

Re-evaluation of [^{18}F]fluorobenzaldehyde as a prosthetic group

Yearn Seong Choe*

Department of Nuclear Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea and Department of Health Sciences and Technology, SAIHST, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea

ABSTRACT

[^{18}F]Fluorobenzaldehyde, which is a versatile radioactive prosthetic group, can undergo reduction, reductive amination, or oxidation to be used for synthesis of diverse radiotracers. This review covers synthesis of [^{18}F]fluorobenzaldehyde and its conversion to secondary prosthetic groups, and also highlights its application to the development of radiotracers.

J Radiopharm Mol Probes 1(2):75-79, 2015

Key Words: [^{18}F]Fluorobenzaldehyde, Trimethylammoniumbenzaldehyde triflate, Iodonium salt, Prosthetic group, Reduction, Reductive amination (alkylation), Oxidation

Introduction

^{18}F 은 양전자방출단층촬영술(PET)에 사용되는 방사성 의약품을 합성할 때 가장 빈번히 사용되는 방사성핵종이다. 이는 ^{18}F 이 대부분 양전자 방출에 의하여 붕괴되며 (97%) 낮은 양전자 에너지로 인하여 조직에서 방사선량이 낮고 짧은 비정을 가질 뿐만 아니라, 사이클로트론에서 쉽게 생산되고 적절한 반감기(109.8분)를 가지기 때문이다.

^{18}F -표지반응에는 친핵성치환반응이 주로 사용된다(1,2). 지방족 친핵성 플루오르화반응은 ^{18}F 이 전구물질의 toluenesulfonate ester, *para*-nitrobenzenesulfonate ester, methanesulfonate ester, trifluoromethanesulfonate ester, 할로겐, epoxide, cyclic sulfate 등의 이탈기를 치환하여 화합물을 표지한다. 방향족 고리에 ^{18}F 을 직접 표지하는 방법에는 Balz-Schiemann 반응(diazonium fluoroborate의 분해에 의하여 방향족 플루오라이드 합성), Wallach 반응(triazene의 분해에 의하여 방향족 플루오라이드 합성) 등도 보고되어 있으나 수율이 낮고 비방사능이 낮거나 다른 부반응이 많아서 널리 사용되는 방법은 아니다. 방향족 고리

에 ^{18}F 을 도입하는 가장 효과적인 방법은 방향족 친핵성 치환반응($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$)이다. 그러나 ^{18}F 을 화합물에 직접 표지하기가 어려운 경우에는 방향족 고리에 ^{18}F 을 도입한 보결 그룹을 사용하여 온화한 조건에서 다양한 화합물(저분자 화합물, 펩타이드 및 단백질)에 ^{18}F 을 표지할 수 있다. 이 종설에서는 많은 보결그룹 중에서 [^{18}F]fluorobenzaldehyde를 중심으로 방사성추적자 합성에 어떻게 사용되는지 알아보았다.

[^{18}F]Fluorobenzaldehyde의 합성

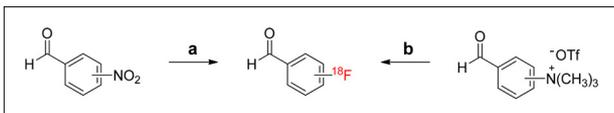
방향족 친핵성 플루오르화반응에서 이탈기의 *ortho* 또는 *para* 위치에 하나 이상의 전자 끄는기가 있으면 방향족 고리가 활성화되어 플루오르화반응이 잘 일어난다. 전자 끄는기는 생성물의 일부가 되거나 필요한 다른기로 쉽게 전환이 되기도 하며 어떤 경우에는 플루오르화반응 후에 완전히 제거되기도 한다. 이때 가장 널리 사용되는 이탈기는 nitro와 trimethylammonium기이며, nitrophenyl기를 가지는 전구물질은 trimethylammoniumphenyl기를 가지는 전구물질에 비하여 합성하기가 용이

Received: September 28, 2015 / Revised: November 27, 2015 / Accepted: December 2, 2015

