

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 934 100**

51 Int. Cl.:

C07B 59/00 (2006.01)

B01J 19/00 (2006.01)

C07D 237/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.03.2019** **PCT/EP2019/058111**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.10.2019** **WO19185932**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2019** **E 19715067 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2022** **EP 3774697**

54 Título: **Reacción de radiomarcado estabilizada**

30 Prioridad:

29.03.2018 GB 201805253

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.02.2023

73 Titular/es:

GE HEALTHCARE LIMITED (100.0%)
Pollards Wood Nightingales Lane
Chalfont St. Giles, Buckinghamshire HP8 4SP, GB

72 Inventor/es:

ENGELL, TORGRIM;
JACKSON, ALEXANDER;
KHAN, IMTIAZ, AHMED;
CLARKE, ALAN, P;
MCROBBIE, GRAEME y
GRIGG, JULIAN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 934 100 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Reacción de radiomarcado estabilizada

Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere a agentes de formación de imágenes de diagnóstico útiles para la formación de imágenes de tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés), así como a mejores medios para producir dichos agentes de formación de imágenes. Más específicamente, la presente invención se refiere a un método para purificar un derivado bruto de piridaben marcado con [^{18}F] que, a su vez, pueda formularse en una composición adecuada para inyección para formación de imágenes de perfusión miocárdica y métodos y dispositivos para prepararla. Más específicamente, la presente invención se refiere a la síntesis y purificación automatizada de un derivado de piridaben marcado con [^{18}F] mediante extracción en fase sólida (EFS).

Descripción de la técnica relacionada

Se conocen derivados de piridaben marcados con [^{18}F] que encuentran uso para determinar la presencia o ausencia de una enfermedad o afección cardiovascular en un sujeto. Se describen métodos para la síntesis de estos derivados de piridaben marcados con [^{18}F] en el documento WO2011097649 A2 y comprenden la [^{18}F]-fluoración nucleófila de un precursor de agente de formación de imágenes para formar un agente de formación de imágenes. Se describe la síntesis de una composición inyectable que comprende el compuesto [^{18}F]-flurpiridaz ([^{18}F]-FPZ) en donde el método comprende la [^{18}F]-fluoración nucleófila de un compuesto precursor de tosilato, dilución con agua seguida de purificación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En el documento WO2005061415 se hace referencia a la radiofluoración de sales de yodonio, incluyendo una trampa de radicales libres en la mezcla de reacción.

Encontrar un método de purificación para [^{18}F]-FPZ que evite la HPLC es muy deseable y daría como resultado una accesibilidad más fácil para la aplicación comercial.

Sin embargo, al desarrollar un método en que se usaba extracción en fase sólida (EFS) como único medio de purificación se observó un gran porcentaje de un producto de elución tardía que eluía muy cerca del producto deseado, que hasta la fecha solo puede eliminarse usando un método de purificación que comprende HPLC. Los presentes autores observaron hasta un 22 % de esta radioimpureza. Esto da como resultado una reducción en el rendimiento del procedimiento y una baja pureza radioquímica (PRQ) del producto final a medida que la radioimpureza eluye después de [^{18}F]-FPZ y puede estar presente en la elución de EFS.

Por lo tanto, existe la necesidad de mejores métodos para la síntesis de [^{18}F]-FPZ.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona:

En un aspecto, la presente invención proporciona un método que comprende hacer reaccionar un compuesto precursor con ^{18}F -fluoruro en presencia de (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)óxido (TEMPO) para obtener un compuesto marcado con ^{18}F en donde:

dicho compuesto precursor es de fórmula I:



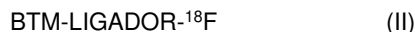
en donde:

BTM es un análogo de piridaben;

LIGADOR es un alquileo o un alcoxilalquileo; y,

GS es un grupo saliente que contiene sulfonato; y,

dicho compuesto marcado con ^{18}F es de fórmula II:



en donde BTM y LIGADOR son como se definen para la fórmula I;

en otro aspecto, la presente invención proporciona un casete para llevar a cabo el método de la invención que comprende:

i) un recipiente que contiene el compuesto precursor como se define en la reivindicación 1;

ii) un recipiente que contiene agua;

- iii) uno o más cartuchos de EFS;
- iv) un recipiente que contiene una solución que comprende un disolvente orgánico;
- v) un recipiente que contiene una solución que comprende etanol;
- vi) un recipiente que contiene un reactivo hidrolizante;
- 5 vii) TEMPO contenido en un recipiente o contenido en dicho recipiente que contiene el compuesto precursor;
- viii) un recipiente de reacción;
- ix) medios para eluir el recipiente de (i) con una fuente adecuada de ^{18}F ;
- x) medios para transferir el compuesto precursor y fuente adecuada de ^{18}F al recipiente de reacción;
- 10 xi) medios para transferir la mezcla de reacción bruta como se define en la reivindicación 1 a dicho o dichos cartuchos de EFS;
- xii) medios para transferir selectivamente dicha agua, comprendiendo dicha solución un disolvente orgánico y comprendiendo dicha solución etanol a dicho o dichos cartuchos de EFS; y
- xiii) medios para transferir dicho compuesto purificado de fórmula II como se define en la reivindicación 1 a un vial de recogida de producto.

15 Los presentes autores identificaron que la radioimpureza se forma debido a la radiólisis de ^{18}F -FPZ durante la reacción de radiomarcado. Se probaron varios radioestabilizadores. La adición de TEMPO al precursor reduce sustancialmente la radiólisis, por ejemplo, desde hasta un 22 % a un 1 % a partir de 100 GBq de actividad.

20 Por lo tanto, se ha descubierto que la adición de TEMPO a la reacción de marcado reduce la cantidad del producto de radiólisis de elución tardía y, como consecuencia, permite llevar a cabo la purificación posterior de una manera más fácil. Más específicamente, la presente invención también permite usar la extracción en fase sólida (EFS) sola para la purificación de ^{18}F -FPZ.

Breve descripción de las figuras

- Figura 1: Comparación del producto bruto con (superior) y sin (inferior) la adición de (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)oxilo (TEMPO) a la reacción de marcado.
- 25 Figura 2: Comparación del producto bruto con (superior) y sin (inferior) hidrólisis con reacción posterior al marcado con NaOH. Las especies en la región de 4-5 minutos se eliminan casi por completo mediante la reacción de hidrólisis.
- Figura 3: Comparación del producto purificado por EFS con (superior) y sin (inferior) ácido ascórbico presente en el vial del producto.
- 30 Figura 4: Muestra el diseño de una casete FASTlab™ adecuada para llevar a cabo el método de la invención.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

35 Para describir y señalar de forma más clara y concisa el objeto de la invención reivindicada, a continuación se proporcionan definiciones para los términos específicos usados en la presente memoria descriptiva y reivindicaciones. Cualquier ejemplificación de términos específicos en la presente memoria debe considerarse como un ejemplo no limitativo.

40 Los términos «que comprende» o «comprende» tienen su significado convencional a lo largo de esta solicitud e implican que el agente o la composición deben tener las características o componentes esenciales enumerados, pero que otros pueden estar presentes además. El término «que comprende» incluye como un subconjunto preferido «que consiste esencialmente en», lo que significa que la composición tiene los componentes enumerados sin que estén presentes otras características o componentes.

45 Un «compuesto precursor» comprende un derivado no radiactivo de un compuesto radiomarcado, diseñado para que la reacción química con una forma química conveniente de una etiqueta detectable *in vivo* se produzca en un sitio específico; puede realizarse en el número mínimo de pasos (idealmente un solo paso); y sin la necesidad de una purificación significativa (idealmente sin purificación adicional), para proporcionar el deseado agente de formación de imágenes *in vivo*. Dichos compuestos precursores son sintéticos y pueden obtenerse convenientemente con buena pureza química.

El término «alquileo» se refiere al grupo bivalente $-(\text{CH}_2)_n-$, en donde n es preferiblemente un número entero de 1 a 6.

El término «alcoxialquileo» significa un alquileo como se definió anteriormente que comprende un enlace éter, donde el término «enlace éter» se refiere al grupo -C-O-C-.

El término «grupo saliente» se refiere a un átomo o grupo de átomos que se desplaza como una especie estable durante una reacción de radiofluoración de sustitución o desplazamiento. Los grupos salientes adecuados para la presente invención son grupos salientes que contienen sulfonato, donde «sulfonato» significa -SO₃.

