universität wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Methoden zur Herstellung von [^{18}F]FE@SNAP

Verfasserin

Milica Zdravkovic

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:	A 449
Studienrichtung lt. Studienblatt:	Diplomstudium Pharmazie
Betreuerin / Betreuer:	O. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Viernstein

Danksagung

Mein herzlichstes Dankeschön gilt all jenen, die mich in der Zeit der Durchführung meiner Diplomarbeit fachlich und persönlich unterstützt haben:

O. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Viernstein für die Betreuung der Diplomarbeit.

PD. Dr. Markus Mitterhauser für die Zurverfügungstellung des äußerst interessanten Themas und herzliche Aufnahme in sein Team.

Der gesamten Arbeitsgruppe der Radiopharmazie/-chemie des AKH Wien für die angenhme Arbeitsatmosphäre und ihre Unterstützung während des praktischen Arbeitens (Ass.-Prof. Dr. Wolfgang Wadsak, Mag.[a] Johanna Ungersböck, Mag. Lukas Nics, Markus Zeilinger, BSc, Dr.[in] Daniela Häusler, Christina Mark, MSc).

Mein besonderer Dank gilt meiner Betreuerin, Mag.[a] Cécile Philippe, für ihre unendliche Hilfsbereitschaft und ständige Unterstützung.

Anschließend möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern des Departments für Arznei- und Naturstoffsynthese für die Bereitstellung der Präkursoren bedanken.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung....2
Zusammenfassung....5
Summary....6
1. Einleitung....7
1.1. Das melaninkonzentrierende Hormon....7
1.2. Der MCH-Rezeptor....7
1.3. SNAP-7941....9
1.4. Kontrolle der Nahrungsaufnahme durch das ZNS....11
1.4.1. Adipositas....11
1.4.1.1. Therapie der Adipositas....13
1.4.1.1.1. Diätetische Maßnahmen....14
1.4.1.1.2. Pharmakotherapie....14
1.5. Grundlagen der Nuklearmedizin und nuklearmedizinische Anwendung von Radionukliden....15
1.6. Positronenemissionstomographie....18
1.6.1. PET-Radiopharmaka....20
1.7. Radionuklidherstellung....20
1.7.1. Prinzip eines Ionenbeschleunigers....21
1.7.2.Produktion von [^{18}F]Fluorid....22
1.7.3. Radionuklidgenerator....22
1.7.4. Produktion im Reaktor....23
1.8. ^{18}F zur Markierung pharmazeutischer Wirkstoffe....23
1.8.1. Elektrophile Fluorierungen....24
1.8.2. Nukleophile Fluorierungen....24
1.8.3. Fluoralkylierungen....25
1.9. Anwendung der Mikrofluidtechnologie zur Radiomarkierung pharmazeutischer Wirkstoffe - Advion NanoTek Synthesiser....26
1.10. Radiopharmaka als Arzneimittel....27
2. Eigene Untersuchungen....30
2.1. Zielsetzung....30
2.2. Produktion von ^{18}F als [^{18}F]Fluorid – Bedienung des Zyklotrons, Herstellung und Delivery der Aktivität....30
2.3. Fluorethylierungsversuche ausgehend von der SNAP-Säure....31
2.3.1. [^{18}F]FE@SNAP ausgehend von SNAP-Säure und 1-Brom-2-[^{18}F]fluorethan....31
2.3.2.[^{18}F]FE@SNAP ausgehend von SNAP-Säure und [^{18}F]Fluorethyltriflat....35
2.3.2.1. Synthese von Ethylenbistriflat....35
2.3.2.2. Synthese von [^{18}F]FE@SNAP über [^{18}F]Fluorethyltriflat....36
2.3.3.[^{18}F]FE@SNAP ausgehend von SNAP-Säure und [^{18}F]Fluorethyltosylat....38
2.3.4. [^{18}F]FE@SNAP ausgehend von SNAP-Säure und 2-[^{18}F]Fluorethanol....40
2.3.4.1. Steglich-Veresterung....40
2.3.4.2. Versuche zur Darstellung von 2-[^{18}F]Fluorethanol....41
2.3.4.2.1. Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethanol über 2-Bromethanol....41
2.3.4.2.2. Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethanol über [^{18}F]Fluorethyltosylat....43
2.3.4.2.3. Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethanol über [^{18}F]Fluorethyltriflat....45
2.4. Synthese von [^{18}F]FE@SNAP ausgehend von Tos@SNAP und [^{18}F]Fluorid....46
2.4.1. Synthese von Tos@SNAP....46

2.4.2. Synthese von [^{18}F]FE@SNAP über Tos@SNAP.....47
2.4.2.1. Optimierung der Reaktionsbedingungen (Advion NanoTek Synthesizer).....47
2.4.2.2. Ablauf der Synthese.....50
2.4.2.3. Nuclear Interface.....52
2.4.2.3.1. Vorgangsweise.....53
2.4.2.4. Qualitätskontrolle.....55
2.5. Kalibrationsgerade.....59
3. Diskussion.....60
4. Conclusio.....62
5. Literaturverzeichnis.....63
6. Abkürzungsverzeichnis.....67
7. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....72
8. NMR-Spektrum.....73
9. Herstellungsprotokolle.....74
Lebenslauf.....79

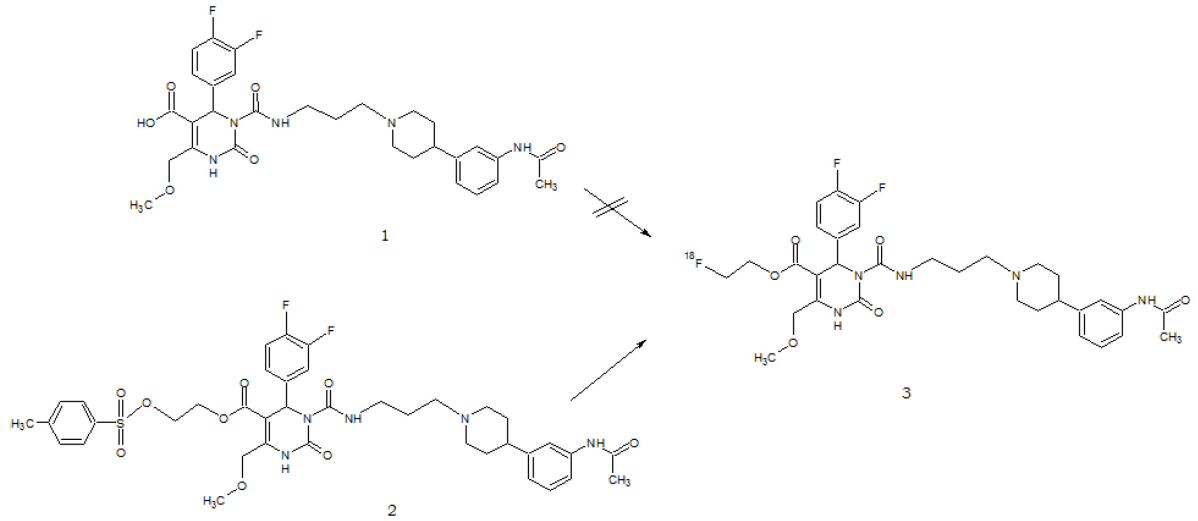
Zusammenfassung

Das MCH (melanin concentrating hormone) ist ein hypotalamisches Neuropeptid, das bei der Regulation des Körpergewichts und Krankheiten wie Depression, Angststörungen und Diabetes eine wichtige Rolle spielt. Um den Zusammenhang des MCH-Systems mit diesen physiologischen und pathophysiologischen Vorgängen besser verdeutlichen zu können bzw. die Wirksamkeit einer antiadipösen, antidepressiven oder anxiolytischen Therapie beurteilen zu können, ist es für die nuklearmedizinische Forschung von großem Interesse, den MCH-Rezeptor 1 sichtbar zu machen.

Hierzu wird an der Synthese neuer PET-Radiopharmaka gearbeitet. Derzeit kommen zwei Verbindungen in Betracht und zwar das [^{11}C]SNAP-7941 und das fluorethylierte Analogon [^{18}F]FE@SNAP (3).

Das Ziel dieser Diplomarbeit war einen Syntheseweg für das [^{18}F]FE@SNAP zu etablieren. Es wurde nach einer möglichst einfachen Methode zur Herstellung dieser Verbindung gesucht, um deren Anwendung in den präklinischen Studien und später auch ihre Routine-Produktion in der klinischen Anwendung zu ermöglichen. Hierfür war auch eine ausreichend hohe radiochemische Ausbeute notwendig (>150 MBq). Außerdem wurde das Produkt letztendlich wie jedes Arzneimittel einer Qualitätskontrolle unterzogen.

Die Synthesen wurden ausgehend von zwei Präkursoren durchgeführt – von der freien SNAP-Säure (1) und dem Tos@SNAP (2).



Durch die Umsetzung von Tos@SNAP mit dem unmittelbar vorher im Zyklotron hergestellten und azeotrop getrockneten [^{18}F]Fluorid im Advion NanoTek Synthesizer, einem Mikrofluidsystem, und anschließende Reinigung und Formulierung im Synthesemodul Nuclear Interface hat man letztendlich zufriedenstellende Ergebnisse bekommen. Die Ausbeute betrug ≤662 MBq und alle überprüften Qualitätsanforderungen wurden erfüllt.

Ausgehend von der SNAP-Säure ließ sich das [^{18}F]FE@SNAP hingegen nicht herstellen.

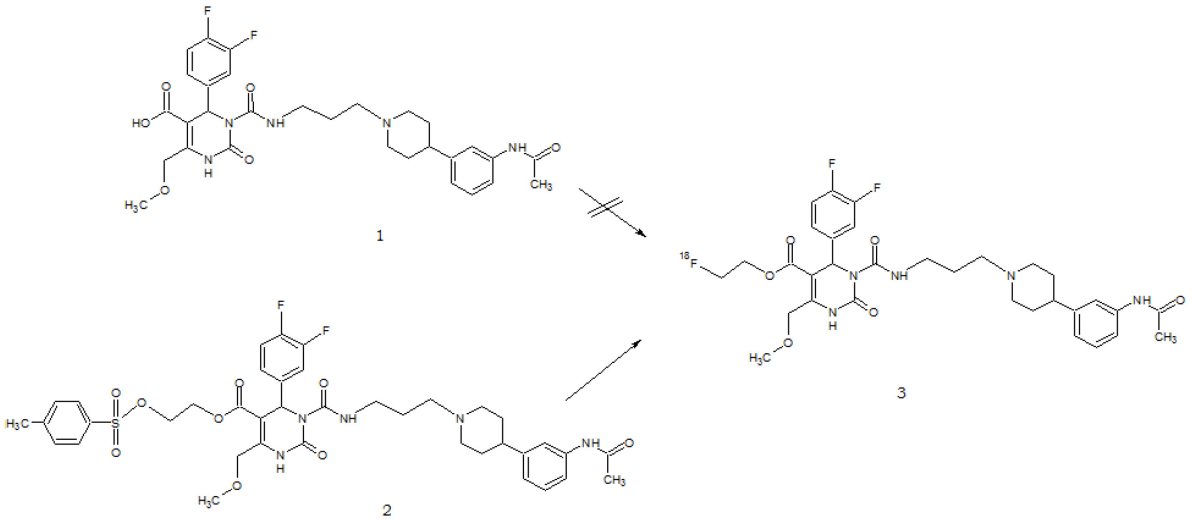
Summary

MCH (melanine concentrating hormone) is a hypotalamic neuropeptide which plays an important role in controlling body weight and diseases like depression, anxiety disorders and diabetes. In order to better explain the interdependence of the MCH-system with these physical and patho-physical processes respectively to judge the effectiveness of anti-adiposity, anti depressive or anxiolytical therapies, it is of major interest for nuclear medical research to make the MCH-receptor 1 visible.

For this purpose the syntheses of new PET-radio-pharmaceuticals is being tested. There are currently two connections in focus, namely the [^{11}C]SNAP-7941 and the fluoride-ethylized analogon [^{18}F]FE@SNAP (3).

This thesis aims at establishing a mode of synthesis for the [^{18}F]FE@SNAP. The simplest possible method for creating this connection has been researched, in order to enable its application in pre-clinical studies and later on for its routine production in clinical application as well. It was therefore necessary to achieve a sufficiently high radio-chemical yield (>150 MBq). Moreover the product was finally subject to quality control like any other drug.

The syntheses have been carried out based on two precursors – the free SNAP-acid (1) and the Tos@SNAP (2).



Finally, satisfactory results have been achieved by means of converting Tos@SNAP with the previously cyclotron generated and azeotrop dried [^{18}F]fluoride in the Advion NanoTek synthesizer, a micro-fluid system and final cleansing and formulating in the synthesis module Nuclear Interface. The yield was ≤662 MBq and all tested quality requirements were met.

As opposed to that, the [^{18}F]FE@SNAP could not be created based on SNAP acid.

1. Einleitung

1.1. Das melaninkonzentrierende Hormon

Melanin concentrating hormone (melaninkonzentrierendes Hormon, MCH) ist ein orexigenes hypothalamisches Neuropeptid, das beim Energiehaushalt und der Regulation des Körpergewichts eine wichtige Rolle spielt. Des Weiteren wurde in Tierversuchen gezeigt, dass Änderungen in der Expression des MCH-R_1 (Melanin concentrating hormone rezeptor 1) auch mit Krankheiten wie Depression oder Angststörungen im Zusammenhang stehen.[1] MCH setzt sich aus 19 Aminosäuren zusammen und weist eine zyklische Struktur auf.[2] Der Arginin-Rest in Position 11 scheint für die Wirkung des MCH eine wichtige Rolle zu haben. In Experimenten führte der Umtausch von Arg^{11} gegen Ala zu fast komplettem Aktivitätsverlust, während der Umtausch von Arg^{14} keine signifikanten Veränderungen zur Folge hatte.[3]

Intrazerebrovaskuläre Applikation des MCH führt bei Mäusen zu Hyperphagie und Gewichtszunahme, während Entfernung des MCH-exprimierenden Gens in einem mageren Phänotyp resultiert.[4] Weiters wurde in Tiermodellen festgestellt, dass Blockade des MCH-R_1 eine ähnliche Wirkung hat wie klinisch eingesetzte Anxiolytika und Antidepressiva.[1]

Das melaninkonzentrierende Hormon wurde ursprünglich aus der Hypophyse des Knochenfisches isoliert. Von dort aus wird es in den Kreislauf abgegeben und bewirkt die Aggregation des Hautfarbstoffes Melanin, was zur Aufhellung der Haut führt. Dadurch wird der melaninverteilende Effekt von α-MSH (α-Melanocytenstimulierendes Hormon) antagonisiert. Die Farbänderung tritt als Reaktion auf den jeweiligen Hintergrund auf.[5]

1.2. Der MCH-Rezeptor

MCH entfaltet seine Wirkung über den MCH-Rezeptor, der zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gehört.[2] Der MCH-Rezeptor wurde aufgrund seiner großen strukturellen Ähnlichkeit zu den Somatostatin-Rezeptoren erstmalig unter dem Namen Somatostatin-like Rezeptor (SLC-1) beschrieben.[6]

Man unterscheidet zwischen 2 Typen von MCH-Rezeptoren: MCH-Rezeptor 1 (MCH-R_1) und MCH-Rezeptor 2 (MCH-R_2). Der MCH-R_1 kommt in diversen Spezies vor (Mensch, Affe, Maus, Ratte, Hund), während MCH-R_2 in Nagetieren nicht nachgewiesen werden konnte.[7] Die beiden Rezeptoren weisen eine Ähnlichkeit von 38% der Aminosäuresequenz auf.[8]

Der MCH-Rezeptor beinhaltet 353 Aminosäuren.[9] Er besteht aus 7 α-helikalen transmembranären Domänen, welche einen intrazellulären C- und einen extrazellulären N-Terminus besitzen.[10] Diese transmembranären Domänen sind durch intra- bzw. extrazelluläre Schleifen verbunden und bilden im Rezeptormolekül einen zentalen Kern.[11]

Signaltransduktion des MCH-R$_1$: Die Ligandenbindung führt zu einer Konformationsänderung des Rezeptors, welche die Bindung und Aktivierung der G-Proteine ermöglicht. Ein Asparagin-Rest in der Position 123 der TM3 scheint für die Ligandenbindung und Rezeptoraktivierung eine wichtige Rolle zu spielen. Dieses Asp^{123} geht mit dem Arg^{11} des MCH eine direkte Interaktion ein.[12]

Die G-Proteine werden in vier Klassen eingeteilt: G_s, $G_{i/o}$, G_q und $G_{12/13}$. G_s-Proteine aktivieren Adenylatcyclase und bewirken dadurch eine Erhöhung des cAMP-Spiegels, während inhibitorische $G_{i/o}$-Proteine entgegengesetzt wirken. Sie hemmen Adenylatcyclase, aktivieren PLC-ß, GIRK-Kanäle und Phosphatidylinositol-3-Kinase. Die Signaltransduktion von $G_{i/o}$-Proteinen wird durch Pertussistoxin (PTX) gehemmt. G_q-Proteine aktivieren Phospholipase C (PLC). Diese spaltet Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP_2) zu Inositoltrisphosphat (IP_3) und DAG (Diacylglycerin) und führt dadurch zur Freisetzung von intrazellulärem Ca^{2+} und Aktivierung der Proteinkinase C (PKC). $G_{12/13}$-Proteine sind für die Regulation der Na^+/H^+-Austauscher wichtig.[13]

Die Bindung des MCH an den MCH-R_1 führt zur Aktivierung der PLC, Produktion von IP_3 und damit zur Erhöhung des intrazellulären Ca^{2+}-Spiegels.[2]

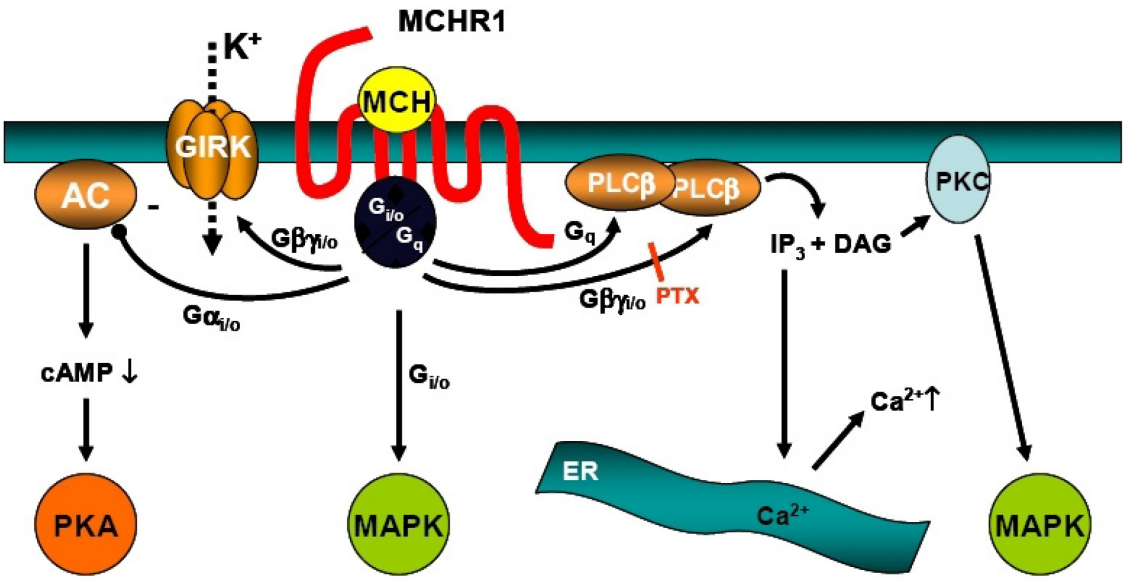


Abbildung 1: Signaltransduktion des MCH-R$_1$[14]

Der MCH-R_1 koppelt an G_q- und $G_{i/o}$-Proteine. G_q-Proteine aktivieren PLC-ß, die PIP_2 in IP_3 und DAG spaltet. IP_3 führt zum Anstieg des intrazellulären Ca^{2+}, während DAG PKC und MAPK (MAP-Kinase) aktiviert. $G_{i/o}$-Proteine können ebenfalls PLC-ß und MAPK aktivieren, AC hemmen oder GIRK-Kaliumkanäle aktivieren. Der Ca^{2+}-Anstieg über $G_{i/o}$-Proteine kann durch PTX gehemmt werden.[14]

1.3. SNAP-7941

SNAP-7941 ist ein selektiver, nicht-peptidischer Antagonist am MCH-Rezeptor 1. In Tiermodellen wurde gezeigt, dass diese Substanz antidepressive, anxiolytische und anorektische Wirkung besitzt.[1]

In Versuchstieren verursacht das intraperitoneal verabreichte SNAP-7941 eine Hemmung der durch die intracerebrale Verabreichung von MCH induzierten verstärkten Nahrungsaufnahme.[1]

Borowsky et al. haben den appetithemmenden Effekt von SNAP-7941 im Vergleich mit Fenfluramin, einem serotoninerg wirkenden Appetitzügler, in Ratten untersucht. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die Wirkung von Fenfluramin kurzfristig und die Rezidivrate relativ hoch ist, während SNAP-7941 kontinuierlich und langdauernd wirkt.[1]

In einer Studie von Millan et al.[15] wurden das anxyolitische und antidepressive Potential von SNAP-7941 in Nagetieren untersucht und auch bestätigt. Außerdem sind sie zu dem Schluss gekommen, dass dieser MCH-R_1-Rezeptor-Antagonist, die Konzentration von Dopamin, Noradrenalin und Serotonin im synaptischen Spalt nicht beeinflusst. D.h. es entfaltet seine Wirkung unabhängig von Monoaminen.

Eine spätere Studie von Basso et al. konnte die Wirksamkeit von SNAP-7941 als Anxiolytikum und Antidepressivum hingegen nicht bestätigen.[16]

Heute wird SNAP-7941 nicht klinisch eingesetzt, sondern als Leitstruktur zur Entwicklung potenterer MCH-R_1-Antagonisten und Radiopharmaka.

Das SNAP-7941 ist mittlerweile patentiert und wird von der Firma Synaptic Pharmaceutical hergestellt.[17]

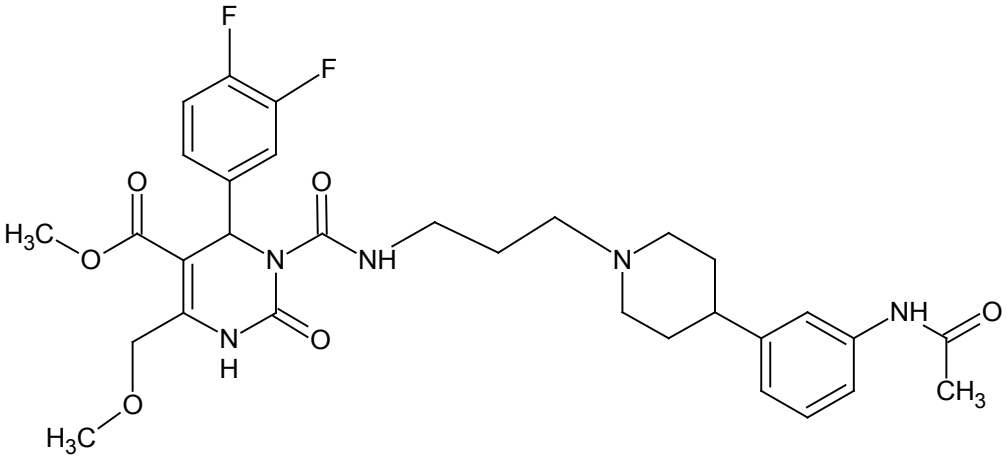
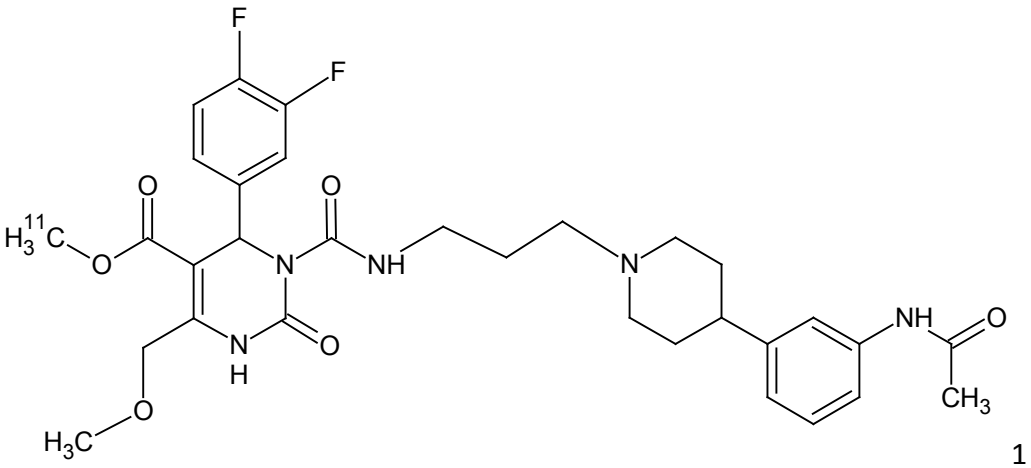


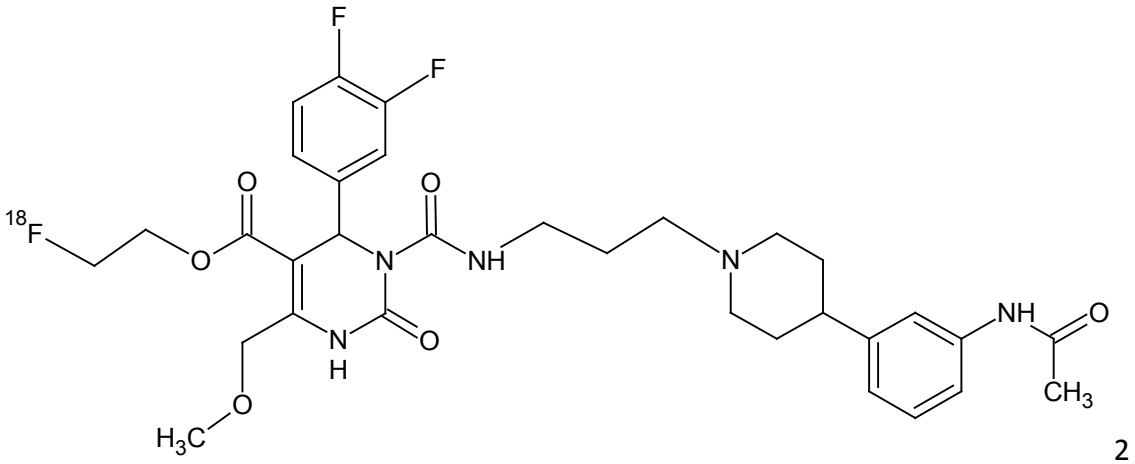
Abbildung 2: SNAP-7941

Um die Zusammenhänge des MCH-Systems mit den o.g. Krankheiten und Störungen besser verdeutlichen zu können bzw. um den Erfolg einer antidepressiven oder antiadipösen

Therapie beurteilen zu können, ist es für die Wissenschaft von großem Interesse, den MCH-Rezeptor 1 sichtbar zu machen. Hierfür ist die Entwicklung neuer PET-Tracer, die an den MCH-R_1 andocken, notwendig. Derzeit kommen 2 Verbindungen in Betracht, die Abwandlungen von SNAP-7941 darstellen, und zwar [^{11}C]SNAP-7941 (1) und [^{18}F]FE@SNAP (2). Die Synthese von [^{11}C]SNAP-7941 wurde schon etabliert – man geht von der freien SNAP-Säure (siehe Abbildung auf der Seite 5 bzw. 30) aus und versetzt diese mit [^{11}C]Methyltriflat. Was die Darstellung von [^{18}F]FE@SNAP betrifft, wird diese im Rahmen dieser Diplomarbeit näher erläutert.



