

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 912 753**

51 Int. Cl.:

C07D 213/81 (2006.01)
C07D 213/82 (2006.01)
C07C 275/16 (2006.01)
C07D 231/14 (2006.01)
C07D 241/24 (2006.01)
C07C 231/02 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.08.2015** **PCT/EP2015/069356**
87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2016** **WO16030329**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.08.2015** **E 15753692 (1)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2022** **EP 3183236**

54 Título: **Método para la producción de ésteres activos marcados con ¹⁸F y su aplicación ejemplificada por la preparación de un marcador de PET específico de PSMA**

30 Prioridad:

24.08.2014 EP 14182053
04.09.2014 EP 14183635

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.05.2022

73 Titular/es:

**MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN (50.0%)
Hofgartenstrasse 8
80539 Munich, DE y
UNIVERSITÄT ZU KÖLN (50.0%)**

72 Inventor/es:

**NEUMAIER, BERND;
ZLATOPOLSKIY, BORIS;
RICHARZ, RAPHAEL y
KRAPF, PHILLIP**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 912 753 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

Método para la producción de ésteres activos marcados con ^{18}F y su aplicación ejemplificada por la preparación de un marcador de PET específico de PSMA

Se describen nuevos procedimientos de radiofluoración eficientes, fiables y que ahorran tiempo para la producción de ésteres activos marcados con ^{18}F mediante sustitución nucleófila de los correspondientes precursores de onio con $^{18}\text{F}^-$. El éster activo que incluye ^{18}F -Py-TFP **3c** y ^{18}F TFB **3a** producido por uno de estos métodos se utilizó para preparar marcadores de PET específicos de PSMA tales como ^{18}F DCFPyL **1-10**. Las ventajas clave de estos métodos de la invención son la eficiencia, el corto tiempo de preparación y la excelente capacidad de automatización. Una composición farmacéutica que contiene al menos un marcador de PET específico de PSMA preparado mediante el método de la invención es útil para la formación de imágenes de tomografía por emisión de positrones (PET), especialmente para la formación de imágenes de tumores de próstata.

Antecedentes de la invención

Entre las tecnologías de formación de imágenes PET (Tomografía por emisión de positrones) juega un papel muy importante debido a su excelente potencial para visualizar procesos fisiológicos a nivel molecular en tiempo real. Por lo tanto, la PET es esencial en el diagnóstico clínico y ha adquirido una gran importancia en el desarrollo de fármacos. Además de las mejoras técnicas, la PET se beneficia principalmente de las innovaciones en el campo del desarrollo de marcadores, que comprenden tanto avances en estrategias de marcaje como un diseño inteligente de sondas moleculares selectivas con capacidad para visualizar dianas moleculares involucradas en procesos fisiológicos y fisiopatológicos. Un requisito previo para esto último es una comprensión más profunda de la biología que subyace a los estados normales o de enfermedad a nivel molecular. Las sondas moleculares para la formación de imágenes PET deben estar marcadas con nucleidos que emiten β^+ adecuados. Entre el espectro de radionucleidos fácilmente disponibles el ^{18}F -fluoruro sigue siendo el nucleido con mayor impacto en la investigación de PET. Esto se basa principalmente en las excelentes propiedades nucleares del ^{18}F en comparación con otros nucleidos producidos por ciclotrones. Características de descomposición del ^{18}F [$E(\beta^+) = 630 \text{ keV}$, abundancia: 97%; $t_{1/2} = 109,8 \text{ min}$] lo convierten en un isótopo PET ideal con respecto a la vida media y la resolución.

Numerosos métodos para el marcaje con ^{18}F se han desarrollado para preparar sondas a medida que permitan visualizar procesos bioquímicos de interés. La gran mayoría de las técnicas de marcaje con ^{18}F se basan en la reacción de sustitución nucleofílica alifática y aromática con $^{18}\text{F}^-$. Algunas veces, las moléculas pequeñas marcadas con ^{18}F se pueden obtener en una sola etapa a partir del precursor de marcaje adecuado. Sin embargo, a menudo se requieren grupos protectores para funcionalidades en la molécula que pueden interferir con la reacción de radiofluoración. Las condiciones de reacción relativamente duras para la radiofluoración normalmente son incompatibles con moléculas sensibles, incluyendo las proteínas y la mayoría de los péptidos. En este caso, la radiofluoración indirecta a través de los grupos prostéticos marcados con ^{18}F son la única alternativa. Los ésteres activos radiofluorados (grupos prostéticos reactivos con amina) se encuentran entre los componentes básicos radiomarcados más utilizados.

En todas las radiosíntesis descritas anteriormente de ésteres activos marcados con ^{18}F , el ^{18}F fluoruro debe absorberse previamente en una solución acuosa o acuoso/orgánica de bases moderadamente fuertes o débiles para dar la correspondiente sal de ^{18}F fluoruro. Normalmente se usan carbonatos/bicarbonatos de K, Cs o tetraalquilamonio. En el caso de las sales de K, se añaden rutinariamente aminopoliéteres para mejorar la nucleofilia de $^{18}\text{F}^-$. En el caso de las sales de Cs y de tetraalquilamonio la mejora de la nucleofilia del $^{18}\text{F}^-$ se logra como resultado de la separación de carga basada en la gran diferencia entre los tamaños de los contraiones. Sin embargo, los ésteres activos tienen una estabilidad limitada en condiciones básicas. En consecuencia, una mayoría de ellos, incluyendo 4- ^{18}F fluorobenzoato de N-succinimidilo (^{18}F SFB) normalmente no se podía preparar en una sola etapa en RCYs aceptables. Solo algunos de ellos tales como el 2,3,5,6-tetrafluorofenil éster del ácido 6- ^{18}F fluoronicotínico (^{18}F -Py-TFP) podría prepararse mediante radiofluoración directa. Además, el agua disminuye sustancialmente la nucleofilia del $^{18}\text{F}^-$ debido a la tenaz hidratación. En consecuencia, la eliminación de agua mediante secado azeotrópico repetitivo con acetonitrilo suele ser obligatoria.

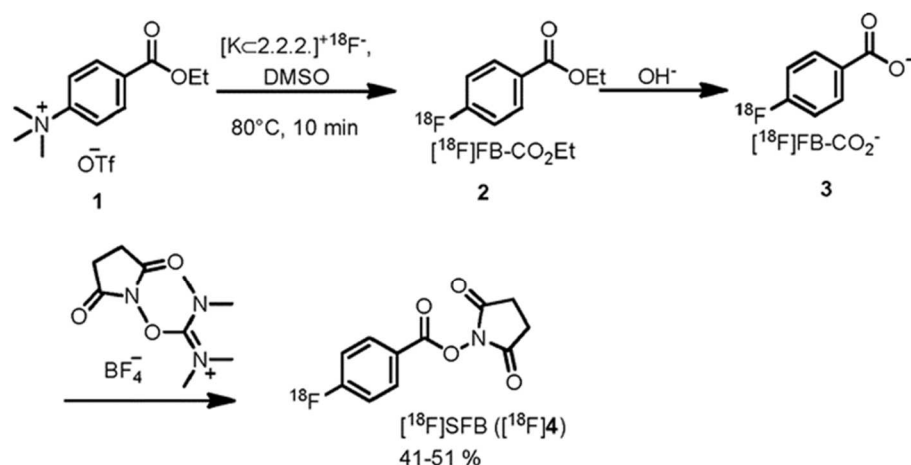
^{18}F SFB se usa más comúnmente para la preparación de biomoléculas radiomarcadas. Sin embargo, su amplia aplicación se ve obstaculizada por los tediosos procedimientos de preparación. Algunos de ellos se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1: Métodos seleccionados para la preparación de [^{18}F]SFB.

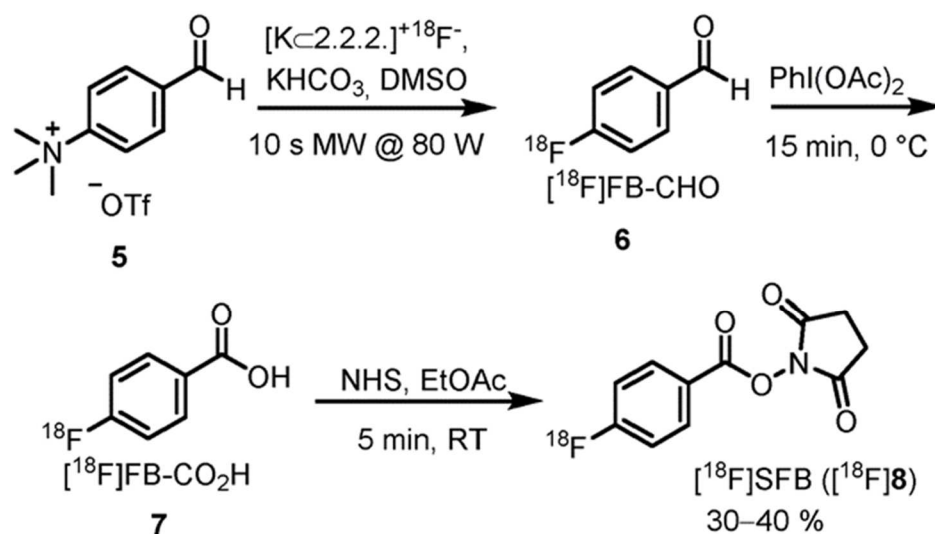
Etapas	Precursor	R	Proceso	Tiempo [min]	RCY [%]	Ref
3		H	3-etapas, 3 recipientes, 3 separaciones (SPE y HPLC)	80	30-35	1
		OEt	3-etapas, 2 recipientes, 2 separaciones (SPE)	78	41-51	2
			3-etapas, 1 recipiente, 1 separación (SPE)	60	44	3
		OtBu	3-etapas, 2 recipientes, 2 separaciones (SPE)	68	34-38	4
2		-	2-etapas, 2 recipientes, 2 separaciones (SPEs o SPE y HPLC)	100 (para 2 SPE); 160 (para SPE y HPLC)	30-40	5

G. Vaidyanathan, M. R. Zalutsky, Nucl. Medicina. Biol. 1992, 19, 275-281.; H.-J. Wester, K. Hamacher, G. Stocklin, Nucl. Med. Biol. 1996, 23, 365-372.; S. Guhlke, H. H. Coenen, G. Stöcklin, Appl. Radiat Isot. 1994, 45, 715-725.; E. D. Hostetler, W. B. Edwards, C. J. Anderson, M. J. Welch, J. Label. Compd. Radiopharm. 1999, 42, S720-S722.; M. Glaser, E. Årstad, S. K. Luthra, E. G. Robins, J. Label Compd. Radiopharm. 2009, 52, 327-330.

Todas las radiosíntesis de [^{18}F]SFB descritas consisten en 2-3 reacciones y múltiples etapas de operación. Por ejemplo, según Wester et al. (Nucl. Med. Biol. 1996, 23, 365-372) [^{18}F]SFB se preparó a través del 4- ^{18}F fluorobenzoato de etilo (Esquema 1).

Esquema 1: Radiosíntesis de [^{18}F]SFB según Wester et al.

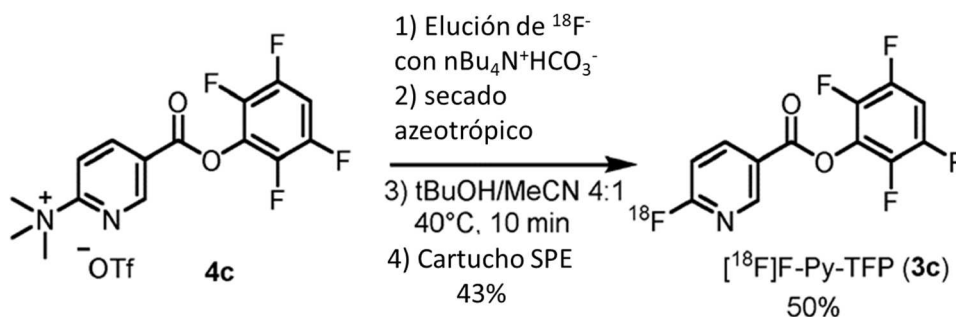
En consecuencia, se añadió agua diana con ^{18}F a una solución de $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ y K2.2.2 (Kryptofix 222) en MeCN acuoso. El disolvente se eliminó a presión reducida en un flujo de nitrógeno y el residuo se secó azeotrópicamente dos veces utilizando MeCN. El residuo se recogió en una solución de triflato de *N,N,N*-trimetil-4-carbometoxianilinio en DMSO. La mezcla de reacción se calentó a 90-110°C durante 10 min. A continuación, se añadió NaOH 1 M y la mezcla se calentó a la misma temperatura durante 10 min más. Posteriormente, se acidificó con HCl 1 M y se diluyó con agua. El intermedio ácido 4- ^{18}F fluorobenzoico se purificó por SPE (extracción en fase sólida) utilizando poliestireno y cartuchos de intercambio catiónico. A continuación, se añadió hidróxido de tetrametilamonio a la solución metanólica del intermedio y se eliminó el MeOH a presión reducida a 90°C. El residuo se secó azeotrópicamente dos veces utilizando MeCN. Se añadió al residuo una solución de TSTA (tetrafluoroborato de (*N,N,N',N'*-tetrametil(succinimido)uronio) en MeCN y la mezcla se calentó a 90°C durante 2 min. [^{18}F]SFB fue finalmente aislado por SPE utilizando una resina de poliestireno.



Esquema 2: Radiosíntesis de $[^{18}\text{F}]$ SFB según Glaser et al.

Glaser et al. (J. Label Compd. Radiopharm. 2009, 52, 327-330) prepararon $[^{18}\text{F}]$ SFB a través de 4- $[^{18}\text{F}]$ fluorobenzaldehído ($[^{18}\text{F}]$ FB-CHO) (Esquema 2). A una solución de K_2CO_3 y K2.2.2 en MeCN acuoso se añadió agua diana irradiada. El disolvente se eliminó a presión reducida en un flujo de nitrógeno y el residuo se secó azeotrópicamente tres veces utilizando MeCN. El residuo se recogió en una solución de triflato de *N,N,N*-trimetil-4-formilaniolinio en DMSO o DMF. La mezcla de reacción se calentó brevemente usando energía de microondas. La mezcla se transfirió a un cartucho de gel de sílice y la mayor parte del disolvente se eliminó lavando con nitrógeno. El intermedio $[^{18}\text{F}]$ FB-CHO se eluyó fraccionadamente utilizando acetato de etilo anhidro. Una fracción (0,5 ml) se enfrió a 0°C. Se añadió diacetato de yodobenceno (BAIB), la mezcla se agitó a 0°C durante 15 min y se dejó alcanzar la temperatura ambiente durante 5 min. Se decantó y el sobrenadante se purificó mediante SPE o HPLC para producir $[^{18}\text{F}]$ SFB en solución de EtOAc/hexano. Antes de que el $[^{18}\text{F}]$ SFB se pueda usar para marcar las proteínas o péptidos insolubles en EtOAc/hexano, debe recogerse en un solvente miscible en agua.

Además, la alta hidrofobicidad del grupo fluorobenzoilo limita su aplicación para el marcaje de moléculas pequeñas y péptidos más cortos. Por lo tanto, se propusieron varias alternativas a SFB. La más interesante es el 2,3,5,6-tetrafluorofenil éster del ácido 6- $[^{18}\text{F}]$ fluoronicotínico ($[^{18}\text{F}]$ F-Py-TFP) publicado por primera vez por Olberg et al. (J. Med. Chem. 2010, 53, 1732-1740). El $[^{18}\text{F}]$ F-Py-TFP podría prepararse utilizando un procedimiento de una sola etapa con un rendimiento radioquímico moderado (RCYs) del 40-50% (Esquema 3). Además, $[^{18}\text{F}]$ F-Py-TFP es más hidrolíticamente estable en comparación con $[^{18}\text{F}]$ SFB. Además, proporciona conjugados radiomarcados más hidrofílicos.

