

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE CIENCIAS



TESIS DE LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA

***“SÍNTESIS ORGÁNICA DE PRECURSORES PARA SU
UTILIZACIÓN EN LA OBTENCIÓN DE RADIOFÁRMACOS PET
CON POTENCIAL USO CLÍNICO”***

Kevin Zirbesegger Mussbacher

Tutores: Dr. Williams Porcal, Dr. Eduardo Savio

Área Desarrollo Químico Farmacéutico

Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM)

Montevideo, Junio 2015

Índice

Abreviaturas	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Imagenología	3
1.2 Clases de imagenología	3
1.2.1 Imagenología Anatómica	4
1.2.2 Imagenología Molecular	4
1.3 Modalidades de imagenología	5
1.4 Tomografía por emisión de positrones (PET)	6
1.5 Fundamentos físicos de la Imagenología PET	9
1.5.1 Decaimiento radioactivo	9
1.5.2 Decaimiento β^+	9
1.5.3 Fenómeno de Aniquilación	10
1.5.4 Detección	11
1.6 Producción de radiofármacos PET	11
1.6.1 Producción de radionucleidos PET a partir de Ciclotrones	12
1.6.2 Producción de radionucleidos PET a partir de generadores	15
1.7 Estrategias de marcado en moléculas orgánicas	15
1.7.1 Radiomarcados con flúor-18	16
1.7.2 Radiomarcados con carbono-11	18
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	21
3. OBJETIVOS	25
3.1 Objetivos Generales	25
3.2 Objetivos específicos	25
4. DISEÑO Y SÍNTESIS	26
4.1 Diseño general	26
4.2 Síntesis del precursor para la obtención de [11C]D-deprenil	27
4.2.1 Síntesis de D-nordeprenil	27
4.2.2 Síntesis de D-deprenil	31
4.3 Radiosíntesis de [11C]D-deprenil	31
4.4 Síntesis de precursores dirigidos a la obtención de L-deuterodeprenil	36
4.4.1 Síntesis de L-fenilalaninol	36
4.4.2 Síntesis de Boc-L-fenilalaninol	38
4.4.3 Síntesis de Iodoetil carbamato 5	42
4.4.4 Síntesis de Boc-L-anfetamina 6	44
4.4.5 Síntesis de Boc-D-anfetamina 9	45

4.4.6 Síntesis de Tosilato de 1,1-dideuteropropargilo.....	46
4.4.7 Síntesis de L-nordeuterodeprenil.....	46
4.5 Ruta sintética alternativa para la obtención de precursores dirigidos a la obtención de L-deuterodeprenil.	48
5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	49
5.1 Conclusiones	49
5.2 Perspectivas	50
6. PARTE EXPERIMENTAL	51
6.1 Consideraciones generales.....	51
6.2 Síntesis de compuestos orgánicos	52
6.3 Radiosíntesis	60
7. BIBLIOGRAFÍA	65

Abreviaturas

CC: Cromatografía en columna

CCF: Cromatografía en capa fina

CDCl₃: Cloroformo deuterado

CH₂Cl₂: Diclorometano

CH₃I: Yoduro de metilo

CH₃OTf: Triflato de metilo

CH₄: Metano

CO₂: Dióxido de carbono

COSY: Espectroscopia de correlación H-H (por las siglas en inglés de Correlation Spectroscopy)

CT: Tomografía Computarizada

DDE: D-deprenil

DED: L-deuterodeprenil

DMF: Dimetilformida (N,N-dimetilformamida)

EtOH: Etanol

Et₂O: Dietiléter

H₂: Hidrógeno

HCl: Ácido clorhídrico

HMBC: Correlación de enlace múltiple heteronuclear (por las siglas en inglés de Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

HSQC: Correlación heteronuclear a enlace simple (por las siglas en inglés de Heteronuclear Single Quantum Correlation)

MeOH: Metanol

MS: Espectrometría de masa

N₂: Nitrógeno

NaCl: Cloruro de sodio

NaHCO₃: Bicarbonato de sodio

NaOH: Hidróxido de sodio

Na₂SO₄: Sulfato de sodio

NEt₃: Trietilamina

PET: Tomografía por emisión de positrones (por las siglas en inglés de Positron Emission Tomography)

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

SiO₂: Óxido de silicio

SPECT: Tomografía Computarizada de Emisión de Fotón Único (por las siglas en inglés de Single Photon Emission Computerized Tomography)

T.Amb: Temperatura ambiente

THF: Tetrahidrofurano

v_{def}: Frecuencia de deformación

v_{es}: frecuencia estiramiento

¹¹C: Carbono-11

¹²C: Carbono-12

¹³C: Carbono-13

[¹¹C]DDE: [¹¹C]D-deprenil

[¹¹C]DED: [¹¹C]L-deuterodeprenil

¹⁸F: Flúor-18

⁶⁸Ga: Gálio-68

¹⁸O: Oxígeno-18

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Imagenología

El concepto de imagenología es utilizado para hacer referencia al conjunto de técnicas y procedimientos que permiten obtener de manera no invasiva imágenes del cuerpo humano, partes del mismo, o de animales, ya sea con propósitos clínicos o de investigación científica.

La imagenología, puede ser utilizada con fines de examen y diagnóstico de enfermedades o con el fin de estudiar la anatomía y las funciones de un organismo, pudiendo discriminar una fisiología normal de una alterada (fisiopatología).

A lo largo del siglo XX la imagenología ha sufrido una revolución, tornándose más segura y accesible para los pacientes, además de un gran incremento en su eficiencia. Hoy en día los dispositivos utilizados para éste propósito poseen un papel fundamental en la tecnología sanitaria, no solo para el uso tradicional focalizado en el diagnóstico, sino también en procedimientos avanzados de terapia y monitoreo.^{1, 2}

1.2 Clases de imagenología

Tradicionalmente la imagenología se valió de las diferencias de respuestas inherentes a los diferentes tejidos y órganos para las distintas técnicas utilizadas, con el fin de medir el impacto de ciertas patologías en los mismos. En el pasado, la imagenología se podía dividir en dos grandes clases, la anatómica y la funcional.

Los avances en genómica, proteómica y el uso de modelos animales junto con los avances en la química y la biología molecular, han mejorado la comprensión de los mecanismos de las enfermedades. Así, se ha impulsado el desarrollo de la imagenología funcional, hasta tal punto que hoy en día se podría definir a la imagenología molecular como una evolución de ésta. La imagenología molecular brinda información de lo que acontece tanto a nivel celular como molecular de forma mucho más precisa, lo que anteriormente se podría hacer solo de forma rudimentaria.

1.2.1 Imagenología Anatómica

La imagenología anatómica es utilizada para localizar, demarcar y en algunos casos cuantificar el grado de extensión de una patología o una lesión.

Brinda relevante información que permite tanto planificar o monitorear un tratamiento como observar su progreso y realizar ajustes necesarios a la terapia. Durante las últimas décadas tecnologías sofisticadas tales como el Ultrasonido (US), Tomografía Computarizada (CT) y la Imagenología por Resonancia Magnética (MRI) fueron utilizadas en la clínica brindando una definición anatómica de ciertas patologías.

Ésta clase de imagenología tiene la importante limitación de no brindar información sobre los procesos bioquímicos del caso en cuestión, además de que algunas de las técnicas utilizadas poseen problemas de respuesta entre tejidos con propiedades físicas similares.³

1.2.2 Imagenología Molecular

Se define a la imagenología molecular como la visualización, caracterización y medida de procesos biológicos a nivel celular y molecular en humanos y otros sistemas vivos.⁴ Ésta disciplina en continuo crecimiento apunta a la investigación y desarrollo de nuevas herramientas, reactivos y métodos para visualizar procesos bioquímicos específicos *in vivo*, particularmente en aquellos procesos que son clave en el desarrollo de una enfermedad.

Los estudios realizados acerca de diferentes enfermedades se basan en cambios anatómicos o fisiológicos que son una manifestación tardía de cambios moleculares subyacentes a las mismas. La visualización directa de los cambios moleculares mencionados puede permitir una detección temprana de una enfermedad. Por lo tanto, se podrían potencialmente visualizar dichos cambios aun cuando ésta no presenta signos clínicos evidentes, pudiéndose eventualmente intervenirla a tiempo, o realizar un estudio de su evolución.

Cabe destacar que también las técnicas de imagenología molecular pueden potencialmente permitir la visualización de los efectos producidos por una terapia. Desempeñando por lo tanto un papel directo en la determinación de la efectividad de un tratamiento apenas luego del inicio del mismo.⁵

1.3 Modalidades de imagenología

Existe un amplio espectro de modalidades o técnicas de imagenología que pueden ser utilizadas con fines tanto de investigación como con fines clínicos (ver figura 1.1). La selección de la modalidad adecuada depende de los procesos bioquímicos que se desean visualizar y el tipo de información que se desea obtener.

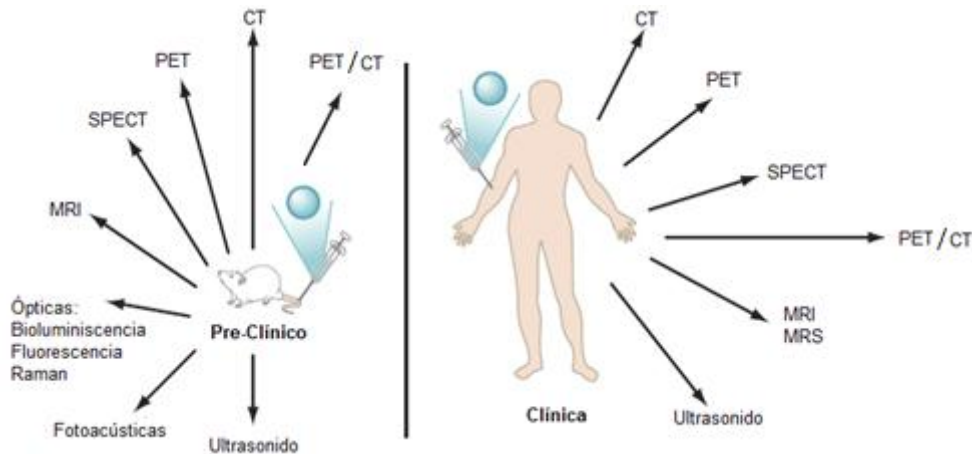


Figura 1.1 Modalidades de imagenología utilizadas para estudios pre-clínicos y/o clínicos. CT: Tomografía Computada; PET: Tomografía por Emisión de Positrones; SPECT: Tomografía Computarizada de Emisión Monofotónica; MRI: Imagenología por Resonancia Magnética; MRS: Espectroscopia por Resonancia Magnética. Modificada de referencia 6.

Hay numerosos factores que se deben tener en cuenta para seleccionar la modalidad (o modalidades, de ser necesario) adecuada de imagenología para ser utilizada en investigación o en clínica. Dichos factores a tener en cuenta son:

- La resolución espacial que se requiere.
- La sensibilidad es de gran relevancia para saber la mínima concentración de agente para imagenología que puede ser detectado, ya que la misma depende en gran medida de tal factor (ver figura 1.2).
- Si se necesitará información dinámica.
- Si es un estudio de cuerpo completo o solo se necesita visualizar una pequeña región.
- La resolución temporal, es decir cuán rápido se debe adquirir la imagen.
- Si la profundidad de penetración es importante.
- Si se necesita cuantificar.
- Si se necesitará repetir múltiples estudios.
- Si se deben visualizar múltiples dianas simultáneamente.

- Por último se debe tener en cuenta si la traslación a la clínica es el objetivo del estudio.⁶

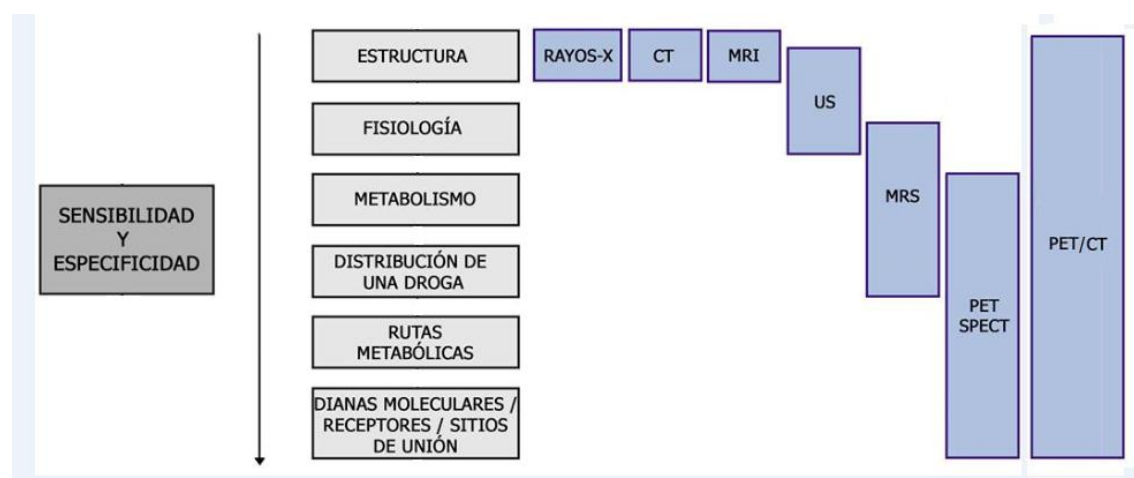


Figura 1.2 Rango de sensibilidad de las diferentes modalidades de imagenología. El rango de sensibilidad va desde milimolar (arriba) hacia picomolar (abajo).CT: Tomografía Computada; MRI: Imagenología por resonancia magnética; US: Ultrasonido. MRS; espectroscopía por resonancia magnética; PET: tomografía por emisión de positrones; SPECT; Tomografía Computarizada de Emisión Monofotónica; PET/CT: modalidad híbrida que combina PET y CT en un mismo dispositivo. Adaptada de referencia 7.

Las modalidades de Rayos-X, CT y MRI, permiten una información estructural precisa con una alta resolución. Las técnicas de imagenología molecular (PET y SPECT) poseen una baja resolución, pero brindan información farmacocinética y farmacodinámica. Por último, con el advenimiento de los dispositivos híbridos PET/CT se ha podido alcanzar una especificidad y sensibilidad tal, que abarca desde lo anatómico hasta lo funcional, convirtiéndose en la principal modalidad de imagenología molecular utilizada en la actualidad.⁷

1.4 Tomografía por emisión de positrones (PET)

La tomografía por emisión de positrones (PET) es una técnica no invasiva de imagenología molecular utilizada en medicina nuclear. Se basa en la detección externa del decaimiento de radionucleidos emisores de positrones, incorporados en moléculas biológicas introducidas en un sujeto de estudio. Moléculas biológicas de interés como agua, aminoácidos, azúcares o fármacos, son marcados con

radioisótopos emisores de positrones de período de semidesintegración corto (^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F) conservando sus propiedades bioquímicas.

Los radionucleidos emisores de positrones no existen normalmente en la naturaleza, por lo que deben ser producidos en un ciclotrón, como se describirá más adelante.

Los principales radioisótopos emisores de positrones se muestran en la Tabla 1.1.

Radio-nucleido	$t_{1/2}$ (min.)	Energía máx. (MeV)	Rango máximo en agua (mm)
^{11}C	20.48	0.9601	4.1
^{13}N	9.97	1.1985	5.1
^{15}O	2.04	1.7319	7.3
^{18}F	109.74	1.8991	2.4
^{68}Ga	68.0	1.90	8.2

Tabla 1.1 Muestra algunas de las características de los principales radionucleidos emisores de positrones. $t_{1/2}$ representa el período de semidesintegración. Adaptado de referencia 8.

Ésta técnica de imagenología se basa en los principios de un radiotrazador, que es la sustancia específica que permite obtener información de un sistema o parte del mismo, mediante la observación de su comportamiento cuando éste es agregado a un proceso determinado. Los radiotrazadores pueden ser incorporados tanto en sistemas biológicos, así como en sistemas físicos o químicos. Éstos pueden ser indicadores del sistema en general, de una propiedad que se tenga interés por evaluar, como pueden ser propiedades bioquímicas, fisiológicas o fisiopatológicas de un sistema. Como propiedades ideales, se espera que un radiotrazador no introduzca cambios químicos, físicos o biológicos de un sistema. Sea éste marcado isotópicamente o no isotópicamente, no debería presentar propiedades diferente a su análogo no marcado, y su comportamiento a concentraciones traza no debería presentar diferencias a mayores concentraciones.

Como grandes ventajas de los radiotrazadores, se puede destacar que los mismos pueden ser detectados y medidos con alta sensibilidad en el rango de 10^{-16} a 10^{-6} gramos. Que la radioactividad es independiente de la presión, la temperatura y el estado físico o químico del sistema; que los mismos no afectan al sistema, por lo

que pueden utilizarse como métodos no destructivos. En general pueden ser medidos de manera independiente, sin la necesidad de una curva de calibración.^{9,10}

Aplicando los principios cinéticos de un trazador a la información PET obtenida, es posible estimar parámetros fisiológicos que determinan la interacción y el destino de las moléculas marcadas. Con respecto a la farmacología, ésta técnica puede ser utilizada tanto para el estudio *in vivo* de parámetros de transporte y unión regional de un fármaco en determinado tejido, como también para la investigación de los efectos de un fármaco en los parámetros fisiológicos regionales.

Por todas las características mencionadas y las bajas dosis de radiación que son necesarias para realizar éste tipo de estudio, la técnica PET puede ser utilizada de forma segura con fines de investigación clínica. Además de las aplicaciones clínicas, ésta combinación de una técnica de imagenología no invasiva, que permite cuantificar y realizar el seguimiento de un determinado trazador, brinda una oportunidad muy atractiva para la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos.^{8,11,12}

En algunos caso los exámenes clínicos por PET pueden brindar información de gran relevancia para completar un diagnóstico y de éste modo influenciar decisiones terapéuticas ante determinados casos particulares, e incluso monitorear la respuesta de una eventual terapia. Ésta técnica posee un amplio rango de aplicaciones, siendo de especial importancia en la oncología, ya que en países que han completado la transición demográfica se observa un continuo aumento en la incidencia de cáncer, que ocupa el segundo puesto entre las principales causas de muerte. Además de las aplicaciones PET en Oncología y Cardiología, también se pueden destacar la importancia de ésta técnica en Neurología y más recientemente en Psiquiatría, donde ésta herramienta recién comienza a ser utilizada.^{13, 14}

El amplio rango de aplicaciones mencionadas es posible gracias a un gran conjunto de radiotrazadores, que luego de determinados procedimientos y controles establecidos en la farmacopea, están aptos para ser administrados a un paciente, denominándose radiofármacos. Los mismos pueden ser utilizados para el seguimiento a nivel molecular de diferentes procesos bioquímicos, tales como el transporte de aminoácidos, transporte de glucosa, y además marcadores de proliferación celular, marcadores de tumores hipóxicos e incluso marcadores de expresión génica.

Mientras que PET puede brindar una imagen precisa de áreas metabólicamente activas, ésta técnica no brinda información anatómica. Como resultado de ello, se dio lugar al desarrollo de nuevas modalidades de imagenología que surgen de la combinación de imágenes PET con escaneados de CT. Los equipamientos PET/CT combinan imágenes anatómicas y funcionales tomadas durante un solo procedimiento, sin tener que cambiar la posición del paciente entre los estudios.¹⁵ Además, en los últimos años la combinación de resonadores magnéticos clínicos (MR) con escáneres de PET han recibido una creciente atención. En oposición con los equipamientos PET/CT, los PET/MR reducen la cantidad de radiación ionizante al no utilizar rayos-x (base de la CT) y permiten un mejor contraste en las imágenes de tejidos blandos.¹⁶ Los detalles de dichas técnicas híbridas son muy vastos para ser mencionados y excederían el alcance del presente trabajo.

Vistas todas las consideraciones anteriormente mencionadas sobre ésta versátil técnica de imagenología, en las siguientes secciones se procederá a describir de forma breve su base física, las características generales de los radioisótopos más utilizados y de qué forma éstos son producidos.

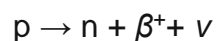
1.5 Fundamentos físicos de la Imagenología PET

1.5.1 Decaimiento radioactivo

Los radionucleidos que son inestables poseen una proporción inadecuada de neutrones y protones, núcleos muy grandes, o un exceso de energía, que conduce a los mismos a decaer por emisión de radiaciones tales como partículas α , partículas β^- , partículas β^+ (se hará especial hincapié en ellas), captura electrónica o radiación electromagnética en forma de rayos- γ .

1.5.2 Decaimiento β^+

Los radionucleidos con exceso de protones pueden decaer espontáneamente emitiendo un positrón (β^+) junto con un neutrino ν . En este proceso un protón en el núcleo es convertido en un neutrón como muestra la siguiente ecuación:



Dónde p es un protón; n un neutrón, β^+ un positrón; y ν representa un neutrino.¹⁷

1.5.3 Fenómeno de Aniquilación

El positrón emitido desde el núcleo atómico que sigue un decaimiento β^+ posee un tiempo de vida muy corto en un medio rico en electrones tal como un tejido. El mismo al interactuar con electrones de los átomos que componen el tejido circundante, sufrirá un proceso conocido como Aniquilación. Durante este proceso la masa del electrón y el positrón en cuestión es convertida en dos fotones de radiación y que son emitidos simultáneamente en direcciones opuestas (180°), con una energía de 511 KeV cada uno, como puede observarse en la figura 1.3.

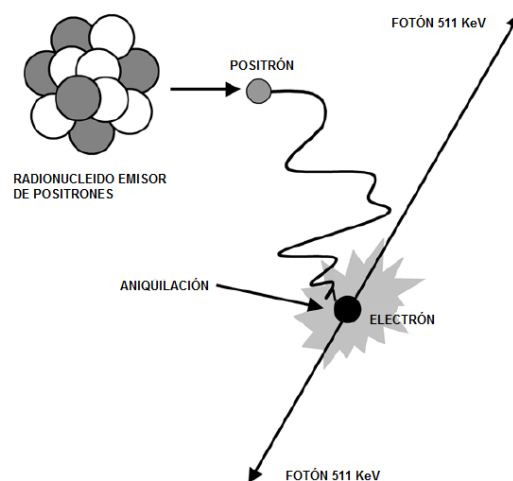


Figura 1.3 Proceso de Aniquilación. Se muestra un radionucleido que sufre un decaimiento por el cual emite un positrón y la aniquilación que sufre al interactuar con un electrón, resultando en la emisión de dos fotones de 511 KeV en direcciones opuestas (180°). Normalmente el sitio de aniquilación es muy cercano a donde se encuentra el emisor de positrones. Adaptado de referencia 17.

El proceso de aniquilación posee propiedades de gran relevancia que son muy ventajosas para la imagenología, las cuales están directamente relacionadas con el concepto de PET, como la energía y la dirección de los fotones (se tratará ésta última en la siguiente sección). Los fotones de aniquilación son muy energéticos, se encuentran en la región de los rayos- γ del espectro electromagnético (más energéticos que los rayos-X), lo que implica que éstos escaparán del cuerpo y de ésta manera serán detectados en el exterior. Por lo tanto, son los rayos- γ producidos

por el fenómeno de aniquilación los que son detectados en la imagenología PET, y no los positrones.¹⁸

1.5.4 Detección

Los rayos- γ a 180° uno respecto del otro producidos por el fenómeno de aniquilación descrito en el apartado anterior son la clave de la imagenología PET. Cuando dos detectores situados en lados opuestos de un paciente registran casi simultáneamente un evento, se dice que los detectores se encuentran "en coincidencia", debido a que en algún lugar en línea recta entre ambos se produjo un fenómeno de aniquilación. Las cámaras PET están diseñadas para detectar los fenómenos de coincidencia. La línea recta entre los detectores se denomina "línea de respuesta", sobre la cual ocurrirá la aniquilación.