El término «¹⁸F-fluoruro» se refiere a ¹⁸F-fluoruro en una forma química adecuada para desplazar el GS de fórmula I en una reacción de sustitución nucleófila para dar como resultado un compuesto de fórmula II. El ¹⁸F-fluoruro normalmente se obtiene como una solución acuosa de la reacción nuclear ¹⁸O(p, n)¹⁸F y se vuelve reactivo mediante la adición de un contraión catiónico y la subsiguiente eliminación de agua. Los contraiones catiónicos adecuados deben poseer suficiente solubilidad en el disolvente de reacción anhidro para mantener la solubilidad del ¹⁸F-. Los contraiones adecuados incluyen iones metálicos grandes, pero blandos, como rubidio o cesio, potasio complejado con un criptando como Kryptofix™ 222 (K222), o sales de tetraalquilamonio. Una sal de tetraalquilamonio adecuada es el hidrogenocarbonato de tetrabutilamonio. Un análisis detallado de técnicas conocidas de marcado con ¹⁸F se pueden encontrar en el capítulo 6 del «Handbook of Radiopharmaceuticals» (2003; John Wiley and Sons: M. J. Welch y C. S. Redvanly, Eds.).

El método de la invención comprende la inclusión de TEMPO. Se incluye tetrametilpiperidin-1-il)oxilo (TEMPO) en el paso (a) de reacción. En una realización, el TEMPO está presente en una relación molar con respecto al compuesto precursor de entre 0.01:1 y 5:1, preferentemente entre 0.1:1 y 2:1, lo más preferiblemente entre 0.4:1 y 0.6:1, en especial preferiblemente alrededor de 0.5:1, por ej. 0.56:1.

En una realización del método de la invención, la radiactividad inicial está entre 100 GBq y 1000 GBq.

En una realización del método de la invención, la radiactividad inicial está entre 100 GBq y 750 GBq.

En una realización, el método de la invención comprende, además, la purificación de dicho compuesto marcado con ¹⁸F mediante extracción en fase sólida (EFS).

En una realización, dicha EFS se lleva a cabo usando uno o más cartuchos de EFS.

En una realización, dicho o dichos cartuchos de EFS se seleccionan de un tC18 y un cartucho de EFS de modo mixto.

En una realización, dicho o dichos cartuchos de EFS son cartuchos tC18.

En una realización, dicho o dichos cartuchos de EFS son 2 cartuchos tC18.

El término «extracción en fase sólida (EFS)» se refiere al conocido procedimiento de preparación de muestras mediante el cual los compuestos en una solución se separan entre sí en función de sus respectivas afinidades por un sólido (la «fase sólida», o «fase estacionaria») a través del cual se hace pasar la muestra y el disolvente (la «fase móvil» o «fase líquida») en que se disuelven. El resultado es que un compuesto de interés se retiene en la fase sólida o en la fase móvil. La porción que pasa por la fase sólida se recoge o se desecha, según contenga o no el compuesto de interés. Si la porción retenida en la fase estacionaria incluye el compuesto de interés, entonces se puede retirar de la fase estacionaria para su recogida en un paso adicional, en la que la fase estacionaria se enjuaga con otra solución conocida como «eluyente». Para la presente invención, la EFS se lleva a cabo adecuadamente usando al menos un «cartucho de EFS» (también conocido como una «columna de EFS»), una variedad de los cuales están fácilmente disponibles comercialmente y como una columna rellena con fase sólida normalmente. La mayoría de las fases sólidas conocidas son a base de sílice que se ha unido a un grupo funcional específico, por ejemplo, cadenas hidrocarbonadas de longitud variable (adecuadas para EFS de fase inversa), grupos amino o amonio cuaternario (adecuados para intercambio aniónico) y grupos carboxilo o ácido sulfónico (adecuados para intercambio catiónico). EFS, en el contexto de la presente invención, excluye específicamente HPLC. En una realización, en la presente invención se usan dos cartuchos de EFS conectados de forma fluida en serie.

En determinadas realizaciones, como sabrá el experto en la materia, la fase móvil usada con el cartucho de EFS dependerá de la elección del cartucho de EFS. Por ejemplo, en una realización en la que EFS es un polímero Affinisep, el acetonitrilo acuoso es un disolvente orgánico adecuado para el paso (iii), un ejemplo no limitante del cual sería un 40 % de acetonitrilo y un 60 % de agua. El eluyente para el mismo cartucho de EFS puede ser etanol acuoso, un ejemplo no limitativo del cual es un 60 % de etanol y un 40 % de agua. En una realización, cuando EFS es C18, se puede usar un disolvente orgánico a base de etanol para el paso (iii) y para la elución. Como ejemplo no limitante, un (30-40) % de etanol en agua para el disolvente para el paso (iii) seguido de elución con etanol, que puede ser menos del 100 % de etanol.

En una realización, se añade un reactivo hidrolizante durante la purificación.

El término «reactivo hidrolizante» se refiere a un reactivo que puede experimentar hidrólisis, en donde «hidrólisis» es un término técnico bien conocido por los expertos en la materia, es decir, una reacción que implica la ruptura de un enlace en una molécula usando agua, donde la reacción ocurre principalmente entre un ion y moléculas de agua y, a

menudo, cambia el pH de una solución. En química, hay tres tipos principales de hidrólisis: hidrólisis de sal, hidrólisis ácida e hidrólisis básica.

En una realización, dicho reactivo hidrolizante es ácido. Puede usarse cualquier ácido adecuado. En una realización, dicho reactivo hidrolizante ácido comprende ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico.

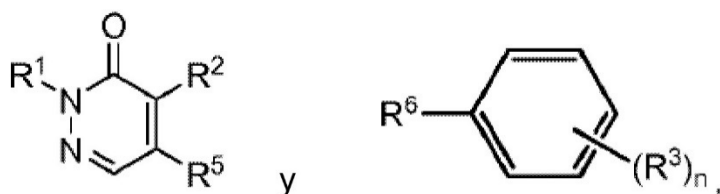
- 5 En una realización, dicho reactivo hidrolizante ácido es HCl.

En una realización, dicho reactivo hidrolizante es alcalino. Puede usarse cualquier base adecuada. En una realización, se pueden usar bases de alcóxido, hidróxidos de metales alcalinos o tioóxido. En una realización adicional, la base se selecciona del grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidruro de sodio, tiometóxido de sodio, etóxido de sodio, amoníaco / hidróxido de amonio y metóxido de sodio.

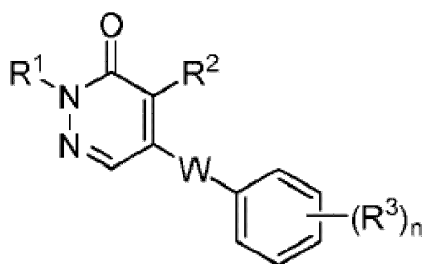
- 10 En una realización, dicho reactivo hidrolizante alcalino se selecciona de NaOH, NH₄OH y NaOMe. En otra realización, dicho reactivo hidrolizante alcalino es NaOH.

El BTM es un análogo del piridaben. Los métodos para obtener análogos de piridaben adecuados son conocidos en la técnica.

- 15 En una realización, ciertos compuestos de fórmula I se pueden obtener siguiendo o adaptando los procedimientos descritos en el documento WO2011097649 A2, a partir de la eterificación de los compuestos de partida que comprenden las fórmulas:

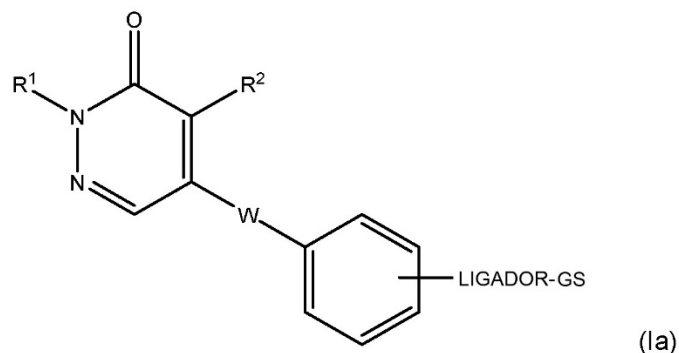


- 20 donde n es 1, 2, 3, 4 o 5; R¹ es alquilo, opcionalmente sustituido; R² es hidrógeno o haluro; los R³ pueden ser iguales o diferentes y son alquilo, heteroalquilo o un grupo que contiene carbonilo, cada uno opcionalmente sustituido, R⁵ es hidroxilo o haluro; y R⁶ es alquilo, heteroalquilo o un grupo que contiene carbonilo, cada uno opcionalmente sustituido, en donde, cuando R⁵ es hidroxilo, al menos uno de R⁶ y R³ comprende un grupo saliente; o en donde R⁵ es haluro, al menos uno de R⁶ o R³ comprende un hidroxilo, para producir un compuesto que comprenda la fórmula:

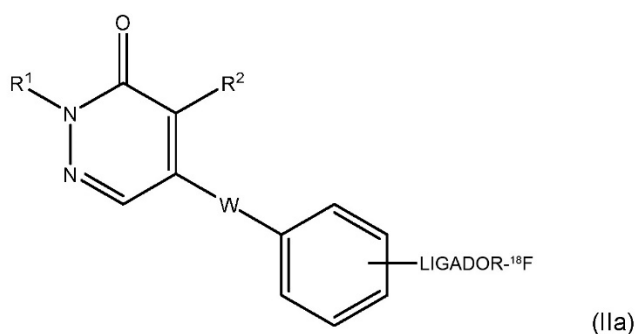


- 25 en donde W es alquilo o heteroalquilo, opcionalmente sustituido; R¹ es alquilo, opcionalmente sustituido; R² es hidrógeno o haluro; cada R³ puede ser igual o diferente y es alquilo opcionalmente sustituido con hidroxilo o heteroalquilo opcionalmente sustituido con hidroxilo; en donde al menos un R³ comprende hidroxilo; y n es 1, 2, 3, 4 o 5; R¹ es alquilo, opcionalmente sustituido; R² es hidrógeno o haluro; los R³ pueden ser iguales o diferentes y son alquilo, heteroalquilo o un grupo que contiene carbonilo, cada uno opcionalmente sustituido. Luego, haciendo reaccionar este compuesto con una especie que contenga sulfonato de manera que al menos un R³ se convierta en alquilo sustituido con un grupo que contenga sulfonato o heteroalquilo sustituido con un grupo que contenga sulfonato. Este compuesto que contiene sulfonato es un compuesto precursor de fórmula I de la presente invención. El precursor que contiene sulfonato puede entonces reaccionar con ¹⁸F-fluoruro para obtener compuestos de fórmula II de la presente invención.
- 30

En una realización de la invención, dicho compuesto precursor es un compuesto de fórmula la:

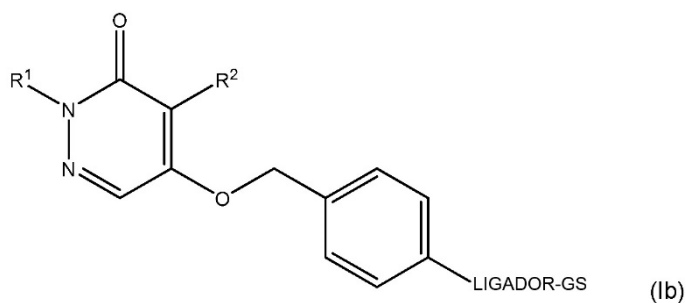


y dicho compuesto marcado con ^{18}F es un compuesto de fórmula IIa:

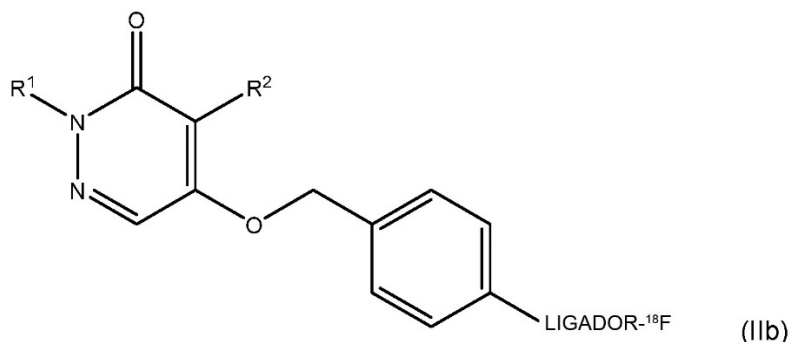


en donde:

- 5 R^1 es un alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido;
 R^2 es hidrógeno o halo;
 W es un alquileno o heteroalquileno opcionalmente sustituido;
 LIGADOR es un alquileno o un alcoxialquileno; y
 GS es un grupo saliente que contiene sulfonato.
- 10 En una realización, R^1 de fórmula Ia y fórmula IIa es alquilo C_{1-6}
 En una realización, R^1 de fórmula Ia y fórmula IIa es metilo, etilo, propilo, n-butilo, s-butilo o t-butilo.
 En una realización, R^2 de fórmula Ia y fórmula IIa es halo.
 En una realización, R^2 de fórmula Ia y fórmula IIa es cloro.
 En una realización, W de fórmula Ia y fórmula IIa es heteroalquileno.
- 15 En una realización, W de fórmula Ia y fórmula IIa es alcoxialquileno.
 En una realización de la invención, dicho compuesto de fórmula I es un compuesto de fórmula Ib:

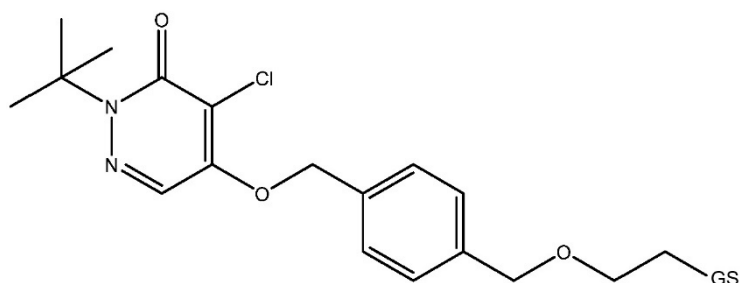


y dicho compuesto de fórmula II es un compuesto de fórmula IIb:



en donde R¹, R², LIGADOR y GS se definen de diversas formas en la presente memoria para la fórmula I y la fórmula II.

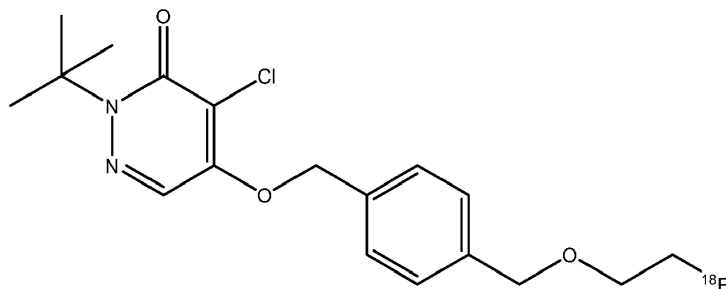
En una realización de la invención, dicho compuesto de fórmula I es:



5

en donde GS es como se define de diversas formas en la presente memoria;

y dicho compuesto de fórmula II es:



En una realización de la invención, GS se selecciona de mesilato, tosilato, triflato, nosilato o sulfato 1,2-cíclico.

10 En una realización de la invención, GS es tosilato.

En una realización, dicho compuesto precursor se disuelve en acetonitrilo.

El método de la invención se puede llevar a cabo usando un aparato sintetizador automatizado. Por el término «sintetizador automatizado» se entiende un módulo automatizado basado en el principio de operaciones unitarias como se describe en Satyamurthy et al. (1999 *Clin Positr Imag*; 2(5): 233-253). El término «operaciones unitarias»
 15 significa que los procedimientos complejos se reducen a una serie de operaciones o reacciones simples, que se pueden aplicar a una variedad de materiales. Dichos sintetizadores automatizados están disponibles comercialmente de una variedad de proveedores incluidos: GE Healthcare; CTI Inc; Ion Beam Applications S. A. (Chemin du Cyclotron 3, B-1348 Louvain-La-Neuve, Bélgica); Raytest (Alemania) y Bioscan (EE. UU.).

Un ejemplo de sintetizador automatizado lleva a cabo una radiosíntesis por medio de un casete. Por el término
 20 «casete» se entiende una pieza de aparato diseñada para encajar de forma extraíble e intercambiable en el aparato sintetizador automático de tal manera que el movimiento mecánico de las partes móviles del sintetizador controla el funcionamiento del casete desde fuera del casete. Los casetes adecuados comprenden una disposición lineal de válvulas, cada una conectada a un puerto donde se pueden conectar reactivos o viales, ya sea mediante punción con aguja de un vial sellado con tabique invertido, o mediante juntas de unión herméticas al gas. Cada válvula tiene una

unión macho-hembra que interactúa con un brazo móvil correspondiente del sintetizador automatizado. La rotación externa del brazo controla, así, la apertura o el cierre de la válvula cuando el casete está unido al sintetizador automático. Las partes móviles adicionales del sintetizador automatizado están diseñadas para engancharse en las puntas del émbolo de la jeringa y, así, elevar o deprimir los cilindros de la jeringa.