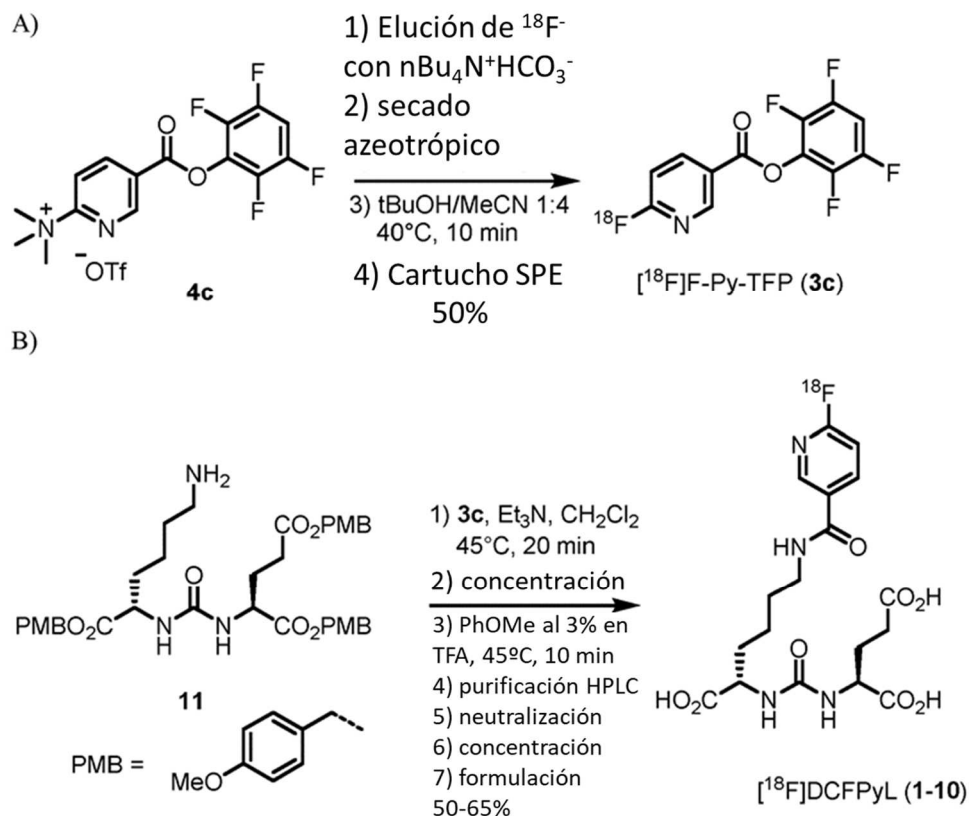


Esquema 3: Preparación de $[^{18}\text{F}]$ F-Py-TFP según Olberg et al.

Según Olberg et al. el ^{18}F se fijó en una resina de intercambio aniónico. Posteriormente, se eluyó con una solución de bicarbonato de tetrabutilamonio en MeCN al 50%. El disolvente se eliminó a presión reducida en un flujo de nitrógeno y el residuo se secó azeotrópicamente dos veces utilizando MeCN. Después de eso, una solución del precursor respectivo, trifluorometanosulfonato de *N,N,N*-trimetil-5-[(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)-carbonil]piridin-2-amino **4c**, en MeCN/*t*BuOH 2:8 se añadió al $[^{18}\text{F}]$ TBAF y la mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 10 min para dar $[^{18}\text{F}]$ F-Py-TFP **3c** en un RCY del 50%. El $[^{18}\text{F}]$ F-Py-TFP se purificó mediante SPE en una resina de intercambio catiónico de fase inversa de modo mixto. Este método sintético incluye etapas de secado azeotrópico. Estas etapas de preparación provocan un tiempo de síntesis más largo y esto da como resultado RCYs más bajos de $[^{18}\text{F}]$ F-Py-TFP **3c**. Además, la formación de $[^{18}\text{F}]$ F-Py-TFP se acompaña de la formación simultánea de cantidades significativas de 6-(2,3,5,6-

tetrafluorofenoxi)nicotinato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo que debe separarse completamente del éster activo radiomarcado mejor por HPLC.

En los últimos años, la obtención de imágenes del carcinoma de próstata (PCa) con ligandos de PSMA marcados con isótopos PET ha adquirido una importancia considerable en el diagnóstico clínico. Esto se puede atribuir principalmente a la alta expresión del antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) extracelular localizado en el PCa. Los ligandos que portan el motivo de unión a syL-C(O)-Glu muestran una alta afinidad de unión a PSMA. Pomper et al. (documento de Patente WO2010/01493; clin. Cancer Res. 2011, 17, 7645-7653) aprovecharon esta estructura principal para preparar el ácido 2-(3-{1-carboxi-5-[(6-[^{18}F]fluoro-piridin-3-carbonil)-amino]-pentil}-ureido)-pentanodioico ([^{18}F]DCFPyL) (Esquema 4). Este marcador de PET proporcionó una delimitación clara de los xenoinjertos de tumores de próstata positivos para PSMA en ratones con una excelente relación entre el tumor y el fondo.



Esquema 4: Preparación de [^{18}F]DCFPyL según Pomper et al.

Pomper et al. prepararon [^{18}F]DCFPyL en tres etapas. Primero, [^{18}F]F-Py-TFP se sintetizó según lo reportado por Olberg et al. (J. Med. Chem. 2010, 53, 1732-1740). El [^{18}F]F-Py-TFP se eluyó de la resina con diclorometano en un vial que contenía 2-[[{6-amino-1-[(4-metoxifenil)metoxi]-1-oxohexan-2-il]carbamoil)amino]pentanodioato de 1,5-bis(4-metoxifenil)metilo [H-DUPA(OPMB) $_3$] y trietilamina **11** (Esquema 4). La mezcla de reacción se calentó a 45°C durante 20 min. A continuación, se eliminó el disolvente con una corriente de nitrógeno. Se añadió anisol en TFA, la mezcla de reacción se calentó a 45°C durante 10 min más y el producto deseado se aisló mediante HPLC usando MeCN al 10 % (TFA al 0,1 %). La fracción que contiene [^{18}F]DCFPyL se neutralizó con bicarbonato de sodio, se concentró a sequedad bajo presión reducida y se reconstituyó en PBS para dar [^{18}F]DCFPyL en un RCYs del 50-65%. Las desventajas del método mencionado anteriormente son:

- Aplicación de diclorometano como disolvente.
- Dos etapas de evaporación
- Etapa de desprotección de PMB usando TFA tóxico (Esquema 4B etapa 3)
- Etapa de neutralización
- Etapa de formulación

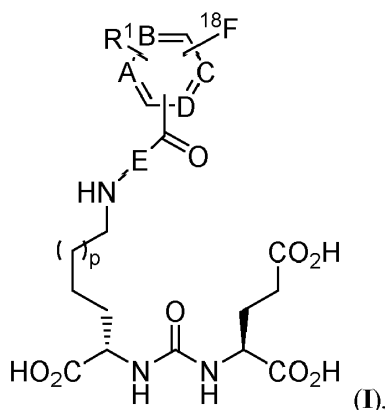
El objetivo de la presente invención es proporcionar un método de la invención para la preparación de un marcador de PET selectivo de PSMA para la formación de imágenes de tumores de próstata que comprende un procedimiento

simplificado para la preparación rápida y de alto rendimiento de ésteres activos marcados con ^{18}F . También se describe una composición farmacéutica, que no pertenece al objetivo de la invención, que contiene al menos un compuesto (I) preparado por el método de la invención para su uso en la formación de imágenes mediante tomografía por emisión de positrones (PET), especialmente imágenes de tumores de próstata.

- 5 El objetivo de la presente invención se resuelve mediante las enseñanzas de las reivindicaciones independientes. Otras características, aspectos y detalles ventajosos de la invención son evidentes a partir de las reivindicaciones dependientes, la descripción, las figuras y los ejemplos de la presente solicitud.

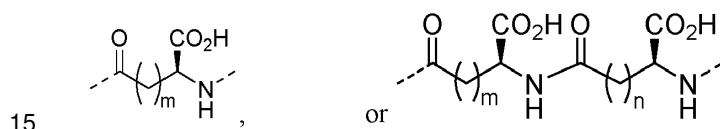
Descripción de la invención

- 10 La presente invención se refiere a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I) como se define en las reivindicaciones:



en donde **A**, **B**, **C**, y **D** representan independientemente entre sí C-H, C-F, C-Cl o N; y no más de dos de **A**, **B**, **C**, y **D** representan N;

E representa un enlace covalente,



; en donde

R¹ representa un alquilo de C₁-C₃, alcoxi de C₁-C₃, haloalquilo de C₁-C₃, tioalquilo de C₁-C₃, haloalcoxi de C₁-C₄, alquilcarbonilo de C₁-C₄, alquiloxicarbonilo de C₁-C₄, alquilcarboxi de C₁-C₄, arilo, arilcarboxi, halógeno, preferiblemente Cl o Br; trifluorometilo, perfluoroalquilo, ciano o nitro;

- 20 **n** es 2;

m es 2 o 3;

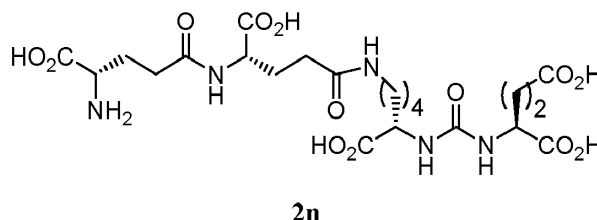
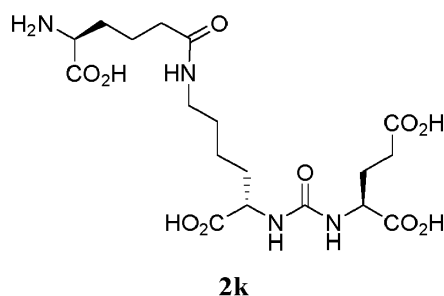
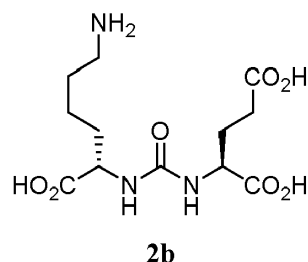
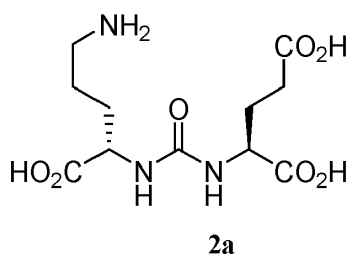
p es 0 o 1;

y los diastereoisómeros, enantiómeros, hidratos y sales de los mismos.

La presente invención proporciona un método para preparar la fórmula (I) como se define en las reivindicaciones.

- 25 En otra realización de la invención, los compuestos (II) se usan como precursores directos del compuesto de fórmula (I).

Según la presente invención, un compuesto de fórmula (II) se selecciona del grupo que comprende los compuestos 2a, 2b, 2k y 2n:



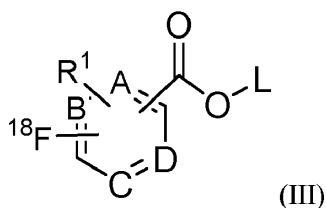
e hidratos y sales de los mismos.

- 5 En realizaciones adicionales de la invención, el compuesto de fórmula (I) o (II), la sal se selecciona del grupo que comprende acetato, trifluoroacetato, tosilato, mesilato, triflato, cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, hidrosulfato, nitrato, perclorato, sales de litio, sodio, potasio, cesio, trialquilil-, tetraaril-, tri- y tetraalquilamonio.

Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar utilizando procedimientos conocidos en la técnica. En general, los materiales utilizados estarán determinados por la estructura deseada y el tipo de enlace utilizado. Normalmente, la síntesis de los compuestos se inicia mediante la preparación de unidades de farmacóforo de urea, tal como los compuestos de lisina-urea-glutamato, por ejemplo, como se describe por Maresca et al. (J. Med. Chem., 2009, 52 (2), págs. 347-357). También se pueden usar otros compuestos basados en urea-glutamato como bloques de construcción. Los compuestos II se pueden preparar fácilmente mediante reacciones entre aminas y ácidos carboxílicos activados o ésteres activos, tal como un anhídrido de acilo y un haluro de acilo o N-hidroxisuccinimida y el éster de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo. Los ácidos carboxílicos también pueden activarse in situ, por ejemplo, con reactivos de acoplamiento, tales como carbodiimidas, sales de fosfonio y uronio derivadas de benzotriazol, 7-azabenzotriazol, succinimida o carbonildiimidazol (CDI). Los ésteres activos pueden formarse por reacción entre alcoholes y ácidos carboxílicos activados.

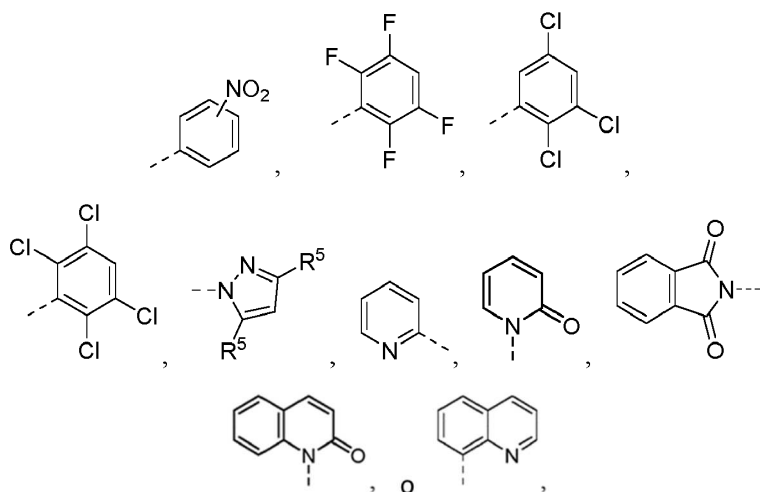
Se pueden usar grupos protectores, si es necesario, para proteger los grupos reactivos mientras se ensamblan los compuestos. Los grupos protectores adecuados y las condiciones para su eliminación estarán fácilmente disponibles para los expertos en la materia. De esta forma, los compuestos se pueden preparar fácilmente a partir de bloques de construcción individuales, tales como aminas, ácidos carboxílicos y aminoácidos (véanse los ejemplos 15-18).