Las cámaras PET se construyen con un arreglo anular de pequeños cristales. Los cristales a ambos lados del paciente detienen los fotones producidos por la aniquilación protón-electrón como se muestra en la figura 1.4.

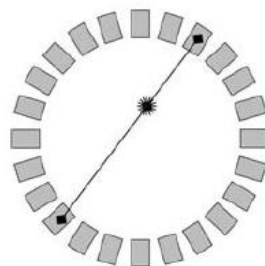


Figura 1.4 Detección de coincidencia. Se muestra a los rayos- γ a 180° producidos por la aniquilación positón-electrón. Si cada detector de cada lado registra casi simultáneamente un evento, entonces la aniquilación debió haber ocurrido en la línea recta entre ambos. Tomado de referencia 17.

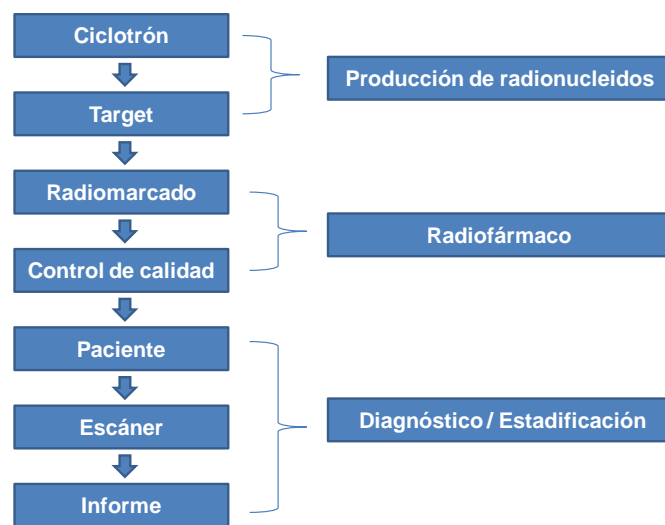
Ya que líneas de respuesta están determinadas geoméricamente, las mismas no dependen de la distancia entre los detectores. Y en medida de que los fotones provenientes de la aniquilación se emiten a 180° uno con respecto del otro, la distancia de los detectores respecto al paciente no afecta la resolución.¹⁹

1.6 Producción de radiofármacos PET

Para la producción de un radiofármaco PET se deben de tener en cuenta ciertos requerimientos especiales. Debido a que los radionucleidos utilizados poseen un

corto período de semidesintegración, deben ser producidos en el sitio en el cual serán utilizados.

En cuanto a las instalaciones principales que debe incluir un centro PET son: un ciclotrón, laboratorios especializados en radioquímica y radiofarmacia y un escáner PET. Esto implica una importante colaboración entre un gran equipo multidisciplinario de médicos, químicos, personal de producción, técnicos, personal administrativo, etc.²⁰ Las principales etapas de producción y utilización de un radiofármaco PET se muestran en el esquema 1.1.



Esquema 1.1 Se muestran los acontecimientos principales durante la producción y utilización de un radiofármaco PET. Adaptado de referencia 20.

1.6.1 Producción de radionucleidos PET a partir de Ciclotrones

Como se mencionó anteriormente los radionucleidos emisores de positrones no son comunes en la naturaleza, por lo que deben ser producidos artificialmente en ciclotrones o reactores. Los principales radionucleidos utilizados en imagenología PET son el Carbono-11, Nitrógeno-13, Oxígeno-15 y Flúor-18, los mismos son de bajo peso atómico y se producen en ciclotrones irradiando blancos líquidos o gaseosos. Un ciclotrón (figura 1.5) es un acelerador de partículas en el cuál se pueden producir dichos radionucleidos.

Un ciclotrón está compuesto por dos electrodos de metal hueco (en forma de "D") en una cámara de vacío entre los dos polos de un gran electroimán. Mediante la introducción de Hidrógeno (H_2) o Deuterio (D_2) en forma gaseosa se producen las

partículas que serán aceleradas (H^- o D^-). Mediante la aplicación de voltaje alternado entre los electrodos y un fuerte campo magnético, los aniones ganan energía siguiendo una trayectoria en espiral. Hasta que el radio de la misma alcanza a golpear una lámina de carbono en la periferia de la cámara de vacío que quita los electrones de dichas partículas tornándolas positivas (H^+ o D^+). El cambio en la carga desvía a las partículas obligándolas a colisionar con el contenido del *target* (figura 1.6 y figura 1.7). Este es el componente del ciclotrón donde las partículas de alta energía colisionan con un isótopo estable, obteniéndose radionucleidos emisores de positrones.

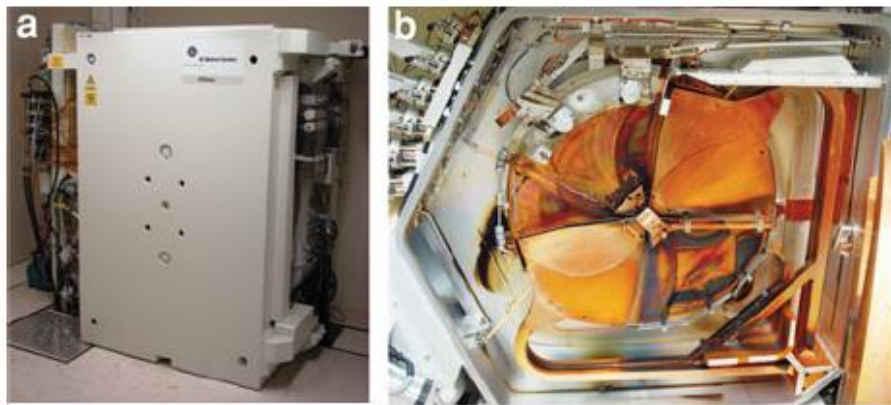


Figura 1.5 Ciclotrón. Se muestra el exterior (a) y el interior (b) de un ciclotrón utilizado para obtener radionucleidos PET. Tomada de referencia 21.

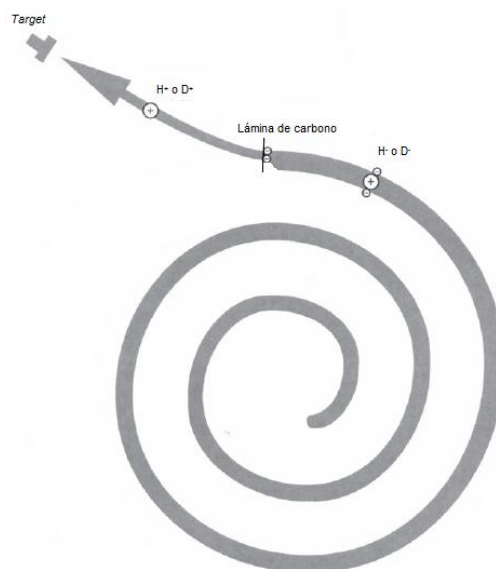


Figura 1.6 Se muestra una ilustración esquematizada de la trayectoria seguida por una partícula acelerada dentro de un ciclotrón. Adaptada de referencia 22.

Los diferentes radionucleidos son producidos por el bombardeo y eventual colisión con el contenido del *target*(o blanco) bajo diferentes condiciones. Las reacciones nucleares más comunes para la producción de radionucleidos emisores de positrones se muestran en la tabla 1.2.^{21, 22}



Figura 1.7 Blancos (*targets*) de un ciclotrón. En la figura se muestran 4 blancos (*targets*) de un ciclotrón GE PETtrace® 16.5 MeV disponible en las instalaciones del CUDIM. En (A) se puede ver el blanco utilizado para producir ^{11}C , en (B) se muestra un blanco utilizado para pruebas, en (C) se muestra el blanco utilizado para la producción de ^{15}O , por último en (D) se muestra un blanco que según si su contenido es $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ u $[^{16}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$, se pueden producir $^{18}\text{F}^-$ o $^{13}\text{NH}_4^+$ respectivamente. Adaptada de referencia 23.

Radionucleido	$t_{1/2}$ (min)	Reacción Nuclear	Precursor	Producto
^{11}C	20.40	$^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$	$^{14}\text{N}_2$ (g)	$^{11}\text{CO}_2$
^{18}F	109.90	$^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$	H_2^{18}O (l)	$^{18}\text{F}^-$
		$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$	Ne (1% F_2)	$^{18}\text{F}-\text{F}$ (F_2)
		$^{20}\text{Ne}(d,\alpha)^{18}\text{F}$	Ne (5% H_2)	H^{18}F
^{15}O	2.07	$^{15}\text{N}(p,n)^{15}\text{O}$	$^{15}\text{N}_2$ (g)	$^{15}\text{O}_2$
		$^{14}\text{N}(d,n)^{15}\text{O}$	$^{14}\text{N}_2$ (g)	$^{15}\text{O}_2$
^{13}N	9.96	$^{13}\text{C}(p,n)^{13}\text{N}$	$^{13}\text{CO}_2$ (g)	$^{13}\text{NH}_3$
		$^{16}\text{O}(p,\alpha)^{13}\text{N}$	H_2^{16}O (l)	$^{13}\text{NH}_4^+$

Tabla 1.2 Reacciones nucleares más comunes. Se muestran en la tabla las reacciones nucleares más comunes, sus precursores y sus respectivos productos. En negrita se marcan las reacciones nucleares que se realizan en el CUDIM. Adaptada de referencia 23.

1.6.2 Producción de radionucleidos PET a partir de generadores

Por otra parte, otros radionucleidos utilizados en imagenología PET como el Galio-68 son obtenidos a partir de generadores. Los generadores son sistemas que involucran radionucleidos "padre" con un largo período de semidesintegración. Estos decaen continuamente generando radionucleidos "hijo" con un período de semidesintegración relativamente corto. Los radionucleidos "padre" e "hijo" no son isótopos, por lo que pueden ser separados químicamente.

Los generadores están compuestos por columnas de plástico o vidrio con un disco de filtrado en la parte inferior. La columna se llena con material adsorbente sobre el cual el radionucleido "padre" se encuentra adsorbido. Una vez que éste decae el radionucleido "hijo" es liberado y puede ser eluido con un disolvente adecuado cuantas veces lo permita la vida útil del generador en cuestión.^{24,25}

1.7 Estrategias de marcado en moléculas orgánicas

La marcación es la reacción química por la cual un radionucleido determinado se incorpora en una molécula específica para generar el radiotrazador deseado (Figura 1.8). Para evitar las altas dosis de radiación a las cuales el personal se expone, las marcaciones se realizan en módulos de síntesis automatizados dentro de estructuras blindadas denominadas "hotcells".²⁶

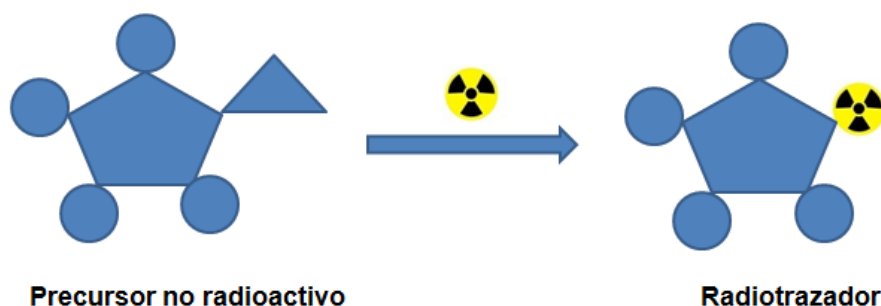


Figura 1.8 Marcación. Se muestra una ilustración del proceso general de marcación de un precursor no radioactivo el cual usualmente por la vía nucleofílica posee un sitio activo (con un buen grupo saliente, triángulo en la figura) en el cual el radionucleido (círculo amarillo y negro) es introducido para dar el radiotrazador deseado.

Uno de los principales desafíos de la radiomarcación es el desarrollo de metodologías que permitan la incorporación de radionucleidos emisores de positrones de período de semidesintegración corto en las moléculas de interés. En general, los radiotrazadores deben ser marcados, purificados, analizados y formulados en un tiempo no mayor a dos períodos de semidesintegración del radionucleido en cuestión. Además, su introducción en la molécula debe realizarse lo más tardíamente posible en su proceso de síntesis.

Muchas rutas sintéticas para preparar radiotrazadores PET han sido desarrolladas en las últimas décadas. Principalmente, el desarrollo de radiotrazadores que incorporan carbono-11 o flúor-18 (en los cuales se hará hincapié en las siguientes secciones). Los radionucleidos son incorporados en las moléculas de interés utilizando metodologías de química orgánica. El período de semidesintegración del nitrógeno-13 y el oxígeno-15 es demasiado corto como para llevar a cabo rutas sintéticas con más de un paso, por lo que el número de radiotrazadores que incorporan dichos radionucleidos es considerablemente bajo.^{27, 28}

1.7.1 Radiomarcados con flúor-18

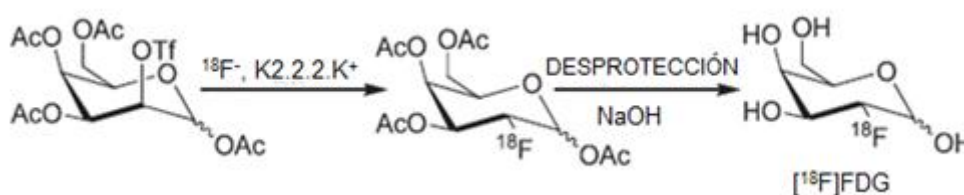
El flúor-18 es el radionucleido emisor de positrones de mayor importancia para la imagenología PET. Posee un período de semidesintegración óptimo que permite aumentar los pasos de síntesis involucrados en la producción de un radiotrazador, mayores tiempos de investigación *in vivo* y la posible distribución a centros PET que carezcan de los medios para producir dicho radionucleido.

La mayoría de las radiomarcaciones con flúor involucran sustituciones nucleofílicas bimoleculares (S_N2) en compuestos alifáticos y sustituciones nucleofílicas aromáticas (S_NAr), tanto en derivados de benceno como en sistemas heterocíclicos aromáticos con un adecuado grupo saliente. En dichas reacciones, la forma en la que se presenta el radionucleido es la de su respectivo anión fluoruro ($[^{18}F]F^-$). Las fluoraciones nucleofílicas permiten obtener una gran variedad de radiotrazadores con altos rendimientos radioquímicos y alta actividad específica (actividad por unidad de masa o volumen del compuesto, tanto radioactivo como no radioactivo).

Hay dos estrategias principales para llevar a cabo fluoraciones nucleofílicas, una de ellas consiste en la sustitución directa de un grupo saliente adecuado por $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ en el precursor en cuestión. Seguidamente se remueven los grupos protectores, si es que fueron utilizados en otros grupos funcionales presentes en la molécula, obteniéndose de ésta manera el radiotrazador deseado.

La otra estrategia consiste en la preparación de un agente de fluoración intermediario por sustitución nucleofílica, para luego llevar a cabo una segunda reacción y finalmente realizar una eventual desprotección, obteniéndose de ésta manera el radiotrazador esperado. Éstas estrategias son comúnmente llevadas a cabo en solventes apróticos como DMSO y DMF, compensando la pobre solubilidad del $\text{K}[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ en estos medios. Se utilizan en conjunto con catalizadores de transferencia de fase y evitando la presencia de agua al máximo, la cual puede disminuir considerablemente la nucleofilia de dicho anión. Por último cabe agregar que para aumentar la nucleofilia del $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ se utilizan éteres corona como el Kriptofix 2.2.2, como forma de atrapar el K^+ en la formulación final.

Una reacción muy utilizada de fluoración nucleofílica sobre un precursor para obtener un radiotrazador, es la que se aplica en la producción de $[^{18}\text{F}]$ -2-fluoro-2-desoxi-D-glucosa ($[^{18}\text{F}]\text{FDG}$, ver esquema 1.2). Este último es un radiofármaco PET análogo de la glucosa, que se utiliza para obtener imágenes del metabolismo glucídico en determinados tejidos.²⁹

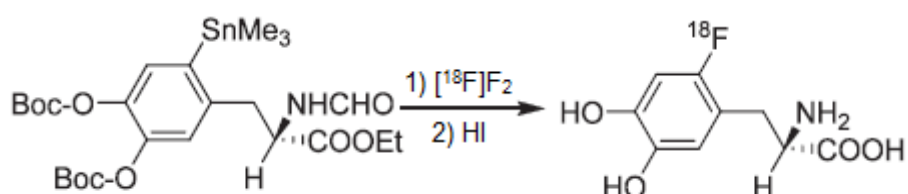


Esquema 1.2 Fluoración nucleofílica donde se muestra un ejemplo de radiosíntesis sobre un precursor alifático para obtener un radiotrazador de uso muy común en imagenología PET, la $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$. Tomado de referencia 29.

Por otra parte, las radiomarcaciones con flúor-18 se pueden llevar a cabo mediante fluoraciones electrofílicas barboteando flúor-18 gaseoso ($[^{18}\text{F}]\text{F}_2$) en la solución del precursor, pero en este caso los radiotrazadores obtenidos poseen la desventaja, entre otras, de tener una actividad específica baja.

En éste tipo de reacciones, el flúor reacciona con reactivos donadores de electrones tales como un alqueno, anillo aromático o carbanión para formar un enlace covalente flúor-carbono. Ésta estrategia incluye reacciones como adiciones a dobles enlaces o sustituciones electrofílicas aromáticas de grupos trialquilestaño o mercurio.

Debido a la alta reactividad y peligrosidad del F_2 , el bajo rendimiento de producción de $[^{18}F]F_2$ (máximo teórico de 50%, ya que se genera un par diatómico con el isótopo “frío”), y el alto costo de los blancos específicos para el ciclotrón, las fluoraciones electrofílicas no son comúnmente utilizadas. Durante mucho tiempo se utilizó ésta vía para la preparación de $[^{18}F]FDOPA$, un radiotrazador utilizado para estudiar el metabolismo presináptico de la dopamina para el diagnóstico de Parkinson. Debido a las desventajas mencionadas anteriormente, en la actualidad dicha síntesis es llevada a cabo mediante la vía nucleofílica (ver esquema 1.3).^{29, 30, 31}

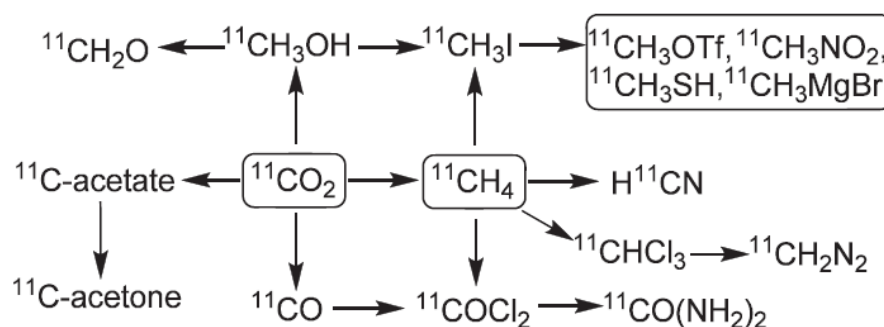


Esquema1.3 Fluoración electrofílica donde se muestra un ejemplo sobre un precursor aromático para obtener el radiotrazador $[^{18}F]FDOPA$ utilizado para el diagnóstico de Parkinson en imagenología PET. Tomado de referencia 29.

1.7.2 Radiomarcados con carbono-11

El carbono es el principal elemento del cual se componen las biomoléculas. Por lo tanto, el radiomarcado de ciertas moléculas de relevancia biológica con carbono-11 (^{11}C) es de gran importancia para la imagenología PET. Debido al comportamiento de dichos compuestos sería indistinguible de sus homólogos sin marcar, con la excepción de un efecto isotópico cinético muy pequeño. Esto no es un asunto menor, ya que la introducción de flúor-18 en determinados radiotrazadores puede cambiar sus propiedades biológicas al tener una diferencia en su estructura química respecto del homólogo natural correspondiente. A pesar de que el período de semidesintegración del carbono-11 es solamente de 20.4 minutos, se ha desarrollado una amplia gama de reacciones para radiomarcar satisfactoriamente moléculas de interés con dicho radionucleido.

La mayoría de las síntesis que involucran carbono-11, el cual es producido en ciclotrones comerciales, comienzan con $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ o $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ como productos primarios. Varios precursores $[^{11}\text{C}]$ han sido desarrollados partiendo de los productos anteriormente mencionados como se puede ver en el esquema 1.4.



Esquema 1.4 Marcaciones con carbono-11. Se muestra la amplia gama de precursores con carbono-11 que pueden ser utilizados para la producción de radiotrazadores. Tomado de referencia 29.

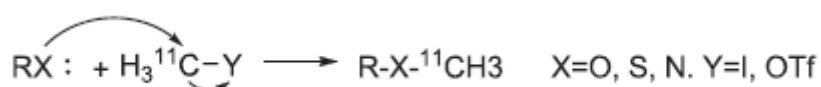
Se utiliza un amplio espectro de reacciones en química orgánica mediante las cuales el radionucleido es incorporado a los precursores de interés para obtenerse de esta manera el radiotrazador deseado. Entre ellas se encuentran metilaciones directas, utilizando agentes como yoduro de metilo o triflato de metilo, metilaciones mediadas por paladio, reacciones de Grignard y carbonilaciones (que utilizan $[^{11}\text{C}]\text{CO}$), entre otras. Los detalles de cada una de ellas exceden el alcance del presente trabajo, aunque son de especial interés en la presente tesis, las metilaciones con yoduro de metilo ($[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$) y triflato de metilo ($[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$), las cuales serán brevemente descritas a continuación.

Las alquilaciones con $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ y $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ son ampliamente utilizadas para introducir carbono-11 en moléculas de interés que incluyan heteroátomos como Azufre (S), Oxígeno (O) o Nitrógeno (N).

El $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ puede ser preparado por dos métodos. Con el método llamado "húmedo", el $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ es reducido a $[^{11}\text{C}]\text{metanol}$ por LiAlH_4 , seguido del tratamiento con HI. Mediante la utilización del método "gaseoso" se prepara el $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ directamente desde el $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ en presencia de vapor de yodo. El $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ puede producirse directamente en el ciclotrón mediante irradiación del blanco adecuado o puede ser producido a partir de la reducción de $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ proveniente del ciclotrón mediante calor y un catalizador adecuado.

El uso de $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ en las reacciones de metilación tiene muchas ventajas sobre el uso de $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$, ya que el primero es más reactivo que éste último, por lo que las metilaciones pueden ser llevadas a cabo a menores temperaturas, con pequeñas cantidades de precursor y en tiempos de reacción más cortos.

