

<https://doi.org/10.22643/JRMP.2018.4.2.51>

Aliphatic radiofluorination using TBAHCO₃ eluate in hydrous organic medium

Young-Do Kwon,¹ Jeongmin Son,² and Joong-Hyun Chun^{1,*}

¹ Department of Nuclear Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul 03722, Republic of Korea.

² Department of Nuclear Medicine, Severance Hospital, Yonsei University Health System, Seoul 03722, Republic of Korea.

ABSTRACT

Azeotropic drying process is routinely applied to enhance nucleophilicity of [¹⁸F]fluoride ion during the nucleophilic production of PET radiotracers; however, the drying process requires usually 15–25 min. Due to the high demand of employing fluorine-18 ($t_{1/2} = 109.8$ min) in PET radiopharmaceutical production, several research groups have focused on the method development, obviating tedious removal process of the residual target water ([¹⁸O]H₂O) for [¹⁸F]fluoride ion complex to be used in radiofluorination. Some development in radiofluorination in a mixed organic solvent system was demonstrated with various aliphatic substrates, but only kryptand as a phase transfer agent was utilized in the reported method. Here, we extend to investigate the development scope of applicability with basic alkyl ammonium salt as a phase transfer agent through the extensive elution efficiency study and radiofluorination outcome for aliphatic radiofluorination.

Key Word: Fluorine-18, Radiofluorination, Phase transfer agent, Radiotracer, PET

Introduction

양전자단층촬영(Positron emission tomography; PET)은 방사성의약품의 생체 내 분포 등 생화학적 정보를 확인할 수 있는 분자 영상 기법으로 비침습적으로 영상 정보를 얻을 수 있는 장점이 있다(1,2). 대부분의 방사성의약품은 사이클로트론에서 생산된 방사성 동위원소를 사용하여 합성하는데, 해당 방사성 동위원소로는 탄소-11(carbon-11), 질소-13(nitrogen-13), 불소-18(fluorine-18) 등으로 다양하다. 이 중 임상이나 전 임상 단계에서 탄소-11과 불소-18이 많이 사용되고 있는데, 탄소-11은 반감기가 20.4분으로 짧기 때문에 특히 불소-18을 이용한 많은 연구들이 진행되고 있다. 또한, 불

소-18은 반감기가 109.8분으로 길어서 어느 정도 고난도의 화학적 합성도 가능할 뿐만 아니라, 최대 633.5 keV의 이상적인 양전자 에너지를 방출하므로 진단에 최적화된 영상 구현도 가능하다(3).

친전자성 불소반응의 경우, 초기에는 불소-18을 기체 상태인 [¹⁸F]F₂ 형태로 생산하여 사용하였는데, 이는 낮은 비방사능(molar activity; A_m)으로 방사성추적자가 얻어 진다는 점과 기체상태의 불소-18을 다루기가 힘들다는 단점을 가지고 있다(4). 또 다른 방법으로는 이론적으로 높은 비방사능을 얻을 수 있는 불소-18 음이온([¹⁸F]fluoride ion)을 이용한 방사성의약품 합성 방법이 있는데, [¹⁸O]H₂O를 이용한 핵반응을 통해 불소-18을 생산하기 때문에 불소-18은 필수불가결하게 물에 녹여져 있는 상태로 얻어지게 된다. 이는 불소-18

Received: December 6, 2018 / Revised: December 17, 2018 / Accepted: December 21, 2018

Corresponding Author: Joong-Hyun Chun, Department of Nuclear Medicine, Yonsei University College of Medicine, 50-1, Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Republic of Korea, Tel: +82-2-2228-2348, Fax: +82-2-2227-8354, E-mail: jchun@yuhs.ac

