

Eine einfache und schnelle Methode zur Herstellung von [¹¹C]Formaldehyd**

Jacob M. Hooker,* Matthias Schönberger, Hanno Schieferstein und Joanna S. Fowler

Die Verwendung von Kohlenstoff-11 zur Markierung von organischen Verbindungen war ausschlaggebend für den Erfolg der Positronenemissionstomographie (PET) als Bildgebungsverfahren für In-vivo-Studien und Wirkstoff-Forschung.^[1] Jedoch sind einige Eigenschaften, die ¹¹C zu einem idealen Radionuklid machen, hinderlich bei chemischen Umsetzungen. Zum Beispiel erfordert die kurze Halbwertszeit ($t_{1/2} = 20.4$ min), die wiederholte Studien innerhalb einer kurzen Zeitspanne ermöglicht, eine schnelle chemische Synthese und Aufreinigung. Durch die hohe spezifische Aktivität werden nur nanomolare Tracerkonzentrationen benötigt, um geringe Rezeptorkonzentrationen zu visualisieren. Die wahrscheinlich größte Herausforderung bei der Synthese ¹¹C-markierter Verbindungen ist jedoch der Mangel an verfügbaren Markierungsreagentien. Dabei ist zu beachten, dass fast jede ¹¹C-Synthese mit der Kernreaktion [¹⁴N(p,α)¹¹C] in einem Zyklotron beginnt, die zunächst zu ¹¹CO₂ oder ¹¹CH₄ führt, aus denen dann die Markierungsreagentien hergestellt werden.

Die bei weitem häufigste ¹¹C-Markierungsmethode ist die Methylierung mit ¹¹CH₃I.^[2] Während endständige Methylgruppen recht oft in wichtigen Verbindungen vorkommen und die ¹¹C-Methylierung schon zu vielen erfolgreichen Radiotracern geführt hat, grenzt die alleinige Anwendung von Methylierungen die Auswahl an potenziell markierbaren Verbindungen ein. Um ¹¹C in die Grundgerüste weiterer Zielverbindungen einführen zu können, müssen daher neue Reaktionen entwickelt werden. So sind Syntheserouten bekannt, um ¹¹C in Benzolringe, Carbocyclen, Heterocyclen und an nicht endständigen Positionen einzubauen.^[3] Durch den

Einsatz neuer organischer Reaktionen gelang es, das Angebot an verfügbaren Radiotracern stetig zu vergrößern.

[¹¹C]Formaldehyd ist ein vielversprechendes Markierungsreagens für die Herstellung von PET-Tracern. Aufgrund seiner Oxidationsstufe wurde [¹¹C]Formaldehyd bei der Synthese von bisher unmarkierbaren Verbindungen durch reduktive Methylierung,^[4] über Ringschlussreaktionen,^[5] in elektrophilen aromatischen Substitutionen^[6] und in vielen anderen Reaktionen eingesetzt.^[7] Einer breiten Anwendung in der Synthese von PET-Tracern stand bis jetzt aber der erschwerte Zugang zu [¹¹C]Formaldehyd entgegen. Über die Jahre wurden mehrere Synthesemethoden für [¹¹C]Formaldehyd entwickelt, beispielsweise eine Syntheseroute über [¹¹C]Methanol,^[8] die seit ihrer Entdeckung im Jahr 1972 durch den Einsatz von Katalysatoren^[9] und Enzymen^[10] weiterentwickelt wurde. Während jede Variante ihrerseits Anwendungsgebiete fand, brachten alle auch Nachteile mit sich, die einen routinemäßigen Einsatz verhinderten.

Unser Ziel war es, einen einfachen und schnellen Zugang zu dem hervorragenden Markierungsreagens [¹¹C]Formaldehyd zu entwickeln, der das Produkt unter milden Bedingungen nach kurzen Reaktionszeiten liefert und nur käufliche Reagenzien benötigt. Hier berichten wir über eine entsprechende Methode, die [¹¹C]Formaldehyd mit hoher Ausbeute ergibt.

