

# Trifluorimetyyliryhmä lääkekemiassa ja radiokemian sovellutukset

Edla Kerminen

Pro Gradu -tutkielma

Radiofarmaseuttinen kemia

Kemian laitos

Turun yliopisto

Kesäkuu 2022

*Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.*

TURUN YLIOPISTO

Kemian laitos

KERMINEN EDLA: Trifluorimetyyliryhmä lääkekemiassa ja radiokemian sovellutukset

Pro Gradu – tutkielma, 31 s.

Kesäkuu 2022

---

Trifluorimetyyliryhmä on tärkeä ja paljon käytetty ryhmä lääkekehityksessä. Ryhmän substituutiolla lääkeainemolekyylisiin voidaan vaikuttaa esimerkiksi lääkeaineen liukoisuuteen, soluläpäisevyyteen sekä sitoutumiseen proteiineihin. Yhdistettynä aromaattiseen renkaaseen ovat nämä keskeisiä rakenteita bioaktiivisten yhdisteiden kehityksessä. Lääkeaineen ominaisuuksien parantamisen lisäksi tarjoaa trifluorimetyyliryhmä mahdollisen paikan  $^{18}\text{F}$ -leimalle.

$^{18}\text{F}$ -trifluorimetyyliryhmän leimauskemiaa on tutkittu jo PET-kemian alkuvaiheista lähtien. Menetelmät ovat keskittyneet pitkään isotooppivaihto- sekä halogeenin vaihtoreaktioihin. Leimausreaktiot kuitenkin kärsivät rajuista reaktio-olosuhteista, keskinkertaisista radiokemiallisista saannoista sekä matalista molaarisista aktiivisuuksista. Nämä rajoittavat  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetyyliryhmän sisältävien merkkiaineiden käyttöä PET-kuvantamisessa.

Nykyään tutkimus keskittyy kuparivälitteiseen  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatioon, joka on tarjonnut mahdollisuuden suoraviivaiseen ja nopeaan leimausreaktioon paremmilla radiokemiallisilla sannoilla sekä molaarisilla aktiivisuuksilla. Myös elektrofiilinen leimauskemia on nostanut päätään aromaattisten yhdisteiden  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatioiden suhteen katalysoitu dekarboksalytiivisen  $^{18}\text{F}$ -fluorauksen kautta.

Tässä tutkimuksessa valmistettiin kuparivälitteistä  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatiota varten lähtöaine  $(3R,5R)$ -5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-oni. Työssä valmistettiin [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaania, jonka oli tarkoituksena reagoida kuparin kanssa muodostaen [ $^{18}\text{F}$ ]CuCF<sub>3</sub>. Lähtöaineen ja [ $^{18}\text{F}$ ]CuCF<sub>3</sub>:n reaktion piti tuottaa haluttu leimaustuote.  $(3R,5R)$ -5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-onin kuparivälitteinen  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatio ei onnistunut.

Avainsanat: positroniemissiotomografia, trifluorimetyyliryhmä, fluori-18, kuparivälitteinen  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatio

## Sisällysluettelo

1. Johdanto	1
1.1. Fluori	1
1.2. PET	1
1.2.1 Merkkiaineiden vaatimukset PET-kuvantamisessa	2
1.2.2 Fluori-18	3
1.2.3. F-18 tuotanto	4
1.3 CF <sub>3</sub> -ryhmä	4
1.3.1 Leimausreaktiot	6
1.4. Nukleofiiliset reaktiot	7
1.4.1. Isotooppivaihtoreaktio	8
1.4.2 Halex-reaktiot	9
1.4.3 Siirtymämetallivälitteinen (CuCF <sub>3</sub> ) välitteinen ristikytke	12
1.5 Elektrofiilinen <sup>18</sup> F-leimaus	17
1.5.1 Katalysoitu dekarboksalytiivinen fluoraus	17
2. Tutkimusosuus	18
2.1 Työntarkoitus	18
2.2 Materiaalit ja menetelmät	19
2.2.1 Materiaalit ja kemikaalit	19
2.2.2 Menetelmät	19
2.3 Lähtöaineiden valmistus	19
2.3.1 5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli) -3-((4-jodifenyyli)-amino)-1,5-dihydro-2H-pyrroli-2-onin ( <b>2</b> ) valmistus	20
2.3.2 5-(3-fluorifenyyli) -1-(4-jodifenyyli)-pyrollidiini-2,3-dionin ( <b>3</b> ) valmistus	21
2.3.3 (R)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((R)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2H-pyrrol-2-onin ( <b>4</b> ) ja (S)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((R)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2H-pyrrol-2-onin ( <b>5</b> ) valmistus	21

2.3.4(3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> )-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-((( <i>R</i> )-1-fenyylietyyli)amino)-pyrrolidin-2-onin ( <b>6</b> ) ja (3 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-((( <i>R</i> )-1-fenyylietyyli)amino)-pyrrolidin-2-onin ( <b>7</b> ) valmistus	22
2.4 Radiokemian yleiset menetelmät	23
2.4.1 [ <sup>18</sup> F]fluoridin tuotanto	23
2.4.2 [ <sup>18</sup> F]trifluorometaanin ([ <sup>18</sup> F]HCF <sub>3</sub> ) synteesi	23
2.4.1.1 [ <sup>18</sup> F]HCF <sub>3</sub> valmistus - atseotrooppinen tislauk	24
2.4.1.2 [ <sup>18</sup> F]HCF <sub>3</sub> valmistus - kiinteäfaasiuutto	24
2.4.2 [ <sup>18</sup> F] <b>6</b> :n radiosynteesi	25
2.4.3 [ <sup>18</sup> F]trifluorimetyyaniliinin radiosynteesi “one-pot”-menetelmällä	25
2.4.4 Tulokset	25
3. Johtopäätökset	26
4. Viiteluettelo	27
5. Liitteet	1

## Lyhenneluettelo

[ <sup>18</sup> F]HCF <sub>3</sub>	[ <sup>18</sup> F]trifluorimetaani
18-kruunu-6	kruunueetteri
ADME	Imeytymisen, jakautuminen, aineenvaihdunta ja erittyminen; absorption, distribution, metabolism, excretion
AgNO <sub>3</sub>	Hopeanitraatti
Am	Molaarinen aktiivisuus
BBB	Veriaivoeste; Blood Brain Barrier
c.a	Kantaja lisätty; Carrier Added
CuI	Kuparijodidi
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylietyyliamiini
DMF	Dimetyyliformamidi
DMT	Dimetoksitrietyyli
DMSO	Dimetyylisulfoksidi
EtOAc	Etyyliasettaatti
GABA	gamma-aminovoihappo
GC	Kaasukromatografia
HCl	Vetykloridi
HF	Vetyfluoridi
HPLC	Korkean erotuskyvyn nestekromatografia; High-performance Liquid Chromatography
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Kaliumkarbonaatti
KOtBu	Kalium <i>tert</i> -butoksidi
Kryptofix®2.2.2	4,7,13,16,21,24-Heksaoksa-1,10- diatsabisyklo[8.8.8]heksakosaani
log P	Jakaantumiskerroin

MeCN	Asetonitriili
n.c.a	Ei-kantajalisätty, Non-carrier Added
NaCl	Natriumkloridi
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumvetykarbonaatti
NaI	Natriumjodidi
NMR	Ydinmagneettinen resonanssi, Nuclear Magnetic Resonance
PET	Positroniemissiotomografia
pK <sub>a</sub>	Happovakio
RCY	Radiokemiallinen saanto; Radiochemical Yield
SPE	Kiinteäfaasiuutto
TBAF	Tetra-N-butyylammoniumfluoridi
TFA	Trifluorietikkahappo; Trifluoroacetic Acid
TFM	Trifluorimetyyli
THF	Tetrahydrofuraani
TLC	Ohutlevykromatografia; Thin Layer Chromatography
TMEDA	Tetrametyylietyleenidiamiini

# 1. Johdanto

## 1.1. Fluori

Fluori on alkuaine, jolla on suuri rooli lääkekehityksessä sekä lääkeainekemiassa. Markkinoilla olevista lääkkeistä 20-25 % sisältää vähintään yhden fluoriatomin<sup>1</sup>. Fluoriatomi on kooltaan hyvin pieni, sen van der Waalsin säde on 1,47 Å. Vedyn van der Waalsin säde on 1,20 Å ja hapen 1,52 Å (Taulukko 1). Fluoriatomilla on mahdollista korvata esimerkiksi vety tai hydroksyyli-ryhmä. Fluorin pienestä koosta johtuen vedyn tai hydroksyyli-ryhmän korvaus ei aiheuta stereisiä muutoksia molekyyli-ssä. Fluori on samalla, vety ja sen isotoopit poissulkien, pienin orgaanisen kemian substituentti.

Fluorin elektronegatiivisuus on Paulingin asteikolla 3,98, mikä tekee siitä elektronegatiivisimman alkuaineen. Vapana alkuaineena fluori esiintyy F<sub>2</sub>-kaasuna ollen myös pienin, mutta reaktiivisin halogeeni. Korkea reaktiivisuus johtuu heikosta F-F sidoksesta (159 kJ/mol). Fluorilla on kuitenkin kyky muodostaa erittäin vahvoja sidoksia muiden atomien kanssa, esimerkiksi C-F sidos on 536 kJ/mol. Fluori voi reagoida kaikkien alkuaineiden kanssa, lukuun ottamatta kevyitä jalokaasuja heliumia ja neonia.<sup>2</sup> Elektronegatiivisuutensa vuoksi fluorisubstituutio voi muuttaa molekyylin fysiokemiallisia ominaisuuksia esimerkiksi lisäämällä lipofiilisyyttä tai laskemalla lääkemolekyylin happovakiota (pKa).<sup>1,2</sup>

**Taulukko 1.** Joidenkin yleisimpien alkuaineiden van der Waalsin säteet, Paulingin elektronegatiivisuudet sekä sidospituudet ja -voimakkuudet hiilen kanssa.<sup>1</sup>

	van der Waals säde (Å)	Paulingin elektronegatiivisuus	Sidos pituus C-X (Å)	Sidos voimakkuus C-X (kJ/mol)
C	1,70	2,55	1,54	348
H	1,20	2,20	1,09	413
F	1,47	3,98	1,35	536
O	1,52	3,44	1,43	358
N	1,55	3,04	1,47	292
Br	1,85	3,0	1,82	275

## 1.2. PET

Positroniemissiotomografia (PET) on kajoamaton, toiminnallinen ja erittäin herkkä molekulaarinen kuvantamismenetelmä, jota käytetään ihmisen fysiologisten prosessien kuvantamiseen. PET-kuvantamista voidaan hyödyntää esimerkiksi monien aivosairauksien, kuten neurodegeneratiivisten sairauksien, infektioiden ja psykiatristen

sairauksien patofysiologian sekä normaalien aivojen neurofysiologian tutkimuksessa. PET-kuvantaminen hyödyntää lyhytikäisiä positronisäteiljaita, jotka liitetään biologisesti aktiiviseen molekyyliin. PET on tähänastisista *in vivo*-kuvantamismenetelmistä herkin, mikä mahdollistaa merkkiaineiden annostuksen pieninä määrinä ( $\mu\text{g-ng}$ ) aiheuttamatta fysiologisia tai farmakologisia vaikutuksia. Jotta PET-kuvantamisella saadaan laadukkaita kuvia, on merkkiaineilla vaatimuksia, jotka niiden on täytettävä.<sup>3</sup>

### 1.2.1 Merkkiaineiden vaatimukset PET-kuvantamisessa

PET-merkkiaineen tulisi olla kohdespesifinen sekä sitoutua selektiivisesti kohteeseensa. Sitoutumisen kohteeseen tulisi tapahtua korkealla affiniteetilla, varsinkin jos kuvannettavaa kohdetta, kuten reseptoreita on vähän. Keskushermoston kuvantamiseen käytettyjen merkkiaineiden tulee ylittää veriaivoeste (BBB). Tällöin merkkiaineen lipofiilisyys sekä molekyylipaino ovat merkittävässä asemassa. Yleisimmin lipofiilisyys ilmaistaan jakaantumiskertoimena ( $\log P$ ) oktanolin ja veden välillä. Lipofiilisimmät yhdisteet jakaantuvat oktanolikerrokseen ja vähiten lipofiiliset yhdisteet vesikerrokseen.<sup>4</sup> Liian korkea ja liian alhainen lipofiilisyys estää BBB ylityksen, minkä vuoksi  $\log P$ -arvon tulisi olla 1,4-5. Molekyylipainon tulisi olla 400–600 Da, jotta BBB ylitys on tehokasta.<sup>5</sup> Optimaalinen merkkiaine ylittää BBB, sitoutuu spesifisesti vain kohteena oleviin reseptoreihin, jolloin muun kehon saama säteilyannos säilyy minimissä ja PET-kuva on tarkka.<sup>6</sup>

Molaarinen aktiivisuus ( $A_m$ ) on tärkeä tekijä PET-kuvantamisessa. Molaarinen aktiivisuus tarkoittaa radioaktiivisuuden suhdetta ainemäärään ( $\text{Bq/mol}$  tai  $\text{GBq}/\mu\text{mol}$ ). Molaarinen aktiivisuus ei ole vakio vaan se muuttuu ajan kuluessa, sillä radioaktiivisuuden puoliintuessa aktiivisuuden määrä laskee. Käytettäessä bioaktiivisia tai toksisia merkkiaineita, on merkkiaineen korkea molaarinen aktiivisuus välttämätöntä. Liian suuri määrä ei-radioaktiivista yhdistettä saattaa aiheuttaa farmakologisia tai toksisia vaikutuksia. Korkea molaarinen aktiivisuus on myös tärkeää kuvannettaessa matalalla tiheydellä esiintyviä kohteita kuten reseptoreita. Ei-radioaktiivinen yhdiste kilpailee radioaktiivisen merkkiaineen kanssa reseptorisitoutumisesta, jolloin ylimääräisen ei-radioaktiivisen yhdisteen sitoutuminen estää merkkiaineen sitoutumista reseptoreihin heikentäen PET-kuvaa. Kuvannettaessa kohteita, joita elimistössä esiintyy korkeina pitoisuuksina, ei korkea molaarinen aktiivisuus ole välttämätöntä. Molaarista aktiivisuutta voidaan parantaa suorittamalla  $^{18}\text{F}$ -fluoraus mahdollisimman myöhään sekä



nopeasti. Myös lisäämällä alkuaktiivisuutta sekä minimoimalla ei-radioaktiivisen nuklidin lähteet voidaan parantaa molaarista aktiivisuutta.<sup>7,8</sup>

### 1.2.2 Fluori-18

Fluori-18 on yksi käytetyimmistä merkkiaineista PET-kuvantamisessa. Fluorin radioaktiivisista isotoopeista  $^{18}\text{F}$  on pitkäikäisin; sen puoliintumisaika on 109,7 min (taulukko 2). Fluori-18 hajoaa 97 %:n todennäköisyydellä positroniemissiona ja 3 %:n todennäköisyydellä elektroninkaappauksella pysyväksi happi-18:ksi. Kun fluori-18 emittoima positroni kohtaa väliaineen elektronin, ne annihiloituvat muodostaen kaksi 511 keV gammakvanttia. Nämä vastakkaisiin suuntiin lähtevät energiakvantit havaitaan PET-kameralla. Fluorin positronienergia on maksimissaan vain 634 keV, minkä vuoksi positroni kulkee *in vivo* hyvin lyhyen matkan ennen annihiloitumista. Tästä seurauksena on korkea paikkaresoluutio.