Copyright©2018 The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

음이온이 물 분자에 수화되어 있는 상태를 의미한다. 일반적으로 물 분자의 수화되는 정도가 불소-18 음이온의 친핵성에 부정적인 영향을 주며 전체적으로 표지 수율이 낮아지게 된다고 보고 있어 이를 해결하기 위해 공비 증발법(azeotropic evaporation)을 통해 물을 제거한다(5). 사이클로트론에서 생산되어 나온 수화된 불소-18의 경우에는 대략 2.0-2.5 mL의 많은 양의 물을 포함하고 있고, 이를 공비법으로 제거하기에는 물의 양이 너무 많아 비효율적이다. 표지 반응시, 용매에 포함되어 있는 물의 양을 줄이기 위하여 일반적으로 음이온 교환 수지로 만들어진 QMA (quaternary ammonium anion exchange) 카트리지를 사용한다. 생산된 불소-18 수용액을 QMA 카트리지로 흘려 보내 불소-18을 흡착시킨 뒤, 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosane (K 2.2.2.)/K₂CO₃ 또는 tetrabutylammonium hydrogen carbonate (TBAHCO₃) 같은 상전이촉매가 녹아져 있는 용액으로 용출시킨다. 일련의 방법을 거치면 기존의 2.5 mL정도의 물이 0.1 mL 정도로 줄어든다고 보고되었다(6). 현저하게 줄어든 물의 양에도 불구하고, 수화된 불소-18의 반응성을 크게 높이기 위해, 용출된 용액을 아세토나이트릴 같은 공비 용매를 사용하여 물을 제거한다. 이러한 과정은 15-25분 정도의 시간이 소요되며, 110분 정도의 불소-18의 반감기를 고려하였을 때 사용할 수 있는 방사능의 큰 낭비가 될 수 있다. 특히, 새로운 방사성추적자를 개발하고 빠른 시간 안에 그 반응성을 조사(screening) 하고자 할 때는 이러한 과정이 걸림돌이 되어 왔다. 이러한 상황을 극복하고자 여러 연구그룹들에서 공비 증발을 하지 않으면서 소량의 물을 포함하고 있는 표지 반응에 대한 연구 결과를 보고하였다(7-12).

우리 그룹은 최근 공비 증발을 하지 않으면서 자동합성 장치에 바로 적용 가능한 표지 방법을 개발하여 보고하였다(6). 다양한 지방족(aliphatic) 화합물들을 전구체로 사용하여 표지 반응을 진행하였으며, 표지 반응성을 조사하기에 충분한 표지 수율을 보였다. 본 논문에서는 kryptand 계열의 상전이제(phase transfer agent; PTA)가 아닌 alkyl ammonium 염 계열의 용리 물질을 사용하여 용리 효율 및 표지 반응의 효율성을 보고 하고자 한다. 이 연구를 통해서

기존에 개발되었던 방법과 함께, 방사성의약품을 생산하는 자동합성장치에 바로 적용 가능한 표지 방법을 소개함으로써 새로운 방사성의약품의 개발뿐만 아니라, 기존에 공비법을 이용하여 생산했던 지방족 방사성의약품에도 적용할 수 있는 방법을 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

Materials

40% TBAHCO₃ 수용액, 2-(3-methanesulfonyloxypropoxy)naphthalene (1) 및 2-(3-fluoropropoxy)naphthalene (2)는 FutureChem (Seoul, Republic of Korea)에서 구매하였다. Oxygen-18 enriched water는 Rotem (Beer Sheva, Israel)에서 구매하였다. 모든 다른 화학물질들은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), ACROS organics (Waltham, MA, USA) 및 Alfa Aesar (Ward Hill, MA, USA)에서 구입하였고, 추가적인 정제과정을 거치지 않고 사용하였다. Sep-Pak® Light QMA cartridge (carbonate form, part no. 186004540)는 Waters (Milford, MA, USA) 제품을 사용하였다. 표지 수율을 확인하기 위한 radio-TLC 분석에 사용한 an aluminum-backed plate with silica gel 60 F₂₅₄는 Macherey-Nagel GmbH & Co. KG (Düren, North Rhine-Westphalia, Germany) 제품을 사용하였다. Radio-HPLC 분석에는 a Luna® 5 um C18(2) 100 Å, 4.6 × 250 mm analytical column (Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA)을 사용하였다.

