
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ ppm: 7.43 (dt, *J* = 8.0, 0.8 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 7.03 (td, *J* = 7.9, 4.7 Hz, 1H), 6.90 (ddd, *J* = 11.4, 7.8, 0.8 Hz, 1H), 4.28 (dd, *J* = 7.8, 5.0 Hz, 1H), 3.55 – 3.47 (m, 1H), 3.44 – 3.34 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ ppm: 170.17 (C), 149.87 (d, *J* = 243.3 Hz, C-F), 130.90 (d, *J* = 5.6 Hz, C), 125.23 (CH), 124.96 (d, *J* = 13.6 Hz, C), 119.24 (d, *J* = 6.3 Hz, CH), 113.69 (d, *J* = 3.4 Hz, CH), 107.58 (C), 106.09 (d, *J* = 16.5 Hz, CH), 53.05 (C), 26.13 (CH<sub>2</sub>).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ ppm: –136.97.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> 223.22, found 223.25.

**2.6.4. 2-((*Tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S16)<sup>[3]</sup>**



7-Fluorotryptophan (1.0 g, 4.5 mmol, 1 eq) was suspended in 1 N NaOH (6.75 mL, 1.5 eq) and NaHCO<sub>3</sub> (0.37 g, 4.5 mmol, 1 eq) and Boc<sub>2</sub>O (1.47 g, 6.75 mmol, 1.5 eq) in MeOH (10 mL) were added. The mixture was diluted with water (~20 ml) and MeOH (~20 mL) until all components were dissolved and stirred for 3 d. MeOH was removed under reduced pressure and the aqueous phase was washed with Et<sub>2</sub>O (3 × 20 mL). The aqueous phase was acidified to pH = 2 with 1N NaHSO<sub>4</sub> and extracted with Et<sub>2</sub>O (3 × 30 mL). The organic phase was washed with 1N NaHSO<sub>4</sub> (20 mL), sat. NaCl-sol. (2 × 20 mL) and water (3 × 20 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The product was obtained as a colorless foam (1.13 g, 3.5 mmol, 77%).

**Yield** 77%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7.37 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.01 (ddd, J = 16.0, 9.9, 6.0 Hz, 2H), 6.91 (dd, J = 11.1, 7.6 Hz, 1H), 5.15 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 4.70 (q, J = 6.1 Hz, 1H), 3.33 (qd, J = 14.9, 5.6 Hz, 2H), 1.44 (s, 6H), 1.31 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 176.49 (C), 155.64 (C), 149.62 (d, J = 243.6 Hz, C-F), 131.51 (d, J = 3.8 Hz, C), 124.51 (d, J = 13.4 Hz, C), 123.79 (CH), 119.81 (CH), 114.56 (CH), 110.80 (C), 106.94 (d, J = 16.0 Hz, CH), 80.42 (C), 54.18 (CH), 28.30 (CH<sub>3</sub> × 3), 27.68 (CH<sub>2</sub>).

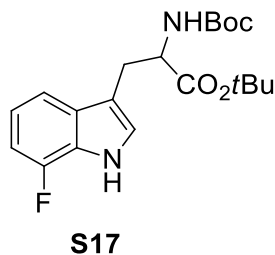
**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -135.25.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+Na]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>2</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup> 345.12, found 345.07.

*m/z* [2M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>F<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup> 645.27, found 645.21.

*m/z* [2M+Na]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>F<sub>2</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>8</sub><sup>+</sup> 667.26, found 667.17.

2.6.5. *Tert*-butyl 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (S17)<sup>[4]</sup>



*N*Boc-7-FTrp (1.7 g, 5.3 mmol, 1 eq) and *tert*-butyl 2,2,2-trichloroacetimidate (2.31 g, 10.6 mmol, 2 eq) were dissolved in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (26.5 mL) and stirred at 40 °C for 3 d. Approximately half of the solvent was removed under reduced pressure and the mixture was stored at –20 °C for 12 h. The precipitate was filtered off and washed with cold CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL). The filtrate was washed with sat. NaHCO<sub>3</sub>-sol. (15 mL), 1 N NaHSO<sub>4</sub> (15 mL), water (15 mL) and brine (15 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / gradient, 4:1 to 2:1, v/v) and RP flash chromatography (CHROMABOND Sorbent C<sub>18</sub>, water:MeCN, gradient, 20% to 100% MeCN). The residue was treated with Et<sub>2</sub>O and the precipitate was filtered off. The product was obtained as a colorless solid (1.1 g, 2.9 mmol, 55%).

**Yield** 55%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 10% DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 7.22 – 7.12 (m, 1H), 6.89 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 6.79 (dq, *J* = 8.2, 5.3, 3.6 Hz, 1H), 6.67 (ddd, *J* = 10.8, 7.9, 2.4 Hz, 1H), 5.09 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.29 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.03 (q, *J* = 9.4, 8.7 Hz, 2H), 1.32 – 1.07 (m, 18H).

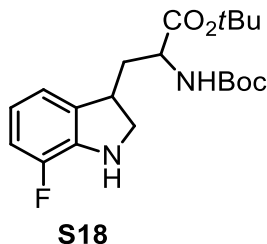
**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 10% DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 171.16 (C), 155.11 (C), 149.60 (d, *J* = 243.3 Hz, C-F), 131.58 (C), 124.34 (d, *J* = 13.4 Hz, C), 124.11 (CH), 120.15 – 117.43 (m, CH), 114.59 (CH), 112.21 – 109.15 (m, C), 106.07 (d, *J* = 16.3 Hz, CH), 81.48 (C), 79.24 (C), 54.62 (CH), 28.23 (CH<sub>3</sub> × 3), 27.85 (CH<sub>2</sub>), 27.80 (CH<sub>3</sub> × 3).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 10% DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: –134.53.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> 379.20, found 379.20.



2.6.6. *Tert*-butyl 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoroindolin-3-yl)propanoate (S18)<sup>[5]</sup>



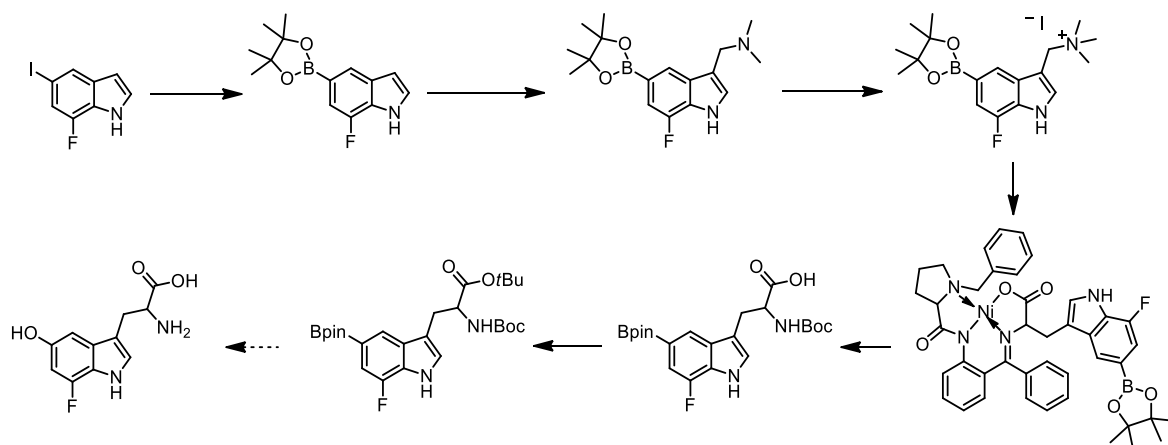
*N*Boc-7-FTrp-*O*tBu (0.1 g, 0.26 mmol, 1 eq) was dissolved in THF (0.75 mL) and AcOH (0.1 mL) was added. Sodium cyanoborohydride (33 mg, 0.52 mmol, 2 eq) was added in portions. The mixture was stirred for 1 h. Additional sodium cyanoborohydride (132 mg, 2.08 mmol, 8 eq) and AcOH (0.1 mL) was added and the mixture stirred for an additional 1 h. The AcOH was partially removed under reduced pressure, and 2 N NaOH (5 mL) was added. The mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 5 mL), washed with brine (5 mL), dried and concentrated under reduced pressure.

No conversion was observed.

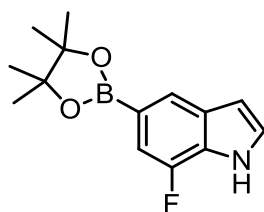
**It was not possible to reproduce the reduction of the indole-moiety in tryptophan-derivatives in 7-fluorotryptophan.**

## 2.7. Synthesis via Ni-BPB-Trp-complex with Bpin-leaving group

### Proposed synthetic route:



### 2.7.1. 7-Fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (S19)<sup>[6]</sup>



**S19**

7-Fluoro-5-iodoindole (2.5 g, 9.6 mmol, 1 eq), bis(pinacolato)diboron (3 g, 11.5 mmol, 1.2 eq), Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (0.7 g, 0.96 mmol, 0.1 eq) and KOAc (2 g, 20 mmol, 2.1 eq) were dissolved in dry DMF (30 mL) under Ar atmosphere and stirred at 75 °C overnight and 90 °C for 3 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was taken up in Et<sub>2</sub>O (50 mL). The mixture was washed with brine (3 × 50 mL) and water (3 × 50 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, 0.1% Ca, Hexane:EtOAc / 4:1). The product was obtained as an off white solid (2 g, 7.6 mmol, 80%).

**Yield** 80%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.50 (s, 1H), 7.96 (q, J = 0.9 Hz, 1H), 7.38 – 7.21 (m, 2H), 6.61 (td, J = 3.4, 2.1 Hz, 1H), 1.28 (s, 12H).

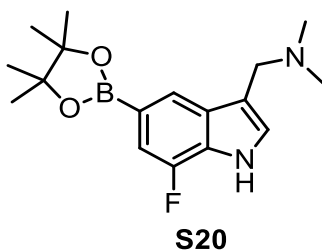
**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 149.34 (d, J = 244.2 Hz, C-F), 131.51 (d, J = 5.1 Hz, C), 126.33 (d, J = 13.6 Hz, C), 124.60 (d, J = 52.5 Hz, CH), 111.79 (d, J = 14.3 Hz, CH), 106.31 – 101.69 (m, CH), 83.62 (d, J = 17.8 Hz, C × 2), 25.03 (CH<sub>3</sub> × 4), C-B was not observed.

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -136.54.

**LRMS (ESI)**  $m/z$   $[M+H]^+$  calcd. for  $C_{14}H_{18}BFNO_2^+$  262.14, found 262.26.

$m/z$   $[M+K]^+$  calcd. for  $C_{14}H_{17}BFNNaO_2^+$  300.10, found 300.37.

**2.7.2. 1-(7-Fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamine (S20)<sup>[2]</sup>**



5-Bpin-7-fluoroindole (2.73 g, 10.5 mmol, 1 eq) was dissolved in AcOH (25 mL). Formaldehyde-sol. (37%, 1 mL, 13.13 mmol, 1.25 eq) and dimethylamine-sol. (40%, 2.33 mL, 18.4 mmol, 1.75 eq) were added at 0 °C. The mixture was stirred at ambient temperature for 4 h and basified to pH = 10 with 3 N NaOH-sol. at 0 °C. The mixture was extracted with EtOAc (5 × 20 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was obtained as a colorless oily solid (2.9 g, 9.1 mmol, 86%) and used without purification.

**Yield** 86%.

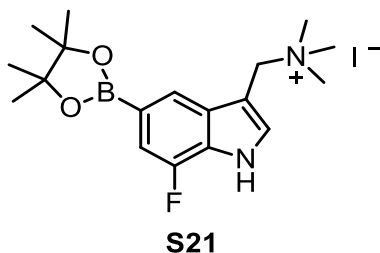
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: 7.93 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.19 (d,  $J$  = 11.8 Hz, 1H), 4.88 (s, 4H), 3.74 (s, 2H), 2.32 (s, 7H), 1.37 (s, 12H), 1.22 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: 149.37 (d,  $J$  = 244.0 Hz, C-F), 131.62 (d,  $J$  = 5.5 Hz, C), 126.00 (CH), 122.14 (CH), 111.68 (C), 110.56 (d,  $J$  = 14.6 Hz, CH), 83.52 (C × 2), 53.06 (CH<sub>2</sub>), 43.54 (CH<sub>3</sub> × 2), 23.83 (CH<sub>3</sub> × 4), C-B was not observed.

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: -138.30.

**LRMS (ESI)**  $m/z$   $[M+H]^+$  calcd. for  $C_{17}H_{25}BFN_2O_2^+$  319.20, found 319.18.

2.7.3. 1-(7-Fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (S21)



1-(7-Fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (0.785 g, 2.5 mmol, 1 eq) was dissolved in ethanol (70 mL) and cooled to 0 °C. Iodomethane (0.78 mL, 12.5 mmol, 5 eq) was added and the mixture was stirred at ambient temperature for 3 d. The mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was treated with pentane until a solid precipitate formed. The solid was filtered off, rinsed and dried under reduced pressure. The crude product was obtained as an off-white solid (0.98 g, 2.1 mmol, 84%).

**Yield** 84%.

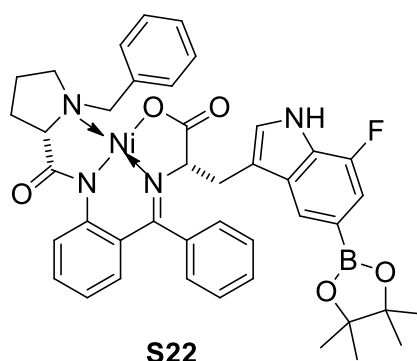
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 8.15 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.82 (dd, *J* = 13.4, 2.7 Hz, 1H), 7.21 (dd, *J* = 11.6, 5.1 Hz, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.35 (s, 4H), 3.13 (s, 3H), 3.06 (s, 5H), 1.32 (d, *J* = 4.2 Hz, 12H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 149.49 (d, *J* = 241.4 Hz, C-F), 132.30 (d, *J* = 27.2 Hz, C), 126.67 (d, *J* = 6.7 Hz, C), 122.56 (d, *J* = 2.2 Hz, CH), 111.77 (d, *J* = 13.8 Hz, CH), 104.01 (d, *J* = 22.2 Hz, C), 84.18 (d, *J* = 3.6 Hz, C × 2), 60.27 (CH<sub>2</sub>), 58.71 (CH<sub>2</sub>), 54.94 (CH<sub>3</sub> × 3), 51.71 (CH<sub>3</sub> × 3), 25.21 (CH<sub>3</sub> × 4), C-B was not observed.

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -133.96.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M-I]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> 333.21, found 333.20.

#### 2.7.4. (S,S)-Ni(II)-BPB-5-BPin-7-F-Trp (S22)<sup>[7]</sup>



1-(5-BPin-7-fluoro-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodide (0.385 g, 0.837 mmol, 1 eq), (S)-Ni-BPB-Gly (0.392 g, 0.837 mmol, 1 eq) and NaOH powder (0.084 g, 2.09 mmol, 2.5 eq) were dissolved in dry MeCN (40 mL) under Ar and stirred at 60°C overnight.

Additional NaOH powder (0.084 g, 2.09 mmol, 2.5 eq) was added and the mixture was stirred at 60°C for 5 h and ambient temperature for 3 d.

Additional NaOH powder (0.084 g, 2.09 mmol, 2.5 eq) was added and the mixture was stirred at 60°C overnight.

Sat. NH<sub>4</sub>Cl-sol. (150 mL) was added and the mixture was extracted with EtOAc (3 × 40 mL). The organic phase was dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, Chloroform:Acetone / 3:1) and RP flash chromatography (CHROMABOND Sorbent C<sub>18</sub>, water:MeCN, gradient). The product was obtained as a red solid (200 mg, 0.26 mmol, 31%).

**Yield** 31%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 9.19 (s, 1H), 8.21 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.99 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.61 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.47 (dq, J = 31.7, 7.6, 6.9 Hz, 2H), 7.35 – 7.23 (m, 5H), 7.20 – 7.08 (m, 2H), 7.06 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 4.4 Hz, 2H), 4.27 (dd, J = 13.8, 4.9 Hz, 1H), 3.50 – 3.35 (m, 2H), 3.24 (td, J = 11.9, 9.8, 5.8 Hz, 2H), 3.01 (ddd, J = 10.2, 6.6, 3.0 Hz, 1H), 2.40 (q, J = 9.7 Hz, 1H), 2.27 – 2.11 (m, 1H), 1.94 – 1.82 (m, 2H), 1.76 – 1.58 (m, 1H), 1.28 (dd, J = 6.5, 3.5 Hz, 8H), 1.19 (d, J = 5.9 Hz, 4H).

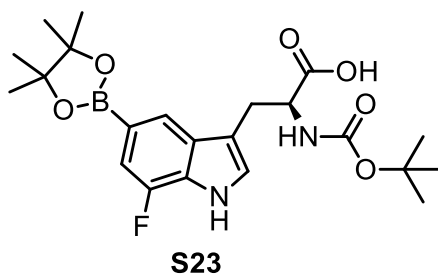
**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 180.00 (C), 179.28 (C), 171.04 (C), 149.42 (d, J = 244.5 Hz, C-F), 142.95 (C), 133.89 (C), 133.42 (CH), 133.18 (C), 132.09 (CH),

131.92 (C), 131.53 (CH), 129.63 (CH), 128.79 (d, J = 5.8 Hz, CH), 128.01 (CH), 127.31 (CH), 126.50 (C), 125.11 (CH), 123.72 (CH), 122.86 (CH), 120.41 (CH), 111.88 (d, J = 14.0 Hz, CH), 111.27 (C), 83.48 (C × 2), 70.31 (CH), 63.06 (CH<sub>2</sub>), 56.98 (CH<sub>2</sub>), 30.82 (CH<sub>2</sub>), 30.34 (CH<sub>2</sub>), 24.80 (d, J = 16.3 Hz, CH<sub>3</sub> × 4), 22.99 (CH<sub>2</sub>), C-B was not observed.

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -136.78.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>BFN<sub>4</sub>NiO<sub>5</sub><sup>+</sup> 771.27, found 771.35.

**2.7.5. (S)-2-((Tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S23)<sup>[8]</sup>**



(*S,S*)-Ni(II)-BPB-5-BPin-7-FTrp (0.17 g, 0.22 mmol, 1 eq) was dissolved in MeOH (10 mL). DTPA (0.43 g, 1.1 mmol, 5 eq) in Et<sub>4</sub>NOH (25%, 1.27 mL, 2.2 mmol, 10 eq) was added and the mixture was stirred at 85 °C for 24 h. MeOH was removed under reduced pressure (an oily precipitate in solution formed) and the aq. Phase was basified to pH = 9 with 1M NaOH. The precipitate was filtered off, washed with cold H<sub>2</sub>O and sat. NaHCO<sub>3</sub> (2 mL) was added. Boc<sub>2</sub>O (0.16 g, 0.733 mmol, 3.33 eq) was added followed by MeOH until the mixture was homogeneous. The mixture was stirred for 3 d at ambient temperature and the MeOH was subsequently removed under reduced pressure (after TLC analysis to confirm complete consumption of starting material). *N,N*-Dimethyltrimethyldiamine (0.62 mmol, 0.063 g, 0.077 mL, 2.8 eq) was added to the aqueous phase and the mixture was stirred for 30 min and subsequently acidified to pH = 2 with solid NaHSO<sub>4</sub> and extracted with Et<sub>2</sub>O (2 × 10 mL). The org. phase was washed with 1M NaHSO<sub>4</sub> (3 × 10 mL), water (3 × 10 mL) and brine (2 × 10 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The product was obtained as a colorless solid (0.044 g, 0.1 mmol, 45%).

**Yield** 45%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 7.91 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 7.34 – 7.15 (m, 2H), 7.07 (dd, J = 11.9, 7.3 Hz, 1H), 4.15 (dddd, J = 20.2, 10.0, 8.2, 4.6 Hz, 1H), 3.16 (dd,

J = 14.5, 4.7 Hz, 1H), 2.97 (dd, J = 14.6, 9.8 Hz, 1H), 1.39 (s, 1H), 1.32 (s, 12H), 1.19 (s, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 54.73 (CH), 28.62 (CH<sub>3</sub> × 4), 25.15 (CH<sub>3</sub> × 4).

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -135.61.

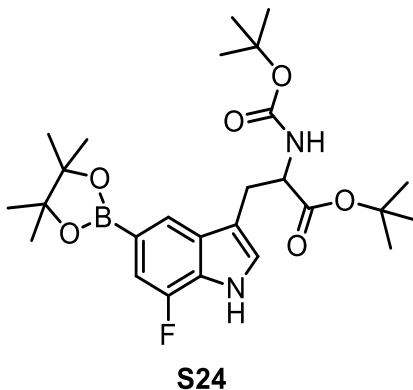
LRMS (ESI) *m/z* [M *t*Bu+2H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup> 393.16, found 393.25.

*m/z* [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>BFN<sub>2</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup> 449.23, found 449.33.

*m/z* [M+Na]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>BFN<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup> 471.21, found 471.27.

HRMS (ESI) *m/z* [M+Na]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>BFN<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup> 471.20732, found 471.20753.

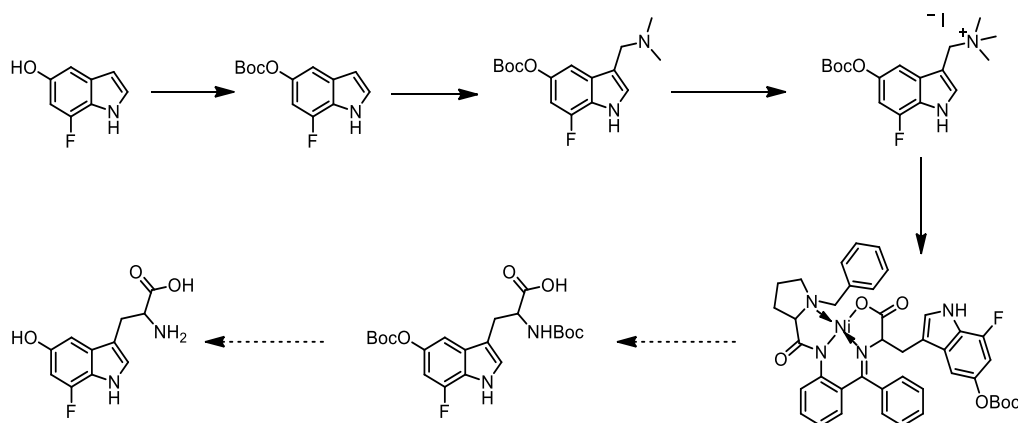
**2.7.6. Tert-butyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)propanoate (S24)**



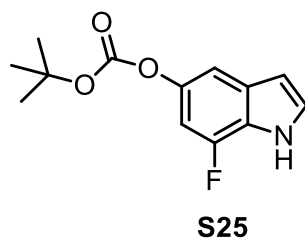
*S*- **or** *R*-NBoc-7-F-5-BPin-Trp (40 mg, 0.09 mmol, 1 eq) and *tert*-butyl 2,2,2-trichloroacetimidate (38 mg, 31 μl, 0.18 mmol, 2 eq) were dissolved in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) and stirred at 40 °C for 1 d. Approximately half of the solvent was removed under reduced pressure and the mixture was stored at -20 °C for 3 d. The precipitate was filtered off and washed with cold CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8 mL). The filtrate was washed with sat. NaHCO<sub>3</sub>-sol. (8 mL), 1 N NaHSO<sub>4</sub> (8 mL), water (8 mL) and brine (8 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, Hexane:EtOAc / 5:1, v/v) and the product was obtained as a lightly yellow solid (24 mg, 0.05 mmol, 80%).

**This path proved too low yielding for the planned follow-up-steps, requiring large amounts of expensive 5-iodo-7-fluoroindole to produce enough NBoc-5-BPin-7-fluorotryptophan-*t*Bu.**

## 2.8. Synthesis via Ni-BPB-Trp-complex with Boc-leaving group



### 2.8.1. *Tert*-butyl (7-fluoro-1*H*-indol-5-yl) carbonate (S25)



5-HO-7-F-indole (63 mg, 0.41 mmol, 1 eq),  $\text{Boc}_2\text{O}$  (0.2 g, 0.9 mmol, 2.2 eq) and  $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (20 mg, 0.09 mmol, 0.22 eq) were dissolved in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.4 mL) in a vial and stirred at 50 °C for 1 d. The mixture was diluted with water and extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 × 10 mL). The organic layer was separated, dried, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (Hexane/EtOAc: 4/1). The product was obtained as a grey crystalline solid (82 mg, 0.33 mmol, 80%)

**Yield** 80%.

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 8.41 (s, 1H), 7.24 (dd,  $J = 2.0, 0.7$  Hz, 1H), 7.23 – 7.21 (m, 1H), 6.82 (dd,  $J = 11.2, 2.0$  Hz, 1H), 6.57 (td,  $J = 3.3, 2.1$  Hz, 1H), 1.60 (s, 9H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 152.62 (C), 149.77 (C), 145.75 (d,  $J = 316.1$  Hz, C-F), 130.43 (d,  $J = 6.1$  Hz, C), 125.98 (CH), 122.21 (d,  $J = 13.1$  Hz, C), 108.44 (d,  $J = 3.9$  Hz, CH), 103.75 (d,  $J = 2.6$  Hz, CH), 102.21 (d,  $J = 19.6$  Hz, C), 83.50 (C), 27.74 ( $\text{CH}_3 \times 3$ ).

**$^{19}\text{F}$  NMR** (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: –132.83.

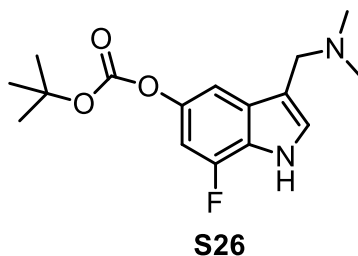
**LRMS (ESI)**  $m/z$   $[\text{M}-\text{tBu}+\text{H}]^+$  calcd. for  $\text{C}_9\text{H}_7\text{FNO}_3^+$  196.04, found 196.24.

$m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calcd. for  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{FNO}_3^+$  252.10, found 252.22.



$m/z$   $[M+MeOH]^+$  calcd. for  $C_{14}H_{18}FNO_4^+$  283.12, found 283.19.

**2.8.2. Tert-butyl (3-((dimethylamino)methyl)-7-fluoro-1H-indol-5-yl) carbonate (S26)<sup>[2]</sup>**



5-OBoc-7-fluoroindole (0.454 g, 1.81 mmol, 1 eq) was dissolved in AcOH (2 mL). Formaldehyde-sol. (37%, 0.17 mL, 2.26 mmol, 1.25 eq) and dimethylamine-sol. (40%, 0.4 mL, 3.17 mmol, 1.75 eq) were added at 0 °C. The mixture was stirred at ambient temperature overnight and basified to pH = 10 with 3 N NaOH-sol. at 0 °C. The mixture was extracted with EtOAc (4 × 27 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The crude product was obtained as purple oily crystals (0.537 g, 1.74 mmol, 96%).

**Yield** 96%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: 7.33 (s, 1H), 7.24 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H), 6.75 (dd,  $J$  = 11.4, 2.0 Hz, 1H), 3.66 (s, 2H), 2.28 (s, 6H), 1.56 (s, 9H).

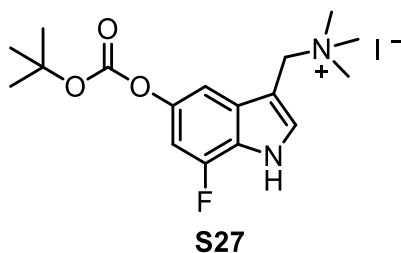
**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: 152.79 (C), 148.64 (d,  $J$  = 245.3 Hz, C-F), 143.94 (d,  $J$  = 9.0 Hz, C), 130.53 (d,  $J$  = 6.6 Hz, C), 127.14 (CH), 122.38 (d,  $J$  = 13.2 Hz, C), 111.74 (C), 106.35 (d,  $J$  = 3.9 Hz, CH), 101.14 (d,  $J$  = 19.9 Hz, CH), 82.72 (C), 53.04 (CH<sub>2</sub>), 43.54 (CH<sub>3</sub> × 2), 26.55 (CH<sub>3</sub> × 3).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, MeOD)  $\delta$  ppm: -134.87.

**LRMS (ESI)**  $m/z$   $[M-tBu+H]^+$  calcd. for  $C_{12}H_{14}FN_2O_3^+$  253.25, found 253.29.

$m/z$   $[M+H]^+$  calcd. for  $C_{16}H_{22}FN_2O_3^+$  309.16, found 309.20.

**2.8.3. 1-(5-((*Tert*-butoxycarbonyl)oxy)-7-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (S27)**



*Tert*-butyl (3-((dimethylamino)methyl)-7-fluoro-1*H*-indol-5-yl) carbonate (0.537 g, 1.74 mmol, 1 eq) was dissolved in ethanol (10 mL) and cooled to 0 °C. Iodomethane (0.54 mL, 8.7 mmol, 5 eq) was added and the mixture was stored at -20 °C overnight. The mixture was concentrated and the residue was treated with Et<sub>2</sub>O until a solid precipitate formed. The precipitate was filtered off and dried under reduced pressure. The crude product was obtained as a colorless solid (0.724 g, 1.61 mmol, 93%).

**Yield** 93%.

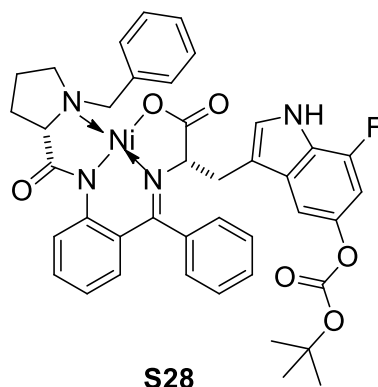
**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 12.32 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.86 (dd, *J* = 15.1, 2.7 Hz, 1H), 7.61 (dd, *J* = 23.6, 2.0 Hz, 1H), 7.04 (dt, *J* = 11.6, 2.3 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 37.3 Hz, 2H), 3.12 (d, *J* = 0.8 Hz, 2H), 3.04 (s, 6H), 1.50 (d, *J* = 1.5 Hz, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: 152.17 (C), 150.00 (C), 146.16 (d, *J* = 280.1 Hz, C-F), 132.97 (CH), 131.11 (C), 122.38 (C), 107.63 (CH), 103.98 (C), 103.10 (CH), 83.60 (C), 65.38 (CH<sub>2</sub>), 60.49 (CH<sub>2</sub>), 54.86 (CH<sub>3</sub>), 51.69 (CH<sub>3</sub> × 3), 27.78 (CH<sub>3</sub> × 3).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm: -130.81.

**LRMS (ESI)** *m/z* [M-I]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> 323.38, found 323.35.

#### 2.8.4. (S,S)-Ni(II)-BPB-5-OBoc-7-FTrp (S28)



1-(5-OBoc-7-fluoro-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodide (50 mg, 0.11 mmol, 1 eq), *S*-Ni-BPB-Gly (55 mg, 0.11 mmol, 1 eq) and NaOH powder (22 mg, 0.55 mmol, 5 eq) were dissolved in dry MeCN (5 mL) under Ar and stirred at 60°C for 3 h and ambient temperature overnight.

Additional NaOH powder (13 mg, 0.33 mmol, 3 eq) was added and the mixture was stirred at 60°C overnight.

Sat. NH<sub>4</sub>Cl-sol. (40 mL) was added and the mixture was extracted with EtOAc (4 × 10 mL). The organic phase was dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified via column chromatography (silica gel, Chloroform:Acetone / 3:1). The product was obtained as a red solid (14 mg, 0.018 mmol, 16%).

**Yield** 16%.

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 8.32 (dd, *J* = 8.7, 1.2 Hz, 1H), 8.15 – 8.04 (m, 2H), 7.65 – 7.48 (m, 3H), 7.46 – 7.39 (m, 2H), 7.39 – 7.27 (m, 2H), 7.25 – 7.18 (m, 2H), 7.18 – 7.06 (m, 2H), 7.05 – 6.95 (m, 1H), 6.82 (dd, *J* = 8.2, 1.7 Hz, 1H), 6.72 (ddd, *J* = 8.1, 6.9, 1.1 Hz, 1H), 6.65 (ddd, *J* = 8.2, 7.0, 1.1 Hz, 0H), 6.56 – 6.45 (m, 1H), 4.49 (dd, *J* = 12.6, 5.1 Hz, 1H), 3.85 – 3.62 (m, 3H), 3.52 – 3.15 (m, 3H), 2.20 – 1.99 (m, 3H), 1.61 (s, 3H), 1.27 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 171.52 (d, *J* = 48.2 Hz, C), 159.46 (C), 153.55 (C), 151.24 (C), 148.53 (d, *J* = 38.8 Hz, C-F), 142.56 (C), 141.25 (C), 134.66 (C), 133.58 (CH), 133.40 (d, *J* = 6.6 Hz, C), 133.22 (CH), 133.08 (C), 132.67 (CH), 132.45 (CH), 132.26 (CH), 131.78 (CH), 131.33 (CH), 130.77 (CH), 130.63 (CH), 130.38 (CH), 130.05 (CH), 129.77 (CH), 129.63 (CH), 129.37 (CH), 129.15 (CH), 128.96 (CH), 128.85 (CH), 128.72 (CH), 128.53 (CH), 128.36 (CH), 128.07 (CH), 127.65 (d, *J* = 9.1 Hz, CH), 126.82 (C), 126.31 (CH), 125.71

(CH), 125.24 (C), 124.32 (CH), 123.59 (CH), 121.20 (CH), 120.90 (CH), 102.20 (d, J = 23.9 Hz, CH), 100.08 (CH), 83.91 (C), 70.84 (CH), 69.93 (CH), 63.18 (CH<sub>2</sub>), 57.55 (CH<sub>2</sub>), 30.74 (CH<sub>2</sub>), 30.27 (CH<sub>2</sub>), 27.98 (CH<sub>3</sub> × 3), 23.74 (CH<sub>2</sub>).

**<sup>19</sup>F NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: -114.32.

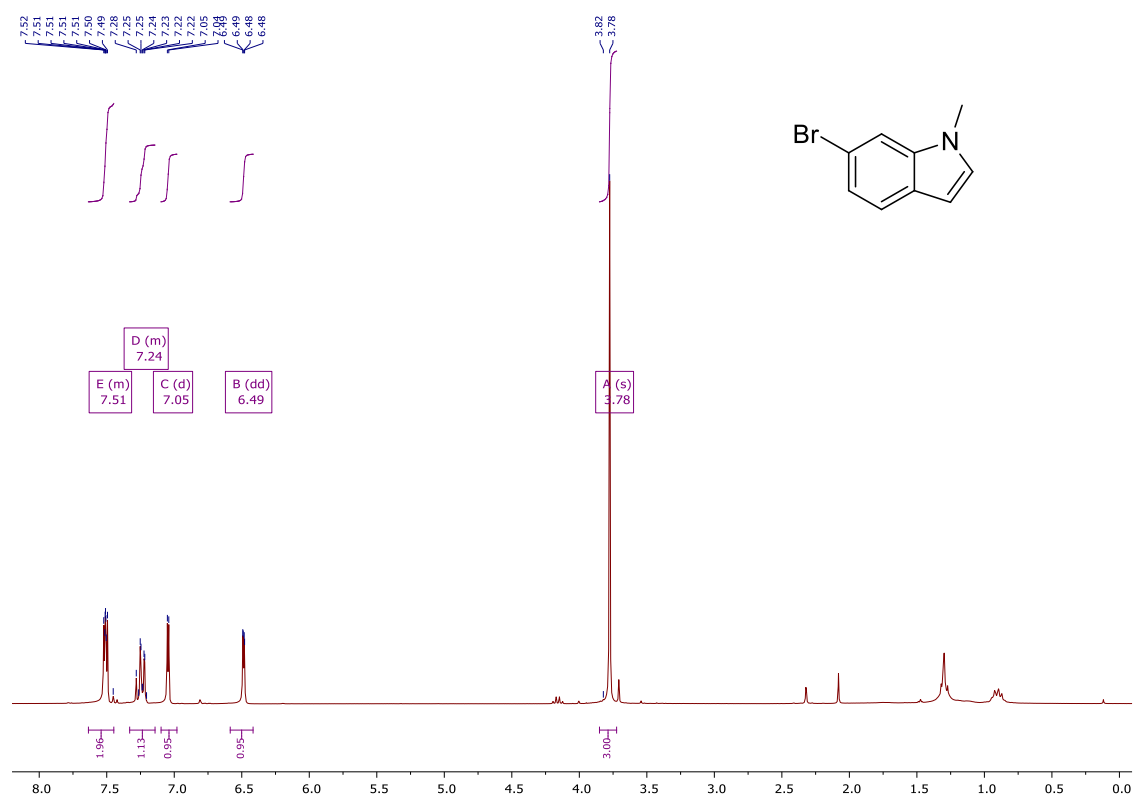
**LRMS (ESI)** *m/z* [M-Boc+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>FN<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub><sup>+</sup> 661.18, found 661.29.

**This path proved too low yielding for the planned follow-up-steps, requiring large amounts of expensive 5-HO-7-F-indole to produce enough (S,S)-Ni(II)-BPB-5-OBoc-7-FTrp.**

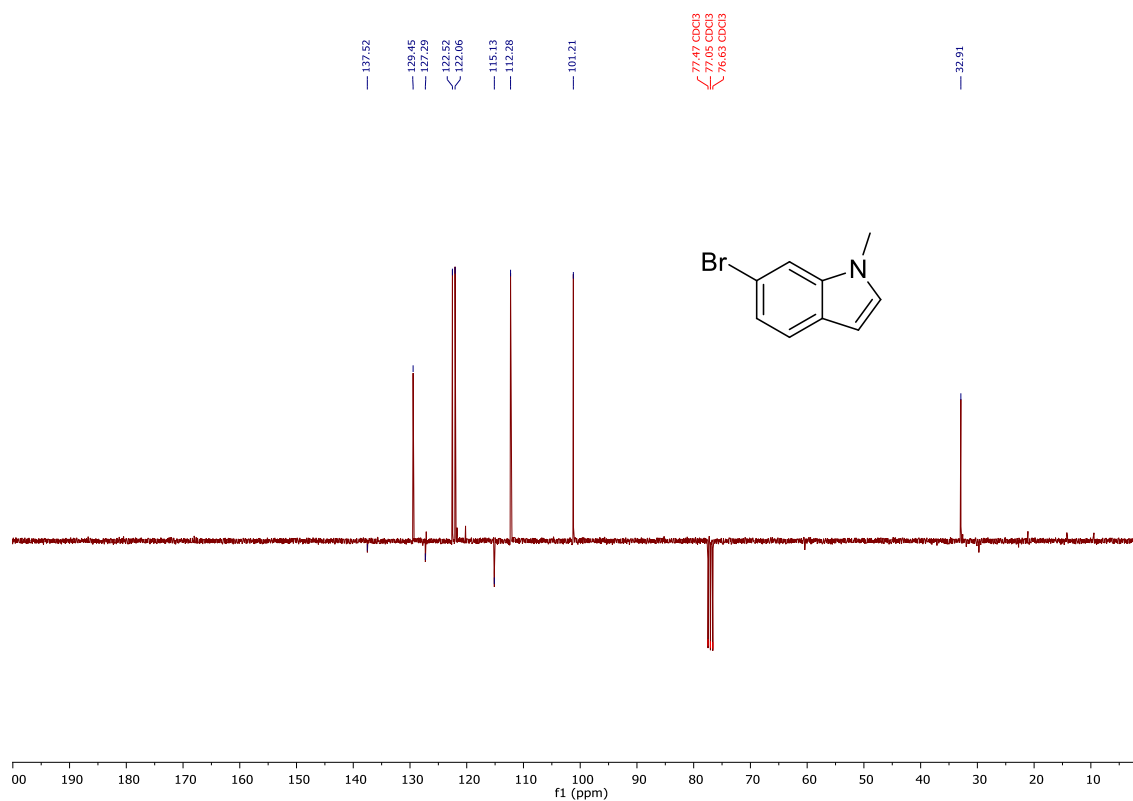
### 3. Characterization

#### 3.1. $^1\text{H}$ -, $^{13}\text{C}$ - and $^{19}\text{F}$ -NMR-spectra

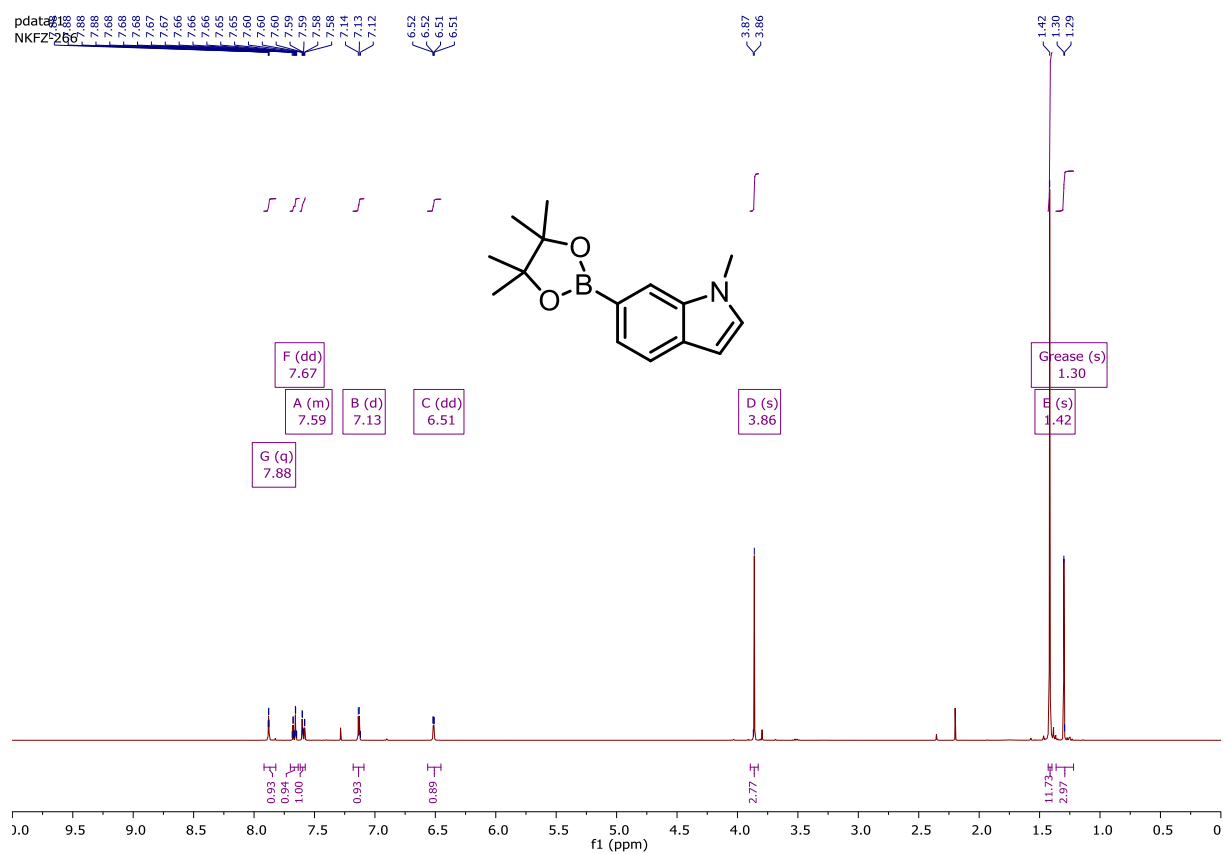
##### $^1\text{H}$ -NMR of 6-bromo-1-methyl-1H-indole (23)



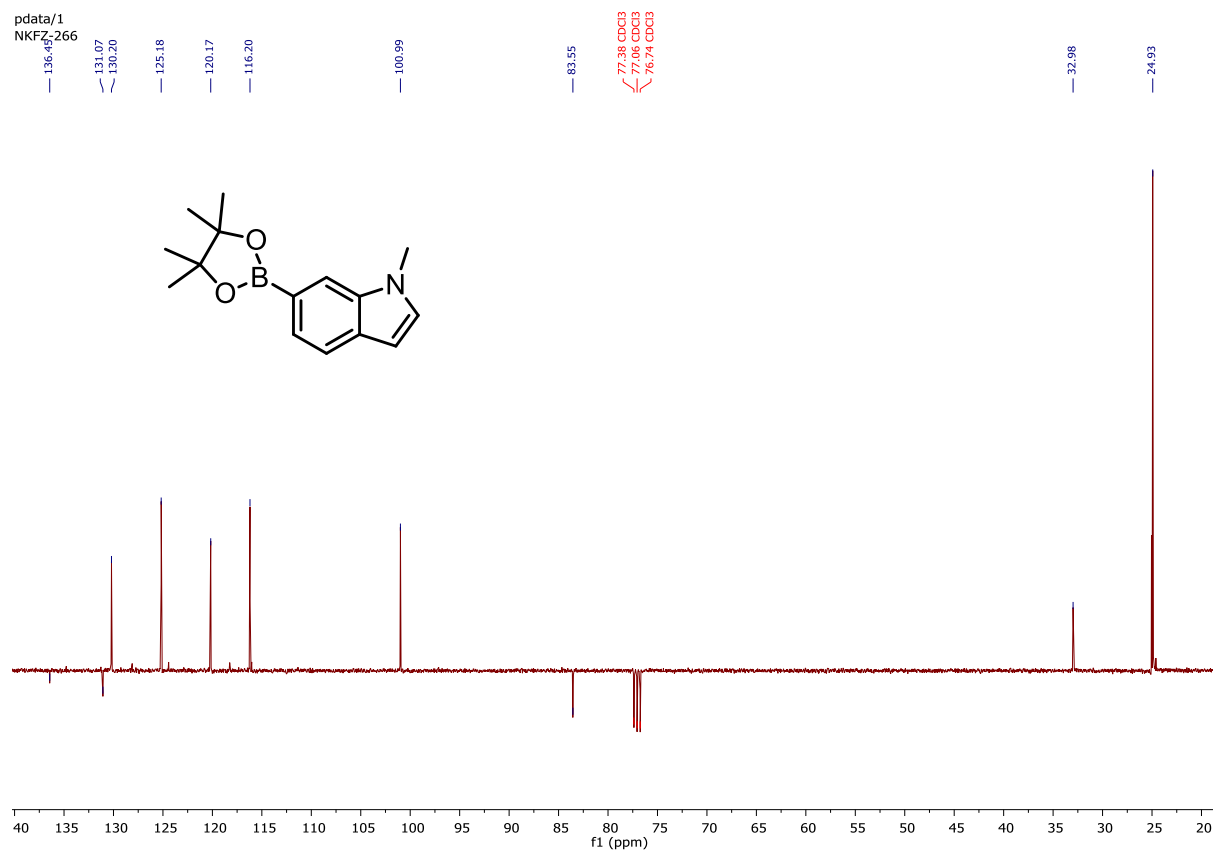
##### $^{13}\text{C}$ -NMR of 6-bromo-1-methyl-1H-indole (23)



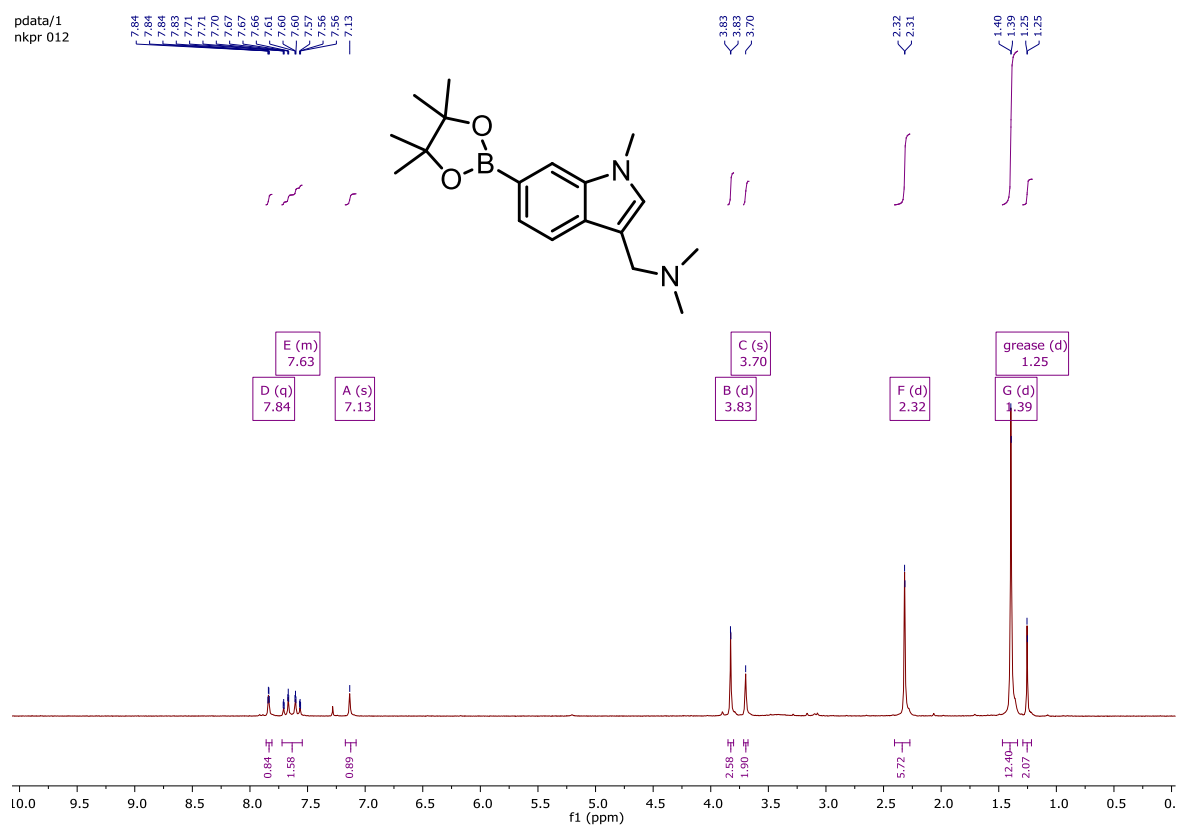
# <sup>1</sup>H-NMR of 1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (24)



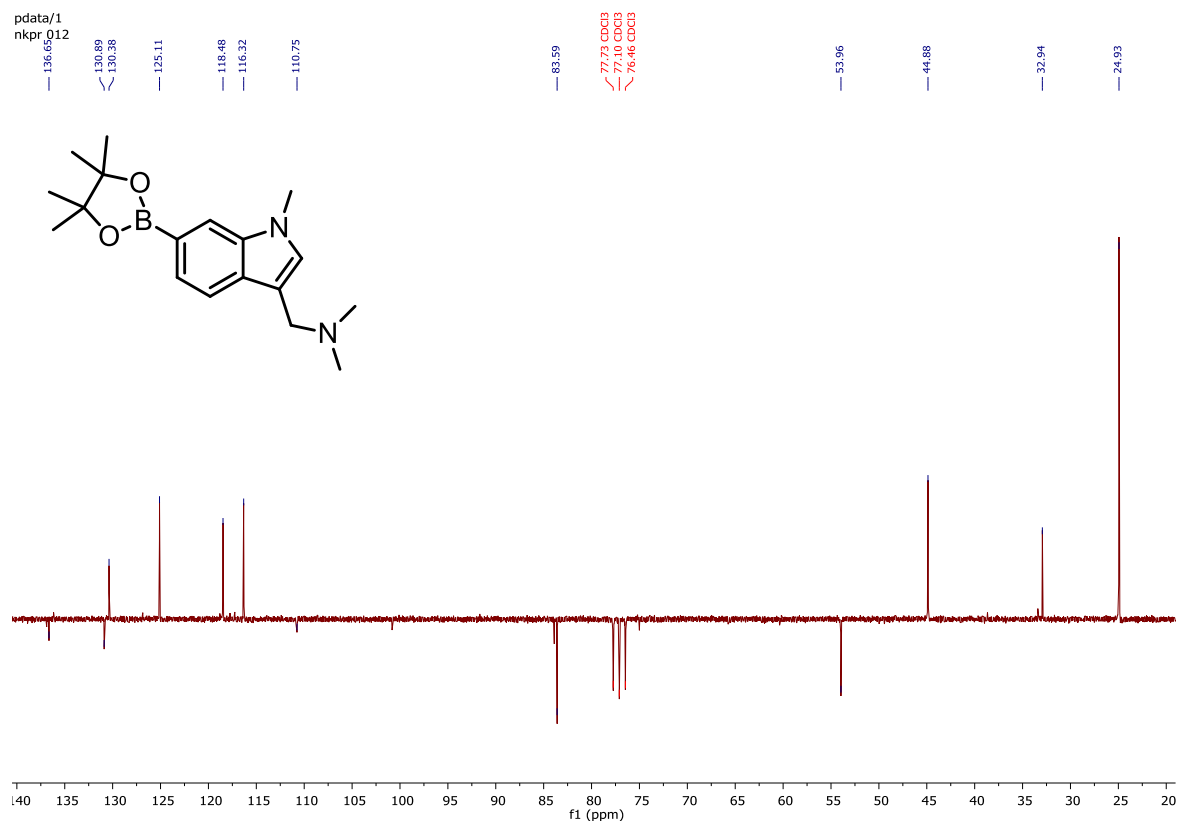
# <sup>13</sup>C-NMR of 1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (24)



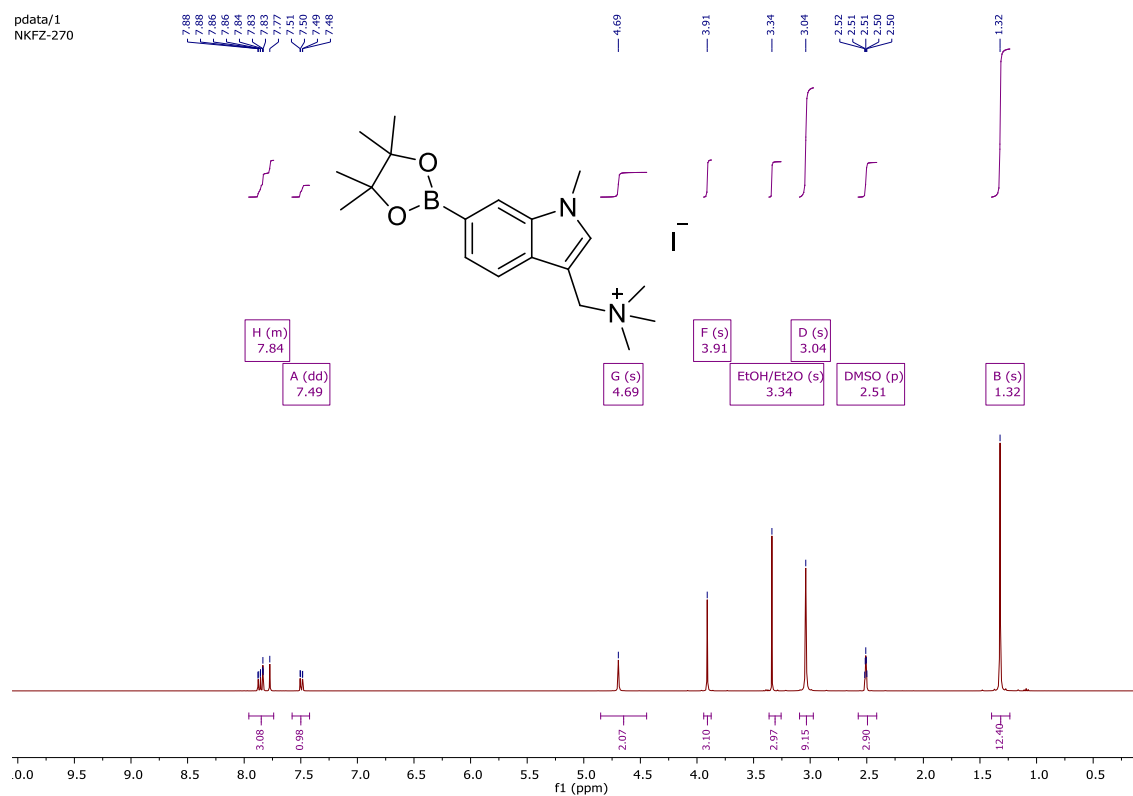
### <sup>1</sup>H-NMR of N,N-dimethyl-1-(1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanamine (25)



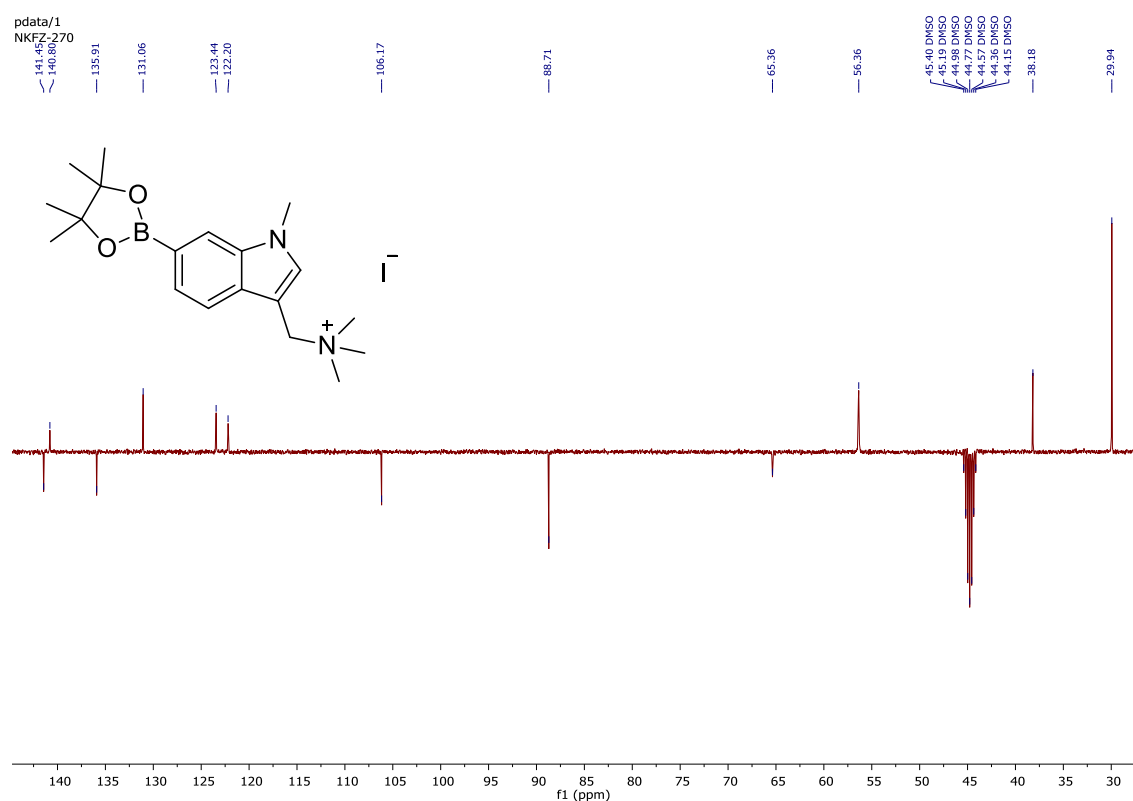
### <sup>13</sup>C-NMR of N,N-dimethyl-1-(1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanamine (25)