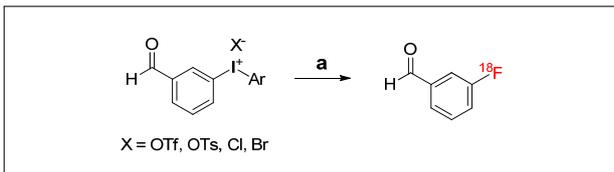
Corresponding Author: Yearn Seong Choe

Department of Nuclear Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, 81 Ilwon-ro, Kangnam-ku, Seoul 06351, Korea
Tel: +82-2-3410-2623, Fax: +82-2-3410-2667, E-mail: ysnm.choe@samsung.com

Copyright © 2015, The Korean Society of Radiopharmaceuticals and Molecular Probes

Scheme 1. Synthesis of 2- and 4-[¹⁸F]Fluorobenzaldehyde^{a)}

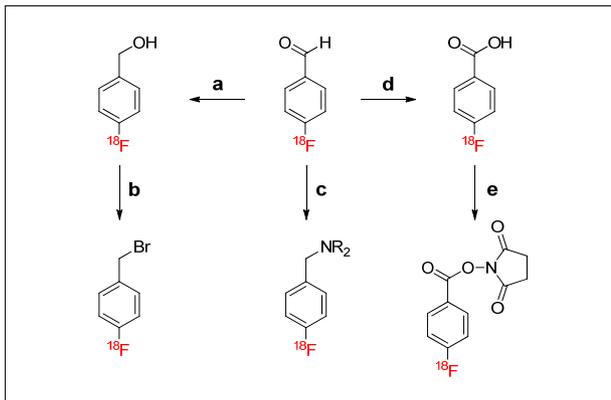
^{a)} Reagents and conditions: (a) ¹⁸F, *n*-Bu₄NOH (or Kryptofix 222 and K₂CO₃), DMSO, 120-140°C; (b) ¹⁸F, *n*-Bu₄NOH (or Kryptofix 222 and K₂CO₃), DMSO, 80-90°C.

Scheme 2. Synthesis of 3-[¹⁸F]Fluorobenzaldehyde^{a)}

^{a)} Reagents and conditions: (a) (Ar: phenyl; X: Br) ¹⁸F, CsHCO₃, DMF, TEMPO, 110°C, 5 min, MW; (Ar: 2-thienyl; X: Cl) ¹⁸F, Kryptofix 222, K₂CO₃, DMF, 180°C, 5 min, microreactor.

한데 비하여 ¹⁸F-표지 후 반응생성물과 분리가 잘되지 않는 경우가 많고, 후자는 전하를 가지고 있으므로 쉽게 분리되는 장점이 있다 (Scheme 1) (3). 또한 ¹⁸F-표지반응에서도 전자는 120~140°C 등의 고온이 필요한 반면, 후자는 80-90°C, 4-5분 조건에서 생성물이 높은 수율로 얻어진다. Wilson 등은 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehyde의 비방사능이 2-[¹⁸F]fluorobenzaldehyde의 비방사능 보다 2-4배 높은 것으로 보고하였다(4). 그러나 우리 연구팀에서 얻은 결과에서는 두 이성체의 비방사능은 유사하였으며, TLC 분석 결과 2-[¹⁸F]fluorobenzaldehyde의 수율은 40-50%로 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehyde의 70-90% 수율보다 낮았는데, 이는 아마도 *ortho*-위치에 있는 알데히드기의 입체 장애 때문일 것으로 생각된다(5).

