

[¹⁸F]Fluoracetat: Vom Gift zum PET-Tracer

Ralf Bergmann, Susan Richter, Jens Pietzsch, Frank Wüst

Organofluorverbindungen treten in der Natur sehr selten auf. Es sind nur einige bekannt, die von Pflanzenarten und Mikroorganismen produziert werden. Fluoracetat ist der am häufigsten vorkommende fluorhaltige Naturstoff. Anhand des Bakteriums *Streptomyces cattleya* gelang es vor kurzem, einige Schritte der zellfreien Biosynthese von Fluoracetat aufzuklären. In der Krebsforschung erscheint die Substanz vielversprechend. Erste Ergebnisse bei kleinen Versuchstieren im Forschungszentrum Dresden-Rossendorf legen den Schluss nahe, dass Fluoracetat als radioaktive Sonde sehr gezielt bei Prostatakarzinomen eingesetzt werden kann.

Seit seiner Entdeckung als chemisches Anti-Mottenmittel im Jahre 1930 und seiner Giftigkeit für Nagetiere erfährt Fluoracetat eine weltweite Anwendung in der Landwirtschaft als Rodentizid. Die Sensitivität verschiedener Spezies auf das Toxin variiert dabei



Fig. 1: Das Bakterium *Streptomyces cattleya*
Bacterium *Streptomyces cattleya*

[¹⁸F]Fluoroacetate: From toxin to PET-tracer

Organofluorine compounds are very rarely observed in nature. Only a few fluorine-containing natural products are known which are produced in plants and microorganisms. Fluoroacetate is the most frequently occurring fluorine-containing natural product. Recently, several steps of the cell-free biosynthesis of fluoroacetate were uncovered in the bacterium *Streptomyces cattleya*. Fluoroacetate represents a promising compound in tumor research. First studies on small research animals at the Forschungszentrum Dresden-Rossendorf suggest that the compound can be used as radioactive probe for diagnosing prostate cancer.

Since the discovery of fluoroacetate as a potent insecticide in 1930 and its toxicity for rodents the compound has been used worldwide in agriculture as effective rodenticide. The sensitivity of species toward the toxin varies quite significantly. Thus,

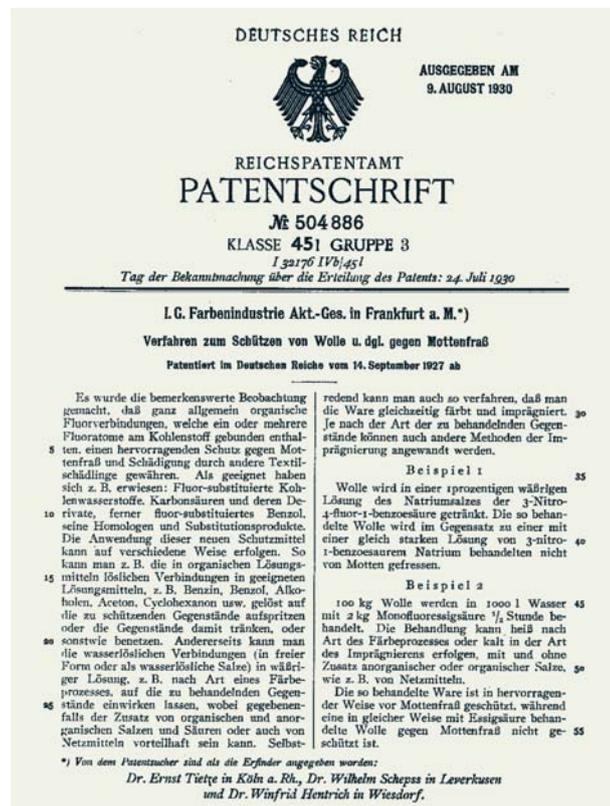


Fig. 2: Patentanmeldung von Fluoracetat als Anti-Motten-Mittel - 1930
Patent application of fluoroacetate as insecticide in 1930