1



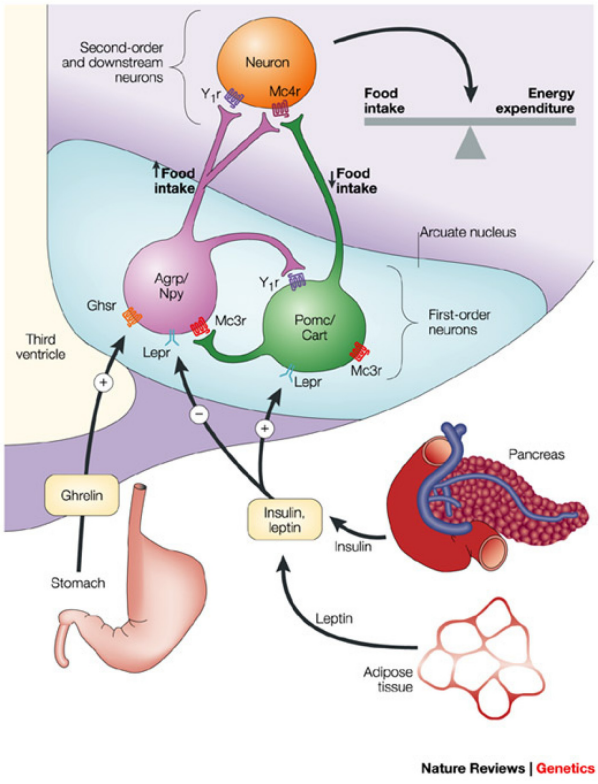
2

Beim [^{11}C]SNAP-7941 wird die ursprüngliche Struktur des Moleküls nicht verändert, da nur ein Kohlenstoff-Atom durch das radioaktive Isotop ^{11}C ausgetauscht wird. Damit bleiben pharmakokinetische Eigenschaften des Arzneimittels unbeeinflusst. Im Falle von [^{18}F]FE@SNAP hat man anstatt des Methylesters einen ^{18}F-markierten Fluorethylester vorliegen, d.h. die pharmakokinetischen Eigenschaften werden geringfügig beeinflusst, aber das dürfte keinen großen Unterschied ausmachen. Man vermutet sogar, dass die Durchgängigkeit der Blut-Hirn-Schranke und die Bindungsaffinität zum MCH-R_1 aufgrund der Erhöhung der Lipophilie verbessert werden könnten.

1.4. Kontrolle der Nahrungsaufnahme durch das ZNS

Die Nahrungsaufnahme und der Energieverbrauch werden durch zahlreiche im Hypothalamus exprimierte Neuropeptide reguliert. Diese Neuropeptide werden in zwei Gruppen unterteilt und zwar in orexigene (appetitanregende) und anorexigene (appetithemmende). Die wichtigsten Vertreter der orexigenen Neuropeptide sind das melaninkonzentrierende Hormon (MCH), das Neuropeptid Y (NPY), die Orexine A und B, das Ghrelin und das Agouti related peptide (AGRP). Zu den anorexigenen Neuropeptiden zählen u.a. das Thyreotropin-releasing Hormon (TRH), das Corticotropin-releasing Hormon (CRH), das α-Melanocyten stimulierende Hormon (α-MSH), das Cocain- und Amphetamin-regulierte Transcript (CART) und das Cholecystokinin (CCK).Die Nahrungsaufnahme wird auch durch Signalstoffe aus peripheren Organen, v.a. durch das Leptin, das im weißen Fettgewebe exprimiert wird und appetithemmend wirkt, reguliert.[18, 19]

Abbildung 3: Kontrolle der Energiehomöostase durch den Hypothalamus [19]***:*** Im arkuaten Kerngebiet des Hypothalamus existieren zwei Arten von Neuronen – orexigene AGRP/NPY- und anorexigene POMC/CART-Neuronen. Diese werden durch Hormone aus peripheren Organen reguliert. Insulin und Leptin sind in Proportion zum Fettanteil im Körper vorhanden. Sie hemmen die AGRP/NPY-Neuronen und aktivieren die POMC/CART-Neuronen. In niedrigen Konzentrationen wirken diese Hormone genau umgekehrt. Ghrelin wird vom Magen sezerniert und wirkt stimulierend auf die AGRP/NPY-Neuronen und steigert dadurch den Appetit.



1.4.1. Adipositas

Unter Adipositas versteht man ein krankhaftes Übergewicht, das zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen führt.[20] Etwa 20-40% der Bevölkerung der westlichen Länder leiden als Folge einer erhöhten Kalorienzufuhr an Übergewicht.[21]

Schweregrad der Adipositas kann anhand folgender Messgrößen bestimmt werden: Broca-Index, BMI (Body-Mass-Index), waist-hip-ratio und Hautfaltendicke.[22]

Der Body-Mass-Index, der am meisten verwendet wird, wird folgendermaßen berechnet:

BMI = Körpergewicht (kg)/Körpergröße² (m²) [21]

Übergewicht ist definiert als ein BMI ≥ 25 kg/m², Adipositas als ein BMI ≥ 30 kg/m². [23]
Die Einteilung in Gewichtsklassen ist aber ohne Berücksichtigung des Alters und der geschlechtsspezifischen und kulturellen Unterschiede wenig sinvoll.[24]

Kategorie	BMI	Risiko für Begleiterkrankungen
Untergewicht	<18,5 kg/m²	niedrig
Normalgewicht	18,5 - 24,9 kg/m²	durchschnittlich
Übergewicht	≥ 25 kg/m²	
Präadipositas	25 - 29,9 kg/m²	gering erhöht
Adipositas Grad I	30 - 34,9 kg/m²	erhöht
Adipositas Grad II	35 - 39,9 kg/m²	hoch
Adipositas Grad III	≥ 40 kg/m²	sehr hoch

Tabelle 1: Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen anhand des BMI (nach WHO, 2000) [23]

Das Risiko einer Gesundheitsgefährdung durch Übergewicht steigt bei einem BMI von 25 kg/m² leicht, ab einem BMI von 30 kg/m² stark bzw. ab 40 kg/m² deutlich an.[23]

Als häufigste Folgeerkrankungen sind insbesondere Diabetes mellitus Typ II, Hypertonie und kardiovaskuläre Erkrankungen zu nennen.
Das Körpergewicht kann als ein komplexer multifaktorieller Phänotyp, der durch das Zusammenspiel von genetischen Faktoren und Umwelteinflüssen determiniert wird, aufgefasst werden. Zu den Umwelteinflüssen zählen u.a. Verhaltensweisen, Gewohnheiten, kulturelle und sozioökonomische Faktoren.[24]

Nur bei etwa 5 % der Patienten ist das krankhaft erhöhte Körpergewicht auf Stoffwechselerkrankungen, Störungen im Hormonhaushalt oder andere körperliche Gegebenheiten zurückzuführen. Bei den restlichen 95 % der an Adipositas Erkrankten beruht der erhöhte Fettanteil auf einem falschen Lebensstil - Bewegungsinaktivität, Zunahme der Autonutzung im Alltag, Zunahme bewegungsarmer Freizeitsbeschäftigungen (Fernsehen, PC), Konsum zu süßer und zu fetter Nahrungsmittel, Fastfood, hohe psychische Belastung im Alltag usw.[25]

Hinsichtlich einer Einteilung der Adipositas nach zugrunde liegenden Ursachen wurde eine Reihe von Versuchen gemacht. Ein Beispiel hierfür wäre die Einteilung nach Bray (1992):[26]

1) Genetische Syndrome (unvollständig):

- Prader-Willi-Syndrom,
- Bardet-Biedl-Syndrom,
- Ahlström-Syndrom;

2) Neuroendokrine Adipositas

- Hypothyreose,
- Morbus Cushing,
- hypothalamischer Symptomenkomplex,
- Steil-Leventhal-Syndrom,
- Wachstumshormonmangel,
- Insulinom und Hyperinsulinämie;

3) Iatrogene Adipositas

- Pharmaka(Antidepressiva, Neuroleptika, Betablocker, Sulfonylharnstoffe, Antiepileptika, Corticosteroide usw.)[22],
- hypothalamische Operationen;

4) Überernährung;

5) Bewegungsmangel.

In einer Studie von Lenz et al.[27] wurden Morbidität und Mortalität bei Übergewicht und Adipositas untersucht. Dabei wurden 27 Metaanalysen und 15 Kohortenanalysen ausgewertet. Den Ergebnissen zufolge ist die Gesamtmortalität bei Übergewicht (BMI: 25 – 29,9 kg/m²) im Vergleich zu Normalgewicht (BMI: 18,5 – 24,9 kg/m²) nicht erhöht. Sowohl bei Adipositas als auch bei Übergewicht ist das Risiko für einzelne Erkrankungen hingegen erhöht, für andere unverändert oder sogar vermindert, wobei bei Adipositas das Risiko insgesamt größer ist. Die Gesamtmortalität ist bei Adipösen etwa 20 % höher als bei Normalgewichtigen. Bei hochgradiger Adipositas kann sie sogar um mehr als 200 % steigen. Es ist aber zu beachten, dass Morbidität und Mortalität auch wesentlich durch Geschlecht, Alter und Sozialstatus mitbestimmt werden.

Das Europaparlament in Brüssel forderte im Januar 2007, Fettleibigkeit als chronische Krankheit anzuerkennen – mit der Konsequenz, deren Behandlung durch die Krankenkassen erstatten zu lassen. Grundlage des Beschlusses war die erschreckende Erkenntnis, dass jedes vierte Kind in der Europäischen Union übergewichtig ist. Europa hat damals die Fettsucht als Wohlstandskrankheit anerkannt.
Leider bezahlen die meisten Krankenversicherungen therapeutische Maßnahmen erst dann, wenn die Patienten schon massiv übergewichtig sind.[25]

1.4.1.1. Therapie der Adipositas

Die langfristig erfolgreiche Therapie des Übergewichts erfordert ein sehr hohes Maß an Konsequenz, Selbstdisziplin und Durchhaltevermögen.

Die Therapie besteht grundsätzlich aus:

- Ernährungsumstellung,
- Änderung des Essverhaltens,

- Steigerung der körperlichen Aktivität,
- Verhaltenstraining,
- Pharmakotherapie,
- Operation (selten).[26]

1.4.1.1.1. Diätetische Maßnahmen

Die einzige anhaltend wirksame Therapie bei Übergewicht ist eine Kombination aus Steigerung der körperlichen Aktivität und Verringerung der Kalorienzufuhr.[21] Für die Durchführung einer Ernährungstherapie ist die Mitarbeit des Patienten und eine Änderung des Lebensstils unentbehrlich. Dies macht die Umsetzung dieser Methode in der Praxis sehr schwierig.
Durch die Reduktion der Energiezufuhr lässt sich, je nach Energiegehalt der aufgenommenen Nahrung, eine negative Energiebilanz erreichen. Sobald ein Energiedefizit entsteht, greift der Körper auf eigene Energiereserven zurück und somit werden die Fettdepots abgebaut.
Derzeit gibt es eine Vielzahl von unterschiedlichen Diäten, wie beispielsweise Nulldiät (totales Fasten), extrem niedrigkalorische Diäten („very low calory diet“ = VLCD), deutllich niedrigkalorische Diäten, hypokalorische Mischkost („low calory diet“ = LCD) sowie eine ganze Palette von Sonderdiäten.[26]

1.4.1.1.2. Pharmakotherapie

Pharmakotherapie kommt bei Adipositas nur unterstützend und zeitlich begrenzt in Betracht.[21] Antiadiposita (Schlankheitsmittel) sind Arzneistoffe, mit denen das Körpergewicht reduziert oder gehalten und das Risiko für Begleiterkrankungen reduziert werden soll. Sie unterscheiden sich deutlich in ihren Wirkungen – sie hemmen den Appetit, hemmen die Aufnahme von Nahrungsbestandteilen im GIT, steigern das Sättigungsgefühl oder erhöhen den Energieumsatz und abbauende Stoffwechselprozesse.

Es gibt relativ viele Arzneistoffe, deren Zulassung für die Indikation „Adipositas“ beantragt wurde. Diese wurde aber aufgrund der unzureichender Wirksamkeit bzw. schwerwiegenden Nebenwirkungen entweder gar nicht erteilt oder nach einiger Zeit zurückgezogen. Einige Beispiele dafür wären: Rimonabant (Cannabinoid-Rezeptor 1-Antagonist), 5-HT-Reuptake-Hemmer (Fenfluramin und Dexfenfluramin), NA/5-HT-Reuptake-Hemmer (Sibutramin), Sympathomimetika (Aminorex, Ephedrin, Phenylpropanolamin) usw.[22]

Der einzige in Österreich als Antiadipositum registrierte Arzneistoff ist Orlistat (Tetrahydrolipstatin), ein Pankreaslipasehemmer. Durch die Blockade der Pankreaslipase hemmt diese Substanz die Verdauung und damit auch die Resorption von Fetten im Darm.[22]

Orlistat ist in Österreich unter dem Namen Xenical (rezeptpflichtig) oder Alli (rezeptfrei) erhältlich.[28]

1.5. Grundlagen der Nuklearmedizin und nuklearmedizinische Anwendung von Radionukliden

Die Fachrichtung, die sich mit dem Einsatz radioaktiver Stoffe zu medizinischen Zwecken beschäftigt, wird als Nuklearmedizin bezeichnet. Im Unterschied zu Radiologie, wo die Bestrahlung des menschlichen Körpers von einer äußeren Strahlenqelle ausgeht, wird in der Nuklearmedizin das Radiopharmakon in den Körper verabreicht. Dabei wird die austretende Strahlung zu diagnostischen Zwecken oder deren Wirkung auf die bestrahlten Körperzellen zur Therapie verwendet.

Nuklearmedizin ist ein relativ neues Gebiet der Medizin. Die Grundlage der Anwendung radioaktiver Substanzen am Menschen stellen die Untersuchungen von G. v. Hevesy, einen ungarischen Chemiker, aus dem Jahre 1923 dar. Er untersuchte die Bleiaufnahme von Pflanzen durch die Messung radioaktiver Bleianreicherung.[29]

Die nuklearmedizinischen Untersuchungsmethoden waren am Anfang sehr begrenzt, da zuerst nur die natürlich vorkommenden Radioisotope zur Verfügung standen. Erst seitdem die künstliche Herstellung von Radionukliden möglich ist, erreichen die nuklearmedizinischen Techniken einen immer höheren Stand.

Radiopharmaka können etweder als Radiodiagnostika oder als Radiotherapeutika eingesetzt werden. Beide Anwendungen stellen völlig unterschiedliche Anforderungen an die Eigenschaften des radioaktiven Isotops und des radioaktiven Arzneimittels.

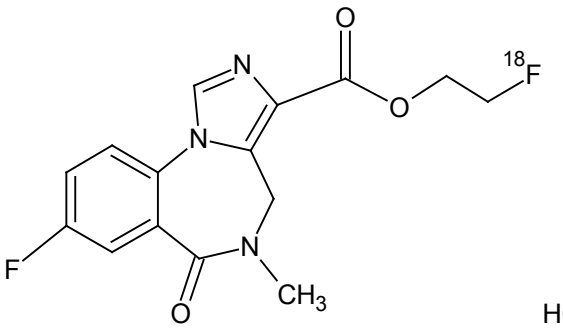
Radiopharmaka werden deutlich häufiger zur Diagnostik als zur Therapie eingesetzt. Der diagnostische Einsatz dient der Beurteilung der Funktion von Körperorganen oder Organsystemen. Das Grundprinzip aller nuklearmedizinischen Untersuchungen besteht darin, die Bioverteilung des in den menschlischen Körper applizierten Radiopharmakons sichtbar zu machen.[29] Die Applikation erfolgt meist intravenös, teilweise aber auch peroral oder inhalativ, wie beispielsweise im Falle von ^{81m}Kr-Gas zur Untersuchung der Lungenventilation oder –perfusion.[30]

Da jedes chemische Molekül und somit auch Radiopharmaka unterschiedliche Affinitäten zu verschiedenen Körpergeweben aufweist, kommt es kurz nach der Applikation zu einer inhomogenen Umverteilung des Radiopharmakons und damit auch der radioaktiven Strahlung im Körper. Die Messung der radioaktiven Strahlung und somit die Sichtbarmachung der Verteilung der entsprechenden radioaktiven Substanz im menschlichen Körper ermöglicht Rückschlüsse über den Funktionszustand der zu untersuchenden Organe.

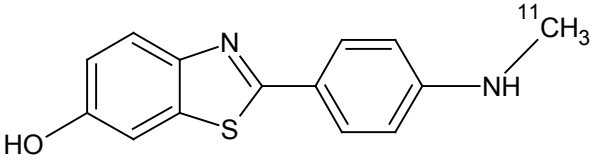
Für die Auswahl eines geeigneten Radiopharmakons spielen zwei Komponenten eine wichtige Rolle – das Radioisotop und der Träger des Radioisotops.[29] Radionuklide zur Anwendung in der nuklearmedizinischen Diagnostik besitzen meist eine Halbwertszeit im Bereich von Minuten und Stunden um die Strahlenbelastung von Patienten möglichst gering zu halten, sind entweder ß$^+$-Strahler oder reine γ-Strahler[30] und bestimmen die

physikalischen Eigenschaften des Radiopharmakons. Die Struktur des Trägers bestimmt hingegen das Verteilungsverhalten des Radiopharmakons.[29]

Einige Beispiele für die diagnostisch eingesetzten Radiopharmaka wären: 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-glucose (Tumorsuche; Abbildung 10), [^{18}F]Fluoroflumazenil (ein $GABA_a$-Rezeptor-Antagonist, 1), [^{99m}Tc]-MAG3 (dynamische Nierendiagnostik), [^{99m}Tc]-Sestamibi (Herzszintigraphie, Tumorsuche), [^{99m}Tc]-Tetrofosmin (Herzszintigraphie, Tumorsuche), [^{11}C]PIB (2-(4-N-[^{11}C]Methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazol, Morbus Alzheimer, 2), [^{11}C]Methionin (Hirntumoren) usw.[30]



1



2

Für die nuklearmedizinische Therapie steht die biologische Wirkung der ionisierenden Strahlen im Vordergrund. D.h. das Ziel ist in diesem Fall nicht die Verteilung des Radiopharmakons im Organismus abzubilden, sondern das erkrankte Gewebe durch radioaktive Strahlung zu zerstören. Dabei müssen sowohl die physikalische als auch die biologische Halbwertszeit ausreichend lang sein, damit eine genügend hohe Strahlendosis an den Zielort gebracht werden kann. Unter der physikalischen Halbwertszeit versteht man die Zeitdauer, innerhalb derer die Aktivität des Nuklids auf die Hälfte des Wertes zu Beginn dieses Zeitintervals abgesunken ist. Biologische Halbwertszeit ist hingegen die Zeitdauer, innerhalb derer in einem lebenden Organismus die Hälfte des ursprünglich vorhandenen radioaktiven Materials aus einem Verteilungsvolumen (Blut, Organ) verschwunden ist. Die biologische Halbwertszeit ist aufgrund der metabolischen Abbauprozesse, die im Organismus stattfinden und der Ausscheidung über Urin, Stuhl und Atemluft in der Regel deutlich kürzer als die physikalische. Aus dem Zusammenwirken von physikalischer und biologischer Halbwertszeit ergibt sich die effektive Halbwertszeit. Diese wird folgendermaßen berechnet:

$1/T_{eff} = 1/T_{phys} + 1/T_{biol}$

T_{eff} – effektive Halbwertszeit; T_{phys} – physikalische Halbwertszeit; T_{biol} – biologische Halbwertszeit [29]

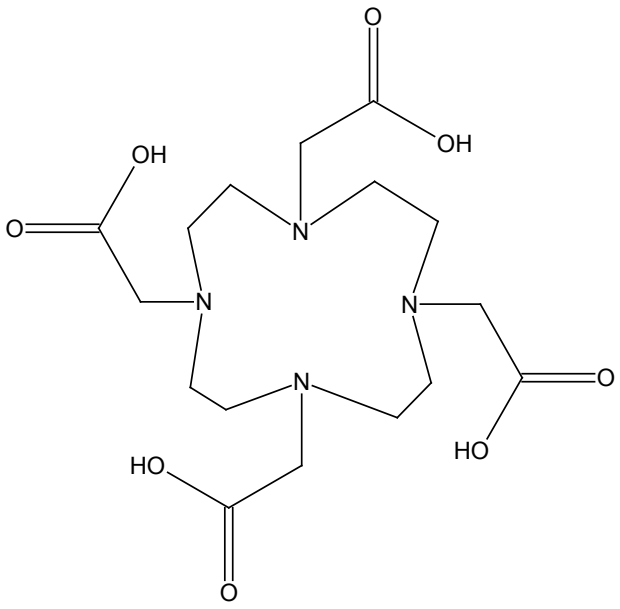
Radionuklide, die in der nuklearmedizinischen Therapie eingesetzt werden, sind Teilchenstrahler (v.a. ß$^-$-Strahler) und weisen eine physikalische Halbwertszeit von mehreren Stunden bis einigen Tagen auf.[30] Einige Therapienuklide sind in der nachfolgenden Tabelle angeführt.

Nuklid	Strahlenart	Energie (max.)	$t_{1/2}$	Reichweite (max.)	Produktion
^{67}Ga	Auger	<0.1 MeV	3.3 d	<10 nm	Zyklotron
^{211}At	α, EC	6.8 MeV	7.2 h	65 µm	Zyklotron
^{177}Lu	ß$^-$, γ	0.5MeV	6.7 d	1.5 mm	Reaktor
^{67}Cu	ß$^-$, γ	0.6 MeV	2.6 d	2.2 mm	Zyklotron
^{131}I	ß$^-$, γ	0.8 MeV	8.0 d	2.4 mm	Reaktor
^{153}Sm	ß$^-$, γ	0.8 MeV	1.9 d	3.0 mm	Reaktor
^{186}Re	ß$^-$, γ, EC	1.1 MeV	3.7 d	5.0 mm	Reaktor
^{188}Re	ß$^-$, γ	2.1 MeV	17.0 h	11.0 mm	Generator
^{90}Y	ß$^-$	2.3 MeV	2.7 d	12.0 mm	Generator

Tabelle 2[30]: In der nuklearmedizinischen Therapie verwendete Radionuklide

Das Hauptanliegen der Radiotherapie ist die möglichst selektive Wechselwirkung der ionisierenden Strahlung mit dem zu behandelnden Gewebe bei weitgehender Schonung der gesunden Umgebung. Dies ist durch die lokale Applikation des Radiopharmakons oder durch systemische Applikation unter Voraussetzung einer gezielten Anreicherung im Krankheitsherd möglich. Für die spezifische Anreicherung des radioaktiv markierten Arzneimittels ist v.a. seine chemische Struktur verantwortlich.[29]

Einige Beispiele für die Radiotherapeutika wären: ^{90}Y-Ibritumomab-Tiuxetan (Zevalin®, wird bei Lymphomen eingesetzt), ^{90}Y-DOTATOC (bei neuroendokrinen Tumoren), [^{131}I]NaI (bei Schilddrüsenkarzinomen oder Hypertrophie), ^{186}Re-HEDP (^{186}Re-Hydroxyethylendiphosphonat, zur Schmerztherapie bei Skelettmetastasen) usw.[30]



1

Abbildung 4: Struktur von DOTA (1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure)

- ^{90}Y-DOTATOC besteht aus dem Chelatbildner DOTA, der das Yttrium-90 komplexiert und Tyr^3-Octreotid, einem Somatostatinanalogon. Durch den Biocarrier Tyr^3-Octreotid wird eine selektive Anreicherung in den Somatostatin-Rezeptor-exprimierenden neuroendokrinen Tumoren erzielt.[30]

1.6. Positronenemissionstomographie

Positronenemissionstomographie ist ein bildgebendes Verfahren der Nuklearmedizin, das Bilder von lebenden Organismen erzeugt, indem es die Verteilung eines Radiopharmakons im Organismus sichtbar macht. Sie dient v.a. zur funktionellen Bildgebung (Sichtbarmachung physiologischer und biochemischer Prozesse).

Die Erfindung der PET wird den amerikanischen Physikern Michel Ter-Pogossian und Michael E. Phelps zugesprochen.[31]

Die wichtigsten Komponenten der PET sind:

- die Erzeugung der Radionuklide
- die radioaktive Markierung organischer Moleküle
- die Messung der lokalen Radioaktivitätskonzentration mit dem Tomographen
- und letztendlich die Verknüpfung der gemessenen Radioaktivitätskonzentrationen mit physiologischen Parametern mit Hilfe matematischer Modelle.[29]

Für PET-Untersuchungen werden Radionuklide eingesetzt, die Positronen emittieren (ß$^+$-Strahler). Im Rahmen eines ß$^+$-Zerfalls wandelt sich im Kern ein Proton in ein Neutron und ein Positron um, wobei das Positron aus dem Kern geschleudert wird. Aus Gründen der Symmetrie-, Impuls- und Massenerhaltung wird dabei auch ein Neutrino erzeugt.[30] Die Kernladungszahl nimmt um 1 ab und die Massenzahl bleibt unverändert.

Abbildung 5: Schema des ß⁺-Zerfalls am Beispiel von ^{18}F [32]

Bei der Wechselwirkung eines Positrons mit einem Elektron kommt es zur Annihilation (Vernichtung). Dabei werden zwei γ-Quanten von je 511 keV mit dem Winkel 180° zueinander freigesetzt. Diese γ-Quanten werden dann von Detektoren erfasst.