**$^1\text{H-NMR}$  of N,N,N-trimethyl-1-(1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanaminium iodide (26)**

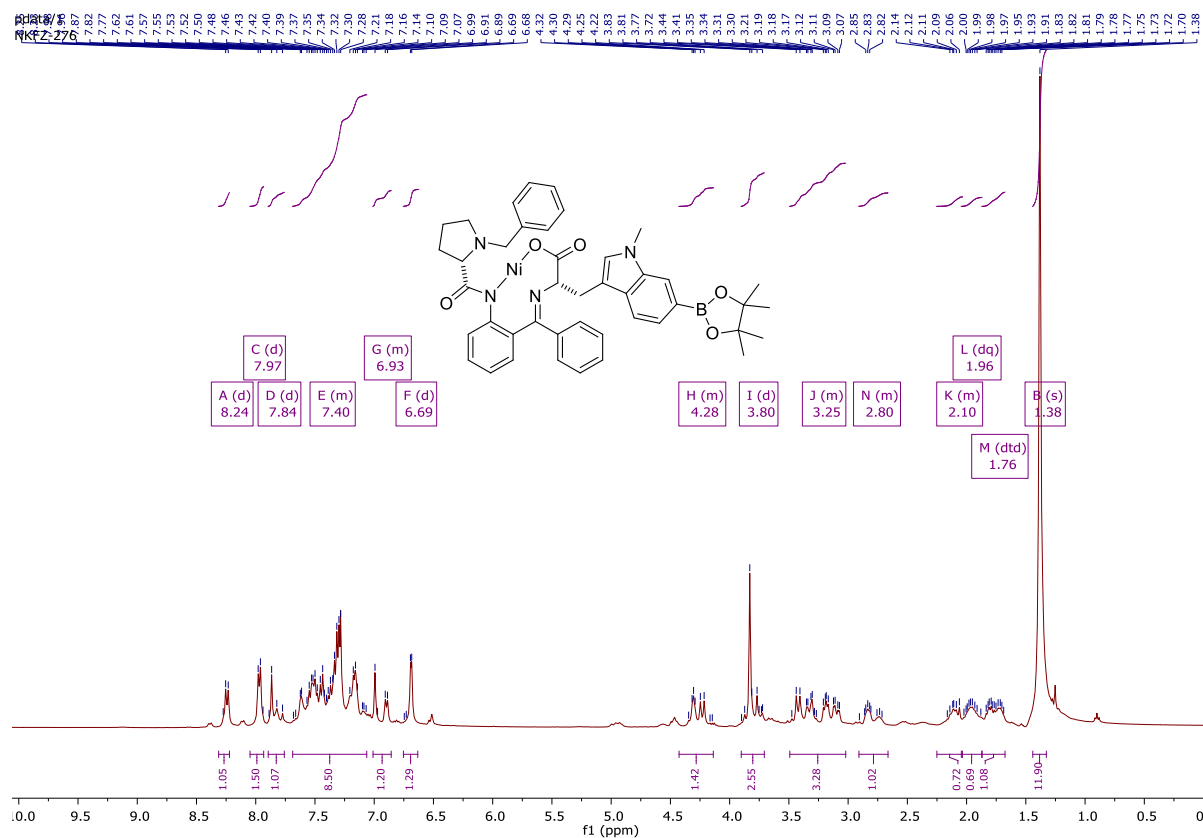


**$^{13}\text{C-NMR}$  of N,N,N-trimethyl-1-(1-methyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)methanaminium iodide (26)**

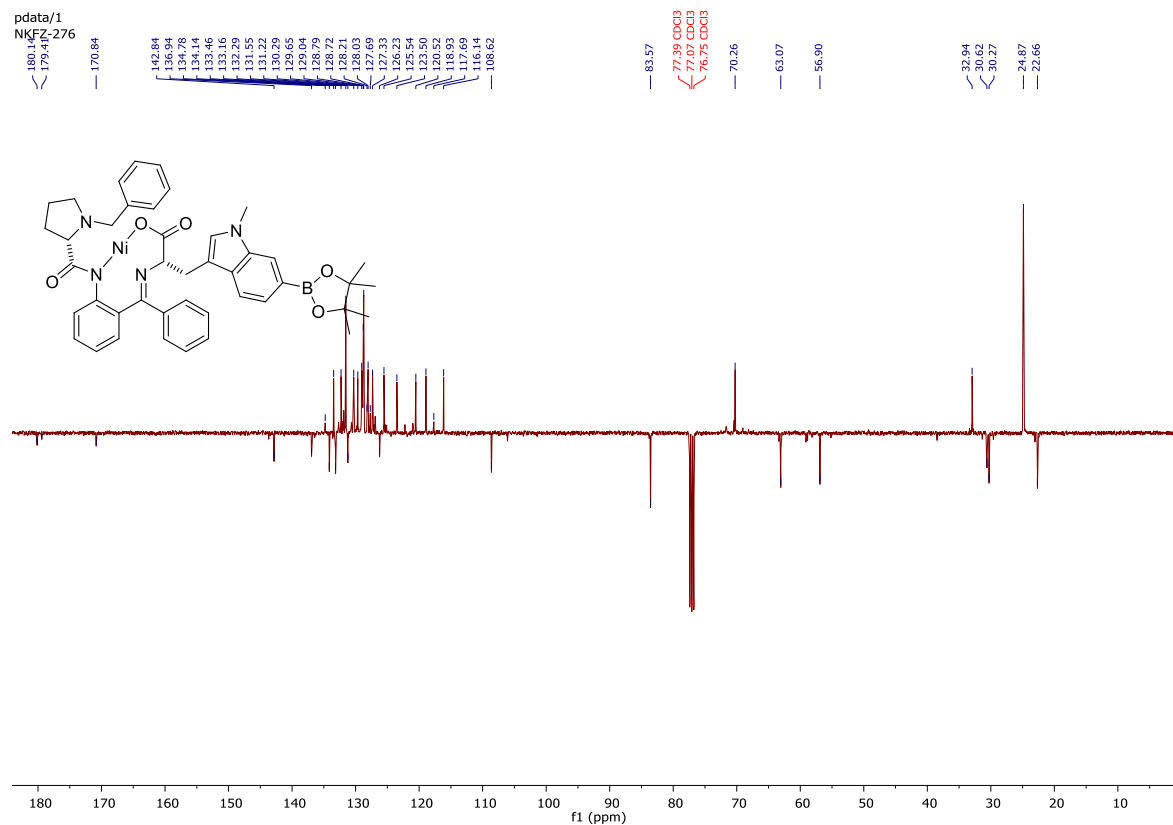




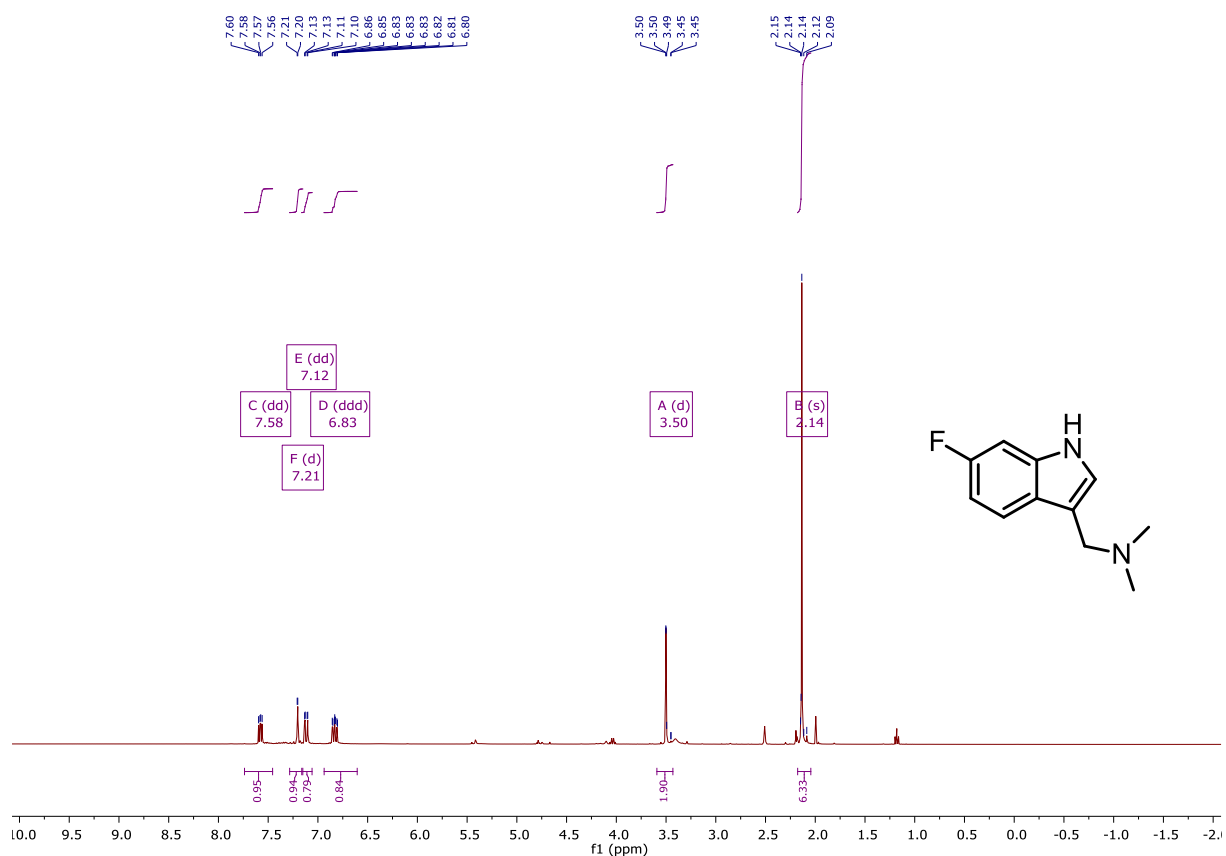
### <sup>1</sup>H-NMR of (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-N<sub>In</sub>-Me-Trp (20)



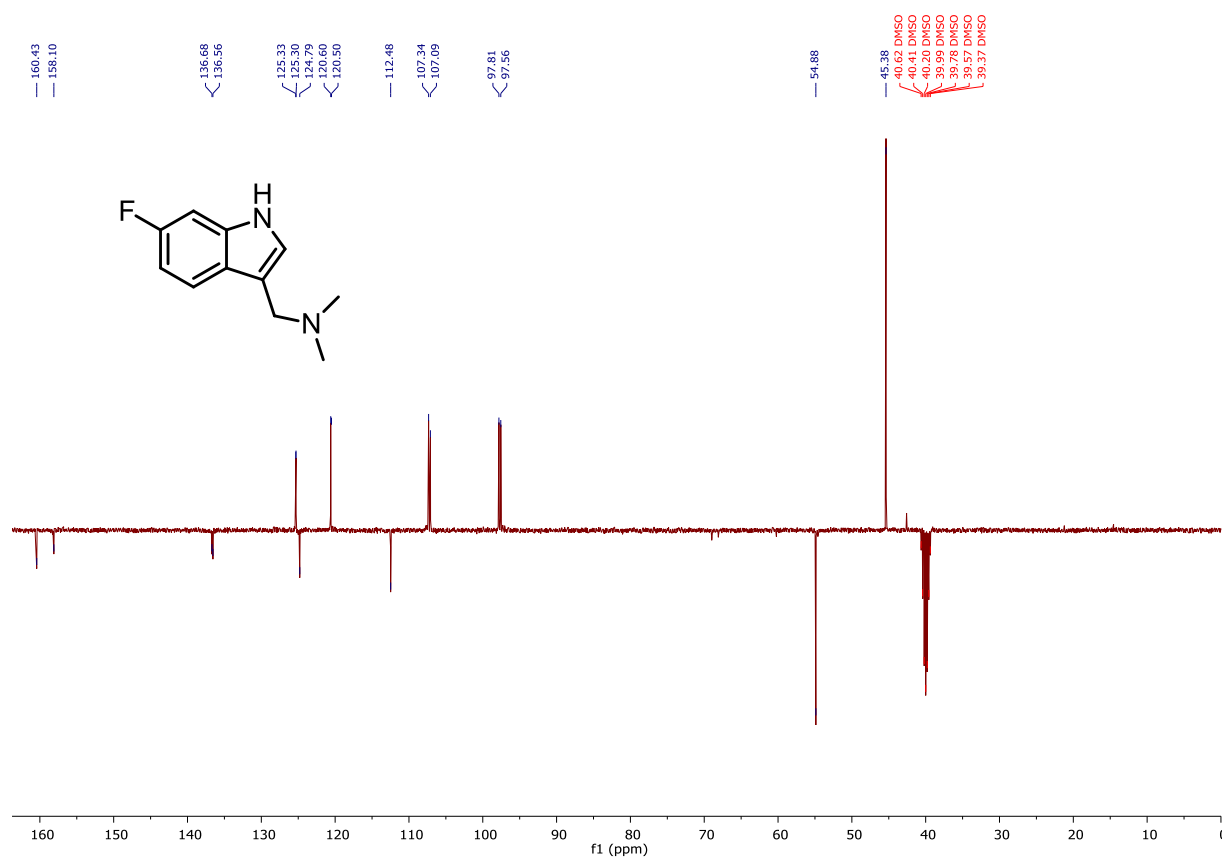
### <sup>13</sup>C-NMR of (S,S)-Ni-BPB-6-BPin-N<sub>In</sub>-Me-Trp (20)



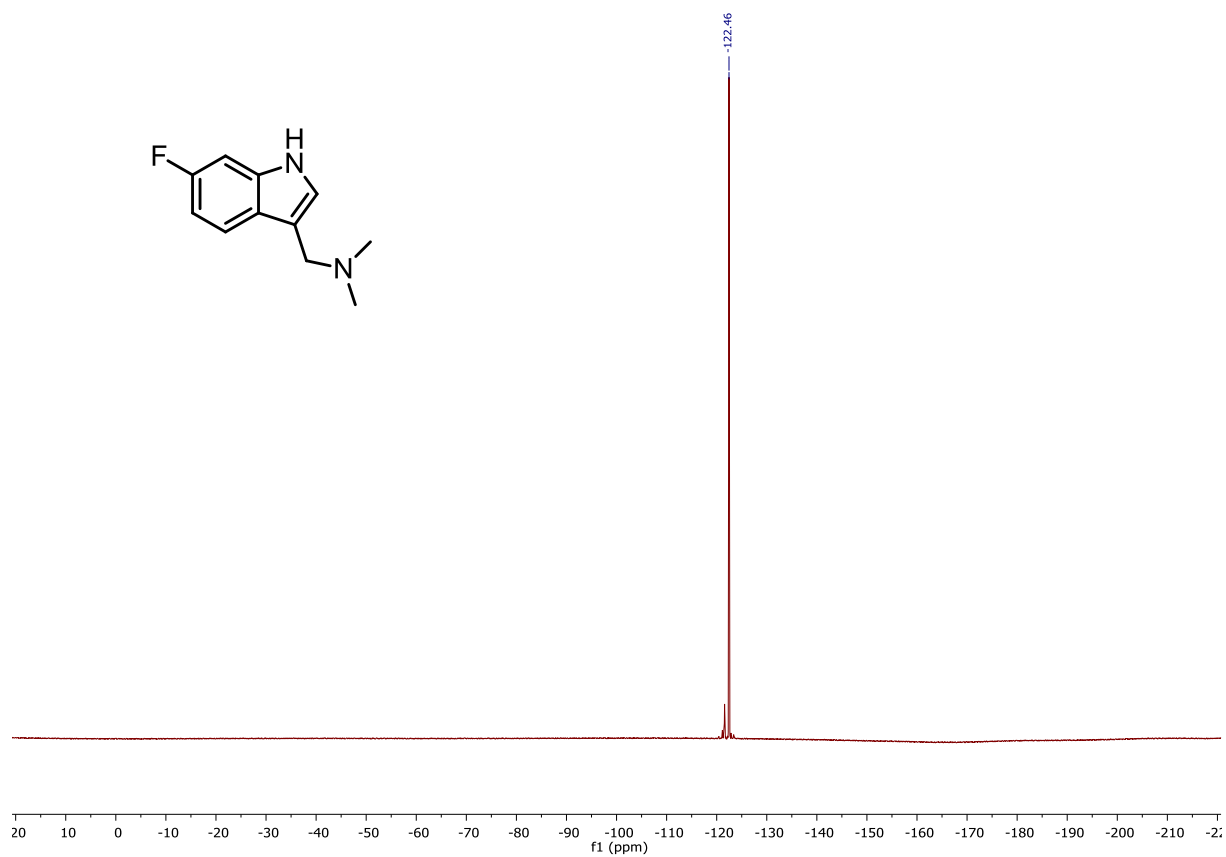
### <sup>1</sup>H-NMR of 1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (28)



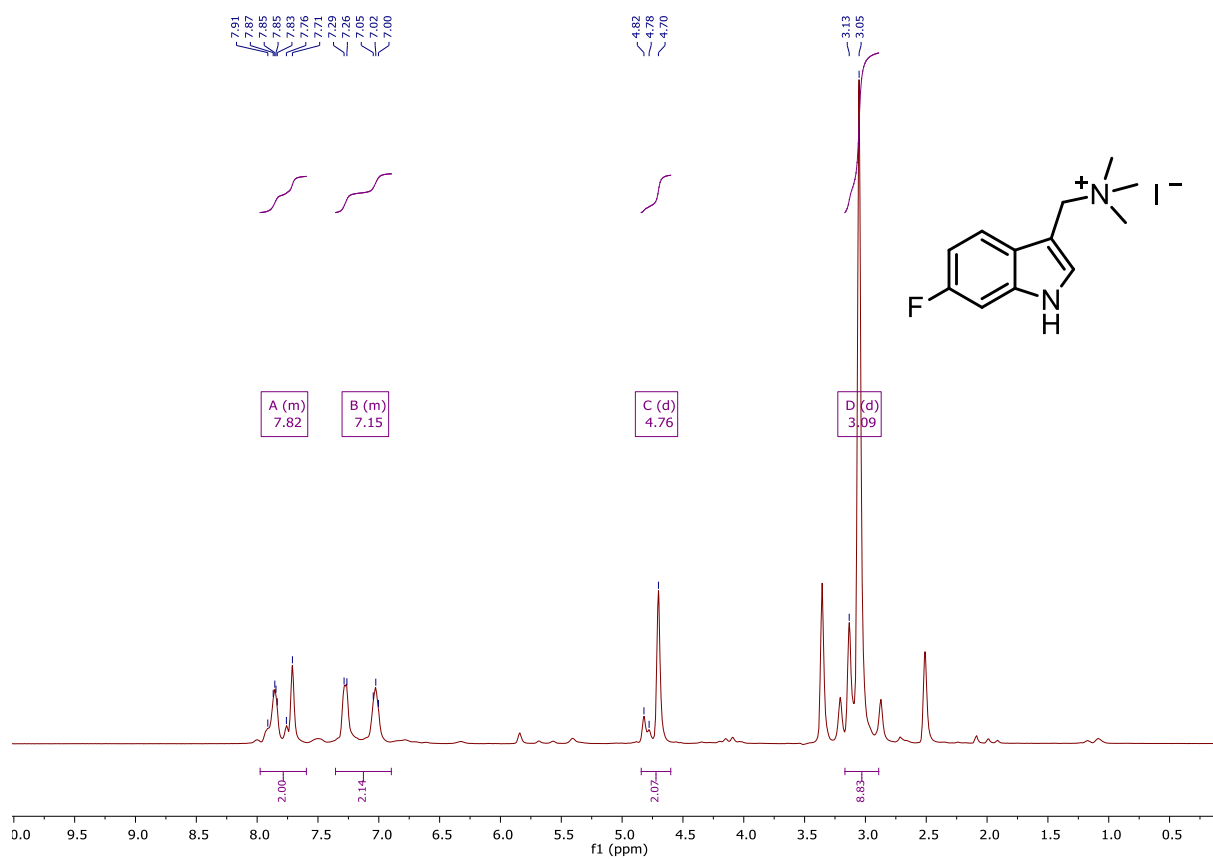
### <sup>13</sup>C-NMR of 1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (28)



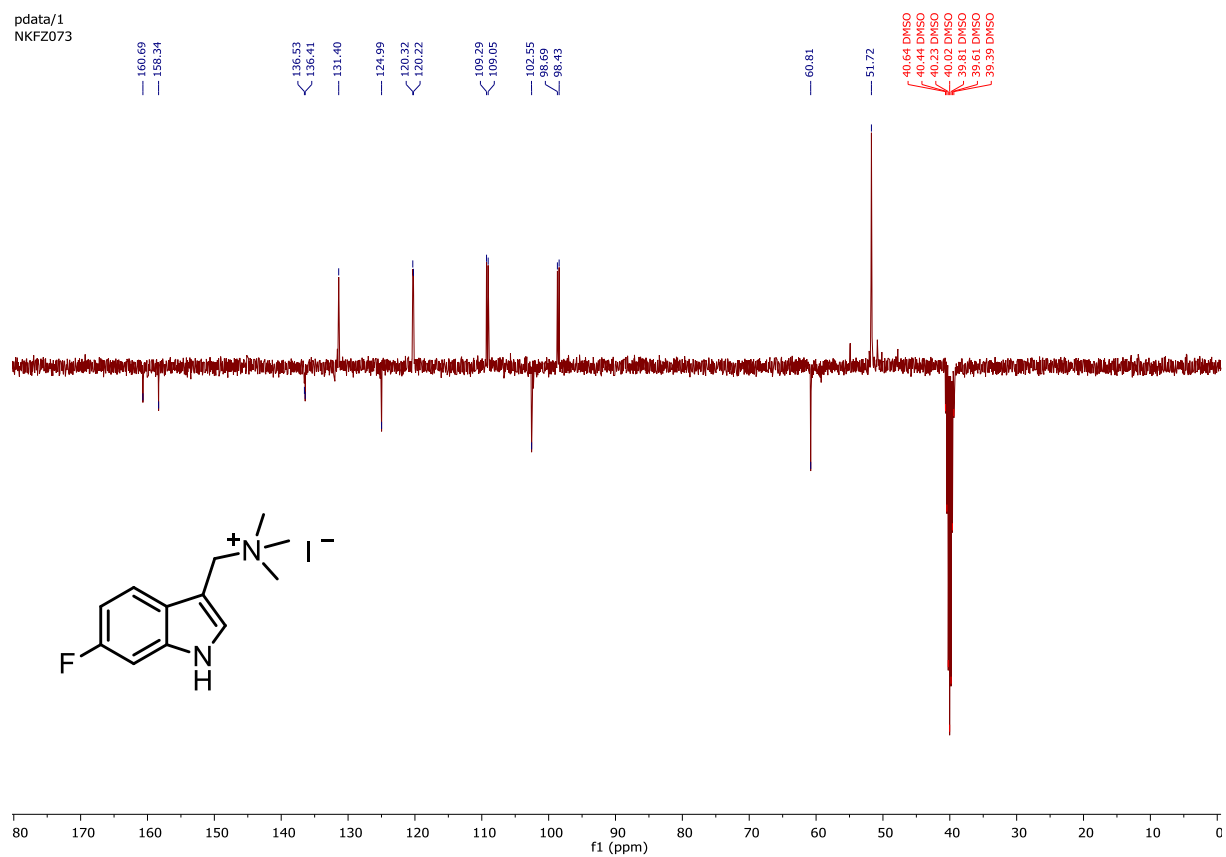
**$^{19}\text{F}$ -NMR of 1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (28)**



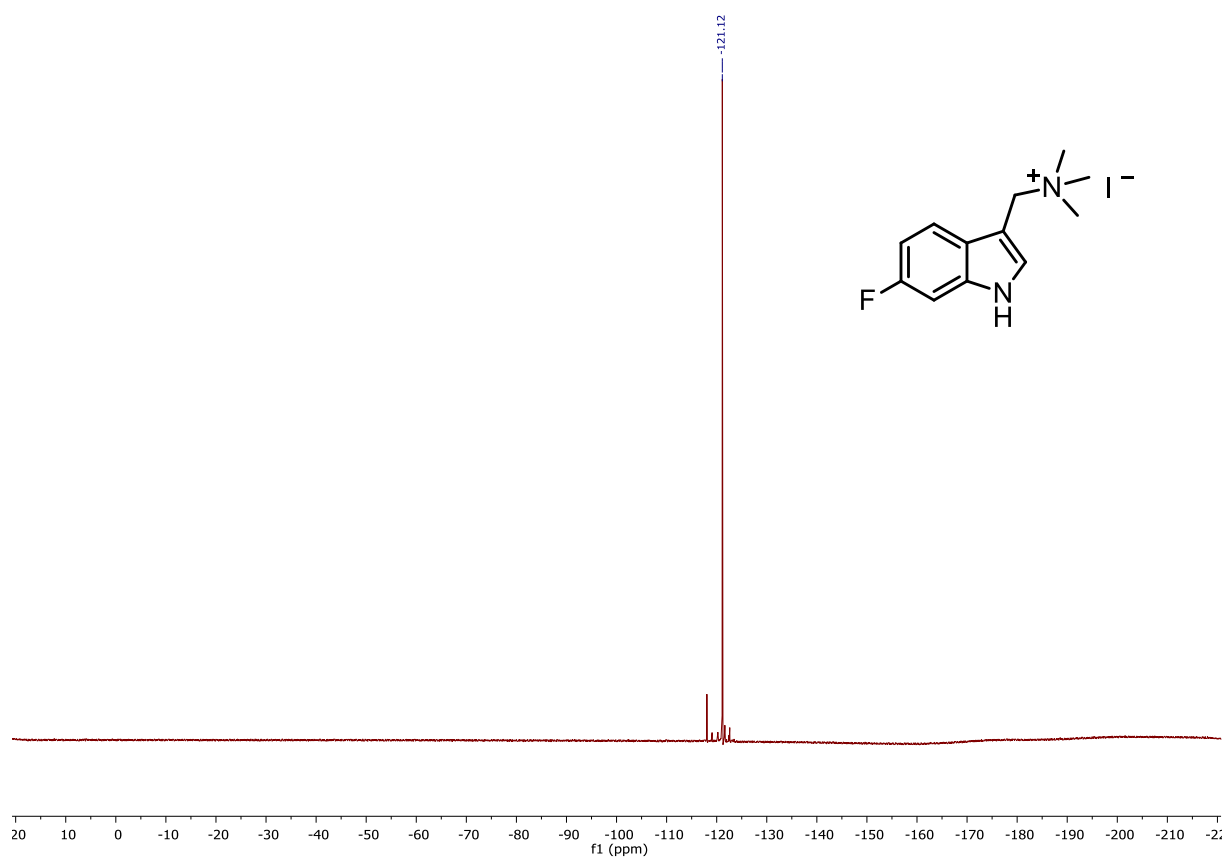
**$^1\text{H}$ -NMR of 1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (29)**



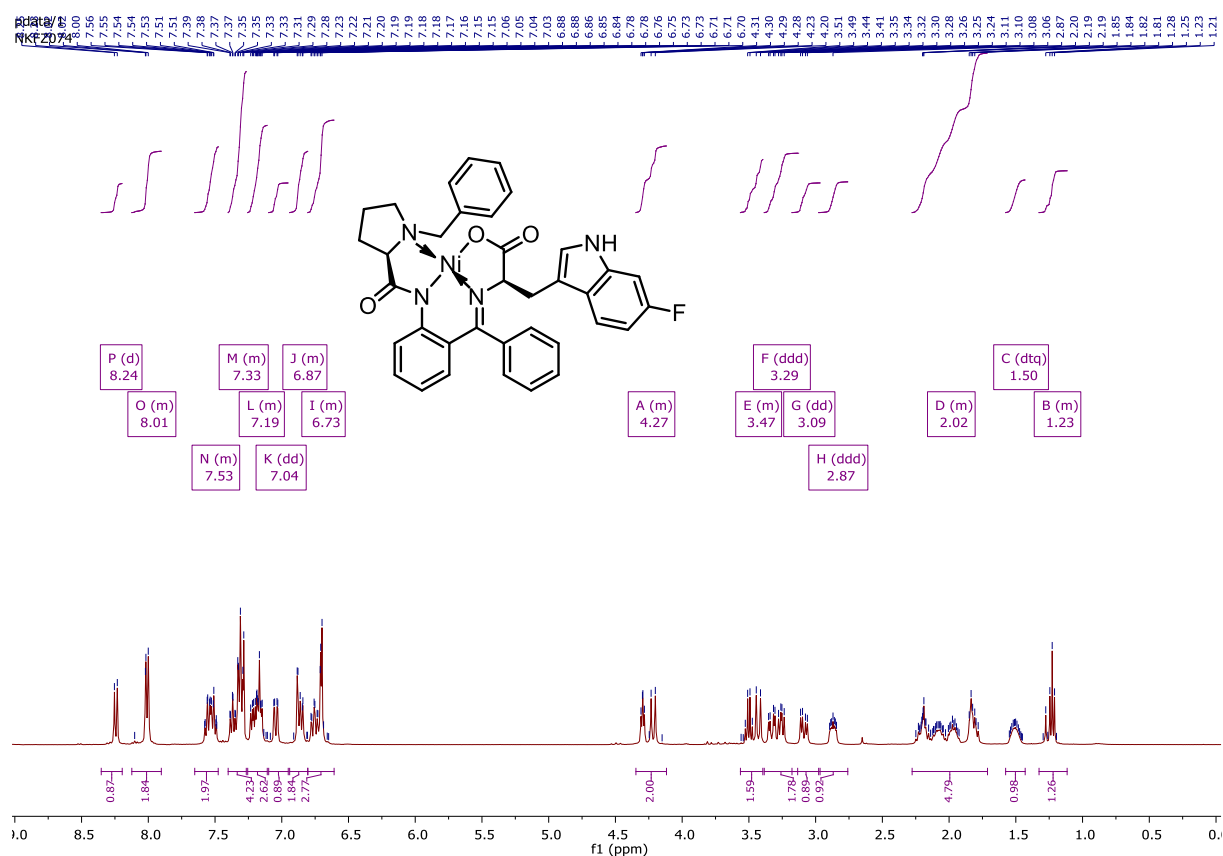
### <sup>13</sup>C-NMR of 1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (29)



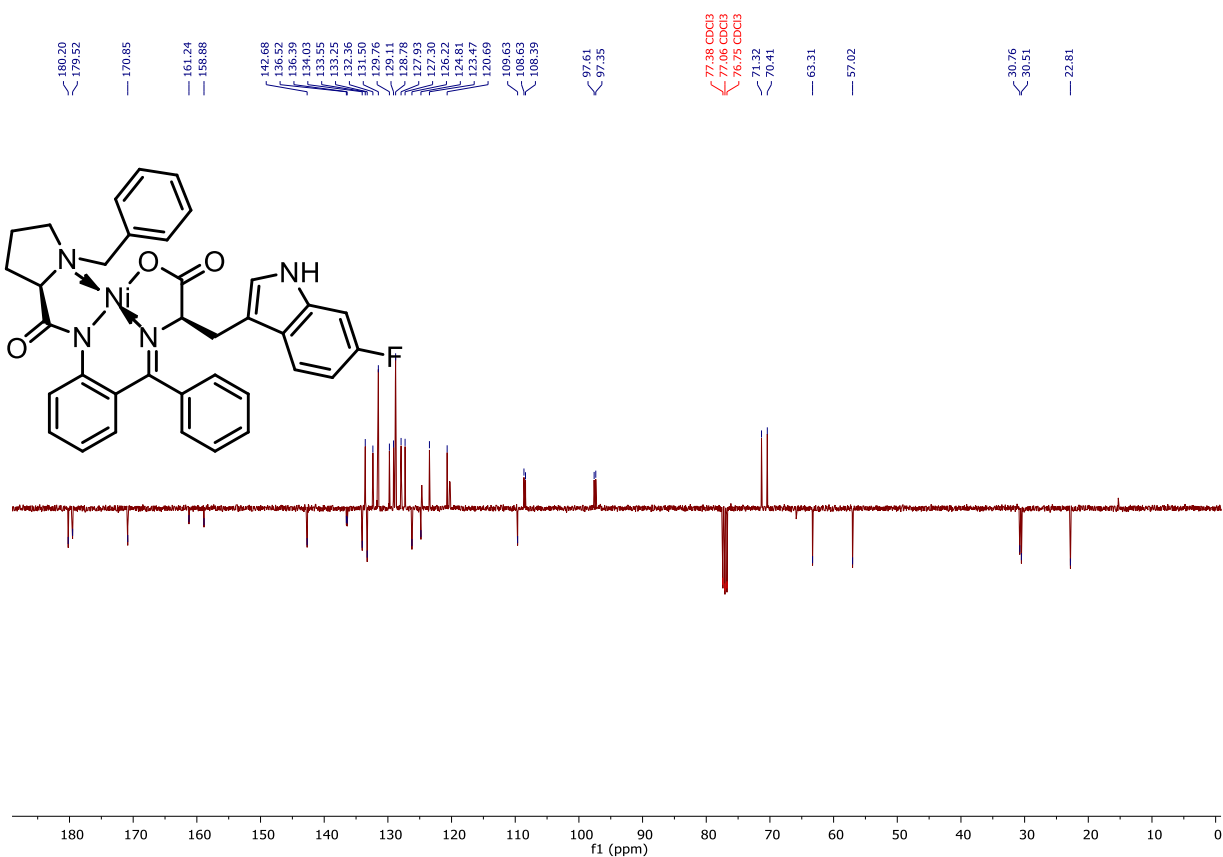
### <sup>19</sup>F-NMR of 1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (29)



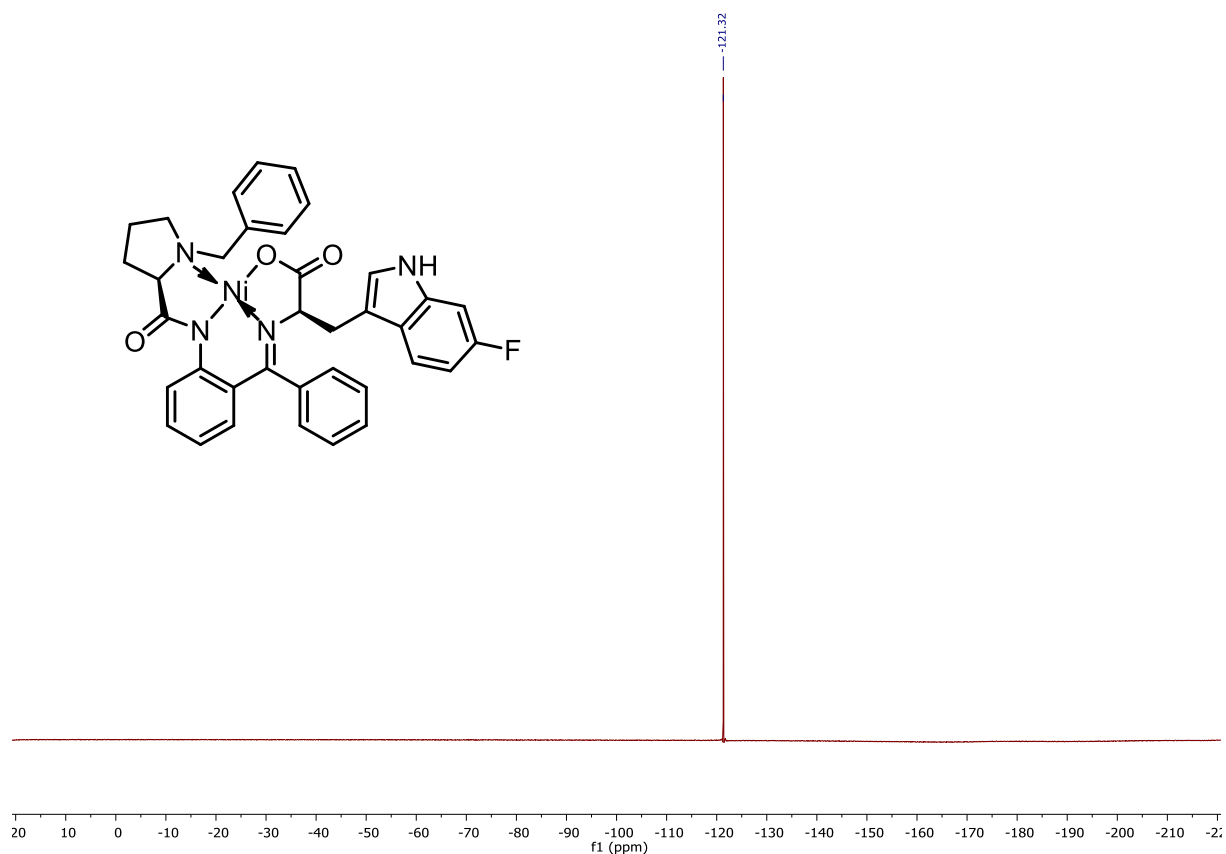
# <sup>1</sup>H-NMR of (*R,R*)-Ni(II)-BPB-6-F-Trp (*R,R*-32)



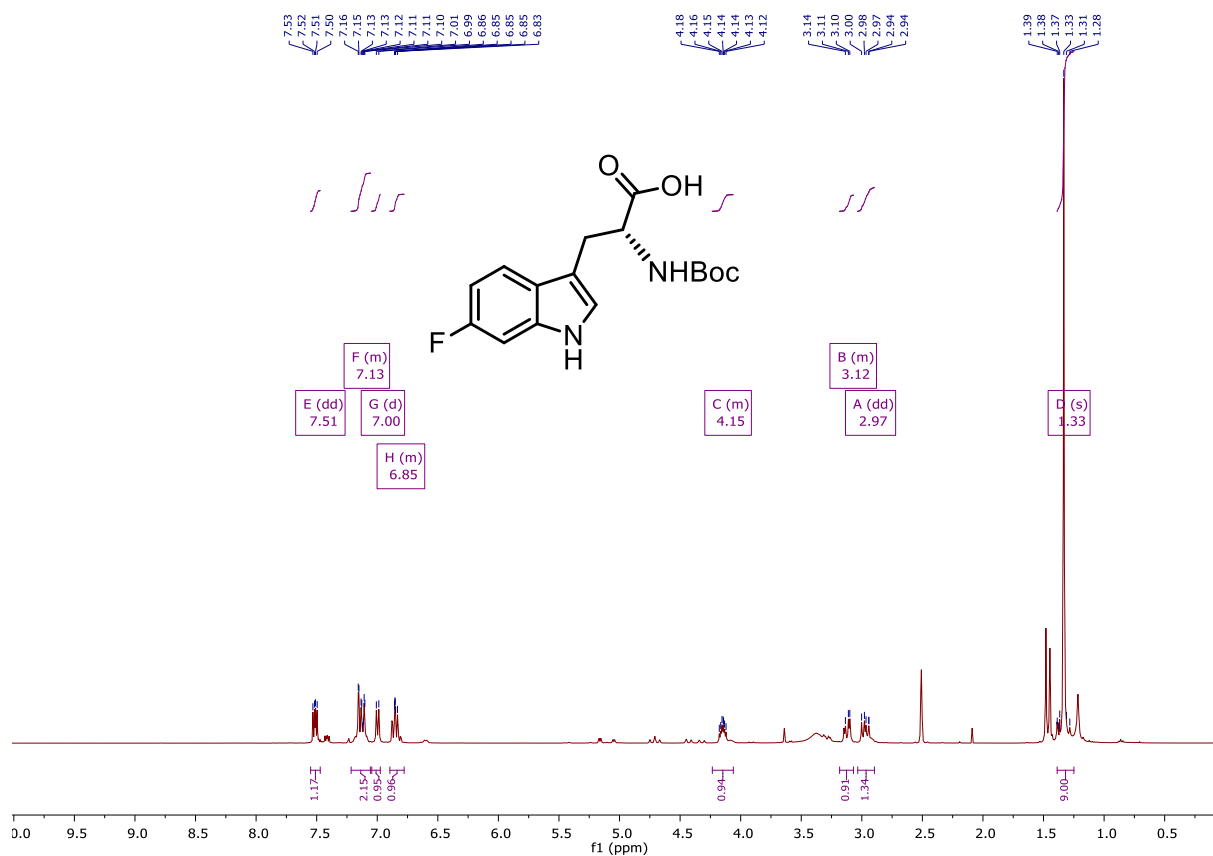
# <sup>13</sup>C-NMR of (*R,R*)-Ni(II)-BPB-6-F-Trp (*R,R*-32)



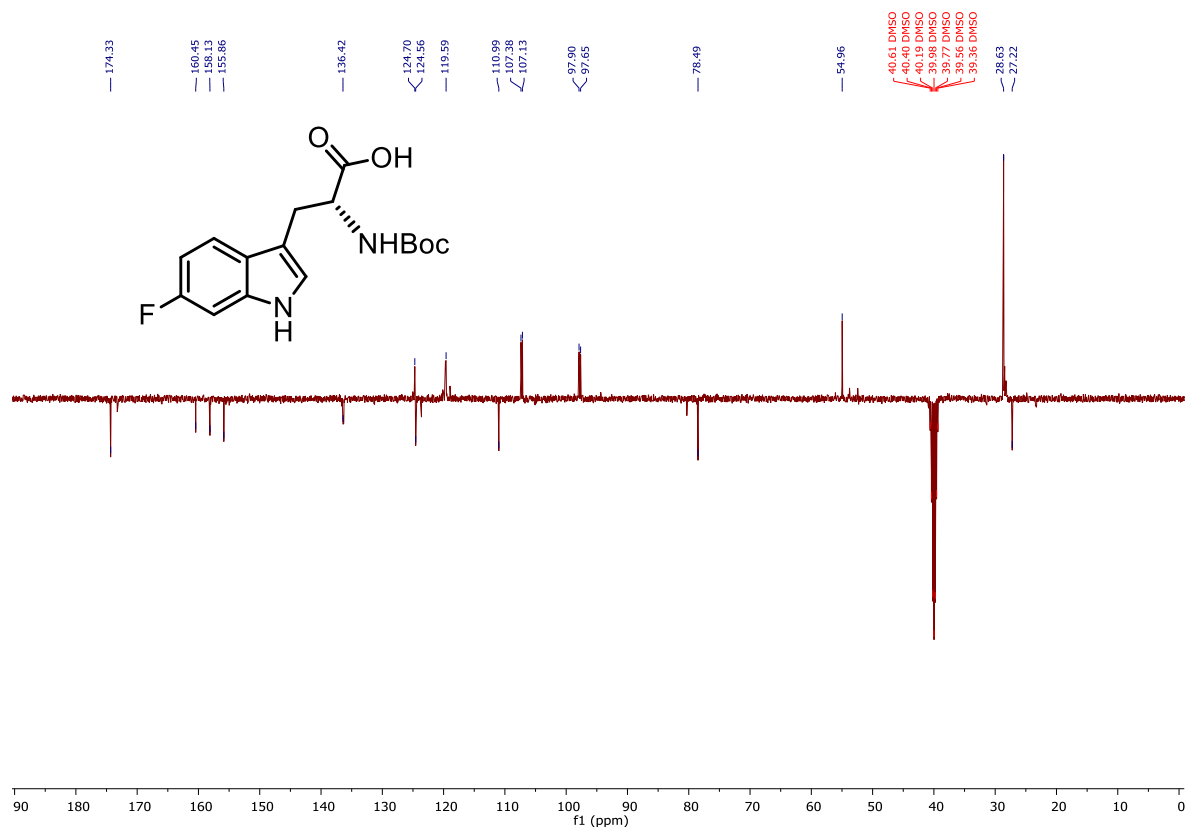
### $^{19}\text{F}$ -NMR of (*R,R*)-Ni(II)-BPB-6-F-Trp (*R,R*-32)



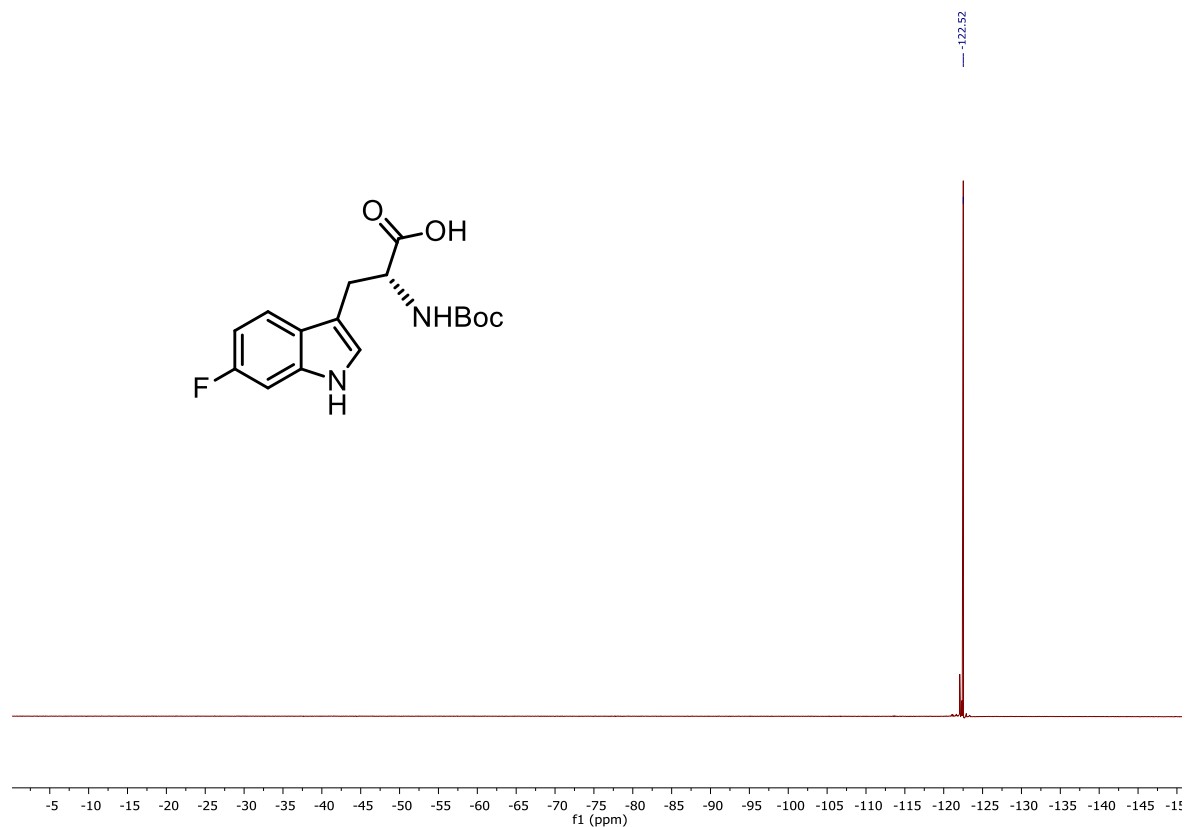
### $^1\text{H}$ -NMR of (*R*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1*H*-indol-3-yl)propanoic acid (*R*-31)



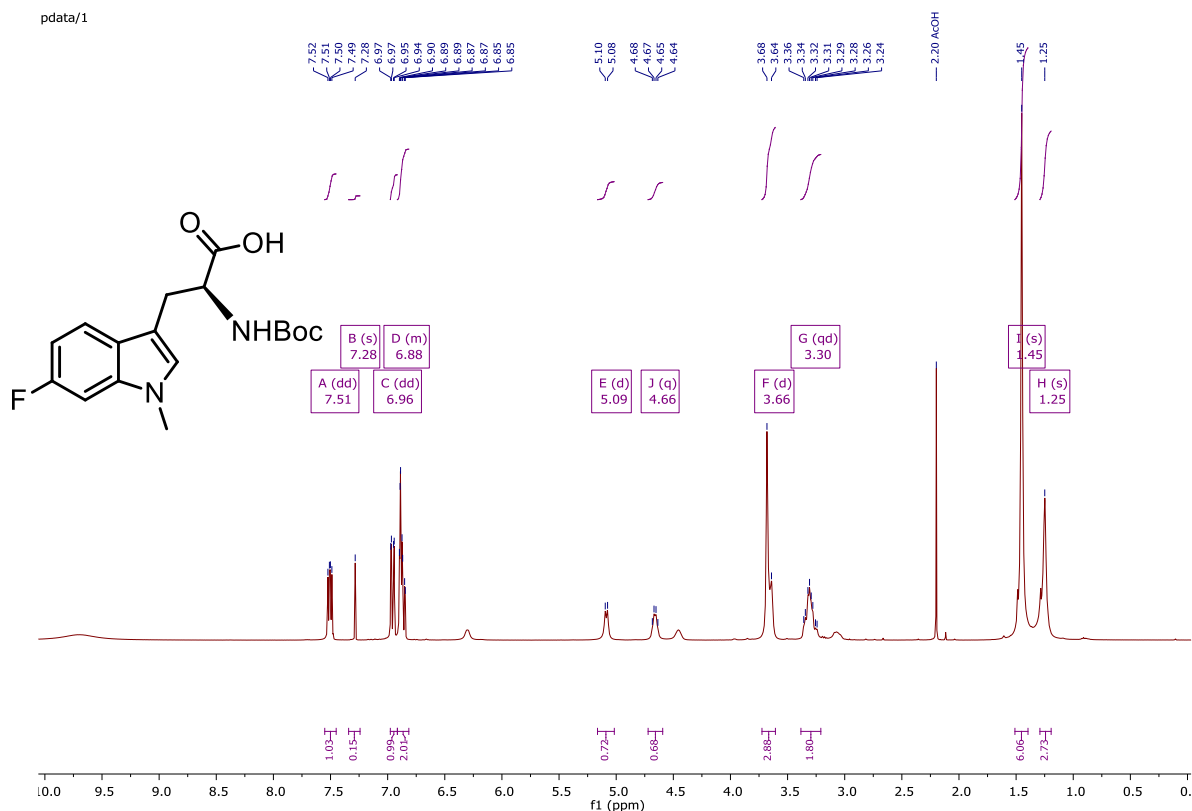
**<sup>13</sup>C-NMR of (R)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoic acid (R-31)**



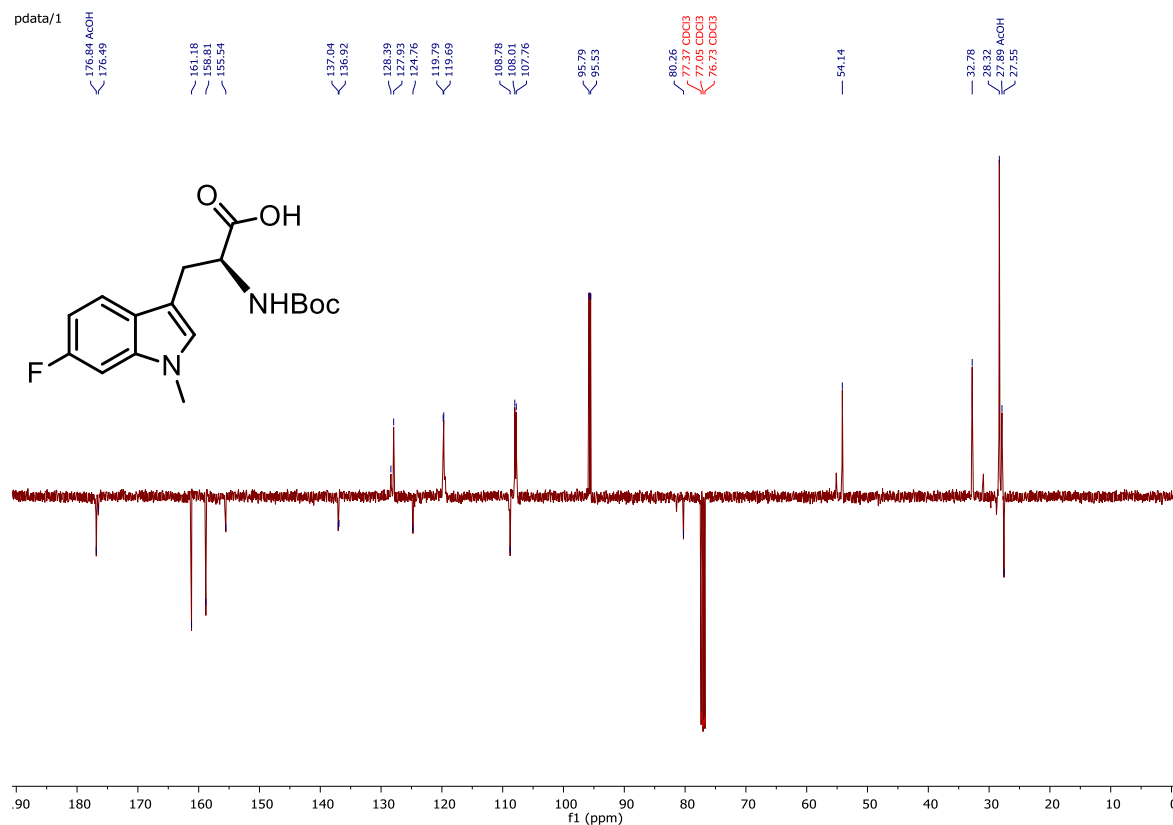
**<sup>19</sup>F-NMR of (R)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoic acid (R-31)**



# <sup>1</sup>H-NMR of (S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1-methyl-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S-32)



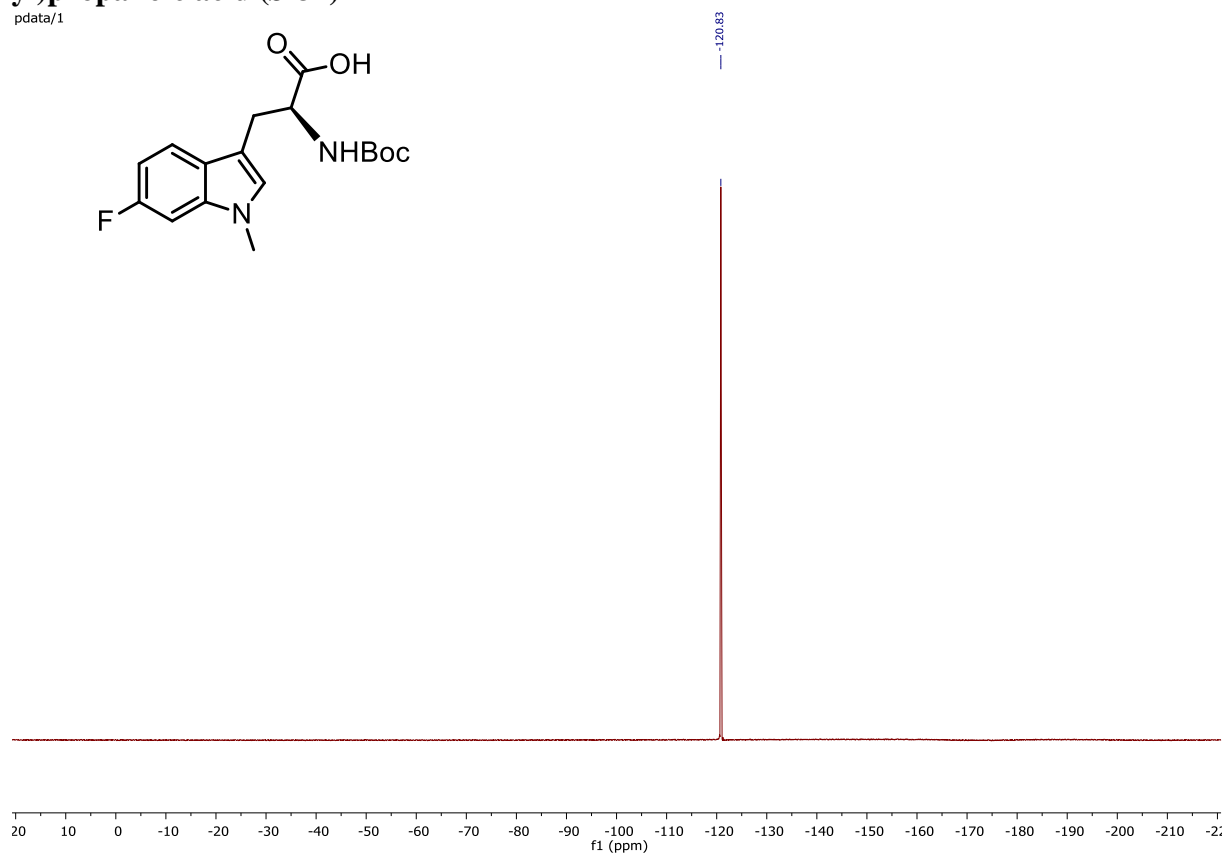
# <sup>13</sup>C-NMR of (S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1-methyl-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S-32)