Protocol

1. QMA에 흡착된 불소-18 음이온 용출 실험

사이클로트론(PETtrace™ 16.5-MeV cyclotron, GE Healthcare, WI, USA)을 이용하여 40 μA로 약 2분간 양성자를 [¹⁸O]H₂O에 조사하여 [¹⁸O(p,n)¹⁸F]의 핵반응으로 3.7 ± 0.35 GBq (100 ± 9.6 mCi)의 불소-18 음이온을 수화된 형태로 얻었다. 사이클로트론에서 생산된 불소-18 (약 10 mCi)

를 QMA carbonate 카트리지에 흡착시킨다. QMA 카트리지에 흡착된 불소-18의 방사능을 측정하였다 (방사능 A). 흡착된 불소-18을 미리 준비한 용리액(1M Et₄NHCO₃ 수용액 또는 40% TBAHCO₃ (tetrabutylammonium hydrogen carbonate) 수용액이 아세트나이트릴, 다이메틸포름아마이드, 또는 다이메틸설폭사이드 용매에 희석되어 있는 용액)을 사용하여 QMA카트리지로부터 빈 바이알로 용리시킨다. 1 M Et₄NHCO₃ 수용액은 Et₄NHCO₃ 191 mg을 1.0 mL의 물에 녹여서 준비하였다. 불소-18을 용출시킨 뒤 방사능을 측정하였다 (방사능 B). 방사능 A 및 B의 측정은 CRC®-712M Dose Calibrator (Capintec, Ramsey, NJ, USA)을 이용하였다. 용리 효율은 측정된 방사능 A에 대한 B의 백분율이다.

2. 공비 증발을 하지 않는 표지 반응

표지 반응은 유기화학반응에서 널리 사용되고 있는 가열 장치인 Monowave 50 (Anton Paar GmbH, Austria)를 사용하였다(13). 사이클로트론에서 생산된 불소-18 (약 10 mCi)를 QMA 카트리지에 흡착시킨 뒤, 흡착된 불소-18 음이온을 40% TBAHCO₃ 수용액 (0.030 mL)이 아세트나이트릴 (0.20–1.0 mL)에 희석된 용액을 사용하여 용출하였다. 용출된 용액에 반응 전구체인 물질 1이 다이메틸설폭사이드 용매에 녹아져 있는 용액을 첨가하였다. 이때, 해당 용액의 조성은 0, 20, 50 및 80% 다이메틸설폭사이드/아세트나이트릴이며, 전체 부피는 2.0 mL이다. 준비된 반응 용액을 100 °C에서 10분간 반응 시킨 뒤, 반응 용기를 60 °C로 냉각시켰다. 반응한 용액의 일부 (약 0.2 mL)를 40% 아세트나이트릴/물 (v/v; 3.0 mL) 용액에 희석시킨 뒤, 표지 효율을 radio-HPLC 및 radio-TLC (AR-2000 radio-TLC imaging scanner, Eckert & Ziegler Radiopharma Inc., Hopkinton, MA, USA)로 측정하였다. Radio-HPLC는 Ultimate 3000 spectra system (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)으로 구성되어 있으며, 불소-18이 표지된 생성물은 불소-19로 표지되어 있는 기준물질과 함께 radio-HPLC로 측정하여 확인하였다.

Results and Discussion

1. Alkyl ammonium 염 계열의 상전이제제 물질들의 용리

효율 조사

1. Alkyl ammonium 염 계열의 용리 물질의 종류 및 용리 용액의 용매에 따른 용리 효율

Table 1. Comparison of elution efficiency with different phase transfer agents and organic solvents^{a)}

| Entry | Solvent (1.0 mL) | Phase transfer agent (0.050 mL) | |
|-------|------------------|---------------------------------|---------------------------------------|
| | | 40% TBAHCO ₃ | 1 M Et ₄ NHCO ₃ |
| 1 | MeCN | 92% ^{b)} | 76% ^{b)} |
| 2 | DMF | 36% | 18% ^{b)} |
| 3 | DMSO | 24% | 4% ^{b)} |

^{a)}Eluent: phase transfer agent (PTA) in solvent. ^{b)}The elution efficiency was the average of two runs.