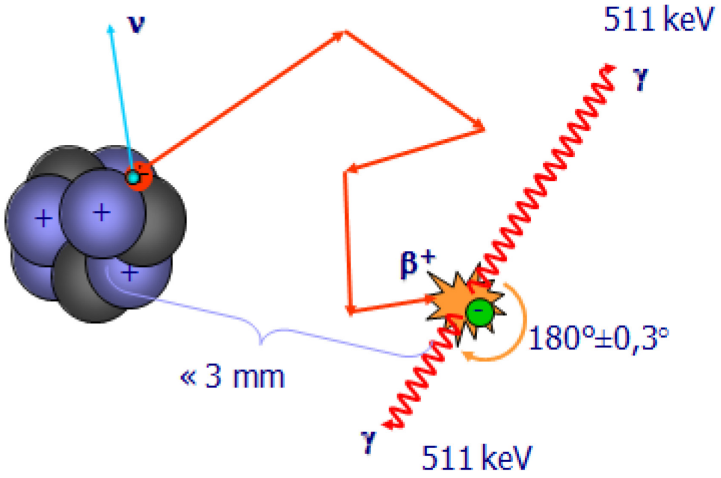


Abbildung 6: Schema des Positronenzerfalls [30]

Dabei können sie nur in Koinzidenz detektiert werden.
Man unterscheidet zwischen drei Arten von Koinzidenzen:

1) Echte Koinzidenzen sind Photonen, die tatsächlich Folge einer Paarvernichtung sind. Der Erreignisort liegt auf der sog. Line of Response (LOR).
2) Wenn Photonen zwar koinzident registriert werden, aber von zwei unterschiedlichen Ereignissen herrühren, spricht man von zufälliger Koinzidenz.
3) Wenn Photonen gestreut, aber innerhalb des Koinzidenzfensters registriert werden, handelt es sich um gestreute Koinzidenz.

Die Abtrennung gestreuter und zufälliger Koinzidenzen ist nur über mathematische Korrekturverfahren möglich.[30]
Das PET-Gerät beinhaltet mehrere ringförmig um den Patienten angeordnete Detektoren für Photonen und das Prinzip der Messung besteht darin, Koinzidenzen zwischen je zwei gegenüberliegenden Detektoren aufzuzeichnen.

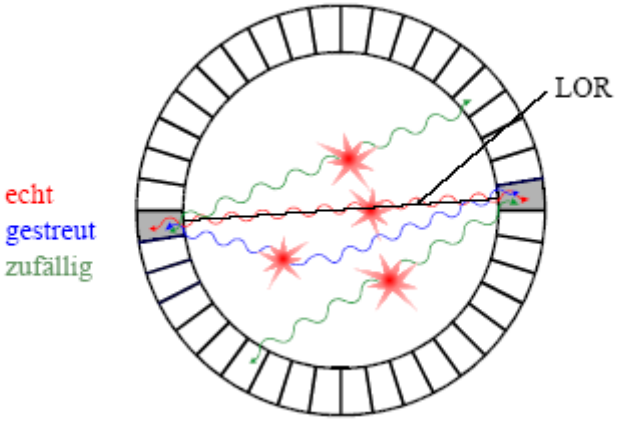


Abbildung 7: Koinzidenzarten [30]

1.6.1. PET-Radiopharmaka

Ein Radiopharmakon besteht aus einem Radionuklid mit geeigneten physikalischen Eigenschaften für externe Messung und einem Biocarrier, der dafür sorgt, dass das Ziel selektiv und spezifisch angesteuert werden kann.[30]

Radionuklide werden grundsätzlich in zwei Gruppen eingeteilt: Therapienuklide, die Teilchenstrahler sind (v.a. $ß^-$) und eine Halbwerzszeit von mehreren Stunden bis einigen Tagen aufweisen und Nuklide für diagnostische Zwecke, die $ß^+$-Strahler (PET) oder reine γ-Strahler (SPECT) sind. Für diagnostische Untersuchungen werden Halbwertszeiten im Bereich von Minuten und Stunden angestrebt, damit die Strahlenbelastung des Patienten möglichst gering bleibt. Dies wurde im Kapitel 1.5. näher erläutert.

Nuklid	Herstellung	Target-Materiall	Produkt	Halbwertszeit
F-18	^{18}O (p,n) ^{18}F	$[^{18}O]H_2O$	$[^{18}F]F^-$	110 min
F-18	^{20}Ne (d,α) ^{18}F	Ne + F_2	$[^{18}F]F_2$	110 min
C-11	^{14}N (p,α) ^{11}C	N_2 + 0,5% O_2	$[^{11}C]CO_2$	20 min
N-13	^{16}O (p,α) ^{13}N	H_2O	$[^{13}N]NH_3$	10 min
O-15	^{14}N (d,n) ^{15}O	N_2 + 1% O_2	$[^{15}O]O_2$	2 min
O-15	^{14}N (d,n) ^{15}O	N_2 + 2% CO_2	$[^{15}O]CO_2$	2 min

Tabelle 3: Kernreaktionen zur Erzeugung von wichtigsten PET-Nukliden im Zyklotron [29,30]

1.7. Radionuklidherstellung

Die Produktion der Radionuklide erfolgt unter Nutzung der Teilchenbeschleuniger (Zyklotrone), Kernreaktoren oder Generatoren. Die PET-Radionuklide werden v.a. im Zyklotron erzeugt, da dadurch neutronenarme Nuklide entstehen, die $ß^+$-Strahlung emittieren.
Zur Zeit gibt es weltweit ca. 250 Zyklotrone, von denen viele ausschließlich in großen Kliniken regelmäßig zur Herstellung von Radionukliden dienen.[33]

1.7.1. Prinzip eines Ionenbeschleunigers

Bei Ionenbeschleunigern handelt es sich um Vorrichtungen, die mit Hilfe elektrischer und/oder magnetischer Felder geladenen Teilchen eine hohe kinetische Energie verleihen. Sie bestehen zunächst aus einer Ionenquelle, die die zu beschleunigenden Ionen produziert. Weitere wichtige Komponenten sind ein elektrisches Feld, das die Teilchen beschleunigt sowie eventuell ein Magnetfeld, das zur Umlenkung der Teilchen auf eine spiralförmige oder kreisförmige Strecke dient. Die Beschleunigungsstrecke muss unter Hochvakuum stehen, damit die Teilchen nicht durch Stoßprozesse mit Gasmolekülen ihre kinetische Energie verlieren. Die Beschleunigung im elektrischen Feld erfolgt durch einmaliges oder mehrmaliges Durchlaufen einer Spannung.
Nach Erreichen der entsprechenden Energie werden die Ionen durch einen Deflektor von der Beschleunigungsbahn ausgelenkt und auf das Target geschossen.
Aufgrund des Auftretens der hochenergetischen ionisierenden Bremsstrahlung während des Betriebs, die beim Auftreffen der Ionen auf das Target entsteht, sind umfangreiche Maßnahmen zum Strahlenschutz notwendig.
Man unterscheidet zwischen Linearbeschleunigern, Kreisbeschleunigern (Synchrotrone) und Spiralbeschleunigern (Zyklotrone).
Zur Herstellung der PET-Nuklide ist die Beschleunigung von Protonen bzw. Deuteronen notwendig, die aus Wasserstoffgas (H_2) oder Deuteriumgas (D_2) gebildet werden. Bei manchen Zyklotronen werden aber auch Elektronen beschleunigt, welche nachher in Protonen umgewandelt werden.
Die Ionen werden von der Ionenquelle erzeugt, die zentral angeordnet ist und der Ionenstrom wird nun im elektrischen Feld zwischen zwei D-förmigen Elektroden zu der entgegengesetzt geladenen Elektrode hin beschleunigt. Sobald der Ionenstrom auf eine Elektrode auftrifft, wechselt diese ihre Polung. Dies setzt sich vielfach fort, sodass die Ionen zwischen zwei Elektroden ständig wechselnder Polung auf einer kreisförmigen Bahn beschleunigt werden. Mit jeder Kreisbahn steigt die kinetische Energie der Ionen, weshalb der Umfang der Umkreisungen aufgrund der wirkenden Zentrifungalkraft ständig zunimmt. Es entsteht also eine Spiralbahn.
Der Ionenstrom wird letztendlich durch einen Deflektor aus dem Zyklotron ausgelenkt und auf ein Target geschossen. In diesem Prozess erfahren Protonen eine Energie von 18 MeV, während die doppelt so schweren Deuteronen nur die Hälfte davon erhalten.
Je nach Art des zu produzierenden Nuklids variiert das im Target befindliche Ausgangsmaterial. Vor dem Beginn der Bestrahlung muss zuerst die Ionenquelle auf die Erzeugung der benötigten Ionen eingestellt werden und anschließend das entsprechende Targen ausgewählt und befüllt werden.
In der Tabelle 3 sind die Bildungsreaktionen für die wichtigsten PET-Nuklide angegeben.[29]
Bei der Radionuklidherstellung ist es wichtig, folgende drei Begriffe zu unterscheiden:

- ✓ carrier-added (geträgert)
- ✓ no-carrier-added (geträgert)
- ✓ carrier-free (trägerfrei)

Bei carrier-added-Radionukliden wird dem Target ein anderes Isotop wissentlich zugesetzt. Dies ist der Fall, wenn die Herstellung des Radionuklids in der entsprechenden Form anders nicht möglich ist (z.B. ^{18}F als $[^{18}F]F_2$).
Bei no-carrier-added-Radionukliden wird der Träger nicht absichtlich zugesetzt, ist aber vorhanden (Isotopenverunreinigung).

Isotopenreine Radionuklide werden als carrier-free bezeichnet. Dies ist aber sehr selten der Fall.[30]

1.7.2.Produktion von [^{18}F]Fluorid

Targetmaterial für [^{18}F]Fluorid ist das mit ^{18}O angereicherte Wasser. Die radionukleare Reinheit des Produktes ist umso höher, je höher die Anreicherung des Wassers mit ^{18}O, bzw. je geringer der Gehalt an [^{16}O]H_2O ist. Die vorhandenen Reste an [^{16}O]H_2O reagieren nämlich unter Protonenbeschuss nach Freisetzung von α-Teilchen zu Stickstoff-Isotop ^{13}N.[29] Dies ist aber kein großes Problem, da ^{13}N wesentlich kurzlebiger ist als ^{18}F.
Das hochangereicherte [^{18}O]H_2O ist sehr teuer, da es mit sehr aufwändigen Verfahren und an nur wenigen Produktionsstätten weltweit hergestellt wird. Übliche Anreicherungsgrade betragen in der Regel >97 %.
Ausschlaggebend für die Radionuklidproduktion sind auch organische Verunreinigungen. Durch Radiolyse können aus diesen Verbindungen Wasserstoff- und Sauerstoffatome entstehen, deren Rekombination zum Platzen des Targets führen kann. Daher ist eine Destillation des ^{18}O-angereicherten Wassers über Kaliumhydroxid oder Kaliumpermanganat erforderlich, um letzte Reste organischer Verunreigungen zu entfernen.[29]
Wie aus dem nachfolgenden Schema ersichtlich (Abbildung 8), entsteht durch Protonenbestrahlung des ^{18}O-angereicherten Wassers aus dem ^{18}O ^{18}F, indem von ^{18}O ein Proton aufgenommen und ein Neutron freigesetzt wird. Dabei bleibt die Massenzahl unverändert, während die Kernladungszahl um 1 zunimmt.

Abbildung 8: Kernreaktion zur Erzeugung von [^{18}F]Fluorid [32]

1.7.3. Radionuklidgenerator

Generatorsysteme ermöglichen die Herstellung der Radionuklide vor Ort und ohne großen Platzbedarf. Sie sind billig und können mehrmals verwendet werden. Voraussetzung für einen Radionuklidgenerator ist das laufende radiochemische Gleichgewicht – die Halbwertszeit des Mutternuklids soll größer sein als jene des Tochternuklids (z.B. ^{99}Mo/^{99m}Tc (66,6 h/6 h)). Als Mutternuklid wird also das längerlebige Nuklid und als Tochternuklid das daraus entstehende kürzerlebige Folgeprodukt bezeichnet.
Im Prinzip besteht ein Generatorsystem aus einer Glassäule, die mit einem Ionenaustauscher (Matrix) gefüllt ist. An dieser Matrix ist das Mutternuklid adsorbiert. Die Glassäule befindet sich in einer Bleiabschirmung und besitzt an ihren beiden Enden poröse Plättchen, die dazu dienen, die Schwebstoffe fernzuhalten. Die Elution beruht auf dem Prinzip des Ionenaustausches und erfolgt meistens durch Aufsetzen eines evakuierten, sterilen Injektionsfläschens.
Das Mutternuklid bildet aufgrund seines radioaktiven Zerfalls ständig das neue Tochternuklid, dessen Aktivität zunächst ansteigt bis zur Einstellung des Gleichgewichts. Danach zerfallen beide Nuklide scheinbar mit der Halbwertszeit des Mutternuklids.
Die Lebenszeit eines Generators wird durch die Halbwertszeit des Mutternuklids bestimmt.
Der am meisten verwendete Radionuklidgenerator ist das Molybdän-Technetium-Generator (^{99}Mo/^{99m}Tc), der zur Herstellung des für die Szintigrafie am häufigsten eingesetzten Nuklids ^{99m}Tc dient. ^{99m}Tc ist ein reiner γ-Strahler und zerfällt mit einer Halbwertszeit von 6 Stunden.

Im Generator wird es in Form von Pertechnetat ($^{99m}TcO_4^-$) hergestellt. Die Halbwertszeit der Muttersubstanz beträgt 66,6 Stunden.[30]
In der Tabelle 4 sind die wichtigsten Generatorsysteme angeführt.

Mutternuklid $t_{1/2}$	Tochternuklid $t_{1/2}$
^{99}Mo (ß$^-$, γ) 66,6 h	^{99m}Tc (141 KeV) 6,02 h
^{113}Sn (EC, γ) 115 d	^{113m}In (393 KeV) 1,66 h
^{81}Rb (EC, ß$^+$) 4,7 h	^{81m}Kr (190 KeV) 13,3 s
^{82}Sr (EC) 25 d	^{82}Rb (EC, ß$^+$) 1,3 m
^{68}Ge (EC) 288 d	^{68}Ga (ß$^+$, γ) 68,3 m
^{188}W (ß$^-$, γ) 69,4 d	^{188}Re (ß$^-$, γ) 16.9 h

Tabelle 4: Generatorsysteme [30]

1.7.4. Produktion im Reaktor

In Reaktoren werden Radionuklide aus stabilen Vorstufen durch Bestrahlung des Trägermaterials mit thermischen Neutronen hergestellt.
Hohe Neutronenflüsse werden durch Kernreaktionen generiert, mit diesen wird das Trägermaterial beschossen und die bestrahlten Platten werden letztendlich zur Trennung verschiedener Nuklide aufgearbeitet. Dieser Prozess ist sehr aufwändig und weltweit gibt es nur wenige Reaktoren, die für die Nuklidherstellung für Radiopharmaka zugelassen sind.
Bestrahlung von natürlichem Material liefert viele verschiedene Isotope, wodurch die radionukleare Reinheit des Produktes verringert wird, während Bestrahlung von isotopisch angereichertem Material sehr teuer ist.[30]
Beispiele für die am Reaktor hergestellten Radionuklide wären: ^{99}Mo, ^{3}H, ^{14}C, ^{32}P, ^{131}I usw.[29]

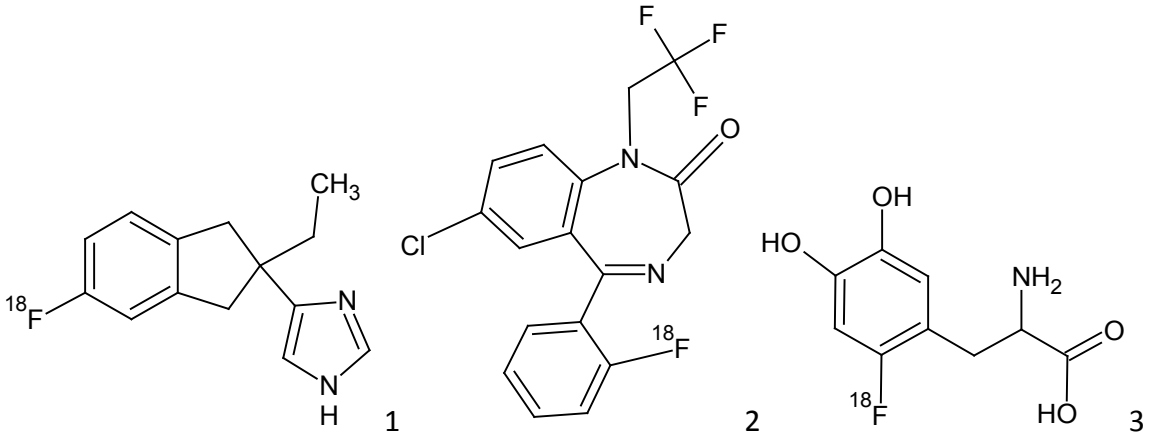
1.8. ^{18}F zur Markierung pharmazeutischer Wirkstoffe

Eines der in der Positronenemissionstomographie am meisten eingesetzten Radionuklide ist das Fluor-Isotop ^{18}F. Dieses besitzt den Vorteil einer sehr günstigen Halbwertszeit von 110 min, wodurch ausreichend Zeit für Radiosynthesen gewährleistet wird, während die Strahlenbelastung der Patienten gering bleibt. Das Atom hat einen kleinen Radius und geht kovalente Bindungen ein. Daher führt die Markierung mit ^{18}F zu nur geringen Veränderungen der physiologischen Eigenschaften des ursprünglichen Arzneistoffes.[30] In manchen Fällen kann Fluorierung die Lipophilie und biologische Aktivität sogar positiv beeinflussen.[34]
^{18}F zerfällt zu 97% unter Positronenemission bzw. zu 3% under Elektroneneinfang (EC) zum Sauerstoff-Isotop ^{18}O. Die mittlere Energie der emittierten Positronen beträgt 239,3 keV, das Maximum liegt bei 385,5 keV.[35]
Die Herstellungsweise von ^{18}F als [^{18}F]Fluorid wurde im Kapitel 1.7.2. genauer beschrieben. Das in dieser Form hergestellte Radionuklid eignet sich für nukleophile Substitutionen. Wie in der Tabelle 3 ersichtlich, kann man ^{18}F auch in Form von Florgas (F_2) herstellen, welches dann für elektrophile Additionen eingesetzt wird.
Andere, selten eingesetzte Möglichkeiten zur Herstellung dieses Radionuklids wären folgende Kernreaktionen: $^{16}O(^{3}He,p)^{18}F$, $^{16}O(^{4}He,d)^{18}F$, $^{20}Ne(p,2d)^{18}F$, $^{20}Ne(^{3}He,^{4}He\ p)^{18}F$.[36]

Mit ^{18}F kann man direkte (elektrophile/nukleophile Fluorierungen) und indirekte (Fluoralkylierungen, Fluoracylierungen, Fluorarylierungen, Peptid-/Protein-Markierungen über Linker) Radiomarkierungen durchführen.
Unter direkten Fluorierungen verstet man Radiosynthesen, die aus nur einem Reaktionsschritt bestehen – dabei wird der Präkursor direkt mit $[^{18}F]F^-$ versetzt und eine Abgangsgruppe wird gegen das $[^{18}F]F^-$ ausgetauscht (z.B. [^{18}F]FE@SNAP über Tos@SNAP).
Indirekte Fluorierungen bestehen aus mindestens zwei Reaktionsschritten. Zunächst erfolgt die Herstellung eines ^{18}F-fluorierten Synthons, das dann mit dem Präkursor reagiert (z.B. [^{18}F]FE@SNAP über SNAP-Säure mittels [^{18}F]BFE).

1.8.1. Elektrophile Fluorierungen

Als einfachste Möglichkeit zur Fluorierung über elektrophilen Angriff bietet sich das [^{18}F]Fluorgas an. Allerdings kann dieses nur in geträgerter Form (carrier-added) hergestellt werden, was eine geringe spezifische Aktivität des erzeugten Radionuklids bedingt. Aufgrund dessen wird diese Methode relativ selten eingesetzt.
F_2 ist ein sehr potentes chemisches Reagenz, da das Fluor das reaktivste Element überhaupt ist.[34]
Um das ^{18}F in elektrophiler Form vorliegen zu haben, ist es notwendig, es an eine möglichst stark elektronenziehende Gruppierung zu binden. Beispiele hierfür wären Trifluormethyl-[^{18}F]Hypofluorit ($CF_3O^{18}F$)[37] und Acetyl-[^{18}F]Hypolfluorit[38].
Elektrophiles ^{18}F eignet sich v.a. für die Synthese von Fluoraryl-Bausteien ([^{18}F]Ar-F).[34]
Beispiele für auf diese Weise hergestellte Radiopharmaka wären: [^{18}F]Fluoroatipamezol (1), [^{18}F]Oxoquazepam (2) und 6- [^{18}F]FDOPA (3).[34]



1.8.2. Nukleophile Fluorierungen

Das Fluor-Isotop ^{18}F wird für nukleophile Reaktionen in Form vom Fluor-Anion ($[^{18}F]F^-$) verwendet.[30,35]
Um eine ausreichende Reaktivität für den nukleophilen Angriff zu gewährleisten, muss das [^{18}F]Fluorid von der wässrigen Phase abgetrennt werden. Der Grund für die verminderte Reaktivität in Anwesenheit von Wasser ist die Ausbildung einer großen Hydrathülle. [1,35]
Die Abtrennung der wässrigen Phase wird durch direkte Überführung in organische Phase (beispielsweise MeCN) unter Zugabe eines Phasentransferkatalysators (z.B. $Kryptofix_{2.2.2}/K_2CO_3$) erzielt.[30,35,39] $Kryptofix_{2.2.2}$ oder [2.2.2]Kryptand ist ein zyklischer Ether,

der sich aus 6 Ethylenoxyeinheiten (-CH_2-CH_2-O-) und 2 Stickstoffatomen zusammensetzt. Er bildet einen stark lipophilen Komplex mit K^+- und $^{18}F^-$-Ionen, der die Überführung des Fluorids in die organische Phase ermöglicht. Allerdings weist Kryptofix$_{2.2.2}$ eine hohe Toxizität auf (LD_{50} beiträgt bei Ratten 35 mg/kg)[40] und muss nach der Synthese entfernt werden.
Auch azeotrope Trocknung und Elution des Fluorids über einen Ionenaustauscher sind erforderlich.

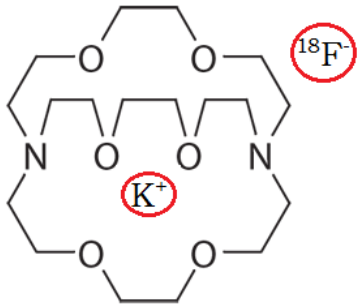


Abbildung 9[30]: Komplex aus Kryptofix$_{2.2.2}$, K^+ und $^{18}F^-$

Das Fluor-Isotop ^{18}F kann für nukleophile Substitutionen auch in Form von [^{18}F]HF eingesetzt werden.
Die Herstellung erfolgt durch Bestrahlung von ^{20}Ne mit Deuteronen bzw. von ^{18}O-angereichertem O_2 mit Protonen. Anschließend wird das Target unter Erhitzen mit H_2-Gas gespült (ungeträgertes [^{18}F]HF). Die Bestrahlung kann auch in Anwesenheit von HF erfolgen, wodurch das geträgerte [^{18}F]HF entsteht.[35,41]
Das am meisten verwendete PET-Tracer - [^{18}F]FDG (Abbildung 10) wird durch nukleophile Substitution mit [^{18}F]F^- hergestellt.[30,39]

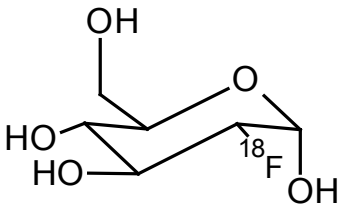
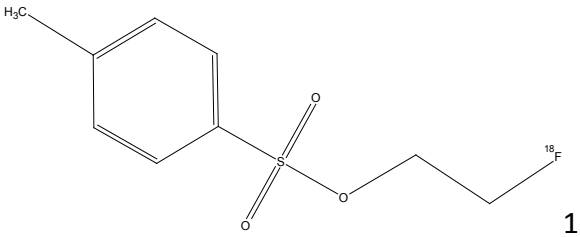


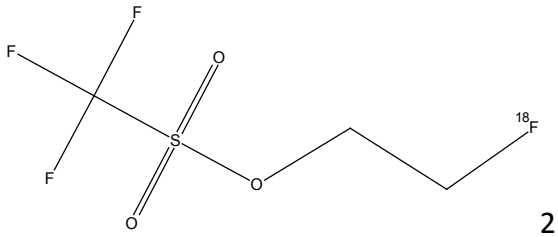
Abbildung 10: [^{18}F]FDG

1.8.3. Fluoralkylierungen

Viele organische Moleküle tragen Alkylreste, die als Angriffspunkt für Radiomarkierungen dienen können. Mittlerweile wurden zahlreichre Flyoralkylierungsreagenzien etabliert, wie [^{18}F]Fluoriodmethan[42],1-Brom-2-[^{18}F]fluorethan[43],2-[^{18}F]Fluorethyltosylat[43,44](1), 2-[^{18}F]Fluorethylmesylat[44],2-[^{18}F]Fluorethyltriflat[43,45] (2), 1-Brom-3-[^{18}F]Fluorpropan[25], 1-Iod-3-[^{18}F]Fluorpropan[43] usw.