Éstas reacciones se pueden llevar a cabo tanto en solución, barboteando el agente metilante, como en fase sólida con el soporte adecuado. Para llevar a cabo dichas reacciones en solución se utilizan distintos disolventes orgánicos y comúnmente es necesario el uso de una base para realizar desprotonaciones. En el esquema 1.5 se muestra la reacción general de metilación descrita.^{29,30,32}



Esquema 1.5 Alquilaciones con carbono-11. Se muestra un esquema general de $[^{11}\text{C}]$ metilación sobre un heteroátomo (S, O, N) con $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ o $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$. Tomado de referencia 29.

Además de las reacciones para la incorporación de ^{11}C mencionadas, se han desarrollado otras rutas sintéticas con un interesante potencial de aplicación. Otro precursor radioactivo es el $[^{11}\text{C}]\text{HCN}$, el cual es el material de partida para reacciones de $[^{11}\text{C}]$ cianación. Este precursor es usualmente preparado por la reducción de $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ a $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ utilizando H_2 sobre níquel y la posterior conversión en $[^{11}\text{C}]\text{HCN}$ por la reacción con NH_3 sobre platino.³³

Por todo lo anteriormente mencionado, se puede inferir que el carbono-11, a pesar de su corto período de semidesintegración, posee una serie de características y una gran versatilidad desde el punto de vista sintético. Esto le permite ser una excelente opción a la hora de utilizarlo como radionucleido en el desarrollo de radiotrazadores emisores de positrones.

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas los grandes avances tecnológicos, junto con los avances en medicina, impulsaron la creación de una nueva clase de imagenología, aplicable tanto para fines diagnósticos como de investigación biomédica, la imagenología molecular. Ésta disciplina posee un amplio espectro de técnicas que permiten visualizar, caracterizar y medir procesos biológicos a nivel celular y molecular. Las técnicas utilizadas para la obtención de imágenes incluyen las que emplean radiotrazadores, resonancia magnética nuclear, ultrasonido, imágenes ópticas o la fusión de dos o más tecnologías.

PET en particular, es una técnica de diagnóstico capaz de brindar información de gran relevancia clínica de forma no invasiva acerca de los cambios moleculares involucrados en el desarrollo de determinadas patologías. PET, se basa en la detección y el análisis del patrón de distribución que adopta determinado radiotrazador en un organismo, permitiendo diferenciar una anatomía o fisiología normal de una anormal.

Los componentes más importantes con los que debe estar equipado un centro PET, para producir y aplicar radiotrazadores con fines diagnósticos o de investigación son: a) Un ciclotrón (acelerador de partículas) donde se producen los radionucleidos, b) módulos de síntesis adecuadamente blindados dentro de celdas que cumplan con los requisitos de radioprotección, donde se sintetizan los radiofármacos (preparado radiactivo de calidad farmacéutica, generalmente administrado a seres humanos por vía intravenosa), y c) cámaras PET/CT donde se adquieren y procesan las imágenes.

En la actualidad es de vital importancia el desarrollo de nuevas estrategias de diagnóstico dirigidas específicamente contra dianas moleculares que permitan la caracterización de la naturaleza de una enfermedad y su seguimiento, lo que permitiría mejores estrategias terapéuticas. Para ello, el desarrollo de nuevos radiofármacos, se basa en la búsqueda de moléculas dirigidas a blancos o marcadores moleculares específicos, que permitan de manera no invasiva caracterizar el proceso patológico en cuestión. Dichos compuestos presentan una estructura química definida, donde se puede diferenciar la molécula o estructura que condiciona su patrón de biodistribución en el organismo y el radionucleido incorporado responsable de la emisión de la radiación que es detectada de forma

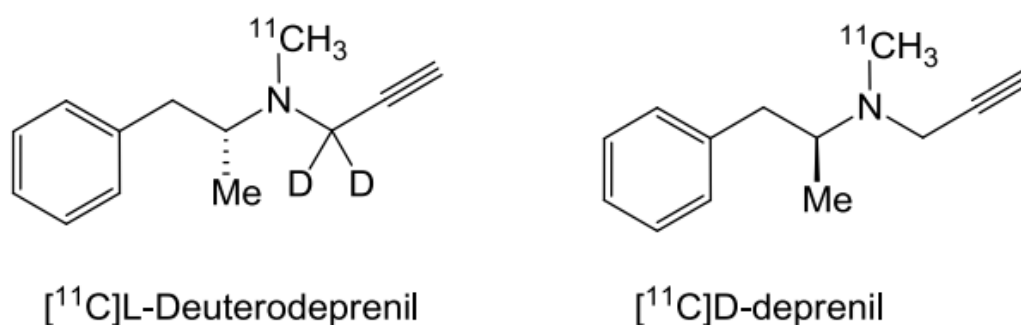
externa, permitiendo de ésta manera la valoración del proceso. Éstos compuestos en su mayoría se tratan de moléculas orgánicas o inorgánicas, y biomoléculas que van desde moléculas simples y péptidos, a un grado mayor de complejidad.

Las grandes cualidades que presenta la técnica PET/CT, como su gran sensibilidad (siendo posible la detección de concentraciones de órdenes nanomolares), resolución espacial y temporal, y su carácter cuantitativo, se ven condicionadas a los cortos períodos de semidesintegración (de minutos) que poseen los radionucleidos emisores de positrones, incorporados en los radiotrazadores utilizados. Por ello, la síntesis de éstos compuestos se debe realizar mediante procedimientos que reduzcan lo máximo posible el número de pasos involucrados. Las pequeñas escalas (habitualmente pocos miligramos) en las cuales se lleva a cabo la síntesis implican un exceso de precursor, por lo que es necesario un sistema de purificación adecuado del producto de interés, siendo los equipos de HPLC los más comúnmente utilizados. En los esquemas generales de síntesis, es necesario contar con un “*precursor frío*” adecuado, que presente un centro reactivo en el cuál se produzca la adición o sustitución del radionucleido emisor de positrones durante el proceso de síntesis. Mientras que otros grupos que posiblemente puedan reaccionar estén protegidos con el sustituyente adecuado. Por ello surgen dificultades como obtener el precursor indicado, lograr una reacción directa con el mínimo posible de productos secundarios y hallar un sistema de purificación que permita separar de forma eficiente el producto final deseado.

Para la obtención de los precursores sintéticos adecuados, los radioquímicos se valen de reacciones bien conocidas de la química orgánica para incorporar radionucleidos emisores de positrones en moléculas orgánicas, siendo posible el desarrollo de una gran variedad de metodologías para llevar esto a cabo.

En la actualidad, el Centro Uruguayo de Imagenología Molecular (CUDIM) ofrece cuatro radiofármacos de carbono-11 (^{11}C) para uso clínico y preclínico: [^{11}C]Metionina, [^{11}C]Colina, [^{11}C]PIB y [^{11}C]L-deuterodeprenil. Estos cuatro radiofármacos utilizan la metodología de ^{11}C -metilación nucleofílica, que se lleva a cabo en los módulos automatizados de síntesis TRACERlab™ FX C Pro (General Electric, ver Figura 6.1 página 61). En particular, el [^{11}C]L-deuterodeprenil ((*R*)-*N*-[^{11}C]metil-*N*-(1,1-dideuteropropargil)-1-fenilpropan-2-amina, [^{11}C]DED), Esquema 2.1), es utilizado en la evaluación *in vivo* de patologías neurológicas que implican una sobreexpresión de la MAO-B en casos de astrocitosis.

Este radiofármaco presenta una estructura basada en el L-Deprenil (L-Selegilina), un inhibidor selectivo e irreversible de la enzima monoaminoxidasa B (MAO-B). Es un radiofármaco de referencia para la cuantificación de la actividad de la MAO-B mediante PET. Como la mayoría de los radiofármacos, es administrado de forma intravenosa en concentraciones tales que carece de efectos farmacológicos apreciables.



Esquema 2.1 Estructuras químicas de los radiofármacos de interés en la presente tesis. Se muestran las estructuras del $[^{11}\text{C}]\text{L-deuterodeprenil}$ (izquierda) y el $[^{11}\text{C}]\text{D-deprenil}$ (derecha).

Otro radiofármaco PET de estructura similar es el $^{11}\text{C-D-deprenil}$ ((*S*)-*N*- $[^{11}\text{C}]\text{metil-N-propargil-1-fenilpropan-2-amina}$, $[^{11}\text{C}]\text{DDE}$, Esquema 2.1), el cual ha sido utilizado para visualizar procesos inflamatorios en la región del cuello y podría ser desarrollado a futuro en el CUDIM.³⁴ Un síndrome de dolor crónico frecuente es el trastorno de latigazo cervical, donde el comienzo es un esguince de tejidos blandos del cuello causado por un accidente de tráfico extremo trasero o de un trauma similar. La lesión es generalmente benigna y se resuelve dentro de un par de meses, pero en una parte de la población, las lesiones cervicales evolucionan al dolor crónico. Investigaciones recientes demuestran que los procesos dolorosos en la periferia pueden ser visualizados y cuantificados con PET y que $[^{11}\text{C}]\text{D-deprenil}$ es un trazador prometedor para estos fines. La posibilidad de visualizar y cuantificar los sitios de inflamación en el dolor crónico puede ser muy útil en el diagnóstico y la monitorización del tratamiento.

En relación al presente trabajo, si bien los precursores químicos para la obtención de $[^{11}\text{C}]\text{L-deuterodeprenil}$ y $[^{11}\text{C}]\text{D-deprenil}$ pueden ser adquirido comercialmente a través de compañías químicas internacionales, estos presentan desventajas importantes para su accesibilidad en el CUDIM, como su elevado costo.

En este sentido, sería muy conveniente desarrollar metodologías sintéticas eficientes y rápidas para generarlos en los propios laboratorios del CUDIM. Esto permitiría no solo generar los precursores de interés en el CUDIM, sino también formar recursos humanos calificados en el desarrollo de precursores para su utilización en la obtención de radiofármacos PET con potencial uso clínico.

3. OBJETIVOS

Los objetivos generales y específicos de la presente tesis de grado son:

3.1 Objetivos Generales

Desarrollar metodologías de síntesis orgánica eficiente para la obtención de alfa-metilaminas enantioméricamente puras como precursores químicos a utilizar en la obtención de radiofármacos PET con potencial uso en el diagnóstico de patologías inflamatorias y del sistema nervioso central.

3.2 Objetivos específicos

Aprendizaje, desarrollo y optimización de metodologías de síntesis orgánica para la obtención de precursores necesarios para la generación de los radiofármacos [^{11}C]L-deuterodeprenil y [^{11}C]D-deprenil.

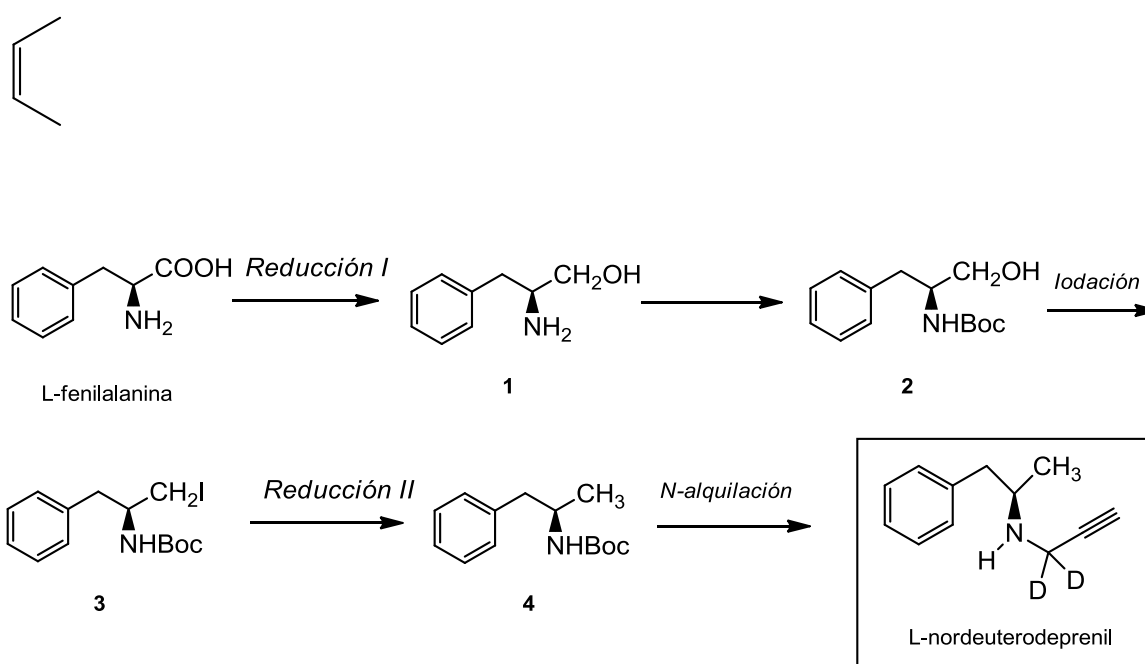
Caracterización química de los compuestos obtenidos mediante la utilización de técnicas espectroscópicas, como resonancia magnética nuclear e infrarrojo, y espectrometría de masa.

Aprendizaje y estudio inicial en la marcación con ^{11}C del precursor D-nordeprenil, para la obtención de [^{11}C]D-deprenil mediante metodología de ^{11}C -metilación nucleofílica, llevada a cabo en los módulos automatizados de síntesis TRACERlab™ FX C Pro (General Electric).

4. DISEÑO Y SÍNTESIS

4.1 Diseño general

Para llevar a cabo los objetivos del presente trabajo se realizó un conjunto definido de reacciones presentadas en dos rutas sintéticas. Una de ellas para la obtención de un precursor (D-nordeprenil) y un patrón “frio” (no radioactivo) del D-deprenil, a partir de una α -metilamina enantioméricamente pura disponible comercialmente (D-anfetamina) (ver esquema 4.1).

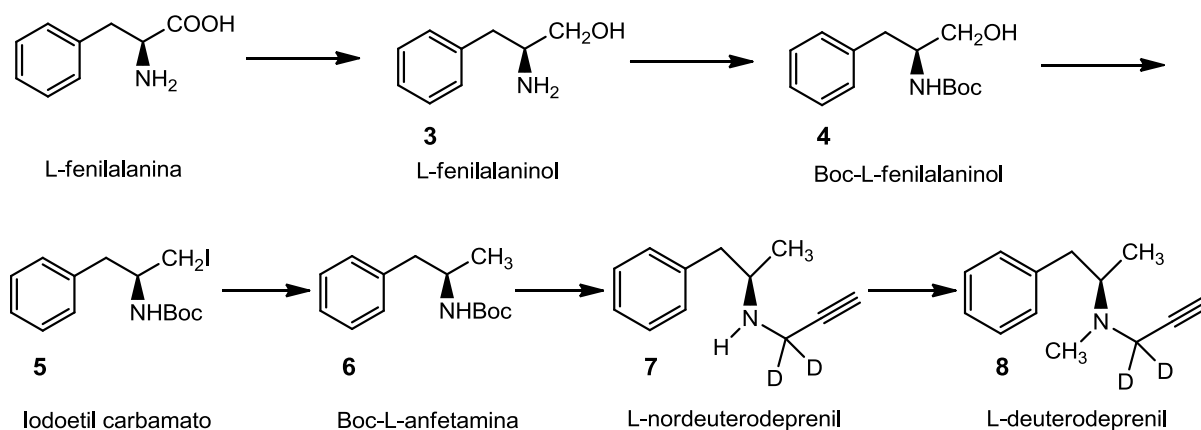


Esquema 4.1 Ruta sintética propuesta para la obtención de D-nordeprenil y D-deprenil.

En la sección 4.3 de éste apartado se describirán las condiciones estudiadas para llevar a cabo la marcación con ^{11}C del precursor D-nordeprenil, para la obtención de $[^{11}\text{C}]\text{D-deprenil}$ mediante metodología de ^{11}C -metilación nucleofílica, llevada a cabo en los módulos automatizados de síntesis TRACERlab™ FX C Pro (General Electric).

Por otra parte, con el fin de obtener un precursor adecuado (L-nordeuterodeprenil) para la generación del radiofármaco $[^{11}\text{C}]\text{L-deuterodeprenil}$, nos basamos en una reciente publicación científica, donde se describe una metodología sintética

conveniente para obtener alfa-metilaminas enantioméricamente puras.³⁵ Para ello, se planteó la ruta sintética en la cual se utiliza como material de partida el aminoácido L-fenilalanina adquirido comercialmente, siguiendo los pasos que se muestran en el esquema 4.2.



Esquema 4.2 Ruta sintética propuesta para la obtención de L-nordeuterodeprenil y L-deuterodeprenil.

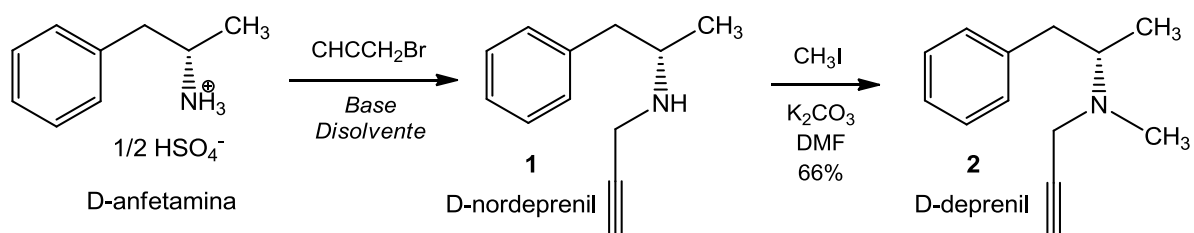
A continuación se realizará una descripción de los diferentes pasos llevados a cabo en cada ruta sintética, para la obtención los productos de interés. Se comenzará detallando los pasos para la síntesis del precursor del radiofármaco [¹¹C]D-deprenil (D-nordeprenil) y el patrón “frio” (no radioactivo, D-deprenil). En la sección 4.3 se detallarán las diferentes condiciones ensayadas para la marcación con carbono-11 del precursor D-nordeprenil para la obtención del radiofármaco [¹¹C]D-deprenil. En la sección 4.4 se describirán detalladamente los pasos seguidos para obtener el precursor del radiofármaco [¹¹C]L-deuterodeprenil. Por último, en la sección 4.5 se describirá una ruta alternativa para la obtención del precursor del radiofármaco [¹¹C]L-deuterodeprenil.

4.2 Síntesis del precursor para la obtención de [¹¹C]D-deprenil

4.2.1 Síntesis de D-nordeprenil

Para llevar a cabo la síntesis del D-nordeprenil se partió de D-anfetamina comercial mediante reacción de *N*-alquilación, en la cual se ensayaron diferentes condiciones de reacción (Esquema 4.3). Se estudiaron diferentes bases, para desprotonar la amina que se encontraba bajo la forma de hemisulfato, y disolventes, con el fin de encontrar las condiciones de reacción más adecuadas para la obtención del producto deseado.

Todas las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, mostrándose en la Tabla 4.1 los resultados obtenidos según las diferentes condiciones ensayadas. Como puede observarse en la Tabla 4.1, las mejores condiciones para llevar a cabo la reacción fueron cuando se utilizó K_2CO_3 como base y DMF como disolvente (entrada b). Cuando se utilizó una mezcla MeCN:H₂O como disolvente de reacción, con la finalidad de mejorar la solubilidad de la base empleada, se obtuvo el producto deseado con un rendimiento del 52%. Por otra parte, cuando una base orgánica como la trietilamina fue utilizada, no se evidenció la formación del producto de interés. Tanto el D-nordeprenil como los demás compuestos obtenidos han sido caracterizados utilizando técnicas espectroscópicas como resonancia magnética nuclear: ¹H-RMN, ¹³C-RMN, experimentos de correlación protón-protón (COSY) y protón-carbono (HSQC y HMBC); espectroscopia de infrarrojo y espectrometría de masas.



Esquema 4.3 Síntesis orgánica de D-nordeprenil y D-deprenil.

Entrada	Base	Disolvente(s)	Rendimiento (%)
a	K ₂ CO ₃	MeCN:H ₂ O (9:1)	52
b	K ₂ CO ₃	DMF	71
c	Et ₃ N	DMF	No hubo reacción

Tabla 4.1 Condiciones para la síntesis de D-nordeprenil.

La asignación de los protones de D-nordeprenil se realizó mediante experimentos de ^1H -RMN y COSY (correlación bidimensional H-H vecinos). El espectro de ^1H -RMN confirma la presencia de la señal característica del protón alquino del grupo propargilo (2.2 ppm, Figura 4.1). En el espectro ^1H -RMN se observó además que tanto las señales de los protones H-aa' como de H-dd' presentan un patrón característico de protones diastereotópicos (cada señal con una multiplicidad de doble doblete). Los entornos de estos hidrógenos en un grupo metilénico ($-\text{CH}_2-$) ni son idénticos ni son imágenes especulares entre sí, por lo que no son equivalentes y presentan una señal de ^1H -RMN para cada uno de ellos.³⁶

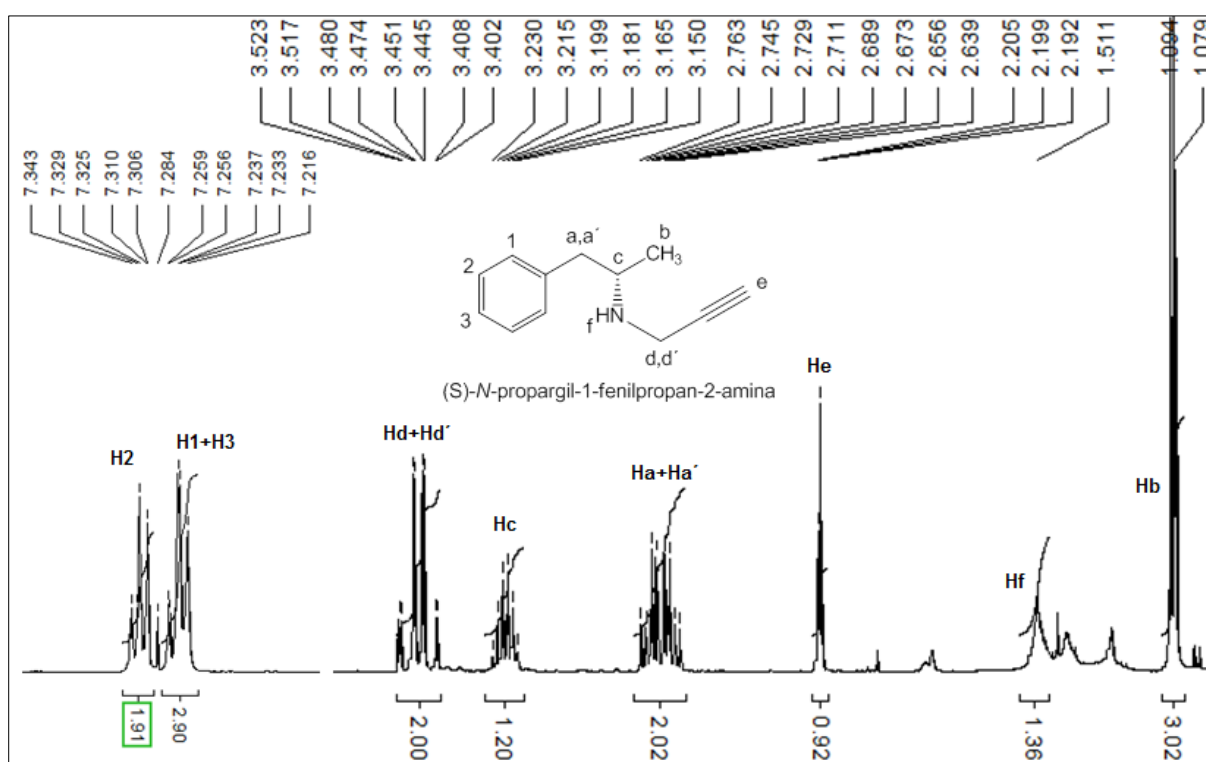


Figura 4.1. Regiones ampliadas del espectro de ^1H -RMN en CDCl_3 obtenido para D-nordeprenil.