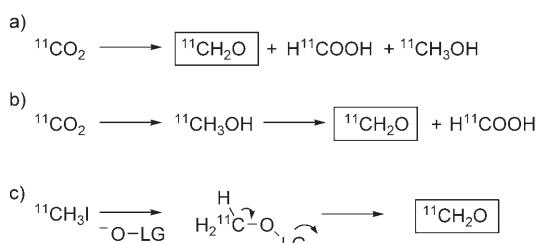
Bekannte Herstellungsverfahren für [¹¹C]Formaldehyd beruhen auf einer partiellen Reduktion von ¹¹CO₂ oder der vollständigen Reduktion von ¹¹CO₂ zu ¹¹CH₃OH mit anschließender Oxidation (Schema 1). Wir nahmen an, dass die Verwendung von [¹¹C]Methyliodid als Ausgangsverbindung verschiedene Vorteile bringen würde. Erstens kann ¹¹CH₃I in praktisch allen Einrichtungen produziert werden, in denen routinemäßig ¹¹C-markierte Verbindungen hergestellt werden. Zweitens wollten wir von der mittlerweile erfolgreich vermarkteten Gasphasensynthese von ¹¹CH₃I mit hoher spezifischer Aktivität profitieren. Jede der bisher angewendeten Herstellungsmethoden für [¹¹C]Formaldehyd sieht einen Re-

[*] Dr. J. M. Hooker, Prof. Dr. J. S. Fowler
Medical Department
Brookhaven National Laboratory, Upton, NY 11973-5000 (USA)
Fax: (+1) 631-344-5815
E-Mail: hooker@bnl.gov

M. Schönberger, H. Schieferstein
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz (Deutschland)
Prof. Dr. J. S. Fowler
State University of New York at Stony Brook (USA)
Prof. Dr. J. S. Fowler
Mount Sinai School of Medicine, New York (USA)

[**] Diese Arbeit wurde am Brookhaven National Laboratory ausgeführt und vom U.S. Department of Energy, Abteilung Biological and Environmental Research, gefördert (DE-AC02-98CH10886). J.M.H. wurde durch die NIH (1F32EB008320-01) und ein Goldhaber Fellowship am BNL unterstützt. M.S. und H.S. wurden vom Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD) und BNL unterstützt.

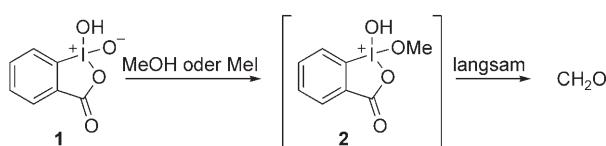
 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200800991> zu finden.



Schema 1. Methoden zur Herstellung von [¹¹C]Formaldehyd: a) durch partielle Reduktion; b) durch Reduktion und anschließende Oxidation; c) aus [¹¹C]Methyliodid (hier beschrieben).

duktionsschritt in Lösung vor, typischerweise mit Lithium-aluminiumhydrid, der zum Verlust von spezifischer Aktivität führt. Dieser Schritt wird aber bei der Produktion von $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ in der Gasphase vermieden.^[2] Um von Methyliodid zu Formaldehyd zu gelangen, entwarfen wir eine mechanistisch einfache Oxidation (Schema 1c).