- 5 Un casete típico tiene varias posiciones para reactivos y varias adecuadas para acoplar viales de jeringa de reactivos o cartuchos de cromatografía (p. ej., EFS). El casete siempre comprende un recipiente de reacción. Dichos recipientes de reacción son preferiblemente de 1 cm³ a 10 cm³, lo más preferiblemente de 2 cm³ a 5 cm³ en volumen y están configurados de tal manera que se conectan 3 o más puertos del casete para permitir la transferencia de reactivos o disolventes desde varios puertos del casete. Preferiblemente, el casete tiene de 15 a 40 válvulas en una disposición
- 10 lineal, lo más preferiblemente de 20 a 30, siendo especialmente preferidas 25. Las válvulas del casete son preferiblemente idénticas, y lo más preferiblemente son válvulas de 3 vías. Los casetes están diseñados para ser adecuados para la fabricación de radiofármacos, por lo que se fabrican con materiales de grado farmacéutico e, idealmente, también resistentes a la radiólisis.

- 15 En una realización, el casete es un casete desechable de un solo uso que comprende todos los reactivos, recipientes de reacción y aparatos necesarios para llevar a cabo el método de la invención.

- El enfoque de casete tiene las ventajas de una configuración simplificada, menor riesgo de error del operador; mejora del cumplimiento de las BPF (buenas prácticas de fabricación); capacidad de trazadores múltiples; cambio rápido entre ejecuciones de producción; verificación automatizada de diagnóstico previa a la ejecución del casete y los reactivos; cotejo automatizado de códigos de barras de reactivos químicos en función de la síntesis que haya que realizar;
- 20 trazabilidad de reactivos; un solo uso y, por lo tanto, sin riesgo de contaminación cruzada, resistencia a la manipulación y al abuso.

Por lo tanto, la presente invención también proporciona un casete para llevar a cabo el método de la invención que comprende:

- i) un recipiente que contiene el compuesto precursor como se define en la presente memoria;
- 25 ii) un recipiente que contiene agua;
- iii) uno o más cartuchos de EFS;
- iv) un recipiente que contiene una solución que comprende un disolvente orgánico;
- v) un recipiente que contiene una solución que comprende etanol;
- vi) un recipiente que contiene un reactivo hidrolizante;
- 30 vii) TEMPO contenido en un recipiente o contenido en dicho recipiente que contiene el compuesto precursor;
- viii) un recipiente de reacción;
- ix) medios para eluir el recipiente de (i) con una fuente adecuada de ¹⁸F;
- x) medios para transferir el compuesto precursor y fuente adecuada de ¹⁸F al recipiente de reacción;
- xi) medios para transferir la mezcla de reacción bruta como se define en la presente memoria a dicho o dichos
- 35 cartuchos de EFS;
- xii) medios para transferir selectivamente dicha agua, comprendiendo dicha solución un disolvente orgánico y comprendiendo dicha solución etanol a dicho o dichos cartuchos de EFS; y
- xiii) medios para transferir dicho compuesto purificado de fórmula II como se define en la presente memoria a un vial de recogida de producto.

- 40 En una realización, el TEMPO está presente en un recipiente dedicado en el casete. En una realización, el TEMPO está presente en el recipiente que contiene el compuesto precursor, por ejemplo, disuelto en acetonitrilo.

- El término «disolvente orgánico» comprende adecuadamente un disolvente conocido por los expertos en la técnica para la elución por EFS, por ejemplo, tetrahidrofurano (THF), acetato de etilo y diclorometano (DCM), dimetilformamida (DMF), acetonitrilo (MeCN), dimetilsulfóxido (DMSO), ácido acético, *t*-butanol, isopropanol, *n*-propanol, etanol (EtOH) y metanol (MeOH). El disolvente orgánico se puede proporcionar como una solución acuosa de dicho disolvente.
- 45

En una realización, el casete comprende, además, un vial que contiene un reactivo hidrolizante como se define en la presente memoria.

En esta descripción escrita se usan ejemplos para describir la invención, incluido el mejor modo, y también para permitir que cualquier persona experta en la técnica practique la invención, incluida la fabricación y el uso de cualquier

dispositivo o sistema y la realización de cualquier método incorporado. El alcance patentable de la invención está definido por las reivindicaciones, y puede incluir otros ejemplos que se le ocurran a los expertos en la materia. Dichos otros ejemplos están dentro del alcance de las reivindicaciones si tienen elementos estructurales que no difieran del lenguaje literal de las reivindicaciones, o si incluyen elementos estructurales equivalentes con diferencias insustanciales de los lenguajes literales de las reivindicaciones. Todas las patentes y solicitudes de patente mencionadas en el texto se incorporan aquí como referencia en su totalidad, como si se incorporaran individualmente.

Breve descripción de los ejemplos

En el ejemplo 1 se describe la radiosíntesis de [^{18}F]-flurpiridaz bruto.

En el ejemplo 2 se describe la radiosíntesis de [^{18}F]-flurpiridaz bruto con la adición de TEMPO.

En los ejemplos 3 y 4 se describe la radiosíntesis de [^{18}F]-flurpiridaz con purificación por EFS.

En el ejemplo 5 se describe la síntesis y purificación automatizada de [^{18}F]-flurpiridaz.

En el ejemplo 6 se describen vías alternativas para la radiosíntesis de [^{18}F]-flurpiridaz con purificación por EFS.

Lista de abreviaturas usadas en los ejemplos

EtOH etanol

HPLC cromatografía líquida de alta resolución

MeCN acetonitrilo

PBS solución salina tamponada con fosfato

QMA metilamonio cuaternario

CRA concentración radiactiva

EFS extracción de fase sólida

TEMPO (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)óxido

Ejemplos

Ejemplo 1: Radiosíntesis de [^{18}F]-flurpiridaz bruto

Se produjo [^{18}F]-fluoruro (aprox. 100 GBq) usando un ciclotrón PETtrace de GE Medical Systems con un objetivo de plata a través de la reacción nuclear [^{18}O](p, n)[^{18}F]. Se usaron volúmenes objetivo totales de 3.2 ml a 4.8 ml. El radiofluoruro se atrapó en un cartucho de MAQ de Waters (preacondicionado con carbonato) y el fluoruro se eluyó con una solución de hidrogenocarbonato de tetrabutilamonio (22 mg) en agua (100 μl) y acetonitrilo (400 μl). Se usó nitrógeno para expulsar la solución del cartucho de MAQ al recipiente de reacción. El [^{18}F]-fluoruro se secó durante 9 minutos a 120 °C en una corriente constante de nitrógeno y vacío. El precursor (10.2 mg, sintetizado según métodos conocidos) en MeCN (1.7 ml) se añadió al [^{18}F]-fluoruro seco y la mezcla de reacción se calentó a 120 °C durante 10 minutos. El producto bruto se diluyó con agua (9.3 ml) y se analizó por HPLC.

El porcentaje de [^{18}F]-flurpiridaz en el producto bruto fue del 81 % con un 13 % de un producto de radiólisis de elución tardía (figura 1). En un caso de radiosíntesis, los autores observaron solo el 72 % de [^{18}F]-flurpiridaz.

Ejemplo 2: Radiosíntesis de [^{18}F]-flurpiridaz bruto con la adición de TEMPO

Se produjo [^{18}F]-fluoruro (aprox. 100 GBq) usando un ciclotrón PETtrace de GE Medical Systems con un objetivo de plata a través de la reacción nuclear [^{18}O](p, n)[^{18}F]. Se usaron volúmenes objetivo totales de 3.2 ml a 4.8 ml. El radiofluoruro se atrapó en un cartucho de MAQ de Waters (preacondicionado con carbonato) y el fluoruro se eluyó con una solución de hidrogenocarbonato de tetrabutilamonio (22 mg) en agua (100 μl) y acetonitrilo (400 μl). Se usó nitrógeno para expulsar la solución del cartucho de MAQ al recipiente de reacción. El [^{18}F]-fluoruro se secó durante 9 minutos a 120 °C en una corriente constante de nitrógeno y vacío. Se añadió una mezcla del precursor (10.2 mg) y TEMPO (1.7 mg) en MeCN (1.7 ml) al [^{18}F]-fluoruro seco y se calentó la mezcla de reacción a 120 °C durante 10 minutos. El producto bruto se diluyó con agua (9.3 ml) y se analizó por HPLC.

El porcentaje de [^{18}F]-flurpiridaz en el producto bruto fue del 92 % con un 1 % del producto de radiólisis de elución tardía. La adición de TEMPO a la reacción de marcado redujo la cantidad del producto de radiólisis de elución tardía (figura 1). Los presentes autores deducen de estos resultados que incluso cuando se lleva a cabo con una alta actividad, la adición de TEMPO a la reacción de radiomarcado actúa reduciendo el producto de radiólisis que eluye tardíamente.