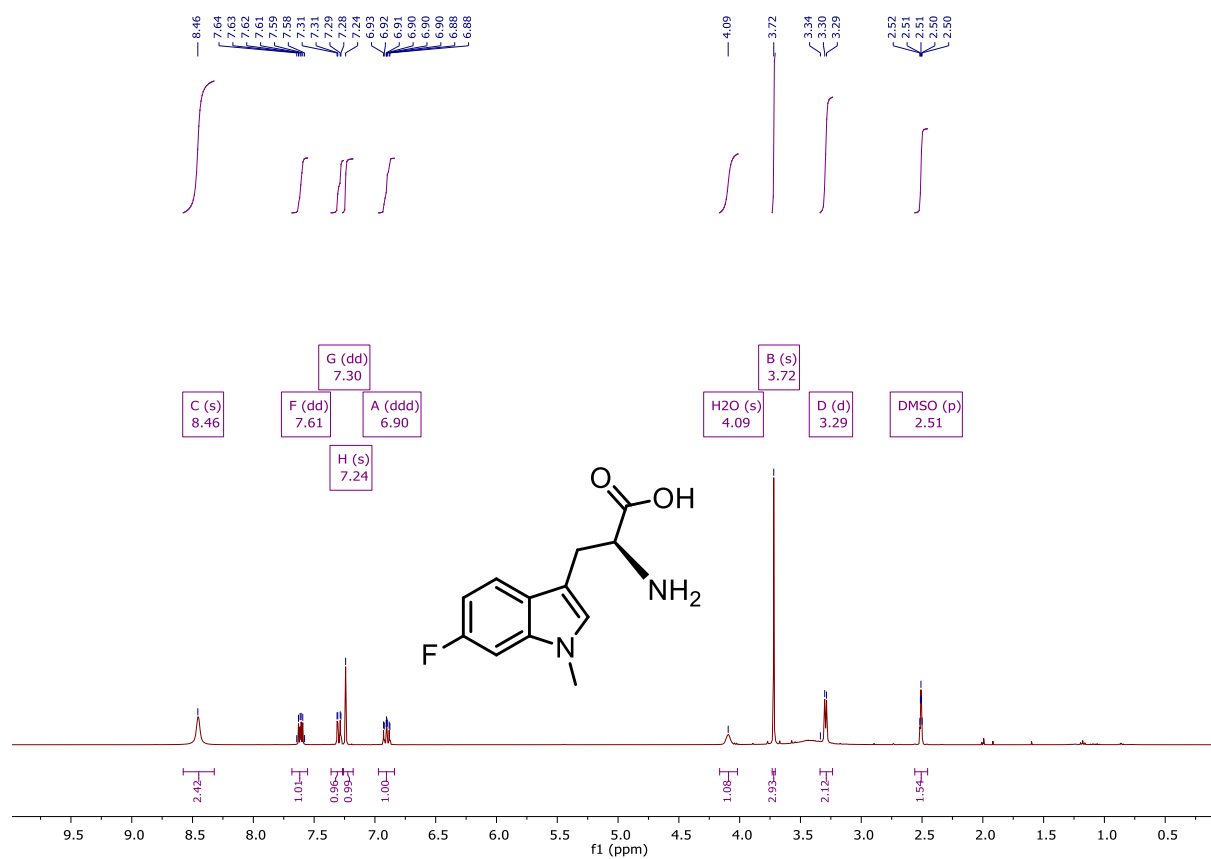


**$^{19}\text{F}$ -NMR of (*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(6-fluoro-1-methyl-1*H*-indol-3-yl)propanoic acid (*S*-32)**

pdata/1



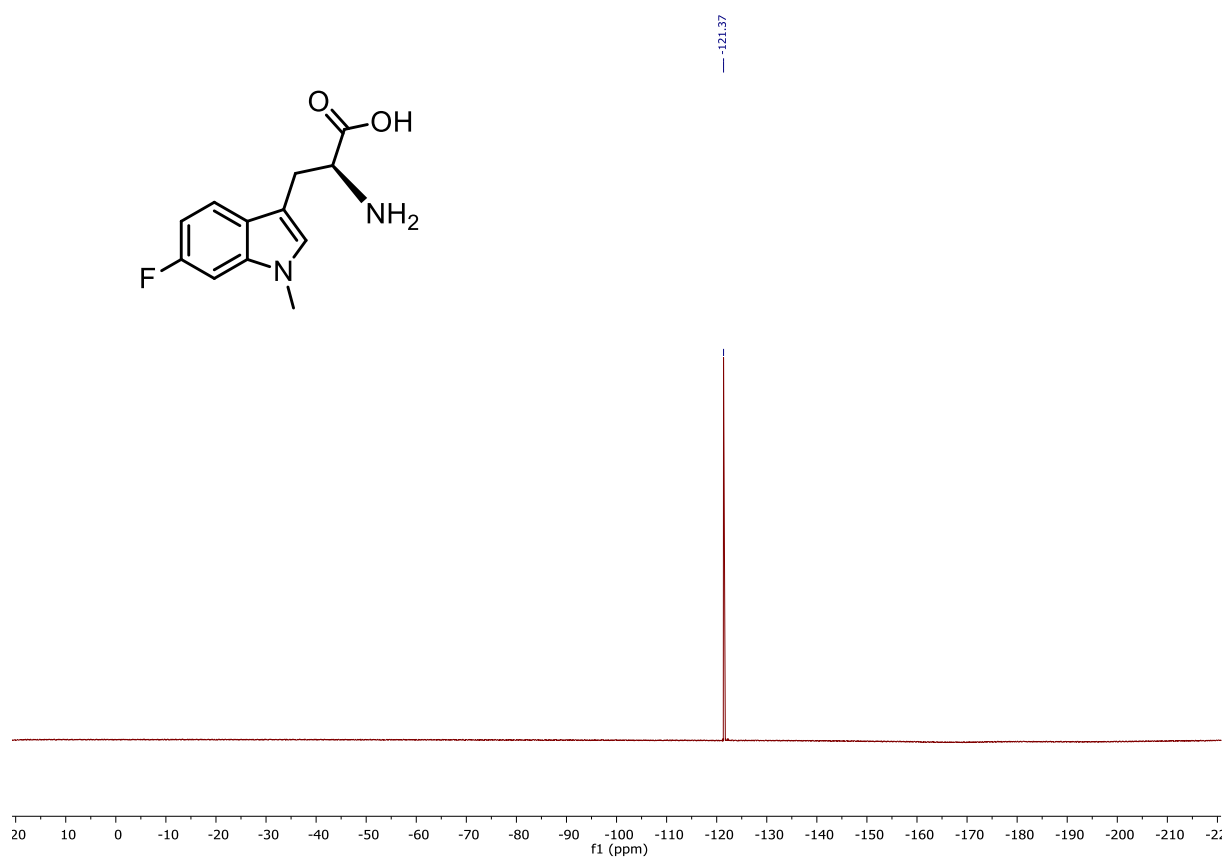
**$^1\text{H}$ -NMR of (*S*)-*N*<sub>in</sub>-methyl-6-fluoro-tryptophan hydrochloride (*S*-18)**



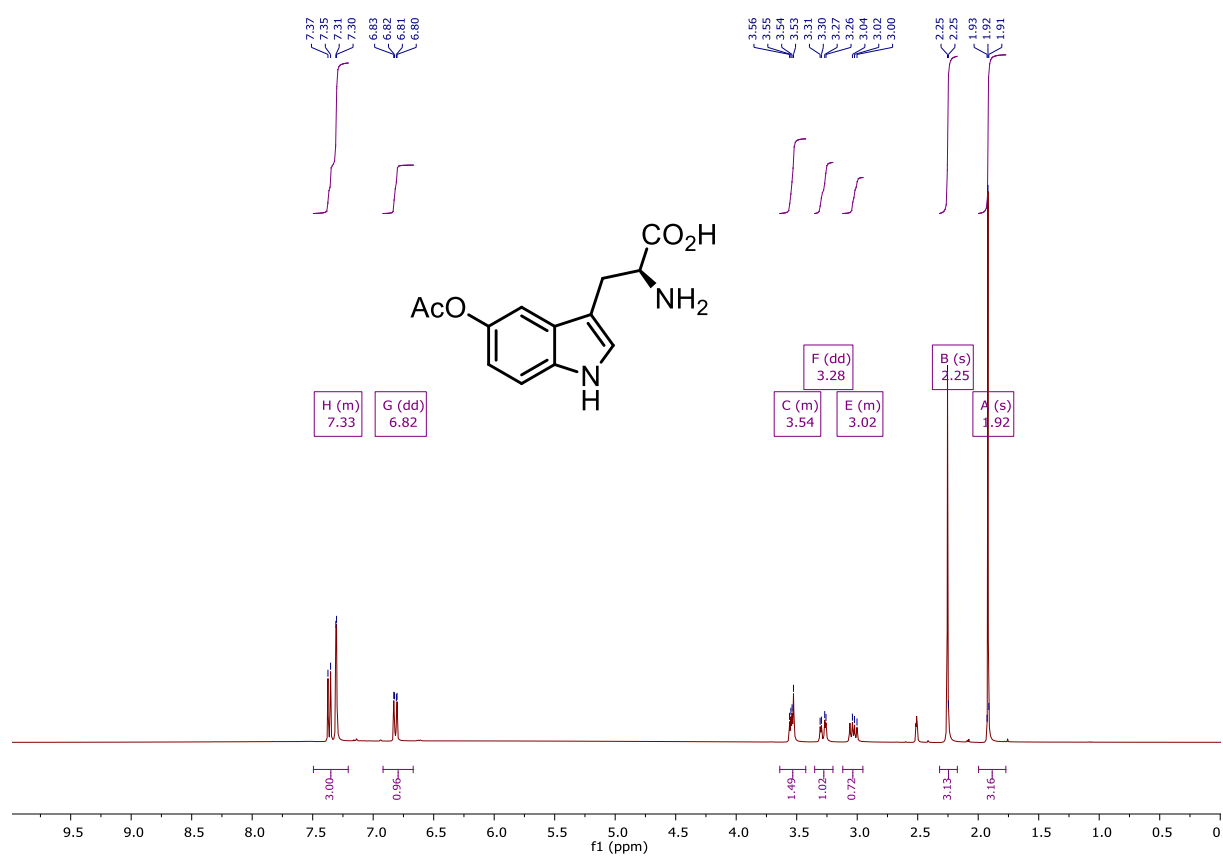
### <sup>13</sup>C-NMR of (*S*)-*N*<sub>in</sub>-methyl-6-fluoro-tryptophan hydrochloride (*S*-18)



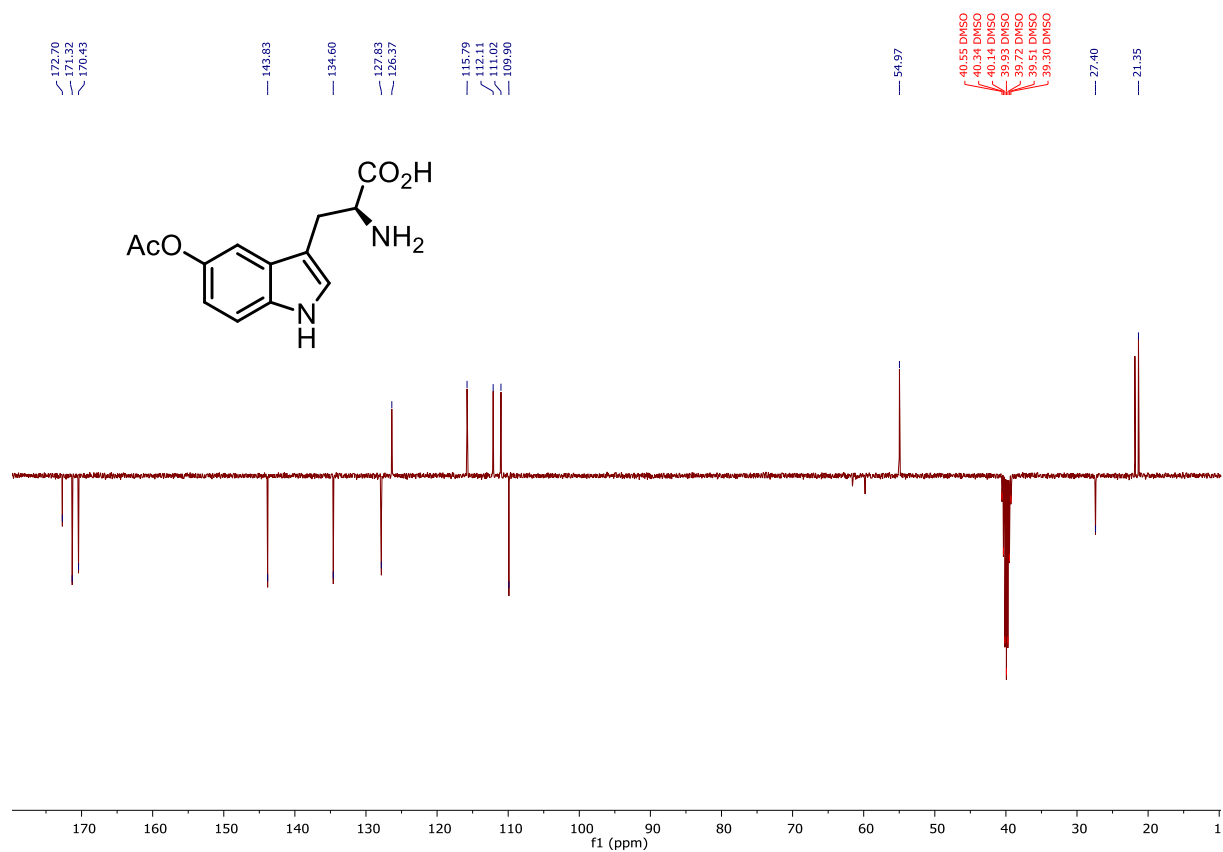
### <sup>19</sup>F-NMR of (*S*)-*N*<sub>in</sub>-methyl-6-fluoro-tryptophan hydrochloride (*S*-18)



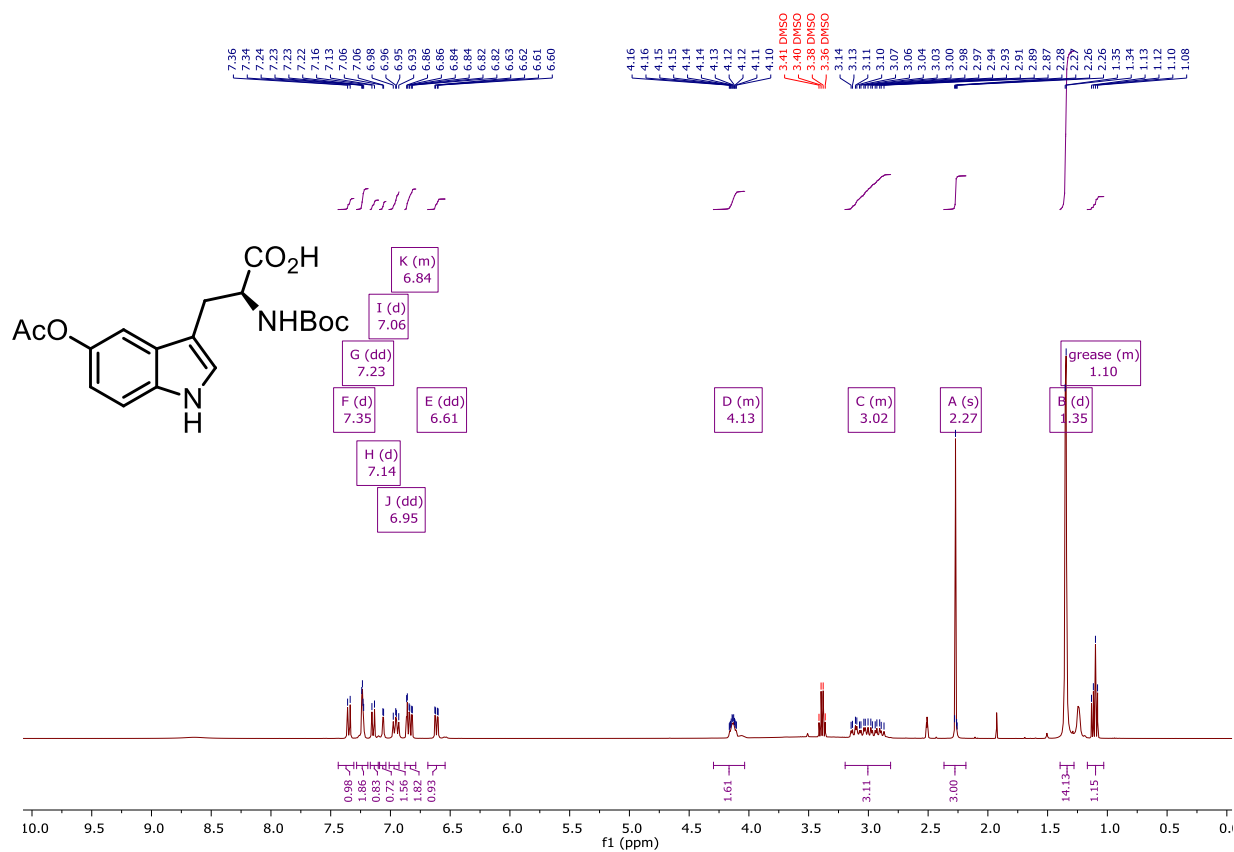
### <sup>1</sup>H-NMR of (S)-5-Acetoxy-tryptophan (34)



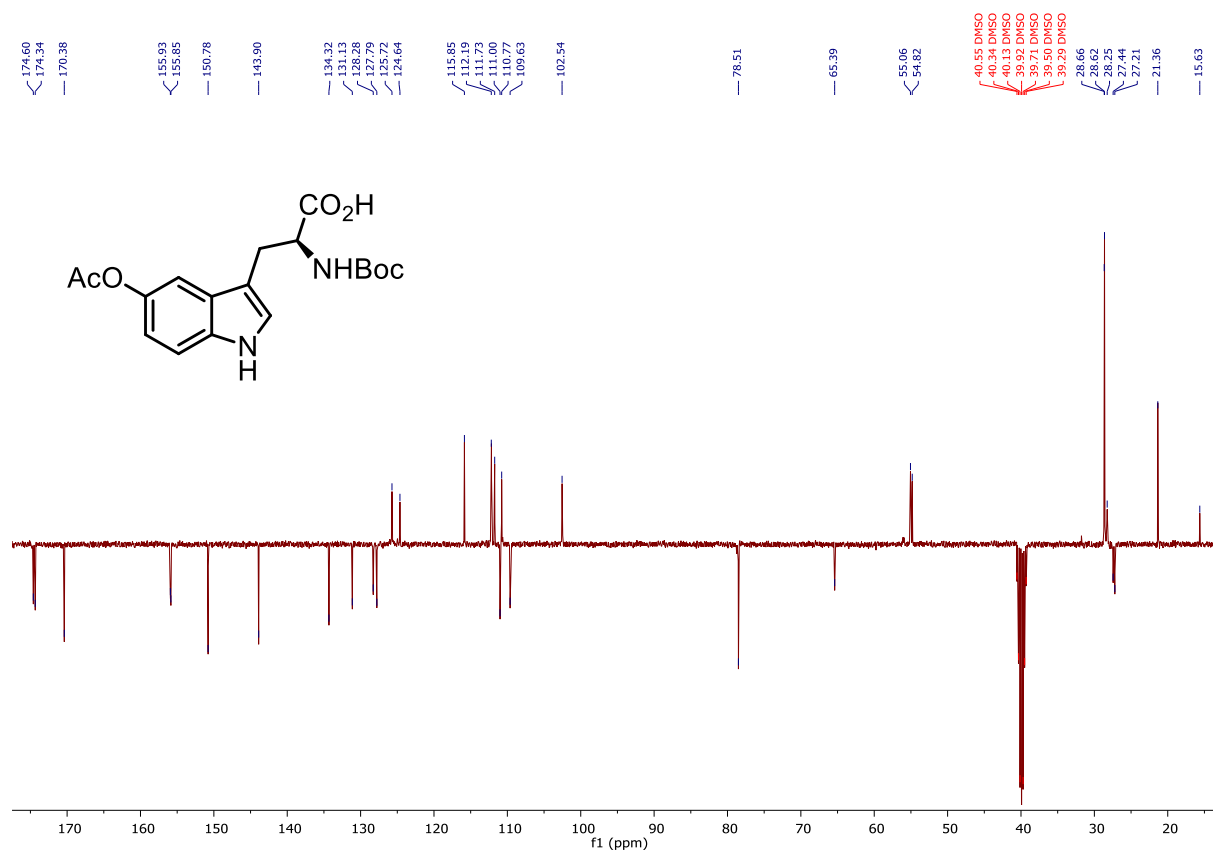
### <sup>13</sup>C-NMR of (S)-5-Acetoxy-tryptophan (34)



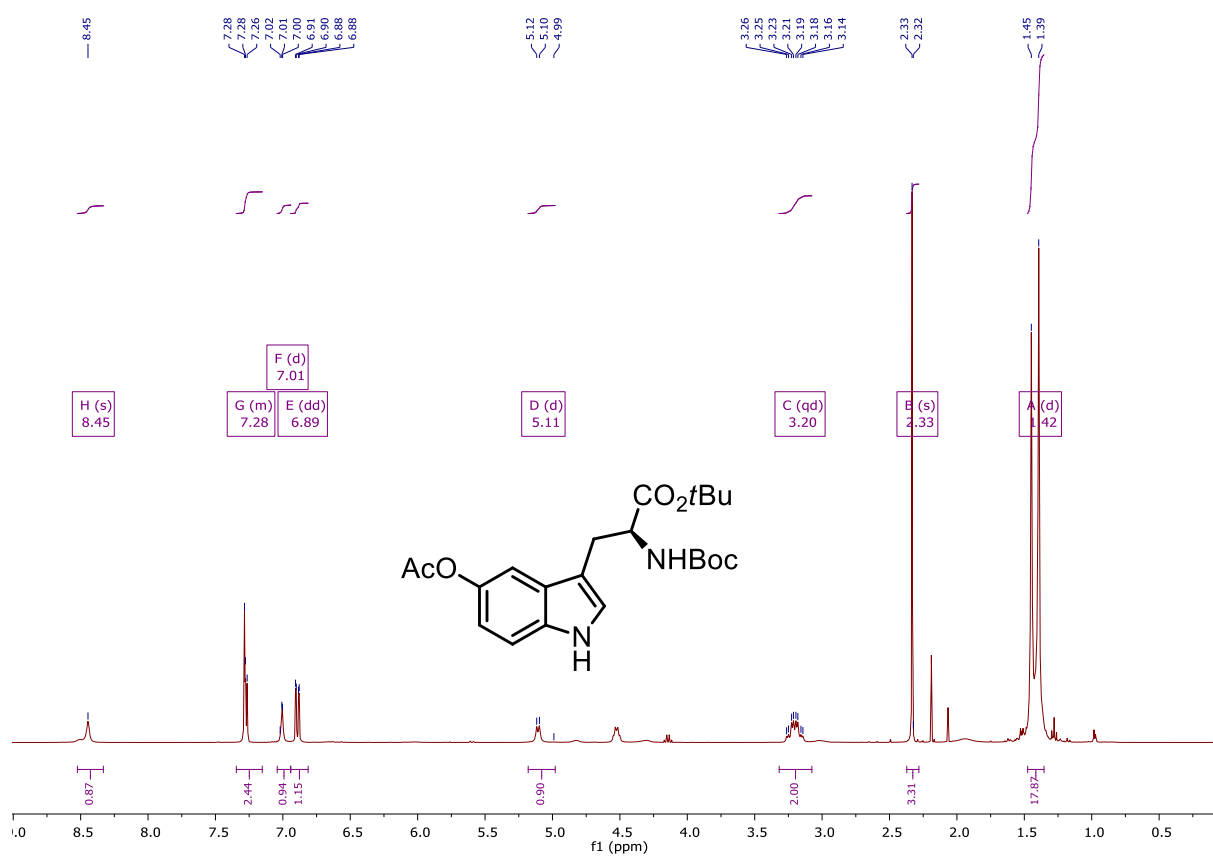
### <sup>1</sup>H-NMR of (S)-Boc-5-acetoxy-tryptophan (35)



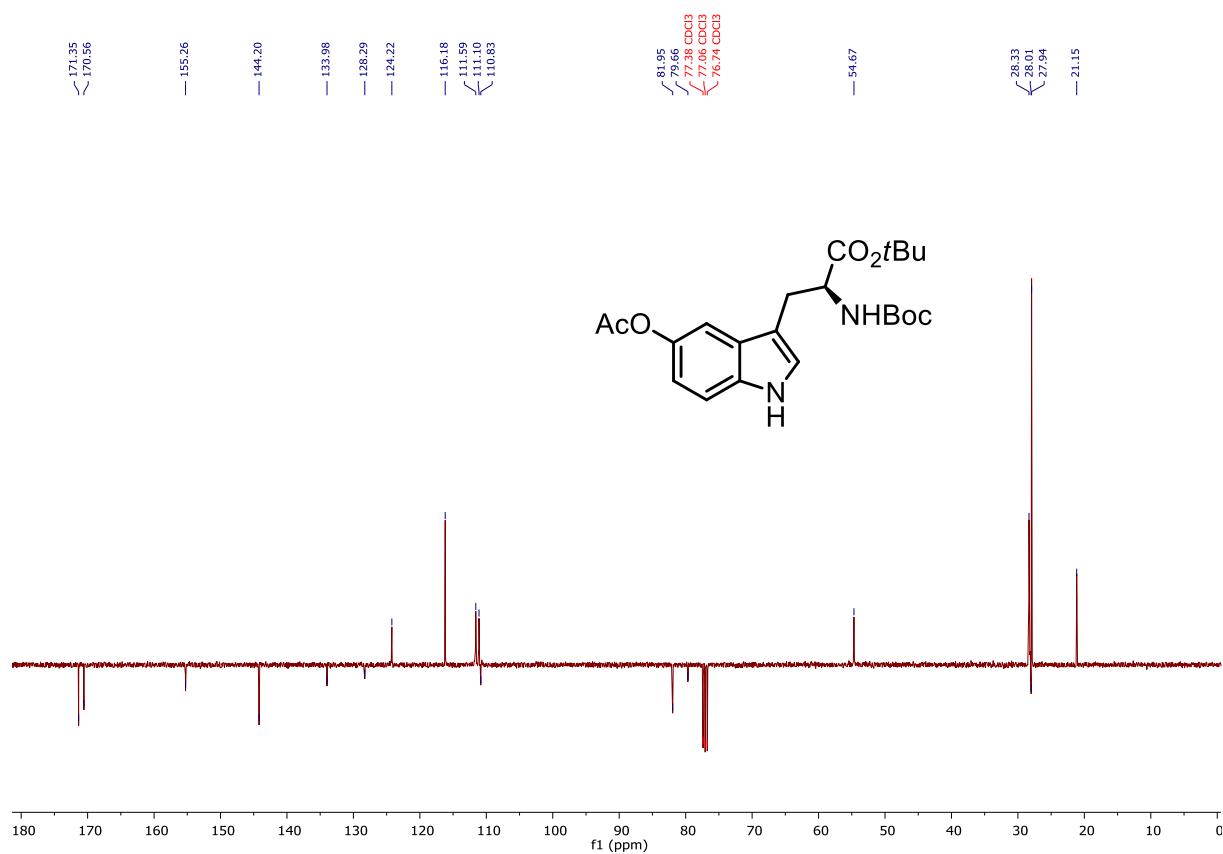
### <sup>13</sup>C-NMR of (S)-Boc-5-acetoxy-tryptophan (35)



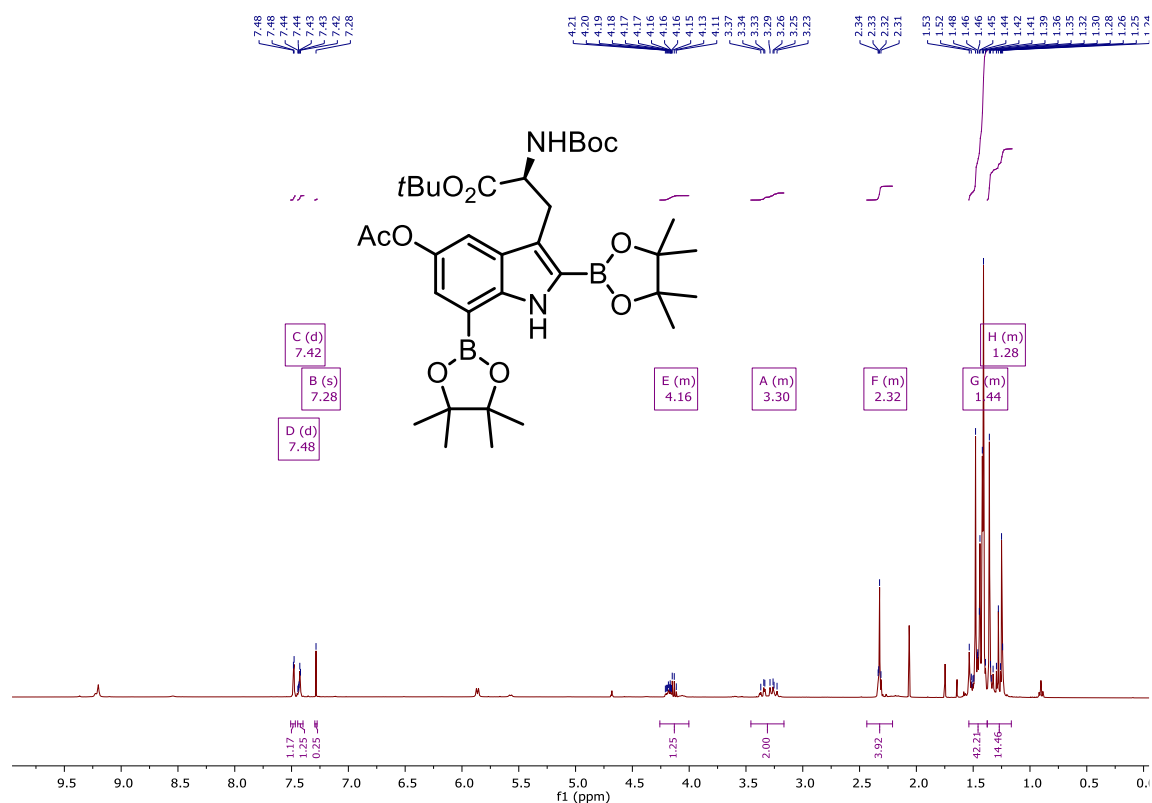
### <sup>1</sup>H-NMR of (S)-Boc-5-acetoxy-tryptophan-*t*Bu (36)



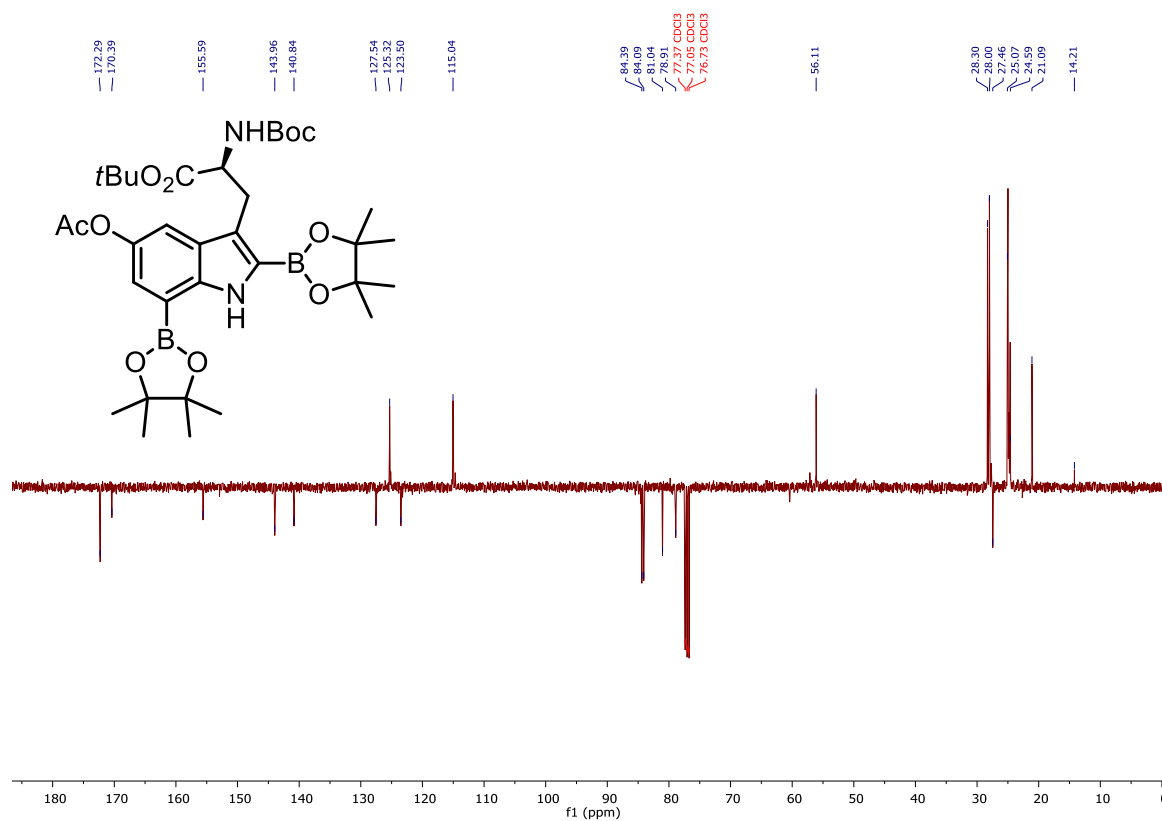
### <sup>13</sup>C-NMR of (S)-Boc-5-acetoxy-tryptophan-*t*Bu (36)



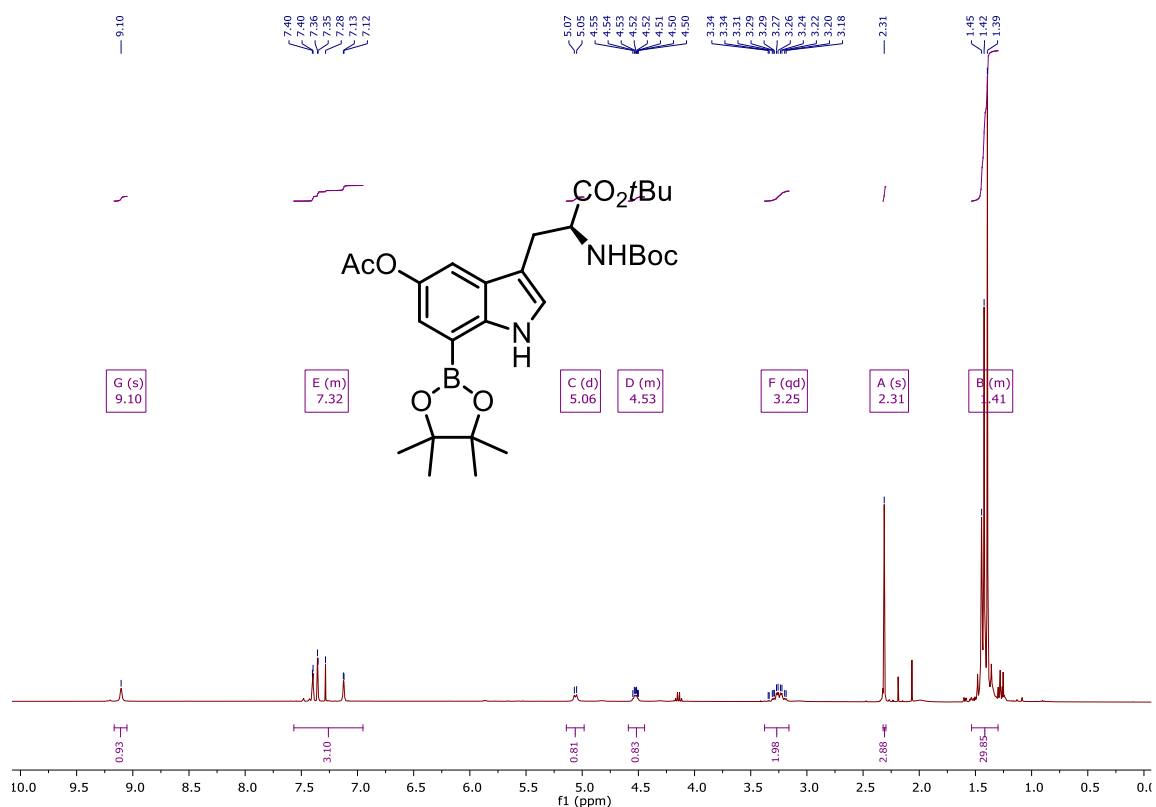
**<sup>1</sup>H-NMR of (S)-Boc-5-acetoxy-2,7-bis(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-tryptophan-*t*Bu (37)**



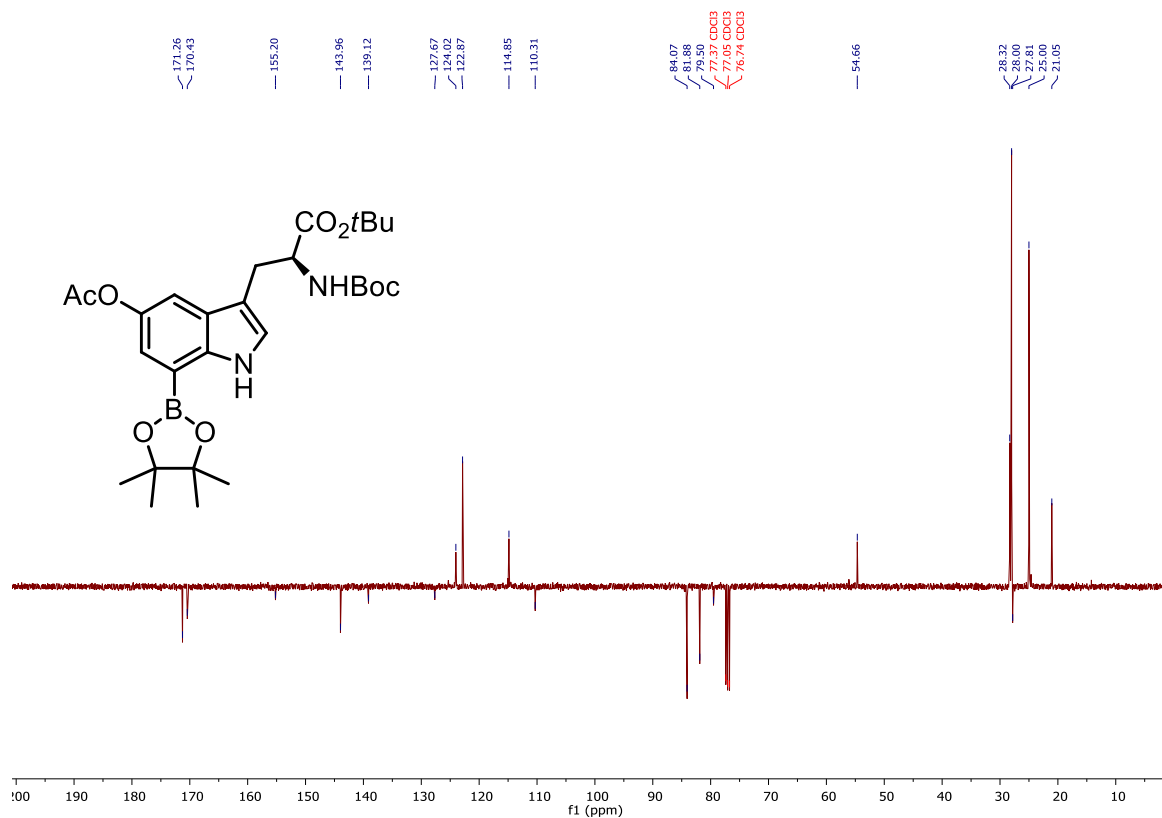
**<sup>13</sup>C-NMR of (S)-Boc-5-acetoxy-2,7-bis(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-tryptophan-*t*Bu (37)**



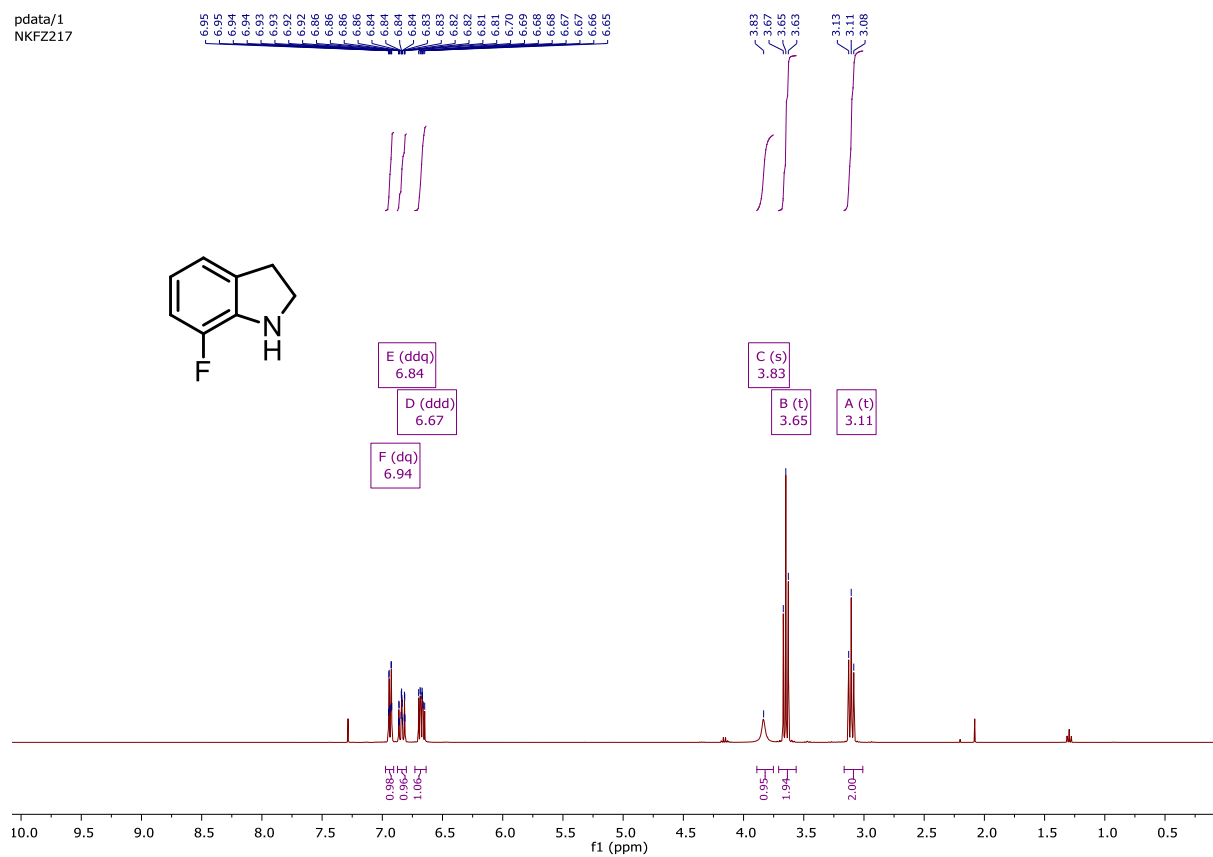
**<sup>1</sup>H-NMR of (S)-Boc-5-acetoxy-7-bis(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-tryptophan-tBu (21)**



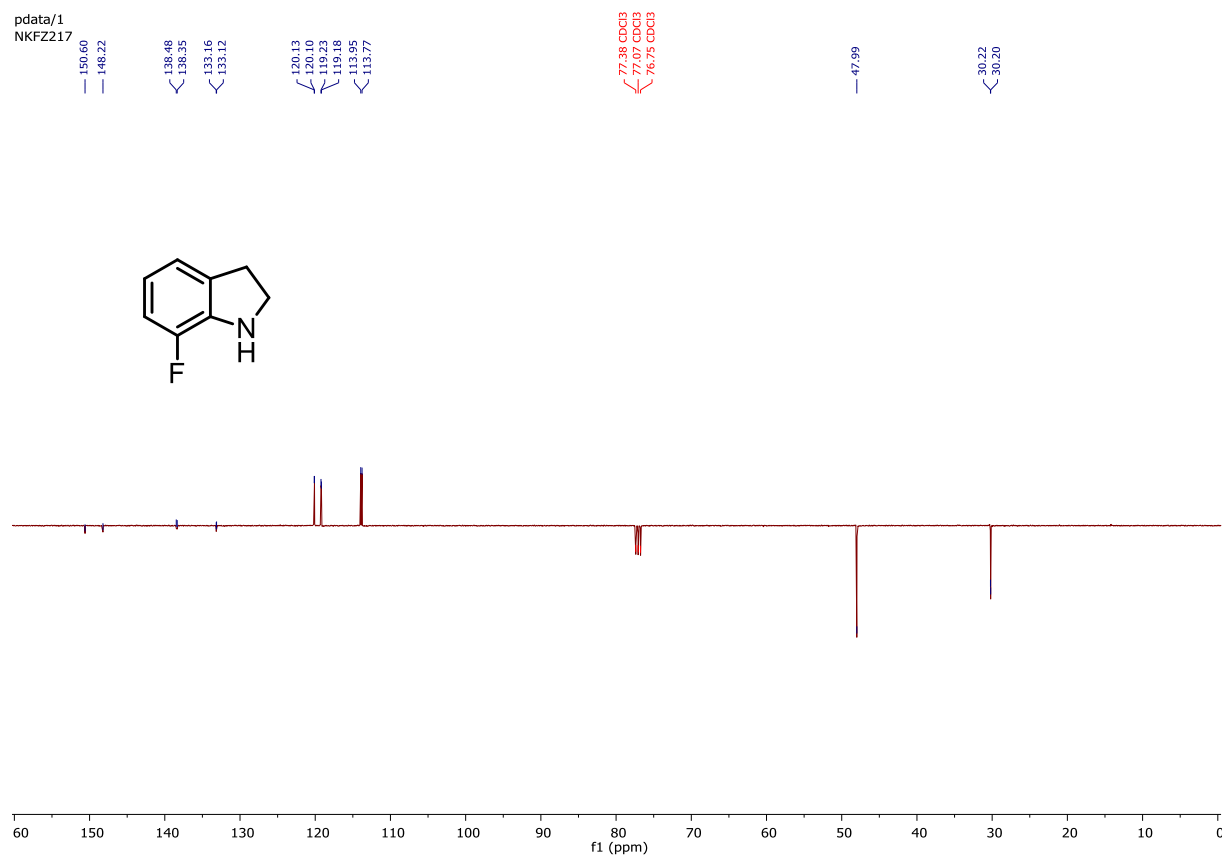
**<sup>13</sup>C-NMR of (S)-Boc-5-acetoxy-7-bis(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-tryptophan-tBu (21)**



# <sup>1</sup>H-NMR of 7-Fluoroindoline (39)



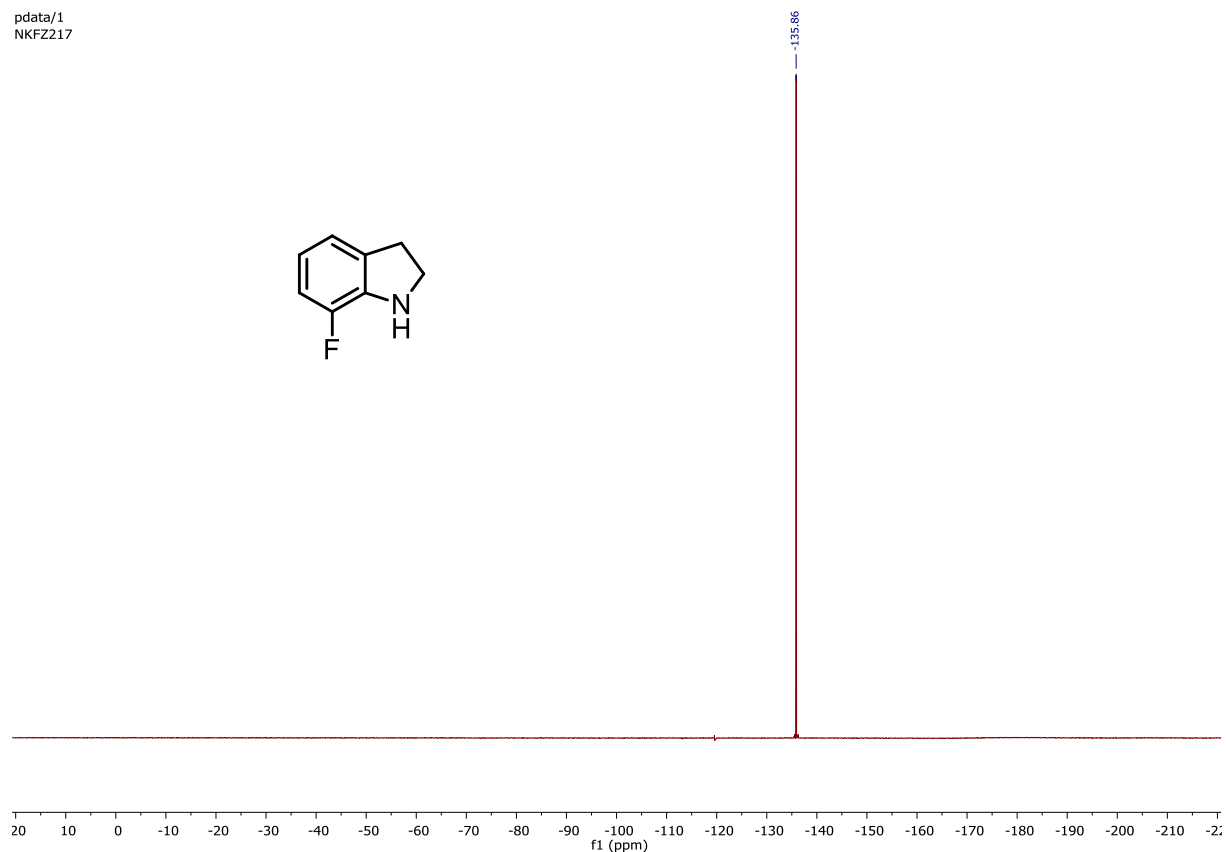
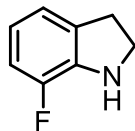
# <sup>13</sup>C-NMR of 7-Fluoroindoline (39)





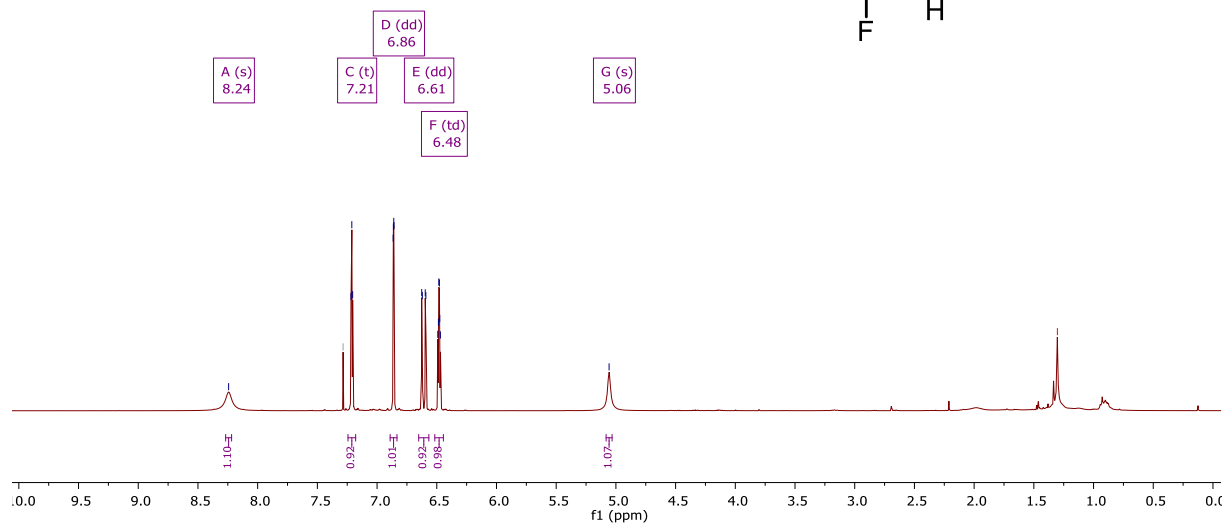
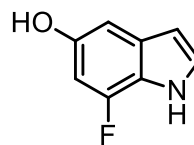
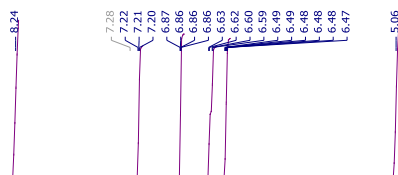
# <sup>19</sup>F-NMR of 7-Fluoroindoline (39)

pdata/1  
NKFZ217



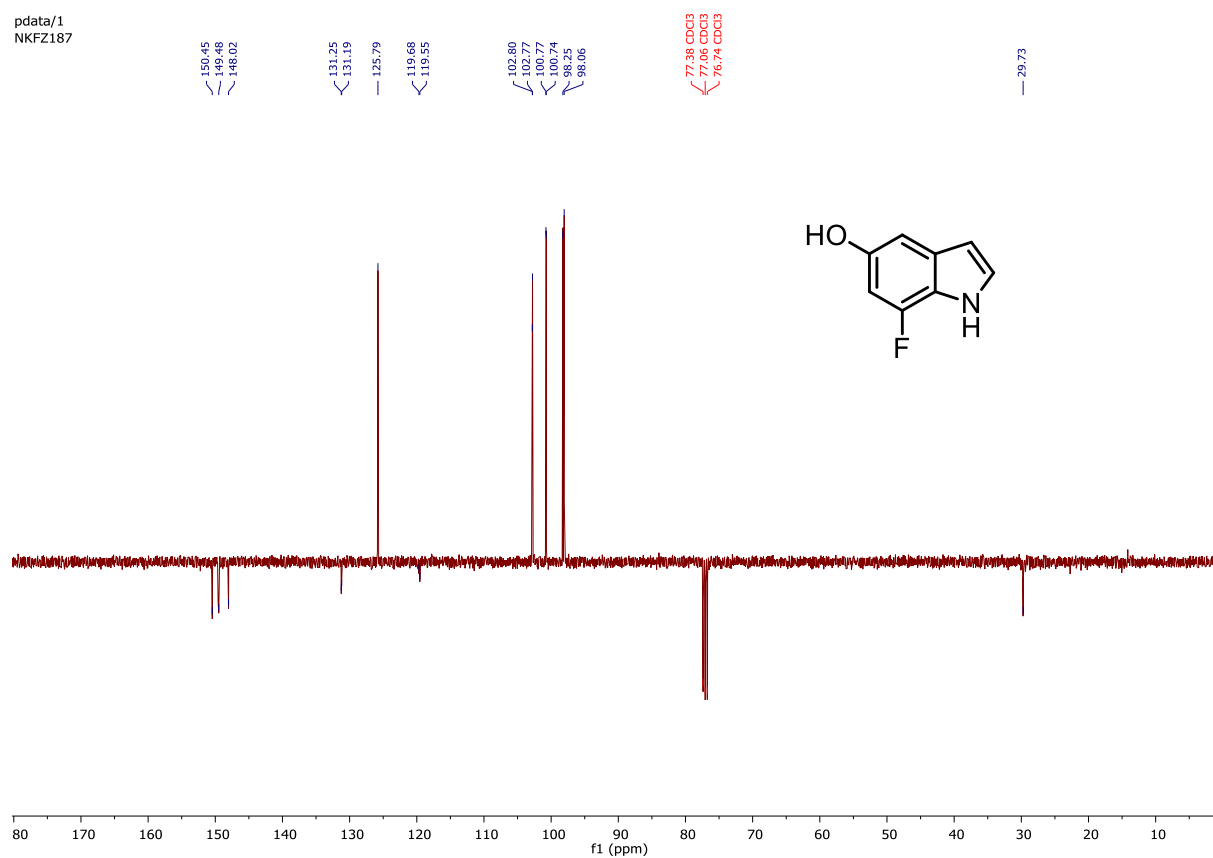
# <sup>1</sup>H-NMR of 5-Hydroxy-7-fluoroindole (40)

pdata/1  
NKFZ187



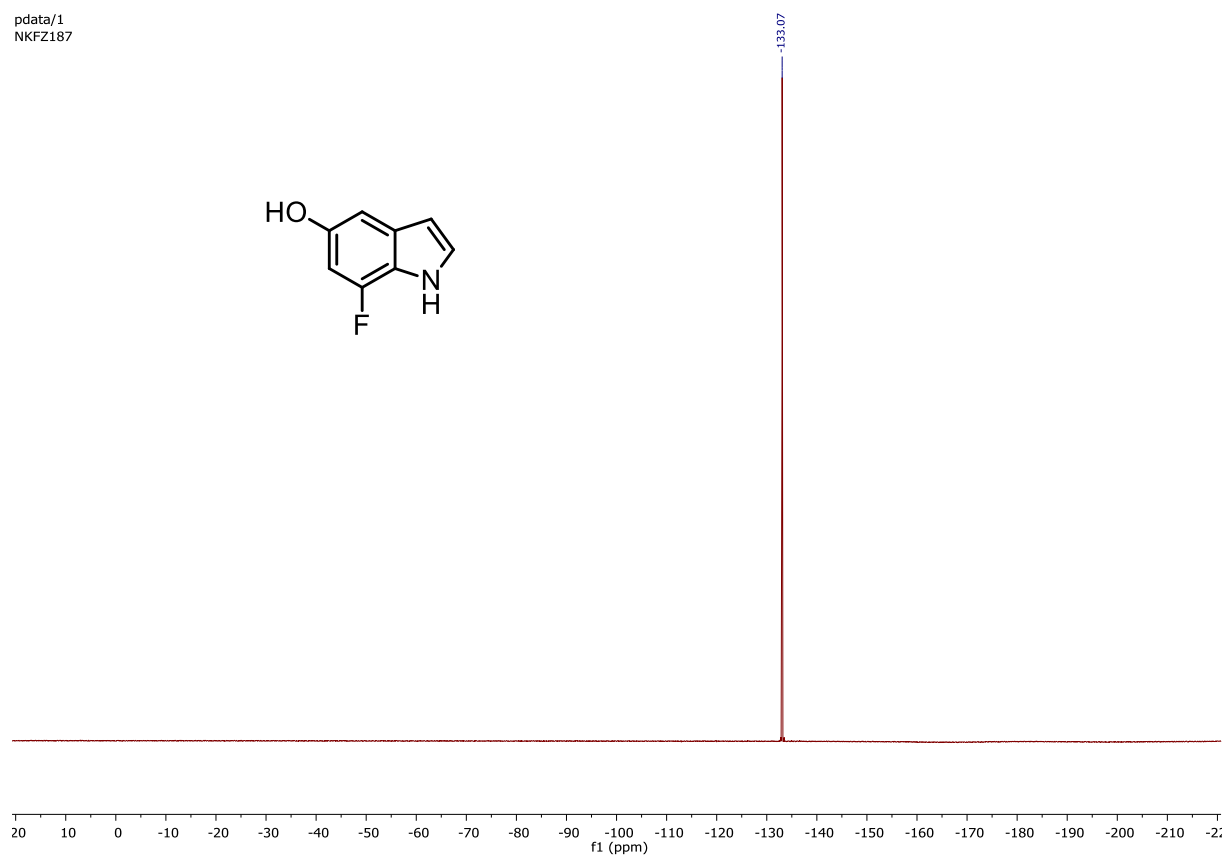
# <sup>13</sup>C-NMR of 5-Hydroxy-7-fluoroindole (40)