Mithilfe von ^1H -NMR-Spektroskopie überprüften wir die Umsetzungen von Methyliodid im Unterschuss mit einigen Sauerstoffnucleophilen, die eine Abgangsgruppe LG enthielten. Viele anorganische Verbindungen führten dabei zur Überoxidation. Einen ersten Hinweis auf die selektive Produktion von Formaldehyd erhielten wir bei dem Vergleich der Reaktionen von *o*-Iodoxybenzoësäure (IBX, 1) mit Methanol und Methyliodid (Schema 2). Wir beobachteten, dass jeweils



Schema 2. Oxidation von Methanol und Methyliodid mit IBX (1).

die Zwischenstufe 2 entstand, die langsam zu Formaldehyd weiterreagierte.^[11] Somit war nachgewiesen, dass die Oxidation der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist und nicht die Methylierung. Um die Reaktionsgeschwindigkeit zu steigern, testeten wir nun Trialkylamin-N-oxide, von denen wir annahmen, dass sie bessere Abgangsgruppen bereitstellen würden.

Die Reaktion von Trimethylamin-N-oxid (TMAO, 3) mit Methyliodid verlief über eine Methylierung zu 4 mit an-

schließender Bildung von Formaldehyd (^1H -NMR-Resonanz bei ca. 9.5 ppm).^[12] Dieser Zerfall von 4 zu Formaldehyd ist schon seit den Untersuchungen zur Strukturaufklärung von TMAO vor fast einem Jahrhundert bekannt.^[13] In Gegenwart eines Überschusses an TMAO erfolgte die Eliminierung von Formaldehyd aus 4 bei Raumtemperatur; dieser Prozess verlief bei etwas höheren Temperaturen quantitativ. Triethylamin-N-oxid und *N*-Methylmorpholin-N-oxid waren ebenfalls effektive Reagenzien, benötigten jedoch längere Reaktionszeiten, wohingegen Pyridin-N-oxid unter allen überprüften Bedingungen versagte. Nach der Freisetzung von Formaldehyd kam es in Gegenwart von TMAO zur Oligomerisierung, die zu Multiplettresonanzen bei 4.3–4.8 ppm führte (wie in Gegenwart von Wasser).^[14] Wir führten die Umsetzung mit $^{13}\text{CH}_3\text{I}$ aus, um zu prüfen, ob es bei der Verwendung von TMAO zu einer Isotopenverdünnung kommt, und um alle durch Methyliodid verursachten Resonanzen zu bestimmen (Abbildung 1). Das Verhältnis $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ blieb während der ganzen Reaktion konstant bei 1:100, sodass die Methylgruppen von TMAO keinen Einfluss auf die spezifische Aktivität bei Reaktionen mit $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ haben sollten.

Wir untersuchten die Synthese von $[^{11}\text{C}]$ Formaldehyd, indem wir verschiedene Parameter wie Lösungsmittel, TMAO-Konzentration, Reaktionszeit und Reaktionstemperatur variierten. Als Analyseverfahren diente die Dimedon-Fällungsmethode, die schon in früheren $[^{11}\text{C}]$ Formaldehyd-Studien angewendet wurde (siehe Tabelle 1). Der ^{11}C -Reaktionsmischung wurde ein Aliquot entnommen und mit Träger-Formaldehyd vereint, das dann als Dimedonaddukt gefällt wurde. Der Niederschlag wurde durch Filtrieren oder Zentrifugieren isoliert und auf seine prozentuale Radioaktivität untersucht. Als Kontrolle führten wir die Formaldehydana-