Ejemplo 3: Radiosíntesis de [^{18}F]-flurpiridaz con purificación por EFS a base de EtOH

Se produjo [^{18}F]-fluoruro (aprox. 100 GBq) usando un ciclotrón PETtrace de GE Medical Systems con un objetivo de plata a través de la reacción nuclear [^{18}O](p, n) [^{18}F]. Se usaron volúmenes objetivo totales de 3.2 ml a 4.8 ml. El radiofluoruro se atrapó en un cartucho de MAQ de Waters (preacondicionado con carbonato) y el fluoruro se eluyó con una solución de hidrogenocarbonato de tetrabutilamonio (22 mg) en agua (100 μl) y acetonitrilo (400 μl). Se usó nitrógeno para expulsar la solución del cartucho de MAQ al recipiente de reacción. El [^{18}F]-fluoruro se secó durante 9 minutos a 120 °C en una corriente constante de nitrógeno y vacío. Se añadió el precursor (10.2 mg) en MeCN (1.7 ml) al [^{18}F]-fluoruro seco y la mezcla de reacción se calentó a 120 °C durante 10 minutos. El producto bruto se diluyó con NaOH 2 M (1.3 ml) y agua (4 ml) y se dejó reposar durante 60 segundos (consulte la figura 2 para comparar con y sin hidrólisis de NaOH). A continuación, el producto bruto se cargó en un cartucho tC18 de EFS (Waters, número de producto WAT036800) y se purificó usando el método que se describe a continuación.

El cartucho de EFS se lavó con agua (30 ml) para eliminar el acetonitrilo, el NaOH y las impurezas químicas y radioquímicas hidrofílicas. Luego, el cartucho de EFS se lavó con una solución de etanol al 35 % en agua (25 ml) para eliminar la impureza hidroxil. Después de esto, el primer cartucho de EFS se conectó en serie a un segundo cartucho de EFS (Waters, número de producto WAT036800) y los dos se lavaron con una solución etanólica de agua al 40 % (14 ml) seguido de una corriente de nitrógeno para transferir el [^{18}F]-flurpiridaz en el segundo cartucho y atrapar las impurezas químicas y radioquímicas más lipofílicas. Luego, el segundo cartucho de EFS se eluyó con una solución etanólica al 70 % (3 ml) para eluir el [^{18}F]-flurpiridaz en el vial del producto. El vial de producto de 25 ml estaba compuesto por agua (23 ml), etanol (2 ml) y ácido ascórbico (50 mg/ml). Consulte la figura 3 para ver un cromatograma del producto purificado por EFS con y sin presencia de ácido ascórbico.

El rendimiento corregido sin decaimiento fue del 43 %, lo que dio como resultado un producto con una CRA de 1800 MBq/ml. La PRQ del producto final fue del 97 %. Se observaron dos productos de radiólisis (el 1 % y 2 %, respectivamente). Cuando se excluyó el ácido ascórbico del vial del producto, la PRQ fue del (85-88) % (figura 3).

Ejemplo 4: Radiosíntesis de [^{18}F]-flurpiridaz con purificación por EFS a base de EtOH

Se produjo [^{18}F]-fluoruro (aprox. 100 GBq) usando un ciclotrón PETtrace de GE Medical Systems con un objetivo de plata a través de la reacción nuclear [^{18}O](p, n) [^{18}F]. Se usaron volúmenes objetivo totales de 3.2 ml a 4.8 ml. El radiofluoruro se atrapó en un cartucho de MAQ de Waters (preacondicionado con carbonato) y el fluoruro se eluyó con una solución de hidrogenocarbonato de tetrabutilamonio (22 mg) en agua (100 μl) y acetonitrilo (400 μl). Se usó nitrógeno para expulsar la solución del cartucho de MAQ al recipiente de reacción. El [^{18}F]-fluoruro se secó durante 9 minutos a 120 °C en una corriente constante de nitrógeno y vacío. Se añadió el precursor (10.2 mg) en MeCN (1.7 ml) al [^{18}F]-fluoruro seco y la mezcla de reacción se calentó a 120 °C durante 10 minutos. El producto bruto se diluyó con NaOH 2 M (1.3 ml) y agua (4 ml) y se dejó reposar durante 60 segundos (consulte la figura 2 para comparar con y sin hidrólisis de NaOH). A continuación, el producto bruto se cargó en un cartucho tC18 de EFS (Waters, número de producto WAT036800) y se purificó usando el método que se describe a continuación.

El cartucho de EFS se lavó con agua (30 ml) para eliminar el acetonitrilo, el NaOH y las impurezas químicas y radioquímicas hidrofílicas. Luego, el cartucho de EFS se lavó con una solución de acetonitrilo al 40 % en agua (10 ml) para eliminar la impureza hidroxil. Después de esto, el primer cartucho de EFS se conectó en serie a un segundo cartucho de EFS (Waters, número de producto WAT036800) y los dos se lavaron con acetonitrilo al 40 % (25 ml) seguido de una corriente de nitrógeno para transferir el [^{18}F]-flurpiridaz en el segundo cartucho y atrapar las impurezas químicas y radioquímicas más lipofílicas. Luego, el segundo cartucho de EFS se eluyó con una solución etanólica al 45 % (7 ml) para eluir el [^{18}F]-flurpiridaz en el vial del producto. El vial de producto de 45 ml estaba compuesto por agua (42 ml), etanol (3 ml) y ácido ascórbico (50 mg/ml).

El rendimiento corregido sin decaimiento fue del (40-44) %, lo que dio como resultado un producto con una CRA de (1700-2000) MBq/ml. La PRQ del producto final fue el (97-98) %. Se observaron dos productos de radiólisis (el 1 % y el (1-2) %, respectivamente).

Ejemplo 5: Síntesis y purificación automatizadas de [^{18}F]-flurpiridaz

Se usó un sintetizador automático FASTlab™ (GE Healthcare Ltd) con casete. El cartucho tC18 se obtuvo de Waters Limited (dirección como arriba). El precursor 1 se hizo reaccionar con [^{18}F]-fluoruro en el FASTlab™ de acuerdo con el ejemplo 3 para proporcionar [^{18}F]-flurpiridaz.

Purificación

La configuración del casete se muestra en la figura 4. Se usan tres viales de disolvente externos en el casete para la purificación por EFS además del vial de formulación:

Posición 9 = 35 % de etanol (o 40 % de acetonitrilo) en agua

Posición 10 = 40 % de etanol (o 45 % de etanol) en agua

Posición 22 = 100 % de etanol

Posición 23 = 23 ml de agua para formulación

Otras posiciones del casete:

Posición 14 = 70 % de etanol en agua (o blanco)

5 Posición 17: Tubo al cartucho tC18 (EFS1) en la posición 18

Posición 18: Cartucho tC18

Posición 19: Tubo al cartucho tC18 (EFS2) en la posición 18

Posición 20: Cartucho tC18

Procedimiento FASTlab™

10 A continuación, P se refiere a la posición del casete. S2 y S3 se refieren a la jeringa 2 y la jeringa 3:

(i) La primera parte del procedimiento de purificación fue el acondicionamiento con llenado completo de S2 con etanol de P22, seguido de un llenado completo de S2 con agua de P15.

(ii) El producto bruto hidrolizado se diluyó con agua hasta un volumen total de 7 ml en S2 y luego se atrapó lentamente en EFS1.

15 (iii) Se lavó EFS1 con 5 x 5 ml de etanol al 35 % (o [10-14] ml de acetonitrilo al 40 %) de la posición 9 a través de S2.

(iv) Se lavaron EFS1 y EFS2 con 3 x 5 ml de etanol al 40 % (o [21-25] ml de acetonitrilo al 40 %) de la posición 10 a través de S2 para transferir [¹⁸F]-flurpiridaz de EFS1 a EFS2.

20 (v) Se eluyó el producto de EFS2 con una solución de etanol al 70 % (o etanol al 45 % si se utiliza el método de acetonitrilo) de P14.

(vi) Se secó EFS2 con un flujo de nitrógeno para garantizar que todo el producto se transfiriera al vial de recogida del producto (figura 4).

Ejemplo 6: Radiosíntesis de [¹⁸F]-flurpiridaz con purificación por EFS a base de MeCN

25 Se produjo [¹⁸F]-fluoruro (aprox. 100 GBq) usando un ciclotrón PETtrace de GE Medical Systems con un objetivo de plata a través de reacción nuclear [¹⁸O](p, n) [¹⁸F]. Se usaron volúmenes objetivo totales de 3.2 ml a 4.8 ml. El radiofluoruro se atrapó en un cartucho de MAQ de Waters (preacondicionado con carbonato) y el fluoruro se eluyó con una solución de hidrogenocarbonato de tetrabutilamonio (22 mg) en agua (100 µl) y acetonitrilo (400 µl). Se usó nitrógeno para conducir la solución del cartucho de MAQ al recipiente de reacción.

30 Se secó [¹⁸F]-fluoruro durante 9 minutos a 120 °C en una corriente constante de nitrógeno y vacío. Se añadió el precursor (10.2 mg) en MeCN (1.7 ml) al [¹⁸F]-fluoruro seco y la mezcla de reacción se calentó a 120 °C durante 10 minutos. El producto bruto se diluyó con agua (5.3 ml) y se cargó en un cartucho tC18 de EFS (Waters, número de producto WAT036800) y se purificó usando el método que se describe a continuación.