종래의 방향족 친핵성치환반응으로는 benzaldehyde의 *meta*-위치에는 ¹⁸F을 치환하는 것이 불가능하여 최근에는 다이아릴아이오도늄 염을 사용하여 *ortho*- 및 *para*-위치뿐만 아니라 *meta*-위치에 ¹⁸F이 치환된 [¹⁸F]fluorobenzaldehyde를 합성하는 방법이 보고되었다(Scheme 2). Basuli 등은 유사방향족(homoaromatic) 아이오도늄염을 사용하여 3-[¹⁸F]fluorobenzaldehyde를 합성하였다(6). 여러 반대이온(카운터 이온)을 가진 다이아릴아이오도늄염 중에서 브로마이드 이온을 가지는 phenyl(3-formylphenyl)iodonium bromide를 사용하였고 용매로 DMF, 염기로 CsHCO₃, 라디칼 스카벤저 2,2,6,6-tetramethylpiperidine 1-oxyl (TEMPO)를 사용하여 마이크로웨이브 반응기에서 110°C에서 5분 동안 반응하여 높은 수율(80%)의 3-[¹⁸F]fluorobenzaldehyde를

Scheme 3. 4-[¹⁸F]Fluorobenzaldehyde and Its Secondary Radioactive Prosthetic Groups^{a)}

^{a)} Reagents and conditions: (a) NaBH₃CN, 2 N HCl, CH₃OH, room temperature; (b) 48% HBr, 90°C; (c) R₂NH, NaBH₃CN, CH₃COOH, 130°C; (d) KMnO₄, NaOH, 120°C; (e) *N,N*-disuccinimidyl carbonate, pyridine, CH₃CN, 150°C.

합성하였다. 이 반응에서는 다량의 라디칼 스카벤저(20 mol%)를 사용하였으며 부산물로 6%의 [¹⁸F]fluorobenzene이 얻어졌다. 다이아릴아이오도늄 염을 사용하는 반응에서는 방향족 요오드의 균일분해에 의하여 생길 수 있는 방향족 라디칼이 부반응을 일으키는 것을 방지하기 위하여 라디칼 스카벤저를 사용하는데, 이는 ¹⁸F-표지반응의 재현성과 수율을 증가시키는 데 기여하며 TEMPO가 가장 적합하였다(7). 또한 생성물 합성에 참여하지 않는 방향족 고리로 전자가 풍부한 2-thienyl ring을 사용하는 복소방향족(heteroaromatic) 아이오도늄염에서 전자가 덜 풍부한 벤젠 고리에 위치선택적으로 친핵성 플루오르화반응이 일어나는 결과가 보고되었다(8). Chun과 Pike는 microfluidics를 사용하여 TEMPO를 사용하지 않고 복소방향족 아이오도늄염에서 2-thienyl ring을 사용하고 반대로 이온으로 클로라이드를 사용하여(180°C, 약 5분) 3-[¹⁸F]fluorobenzaldehyde를 선택적으로 합성하였다(46% 수율) (9).

[¹⁸F]Fluorobenzaldehyde의 환원반응

[¹⁸F]Fluorobenzaldehyde는 [¹⁸F]fluorobenzyl alcohol로 환원된 후 [¹⁸F]fluorobenzyl halide로 전환하여 생활성 화합물과 알킬화반응에 사용될 수 있다(Scheme 3). Hatano 등과 Mach 등은 2- 및 4-[¹⁸F]fluorobenzyl bromide를 합성하여 화합물의 *N*-benzylation에 사용하였다(10,11). Iwata 등은 자동화된 합성장치를 사용하여 다양한 인화라이드를 사용하여 [¹⁸F]fluorobenzaldehyde로부터 [¹⁸F]fluorobenzyl hal-

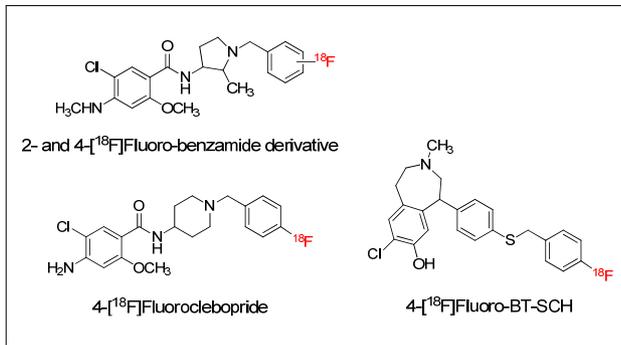


Figure 1. ¹⁸F-Labeled Radiotracers Synthesized Using [¹⁸F]Fluorobenzyl Halide.