Fluori-18 ominaisuudet ovat sopivat merkkiainekehitykseen ja se onkin laajasti käytetty radionuklidi PET-merkkiaineiden kehityksessä. Alhainen positronienergiamaksimi mahdollistaa matalan tiheyden proteiinien kuvantamisen.  $\beta^+$ -emissio on ainut hajoamistyyppi, jota voidaan hyödyntää PET-kuvantamisessa. Tämän vuoksi on edullista, että  $^{18}\text{F}$  hajoaa 97 %:sti positroniemissiolla. Huomattavin ero muihin yleisesti käytössä oleviin PET-radionuklideihin on fluori-18 suhteellisen pitkä puoliintumisaika. Pidempi puoliintumisaika sallii useampi vaiheisia synteesejä, pidennettyjä kuvantamisprosesseja sekä mahdollistaa sen, ettei fluori-18 ole välttämätöntä tuottaa kuvauspaikalla, vaan fluori-18 voidaan kuljettaa myös kohtuullisia matkoja.<sup>9</sup>

**Taulukko 2.** PET-radionuklidien ominaisuuksia.  $E_{\max}$  on maksimi positronienergia MeV ja  $R_{\text{mean}}$  = kantama vedessä millimetreinä.<sup>10</sup>

Radionuklidi	Tuotantotapa	Puoliintumisaika (min)	$E_{\max}$ (MeV)	Hajoaminen (%)	$R_{\text{mean}}$ (mm)
$^{18}\text{F}$	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$	109,8	0,634	$\beta^+(97)$ EC (3)	0,6
	$^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$				
$^{11}\text{C}$	$^{10}\text{B}(\text{d},\text{n})^{11}\text{C}$	20,4	0,960	$\beta^+(100)$	1,2
	$^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$				
$^{13}\text{N}$	$^{12}\text{C}(\text{d},\text{n})^{13}\text{N}$	9,96	1,199	$\beta^+(100)$	1,8
	$^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$				
$^{15}\text{O}$	$^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$	2,03	1,732	$\beta^+(100)$	3,0
	$^{15}\text{N}(\text{p},\text{n})^{15}\text{O}$				

### 1.2.3. F-18 tuotanto

Fluori-18:n tuottamiseen on useita menetelmiä. Menetelmä riippuu siitä, tuotetaanko  $[^{18}\text{F}]$ fluoridia vai  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ -kaasua.  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  -reaktiota käytetään nukleofiilisen  $[^{18}\text{F}]$ fluoridin ( $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ ) tuottamiseen. Syklotronilla tuotetussa reaktiossa happi-18 rikastettua vettä säteilytetään protonisuihkulla tuottaen  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ :a. Menetelmä on käytännöllinen, sillä syntyvät fluoridi-18 anionit ovat vesiliuoksessa, jota on helppo käsitellä, saanto on korkea eikä reaktioon vaadita korkeaa protonienergiaa ( $< 16$  MeV).<sup>11</sup> Saatu molaarinen aktiivisuus ( $< 5000$  GBq/ $\mu\text{mol}$ ) on myös korkea.<sup>12</sup>

Samalla ydinreaktiolla voidaan tuottaa korkealla molaarisella aktiivisuudella  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  -kaasua käyttämällä Turun PET-keskuksessa Bergman ja Solinin<sup>13</sup> kehittämää ”post-target”-menetelmää. Menetelmässä tuotetaan lähtöaineena korkealla molaarisella aktiivisuudella  $[^{18}\text{F}]$ fluoridia, joka muunnetaan  $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{F}$ :n kautta kaasumaiseksi  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ . Menetelmässä  $^{18}\text{F}$ -anionit ovat ydinreaktion jälkeen vesiliuoksessa. Vesi poistetaan atseotrooppisella tislauksella asetoniitriilin (MeCN) avulla. Jäljelle jää kuiva  $[^{18}\text{F}]$ fluoridi, joka reagoi reaktioastiaan lisätyn  $\text{CH}_3\text{I}$ :n kanssa muodostaen  $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{F}$ :a. Tuote puhdistetaan kaasukromatografisesti (GC). Puhdistettu tuote kerätään ruostumattomasta teräksestä olevaan silmukkaan, joka on nestetyössä ( $-196$  °C). Silmukasta  $[^{18}\text{F}]\text{CH}_3\text{F}$  siirretään  $\text{F}_2$ - ja neon-kaasun avulla reaktiokammioon. Syntynyttä kaasuseosta viritetään korkeajännitteisellä sähköpurkauksella, jossa molekyylien sidokset katkeavat ja muodostuvat purkauksen loputtua uudelleen muodostaen  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ :a. Syntyneen  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$ -kaasun molaarinen aktiivisuus on jopa 55 GBq/ $\mu\text{mol}$  ja sitä voidaan käyttää elektrofiilissä leimausreaktioissa. Nykyään  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  -ydinreaktio on sivuuttanut lähes täysin  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  tuotannon perinteisellä  $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$  -ydinreaktiolla.  $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$  -reaktiossa saatu molaarinen aktiivisuus on huomattavasti matalampi (0,04–0,40 GBq/ $\mu\text{mol}$ )<sup>14</sup> verrattuna  $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$  -reaktiolla saatuun.

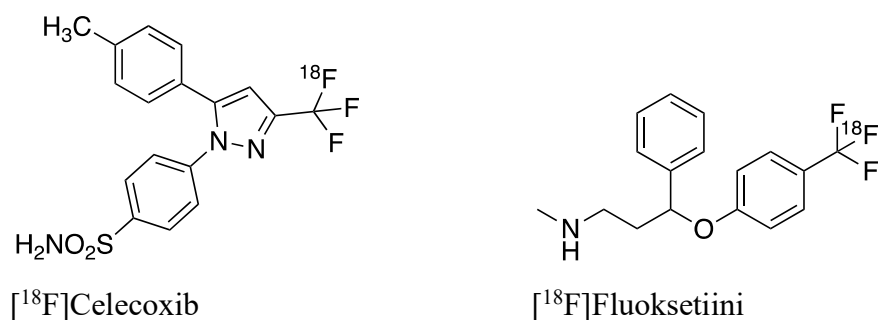
### 1.3 $\text{CF}_3$ -ryhmä

Trifluorimetyyli (TFM) on yksi tärkein lääkekehityksessä käytettävistä ryhmistä. Muodoltaan symmetrinen TFM on hieman isompi kuin isopropyyliryhmä (van der Waalsin säde 2,7 Å) ja se voi toimia jodin, bromin, karbonyyli-, karboksyyli- ja *tert*-butyyli-ryhmän bioisosteerinä. Ryhmän substituutiolla kohde molekyyliin, kuten jo yhdellä fluoriatomilla, on suotuisia vaikutuksia lääkemolekyylin fysikaalisiin ominaisuuksiin sekä biologiseen aktiivisuuteen. TFM:n elektronegatiivisuus on kloorin ja fluorin välillä (3,16–3,98), joka tekee siitä vahvasti elektroneja puoleensavetävän

ryhmän. Vetäessään viereisten funktionaalisten ryhmien elektroneja puoleensa tapahtuu molekyylin elektronitiheydessä muutoksia, jotka vaikuttavat molekyylin  $pK_a$ -arvoon.  $pK_a$  vaikuttaa lääkemolekyylin lipofiilisyyteen pH-riippuvuutensa vuoksi.<sup>15</sup>

Vahvan lipofiilisyytensä vuoksi, TFM-substituutiolla voidaan vaikuttaa suuresti liukoisuuteen, soluläpäisevyyteen sekä sitoutumiseen proteiineihin.<sup>16</sup> Saturoitujen alkyyliryhmien trifluorimetylaatio laskee lipofiilisyyttä ja sen seurauksena heikentää liukoisuutta, soluläpäisevyyttä ja sitoutumista proteiineihin, sillä ryhmä vetää voimakkaasti alkyyliryhmien elektroneja puoleensa.<sup>17</sup> Aromaattisen ryhmän trifluorimetylaatio sen sijaan lisää yhdisteen lipofiilisyyttä. Aromaattisen renkaan 2s- tai 2p-orbitaalien päällekkäisyys fluorin vastaavien orbitaalien kanssa tekee C-F sidoksesta erittäin polarisoimattoman, ja näin lipofiilisemmän.<sup>18</sup> Muutokset  $pK_a$ :ssa ilmenevät myös lääkeaineen tehokkuuden, selektiivisyyden, toksisuuden ja farmakokineettisten ominaisuuksien kuten, imeytymisen, jakautumisen, aineenvaihdunnan ja erittymisen (ADME) muutoksina.<sup>19</sup>

Trifluorimetyyliareenit ovat keskeisiä rakenteita bioaktiivisten yhdisteiden kehittämisessä. Aromaattisissa yhdisteissä TFM-ryhmän tärkein etu on kyky parantaa lääkemolekyylin lipofiilisyyttä ja siten parantaa imeytymisnopeutta sekä kuljetusta BBB:n ylitse.<sup>20</sup> TMF-ryhmän substituutio PET-merkkiaineessa tarjoaa tehostuneen kuljetuksen aivoihin sekä paikan  $^{18}\text{F}$ -leimalle.<sup>19</sup> Radioaktiivisen isotoopin kemialliset ominaisuudet ovat samat kuin stabiilin  $^{19}\text{F}$ , jolloin  $[\text{F}^{18}]\text{CF}_3$ :n ominaisuudet sekä vaikutukset molekyyliin ovat samat kuin ei-radioaktiivisella TFM:llä. Orgaanisesta kemiasta tutut trifluorimetylointireaktiot ovat kuitenkin heikosti siirrettävissä radiokemiaan. Pitkät, monivaiheiset sekä heikosti automatisointiin soveltuvat synteesimenetelmät luovat tarpeen radiokemiaan uusille areenien  $[\text{F}^{18}]$ trifluorimetylointireaktioille.<sup>21</sup> Tästä huolimatta on kaupallisesti saatavilla muutamia  $[\text{F}^{18}]$ trifluorimetyloituja PET-merkkiaineita, kuten COX-2-estäjä  $[\text{F}^{18}]$ Celecoxib<sup>22</sup> ja  $[\text{F}^{18}]$ Fluoksetiini<sup>23</sup>, jota käytetään serotoniinin sisäänoton kuvantamiseen. (Kuva 1).

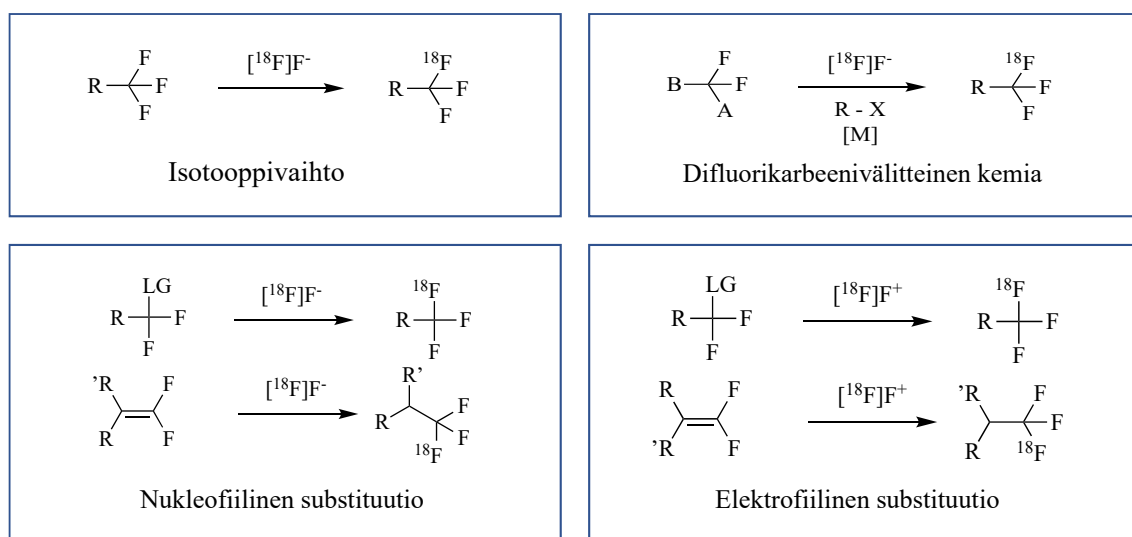


**Kuva 1.** Käytössä olevia  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetyloituja PET-merkkiaineita<sup>22,23</sup>

### 1.3.1 Leimausreaktiot

Trifluorimetyyliareenien potentiaalista huolimatta, substituutiolta puuttuu yleinen leimausmenetelmä. TFM-ryhmän leimaamista on kuitenkin tutkittu niin nukleofiilisillä kuin elektrofiilisillä leimausmenetelmillä PET-kemian kehityksen alkuvaiheista lähtien. Verrattaessa yleisesti käytettyihin  $^{18}\text{F}$ -radiokemian menetelmiin, kuten alifaattisiin ja aromaattisiin nukleofiilisiin radiofluorauksiin, ovat  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetylaatioreaktiot kuitenkin suhteellisen vähän tutkittuja.<sup>24</sup> Muutamia  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetylaatioreaktioita on julkaistu sekä alkyyli- että aryyli-yhdisteille, mutta ne ovat hyvin kaukana optimaalisista leimausreaktioista. Suurimpana haasteena on leimausreaktioissa tapahtuva isotooppinen laimentuminen fluori-19:sta ja fluori-18:sta välillä. Tästä syystä uusien  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetylointi menetelmien kehittäminen tähtääkin ensisijaisesti korkeaan molaariseen aktiivisuuteen kohtuullisilla radiokemiallisilla saannoilla.<sup>24</sup>

Pääasiassa tällä hetkellä on neljä menetelmää, joilla voidaan valmistaa  $[^{18}\text{F}]$ CF<sub>3</sub>-ryhmiä (kuva 2).<sup>24</sup>