1



2

Es werden meistens kurzkettige Alkylrerste (Methyl- oder Ethyl-Reste) eingeführt, damit die Unterschiede zum Präkursor-Molekül und damit die Veränderung physiologischer Eigenschaften gering bleiben.
Bevorzugte Angriffspunkte für Fluoralkylierungen sind Carboxyl-, Amino-, Amid-, Hydroxy- und Mercapto-Gruppen.[42]

1.9. Anwendung der Mikrofluidtechnologie zur Radiomarkierung pharmazeutischer Wirkstoffe - Advion NanoTek Synthesiser

Das Synthesemodul Advion NanoTek ist ein vollautomatisch computergesteuertes Mikrofluidsystem, das für Radiomarkierungen mit ^{18}F vorgesehen ist.
D.h. das System setzt sich aus Schläuchen mit sehr geringem Durchmesser, wo ein extrem hoher Druck herrscht, zusammen.
Im Vergleich zu konventionellen Syntheseverfahren bringt dieses System viele Vorteile mit sich wie höhere Reaktionsgeschwindigkeit, höhere Ausbeute, Unterdrückung der Nebenreaktionen und ermöglicht Arbeiten bei sehr hohen Temperaturen. Aufgrund dessen kann man die Reaktionsbedingungen für eine Synthese innerhalb von nur wenigen Stunden optimieren. Da im System ein hoher Druck herrscht, können die Synthesen bei Temperaturen, die über dem Siedepunkt des Lösungsmittels hinausgehen, durchgeführt werden.
Ein weiterer Vorteil wäre, dass Mikrofluidsysteme Synthesen von Verbindungen zulassen, die unter konventionellen Bedingungungen überhaupt nicht durchführbar sind. Dies betrifft auch die Herstellung von [^{18}F]FE@SNAP, was das Thema dieser Diplomarbeit ist.
Mikroreaktoren werden in der organischen Chemie schon seit Anfang der neunziger Jahre verwendet und neulich wird auch ihr Einsatz auf dem Gebiet der Arzneistoffsynthese in Betracht gezogen.[46]
Ihre Anwendung für Radiosynthesen ist ebenfalls relativ neueren Datums[46,47] und da werden sie derzeit v.a. für Forschungszwecke eingesetzt. Bisher haben sie sich für zahlreiche Radiomarkierungen als sehr gut geeignet gezeigt, wie beispielsweise für 2-[^{18}F]FDG-Synthese[48], Synthese von ortho-substituierten [^{18}F]Fluorarenen über Diaryliodoniumsalze[49], ^{11}C-Methylierungen und ^{18}F-Fluorethylierungen von Carbonsäuren[47], Synthese von ^{18}F-Fallyprid[50] (einem Dopaminrezeptorliganden) usw.
Dennoch sind zurzeit kaum Studien vorhanden, die konventionelle Methoden mit Mikrofluidsystemen auf dem Gebiet der Radiochemie direkt vergleichen. Ein gutes Beispiel dafür wäre die Publikation von Ungersböck et al.[46]

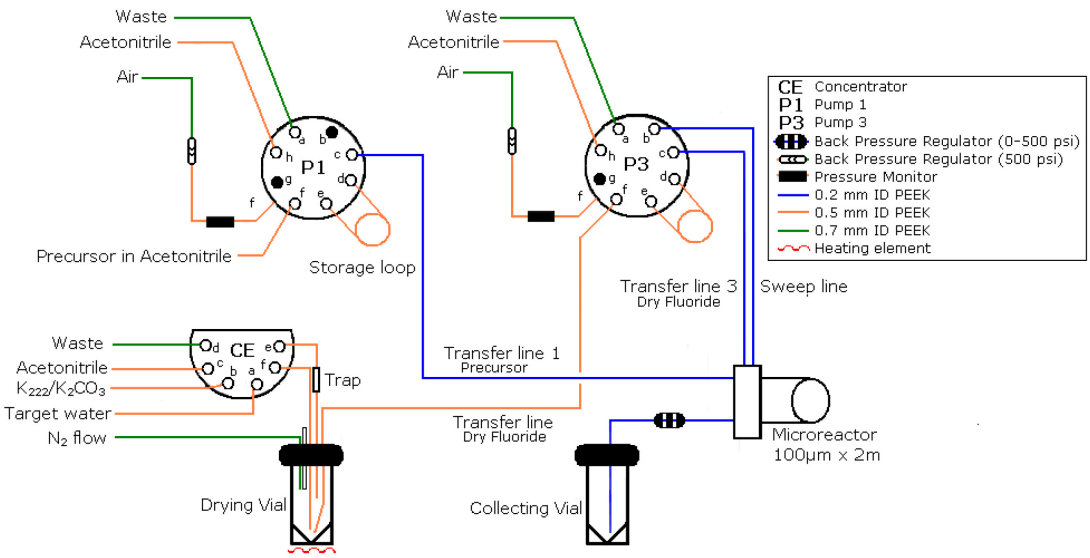


Abbildung 11: Skizze des Advion-Systems

1.10. Radiopharmaka als Arzneimittel

Werden radioaktive Stoffe zu pharmazeutischen oder medizinischen Zwecken eingesetzt, so unterliegen sie den Bestimmungen des Arzneimittelrechts. Gemäß dem § 1 des Arzneimittelgesetzes (AMG) sind Arzneimittel folgendermaßen definiert:

„Arzneimittel sind Stoffe oder Zubereitungen aus Stoffen, die nach der allgemeinen Verkehrsauffassung dazu dienen oder nach Art und Form des Inverkehrbringens dazu bestimmt sind, bei Anwendung am oder im menschlichen oder tierischen Körper

1. Krankheiten, Leiden, Körperschäden oder krankhafte Beschwerden zu heilen, zu lindern, zu verhüten oder zu erkennen,

2. die Beschaffenheit, den Zustand oder die Funktionen des Körpers oder seelische Zustände erkennen zu lassen,

3. vom menschlichen oder tierischen Körper erzeugte Wirkstoffe oder Körperflüssigkeiten zu ersetzen,

4. Krankheitserreger, Parasiten oder körperfremde Stoffe abzuwehren, zu beseitigen oder unschädlich zu machen oder

5. die Beschaffenheit, den Zustand oder die Funktionen des Körpers oder seelische Zustände zu beeinflussen.“ [51]

Nach dieser Definition handelt es sich sowohl bei Radiotherapeutika als auch bei Radiodiagnostika eindeutig um Arzneimittel im Sinne des Arzneimittelgesetzes. Da der Stoffbegriff nicht mengenmäßig beschränkt ist, kann auch das Argument, dass Radiopharmaka in der Regel eine vernachlässigbar geringe Stoffmenge der radioaktiven Substanz beinhalten, nicht am Arzneimittelbegriff vorbeiführen.

Laut dem AMG sind radioaktive Arzneimittel folgendermaßen definiert: *„Arzneimittel, die radioaktive Stoffe sind oder enthalten und ionisierende Strahlen spontan aussenden und die dazu bestimmt sind, wegen dieser Eigenschaft angewendet zu werden; als radioaktive Arzneimittel gelten auch für die Radiomarkierung anderer Stoffe vor der Verabreichung hergestellte Radionuklide (Vorstufen) sowie die zur Herstellung von radioaktiven Arzneimitteln bestimmten Systeme mit einem fixierten Mutterradionuklid, das ein Tochternuklid bildet (Generatoren).“* [29]

Da Radiopharmaka also zu den Arzneimitteln gehören, unterstehen sie allen Anforderungen des AMG. Dennoch existieren in manchen Berreichen besondere Vorschriften für radioaktive Arzneimittel, die auf ihre speziellen Eigenschaften, v.a. auf ihre teilweise sehr kurze Halbwertszeit, zurückzuführen sind.
So müssen Radiopharmaka vor der Applikation an den Patienten ebenfalls einer Qualitätskontrolle unterzogen werden. Aufgrund der relativ kurzen Halbwertszeit, die bei manchen PET-Nukliden sogar im Bereich von nur wenigen Minuten liegt, unterscheidet sich diese Qualitätskontrolle beträchtlich von der Qualitätskontrolle eines nicht radioaktiven Arzneimittels. Besonders zeitaufwändige Prüfungen wie z.B. Sterilitätstests von Parenteralia werden zwar durchgeführt, aber das Ergebnis kann nicht für die Applikation abgewartet werden.
Anforderungen an radioaktive Arzneimittel im Bezug auf ihre Herstellung, Eigenschaften und Qualitätsprüfungen sind in der Monographie „Radioaktive Arzneimittel“ des Europäischen Arzneibuchs 1997 und in dessen Nachtrag 2000 zu finden.
Nach § 13 AMG braucht *„wer Arzneimittel ... gewerbs- oder berufsmäßig zum Zwecke der Abgabe an andere herstellen will ... einer Erlaubnis der zuständigen Behörde.“* Dies gilt natürlich auch für Radiopharmaka. Entsprechend § 13 AMG ist auch die Herstellung von Radiopharmaka innerhalb einer Klinik zur ausschließlichen Anwendung an Patienten dieser Klinik eindeutig erlaubnispflichtig.[29]

Unter dem Begriff „Herstellen“ versteht man gemäß dem Arzneimittelgesetz *„das Gewinnen, das Anfertigen, das Zubereiten, das Be- oder Verarbeiten, das Umfüllen einschließlich des Abfüllens und das Abpacken von Arzneimitteln sowie das Kennzeichnen von Arzneispezialitäten und Prüfpräparaten“*.[51] Diese Tätigkeiten machen eine Erlaubnis nach § 13 AMG erforderlich. Die Herstellungsgenehmigung wird in der Regel bei der zuständigen Bezirksverwaltungsbehörde beantragt.

Gemäß dem Arzneimittelgesetz sind zur Erteilung der Herstellungsgenehmigung bestimmte personelle und räumliche Voraussetzungen zu erfüllen. In Herstellungsbetrieben müssen ein Herstellungsleiter, ein Kontrollleiter und ein Vertriebsleiter, die über erförderliche Sachkenntnisse verfügen, vorhanden sein. Herstellungsleiter und Kontrollleiter müssen ein Hochschulstudium der Pharmazie, der Chemie, der Biologie, der Human- oder Veterinärmedizin abgeschlossen haben sowie eine mindestens zweijährige praktische Tätigkeit in der Arzneimittelherstellung oder –prüfung bzw. eine mindestens dreijährige Tätigkeit auf dem Gebiet der Nuklearmedizin oder der radiopharmazeutischen Chemie nachweisen.

Des Weiteren müssen geeignete Räume und Einrichtungen für die Herstellung, Qualitätskontrolle und Lagerung der Arzneimittel vorhanden sein und der Hersteller muss gewährleisten, dass die Herstellung und Prüfung nach dem Stand der Wissenschaft und Technik durchgeführt werden.[29]

Gemäß § 7 AMG dürfen Arzneispezialitäten nur in Verkehr gebracht werden, wenn sie durch die zuständige Bundesbehörde zugelassen sind. In Österreich ist die zuständige Behörde für das nationale Zulassungsverfahren seit Jänner 2006 das Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen (vorher war das Bundesministerium für Gesundheit und Frauen zuständig).[51] Radioaktive Arzneimittel sind zulassungspflichtig, sofern es sich um Arzneispezialitäten handelt.[29] Dieser Begriff ist im AMG folgendermaßen definiert: *„Arzneispezialitäten sind Arzneimittel, die im Voraus stets in gleicher Zusammensetzung hergestellt und unter der gleichen Bezeichnung in einer zur Abgabe an den Verbraucher oder Anwender bestimmten Form in Verkehr gebracht werden sowie Arzneimittel zur Abgabe an den Verbraucher oder Anwender, bei deren Herstellung sonst ein industrielles Verfahren zur Anwendung kommt oder die gewerbsmäßig hergestellt werden.“* [51]

Demzufolge handelt es sich bei den konventionellen Kits, die mit Radionukliden wie beispielsweise ^{99m}Tc markiert werden eindeutig um Arzneispezialitäten, die somit zulassungspflichtig sind. Dies gilt ebenfalls für die unmarkierte Trockensubstanz. Die Sachlage bei den sehr kurzlebigen PET-Radiopharmaka ist hingegen nicht ganz so eindeutig. Hier handelt es sich oft um für bestimmte Patienten durchgeführte Einzelherstellungen, weswegen der Zustand der Herstellung „im Voraus“ keine Anwendung findet. Somit handelt es sich nicht um Arzneispezialitäten und es besteht grundsätzlich keine Zulassungspflicht.

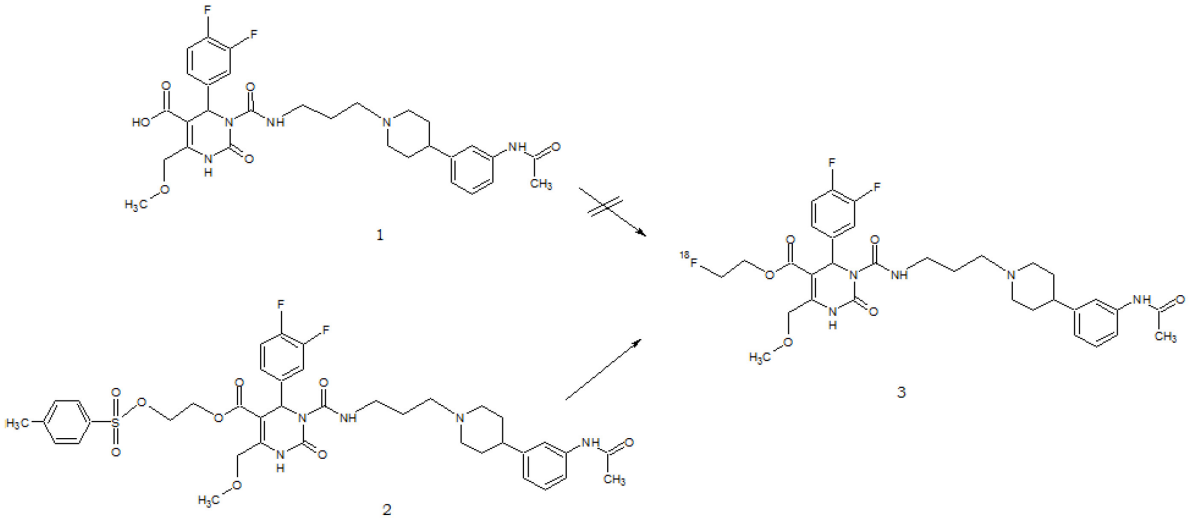
Sobald aber etwas längerlebige Radpharmaka, wie z.B. 2-[^{18}F]FDG für mehrere Patienten hergestellt werden, handelt es sich um eine Herstellung „im Voraus“ und diese Arzneimittel sind somit zulassungspflichtig.

Da die Zulassungspflicht für Arzneimittel, die zur klinischen Prüfung beim Menschen bestimmt sind, nicht gilt, können neue PET-Tracer in Rahmen einer klinischen Prüfung durchaus ohne Zulassung angewendet werden. [29,51]

2. Eigene Untersuchungen

2.1. Zielsetzung

Das Ziel dieser Diplomarbeit war, einen Syntheseweg für den neuen PET-Tracer [^{18}F]Fluorethyl@SNAP ([^{18}F]FE@SNAP, 3) zu etablieren. Dabei wurde von zwei Präkursoren ausgegangen – von der freien SNAP-Säure (1) und vom Tosyloxyethyl@SNAP (Tos@SNAP, 2).

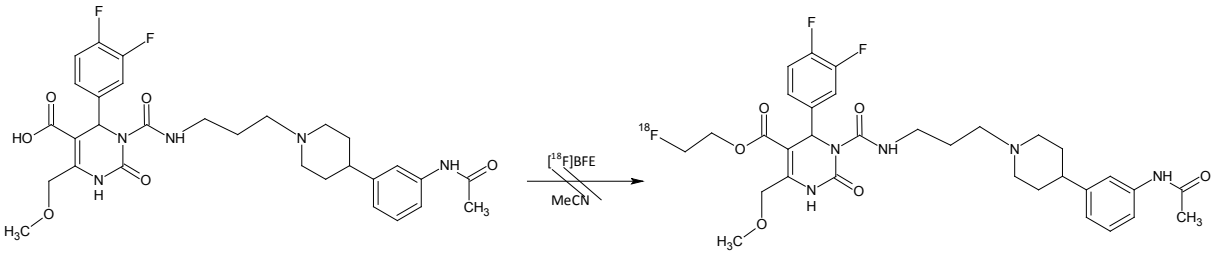


2.2. Produktion von ^{18}F als [^{18}F]Fluorid – Bedienung des Zyklotrons, Herstellung und Delivery der Aktivität

Die Bedienung des Zyklotrons erfolgt zentral von einer Steuerungseinheit aus. Die mechanische Beförderung von Flüssigkeiten und Gasen (im Fall von [^{11}C]CO_2) durch die Leitungswege wird mittels He-Gas-Druck erreicht.
Wie bereits im Kapitel 1.7.2. beschrieben, erfolgt die Produktion von [^{18}F]F^- durch Bestrahlung von ^{18}O-angereichertem Wasser mit Protonen in - in diesem Fall - einem Silber-Target. Als Protonenquelle dient das [^{1}H]H_2-Gas, aus dem durch Anlegen einer Hochspannung Hydridionen entstehen und beschleunigt werden. Diese Hydridionen werden durch einen komplexen physikalischen Prozess in Protonen umgewandelt, mit denen letztendlich das Target beschossen wird.
Für Probeversuche reichen relativ geringe Aktivitätsmengen (1-2 GBq). In solchen Fällen kann die in den Leitungen verbliebene Aktivität aus einer kurz zuvor stattgefundenen Bestrahlung einfach mit Wasser ausgespült werden.
Schließlich gelangt die Targetaktivität bzw. das Spülwasser in ein Vial in eine speziell eingerichteten heiße Zelle.

2.3. Fluorethylierungsversuche ausgehend von der SNAP-Säure

2.3.1. [^{18}F]FE@SNAP ausgehend von SNAP-Säure und 1-Brom-2-[^{18}F]fluorethan



Schema der [^{18}F]FE@SNAP-Synthese über 1-Brom-2-[^{18}F]fluorethan

Verwendete Geräte und Materialien

Module	• Advion NanoTek Synthesizer, Ithaca, NY, USA • Synthesizer TRACERlab FxFN (General Electric Company)
HPLC	Agilent technologies 1200 Series, Santa Clara, CA, USA
HPLC-Säule	Cromolith performance, RP-18e, 100-4,6 mm
Flow	1 ml/min
Laufmittel (HPLC)	Acetatpuffer[1]/MeCN (70/30)
DC-Platten	TLC Silica Gel 60 RP-18 $F_{254}S$, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC)	MeCN/Wasser (95/5)
Kartusche	F-18 Cartridge, Chromafix, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland
Vials	Approx, Wheaton, Millville, NJ, USA
MeCN	Acetonitril, Chromasolv® Plus, for HPLC ≥99,9%, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Bromethyltriflat	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
[^{19}F]FE@SNAP (HPLC-Standard)	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
o-Dichlorbenzol	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
Dimethylformamid	Fluka Chemie GmbH, Buchs AG, Schweiz
Aqua bidest	B.Braun, Melsungen, Deutschland
Kryptofix®222	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
K_2CO_3	Kaliumcarbonat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
SNAP-Säure	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
Tetrabutylammoniumhydroxid	Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
MeOH	Methanol, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Einwegspritzen	B.Braun, Melsungen, Deutschland
Pipetten	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Reaktionsgefäße	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Heizblock	RCT basic, IKA-Labortechnik, Staufen, Deutschland

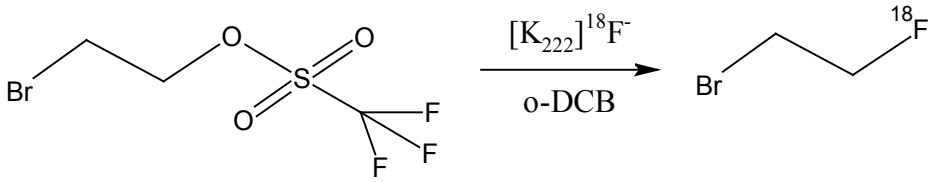
Tabelle 5

[1]97,5% Wasser; 2,5% Essigsäure (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland); 2,5 g Ammoniumacetat/l (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

Ablauf der Synthese

- Das im Zyklotron durch Bestrahlung von mit ^{18}O-angereichertem Wasser hergestellte [^{18}F]Fluorid muss vor dem Synthesebeginn wasserfrei gemacht werden. Dies wurde erreicht durch Komplexierung mit Kryptofix$_{2.2.2}$/K_2CO_3 und azeotrope Trocknung, die im Advion Nano Tek Synthesizer stattgefunden haben. Dabei wurde das [^{18}F]F^--haltige Wasser mit Hilfe einer speziellen Elutionslösung (20 mg Kryptofix$_{2.2.2}$/4,5 mg K_2CO_3/700 µl MeCN/300 µl H_2O) über eine Kartusche eluiert. Die azeotope Trocknung erfolgte bei 110°C durch protionsweise Zugabe von MeCN (3 × 300µl).

- Herstellung und Reinigung von [^{18}F]BFE: Dieser Schritt wurde im GeTracerLab durchgeführt. Der [^{18}F]Fluorid$^-$-Kryptofix$_{2.2.2}$-Komplex wurde mit einer Lösung, bestehend aus Bromethyltriflat und o-Dichlorbenzol (30 µl/500µl), versetzt. Die Reaktion hat bei 100°C stattgefunden und 10 Minuten gedauert. Danach wurde das [^{18}F]BFE bei 130°C unter Heliumstrom in DMF destilliert. Das Produkt wurde mittels HPLC analysiert. Die Bedingungen (Laufmittel, Flow) waren die gleichen wie bei der Analytik von [^{18}F]FE@SNAP (siehe Tabelle 5). Herstellung von [^{18}F]BFE war erfolgreich.



Schema der [^{18}F]BFE-Synthese

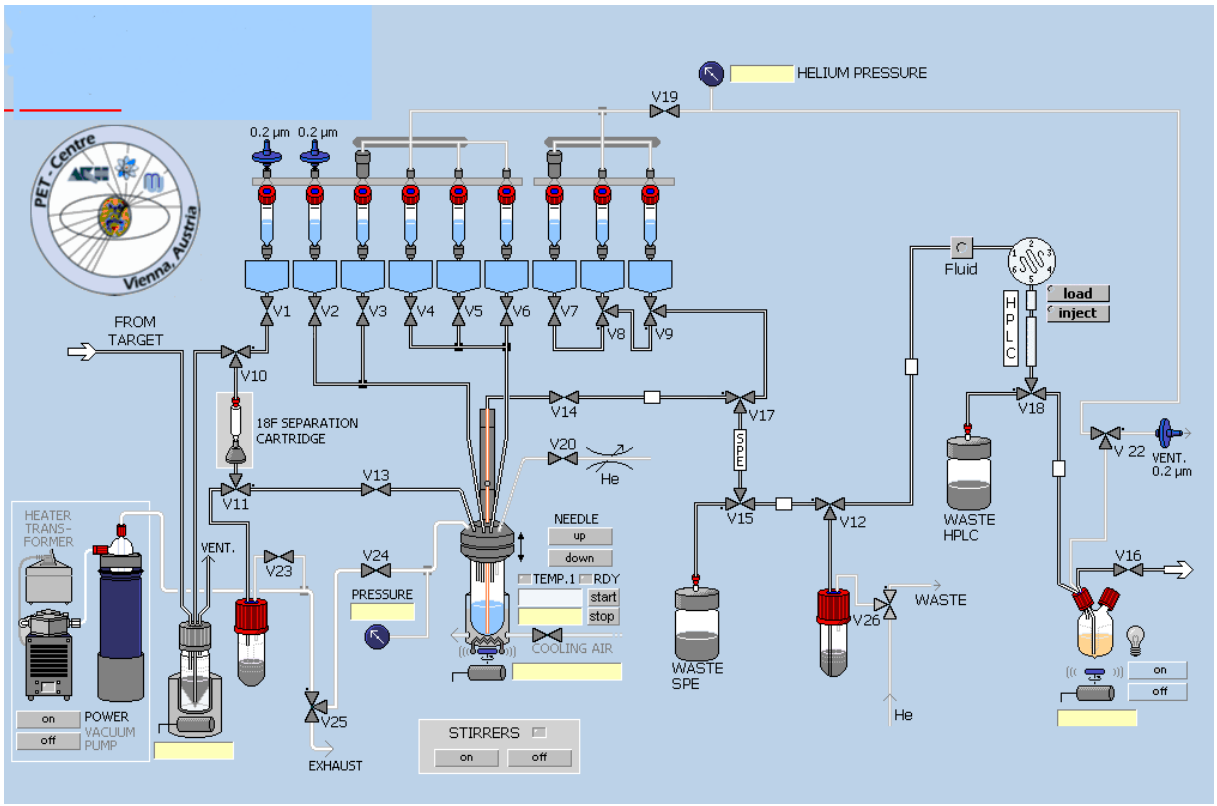


Abbildung 12: TRACERlab FxFN

- Herstellung von [^{18}F]FE@SNAP: Zuerst wurde der Präkursor – freie SNAP-Säure - folgendermaßen vorbereitet:
    1) Eine Lösung von SNAP-Säure in DMF (Lösung 1) wurde hergestellt (14 mg/ml).
    2) Eine Lösung von TBAH in MeOH (Lösung 2) wurde hergestellt (132 mg/500 µl).
    3) Diese zwei Lösungen wurden vermischt und zwar in folgendem Verhältnis: 5,5 µl Lösung 2/ 1 mg SNAP-Säure → Lösung 3

  Anschließend wurde die Lösung 3 auf dem Heizblock mit [^{18}F]BFE im Verhältnis 1:1 versetzt.
  Die Reaktion wurde mehrere Male bei 100, 120 und 140°C durchgeführt, die Reaktionszeit wurde ebenfalls variiert – 15, 20, 25, 30 min.

- Die Produktlösung wurde mittels HPLC und DC analysiert. Die genauen Daten zu den Laufmitteln, HPLC und DC sind in der Tabelle 5 angeführt. Leider konnte mann auf diesem Weg das [^{18}F]FE@SNAP nicht herstellen. Außerdem wurde, wie in der nachfolgenden Tabelle ersichtlich, nach der [^{18}F]BFE-Synthese oft ein großer Aktivitätsverlust beobachtet.

Trägeraktivität ([^{18}F]F$^-$)	10,91 GBq (9:55 Uhr)	17,17 GBq (9:11 Uhr)	13,88 GBq (10:50 Uhr)
Aktivität nach Fixierung und Trocknung ([^{18}F]F$^-$)	9,175 GBq (10:20 Uhr)	15,16 GBq (9:50 Uhr)	11,1 GBq (11:27 Uhr)
Trap ([^{18}F]BFE)	6,024 GBq (11 Uhr)	81 MBq (10:30 Uhr)	53 MBq (12:04 Uhr)

Tabelle 6: Aktivitätsdaten von einigen Versuchen

2.3.2.[^{18}F]FE@SNAP ausgehend von SNAP-Säure und [^{18}F]Fluorethyltriflat

2.3.2.1. Synthese von Ethylenbistriflat

Die Synthese wurde entsprechend der Publikation von Kiesewetter et al.[45] am Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, durchgeführt.