Alkyl ammonium 을 이용하여 용리된 불소-18 용액이 공비 증발을 하지 않는 표지 방법에 잘 적용되는지 확인하기 위해서, 먼저 alkyl ammonium 용리 물질의 종류에 대한 용리 조건을 최적화하였다. 최적화 실험은 alkyl ammonium 계열의 상전이제제 중에서 방사성의약품의 합성에 자주 쓰이고 있는 TBAHCO₃ 및 Et₄NHCO₃을 선택하여 진행하였다 (Table 1). 해당 용리액들을 세 가지의 다른 용매 (아세트나이트릴, 다이메틸포름아마이드, 또는 다이메틸설폭사이드)에 각각 녹인 뒤, 불소-18이 흡착 되어있는 QMA카트리지를 통해 흘러 보냈다. 흥미롭게도 기존에 보편적으로 용리액의 용매로 사용하는 아세트나이트릴 이외에도 다이메틸포름아마이드 및 다이메틸설폭사이드를 사용하여 불소-18이 용리된 것을 확인하였다. 다음의 최적화 실험들에서는 용리 용매로 아세트나이트릴을 선택하였고, 좀 더 높은 용리 효율을 보여주는 TBAHCO₃를 용리 물질로 선택하여 실험을 진행하였다.

1. 2. 용리 물질의 양에 따른 용리 효율 조사

일반적으로 자동합성장치를 사용하지 않는 초기 반응성 조사 실험의 경우에는 불소-18 용리액을 공비 증발 후, 반응에 사용하고자 하는 유기 용매에 녹인 뒤에 사용하고자 하는 방사능으로 해당 용액을 나누어서 반응을 진행한다. 하지

만, 자동합성장치에서 표지가 진행될 경우에는 전체 용리액을 사용해야 한다. 용리 물질의 농도가 높으면 높을수록 용리 효율은 증가하지만, 표지 반응 용액의 염기성도 증가되므로 염기에 반응성이 있는 표지 전구체의 안정성에 문제를 일으킬 수도 있다. 이러한 경우를 고려하여, 용리액에서의 용리 물질의 농도에 따른 용리 효율도 조사하였다 (Table 2, Figure 1). 1.0 mL 아세토나이트릴에 0.030 mL TBAHCO₃ 수용액을 녹인 용리액은 80% 이상의 용리 효율을 보였다. 용리 효율 및 용리 물질의 양을 고려한 결과, 최적화 실험에서의 40% TBAHCO₃ 수용액의 양은 0.030 mL로 고정하여 진행하였다.

Table 2. Study of elution efficiency with different amount of PTA eluenta^{a)}

| Entry | TBAHCO ₃ (mL) | TBAHCO ₃ (mL) |
|-------|--------------------------|--------------------------|
| 1 | 0.010 | 9 |
| 2 | 0.020 | 61 |
| 3 | 0.030 | 82 |
| 4 | 0.050 | 92 ^{b)} |
| 5 | 0.10 | 90 |

^{a)} Eluent was prepared as the following: each volume of 40% TBAHCO₃ aq. solution was diluted with 1.0 mL MeCN. ^{b)} The elution efficiency was the average of two runs.