**Kuva 2.** Leimausmenetelmät  $[^{18}\text{F}]$ CF<sub>3</sub>-ryhmille.

#### 1.4. Nukleofiiliset reaktiot

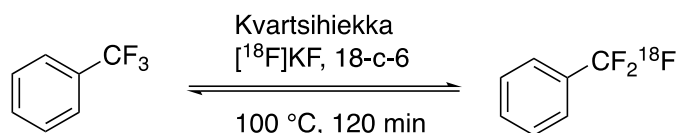
Nukleofiilisessa radiofluorauksessa lähtöaine reagoi  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  kanssa tuottaen halutun leimaustuotteen.  $[^{18}\text{F}]\text{fluoridi}$  on aluksi vesiliuoksessa, johtuen säteilytyksessä käytetyssä  $^{18}\text{O}$ -vedestä.  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  täytyy kuivata, sillä vesi- ja fluoridi muodostavat vetysidoksia, mikä inaktivoi  $[^{18}\text{F}]\text{fluoridin}$ .<sup>9</sup>  $[^{18}\text{F}]\text{fluoridin}$  kuivaus tapahtuu kiinteäfaasiuutolla (SPE), atseotrooppisella tislauksella tai näiden kahden yhdistelmällä. Atseotrooppisessa tislauksessa vesi haihdutetaan asetonitriilin avulla pois. SPE-menetelmä perustuu anioninvaihtopatruunan käyttöön, jonne  $[^{18}\text{F}]\text{fluoridi}$  kerätään. Vesi poistetaan kuivalla orgaanisella liuottimella esimerkiksi asetonitriilillä. Vedetön ja nukleofiilinen  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  eluoidaan patruunasta emäksisellä tai neutraaleja anioneja sisältävällä liuoksella.<sup>25</sup> Eluointi-liuos sisältää vastaionin sekä faasinsiirtokatalyytin. Vastaioneina käytetään yleensä alkalimetallikationeja, kuten kaliumia, cesiumia tai rubidiumia.  $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$  sitoutuu käytettyyn alkalimetalliin. Alkalimetallikationi kompleksoituu faasinvaihtokatalyytin, kuten 4,7,13,16,21,24-heksaoksa-1,10-diatsabisyklo(8,8,8)heksakosaanin (Kryptofix<sub>222</sub>)<sup>26</sup> tai kruunueetterin (18-kruunu-6)<sup>27</sup> kanssa. Kryptofix<sub>222</sub> ja 18-kruunu-6 käytetään lisäämään  $[^{18}\text{F}]\text{fluoridin}$  liukoisuutta epäorgaanisissa liuottimissa, sillä leimausreaktiot suoritetaan pääasiassa dipolaarisissa aproottisissa liuottimissa, kuten dimetyylisulfoksidissa (DMSO), asetonitriilissä tai dimetyyliformamidissa (DMF).<sup>26,27</sup>

Nukleofiilisiä radiofluorauksia käytetään alifaattisissa ja aromaattisissa substituutioreaktioissa. Alifaattisten yhdisteiden leimaus tapahtuu  $\text{S}_{\text{N}}2$ -mekanismilla, jolloin lähtevänä ryhmänä on usein kloori, bromi, jodi, tosylaatit, nosylaatit tai sulfonaatit. Reaktio-olosuhteet ovat emäksiset, minkä vuoksi reaktioissa tapahtuu ei-toivottua eliminaatioreaktiota. Kilpaileva reaktio laskee reaktion radiokemiallista saantoa (RCY). Aromaattisten yhdisteiden leimaus tapahtuu  $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -mekanismilla. Aromaattisessa renkaassa tulee olla *orto*- tai *para*-asemassa lähtevään ryhmään nähden elektroneja puoleensavetävä ryhmä, kuten  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{CN}$ -, tai  $-\text{CHO}$  -ryhmä. Nukleofiilinen leimauskemia on suosituin  $[^{18}\text{F}]\text{CF}_3$ -ryhmien syntetisoimiseksi, sillä  $^{18}\text{F}$ -fluoraus on kantajalisäämätön (n.c.a). Tämän ansiosta nukleofiilisellä leimauskemialla on mahdollista saavuttaa korkeita molaarisia aktiivisuuksia.  $[^{18}\text{F}]\text{trifluorimetylaattien}$  tapauksessa, yhtenä haasteena on kuitenkin sellaisten lähtöaineiden kehitys, joita voidaan käyttää nukleofiilisissä leimausreaktioissa.<sup>24</sup>

### 1.4.1. Isotooppivaihtoreaktio

Isotooppivaihtoreaktio ( $^{19}\text{F}/^{18}\text{F}$ ) perustuu stabiilin fluori-19 korvaamiseen radioaktiivisella fluori-18. Monien TFM-ryhmien sisältävien lääkkeiden ja kemikaalien kaupallinen saatavuus mahdollistaa laajan lähtöainekirjon sekä yhdisteiden [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetylaation, joita ei muilla menetelmillä ole mahdollista saavuttaa. Leimausreaktiossa on kuitenkin katkaistava vahva C-F-sidos, mikä vaatii rajuja reaktioolosuhteita, kuten korkeita lämpötiloja ja pitkiä reaktioaikoja. Molekyylin muut funktionaaliset ryhmät saattavat hajota rajujen olosuhteiden vuoksi. Tämä rajoittaa menetelmän käyttöä. Rajoituksista huolimatta, reaktio sietää hieman veden läsnäoloa, minkä vuoksi synteesimenetelmä ei ole täysin pois suljettu.<sup>24</sup>

Ensimmäisen [ $^{18}\text{F}$ ]CF<sub>3</sub>-ryhmän sisältävän yhdisteen syntetisoi isotooppivaihtoreaktiolla Ido ym. vuonna 1979.<sup>21,24,14</sup> Menetelmässä  $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoritolueeni, [ $^{18}\text{F}$ ]KF ja 18-kruunu-6 reagoivat kahden tunnin ajan bentseenissä 100 °C:ssa muodostaen  $\alpha,\alpha,\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]trifluoritolueenia (kuva 3). Menetelmän toistettavuus oli heikko ja radiokemiallinen saanto matala (0,5-13 %). Lisäksi tuotteen molaarinen aktiivisuus oli matala, sillä vain murto-osa tuotteesta sisälsi  $^{18}\text{F}$ -leiman.



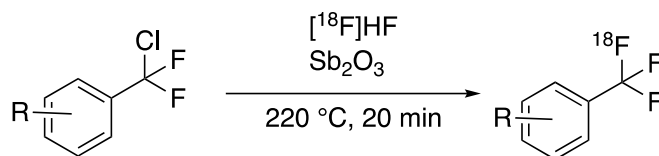
**Kuva 3.** Isotoopinvaihtoreaktio.<sup>21,24,14</sup>

Matalan molaarisen aktiivisuuden vuoksi isotooppivaihtoreaktiolla tuotettuja merkkiaineita ei voida hyödyntää keskushermoston kuvantamisessa. Isotooppivaihtoreaktiot ovat kuitenkin luotettava tapa leimata di- ja trifluorattuja hiilikeskuksia. Fyysisten ja aineenvaihdunnallisten prosessien *in vivo* -kuvantaminen ei välttämättä vaadi korkeaa molaarista aktiivisuutta. Tämän vuoksi isotooppivaihtoreaktiolla leimattuja [ $^{18}\text{F}$ ]CF<sub>3</sub>-ryhmän sisältäviä matalan A<sub>m</sub>:n merkkiaineita on käytetty fyysisten ja metabolisten prosessien tutkimiseen.<sup>21</sup>

## 1.4.2 Halex-reaktiot

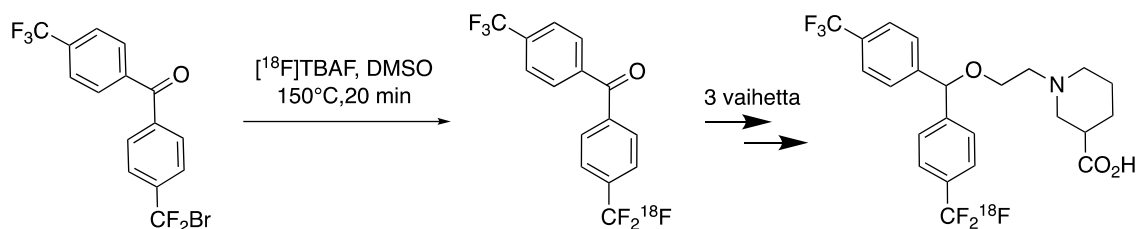
Halogeeninvaihto- eli halex-reaktiossa halogeeniatomi toimii lähtevänä ryhmänä  $\text{Ar-F}_2\text{X}$  ( $\text{X}=\text{Cl}$  tai  $\text{Br}$ ) yhdisteissä. Kloorilla tai bromilla sisältävien aryylidifluorimetyleenien reaktiivisuus on melko huono johtuen kahdesta  $\alpha$ -fluorista.  $\alpha$ -fluorit estävä  $^{18}\text{F}$ fluoridia syrjäyttämästä halidin.<sup>29</sup> Tämän vuoksi reaktiot vaativat melko ankaria reaktioolosuhteita, kuten syövyttäviä reagensseja tai korkeita lämpötiloja.<sup>21,24,14,28</sup> Kloorin toimiessa lähtevänä ryhmänä, reaktio vaatii jopa  $220\text{ }^\circ\text{C}$  lämpötilan.<sup>28</sup>

Isotooppivaihtoreaktion pohjalta Angelini et al.<sup>28</sup> tutkivat  $\alpha,\alpha,\alpha$ - $^{18}\text{F}$ trifluoritolueenin tuottamista Lewis-happokatalysoidulla dekllooriradiofluorinaatiolla (kuva 4.). Ryhmä päätteli paremman lähtevän ryhmän, tässä tapauksessa kloorin, tehostavan reaktiota.  $\alpha,\alpha$ -difluori- $\alpha$ -klooritolueenia ja  $\alpha,\alpha,\alpha$ -triklooritolueenia annettiin reagoida  $220\text{ }^\circ\text{C}$ :ssa 25 min ajan ei kantaja lisätyllä  $^{18}\text{F}$ HF:llä ja Lewisin hapolla ( $\text{Sb}_2\text{O}_3$ ). Leimattujen tuotteiden radiokemiallinen saanto oli 20–50 %:n välillä, molaarisen aktiivisuuden jääden kuitenkin matalaksi (ei raportoitu).



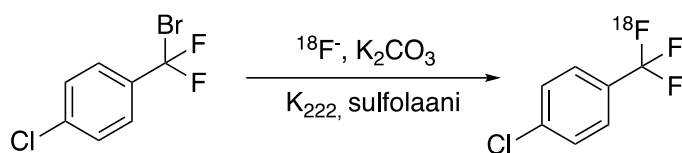
**Kuva 4.**  $\alpha,\alpha$ -difluori- $\alpha$ -klooritolueenin dekllooriradiofluorinaatio.<sup>28</sup>

Vuonna 1990 Kilbourn ym.<sup>30</sup> valmistivat bentsofenonijohdannaisen, joka sisälsi  $\alpha$ -bromo- $\alpha,\alpha$ -difluoritolueeni osan. Lähtevänä ryhmä ryhmänä toimi bromi, jonka ansiosta halex-reaktion oli mahdollista tapahtua miedoimmissa olosuhteissa. [4-(bromidifluorimetyyli)fenyyli]-[(4-trifluorimetyyli)fenyyli]metanoni reagoi  $^{18}\text{F}$ TBAF:n,  $\text{K}^+$ /Kryptofix<sub>222</sub>:n tai kvaternäärisen ammoniumhartsin kanssa  $150\text{ }^\circ\text{C}$  20 minuutin ajan tuottaen  $^{18}\text{F}$ bis(4-trifluorimetyyli)bentsofenonin 50 %:n radiokemiallisella saannolla. Leimattu tuote käytettiin sekundäärisenä lähtöaineena gamma-aminovoihapon (GABA) sisäänoton estäjän radiosynteesiin (kuva 5). Radiosynteesi oli edellisiin menetelmiin<sup>21,24,14,28</sup> verrattuna yksinkertaisempi sekä toistettavampi matalamman reaktiolämpötilan takia. Lopullisen leimaustuotteen radiokemiallinen saanto oli 17-28 %.



**Kuva 5.** [ $^{18}\text{F}$ ]bis(4-trifluorimetyyli)bentsofenonin leimaus reaktio sekä lopullinen PET-merkkiaine.<sup>30</sup>

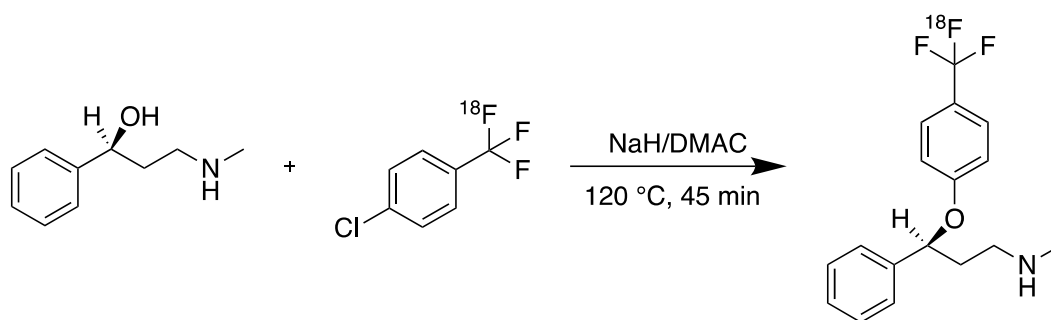
Hammadi ja Crouzel<sup>31</sup> jatkoivat bromidifluoridi-ryhmän sisältävien areenien trifluorimetyloinnin tutkimista. Ryhmä tutki selektiivisen serotoniinin sisäänoton estäjän (*S*)-*N*-metyyli-gamma-[4-(trifluorimetyyli)fenoksi]bentseenipropaaniamiinin (Fluoksetiini) leimaamista halex-reaktiolla. Lähtöaineena leimausreaktiolle toimi  $\alpha$ -bromi-4-kloori- $\alpha,\alpha$ -difluoritolueeni. [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoridi (n.c.a) reagoi Kryptofix<sub>222</sub>:n, kaliumkarbonaatin ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) sekä  $\alpha$ -bromi-  $\alpha,\alpha$ -difluori-4-nitrotolueenin kanssa tetrametyleenisulfonissa 160 °C:ssa 18 min ajan (kuva 6). Syntyneen [ $^{18}\text{F}$ ]-4-kloori- $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoritolueenin RCY oli keskimääräinen (25-30%) ja molaarinen aktiivisuus oli matala (0,1-3 GBq/ $\mu\text{mol}$ ).



**Kuva 6.** [ $^{18}\text{F}$ ]-4-kloori- $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoritolueenin synteesi.<sup>31</sup>

Heikon molaarisen aktiivisuuden vuoksi reaktio vaati optimointia. Ryhmä havaitsi reaktiolämpötilan sekä lähtöaineen konsentraation olevan yhteydessä radiokemialliseen saantoon ja molaariseen aktiivisuuteen. Optimaalisen reaktiolämpötilan havaittiin olevan 90 °C:ssa ja reaktioajan 4 minuuttia lähtöaineen konsentraation ollessa 2  $\mu\text{mol/ml}$ . Näillä reaktio-olosuhteilla molaarinen aktiivisuus nousi 1,85 GBq/ $\mu\text{mol:n}$  ja RCY 21 %. [ $^{18}\text{F}$ ]-4- $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoritolueenin reagoi vielä natriumalkoksidisuolan kanssa muodostaen [ $^{18}\text{F}$ ]fluoksetiiniä. Reaktio ja sen olosuhteet ovat esitettynä kuvassa 7. Reaktion radiokemiallinen kokonaissaalis oli 9-10 % ja [ $^{18}\text{F}$ ]fluoksetiinin molaarinen aktiivisuus oli 3,70-5,55 MBq/nmol.