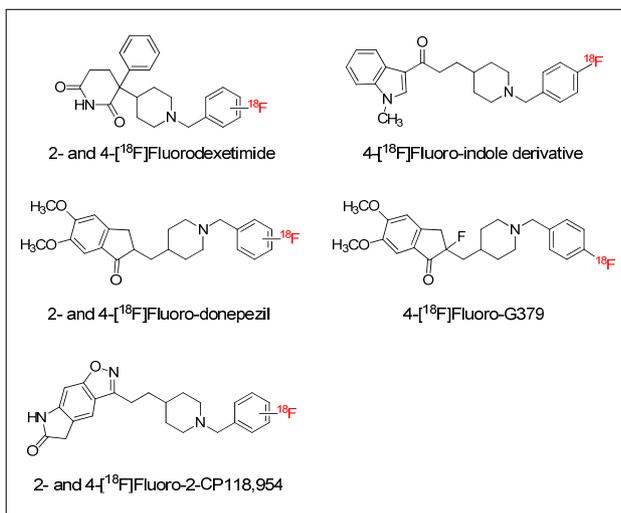


Figure 2. ¹⁸F-Labeled Radiotracers Synthesized via Reductive Amination.

ide를 효율적으로 생산하는 방법을 개발하였다(12). 최적화된 방법으로는 [¹⁸F]fluorobenzaldehyde를 C18 카트리지에 트랩하고 NaBH₄ 수용액을 통과시켜서 [¹⁸F]fluorobenzyl alcohol로 환원한 후 P₂I₄와 40°C에서 10분 이내 반응하여 [¹⁸F]fluorobenzyl iodide를 90% 수율로 얻었으며, 또한 Ph₃PBr₂와 상온에서 5분 동안 반응하여 거의 정량적으로 [¹⁸F]fluorobenzyl bromide를 얻었다(EOB로부터 30분 이내 방사화학적 수율 50-60%, HPLC 분석 결과 방사화학적 순도 98% 이상). 이렇게 합성된 [¹⁸F]fluorobenzyl halide는 도파민 D₁과 D₂ 수용체 영상 추적자 개발에 활용되었다(Figure 1) (10,11).

[¹⁸F]Fluorobenzaldehyde의 환원적아민화 (알킬화) 반응

환원적아민화 반응은 알데히드 또는 케톤의 카보닐기

와 아민이 반응한 후 중간체로 이미니움 이온을 형성한 후에 환원제에 의하여 환원하여 아민을 만드는 방법으로, 제약업계에서 아민을 만드는데 자주 사용되는 방법이기도 하다. 이 반응은 용매로 DMSO 또는 DMF를 사용하고 약산인 초산을 사용하여 pH를 조절한 후 환원제로 NaBH₃CN를 사용하는데 알데히드 또는 케톤을 환원하지 않고 선택적으로 이미니움 이온을 환원하기 때문이다(Scheme 3) (13).

[¹⁸F]Fluorobenzaldehyde와 아민을 함유한 화합물의 환원적아민화 반응은 Wilson 등에 의하여 처음 시도되었다. 2- 및 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehyde을 합성하고 이 반응 용기에 바로 norbenzyl dexetimide와 NaBH₃CN, 초산을 넣은 후 120°C, 10분 one-pot 반응으로 높은 비방사능과 비교적 높은 수율로 2- 및 4-[¹⁸F]fluorodexetimide를 합성하였다(4). 이 방법은 또한 아세틸콜린에스테라제 영상을 위한 방사성추적자 개발에도 활용되었다(Figure 2) (5,14-17). 그리고 [¹⁸F]fluorobenzaldehyde의 환원적아민화 반응은 one pot에서 2단계 반응으로 수행되기 때문에 다단계 반응인 [¹⁸F]fluorobenzyl halide와 아민의 반응을 대체할 수 있는 장점이 있다.