En realizaciones adicionales de la presente invención, el precursor directo del compuesto de fórmula (I) es adecuado para acoplarse a un compuesto de fórmula (III), opcionalmente en un disolvente prótico anhidro, preferiblemente en un alcohol de C₂-C₅, preferiblemente etanol en donde la fórmula (III) es



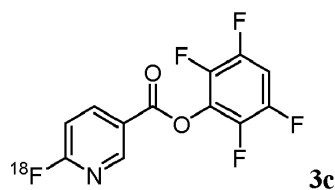
en donde **A**, **B**, **C**, **D** y **R¹** tienen los significados definidos anteriormente, y

OL representa un grupo saliente, en el que opcionalmente el resto L del grupo saliente OL en la fórmula (III) representa preferiblemente:

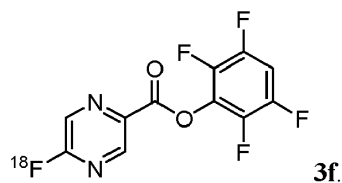


5

y en donde R^5 se selecciona de metilo, etilo o n-propilo, en donde además opcionalmente el compuesto (III) se selecciona del grupo que comprende:

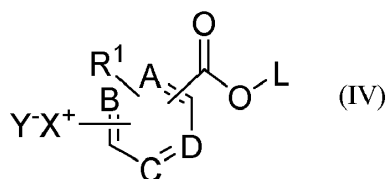


o



10

En una realización el método de la presente invención comprende la aplicación del precursor de la sal de onio (IV) según las reivindicaciones



en donde

15 **A, B, C, D, OL** y R^1 tienen los mismos significados definidos anteriormente;

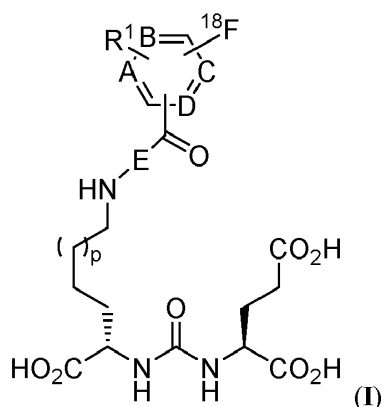
X representa NR^2 , IR^3 , SR^2 ;

Y representa Br, I, BF_4 , O_2CCF_3 , OSO_2CF_3 , ClO_4 , NO_2 , $OSO_2C_6H_4CH_3$, OSO_2CH_3 ;

R^2 representa un alquilo de $C_1 - C_4$; y

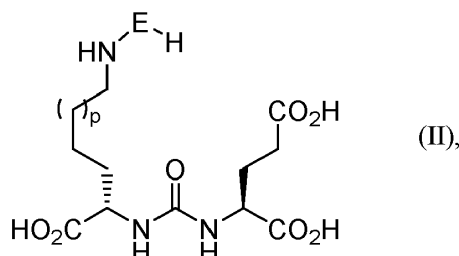
R^3 representa un arilo.

20 La presente invención también se refiere a un método para preparar un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente,

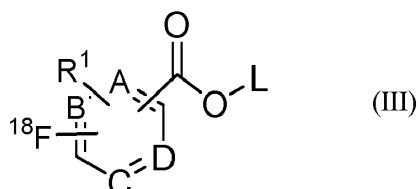


que comprende las etapas:

(A) proporcionar una solución de un compuesto de fórmula (II) como se define anteriormente en un disolvente polar prótico, preferiblemente en EtOH, o en una mezcla de disolventes que contiene un disolvente polar prótico que contiene al menos una base, preferiblemente en Et₄NHCO₃;



(B) proporcionar una solución de un compuesto de fórmula (III) como se define anteriormente



en un disolvente prótico polar, preferiblemente en EtOH, o en una mezcla de disolventes que contenga un disolvente prótico polar;

(C) mezclar la solución del compuesto de fórmula (II) y la solución del compuesto de fórmula (III) y dejar que el compuesto de fórmula (II) reaccione con el compuesto de fórmula (III) para obtener el compuesto de fórmula (I),

(D) purificar el compuesto de fórmula (I), preferiblemente usando una solución isotónica de cloruro de sodio.

La presente invención también se refiere a un método como se definió anteriormente, en donde la etapa (C) se realiza a una temperatura de reacción T₂ que está en el intervalo de 30°C a 60°C, preferiblemente de 20°C a 60°C, en donde el tiempo de reacción t₂ de la etapa (C) es opcionalmente de 1-30 min, y en donde el valor de pH de la solución de reacción en la etapa (C) está opcionalmente en el intervalo de 7,0-11,0.

La presente invención también se refiere a un método como se define anteriormente, en el que el compuesto de fórmula (III) no requiere purificación mediante HPLC,

y/o en el que el método no comprende la aplicación de una base y cualquier otro aditivo, tal como los compuestos activadores comúnmente conocidos, tales como Kryptofix o 18-corona-6 u otras sustancias conocidas en la técnica; y/o en donde el método comprende la aplicación de solo el precursor de la sal de onio (IV) y [¹⁸F]fluoruro; y/o en el que el método no comprende ninguna etapa de secado azeotrópico; y/o en el que el método no requiere ninguna de evaporación.

La presente invención también se refiere a un método como se define anteriormente, en el que el compuesto de fórmula (I) no requiere purificación mediante HPLC, y en el que el método comprende la aplicación de disolventes benignos para el medio ambiente tal como el etanol (en lugar del diclorometano o el acetonitrilo que se utilizan, por ejemplo, según el método de Pomper/Mease); y/o en el que el método no comprende ninguna etapa de evaporación;

y/o en el que el método no requiere ninguna etapa de desprotección, en donde dichas etapas de desprotección pueden ser etapas de desprotección de p-metoxibencilo (PMB) o *t*Bu usando una mezcla de anisol/TFA; y/o en el que el método no requiere una etapa de neutralización (tal como se describe según el método de Pomper/Mease); y/o en donde el método no requiere una etapa de formulación.

5 El uso de disolventes tóxicos es una desventaja particular de los métodos de la técnica anterior y se evita en los métodos de la invención. La presente invención no requiere el uso de disolventes tóxicos, por ejemplo, diclorometano o acetonitrilo.

10 También se describe un método como se define anteriormente, que no pertenece al objetivo de la invención, que comprende además la siguiente etapa (E) después de la etapa (D), en el que la etapa (E) es la esterilización de la solución del compuesto de fórmula (I) mediante filtración estéril.

También se describe un método como se define anteriormente, que no pertenece al objetivo de la invención, que comprende además las etapas (A1) - (A8) como se define anteriormente después de la etapa (A) y antes de la etapa (B).

También se describe un método como se define anteriormente, que no pertenece al objetivo de la invención, que comprende además la siguiente etapa (F) después de la etapa (D) o (E): (F)

15 preparando una composición farmacéutica que contiene la solución del compuesto de fórmula (I).

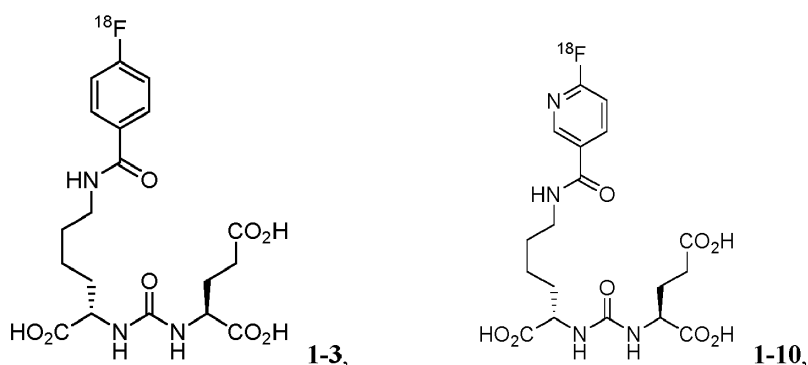
También se describe un método como se define anteriormente, que no pertenece al objetivo de la invención, en donde la base en la etapa (A) es una base orgánica que contiene nitrógeno o un bicarbonato, en donde el bicarbonato es preferiblemente un bicarbonato de amonio cuaternario o hidrogenofosfato.

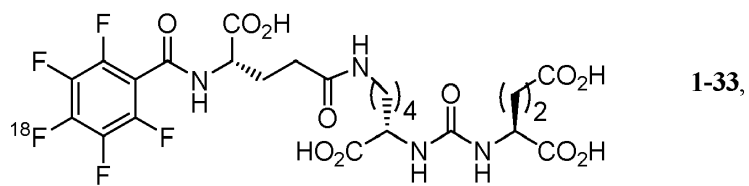
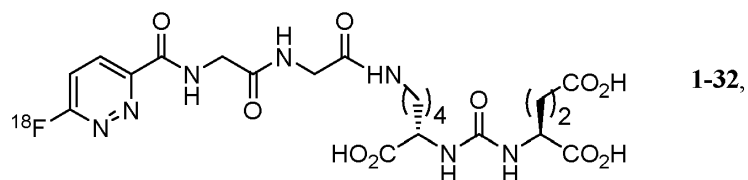
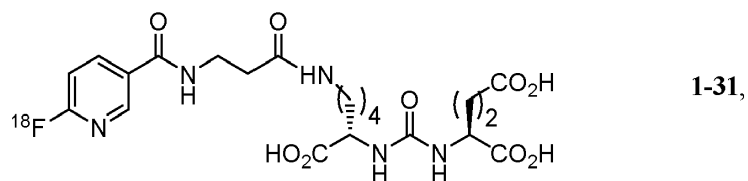
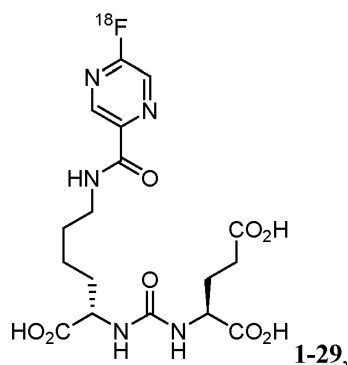
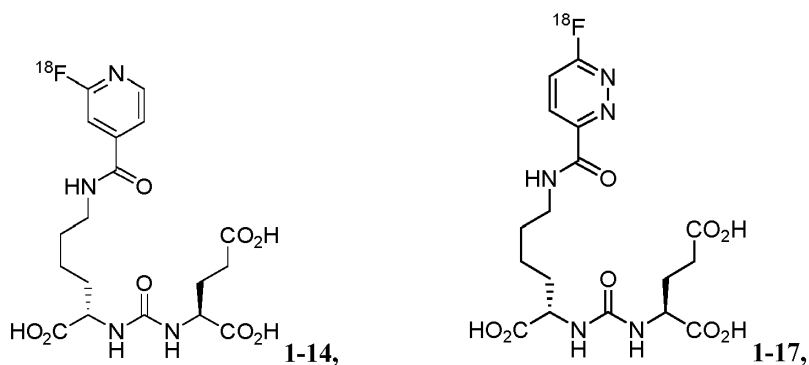
También se describe un método como se define anteriormente, que no pertenece al objetivo de la invención, en el que la base orgánica que contiene nitrógeno o el bicarbonato se seleccionan del grupo que comprende: LiHCO_3 , NaHCO_3 , KHCO_3 , CsHCO_3 , Me_4NHCO_3 , Me_4NHPO_4 , Et_4NHCO_3 , Et_4NHPO_4 , $n\text{-Pr}_4\text{NHCO}_3$, $n\text{-Pr}_4\text{NHPO}_4$, $i\text{-Pr}_4\text{NHCO}_3$, $n\text{-Bu}_4\text{NHCO}_3$, $n\text{-Bu}_4\text{NHPO}_4$, $\text{BzIme}_3\text{NHCO}_3$, $\text{BzIme}_3\text{NHPO}_4$, $\text{BzIet}_3\text{NHCO}_3$, $\text{BzIet}_3\text{NHPO}_4$, $\text{BzIbu}_3\text{NHCO}_3$, $\text{BzIbu}_3\text{NHPO}_4$, Et_3N , piridina, lutidina, colidina, diisopropiletilamina, $n\text{-Pr}_3\text{N}$, $i\text{-Pr}_3\text{N}$, $n\text{-Bu}_3\text{N}$, $i\text{-Bu}_3\text{N}$, Oct_3N , $N\text{-etil-morfolina}$, $N\text{-etil-morfolina}$, $N\text{-metilpiperidina}$, $N\text{-etilpiperidina}$, $N,N\text{-diciclohexilmetilamina}$, $N,N\text{-dimetilciclohexilamina}$, $N\text{-metil-dibutilamina}$, $N\text{-etil-diciclohexilamina}$, $N,N\text{-dimetilbutilamina}$ y $N,N\text{-dimetilhexilamina}$.

También se describe un método como se define anteriormente, que no pertenece al objetivo de la invención, en el que el ^{18}F fluoruro se atrapa en una resina de intercambio aniónico y luego se eluye directamente.

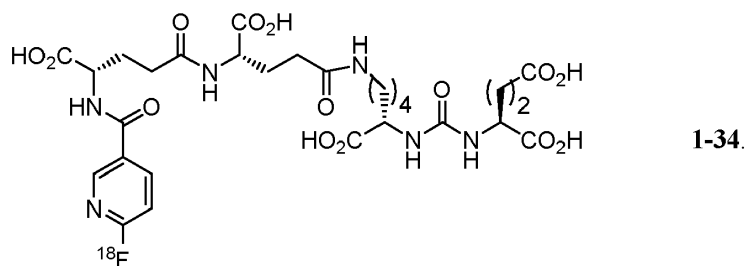
También se describe un método como se define anteriormente, que no pertenece al objetivo de la invención, en el que el alcohol de C₃ - C₆ es tBuOH.

30 La presente invención también se refiere a un método como se define anteriormente, en el que el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en los compuestos 1-3, 1-10, 1-14, 1-17, 1-29, 1-31, 1-32, 1-33 y 1-34:





y



Se prefiere que **A** o **B** o **C** o **D** sea nitrógeno y los otros sustituyentes sean CH o CF. Son más preferidos los compuestos en los que **A** y **B** son nitrógeno y **C** y **D** son CH o CF o en donde **B** y **C** son nitrógeno y **A** y **D** son CH o CF o en donde **C** y **D** son nitrógeno y **A** y **B** son CH o CF o en donde **A** y **D** son nitrógeno y **B** y **C** son CH o CF o en donde **A** y **C** son nitrógeno y **B** y **D** son CH o CF o en donde **B** y **D** son nitrógeno y **A** y **C** son CH o CF o en donde **A**,

B, C, D son CH o en donde **A, B, C, D** son CF.

Una realización se refiere a uno cualquiera de los métodos descritos anteriormente, en donde la base de la etapa (A) es una base orgánica que contiene nitrógeno o un bicarbonato. La base orgánica que contiene nitrógeno es preferiblemente una base de monoalquilamina, dialquilamina, trialquilamina o amonio, especialmente una base de tetraalquilamonio y más preferiblemente una base de trialquilamina o tetraalquilamonio, en donde el término "trialquilamina" y el término "tetraalquilamonio" incluyen también aminas cíclicas e iones de amonio cíclicos tales como N-etilmorfolina y N-metilpiperidina. Dicha base orgánica que contiene nitrógeno o dicho bicarbonato se selecciona preferiblemente del grupo que comprende o consiste en: Me₄NHCO₃, Et₄NHCO₃, n-Pr₄NHCO₃, i-Pr₄NHCO₃, n-Bu₄NHCO₃, i-Bu₄NHCO₃, Et₃N, piridina, lutidina, colidina, diisopropiletilamina, n-Pr₃N, i-Pr₃N, n-Bu₃N, i-Bu₃N, Oct₃N, N-metil-morfolina, N-etilmorfolina, N-metilpiperidina, N-etilpiperidina, N,N-diciclohexilmetilamina, N,N-dimetilciclohexilamina, N-metildibutilamina, N-etildiciclohexilamina, N,N-dimetilbutilamina, y N,N-dimetilhexilamina. Dicho bicarbonato se puede seleccionar del grupo que comprende o consiste en: LiHCO₃, NaHCO₃, KHCO₃, CsHCO₃, Me₄NHCO₃, Et₄NHCO₃, n-Pr₄NHCO₃, y n-Bu₄NHCO₃; y preferiblemente de Me₄NHCO₃, Et₄NHCO₃, n-Pr₄NHCO₃, y n-Bu₄NHCO₃ o puede ser como se define anteriormente.