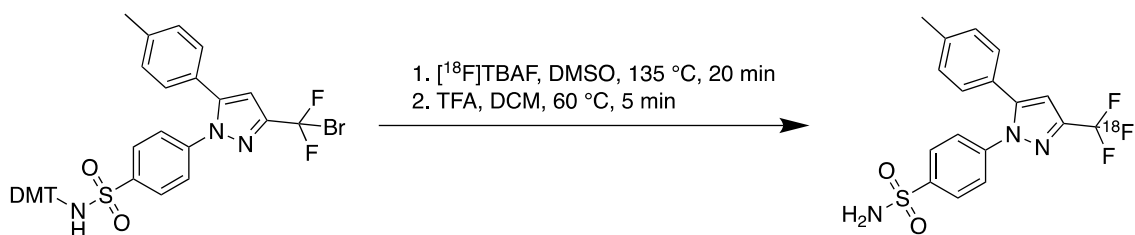
**Kuva 7.** [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoksetiinien synteesi.<sup>31</sup>

Das ja Munkherjee<sup>32</sup> valmistivat [ $^{18}\text{F}$ ]fluoksetiinia mukaillen Hammadi ja Crouzelin<sup>31</sup> julkaisemaa menetelmää. [ $^{18}\text{F}$ ]fluoridin lähteenä toimi [ $^{18}\text{F}$ ]tetra-*N*-butyyliammoniumfluoridi (TBAF) DMSO:ssa. Reaktiolämpötilan sekä lähtöaineen konsentraation havaittiin jälleen olevan yhteydessä RCY:n ja molaariseen aktiivisuuteen. Molaarisen aktiivisuuden riippuvuus reaktiolämpötilasta ja lähtöaineen konsentraatiosta todettiin johtuvan siitä, että lähtöaine toimi itsessään fluoridin lähteenä korkeissa lämpötiloissa aiheuttaen isotooppista laimentumista. Ryhmä onnistui valmistamaan [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoksetiiniä, jonka molaarinen aktiivisuus oli 1480 GBq/mmol. Radiokemiallinen saanto oli kuitenkin vain 1-2 %, mutta heikosta RCY:stä huolimatta menetelmällä tuotetulla [ $^{18}\text{F}$ ]Fluoksetiinilla on tehty *in vivo* ja *in vitro* tutkimuksia rotilla.<sup>23</sup>

Edellä mainittuja tutkimuksia yhdistää se, että leimausreaktio tapahtuu synteesin melko aikaisessa vaiheessa. Lähtöaine leimataan, jonka jälkeen se käytetään jatkoreaktioissa lopullisen tuotteen syntetisoimiseksi. Prosteettisten ryhmien käyttö on käytännöllistä, sillä se mahdollistaa herkempien aromaattisten yhdisteiden leimaamisen ilman, että molekyyli itsessään joutuu leimausreaktion olosuhteille alttiiksi. Prosteettisten ryhmien käyttö ei ole kuitenkaan ideaalista, sillä synteesit vievät enemmän aikaa laskien radiokemiallista saantoa sekä molaarista aktiivisuutta. Tämän vuoksi  $^{18}\text{F}$ -fluorauksen tulisi tapahtua mahdollisimman myöhäisessä vaiheessa.

Toisin kuin  $\alpha$ -bromi- $\alpha,\alpha$ -difluoritoluenei,  $\alpha$ -bromi- $\alpha,\alpha$ -difluoritolyyli voidaan liittää molekyyliin orgaanilla synteesillä ja leimata myöhäisessä vaiheessa. [ $^{18}\text{F}$ ]Celecoxibin lähtöaine valmistettiin  $\alpha$ -bromi- $\alpha,\alpha$ -difluoritolyyli-ryhmän avulla. Lähtöaine ja [ $^{18}\text{F}$ ]TBAF reagoivat 135 °C:ssa DMSO:ssa 20 minuutin ajan (kuva 8). Leimauksen tapahduttua dimetoksitriityyli (DMT) -suojaryhmä poistettiin trifluorietikkahapolla (TFA). Tämä synteesi tuotti [ $^{18}\text{F}$ ]Celecoxibin 10 %:n radiokemiallisella saannolla ja 4,5 GBq/ $\mu\text{mol}$ :n molaarisella aktiivisuudella. Merkkiaineelle tehtiin *in vivo* -tutkimuksia

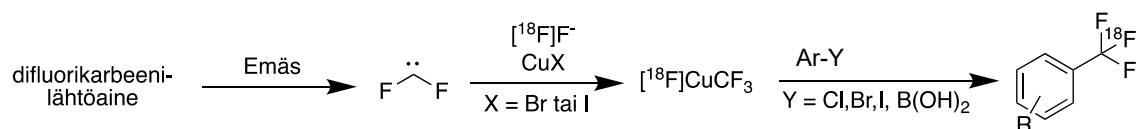
rotilla sekä paviaaneilla. Tutkimukset paviaaneilla antoivat viitteitä, että merkkiaineella olisi mahdollista kuvata myös ihmisiä. [ $^{18}\text{F}$ ]Celecoxib on selektiivinen COX-2 estäjä, ja sitä käytetään tulehduksen kuvantamiseen.<sup>22</sup>



**Kuva 8.** [ $^{18}\text{F}$ ]Celecoxibin synteesi.<sup>22</sup>

#### 1.4.3 Siirtymämetallivälitteinen ( $\text{CuCF}_3$ ) välitteinen ristikytkeä

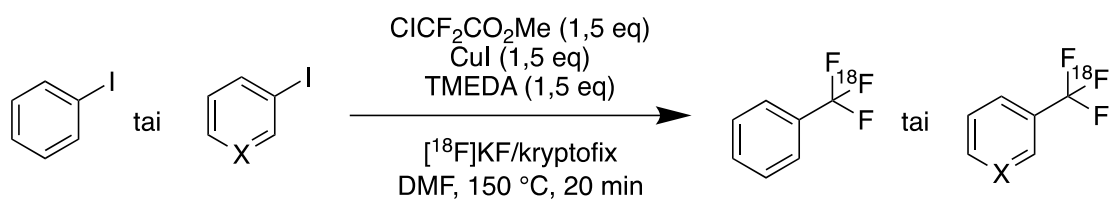
Tällä hetkellä aromaattisten yhdisteiden  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylointireaktioiden kehitys keskittyy lähinnä siirtymämetallivälitteisiin ristikytkeäreaktioihin. Ristikytkeäreaktion mekanismi on esitetty kuvassa 9.  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylointikemian haasteina on ollut lähtöainevalikoimaa rajoittavat rajut reaktio-olosuhteet, PET-kuvantamista hankaloittavat keskinkertaiset radiokemialliset saannot sekä matalat molaariset aktiivisuudet. Suora siirtymämetallivälitteinen  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatio nähdään ratkaisuna näille ongelmille, sillä se mahdollistaa suoran  $\text{C}-[^{18}\text{F}]\text{CF}_3$ -sidoksen muodostuksen. Reaktiot tapahtuvat matalammassa lämpötiloissa, ja  $^{18}\text{F}$ -fluorointi tapahtuu myöhäisessä vaiheessa, minkä vuoksi menetelmällä on myös mahdollista saavuttaa korkeampia molaarisia aktiivisuuksia (jopa  $22\text{--}32 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ )<sup>33</sup> sekä parempia radiokemiallisia saantoja.<sup>34,35</sup> Valtaosa siirtymämetallivälitteisistä  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatioreaktioista käyttää kuparia, mutta tutkimuksia on tehty esimerkiksi kullalla.<sup>36</sup>



**Kuva 9.** Kuparivälitteisen ristikytkeäreaktion mekanismi<sup>21</sup>

Vuonna 2013 Gouverneur ja Passchier<sup>37</sup> ym. julkaisivat artikkelin (hetero)aryylijodidien suorasta [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetylaatiosta (kuva 10.). Menetelmä perustuu *in situ* [ $^{18}\text{F}$ ]fluoridin, kuparijodidin ( $\text{CuI}$ ) ja tetrametyylietyleenidiamiinin (TMEDA) avulla muodostettuun [ $^{18}\text{F}$ ]CuCF<sub>3</sub> metyylikloorifluoroasetaatin. Metyyliklooridifluoroasetaatti on hyvin

reaktiivinen ja dekarbonyloituu  $[^{18}\text{F}]$ fluoridin läsnä ollessa  $[^{18}\text{F}]\text{CF}_3^-$ :ksi. Kuparijodidi kaappaa tämän välituotteen muodostaen  $[^{18}\text{F}]\text{CuCF}_3$ -kompleksin. Ristikytöntäreaktio (hetero)aryylijodidin kanssa tuottaa  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetyloidun (hetero)areenin. Ryhmä leimasi useita malliyhdisteitä, kuten  $[^{18}\text{F}]$ fluoksetiinin ja  $[^{18}\text{F}]$ flutamidiinin, erinomaisilla radiokemiallisilla saannoilla (RCY > 55 %). Fluorausreaktio sietä hyvin erilaisten funktionaalisten ryhmien, kuten esterien, nitro- ja syano-ryhmien, eettereiden, amidien sekä muiden aryylihalidien, läsnäoloa. Reaktio ei ole herkkä ilmalle ja hyödynnettävät reagenssit ovat helposti kaupallisesti saatavilla.



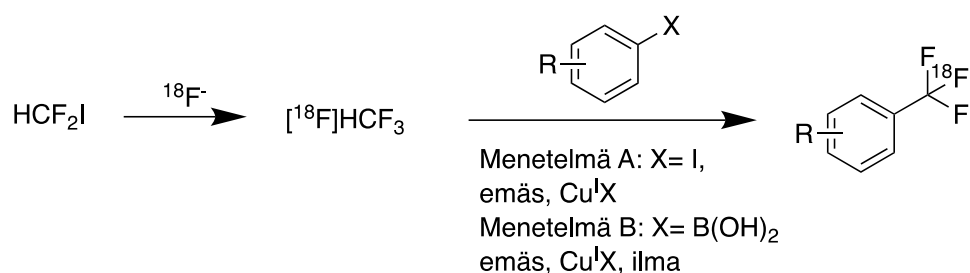
**Kuva 10.** Gouverneur ja Passchier ym.<sup>37</sup> julkaisema (hetero)areenien  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetylaatio.

Menetelmän heikkoutena oli kuitenkin melko korkea reaktiolämpötila sekä pitkä synteesiaika. Lisäksi saavutetut molaariset aktiivisuudet (100-139 MBq/ $\mu\text{mol}$ ) olivat liian matalia matalan tiheyden biologisten kohteiden kuvantamiseen. Gouverneur ja Passchierien työ antoi kuitenkin sysäyksen (hetero)areenien kuparivälitteisten  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetylaatioiden tutkimukselle.

Samana vuonna Vugts ym.<sup>38</sup> tutkivat  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaanin käyttöä aromaattisten ketonien ja aldehydien  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetyloinnissa.  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaanina valmistettiin korkealla saannolla (RCY  $60 \pm 15$  %) lyhyessä ajassa (10 min). Lähtöaineena toimi difluorijodimetaani, joka reagoi  $[^{18}\text{F}]\text{K}/\text{K}_{222}$ :n kanssa asetonitriilissä huoneenlämpötilassa. Itse leimausreaktio tuotti  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetyylikarbinoleja hyvällä radiokemiallisella saannolla (jopa 99 %). Onnistuneiden tulosten pohjalta ryhmä alkoi tutkimaan  $[^{18}\text{F}]\text{CuCF}_3$ :n valmistamista kaasumaisesta  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaanista.

Vuotta myöhemmin Vugts ym.<sup>33</sup> julkaisivatkin artikkelin (hetero)aryylijodidien ja -boorihappojen leimaamisesta  $[^{18}\text{F}]\text{HCF}_3$ :sta valmistetulla  $[^{18}\text{F}]\text{CuF}_3$ :lla. Ryhmä keskittyi tutkimuksessaan myös molaarisen aktiivisuuden parantamiseen.  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaani valmistettiin difluorijodimetaanin ja  $[^{18}\text{F}]\text{KF}/\text{K}_{222}$ :n reaktiolla.  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaani deprotonoitui vahvan emäksen, kuten kalium *tert*-butoksidin ( $\text{KO}t\text{Bu}$ ) läsnäollessa

muodostaen kuparibromidin kanssa  $[^{18}\text{F}]\text{CuF}_3$ . Leimausreaktion lähtöaineena toimi joko aryylijodidi tai aryyliboorihappo (kuva 11). Aryyliboorihappojen  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetylaation radiokemialliset saannot olivat 4 - 97 % ja aryylijodidien 34 - 97 %. Verrattaessa aryylijodidien ja -boorihappojen reaktioita, on boorihappojen reaktio ylivoimainen. Aryylijodidien leimausreaktio tapahtui  $130^\circ\text{C}$ :ssa 10 minuutissa, kun taas aryyliboorihappojen huoneen lämpötilassa reaktioaikana vain minuutti. Lähtöaineen määrää pystyttiin myös vähentämään 100  $\mu\text{mol}$ :sta 50  $\mu\text{mol}$ :n boorihappojen tapauksessa. Menetelmän optimoinnin jälkeen ryhmä keskittyi molaarisen aktiivisuuden parantamiseen. 1-jodi-4-nitrobentseenin  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatio tuotti 1 GBq/ $\mu\text{mol}$  molaarisen aktiivisuuden. Molaariseen aktiivisuuteen vaikuttaa kuitenkin negatiivisesti alussa käytetty  $\text{F}_2\text{CHI}$ , joka on  $^{19}\text{F}$ -lähde.  $\text{F}_2\text{CHI}$ :n määrän laskeminen kasvatti molaarista aktiivisuutta, jolloin 1-jodi-4-nitrobentseenin  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatiolla saavutettiin jopa 32 GBq/ $\mu\text{mol}$  molaarinen aktiivisuus.<sup>33</sup>