Es wurden folgende Substanzmengen eingesetzt:
10 g Triflatanhydrid (in 30 ml CH_2Cl_2)
2,87 ml Pyridin
0,97 ml Ethylenglykol (in 10 ml CH_2Cl_2)

Ausbeute: 3,27 g (71%)

Das ^{1}H-Spektrum wurde auf einem Bruker Avance DPX-200 Spectrometer bei 27°C (200.13 MHz fur ^{1}H, 50.32 MHz fur ^{13}C) aufgenommen. Das Lösungsmittelsignal wurde als interner Standard verwendet und auf TMS bezogen mit δ = 7.26 ppm (^{1}H in $CDCl_3$) und δ = 77.0 ppm (^{13}C in $CDCl_3$).

Die Chemikalien wurden von den Firmen Sigma-Aldrich (Wien, Österreich) und Fisher Scientific (Schwerte, Deutschland) bezogen.

2.3.2.2. Synthese von [^{18}F]FE@SNAP über [^{18}F]Fluorethyltriflat

Verwendete Geräte und Materialien

HPLC	Agilent technologies 1200 Series, Santa Clara, CA, USA
HPLC-Säule	Cromolith performance, RP-18e, 100-4,6 mm
Laufmittel (HPLC)	Acetatpuffer[1]/MeCN (70/30)
Flow	1 ml/min
[^{19}F]FE@SNAP (HPLC-Standard)	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
DC-Platten für [^{19}F]FE@SNAP	TLC Silica Gel 60 RP-18 $F_{254}S$, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC) für [^{19}F]FE@SNAP	MeCN/Wasser (95/5)
DC-Platten für [^{19}F]FETf	TLC Silica Gel 60 RP-18 $F_{254}S$ und KG, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC) für [^{19}F]FETf	MeCN/Wasser (95/5, 80/20, 70/30)
Vials	Approx, Wheaton, Millville, NJ, USA
Kartusche	F-18 Cartridge, Chromafix, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland
Filter	Sep-Pak Cartridges, Light Alumina N, Waters Corporation, Milford, MS, USA
Einwegspritzen	B.Braun, Melsungen, Deutschland
SNAP-Säure	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
Ethylenbistriflat	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
Triflatanhydrid	Sigma-Aldrich
MeCN	Acetonitril, Chromasolv® Plus, for HPLC ≥99,9%, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Aqua bidest	B.Braun Melsungen AG, Deutschland
Kryptofix®222	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
K_2CO_3	Kaliumcarbonat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Tetrabutylammoniumhydroxyd	Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
MeOH	Methanol, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Pipetten	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Heizblock	RCT basic, IKA-Labortechnik, Staufen, Deutschland

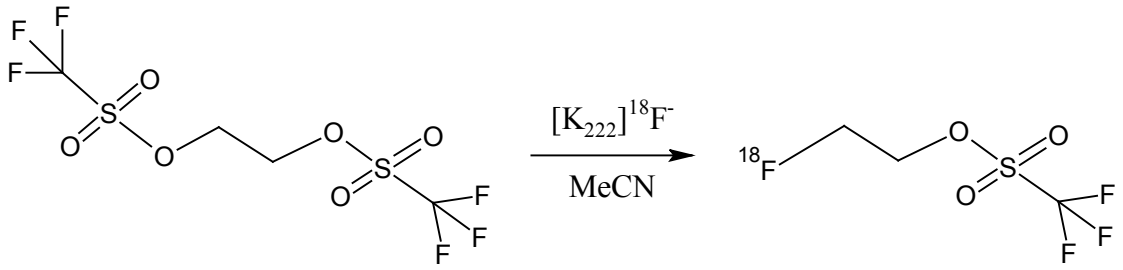
Tabelle 7

[1]97,5% Wasser; 2,5% Essigsäure (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland); 2,5 g Ammoniumacetat/l (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

Ablauf der Synthese

- Azeotrope Trocknung und Komlexierung mit Kryptofix$_{2.2.2}$/K_2CO_3 wurden diesmal manuell vorgenommen – wie in der Publikation von Kiesewetter et al.[45] beschrieben. Zur Druckerzeugung hat man eine große Spritze und Plastikschläuche verwendet.

- Die Synthese von [^{18}F]Fluorethyltriflat erfolgte ebenfalls entsprechend der Publikation von Kiesewetter et al.[45]: In den Fluorid-Kryptofix$_{2.2.2}$-Komlex wurden 100 µl Ethylenbistriflat-Lösung (1 mg/100 µl in MeCN) zugegeben, das Vial wurde aufgemacht und 1 min lang bei 125°C erhitzt. Anschließend wurde das Vial ins Eisbad gelegt und man hat 5 µl Triflatanhydrid zugegeben. Danach wurde die Produktlösung über Light Alumina N eluiert. Die Analytik erfolgte mittels DC. Genaue Daten sind in der Tabelle 7 angeführt. Die Synthese von [^{18}F]Fluorethyltriflat war erfolgreich.



Schema der [^{18}F]FETf-Synthese

- Herstellung von [^{18}F]FE@SNAP: Zuerst wurde der Präkursor – freie SNAP-Säure - folgendermaßen vorbereitet:
    1) Eine Lösung von SNAP-Säure in MeCN (Lösung 1) wurde hergestellt (2 mg/ml).
    2) Eine Lösung von TBAH in MeOH (Lösung 2) wurde hergestellt (132 mg/500 µl).
    3) Diese zwei Lösungen wurden vermischt und zwar in folgendem Verhältnis: 5,5 µl Lösung 2/ 1 mg SNAP-Säure → Lösung 3

  Anschließend wurde die Lösung 3 auf dem Heizblock mit [^{18}F]FETf im Verhältnis 1:1 versetzt.

  Die Reaktion hat bei 75°C stattgefunden. Die Reaktionszeiten waren unterschiedlich, da man mehrere Ansätze vorgenommen hat (10, 20 und 30 min).

- Die Produktlösung wurde mittels HPLC und DC analysiert. Die genauen Daten zu den Laufmitteln, HPLC und DC sind in der Tabelle 7 angeführt. Leider blieb dieser Versuch ohne Erfolg.

Spülwasseraktivität ([^{18}F]F$^-$)	2,9 GBq (8:50 Uhr)	840 MBq (8:48 Uhr)
Nach dem Eluieren ([^{18}F]F$^-$)	1,69 GBq (9:16 Uhr)	491 MBq (9:08 Uhr)
Nach der azeotropen Trocknung ([^{18}F]F$^-$)	1,42 GBq (9:45 Uhr)	387 MBq (9:44 Uhr)
[^{18}F]FETf	0,52 GBq (10:05 Uhr)	5,24 MBq (10:00 Uhr)

Tabelle 8: Aktivitätsdaten von einigen Versuchen

2.3.3.[^{18}F]FE@SNAP ausgehend von SNAP-Säure und [^{18}F]Fluorethyltosylat

Verwendete Geräte und Materialien

Modul	Advion NanoTek Synthesizer, Ithaca, NY, USA
HPLC	Agilent technologies 1200 Series, France
HPLC-Säule	Cromolith performance, RP-18e, 100-4,6 mm
Laufmittel (HPLC)	Acetatpuffer[1]/MeCN (70/30)
Flow (HPLC)	1 ml/min
[^{19}F]FE@SNAP (HPLC-Standard)	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
DC-Platten für [^{18}F]FE@SNAP	TLC Silica Gel 60 RP-18 $F_{254}S$, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC) für [^{18}F]FE@SNAP	MeCN/Wasser (95/5)
DC-Platten für [^{18}F]FETos	KG $F_{254}S$, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC) für [^{18}F]FETos	MeCN/Wasser (50/50)
Vials	Approx, Wheaton, Millville, NJ, USA
Kartusche	F-18 Cartridge, Chromafix, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland
SNAP-Säure	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
Ethylenditosylat	Ethylen glycol di-p-tosylate, Aldrich Chemical Company, Inc., USA
MeCN	Acetonitril, Chromasolv® Plus, for HPLC ≥99,9%, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Aqua bidest	B.Braun, Melsungen, Deutschland
Kryptofix®222	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
K_2CO_3	Kaliumcarbonat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Tetrabutylammoniumhydroxid	Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
MeOH	Methanol, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Heizblock	RCT basic, IKA-Labortechnik, Staufen, Deutschland
Pipetten	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich

Reaktionsgefäße	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Einwegspritzen	B.Braun, Melsungen, Deutschland

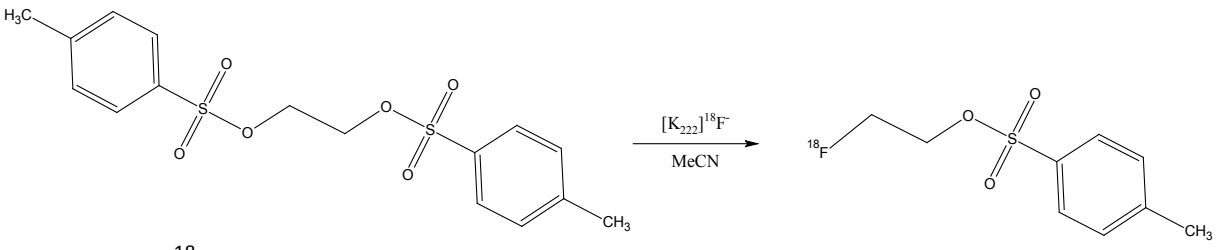
Tabelle 9

[1]97,5% Wasser; 2,5% Essigsäure (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland); 2,5 g Ammoniumacetat/l (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

Ablauf der Synthese

- Komplexierung mit Kryptofix$_{2.2.2}$ /K_2CO_3 und azeotrope Trocknung des im Zyklotron hergestellten [^{18}F]Fluorids wurden im Advion Nano Tek Synthesizer vorgenommen. Dabei wurde das [^{18}F]F$^-$-haltige Wasser mit Hilfe einer speziellen Elutionslösung (20 mg Kryptofix$_{2.2.2}$/4,5 mg K_2CO_3/700 µl MeCN/300 µl H_2O) über eine Kartusche eluiert. Die azeotopeTrocknung erfolgte bei 110°C durch protionsweise Zugabe von MeCN (3 × 300µl). Nach der azeotropen Trocknung wurden 500 µl MeCN in das Endgefäß zugesetzt.

- Synthese von [^{18}F]Fluorethyltosylat: Versuche der Darstellung von [^{18}F]FETos wurden sowohl im Advion Nano Tek Synthesizer als auch konventionell vorgenommen. Dabei wurde eine Lösung von Ethylenditosylat in Acetonitril (18,5 mg/ml) mit dem unmittelbar vorher azeotrop getrockneten und mit MeCN verdünnten [^{18}F]F$^-$im Verhältnis 1:1 versetzt. Konventionelle Synthese dauerte 15 min und wurde bei 85 °C durchgeführt. Auf diesem Wege ließ sich [^{18}F]FETos nicht herstellen. Außerdem hat man nach der Reaktion oft eine gelbe Färbung beobachtet. Der Versuch im Mikroreaktor war hingegen erfolgreich. Das Produkt hat man mittels DC analysiert. Die genauen Daten zu der DC sind aus der Tabelle 9 zu entnehmen.



Schema der [^{18}F]FETos-Synthese

	Advion NanoTek Synthesizer	Konventionelle Methode	
Spülwasseraktivität	1,1 GBq (12:05 Uhr)	134 MBq (12:28)	1,87 GBq (8:50 Uhr)
Aktivität nach der azeotropen Trocknung	250 MBq (12:37 Uhr)	54 MBq (13 Uhr)	1,07 GBq (9:15 Uhr)
Aktivität nach der Synthese von [^{18}F]FETos	40, 56 MBq (13 Uhr)	12 MBq (13:26)	337 MBq (9:40 Uhr)

Tabelle 10: Synthese von [^{18}F]Fluorethyltosylat – genaue Aktivitätsdaten

- Herstellung von [^{18}F]FE@SNAP: Zuerst wurde der Präkursor – freie SNAP-Säure - folgendermaßen vorbereitet:
    1) Eine Lösung von SNAP-Säure in MeCN (Lösung 1) wurde hergestellt (2 mg/ml).
    2) Eine Lösung von TBAH in MeOH (Lösung 2) wurde hergestellt (132 mg/500 µl).
    3) Diese zwei Lösungen wurden vermischt und zwar in folgendem Verhältnis: 5,5 µl Lösung 2/1 mg SNAP-Säure → Lösung 3

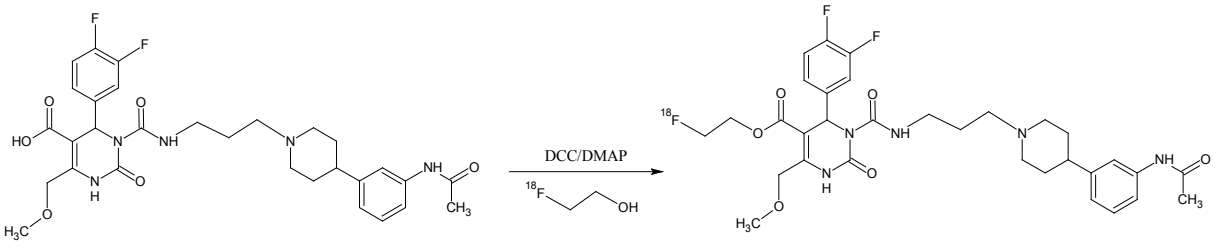
  Anschließend wurden 100 µl Lösung 3 mit 100 µl [^{18}F]FETos versetzt und 15 min bei 75°C auf dem Heizblock erhitzt. Die Produktlösung wurde mittels HPLC und DC analysiert. Die genauen Daten zu den Laufmitteln, HPLC und DC sind in der Tabelle 9 angeführt. Leider blieb dieser Versuch ohne Erfolg.

2.3.4. [^{18}F]FE@SNAP ausgehend von SNAP-Säure und 2-[^{18}F]Fluorethanol

2.3.4.1. Steglich-Veresterung

Da bei der Herstellung des kalten Standards, [^{19}F]FE@SNAP, die sog. Steglich-Veresterung zum Erfolg geführt hat,[17] wollte man den Versuch vornehmen, auch das [^{18}F]FE@SNAP auf diesem Wege zu synthetisieren.

Die Veresterung nach Steglich ist eine milde Reaktion, welche die Umsetzung von säurelabilen und sterisch gehinderten Produkten ermöglicht. Wie jede Veresterung, geht sie von der freien Säure und dem entsprechenden Alkohol – in diesem Fall von 2-[^{18}F]Fluorethanol – aus. Als Kopplungsreagenz bzw. Katalysator werden Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) verwendet und die Reaktion findet bei Raumtemperatur statt.
Der Reaktionsmechanismus beruht auf der Bildung eines O-Acylisoharnstoffderivats aus der Carbonsäure und DCC, wodurch die Säure aktiviert wird und der Alkolol leichter angreifen kann. Dimethylaminopyridin bewirkt eine Beschleunigung der Reaktion durch Verhinderung der Bildung intramolekularer Nebenprodukte.[17,52]



Schema der Steglich-Veresterung von [^{18}F]FE@SNAP

2.3.4.2. Versuche zur Darstellung von 2-[^{18}F]Fluorethanol

2.3.4.2.1. Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethanol über 2-Bromethanol

Verwendete Geräte und Materialien

Modul	Advion NanoTek Synthesizer, Ithaca, NY, USA
HPLC	Merck Hitachi LaChrom, L-7350, Berthold technologies, Bad Wildbach, Deutschland
HPLC-Säule	Hamilton PRP-1
Laufmittel (HPLC)	Saures Gemisch[1]
2-Bromethanol	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
2-[^{19}F]Fluorethanol (Standard)	Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
MeCN	Acetonitril, Chromasolv® Plus, for HPLC ≥99,9%, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Kryptofix®222	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
K_2CO_3	Kaliumcarbonat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
DC-Platten	TLC Silica Gel 60 RP-18 F_{254}S und KG, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC)	MeCN/Wasser (95/5, 80/20)
Aqua bidest	B.Braun,Melsungen, Deutschland
Kartusche	F-18 Cartridge, Chromafix, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland
Einwegspritzen	B.Braun Melsungen AG, Deutschland
Heizblock	RCT basic, IKA-Labortechnik, Staufen, Deutschland
Vials	Approx, Wheaton, Millville, NJ, USA
HCl	Hydrochloric acid, 37 %, Merck Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland
Pipetten	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Reaktionsgefäße	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich

Tabelle 11

[1] H_2O/EtOH/Essigsäure/10 mM Ammoniumacetat (87,5/10/2,25/0,25 (v/v/v/v))

Ablauf der Synthese

- Komplexierung mit Kryptofix$_{2.2.2}$ /K_2CO_3 und azeotrope Trocknung des im Zyklotron hergestellten [^{18}F]Fluorids wurden im Advion Nano Tek Synthesizer vorgenommen. Dabei wurde das [^{18}F]F$^-$-haltige Wasser mit Hilfe einer speziellen Elutionslösung (20 mg Kryptofix$_{2.2.2}$/4,5 mg K_2CO_3/700 µl MeCN/300 µl H_2O) über eine Kartusche eluiert. Die azeotopeTrocknung erfolgte bei 110°C durch protionsweise Zugabe von MeCN (3 × 300µl). Nach der azeotropen Trocknung wurden 500 µl MeCN in das Endgefäß zugesetzt.

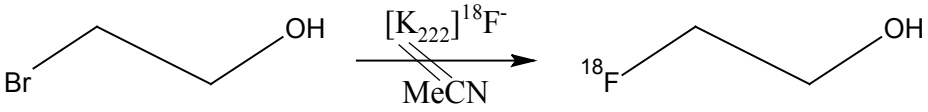
- Anschließend wurde das [^{18}F]F$^-$mit 2-BrEtOH im Verhältins 1:1 auf dem Heizblock versetzt. Es wurden mehrere Ansätze vorgenommen, wobei man die Temperatur und

Reaktionszeit variert hat. Genaue Daten sind aus der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen.

Temperatur(°C)/ Reaktionszeit (min)	Spülwasseraktivität (GBq)			Aktivität nach der azeotropen Trocknung (GBq)		
60/15	2,32 (9:14 Uhr)	1,1 (13:17 Uhr)	1,87 (8:50 Uhr)	1,49 (9:30 Uhr)	0,66 (13:50 Uhr)	1,07 (9:32 Uhr)
60/30	2,32 (9:14 Uhr)	1,1 (13:17 Uhr)	1,87 (8:50 Uhr)	1,49 (9:30 Uhr)	0,66 (13:50 Uhr)	1,07 (9:32 Uhr)
60/60	2,32 (9:14 Uhr)	1,1 (13:17 Uhr)	1,87 (8:50 Uhr)	1,49 (9:30 Uhr)	0,66 (13:50 Uhr)	1,07 (9:32 Uhr)
80/15	2,32 (9:14 Uhr)	1,1 (13:17 Uhr)	1,87 (8:50 Uhr)	1,49 (9:30 Uhr)	0,66 (13:50 Uhr)	1,07 (9:32 Uhr)
80/30	2,32 (9:14 Uhr)	1,1 (13:17 Uhr)	1,87 (8:50 Uhr)	1,49 (9:30 Uhr)	0,66 (13:50 Uhr)	1,07 (9:32 Uhr)
80/60	2,32 (9:14 Uhr)	1,1 (13:17 Uhr)	1,87 (8:50 Uhr)	1,49 (9:30 Uhr)	0,66 (13:50 Uhr)	1,07 (9:32 Uhr)

Tabelle 12: Reaktionsbedingungen und Aktivitätsdaten bei Synthese von 2-[^{18}F]FEtOH über 2-BrEtOH

- Die Produktlösung wurde mittels HPLC und DC analysiert. Man hat für die DC sowohl RP- als auch KG-Platten und als Laufmittel Mischungen aus MeCN und Wasser im Verhältnis 95/5 bzw. 80/20 verwendet.
  Leider ließ sich das [^{18}F]FEtOH auf diesem Wege nicht herstellen.



Schema der 2-[^{18}F]FEtOH-Synthese über 2-BrEtOH

2.3.4.2.2. Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethanol über [^{18}F]Fluorethyltosylat

Verwendete Geräte und Materialien

Modul	Advion NanoTek Synthesizer, Ithaca, NY, USA
HPLC	Merck Hitachi LaChrom, L-7350, Berthold technologies, Bad Wildbach, Deutschland
HPLC-Säule	Hamilton PRP-1
Laufmittel (HPLC)	Saures Gemisch[1]
DC-Platten	KG F_{254}S, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC)	MeCN/Wasser (50/50)
Vials	Approx, Wheaton, Millville, NJ, USA
Kartusche	F-18 Cartridge, Chromafix, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland
Ethylenditosylat	Ethylen glycol di-p-tosylate, Aldrich Chemical Company, Inc., USA
2-[^{19}F]Fluorethanol (Standard)	Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
MeCN	Acetonitril, Chromasolv® Plus, for HPLC ≥99,9%, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Aqua bidest	B.Braun, Melsungen, Deutschland
Kryptofix®222	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
K_2CO_3	Kaliumcarbonat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Heizblock	RCT basic, IKA-Labortechnik, Staufen, Deutschland
Einwegspritzen	B.Braun Melsungen AG, Deutschland
HCl	Hydrochloric acid, 37 %, Merck Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland
Pipetten	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Reaktionsgefäße	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich

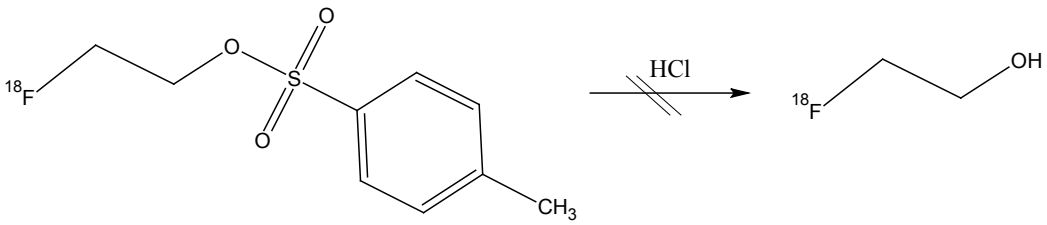
Tabelle 13
[1] H_2O/EtOH/Essigsäure/10 mM Ammoniumacetat (87,5/10/2,25/0,25 (v/v/v/v))

Ablauf der Synthese

- Die Herstellung von [^{18}F]Fluorethyltosylat erfolgte wie im Kapitel 2.3.3. beschrieben (die ersten zwei Reaktionsschritte). Nach Beendigung der Reaktion wurde einige Male eine gelbe Färbung beobachtet. [^{18}F]FETos wurde mittels DC analysiert. Die genauen Daten dazu sind aus der Tabelle 13 zu entnehmen.

- Synthese von 2-[^{18}F]FEtOH: In 300 µl Lösung von [^{18}F]FETos in MeCN wurden beim ersten Versuch 100 µl HCl conc. zugegeben. Die Lösung wurde vor der Zugabe von HCl nicht abgekühlt. Beim nächsten Versuch hat man 150 µl [^{18}F]FETos in MeCN abkühlen lassen und anschließend mit 20 µl HCl conc. versetzt. Das Produkt wurde

mittels HPLC analysiert (siehe Tabelle 12). Auch dieser Versuch der Herstellung von [^{18}F]FEtOH blieb ohne Erfolg.



Schema der [^{18}F]FEtOH-Synthese über [^{18}F]FETos

2.3.4.2.3. Synthese von 2-[^{18}F]Fluorethanol über [^{18}F]Fluorethyltriflat

Verwendete Geräte und Materialien

DC-Platten	TLC Silica Gel 60 RP-18 $F_{254}S$ und KG, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC)	MeCN/Wasser (95/5, 80/20, 70/30)
HPLC	Merck Hitachi LaChrom, L-7350, Berthold technologies, Bad Wildbach, Deutschland
HPLC-Säule	Hamilton PRP-1
Laufmittel (HPLC)	Saures Gemisch[1]
Vials	Approx, Wheaton, Millville, NJ, USA
Kartusche	F-18 Cartrige, Chromafix, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, D-52355 Düren
Filter	Sep-Pak Cartridges, Light Alumina N, Waters Corporation, Milford, MS, USA
Einwegspritzen	B.Braun, Melsungen, Deutschland
2-[^{19}F]Fluorethanol (Standard)	Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Ethylenbistriflat	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
Triflatanhydrid	Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
MeCN	Acetonitril, Chromasolv® Plus, for HPLC ≥99,9%, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Aqua bidest	B.Braun, Melsungen, Deutschland
Kryptofix®222	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
K_2CO_3	Kaliumcarbonat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Heizblock	RCT basic, IKA-Labortechnik, Staufen, Deutschland
HCl	Hydrochloric acid, 37 %, Merck Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland
Pipetten	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Reaktionsgefäße	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich

Tabelle 14

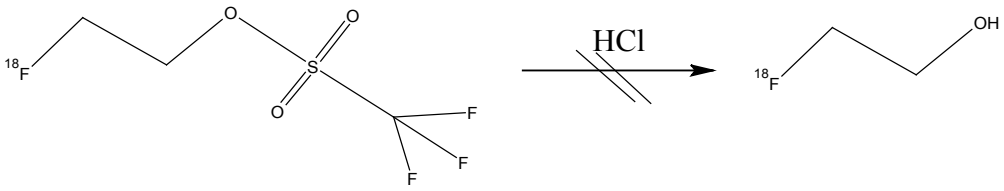
[1] H_2O/EtOH/Essigsäure/10 mM Ammoniumacetat (87,5/10/2,25/0,25 (v/v/v/v))

Ablauf der Synthese

- Die Herstellung von [^{18}F]Fluorethyltriflat erfolgte wie im Kapitel 2.3.2.2 beschrieben (die ersten zwei Reaktionsschritte). [^{18}F]FETf wurde mittels DC analysiert. Genaue Daten sind in der Tabelle 14 angeführt.

- Man hat versucht 2-[^{18}F]FEtOH durch Abspaltung der Triflatgruppe mittels HCl aus [^{18}F]FETf herzustellen. Hierfür wurden 200 µl [^{18}F]FETf in MeCN mit 10 µl HCl (37 %)

bei RT versetzt. Das Produkt wurde mittels HPLC analysiert (siehe Tabelle 14). Auch dieser Versuch der Herstellung von [^{18}F]FEtOH blieb ohne Erfolg.



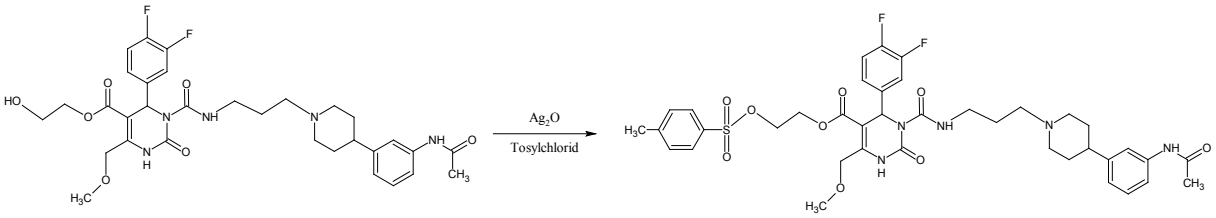
Schema der [^{18}F]FEtOH-Synthese über [^{18}F]FETf

Schlussfolgerung: Da keiner der Versuche zur Darstellung von 2-[^{18}F]Fluorethanol erfolgeich war, konnte die Steglich-Veresterung nicht durchgeführt werden.