En una realización, dicho método comprende la etapa (C), en donde la etapa (C) se realiza a una temperatura de reacción T2 que está en el intervalo de 20°C a 130°C, preferiblemente de 20°C a 100°C, más preferiblemente más preferentemente de 30°C a 80°C, lo más preferentemente de 20°C a 60°C o de 30°C a 60°C y durante un tiempo de reacción t2 que está en el intervalo de 0,1 a 40 min, preferiblemente de 0,1 a 30 min, más preferiblemente de 0,5 - 15 min, lo más preferiblemente de 1 - 10 min y a un valor de pH de la solución de reacción que está en el intervalo de 7,0 a 11,0. Más preferiblemente, la etapa (C) se realiza durante un tiempo de reacción t2 de 1 a 5 minutos a un valor de pH de 7,0 a 11,0. Aún más preferiblemente, la etapa (C) se realiza durante un tiempo de reacción t2 de 1 a 5 minutos a un valor de pH de 7,0 a 11,0 y a una temperatura de reacción T2 en el intervalo de 20°C a 80°C y más preferiblemente en el intervalo de 30°C a 60°C.

En la etapa (D), se prefiere purificar el compuesto de fórmula (I) mediante HPLC preparativo. Como eluyente, la solución salina puede ser adecuada para purificar el compuesto de fórmula (I). Dicha solución salina es la solución isotónica preferida de cloruro de sodio que contiene un 0,90 % (peso/volumen, 9 g/1000 ml) de cloruro de sodio. Opcionalmente, dicha solución salina puede contener además del 5 al 15 % (volumen/volumen) de EtOH.

Alternativamente, se puede usar una solución tamponada con fosfato para purificar el compuesto de fórmula (I). La solución tamponada con fosfato normalmente comprende fosfato de sodio, fosfato de potasio y/o ácido fosfórico. Opcionalmente, dicha solución tamponada con fosfato comprende además cloruro de sodio y/o cloruro de potasio. Preferiblemente, la osmolaridad y la concentración de iones de dicha solución tamponada con fosfato coinciden con las del cuerpo humano (isotónica). El valor de pH de dicha solución tamponada con fosfato está en el intervalo de 2,0 a 9,0, preferiblemente de 4,0 a 8,0, más preferiblemente de 6,0 a 8,0 y lo más preferiblemente de 7,0 a 7,8. Por ejemplo, se puede usar PBS (solución salina tamponada con fosfato) para purificar el compuesto de fórmula (I).

Esta etapa de purificación es una ventaja técnica en comparación con la técnica anterior. En la técnica anterior, como se muestra en el esquema 4, la purificación por HPLC se realizó utilizando un eluyente acuoso que contenía acetonitrilo tóxico y ácido trifluoroacético (TFA). Por tanto, la solución del compuesto purificado no es adecuada para su uso directo en la formación de imágenes por PET. Los disolventes tóxicos deben eliminarse primero y el residuo del compuesto debe volver a disolverse en la solución tampón adecuada. Por el contrario, según la presente invención, la solución isotónica resultante del compuesto purificado de fórmula (I) después de la etapa (D) está lista para su aplicación.

Una columna de fase inversa que tenga una buena retención hidrófoba y selectividad puede ser adecuada para la purificación (por ejemplo, Synergi 4 µm Hydro-RP 80Å 100 x 21,2 mm). La fase debe ser bien adecuada para la separación de compuestos hidrofílicos altamente polares. El tiempo de retención debe ser preferiblemente inferior a 10 min con un caudal inferior a 10 ml/min.

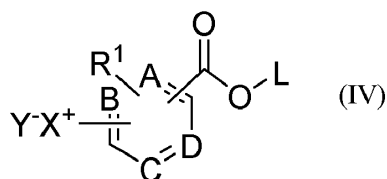
En una realización, uno cualquiera de los métodos mencionados anteriormente comprende además la siguiente etapa (E) después de la etapa (D):

(E) esterilizar la solución del compuesto de fórmula (I) mediante filtración estéril.

En una realización, uno cualquiera de los métodos mencionados anteriormente comprende además las siguientes etapas (A1) - (A8) después de la etapa (A) y antes de la etapa (B):

(A1) proporcionar una solución de un compuesto de fórmula (IV) en al menos un disolvente prótico polar o en una mezcla de disolventes que contiene un disolvente prótico polar,

en donde opcionalmente la solución contiene además una sal;



en donde

A, B, C, D, L (o **OL**) y **R¹** tienen los mismos significados definidos anteriormente;

X representa **NR²₃**, **IR³**, **SR³₂**;

5 **Y** representa Br, I, BF₄, O₂CCF₃, OSO₂CF₃, ClO₄, NO₂, OSO₂C₆H₄CH₃, OSO₂CH₃;

R² representa un alquilo de C₁ - C₄ ; y

R³ representa un arilo;

(A2) proporcionar una solución acuosa de [¹⁸F]fluoruro ([¹⁸O]agua irradiada);

(A3) cargar una solución acuosa de [¹⁸F]fluoruro sobre una resina de intercambio aniónico;

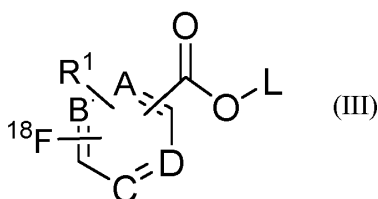
10 (A4) lavar la resina de intercambio aniónico con un disolvente polar prótico o con un disolvente polar aprótico;

(A5) enjuagar el disolvente con flujo de aire o gas inerte;

(A6) eluir el [¹⁸F]fluoruro con la solución del compuesto de fórmula (IV) proporcionado en la etapa (A1) y diluir la solución resultante con un disolvente aprótico o con al menos un alcohol de C₃ - C₆ o con una mezcla de disolventes de al menos un alcohol de C₃ - C₆ y un disolvente aprótico; o

15 eluir el [¹⁸F]fluoruro con la solución del compuesto de fórmula (IV) proporcionado en la etapa (A1), concentrando la solución resultante y volviendo a disolver el residuo en un disolvente aprótico;

(A7) permitir que el compuesto de fórmula (IV) reaccione con [¹⁸F]fluoruro para obtener el compuesto de fórmula (III);



en donde **A, B, C, D, L** (o **OL**) y **R¹** tienen los mismos significados definidos anteriormente; y

20 (A8) purificar el compuesto de fórmula (III).

Una realización de la presente invención se refiere al método de la invención descrito anteriormente, en el que dicho disolvente prótico polar es un disolvente prótico polar anhidro, preferiblemente un alcohol de C₁-C₄ anhidro, dioles tales como 1,4-butanodiol o glicoles tales como diglicol, triglicol o tetraglicol, y especialmente MeOH anhidro o EtOH anhidro o una mezcla de los mismos.

25 El uso de un disolvente prótico anhidro es ventajoso en las etapas (A) - (C) del método de la invención, porque la presencia de agua evita o impide la reacción de acoplamiento entre el compuesto de fórmula (II) y el compuesto de fórmula (III). En presencia de agua, los ésteres activos de fórmula (III) que tienen un grupo saliente -O-L pueden reaccionar con agua y formar un producto no deseado, es decir, el ácido carboxílico correspondiente. Esto da como resultado un menor rendimiento del compuesto de fórmula (I).

30 Por la misma razón, en las etapas (A1) - (A7), dicho disolvente polar prótico es preferiblemente un disolvente polar prótico anhidro, más preferiblemente un alcohol de C₁-C₄ anhidro, dioles tales como el 1,4-butanodiol o glicoles tal como el diglicol (HO-C₂H₄-O-C₂H₄-OH), triglicol (HO-C₂H₄-O-C₂H₄-O-C₂H₄-OH) o tetraglicol (HO-C₂H₄-O-C₂H₄-O-C₂H₄-O-C₂H₄-OH), y especialmente MeOH anhidro o EtOH anhidro o una mezcla de los mismos. En las etapas (A1) - (A7), la presencia de agua evita o impide una reacción de sustitución nucleofílica aromática del ¹⁸F- y da como resultado un bajo rendimiento del compuesto de fórmula (III).

Dicha sal en la etapa (A1) es preferiblemente una sal de bicarbonato y más preferiblemente seleccionada del grupo que consiste en Me₄NHCO₃, Et₄NHCO₃, n-Pr₄NHCO₃, i-Pr₄NHCO₃, n-Bu₄NHCO₃ y i-Bu₄NHCO₃.

En las etapas (A3) y (A4), se prefiere que dicha resina de intercambio aniónico sea una resina hidrófila basada en sílice o un copolímero basado en poliestireno que contenga carbonato o bicarbonato como contraión y que esté contenida en un cartucho. Por ejemplo, se pueden utilizar cartuchos Sep-Pak Accell Plus QMA carbonate plus light de Waters GmbH (Eschborn, Alemania) y cartuchos ChromafixR 30-PS-HCO₃ de Macherey-Nagel (Duren, Alemania) disponibles comercialmente.

En las etapas (A4) y (A6), se prefiere que dicho disolvente aprótico polar o dicho disolvente aprótico sea MeCN o DMSO y se prefiere que dicho alcohol de C₃-C₆ sea t-BuOH.

En la etapa (A7), el compuesto de fórmula (IV) reacciona con [¹⁸F]fluoruro en un tiempo de reacción en el intervalo de 1 - 20 min, preferiblemente 1 - 15 min, más preferiblemente 5 - 10 min a la temperatura de reacción en el intervalo de 20°C a 140°C, preferiblemente de 30°C - 130°C, más preferiblemente de 40°C - 130°C. Una vez finalizada la reacción, se prefiere enfriar la mezcla de reacción a una temperatura en el intervalo de 15°C - 30°C mediante enfriamiento con aire.

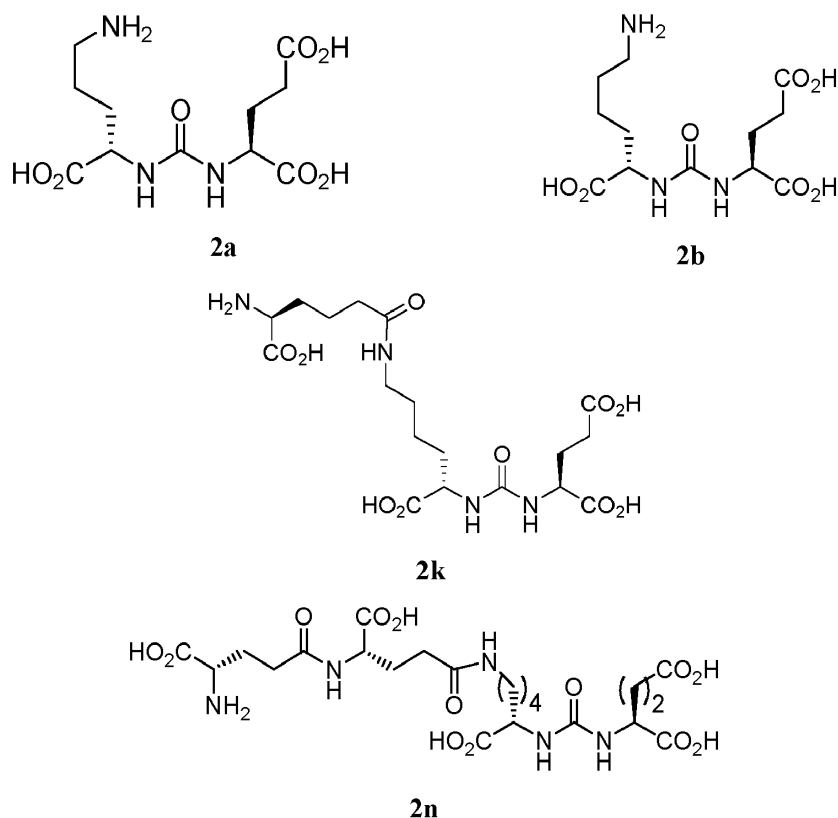
En la etapa (A8), la purificación del compuesto de fórmula (III) se realiza mediante HPLC o extracción en fase sólida (SPE). La purificación por HPLC se puede llevar a cabo usando, por ejemplo, columnas RP basadas en polímeros tal como Chromolith SpeedRod o columnas RP C18 o C8 como Luna-2 o Nucleosil. La purificación mediante SPE se puede llevar a cabo utilizando, por ejemplo, cartuchos Strata X o Sep-Pak C18.

En una realización, uno cualquiera de los métodos descritos anteriormente comprende además la siguiente etapa (F) después de la etapa (D) o (E):

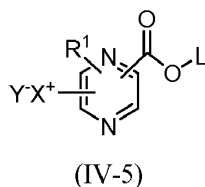
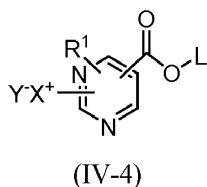
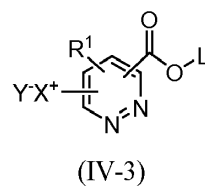
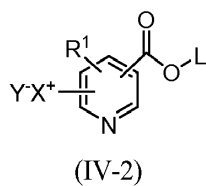
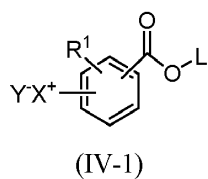
(F) preparar una composición farmacéutica que contiene la solución del compuesto de fórmula (I).

El compuesto de fórmula (II) puede tener una buena afinidad por el antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA).

Un compuesto de fórmula (II) se selecciona de los compuestos 2a, 2b, 2k o - 2n:

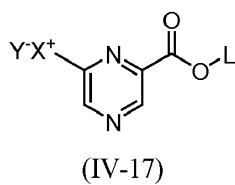
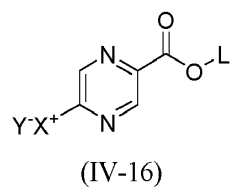
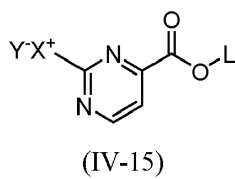
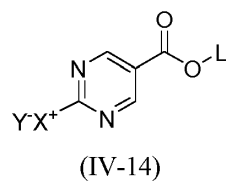
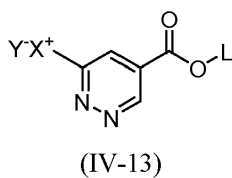
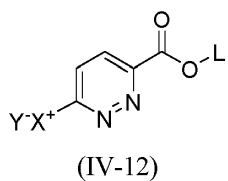
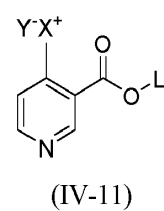
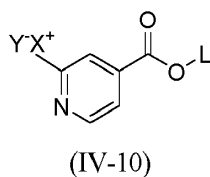
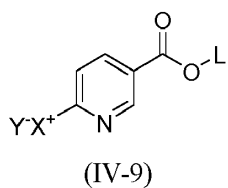
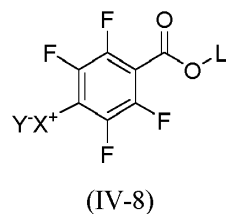
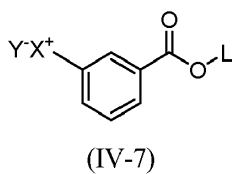
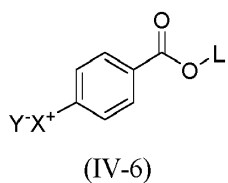


Preferiblemente, se usa un compuesto de fórmula (IV) que tiene una cualquiera de las subfórmulas (IV-1) - (IV-5) en la etapa (A1) mencionada anteriormente del método de la invención:



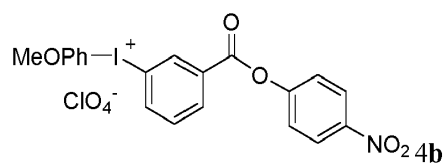
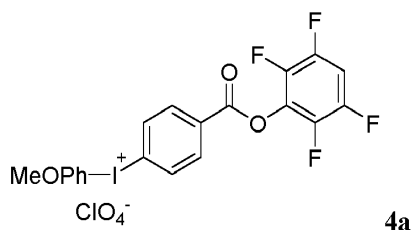
en donde L, R¹, X e Y tienen los mismos significados que se han definido anteriormente.