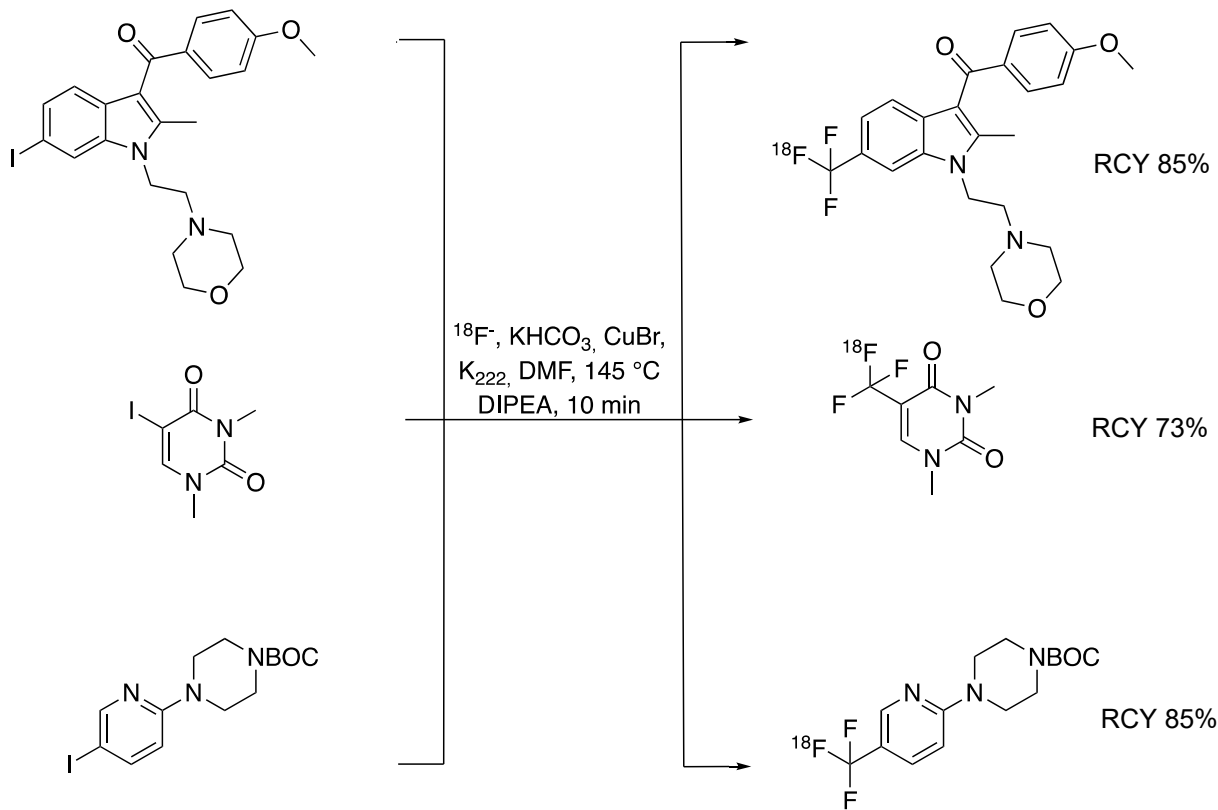


**Kuva 11.** Aryylijodidien ja -boorihappojen leimausreaktio.<sup>33</sup>

Menetelmällä onnistuttiin parantamaan molaarista aktiivisuutta sekä leimaamaan laajasti erilaisia aryylijodideja sekä -boorihappoja. Heikkoudeksi kuitenkin osoittautui kaasumainen  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaani. Sen käsittely hankaloittaa automatisointia, jota vaaditaan työskennellessä korkeiden radioaktiivisuus määrien kanssa.

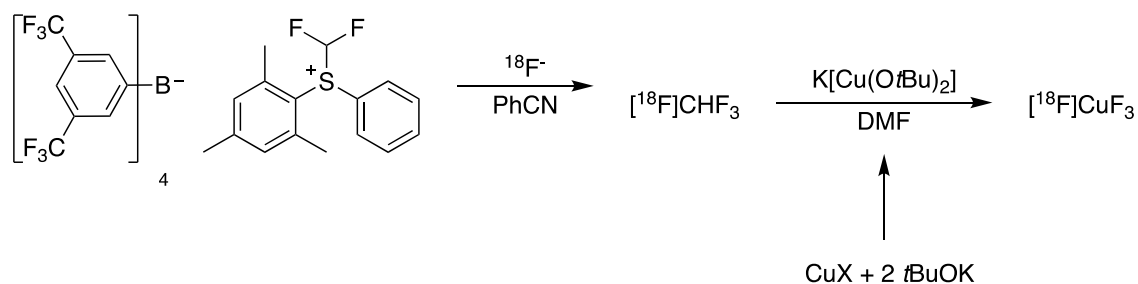
Riss ym.<sup>39</sup> julkaisivat tutkimuksen, joka keskittyi yksinkertaistamaan  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaatiota. Ryhmä päätteli kuparivälitteisen  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylaation hyötyvän ”one-pot”-synteesimenetelmästä, jossa sopiva  $^{18}\text{F}$ -trifluorimetylointireagenssi valmistetaan lähtöaineista *in situ* ja leimausreaktio tapahtuu välittömästi fluoraus reagenssin valmistuksen jälkeen.  $[^{18}\text{F}]\text{CF}_3\text{H}$ ,  $\text{KHCO}_3$ ,  $\text{CuBr}$  sekä *N,N*-diisopropyyli-*N*-etyyliamiinin (DIPEA) reaktio aryylijodidien kanssa tuotti  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetyloituja areeneja yli 80 %:n radiokemiallisilla saannoilla, molaarisia aktiivisuuksia ei kuitenkaan raportoitu. ”One-pot”-synteesillä onnistuttiin leimaamaan myös kolme radiomerkkiaineita PET-kuvantamiseen (kuva 12). ”One pot”-menetelmän etuna on sen

helppous. Menetelmällä leimattiin myös useita eri funktionaalisia ryhmiä sisältäviä yhdisteitä. Synteesissä jouduttiin kuitenkin käyttämään korkeita lämpötiloja (150 °C).



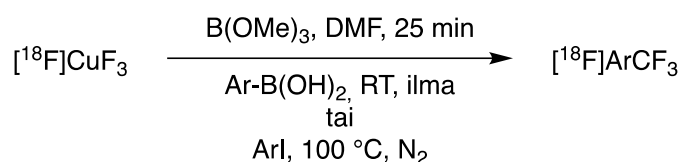
**Kuva 12.** ”One-pot”-menetelmällä leimattuja yhdisteitä sekä niiden radiokemialliset saannot.<sup>39</sup>

Viimeisimpänä Pannecoucke ym.<sup>40</sup> julkaisivat menetelmän, jolla voidaan tehokkaasti ja luotettavasti tuottaa  $[^{18}\text{F}]\text{CuCF}_3$  puoliautomatisoidulla laitteistolla ja leimata aryylijodideja ja -boorihappoja.  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaani valmistettiin difluorimetyylisulfoniumsuolasta, joka reagoi  $[^{18}\text{F}]\text{TBAF}$ :n kanssa.  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaani siirrettiin  $\text{K}[\text{Cu}(\text{O}t\text{Bu})_2]$  ja  $\text{DMF}$ -liuokseen, jossa muodostui  $[^{18}\text{F}]\text{CuF}_3$ :a (kuva 13).  $[^{18}\text{F}]\text{CuF}_3$ :n radiokemiallinen saanto ylsi jopa 40 %.



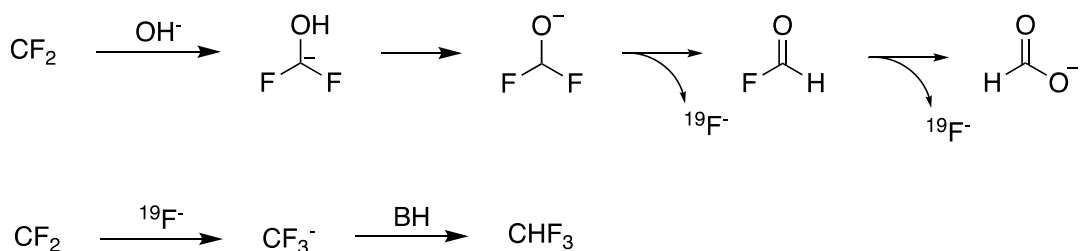
**Kuva 13.**  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaanin valmistus difluorimetyylisulfonium suolasta ja  $[^{18}\text{F}]\text{CuF}_3$  synteesi.<sup>40</sup>

Tutkimusryhmä leimasi erinomaisella radiokemiallisilla saannoilla (> 78 %) useita aryylijodidi ja -boorihappoyhdisteitä. Leimausreaktiot suoritettiin 100 °C:ssa, inertissä ilmakehässä (N<sub>2</sub>) B(OMe)<sub>3</sub>:n läsnä-ollessa (kuva 14). Ryhmä tutki myös [<sup>18</sup>F]eflunomidin ja [<sup>18</sup>F]fluoksetiin leimaamista kehittämällään menetelmällä. [<sup>18</sup>F]eflunomidin synteesi onnistui 18 % radiokemiallisella saannolla molaarisen aktiivisuuden ollessa 0,1 GBq/μmol. [<sup>18</sup>F]fluoksetiinia tuotettiin 78 %:n radiokemiallisella saannolla. Molaarista aktiivisuutta ei [<sup>18</sup>F]fluoksetiin tapauksessa raportoitu. Tämä kaksivaiheisella menetelmällä on mahdollista toteuttaa kytkentäreaktio alemmissa lämpötiloissa ja neutraalimmissa olosuhteissa kuin aiemmin kuvatuissa menetelmissä. Tämä mahdollistaa sellaisten yhdisteiden leimaamisen, jotka eivät siedä rajuja synteesi olosuhteita.



**Kuva 14.** Pannecoucke et al.<sup>40</sup> julkaisema leimausreaktio

Kehityksestä huolimatta, [<sup>18</sup>F]trifluorimetaanin tai [<sup>18</sup>F]CuF<sub>3</sub>:n käyttäminen reaktioissa, joiden tavoitteena on korkea molaarinen aktiivisuus, on haastavaa. Molempien reaktiomekanismit sisältävät eliminaatioreaktion emäksen läsnä-ollessa. Eliminaatio tuottaa difluorimetyylikarbeenin, jonka kanssa [<sup>18</sup>F]fluoridi reagoi. [<sup>18</sup>F]fluoridin pitoisuus on alhainen ja difluorimetyylikarbeenin puoliintumisaika lyhyt, jonka jälkeen se hajoaa kahdeksi ekvivalentiksi fluori-19:sta. Tämä aiheuttaa isotooppista laimentumista rajoittaen molaarista aktiivisuutta. Isotooppisen laimentumisen mekanismit ovat esitettynä kuvassa 15.<sup>40</sup>



**Kuva 15.** Isotooppisen laimentumisen mekanismit.<sup>40</sup>

## 1.5 Elektrofiilinen $^{18}\text{F}$ -leimaus

Elektrofiilinen leimaus tapahtuu  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub>-kaasun avulla.  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> voidaan tuottaa ainoastaan kantajafluorin avulla (c.a).  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub>:n reaktioissa vain toinen fluori voi reagoida lähtöaineen kanssa. Koska kaasusta puolet on kantajakaasua, voi radiokemiallinen saanto olla maksimissaan 50 %:a  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub>:n määrästä. Koska mukana on kantajakaasu, joka reagoi myös lähtöaineen kanssa, on reaktioilla hankalaa saavuttaa korkeita molaarisia aktiivisuuksia.<sup>41</sup> Tästä huolimatta elektrofiilistä  $^{18}\text{F}$ -fluorausta tarvitaan, sillä nukleofiilisellä  $^{18}\text{F}$ -fluorauksella ei voida leimata kaikkia rakenteita, kuten elektronirikkaita aromaattisia rakenteita.

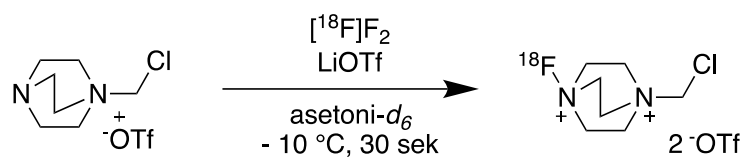
Elektrofiilinen fluoraus toteutetaan suoralla reaktiolla  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub>-kaasun kanssa tai elektrofiilisillä fluorinaatio reagensseillä kuten  $^{18}\text{F}$ Selectrofluorilla<sup>42</sup> (1-kloorimetyyli-4-fluori-1,4-diatsonibisyklo[2.2.2]oktaani *bis*(tetrafluoriboraatti)) tai  $^{18}\text{F}$ NFSI:llä<sup>43</sup>.  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> on erittäin reaktiivinen kaasu, minkä vuoksi se kiinnittyy lähes kaikkiin molekyylin nukleofiilisiin kohtiin. Tämä johtaa huonoihin radiokemiallisiin saantoihin sekä haasteisiin puhdistuksessa. Huonon paikkaselektiivisyyden vuoksi hyvän lähtevän ryhmän valinta on tärkeää. Ratkaisuksi  $^{18}\text{F}$ F<sub>2</sub> reaktiivisuuteen on myös kehitetty fluorausreagenssit, joilla on lievempi reaktiivisuus sekä korkeampi paikkaselektiivisyys. Elektrofiilisiä  $^{18}\text{F}$ CF<sub>3</sub>-ryhmän leimausreaktioita on julkaistu jonkin verran, mutta pääasiassa ne keskittyvät alkyyliryhmien leimaamiseen. Kuten nukleofiilistenkin reaktioiden kohdalla, suurimpana ongelmana on matala molaarinen aktiivisuus.

### 1.5.1 Katalysoitu dekarboksalytiivinen fluoraus

Li ym.<sup>44</sup> tutkivat alifaattisten karboksyylihappojen defluorokarboksylaatiota. Reaktio tapahtui Selectfluorin läsnä ollessa hopeanitraatti katalyysin (AgNO<sub>3</sub>) avulla paikkaspesifisesti. AgNO<sub>3</sub> on kaupallisesti saatavilla sekä edullinen, reaktion olosuhteet olivat miedot ja menetelmä sietää useita funktionaalisia ryhmiä. Reaktiota ei voida kuitenkaan hyödyntää aryylikarboksyylihapoille.

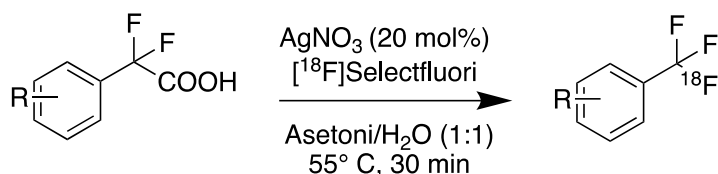
Gouverneur ym.<sup>45</sup> pohtivat olisiko Li:n julkaisemaa menetelmää mahdollista hyödyntää aromaattisessa difluorimetyyliyksikössä olevaan karboksyylihappoon, sillä  $\alpha,\alpha$  difluoribentsyyliiradikaalin tiedetään omaksuvan tasogeometria. Lisäksi se on aryyliisyys stabiloit sitä. Ryhmä osoitti aryyliirenkään trifluorimetyloinnin hopeakatalysoidulla fluoridekarboksalytiolla toimivaksi. Tutkimukset  $^{19}\text{F}$ :llä todistivat, että reaktion tehokkuus on riippuvainen aryyliirenkään elektroniominaisuuksista. F<sub>2</sub>:n käyttö fluorausreagenssina tuottaa huonoja saantoja, varsinkin elektroni rikkailta yhdisteillä ja reaktiivisuutensa vuoksi sillä on paljon ei toivottuja sivureaktioita. Tämän takia ryhmä

käytti leimausreagenssina [<sup>18</sup>F]Selectfluoria. [<sup>18</sup>F]Selectfluorin valmistu on esitettyinä kuvassa 16.