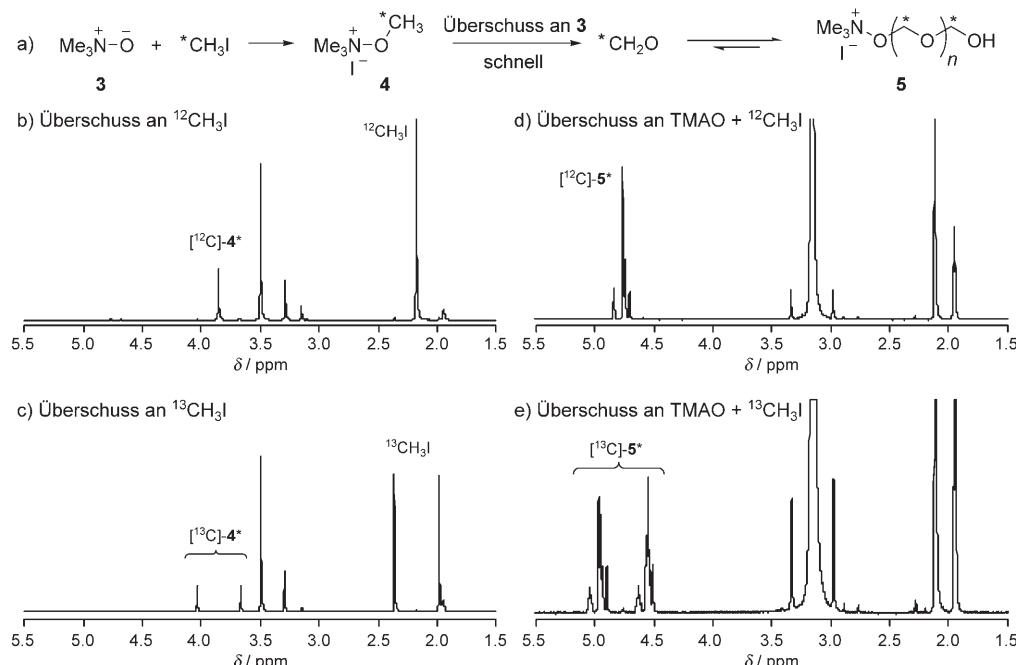


Abbildung 1. a) Reaktion zwischen TMAO und Mel. b)-e) ^1H -NMR-Spektren (400 MHz, CD_3CN): b,c) Überschuss Mel; die Zwischenstufe 4 wurde beobachtet. d,e) In Gegenwart eines Überschusses an TMAO wurde eine Mischung von Formaldehyd im Gleichgewicht mit den Oligomeren 5 beobachtet. Vollständige ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren sind als Hintergrundinformationen erhältlich.

Tabelle 1: Optimierung der [¹¹C]Formaldehyd-Ausbeute.^[a]

Nr.	Solvans	t [s]	TMAO [mg]	T [°C]	Ausbeute [%] ^[b]
1	MeCN	120	4.0	70	27 ± 7
2	MeCN	120	25.0	70	58 ± 8
3	DMSO	120	4.0	70	23 ± 7
4	THF	120	4.0	70	26 ± 4
5	DMF	120	–	70	3 ± 2 ^[c]
6	DMF	120	1.0	70	80 ± 2
7	DMF	30	4.0	70	72 ± 5
8	DMF	60	4.0	70	86 ± 4
9 ^[d]	DMF	120	4.0	70	89 ± 4
10	DMF	120	4.0	20	38 ± 6

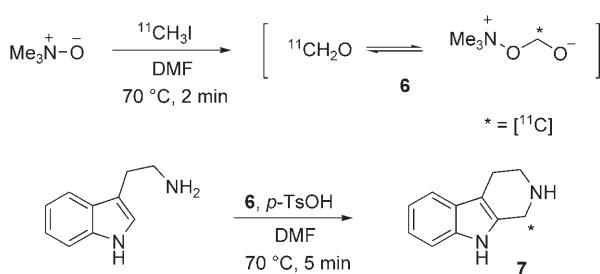
[a] Reaktionen wurden in 300 µL Solvens mit ca. 1 mCi ¹¹CH₃I ausgeführt. [b] Mittelwert ± Standardabweichung aus n Experimenten (n=3); Dimedon-Fällungsmethode. [c] Radioaktivitätsverlust durch gründliches Waschen des Niederschlags. [d] Empfohlene Bedingungen (n=12).

lyse ohne TMAO durch (z.B. Tabelle 1, Nr. 5) und fanden weniger als 5% der Radioaktivität im Niederschlag, die zudem durch Auswaschen entfernt werden konnte. Als hervorragendes Lösungsmittel für die Umwandlung stellte sich DMF heraus, das bei 70°C binnen 2 min hohe Ausbeuten an [¹¹C]Formaldehyd lieferte.