pdata/1  
NKFZ187

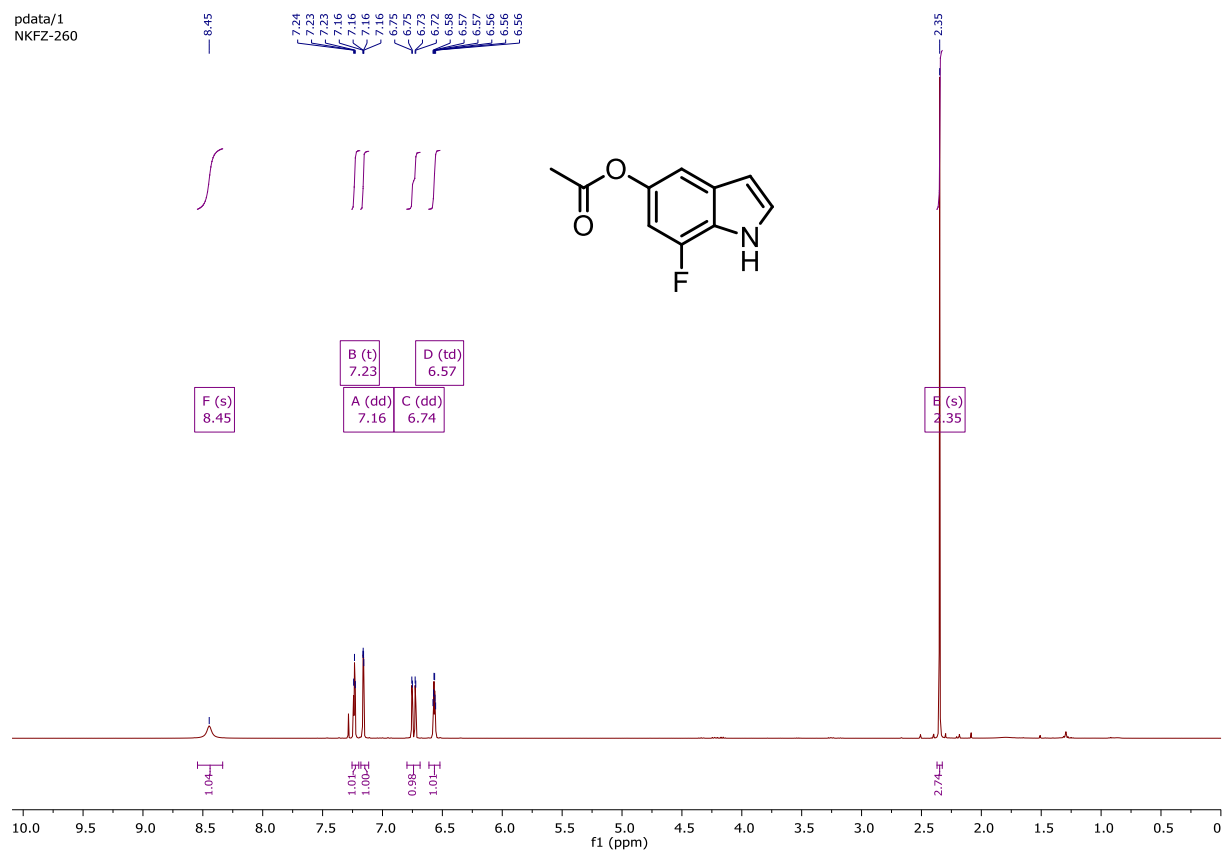


# <sup>19</sup>F-NMR of 5-Hydroxy-7-fluoroindole (40)

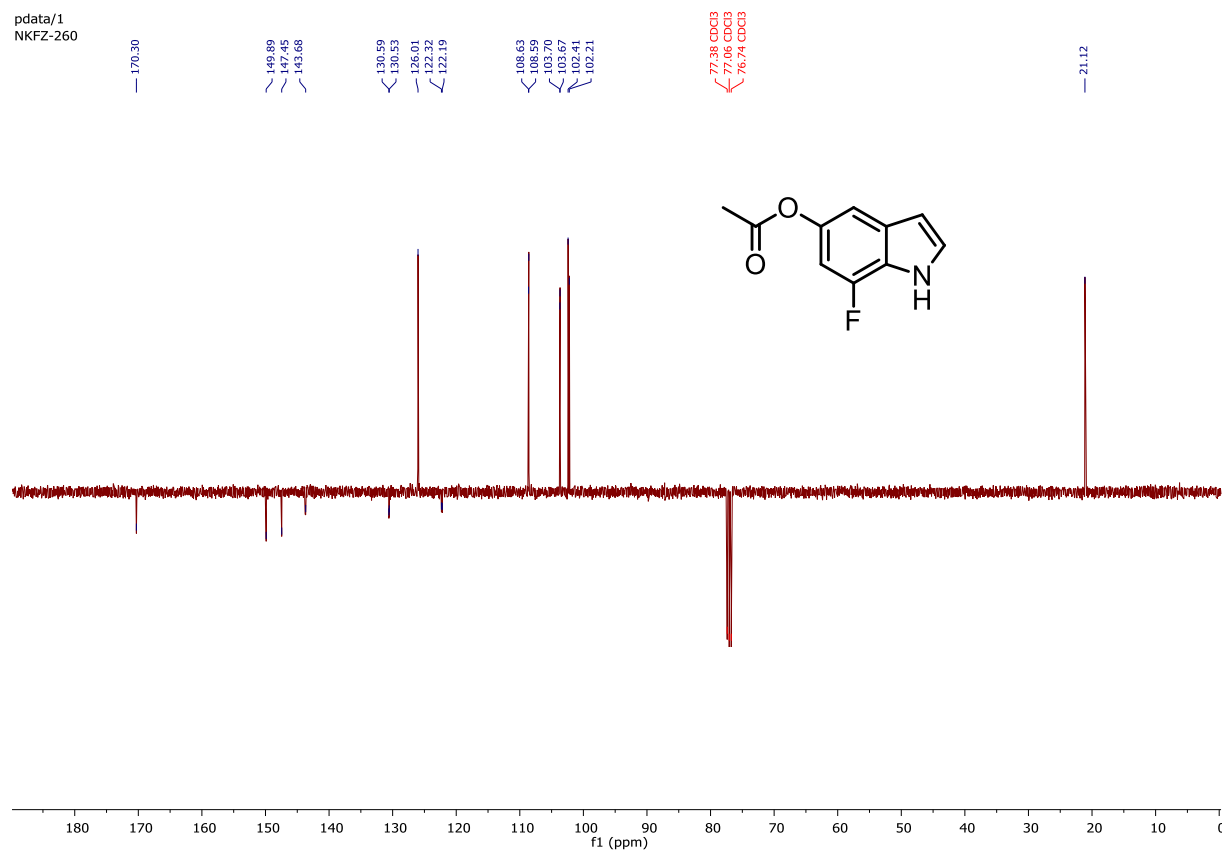
pdata/1  
NKFZ187



# <sup>1</sup>H-NMR of 5-Acetoxy-7-Fluoroindole (41)

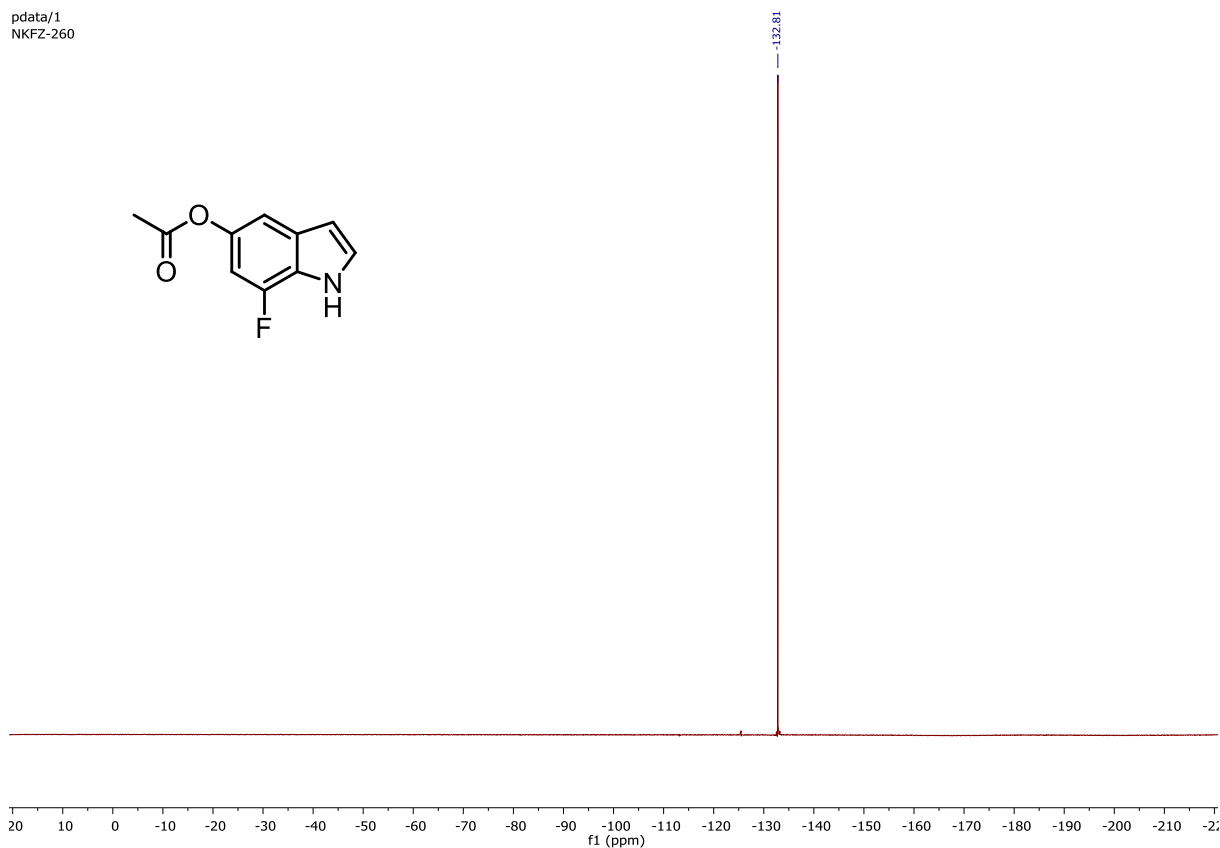


# <sup>13</sup>C-NMR of 5-Acetoxy-7-Fluoroindole (41)



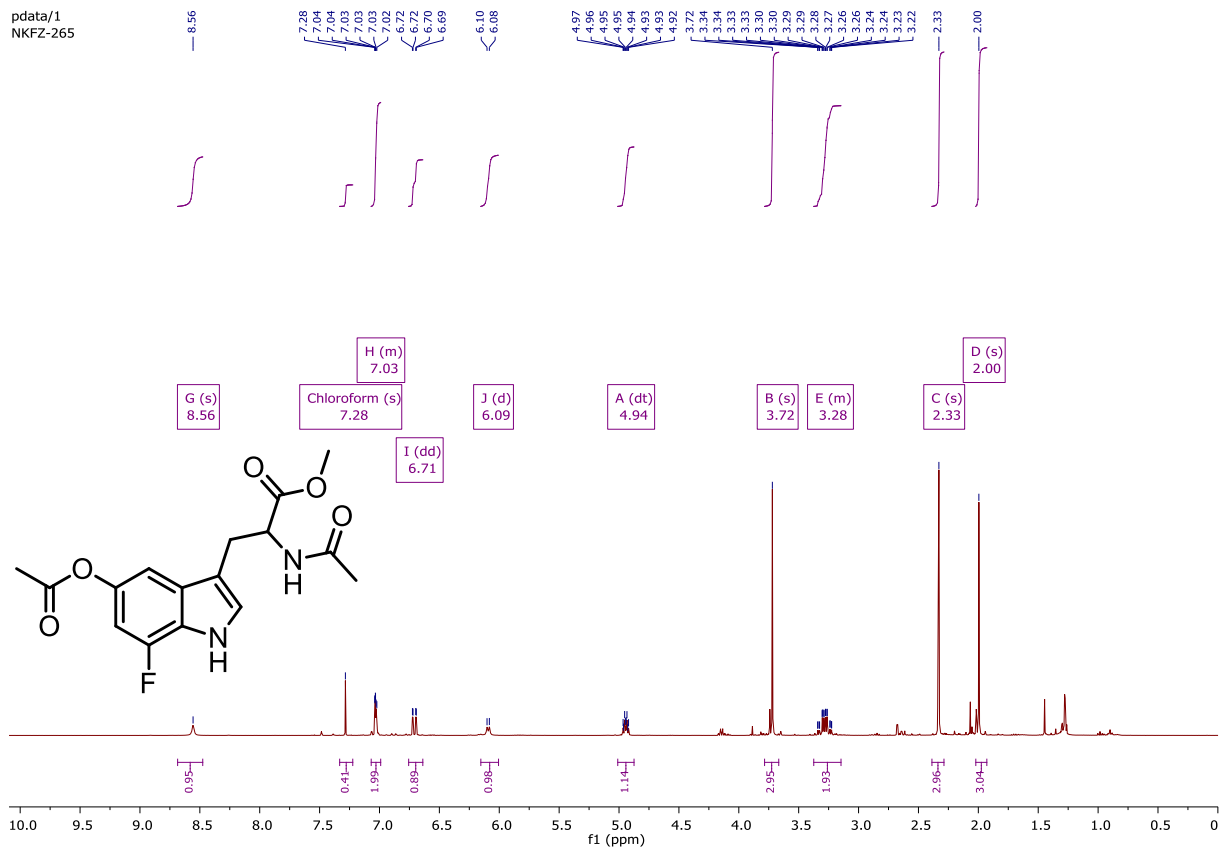
# <sup>19</sup>F-NMR of 5-Acetoxy-7-Fluoroindole (41)

pdata/1  
NKFZ-260



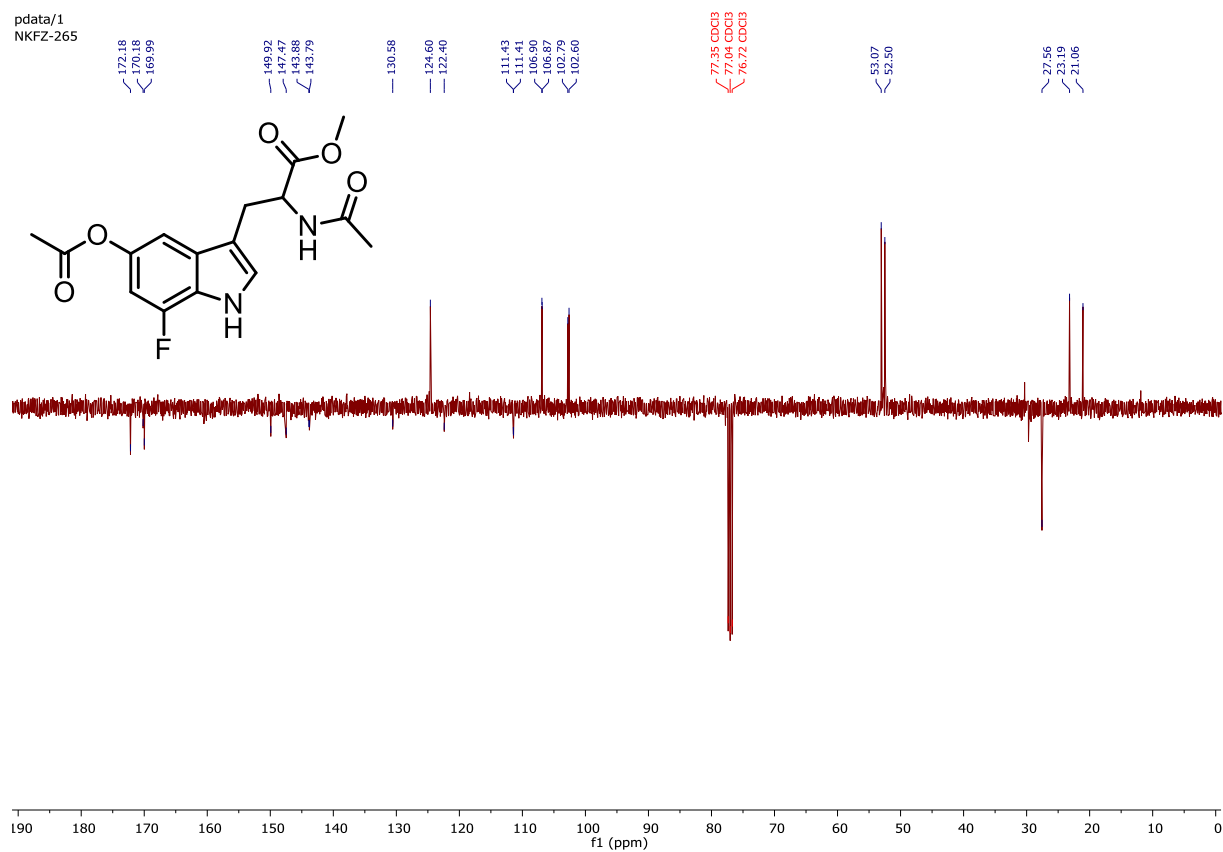
# <sup>1</sup>H-NMR of Methyl 2-acetamido-3-(5-acetoxy-7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (42)

pdata/1  
NKFZ-265



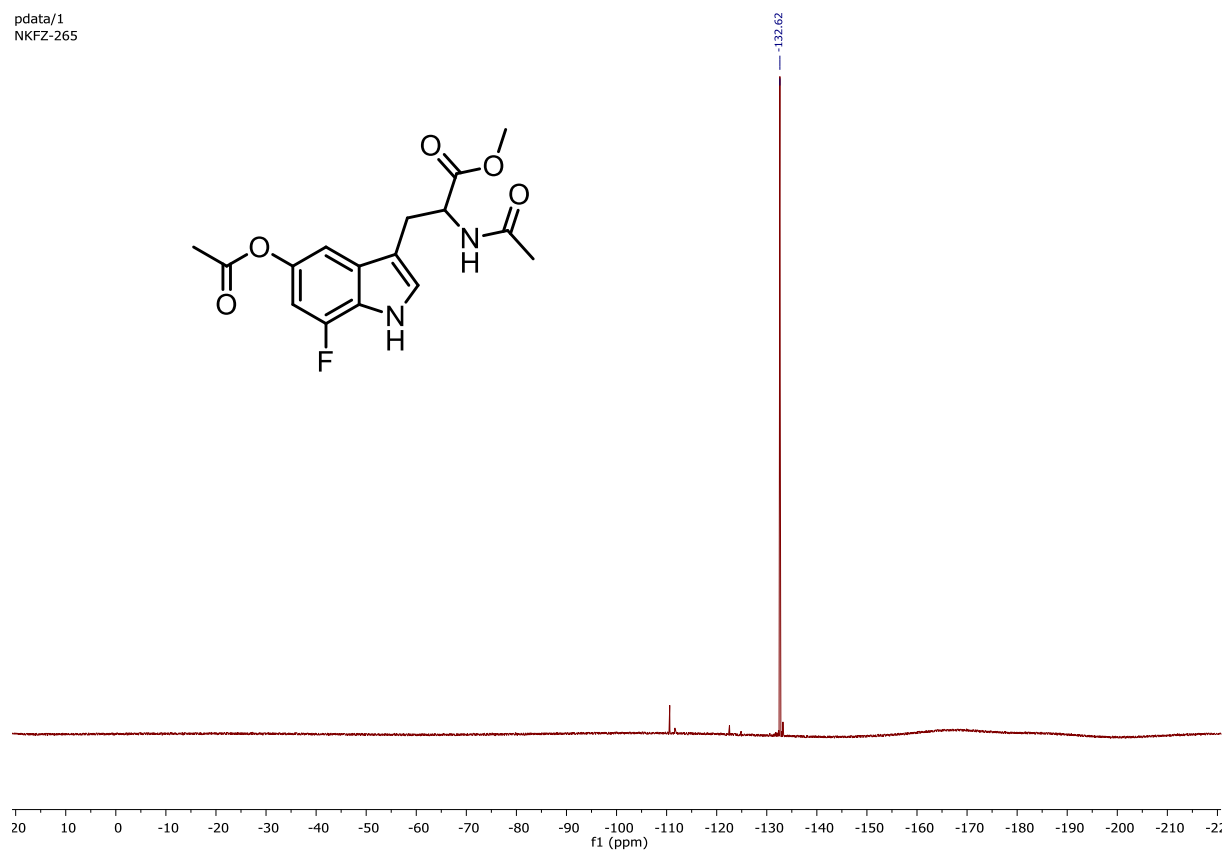
# <sup>1</sup>H-NMR of Methyl 2-acetamido-3-(5-acetoxy-7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (42)

pdata/1  
NKFZ-265

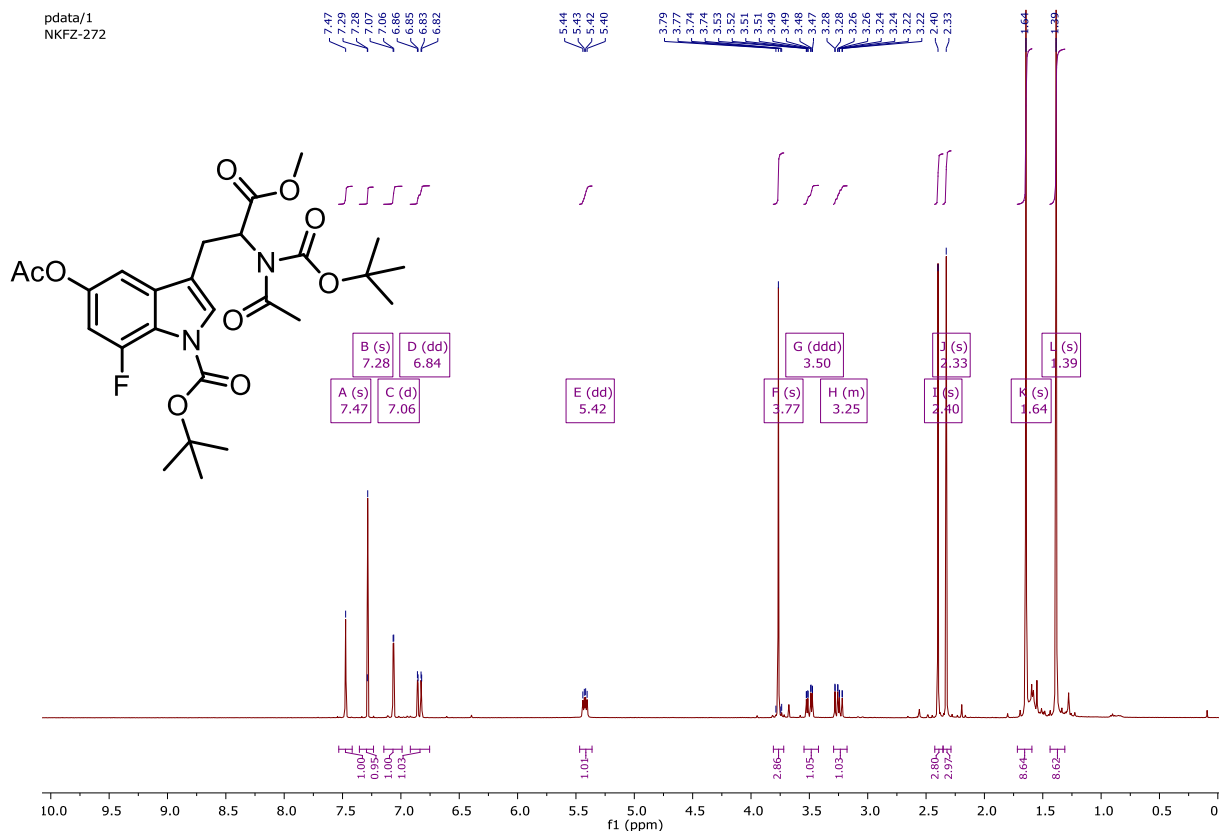


# <sup>13</sup>C-NMR of Methyl 2-acetamido-3-(5-acetoxy-7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (42)

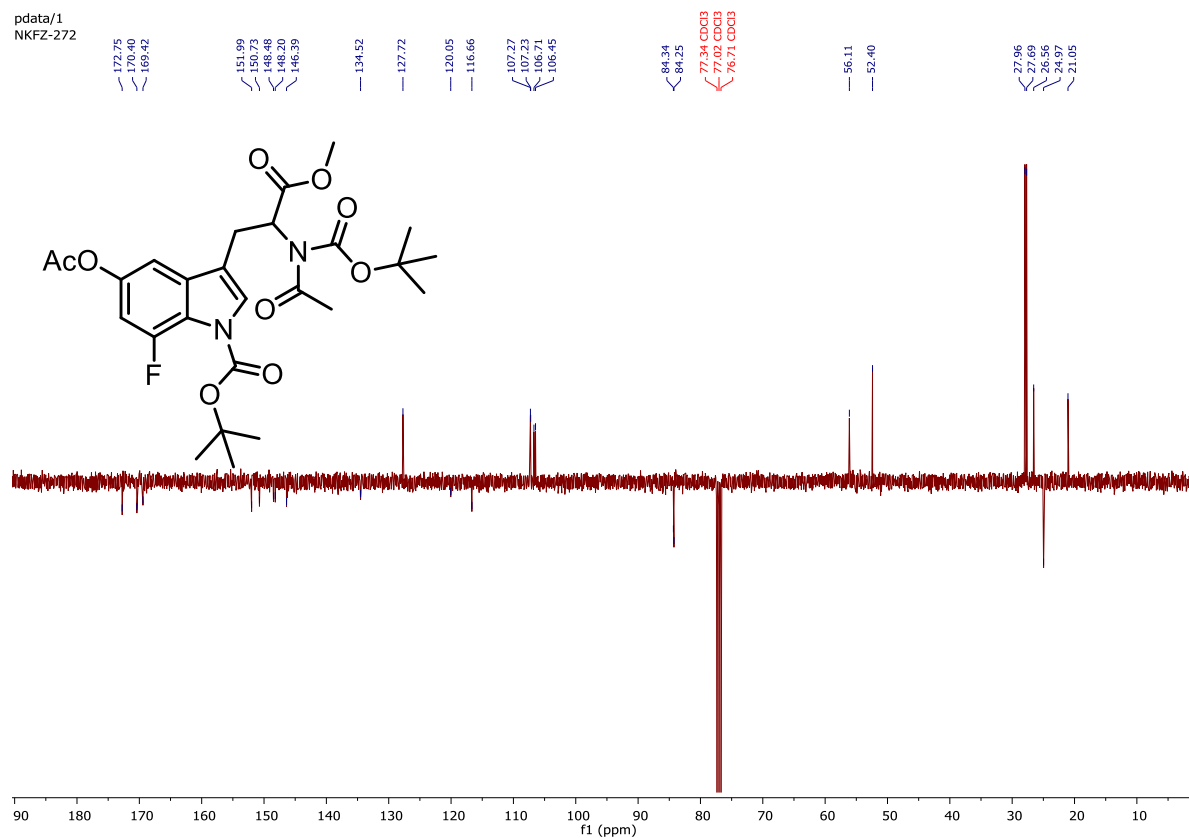
pdata/1  
NKFZ-265



# <sup>1</sup>H-NMR of tert-butyl 5-acetoxy-3-(2-(N-(tert-butoxycarbonyl)acetamido)-3-methoxy-3-oxopropyl)-7-fluoro-1H-indole-1-carboxylate (43)

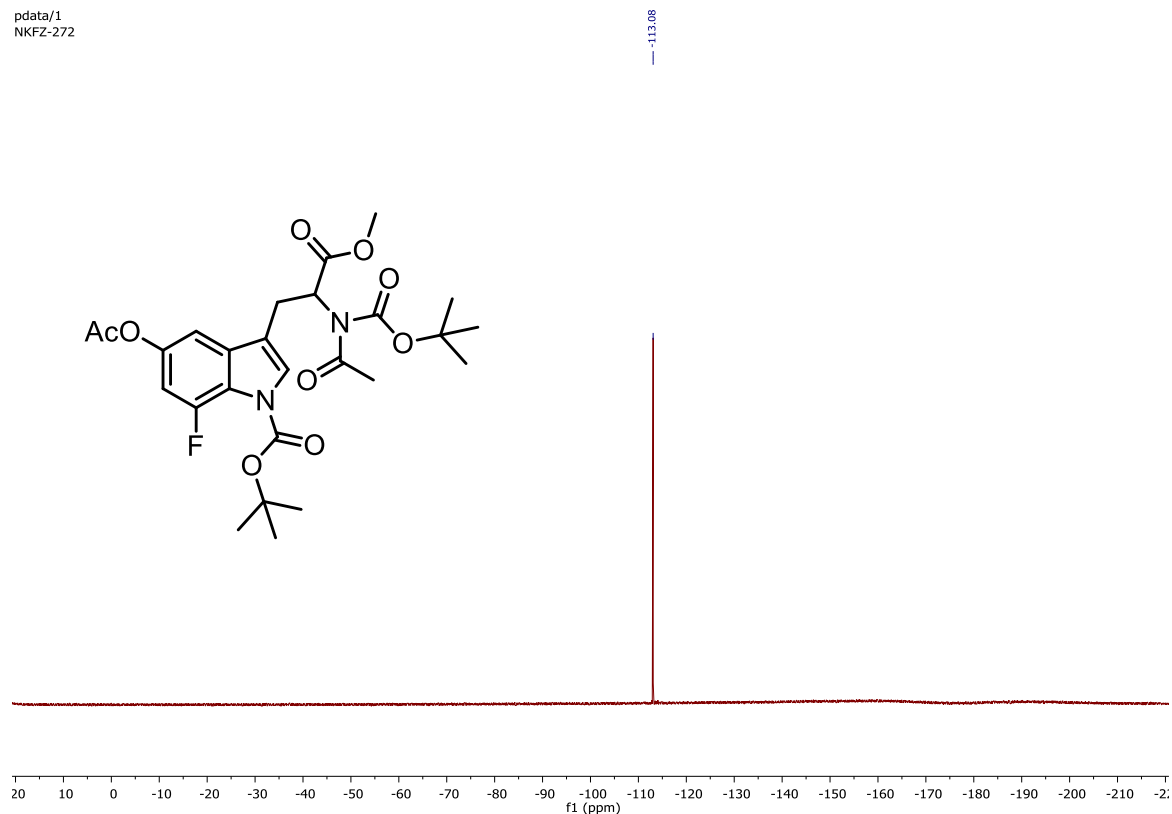


# <sup>13</sup>C-NMR of tert-butyl 5-acetoxy-3-(2-(N-(tert-butoxycarbonyl)acetamido)-3-methoxy-3-oxopropyl)-7-fluoro-1H-indole-1-carboxylate (43)



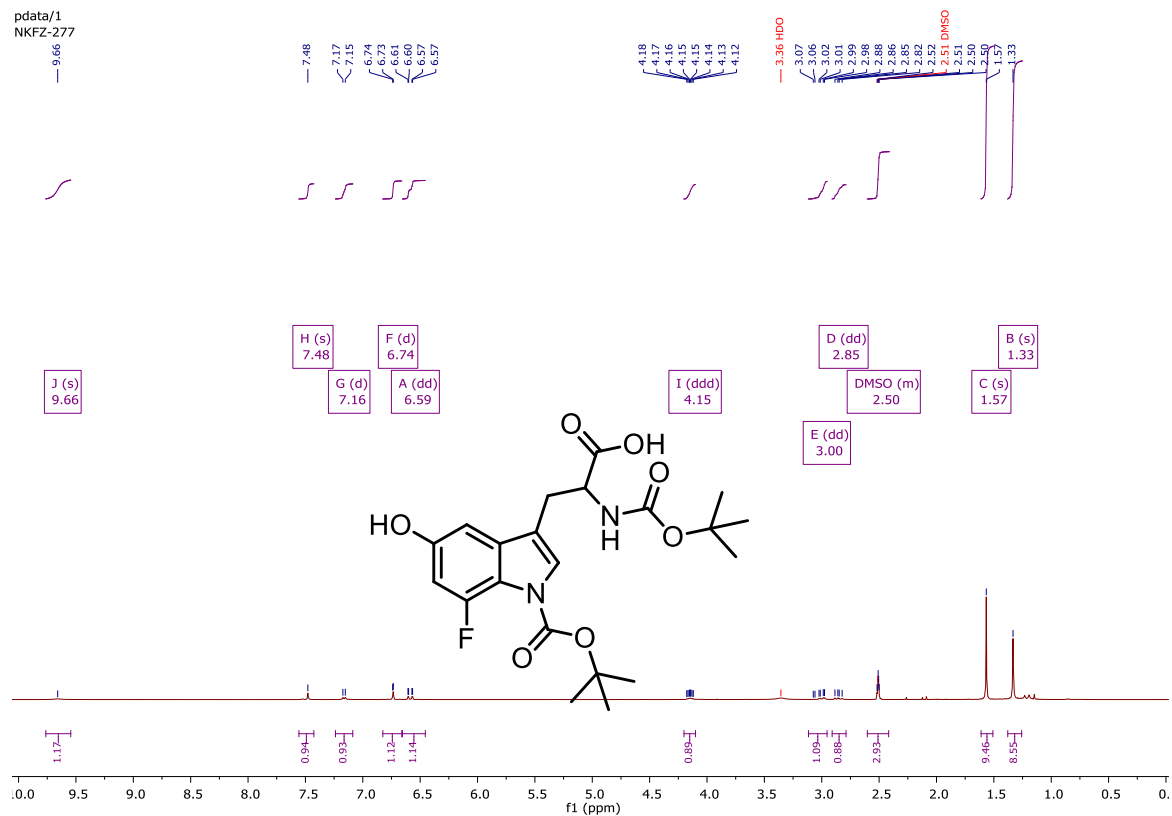
# <sup>19</sup>F-NMR of tert-butyl 5-acetoxy-3-(2-(N-(tert-butoxycarbonyl)acetamido)-3-methoxy-3-oxopropyl)-7-fluoro-1H-indole-1-carboxylate (43)

pdata/1  
NKFZ-272

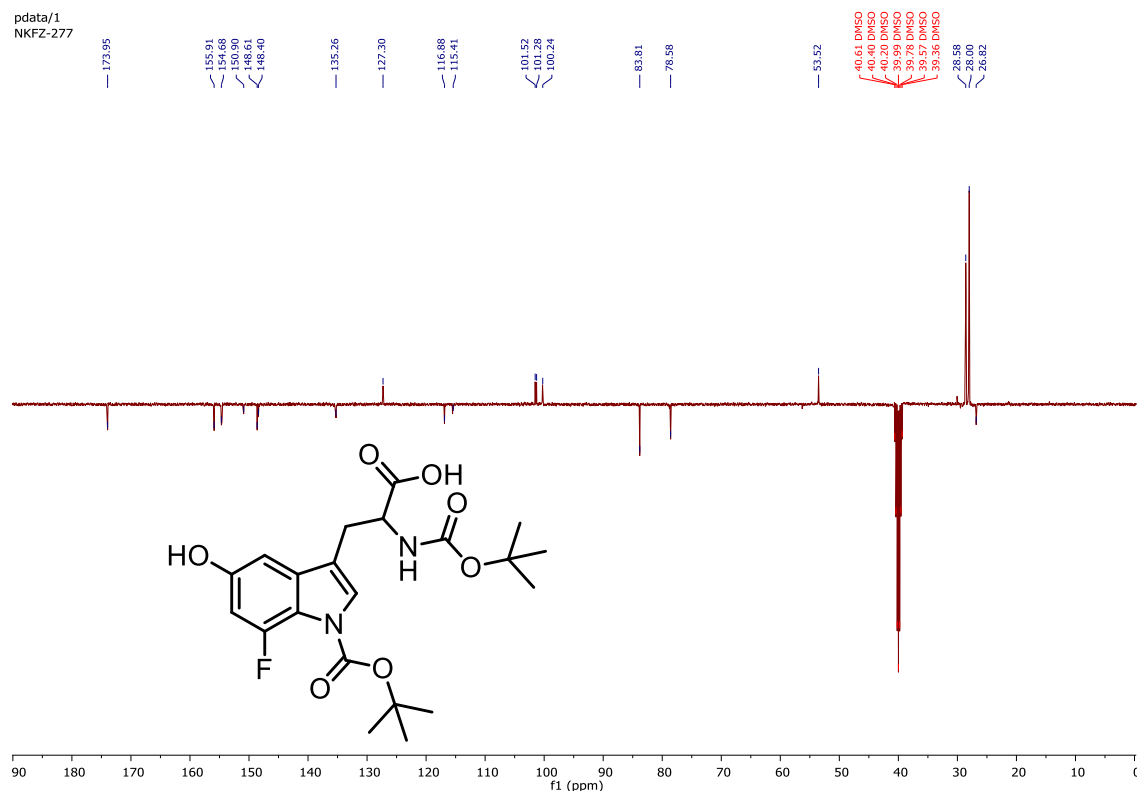


# <sup>1</sup>H-NMR of 3-(1-(tert-butoxycarbonyl)-7-fluoro-5-hydroxy-1H-indol-3-yl)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoic acid (44)

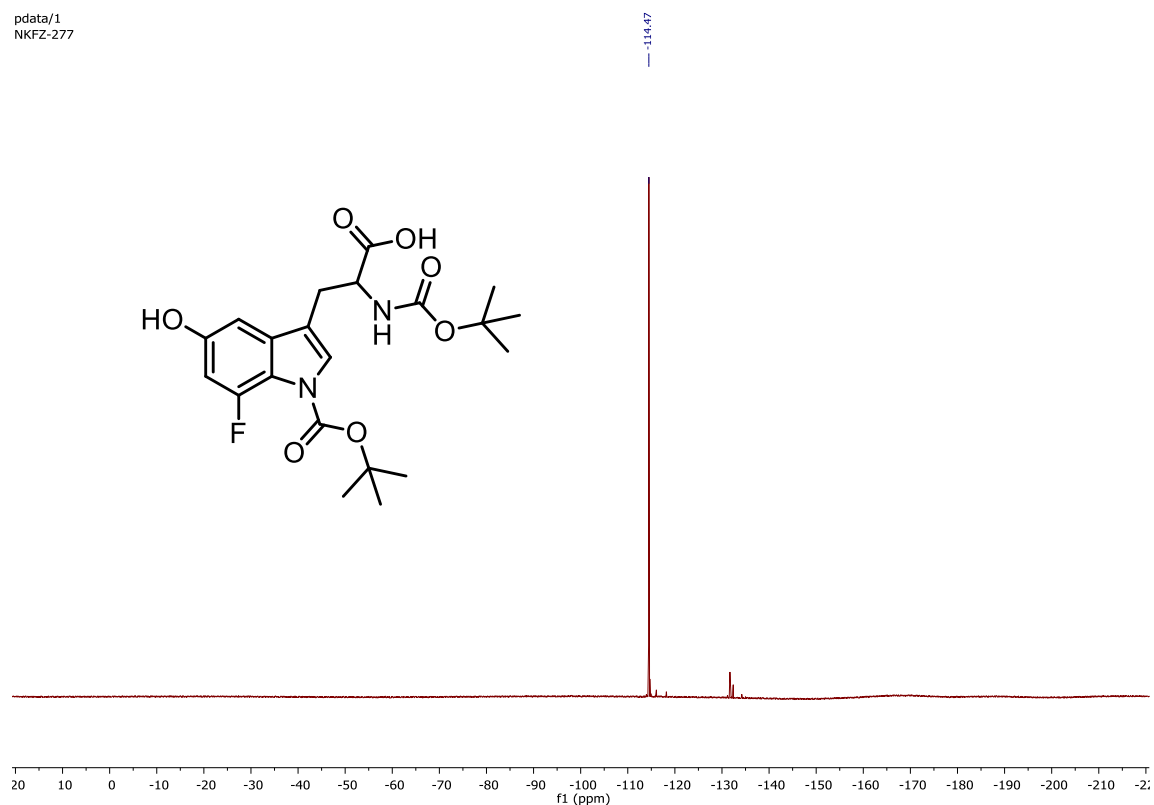
pdata/1  
NKFZ-277



**<sup>13</sup>C-NMR of 3-(1-(tert-butoxycarbonyl)-7-fluoro-5-hydroxy-1H-indol-3-yl)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoic acid (44)**



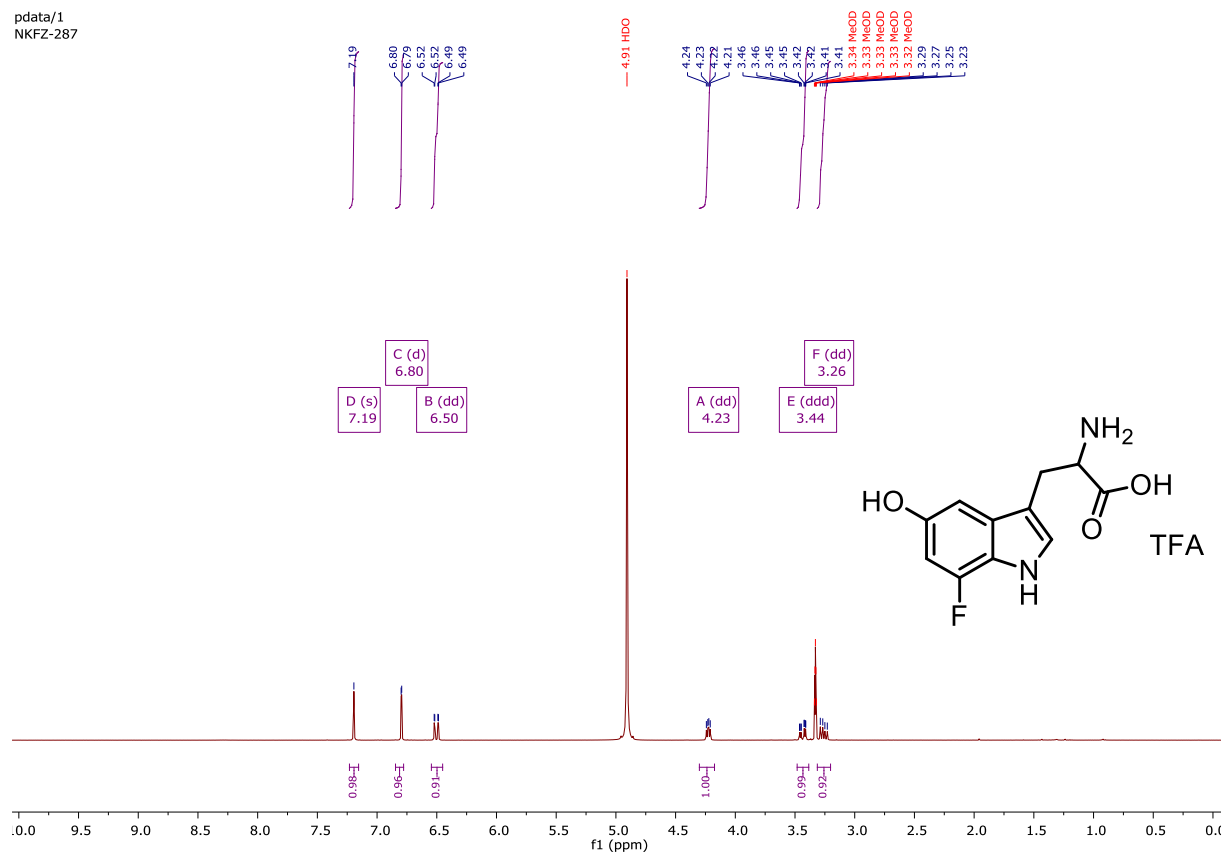
**<sup>19</sup>F-NMR of 3-(1-(tert-butoxycarbonyl)-7-fluoro-5-hydroxy-1H-indol-3-yl)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoic acid (44)**





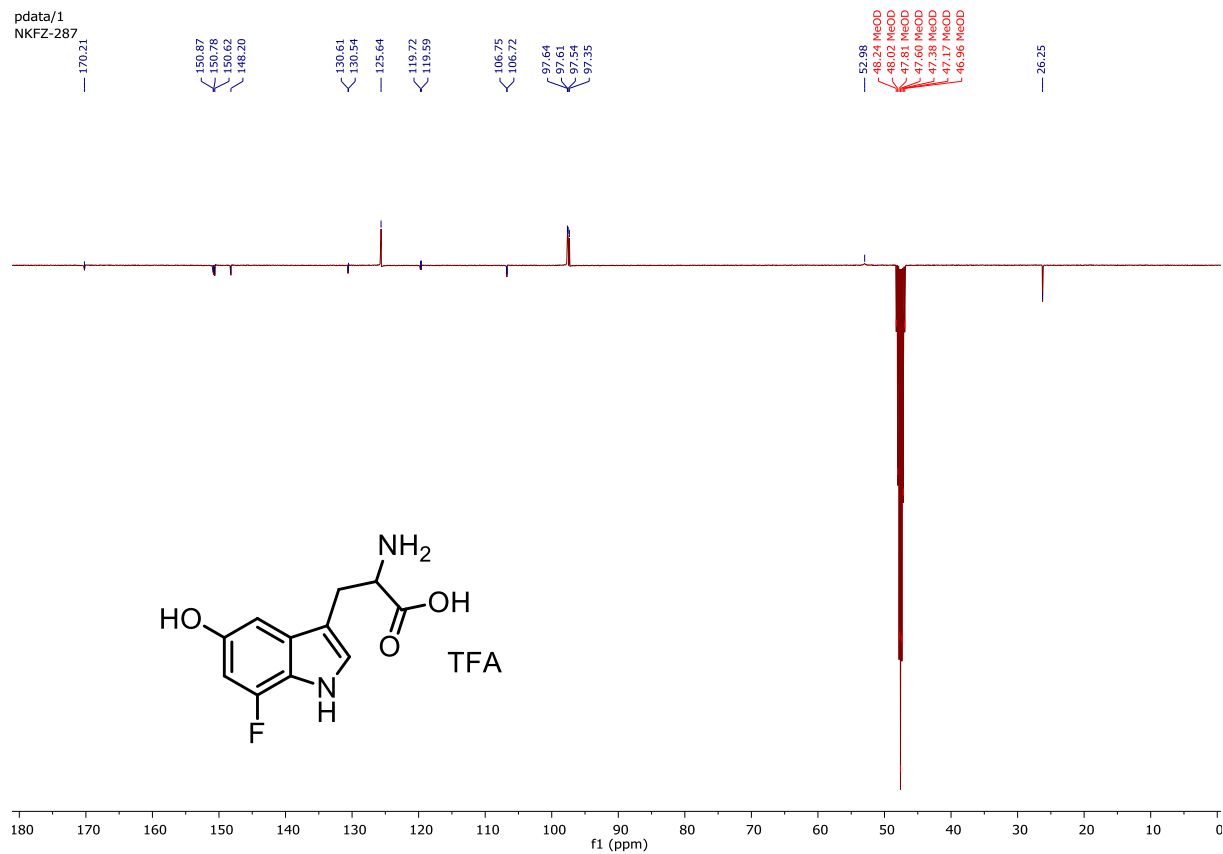
# <sup>1</sup>H-NMR of 5-Hydroxy-7-fluorotryptophan triflate (19)

pdata/1  
NKFZ-287



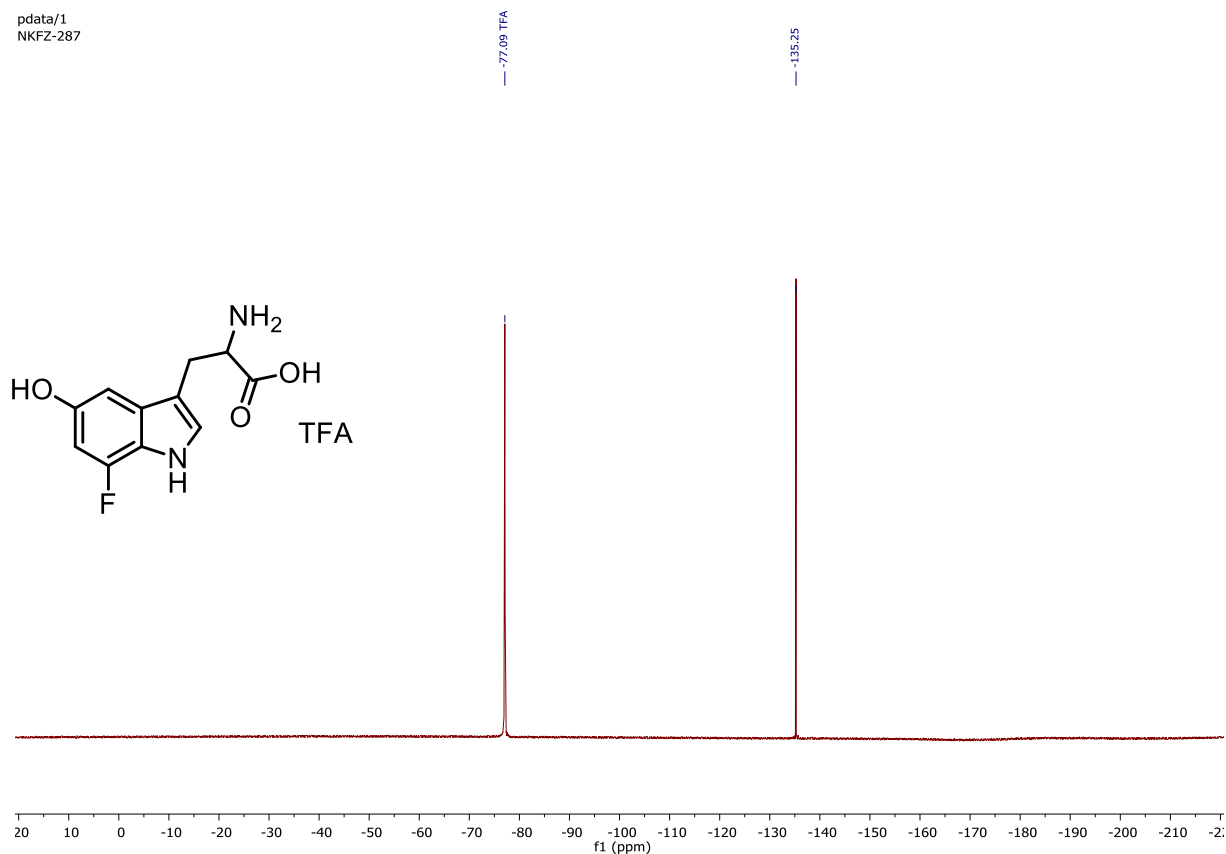
# <sup>13</sup>C-NMR of 5-Hydroxy-7-fluorotryptophan triflate (19)

pdata/1  
NKFZ-287



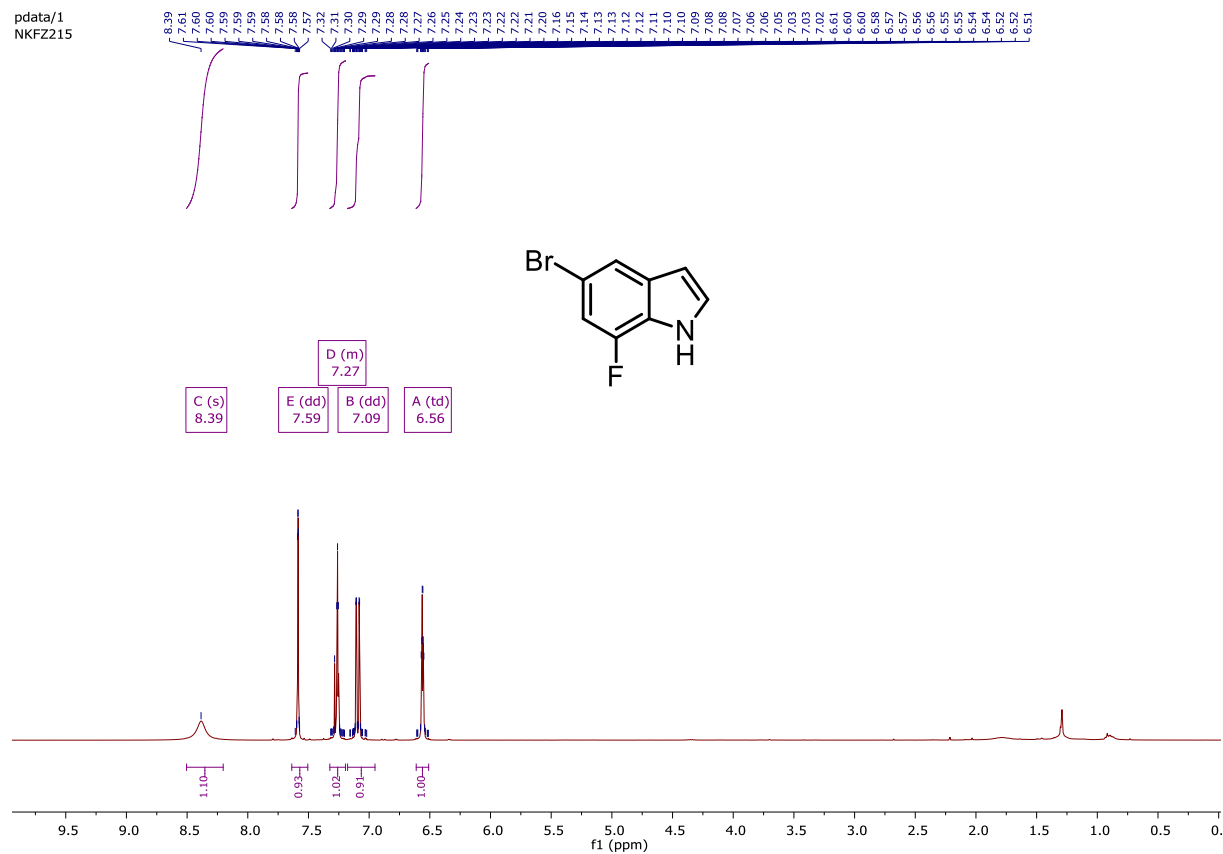
# <sup>19</sup>F-NMR of 5-Hydroxy-7-fluorotryptophan triflate (19)

pdata/1  
NKFZ-287



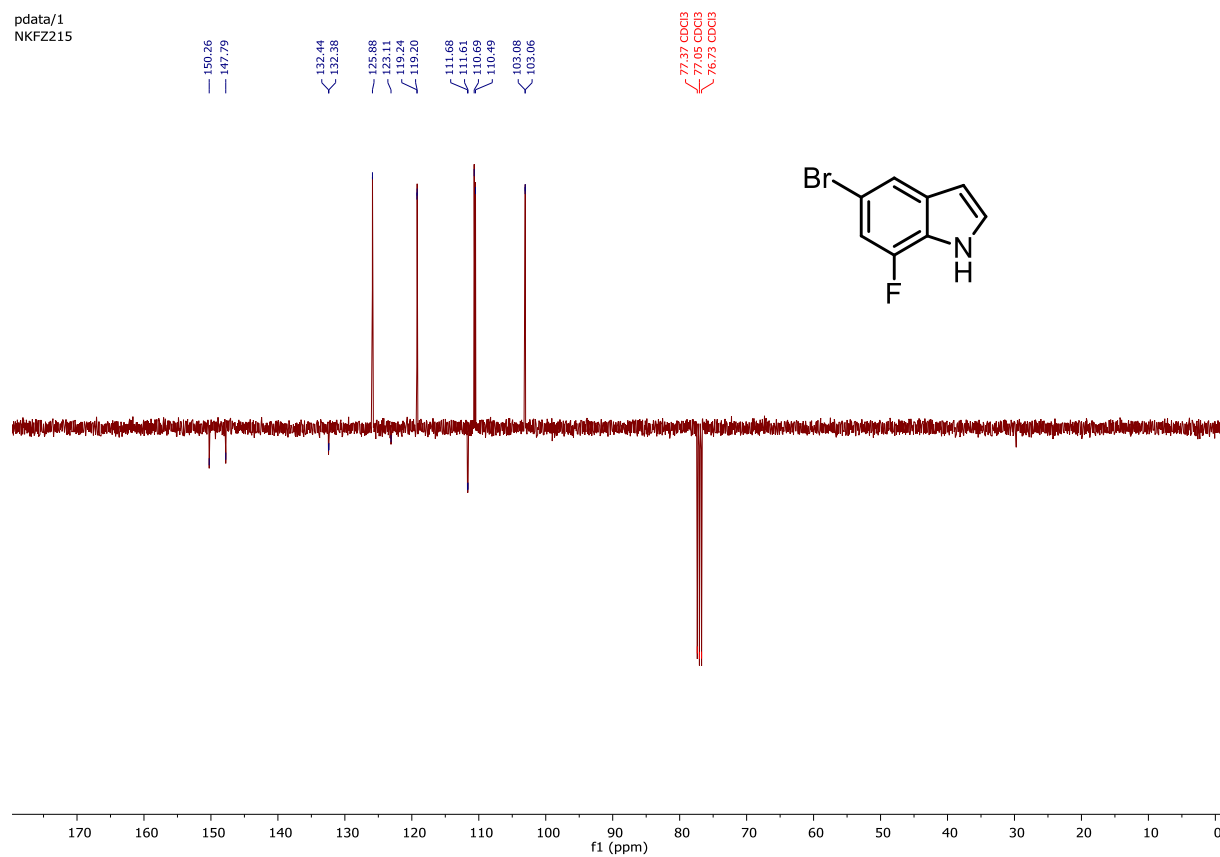
# <sup>1</sup>H-NMR of 5-Bromo-7-fluoroindole (S1)

pdata/1  
NKFZ215



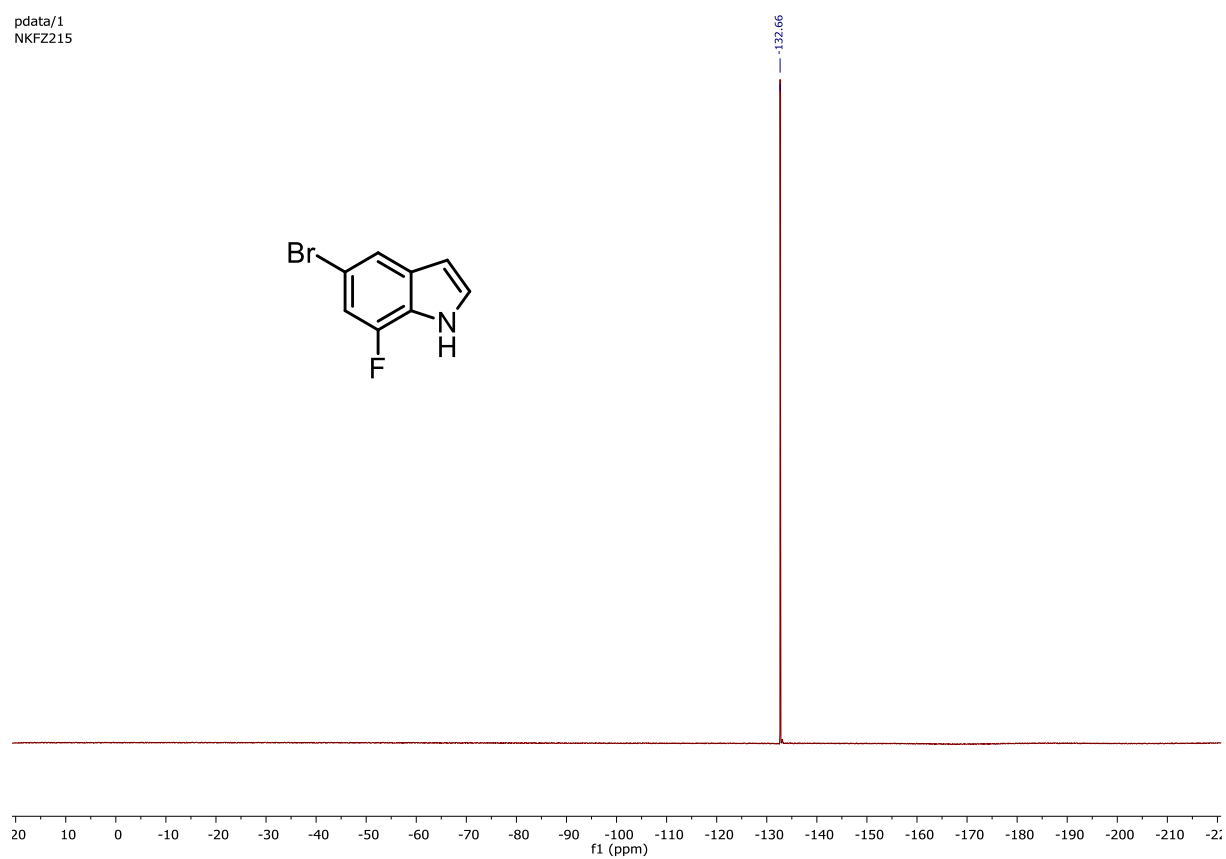
# <sup>13</sup>C-NMR of 5-Bromo-7-fluoroindole (S1)