[¹⁸F]Fluorobenzaldehyde의 산화반응

저분자 화합물뿐만 아니라 분자량이 작은 펩타이드들은 표적 대 배경 섭취비가 높고 혈액에서 제거가 빠르기 때문에 ¹⁸F과 같은 크기가 작고 반감기가 비교적 짧은 방사성동위원소를 표지하는 것도 도움이 된다. 그러나 ¹⁸F-표지방법이 유기용매와 가열 등의 강한 조건, 오랜 시간과 노력을 요하는 경우가 많다. 또한 작은 펩타이드에 비교적 큰 ¹⁸F-표지 보결그룹이 붙으면 분자량이 큰 단백질에서는 존재하지 않는 활성의 저하가 일어날 수도 있다. ¹⁸F-표지를 위한 보결그룹으로는 여러 가지가 알려져 있으며(18,19), 사용하는 펩타이드와 단백질에 따라 차이가 있지만 수율과 체내안정성 등을 고려할 때 *N*-succinimidyl 4-[¹⁸F]fluorobenzoate ([¹⁸F]SFB)가 유용한 것으로 알려져 있다.

Vaidyanathan와 Zalutsky는 [¹⁸F]SFB를 사용하여 단일항체의 Lys 잔기의 아민기와 아미드 결합을 형성함으로써 ¹⁸F을 도입하는 방법을 개발하였으며(20), 긴 표지 시간을 줄이기 위하여 dicyclohexylcarbodiimide와 *N*-hydroxysuccinimide를 사용하는 방법 대신 *N,N'*-disuccinimidyl carbonate를 사용하고 반응 온도를 150°C로 올려 4-[¹⁸F]fluo-

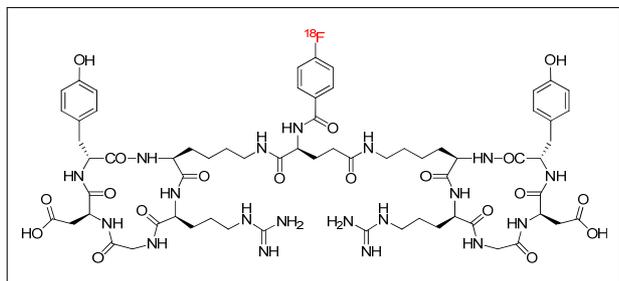


Figure 3. ^{18}F -Labeled Dimeric RGD Peptide Prepared Using ^{18}F SFB.

robenzoic acid로부터 ^{18}F SFB를 용이하게 합성한 결과를 보고하였다(21). 우선 4- ^{18}F fluorobenzaldehyde를 KMNO_4 와 120°C 에서 3분 정도 반응하여 4- ^{18}F fluorobenzoic acid로 산화하고 work-up하여 분리한 후 N,N -disuccinimidyl carbonate와 pyridine을 넣고 150°C 에서 3분 반응하고 HPLC로 정제하여 30-35%의 감쇠보정 방사화학적수율과 11-12 $\text{GBq}/\mu\text{mol}$ 의 비방사능을 가진 ^{18}F SFB를 합성하였다(22). 총 3단계반응으로 반응시간은 약 80분이었다. 이후에 ^{18}F SFB의 합성법을 개선하여 방사화학적 수율을 높이고 반응시간을 단축한 연구결과들이 보고되었다(23,24). ^{18}F SFB는 ^{18}F 의 비교적 짧은 반감기로 인하여 항체 및 단백질보다는 RGD, bombesin 등 다양한 펩타이드의 ^{18}F -표지에 널리 활용되어지고 있다(25,26) (Figure 3).

전망

많은 보고에 의하여 ^{18}F fluorobenzaldehyde가 방사성 보결그룹으로 사용되거나 이차 보결그룹으로 전환된 후 저분자 화합물뿐만 아니라 펩타이드, 단백질 등 다양한 화합물의 ^{18}F -표지에 유용하게 사용될 수 있다는 것을 알 수 있었다. Benzaldehyde의 *ortho*- 및 *para*-위치뿐만 아니라 *meta*-위치에도 높은 수율로 ^{18}F -치환이 가능하여 다양한 방사성추적자를 합성할 수 있으므로 ^{18}F fluorobenzaldehyde를 사용하는 표지방법이 앞으로도 널리 사용될 수 있을 것으로 생각한다. 또한 ^{18}F fluorobenzaldehyde의 새로운 이차 보결그룹을 개발하는 분야도 직접 ^{18}F -표지가 되지 않는 화합물의 표지반응에 큰 도움이 될 것으로 기대한다.