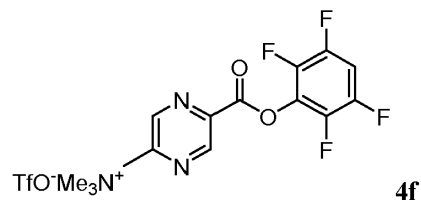
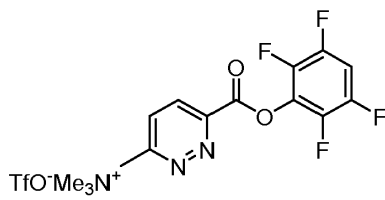
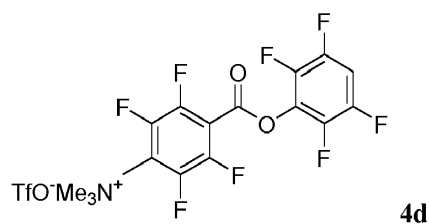
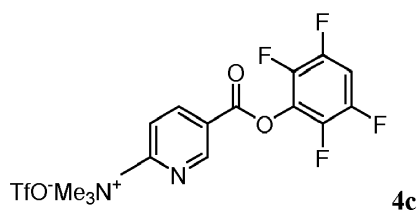
- 5 También se prefiere usar un compuesto de fórmula (IV) que tiene una cualquiera de las subfórmulas (IV-6)-(IV-17) en la etapa (A1) mencionada anteriormente:



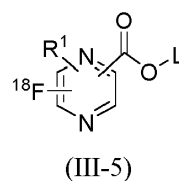
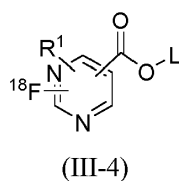
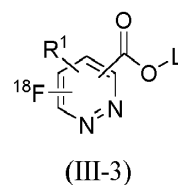
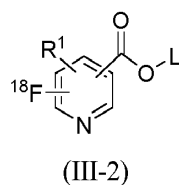
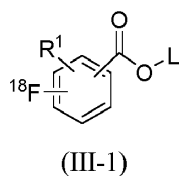
en donde L, X e Y tienen los mismos significados definidos anteriormente.

Lo más preferido, un compuesto de fórmula (IV) seleccionado de los siguientes compuestos **4a** - **4f** se utiliza en la etapa mencionada anteriormente (A1):



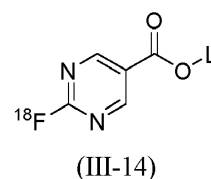
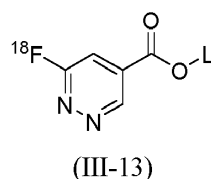
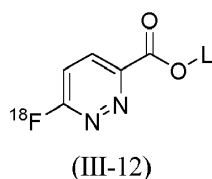
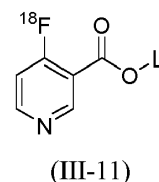
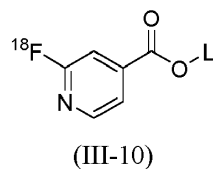
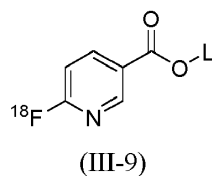
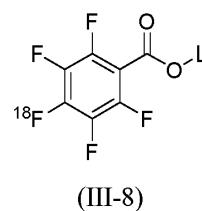
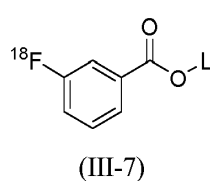
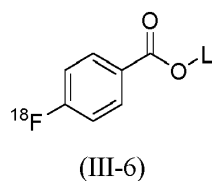


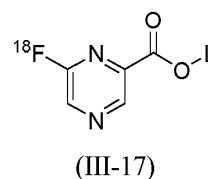
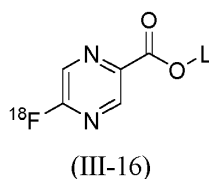
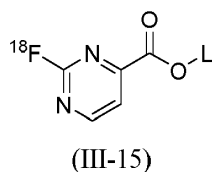
Preferiblemente, se obtiene un compuesto de fórmula (III) que tiene una cualquiera de las subfórmulas (III-1) - (III-5) que se deriva de un compuesto de una cualquiera de las subfórmulas (IV-1) - (IV-5), de las etapas (A7) y (A8) mencionadas anteriormente o utilizado en la etapa (B) mencionada anteriormente del método de la invención:



en donde L y R¹ tienen los mismos significados que se han definido anteriormente.

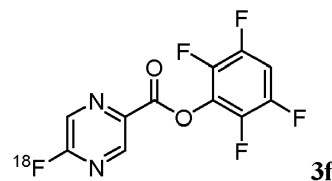
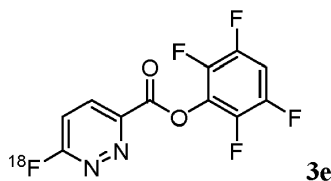
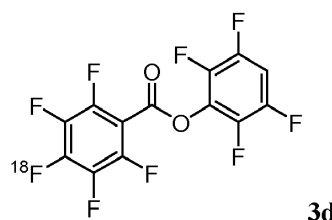
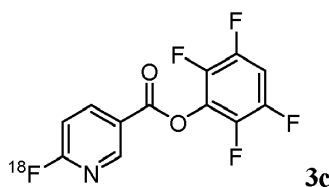
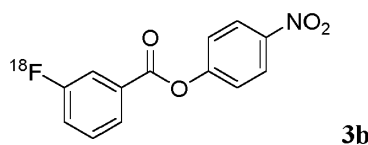
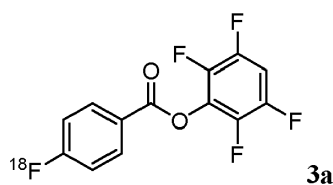
También se prefiere un compuesto de fórmula (III) que tiene una cualquiera de las subfórmulas (III-6) - (III-17) que se deriva de un compuesto de una cualquiera de las subfórmulas (IV-6) - (IV-17), que se obtiene de las etapas (A7) y (A8) mencionadas anteriormente o utilizado en la etapa (B) mencionada anteriormente del método de la invención:





en donde L tiene los mismos significados que se han definido anteriormente.

Lo más preferido, un compuesto de fórmula (III) seleccionado del grupo que consiste en los siguientes compuestos **3a** - **3f** derivados de los compuestos **4a** - **4f**, se obtiene de las etapas (A7) y (A8) mencionadas anteriormente o se utiliza en la etapa (B) mencionada anteriormente del método de la invención:



El término "alquilo de C₁ - C₃" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a una cadena de carbonos lineal o ramificada saturada que consiste en 1-4 átomos de carbono. Los ejemplos son -CH₃, -C₂H₅, -C₃H₇, y -CH(CH₃)₂.

El término "alcoxi de C₁-C₃" como se usa en la presente memoria se refiere a un grupo alquilo de C₁-C₃ singular unido al oxígeno y dicho alquilo de C₁-C₃ tiene el mismo significado que se ha definido anteriormente. Los ejemplos son -OCH₃, -OC₂H₅, -OC₃H₇, -OCH(CH₃)₂.

El término "haloalquilo de C₁-C₃" tal como se usa en la presente memoria se refiere a una cadena de carbonos lineal o ramificada saturada que consiste en 1 a 4 átomos de carbono sustituidos con al menos un átomo de halógeno tal como F, Br, Cl e I. Está claro para un experto en la materia que el término "sustituido" se refiere a la sustitución de un átomo de hidrógeno por uno de los sustituyentes. Ejemplos de un haloalquilo de C₁-C₃ son -CH₂F, -CHF₂, -CF₃, -CCl₃, -CH₂CF₃, -C₂F₅, -C₃F₇, -CH(CF₃)₂.

El término "haloalcoxi de C₁-C₃", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo haloalquilo de C₁-C₃ singular unido al oxígeno y dicho grupo haloalquilo de C₁-C₃ tiene el mismo significado definido anteriormente. Los ejemplos son -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃, -OCCl₃, -OCH₂CF₃, -OC₂F₅, -OC₃F₇, -OCH(CF₃)₂.

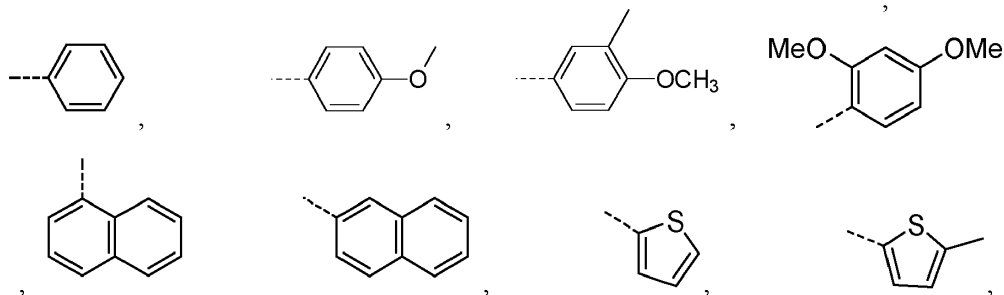
Los términos "alquilcarbonilo de C₁-C₄" y "alquilcarbonilo de C₂-C₄" como se usan en la presente memoria se refiere preferiblemente a un grupo alquilo de C₁-C₃ singular unido al grupo carboxi y dicho alquilo de C₁-C₃ tiene el mismo significado que se ha definido anteriormente. Los ejemplos son -COCH₃, -COC₂H₅, -COC₃H₇, -COCH(CH₃)₂.

Los términos "alquilcarboxi de C₁-C₄" y "alquilcarboxi de C₂-C₄" como se usan en la presente memoria se refieren preferiblemente a un grupo alquilo de C₁-C₃ singular unido al grupo carboxi (-CO₂-) y dicho alquilo de C₁-C₃ tiene el mismo significado que se ha definido anteriormente. Los ejemplos son -O₂CCH₃, -O₂CC₂H₅, -O₂CC₃H₇, -O₂CCH(CH₃)₂.

Los términos "alquiloxicarbonilo de C₁-C₄" y "alquiloxicarbonilo de C₂-C₄" como se usan en la presente memoria se refieren a un grupo alquilo de C₁-C₃ singular unido al grupo oxi carbonilo (-O-CO-) y dicho alquilo de C₁-C₃ tiene el mismo significado que se ha definido anteriormente. Los ejemplos son -CO₂CH₃, -CO₂C₂H₅, -CO₂C₃H₇, -CO₂CH(CH₃)₂.

Los términos "arilo" como se utilizan en la presente memoria se refieren a restos aromáticos carbocíclicos o aromáticos

heterocíclicos o más específicos a "restos aromáticos carbocíclicos de C₆-C₁₀ con uno o dos anillos aromáticos y se refiere preferiblemente a fenilo y naftilo, en donde estos restos aromáticos o heteroarilo, preferiblemente restos de fenilo, tienilo y naftilo pueden estar sustituidos con 1 a 5 sustituyentes seleccionados de halógeno como -F, -Br, -Cl, -I, alquilo de C₁-C₃, alcoxi de C₁-C₃, haloalquilo de C₁-C₃, haloalcoxi de C₁-C₃, -CN, -OH, -NO₂, -CO₂(alquilo de C₁-C₃), -NHCO(alquilo de C₁-C₃), -NH(alquilo de C₁-C₃), -N(alquilo de C₁-C₃)₂. Está claro para un experto en la materia que el término "puede estar sustituido" se refiere a la sustitución de un átomo de hidrógeno por uno de dichos sustituyentes. El número de átomos de carbono de C₆-C₁₀ se refiere únicamente a los átomos de carbono del sistema de anillos aromáticos (arilo) y no incluye los átomos de carbono de dichos sustituyentes. Los ejemplos son



El término "ariloxi", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo singular unido al oxígeno y dicho arilo tiene el mismo significado definido anteriormente.

El término "arilcarboxi", como se usa en la presente memoria, se refiere a un grupo arilo unido al grupo carbonilo (-CO₂-) singular y dicho arilo tiene el mismo significado que el definido anteriormente.

Producción de ¹⁸F

El [¹⁸F]Fluoruro se produjo a través de la reacción de ¹⁸O(p,n)¹⁸F por bombardeo de [¹⁸O]agua enriquecida con protones utilizando un ciclotrón de 16 MeV.

Se prefiere que, el [¹⁸F]fluoruro quede atrapado en una resina de intercambio aniónico. La resina se lavó con alcohol (por ejemplo, con nPrOH, iPrOH, nBuOH, mejor con EtOH o MeOH) y se drenó con flujo de gas (por ejemplo, aire, Ar, N₂, He). En dicho método ¹⁸F⁻ se eluye directamente con una solución alcohólica (por ejemplo, en nPrOH, iPrOH, nBuOH, mejor en EtOH o MeOH) del precursor de onio correspondiente (por ejemplo, ONP o OTFP). Alternativamente, ¹⁸F⁻ se eluyó con una solución alcohólica (por ejemplo, en nPrOH, iPrOH, nBuOH, mejor en EtOH o MeOH) de una sal adecuada, más preferiblemente bicarbonato de tetraetilamonio.

El término "alcohol de C₁-C₄" como se usa en la presente memoria se refiere a un grupo alquilo de C₁-C₄ saturado lineal, ramificado o cíclico sustituido por al menos un grupo hidroxilo. Está claro para un experto en la materia que el término "sustituido" se refiere a la sustitución de un átomo de hidrógeno por uno de los sustituyentes. Ejemplos de un alcohol de C₁-C₄ son CH₃OH, CH₃CH₂OH, HOCH₂CH₂OH, CH₃CH₂CH₂OH, HOCH₂CH₂CH₂OH, HOCH₂CH(OH)CH₃, HOCH₂CH(OH)CH₂OH, (CH₃)₂CHOH, CH₃CH₂CH₂CH₂OH, CH₃CH₂CH(OH)CH₂OH, CH₃CH(OH)CH₂CH₂OH, CH₂(OH)CH₂CH₂CH₂OH, CH₂(OH)CH(OH)CH₂CH₂OH, CH₃CH(OH)CH(OH)CH₂OH, CH₂(OH)CH(OH)CH(OH)CH₂OH, (CH₃)₂CHCH₂OH, H₃CCH(CH₂OH)₂, HC(CH₂OH)₃, y (CH₃)₃C-OH. Se prefiere que, CH₃OH o CH₃CH₂OH se usen como el alcohol de C₁-C₄ en el método descrito anteriormente.

El término "alcohol de C₃-C₆" como se usa en la presente memoria se refiere a un grupo alquilo de C₃-C₆ saturado lineal, ramificado o cíclico, sustituido por al menos un grupo hidroxilo. Está claro para un experto en la materia que el término "sustituido" se refiere a la sustitución de un átomo de hidrógeno por uno de los sustituyentes. Ejemplos preferidos de un alcohol de C₃-C₆ son CH₃CH₂CH₂OH, (CH₃)₂CHOH, CH₃CH₂CH₂CH₂OH, (CH₃)₂CHCH₂OH, (CH₃)₃C-OH, CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂OH, (CH₃)₂CHCH₂CH₂OH, CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂OH, (CH₃)₂CHCH₂CH₂CH₂OH, HOCH₂CH₂CH₂OH

En una realización de la presente invención, t-BuOH ((CH₃)₃C-OH) se utiliza como el alcohol de C₃-C₆ en el método descrito anteriormente.