**Kuva 16.** [<sup>18</sup>F]Selectfluorin valmistus.<sup>42</sup>

Bifen-4-yyli(difluori)etikkahappo ja AgNO<sub>3</sub> (aq) lisättiin [<sup>18</sup>F]Selectfluori bis(triflaatin) joukkoon. Reaktio tapahtui 55 °C:ssa 30 min ajan tuottaen 4-([<sup>18</sup>F]- trifluorimetyyli)-1,1'-bifenyylin (RCY 9,1% ± 2,4 %, A<sub>m</sub> 3,3 ± 0,2 GBq/μmol) (kuva 17). Menetelmällä leimattiin myös 4-([<sup>18</sup>F]difluorimetyyli)-1,1'-bifenyylin (8,6% ± 2,6 %, RCY ja A<sub>m</sub> 2,5 ± 0,2 GBq/μmol). Saavutettu 3,3 GBq/μmol:n molaarinen aktiivisuus on lähes kaksi kertaa suurempi kuin nukleofiilisten reaktioiden raportoidut molaariset aktiivisuudet, lisäksi menetelmä sietää useita funktionaalisia ryhmiä. Menetelmä on ensimmäinen laatuaan ja erottuu klassisemmista areenien [<sup>18</sup>F]trifluorimetylointi menetelmistä suuresti.



**Kuva 17.** Katalyyttinen dekarboksalytiivinen [<sup>18</sup>F]fluoraus.<sup>45</sup>

## 2. Tutkimusosuus

### 2.1 Työntarkoitus

CB<sub>1</sub>-reseptorit ovat kannabinoidi reseptoreihin kuuluvia G-proteiinikytkentäisiä reseptoreita. Ne ovat osa keskushermoston endokannabinoidi järjestelmää. Pääasiassa suurin osa CB<sub>1</sub>-reseptoreista sijaitsee aivoissa, jossa ne ovat osana elimistön fysiologisissa ja patologisissa tapahtumissa. CB<sub>1</sub>-reseptorien ongelmien ja häiriöiden uskotaan olevan osasyynä erilaisissa neuropsykiatrisissa ja neurodegeneratiivisissa sairauksissa kuten Alzheimerin ja Parkinsonin taudissa. CB<sub>1</sub>-reseptorispesifisten radiomerkkiaineiden ja PET-kuvantamisen avulla voidaan tutkia kyseisten reseptorien toimintaa.

Tämän työn tarkoituksena oli valmistaa CB<sub>1</sub>-reseptorispesifinen merkkiaine [<sup>18</sup>F](3*R*,5*R*)-1-(4-(trifluorimetyyli)fenyyli)-5-(3-fluorifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-oni (**6**). Tavoitteena oli valmistaa jodioitu lähtöaine



(3*R*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-pyrrolidin-2-onin (**6**) käyttäen lähtöaineina 4-jodianiliinia, 3-fluoribentsaldehydiä ja etyyliipuryvaattia sekä radioleimata valmistettu lähtöaine **6** suoralla kuparivälitteisellä [<sup>18</sup>F]trifluorimetylaatiolla. Tavoitteena oli tutkia leimausreaktiota [<sup>18</sup>F]trifluorimetaanista tuotetulla [<sup>18</sup>F]CuCF<sub>3</sub> ja saavuttaa leimausreaktiossa korkea molaarinen aktiivisuus.

## 2.2 Materiaalit ja menetelmät

### 2.2.1 Materiaalit ja kemikaalit

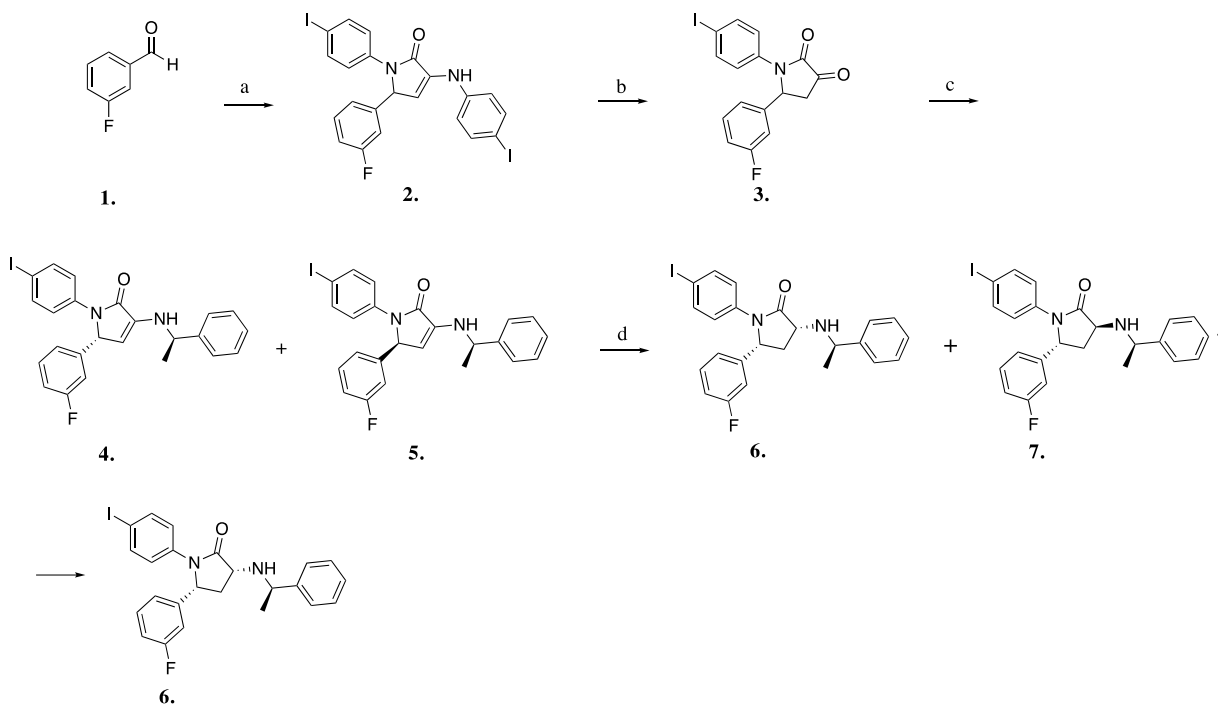
Kaikki käytetyt kemikaalit ostettiin Sigma-Aldrichilta ja käytettiin ilman erillisiä puhdistus- tai kuivausvaiheita.

### 2.2.2 Menetelmät

Yhdiste **6** valmistettiin S. Donohuen ym.<sup>46</sup> 2008 julkaiseman artikkelin mukaan. Jokaisen vaiheen tuotteen oikeellisuus tutkittiin H-NMR:n avulla käyttäen Bruker Avance-III 500 MHz -laitetta. Pylväskromatografisessa puhdistuksessa isomeerien erottumisen seurantaan käytettiin TLC-menetelmää. Käytetyt TLC-levyt olivat TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> ja eluuttina EtOAc/Heksaani 1:4. Orgaaniset synteesit suoritettiin vetokaapissa Åbo Akademin tiloissa sijaitsevassa Turun yliopiston radiofarmaseuttisen kemian laboratorion tiloissa.

## 2.3 Lähtöaineiden valmistus

Synteesi vaiheet, olosuhteet sekä reagenssit ovat esitetty kuvassa 18.



**Kuva 18.** Synteesi reitti

[a] Tuotteet: **(2)** 5-(3-fluorifenyyli) -1-(4-jodifenyyli) -3-((4-jodifenyyli)-amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrolli-2-doni, **(3)** 5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)pyrrollidiini-2,3-dioni, **(4)** (*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-oni, **(5)** (*S*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-oni, **(6)** (3*R*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-oni, **(7)** (3*S*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-oni

[b] Reagenssit ja olosuhteet: (a) 4 – jodianiliini, etyylipurvaatti, AcOH; (b) konsentroituu HCl, AcOH, 60 °C; (c) (*R*) – (+) – *I* – fenyylietyyliamiini, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (d) NaBH<sub>3</sub>CN, AcOH

### 2.3.1 5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli) -3-((4-jodifenyyli)-amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrolli-2-donin **(2)** valmistus

3-fluoribentsaldehydi **1** (2,00 ml, 18,85 mmol) lisättiin 12,39 g:n 4-jodianiliinin ja 15 ml:n jäätikkahapon seokseen. Seokseen lisättiin 1,9 ml:a etyylipurvaattia ja annettiin sekoittua keittopullossa huoneenlämpötilassa 20 h. Vaaleankeltainen seos suodatettiin ja pestiin 20 %:lla MTBE/heptaani -liuoksella. Tuotteen annettiin kuivua vakuumieksikaattorissa yön yli. Kuivatun, vaalean kellertävän tuotteen saanto oli 7,3 g (12,3 mmol, 65,4 %). TLC (DCM),  $R_f = 0,57$ , tuotteen oikeellisuus varmistettiin <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>).

### 2.3.2 5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-pyrollidiini-2,3-dionin (**3**) valmistus

Lähtöaine **2** (7,00 g, 11,74 mmol) liuotettiin 26 ml:aan jääetikkahappoa ja 33 ml:aan konsentroitua HCl-liuosta ja annettiin sekoittua 22 tunnin ajan huoneenlämpötilassa. Tämän jälkeen liuos lämmitettiin 60 °C:een ja annettiin sekoittua yhden tunnin. Vaalean keltainen seos kaadettiin dekanterilasissa olevaan jäämurskaan (1 l), sekoitettiin ja annettiin seistä yhden tunnin ajan. Muodostunut sakka ja neste-seos suodatettiin imusuodatuksella. Muodostunutta sakkaa pestiin vedellä ja kerättiin keittopulloon. Tuotteen annettiin kuivua vakuumeiksikaattorissa yön yli. Sakasta suoritettiin ohutlevykerroskromatografia (TLC), jossa todettiin sakan sisältävän vielä lähtöainetta. Valkoinen sakka liuotettiin 33 ml:aan jääetikkahappoa ja 33 ml:aan konsentroitua HCl-liuosta ja annettiin sekoittua uudelleen 22 tunnin ajan. Tämän jälkeen kellertävä seos kaadettiin jäiden päälle (1 l), sekoitettiin jälleen ja annettiin seistä tunnin ajan. Seos suodatettiin imusuodatuksella, pestiin vedellä ja kellertävä sakka kerättiin pulloon. Tuotteen annettiin kuivua eksikaattorissa yön yli. Kuivatun tuotteen saanto oli 16,3 g (41,1 mmol, 378 %). Tuotteen oikeellisuus varmistettiin <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>).

### 2.3.3 (*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-onin (**4**) ja (*S*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-onin (**5**) valmistus

Lähtöaine **3** (8,03 g, 20,24 mmol) liuotettiin 51 ml:aan dikloorimetaani (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) keittopullossa. Liuokseen lisättiin 5,05 ml:aa (*R*)-(+)-1-fenyylietyyliamiinia, jolloin syntyi kirkas, tumman punainen liuos. Reaktioon annettiin sekoittua yön yli (20 h) huoneenlämpötilassa. Reaktioliuoksesta haihdutettiin sekoituksen jälkeen dikloorimetaani pois alipaineessa. Jäljelle jäänyt öljymäinen seos liuotettiin pienen määrään etyyliasetaattia (EtOAc), minkä jälkeen seokseen lisättiin silikajauhetta. Seoksesta haihdutettiin etyyliasetaatti pois, minkä jälkeen jauhe siirrettiin pylväskromatografiaan. Pylvästä ajettiin 0 % - 10 %:lla EtOAc/heksaani -liuoksella. Reaktiossa muodostui kaksi isomeeriä, joista valkoinen (*S*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-onin (**5**) isomeeri eluutui ensimmäisenä, toisena sekoitus molempia isomeerejä ja viimeisenä haluttu (*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-oni (**4**) isomeeri. Puhdistusta seurattiin TLC:n avulla. Käytetty TLC-liuos oli dikloorimetaania tai vaihtoehtoisesti 10 %:sta EtOAc/heksaani -liuosta. Molemmat isomeerit otettiin talteen ja kuivattiin alipaineessa, jossa tuote **5** alkoi vaahdota

voimakkaasti; tuotteesta **4** muodostui valkea jauhe. Kuivatun tuotteen **4** saanto oli 0,78 g (1,56 mmol, 2,5 %). TLC (10 % EtOAc/Heksaani),  $R_f(\mathbf{4}) = 0,75$ ,  $R_f(\mathbf{5}) = 0,69$ ,  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ): 8,36 (s, 1H), 7,68 (d, 2H,  $J = 8,9$  Hz), 7,64 (d, 2H,  $J = 8,85$  Hz), 7,54 (d, 2H,  $J = 8,85$  Hz), 7,46 (d, 2H,  $J = 8,85$ ), 7,36 (t, 2H), 7,26 (t, 2H), 7,15 (m, 1H), 7,07 (d, 2H,  $J = 8,6$  Hz), 6,93 (ddd, 1H), 6,81 (d, 2H,  $J = 7,75$  Hz), 6,76 (d, 2H,  $J = 9,65$  Hz), 6,39 (d, 2H,  $J = 2,75$  Hz), 5,86 (d, 2H,  $J = 7,35$  Hz), 5,80 (d, 2H,  $J = 2,45$  Hz), 5,13 (d, 2H,  $J = 2,55$  Hz), 4,30 - 4,33 (m, 1H), 1,99 - 2,01 (m, 1H), 1,45 (d, 3H), 1,24 (s, 2H), 0,86 (m, 1H)

2.3.4(3*R*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-pyrrolidin-2-onin (**6**) ja (3*S*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-pyrrolidin-2-onin (**7**) valmistus