pdata/1  
NKFZ215



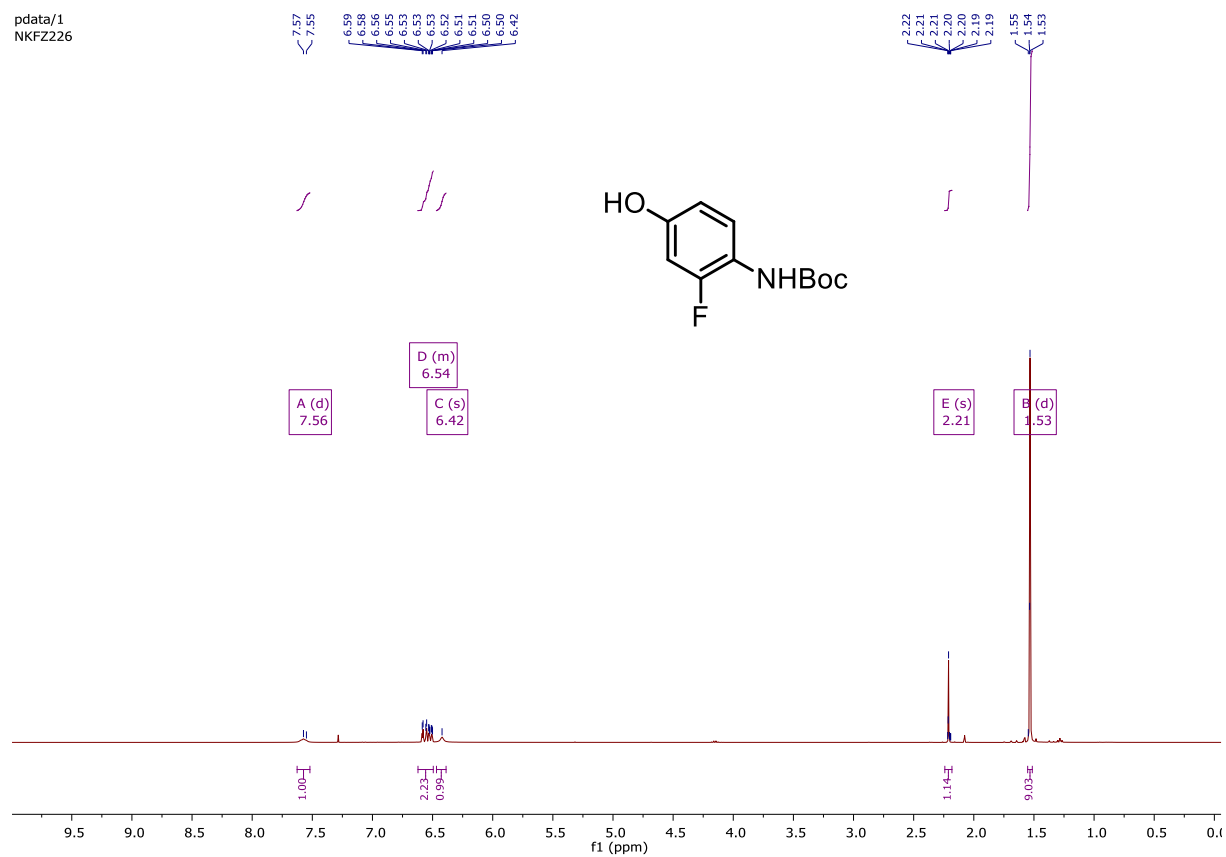
# <sup>19</sup>F-NMR of 5-Bromo-7-fluoroindole (S1)

pdata/1  
NKFZ215



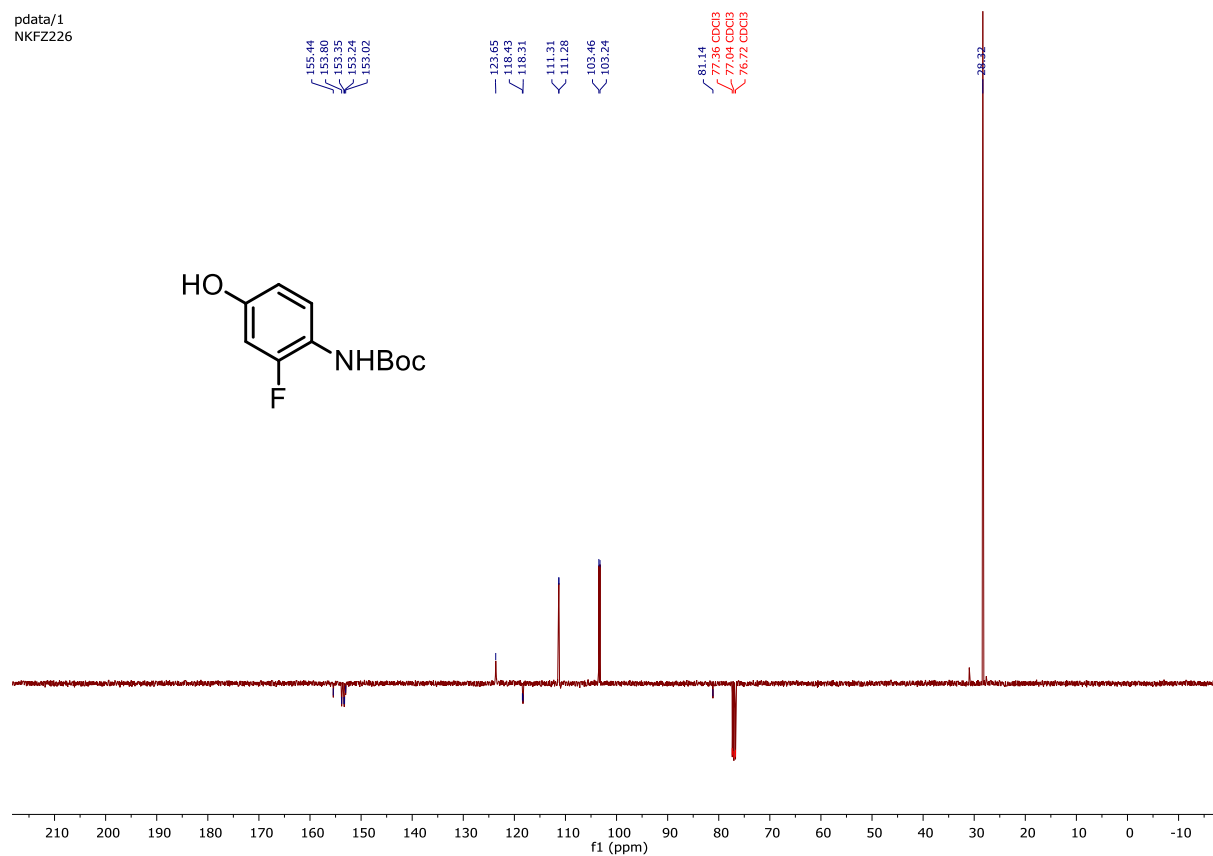
# <sup>1</sup>H-NMR of tert-butyl (2-fluoro-4-hydroxyphenyl)carbamate (S2)

pdata/1  
NKFZ226



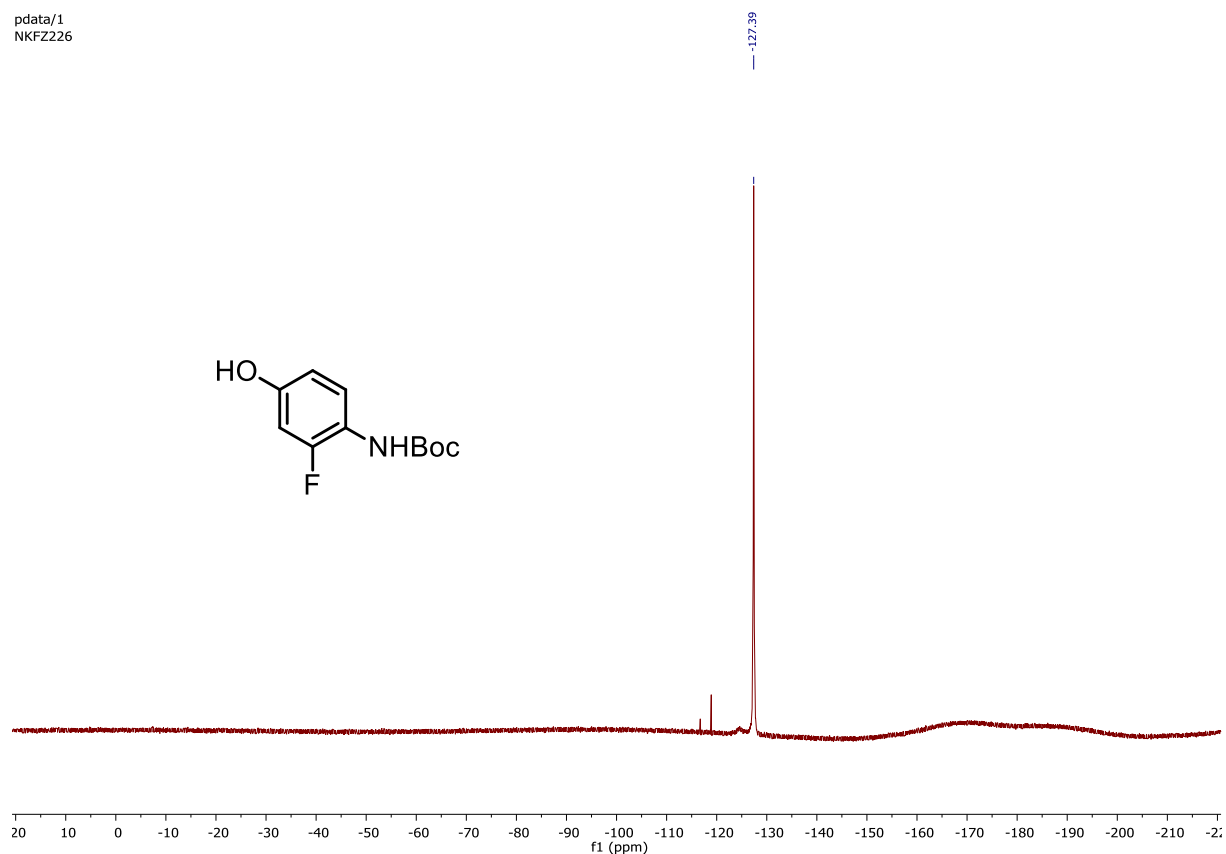
# <sup>13</sup>C-NMR of tert-butyl (2-fluoro-4-hydroxyphenyl)carbamate (S2)

pdata/1  
NKFZ226



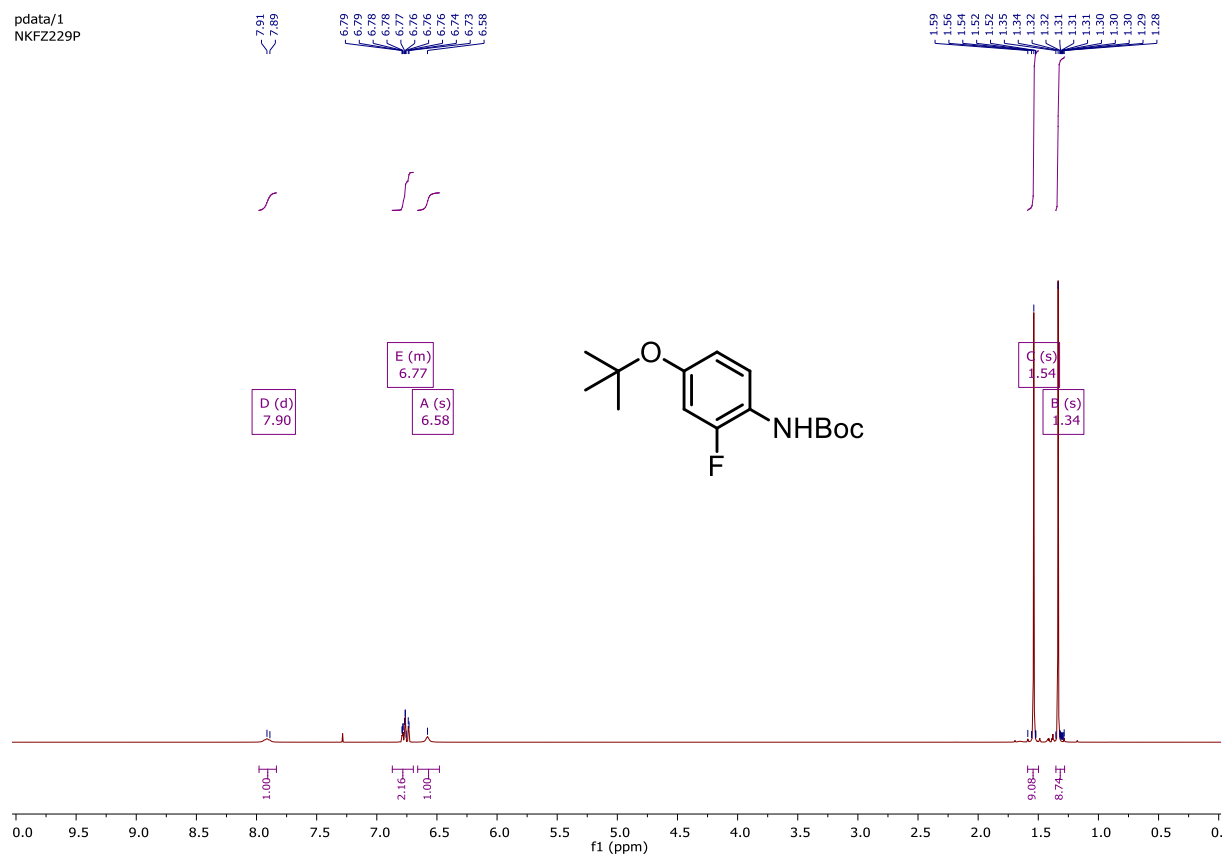
# <sup>19</sup>F-NMR of tert-butyl (2-fluoro-4-hydroxyphenyl)carbamate (S2)

pdata/1  
NKFZ226



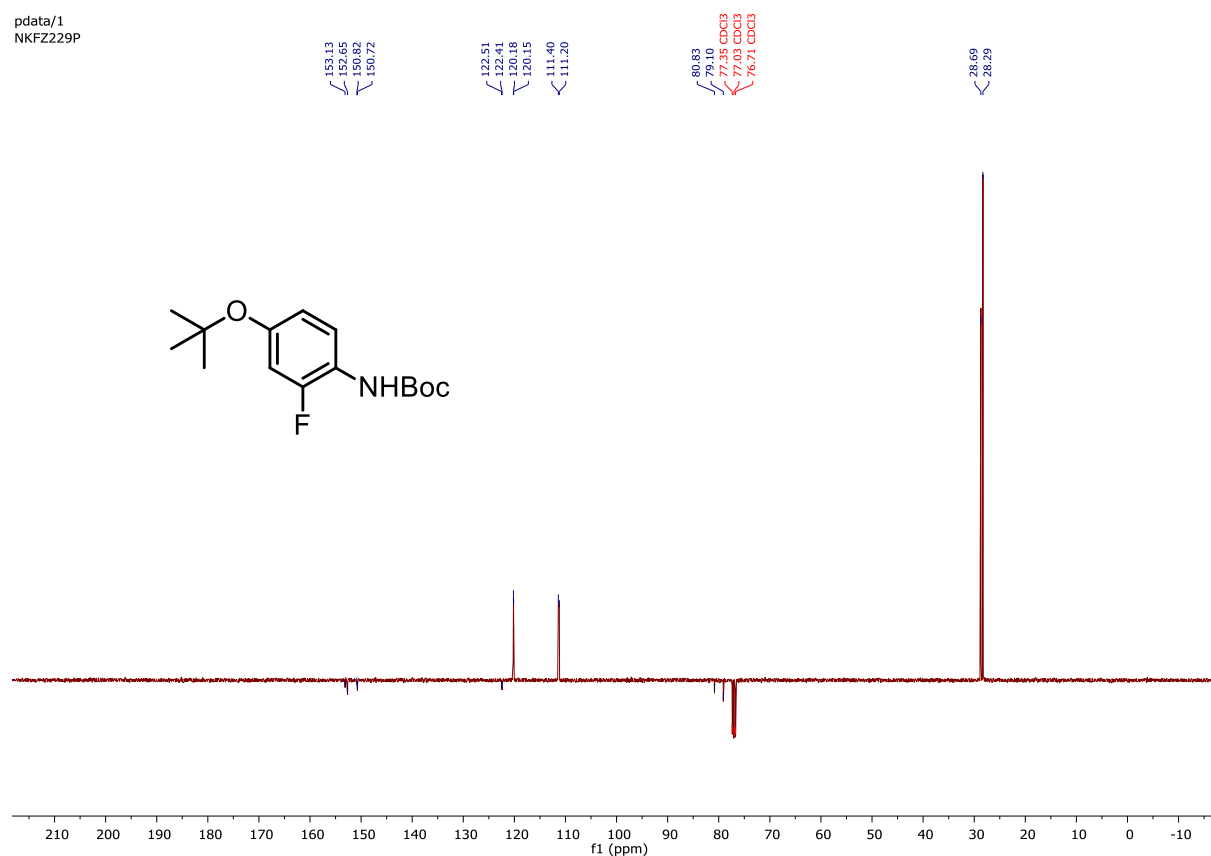
# <sup>1</sup>H-NMR of tert-butyl (4-(tert-butoxy)-2-fluorophenyl)carbamate (S3)

pdata/1  
NKFZ229P



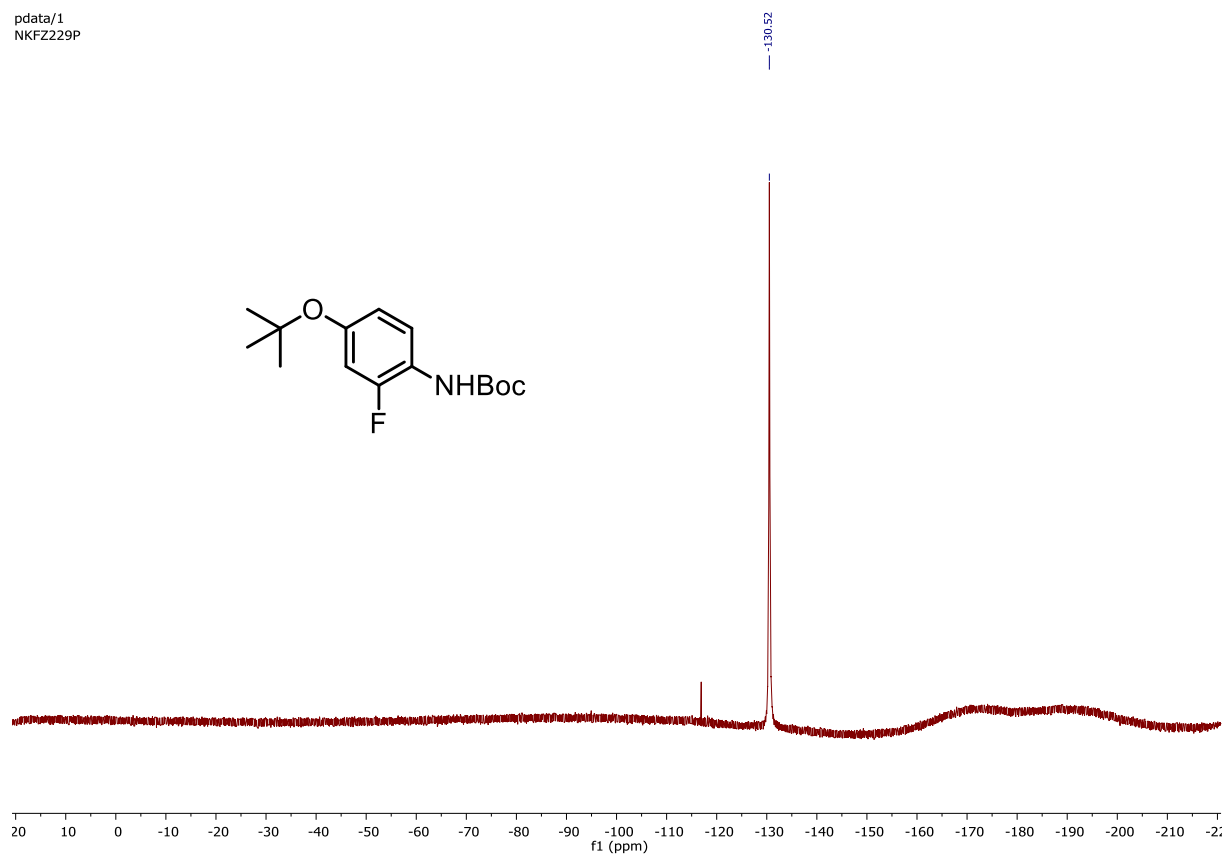
### <sup>13</sup>C-NMR of tert-butyl (4-(tert-butoxy)-2-fluorophenyl)carbamate (S3)

pdata/1  
NKFZ229P

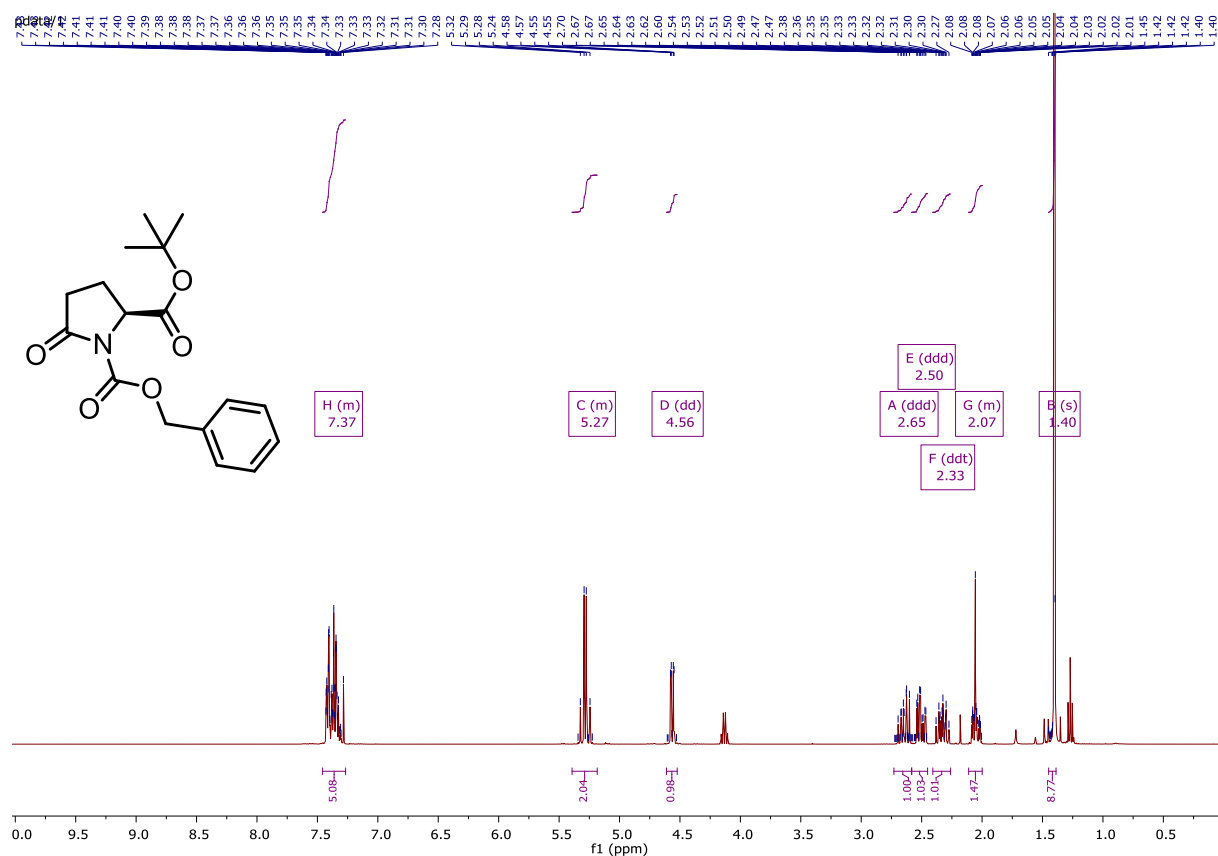


### <sup>19</sup>F-NMR of tert-butyl (4-(tert-butoxy)-2-fluorophenyl)carbamate (S3)

pdata/1  
NKFZ229P



# <sup>1</sup>H-NMR of (S)-1-benzyl 2-tert-butyl 5-oxopyrrolidine-1,2-dicarboxylate (S5)

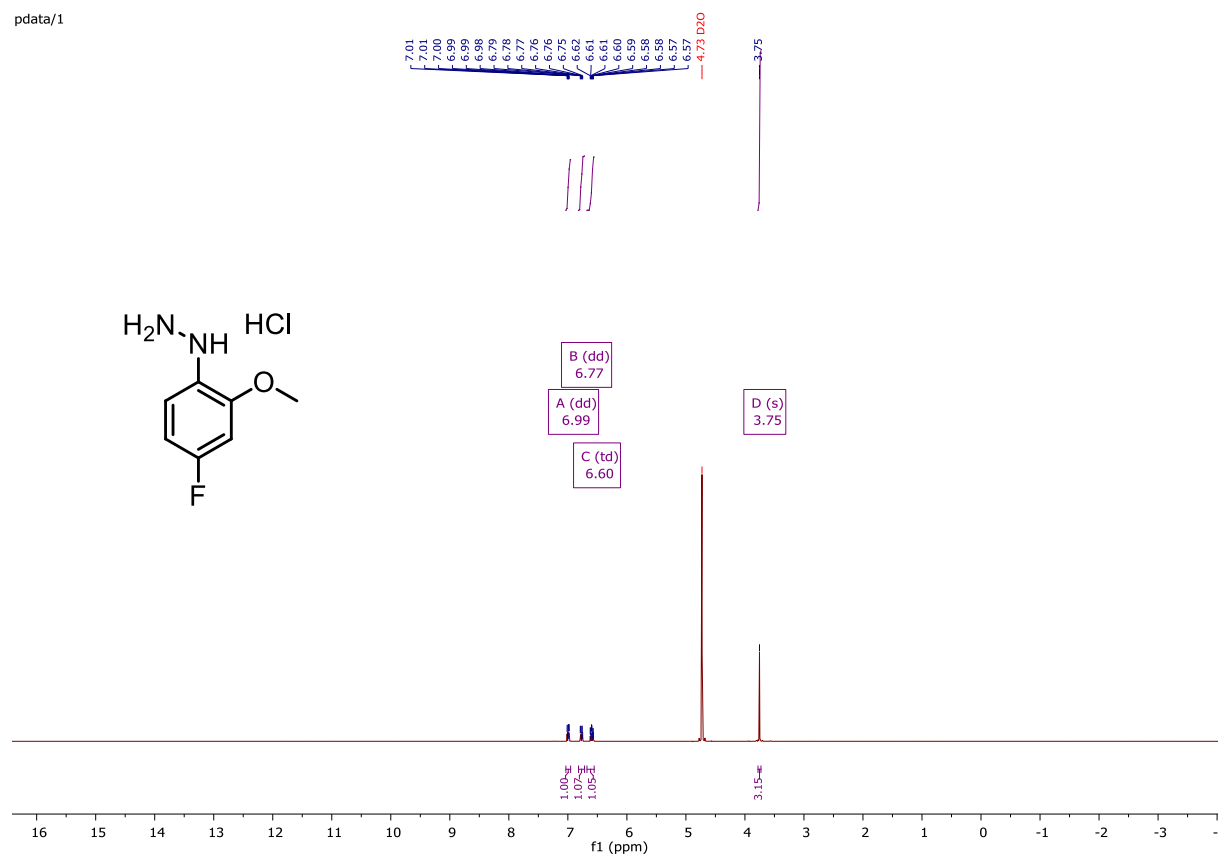


# <sup>13</sup>C-NMR of (S)-1-benzyl 2-tert-butyl 5-oxopyrrolidine-1,2-dicarboxylate (S5)



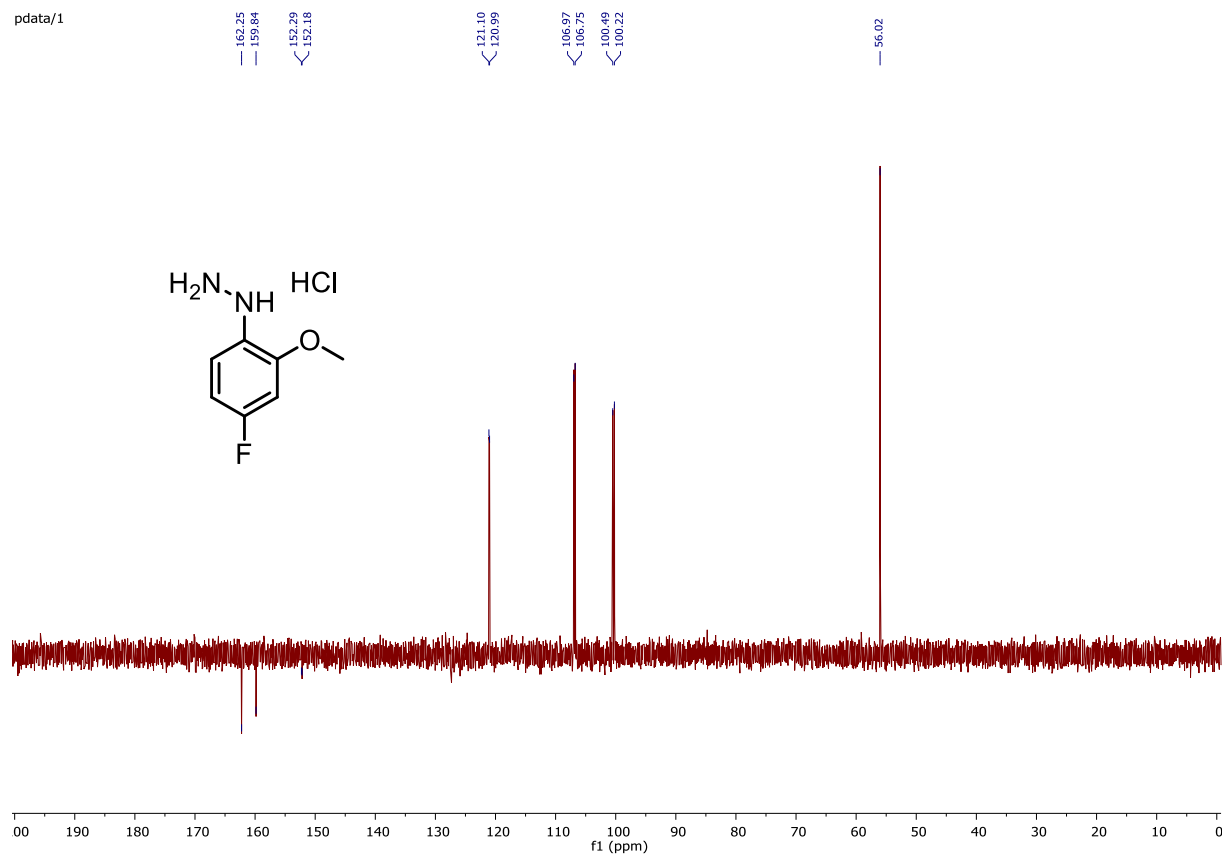
# <sup>1</sup>H-NMR of (4-fluoro-2-methoxyphenyl)hydrazine hydrochloride (S6)

pdata/1



# <sup>13</sup>C-NMR of (4-fluoro-2-methoxyphenyl)hydrazine hydrochloride (S6)

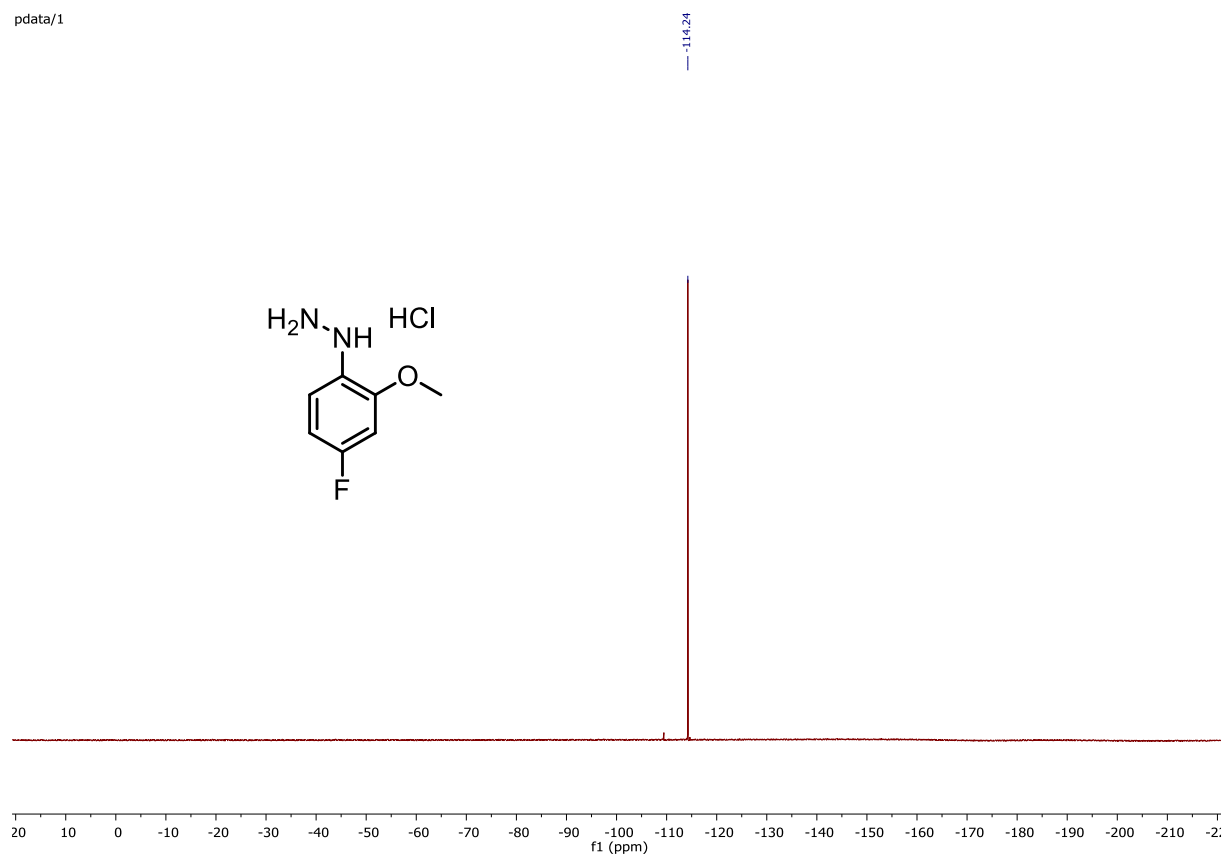
pdata/1





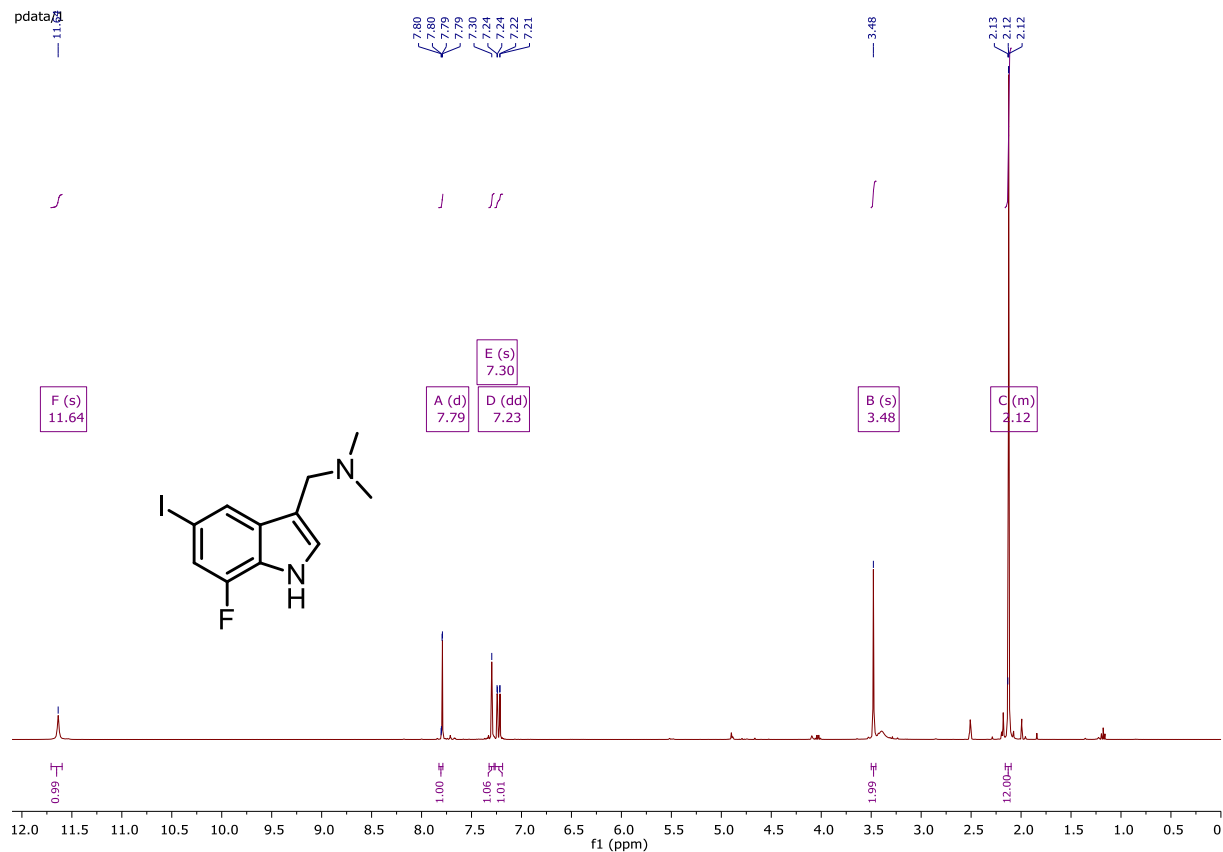
# <sup>19</sup>F-NMR of (4-fluoro-2-methoxyphenyl)hydrazine hydrochloride (S6)

pdata/1



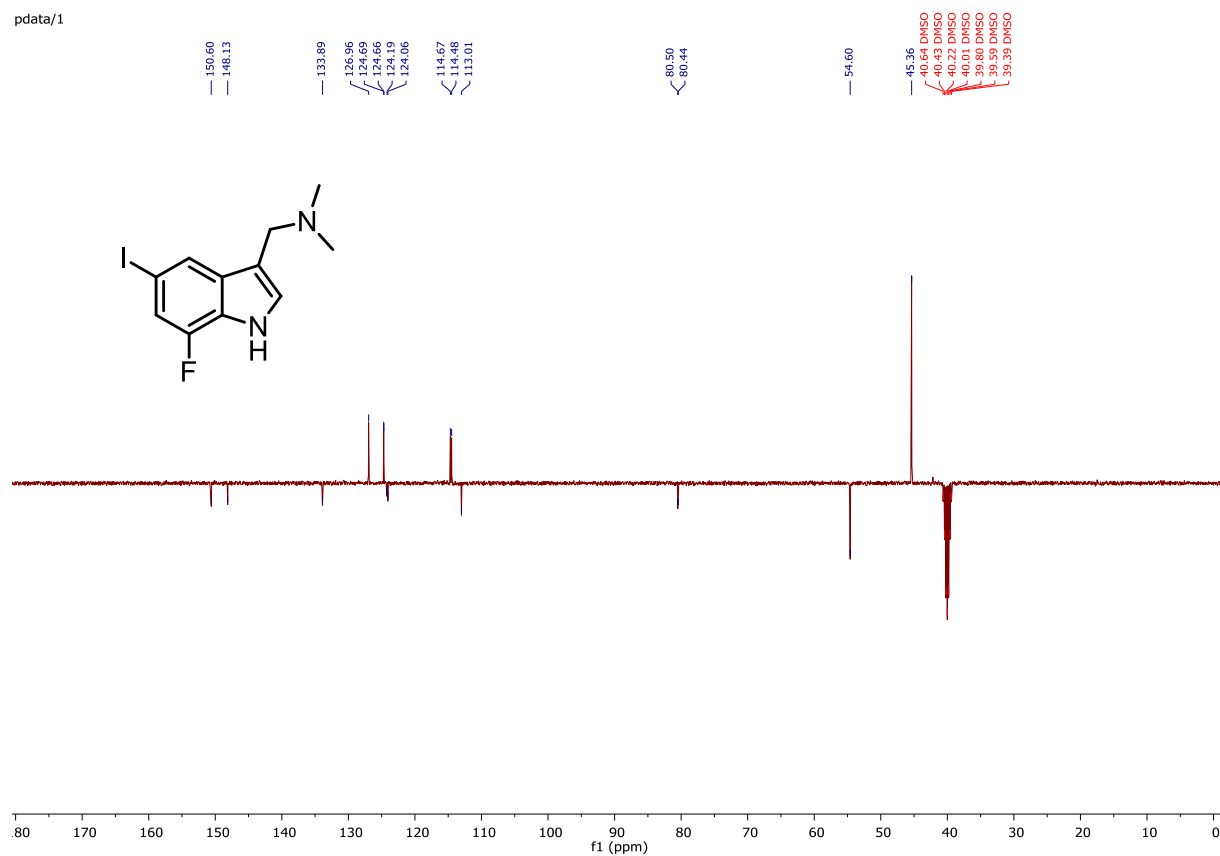
# <sup>1</sup>H-NMR of 1-(7-fluoro-5-iodo-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamine (S9)

pdata/2



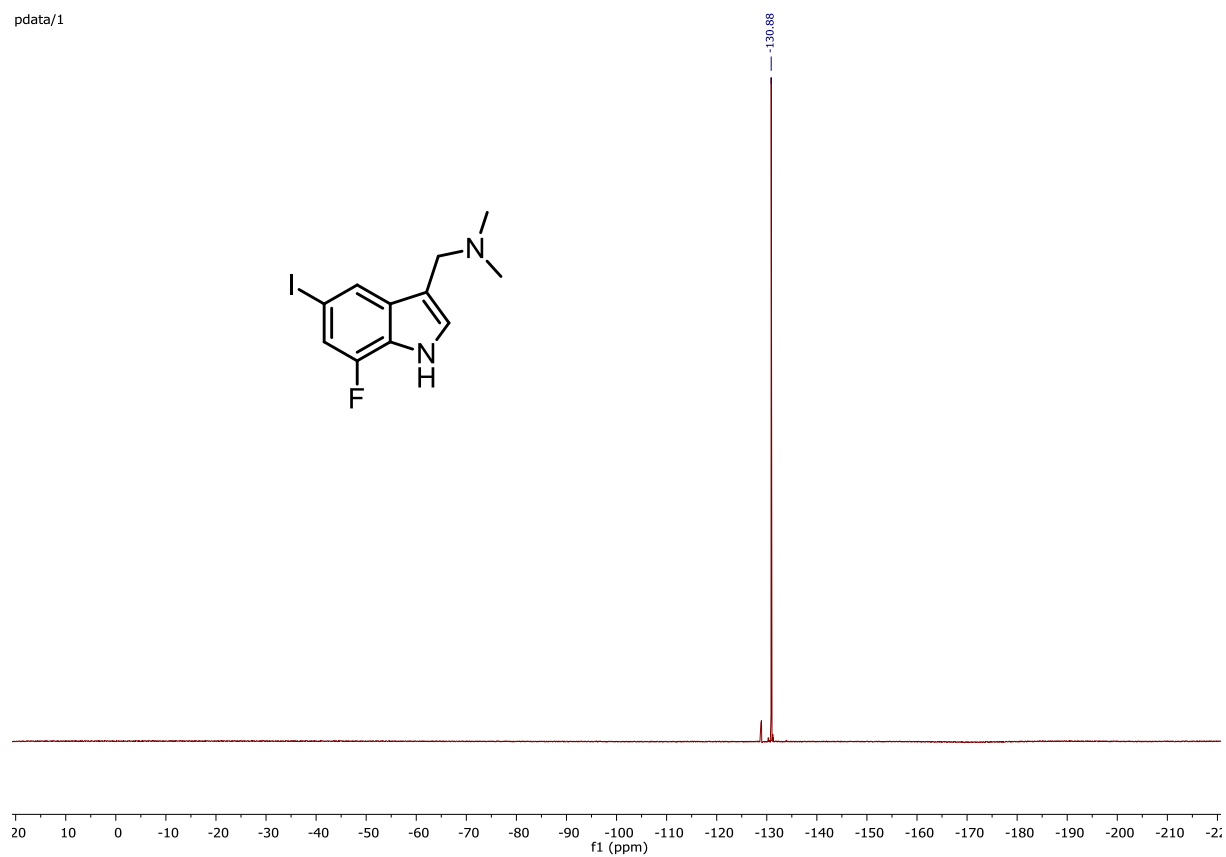
# <sup>13</sup>C-NMR of 1-(7-fluoro-5-iodo-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (S9)

pdata/1

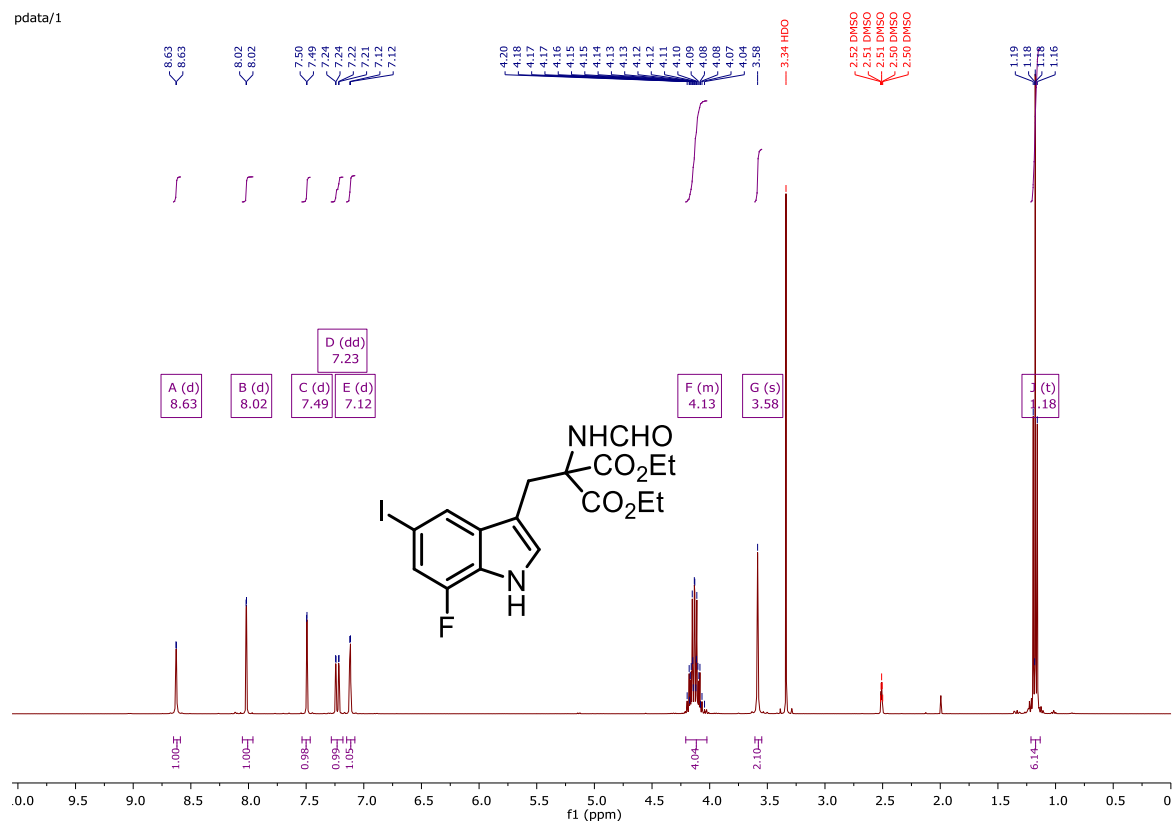


# <sup>19</sup>F-NMR of 1-(7-fluoro-5-iodo-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (S9)

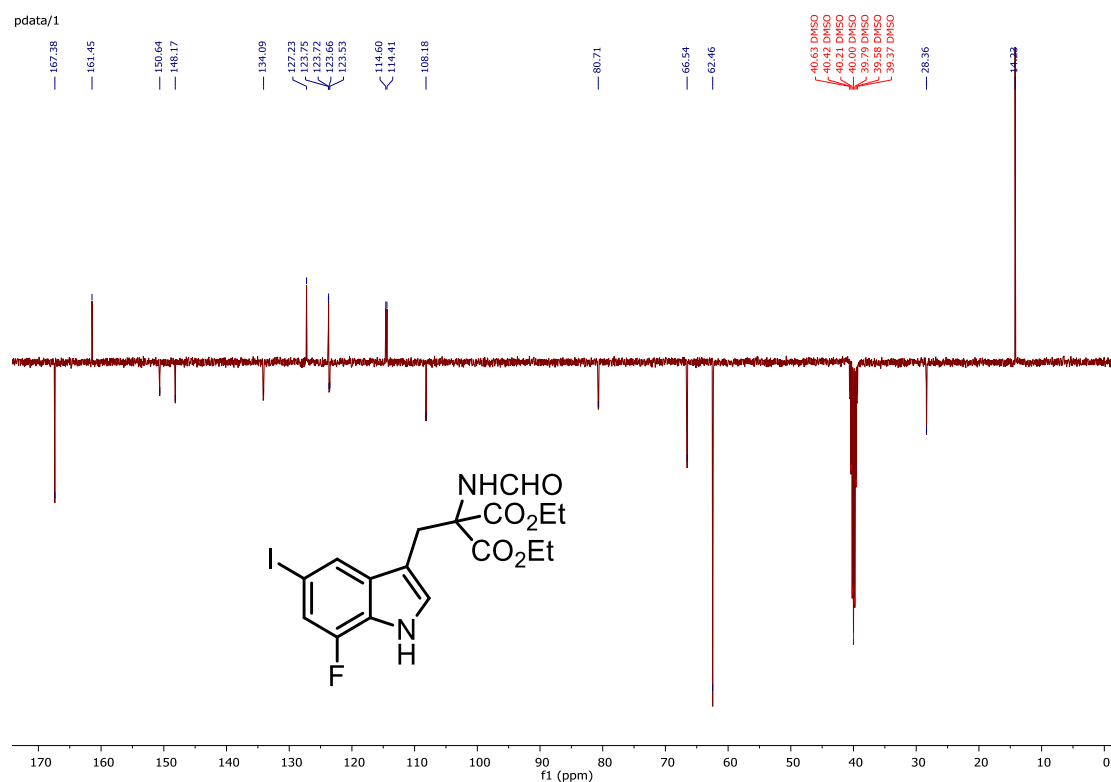
pdata/1



# <sup>1</sup>H-NMR of diethyl 2-((7-fluoro-5-iodo-1*H*-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (S10)

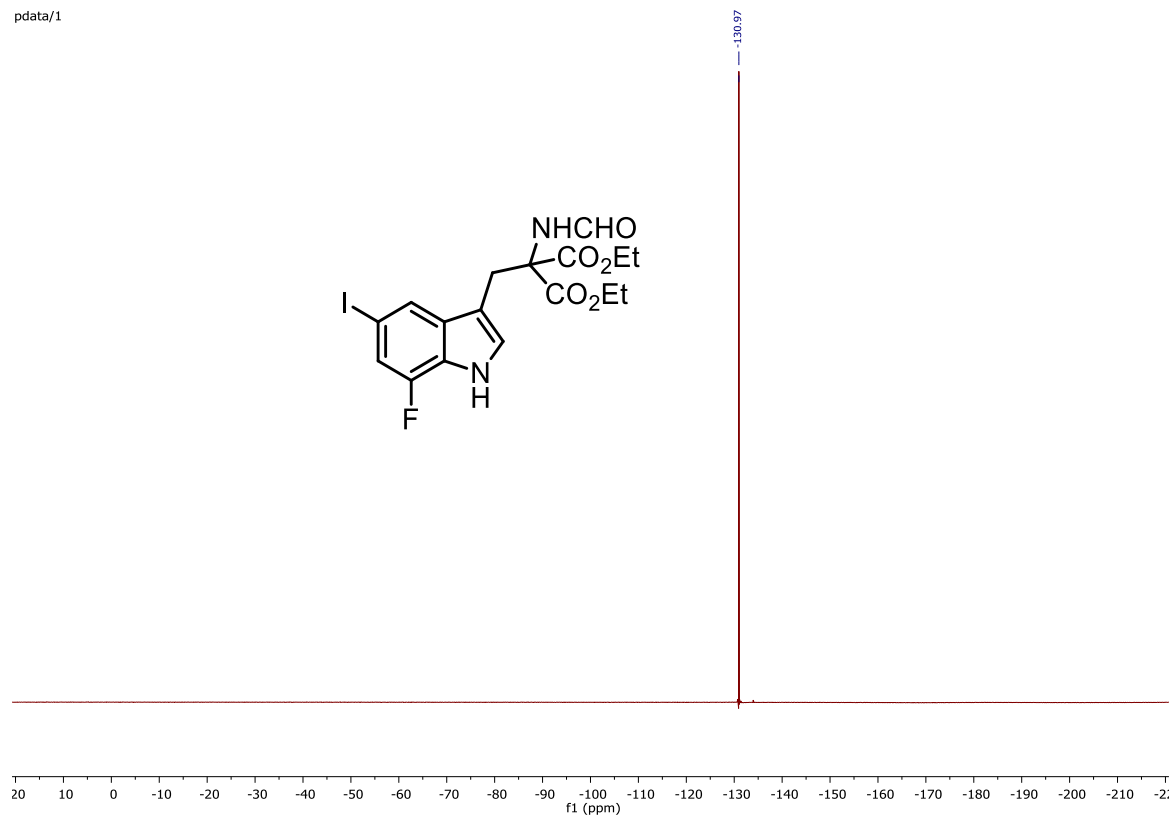


# <sup>13</sup>C-NMR of diethyl 2-((7-fluoro-5-iodo-1*H*-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (S10)



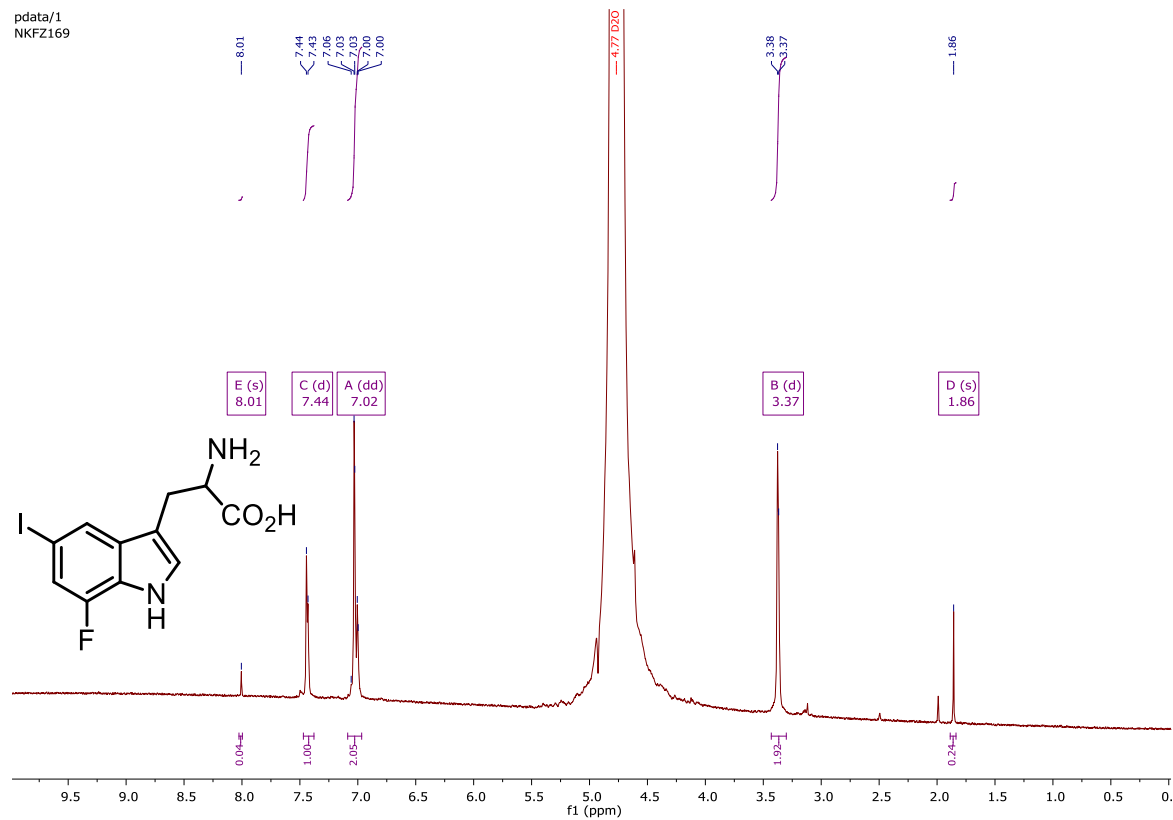
# <sup>19</sup>F-NMR of diethyl 2-((7-fluoro-5-iodo-1H-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (S10)