El término "disolvente aprótico" o "disolvente aprótico polar", como se usa en la presente memoria, se refiere a acetona, DMF, DMA, 1,2-dimetoxietano (glime), MeCN, 2-metoxietil éter (diglime), N-metilpirrolidinona, DMSO, sulfolano, carbonato de propileno o THF. Se prefiere utilizar MeCN y DMSO.

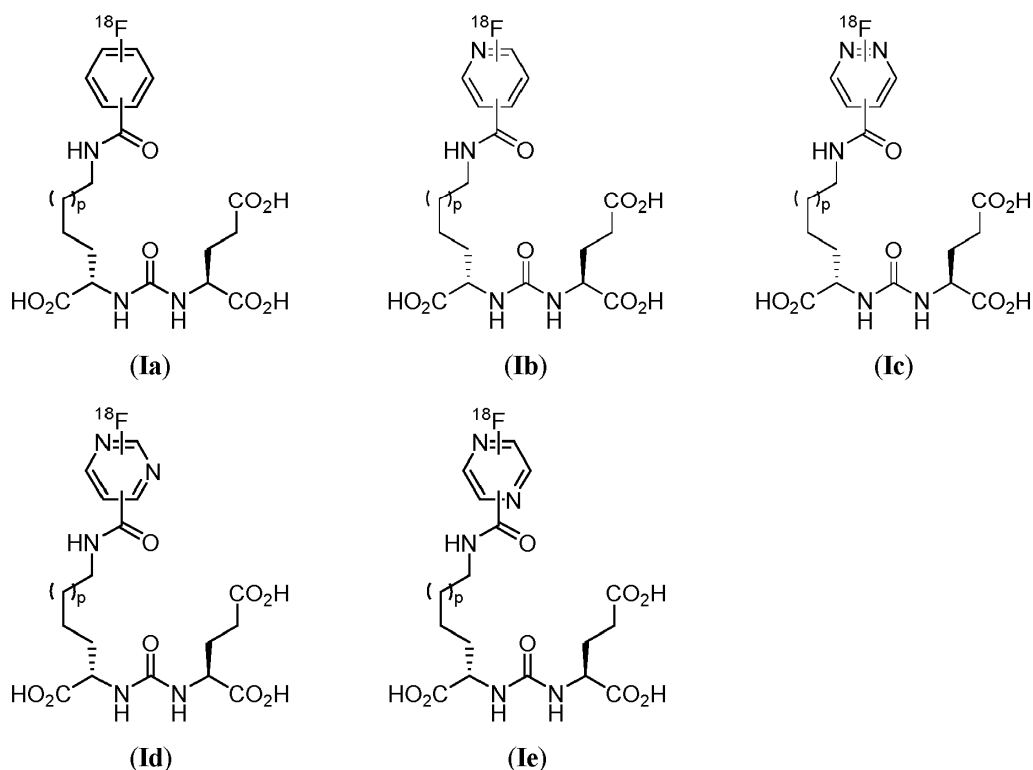
El término "disolvente prótico polar", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier disolvente que contenga H⁺ lábil y done fácilmente protones (H⁺) a los reactivos y sea capaz de disolver las sales. Los ejemplos preferidos de un disolvente prótico polar son MeOH, EtOH, n-PrOH, i-PrOH, n-BuOH, HOCH₂CH₂OH, HOCH₂CH₂CH₂OH, HOCH₂CH(OH)CH₃, HOCH₂CH(OH)CH₂OH, HC(CH₂OH)₃, HO-C₂H₄-O-C₂H₄-OH, HO-C₂H₄-O-C₂H₄-O-C₂H₄-OH, HO-C₂H₄-O-C₂H₄-O-C₂H₄-O-C₂H₄-OH, HCO₂H y CH₃CO₂H.

En una realización de la presente invención, se usa EtOH como disolvente prático polar en el método descrito anteriormente.

El término "RCY (rendimiento radioquímico)", como se usa en la presente memoria, se refiere al rendimiento para la etapa en la que se introduce el radiomarcador. El RCY se refiere a la actividad (deci-correctada) del producto radiomarcado expresada como una fracción de la actividad originalmente presente.

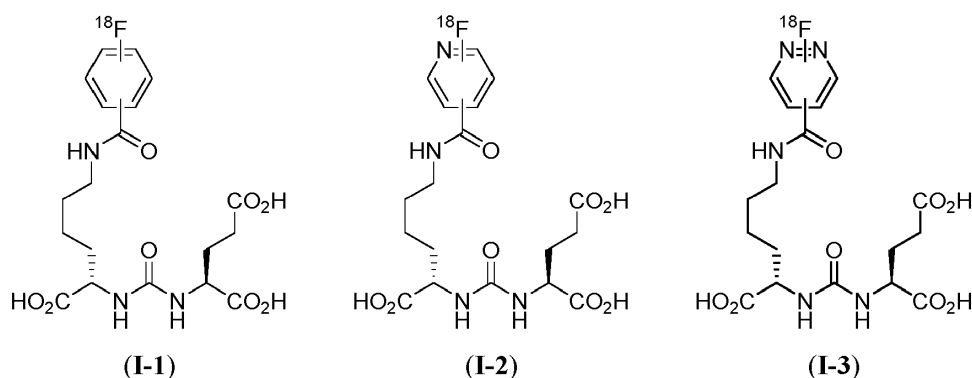
El término "precursor directo", como se usa en la presente memoria, indica que el compuesto respectivo se puede usar sin grupos protectores en la preparación de un compuesto según la fórmula (I) como se define en la presente memoria. El término "precursor directo" significa también que puede usarse en la preparación in vitro de, por ejemplo, ésteres activos marcados con ^{18}F que se pueden usar como marcadores de PET, especialmente en la preparación de compuestos según la fórmula (I) como se define en la presente memoria, que se pueden usar como ingredientes activos en composiciones farmacéuticas para su uso en la formación de imágenes de PET, por ejemplo en la formación de imágenes de tumores tales como tumores de la próstata.

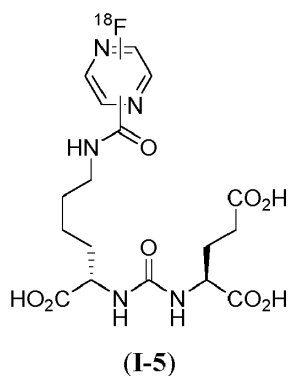
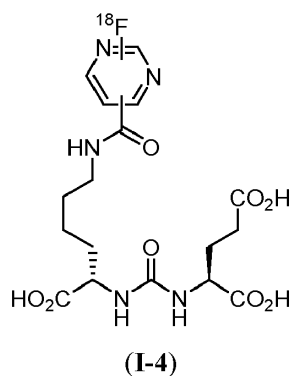
Se prefiere dicho método de la presente invención para preparar un compuesto de una cualquiera de las fórmulas (Ia) - (Ie):



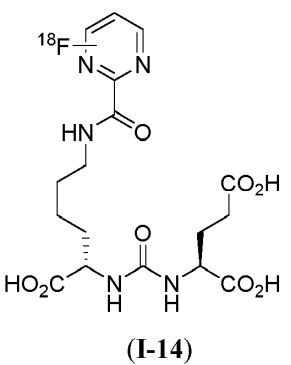
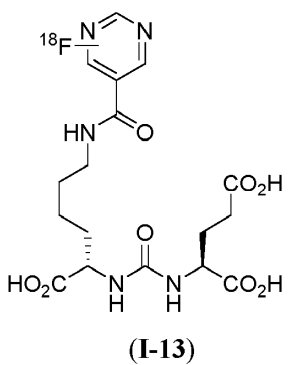
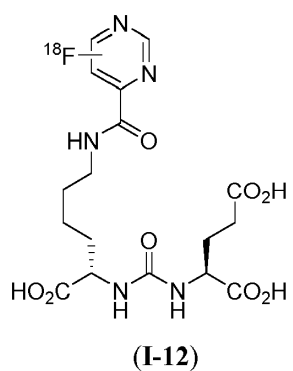
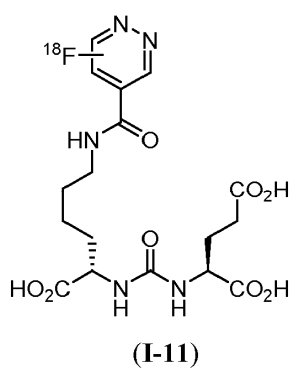
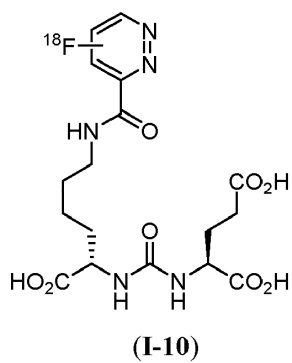
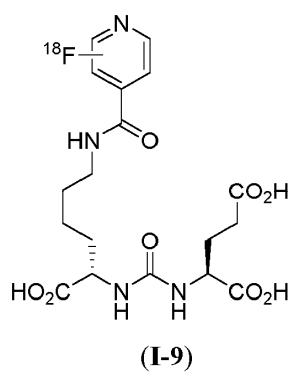
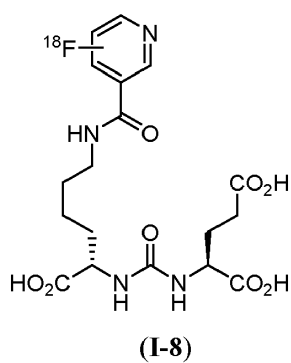
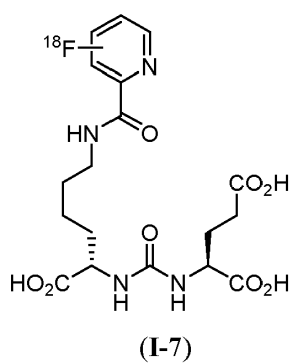
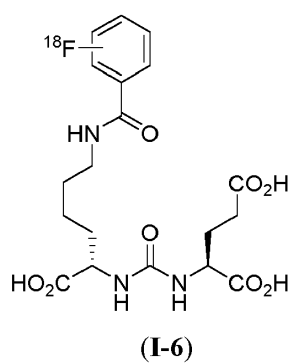
en donde p es 0 o 1.

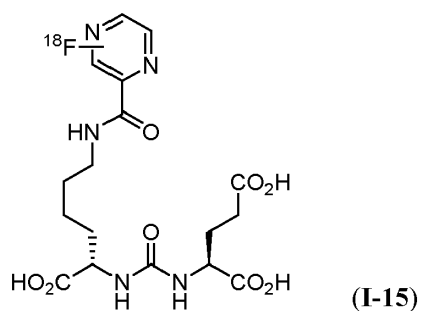
También se prefiere dicho método de la presente invención para preparar un compuesto de fórmula (I) seleccionado de los compuestos de las siguientes subfórmulas (I-1) - (I-6):



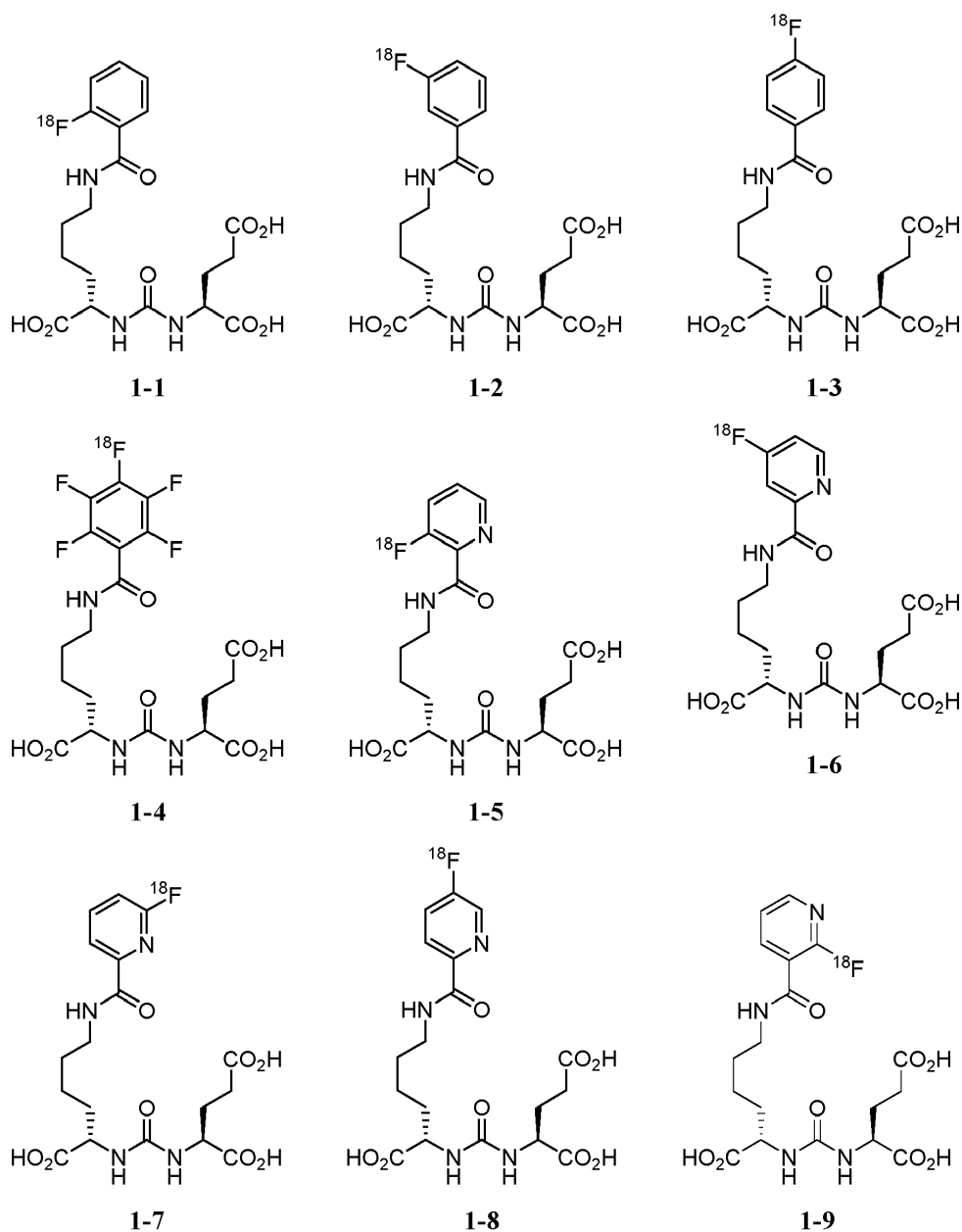


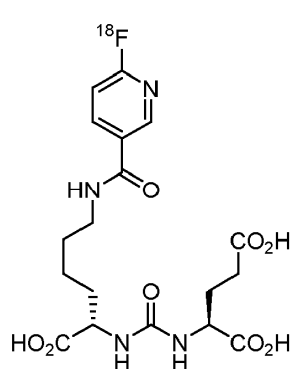
Es más preferido dicho método de la presente invención para preparar un compuesto de fórmula (I) seleccionado de los compuestos de las siguientes subfórmulas (I-6) - (I-15):



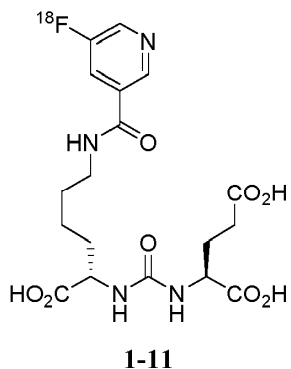


Aún más preferido es dicho método de la presente invención para preparar un compuesto de fórmula (I) seleccionado de los siguientes compuestos **1-1** - **1-34**.