Tuote **4** (0,78 g, 1,56 mmol) liuotettiin 8,5 ml jäätikkahappoa. Liuokseen lisättiin natriumsyanoboorihydriä 0,20 g (3,11 mmol). Kirkkaan punaisen reaktioseoksen annettiin sekoittua yksi tunti huoneenlämmössä, minkä jälkeen etikkahappo haihdutettiin pyöröhaihduttajalla. Vaalean ruskea sakka liuotettiin 20 ml etyyliasetaattia ja siirrettiin erotussuppiloon. Reaktioastiaa pestiin 10 ml:lla etyyliasetaattia, joka siirrettiin myös erotussuppiloon. Seosta pestiin ensin 30 ml kylläisellä  $\text{NaHCO}_3$ -liuoksella, minkä aikana kertyi voimakkaasti painetta. Tämän jälkeen liuosta pestiin kaksi kertaa 30 ml:lla  $\text{H}_2\text{O}$ :ta sekä vielä 30 ml:lla  $\text{NaCl}$ -liuoksella. Orgaaninen faasi kaadettiin keittopulloon, jossa se kuivattiin  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ :llä, jonka jälkeen sakka suodatettiin ja pestiin EtOAc:llä. Lopuksi EtOAc haihdutettiin suodoksesta pois pyöröhaihduttajalla; jäljelle jäi valkea raakatuote. Raakatuote liuotettiin pieneen määrään etyyliasetaattia ja puhdistettiin pylväskromatografialla. Pylvästä eluoiitiin 0-30 % EtOAc/heksaani -liuoksella. Tuotteen kulkua seurattiin TLC:llä. TLC:n ajoon käytettiin 20 % EtOAc/heksaani-liuoksella. Tuote **6** eluoiutui pylvästä teoreettisesti ensimmäisenä, minkä vuoksi pylvästä ei kerätty kuin ensimmäinen eluoituva isomeeri. Tuotefraktiot yhdistettiin ja haihdutettiin kuiviin pyöröhaihduttajalla. Jäljelle jäi valkoinen tuote **6**, minkä saanto oli 0,33 g (0,66 mmol, 1,5 %). Tuotteen oikeellisuuden varmistamiseksi siitä ajettiin  $^1\text{H-NMR}$  (asetoni- $d_6$ ) sekä  $^{19}\text{F}$  NMR (DMSO- $d_6$ ). TLC (20 % EtOAc/heksaani),  $R_f(\mathbf{6}) = 0,37$ .  $^1\text{H-NMR}$  (asetoni- $d_6$ ): 7,64 (d, 2H,  $J = 8,85$  Hz), 7,58 (d, 2H,  $J = 2,05$  Hz), 7,43 (d, 2H,  $J = 1,3$  Hz), 7,30 (dd, 2H,  $J = 6,0$  Hz), 7,25 (t, 2H,  $J = 1,95$  Hz), 7,13 (d, 2H,  $J = 7,85$  Hz), 7,07 (dt, 1H,  $J =$  Hz), 6,96 (m, 1H), 5,23 (dd, 1H,  $J = 6,55$  Hz), 4,31 (dd, 1H,  $J = 0,15$  Hz), 3,76 (s, 1H), 3,52 (dd, 2H,  $J = 0,05$  Hz), 2,84 (s, 3H), 2,79 (s, 3H), 2,45 (m, 1H), 2,10 (s, 1H), 1,93

(m, 1H), 1,57 (dd, 1H,  $J =$  ), 1,38 (dd, 2H,  $J =$  ) 1,31 (s, 3H), 0,88 (d, 1H,  $J = 7,25$ ), 0,14 (s, 2H)

$^{19}\text{F}$  NMR (DMSO- $d_6$ ): - 112,71 ppm

## 2.4 Radiokemian yleiset menetelmät

Yhdisteen **6** [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetylaatiot suoritettiin Vugts ym.<sup>33</sup> ja Rühl ym.<sup>47</sup> julkaisemien artikkelien pohjalta. Rühl ym. julkaisemaa "one pot"-synteesimenetelmää käytettiin vain 4-jodianiliinin leimaukseen.

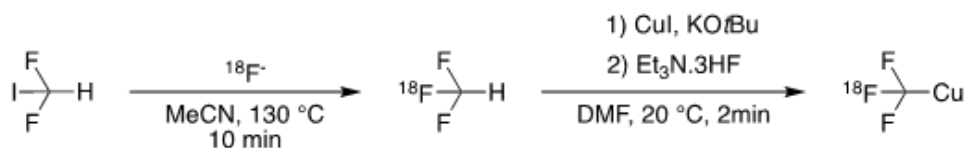
Tuotteiden oikeellisuus määritettiin radioHPLC-menetelmällä. Referenssiyhdisteenä käytettiin aiemmin valmistettua FPATPP yhdistettä. radioHPLC-määrittelyyn käytettiin VWR Hitachi L-2130 HPLC-pumppua, VWR Hitachi L-2400 UV-detektoria ja NaI-kiteeseen perustuvaa tukeilmaisinta. Metodien eluentina käytettiin 55/45 0,1 % TFA:a  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ :ssä ja Luna C5 kolonnia (5  $\mu\text{m}$ , 4,6 mm  $\times$  150 mm, 100 Å). Virtausnopeus oli 0,95 ml/min ja UV-detektorin aallonpituus  $\lambda = 254$  nm. Kaikki radioaktiivinen työ suoritettiin lyijykaapissa (Hotcell) nro. 7 Turun PET-keskuksen radiofarmaseuttisen laboratorion tiloissa. Synteesiin käytettiin PET-keskuksessa rakennettua synteesilaitetta, jota ohjattiin kuumakemiakammion ulkopuolelta ohjausyksikön avulla. Osa synteseistä suoritettiin manuaalisesti.

### 2.4.1 [ $^{18}\text{F}$ ]fluoridin tuotanto

[ $^{18}\text{F}$ ]F<sup>-</sup> (aq) tuotettiin syklotronilla happi-18 rikastetusta vedestä ydinreaktiolla  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  Åbo Akademin CC-18/9 hiukkaskiihdyttimellä. [ $^{18}\text{F}$ ]fluoridi siirrettiin kohtiolta vesiliuoksessa kapillaarilinjoja pitkin tai kannettuna lyijysuojassa kuumakemiakammioon. Kammiossa fluoridista poistettiin vesi nukleofiilisyyden parantamiseksi. Aktivointi suoritettiin kiinteäfaasiuutolla (SPE) tai atseotrooppisella tislauksella.

### 2.4.2 [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorometaanin ([ $^{18}\text{F}$ ]HCF<sub>3</sub>) synteesi

[ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaani-synteesien esivalmisteluina toimi käytetyn synteesilaitteiston linjojen pesu sekä huolellinen kuivaus. Ennen jokaista radioleimaussynteesiä punnittiin lähtöaineet tarvittaviin vialeihin ja mitattiin nesteet valmiiksi ruiskuihin. Jokainen käytetty anioninvaihtopatruuna esikäsiteltiin synteseissä 10 ml vettä. Rakennettiin myös -65 °C eetteri/nestetyyppijäähaude. Kuvassa 19 on esitetty [ $^{18}\text{F}$ ]CF<sub>3</sub>:n muodostuminen.



**Kuva 19.** [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaanin muodostuminen

#### 2.4.1.1 [ $^{18}\text{F}$ ]HCF<sub>3</sub> valmistus - atseotrooppinen tislauus

[ $^{18}\text{F}$ ]fluoridi (aq) kuivattiin atseotrooppisella tislauksella asetonitriilin ja heliumvirtauksen avulla. Tislauus suoritettiin 120 °C:n lämpötilassa 25 minuutin ajan. Tislauksen aikana tehtiin kolme 0,5 ml CH<sub>3</sub>CN lisäystä. [ $^{18}\text{F}$ ]fluoridin (aq) lisäksi reaktioastia sisälsi 0,4 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ja 2,6 mg Kryptofix<sub>222</sub>, jotka oli liuotettuina 1:1 asetonitriili/vesiliuokseen (1 ml). Kuivan [ $^{18}\text{F}$ ]FK/Kryptofix<sub>222</sub>-kompleksin joukkoon lisättiin 0,2 ml DMF liuotettua difluorijodimetaania (90 mg/ml). Seoksen annettiin reagoida huoneenlämpötilassa 10 min ajan. [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaanin muodostumisen jälkeen seosta kuplitettiin heliumvirralla noin 10 ml/min. He-virtaus siirsi kaasumaisen [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaanin sekundääriseen reaktioastiaan, joka sisälsi DMF (1,5ml, -65 °C). Kuplitus tapahtui Waters Sep-Pak Plus light QMAcarb:n lävitse ylimääräisen ei-radioaktiivisen difluorijodimetaanin poistamiseksi.

#### 2.4.1.2 [ $^{18}\text{F}$ ]HCF<sub>3</sub> valmistus - kiinteäfaasiuutto

[ $^{18}\text{F}$ ]fluoridi (aq) laimennettiin 7 ml H<sub>2</sub>O:ta. Ruiskulla [ $^{18}\text{F}$ ]fluoridi (aq) painettiin ioninvaihtopatruunaan (Sep-Pak QMA Light, Waters). Patruunaa huuhdeltiin 4 ml DMF:lla veden poistamiseksi. [ $^{18}\text{F}$ ]fluoridi eluoiitiin 1 ml:lla liuosta, joka sisälsi 197 mg K<sub>222</sub>, 0,1 ml vettä, 50 mg kaliumkarbonaattia 10 ml:ssa asetonitriiliä. Radioaktiivisuuden irtoamista seurattiin Geiger-Müller-putkilla. Eluointi tapahtui suoraan liuokseen, joka sisälsi 0,25 ml difluorijodimetaania (90 mg/ml) DMF:ssä. Seoksen annettiin reagoida huoneenlämmössä 10 min ajan. [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaanin muodostumisen jälkeen seosta kuplitettiin heliumvirralla noin 10 ml/min, jolloin kaasumainen [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaani kerättiin DMF:n (1,5 ml, -65 °C). Kuplitus tapahtui Waters Sep-Pak Plus light QMAcarb:n lävitse ylimääräisen ei-radioaktiivisen difluorijodimetaanin poistamiseksi. [ $^{18}\text{F}$ ]fluoridin aktiivisuus alussa oli 2,75 GBq ja syntyneen [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaanin 180,60 MBq. Syntyneestä [ $^{18}\text{F}$ ]trifluorimetaanista ei tehty radioHPLC-analyysiä.

#### 2.4.2 [<sup>18</sup>F]6:n radiosynteesi

CuI (1 mg, 5 µmol) puhdistettiin argonvirtauksella. Reaktioastiaan lisättiin 200 µl DMF, [<sup>18</sup>F]HCF<sub>3</sub>:n ja DMF:n seos (100 µl) ja 0,3 M KO<sup>t</sup>Bu DMF:ssä (50 µl). Reaktion annettiin sekoittua huoneenlämmössä minuutin ajan [<sup>18</sup>]FCuF<sub>3</sub> muodostumiseksi, jonka jälkeen seos tasapainotettiin 0.87 µl Et<sub>3</sub>N•3 HF (5 µmol) DMF:ssä (50 µl). Reaktion annettiin tasapainottua yhden minuutin ajan huoneenlämmössä, jonka jälkeen 100 µl:an DMF:ä liuotettu yhdiste **6** (1,9 mg, mol) lisättiin. Reaktioseosta sekoitettiin 130 °C:ssa 10 min ajan, jonka jälkeen reaktio tukahdutettiin vedellä ja annettiin jäähtyä huoneen lämpöiseksi. Reaktioseoksesta kerättiin näyte (10-20 µl). Näyte liuotettiin HPLC-eluenttiin (200 ul), jota seurasi radioHPLC-analyysi.

#### 2.4.3 [<sup>18</sup>F]trifluorimetyyaniliinin radiosynteesi “one-pot”-menetelmällä

Kiinteäfaasiuutolla kuivattu [<sup>18</sup>F]fluoridi eluoiitiin seokseen, joka sisälsi 2,9 mg 4-jodianiliinia, 10,8 mg kuparibromidia, 0,3 ml difluorijodimetaania ja 13,9 mg KO<sup>t</sup>Bu:ta 0,2 ml:ssa DMF:ä. Seoksen annettiin reagoida 145 °C 10 min ajan. 10 min jälkeen reaktioseoksen annettiin jäähtyä 3 minuutin ajan, jonka jälkeen seoksesta kerättiin näyte radioHPLC:tä varten. Näyte liuotettiin HPLC-eluenttiin (200 µl) ja analysoitiin radioHPLC:llä.

#### 2.4.4 Tulokset

Lähtöaineen **6** synteesi onnistui. Synteesivaiheiden tuotteiden massat sekä saantoprosentit ovat esitetty taulukossa 3. Yhdisteen **3** korkea saantoprosentti on seurausta tuotteen liiallisesta kosteudesta, jota ei saatu poistettua.

**Taulukko 3.** Yhdisteen **6** synteesivaiheiden tuotteiden massat ja saantoprosentit.

Yhdiste	m(tuote) [g]	Saantoprosentti (%)
<b>2</b>	7,3	65,2
<b>3</b>	16,3	378,3
<b>4</b>	0,78	2,5
<b>6</b>	0,33	1,5

[<sup>18</sup>F]trifluorimetaania valmistettiin onnistuneesti kolmella eri testi kerralla (taulukko 4). Jokaisella onnistuneella [<sup>18</sup>F]trifluorimetaanin tuotantokerralla [<sup>18</sup>F]fluoridi aktivoitiin kiinteäfaasiuutolla. Radiokemialliset saannot osoittavat reaktion olevan toistettava.

Saaduilla aktiivisuusaannoilla jatkettiin  $[^{18}\text{F}]\text{CuF}_3$ :n muodostukseen sekä leimausreaktioon.

**Taulukko 4.**  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaanin radiokemialliset saannot sekä aktiivisuusaannot reaktioastiassa.

Testi	RCY [%]	Aktiivisuusaanto reaktioastiassa [MBq]
1	32,9	181
2	58,1	372
3	44,5	318

Lähtöaineen **6** reaktioseoksista ajettiin radioHPLC, joista voitiin päätellä, ettei kummankaan yhdisteen radioaktiivisuus piikki vastannut referenssiyhdisteensä piikkiä. Tästä voidaan päätellä, ettei leimausreaktiot onnistuneet.

4-jodianiliinin ”one-pot”-synteesin kahdesta eri reaktioseoksesta ajettiin radioHPLC, josta voitiin päätellä, ettei kummankaan yhdisteen radioaktiivisuus piikki vastannut referenssiyhdisteensä piikkiä. Tästä voidaan päätellä, ettei leimausreaktiot onnistuneet.

### 3. Johtopäätökset

Lähtöaineen **6** orgaaninen synteesi oli osittain haastava, vaikkakin onnistunut, sillä synteesissä syntyi isomeerejä, jotka eluoutuivat erittäin lähellä toisiaan. Eluoituminen kesti myös hyvin kauan ja laboratoriossa oli usein saatavuusongelmia heksaanista, minkä vuoksi viimeisen reaktiovaiheen pylvästä ei kerätty kuin yksi eluoituva isomeeri. Saannot olivat isomeerejä sisältävissä vaiheissa melko heikot johtuen todennäköisesti huonosta erottumisesta.

$[^{18}\text{F}]\mathbf{6}$ :n radiosynteesi vaatii vielä optimointia, sillä radioleimaus epäonnistui.  $[^{18}\text{F}]\text{CuCF}_3$ :n muodostuminen on erittäin herkkä prosessi. Reaktio on herkkä ilmalle sekä kosteudelle, sillä  $[^{18}\text{F}]\text{Cu(I)F}_3$  hapettuu helposti  $[^{18}\text{F}]\text{Cu(II)CF}_3$ :ksi, mikä johtaa radioleimausreaktion epäonnistumiseen. Yhdiste stabiloidaan  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3 \text{ HF}$ :llä hapettumisen estämiseksi. Reaktio on kuitenkin herkkä myös  $\text{CuI}$ :n,  $\text{KOtBu}$ :n ja  $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3 \text{ HF}$ :n molaarisille suhteille. Kuparikompleksin muodostamisen reaktio-olosuhteita sekä itse reaktiota pitää optimoida.

Huolimatta onnistuneesta  $[^{18}\text{F}]$ trifluorimetaanin valmistamisesta, vaatii myös sen reaktio optimointia. Kaasumaisen tuotteen valmistus ei ole toistettavaa. Siirto heliumvirralla vaatii tarkkaa kontrollointia sekä tiivistä synteesilaitteistoa, pienetkin epäkohdat



laitteistossa aikaansaavat kaasun karkaamisen. [<sup>18</sup>F]trifluorimetaania ei ollut mahdollista karakterisoida mitenkään, sillä kaasukromatografia ei ollut saatavilla.