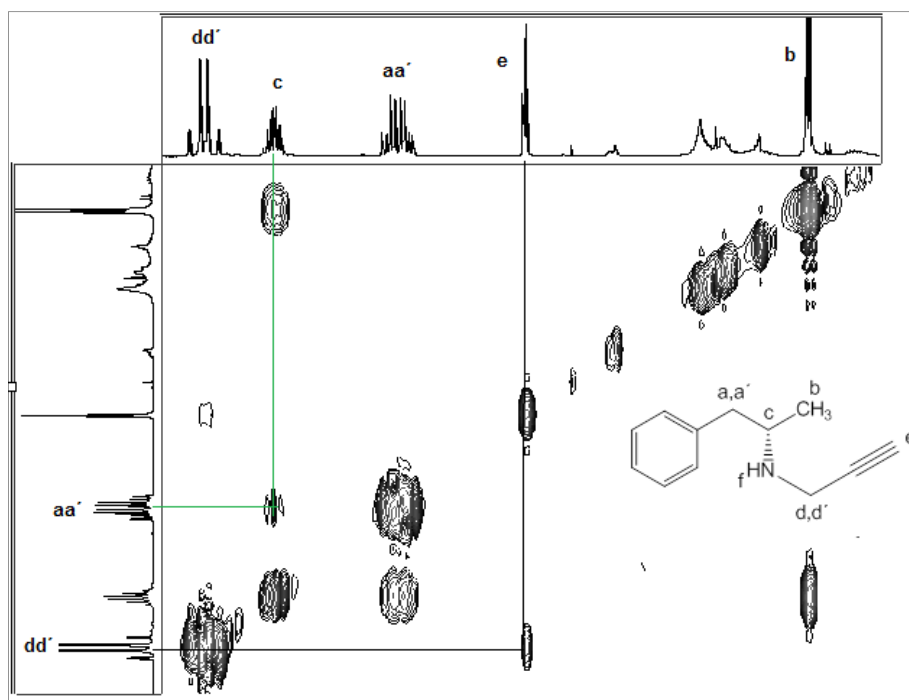


Figura 4.2. Región ampliada del espectro COSY en CDCl_3 obtenido para D-nordeprenil.

La asignación de las señales del protón metilénicos H-aa' en 2.76 ppm y H-dd' en 3.52 ppm, se confirmó mediante experimento COSY, ya que presentan correlación únicamente con el protón H-c y H-e, respectivamente (Figura 4.2). El protón del centro estereogénico Hc con un desplazamiento a 3.2 ppm, fue confirmado por correlación con los protones metílicos Hb (doblete a 1.09 ppm) y con los metilénicos H-aa' (Figura 4.2).

En el espectro HSQC (correlación bidimensional de $^1\text{H-C}_1$) mostrado en la Figura 4.3, se observa que efectivamente las señales de H-aa' se correlacionan con el carbono C-a, mientras que las señales de H-dd' se correlacionan con el carbono C-d. Otra señal relevante que se puede observar del HSQC para el D-nordeprenil es la señal a 77.1 ppm (eje y, Figura 4.3), la cual presenta acoplamiento con el protón He de la molécula. Esta señal si se compara con valores de Tablas para señales características grupo alquino, resulta ser la señal de carbono terminal del grupo alquino, confirmado así la presencia del agrupamiento propargilo en la molécula.

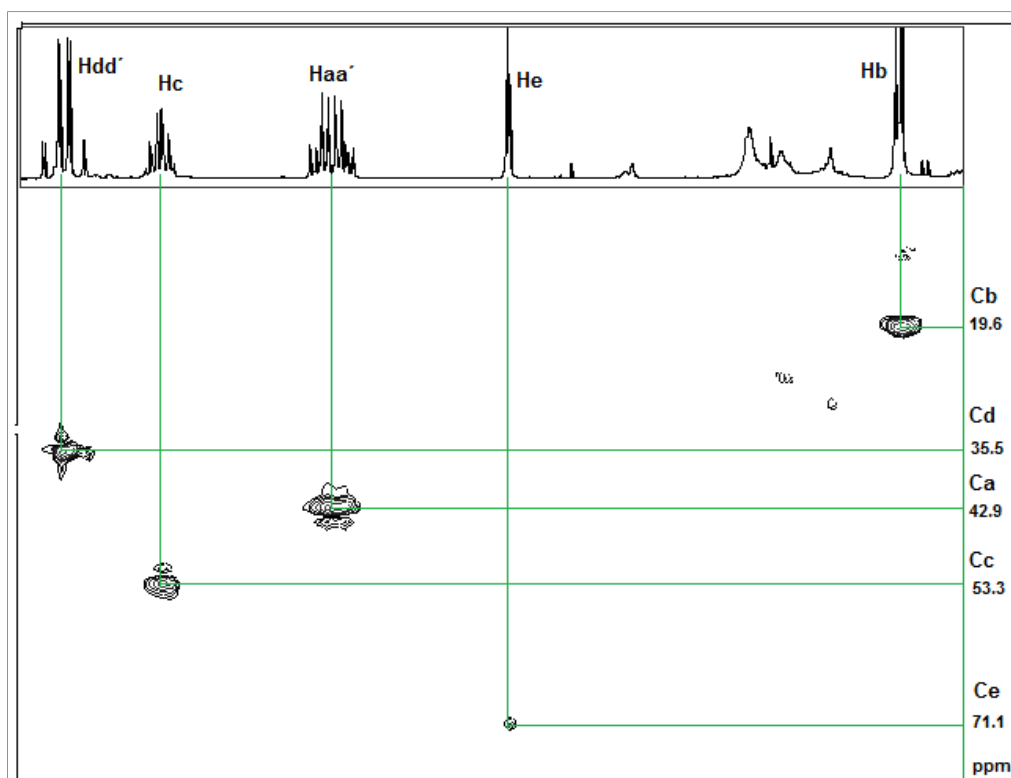


Figura 4.3. Región ampliada del espectro HSQC en CDCl_3 obtenido para D-nordeprenil.

4.2.2 Síntesis de D-deprenil

Con el fin de obtener un estándar de D-deprenil para ser posteriormente utilizado en los estudios por HPLC de las radiomarcaciones, se realizó la metilación de su precursor (D-nordeprenil) con yoduro de metilo y bicarbonato de potasio en DMF como disolvente a temperatura ambiente (Esquema 4.3). Luego de una purificación por cromatografía en columna se obtuvo el producto deseado con un rendimiento de 66%.

4.3 Radiosíntesis de $[^{11}\text{C}]$ D-deprenil

A continuación se describen los resultados obtenidos en la marcación con ^{11}C del precursor D-nordeprenil para la obtención de $[^{11}\text{C}]$ D-deprenil. Para ello se utilizó la metodología de ^{11}C -metilación nucleofílica, llevada a cabo en los módulos automatizados de síntesis TRACERlab™ FX C Pro (General Electric) disponibles en las instalaciones del CUDIM.

El proceso radiosintético comienza con la producción de $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ en el ciclotrón (GE PETtrace® 16,5 MeV) mediante la reacción nuclear $^{14}\text{N} (p, \alpha)^{11}\text{C}$. Seguidamente, el $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ se entrega al módulo automatizado, donde es atrapado para la purificación y posterior reducción a $[^{11}\text{C}]\text{CH}_4$ (Figura 4.4). Sobre este último intermedio se lleva a cabo una reacción de yodación para producir $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$, el cual puede posteriormente ser convertido en $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$. Los agentes de metilación $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ o $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ son finalmente burbujeados en la solución de precursor orgánico contenido en el reactor.

Además se estudió la influencia de utilizar el precursor para la marcación bajo la forma de base libre, el cuál fue sintetizado como se describió en la sección 4.2.1, en comparación con el uso del precursor bajo forma de clorhidrato, el cuál fue sintetizado previamente por otro investigador en el marco de la línea de investigación dentro de la cual se encuentra el presente trabajo.

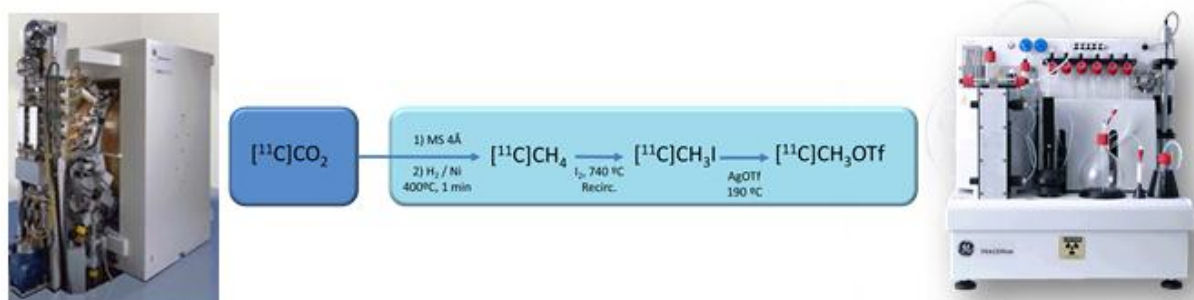
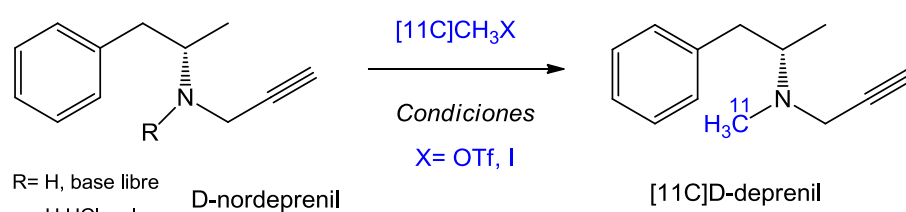


Figura 4.4. Ciclotrón GE PETtrace® (izquierda), proceso radiosintético en la producción de $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ y $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ (centro), módulo automatizado de radiosíntesis GE TRACERlab™ FX C Pro (derecha).

Los experimentos se realizaron con el propósito de llevar a cabo un aprendizaje y estudio inicial de las condiciones óptimas de reacción en la marcación de D-nordeprenil, utilizando $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ o $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$ como agentes metilantes (Tabla 4.2). Para ello se utilizó inicialmente un protocolo de CUDIM, para la radiosíntesis completa del radiofármaco $[^{11}\text{C}]\text{L}$ -deuterodeprenil. El producto crudo del reactor se separó de las impurezas utilizando HPLC semipreparativo. Seguidamente la fracción que contiene $[^{11}\text{C}]\text{D}$ -deprenil se recoge sobre agua y se purifica a través de cartucho de fase reversa (Sep-Pak® C18), se eluye con EtOH y se formula en USP salina. En la Tabla 4.2 se presentan los resultados de las diferentes marcaciones llevadas a cabo. Todos los experimentos fueron realizados a 80°C durante 1 minuto, utilizando butanona como disolvente, a excepción de la entrada h donde se utilizó DMF. En las entradas a y b se presentan los resultados de las marcaciones del precursor bajo

forma de clorhidrato con $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$ como agente metilante. Cuando se utiliza el precursor bajo ésta forma química, es necesario el uso de una base para realizar la desprotonación de la misma, y así obtener al D-nordeprenil como base nucleofílica. Según el protocolo de marcación utilizado inicialmente, esto implica la adición de una pequeña cantidad de agua en el medio de reacción, por el uso de NaOH acuosa como base. Esto presenta ciertas consecuencias sobre el rendimiento que serán descritas más adelante. Los resultados obtenidos en esta condición de trabajo (experimentos por duplicado), muestran la obtención del radiotrazador de interés con alta pureza radioquímica y moderado rendimiento radioquímico (como % de decaimiento). Este último parámetro podría ser explicado debido a la formación de $[^{11}\text{C}]\text{MeOH}$, como producto de hidrólisis, el cual es perdido en el módulo durante el proceso de calentamiento (Figura 4.4. B).



Entrada	Agente metilante (1 min, 80°C)	Precursor	base	Act. Mel(mCi)	Act. Reactor EOL(mCi)	Rendimiento radioquímico (%) (dc)	Pureza radioquímica (%) (dc)
a	MeOTf	D-norD.HCl	NaOH 3M	348,4	120	43,7	96,5
b	MeOTf	D-norD.HCl	NaOH 3M	424,8	160	49,5	97,5
c	MeOTf	D-norD	-	336,9	190	76,6	96,9
d	MeOTf	D-norD	-	378,7	200	71,8	99,0
e	Mel	D-norD.HCl	NaOH 3M	353,1	147	51,1	7,90
f	Mel	D-norD.HCl	NaOH 3M	447,1	190	55,8	15,3
g	Mel	D-norD	-	368,4	161	57,4	24,8
h	MeOTf	D-norD.HCl	Cs_2CO_3 (*)	365,5	115	41,3	12,9

Tabla 4.2. Condiciones de marcación sobre D-nordeprenil mediante ^{11}C -metilación nucleofílica.

En las entradas c y d (Tabla 4.2) se muestran los resultados de las marcaciones utilizando $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$ como agente metilante, pero a diferencia de las anteriores se

utilizó D-nordeprenil bajo la forma de base libre. En estas condiciones se puede observar una excelente pureza radioquímica y un aumento en el rendimiento radioquímico respecto a la utilización del precursor como clorhidrato (Figuras 4.4 A y 4.5 A). Esto podría ser explicado por la no utilización de la base acuosa, evitando así la reacción de hidrólisis sobre el agente metilante. En las entradas e y f (Tabla 4.2) se muestran los resultados de marcar el precursor bajo la forma de clorhidrato con $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ como agente metilante. En estas condiciones se observó un gran descenso en la pureza radioquímica de $[^{11}\text{C}]\text{D-deprenil}$ a causa de la formación de productos secundarios, la mayoría de los cuales no fueron caracterizados (Figura 4.5 B). En la entrada g (Tabla 4.2) se muestran los resultados de marcación con $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ sobre el precursor bajo su forma de base libre. Esta condición de trabajo proporciona una mejora en la pureza radioquímica, pero siendo la misma menor a la obtenida utilizando $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$ como agente metilante.

Esta observación se debe a la aparición de una señal en el cromatograma con tiempo de retención de 16.76 min que se corresponde con $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ sin reaccionar. Lo cual fue corroborado cromatografiando $[^{12}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ en las mismas condiciones, obteniéndose el mismo tiempo de retención. Esto indica además, que en las condiciones de marcación ensayadas $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ es menos reactivo frente a $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$.

Por último se resume los resultados obtenidos en la marcación de D-nordeprenil bajo la forma clorhidrato, utilizando $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$ como agente metilante y Cs_2CO_3 como base inorgánica anhidra en DMF como disolvente (Tabla 4.2, entrada h). Bajo estas condiciones no se logró una mejora ni en el rendimiento radioquímico, ni en la pureza radioquímica. En resumen, las mejores condiciones encontradas para el marcado con ^{11}C por el método de metilación nucleofílica son las que utilizan $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$ como agente metilante y D-nordeprenil como base libre. En este sentido, durante el marcado la actividad en el reactor se mantiene relativamente constante (teniendo en cuenta el decaimiento), con respecto a la disminución que se observa para el marcado del precursor bajo forma de clorhidrato (Figura 4.4). El decaimiento en la actividad mencionado anteriormente puede deberse a que como se utilizó una base acuosa ($\text{NaOH}_{(\text{ac})}$), parte del agua puede pasar a la capa orgánica (butanona) la cual es introducida en el reactor. De ésta manera se podría dar la formación de $[^{11}\text{C}]\text{MeOH}$ debido al ataque nucleofílico del agua sobre el agente metilante en cuestión. Como la temperatura a la cual se da la marcación (80°C) es superior al

punto de ebullición del MeOH (64°C), el mismo puede escapar del reactor, ya que éste no es 100% hermético, pudiéndose explicar de ésta manera la disminución en la actividad observada durante la marcación. Si bien la cantidad de NaOH (3M) utilizada es de apenas 3 µL, lo que representaría el agregado de una muy pequeña cantidad de agua en el medio de reacción, cabe recordar que el agente metilante está en cantidades del orden de nanomoles (10^{-9}). Esto representa un gran defecto estequiométrico (miles de veces menos) respecto al precursor sin marcar que se encuentra en el orden de micromoles (10^{-6}). Por tanto, la presencia de una ínfima cantidad de agua, afectará a la reacción en gran medida en comparación con las reacciones químicas convencionales, dónde las diferencias estequiométricas están en el orden de las decenas como máximo.

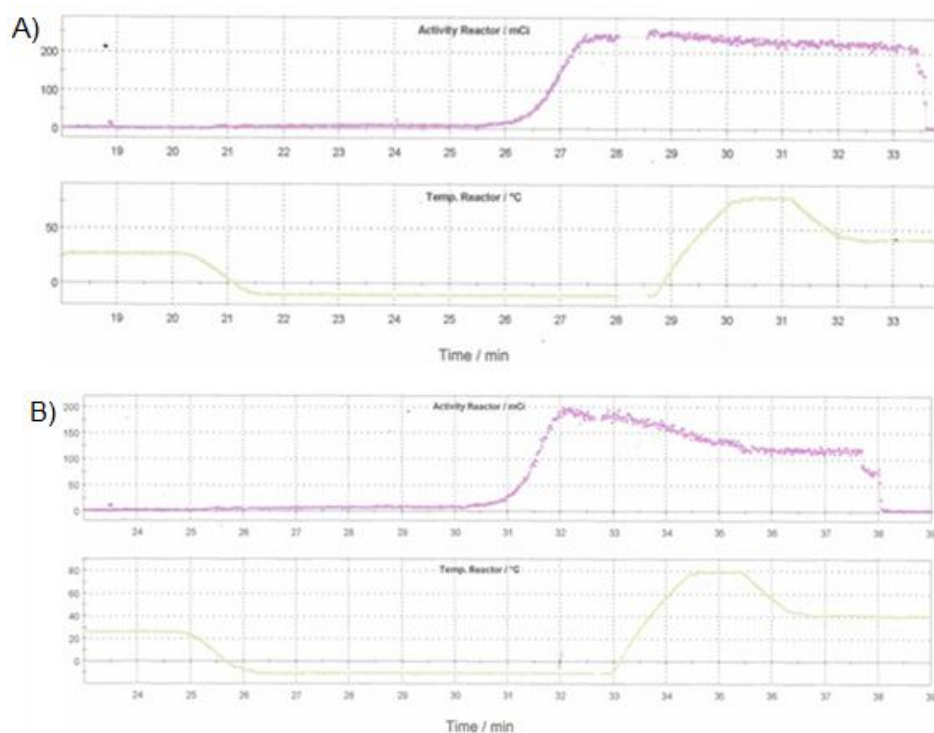


Figura 4.4. Diferentes parámetros medidos durante la radiosíntesis. **A)** Entrada d, Tabla 4.2 **B)** Entrada b, Tabla 4.2.

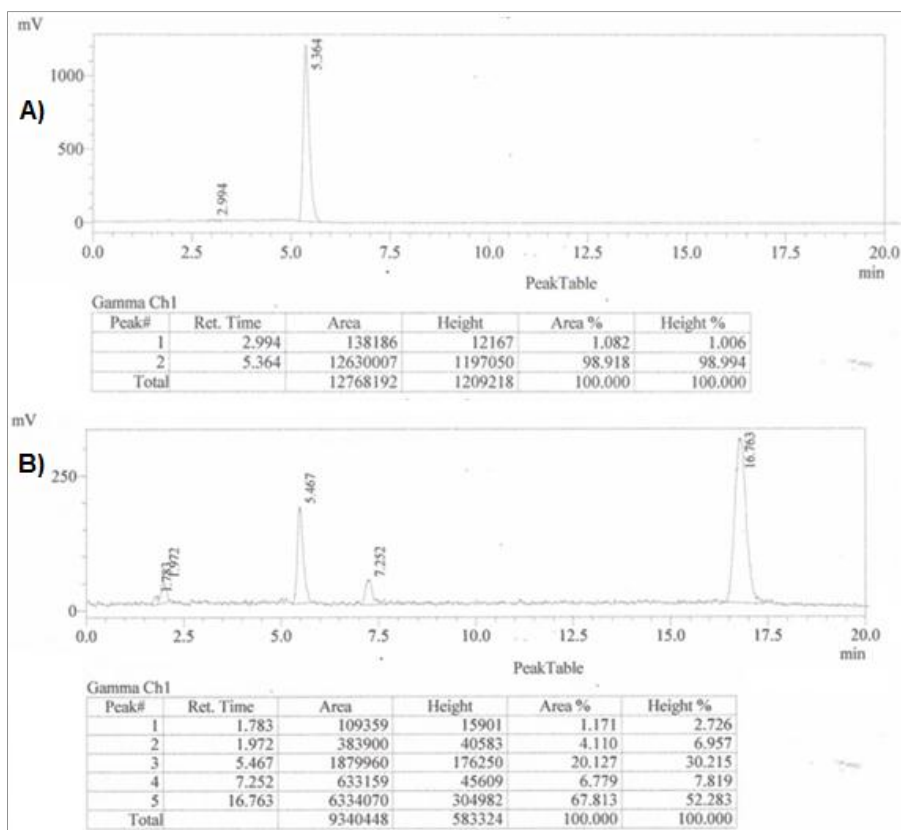
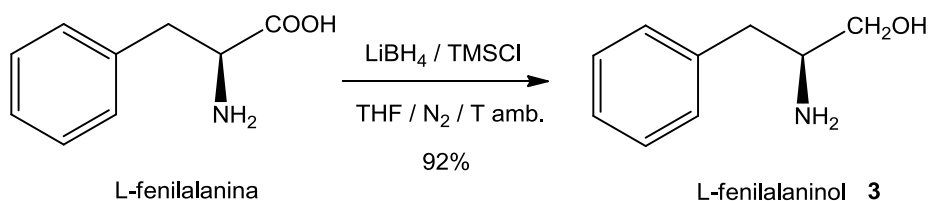


Figura 4.5. Pureza radioquímica determinada por HPLC con detector gamma. **A)** Entrada d, Tabla 4.2
B) Entrada f, Tabla 4.2.

4.4 Síntesis de precursores dirigidos a la obtención de L-deuterodeprenil

4.4.1 Síntesis de L-fenilalaninol

Como primer paso de la ruta sintética planteada en el Esquema 4.2 para la obtención del precursor del L-deuterodeprenil, se realizó una reducción del grupo funcional ácido carboxílico de la L-fenilalanina (Esquema 4.4). Para ello se utilizó el agente reductor borohidruro de litio (LiBH_4), cloruro de trimetilsilano (TMSCl) como agente activante y THF anhidro como disolvente. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, bajo atmósfera de nitrógeno. De ésta manera se obtuvo el producto **3** con excelente rendimiento. A continuación se presentan los resultados obtenidos de los experimentos de RMN (^1H - y COSY), mediante los cuales se confirmó la estructura propuesta del producto obtenido (Figuras 4.6 y 4.7).