Die Reaktion erwies sich als reproduzierbar und robust. Sie war unempfindlich gegenüber Wasserspuren (10 µL), sodass das billigere TMAO-Dihydrat als ebenso effektives Reagens eingesetzt werden konnte. Basen konnten ebenfalls vorliegen, solange sie nicht methyliert wurden, die Gegenwart von Säuren senkte allerdings die Ausbeuten oder brachte die [¹¹C]Formaldehyd-Bildung gar zum Erliegen. Höhere Reaktionstemperaturen führten nicht zur Überoxidation.

In Testexperimenten mit nichtradioaktiven Substanzen nutzten wir die Formaldehyd-Oligomer-Mischung erfolgreich in der reduktiven Aminierung von Anilinen, zur Oxim- und Hydrazonbildung und für Cyclisierungen. Um die Wirksamkeit des trägerfreien [¹¹C]Formaldehyds hervorzuheben und die spezifische Aktivität zu bestimmen, betrachteten wir eine Pictet-Spengler-Kondensation mit Tryptamin (Schema 3).

Tryptamin reagierte mit **6** unter sauren Bedingungen glatt und mit sehr guter radiochemischer Ausbeute zu [¹¹C]-2,3,4,9-Tetrahydro-1H-β-carbolin (**7**). Das Produkt wurde mit semipräparativer HPLC an C18 isoliert und über die Absorption bei 254 nm quantifiziert. Anhand eines Anteils von [¹¹C]Methyljodid eines klinischen Produktionslaufs wurde die spezifische Aktivität von **7** auf 3.0 Ci µmol⁻¹ bestimmt (vgl. 4.5 Ci µmol⁻¹ für das klinische Produkt).^[15]



Schema 3. Synthese von radioaktiv markiertem **7** aus Tryptamin (**6**) und ¹¹CH₂O. Ts = Toluolsulfonyl.

fische Aktivität von **7** auf 3.0 Ci µmol⁻¹ bestimmt (vgl. 4.5 Ci µmol⁻¹ für das klinische Produkt).^[15]

Um zu zeigen, dass TMAO in der Reaktionslösung selbst keinen Formaldehyd zuführt, nutzten wir zwei Reaktionen unter den gleichen Bedingungen als Negativkontrolle: Im einen Fall wurde MeI als Reaktant weggelassen, im anderen TMAO. Keine der beiden Reaktionen führte zur Bildung von [¹¹C]-7.

Zusammenfassend haben wir eine einfache Methode zur Herstellung von isotopenmarkiertem Formaldehyd entwickelt, in der [¹¹C]Methyljodid durch käufliches Trimethylamin-N-oxid unter milden Bedingungen und ohne Verlust an spezifischer Aktivität in [¹¹C]Formaldehyd umgewandelt wird. Wir erwarten, dass der einfache Zugang zu [¹¹C]Formaldehyd zu einer verstärkten Anwendung in vielfältigen Reaktionen, z.B. elektrophilen aromatischen Substitutionen, Mannich-Kondensierungen und Cyclisierungen, für die Herstellung ¹¹C-markierter Verbindungen führen wird. Studien zur Erweiterung des Anwendungsbereichs von [¹¹C]Formaldehyd als Markierungsreagens in der PET-Forschung sind im Gange.

Experimentelles

Allgemeine Vorschrift zur Umwandlung von ¹¹CH₃I in ¹¹CH₂O: Trimethylamin-N-oxid oder sein Hydrat (4 mg) wurden in DMF (300 µL) gelöst, auf -40°C gekühlt und zum Auffangen von ¹¹CH₃I genutzt, das mit PETtrace MeI Microlab (GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA) hergestellt wurde. Das Reaktionsgefäß wurde verschlossen, 2 min auf 70°C erhitzt und in einem Eisbad gekühlt.