pdata/1



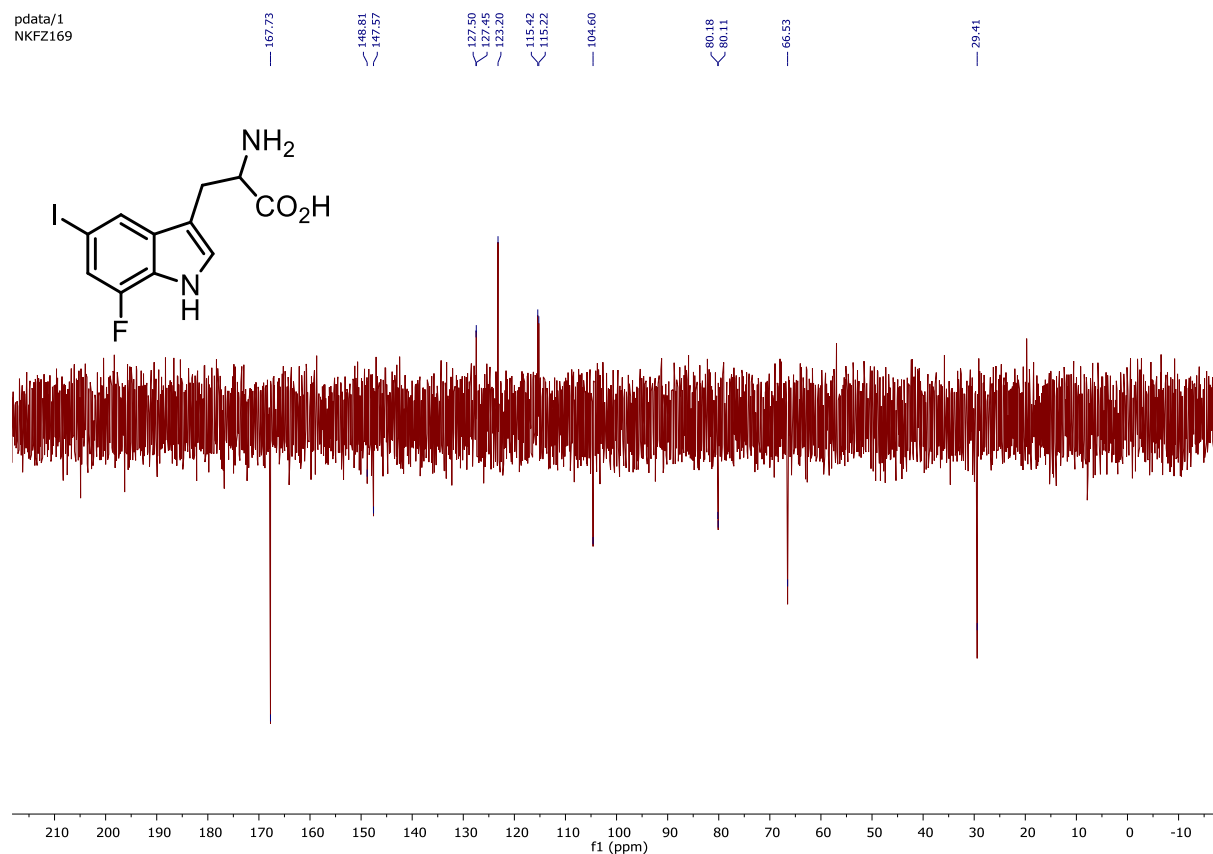
# <sup>1</sup>H-NMR of 2-amino-3-(7-fluoro-5-iodo-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S11)

pdata/1  
NKFZ169



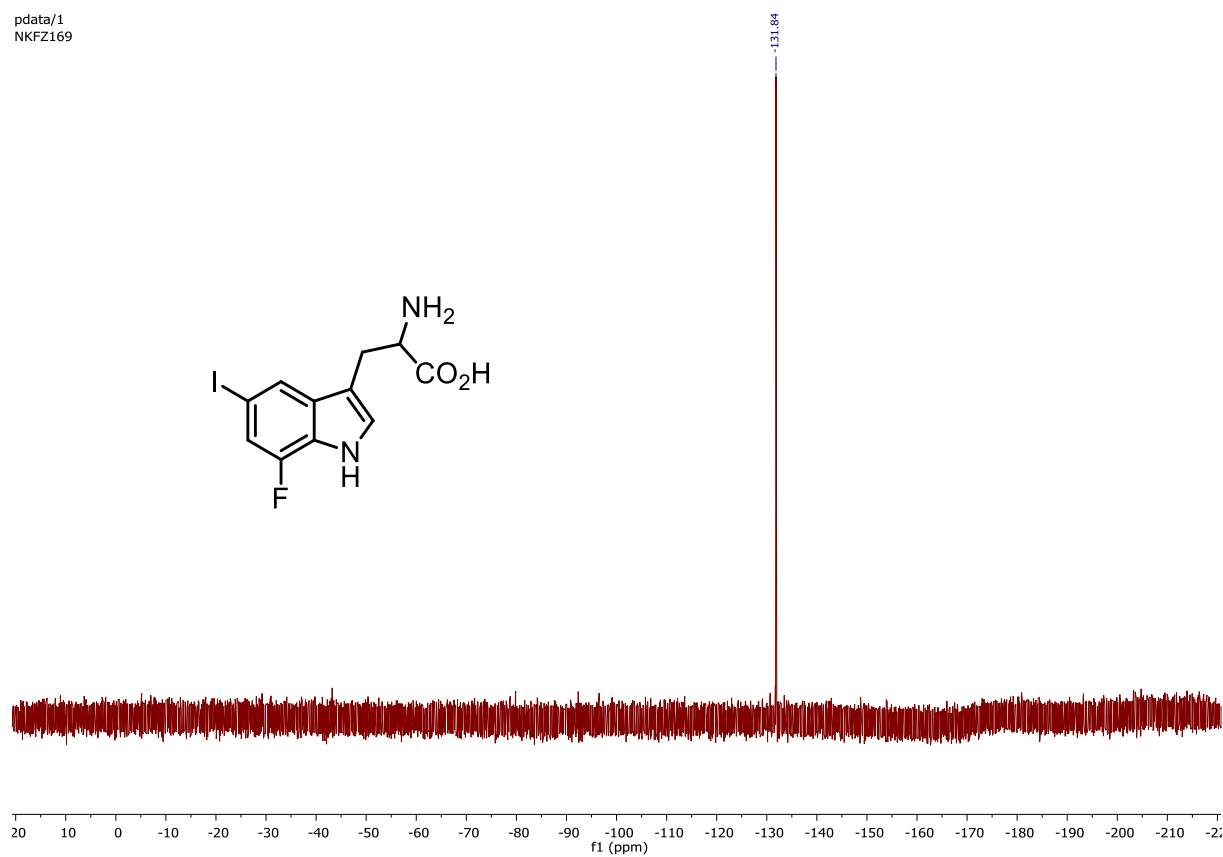
### <sup>13</sup>C-NMR of 2-amino-3-(7-fluoro-5-iodo-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S11)

pdata/1  
NKFZ169

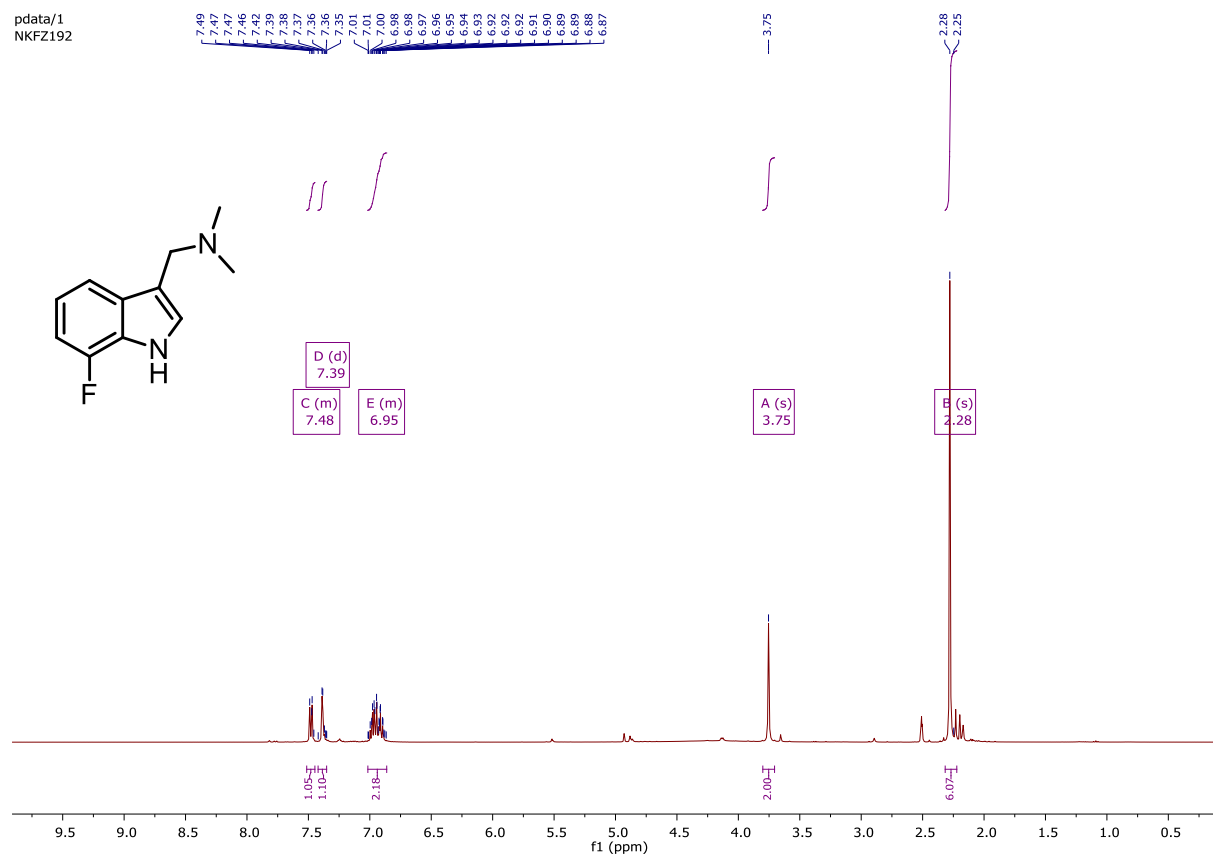


### <sup>19</sup>F-NMR of 2-amino-3-(7-fluoro-5-iodo-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S11)

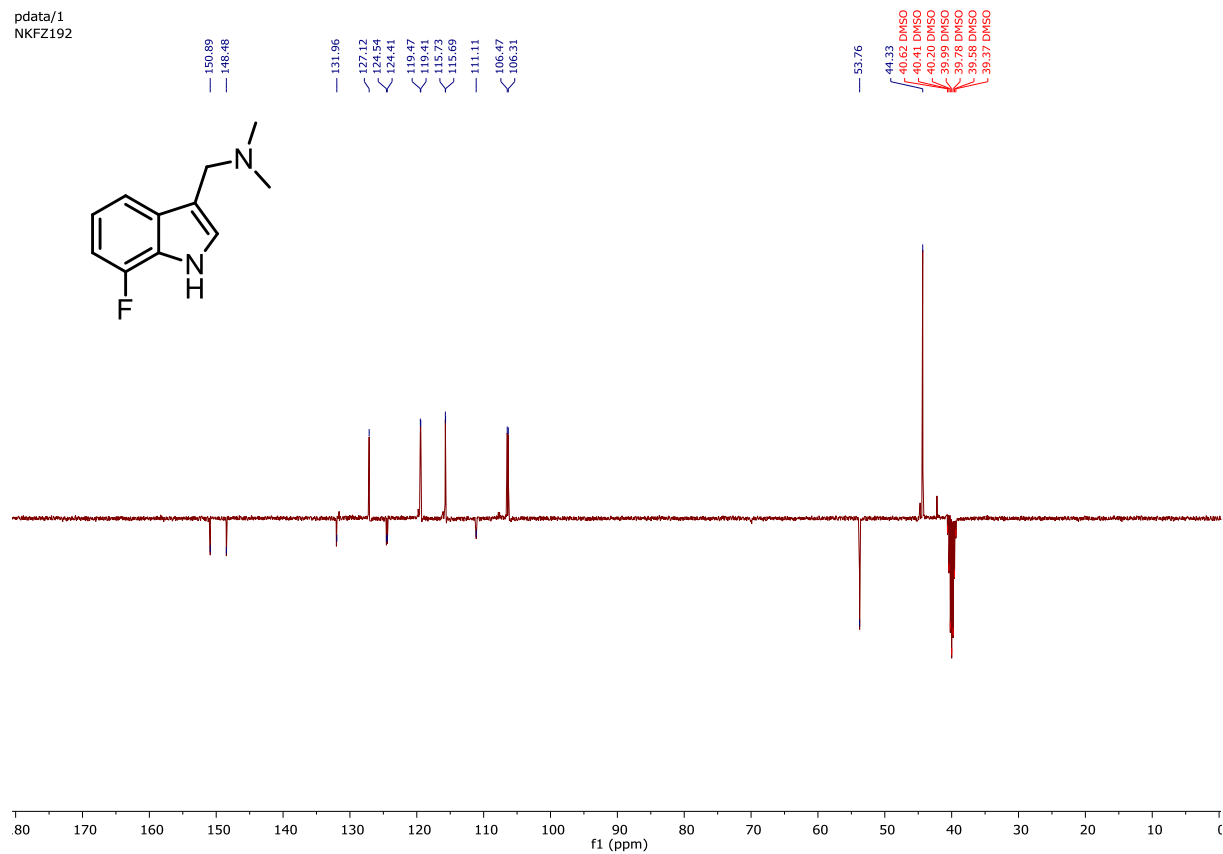
pdata/1  
NKFZ169



# <sup>1</sup>H-NMR of 1-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamine (S13)

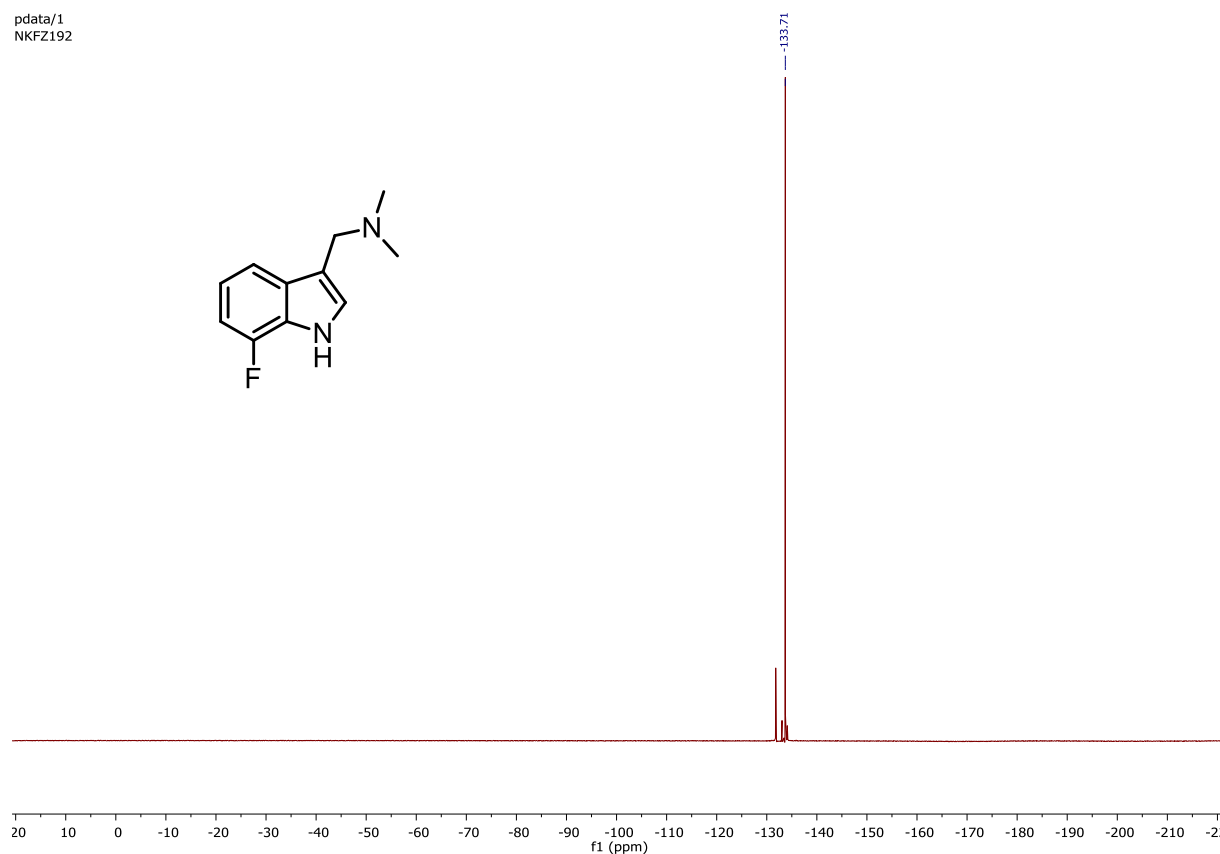


# <sup>13</sup>C-NMR of 1-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamine (S13)



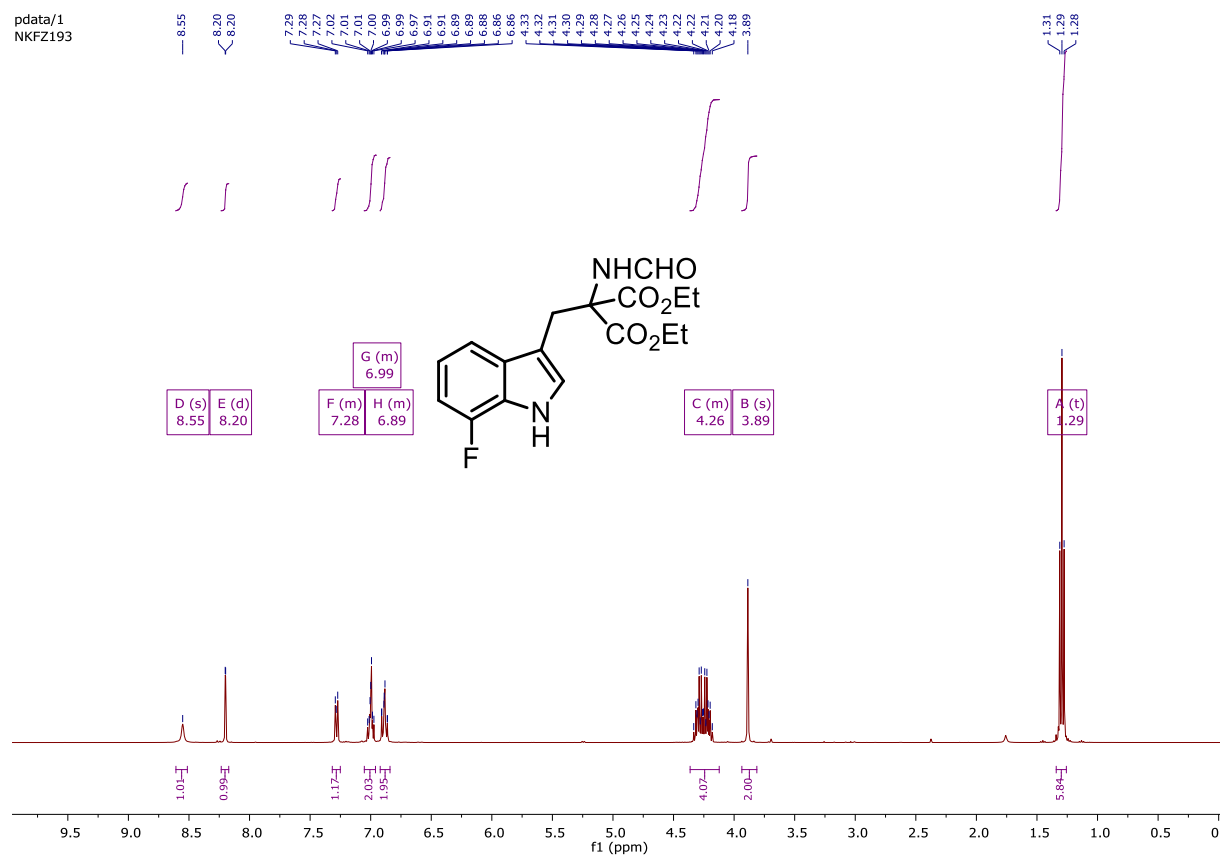
# <sup>19</sup>F-NMR of 1-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)-N,N-dimethylmethanamine (S13)

pdata/1  
NKFZ192



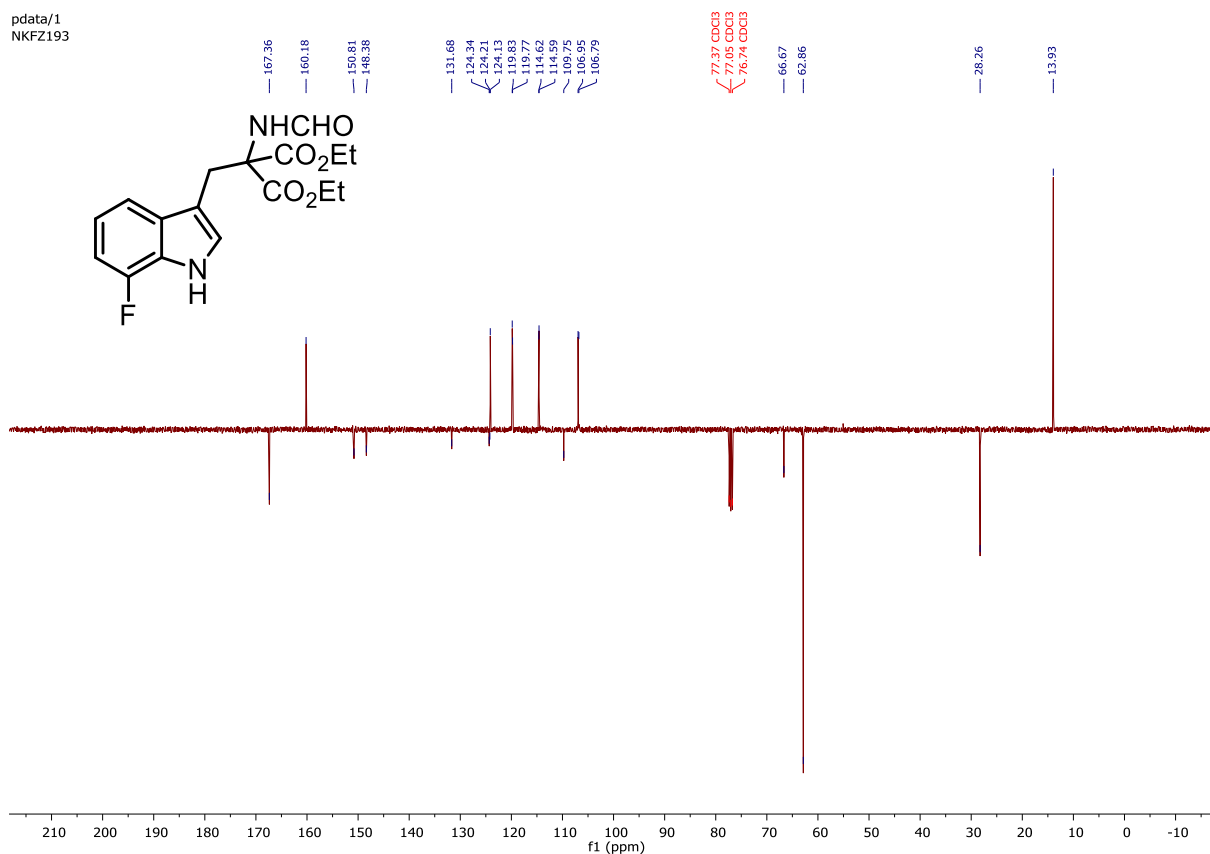
# <sup>1</sup>H-NMR of diethyl 2-((7-fluoro-1H-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (S14)

pdata/1  
NKFZ193



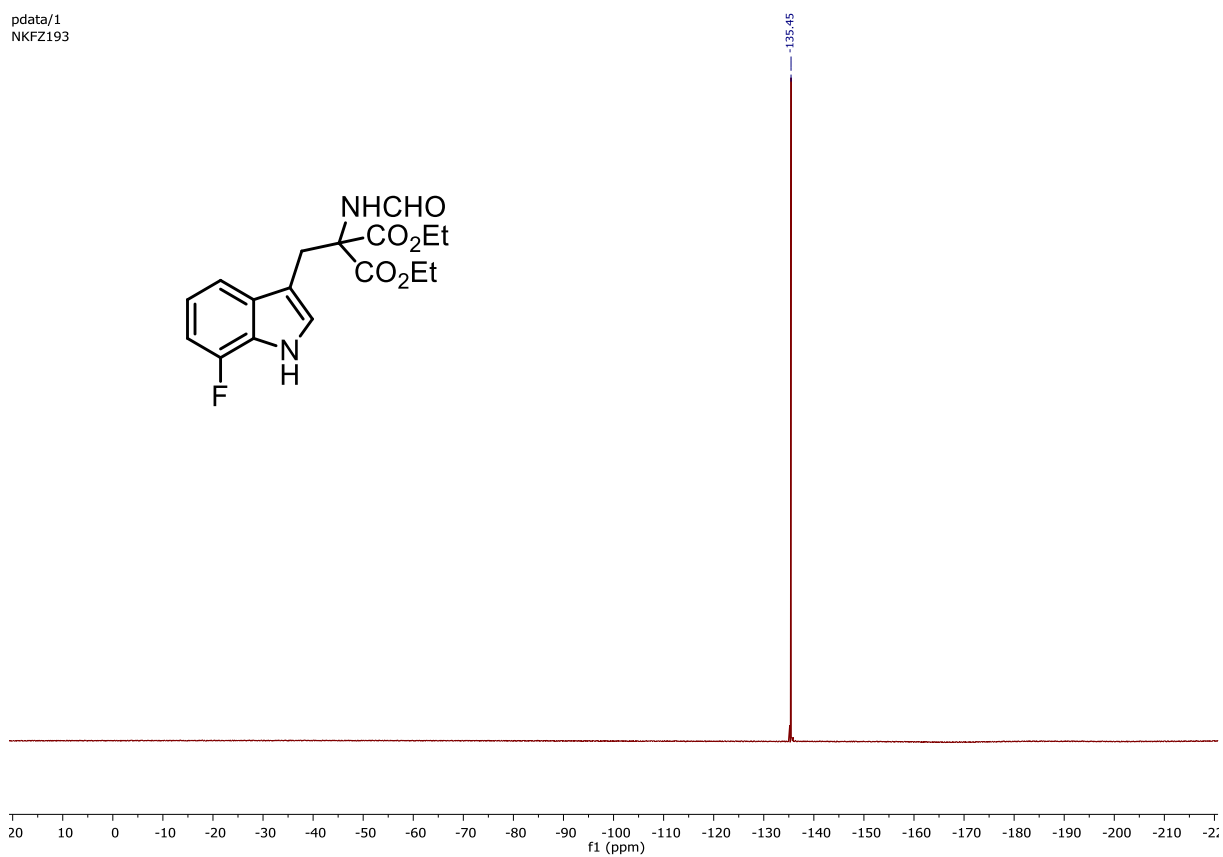
### <sup>13</sup>C-NMR of diethyl 2-((7-fluoro-1H-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (S14)

pdata/1  
NKFZ193



### <sup>19</sup>F-NMR of diethyl 2-((7-fluoro-1H-indol-3-yl)methyl)-2-formamidomalonate (S14)

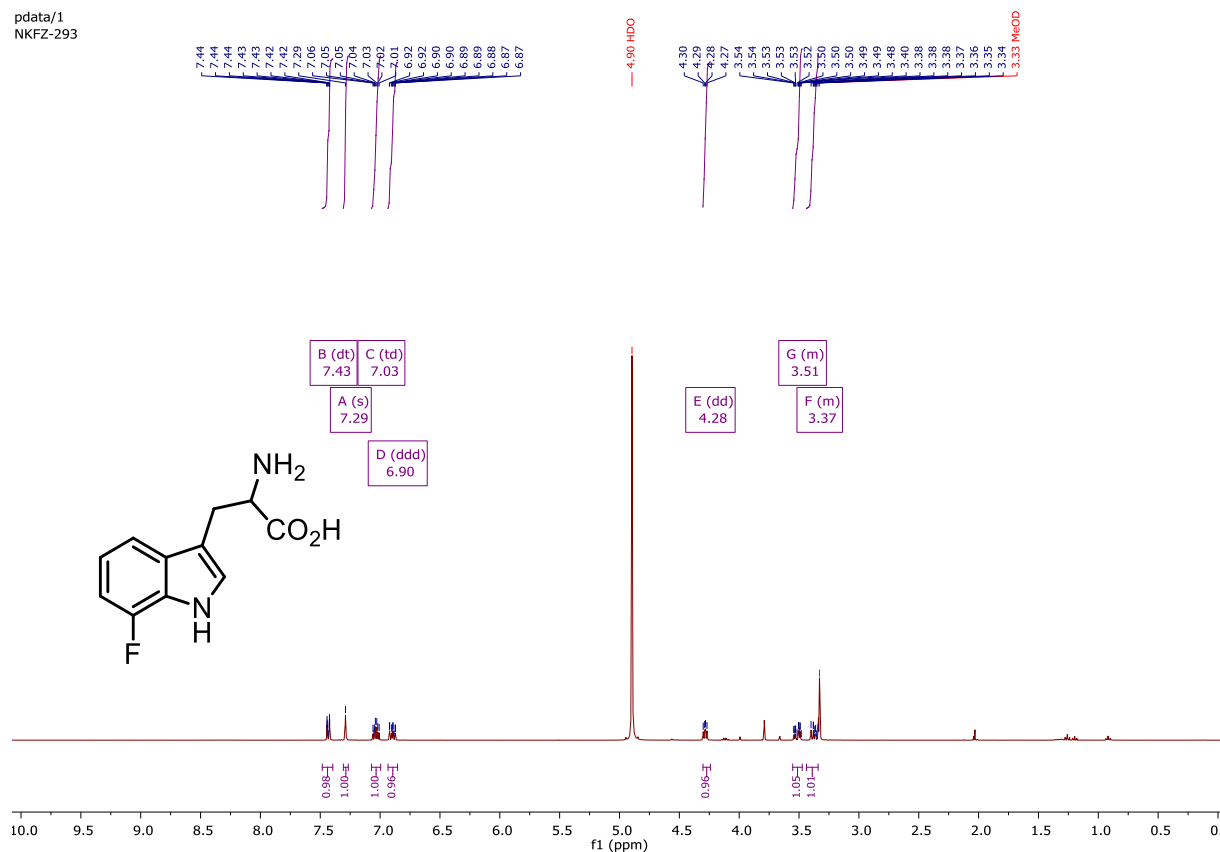
pdata/1  
NKFZ193





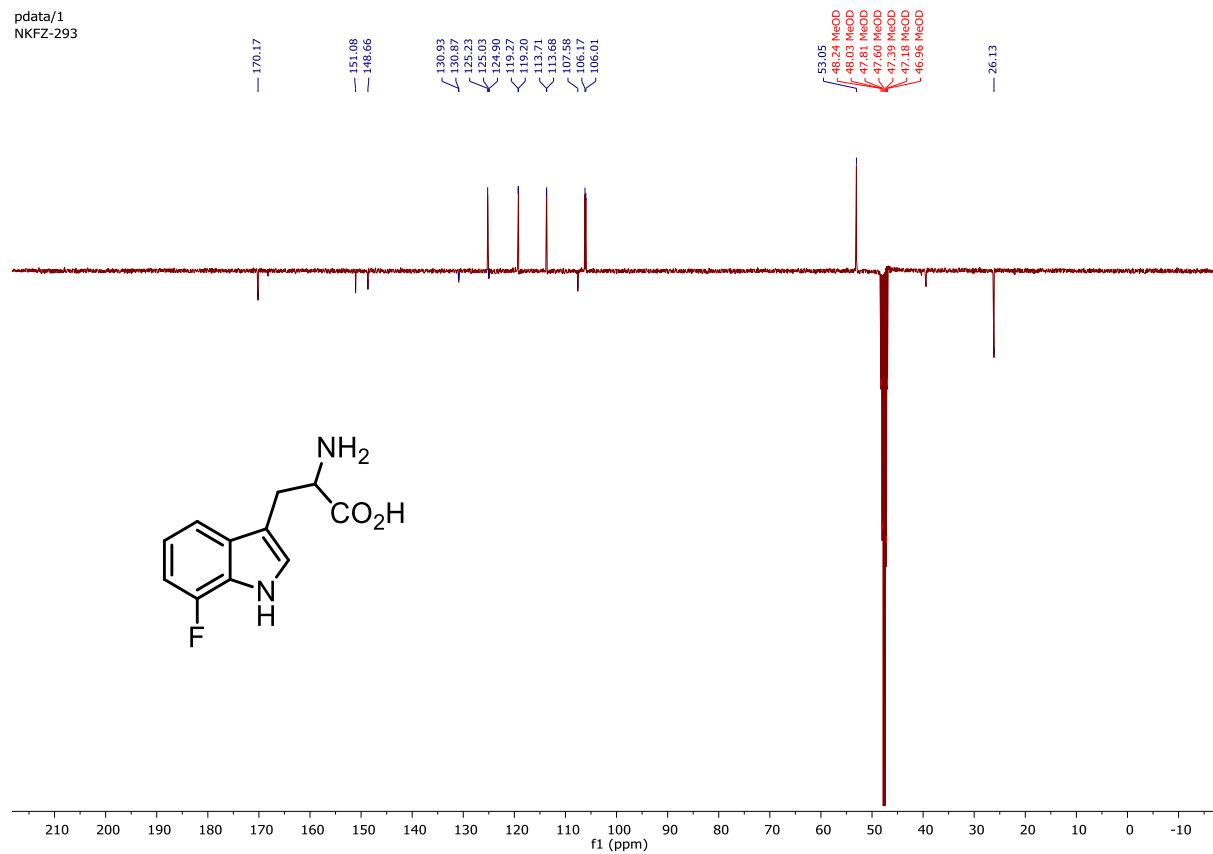
# <sup>1</sup>H-NMR of 7-Fluorotryptophan (S15)

pdata/1  
NKFZ-293



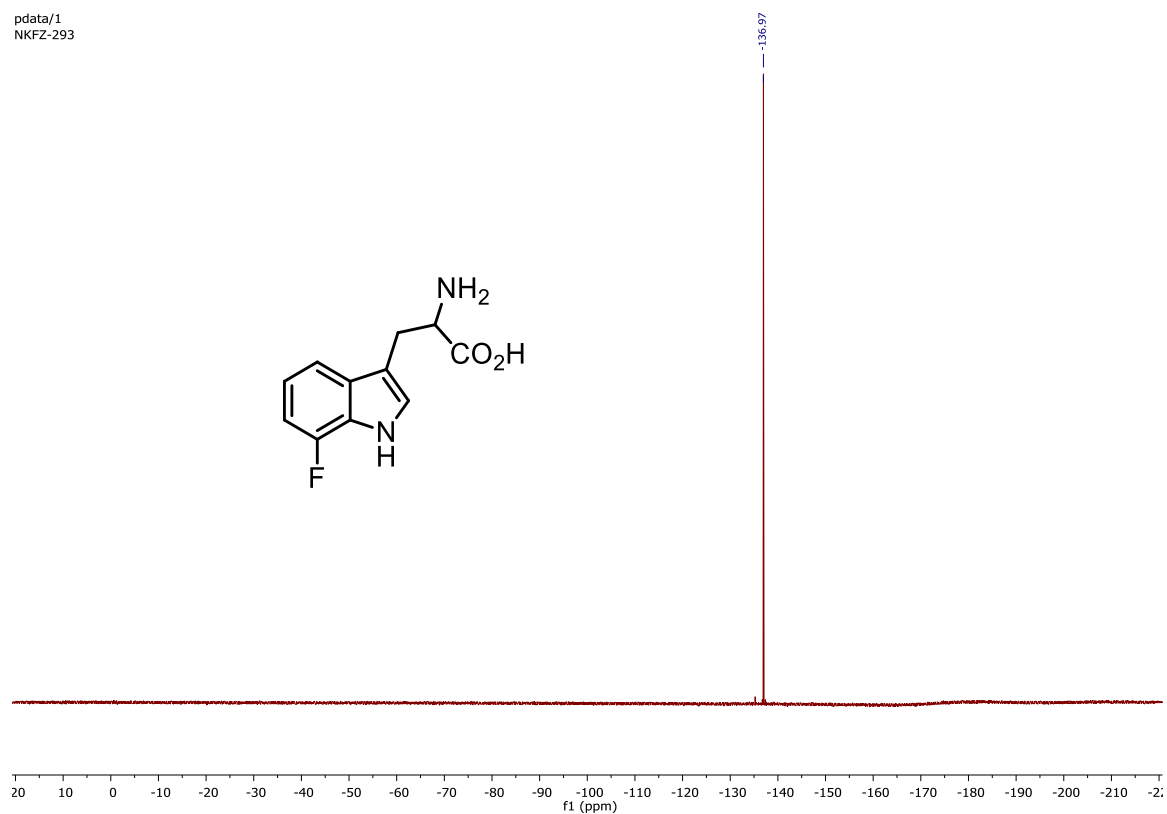
# <sup>13</sup>C-NMR of 7-Fluorotryptophan (S15)

pdata/1  
NKFZ-293



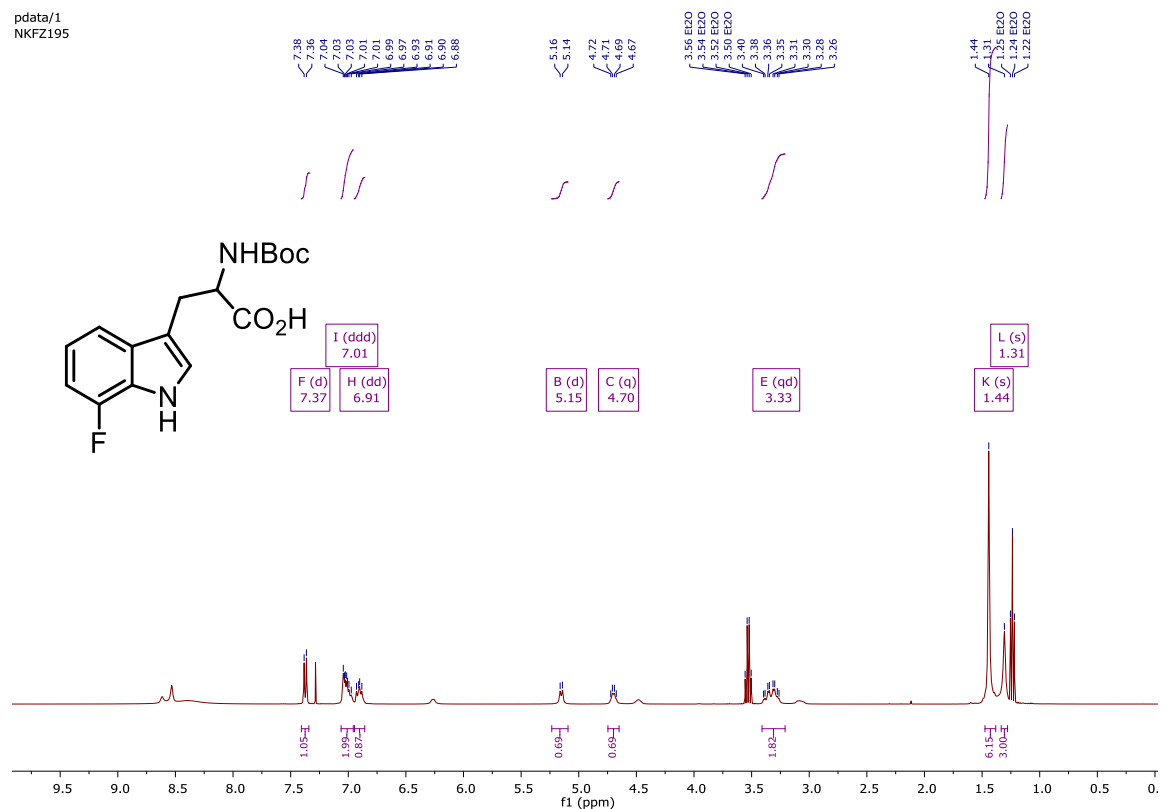
# <sup>19</sup>F-NMR of 7-Fluorotryptophan (S15)

pdata/1  
NKFZ-293

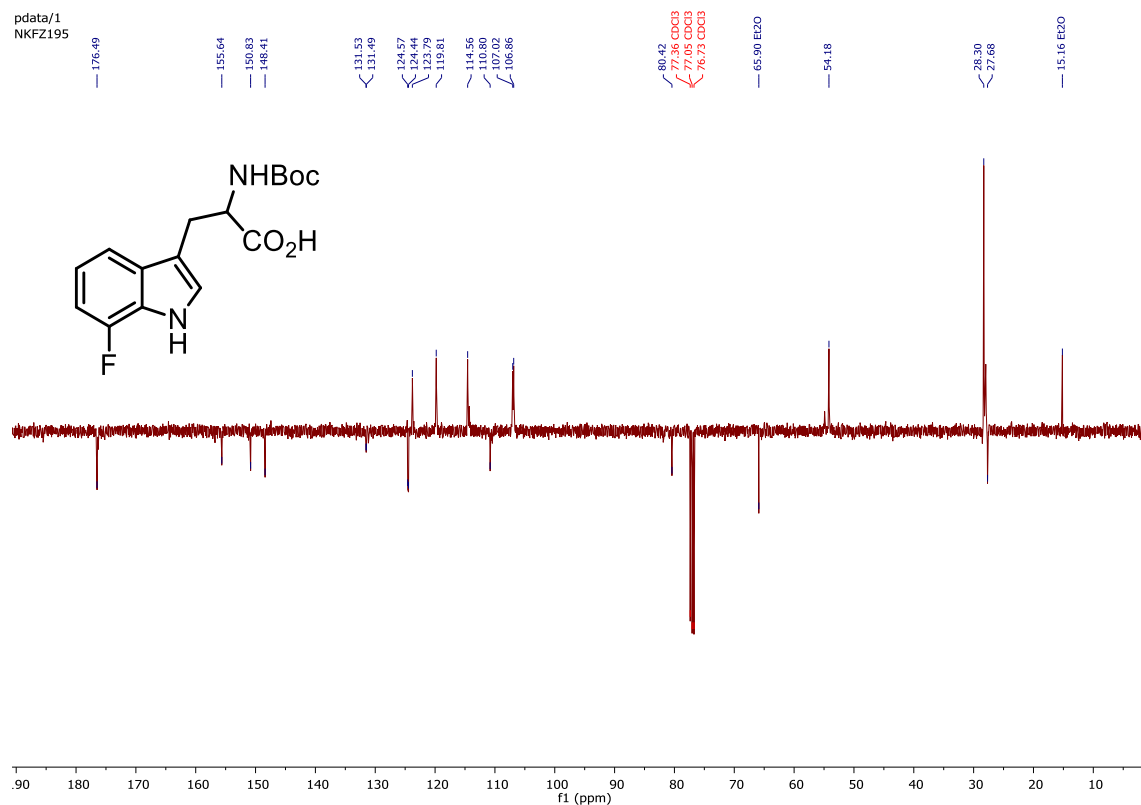


# <sup>1</sup>H-NMR of 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S16)

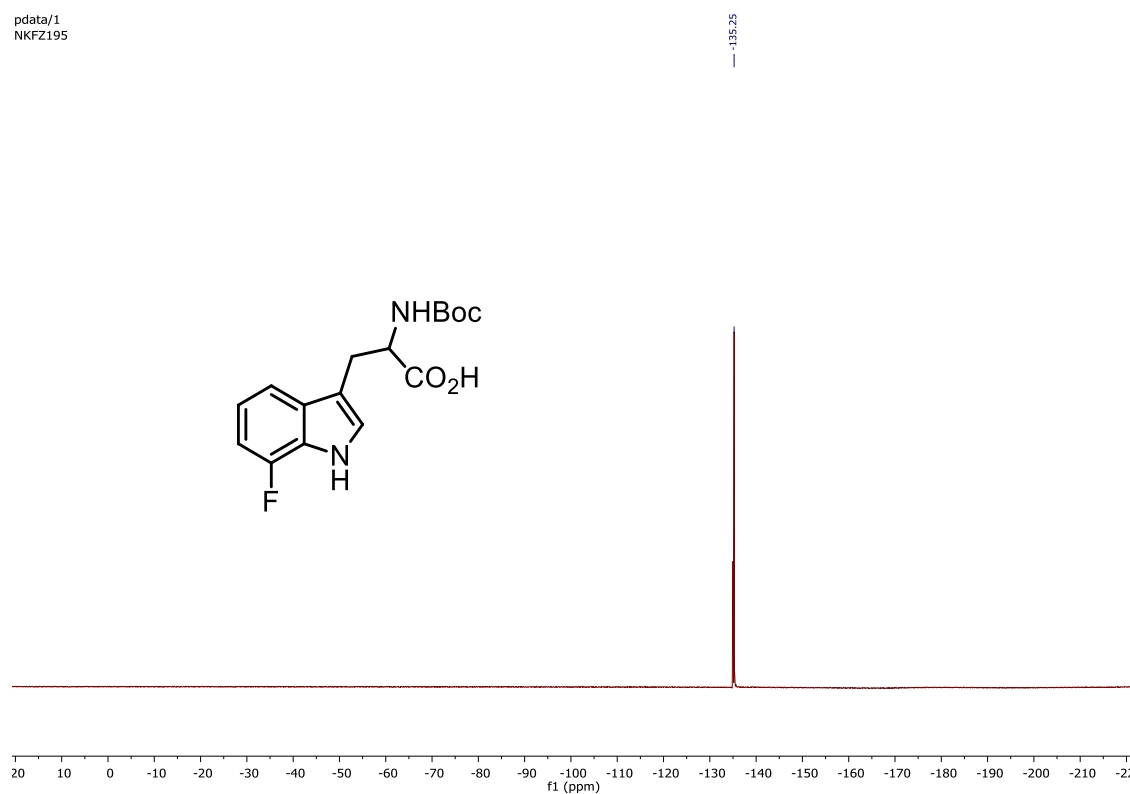
pdata/1  
NKFZ195



**<sup>13</sup>C-NMR of 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S16)**

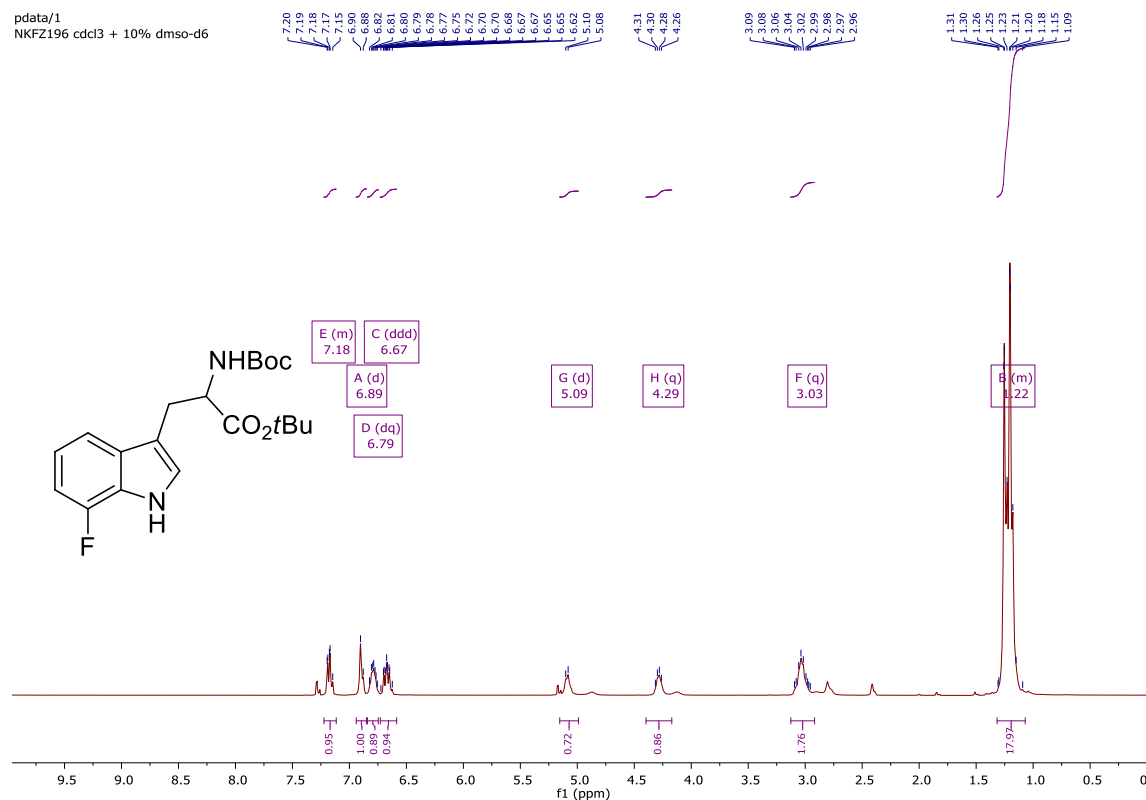


**<sup>19</sup>F-NMR of 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S16)**



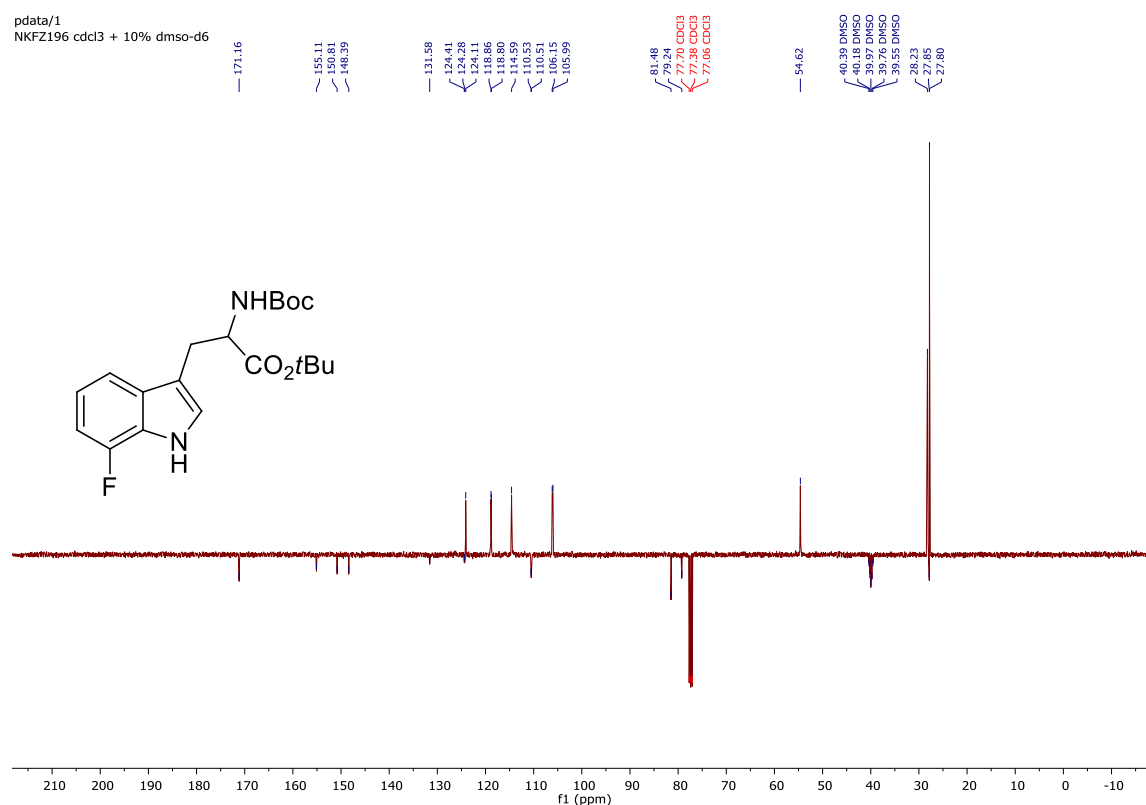
# <sup>1</sup>H-NMR of *Tert*-butyl 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (S17)

pdata/1  
NKZF196 cdcl3 + 10% dms0-d6



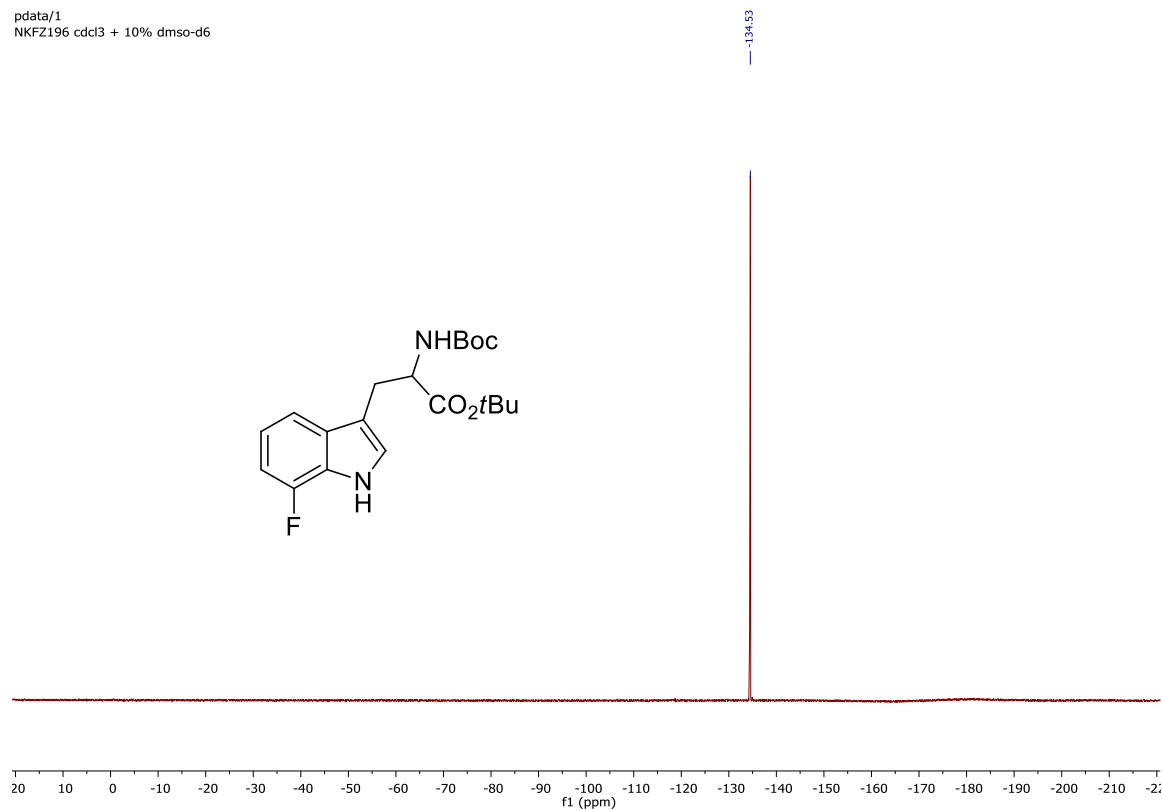
# <sup>13</sup>C-NMR of *Tert*-butyl 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (S17)

pdata/1  
NKZF196 cdcl3 + 10% dms0-d6



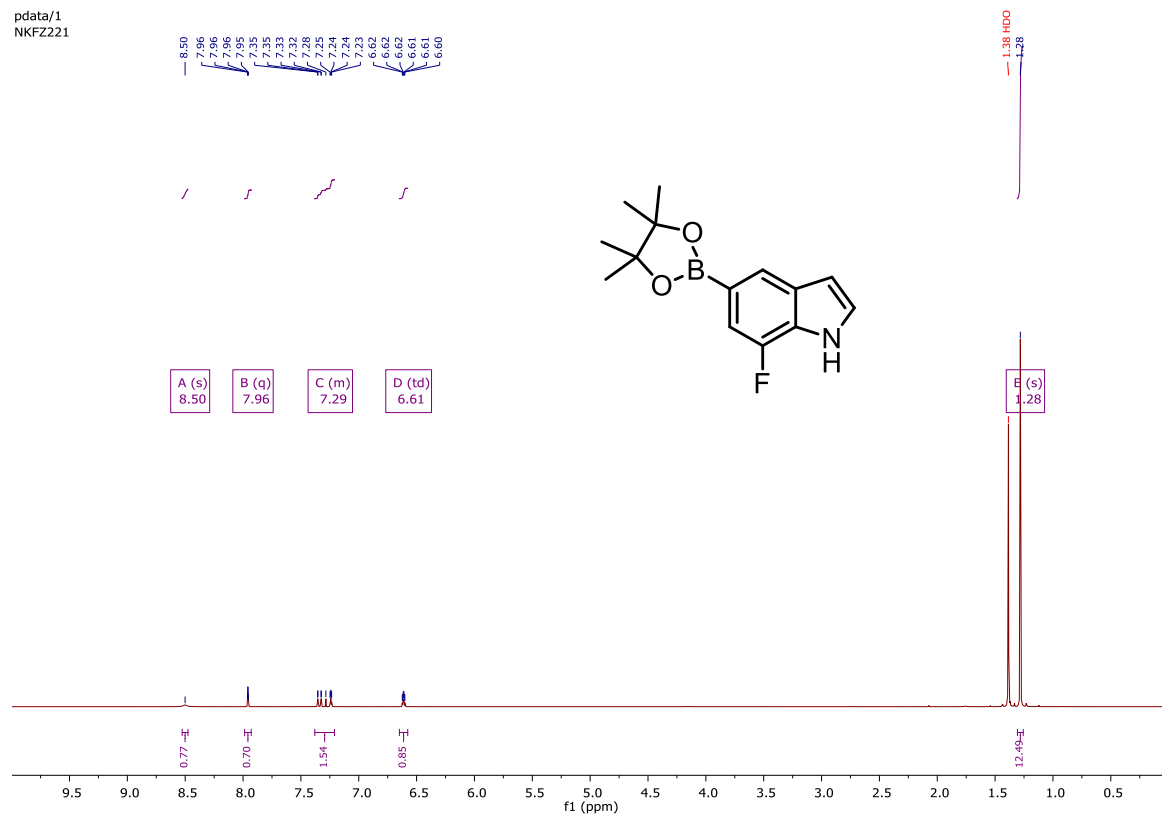
# <sup>19</sup>F-NMR of *Tert*-butyl 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-1H-indol-3-yl)propanoate (S17)