Acknowledgments.

이 논문은 미래창조과학부의 재원으로 시행되는 한국연구재단의 연구지원프로그램으로 지원받았습니다(연구과제 관리코드: 2011-0030164). 이권에 대한 문제(conflict of

interest)를 일으킬 수 있는 상업적인 관련성은 없습니다.

References

- Snyder SE, Kilbourn MR. Chemistry of fluorine-18 radiopharmaceuticals. In: Welch MJ, Redvanly CS, editors. Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications. Chichester: Wiley; 2003. p. 195-227.
- Choe YS. Radiolabeling methods used for preparation of molecular probes. *Korean J Nucl Med* 2004;38:121-130.
- Haka MS, Kilbourn MR, Watkins GL, Toorongian SA. Aryltrimethylammonium trifluoromethanesulfonates as precursors to aryl ^{18}F fluoride: Improved synthesis of ^{18}F GBR-13119. *J Labelled Cpd Radiopharm* 1989;27:823-833.
- Wilson AA, Dannals RF, Ravert HT, Wagner HN. Reductive amination of ^{18}F fluorobenzaldehydes: Radiosyntheses of [2- ^{18}F] and [4- ^{18}F]fluorodexetimides. *J Labelled Cpd Radiopharm* 1990; 28:1189-1199.
- Ryu EK, Choe YS, Park EY, Paik JY, Kim YR, Lee KH, Choi Y, Kim SE, Kim BT. Synthesis and evaluation of 2- ^{18}F fluoro-CP-118,954 for the in vivo mapping of acetylcholinesterase. *Nucl Med Biol* 2005;32:185-191.
- Basuli F, Wu H, Griffiths GL. Syntheses of meta- ^{18}F fluorobenzaldehyde and meta- ^{18}F fluorobenzylbromide from phenyl(3-Formylphenyl) iodonium salt precursors. *J Labelled Compd Radiopharm* 2011;54:224-228.
- Carroll MA, Nairne J, Smith G, Widdowson DA. Radical scavengers: A practical solution to the reproducibility issue in the fluoridation of diaryliodonium salts. *J Fluorine Chem* 2007; 128:127-132.
- Ross TL, Ermert J, Hocke C, Coenen HH. Nucleophilic ^{18}F -fluorination of heteroaromatic iodonium salts with no-carrier-added ^{18}F fluoride. *J Am Chem Soc* 2007;129:8018-8025.
- Chun JH, Pike VW. Single-step syntheses of no-carrier-added functionalized ^{18}F fluoroarenes as labeling synthons from diaryliodonium salts. *Org Biomol Chem* 2013;11:6300-6306.
- Hatano K, Ido T, Iwata R. The synthesis of *o*- and *p*- ^{18}F fluorobenzyl bromides and their application to the preparation of labeled neuroleptics. *J Labelled Compd Radiopharm* 1991;29:373-80.
- Mach RH, Elder ST, Morton TE, Nowak PA, Evora PH, Scripko JG, Luedtke RR, Unsworth CD, Filtz T, Rao AV, Molino, PB, Ehrenkauf RLE. The use of ^{18}F 4-Fuorobenzyl iodide (FBI) in PET radiotracer synthesis: model alkylation studies and its application in the design of dopamine D_1 and D_2 receptor-based imaging agents. *Nucl Med Biol* 1993;20:777-794.
- Iwata R, Pascali C, Bogni A, Horvath G, Kovács Z, Yanai K, Ido T. A new, convenient method for the preparation of 4- ^{18}F fluorobenzyl halides. *Appl Radiat Isot* 2000;52:87-92.
- Borch RF, Bernstein MD, H. Durst HD. The cyanohydrinborate anion as a selective reducing agent. *J Am Chem Soc* 1971;93: 2897-904.
- Choe YS, Oh SJ, Shim I, Naruto S, Chi DY, Kim SE, Lee KH,