2.4. Synthese von [^{18}F]FE@SNAP ausgehend von Tos@SNAP und [^{18}F]Fluorid

2.4.1. Synthese von Tos@SNAP

Die Synthese wurde entsprechend der Dissertation von Dr. Eva Schirmer [17] am Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, durchgeführt.
Als Ausgangsverbindung hat man den Alkohol, 2-Hydroxyethyl-3-(3-(4-(3-acetamidophenyl)piperidin-1-yl)propylcarbamoyl)-4-(3,4-difluorphenyl)-6-(methoxymethyl)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-carbonsäureester, verwendet.



Schema der Tos@SNAP-Synthese

Es wurden folgende Substanzmengen verwendet:
365 mg (0,453 mmol) Alkohol
5ml CH_2Cl_2
208,3 mg (0,899 mmol) Ag_2O
171,76 mg (0,899 mmol) Tosylchlorid
149,1 mg (0,899 mmol) KI

Ausbeute: 102 mg (22,57 %)

Die Chemikalien wurden von den Firmen Sigma-Aldrich (Wien, Österreich), Acros (Wien, Österreich) und VWR (Wien, Österreich) bezogen. Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Aluminiumfolien der Firma Merck (Kieselgel 60 F254, Nr. 1.05554.0001, 0.2 mm x 20 cm x 20 cm) benutzt.

2.4.2. Synthese von [^{18}F]FE@SNAP über Tos@SNAP

Der gesamte Prozess bestand aus zwei Schritten – aus der Synthese und der Reinung und Formulierung des Produktes. Die Synthese von [^{18}F]FE@SNAP hat im Advion NanoTek Synthesizer stattgefunden, während Reinung und Formulierung im Modul Nuclear Interface durchgeführt wurden. Die Funktionsweise des Moduls Advion NanoTek wurde bereits im Kapitel 1.9. genauer beschrieben.

2.4.2.1. Optimierung der Reaktionsbedingungen (Advion NanoTek Synthesizer)

Nachdem man festgestellt hat, dass das Produkt über einen bestimmten Syntheseweg zugänglich ist, werden Reaktionsbedingungen optimiert, um eine möglichst hohe Ausbeute zu erzielen.
In einem vollautomatisierten Synthesemodul ist dies innerhalb von nur wenigen Stunden möglich.
Im Rahmen der Syntheseversuche von [^{18}F]FE@SNAP im Advion NanoTek Synthesizer hat man festgestellt, dass bei einer Temperatur von 170 °C und einem overall flow von 150 µl/min die besten Ergebnisse erzielt werden.
Schon bei 100 °C wurden zufriedenstellende Aubeuten erreicht und keine Bildung von Nebenprodukten konnte beobachtet werden. Bei 140 °C wurde die Ausbeute weiter erhöht, aber es kam zur Bildung eines Nebenprodukts. Durch Erhöhung der Temperatur auf 170 °C wurde die Bildung des Nebenprodunkts gesteigert und gleichzeitig konnte man eine Zersetzung des Präkursors beobachten. Die radiochemische Ausbeute stieg hingegen weiter. Die Zersetzung des Präkursors konnte aber durch Erhöhung des overall flows verringert werden. Die Aufenthaltsdauer im beheizten Mikroreaktor betrung nur 6,24 s und war damit kurz genug, um eine signifikante Zersetzung von Tos@SNAP zu vermeiden.
Bei 170 °C stieg RCIY mit steigender Durchflussrate. Bei 140 °C konnte man einen umgekehrten Trend beobachten.
Als weiterer Reaktionsparameter wurde das Reaktionsvolumen herangezogen. Doch, man hat beobachtet, dass sowohl bei kleinen (20 µl) als auch bei großen Ansätzen (300 µl), die radiochemische Ausbeute ähnlich war.
Was die Präkursor-Konzentration betrifft, hat man festgestellt, dass bei 4 mg/ml RCIY am höchsten war (siehe Abbildung 14).
Genaue Daten zu den Versuchen sind in der nachfolgenden Tabelle ersichtlich.

Precursor Konz. [mg/ml]	T [°C]	Vol. P_3 [µl]	Ratio [P1/P3]	Flow P_3 [µl/min]	% Ausbeute ([^{18}F]FE@SNAP)
7,5	140	5	1	30	33,4
7,5	140	5	1	30	35,1
7,5	140	5	1	30	30,1
7,5	170	5	1	30	48,7
7,5	170	5	1	30	28,2
7,5	170	5	1	30	40,1
7,5	170	5	1	10	24,7
7,5	170	5	1	10	23,5
7,5	170	5	1	10	27,2
7,5	170	10	1	50	43,9
7,5	170	10	1	50	45,5
7,5	170	10	1	50	44,7
7,5	170	10	1	75	47,9
7,5	170	10	1	75	42,9
7,5	170	10	1	75	42
7,5	100	10	1	30	34,8
7,5	100	10	1	30	32
7,5	100	10	1	30	33,9
7,5	140	5	1	10	48,9
7,5	140	5	1	10	50,3
7,5	140	5	1	10	23,6
7,5	140	10	1	50	24,6
7,5	140	10	1	50	24,7
7,5	140	10	1	50	22,9
7,5	140	15	1	75	21
7,5	140	15	1	75	19,4
7,5	140	15	1	75	21,5

Tabelle 15

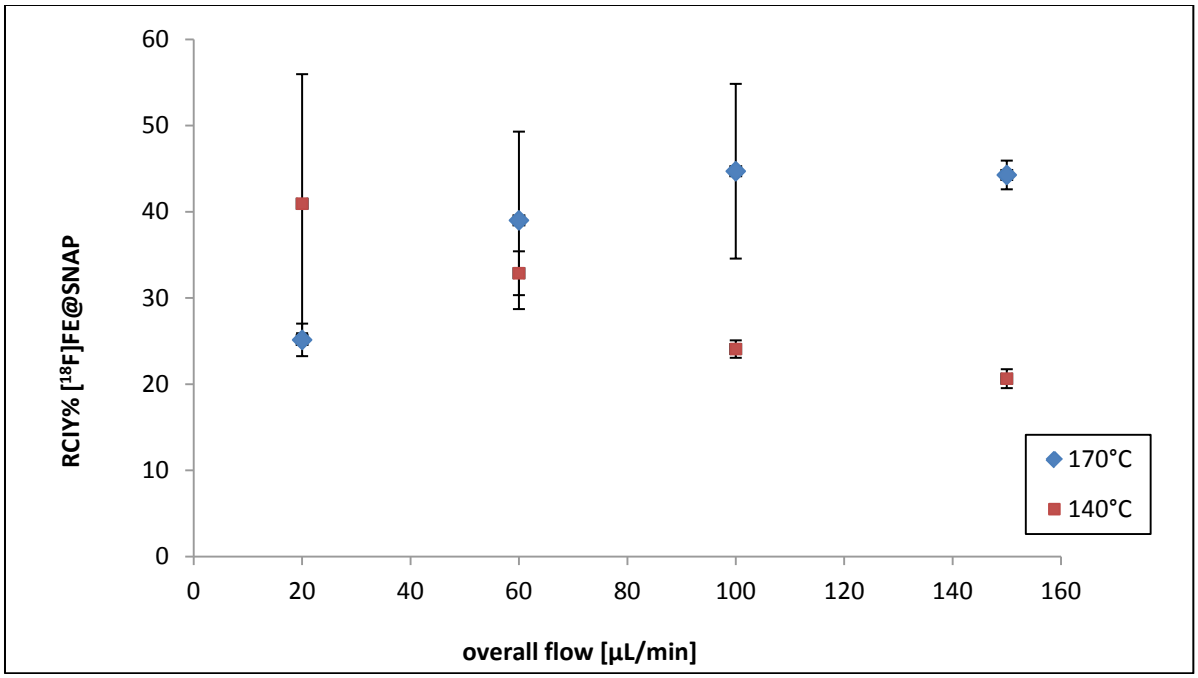


Abbildung 13: Änderung der radiochemischen Ausbeute in Abhängigkeit von der Temperatur und der Durchflussrate - Aus dieser Grafik ist ersichtlich, dass bei 170 °C und einem overall flow von 150 µl/min die höchste radiochemische Ausbeute (RCIY = radiochemical incorporation yield) erzielt wird.

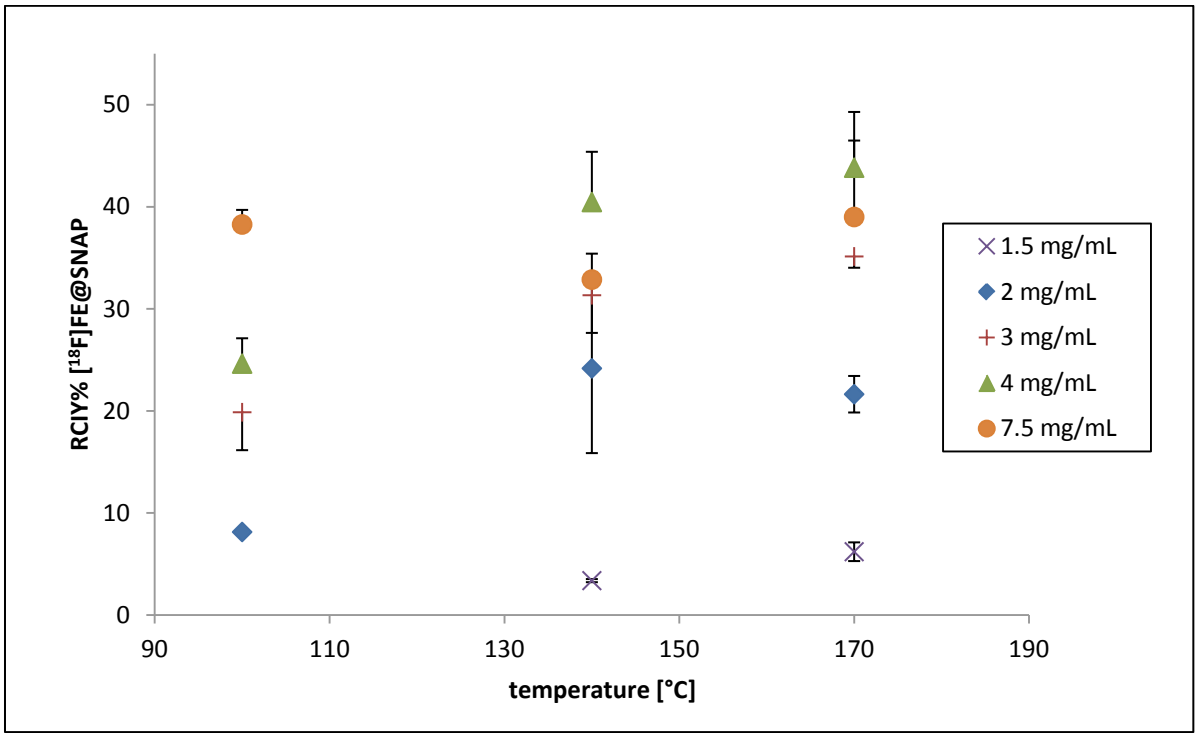


Abbildung 14: Änderung der radiochemischen Ausbeute in Abhängigkeit von der Temperatur und Konzentration des Präkursors

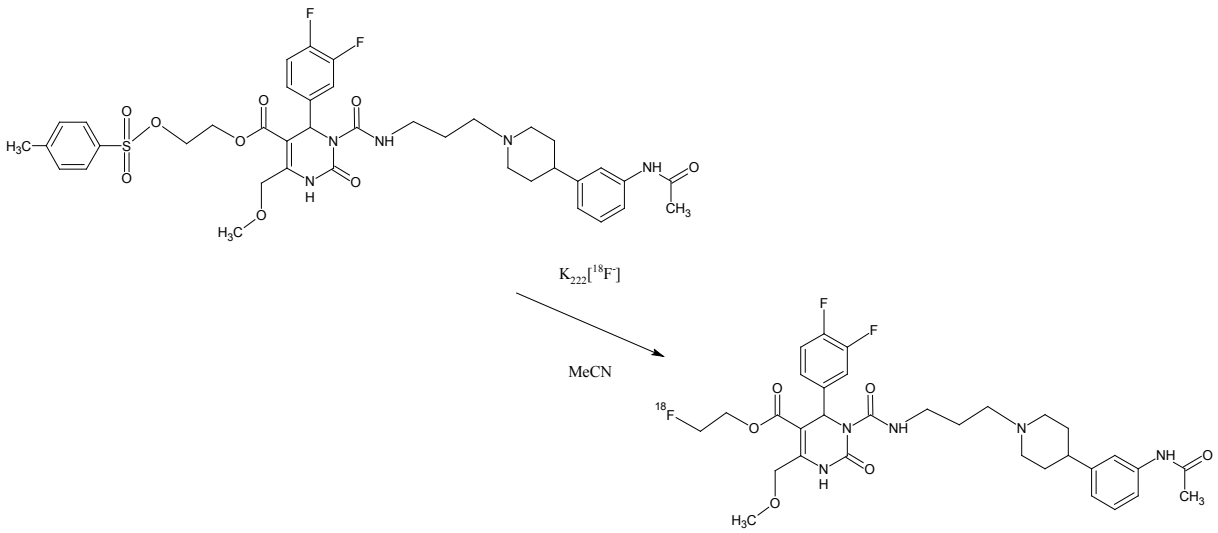
2.4.2.2. Ablauf der Synthese

- Vorbereitung des Synthesemoduls: Vor dem Beginn jeder Synthese muss das System gereinigt werden. Dabei mussten Master Clean und Concentrator Clean durchgeführt werden, was vollautomatisch abläuft.
  Nach der Reinigung wurden 500 µl Precursorlösung (Tos@SNAP in MeCN, 6 mg/ml) und 500 µl Elutionslösung (20 mg Kryptofix$_{2.2.2}$/4,5 mg K_2CO_3/700 µl MeCN/300 µl H_2O) in jeweils ein Eppendorfgefäß gegeben und die Gefäße an das System angeschlossen. Vorher wurde die Pecursorlösung ungefähr 10 min im Ultraschallbad entgast, weil keine Luft ins System gelangen darf.

- Die Precursorlösung wurde dann aufgezogen und anschließend erfolgte die azeotrope Trocknung. Dabei wurde das [^{18}F]F$^-$-haltige Wasser mit Hilfe einer speziellen Elutionslösung (20 mg Kryptofix$_{2.2.2}$/4,5 mg K_2CO_3/700 µl MeCN/300 µl H_2O) über eine Kartusche eluiert. Die azeotope Trocknung erfolgte bei 110°C durch protionsweise Zugabe von MeCN (3 × 300µl).

- Danach erfolgte die Radiomarkierung von Tos@SNAP mit [^{18}F]F$^-$. Die Reaktion hat bei 170 °C und einem overall flow von 150 µl/min stattgefunden.

- Nach Beendigung der Reaktion, die zwischen 1 und 3 min gedauert hat, je nachdem wie groß der Ansatz war, wurde das produkthaltige Vial an das Nuclear Interface Modul angeschlossen.



Schema der Synthese von [^{18}F]FE@SNAP über Tos@SNAP

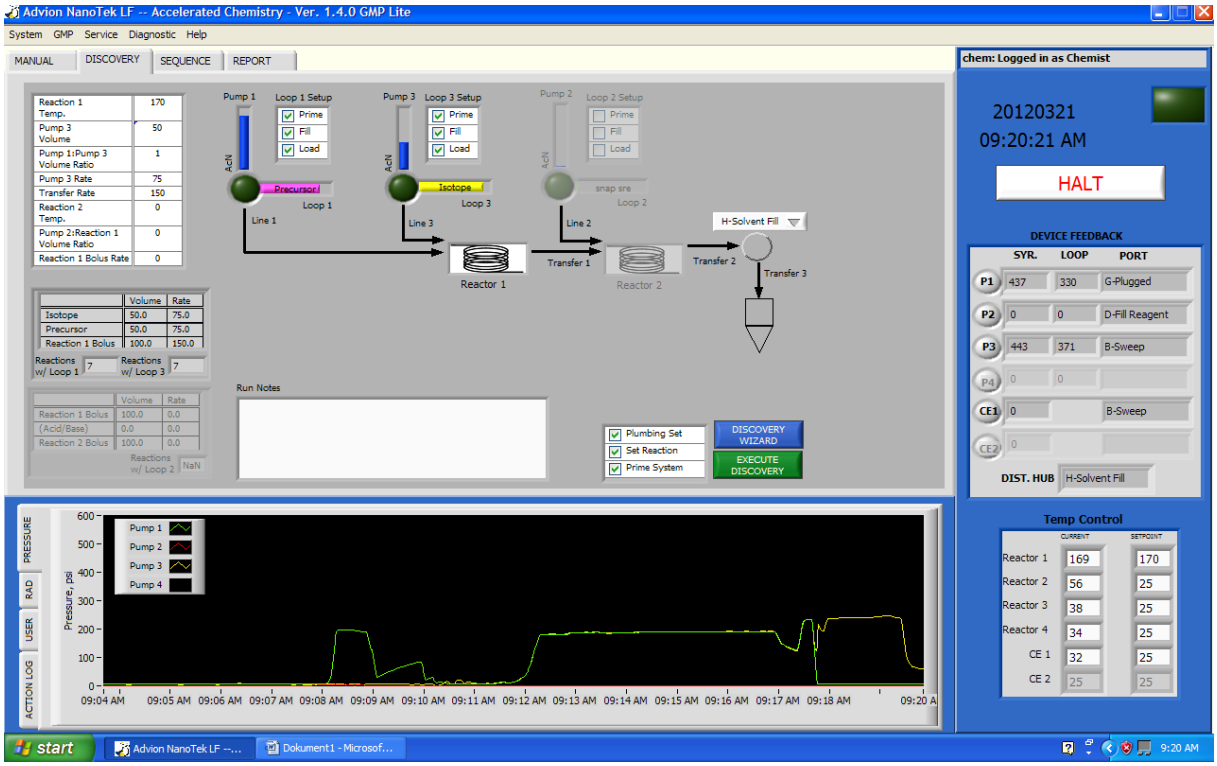


Abbildung 15: Screenshot des Advion-Systems während einer Synthese

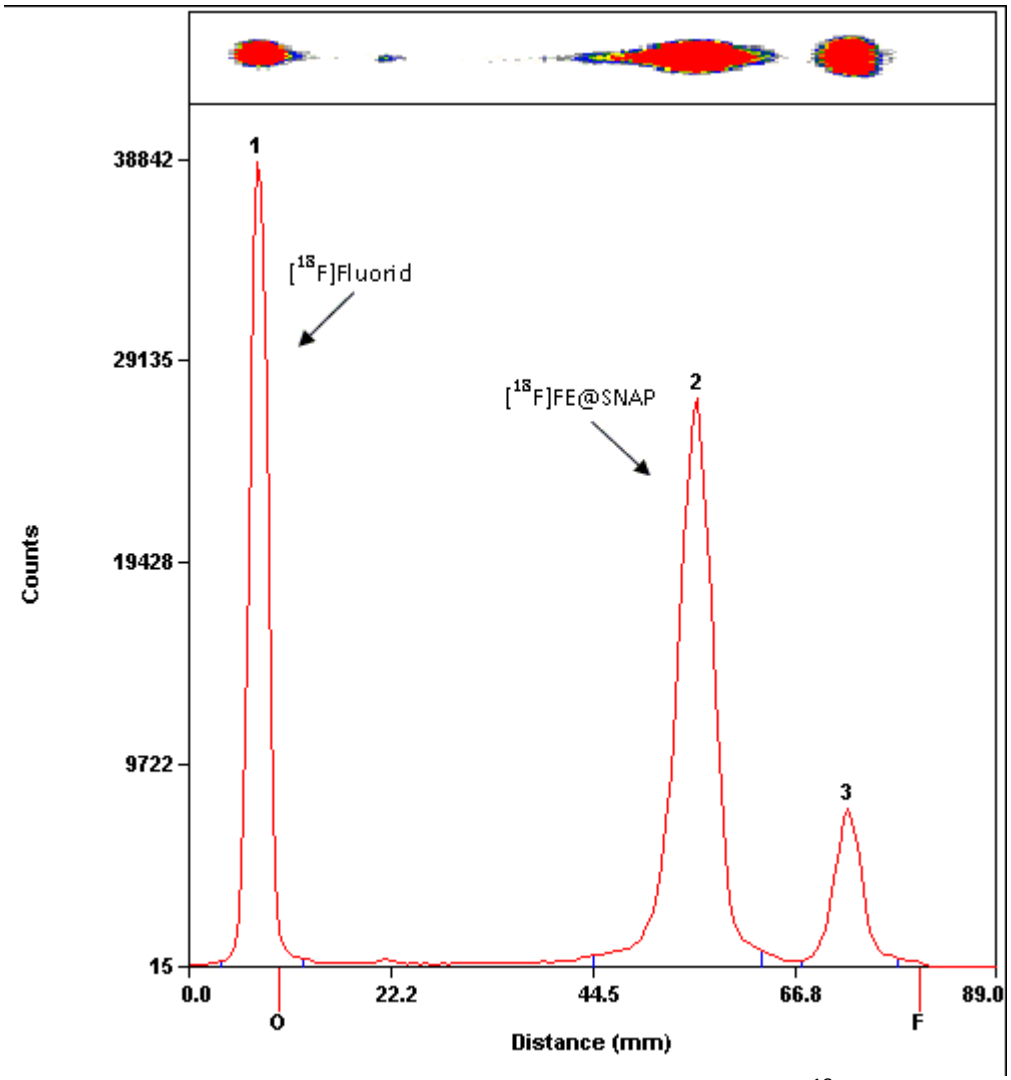


Abbildung 16: Radio-DC-Chromatogramm – Der R_f-Wert von [^{18}F]FE@SNAP betrug 0,69 – 0,75; der R_f-Wert von [^{18}F]F^- lag bei 0,000 – 0,060

2.4.2.3. Nuclear Interface

Nuclear Interface Syntesizer ist ein komplexes vollautomatisch computergesteuertes System, das Synthese der entsprechenden radioaktiv markierten Verbindung, Abtrennung der Nebenprodukte und des überschüssigen Radionuklids mittels präparativer HPLC, Einstellung des pH-Werts und der Isotonie und letztendlich Sterilfiltration des Endproduktes ermöglicht. Da die Radiomarkierung von Tos@SNAP, wie bereits oben erklärt, im Advion NanoTek Synthesizer stattgefunden hat, hat man in unserem Fall nur einen Teil dieses Systhems verwendet.
Das Schema des Systems ist in folgender Grafik ersichtlich.

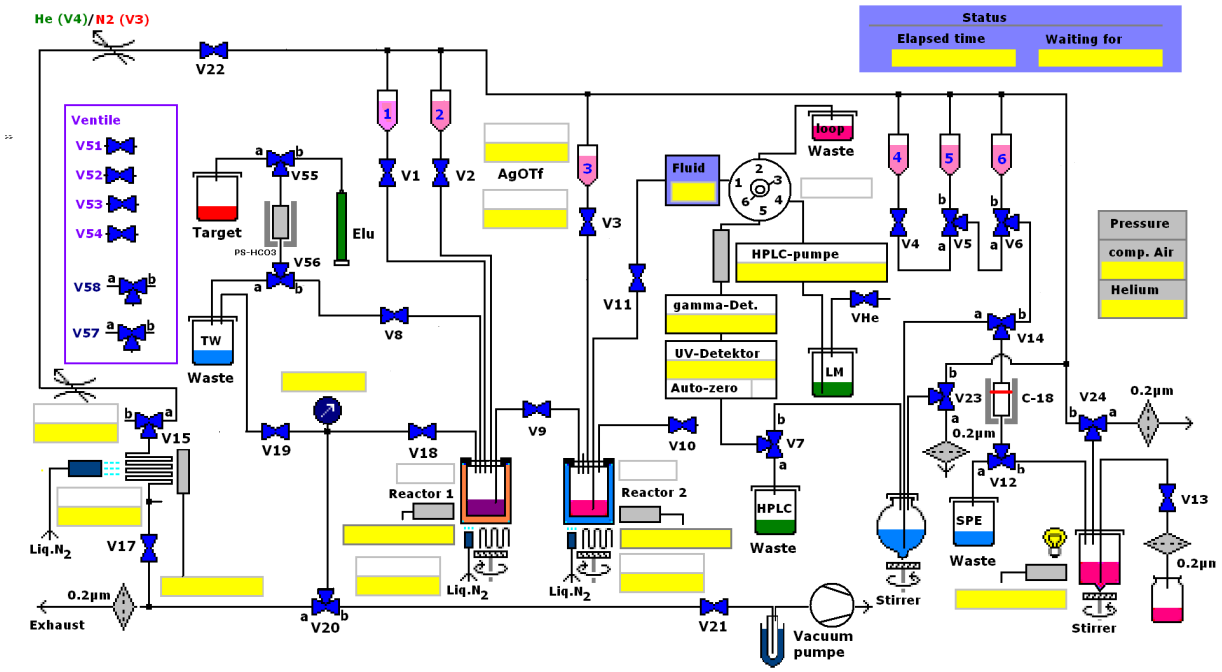


Abbildung 17: Nuclear Interface Synthesizer

2.4.2.3.1. Vorgangsweise

- Vorbereitung des Synthesemoduls:
  Der Teil des Moduls vor der semipräparativen HPLC (Reaktor, Injektor und Leitungen) wurde mit Wasser und Aceton gewaschen und durch Heliumstrom getrocknet.
  Die Teile nach der semipräparativen HPLC wurden mit Wasser, Ethanol und physiologischer Kochsalzlösung gereinigt. Dabei wurde jedes Gefäß zuletzt damit gereinigt, womit es dann für die nachfolgende Reinigung und Formulierung von [^{18}F]FE@SNAP befüllt wurde.

- Die Vorätsgefäße, der „bulb“, das Produktsammelgefäß und das Endgefäß wurden folgendermaßen befüllt:
  V3: 1 ml Wasser
  V4: 5 ml NaCl 0,9%
  V5: 1,5 ml Ethanol abs.
  V6: 10 ml Wasser
  bulb: 100 ml Wasser
  PSG: 4 ml NaCl 0.9%, 1ml NaCl 3%, 1 ml Phosphatpuffer 125mM
  Endgefäß: 5 ml NaCl 0.9%

- Das unmmitelbar vorher im Advion NanoTek Synthesizer hergestellte [^{18}F]FE@SNAP wurde in den Reaktor 2 gegeben.