Esquema 4.4 Síntesis de L-fenilalaninol.

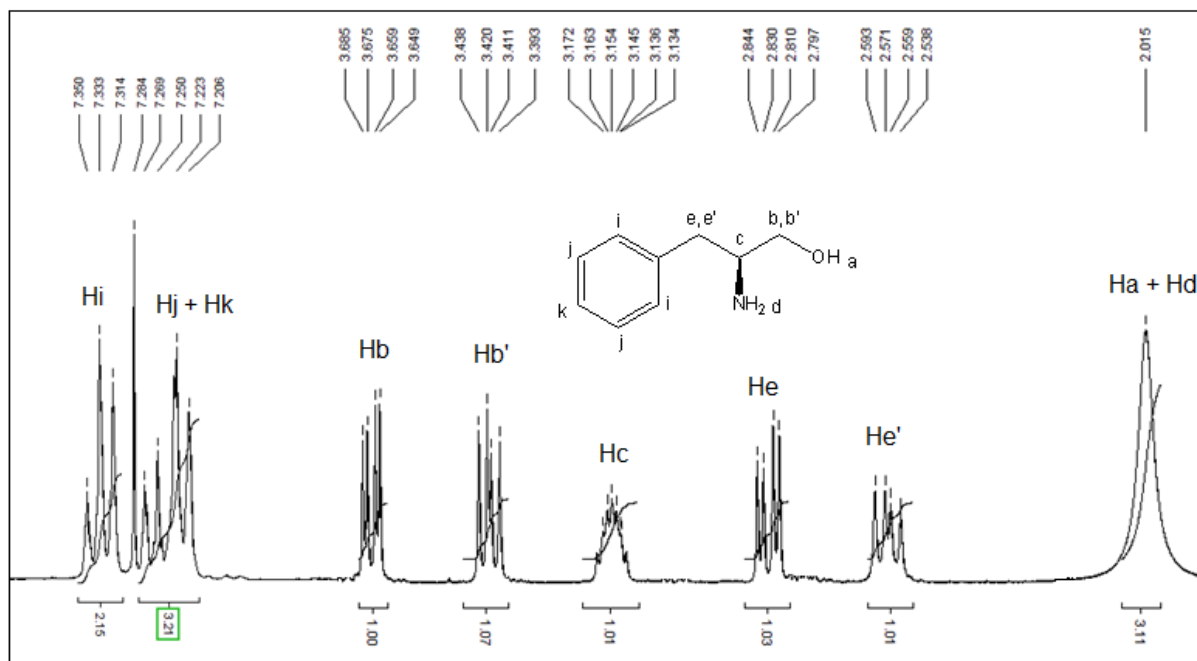


Figura 4.6 Espectro de $^1\text{H-RMN}$ obtenido para L-fenilalaninol en CDCl_3 .

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ se observan claramente las señales correspondientes a los distintos tipos de protones presentes en la molécula (Figura 4.6). La correcta asignación de las señales de protones fue realizada mediante la ayuda del experimento de correlación protón-protón (COSY). En el mismo (Figura 4.7) se puede observar claramente la correlación del protón unido al carbono quiral (Hc) con otros cuatro tipo de protones (Hb, Hb', He y He') que se encuentran en su entorno inmediato. Los protones Hb y Hb', He y He' son dos pares de núcleos que presentan iguales conectividades (topología) en la molécula, pero al no ser intercambiables mediante operaciones de simetría resultan no equivalentes, a éste tipo de protones se los denomina diasterotópicos. Los mismos tienen la particularidad de que a pesar de que son protones metilénicos ($-\text{CH}_2-$), presentan una señal de $^1\text{H-RMN}$ diferente para cada uno de ellos. Este efecto es debido al estar unidos a un átomo de carbono que se encuentra unido a un carbono quiral, así sus entornos químicos se ven

afectados en promedio de forma diferente en consecuencia de la libre rotación del enlace σ entre ambos carbonos. Además se puede observar la correlación entre los protones Hb y Hb' y la correlación entre He y He', confirmando su naturaleza diasterotópica.³⁶

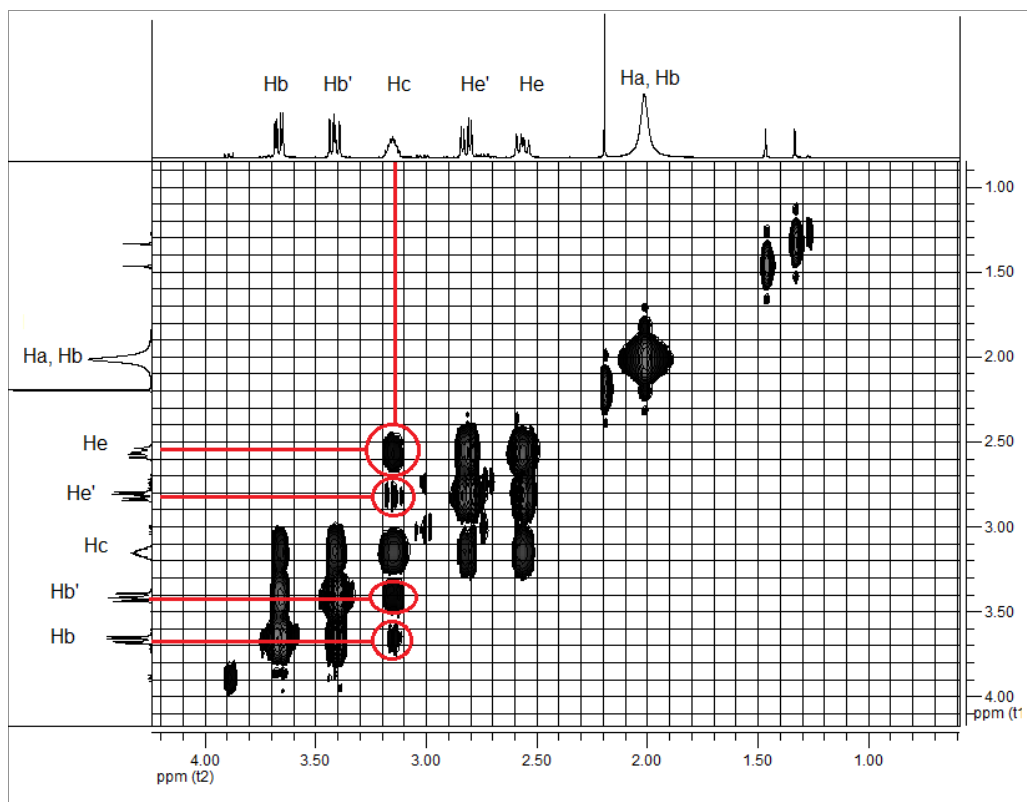
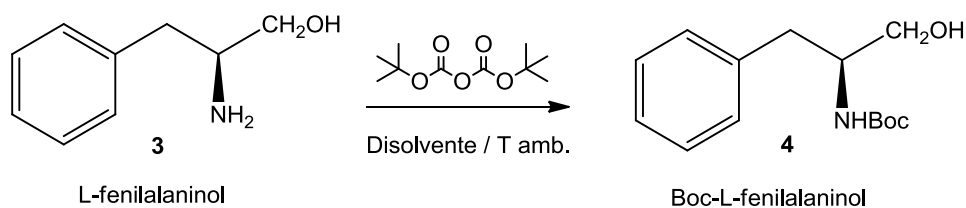


Figura 4.7 Región ampliada del espectro COSY en CDCl_3 obtenido para L-fenilalaninol.

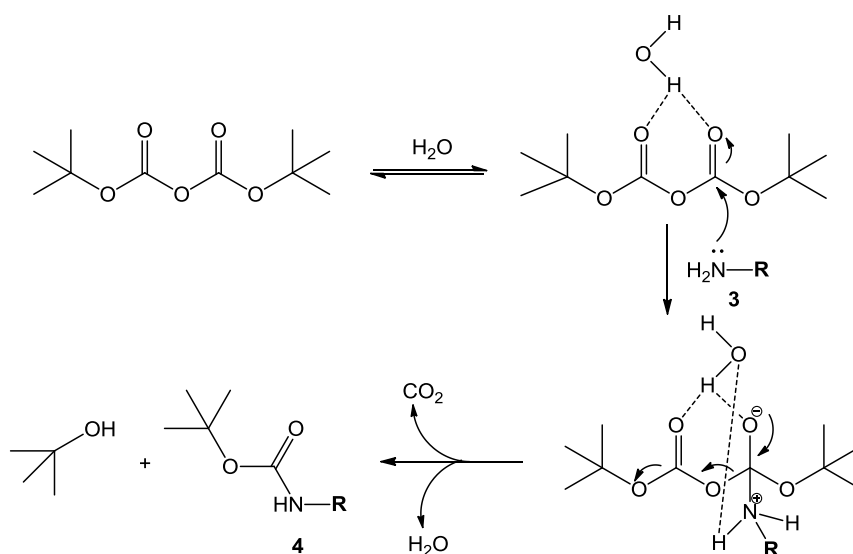
4.4.2 Síntesis de Boc-L-fenilalaninol

Debido a que los grupos amino libres presentan una reactividad considerable para dar varios tipos de reacciones como sustituciones, polimerizaciones y oxidaciones, entre otras, se procedió a proteger el grupo funcional mencionado del compuesto **3** con di-*ter*-butildicarbonato (Boc_2O). Para ello se utilizó una técnica alternativa a la utilizada en el seguimiento de la ruta sintética propuesta, publicada previamente.³⁵ La modificación propuesta presenta las características de ser novedosa y amigable con el medio ambiente, ya que la misma se llevaría a cabo muy rápidamente a temperatura ambiente y con agua como disolvente. En particular, el agua interviene en el mecanismo de la reacción aumentando la electrofilia del grupo carbonilo del Boc_2O (Esquema 4.6). De esta forma resulta más susceptible al ataque nucleofílico por parte del grupo amino del compuesto **3**, aumentando de esta manera la

velocidad de la reacción.³⁷ Finalmente el producto **4** precipita y es aislado con facilidad por filtración, lo cual representa una gran ventaja debido a la simpleza y rapidez del procesamiento de la reacción. Por medio de éste procedimiento se obtuvo el producto **4** con un rendimiento de 70%.



Esquema 4.5 Síntesis de Boc-L-fenilalaninol.



Esquema 4.6 Mecanismo de reacción. Se muestra de forma genérica el rol dual de activación del agua durante la reacción de protección de aminas con Boc₂O. Adaptado de referencia 37.

Por otra parte, se ensayó la misma reacción, con la diferencia de que se utilizó cloroformo como disolvente, según la técnica mediante la cual se planteó la ruta sintética principal.³⁵ Se determinó que ésta técnica presenta grandes desventajas respecto a la técnica que utiliza agua como disolvente, entre ellas que necesita de mucho más tiempo para reaccionar (12 horas vs aproximadamente 15 minutos en agua).³⁷ Además posee un procesamiento mucho más complejo que incluye lavados con una solución ácida, seguida de una alcalina, y finalmente una solución salina, mediante lo cual se obtiene un producto que debe ser posteriormente purificado por recristalización. Por último cabe destacar que el rendimiento obtenido (39%) fue muy inferior respecto a la técnica en condiciones amigables con el medio ambiente. En la Figura 4.8 se muestra el espectro de masa del Boc-L-fenilalaninol **4**, obtenido para la caracterización de dicho compuesto. En el espectro se observa tanto la presencia

del ion molecular ($M^+ + H = 252$ Da) como de fragmentos característicos con la estructura propuesta. Cabe destacar entre los fragmentos obtenidos por la pérdida de los grupos Boc (100Da) y *ter*-buteno (56Da) y la formación del radical bencilo (91Da). Este patrón de fragmentación es típico de una molécula que posee un grupo protector Boc y un sustituyente bencilo en su estructura.

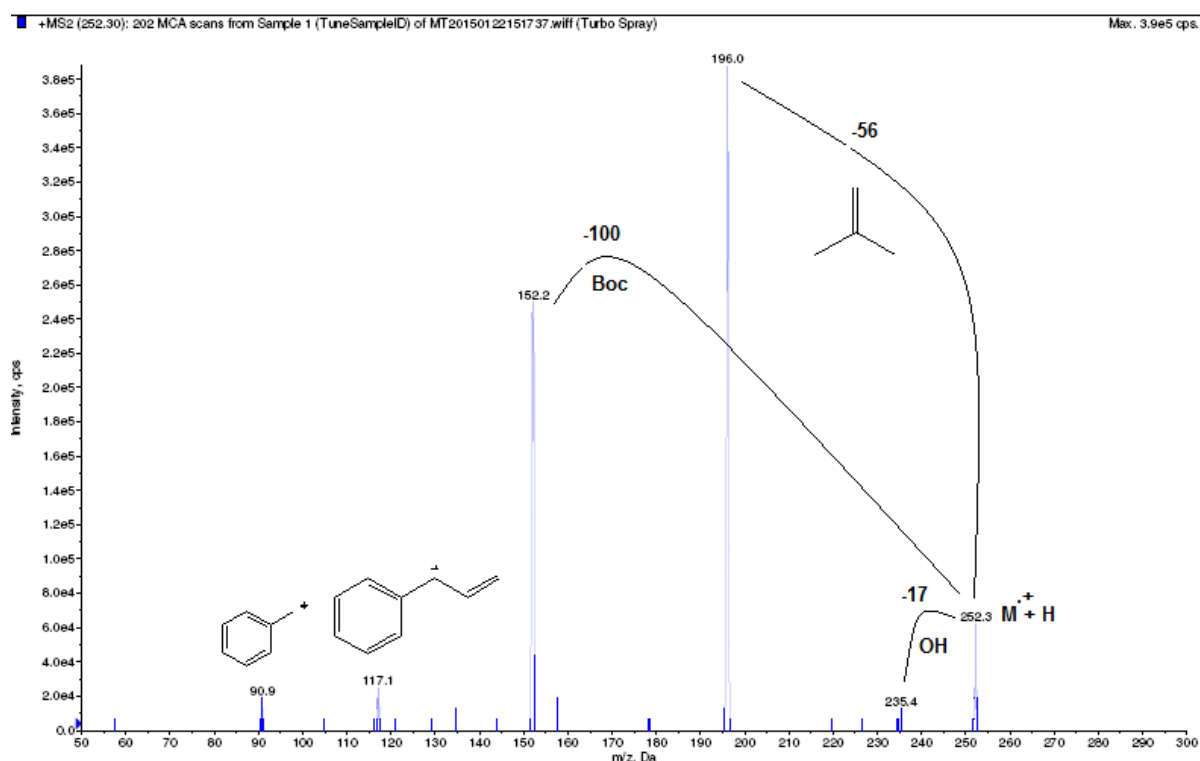


Figura 4.8 Espectro masa-masa del derivado Boc-L-fenilalaninol **4**.

En la Figura 4.9 se muestra el espectro infrarrojo obtenido para el compuesto **4**. En el mismo, se puede observar una banda ancha de fuerte intensidad en 3360 cm^{-1} que se corresponde con la frecuencia de estiramiento del enlace oxígeno-hidrógeno del grupo funcional alcohol. Si se compara con el espectro de IR del reactivo de partida para ésta reacción (compuesto **3**), se pueden observar 2 bandas de fuerte intensidad en 3360 y 3295 cm^{-1} y una banda de intensidad también fuerte en 1580 cm^{-1} (Figura 4.10). Las mismas son características de grupos amino libres ($-\text{NH}_2$), correspondiéndose las dos primeras con la frecuencia de estiramiento del enlace nitrógeno-hidrógeno (N-H) y la última con la frecuencia de deformación en el plano de dicho enlace. Lo que indica que el grupo funcional amino no se encuentra libre en el compuesto **4** debido a la desaparición de éstas bandas en el espectro de IR. Esto concuerda con la protección del grupo funcional amino con Boc, dónde éste se

transforma en un grupo funcional carbamato. Además, la presencia del grupo funcional carbamato en **4** se puede confirmar debido a la presencia de una banda de fuerte intensidad en 1685 cm^{-1} . La misma se corresponde con la frecuencia de estiramiento del doble enlace carbono-oxígeno (C=O), presente en el grupo funcional carbamato. Este último grupo funcional no se encuentra presente en **3**, lo que concuerda con la ausencia de la banda mencionada en su espectro (Figuras 4.9 y 4.10).

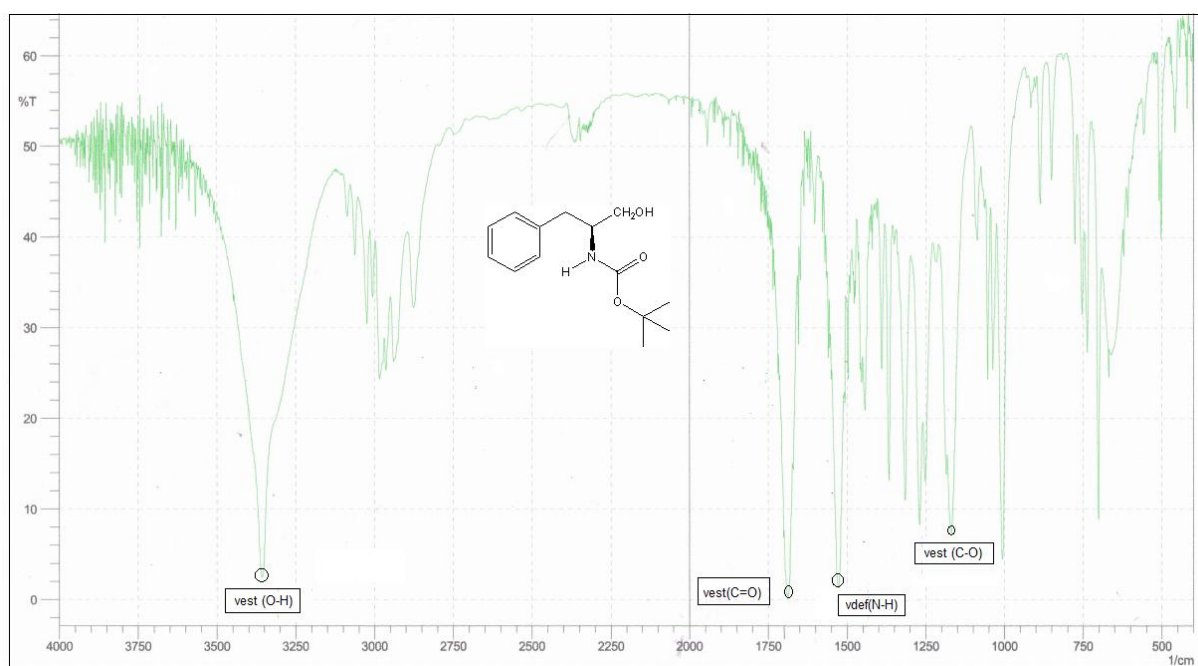


Figura 4.9 Espectro infrarrojo correspondiente al compuesto **4**.

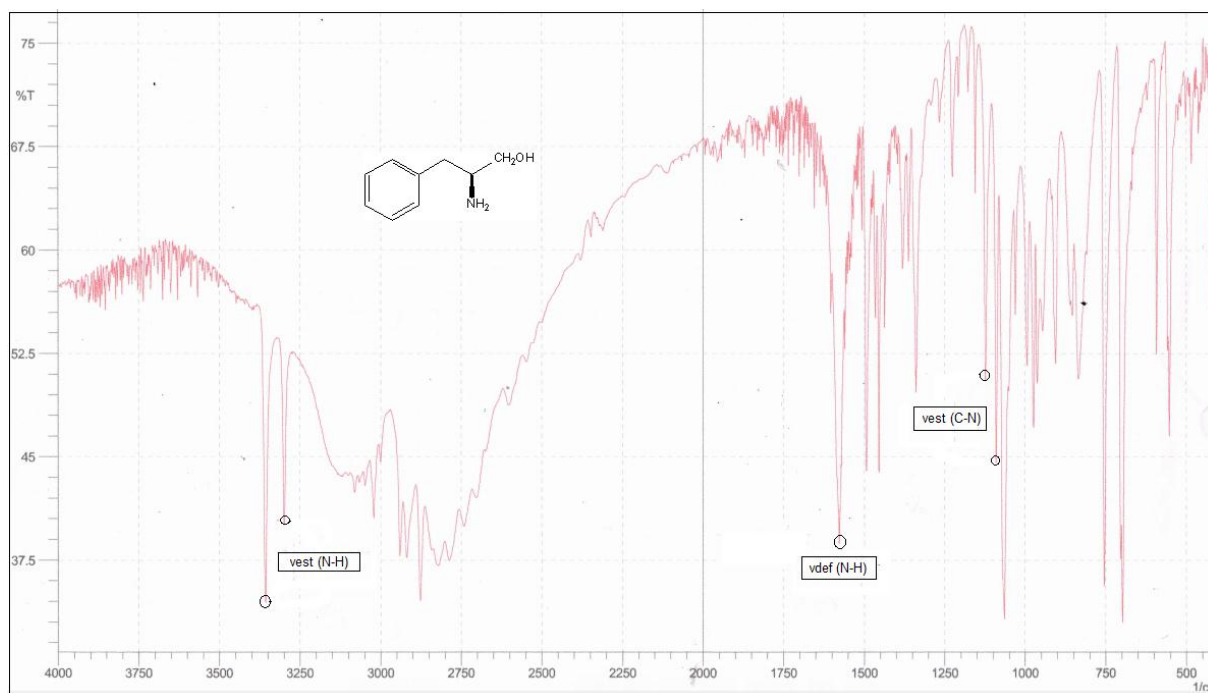


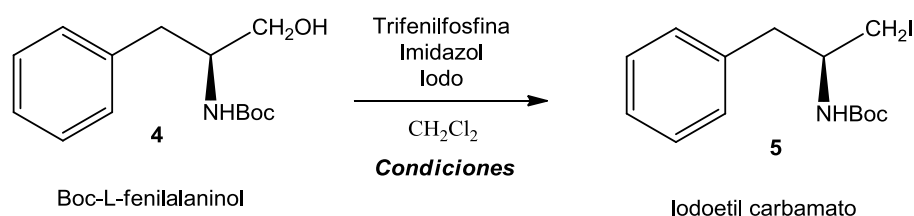
Figura 4.10 Espectro infrarrojo correspondiente al compuesto **3**.