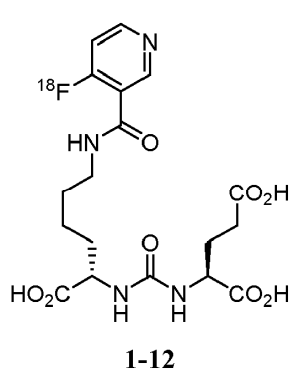




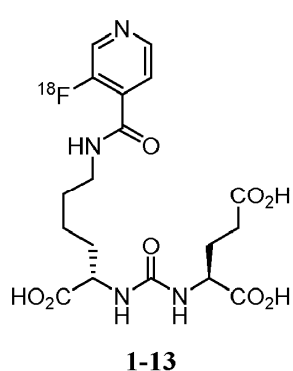
1-10



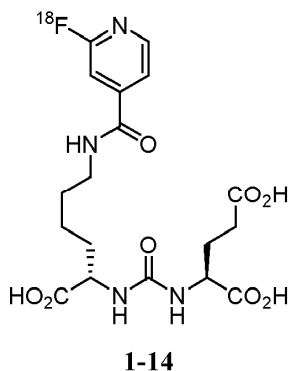
1-11



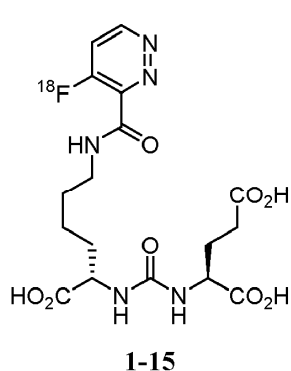
1-12



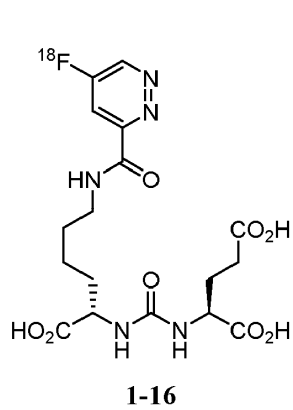
1-13



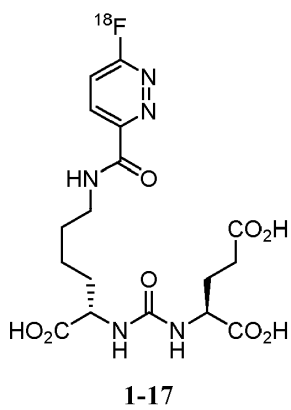
1-14



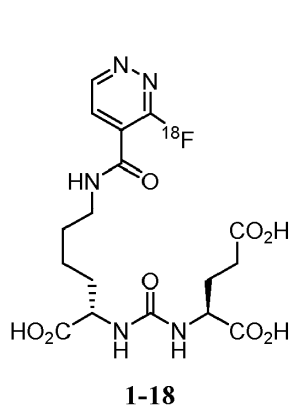
1-15



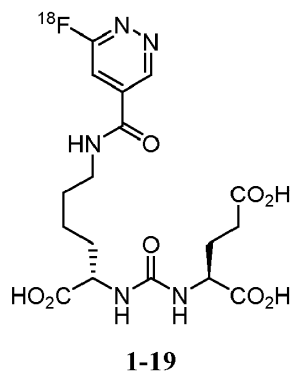
1-16



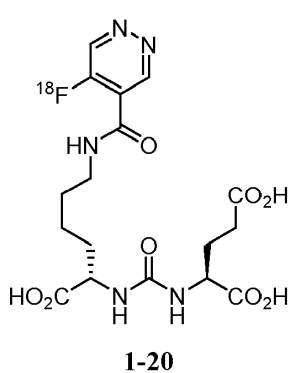
1-17



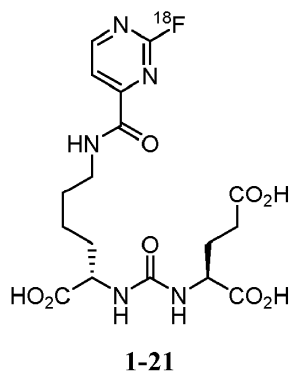
1-18



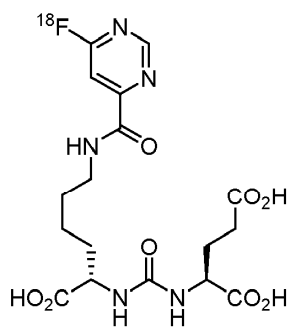
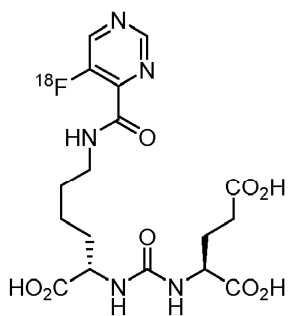
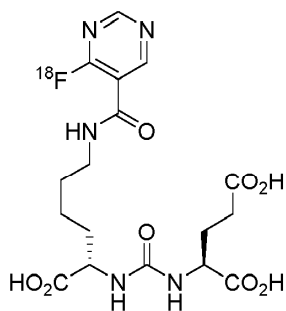
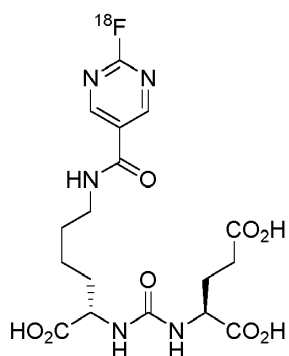
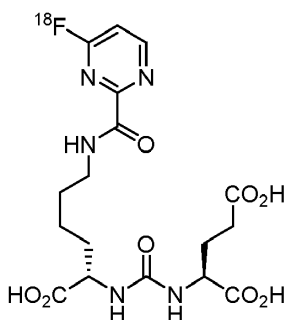
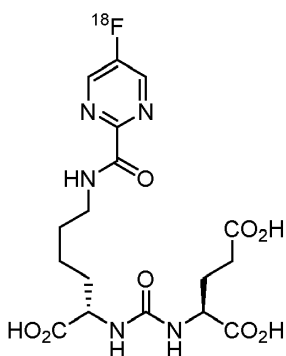
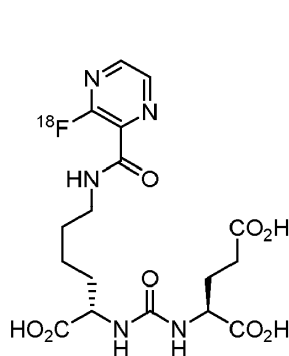
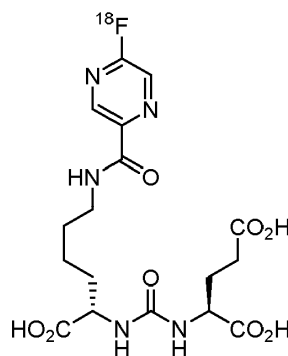
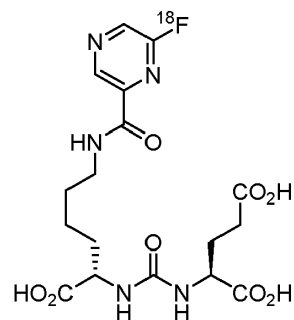
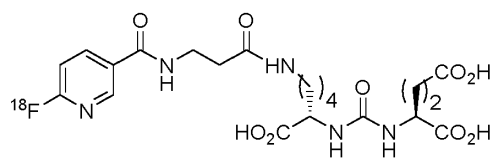
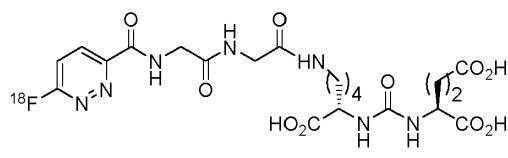
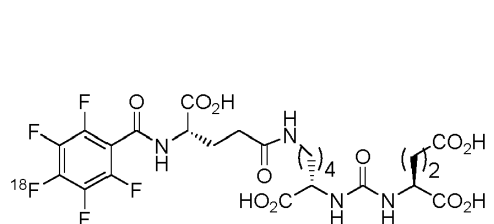
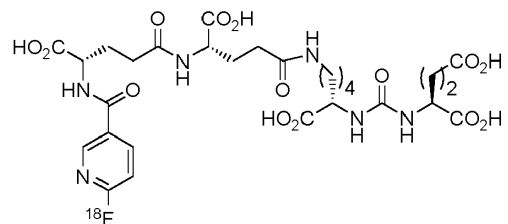
1-19



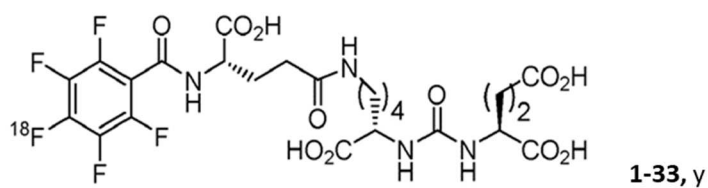
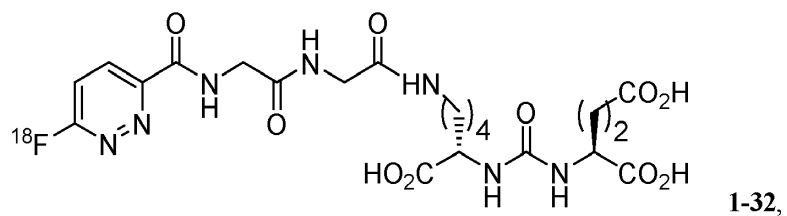
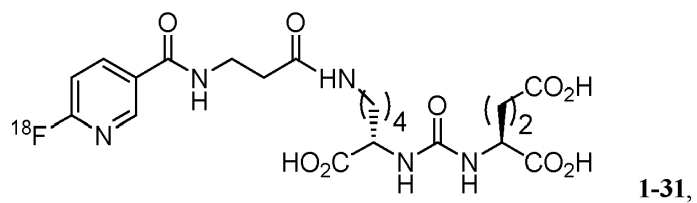
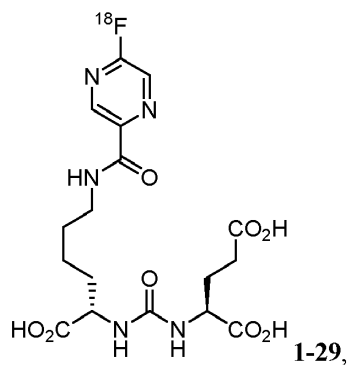
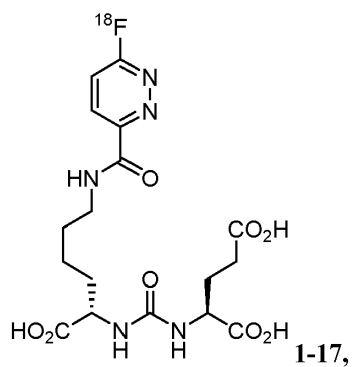
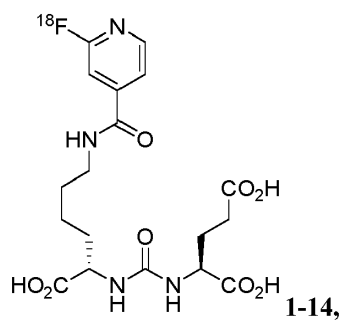
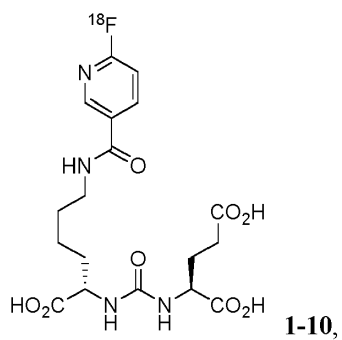
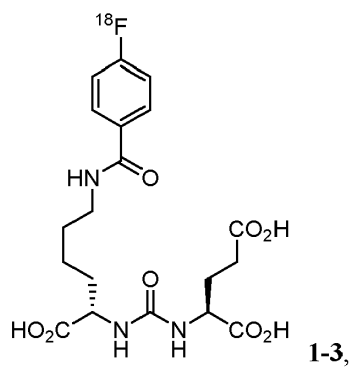
1-20

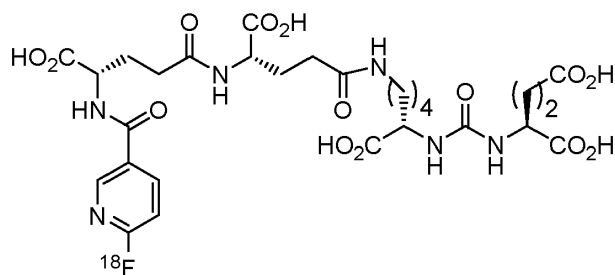


1-21

**1-22****1-23****1-24****1-25****1-26****1-27****1-28****1-29****1-30****1-31****1-32****1-33****1-34**

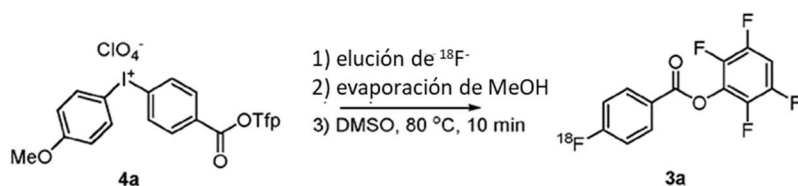
El más preferido es dicho método de la presente invención para preparar el compuesto de fórmula (I) seleccionado del grupo que consiste en los compuestos **1-3**, **1-10**, **1-14**, **1-17**, **1-29**, **1-31**, **1-32**, **1-33**, y **1-34**:



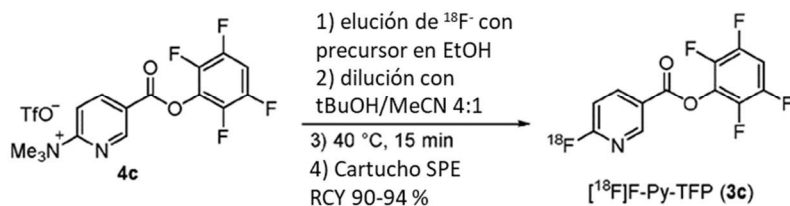


Esquema 5

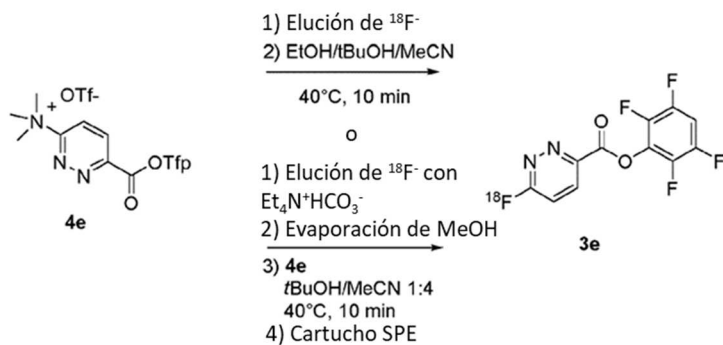
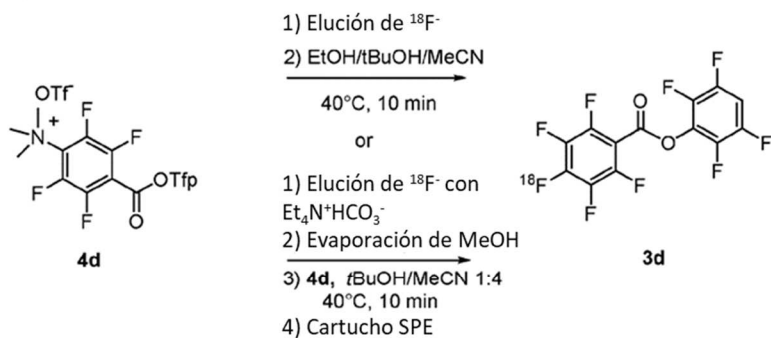
A)



B)



C)



Los compuestos de fórmula (III) como éster aromático activado (piridina, pirazina, pirimidina, tri/tetrahalo, ciano-, nitro-, (per)fluoralquil-, como trifluorometil-, alquilcarboxibenceno o similares) se pueden preparar por radiofluoración por $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ del compuesto precursor de fórmula (IV) como se muestra en el Esquema 5.