Kokonaisuudessaan radiosynteesi on haastava ja vaatii vielä paljon optimointia. Mahdollisia ratkaisuja synteesin onnistumiseksi ovat synteesilaitteiston muokkaaminen ko. kemiaan paremmin sopivaksi ja reaktio-olosuhteiden optimointi sekä tarkempi kontrollointi.

#### 4. Viiteluettelo

1. Purser S, Moore PR, Swallow S, Gouverneur V. Fluorine in medicinal chemistry. *Chem Soc Rev.* 2008;37(2):320-330. doi:10.1039/b610213c
2. Filler R, Saha R. Fluorine in medicinal chemistry: A century of progress and a 60-year retrospective of selected highlights. *Future Med Chem.* 2009;1(5):777-791. doi:10.4155/fmc.09.65
3. Lameka K, Farwell MD, Ichise M. Positron Emission Tomography. *Handb Clin Neurol.* 2016;135:209-227. doi:10.1016/B978-0-444-53485-9.00011-8
4. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):4-17. doi:10.1016/j.addr.2012.09.019
5. Pardridge WM. CNS Drug Design Based on Principles of Blood-Brain Barrier Transport. *J Neurochem.* 1998;70(5):1781-1792. doi:10.1046/J.1471-4159.1998.70051781.X
6. Laruelle M, Slifstein M, Huang Y. Relationships between radiotracer properties and image quality in molecular imaging of the brain with positron emission tomography. *Mol Imaging Biol.* 2003;5(6):363-375. doi:10.1016/j.mibio.2003.09.009
7. Luurtsema G, Pichler V, Bongarzone S, et al. EANM guideline for harmonisation on molar activity or specific activity of radiopharmaceuticals: impact on safety and imaging quality. doi:10.1186/s41181-021-00149-6
8. Radiopharmaconnect S, Bongarzone S, Pichler V. Do you care about molar activity? 2020:1-6. <https://doi.org/10.22541/au.157255511.10843905>.
9. Cai L, Lu S, Pike VW. Chemistry with [<sup>18</sup>F]Fluoride Ion. *European J Org Chem.* 2008;2008(17):2853-2873. doi:10.1002/EJOC.200800114
10. Conti M, Eriksson L. Physics of pure and non-pure positron emitters for PET: a

- review and a discussion. *EJNMMI Phys.* 2016;3(1). doi:10.1186/S40658-016-0144-5
11. Blessing G, Coenen HH, Franken K, Qaim SM. Production of [ $^{18}\text{F}$ ]F<sub>2</sub>, H $^{18}\text{F}$  and  $^{18}\text{F}$ aq<sup>-</sup> using the  $^{20}\text{Ne}(\text{d}, \alpha)^{18}\text{F}$  process. *Int J Radiat Appl Instrumentation Part A Appl Radiat Isot.* 1986;37(11):1135-1139. doi:10.1016/0883-2889(86)90139-5
  12. Solin O, Bergman J, Haaparanta MI, Reissell A. Production of  $^{18}\text{F}$  from Water Targets. Specific Radioactivity and Anionic Contaminants. *Int J Radiat Appl Instrum Part A.* 1988;39(10):1065-1071.
  13. Bergman J, Solin O. Fluorine-18-labeled fluorine gas for synthesis of tracer molecules. *Nucl Med Biol.* 1997;24(7):677-683. doi:10.1016/S0969-8051(97)00078-4
  14. Preshlock S, Tredwell M, Gouverneur VV. F-Labeling of Arenes and Heteroarenes for Applications in Positron Emission Tomography. 2016. doi:10.1021/acs.chemrev.5b00493
  15. McClinton MA, Mwlinton DA. TETRAHEDRON REPORT NUMBER 319 Trifluoromethylations and Related Reactions in Organic Chemistry. 1992;48(32):6555-6561.
  16. Yale HL. Review The Trifluoromethyl Group in Medicinal Chemistry1. *J Med Pharm Chem.* 1959;1(2). <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>. Accessed September 20, 2021.
  17. Roberts JI, Webb RL, Mcelhill EA, 72 V, Roberts JD. The Electrical Effect of the Trifluoromethyl Group. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>. Accessed September 20, 2021.
  18. Gillis EP, Eastman KJ, Hill MD, Donnelly DJ, Meanwell NA. Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. 2015. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00258
  19. Hagmann WK. The Many Roles for Fluorine in Medicinal Chemistry. *J Med Chem.* 2008;51(15):4359-4369. doi:10.1021/JM800219F
  20. Tomashenko OA, Grushin V V. Aromatic Trifluoromethylation with Metal Complexes. *Chem Rev.* 2011;111:4475-4521. doi:10.1021/cr1004293
  21. Lien VT, Riss PJ. Radiosynthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]trifluoroalkyl groups: Scope and limitations. *Biomed Res Int.* 2014;2014. doi:10.1155/2014/380124
  22. Prabhakaran J, Underwood MD, Parsey R V., et al. Synthesis and in vivo evaluation of [ $^{18}\text{F}$ ]-4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide as a PET imaging probe for COX-2 expression. *Bioorganic Med Chem.* 2007;15(4):1802-1807. doi:10.1016/j.bmc.2006.11.033

23. Mukherjee J, Das MK, Yang Z-Y, Lew R. Evaluation of the Binding of the Radiolabeled Antidepressant Drug,  $^{18}\text{F}$ -Fluoxetine in the Rodent Brain: An In Vitro and In Vivo Study. 1998.
24. Luminari S, Trotman J. Pet imaging. *Hematol Malig.* 2021;41-49.  
doi:10.1007/978-3-030-55989-2\_4
25. Bratteby K, Shalgunov V, Battisti UM, et al. Insights into Elution of Anion Exchange Cartridges: Opening the Path toward Aliphatic  $^{18}\text{F}$ -Radiolabeling of Base-Sensitive Tracers. 2021. doi:10.1021/acscptsci.1c00133
26. Iwata R, Pascali C, Terasaki K, Ishikawa Y, Furumoto S, Yanai K. Minimization of the amount of Kryptofix  $222\text{-KHCO}_3$  for applications to microscale  $^{18}\text{F}$ -radiolabeling. 2017. doi:10.1016/j.apradiso.2017.04.021
27. Gnade BE, Schwaiger GP, Liotta CL, Fink RW. Preparation of Reactor-produced Carrier-free  $^{18}\text{F}$ -fluoride as the Potassium 18-Crown-6 Complex for Synthesis of Labelled Organic Compounds.
28. S O C JC, Commun C.  $\text{H}^{18}\text{F} + \text{Sb}_2\text{O}_3$ : A New Selective Radiofluorinating Agent. 1986.
29. Deng X, Rong J, Wang L, et al. Chemistry for Positron Emission Tomography: Recent Advances in  $^{11}\text{C}$ -,  $^{18}\text{F}$ -,  $^{13}\text{N}$ -, and  $^{15}\text{O}$ -Labeling Reactions. *Angew Chemie - Int Ed.* 2019;58(9):2580-2605. doi:10.1002/anie.201805501
30. Kilbourn, MR, Pavia MR, Gregor VE. Synthesis of Fluorine-18 Labeled GABA Uptake Inhibitors. *Int J Radiat Appl Instrum Part A.* 1990;41(9):823-828.
31. Hammadi A, Crouzel C. Synthesis of [ $^{18}\text{F}$ ]-(*S*)-fluoxetine: A selective serotonin uptake inhibitor. *J Label Compd Radiopharm.* 1993;33(8):703-710.  
doi:10.1002/jlcr.2580330805
32. Das MK, Mukherjee J, Mclean F. Potential Radiotracer for Serotonin Reuptake Sites\*. *Appl Rad & Isot.* 1993;44(5):835-842.
33. Vanderborn D, Sewing C, Herscheid JDM, Windhorst AD, Orru RVA, Vugts DJ. A universal procedure for the [ $^{18}\text{F}$ ]trifluoromethylation of aryl iodides and aryl boronic acids with highly improved specific activity. *Angew Chemie - Int Ed.* 2014;53(41):11046-11050. doi:10.1002/anie.201406221
34. Tomashenko OA, Grushin V V. Aromatic Trifluoromethylation with Metal Complexes. *Chem Rev.* 2011;111:4475-4521. doi:10.1021/cr1004293
35. Pretze M, Große-Gehling P, Mamat C. molecules Cross-Coupling Reactions as Valuable Tool for the Preparation of PET Radiotracers. *Molecules.* 2011;16:1129-1165. doi:10.3390/molecules16021129

36. Levin MD, Chen TQ, Neubig ME, et al. A catalytic fluoride-rebound mechanism for C(sp<sup>3</sup>)-CF<sub>3</sub> bond formation. *Science* (80- ). 2017;356(6344):1272-1275. doi:10.1126/science.aan1411
37. Huiban M, Tredwell M, Mizuta S, et al. A broadly applicable [<sup>18</sup>F]trifluoromethylation of aryl and heteroaryl iodides for PET imaging. *Nat Chem* 2013 511. 2013;5(11):941-944. doi:10.1038/nchem.1756
38. Van Der Born D, Koos J(, Herscheid ) D M, Orru RVA, Vugts DJ. Efficient synthesis of [ <sup>18</sup> F]trifluoromethane and its application in the synthesis of PET tracers †. *This J is Cite this Chem Commun*. 2013;49:4018. doi:10.1039/c3cc37833k
39. Riss PJ, Ferrari V, Brichard L, Burke P, Smith R, Aigbirhio FI. Organic & Biomolecular Chemistry Direct, nucleophilic radiosynthesis of [<sup>18</sup>F]trifluoroalkyl tosylates: improved labelling procedures. 2012. doi:10.1039/c2ob25802a
40. Ivashkin P, Lemonnier G, Cousin J, et al. & Radiolabelling [ <sup>18</sup> F]CuCF<sub>3</sub> : A [ <sup>18</sup> F]Trifluoromethylating Agent for Arylboronic Acids and Aryl Iodides. doi:10.1002/chem.201403630
41. Jacobson O, Kiesewetter DO, Chen X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes. *Bioconjug Chem*. 2015;26(1):1. doi:10.1021/BC500475E
42. Teare H, Robins EG, Kirjavainen A, et al. Radiosynthesis and Evaluation of [<sup>18</sup>F]Selectfluor bis(triflate). *Angew Chemie*. 2010;122(38):6973-6976. doi:10.1002/ANGE.201002310
43. Teare H, Robins EG, Årstad E, Luthra SK, Gouverneur V. Synthesis and reactivity of [<sup>18</sup>F]-N-fluorobenzenesulfonimide. *Chem Commun*. 2007;(23):2330-2332. doi:10.1039/b701177f
44. Yin F, Wang Z, Li Z, Li C. Silver-Catalyzed Decarboxylative Fluorination of Aliphatic Carboxylic Acids in Aqueous Solution. 2012. doi:10.1021/ja3048255
45. Mizuta S, Stenhagen ISR, O'Duill M, et al. Catalytic decarboxylative fluorination for the synthesis of Tri- and difluoromethyl arenes. *Org Lett*. 2013;15(11):2648-2651. doi:10.1021/ol4009377
46. Donohue SR, Krushinski JH, Pike VW, et al. Synthesis, Ex Vivo Evaluation and Radiolabeling of Potent 1,5-Diphenyl-pyrrolidin-2-one Cannabinoid Subtype-1 (CB1) Receptor Ligands as Candidates for In Vivo Imaging. *J Med Chem*. 2008;51(18):5833. doi:10.1021/JM800416M
47. Rühl T, Rafique W, Lien VT, Riss PJ. Cu(I)-mediated <sup>18</sup>F-trifluoromethylation

of arenes: Rapid synthesis of  $^{18}\text{F}$ -labeled trifluoromethyl arenes. *Chem Commun.*  
2014;50(45):6056-6059. doi:10.1039/C4CC01641F

## 5. Liitteet

Liitteenä (*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-onin (**4**), (3*R*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-onin (**6**) synteesien <sup>1</sup>H-NMR – analyysit ja (3*R*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-onin (**6**) <sup>19</sup>F-NMR - analyysi.

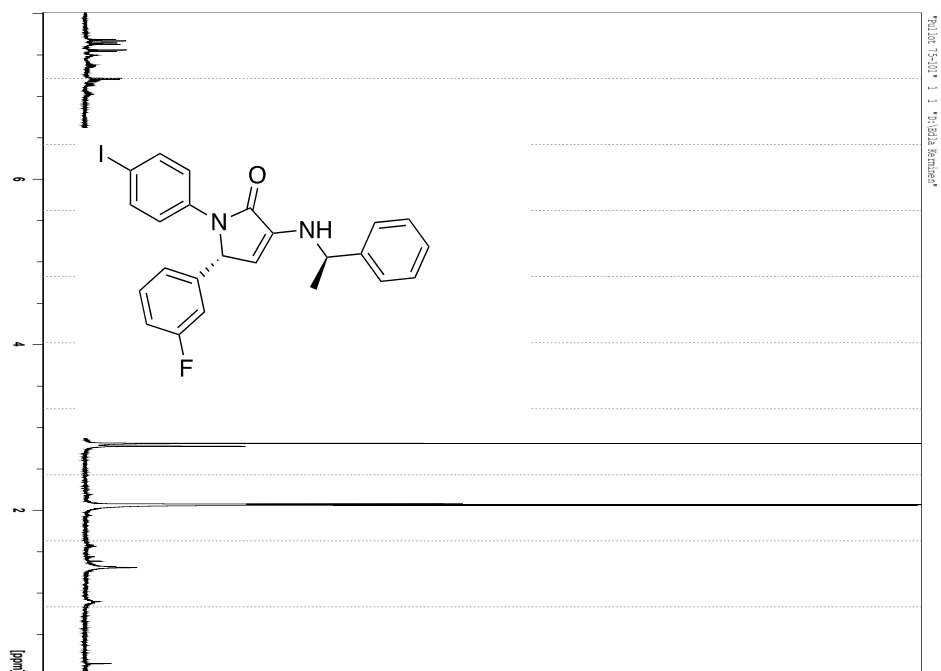
Liiteluettelo:

Liite 1: (*R*)-5-(3-fluorifenyyli) -1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-onin (**4**) <sup>1</sup>H-NMR – analyysi

Liite 2: (3*R*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-onin (**6**) <sup>1</sup>H-NMR – analyysi

Liite 3: (3*R*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-onin (**6**) <sup>19</sup>F-NMR – analyysi

Liite 1: (*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)-1,5-dihydro-2*H*-pyrrol-2-onin (**4**) <sup>1</sup>H-NMR – analyysi







Liite 3: (3*R*,5*R*)-5-(3-fluorifenyyli)-1-(4-jodifenyyli)-3-(((*R*)-1-fenyylietyyli)amino)pyrrolidin-2-onin (**6**) <sup>19</sup>F-NMR – analyysi