4.4.3 Síntesis de Iodoetil carbamato **5**

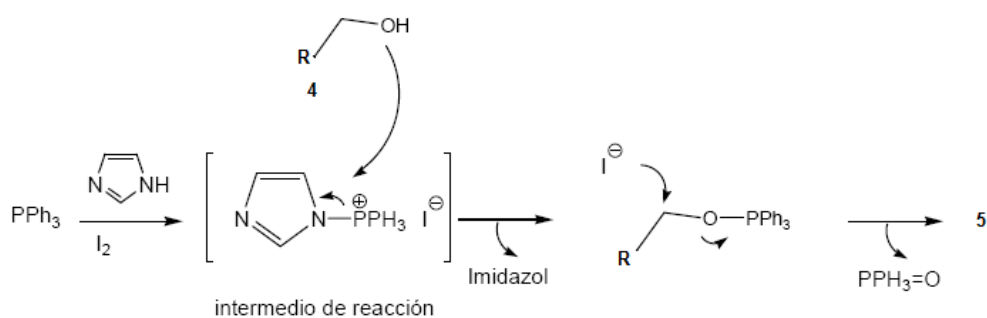
Con el fin de obtener el producto **5** (Esquema 4.7) se ensayaron diferentes condiciones de yodación las que se resumen en la Tabla 4.3. La sustitución del grupo alcohol por iodo se realizó mediante tanto el uso de trifenilfosfina soportada (resina, soportada en matriz polimérica hidrofóbica) como en solución, en presencia de imidazol e iodo molecular. Esta reacción consistió en el agregado inicial del iodo molecular a una solución de trifenilfosfina (soportada en matriz polimérica o en solución) e imidazol en diclorometano, de manera de formar un complejo intermediario más reactivo para la reacción con el alcohol **4** (Esquema 4.7). De esta manera, la formación inicial del complejo *trifenilfosfina-imidazol-iodo* representado en el Esquema 4.8, permite la reacción del alcohol con la trifenilfosfina dejando ioduro libre para la posterior yodación facilitada por la alta energía de formación del óxido de trifenilfosfina.

Siguiendo la técnica utilizada previamente descrita, según la ruta sintética principal, se ensayaron dos condiciones de reacción, entradas a y b.³⁵ La diferencia entre ellas radica en que para b se utilizaron el doble de equivalentes de reactivos que para a. Para éstos ensayos se utilizó una resina de trifenilfosfina, lo cual representa una

gran ventaja a la hora del procesado de la reacción, ya que el producto de la reacción se desprende de la resina y la misma puede ser filtrada. Esto implica que la trifenilfosfina no quede en solución, facilitando de ésta forma el procesado de la reacción, y la posterior purificación del producto de interés a través de una corta columna cromatográfica.



Esquema 4.7 Síntesis de Iodoetil carbamato **5**.



Esquema 4.8 Mecanismo propuesto para la formación del Iodoetil carbamato **5**.

Por otra parte, la resina posee las desventajas de tener un elevado costo, y que ésta debe ser utilizada en exceso (2.2 equivalentes) respecto al reactivo de partida **4**. Además, el uso de resina implica tiempos de reacción más largos y se hace necesario el calentamiento a reflujo del disolvente, lo que se traduce en un gasto de energía. Estos motivos nos llevaron a buscar una alternativa a la hora de realizar un escalado de la reacción. Para ello se ensayaron tres condiciones de reacción utilizando una trifenilfosfina comercial, la cual posee un costo mucho menor al de la resina. La primera de éstas (entrada c Tabla 4.3), implica el ensayo de las mismas condiciones que la técnica utilizada para seguir la ruta sintética principal, a diferencia de que se utiliza trifenilfosfina comercial en disolución como reactivo.³⁵ Esta condición presentó la ventaja de tener un tiempo de reacción menor (seguimiento por TLC del consumo del reactivo **4**) y en la cual se observó que el proceso de purificación del producto de interés, no varía en su complejidad.

Ante estos resultados, se probó bajo condiciones similares una nueva reacción, en la cual cuando se llevó a cabo la reacción a T. amb., y se obtuvo el producto de interés con un moderado rendimiento. Dado este resultado, por último como se muestra en la entrada e (Tabla 4.3), se realizó una reacción con trifenilfosfina libre, a temperatura ambiente, pero disminuyendo los equivalentes de tal forma que solo representen una estequiometría de casi uno a uno con el reactivo de partida. Bajo estas condiciones, se observó que la reacción se completa muy rápidamente y se obtiene el producto de interés con un buen rendimiento. Por todo lo anteriormente mencionado, se puede determinar que las mejores condiciones de reacción, teniendo en cuenta el costo, tiempo y rendimiento, son las que se presentan en la entrada e de la Tabla 4.3.

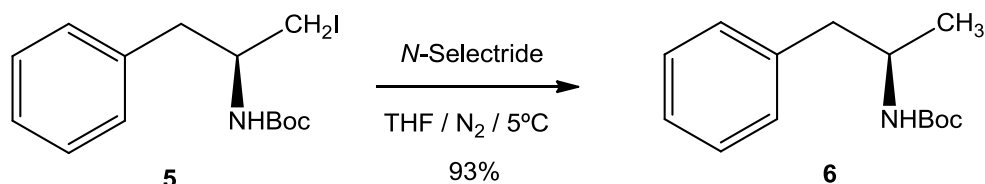
Entrada	PPh ₃ (equiv.)	I ₂ (equiv.)	Imidazol (equiv.)	Temperatura	Tiempo (min)	Rendimiento (%)
a	2.2 (Resina)	2.2	2.4	Reflujo	90	92
b	4.4 (Resina)	4.4	4.8	Reflujo	180	26
c	2.2 (Comercial)*	2.2	2.4	Reflujo	30	81
d	2.2 (Comercial)*	2.2	2.4	Ambiente	30	51
e	1.1 (Comercial)*	1.1	1.2	Ambiente	15	79

Tabla 4.3 condiciones de reacción ensayadas. (*) Indica que la reacción se llevó a cabo bajo atmósfera de nitrógeno. Los equivalentes se expresan respecto a 1 equivalente de reactivo (**4**) para todas las entradas.

4.4.4 Síntesis de Boc-L-anfetamina **6**

Con el fin de obtener el producto **6**, se realizó una reducción del derivado iodado **5** utilizando *N*-selectride como agente reductor (Esquema 4.9). Bajo las condiciones de reacción ensayadas se obtuvo el derivado **6** con un excelente rendimiento. Éste paso tiene la especial importancia de que se obtiene un grupo metilo (-CH₃), habiendo partido de un grupo funcional ácido carboxílico (-COOH) en la L-fenilalanina.

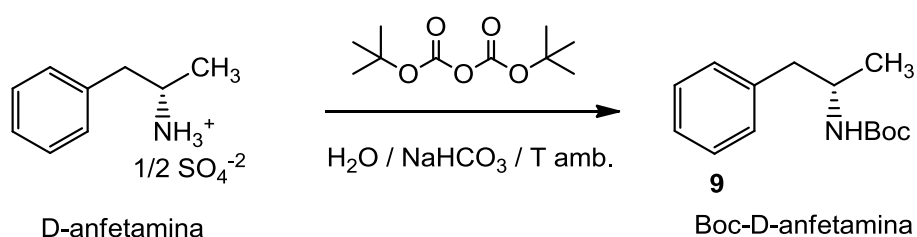
De ésta forma se obtiene un precursor de L-anfetamina de forma enantioméricamente pura, ya que se mantiene la configuración espacial del carbono quiral durante todo el proceso sintético.³⁵ Esto es de especial interés respecto a las propiedades biológicas del producto final de la ruta sintética, L-deuterodeprenil.



Esquema 4.9 Síntesis de Boc-L-anfetamina.

4.4.5 Síntesis de Boc-D-anfetamina **9**

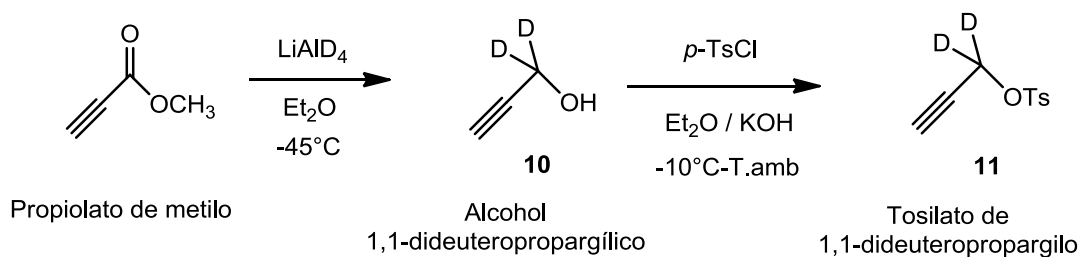
Con el objetivo de obtener un patrón para su comparación con el derivado **6** mediante técnicas espectroscópicas y analíticas, se procedió a realizar una protección del grupo amino de la D-anfetamina comercial con Boc₂O (Esquema 4.10). Ya que el producto de ésta reacción (**9**) es la imagen especular (enantiómero) del compuesto **6**, los mismos presentarán propiedades fisicoquímicas idénticas. De ésta forma, es posible su comparación tanto por TLC, HPLC y técnicas espectroscópicas. Para la obtención de **9**, se utilizó la técnica ya descrita para la protección del compuesto **3** (ver apartado 4.4.2), con la diferencia de que se agregó bicarbonato de sodio con el fin de desprotonar la D-anfetamina bajo la forma química de hemisulfato.³⁷ De ésta manera se obtuvo el derivado **9** con un rendimiento de 57%. Cabe destacar que los resultados espectroscópicos obtenidos fueron comparados con los que se obtuvieron para el compuesto **6**, encontrándose una perfecta coincidencia entre los mismos.



Esquema 4.10 Síntesis de Boc-D-anfetamina.

4.4.6 Síntesis de Tosilato de 1,1-dideuteropropargilo

Una vez obtenido el intermedio clave **6**, el siguiente paso involucraría la desprotección del grupo Boc en presencia de TFA y posterior *N*-alquilación con un derivado que incorpore la funcionalidad 1,1-dideuteropropargilo para obtener el L-nordeuterodeprenil **7** (Esquema 4.2). En este contexto, se planteó la obtención del Tosilato de 1,1-Dideuteropropargilo a partir de propiolato de metilo comercial, mediante dos pasos de reacción descritos previamente, según se muestra en el Esquema 4.11.^{38, 39} El primer paso de la ruta de síntesis, basado en la reducción del grupo funcional éster del propiolato de metilo, fue efectuado con éxito para obtenerse el correspondiente alcohol dideuterado **10**. Para llevar a cabo ésta reacción se utilizó LiAlD₄ como agente reductor, con el fin de introducir los dos átomos de deuterio en la molécula en la posición adecuada. El segundo paso consistió en la activación del grupo hidroxilo mediante una reacción de tosilación, con el fin de obtener el producto **11**. El mismo presenta las ventajas de poseer un buen grupo saliente (OTs) y grupo cromóforo, lo que permite un adecuado seguimiento en la reacción mediante cromatografía en capa fina. Luego de estos dos pasos de reacción se obtuvo el compuesto **11** con un rendimiento global del 29%.

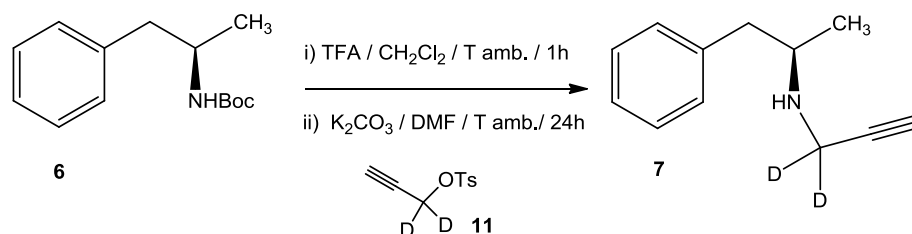


Esquema 4.11 Ruta para la síntesis de Tosilato de 1,1-Dideuteropropargilo.

4.4.7 Síntesis de L-nordeuterodeprenil

Finalmente, mediante dos pasos de reacción se realizó la síntesis del L-nordeuterodeprenil (**7**), precursor del radiotrazador [¹¹C]L-deuterodeprenil (Esquema 4.12). Para ello, primero se realizó la desprotección (eliminación del grupo Boc) del compuesto **6** con ácido trifluoroacético. De ésta manera se obtendría una sal en forma de trifluoroacetato de L-anfetamina. Seguidamente se procedió a realizar una

reacción de *N*-alquilación con tosilato de 1,1-dideuteropropargilo sobre de la amina obtenida en el paso anterior en presencia de K_2CO_3 como base. De esta forma se obtuvo uno de los productos de principal interés del presente trabajo, L-nordeuterodeprenil, con un rendimiento global de 20%. Experimentos de RMN (1H -, COSY, HSQC y HMBC), IR y EM confirmaron la estructura propuesta del producto obtenido. En el espectro de 1H -RMN mostrado en la Figura 4.11 se observan claramente las señales correspondientes a los distintos tipos de protones presentes en la molécula. En comparación con el espectro obtenido para el derivado D-nordeprenil (Figura 4.1) se evidencia claramente la ausencia de los protones metilénicos dd', en este caso por la presencia de los dos átomos de deuterio. El resto de las señales prácticamente presentan el mismo patrón de desdoblamiento, desplazamiento e integración.



Esquema 4.11 Síntesis de L-nordeuterodeprenil.

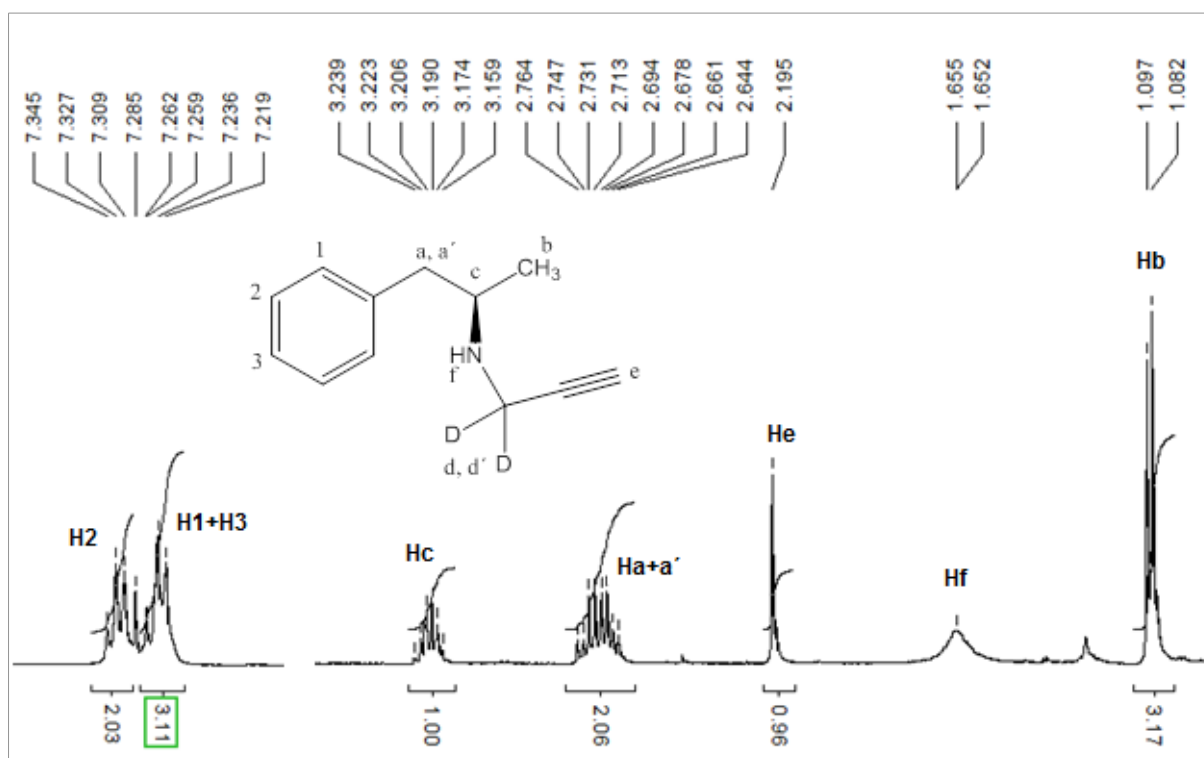
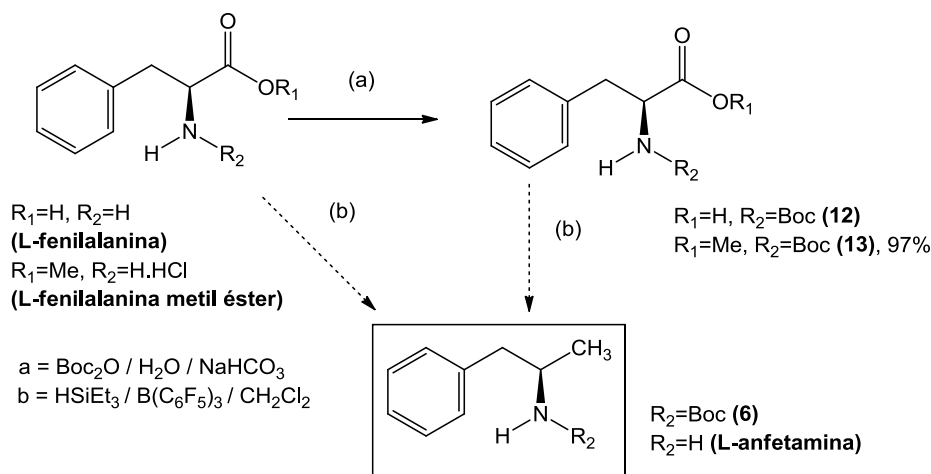


Figura 4.11 Regiones ampliadas del espectro de 1H -RMN obtenido para L-nordeuterodeprenil en $CDCl_3$.

4.5 Ruta sintética alternativa para la obtención de precursores dirigidos a la obtención de L-deuterodeprenil.

Con el fin de obtener el precursor del radiofármaco [^{11}C]L-deuterodeprenil mediante un proceso optimizado, se planteó una nueva ruta de síntesis (Esquema 4.12). La misma se basó en dos técnicas que describen recientemente la transformación directa de un grupo funcional ácido carboxílico (-COOH) en un grupo metilo (-CH₃), mediante una reacción de reducción.^{40,41} Las mismas utilizan HSiEt₃ como agente reductor, B(C₆F₅)₃ como catalizador y CH₂Cl₂ como disolvente de reacción. De ésta manera sería posible la disminución de un gran número de pasos de síntesis. Para llevar esto a cabo, como se muestra en Esquema 4.12, se planteó ensayar por un lado la reducción directa, a temperatura ambiente, del grupo ácido carboxílico en la L-fenilalanina. De ésta forma se obtendría L-anfetamina en una sola reacción, lo que implicaría una gran reducción en el número de pasos respecto al esquema general que se planteó inicialmente para la síntesis de L-nordeuterodeprenil (Esquema 4.2).



Esquema 4.12 Ruta sintética alternativa dirigida a la obtención de precursores para la obtención del radiotrazador [^{11}C]L-deuterodeprenil.

Inicialmente, siguiendo el procedimiento planteado en las técnicas mencionadas (condición b, Esquema 4.12) no se pudo obtener la L-anfetamina utilizando L-fenilalanina como reactivo de partida. Probablemente este resultado sea debido a la presencia del grupo funcional amino en el reactivo de partida, el cuál no se encontraba presente en los compuestos que reaccionaron de manera satisfactoria siguiendo los procedimientos de las técnicas consultadas.

En este contexto, se planteó una ruta sintética en 2 pasos, en la cual primero se ensayó la protección del grupo amino de los reactivos de partida L-fenilalanina y L-fenilalanina metil éster, mediante el empleo del grupo Boc, productos **12** y **13**

respectivamente (condición a, Esquema 4.12).³⁷ Bajo esta condición se pudo obtener de forma satisfactoria el producto **13** con un excelente rendimiento (97%). No fue posible obtener el producto **12**, ya que el reactivo de partida (L-fenilalanina) no reaccionó bajo las condiciones ensayadas. Finalmente se ensayó la reducción del grupo metiléster en **13** (condición b, Esquema 4.12) con el fin de obtener la Boc-L-anfetamina **6**. Las condiciones de reducción utilizadas no brindaron resultados satisfactorios respecto la obtención del producto **6**. Por último, restaría ensayar la reducción directa del grupo éster de L-fenilalanina metil éster comercial disponible en el laboratorio, a un grupo metilo, con el fin de obtener L-anfetamina siguiendo las técnicas de reducción mencionadas.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1 Conclusiones

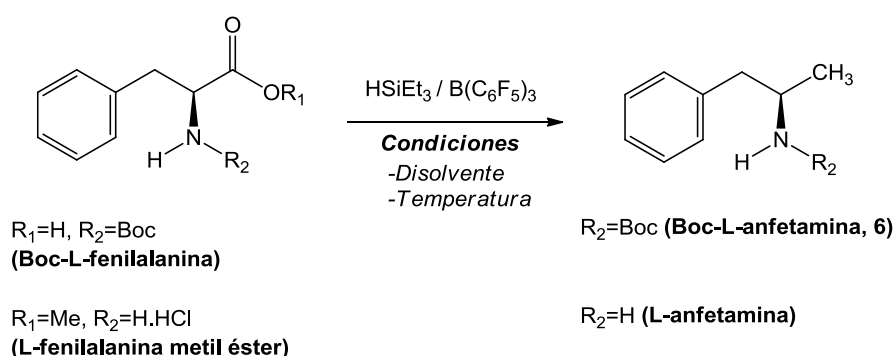
- En el presente trabajo se llevó a cabo el aprendizaje, desarrollo y optimización de metodologías en síntesis orgánica dirigidas a la obtención de alfa-metilaminas enantioméricamente puras como precursores químicos a utilizar en la obtención de radiofármacos PET con potencial uso en el diagnóstico de patologías inflamatorias y del sistema nervioso central.
- Se sintetizaron los precursores orgánicos D-nordeprenil **1** y L-nordeuterodeprenil **7** para ser marcados con ¹¹C con el fin de obtener los radiofármacos [¹¹C]D-deprenil y [¹¹C]L-deuterodeprenil, respectivamente.
- Todos los compuestos sintetizados fueron caracterizados utilizando técnicas espectroscópicas tales como ¹H-RMN, ¹³C-RMN, COSY, RMN heteronuclear (HSQC y HMBC), IR y espectrometría de masas.
- Se llevó a cabo un aprendizaje en la marcación con el radionucleido emisor de positrones carbono-11, lo cual permitió la síntesis eficiente del radiofármaco [¹¹C]D-deprenil mediante metodología de ¹¹C-metilación nucleofílica de su precursor en módulos automatizados de síntesis TRACERlab™ FX C Pro (General Electric). Para ello se ensayaron diferentes condiciones, variando la naturaleza de la base, agente metilante y forma

química del precursor. Se encontró que las mejores condiciones para la marcación teniendo en cuenta los valores de rendimiento radioquímico y pureza radioquímica, fueron cuando se utilizó $[^{11}\text{C}]\text{MeOTf}$ como agente metilante y el precursor bajo la forma química de base libre, no siendo necesaria la utilización de una base en dichas condiciones.

- Los productos marcados con ^{11}C fueron caracterizados por comparación del tiempo de retención de estándares no radioactivo mediante HPLC equipado con un detector de arreglo de diodos y de rayos gamma.

5.2 Perspectivas

- Teniendo en cuenta los resultados expuestos en éste trabajo, sería interesante ensayar diferentes condiciones de marcación con ^{11}C del precursor L-nordeuterodeprenil **7** bajo la forma de base libre para la obtención del radiofármaco $[^{11}\text{C}]\text{L-deuterodeprenil}$.
- Mediante la técnica de reducción directa presentada en el apartado 4.5, restaría ensayar si es posible la transformación de Boc-L-fenilalanina y L-fenilalanina metil éster en Boc-L-anfetamina y L-anfetamina, respectivamente, en un solo paso.