35 Se pasó hidróxido de sodio (2 M, aprox. 3 ml) a través del cartucho de EFS a un caudal lento para hidrolizar el producto bruto. Luego, el cartucho de EFS se lavó con una solución acuosa (14 ml) para eliminar el acetonitrilo, el NaOH y las impurezas químicas y radioquímicas hidrofílicas. Luego, el cartucho de EFS se lavó con una solución de acetonitrilo al 40 % en agua (10.5 ml) para eliminar la impureza hidroxilada. Como alternativa, el cartucho de EFS podría lavarse aquí con NaOH en lugar del paso anterior de NaOH o además de este. Después, el primer cartucho de EFS se conectó en serie a un segundo cartucho de EFS (Waters, número de producto WAT036800) y los dos se lavaron con más solución de agua con acetonitrilo al 40 % (24.5 ml) seguido de una corriente de nitrógeno para transferir el [¹⁸F]-flurpiridaz en el segundo cartucho y atrapar las impurezas químicas y radioquímicas más lipofílicas. El segundo cartucho de EFS (opcionalmente lavado antes de la elución con etanol) luego se eluyó con una solución etanólica al 45 % (9 ml, fracción de [3-9] ml recogida en el vial del producto) seguida de agua (4 ml) y una corriente de nitrógeno para eluir el [¹⁸F]-flurpiridaz en el vial del producto.

REIVINDICACIONES

1. Un método que comprende hacer reaccionar un compuesto precursor con ^{18}F -fluoruro en presencia de (2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)óxido (TEMPO) para obtener un compuesto marcado con ^{18}F en donde:

dicho compuesto precursor es de fórmula I:

5 BTM-LIGADOR-GS (I)

en donde:

BTM es un análogo de piridaben;

LIGADOR es un alquileo o un alcoxialquileo; y

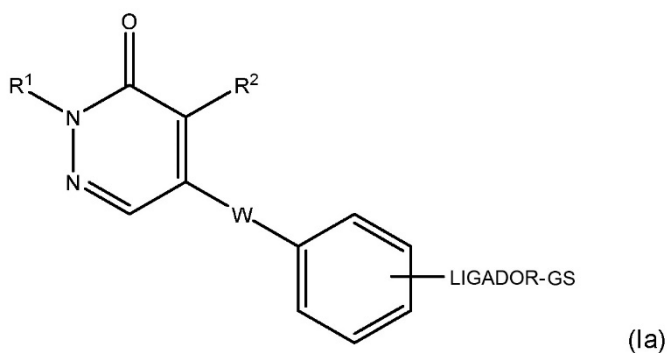
GS es un grupo saliente que contiene sulfonato; y

10 dicho compuesto marcado con ^{18}F es de fórmula II:

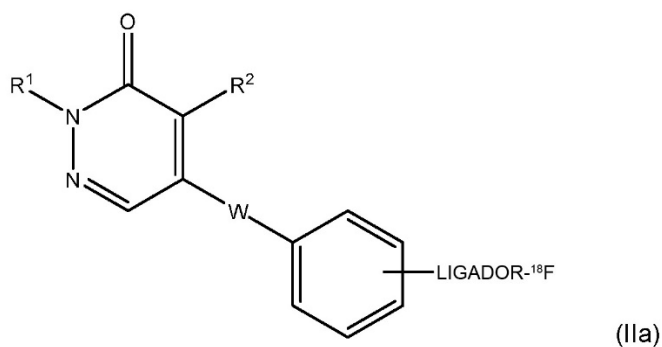
BTM-LIGADOR- ^{18}F (II)

en donde BTM y LIGADOR son como se definen para la fórmula I.

2. El método como se define en la reivindicación 1, en donde dicho compuesto precursor es un compuesto de fórmula Ia:



15 y dicho compuesto marcado con ^{18}F es un compuesto de fórmula IIa:



en donde:

R¹ es un alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido;

R² es hidrógeno o halo;

20 W es un alquileo o heteroalquileo opcionalmente sustituido;

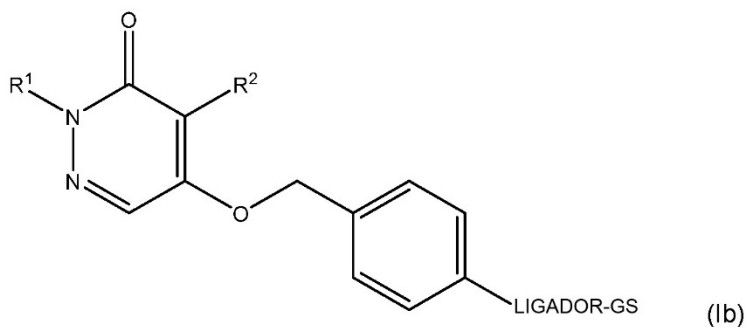
LIGADOR y GS son como se definen en la reivindicación 1.

3. El método como se define en la reivindicación 2, en donde R¹ es alquilo C₁₋₆, preferiblemente metilo, etilo, propilo, n-butilo, s-butilo o t-butilo.

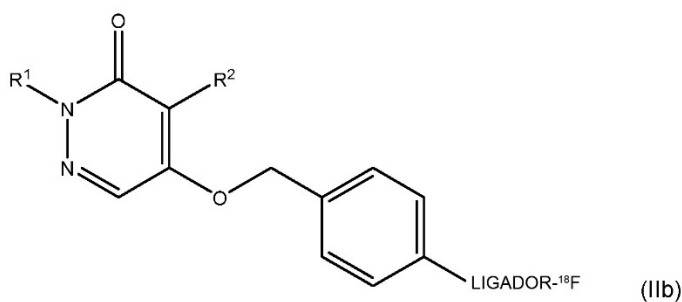
4. El método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 2-3, en donde R² es halo, preferiblemente cloro.

5. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde W es heteroalquileo, preferiblemente alcoxialquileo.

6. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicho compuesto de fórmula I es un compuesto de fórmula Ib:

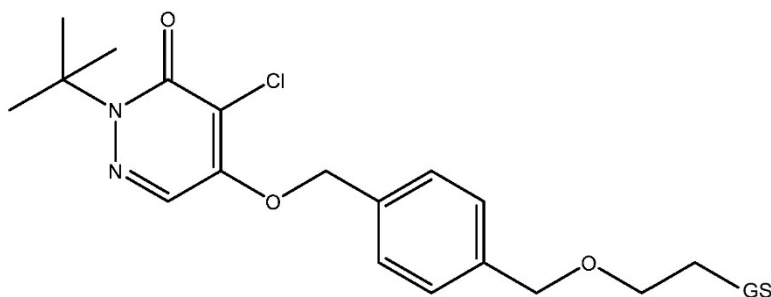


y dicho compuesto de fórmula II es un compuesto de fórmula IIb:



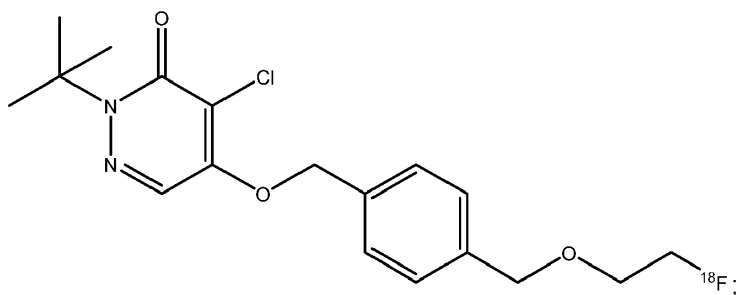
en donde R¹ es como se define en las reivindicaciones 2-3, R² es como se define en las reivindicaciones 2 y 4, y LIGADOR y GS son como se definen en la reivindicación 1.

7. El método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde dicho compuesto de fórmula I es:



en donde GS es como se define en la reivindicación 1;

y dicho compuesto de fórmula II es:



en donde GS se selecciona preferiblemente de mesilato, tosilato, triflato, nosilato o sulfato 1,2-cíclico; y es lo más preferiblemente tosilato.