pdata/1  
NKZF196 cdcl3 + 10% dms0-d6



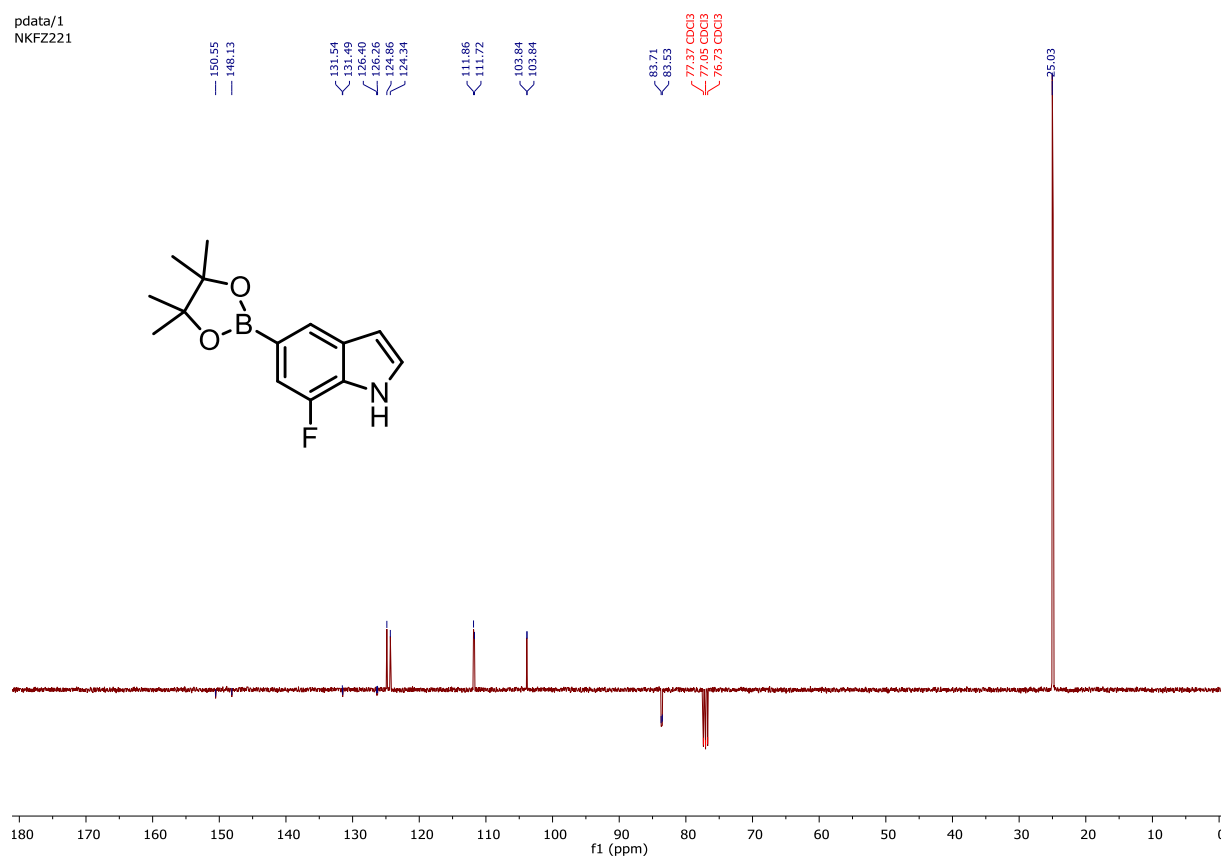
# <sup>1</sup>H-NMR of 7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (S19)

pdata/1  
NKFZ221



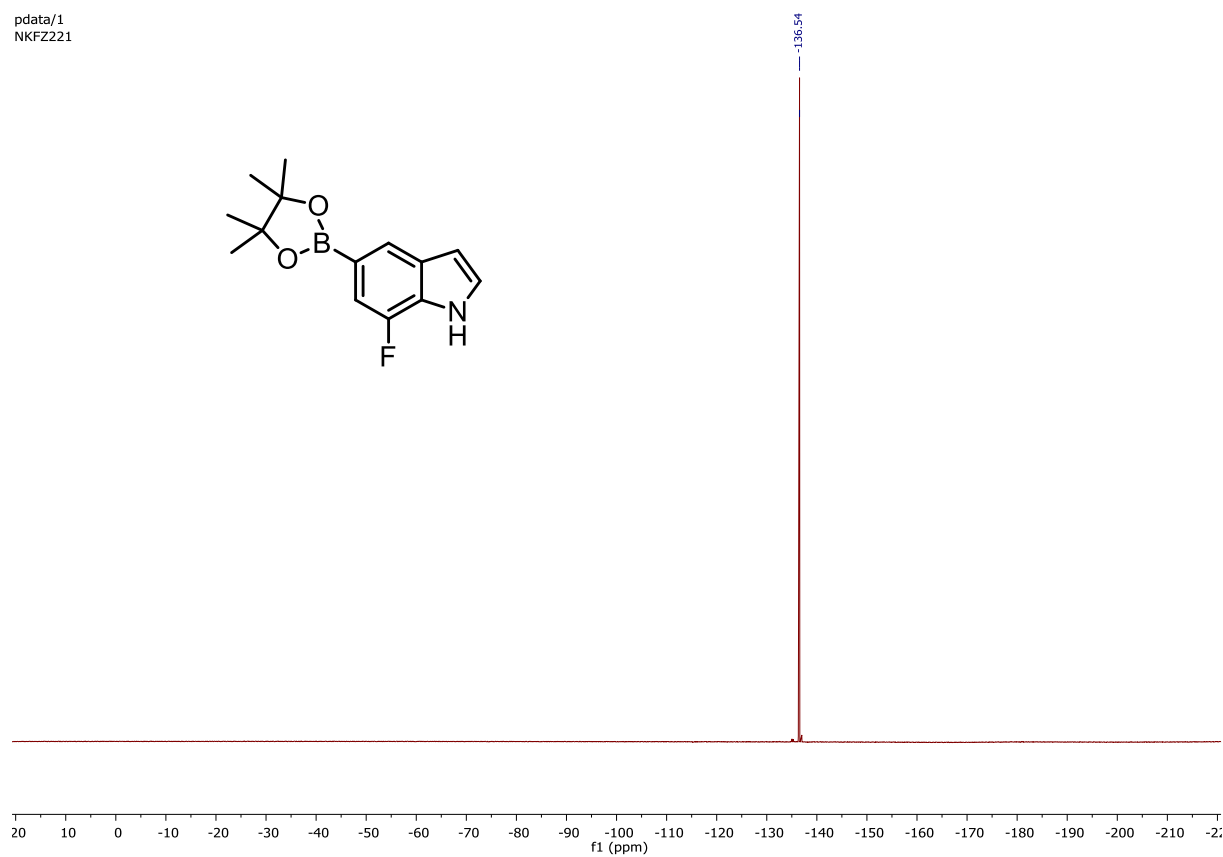
### <sup>13</sup>C-NMR of 7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (S19)

pdata/1  
NKFZ221

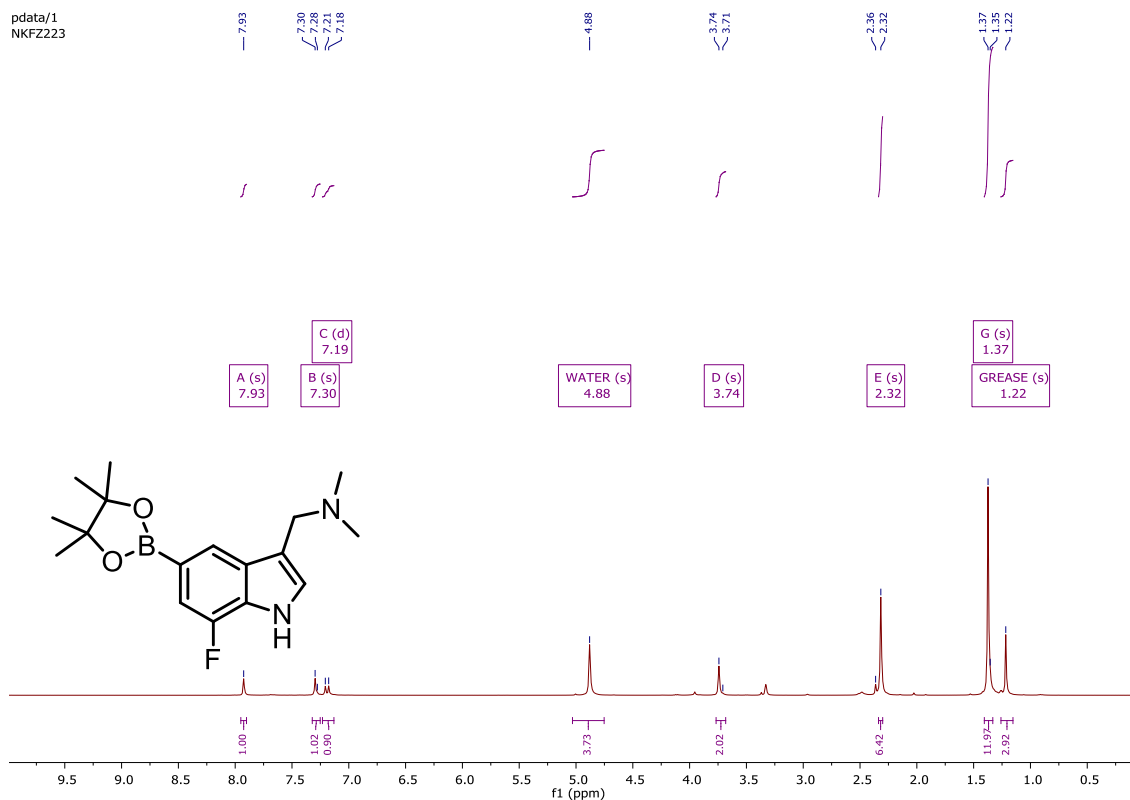


### <sup>19</sup>F-NMR of 7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indole (S19)

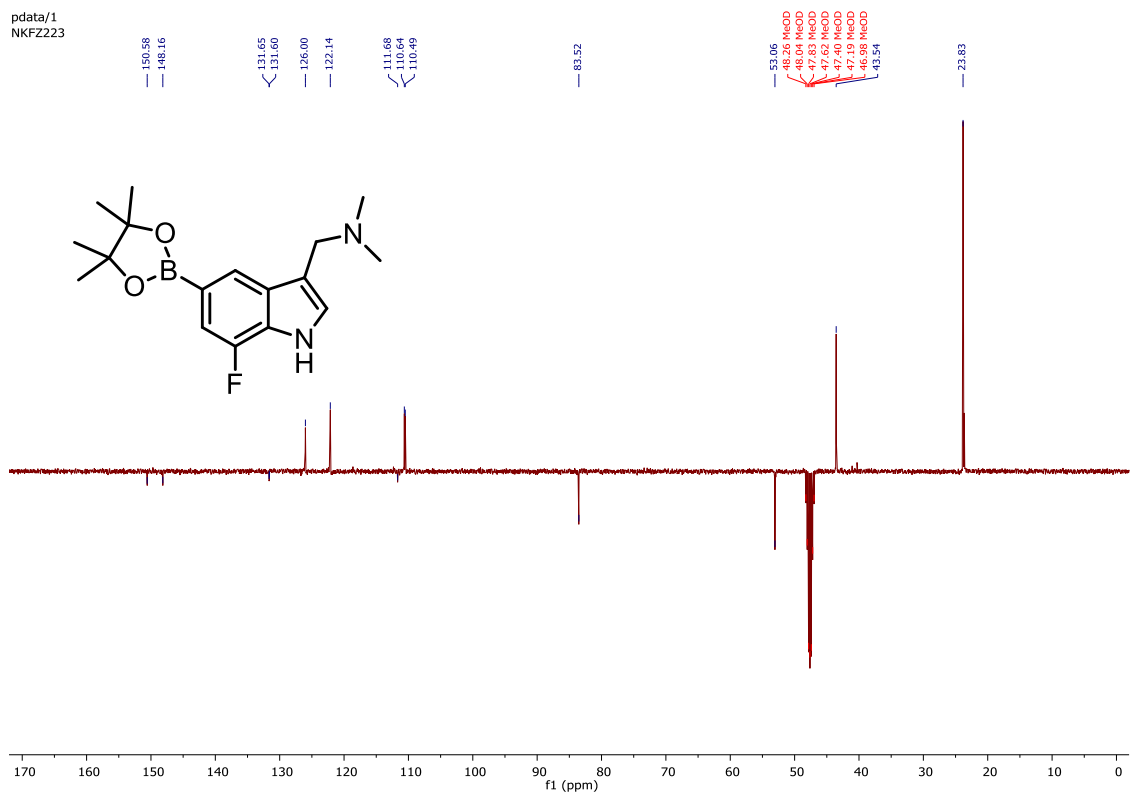
pdata/1  
NKFZ221



**<sup>1</sup>H-NMR of 1-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,2,3-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (S20)**

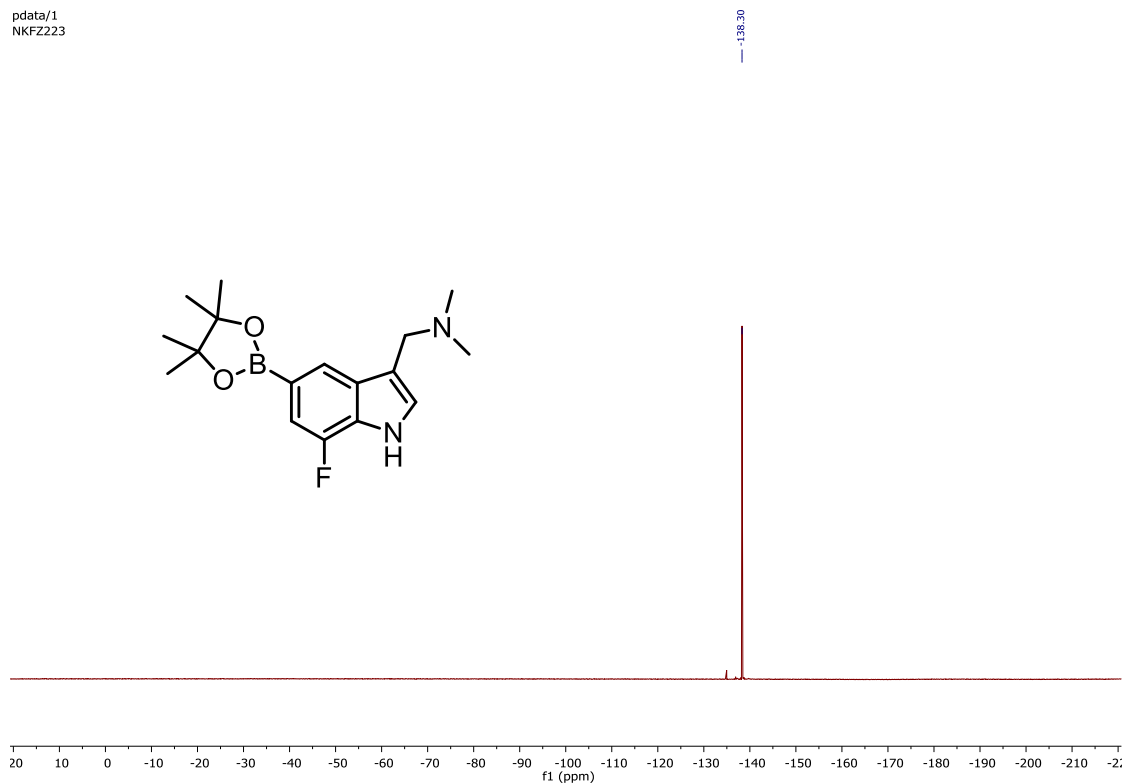


**<sup>13</sup>C-NMR of 1-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,2,3-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (S20)**



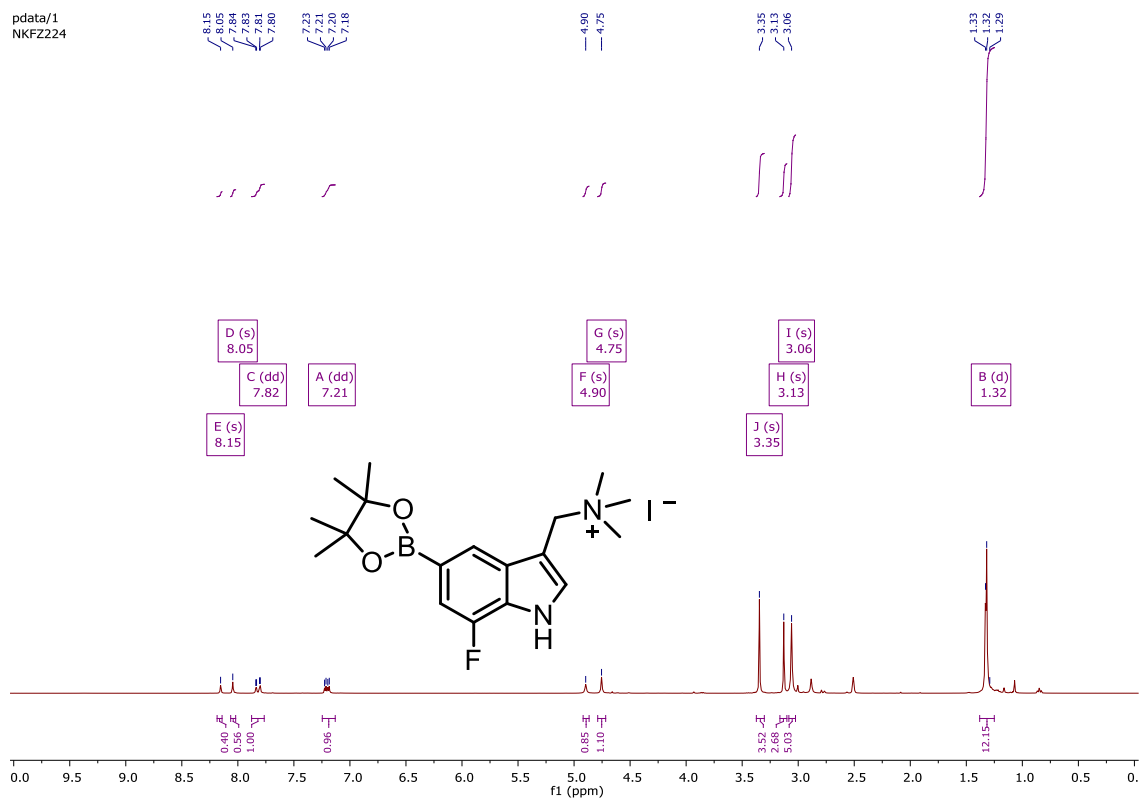
**$^{19}\text{F}$ -NMR of 1-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,2,3-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (S20)**

pdata/1  
NKZF2223



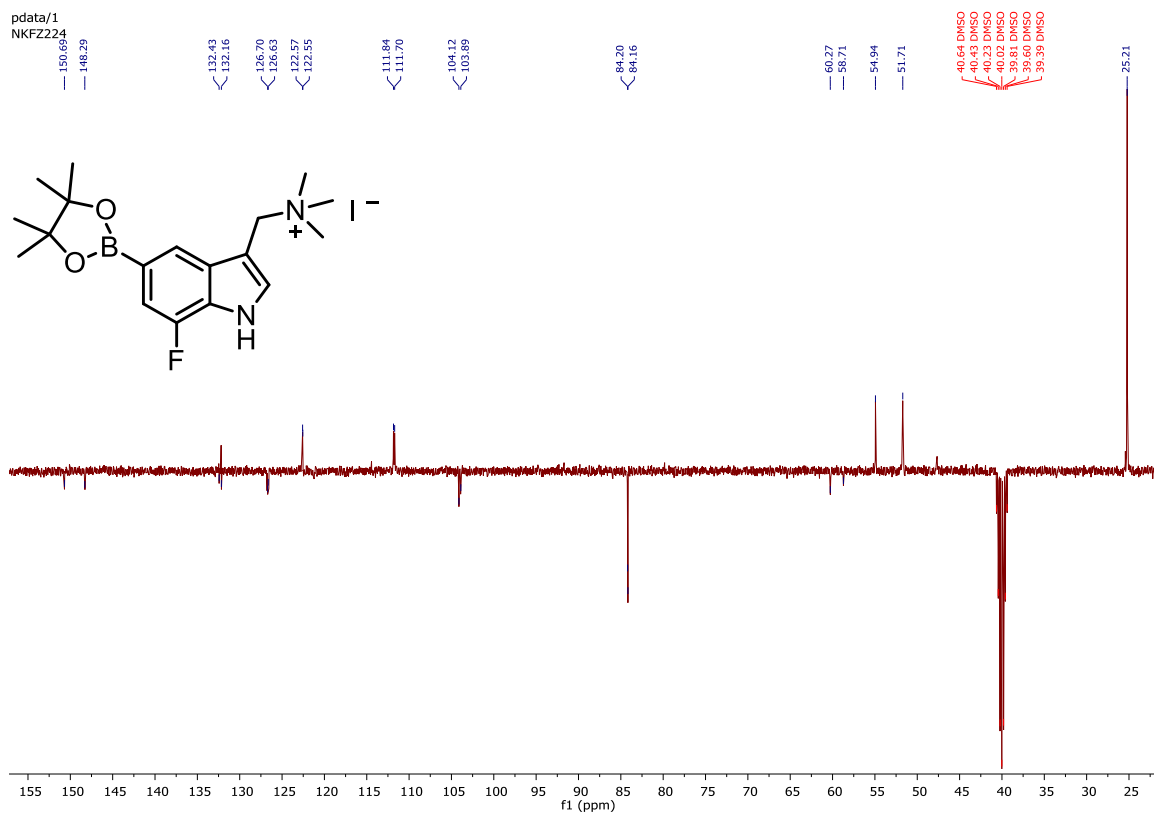
**$^1\text{H}$ -NMR of 1-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (S21)**

pdata/1  
NKZF2224

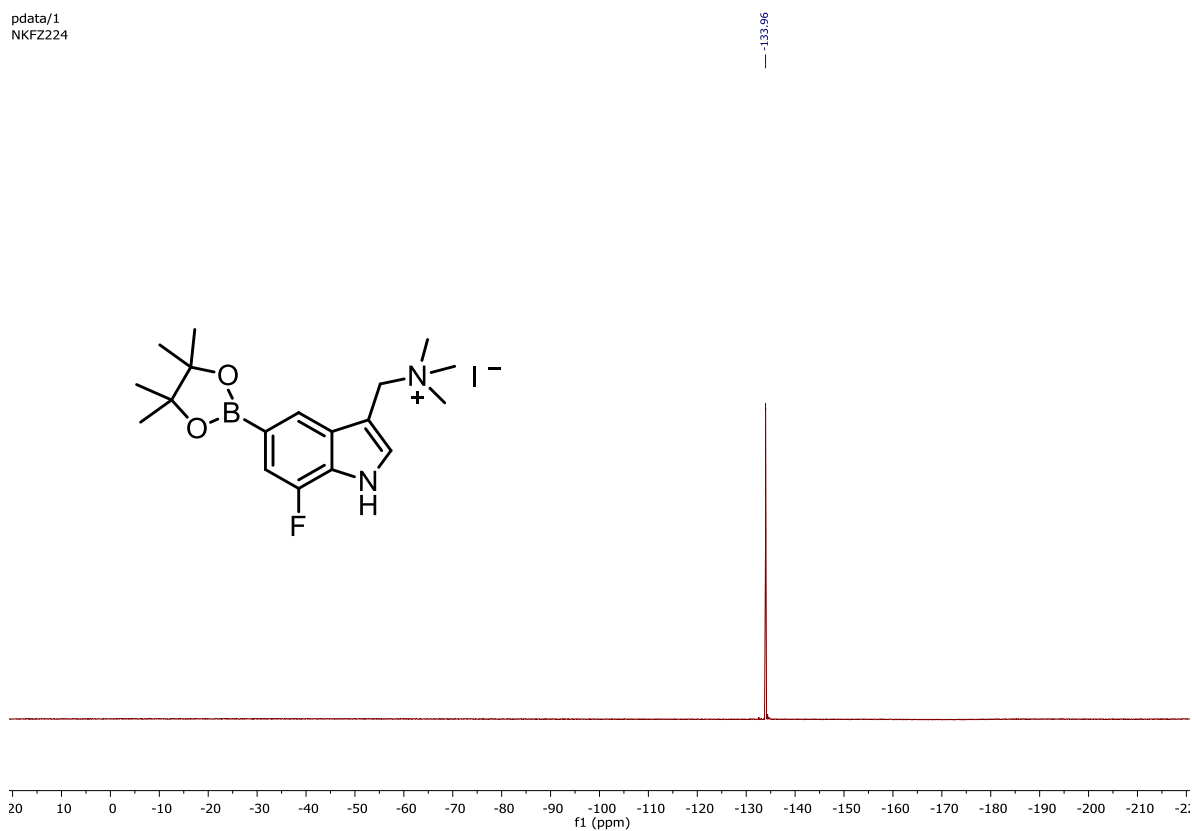




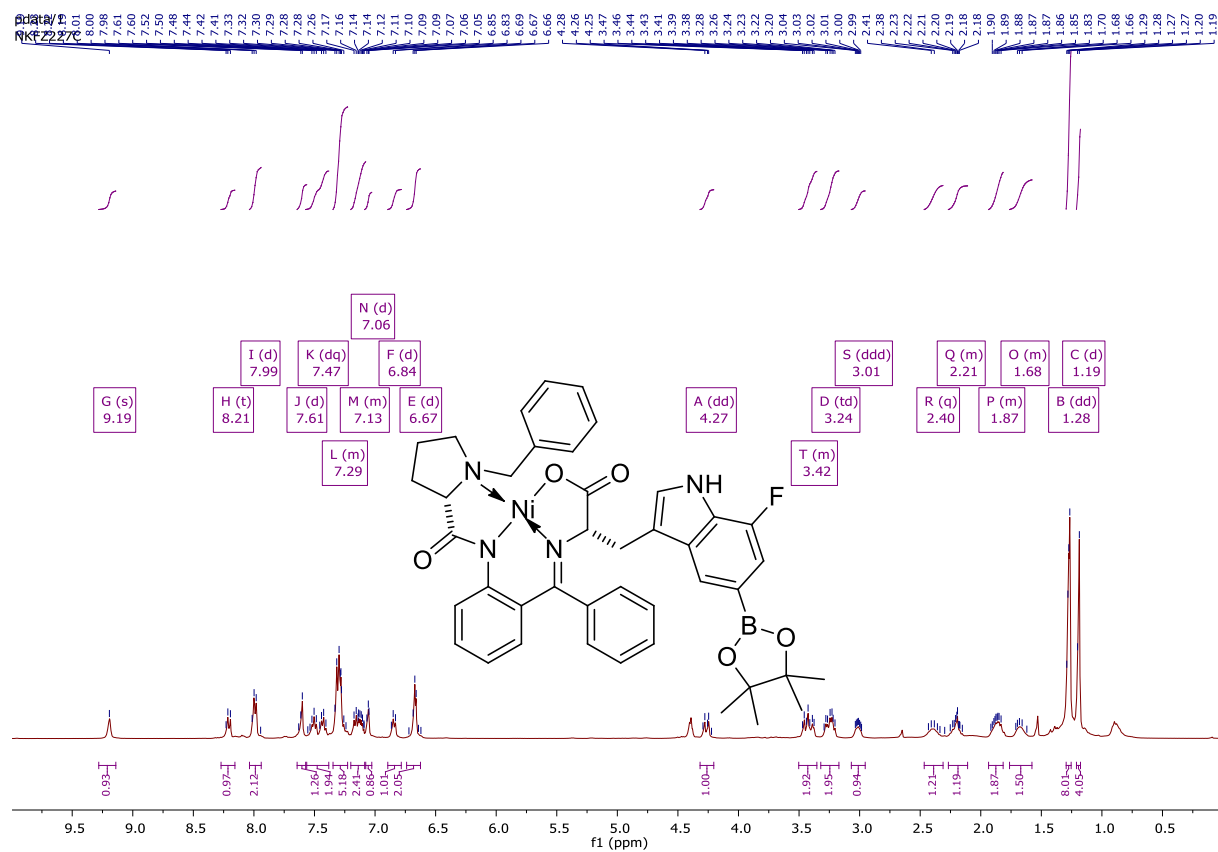
**<sup>13</sup>C-NMR of 1-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodide (S21)**



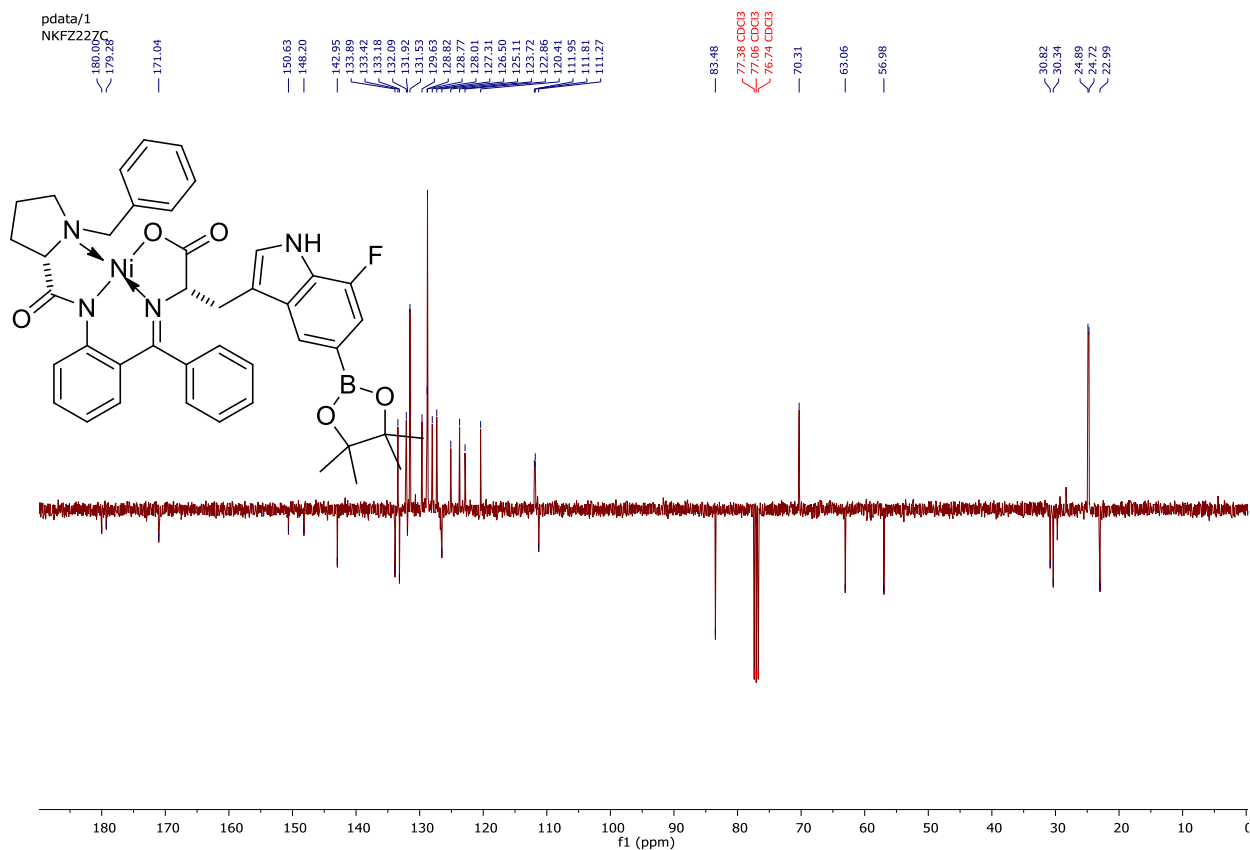
**<sup>19</sup>F-NMR of 1-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)-N,N,N-trimethylmethanaminium iodide (S21)**



### <sup>1</sup>H-NMR of (S,S)-Ni(II)-BPB-5-BPin-7-F-Trp (S22)

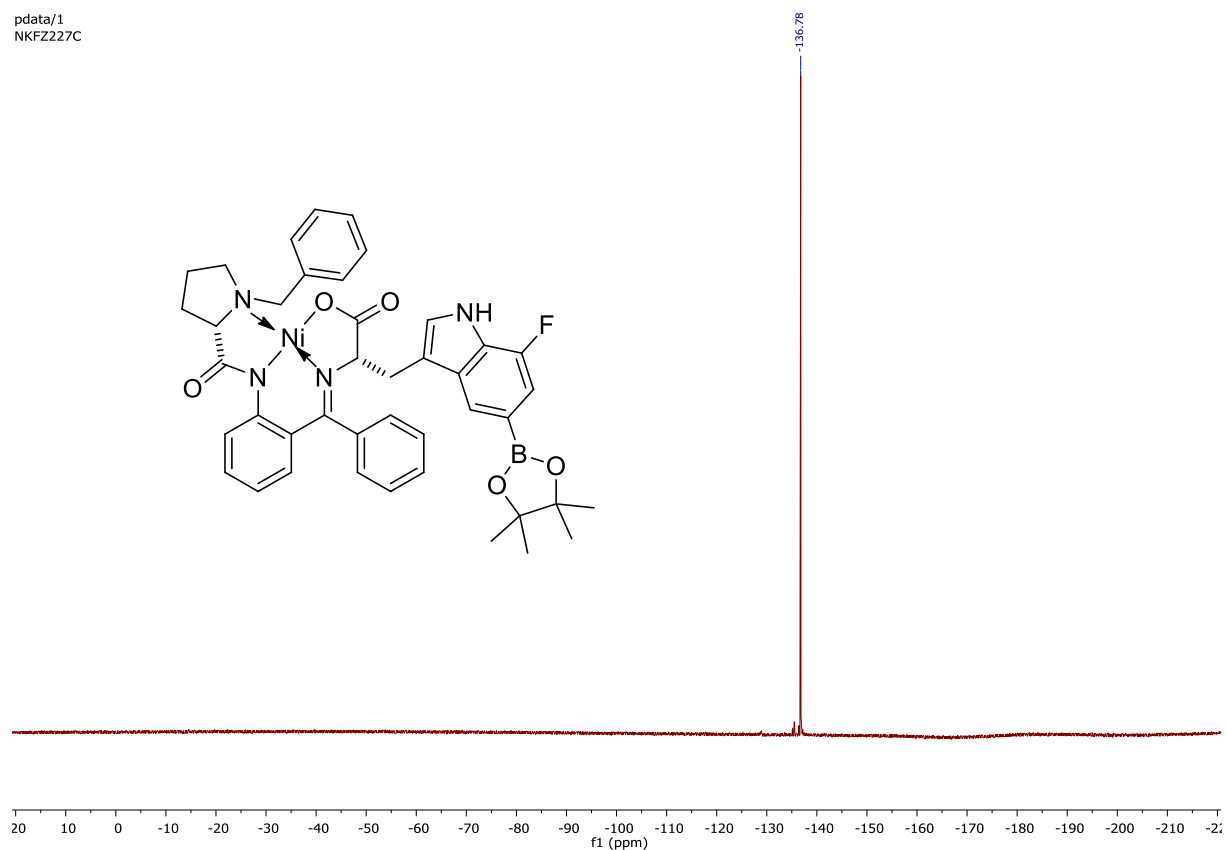


### <sup>13</sup>C-NMR of (S,S)-Ni(II)-BPB-5-BPin-7-F-Trp (S22)



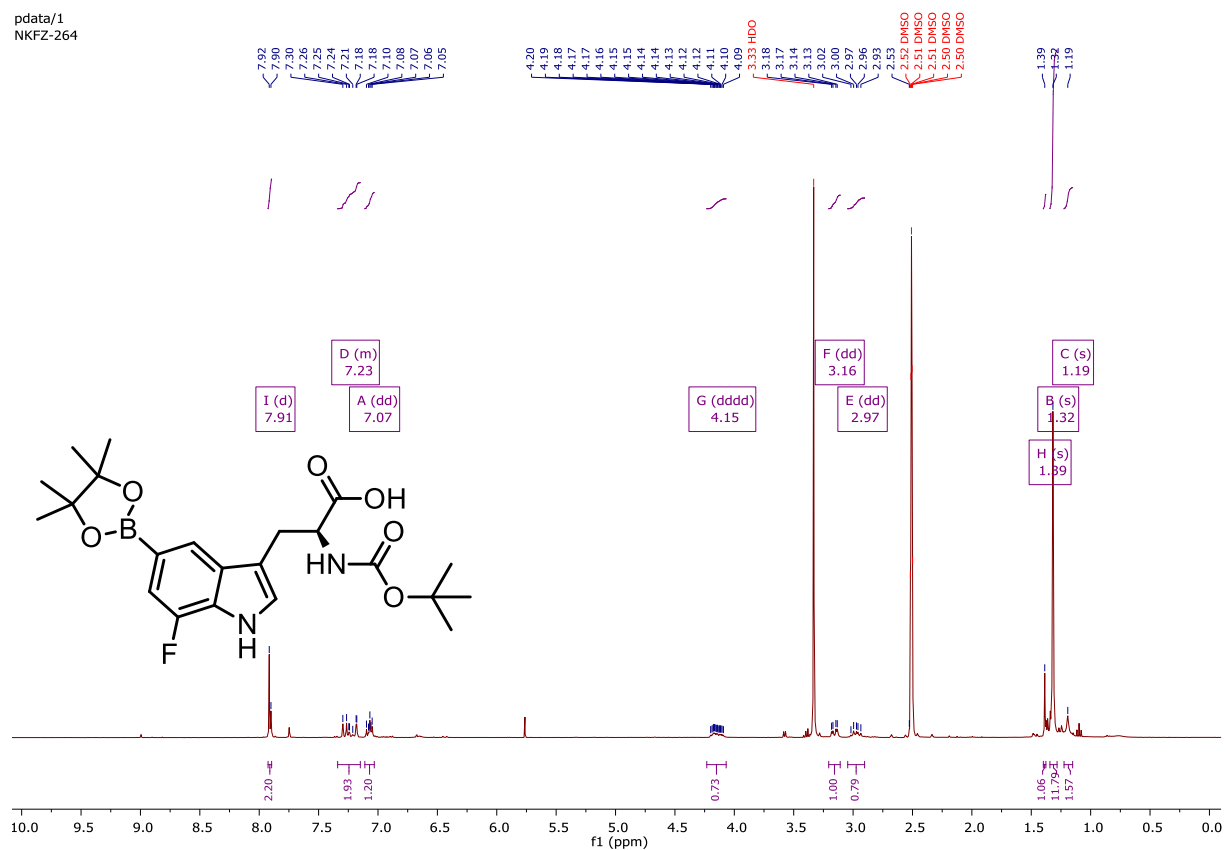
# <sup>19</sup>F-NMR of (S,S)-Ni(II)-BPB-5-BPin-7-F-Trp (S22)

pdata/1  
NKFZ227C



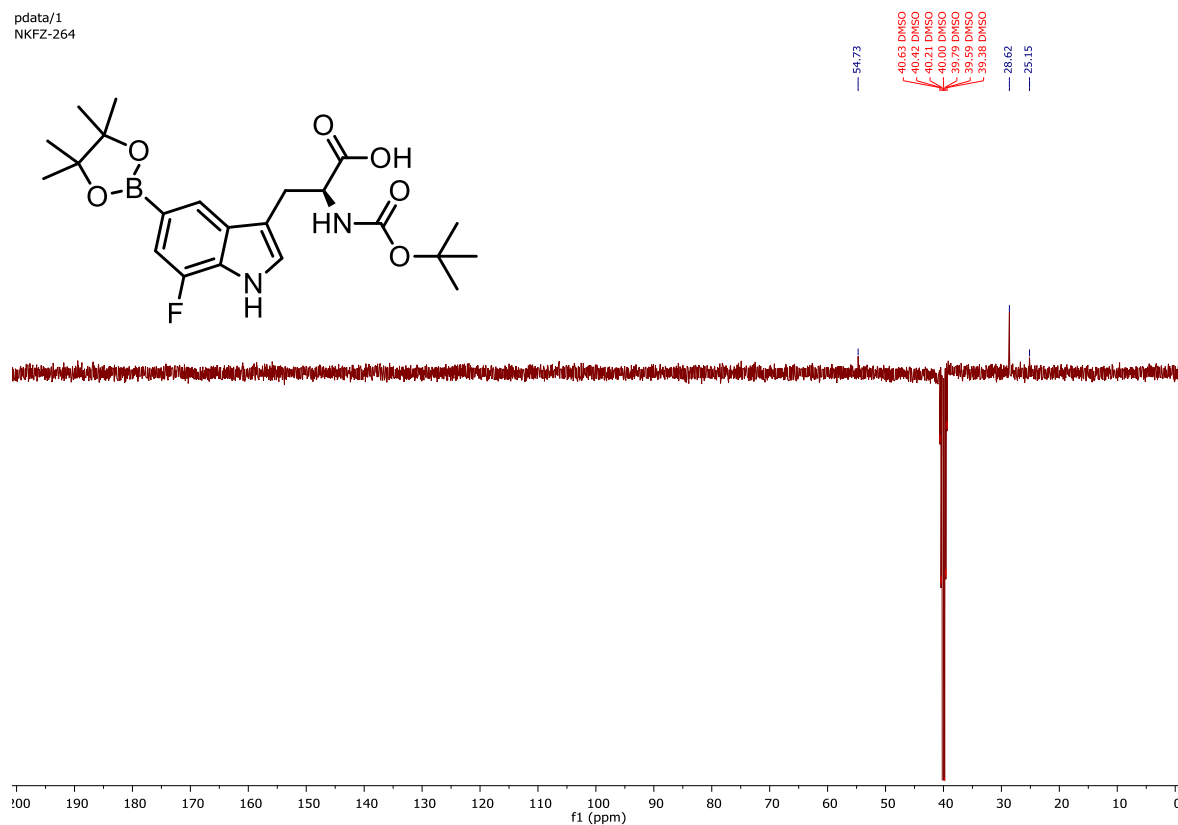
# <sup>1</sup>H-NMR for (S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S23)

pdata/1  
NKFZ-264



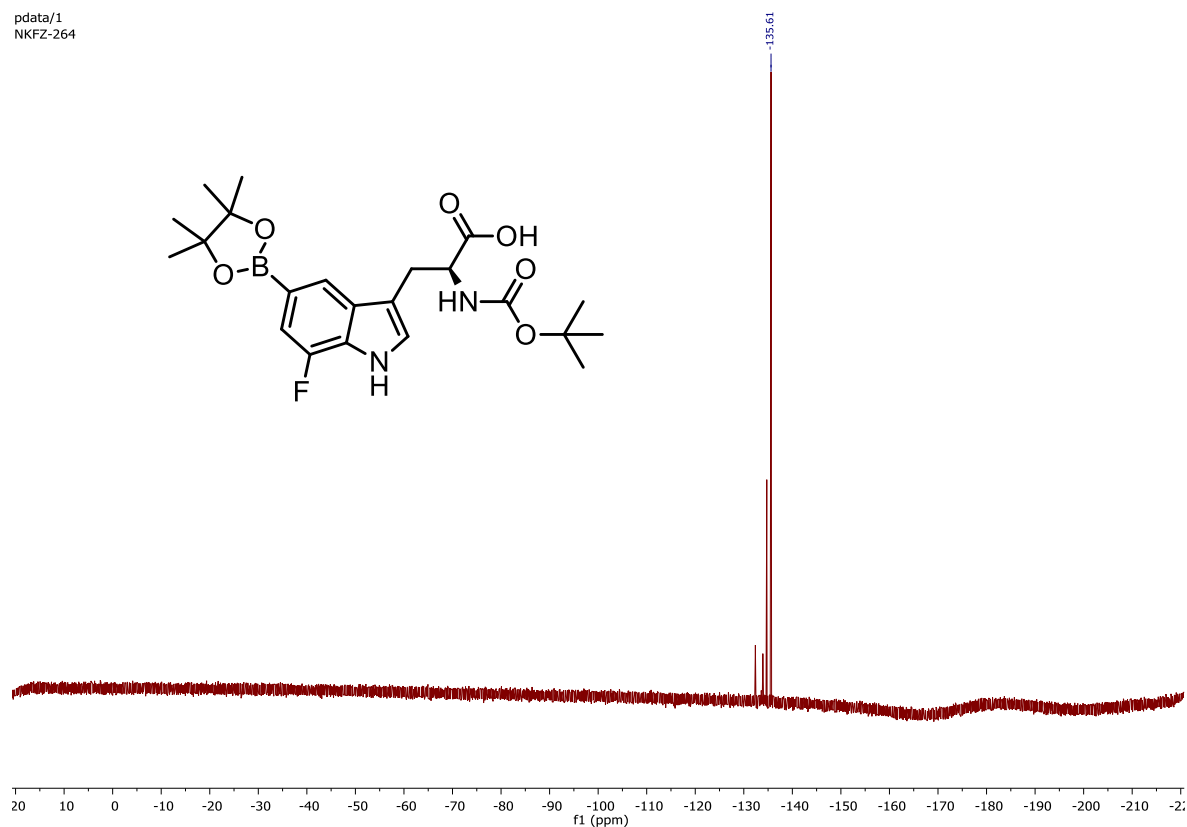
### <sup>13</sup>C-NMR for (S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S23)

pdata/1  
NKFZ-264

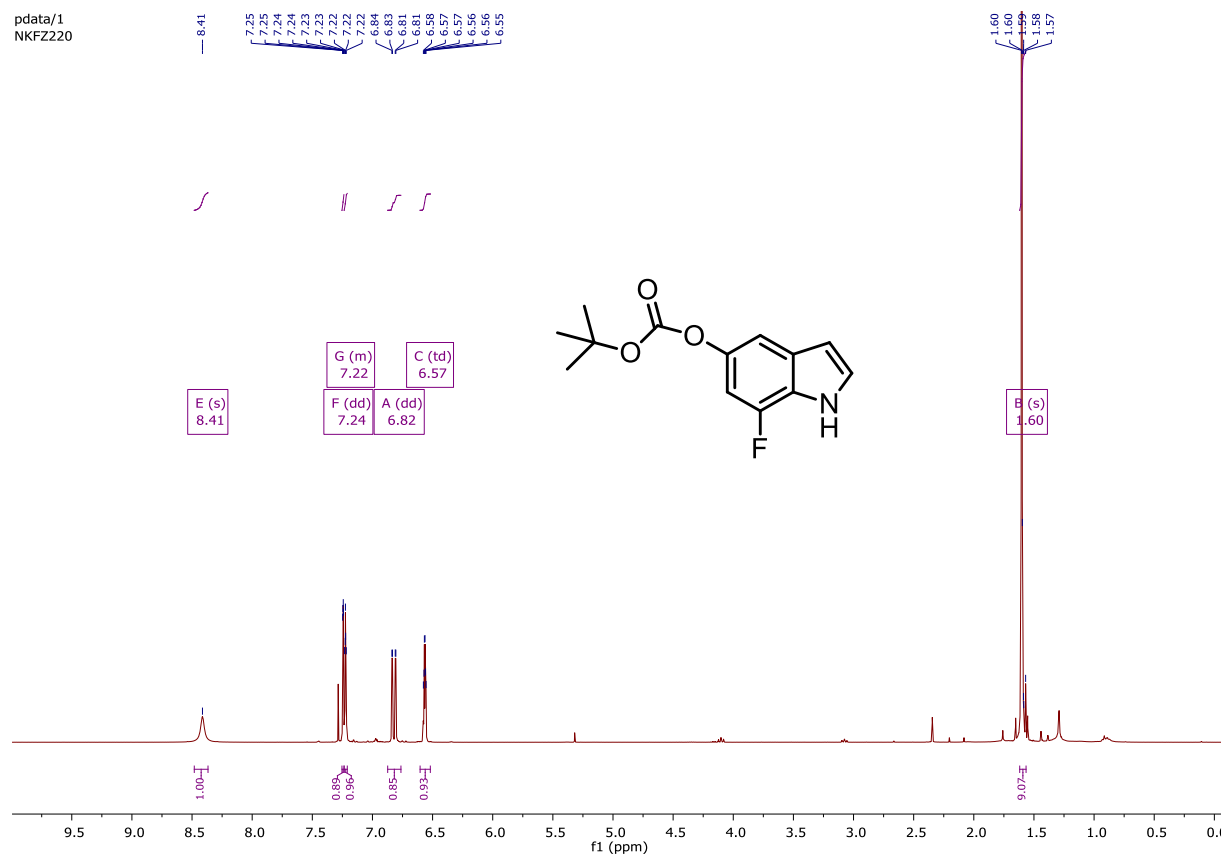


### <sup>19</sup>F-NMR for (S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(7-fluoro-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-yl)propanoic acid (S23)

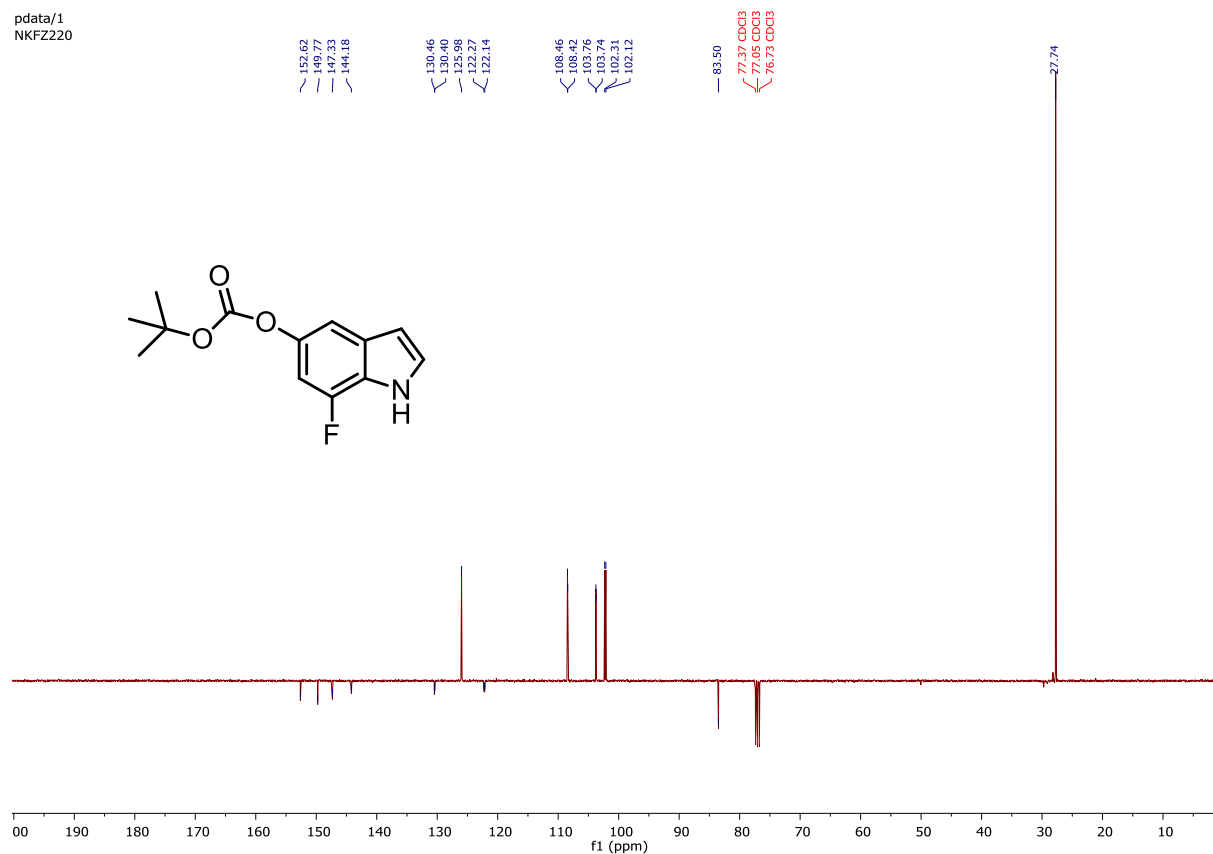
pdata/1  
NKFZ-264



### <sup>1</sup>H-NMR of *tert*-butyl (7-fluoro-1*H*-indol-5-yl) carbonate (S25)

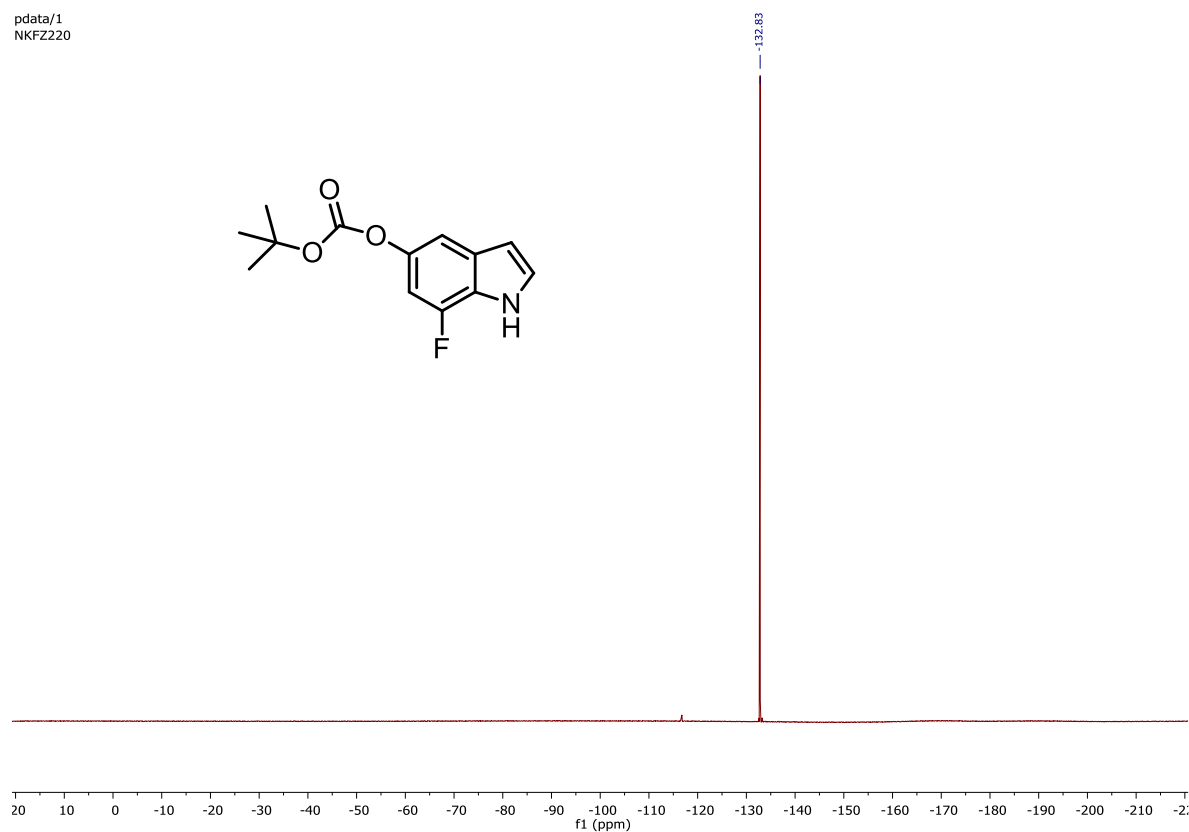


### <sup>13</sup>C-NMR of *tert*-butyl (7-fluoro-1*H*-indol-5-yl) carbonate (S25)



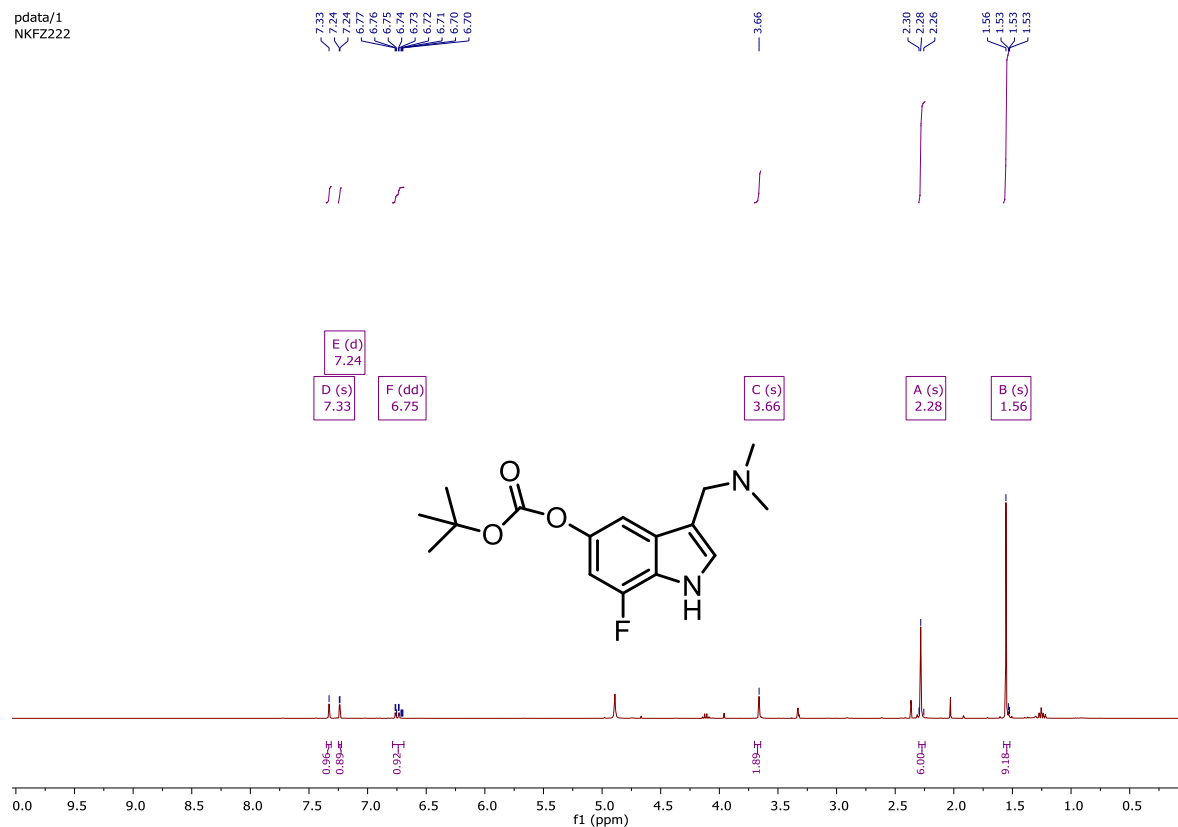
# <sup>19</sup>F-NMR of *tert*-butyl (7-fluoro-1*H*-indol-5-yl) carbonate (S25)