- Las reacciones para la obtención de los compuestos **7**, **10** y **11** podrían ser optimizadas con el fin de aumentar sus rendimientos.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Consideraciones generales

A continuación se describirá el proceso de obtención de los diferentes compuestos, así como su caracterización mediante análisis espectroscópico. Además se describirá el proceso de marcado con carbono-11 del precursor D-nordeprenil en los módulos de síntesis del CUDIM.

Los reactivos y disolventes utilizados fueron adquiridos de empresas comerciales y utilizados sin purificación previa. THF, CH₂Cl₂ y Et₂O anhidros fueron purificados y secados, previos a su utilización por métodos convencionales en el Laboratorio de Química Orgánica, Facultad de Química, UdelaR.

El avance de las reacciones y la pureza de los productos se examinaron por CCF. Para ello se utilizaron placas de sílicagel con indicador fluorescente sobre soporte de aluminio. Las placas se revelaron por alguno de los siguientes métodos:

- exposición a la luz ultravioleta a 254nm
- Ninhidrina 2% en etanol y posterior calentamiento.
- exposición a vapores de yodo.
- Anisaldehído 1% y H₂SO₄ 4% en etanol y posterior calentamiento.

Para las CC se utilizó sílica gel 60 (tamaño 0,04-0,063 mm, Macherey-Nagel)

Los espectros de ^1H -RMN y de ^{13}C -RMN se realizan en un equipo Bruker DPX 400 (400 MHz y 100 MHz, respectivamente) utilizando los disolventes indicados en cada caso y TMS como estándar interno. Los valores de desplazamiento químico son descritos en unidades de δ (ppm) y las multiplicidades según: s: singulete; d: doblete; dd: doblete de doblete; t: triplete; c: cuarteto; q: quinteto; m: multiplete; sa: señal ancha. La caracterización completa se realiza con la combinación de experimentos COSY, HSQC y HMBC.

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron utilizando un equipo Shimadzu IR Affinity-1 (Fourier Transform Infrared Spectrophotometer). Se prepararon comprimidos de 1% (m/m) del compuesto de interés en KBr, para llevar a cabo el análisis de los mismos.

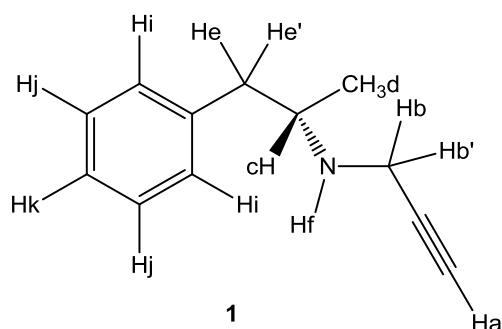
Los espectros de masa se obtuvieron en un equipo Shimadzu DI-2010 en la modalidad impacto electrónico o en un equipo Applied Biosystem API 2000 en la modalidad electro spray.

6.2 Síntesis de compuestos orgánicos

(S)-*N*-propargil-1-fenilpropan-2-amina (D-nordeprenil **1**): Técnica general.

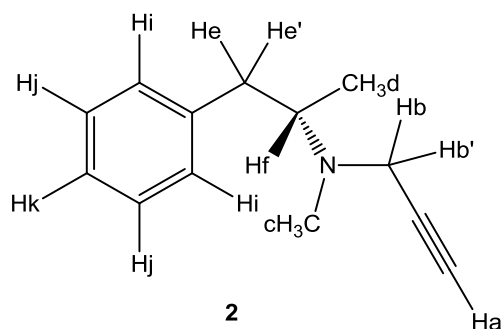
En un balón apropiado, bajo atmósfera de nitrógeno, se coloca D-anfetamina (200 mg, 1.08 mmol), luego se agregan 10 mL del disolvente elegido y seguidamente la base elegida (2.16 mmol). Se deja agitar esta mezcla unos 5 a 10 minutos con pastilla magnética a temperatura ambiente. Seguidamente se agregan 0.0385 mL de bromuro de propargilo 80% en tolueno (1.08 mmol) y se sigue la reacción a temperatura ambiente por CCF. Posteriormente la mezcla de reacción se diluye en 25 mL de agua y se realizan extracciones con Et₂O (5 x 10 mL). La capa etérea se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna (SiO₂ flash, Hexanos: Acetato de etilo 7:3) para dar **1** como un aceite incoloro (Rendimientos, ver Sección 4.2.1, Tabla 4.1). ^1H -RMN (CDCl₃) δ (ppm): 7.34 – 7.31 (m, 2H, Hi), 7.26 – 7.22 (m, 3H, Hj, Hk), 3.52 (dd, $J = 2.4$ Hz, $J = 17.2$ Hz, 1H, He o He'), 3.45 (dd, $J = 2.4$, $J = 17.2$, 1H, He o He'), 3.23 – 3.15 (m, 1H, Hc), 2.76 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 13.6$ Hz, 1H, Hb o Hb'), 2.69 (dd, $J = 6.8$ Hz, $J = 13.2$ Hz, 1H, Hb o Hb'), 2.21 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H, Ha), 1.51 (sa, 1H,

Hf), 1.09 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, Hd). ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm): 19.6, 35.5, 42.9, 53.5, 71.1, 82.0, 125.8, 128.5, 128.9, 139.8 EM (IE, 70eV): m/z (%) = 173 (M^+ , 0.2), 149 (7), 91 (9), 82 (100).

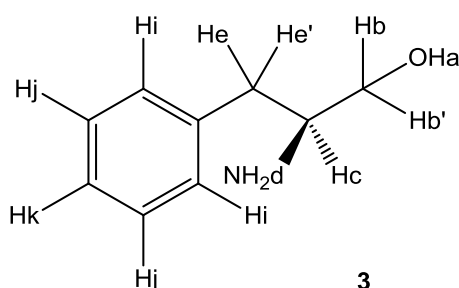


(S)-N-metil-N-propargil-1-fenilpropan-2-amina (D-deprenil **2**): En un balón bajo atmósfera inerte (N_2) se agrega D-nordeprenil (**1**, 97.1 mg, 0.56 mmol) y K_2CO_3 (78.7 mg, 0.56 mmol) en DMF (7 mL). Se deja agitar la solución a temperatura ambiente por 5 minutos. Transcurrido el tiempo mencionado, se agregan 0.035 mL de CH_3I (0.56 mmol) y la reacción se sigue a temperatura ambiente por CCF. Posteriormente la mezcla de reacción se diluye en 25 mL de agua y se realizan extracciones con Et_2O (5 x 10 mL). La capa orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida.

El crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna (SiO_2 flash, Hexanos: Acetato de etilo 7:3) obteniéndose **2** como un aceite amarillento con un rendimiento de 66%. ^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7.32 – 7.28 (m, 2H, Hi), 7.24 – 7.19 (m, 3H, Hi, Hk), 3.46 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, Hb, Hb'), 3.09 (dd, $J = 4$ Hz, $J = 12.8$ Hz, 1H, He), 3.03 – 2.96 (m, 1H, Hf), 2.45 (s, 3H, Hc), 2.44 (dd, $J = 10$ Hz, $J = 12.8$ Hz, 1H, He), 2.27 (t, $J = 2.4$, 1H, Ha), 1.00 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, Hd). ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm): 18.7, 37.1, 39.5, 42.5, 59.3, 71.8, 80.1, 125.3, 128.1, 128.9, 140.3. EM (IE, 70eV): m/z (%) = 187 (M^+ , 0.2), 149 (1.5), 96 (100.0), 91 (8.0), 70 (4.5), 56 (18.0).



L-fenilalaninol **3**: En un balón sumergido en un baño de agua/hielo se agrega una solución de LiBH₄ 265 mg (12,12mmol) en 6 mL de THF seco y seguidamente se agrega TMSCl (3.08 mL, 48.48 mmol). Se retira el baño de agua/hielo y se deja agitar la solución a temperatura ambiente por 15 minutos. Luego de transcurrido el tiempo mencionado, la reacción se vuelve a enfriar mediante baño de agua/hielo y se le agrega L-fenilalanina (1 g, 6.06 mmol). La reacción se deja bajo agitación hasta el otro día. A continuación, la reacción se lleva a baño de agua/hielo y se agregan gota a gota 9.0 mL de MeOH, seguidamente se agregan de la misma manera 5.0 mL de NaOH 2.5 M. Se evapora a presión reducida el MeOH y se extrae el residuo con CHCl₃ (5 x 5 mL). Se juntan las extracciones, se secan con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. De ésta manera se obtiene **3** como un sólido blanco (R: 92%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm): 7.35 – 7.31 (m, 2H, Hi), 7.27 – 7.21 (m, 3H, Hj, Hk), 3.68 (dd, *J* = 4 Hz, *J* = 10.4 Hz 1H, Hb), 3.44 (dd, *J* = 7.2 Hz, *J* = 10.8 Hz, 1H, Hb), 3.18 – 3.12 (m, 1H, Hc), 2.84 (dd, *J* = 5.6 Hz, *J* = 13.6, 1H, He), 2.59 (dd, *J* = 8.8 Hz, *J* = 13.6 Hz, 1H, He), 2.02 (sa, 2H, Ha, Hd). IR (KBr, cm⁻¹): 3360 y 3295 *v*_{es} (N-H), 1580 *v*_{def} (N-H). *v*_{es} EM (IE, 70eV): *m/z* (%) = 151 (M⁺), 120 (M⁺ – 31, CH₂OH), 103 (120 – NH₃), 91 (radical bencilo), 77 (91 – CH₂), 60 (⁺·CHNH₂CH₂OH).



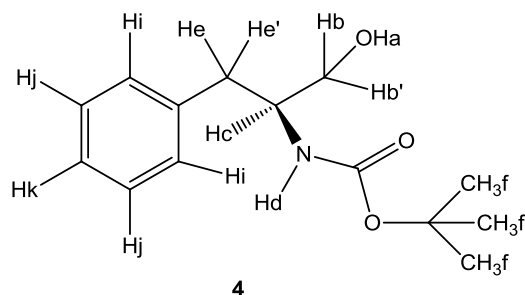
N-*t*-Boc-L-fenilalaninol **4**: para su obtención se utilizaron dos metodologías.

i) A un balón sumergido en baño de agua/hielo, se agrega una solución de 520 mg (3.44 mmol) de **3** en 10 mL de CHCl₃. Posteriormente se añaden 574 mg (3.78 mmol) de Boc₂O y se agita la solución durante 30 minutos a 0°C. Seguidamente se retira la solución del baño de agua/hielo y se deja agitando a temperatura ambiente hasta el siguiente día. Luego de transcurrido éste tiempo, se realizan 3 lavados de la solución, primero con 5 mL de ácido fosfórico 20%, seguido de 5 mL de una solución saturada de NaHCO₃ y por último se lava con 5 mL de una solución saturada de

NaCl. A continuación la fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora a presión reducida. De ésta manera se obtiene un sólido amarillento que se recristaliza en una mezcla de hexanos: Acetato de etilo 95:5, para obtenerse el producto **4** con 39% de rendimiento.

ii) En un balón se agregan 1.944 g (12.88 mmol) del compuesto **3**, 13 mL de agua y por último 2.15 g (14.16 mmol) de Boc₂O. La reacción se agita por aproximadamente 20 minutos a temperatura ambiente hasta observarse la aparición de un precipitado blanco. El mismo se filtra y se lava con una pequeña cantidad de agua fría. De ésta forma se obtiene el producto **4** con un rendimiento de 70%.

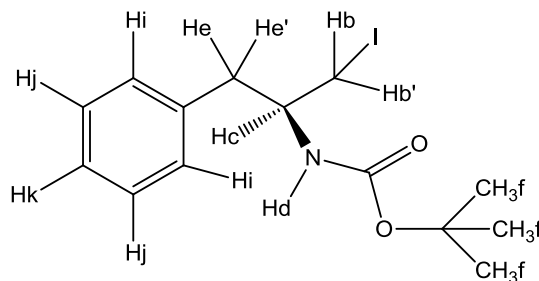
¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm): 7.35 – 7.31 (m, 2H, Hi), 7.27 – 7.23 (m, 3H, Hj, Hk), 4.76 (sa, 1H, Hd), 3.89 (sa, 1H, Hc), 3.72 – 3.67 (m, 1H, Hb), 3.60 – 3.55 (m, 1H, Hb), 2.87 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, He, He'), 2.38 (sa, 1H, Ha), 1.44 (sa, 9H, Hf). IR (KBr, cm⁻¹): 3360 *v*_{es} (O-H), 1685 *v*_{es} (C=O), 1525 *v*_{def} (N-H). EM-EM (Turbo Spray): *m/z* (%) = 252 (M⁺ + H), 235 (M⁺ – OH), 196 (M⁺ – *tert*buteno), 152 (M⁺ - Boc), 91 (Radical bencilo).



tert-Butil-(1*S*)-1-bencil-2-iodoetil carbamato **5**: En un balón apropiado sumergido en baño de agua/hielo se agrega según las condiciones mostradas en la Tabla 4.3: trifenilfosfina (como resina 2.2 equiv o comercial 1.1 equiv), CH₂Cl₂ (13 mL/mmol) I₂ (2,2 equiv. cuando se utiliza PPh₃ resina o 1.1 equiv en PPh₃ comercial) e imidazol (2,4 equiv. cuando se utiliza PPh₃ resina o 1.2 equiv en PPh₃ comercial). Se deja alcanzar la temperatura ambiente. En caso que se utilizarse resina de PPh₃, los reactivos se mezclan a dicha temperatura mediante agitación orbital por unos 30 minutos. Por otro lado, si el reactivo que se utiliza es trifenilfosfina comercial la reacción se lleva a cabo bajo atmósfera de nitrógeno, utilizando agitación magnética y se procede directamente al siguiente paso (sin tiempo adicional de agitación). A continuación, se agrega gota a gota una solución de **4** en CH₂Cl₂ y según las condiciones se calienta a reflujo la solución o se deja transcurrir la reacción a

temperatura ambiente. Luego de transcurrido el tiempo según la condición, como se muestra en la Tabla 4.3 (Sección 4.4.3), la mezcla se deja alcanzar T.amb (si se calentó a reflujo) y se filtra (en el caso de que se haya utilizado la resina). La solución (o el filtrado) se lava con una solución diluida de Na₂S₂O₃ y agua, se seca con Na₂SO₄ y se evapora el disolvente a presión reducida hasta obtenerse un sólido blanco. El crudo se purifica por CC (SiO₂ flash, Hexanos:Acetato de etilo 9:1) rindiendo **5** como cristales blancos. Solo para las condiciones de la entrada e (Tabla 4.3) se realizó una recrystalización en hexano caliente para rendir el producto **5** como cristales blancos con forma de agujas. Los rendimientos se muestran en la Tabla 4.3 (sección 4.4.3).

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm): 7.35 – 7.32 (m, 2H, Hi), 7.29 - 7.25 (m, 3H, Hj, Hk), 4.72 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, Hd), 3.62 (sa, 1H, Hc), 3.44 (dd, *J* = 3.6 Hz, *J* = 10 Hz, 1H, Hb), 3.20 (dd, *J* = 4 Hz, *J* = 10 Hz, 1H, Hb), 2.96 (dd, *J* = 5.6 Hz, *J* = 13.2 Hz, 1H, He), 2.82 (dd, *J* = 8.4 Hz, *J* = 13.6 Hz, 1H, He), 1.46 (s, 9H, Hf). IR (KBr, cm⁻¹): 3350 *v*_{es} (O-H), 1690 *v*_{es} (C=O), 1525 *v*_{def} (N-H). EM (IE, 70eV): *m/z* (%) =361 (M⁺), 270 (M⁺ – radical bencilo), 214 (270 - *tert*buteno), 91 (radical bencilo), 57 (⁺C(CH₃)₃).

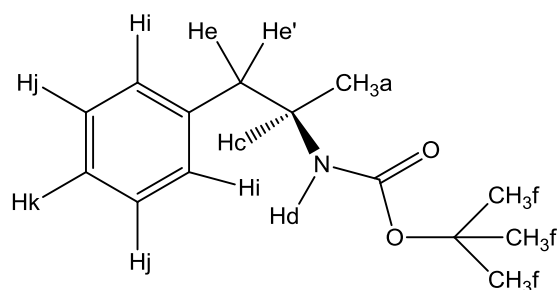


5

ter-Butil-(1*R*)-1-metil-2-feniletil carbamato **6**: En un balón adecuado, se coloca una solución de 1.53 g (4.24 mmol) de **5** en 32 ml de THF seco y se lleva a un baño de agua/hielo/NaCl, manteniéndose la temperatura entre -10 y -12°C. Seguidamente, se agrega gota a gota con una jeringa 4.66 mL de una solución 1M (4.66 mmol) de *N*-selectride (en THF). La reacción se deja transcurrir durante 90 minutos a 5°C. Se monitorea por TLC la reacción. Si no se observa la desaparición del reactivo de partida (**5**) una vez transcurrido el tiempo mencionado, se agrega ½ equivalente (2.33 mL) de *N*-selectride. Se dejan transcurrir 30 minutos y se vuelve a monitorear. Una vez que desaparece el reactivo de partida, se enfría la reacción a 0°C y se

agregan lentamente 4 mL de H₂O. Seguidamente se agrega gota a gota una solución compuesta de la combinación de 45 mL de H₂O, 3 g de K₂CO₃, y 23.4 mL de H₂O₂ 10%. La solución se deja agitar a temperatura ambiente durante una hora. Se evapora el THF a presión reducida. Se extrae el residuo con CH₂Cl₂ (4 x 15 mL), se juntan las extracciones, se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida para obtener un sólido blanco. A continuación, se purifica mediante CC (SiO₂ flash, Hexanos: Acetato de etilo 9:1) para rendir el producto **6** como un sólido blanco cristalino con un rendimiento de 93%.

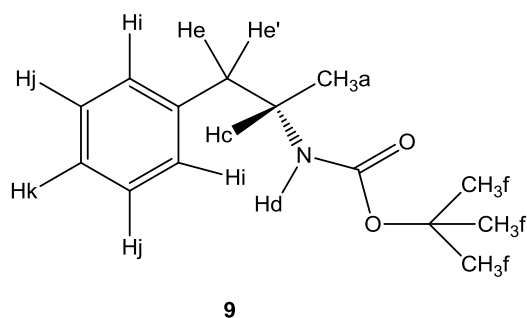
¹H-RMN (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 7.29 – 7.25 (m, 2H, Hi), 7.20 – 7.16 (m, 3H, Hj, Hk), 6.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, Hd), 3.68 – 3.61 (m, 1H, Hc), 2.75 (dd, *J* = 7.2 Hz, *J* = 13.2 Hz, 1H, He), 2.58 (dd, *J* = 7.2 Hz, *J* = 13.2 Hz, 1H, He), 1.34 (sa, 9H), 1.00 (d, *J* = 6.4, 3H). IR (KBr, cm⁻¹): 3360 v_{es} (O-H), 1687 v_{es} (C=O), 1520 v_{def} (N-H). EM-EM (Turbo Spray): *m/z* (%) = 236 (M⁺ + H), 180 (M⁺ – *ter*buteno), 119 (180 – NH₃, OH, CO₂), 91 (radical bencilo).



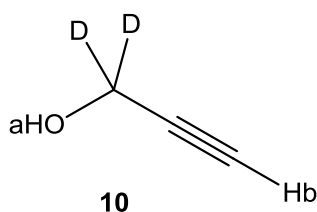
6

ter-Butil-(1*S*)-1-metil-2-feniletíl carbamato **9**: En un balón se disuelven 92 mg (1.09 mmol) de NaHCO₃ en 1 ml de H₂O con agitación por unos 2 minutos. A continuación, se agregan 100 mg (0.543 mmol) de D-anfetamina y se agita por otros 2 minutos. Seguidamente se agregan 178 mg (0.815 mmol) de Boc₂O y se deja reaccionar a temperatura ambiente durante toda la noche. Una vez transcurrido éste tiempo, se agregan 3 ml de H₂O y se realizan extracciones con acetato de etilo (3 x 5 mL), se juntan las extracciones y se secan con Na₂SO₄, se filtra y evapora el disolvente a presión reducida. De ésta forma se obtiene un aceite el cual se purifica mediante CC (SiO₂ flash, Hexanos:Acetato de etilo 9:1), para rendir el producto **9** como un sólido blanco (R: 57%). ¹H-RMN (DMSO-*d*₆) δ (ppm): 7.29 – 7.25 (m, 2H, Hi), 7.20 – 7.16 (m, 3H, Hj, Hk), 6.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, Hd), 3.68 – 3.61 (m, 1H, Hc), 2.75 (dd, *J* = 7.2 Hz, *J* = 13.2 Hz, 1H, He), 2.58 (dd, *J* = 7.2 Hz, *J* = 13.2 Hz, 1H, He), 1.34 (sa,

9H), 1.00 (d, $J = 6.4$, 3H). IR (KBr, cm^{-1}): 3360 ν_{es} (O-H), 1687 ν_{es} (C=O), 1520 ν_{def} (N-H).

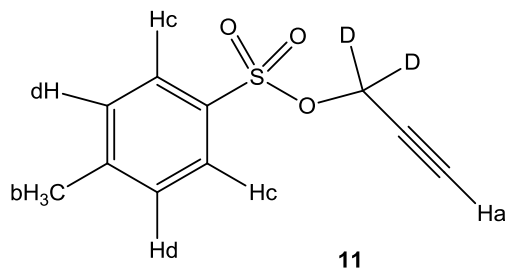


Alcohol 1,1-dideuteropropargílico³⁸: Una solución de 29 mL de LiAlD_4 1M en éter (29 mmol) fue enfriada a -50°C bajo atmósfera de nitrógeno en un balón adecuado. Luego se agregó una solución de propiolato de metilo (2.7 mL, 30.4 mmol) en éter seco (25 mL) gota a gota por un período de 60 minutos bajo agitación continua. La mezcla fue posteriormente agitada por 90 minutos a -30°C y luego se dejó alcanzar temperatura ambiente lentamente por un período de 3 horas. A continuación la solución se dejó con agitación hasta el día siguiente a T. amb. Luego de transcurrido dicho tiempo, la reacción se detuvo mediante el agregado secuencial gota a gota de: 1.5 mL de H_2O , NaOH (0.11g en 0.75 mL de H_2O) y 1 mL de H_2O . El sólido obtenido se lavó con éter (2 x 25 mL) y los lavados fueron recolectados. El líquido se secó con MgSO_4 , se filtró y evaporó el éter a presión reducida. De ésta manera se obtienen 650 mg de un crudo que se utiliza en el siguiente paso sin purificación previa. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3.40 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, Ha), 2.41 (s, 1H, Hb).

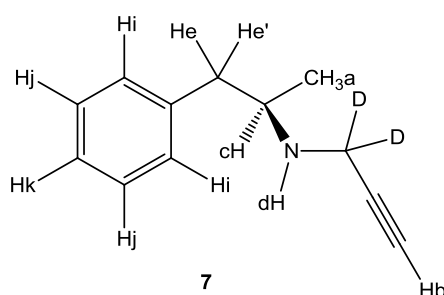


Tosilato de 1,1-dideuteropropargilo³⁹: En un balón conveniente se disuelven 200 mg del crudo obtenido previamente (**10**) en 8.5 mL de éter seco. Se agregan 680 mg (3.57 mmol) de TsCl y la reacción se enfría a -10°C . A ésta solución se le agrega 1g (17.9 mmol) de KOH. Luego de ésta adición se deja alcanzar la temperatura ambiente y se agita la mezcla por 2 horas. Una vez transcurrido dicho tiempo, la mezcla se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida para obtener un aceite amarillo. El crudo es purificado por cromatografía en columna (SiO_2 flash, Hexanos:

Acetato de etilo 9:1), obteniéndose el producto **11** con un rendimiento de 29% luego de dos pasos de reacción. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Hc), 7.39 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, Hd), 2.49 (sa, 1H, Ha), 2.48 (sa, 3H, Hb).