- Der Inhalt des Reaktors wurde anschließend mittels He-Gas-Drucks in die semipräparative HPLC befördert , wo man den entsprechenden Peak geschnitten hat. Dadurch wurde das [^{18}F]FE@SNAP von Nebenprodukten bzw. von überschüssigem [^{18}F]F$^-$ getrennt. In diesem Fall gab es nur ein Nebenprodukt. Die vorher durchgeführten Experimente haben gezeit, dass die Retentionszeit von [^{18}F]FE@SNAP

bei der semipräparativen HPLC bei ca. 13,16 min liegt und diejenige des Nebenprodukts bei ungefähr 7,3 min. Die Flussrate betrug 8 ml/min, wurde aber, nachdem der Nebenproduktpeak erschienen war, manuell auf 10 ml/min umgestellt.

- Anschließend ist die Produktlösung in den „bulb“ gekommen, wo sie mit Wasser verdünnt wurde, damit die lipophile Fraktion gelöst wird.

- Danach wurde sie über die Kartusche (C-18) eluiert und ist ins Produktsammelgefäß gelangt. Zunächst wurden die eventuell vorhandenen Verunreinigungsreste abgetrennt und im SPE-Waste gesammelt. Wasser aus dem V6 dient dazu, die Kartusche zu waschen und EtOH aus dem V5, das Produkt zu eluieren. Durch die 0,9%-ige NaCl-Lösung im V4 wurde die Kartusche nachgewaschen. Die 3%-ige Kochsalzlösung und der 125 mM Phosphatpuffer im PSG dienen der Einstellung des pH-Werts und der Isotonie.

- Letztendlich wurde die Produktlösung sterilfiltriert und ist ins Endgefäß gelangt, welches dann der Qualitätskontrolle unterzogen wurde.

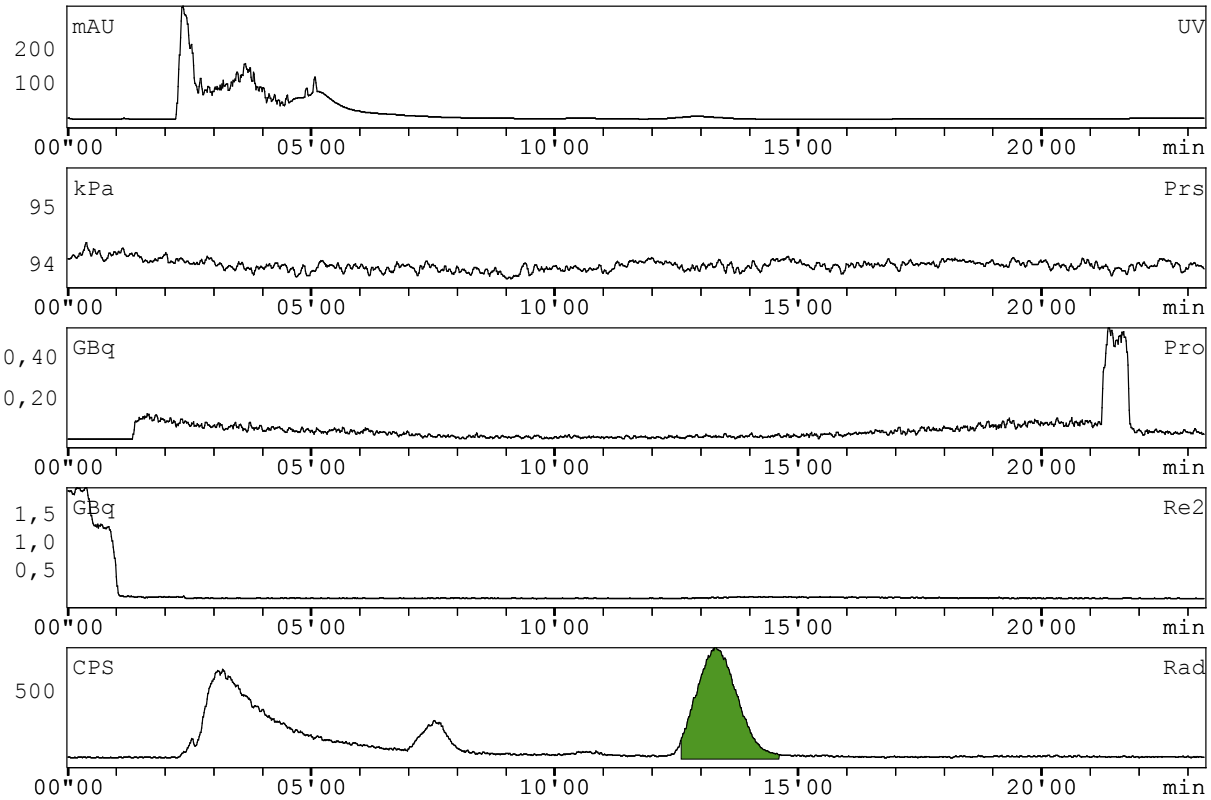


Abbildung 18: ***Chromatographische Spektren von [^{18}F]FE@SNAP auf der semipräparativen HPLC,*** der grün angefärbte Peak entspricht dem [^{18}F]FE@SNAP

2.4.2.4. Qualitätskontrolle

Da es sich bei Radiopharmaka um Arzneimittel im Sinne des Arzneimittelgesetzes handelt, müssen diese auch wie jedes andere Arzneimittel bestimmte Qualitätsanforderungen erfüllen.
Der wesentliche Unterschied zu den nicht radioaktiven Arzneimitteln, der gleichzeitig die Qualitätskontrolle erschwert, ist die durch den physikalischen Zerfall der Radionuklide bedingte beschränkte Haltbarkeit. Daher ist eine zeitaufwändige Qualitätskontrolle nicht möglich.
Im Arzneibuch gibt es eine allgemeine Monographie, die alle radioaktive Arzneimittel betrifft. Ensprechend dieser Monographie, müssen folgende Prüfungen durchgeführt werden:

1) Prüfung auf Identität:
   Messung der Halbwertszeit,
   Bestimmung von Art und Energie der Strahlung,
   Messung der Radioaktivität,
   spezifische Radioaktivität,

2) Prüfung auf Reinheit:
   radionukleare Reinheit,
   radiochemische Reinheit,
   chemische Reinheit,
   stereochemische Reinheit,

3) Sonstige Prüfungen:
   physiologische Verteilung,
   Sterilität,
   Endotoxin- und Pyrogenfreiheit.

Bei den Radiopharmaka, die eine eigene Monographie im Arzneibuch besitzen, sind die vorgeschriebenen Prüfungen in der jeweiligen Monographie durchzuführen.
Bei allen anderen Radiopharmaka, die nicht mit einer Monographie im Arzneibuch vertreten sind, hat der Hersteller selbst die entsprechenden Qualitätsprüfungen auszuwählen, die eine einwandfreie Qualität des Produktes gewährleisten.[29]

Im Rahmen dieser Diplomarbeit hat man die Qualität vom hergestellten [^{18}F]FE@SNAP anhand folgender Parameter überprüft:

- Radiochemische Reinheit
  Unter radiochemischer Reinheit versteht man laut Arzneibuch „für ein bestimmtes Radionuklid das in Prozent ausgedrückte Verhältnis der Radioaktivität des Radionuklids in der angegebenen chemischen Form, bezogen auf die Gesamtaktivität des Radionuklids im radioaktiven Arzneimittel.“ Sie erfasst also nur die Verunreinigungen mit anderen radioaktiven Stoffen, die dasselbe Radionuklid enthalten. [29]

Radiochemische Reinheit wurde mittels HPLC (Radioaktivitätsdetektor) geprüft, der Anteil an [^{18}F]FE@SNAP musste mind. 95 % betragen und keine der eventuell vorhandenen Verunreinigungen durfte mehr als 2 % ausmachen.

- Chemische Reinheit
  Die chemische Reinheit betrifft Verunreinigungen durch nicht radioaktive Substanzen. Bei der Prüfung hinsichtlich dieses Parameters wird die spezifische Aktivität gemessen. Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde bestimmt, in welchem Ausmaß das kalte [^{19}F]FE@SNAP anwesend ist.
  Dies wurde mittels HPLC (UV-Detektor) geprüft.

- pH-Wert und Osmolalität müssen annähernd den physiologischen Werten entsprechen, damit die Applikation für den Patienten nicht qualvoll wird.
  In diesem Fall musste der pH-Wert im Bereich zwischen 5 und 8,5 liegen und wurde mittels Glaselektrode gemessen.

  Osmolalität hat man mit Hilfe eines Osmometers überprüft. Der Referenzberech war 190 – 370 mosm/kg.

Verwendete Geräte und Materialien

Module	• Advion NanoTek Synthesizer, Ithaca, NY, USA • Nuclear Interface, Münster, Deutschland
pH-Meter	WTW InoLab 740, Weilheim, Deutschland
Osmometer	Vapro 5600, Wescor, Logan, Utah, USA
Ultraschallbad	VWR, Ultrasonic cleaner
Analytische HPLC	Agilent technologies 1200 Series, France
HPLC-Säule (analytische HPLC)	Cromolith performance, RP-18e, 100-4,6 mm
Laufmittel (analytische HPLC)	Acetatpuffer[1]/MeCN (70/30)
Semipräparative HPLC	Nuclear Interface, Münster, Deutschland
HPLC-Säule (semipräparative HPLC)	Chromolith® SemiPrep RP-18 e, 100-10 mm
Vorsäule (semipräparative HPLC)	Chromolith® Guard Cartridge RP-18 e
Laufmittel (semipräparative HPLC)	Acetatpuffer[1]/MeCN (75/25)
DC-Platten	TLC Silica Gel 60 RP-18 $F_{254}S$, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Laufmittel (DC)	MeCN/Wasser (95/5)
Vials	Approx, Wheaton, Millville, NJ, USA
Endgefäß	Techne Vial, 25 ml, steriles, evakuiertes Fläschchen, Mallinckrodt, Wollerau, CH
Kartusche (Advion)	F-18 Cartridge, Chromafix, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland
Kartusche (Nuclear Interface)	C-18 Sep-Pak plus Cartridge, Waters Corporation, Milford, MA, USA
Sterilfilter	0,22 µm, gelb, Millex®,Millipore, Bedford,

	MA, USA
Sterilluftfilter	Millex®,Millipore, Bedford, MA, USA
Aceton	SAV LP GmbH, Flintsbach, Deutschland
Tos@SNAP	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
MeCN	Acetonitril, Chromasolv® Plus, for HPLC ≥99,9%, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
Aqua bidest	B.Braun, Melsungen, Deutschland
Kryptofix®222	For synthesis, Merck Schuchardt OHG, Deutschland
Einwegspritzen	B.Braun, Melsungen, Deutschland
Ethanol	abs., Merck, Darmstadt, Deutschland
NaCl 0,9%	B.Braun, Melsungen, Deutschland
NaCl 3%	Landesapotheke Salzburg, Salzburg, Österreich
Phosphatpuffer	125 mM[2]
Pipetten	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Reaktionsgefäße	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich

Tabelle 16

[1]97,5% Wasser; 2,5% Essigsäure (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland); 2,5 g Ammoniumacetat/l (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

[2] 0.224 g Natriumdihydrogenphosphat-monohydrat + 1.935 g Dinatriumhydrogenphosphate-dihydrat (Merck, Darmstadt, Deutschland) + 100 ml Aqua bidest

Nummer	1	2	3
T (°C)	170	170	170
Volumen P3 (µl)	250	150	200
Ratio (P1/P3)	1	1	1
Flow P3 (µl/min)	75	75	75
Overall flow	150	150	150
Targentaktivität (GBq)	25 (9 Uhr)	26,23 (9 Uhr)	24 (14:35 Uhr)
Aktivität nach der Synthese (GBq)	2,34 (9:55 Uhr)	2,36 (10:15)	3 (15:50 Uhr)
Aktivität nach Reinigung und Formulierung (GBq)	0,662 (10:30 Uhr)	0,528 (10:42 Uhr)	0,16 (16:10 Uhr)
Produkt [^{18}F]FE@SNAP % (Radioaktivitätsdetektor)	100	100	100
Retentionszeit (min)	5,52	5,86	5,56
[^{19}F]FE@SNAP % (UV-Detektor)	0	0	0
pH-Wert	7,6	7,5	7,2
Osmolalität	220	253	229

Tabelle 17: Genaue Daten zu einigen Versuchen samt Qualitätskontrolle

Es ist wichtig anzumerken, dass nicht die gesamte Targetaktivität für eine Synthese verbraucht wurde, sondern man hat immer 2-4 Ansätze im Advion NanoTek Synthesizer vorgenommen und derjenige mit der höchsten radiochemischen Ausbeute wurde dann weiter bearbeitet.

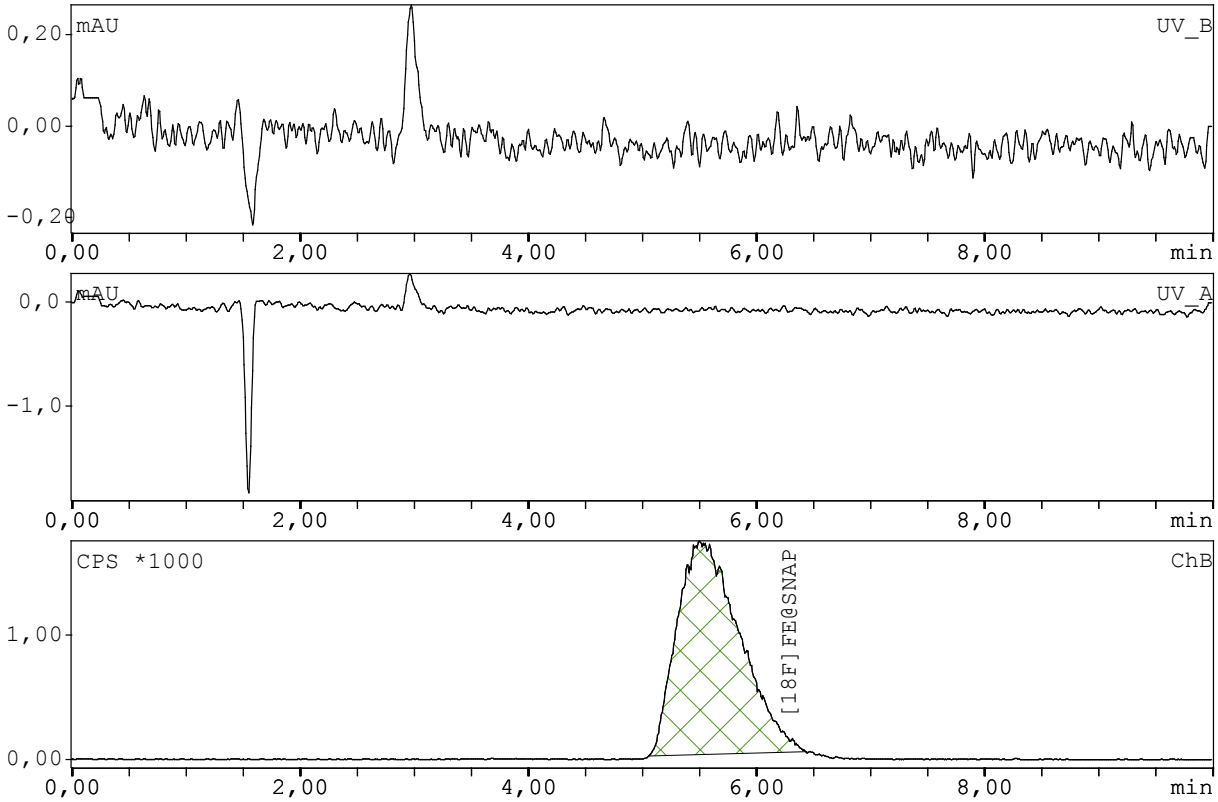


Abbildung 19: Chromatographische Spektren von [^{18}F]FE@SNAP auf der analytischen HPLC, nachdem der entsprechende Peak geschnitten wurde (inj. Volumen: 5 µl, LM: 70 Acetatpuffer (ph=3,5) / 30 MeCN, Flow: 1ml/min, Wellenlänge: 254 nm, Retentionszeit: 5,56 min)

2.5. Kalibrationsgerade

Verwendete Geräte und Materialien

HPLC	Agilent technologies 1200 Series, France
HPLC-Säule	Cromolith performance, RP-18e, 100-4,6 mm
Laufmittel	Acetatpuffer[1]/MeCN (70/30)
Flow	1 ml/min
MeOH	Methanol, Sigma-Aldrich, Wien, Österreich
[^{19}F]FE@SNAP	Department für Arznei- und Naturstoffsynthese, Universität Wien, Österreich
Pipetten	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich
Reaktionsgefäße	Eppendorf GmbH, Wien, Österreich

Tabelle 18

[1]97,5%Wasser; 2,5% Essigsäure (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland); 2,5 g Ammoniumacetat/l (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland)

Zur Konzentrationsbestimmung von [^{19}F]FE@SNAP im hergestellten [^{18}F]FE@SNAP wurde eine Kalibrationsgerade erstellt. Dabei ist man folgendermaßen vorgegangen:
Es wurde eine Stammlösung mit der Konzentration von 1 mg/ml [^{19}F]FE@SNAP in MeOH hergestellt. Ausgehend von dieser Lösung wurde eine Verdünnungsreihe mit folgenden Konzentrationen hergestellt:

100 µg/ml → 10 µg/ml → 5 µg/ml → 2,5 µg/ml → 1 µg/ml → 0,5 µg/ml → 0,1 µg/ml

Jede dieser Lösungen wurde jeweils derimal in die HPLC eingespritzt, die Peakflächen wurden berechnet und die Daten ins Microsoft Excel übertragen, womit letztendlich die Kalibrationsgerade erstellt wurde.

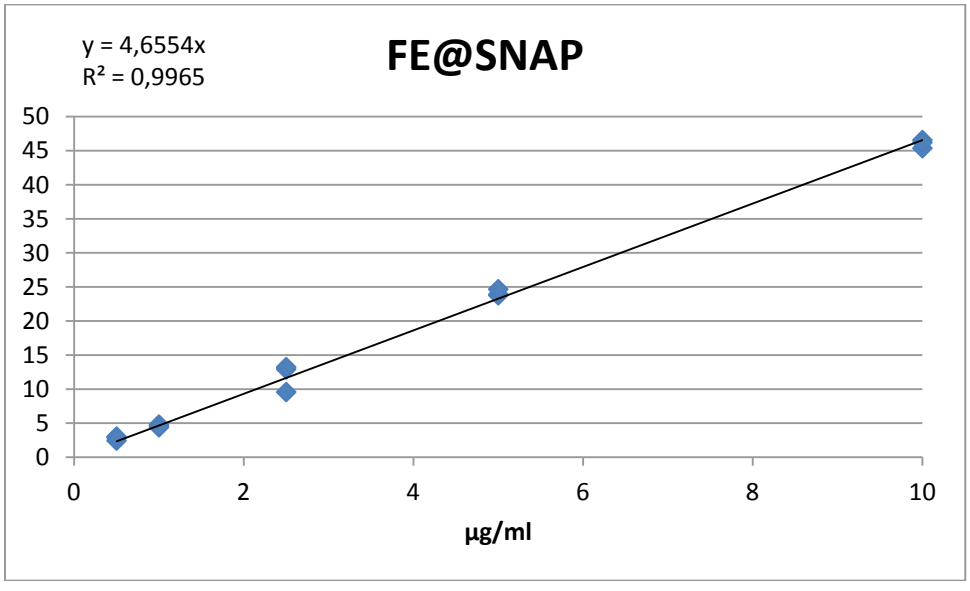


Abbildung 20: Kalibrationsgerade - [^{18}F]FE@SNAP

3. Diskussion

Das Ziel dieser Diplomarbeit war, einen möglichst einfachen Syntheseweg für das [^{18}F]FE@SNAP zu finden, der am Schluss ausreichend hohe Aktivitätsmengen für weitere Untersuchungen liefert.

Alle Versuche der indirekten Radiomarkierung – ausgehend von der freien SNAP-Säure - waren erfolglos. Direkte Fluorierung von Tos@SNAP hat hingegen zum gewünschten Produkt geführt. Eine mögliche Erklärung dafür wäre die geringere Reaktionsbereitschaft der freien Säure im Vgl. zum Tosyloxyethylester – im Fall des Esters musste man das Tosylat durch das [^{18}F]F$^-$ estetzen und Tosylat ist eine sehr gute Abgangsgruppe, was die Reaktion deutlich erleichtert.

Alle Versuche zur Herstellung von Fluorethylierungsreagenzien bis auf das [^{18}F]FEtOH waren ebenfalls erfolgreich. Dies war auch zu erwarten, denn laut Literatur[43,44,45] ist die Synthese dieser Verbindungen schon längst etabliert. Um zu [^{18}F]FETf, [^{18}F]FETos und [^{18}F]BFE zu kommen, musste das Triflat bzw. das Tosylat durch das [^{18}F]F$^-$ ersetzt werden. Das hat meistens keine großen Probleme bereitet, u.a. weil die beiden sehr gute Abgangsgruppen sind. Im Fall von [^{18}F]FEtOH hat man drei Synthesemöglichkeiten in Betracht gezogen: Hydrolyse einer Triflat- bzw. einer Tosylatgruppe ausgehend von [^{18}F]FETf bzw. [^{18}F]FETos und Austausch von Br$^-$ gegen [^{18}F]F$^-$ ausgehend von BrEtOH. Die Güte der Abgangsgruppen Tosylat, Triflat und Bromid nimmt folgendermaßen ab Tf > Tos > Br. Dies wäre eine mögliche Erklärung dafür, warum die Synthese von [^{18}F]FEtOH über BrEtOH erfolglos war.

Außerdem hat keiner der Versuche, das [^{18}F]FE@SNAP mit konventionellen Methoden herzustellen, zum Erfolg geführt. Durch die Anwendung von Advion NanoTek Synthesizer, einem Mikrofluidsystem, konnte man hingegen das gewünschte Produkt bekommen. Das wäre noch ein Beweis der Vorteile von Mikroreaktoren und möglicherweise werden sie in näherer Zukunft mehr Einsatz auf dem Gebiet der Radiochemie finden.

Die Herstellung von [^{18}F]FE@SNAP über Tos@SNAP war in der Hinsicht erfolgreich, dass der ganze Prozess relativ schnell abläuft, zum Schluss ausreichende Aktivitätsmengen vorhanden waren und alle Anforderungen der Qualitätskontrolle erfüllt wurden.

Es gab aber einige wenige Probleme, die bei der Synthese, Reinigung und Formulierung afgetreten waren und die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse verringert haben. Es kann nämlich oft vorkommen, dass Luft in das Advion Modul gelangt oder dass der Mikroreakror verstopft. In beiden Fällen ist ein weiteres Arbeiten nicht möglich und die Behebung dieser Probleme kann manchmal relativ viel Zeit in Anspruch nehmen.

Selten ist auch vorgekommen, dass auf der semipräparativen HPLC keine ausreichende Trennung erziehlt wurde. In diesem Fall waren Reinigung und Formulierung des Produktes nicht möglich.

Es ist aufgrund dessen notwendig die Hersellungsmethode weiter zu entwickeln und zu optimieren, sollte das [^{18}F]FE@SNAP in der Zukunft tatsächlich für klinische Anwendung zugelassen werden.

4. Conclusio

Der neue PET-Tracer, [^{18}F]FE@SNAP, wurde zum ersten Mal erfolgreich synthetisiert. [^{18}F]FE@SNAP stellt den zweiten PET-Tracer für den MCH-R_1 dar, der erste war das [^{11}C]SNAP-7941, sein strukturelles Analogon.

Die Synthese von [^{18}F]FE@SNAP war nur unter Anwendung der Mikrofluidtechnologie möglich, keine der konventionellen Methoden zur Radiomarkierung hat zum Erfolg geführt.

Das [^{18}F]FE@SNAP konnte nur ausgehend von Tos@SNAP (=direkte Fluorierung) hergestellt werden, keiner der Versuche zur Fluorethylierung der SNAP-Säure (=indirekte Fluorierung) war erfolgreich.