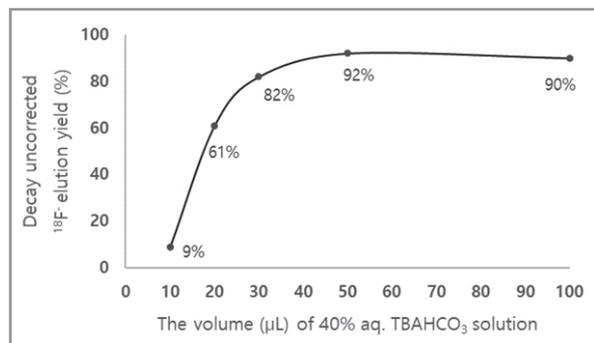


Figure 1. Elution efficiency with different PTA amount in Table 2.

1. 3. 전체 용리액의 부피에 따른 용리 효율 조사

본 연구에서는 공비 증발을 하지 않고 표지를 진행하기 때문에 용리액의 부피는 표지 반응 용액의 부피에 직접적으로 영향을 미친다. 반응 용액의 부피는 용액 내에서의 전구체의 몰 농도와 직접적인 관련이 있으며, 또한 대부분의 자동합성장치에서의 표지 반응은 약 1.0 mL 정도의 용액 부피로 진행되기 때문에 용리액의 부피 조건을 최적화하는 것이 중요하다.

Table 3. Effect of total organic content on elution efficiency

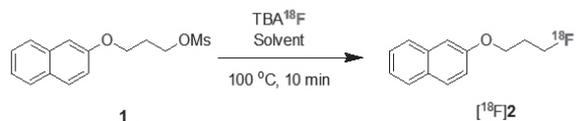
| Entry | Eluent ^{a)} | | Elution efficiency (%) |
|-------|--------------------------|-----------|------------------------|
| | TBAHCO ₃ (mL) | MeCN (mL) | |
| 1 | 0.030 | 0.20 | 75 |
| 2 | 0.030 | 0.40 | 81 |
| 3 | 0.030 | 0.60 | 85 |
| 4 | 0.030 | 0.80 | 74 |
| 5 | 0.030 | 1.0 | 82 |

^{a)} Eluent was prepared as the following: 0.030 mL of 40% TBAHCO₃ aq. solution was diluted with each volume of MeCN.

다. 기존에 최적화시킨 용리 조건을 바탕으로 TBAHCO₃ 용리 물질 (0.030 mL)을 0.20–1.0 mL의 아세토나이트릴에 녹여서 QMA 카트리지에 흡착된 불소-18 용출 실험을 진행하였다 (Table 3). 용리액의 전체 부피는 용리 효율에 크게 영향을 미치지 않으며 모든 부피 조건에서 75–85% 효율로 용출되는 것을 확인하였다.

2. 최적화된 용리 조건을 바탕으로 한 불소-18 표지 반응

Table 4. Radiofluorination with different organic content in reaction medium (DMSO)^{a)}



| Entry | Solvent (2 mL) | RCY (%) | |
|-------|----------------|------------|-----------|
| | | radio-HPLC | radio-TLC |
| 1 | MeCN | 1 | 0 |
| 2 | 20% DMSO/MeCN | 3 | 3 |
| 3 | 50% DMSO/MeCN | 7 | 7 |
| 4 | 80% DMSO/MeCN | 23 | 26 |

^{a)} Precursor: 2 mg, TBAHCO₃ (0.030 mL, 39.6 μmol; 40% aq. solution).

TBAHCO₃를 사용하여 흡착된 불소-18을 용출 한 뒤 공비 증발을 하지 않고 표지 반응이 진행되는지 확인하기 위해 다음의 실험을 진행하였다 (Table 4). 반응 전구체는 불소 표지 방법을 개발하는 연구들에서 널리 사용되고 있는 2-(3-methanesulfonyloxypropoxy)naphthalene (1)을 선