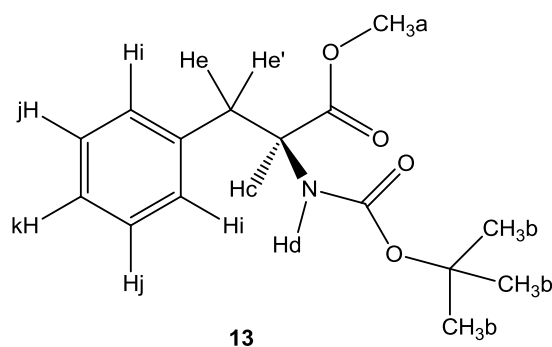


(*R*)-*N*-(1,1-dideuteriopropargil)-1-fenilpropan-2-amina (L-nordeuterodeprenil **7**): Se prepara una mezcla de 117 mg (0.50 mmol) del compuesto **6** en 1 mL de CH_2Cl_2 bajo atmósfera inerte (N_2) y se deja agitando la solución por unos pocos minutos. Posteriormente se agregan 0.25 mL de TFA y la reacción se deja a temperatura ambiente por 2 horas. A continuación se evapora el disolvente a presión reducida obteniéndose un residuo de 124 mg. Seguidamente se disuelve el residuo mencionado en 3 mL de DMF y se agregan 138 mg (0.5 mmol) de K_2CO_3 , manteniendo con agitación la solución por unos pocos minutos. Seguidamente se añade una solución de 110 mg (0.5 mmol) del compuesto **11** en 2.5 mL de DMF y se deja reaccionar a temperatura ambiente hasta el día siguiente. Una vez transcurrido éste tiempo, se agregan 20 mL de H_2O y se realizan extracciones con dietil éter (3 x 10 mL), se seca la capa etérea con Na_2SO_4 , se filtra y evapora el disolvente a presión reducida obteniéndose un aceite impuro. El aceite mencionado se purifica mediante CC (SiO_2 flash, Hexanos:Acetato de etilo 9:1), para brindar el producto **7** con un rendimiento de 20%. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7.35 – 7.30 (m, 2H, Hi), 7.26 – 7.22 (m, 3H, Hi, Hk), 3.24 – 3.16 (m, 1H, Hc), 2.76 – 2.64 (m, 2H, He, He'), 2.19 (s, 1H, Hb), 1.65 (sa, 1H, Hd), 1.1 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H, Ha). EM (IE, 70eV): m/z (%) = 175 (M^+), 149 ($\text{M}^+ - \text{acetileno}$), 134 (149 – CH_3), 91 (radical bencilo), 84 ($\text{M}^+ - \text{radical bencilo}$).



N-*t*-Boc-L-fenilalanina metil éster: Una mezcla de 509 mg (6.06 mmol) de NaHCO₃ y 4 mL de H₂O, se coloca con agitación por 2 a 3 minutos. Seguidamente se agregan 500 mg (3.03 mmol) de clorhidrato de L-fenilalanina metil y se deja agitar la solución por unos pocos minutos más. Por último se agregan 726 mg (3.33 mmol) de Boc₂O y se deja reaccionar bajo agitación a temperatura ambiente por 20 minutos. Una vez transcurrido éste tiempo, se agregan 5 ml de H₂O y se realizan extracciones con AcOEt (3 x 10 mL). Se juntan las extracciones, se secan con Na₂SO₄, se filtra y evapora el disolvente a presión reducida obteniéndose el producto **13** con un rendimiento de 97%.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm): 7.34 - 7.26 (m, 3H, H_j, H_k), 7.16 – 7.14 (m, 2H, H_i), 4.99 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H, H_d), 4.64 (dd, *J* = 6.4 Hz, *J* = 13.6 Hz, 1H, H_c), 3.74 (s, 3H, H_a), 3.17- 3.04 (m, 2H, H_e, H_{e'}), 1.44 (s, H₉, H_f).



6.3 Radiosíntesis

Materiales

Todos los reactivos y disolventes fueron adquiridos comercialmente de Merck y Sigma-Aldrich. Los mismos presentaban un grado de pureza analítica y fueron utilizados, a menos que se especifique lo contrario, sin posterior purificación. La columna Sep-Pak C18 light y los filtros esterilizantes de 0.22 μm fueron adquiridos comercialmente de Waters. La columna de HPLC semipreparativo fue una VP 250/10 mm Nucleosil 100-5 C18 Nautilus (Macherey-Nagel). La columna del HPLC analítico fue una EC 250/4.6 mm Nucleodur 100-5 C18ec (Macherey-Nagel).

Instrumentos

El $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ fue producido en un ciclotrón PETtrace $\text{®}16.5$ MeV (GE Healthcare). Las radiosíntesis fue llevada a cabo utilizando un módulo automatizado TRACERlab ® FX C PRO (GE Healthcare). Los análisis por HPLC fueron llevados a cabo utilizando un equipo Shimadzu UFLC equipado con rearrreglo de diodos y un detector gama.

Radiosíntesis automatizada

En la Figura 6.1 se muestra un esquema del módulo automatizado de síntesis TRACERlab FX C Pro utilizado para la producción del $[^{11}\text{C}]\text{DDE}$.

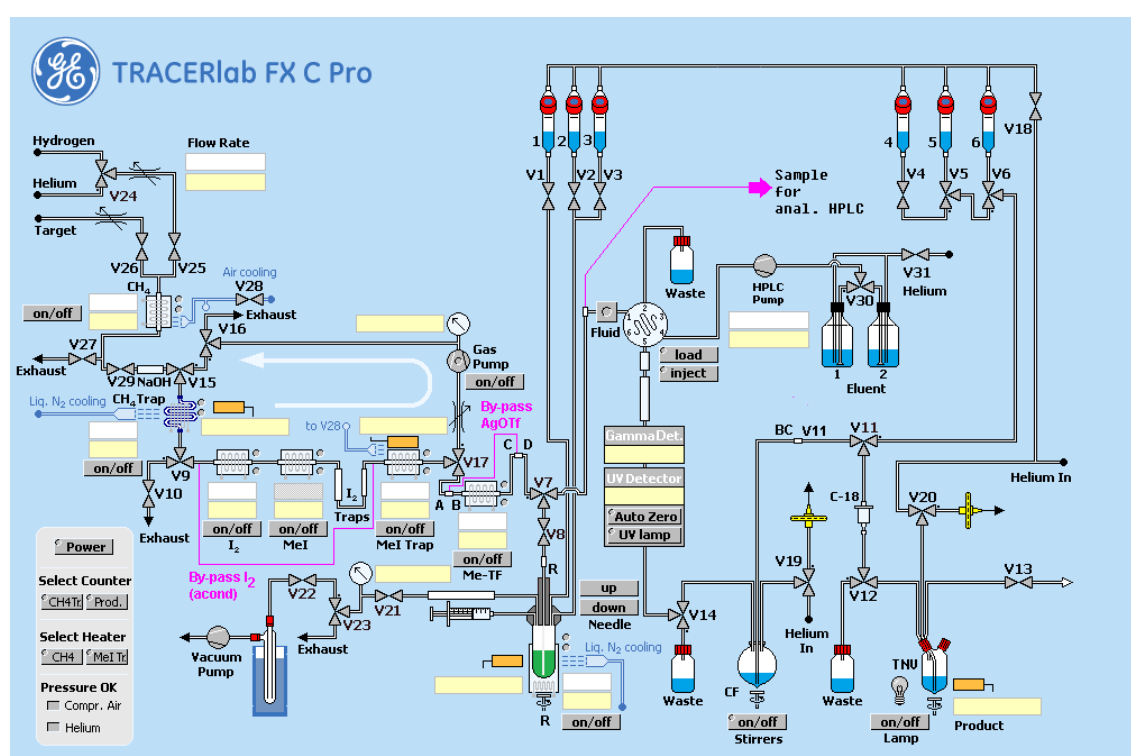


Figura 6.1 Módulo automatizado de síntesis. Se muestra en la figura un esquema del módulo automatizado de síntesis TRACERlab FX C Pro, las tuberías y válvulas utilizadas para la síntesis de $[^{11}\text{C}]\text{DDE}$.

Acondicionamiento del módulo de síntesis y pasos preliminares

Previamente a cualquier procedimiento de radiosíntesis, los hornos y trampas fueron calentados bajo una corriente de helio con el fin de deshacerse de la humedad y el CO_2 "frío" (^{12}C y ^{13}C). El horno con tamices moleculares de Niquel/shimalite fue calentado a 150°C bajo corriente de helio (30 mL/min) por 5 minutos y luego

calentado a 350°C bajo corriente de hidrógeno (40 mL/min) durante 10 minutos. La trampa carbosphere de CH₄ fue calentada a 120°C durante 10-15 minutos bajo corriente de helio (50 mL/min) y posteriormente la trampa Porapak Q de CH₃I y el horno de CH₃OTf fueron calentados simultáneamente a 200 y 190 °C respectivamente durante 10-15 minutos, también bajo corriente de helio (50 mL/min). El reactor fue lavado con H₂O miliQ (10 mL) y acetona de grado analítico (10 mL) y posteriormente secado bajo helio. Con el fin de aumentar la actividad específica, el contenido del blanco del ciclotrón fue enviado al horno con tamices moleculares de níquel-shimalite y tratado con hidrógeno a 350 °C durante 10 minutos. Inmediatamente antes de comenzar la irradiación para la síntesis, por otro lado el blanco fue bombardeado durante 5 minutos a 70 µA, y su contenido fue descartado adecuadamente de modo de eliminar el CO₂ frío y preparar la superficie del blanco para la irradiación.

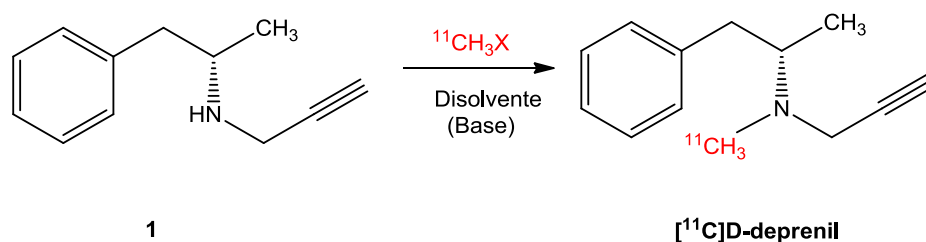
Producción de los precursores secundarios [¹¹C]MeI y [¹¹C]MeOTf

Los agentes metilantes [¹¹C]MeI y [¹¹C]MeOTf fueron producidos en el módulo automatizado GE TRACERlab FX C Pro. El proceso de radiosíntesis comienza con la producción de [¹¹C]CO₂ en el ciclotrón (GE PETtrace 16.5 MeV) mediante la reacción nuclear ¹⁴N(p, α)¹¹C. El [¹¹C]CO₂ fue liberado desde el blanco del ciclotrón hacia el módulo de síntesis y atrapado en tamices moleculares a una temperatura no superior a los 30 °C. Seguidamente el [¹¹C]CO₂ fue reducido a [¹¹C]CH₄ en presencia de un catalizador de níquel e hidrógeno a 350°C durante 1 minuto. El [¹¹C]CH₄ fue pasado a través de una trampa doble de ascarita/sicapent con el fin de remover el CO₂ y el H₂O sin reaccionar, producidos en la reacción de reducción. El [¹¹C]CH₄ fue concentrado y purificado por atrapamiento en una columna de carbosphere, previamente enfriada a -75°C. Una vez que el [¹¹C]CH₄ fue liberado por aumento de temperatura, se lo hizo reaccionar con yodo elemental a 740°C para producir [¹¹C]CH₃I en un sistema de recirculación durante 5 minutos. Dos trampas de ascarita removieron el exceso de yodo antes de atrapar el [¹¹C]CH₃I en una columna Porapak Q. El [¹¹C]CH₃I fue liberado por calentamiento a 190°C en una corriente de helio (35 mL/min). El [¹¹C]CH₃I puede ser opcionalmente convertido en [¹¹C]CH₃OTf, mediante el pasaje en línea a través de una columna calentada a 190°C que contiene carbono grafitado impregnado en triflato de plata. El [¹¹C]CH₃I o el [¹¹C]CH₃OTf fueron

finalmente barboteados en el reactor (R) cargado con el disolvente, el precursor orgánico y la base en el caso de haberse utilizado el precursor en forma de clorhidrato. El atrapamiento de los agentes metilantes en la solución del precursor fue llevada a cabo a baja temperatura (-10°C).

Radiosíntesis de [¹¹C]DDE

El proceso de radiosíntesis se realizó de acuerdo al esquema 6.1



Esquema 6.1 Esquema de radiosíntesis. Se muestran el precursor (**1**) y el radiotrazador [¹¹C]D-deprenil.

La solución del precursor fue preparada disolviendo 1.0 mg (±0.2 mg) de D-nordeprenil.HCL o D-nordeprenil base libre en 350 µL de butanona. En el caso de que el precursor utilizado estuviese bajo la forma de clorhidrato, se le agregaron 3 µL de NaOH 3M, con el fin de obtener la base libre. La solución del precursor y la base fueron vigorosamente mezcladas en un agitador vortex antes de ser cargada con jeringa de plástico en el reactor (la pequeña gota acuosa en el fondo del vial en el cual se realizó la mezcla fue evitada). Luego de atrapar toda la actividad proveniente en la forma de los precursores radioactivos mencionados previamente, la mezcla de reacción fue calentada a 80°C durante 1 minuto. Luego del tiempo de marcado, el crudo de reacción fue enfriado a 40°C. Para evaluar la presencia y pureza radioquímica de los compuestos marcados con carbono-11 por medio de HPLC analítico, el crudo del reactor fue diluido con 1 mL de TFA 0.1% y la muestra fue tomada y analizada.

Purificación y formulación

Luego del tiempo de marcado y enfriado, el crudo de la mezcla de reacción fue diluido mediante la adición de 1 mL de eluyente del HPLC semipreparativo desde el vial 3 hacia el reactor. Seguidamente, el contenido del reactor fue transferido al loop de inyección del HPLC de 5 mL. La purificación de los compuestos deseados marcados con carbono-11 fue efectuada mediante la inyección de la mezcla de crudo de reacción diluido controlada por el detector de fluidos automático. El HPLC semipreparativo fue realizado utilizando acetonitrilo: 0,1 M acetato de amonio (60:40) como fase móvil con un flujo isocrático de 6,0 mL/min. Los cromatogramas fueron registrados utilizando un detector UV (210 nm) y un detector gamma en serie. La fracción que contenía el [¹¹C]DDE fue recolectado en un balón colector (CF) cargado con 50mL de agua miliQ. La solución diluida fue entonces pasada a través de un cartucho C18-SPE (Sep-Pak® C18 light, preactivado con 5 mL de etanol absoluto, seguido de 10 mL de agua miliQ). El cartucho fue lavado con 10 mL de agua miliQ (desde el Vial 6). El producto purificado fue eluido con 1 mL de etanol absoluto (desde el Vial 5) y recolectado en un balón de dos bocas (TNV), conteniendo una solución de 5 mL de NaCl 0,9%. Finalmente, la formulación fue hecha pasando 5 mL de la solución de NaCl 0,9% a través del cartucho (desde el Vial 4) y colectándolos en el balón de dos bocas (TNV). Esta solución final fue transferida a un vial estéril a través de un filtro esterilizante de 0,22 µm. El volumen total de la solución del radiotrazador fue de 11 mL.

Control de calidad

Las impurezas químicas y radioquímicas fueron detectadas y cuantificadas utilizando un radio-HPLC: se utilizó TFA 0.1% y acetonitrilo (75:25; V/V) como fase móvil a un flujo de 1.5 mL/min en una columna C₁₈. El análisis por HPLC fue completado en 20 minutos. El tiempo de retención del precursor nor-DDE fue de 4,4±0,1 minutos. El producto [¹¹C]DDE fue eluido con un tiempo de retención de 5,4±0,3 minutos. La identidad química del [¹¹C]DDE fue determinada por comparación del tiempo de retención con un patrón de referencia sin marcar. Para calcular la pureza radioquímica, la proporción del [¹¹C]DDE fue determinada en relación con la radioactividad total. La actividad específica fue calculada considerando la actividad total del radiotrazador y la cantidad del producto sin marcar. La apariencia de la

solución fue chequeada por inspección visual. Los resultados y rendimientos se presentan en la tabla 4.2 de la sección 4.3.1.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Bullinger, H. (2009) Medical Imaging. Tech Gui 47, 210-215.
2. Aneja J; Aneja A. (2008) Medical imaging. Springer, 536-539.
3. Seaman, M; Contino, G; Bardeesy, N; Kelly K. (2011) Molecular imaging agents: impact on diagnosis and therapeutics in oncology. Expert Rev Mol Med, 12, 1-24.
4. Sinusas, A; Thomas, J; Mills, G; Kramer, C. (2011) The future of molecular imaging. J Am Coll Cardiol Img, 4, 799-806.
5. Weissleder, R; Mahmood, U. (2001) Molecular Imaging. Radiology, 219, 316-333.
6. James, M; Gambhir, S. (2012). A Molecular Imaging Primer: Modalities, Imaging Agents, and Applications. Physiol Rev, 92, 897-965.
7. Price, P; (2001) PET as a potential tool for imaging molecular mechanisms of oncology in man. Trends Mol Med. 7, 442-446.
8. Freeman, H; Biersack, L. (2007) Clinical Nuclear Medicine. Springer, 2, 33-76.
9. IAEA. (2004) Radiotracer applications in industry - a guidebook. Tech rep, 423, 1-10.
10. Ruth, T. (2008) The uses of radiotracers in the life sciences. Rep Prog Phys, 72, 1-23.
11. Comar, D. (1995) PET for Drug Development and Evaluation. Springer, Dev Nuc Med, 26, 25-35.
12. Baert, A. (2008) Encyclopedia of Diagnostic Imaging. Springer, 2, 1485-1489.
13. Bares, R; Lucignani, G. (1996). Clinical PET. Kluwer Academic Publishers, Dev Nuc Med, 28, 37-39, 87-90, 93-99.
14. Dierckx, R; Otte, A; Vries, E; Waarde, A. (2014) PET and SPECT in Psychiatry. Springer, 1, 3-14.
15. Kim E; Lee, M; Inoue, T; Wong, W. (2013) Clinical PET and PET/CT: Principles and Applications 2^a Ed. Springer, 4, 59-79.

16. Carrio, I; Ros, P. (2014) PET/MRI: Methodology and Clinical Applications. Springer, 1, 1-21.
17. Saha, G. (2010) Basics of PET Imaging: Physics, Chemistry, and Regulations 2^a Ed. Springer, 1, 1-17.
18. Phelps, M. (2006) PET Physics, Instrumentation and Scanners. Springer, 1, 10-17.
19. Jadvar, H; Parker, J. (2005) Clinical PET and PET/CT. Springer, 1, 1-15.
20. Michael, R. (2008). Radiopharmacy. Recent Results Cancer Res, 170, 25-31.
21. Peller, P; Subramaniam, R; Guermazi A. (2012) PET-CT and PET-MRI in Oncology: A Practical Guide. Springer, 1, 19-31.
22. Phelps, M (2004) PET: molecular imaging and its biological applications. Springer, 3, 217-221.
23. General Electric Company (2011). Brochure PETtrace Cyclotrons.
24. Khalil, M. (2011) Basic Sciences of Nuclear Medicine. Springer, 1, 25-41.
25. Knapp, F; Mirzadeh, S. (1994) The continuing important role of radionuclide generator systems for nuclear medicine. Eur J Nucl Med, 21, 1151-1165.
26. Serdons, K; Verbruggen, A; Bormans, G. (2009) Developing new molecular imaging probes for PET. Methods, 48, 104-111.
27. Chen, K; Conti, P. (2010) Target-specific delivery of peptide-based probes for PET imaging. Adv Drug Deliver Rev, 60, 1005-1022.
28. Tolmachev, V; Stone-Elander, S. (2010) Radiolabelled proteins for positron emission tomography: Pros and cons of labelling methods. Biochim Biophys Acta, 1800, 487-510.
29. Li, Z; Conti, P. (2010) Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. Adv Drug Deliver Rev, 62, 1031-1051.
30. Ametamey, S; Honer, M; Schubiger, P. (2008) Molecular imaging with PET. Chem Rev, 108, 1501-1516.
31. Wadsak, W; Mitterhauser, M. (2010) Basics and principles of radiopharmaceuticals for PET/CT. Eur J Radiol, 73, 461-469.
32. Elsinga, P. (2002) Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. Methods, 27, 208–217.
33. Andersson, Y; Bergström, M; Långström, B. (1994) Synthesis of ¹¹C-labelled benzamide compounds as potential tracers for poly (ADP-ribose) synthetase. Appl Radiat Isotopes, 45, 707-714.

34. Linnman C, Appel L, Fredrikson M, Gordh T, Söderlund A, Langström B, Engler H. (2011) Elevated [¹¹C]-D-Deprenyl uptake in chronic whiplash associated disorder suggests persistent musculoskeletal inflammation. PLoS ONE. , 6, 1-6.
35. Quagliato, D; Andrae, P; Matelan, E. (2000) Efficient Procedure for the Reduction of α -Amino Acids to Enantiomerically Pure α -Methylamines. J Org Chem, 65, 5037-5042.
36. Pavia, D; Lampman, G; Kriz, G. (1996) Introduction to Spectroscopy: a guide for students of organic chemistry 2^a Ed. Saunders College Publishing, 5, 233-238.
37. Chankeshwara, S; Chakraborti, Asit. (2006) Catalyst-Free Chemoselective N-tert-Butyloxycarbonylation of amines in Water. Org Lett, 8, 3259-3262.
38. Nag, S; Lehmann, L; Kettschau, G; Toth, M; Heinrich, T; Thiele, A; Varrone, A; Halldin, A. (2013) Development of a novel fluorine-18 labeled deuterated fluororasagiline ([¹⁸F]fluororasagiline-D₂) radioligand for monoamino oxidase B (MAO-B). Biorgan Med Chem, 21, 6634-6641.
39. Bahar, E; Frenkel, A; Piryatinsky, V. (2012) Deuterium Enriched Rasagiline. Patente Estadounidense, US2012/0101168, 9-11.
40. Bajracharya, G; Nogami, T; Jin, T; Matsuda, K; Gevorgyan, V; Yamamoto, Y. (2003) Reduction of Carbonyl Function to a Methyl Group. Pra Synth Pro, 15, 308-311.
41. Gevorgyan, V; Rubin, M; Liu, J; Yamamoto, Y. (2001) A Direct Reduction of Aliphatic Aldehyde, Acyl Chloride, Ester and Carboxylic functions into a Methyl Group. J Org Chem, 66, 1672-1675.