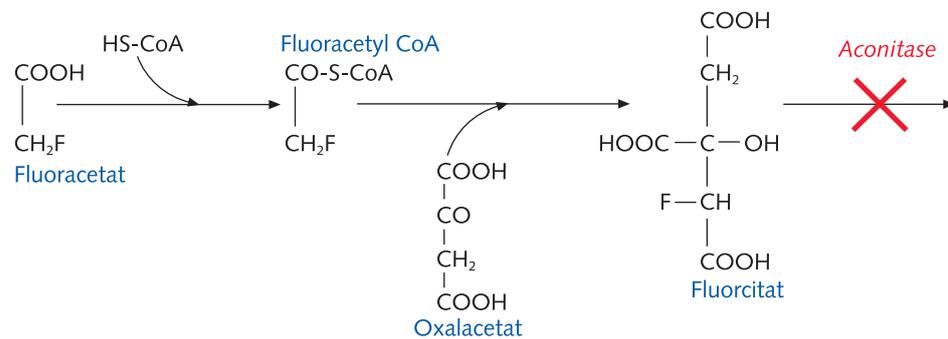


Fig. 3: Fluoroacetat-initiierte Hemmung der Aconitase im Citratzyklus
Fluoroacetate-mediated inhibition of aconitase within the citrate cycle

stark. So ist Fluoroacetat extrem toxisch für Säugetiere, wohingegen Amphibien toleranter reagieren. Der LD₅₀-Wert – das ist die lethale Dosis für die Hälfte der Versuchstiere – von Fluoroacetat für eine Ratte beträgt 0,2 mg/kg. Als Fluorderivat der Essigsäure (Acetat) nimmt Fluoroacetat als Zellgift am Stoffwechsel teil. Seine toxische Wirkung ist dabei unmittelbar mit dem Citratzyklus verbunden, einem zentralen, energieliefernden Stoffwechselfvorgang unter Nutzung von Acetat. Durch die Hemmung der Aconitase, einem wichtigen Schlüsselenzym innerhalb des Citratzyklus, kommt es zu einer Anreicherung von Citrat in Geweben und im Blut. Die Folge ist ein gestörter Energiestoffwechsel bis hin zum Zelltod. Daraus resultieren Symptome wie Lethargie, Zittern, Krämpfe, verlangsamter Herzschlag, bis schließlich der Tod durch Atemstillstand oder Herzversagen eintritt.

Krebserkrankungen gehören nach wie vor zu den häufigsten Todesursachen. Die frühzeitige Erkennung ist dabei entscheidend für die Prognose und Therapie der Krebserkrankungen. Eine wichtige Rolle nehmen dabei bildgebende Verfahren der Medizin ein, unter denen die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) als empfindlichste Methode zur Darstellung von Tumorstoffwechselprozessen besonders gut geeignet ist. Eine Tumorart, in dem der Acetat-Stoffwechsel eine zentrale Funktion hat, ist das Prostatakarzinom. In der bildgebenden Diagnostik des Prostatakarzinoms mittels PET wird daher häufig ¹¹C-markiertes Acetat ([¹¹C]Acetat) als Radiotracer eingesetzt. Durch die sehr kurze Halbwertszeit von Kohlenstoff-11 (t_{1/2} = 20 min) steht allerdings nur ein enges Zeitfenster für die PET-Untersuchungen zur Verfügung. Im Gegensatz dazu stellt das langlebigere [¹⁸F]Fluoroacetat (t_{1/2} = 110 min) eine interessante Alternative zum [¹¹C]Acetat als PET-Radiotracer für die Untersuchung des Prostatakarzinoms dar.

fluoroacetate is very toxic in mammals, whereas amphibians show much higher tolerance. The LD₅₀-value, also referred to as the lethal dose for half of the examined animals, of fluoroacetate is 0.2 mg/kg in rats. As a fluorine derivative of acetate the fluoroacetate is involved within the body's metabolism as a cellular toxin. The toxicity of fluoroacetate is directly connected to the citrate cycle, a central energy-providing metabolic process through the consumption of acetate. Inhibition of aconitase, an important key enzyme within the citrate cycle, leads to an accumulation of citrate in tissue and blood causing a disturbed energy metabolism and even cell death. The corresponding symptoms are lethargy, tremor, spasms, reduced heart beat, and finally death through breathing arrest and heart failure.

Cancer diseases still belong to the major causes of death. An early and reliable detection is crucial for prognosis and success of therapy. In this line, various medical imaging techniques play an important role. Among these techniques positron emission tomography (PET) as the most sensitive method for early tumor detection is particularly useful. A frequently occurring tumor entity where acetate metabolism plays a central role is prostate cancer. Tumor imaging of prostate cancer by means of PET utilizes ¹¹C-labeled acetate as radiotracer. The very short half-life of carbon-11 (t_{1/2} = 20 min), however, provides only a limited time window for PET studies. In contrast, the longer half-life of [¹⁸F]fluoroacetate (t_{1/2} = 110 min) represents an attractive alternative to [¹¹C]acetate as PET-radiotracer for imaging prostate cancer.