5. Literaturverzeichnis

[1] Borowsky B, Durkin MM, Ogozalek K, Marzabadi MR, Deleon J, Heurich R, Lichtblau H, Shaposhnik Z, Daniewska I, Blackburn TP, Branchek TA, Gerald C, Vaysse PJ, Forray C: Antidepressant, anxiolytic and anorectic effects of a melanin-concentrating hormone-1 receptor antagonist, Nature Medicine, 2002, 8, 825-830

[2] Lembo PMC., Grazzini E, Cao J, Hubatsch DA, Pelletier M, Hoffert C, St-Onge S, Pou C, Labrecque J, Groblewski T, O'Donnell D, Payza K, Ahmad S, Walker P: The receptor for the orexigenic peptide melanin-concentrating hormone is a G-protein-coupled receptor**,** Nature Cell Biology**,** 1999, 1, 267-271

[3] McBriar MD, Kowalski TJ: Melanin-Concentrating Hormone as a Therapeutic Target, Annual Reports In Medicinal Chemistry, 2005, 40, 119-129

[4] Bittencourt JC, Frigo L, Rissman RA, Casatti CA, Nahon JL, Bauer JA: The distribution of melanin-concentrating hormone in the monkey brain (Cebusapella), Brain Research, 1998, 804, 140-143

[5] Kawauchi H, Kawazoe I, Tsubokawa M, Kishida M, Baker BI: Characterization of melanin-concentrating hormone in chum salmon pituitaries, Nature, 1983, 305, 321-323

[6] Kolakowski LF, Jung BP, Nguyen T, Johnson MP, Lynch KR, Cheng R, Heng HHQ, George SR, O'Dowd BF: Characterization of a human gene related to genes encoding somatostatin receptors, FEBS Letters, 1996, 394, 325-329

[7] Tan CP, Sano H, Iwaasa H, Pan J, Sailer AW, Hreniuk DL, Feighner SD, Palyha OC, Pong SS, Figueroa DJ, Austin CP, Jiang MM, Yu H, Ito J, Ito M, Ito M, Guan XM, MacNeil DJ, Kanatani A, Van der Ploeg LH, Howard AD: Melanin-Concentrating Hormone Receptor Subtypes 1 and 2: Species-Specific Gene Expression, Genomics, 2002, 79, 785-792

[8] Saito Y*,*Nothacker H-P, Civelli O: Melanin-concentrating hormonereceptor: An orphan receptor fits the key, Trends in Endocrinology & Metabolism*,* 2000*,* 11, 299–303

[9] Lakaye B, Minet A, Zorzi W, Grisar T: Cloning of the rat brain cDNA encoding for the SLC-1 G protein-coupled receptor reveals the presence of an intron in the gene, Biochimica et Biophysica Acta*,* 1998, 1401, 216-20

[10] Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, Behnke CA, Motoshima H, Fox BA, Le Trong I, Teller DC, Okada T, Stenkamp RE, Yamamoto M, Miyano M: Crystal Structure of Rhodopsin: A G-Protein-Coupled Receptor, Science, 2000, 289, 739-745

[11] Bockaert J, Pin JP: Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success, The Embo Journal, 1999, 18, 1723-1729

[12] Macdonald D, Murgolo N, Zhang R, Durkin JP,Yao X, Strader CD, Graziano MP: Molecular Characterization of the Melanin-Concentrating Hormone/Receptor Complex: Identification of Critical Residues Involved in Binding and Activation, Molecular Pharmacology, 2000, 58, 217-225

[13] Neves SR, Ram PT, Iyengar R: G Protein Pathways , Science, 2002, 1636-1639

[14] Francke F: Funktionelle Untersuchungen an den MCH-Rezeptor 1 interagierenden Proteinen MIZIP und Neurochondrin, Dissertation, Universität Hannover, 2005

[15] Millan MJ, Dekeyne A,Gobert A, Di Cara B, Audinot V, Cussac D, Ortuno J-C, Fauchère J-L, Boutin J-A, Brocco MJ: Actions of the selective melanin concentrating hormone, receptor antagonist, (+)SNAP-7941, in models of potential antidepressant and anxiolytic activity in rodents, European Neuropsychopharmacology, 2003, 13, 268

[16] Basso AM, Bratcher NA, Gallagher KB, Cowart MD, Zhao C, Sun M, Esbenshade TA, Brune ME, Fox GB, Schmidt M, Collins CA, Souers AJ, Iyengar R, Vasudevan A, Kym PR, Hancock AA, Rueter LE: Lack of efficacy of melanin-concentrating hormone-1 receptor antagonists in models of depression and anxiety, European Journal of Pharmacology, 2006, 540, 1-3

[17] Schirmer E: Synthese von Precursoren und Referenzsubstanzen neuer MCH-R_1 PET-Tracer, Dissertation, Umiversität Wien, 2011

[18] Flier JS, Maratos-Flier E: Obesity and the hypothalamus: novel peptides for new pathways, Cell , 1998, 92, 437-40

[19] Barsh GS, Schwartz MW: Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration, Nature Reviews Genetics, 2002, 3, 589-600

[20] Hunnius, Pharmazeutisches Wörterbuch, 9. Auflage, 2004

[21] Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Ruth P, Schäfer-Korting M: Arzneimittelwirkungen, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 9., vollständig neu bearbeitete und erweiterte Auflage, 2008

[22] Lemmens-Gruber R: Pharmakologie, Pharmakotherapie und Toxikologie I, Vorlesungsskriptum, WS 2010/11

[23] http://www.adipositas-gesellschaft.de/index.php?id=39 10.04.12

[24] Hebebrand J, Heseker H, Himmelmann GW, Schäfer H, Remschmidt H: Altersperzentilen für den Body Mass Index aus Daten der Nationalen Verzehrsstudie einschließlich einer Übersicht zu relevanten Einflussfaktoren, Aktuelle Ernährungsmedizin, 1994, 19, 259-265

[25] Finsterer S, Fröhlich E: Generation Chips, Hubert Krenn VerlagsgesmbH/Wien, 2007

[26] Wirth A: Adipositas: Epidemiologie, Äthiologie, Folgekrankheiten, Therapie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1997

[27] Lenz M, Richter T, Mühlhauser I: Morbidität und Mortalität bei Übergewicht und Adipositas im Erwachsenenalter, Deutsches Ärzteblatt, 2009, 40, 641-648

[28] http://www.medizin-medien.at/dynasite.cfm?dsmid=111006 30.04.12

[29] Grillenberger K, Schirrmeister H: Radioaktive Arzneimittel, Herstellung – Handhabung – Anwendung, Wissenschaftliche Verlagsgesselschaft, Stuttgart, 2003

[30] Wadsak W: Medizinische Radiochemie I, Vorlesungsunterlagen, WS 2011/12

[31] http://de.wikipedia.org/wiki/Positronenemissionstomographie 09.04.12

[32] http://www.zum.de/Faecher/Materialien/beck/chemkurs/cs11-5.htm 09.04.12

[33] Qaim SM, Coenen HH: Produktion pharmazeutisch relevanter Radionuklide, Pharmazie Unserer Zeit, 2006, 6, 460-466

[34] Bergman J, Solin O: Fluorine-18-Labeled Fluorine Gas for Synthesis of Tracer Molecules, Nuclear Medicine and Biology, 1997, 24, 677-683

[35] Jagenbrein M: Präparation und Qualitätskontrolle von Fluor-18-markierten Radiopharmaka für das PET-Imaging, Diplomarbeit, Universität Wien, 2009

[36] Welch JM, Redvanly CS: Handbook of Radiopharmaceuticals – Radiochemistry and Applications, editors. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2003

[37] Neirinckx RD, Lambrecht RM, Wolf AP: Cyclotron isotopes and radiopharmaceuticals XXV: An anhydrous ^{18}F-fluorinating intermediate – trifluormethyl hypofluorite, The International Journal of Applied Radiation and Isotopes, 1978, 29, 323-327

[38] Shiue CY, Salvadori PA, Wolf A.P.: A new synthesis of 2-deoxy-2-[^{18}F]fluoro-D-glucose from ^{18}F labelled acetyl hypofluorite, Journal of Nuclear Medicine, 1982, 23, 899

[39] Hamacher K, Coenen HH, Stocklin G: Efficient Stereospecific Synthesis of No-Carrier-Added 2-[^{18}F]-Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose Using Aminopolyether Supported Nucleophilic Substitution, Journal of Nuclear Medicine, 1986, 27, 235-238

[40] Ma Y, Huang BX, Channing MA, Eckelman WC: Quantification of Kryptofix 2.2.2 in 2-[^{18}F]FDG and otherradiopharmaceuticals by LC/MS/MS, Nuclear Medicine and Biology, 2002, 29, 125–129

[41] Blessing G, Coenen HH, Franken K, Qaim SM: Production of [^{18}F]F_2, H^{18}F and ^{18}F-aq, using the ^{20}Ne(d, α)^{18}F Process, The International Journal of Applied Radiation and Isotopes, 1986, 37,1135-1139

[42] Zhang M-R, Ogawa M, Furutsuka K, Yoshida Y, Suzuki K: [^{18}F]Fluoromethyl iodide ([^{18}F]FCH_2I): preparation and reactions with phenol, thiophenol, amide and amine functional groups, Journal of Fluorine Chemistry, 2004, 125, 1879–1886

[43] Wadsak W, Mien L-K, Ettlinger DE, Eidherr H, Haeusler D, Sindelar K-M, Keppler BK, Robert R, Kletter K, Mitterhauser M: ^{18}F fluoroethylations: different strategies for the rapid translation of ^{11}C-methylated radiotracers, Nuclear Medicine and Biology, 2007, 34, 1019–1028

[44] Block D, Coenen HH, Stöcklin G: The N.C.A. nucleophilic ^{18}F-fluorination of 1,N-disubstituted alkanes as fluoroalkylation agents, Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, 1987, 24, 1029–1042

[45] Kiesewetter DO, Brücke T, Finn RD: Radiochemical Synthesis of [^{18}F]Fluoracetopride, Applied Radiation and Isotopes, 1989, 40, 455-460

[46] Ungersboeck J, Philippe C, Mien L-K, Haeusler D, Shanab K, Lanzenberger R, Spreitzer H, Keppler BK, Dudczak R, Kletter K, Mitterhauser M, Wadsak W: Microfluidic preparation of [^{18}F]FE@SUPPY and [^{18}F]FE@SUPPY:2 — comparison with conventional radiosyntheses, Nuclear Medicine and Biology, 2011, 38, 427–434

[47] Lu SY, Watts P, Chin FT, Hong J, Musachio JL, Briard E, Pike VW: Syntheses of ^{11}C- and ^{18}F-labeled carboxylic esters within ahydrodynamically-driven micro-reactor, Lab on a Chip 2004, 4, 523–5

[48] Lee CC, Sui G, Elizarov A, Shu CJ, Shin YS, Dooley AN, Huang J, Daridon A, Wyatt P, Stout D, Kolb HC, Witte ON, Satyamurthy N, Heath JR, Phelps ME, Quake SR, Tseng HR: Multistep synthesis of a radiolabeled imaging probe using integratedmicrofluidics, Science, 2005, 310, 1793–6.

[49] Chun JH, Lu S, Lee YS, Pike VW: Fast and high-yield microreactorsyntheses of ortho-substituted [^{18}F]fluoroarenes from reactions of [^{18}F]fluoride ion with diaryliodonium salts, The Journal of Organic Chemistry, 2010, 75, 3332–8

[50] Lu S, Giamis AM, Pike VW: Synthesis of [^{18}F]fallypride in a microreactor:
rapid optimization and multiple-production in small doses for micro-PET studies, Current Radiopharmaceuticals, 2009, 2, 49–55

[51] Steindl H:Gesetzeskunde für Pharmazeuten, Vorlesungsunterlagen, WS 2011/12

[52] http://www.organische-chemie.ch/OC/Namen/steglich-veresterung.htm 19.04.12

6. Abkürzungsverzeichnis

Ag_2O - Silber(I)-oxid

AGRP - Agouti related peptide

Ala - Alanin

AMG – Arzneimittelgesetz

Aqua bidest – Aqua bidestillata

Arg - Arginin

BMI - Body-Mass-Index

BrETf – 2-Bromethyltriflat

BrEtOH – 2-Bromethanol

cAMP – cyclisches Adenosinmonophosphat

CART - Cocain- und Amphetamin-reguliertes Transcript

CCK – Cholecystokinin

$[^{11}C]CO_2$ - [^{11}C]Kohlenstoffdioxid

$CF_3O^{18}F$ - Trifluormethyl-[^{18}F]Hypofluorit

CH_2Cl_2 – Dichlormethan

CRH - Corticotropin-releasing Hormon

δ - chemische Verschiebung

DAG – Diacylglycerin

DC- Dünnschichtchromatographie

DCC - Dicyclohexylcarbodiimid

DMAP - 4-Dimethylaminopyridin

DMF – Dimethylformamid

DOTA - 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure

EC - electron capture

EtOH – Ethanol

FDG - 2-[^{18}F]Fluor-2-deoxy-glucose

[^{18}F]F^- - [^{18}F]Fluorid

[^{18}F]F_2 - [^{18}F]Fluorgas

[^{18}F]BFE - 1-Brom-2-[^{18}F]fluorethan

[^{18}F]FETf - 2-[^{18}F]Fluorethyltriflat

[^{18}F]FEtOH - 2-[^{18}F]Fluorethanol

[^{18}F]FETos - 2-[^{18}F]Fluorethyltosylat

[^{18}F]FE@SNAP -[^{18}F]Fluorethyl@SNAP

[^{19}F]FE@SNAP -[^{19}F]Fluorethyl@SNAP

[^{18}F]HF - [^{18}F]Fluorwasserstoff

g – Gramm

GABA – Gammaaminobuttersäure

GBq – Gigabecquerel

GIRK - G protein activated inwardly rectifying K^+ channel

GIT – Gastrointestinaltrakt

h – hour(s)

H_2O – Wasser

HCl – Salzsäure

HCl conc. – konzentrierte Salzsäure (37 %)

H_2 - Wasserstoff

He – Helium

HEDP – Hydroxyethylendiphosphonat

HF - Fluorwasserstoff

HPLC - high performance liquid chromatography

5-HT – 5-Hydroxytriptamin

inj. – injected

IP_3 – Inositoltrisphosphat

K_{222} - Kryptofix®222

K_2CO_3 – Kaliumcarbonat

kg - Kilogramm

keV – Kiloelektronenvolt

KI – Kaliumiodid

LCD - low calory diet

LOR – line of response

MAG – Mercaptoacetylglycylglycylglycin

MAPK - mitogen-activated protein Kinase

MBq - Megabecquerel

MCH –melanin concentrating hormone

MCH-R_1 – melanin concentrating hormone rezeptor 1

MCH-R_2 – melanin concentrating hormone rezeptor 2

MeCN – Acetonitril

MeOH – Methanol

MeV – Megaelektronenvolt

mg – Miligramm

MIBI – Methoxyisobutylisonitril

min – Minute(n)

ml – Mililiter

µl - Mikroliter

mM – milimolar

mosm – Miliosmol

α-MSH -α-Melanocyten stimulierendes Hormon

N_2 – Stickstoff

NA – Noradrenalin

NaCl – Natriumchlorid

Ne - Neon

NMR – Kernresonanzspektroskopie

NPY - Neuropeptid Y

o-Dichlorbenzol – ortho-Dichlorbenzol

P-Pumpe

PC – personal computer

PET – Positronenemissionstomographie

PIP_2 - Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat

PKC – Proteinkinase C

PLC- Phospholipase C

POMC – Proopiomelanocortin

PSG – Produktsammelgefäß

PTX – Pertussistoxin

RCIY - radiochemical incorporation yield

RT –Raumtemperatur

s – Sekunde(n)

SLC - Somatostatin-like Rezeptor

SPECT - single photon emission computed tomography

T – Temperatur

TBAH – Tetrabutylammoniumhydroxid

$^{99m}TcO_4^-$ - [^{99m}Tc]Technetium(VI)-pertechnetat

TM3 – Transmembrandomäne 3

Tos@SNAP - Tosyloxyethyl@SNAP

TRH - Thyreotropin-releasing Hormon

Tyr - Tyrosin

UV – Ultraviolett

V – Vial

VLCD - very low calory diet

Vol. – Volumen

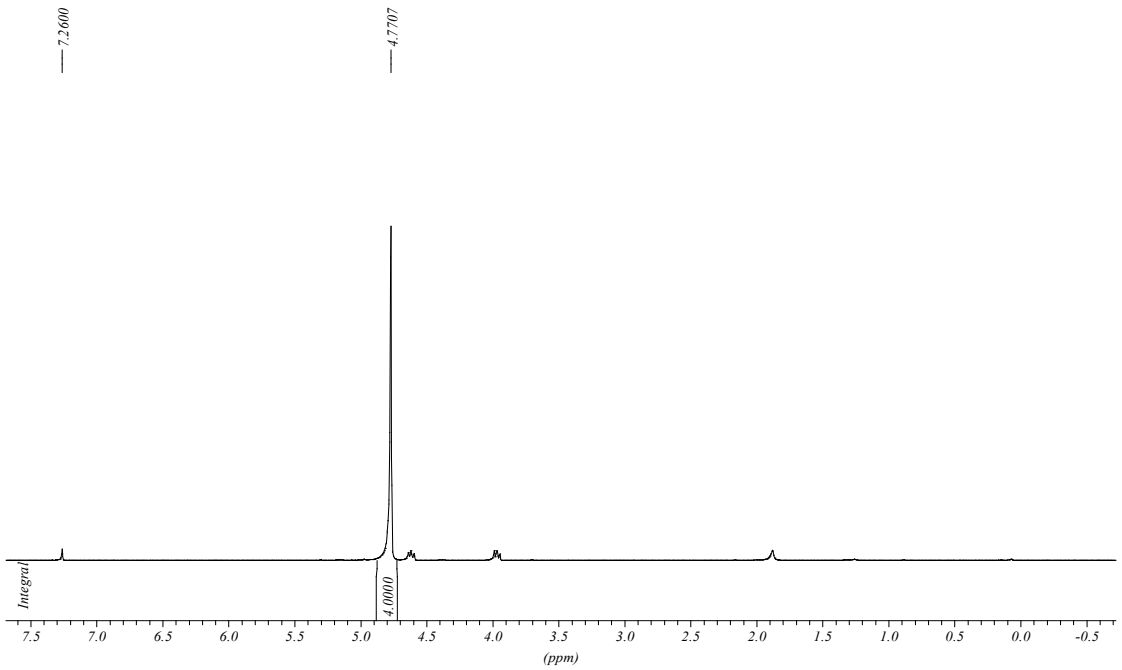
7. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Signaltransduktion des MCH-R_1 8
Abbildung 2: Abbildung 2: SNAP-7941 9
Abbildung 3: Kontrolle der Energiehomöostase durch den Hypothalamus 11
Abbildung 4: Struktur von DOTA 18
Abbildung 5: Schema des ß$^+$-Zerfalls am Beispiel von ^{18}F 19
Abbildung 6: Schema des Positronenzerfalls 19
Abbildung 7: Koinzidenzarten 20
Abbildung 8: Kernreaktion zur Erzeugung von [^{18}F]Fluorid 22
Abbildung 9: Komplex aus Kryptofix$_{2.2.2}$, K^+ und $^{18}F^-$ 25
Abbildung 10: [^{18}F]FDG 25
Abbildung 11: Skizze des Advion-Systems 27
Abbildung 12: TRACERlab FxFN 34
Abbildung 13: Änderung der radiochemischen Ausbeute in Abhängigkeit von der Temperatur und Durchflussrate 49
Abbildung 14: Änderung der radiochemischen Ausbeute in Abhängigkeit von der Temperatur und Konzentration des Präkursors 49
Abbildung 15: Screenshot des Advion-Systems während einer Synthese 52
Abbildung 16: Radio-DC-Chromatogramm.....53
Abbildung 17: Nuclear Interface Synthesizer.....52
Abbildung 18: Chromatographische Spektren von [^{18}F]FE@SNAP auf der semipräparativen HPLC.....54
Abbildung 19: Chromatographische Spektren von [^{18}F]FE@SNAP auf der analytischen HPLC.....58
Abbildung 20: Kalibrationsgerade - [^{18}F]FE@SNAP.....59

Tabelle 1: Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen anhand des BMI.....12
Tabelle 2: In der nuklearmedizinischen Therapie verwendete Radionuklide.....17
Tabelle 3: Kernreaktionen zur Erzeugung von wichtigsten PET-Nukliden im Zyklotron.....20
Tabelle 4: Generatorsysteme.....23
Tabelle 5: Verwendete Geräte und Materialien ([^{18}F]FE@SNAP über [^{18}F]BFE).....32
Tabelle 6: Aktivitätsdaten von einigen Versuchen ([^{18}F]FE@SNAP über [^{18}F]BFE).....35
Tabelle 7: Verwendete Geräte und Materialien ([^{18}F]FE@SNAP über [^{18}F]FETf).....36
Tabelle 8: Aktivitätsdaten von einigen Versuchen ([^{18}F]FE@SNAP über [^{18}F]FETf).....38
Tabelle 9: Verwendete Geräte und Materialien ([^{18}F]FE@SNAP über [^{18}F]FETos).....38
Tabelle 10: Synthese von [^{18}F]FETos – genaue Aktivitätsdaten.....39
Tabelle 11: Verwendete Geräte und Materialien (2-[^{18}F]FEtOH über 2-BrEtOH).....41
Tabelle 12: Reaktionsbedingungen und Aktivitätsdaten (2-[^{18}F]FEtOH über 2-BrEtOH).....42
Tabelle 13: Verwendete Geräte und Materialien (2-[^{18}F]FEtOH über [^{18}F]FETos).....43
Tabelle 14: Verwendete Geräte und Materialien (2-[^{18}F]FEtOH über [^{18}F]FETf).....45
Tabelle 15: Optimierung der Reaktionsbedingungen im Advion NanoTek Synthesizer.....48
Tabelle 16: Verwendete Geräte und Materialien ([^{18}F]FE@SNAP über Tos@SNAP).....56
Tabelle 17: Genaue Daten zu einigen Versuchen samt Qualitätskontrolle([^{18}F]FE@SNAP über Tos@SNAP).....57
Tabelle 18: Verwendete Geräte und Materialien (Kalibrationsgerade).....59

8. NMR-Spektrum

Etylenbistriflat, ^{1}H NMR, $CDCl_3$



9. Herstellungsprotokolle

[^{18}F]FE@SNAP über [^{18}F]FETf

FE@SNAP: _____ Datum: _____2011

Aktivität:_____GBq

Uhrzeit:_____

HPLC-System Pumpe ein; UV-Detektor (254 nm) ein	O
Aufheizen auf 100 °C	O
Eisbad vorbereiten	O
DCs vorbereiten	O

Fluorethyltriflat

Verwendete Reagentien / Verbrauchsmittel	**Menge**	**Charge laut Liste**
F-18 Cartridge	1	O
2 große Gefäße mit Doppelsepten, ein großes mit durchstochenem Septum, ein mittleres mit durchstochenem Septum		O
1 Spritze für das Gas (50 ml)		O
Schläuche	2	O
Elution: das große Gefäß mit Doppelseptum + Entlüftungsnadel, eluiert wird mit 1ml Elutionslösung (**20** mg Kryptofix/**4,5**mg K_2CO_3 in 70/30 AcN/Wasser)		O
Bei 100-125°C erhitzen bis die ELU-Lsg. verdampft ist		O
Light Aluminia N mit MeCN konditionieren	1-2 ml	O
Zugabe von 2 Portionen MeCN	2x1ml	O
Ethylenbistriflat-Zugabe (1mg/100µl)	100µl	O
Das Gefäß aufmachen, für 1 min bei 125°C erhitzen		O
Ins Eisbad legen		O
Triflatanhydrid-Zugabe	5µl	O
Zugabe von MeCN	1-2 ml	O
Filtration mit light Aluminia N (ins mittlere Gefäß)		O

Trap		Lsgmittel/Volumen	Aktivität GBq	Uhrzeit
Nach dem Eluieren				
Nach MeCN-Zugabe				
Nach der Filtration von FETriflat				
Kartusche				
Bemerkungen:				

FE@SNAP: _____ Datum: _____2011

<u>Vorbereitung des Precursors:</u>

Einwaage: _____mg bzw: Konz des Stock: _____mg/ml in _____

Aufgenommen in _____ _____ und _____µl TBAH (0.132g in 500µl MeOH)

Säure-Charge:_____

<u>Fluorethylierung</u>:

Bemerkungen:

[^{18}F]FE@SNAP über Tos@SNAP

Herstellung

[^{18}F]FE@SNAP:_____ **Datum: _____**

Zyklotron run:_____Targetaktivität_____GBq_____Uhr

Splülwasser:_____GBq_____Uhr

ADVION:

Tos@SNAP:_____mg/ml (Stocklösung:_____mg/ml)

Nummer	Temperatur °C	Volumen P3 µl	Ratio (P1/P3)	FlowP3 µl/min	Overall flow µl/min	Aktivität (Zeit)

Modul:

SNAP-Ausbeute: _____ GBq (____:____ Uhr) _____%

Aktivitätskonzentration: __MBq/ml

Bemerkungen:

[^{18}F]FE@SNAP:_____ **Datum: _____**

Verwendete Reagentien / Verbrauchsmittel		**Menge**	
ADVION:			
Tos@SNAP in Acetonitril			O
PS-HCO3 Katusche		1	O
Kryptofix/K_2CO_3-Lösung		1ml	O
MODUL:			
Vorratsgefäß 3:	Wasser	1ml	O
Vorratsgefäß 4:	NaCl 0,9%	5ml	O
Vorratsgefäß 5:	Ethanol abs.	1,5ml	O
Vorratsgefäß 6:	Wasser	10ml	O
Produktsammelgefäß:	NaCl 0.9%	4ml	O
	NaCl 3%	1ml	O
	Phosphatpuffer 125mM	1ml	O
„bulb“:	Wasser	100ml	O
C-18 sep pak plus, konditioniert		1	O
Produktvial beschriftet mit Sterilfiltern assembliert		1	O
	+ NaCl 0.9%, sterilfiltriert	5ml	O
Sterilfilter GV 0,22µm (Millex; gelb)		1	O
Sterilluftfilter (Millex)		1	O

Qualitätskontrolle

[^{18}F]FE@SNAP:_____ **Datum:** _____

	Entspricht	Entspricht nicht	Wert
RCR (HPLC - Radioaktivitätsdetektor)			
Produkt [^{18}F]FE@SNAP ≥95%	☺	👎	……% t_R=…….min
sonstige Verunreinigung ≤2%	☺	👎	……% t_R=…….min
sonstige Verunreinigung ≤2%	☺	👎	……% t_R=…….min
Chemische Reinheit (HPLC – UV Det) **Spezifische Aktivität (a_s)** [^{19}F]FE@SNAP	☺	👎	t_R=…….min ……µg/ml ⇨ ……..GBq/µmol
Radionuklidische Reinheit HWZ ($t_{½}$) 109,77 ± 2min	☺	👎	1) …….. 2) …….. ⇨ ……..min
Physikalische Parameter pH-Wert: 5.0-8.5	☺	👎	
Osmolalität: 190 – 370 mosm/kg	☺	👎	……mosmol/kg
Freigabe der Charge	**JA** ☺	**NEIN** 👎	

Anmerkung: n.d. nicht detektierbar

<u>Formel zur Berechnung der spez. Aktivität:</u> *a_s [GBq/µmol]= Ausbeute [GBq]/(a_s [µg/ml] x Volumen [ml]/645,67 [g/mol])*

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Milica Zdravkovic
Geburtsdatum, -ort	06.07.1986, Leskovac, Serbien
Wohnort	Wien
Staatsangehörigkeit	Serbien
E-Mail-Adresse	milica.zdravkovic@hotmail.de

Ausbildung

2006 – 2012	Studium der Pharmazie an der Universität Wien
2001 – 2005	Gymnasium „Stanimir Veljkovic Zele“, Leskovac, Serbien, Matura mit Auszeichnung
1993 – 2001	Volksschule „Svetozar Markovic“, Leskovac, Serbien

Sprachliche Kenntnisse

Serbisch: Muttersprache

Deutsch: verhandlungssicher in Wort und Schrift

Englisch: Grundkenntnisse

Publikationen

Cécile Philippe, Johanna Ungersboeck, Eva Schirmer, **Milica Zdravkovic**, Lukas Nics, Markus Zeilinger, Karem Shanab, Rupert Lanzenberger, Georgios Karanikas, Helmut Spreitzer, Helmut Viernstein, Markus Mitterhauser, Wolfgang Wadsak: [^{18}F]FE@SNAP - a new PET tracer for the Melanin Concentrating Hormone Receptor 1 (MCHR1): microfluidic and vessel-based approaches, Bioorganic & Medicinal Chemistry, Volume 20, Issue 19, 1 October 2012, Pages 5936-5940