pdata/1  
NKFZ220



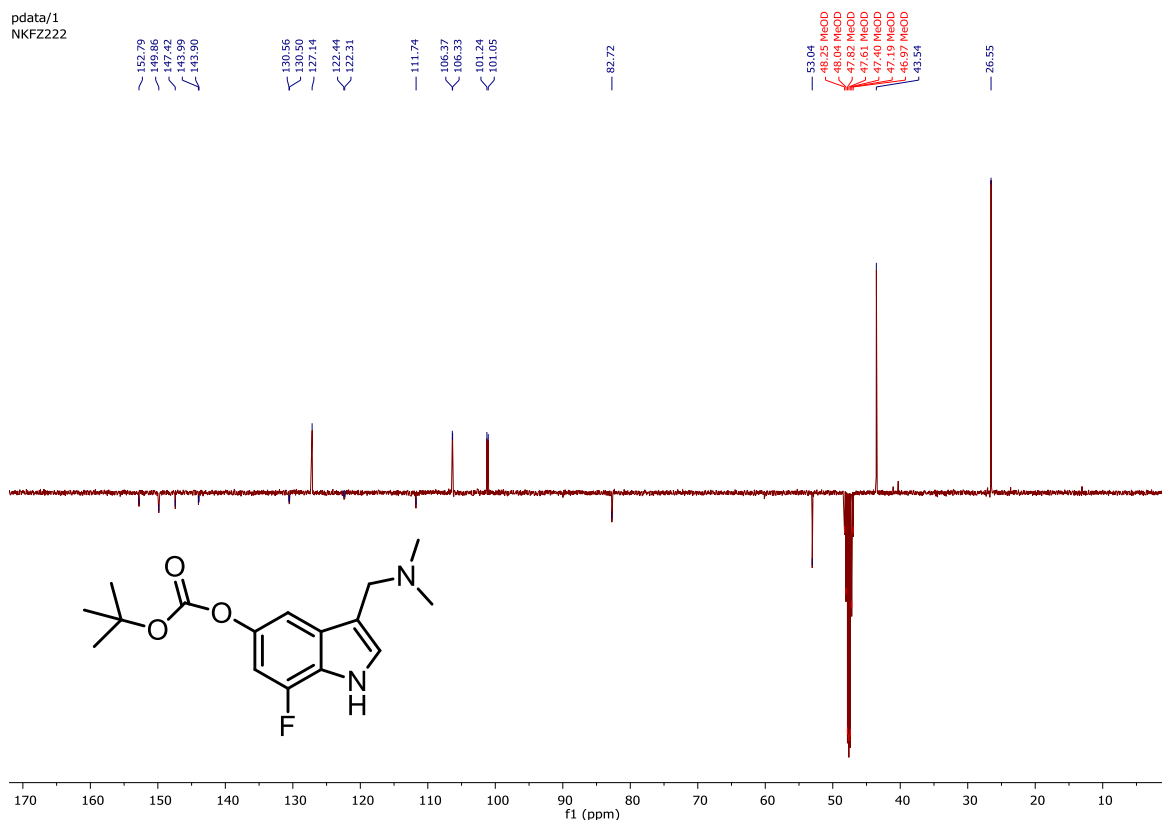
# <sup>1</sup>H-NMR of *tert*-butyl (3-((dimethylamino)methyl)-7-fluoro-1*H*-indol-5-yl) carbonate (S26)

pdata/1  
NKFZ222



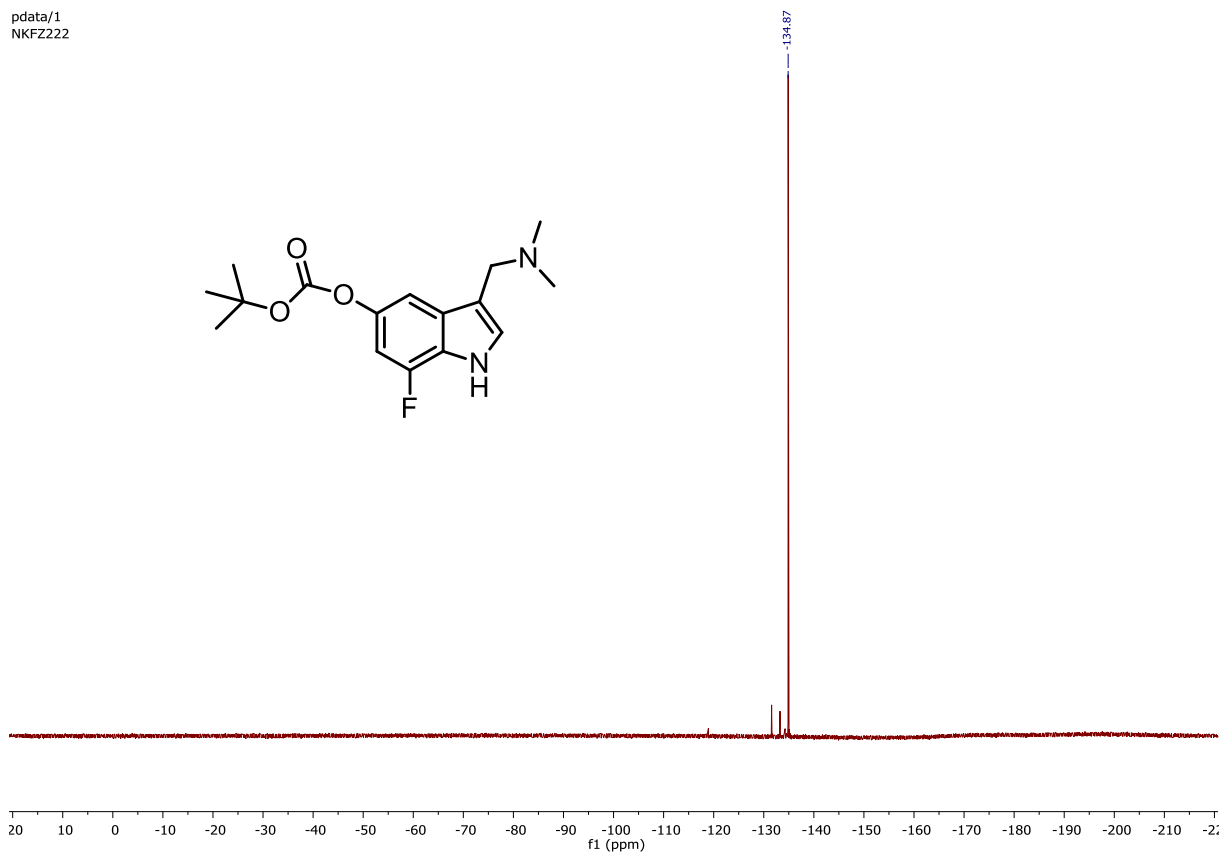
# <sup>13</sup>C-NMR of *tert*-butyl (3-((dimethylamino)methyl)-7-fluoro-1*H*-indol-5-yl) carbonate (S26)

pdata/1  
NKFZ222

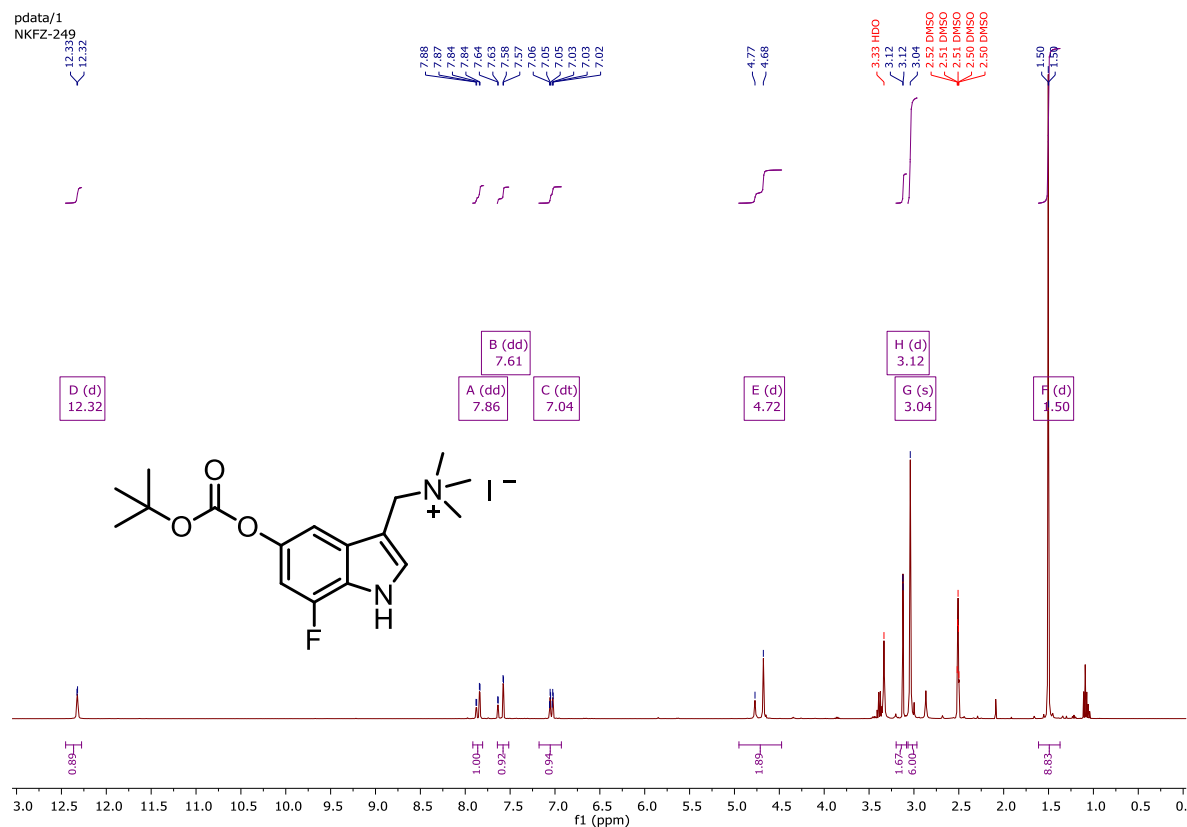


# <sup>19</sup>F-NMR of *tert*-butyl (3-((dimethylamino)methyl)-7-fluoro-1*H*-indol-5-yl) carbonate (S26)

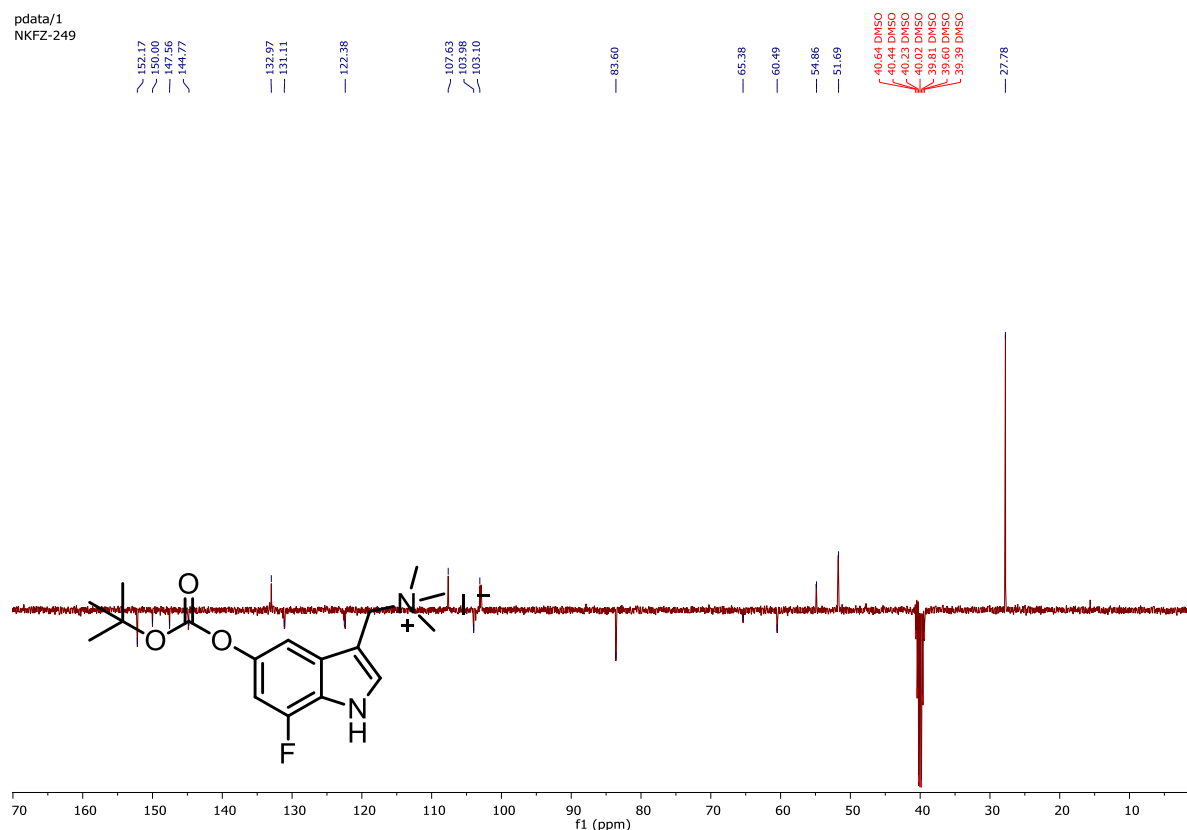
pdata/1  
NKFZ222



**<sup>1</sup>H-NMR of 1-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)oxy)-7-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (S27)**



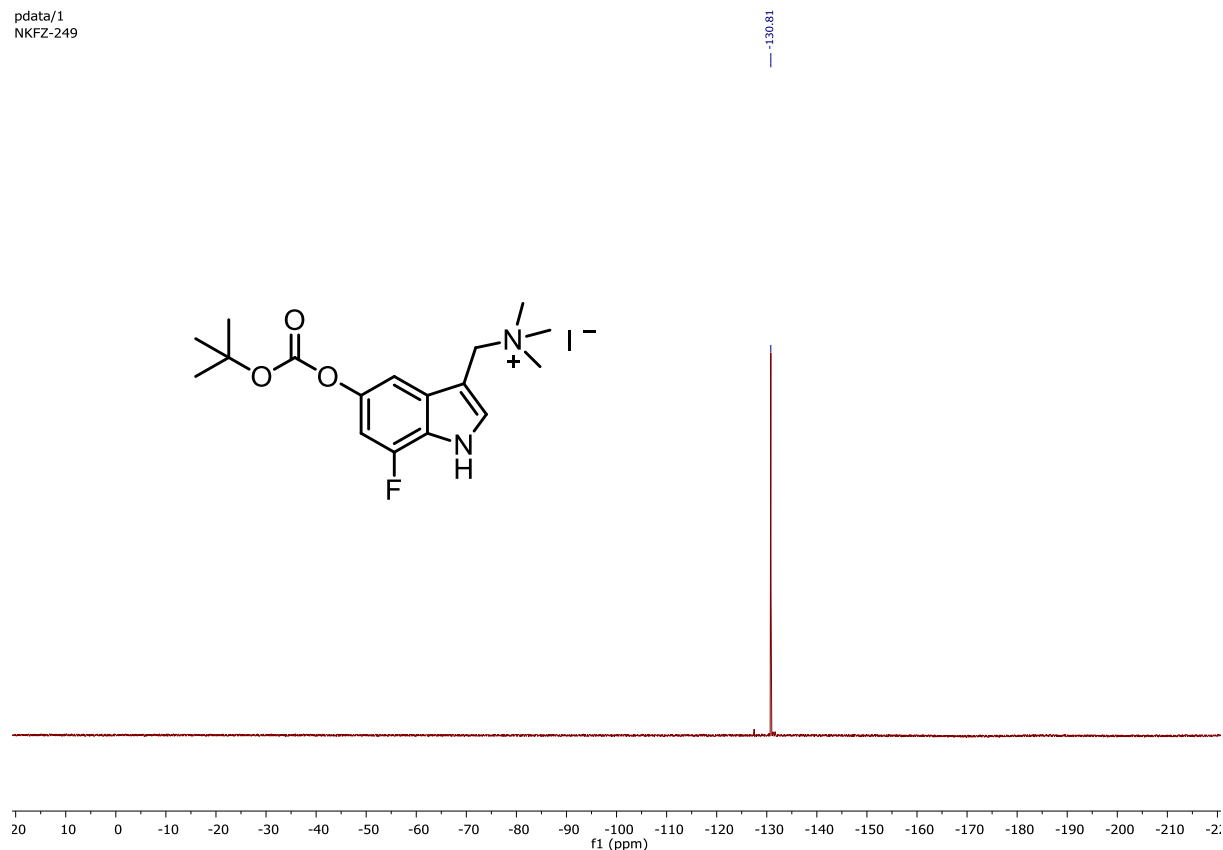
**<sup>13</sup>C-NMR of 1-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)oxy)-7-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (S27)**





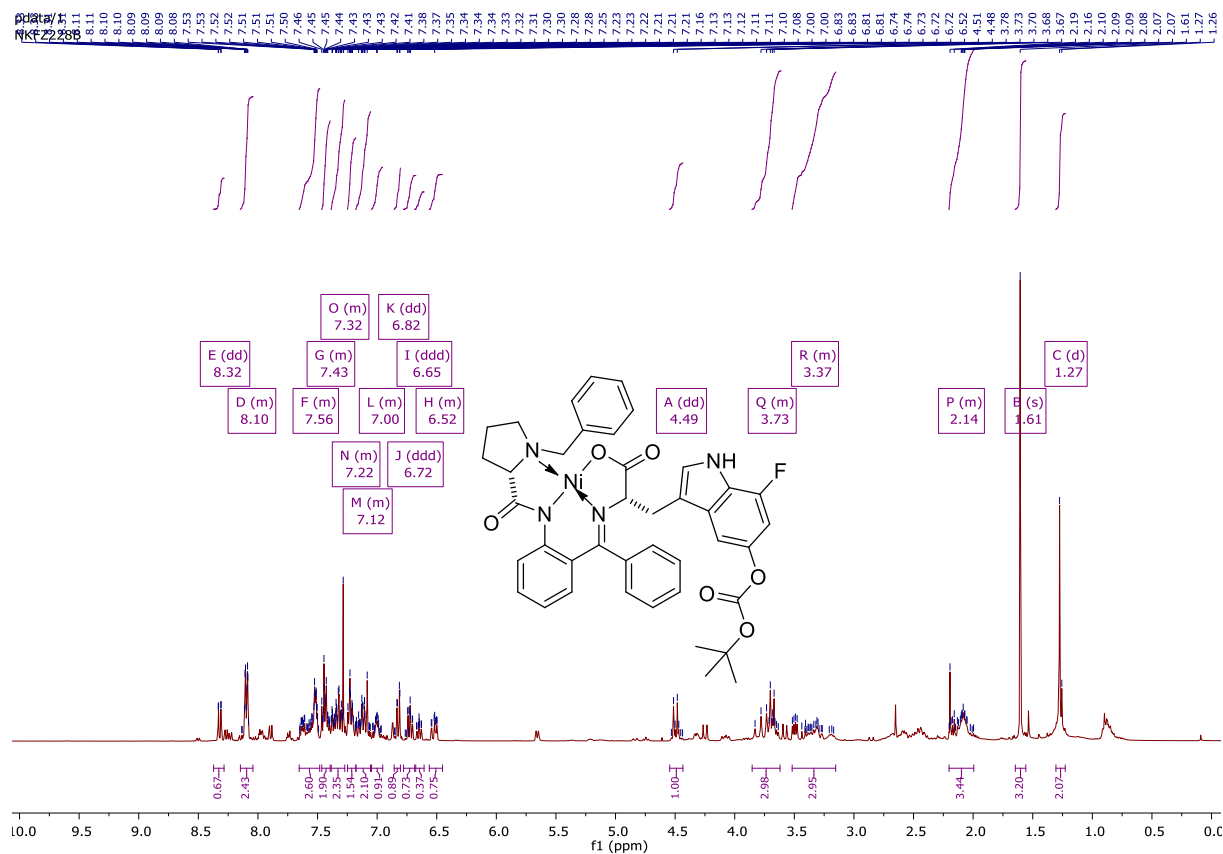
**<sup>19</sup>F-NMR of 1-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)oxy)-7-fluoro-1*H*-indol-3-yl)-*N,N,N*-trimethylmethanaminium iodide (S27)**

pdata/1  
NKFZ-249



**<sup>1</sup>H-NMR of (*S,S*)-Ni(II)-BPB-5-OBoc-7-FTrp (S28)**

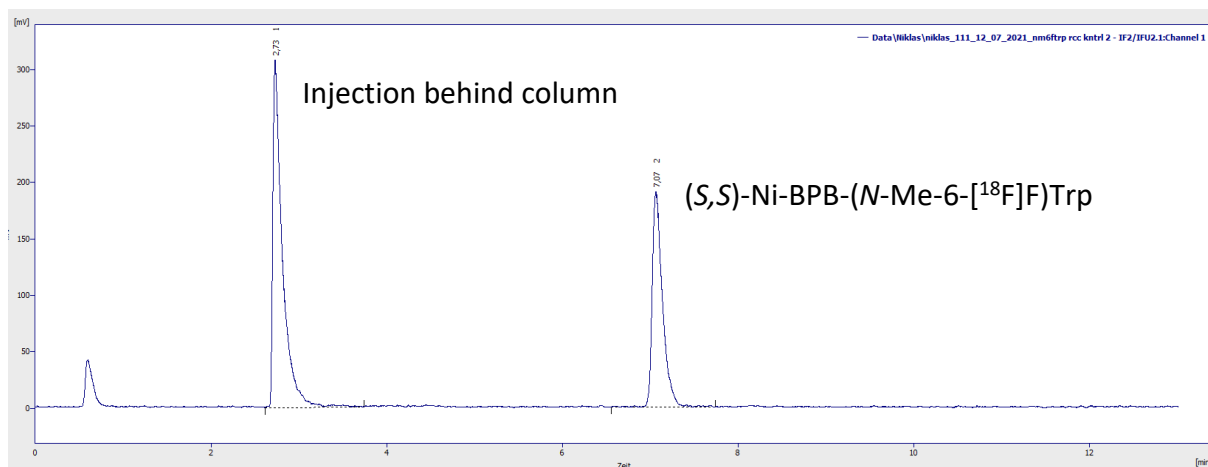
pdata/1  
NKFZ-238



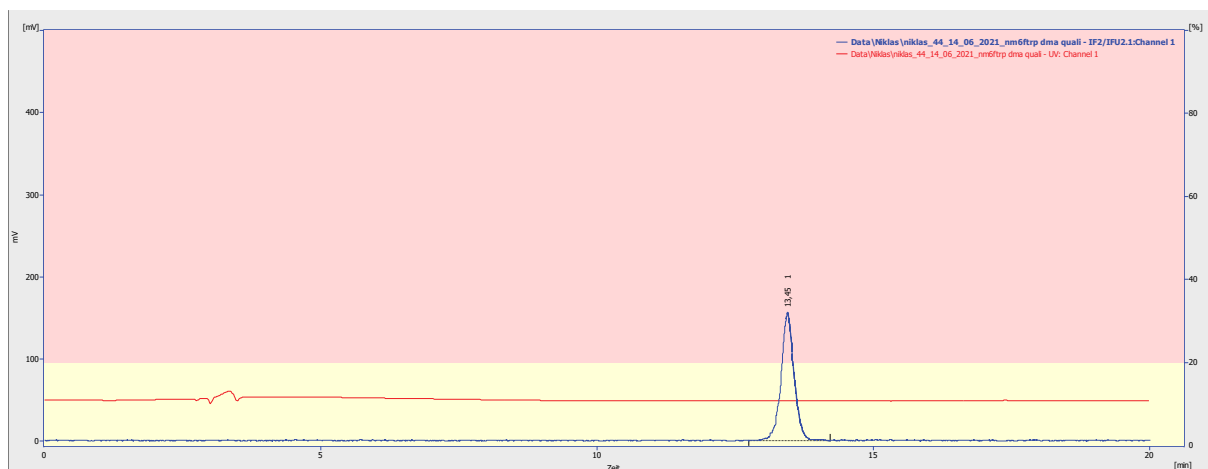


### 3.2.HPLC-Data

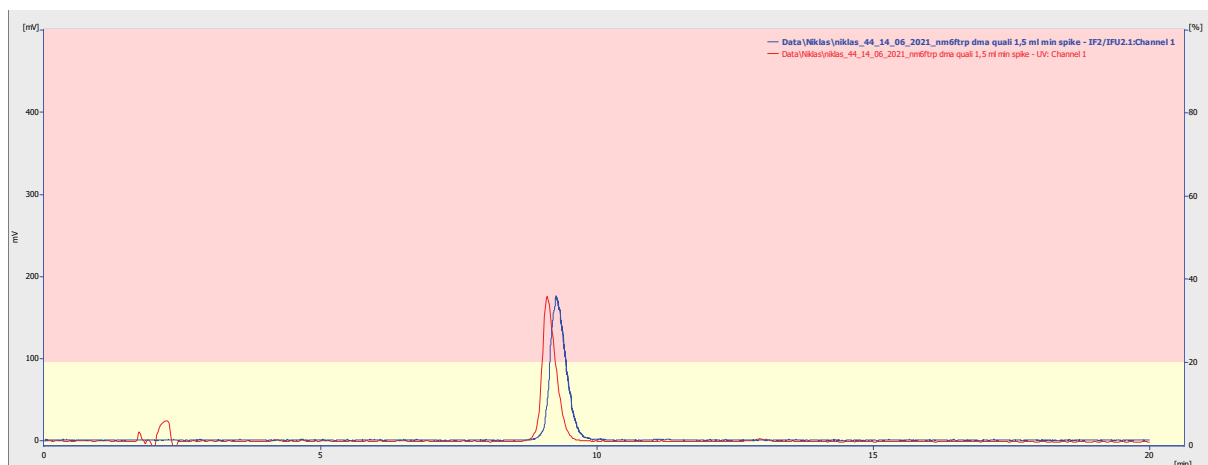
#### 3.2.1. Chromatograms and calibration curve for (*S*)-*N*-methyl-6-<sup>18</sup>F]fluorotryptophan



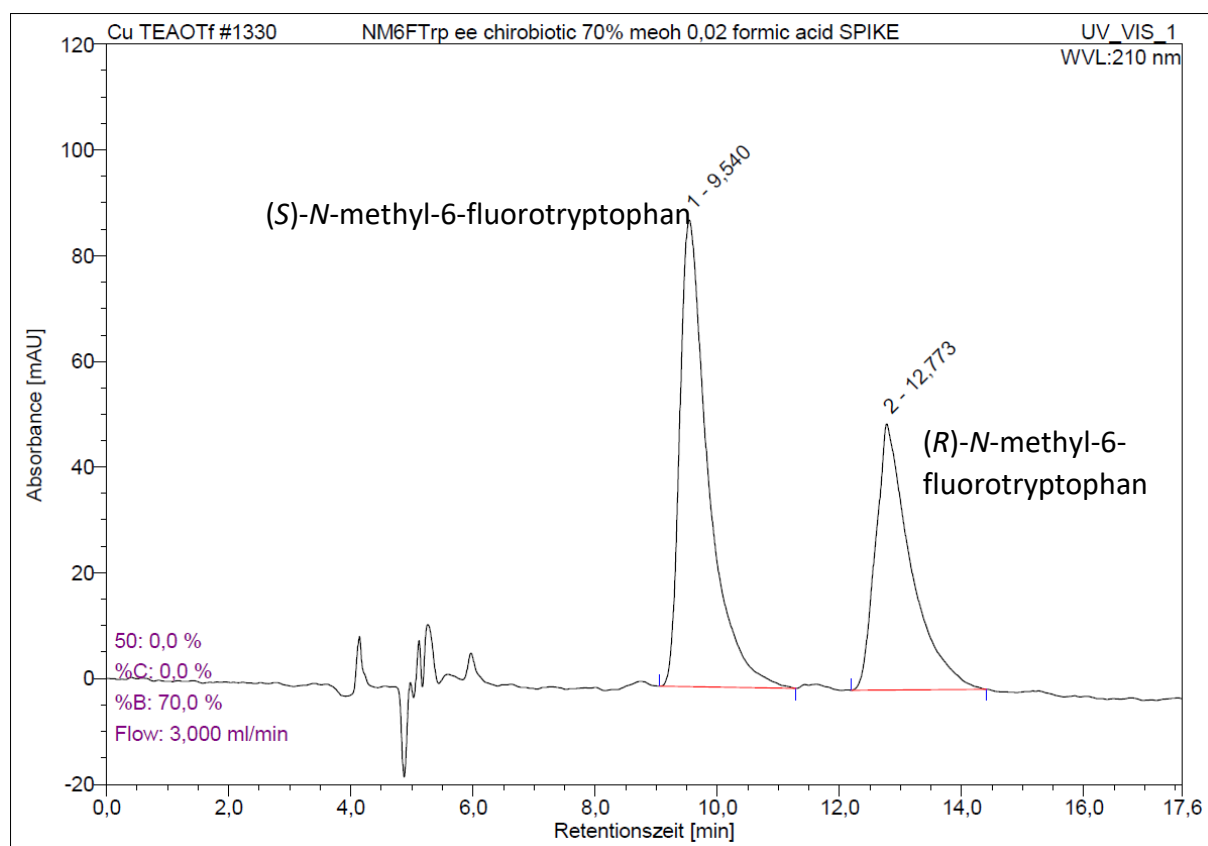
HPLC chromatogram of the radiolabeled intermediate (*S,S*)-Ni-BPB-(*N*-Me-6-<sup>18</sup>F]F)Trp compared against an injection of reaction mixture behind the column to determine conversion of precursor (RCC).



HPLC chromatogram of the isolated tracer to determine chemical and radiochemical purity. (Column: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu$ m, 80  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  4.6 mm, equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 20% MeCN (0.1% TFA); flow rate: 1 mL/min.)

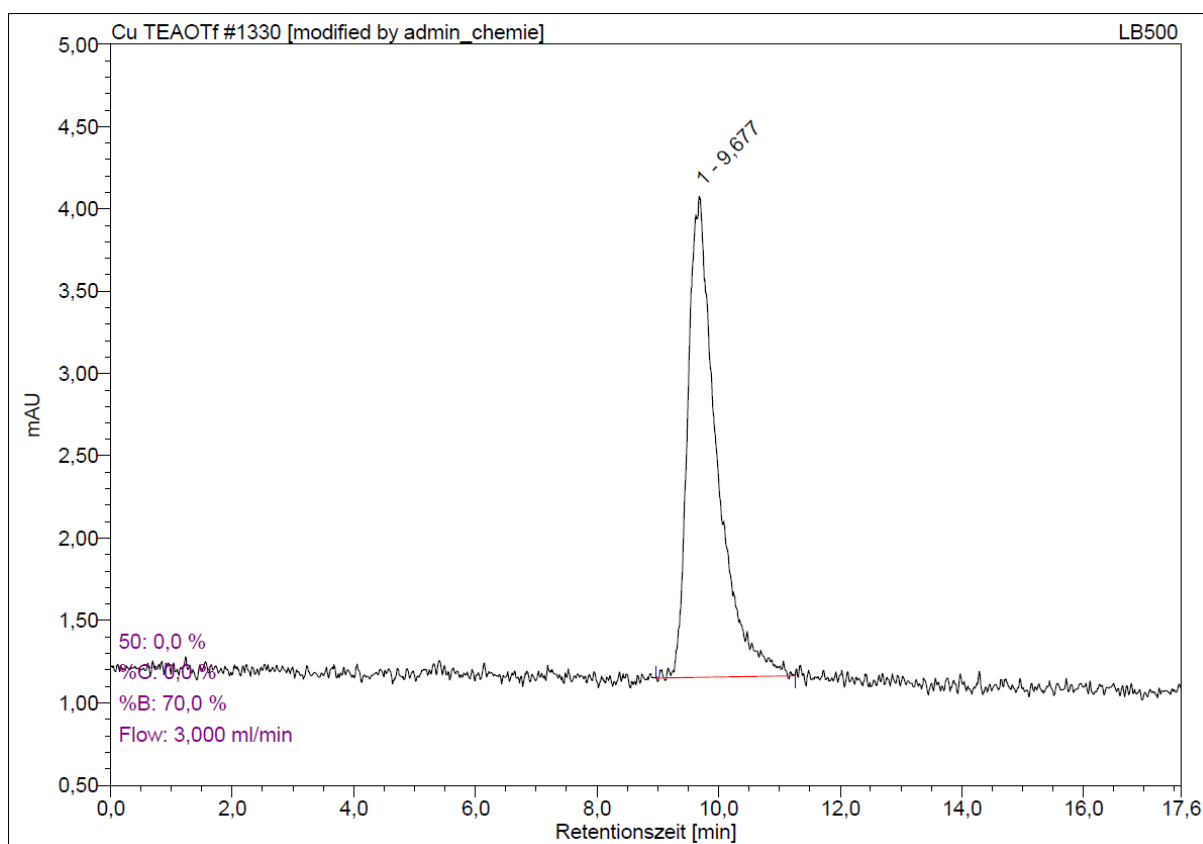


HPLC chromatogram of the isolated tracer co-injected with genuine reference structure to determine chemical identity. Radioactive signal and radiosynthetic product peak shown in blue. UV signal and reference structure shown in red. (Column: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu\text{m}$ , 80  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  4.6 mm, equipped with the appropriate SecurityGuard<sup>TM</sup> cartridge (2  $\times$  3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 20% MeCN (0.1% TFA); flow rate: 1.5 mL/min.)

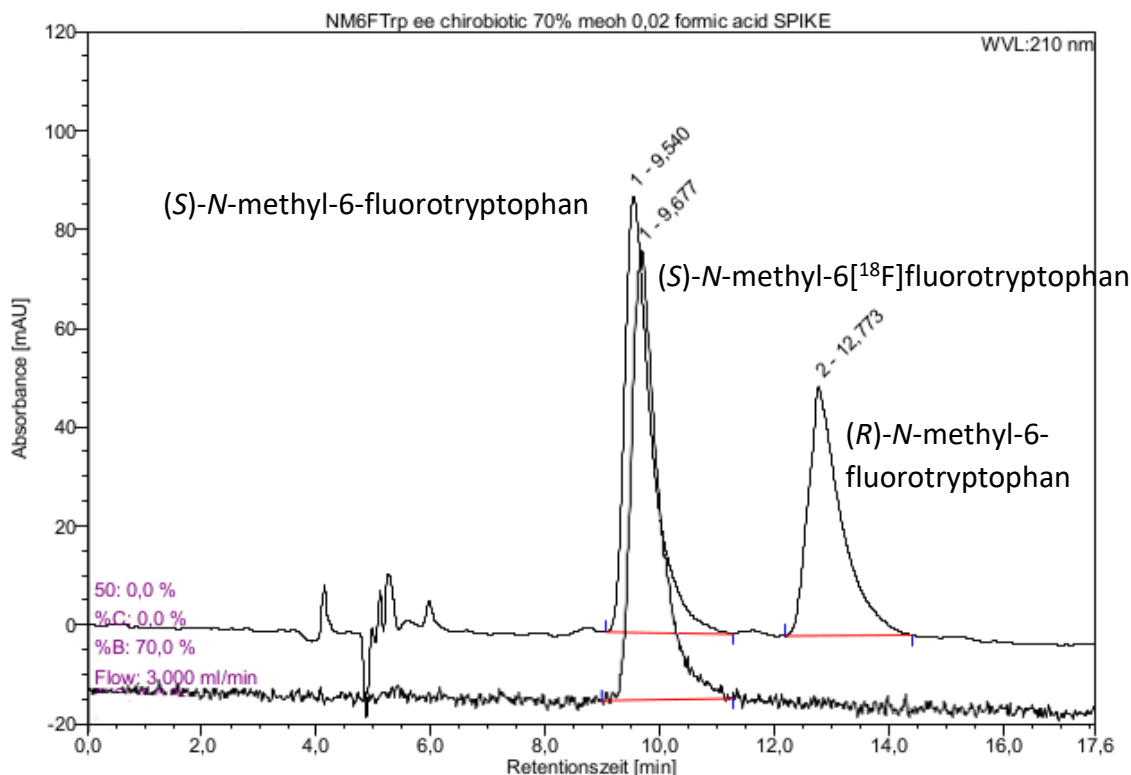


HPLC chromatogram showing signals in the UV channel for the enantiomers of genuine reference structure *N*-methyl-6-fluorotryptophan. (Column: Astec Chirobiotic T, 5  $\mu\text{m}$ , 250  $\times$

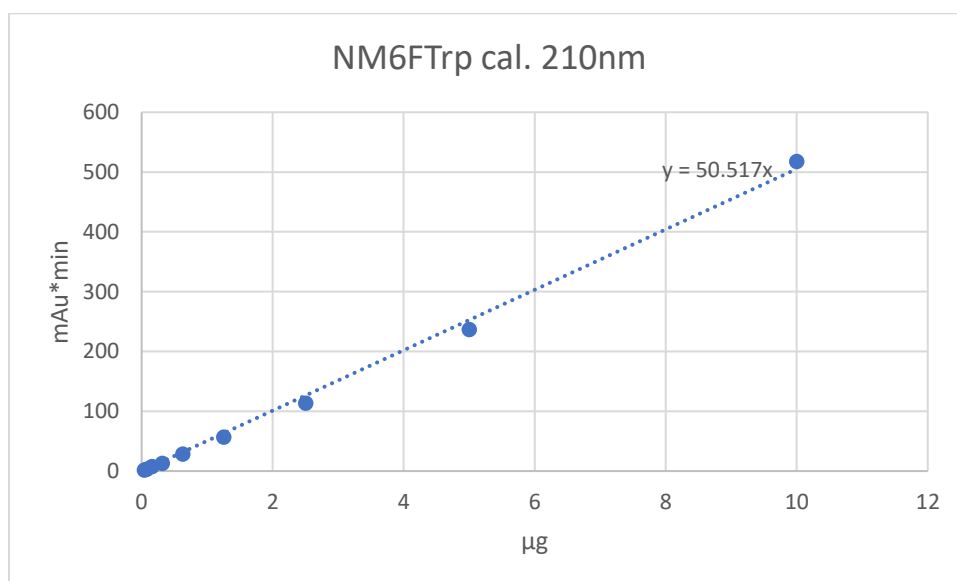
10 mm (Supelco Analytical) equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); eluent: 70% MeOH (0.02% formic acid); flow rate: 3 mL/min.)



HPLC chromatogram showing radioactive signal for isolated (*S*)-*N*-methyl-6-<sup>18</sup>F]fluorotryptophan. (Column: Astec Chirobiotic T, 5 μm, 250 × 10 mm (Supelco Analytical), equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); eluent: 70% MeOH (0.02% formic acid); flow rate: 3 mL/min.)



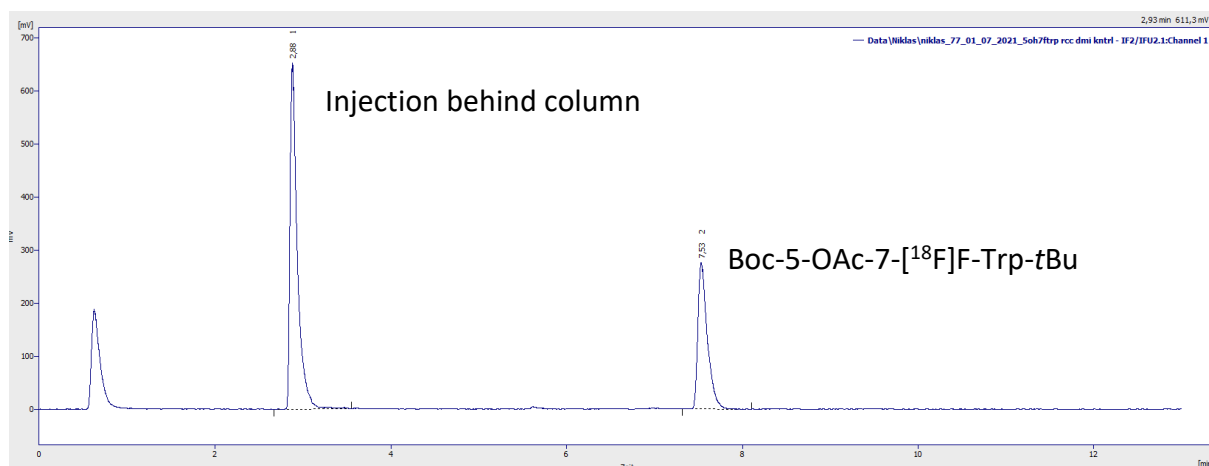
Overlay of UV and radioactivity channels for the enantiomers of *N*-methyl-6-fluorotryptophan (UV-Channel) and isolated (*S*)-*N*-methyl-6-<sup>18</sup>F-fluorotryptophan. Determined via co-injection of isolated tracer and reference structure. (Column: Astec Chirobiotic T, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  10 mm (Supelco Analytical), equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); eluent: 70% MeOH (0.02% formic acid); flow rate: 3 mL/min.)



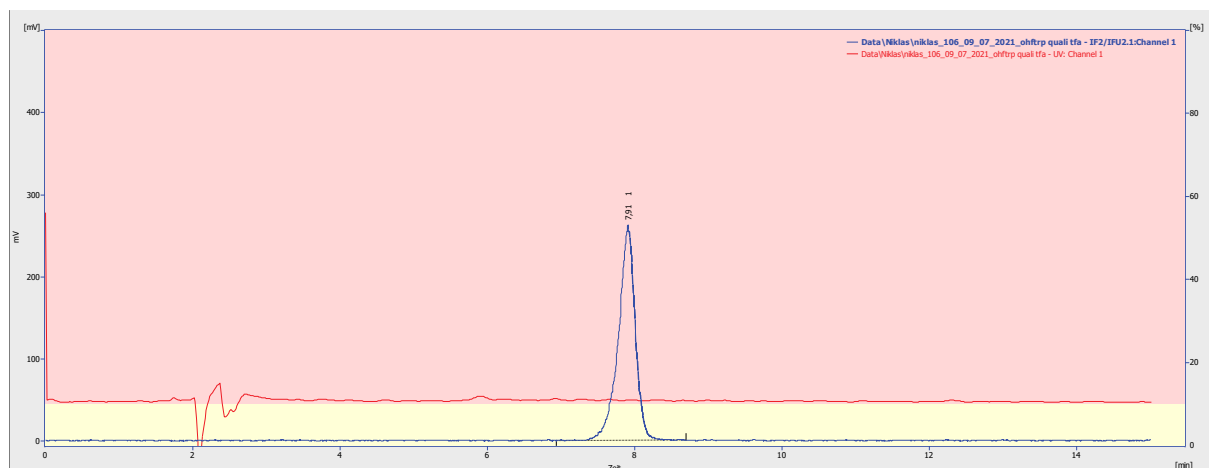
Calibration for the determination of molar activity at 210 nm using *N*-methyl-6-fluorotryptophan. (Column: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu$ m, 80 Å, 250  $\times$  4.6 mm, equipped with the

appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 20% MeCN (0.1% TFA); flow rate: 1 mL/min.)

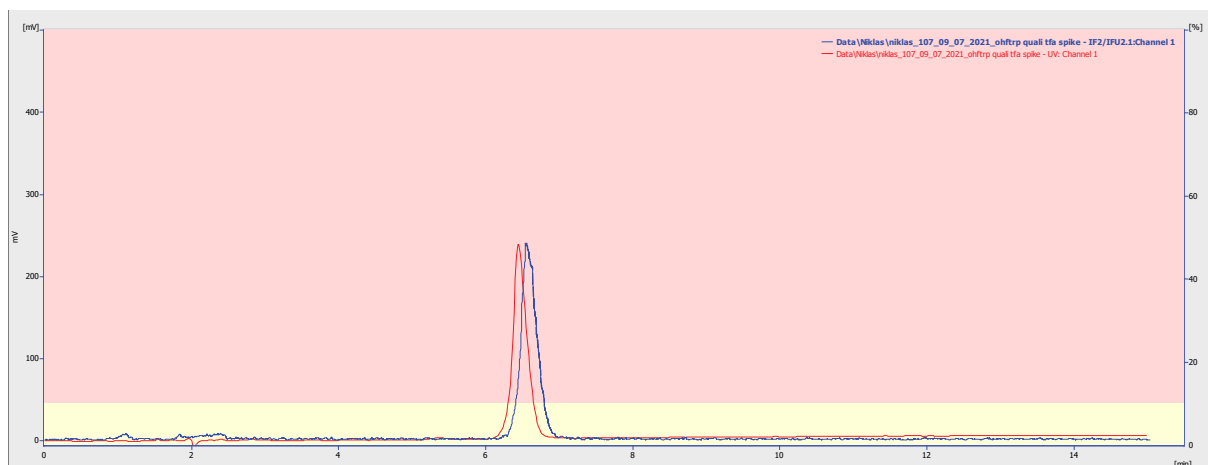
### 3.2.2. Chromatograms and calibration curve for (S)-5-hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluorotryptophan



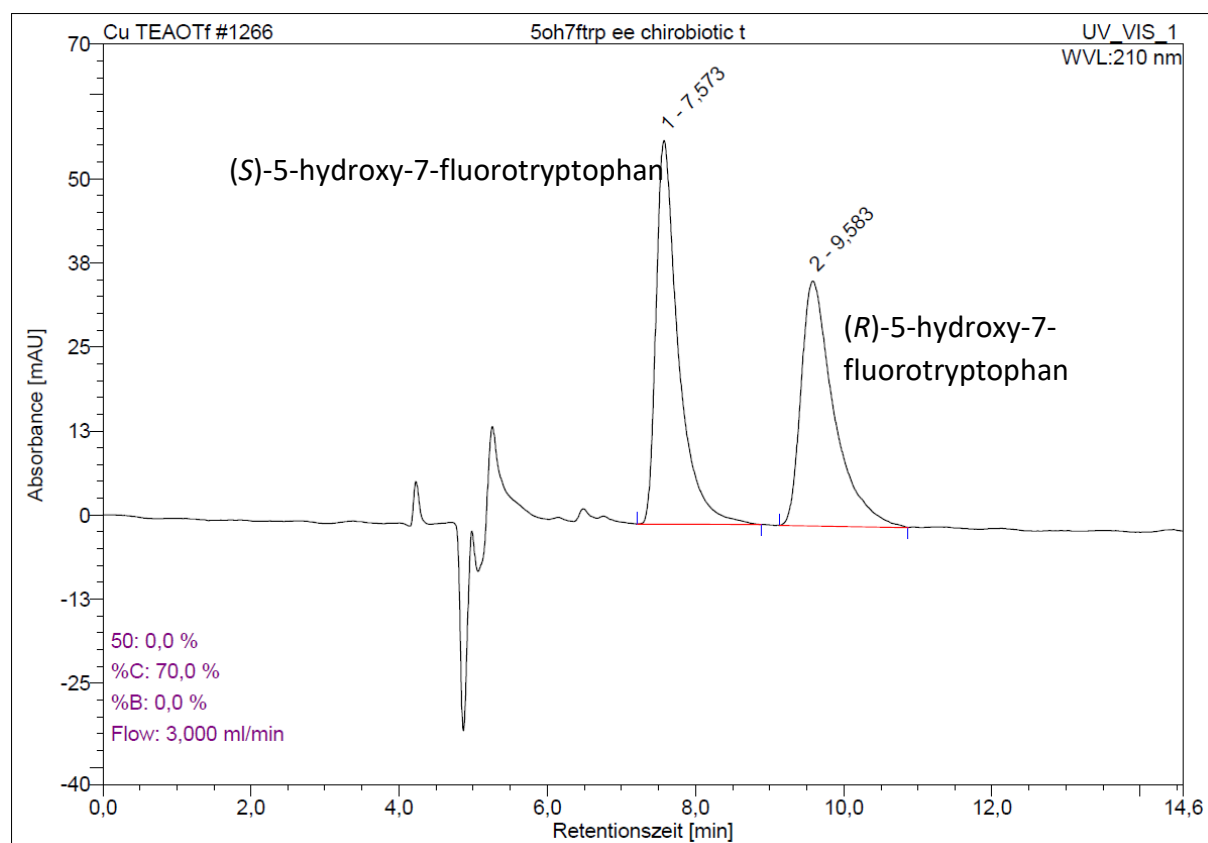
HPLC chromatogram of the radiolabeled intermediate Boc-5-OAc-7-[<sup>18</sup>F]F-Trp-tBu compared against an injection of reaction mixture behind the column to determine conversion of precursor (RCC).



HPLC chromatogram of the isolated tracer to determine chemical and radiochemical purity. (Column: Synergi Hydro-RP, 4 μm, 80 Å, 250 × 4.6, mm equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 10% MeCN (0.1% TFA); flow rate: 1.5 mL/min.)

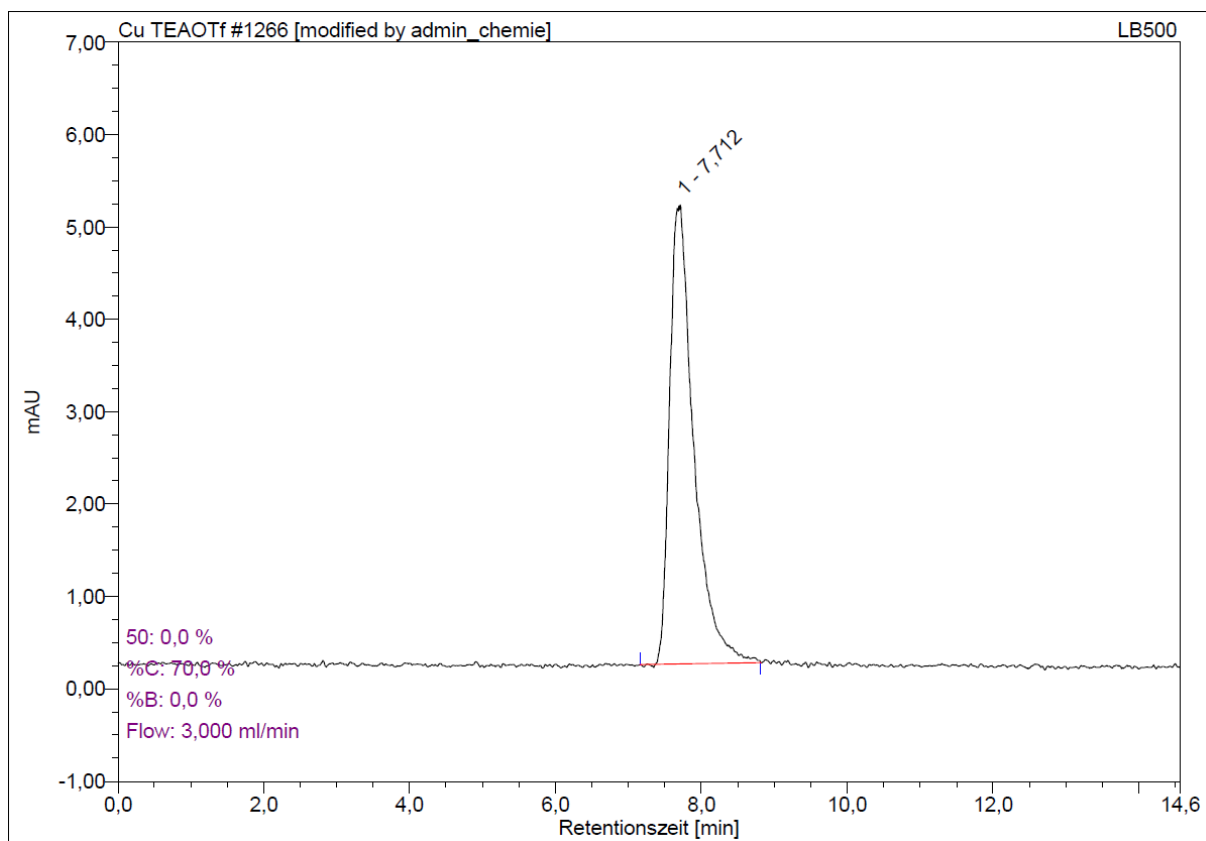


HPLC chromatogram of the isolated tracer co-injected with the genuine reference structure to determine chemical identity. Radioactive signal and radiosynthetic product peak shown in blue. UV signal and reference structure shown in red. (Column: Synergi Hydro-RP, 4  $\mu\text{m}$ , 80  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  4.6 mm, equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 10% MeCN (0.1% TFA); flow rate: 1.5 mL/min.)

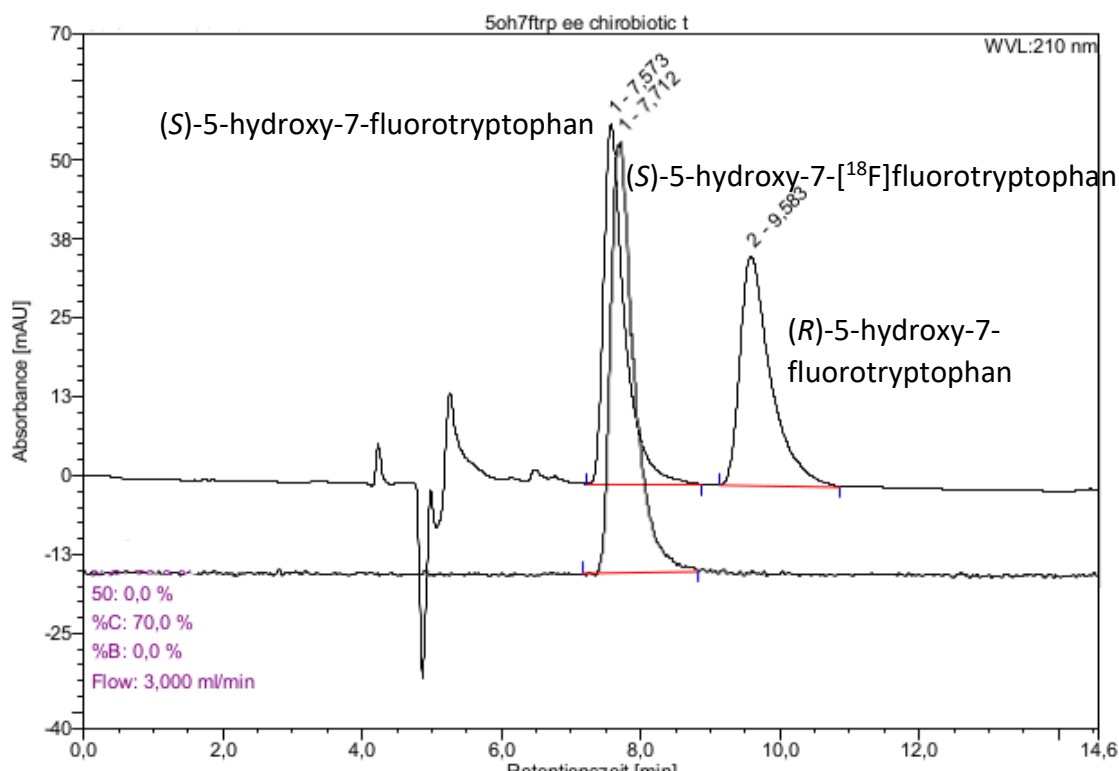


HPLC chromatogram showing signals in the UV channel for the enantiomers of genuine reference structure 5-hydroxy-7-fluorotryptophan. (Column: Astec Chirobiotic T, 5  $\mu\text{m}$ , 250  $\times$  10 mm (Supelco Analytical), equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); eluent: 70% MeOH (0.02% formic acid); flow rate: 3 mL/min.)

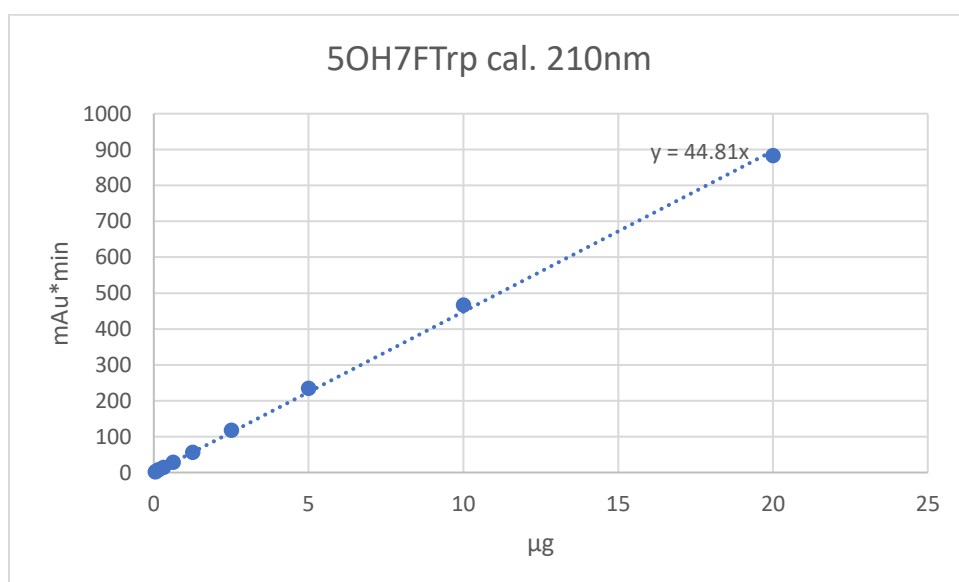




HPLC chromatogram showing radioactive signal for isolated (*S*)-5-hydroxy-7-<sup>[18F]</sup>fluorotryptophan. (Column: Astec Chirobiotic T, 5  $\mu$ m, 250  $\times$  10 mm (Supelco Analytical) equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2  $\times$  3 mm); eluent: 70% MeOH (0.02% formic acid); flow rate: 3 mL/min.)



Overlay of UV and radioactivity channels for the enantiomers of 5-hydroxy-7-fluorotryptophan (UV-Channel) and isolated (*S*)-5-hydroxy-7-[<sup>18</sup>F]fluorotryptophan. Determined via co-injection of isolated tracer and reference structure. (Column: Astec Chirobiotic T, 5 μm, 250 × 10 mm (Supelco Analytical), equipped with the appropriate SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm); eluent: 70% MeOH (0.02% formic acid); flow rate: 3 mL/min.)



Calibration for determination of molar activity at 210 nm using 5-hydroxy-7-fluorotryptophan. (Column: Synergi Hydro-RP, 4 μm, 80 Å, 250 × 4.6 mm, equipped with the appropriate

SecurityGuard™ cartridge (2 × 3 mm) (Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); eluent: 10% MeCN (0.1% TFA); flow rate: 1.5 mL/min.)

## References:

- [1] M. Schlosser, A. Ginanneschi, F. Leroux, *European Journal of Chemistry* **2006**, *2006*, 2956-2969.
- [2] M. Somei, K. Kizu, M. Kunimoto, F. Yamada, *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* **1985**, *33*, 3696-3708.
- [3] C. Lutz, W. Simon, S. Werner-Simon, C. Müller, T. Hechler, M. Kulke, (Ed.: E. P. Office), HEIDELBERG PHARMA RESEARCH GMBH, Germany, **2019**.
- [4] V. V. Orlovskaya, D. J. Modemann, O. F. Kuznetsova, O. S. Fedorova, E. A. Urusova, N. Kolks, B. Neumaier, R. N. Krasikova, B. D. Zlatopolskiy, **2019**, *24*, 3197.
- [5] B. B. Lohray, V. Bhushan, B. P. Rao, G. R. Madhavan, N. Murali, K. N. Rao, A. K. Reddy, B. M. Rajesh, P. G. Reddy, R. Chakrabarti, R. K. Vikramadithyan, R. Rajagopalan, R. N. V. S. Mamidi, H. K. Jajoo, S. Subramaniam, *Journal of Medicinal Chemistry* **1998**, *41*, 1619-1630.
- [6] T. Ishiyama, K. Ishida, N. Miyaura, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9813-9816.
- [7] Y. N. Belokon, A. G. Bulychev, S. V. Vitt, Y. T. Struchkov, A. S. Batsanov, T. V. Timofeeva, V. A. Tsyryapkin, M. G. Ryzhov, L. A. Lysova, *Journal of the American Chemical Society* **1985**, *107*, 4252-4259.
- [8] D. J. Modemann, B. D. Zlatopolskiy, E. A. Urusova, J. Zischler, A. Craig, J. Ermert, M. Guliyev, H. Endepols, B. Neumaier, *Synthesis* **2019**, *51*, 664-676.