- 5 8. El método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde dicho TEMPO está presente en una relación molar con respecto al compuesto precursor de entre 0.01:1 y 5:1, preferiblemente entre 0.1:1 y 2:1, lo más preferiblemente entre 0.4: 1 y 0.6:1, en especial preferiblemente alrededor de 0.5:1.
9. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la radiactividad inicial es de al menos 100 GBq, preferiblemente de 100 GBq a 1000 GBq, lo más preferiblemente de 100 GBq a 750 GBq.
10. El método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende, además, la purificación de dicho compuesto marcado con ^{18}F mediante extracción en fase sólida (EFS).
- 10 11. El método como se define en la reivindicación 10, donde se añade un reactivo hidrolizante durante la purificación, en donde dicho reactivo hidrolizante es preferiblemente ácido o alcalino.
12. El método como se define en la reivindicación 11, en donde dicho reactivo hidrolizante ácido es HCl.
13. El método como se define en la reivindicación 11, en donde dicho reactivo hidrolizante alcalino se selecciona de NaOH, NH_4OH , NaOMe.
- 15 14. Un casete para llevar a cabo el método definido en la reivindicación 1 que comprende:
 - i) un recipiente que contiene el compuesto precursor como se define en la reivindicación 1;
 - ii) un recipiente que contiene agua;
 - iii) uno o más cartuchos de EFS;
 - iv) un recipiente que contiene una solución que comprende un disolvente orgánico;
 - 20 v) un recipiente que contiene una solución que comprende etanol;
 - vi) un recipiente que contiene un reactivo hidrolizante;
 - vii) TEMPO contenido en un recipiente o contenido en dicho recipiente que contiene el compuesto precursor;
 - viii) un recipiente de reacción;
 - ix) medios para eluir el recipiente de (i) con una fuente adecuada de ^{18}F ;
 - 25 x) medios para transferir el compuesto precursor y fuente adecuada de ^{18}F al recipiente de reacción;
 - xi) medios para transferir la mezcla de reacción bruta como se define en la reivindicación 1 a dicho o dichos cartuchos de EFS;
 - xii) medios para transferir selectivamente dicha agua, comprendiendo dicha solución un disolvente orgánico y comprendiendo dicha solución etanol a dicho o dichos cartuchos de EFS; y
 - 30 xiii) medios para transferir dicho compuesto purificado de fórmula II como se define en la reivindicación 1 a un vial de recogida de producto.
15. El casete como se define en la reivindicación 14, que además comprende un vial que contiene un reactivo hidrolizante como se define en cualquiera de las reivindicaciones 11-13.