- Choi Y, Kim BT. Syntheses and biological evaluation of ^{18}F -labeled 3-(1-benzyl-piperidin-4-yl)-1-(1-methyl-1*H*-indol-3-yl)propan-1-ones for *in vivo* mapping of acetylcholinesterase. *Nucl Med Biol* 2000;27:263-267.
15. Lee SY, Choe YS, Sugimoto H, Kim SE, Hwang SH, Lee KH, Choi Y, Lee J, Kim BT. Synthesis and biological evaluation of 1-(4-[^{18}F]fluorobenzyl)-4-[(5,6-dimethoxy-1-oxoindan-2-yl)methyl]piperidine for *in vivo* studies of acetylcholinesterase. *Nucl Med Biol* 2000;27:741-744.
16. Lee SY, Choe YS, Kim YR, Paik JY, Choi BW, Kim SE, Lee KH, Choi Y, Kim BT. Synthesis and evaluation of 5,7-dihydro-3-[2-[1-(4-[^{18}F]-fluorobenzyl)-4-piperidinyl]ethyl]-6*H*-pyrrolo[3,2-*f*]-1,2-benzisoxazol-6-one for *in vivo* mapping of acetylcholinesterase. *Nucl Med Commun* 2004;25:591-596.
17. Lee SY, Choe YS, Ryu EK, Iimura Y, Choi Y, Lee KH, Kim BT. Is subnanomolar binding affinity required for the *in vivo* imaging of acetylcholinesterase? Studies on ^{18}F -labeled G379. *Nucl Med Biol* 2006;33:91-94.
18. Wester H-J, Hamacher K, Stöcklin G. A comparative study of N.C.A. fluorine-18 labeling of proteins via acylation and photochemical conjugation. *Nucl Med Biol* 1996;23:365-372.
19. Richter S, Wuest F. ^{18}F -Labeled peptides: the future is bright. *Molecules* 2014;19:20536-20556.
20. Vaidyanathan G, Zalutsky MR. Labeling proteins with fluorine-18 using *N*-succinimidyl 4-[^{18}F]fluorobenzoate. *Nucl Med Biol* 1992;19:275-281.
21. Vaidyanathan G, Zalutsky MR. Improved synthesis of *N*-succinimidyl 4-[^{18}F]fluorobenzoate and its application to the labeling of a monoclonal antibody fragment. *Bioconjugate Chem* 1994;5:352-356.
22. Vaidyanathan G, Zalutsky MR. Synthesis of *N*-succinimidyl 4-[^{18}F]fluorobenzoate, an agent for labeling proteins and peptides with ^{18}F . *Nat Protoc* 2006;1:1655-1661.
23. Wüst F, Hultsch C, Bergmann R, Johannsen B, Henle T. Radiolabelling of isopeptide *N*^c-(γ -glutamyl)-L-lysine by conjugation with *N*-succinimidyl-4-[^{18}F]fluorobenzoate. *Appl Radiat Isot* 2003;59:43-48.
24. Tang G, Zeng WB, Yu MX, Kabalka G. Facile synthesis of *N*-succinimidyl 4-[^{18}F]fluorobenzoate ([^{18}F]SFB) for protein labeling. *J Labelled Compd Radiopharm* 2008;51:68-71.
25. Zhang X, Xiong Z, Wu Y, Cai W, Tseng JR, Gambhir SS, Chen X. Quantitative PET imaging of tumor integrin $\alpha_v\beta_3$ expression with ^{18}F -FRGD2. *J Nucl Med* 2006;47:113-121.
26. Zhang X, Cai W, Cao F, Schreiber E, Wu Y, Wu JC, Xing L, Chen X. ^{18}F -Labeled bombesin analogs for targeting GRP receptor-expressing prostate cancer. *J Nucl Med* 2006;47:492-501.