The PET-Center Rossendorf has developed a strategy for convenient and reliable synthesis of [¹⁸F]fluoroacetate. As a PET radiotracer the total amount of fluoroacetate is in the nanogram range, hence toxic effects as discussed above can be excluded due to the extremely low dose.

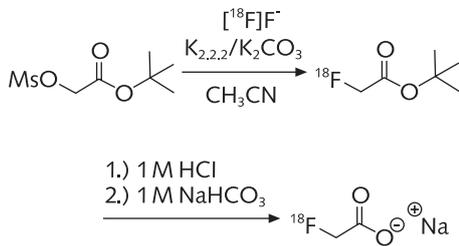


Fig. 4: Radiosynthese von [^{18}F]Fluoracetat im Synthesemodul
Radiosynthesis of [^{18}F]fluoroacetate in a synthesis module

Im PET-Zentrum Rossendorf wurde daher eine Synthesestrategie zur Herstellung von [^{18}F]Fluoracetat entwickelt. Da der auf diesem Wege hergestellte PET-Radiotracer nur in sehr geringen Stoffmengen (Nanogramm-Mengen) anfällt, können die oben diskutierten toxischen Effekte aufgrund der extrem niedrigen Dosis von Fluoracetat vernachlässigt werden. Die erforderliche Radiosynthese wurde im Rahmen einer Diplomarbeit entwickelt und wird ferngesteuert in einem abgeschirmten Synthesemodul durchgeführt. [^{18}F]Fluoracetat kann zuverlässig in einer robusten Zwei-Stufen-/Ein-Topf-Synthese in guten radiochemischen Ausbeuten und sehr hoher radiochemischer Reinheit hergestellt werden.

Der Radiotracer [^{18}F]Fluoracetat wurde in präklinischen Untersuchungen radiopharmakologisch charakterisiert. Dazu wurden die Bioverteilung von [^{18}F]Fluoracetat und der Metabolismus des Radiotracers untersucht sowie insbesondere Kleintier-PET-Messungen an tumortragenden Mäusen durchgeführt. Die PET-Untersuchungen in den Mäusen zeigten eine deutliche Radioaktivitätsanreicherung im Tumor.

Die hohe Zuverlässigkeit der Radiosynthese von [^{18}F]Fluoracetat und die ermutigenden Ergebnisse der präklinischen Testung sind wichtige Voraussetzungen, diesen Radiotracer nach weiteren Bewertungen im PET-Zentrum Rossendorf in enger Kooperation mit den klinischen Partnern der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin und dem Zentrum für Medizinische Strahlenforschung in der Onkologie (OncoRay) für Tumordiagnostik und Therapiekontrolle anwenden zu können.

Fig. 5: Kleintier-PET Aufnahme von [^{18}F]Fluoracetat in einer tumortragenden Maus

Small animal PET image of [^{18}F]fluoroacetate in tumor-bearing mouse



The radiosynthesis of [^{18}F]fluoroacetate was developed in course of a diploma thesis. The synthesis is performed in a remotely-controlled, well-shielded synthesis module. [^{18}F]Fluoroacetate can be prepared very reliably as a robust two-step/one-pot synthesis sequence in good radiochemical yields and very high radiochemical purity.

The radiotracer [^{18}F]fluoroacetate was used in preclinical studies for radiopharmacological characterization. For this purpose biodistribution and metabolism of [^{18}F]fluoroacetate were studied in mice and rats. The radiopharmacological evaluation also included small animal PET studies using tumor-bearing mice. The small animal PET studies in mice show an accumulation of radioactivity in the tumor.

The high reliability of the radiosynthesis of [^{18}F]fluoroacetate and the encouraging results of preclinical evaluation are important prerequisites to implement the compound in the PET-Center Rossendorf in close collaboration with clinical partners at the Carl Gustav Carus Medical School Dresden (Clinic of Nuclear Medicine and Center for Radiation Research in Oncology: OncoRay) as radiotracer for tumor diagnosis and therapy control.