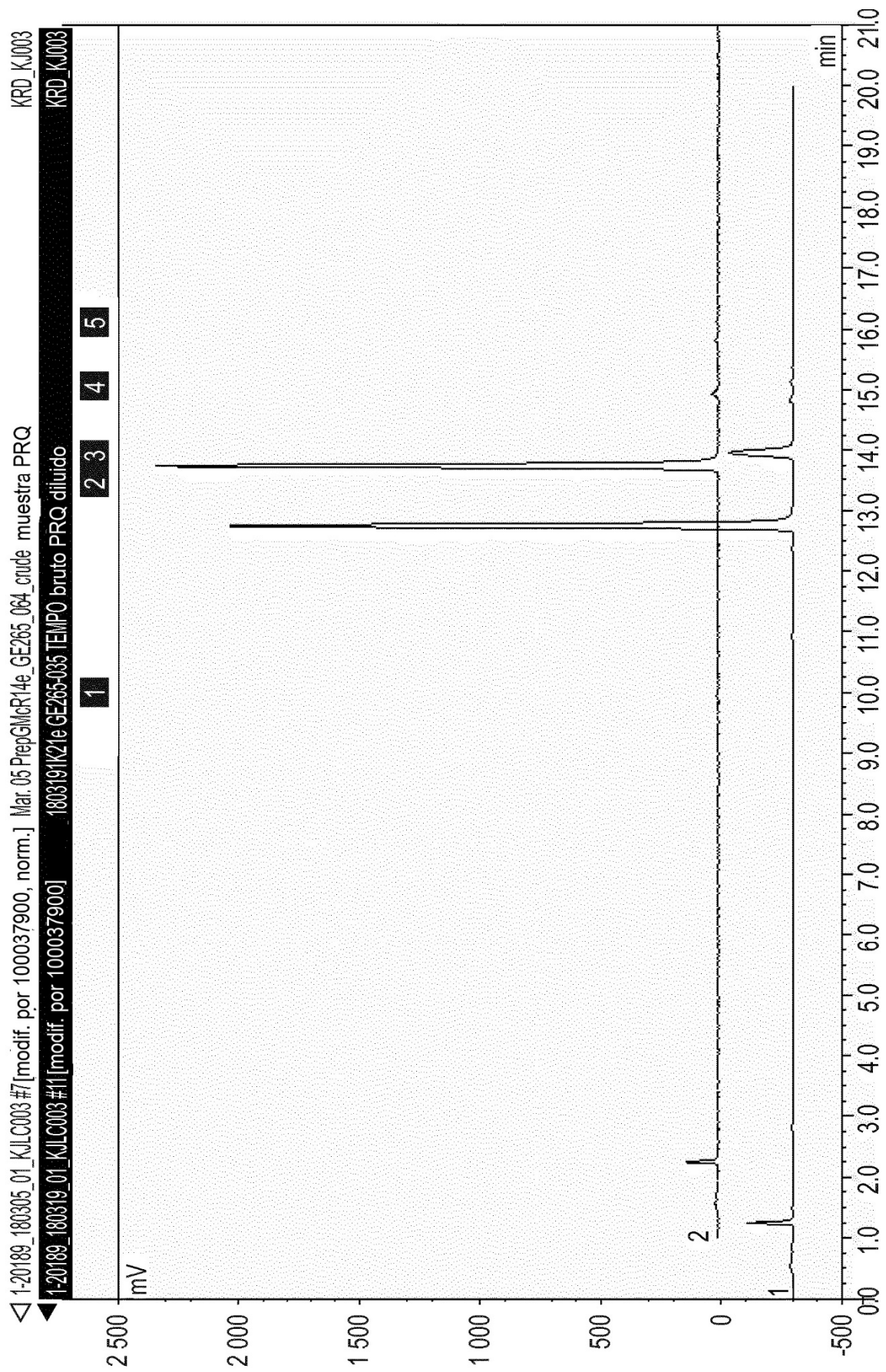


FIG. 1

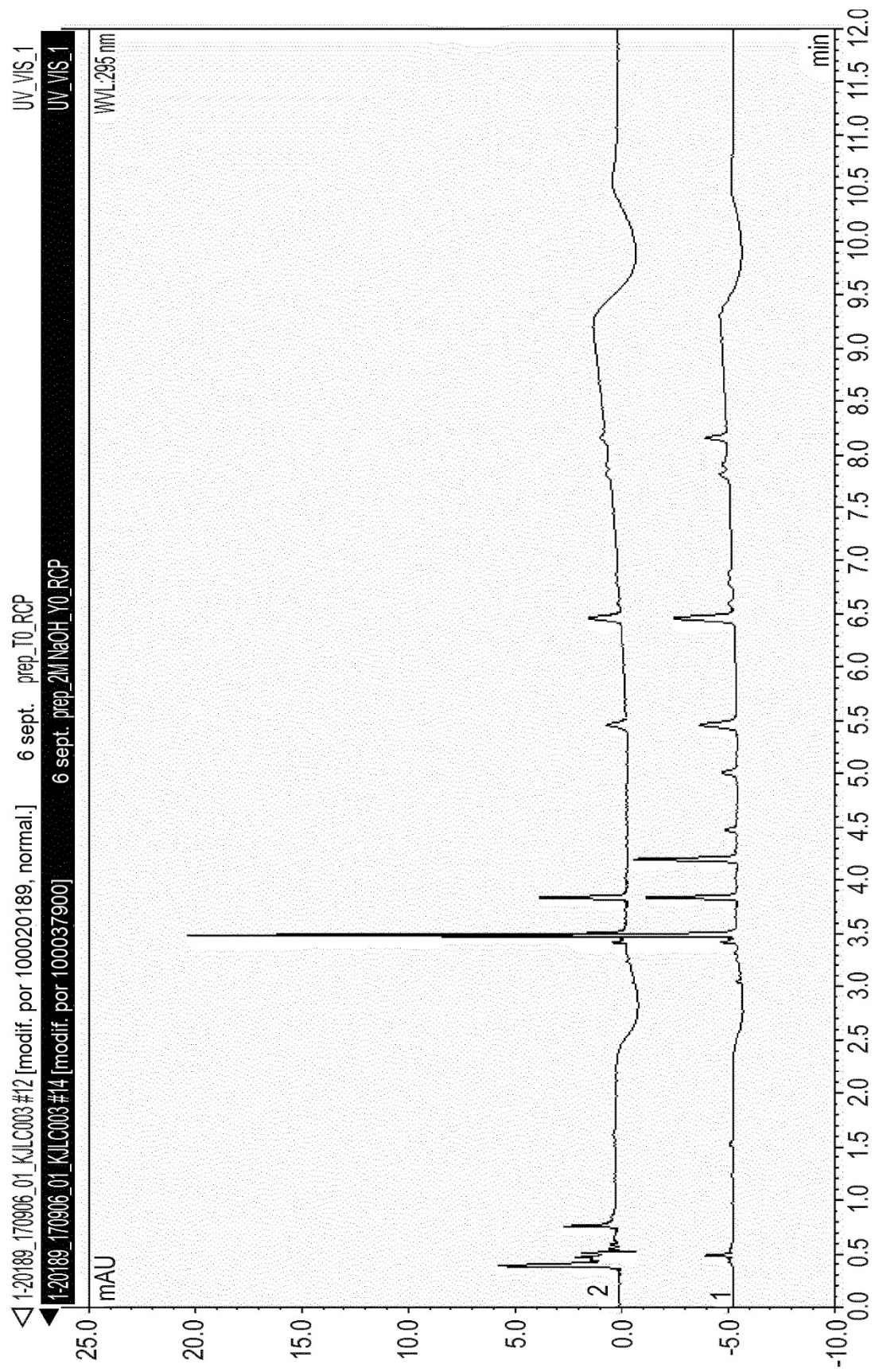


FIG. 2

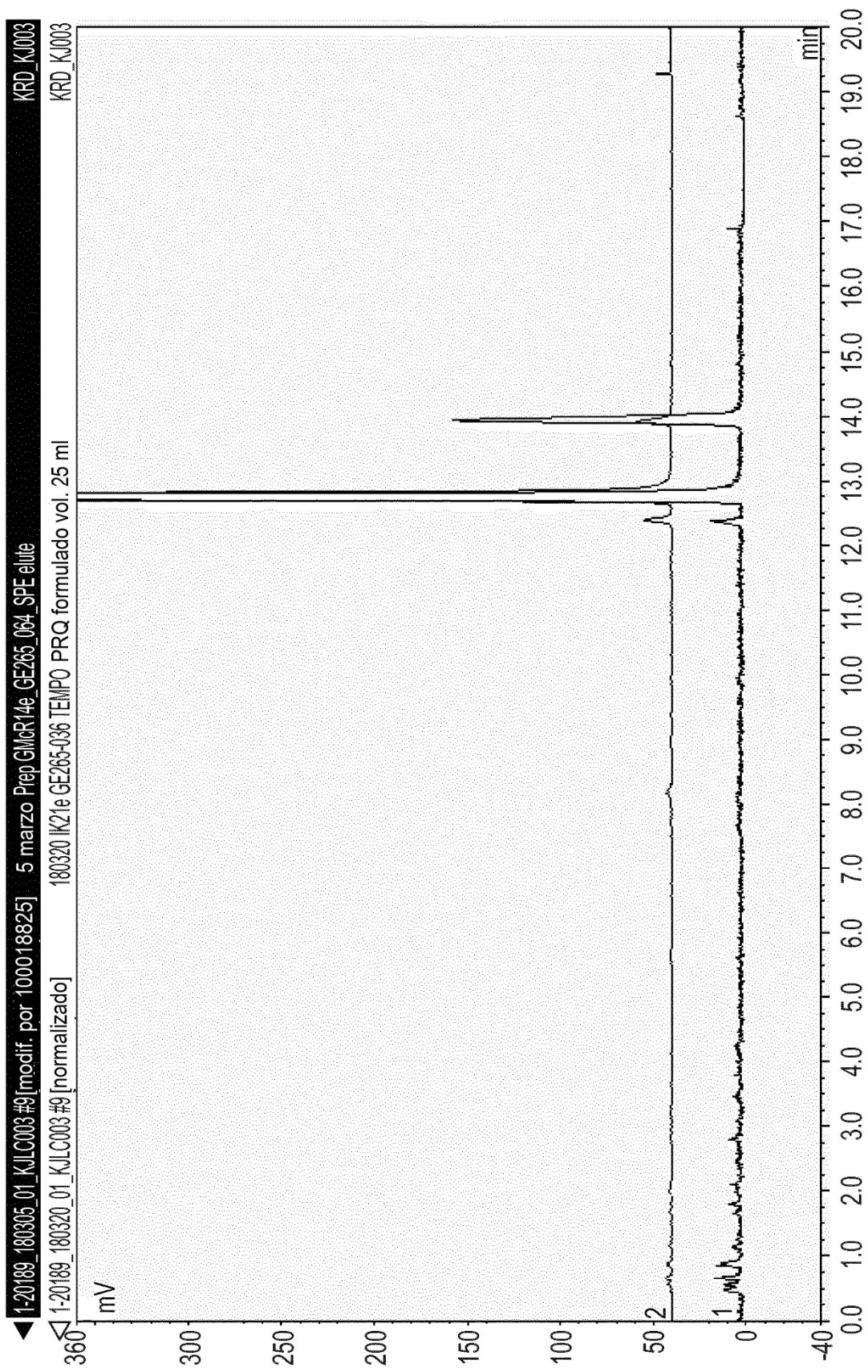


FIG. 3

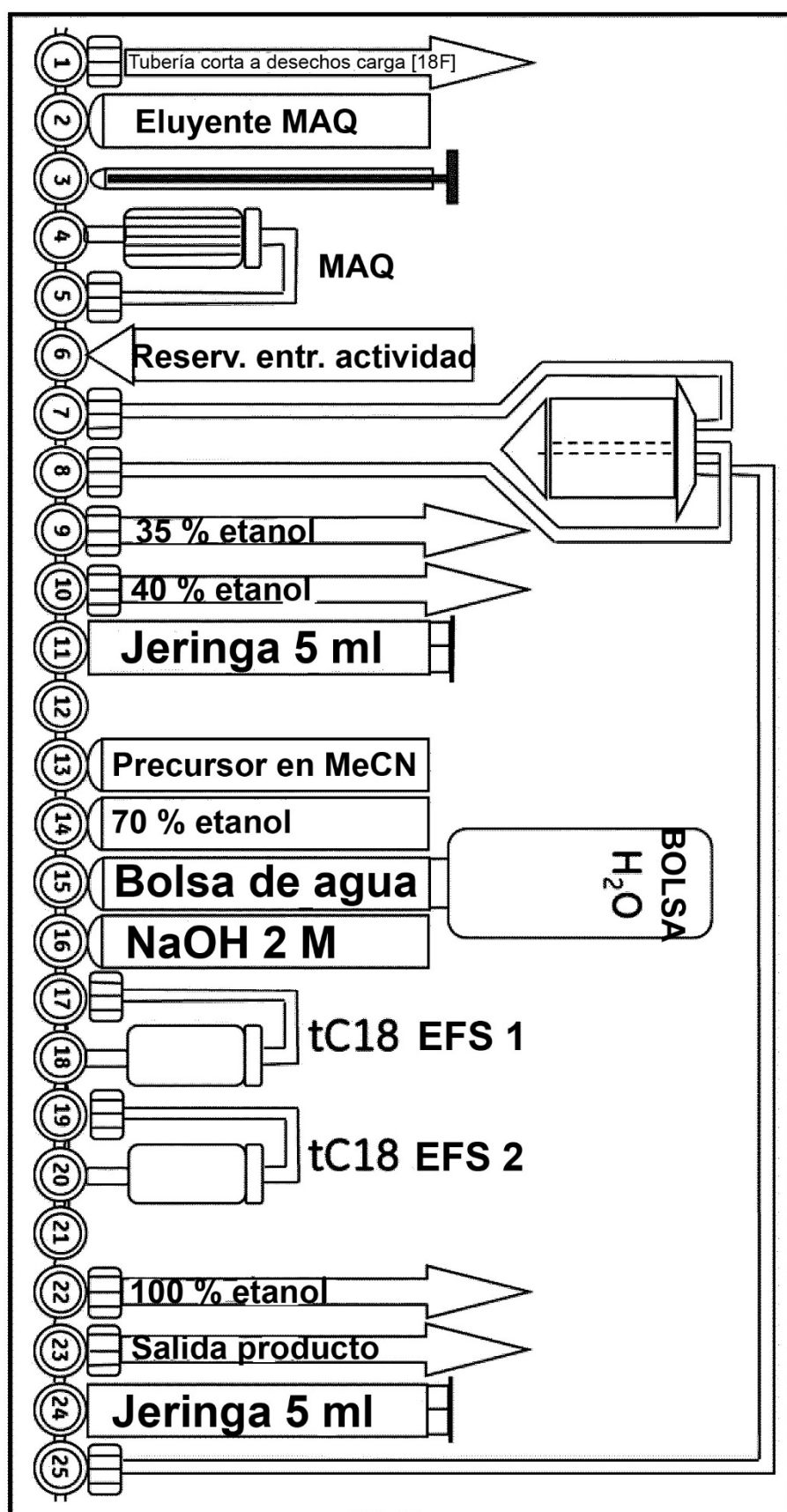


FIG. 4