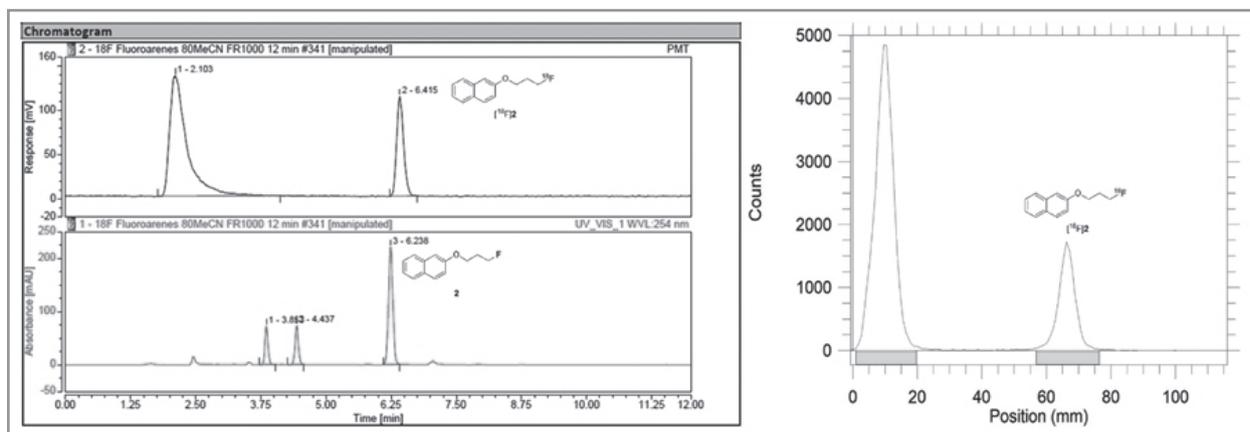


Figure 2. Representative radio-HPLC (coinjected with the authentic compound) and radio-TLC chromatogram.

백하였다(6,7,14–16). 각 반응당 TBAHCO₃의 양은 0.030 mL으로 고정하였고, 반응 용매는 아세토나이트릴과 다이메틸설폭사이드의 비율이 다른 4가지 조건으로 표지를 진행하였다. 기준에 보고한 K 2,2,2-/K₂CO₃를 사용한 연구에서는 다이메틸설폭사이드의 비율이 높아짐에 따라 방사화학적 수율도 높아졌는데 (6), TBAHCO₃를 사용한 본 실험에서도 동일한 경향성을 확인하였다. 또한, Figure 2에 있는 radio-HPLC 크로마토그램 및 radio-TLC 이미지에서 본 실험의 방법으로 진행된 표지 반응이 방사화학적으로 불순물 없이 잘 진행된 것도 확인할 수 있었다.

Conclusion

본 연구에서는 alkyl ammonium 염의 상전이제제 물질을 사용하여 용출된 불소-18 용액을 공비 증발 과정 없이 바로 표지 반응에 적용하였다. 용출을 위한 다양한 조건들을 최적화시킨 결과, 0.030 mL의 TBAHCO₃을 0.20 mL의 아세토나이트릴에 희석시킨 용리액이 70% 이상의 용리 효율을 보인다는 것을 확인하였다. 그리고 해당 방법으로 용출된 불소-18 용액을 공비 증발을 하지 않고 반응 전구체가 녹아져 있는 유기용매(다이메틸설폭사이드)와 혼합시켜서 진행한 표지 반응이 성공적으로 진행된 것도 확인하였다. 공비 증발을 하지 않은 불소-18 용출액을 유기용매와 함께 사용하여 PET 용 불소-18을 표지하는 방법은, 방사성의약품을 합성하는 과

정을 단순화 시켜 생산효율을 높일 뿐만 아니라, 새로이 개발될 방사성의약품의 반응성을 조사 하는데 에도 편리하게 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

Acknowledgments

이 연구는 한국연구재단의 재원으로 마련한 한국형 SGER 사업 (과제번호: NRF-2015R1D1A1A02061420) 및 연세대학교 의과대학 기초학신진교수 연구비 (과제번호: 6-2018-0100) 의 지원을 받아 수행된 것임을 밝힙니다.