Eingegangen am 29. Februar 2008
Online veröffentlicht am 4. Juli 2008

Stichwörter: Formaldehyd · Isotopenmarkierung · N-Oxide · Oxidationen · Positronenemissionstomographie

- [1] M. E. Phelps, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 9226.
- [2] a) B. Långström, H. Lundqvist, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1976**, *27*, 357; b) P. Larsen, J. Ulin, K. Dahlström, M. Jensen, *Appl. Radiat. Isot.* **1997**, *48*, 153.
- [3] a) Übersicht: F. R. Wuest, *Trends Org. Chem.* **2003**, *10*, 61; b) O. Itsenko, D. Norberg, T. Rasmussen, B. Långström, C. Chatgilialoglu, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9020, zit. Lit.
- [4] a) M. G. Straatmann, M. J. Welch, *J. Nucl. Med.* **1975**, *16*, 425; b) C. Marazano, M. Mazière, G. Berger, D. Comar, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1977**, *28*, 49; c) M. Mazière, G. Berger, D. Comar, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1977**, *13*, 196; d) G. Berger, M. Mazière, C. Marazano, D. Comar, *Eur. J. Nucl. Med.* **1978**, *3*, 101; e) G. Berger, M. Mazière, R. Knipper, C. Prenant, D. Comar, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1979**, *30*, 393.
- [5] a) M. W. Nader, S. K. Zeisler, A. Theobald, F. Oberdorfer, *Appl. Radiat. Isot.* **1998**, *49*, 1599; b) D. Roeda, H. T. Sipila, Y. Bramouille, J. D. Enas, F. Vaufrey, F. Dolle, C. Crouzel, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2002**, *45*, 37; c) M. van der Mey, A. D. Windhorst, R. P. Klok, J. D. M. Herscheid, L. E. Kennis, F. Bischoff, M. Bakker, X. Langlois, L. Heylen, M. Jurzak, J. E. Leysen, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4526.
- [6] O. Langer, A. Krcal, A. Schmid, A. Abraham, P. Minetti, D. Celona, D. Roeda, F. Dollé, K. Kletter, M. Mueller, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **2005**, *48*, 577.

- [7] V. W. Pike, A. J. Palmer, P. L. Horlock, T. J. Perun, L. A. Freiberg, D. A. Dunnigan, R. H. Liss, *Int. J. Appl. Radiat. Isot.* **1984**, *35*, 103.
- [8] D. Christman, E. J. Crawford, M. Friedkin, A. P. Wolf, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1972**, *69*, 988.
- [9] D. Roeda, F. Dollé, *J. Labelled Compd. Radiopharm* **2003**, *46*, 449.
- [10] a) G. Slegers, R. H. D. Lambrecht, T. Vandewalle, L. Meulewaeter, C. Vandecasteele, *J. Nucl. Med.* **1984**, *25*, 338; b) H. Svärd, G. Antoni, S. B. Jigerius, G. Zdansky, B. Langström, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **1984**, *21*, 1175; c) J. A. Hughes, M. Jay, *Nucl. Med. Biol.* **1995**, *22*, 105.
-
- [11] Eine ^1H -NMR-spektroskopische Untersuchung zur Kinetik der Reaktion von IBX mit MeOH: S. De Munari, M. Frigerio, M. Santagostino, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9272.
- [12] H. Dahn, P. Pechy, *Magn. Reson. Chem.* **1996**, *34*, 723.
- [13] J. Meisenheimer, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1913**, *397*, 273.
- [14] D. J. Le Botlan, B. G. Mechlin, G. J. Martin, *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 587.
- [15] Zahlreiche Chemikalien und Lösungsmittel enthalten Formaldehyd, der bei Synthesen von Produkten mit sehr hoher spezifischer Aktivität rigoros auszuschließen ist.