References

1. Phelps ME. Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000;97:9226–9233.
2. Ametamey SM, Honer M, Schubiger PA. Molecular Imaging with PET. *Chem. Rev.* 2008;108:1501–1516.
3. Jacobson O, Kiesewetter DO, Chen X. Fluorine-18 Radiochemistry, Labeling Strategies and Synthetic Routes. *Bioconjug Chem.* 2015;26:1–18.
4. Miller PW, Long NJ, Vilar R, Gee AD. Synthesis of ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O, and ¹³N Radiolabels for Positron Emission

- Tomography. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008;47:8998–9033.
5. Cai L, Lu S, Pike VW. Chemistry with [¹⁸F]Fluoride Ion. *Eur. J. Org. Chem.* 2008;2853–2873.
 6. Kwon Y-D, Son J, Yun M, Chun J-H. Azeotropic drying-free aliphatic radiofluorination to produce PET radiotracers in a mixed organic solvent system. *Tetrahedron Lett.* 2018;59:2848–2852.
 7. Kim DW, Choe YS, Chi DY. A new nucleophilic fluorine-18 labeling method for aliphatic mesylates: Reaction in ionic liquids shows tolerance for water. *Nucl. Med. Biol.* 2003;30:345–350.
 8. Brichard L, Aigbirhio FI. An Efficient Method for Enhancing the Reactivity and Flexibility of [¹⁸F] Fluoride Towards Nucleophilic Substitution Using Tetraethylammonium Bicarbonate. *Eur. J. Org. Chem.* 2014;6145–6149.
 9. Aerts J, Voccia S, Lemaire C, Giacomelli F, Goblet D, Thonon D, Plenevaux A, Warnock G, Luxen A. Fast production of highly concentrated reactive [¹⁸F] fluoride for aliphatic and aromatic nucleophilic radiolabelling. *Tetrahedron Lett.* 2010;51:64–66.
 10. Lemaire CF, Aerts JJ, Voccia S, Libert LC, Mercier F, Goblet D, Plenevaux AR, Luxen AJ. Fast Production of Highly Reactive No-Carrier-Added [¹⁸F]Fluoride for the Labeling of Radiopharmaceuticals. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010;49:3161–3164.
 11. Mossine AV, Brooks AF, Ichiishi N, Makaravage KJ, Sanford MS, Scott PJH. Development of Customized [¹⁸F]Fluoride Elution Techniques for the Enhancement of Copper-Mediated Late-Stage Radiofluorination. *Sci. Rep.* 2017;7:233.
 12. Chun J-H, Telu S, Lu S, Pike VW. Radiofluorination of diaryliodonium tosylates under aqueous–organic and cryptand-free conditions. *Org. Biomol. Chem.* 2013;11:5094–5099.
 13. Obermayer D, Znidar D, Glotz G, Stadler A, Dallinger D, Kappe CO. Design and Performance Validation of a Conductively Heated Sealed-Vessel Reactor for Organic Synthesis. *J. Org. Chem.* 2016;81:11788–11801.
 14. Kim DW, Ahn D-S, Oh Y-H, Lee S, Kil HS, Oh SJ, Lee SJ, Kim JS, Ryu JS, Moon DH, Chi DY. A New Class of SN2 Reactions Catalyzed by Protic Solvents: Facile Fluorination for Isotopic Labeling of Diagnostic Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* 2006;128:16394–16397.
 15. Kim DW, Jeong H-J, Lim ST, Sohn M-H, Katzenellenbogen JA, Chi DY. Facile Nucleophilic Fluorination Reactions Using tert-Alcohols as a Reaction Medium: Significantly Enhanced Reactivity of Alkali Metal Fluorides and Improved Selectivity. *J. Org. Chem.* 2008;73:957–962.
 16. Shinde SS, Lee BS, Chi DY. Synergistic Effect of Two Solvents, tert-Alcohol and Ionic Liquid, in One Molecule in Nucleophilic Fluorination. *Org. Lett.* 2008;10:733–735.