En el caso de precursores menos activados de las fórmulas IV-6 y IV-7, por ejemplo, el perclorato de (4-metoxifenil)[4-

(2,3,5,6-tetrafluorofenoxycarbonil)fenil]yodonio, perclorato del benzoato de 2,3,5,6-tetrafluorofenil 4-(4-metoxifenil)fenil]yodonio (**4a**), el disolvente debe eliminarse a presión reducida antes de que pueda llevarse a cabo la reacción nucleófila. El residuo se recoge en un disolvente adecuado y posteriormente se calienta durante un tiempo corto para dar el éster activo radiomarcado deseado, como se muestra en el Esquema 5A.

- 5 En el caso de precursores altamente activados de las fórmulas IV-8 - IV-17, por ejemplo, el trifluorometanosulfonato de *N,N,N*-trimetil-5-[(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)-carbonil]piridin-2-aminio (**4C**), la eliminación de alcohol (excepto MeOH) es innecesaria. En consecuencia, el ^{18}F eluido puede diluirse simplemente con el disolvente correspondiente (por ejemplo, *t*BuOH, *t*BuOH/MeCN, MeCN, etc.) y calentarse directamente durante un tiempo breve. Finalmente, los ésteres activos radiomarcados se aíslan usando HPLC o SPE. En ambos casos no es necesario el secado azeotrópico ni base ni ningún otro aditivo (Esquema 5B). Los métodos descritos permiten preparar, por ejemplo, [^{18}F]TFB **3a** y [^{18}F]F-Py-TFP **3c** en un RCY del 20-25% y 90-94%, respectivamente. Alternativamente, los ésteres activos marcados con ^{18}F a partir de precursores altamente activados se pueden preparar utilizando soluciones alcohólicas de bicarbonato de tetraetilamonio (por ejemplo, en *n*PrOH, *i*PrOH, *n*BuOH, mejor en EtOH o MeOH) para la elución de $^{18}\text{F}^-$. El eluato se concentra a presión reducida. Se añade el precursor para el radiomarcado en un disolvente adecuado (por ejemplo, *t*BuOH, *t*BuOH/MeCN, MeCN, etc.) y la mezcla de reacción se calienta durante un tiempo corto para dar el éster activo respectivo en un RCY de más del 90%. El bloque de construcción se aísla a través de RP-SPE con una pureza radioquímica y química excelente (Esquema 5C).

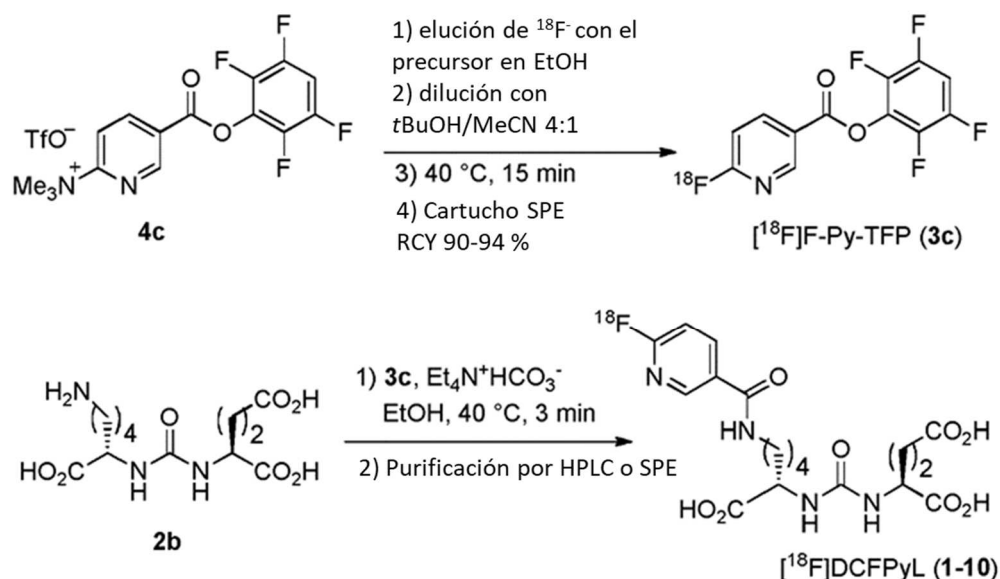
También se describe un kit, que no pertenece al objetivo de la invención, que comprende un recipiente que contiene el compuesto de fórmula (II) y/o (III) como se ha definido anteriormente para la preparación de medios de contraste de PET. En determinadas realizaciones, el kit proporciona composiciones farmacéuticas envasadas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la divulgación. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica envasada comprenderá los precursores de reacción necesarios para generar el compuesto de la descripción tras la combinación con un precursor radiomarcado. Otras composiciones farmacéuticas envasadas proporcionadas por la presente divulgación comprenden además indicios que comprenden al menos uno de: instrucciones para preparar compuestos según la invención a partir de precursores suministrados, instrucciones para usar la composición para obtener imágenes de células o tejidos que expresan PSMA, o instrucciones para usar la composición para obtener imágenes de la neurotransmisión glutamatérgica en un paciente que padece un trastorno relacionado con el estrés, o instrucciones para usar la composición para obtener imágenes del cáncer de próstata.

También se describe un dispositivo para la preparación de los compuestos activos mencionados anteriormente, que no pertenecen al objetivo de la invención, en el que el dispositivo comprende recipientes adecuados que comprenden uno cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria, por ejemplo, compuestos según la fórmula (II) y/o (III). En una realización, el dispositivo es adecuado para la síntesis de, por ejemplo, [^{18}F]DCFPyL 1-10 a partir de [^{18}F]fluoruro, preferiblemente sin purificación por HPLC. En una realización, el dispositivo es un módulo de casete automatizado que es adecuado para la síntesis de, por ejemplo, [^{18}F]DCFPyL 1-10 a partir de [^{18}F]fluoruro, preferiblemente sin purificación por HPLC, por ejemplo, como se muestra en la Figura 4.

Aplicación de los ésteres activos radiomarcados (III) para la preparación de marcadores de PET

Una aplicación de los ésteres activos marcados con ^{18}F sintetizados según los procedimientos de la invención se ejemplifican mediante la preparación simplificada del marcador específico de PSMA [^{18}F]DCFPyL **1-10**.

Según este método de la invención, [^{18}F]F-Py-TFP **3c** obtenido en "condiciones sin adición" se eluyó de la resina con etanol en una solución de HO-Lys-C(O)-Glu-OH **2b** y bicarbonato de tetraetilamonio en etanol (Esquema 6). La mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 3 min. El [^{18}F]DCFPyL **1-10** se aisló por RP-HPLC usando etanol al 10% en solución salina isotónica como un eluyente para dar después de la filtración estéril la solución lista para usar del radiomarcador.



Esquema 6: El nuevo método para la preparación de $[^{18}\text{F}]\text{DCFPyL}$ 1-10.

En el método de la invención el ^{18}F - se atrapa en una resina de intercambio aniónico y luego se eluye directamente con una solución alcohólica del precursor de radiomarcage que contiene un grupo onio (**X**) como R_2N^+ , ArI^+ o Ar_2S^+ . El disolvente se elimina a presión reducida; el residuo se recoge en un disolvente adecuado y se calienta durante un breve período de tiempo. En el caso de precursores de radiomarcage altamente activados tal como el precursor de $[^{18}\text{F}]\text{F-Py-TFP}$ **3c** la eliminación del disolvente es innecesaria. En este caso una solución alcohólica (excepto MeOH) de la sal $[^{18}\text{F}]\text{fluoruro de onio}$ se diluye simplemente con un disolvente adecuado y se calienta. La purificación/aislamiento de los ésteres activos radiomarcados se logra mediante purificación por SPE o HPLC. No se necesita ni secado azeotrópico ni una base ni ningún otro ingrediente. Alternativamente, la elución del radiofluoruro se puede lograr con bicarbonato de tetraetilamonio (TEABC) en MeOH. En este caso no se necesita secado azeotrópico ni ningún otro ingrediente.

Las modificaciones de la invención del procedimiento común de radiofluoración permiten un acortamiento considerable del tiempo total de preparación, debido a la reducción de un número de etapas de preparación. Además, la radiofluoración según los Métodos 1 y 2 se lleva a cabo en condiciones libres de bases que permiten la preparación en una sola etapa de los ésteres activos marcados con ^{18}F incluso a partir de precursores de marcate menos activados donde son necesarias condiciones de reacción más duras (temperaturas más altas, tiempos de reacción más prolongados). Estas ventajas permiten llevar a cabo la radiosíntesis en un paso, lo que hace que los métodos de la invención sean muy adecuados para radiosíntesis automatizadas, especialmente en dispositivos microfluídicos.

En contraste con la radiosíntesis publicada de $[^{18}\text{F}]\text{DCFPyL}$ **1-10** por Pomper et al. el método de la invención para la preparación de este radiomarcador permite omitir cualquier etapa de evaporación, la aplicación de disolventes tóxicos y ambientalmente peligrosos inmiscibles en agua (CH_2Cl_2), reactivos tóxicos (TFA, anisol, MeCN), la desprotección, la purificación por HPLC y las etapas de formulación adicionales.

El método de la invención permite la síntesis automática de $[^{18}\text{F}]\text{DCFPyL}$ **1-10** como se muestra en el Ejemplo 3. En consecuencia, usando el método de la invención $[^{18}\text{F}]\text{DCFPyL}$ **1-10** podría prepararse más rápido y en mayores RCY aislados de hasta el 45 % en 2 etapas en solo 55 min después del final del bombardeo (EOB) en comparación con los RCYs del 35 % en 3 etapas dentro de los 128 min de EOB. La síntesis automática produce $[^{18}\text{F}]\text{DCFPyL}$ **1-10** en RCY aislados de hasta un 35% en solo 50 min.

Composición farmacéutica

Otro aspecto de la presente descripción, pero que no forma parte de la invención, se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de fórmula (**I**) junto con al menos un disolvente, ingrediente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable, que no pertenece al objetivo de la invención. Dicha composición farmacéutica es útil para obtener imágenes de células de cáncer de próstata o tejido canceroso de próstata. Un ingrediente farmacéuticamente aceptable se refiere especialmente a agentes antivirales, antibacterianos o antifúngicos. El diluyente incluye cualquier solución salina estéril, inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio, inyección de Ringer lactato y otra solución tampón acuosa. La cantidad de diluyente en la composición puede variar entre aproximadamente el 5 y aproximadamente el 95 % en peso de la composición total, preferiblemente entre aproximadamente el 25 y aproximadamente el 75 % en peso, y más preferiblemente desde aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 60 % en peso. La composición

farmacéutica puede administrarse por inyección (intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea).

Formación de imágenes PET

Hasta ahora, el único marcador PET de PSMA utilizado en clínicas es [^{68}Ga]HBED-CC (50). El ^{68}Ga tiene una vida media de 68 min y se obtiene de un sistema generador en cantidades solo moderadas que impiden la amplia aplicación de [^{68}Ga]HBED-CC (50) en la práctica clínica. Por el contrario, ^{18}F tiene la ventaja de una vida media más larga (110 min) y es accesible en grandes cantidades de hasta 74 GBq o más. Esto permite la producción centralizada y la distribución regional como se practica en el suministro de [^{18}F]FDG para uso clínico. En un modelo de ratón con PCa de PSMA⁺ [^{18}F]DCFPyL 1-10 muestra características de imagen casi idénticas a las de [^{68}Ga]HBED-CC (50). Además, la captación renal de [^{18}F]F-Py-TFP 1-10 es mucho menor que la de [^{68}Ga]HBED-CC (50). Esto debería mejorar la detección de lesiones tumorales en el abdomen. Por lo tanto, teniendo en cuenta una fácil accesibilidad de [^{18}F]DCFPyL 1-10 según la presente descripción podría representar una alternativa adecuada para [^{68}Ga]HBED-CC (50) para la investigación y la atención al paciente.

Descripción de Figuras

Figura 1:

Síntesis automática de [^{18}F]DCFPyL con purificación por HPLC en un módulo de síntesis de radioquímica automatizado TRACERLab FX_{tn} (GE Medical Systems).

Figura 2:

PET de [^{68}Ga]HBED-CC- (50) versus [^{18}F]DCFPyL (1-10) en PSMA⁺ en ratones portadores de PCa. Se muestran las mediciones en el mismo animal, en dos días consecutivos. La posición del cursor se indica mediante líneas cruzadas. Abreviaturas: K: riñón; T: tumor. Barra de escala: 10 mm.

Figura 3:

Síntesis automática de [^{18}F]DCFPyL sin purificación por HPLC en un módulo de síntesis de radioquímica automatizado TRACERLab FX_{tn} (GE Medical Systems). Las señales de referencia A a I en la Figura 3 tienen el siguiente significado:

A	3 ml EtOH (absoluto)	H	10 ml de H ₂ O
B	200 µL Solución precursora de [^{18}F]F-Py-TFP	I	60 ml de H ₃ PO ₄ al 1,7%
C	2 ml tBuOH/MeCN (4:1)	J	9 ml de NaCl isotónico
D		K	2 ml de NaCl isotónico con EtOH al 50% en volumen
E	15 ml de H ₂ O	L	10 ml de H ₂ O
F	500 µL solución precursora de [^{18}F]DCFPyL	M	20 ml de TFA al 0,1 %
G	3 ml de H ₂ O		

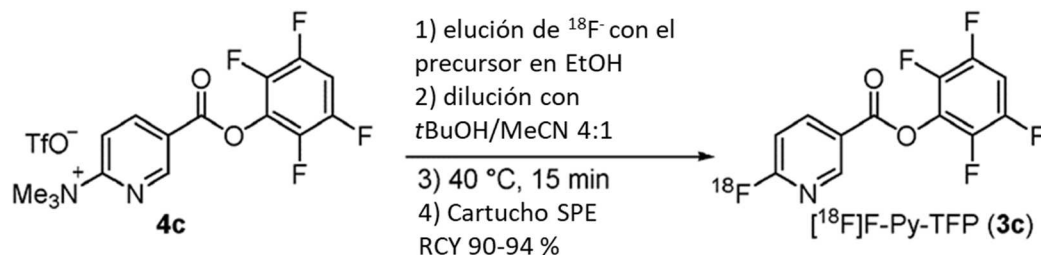
Figura 4:

Síntesis automatizada del módulo de casete de [^{18}F]DCFPyL 1-10 a partir de [^{18}F]fluoruro sin purificación por HPLC:

Ejemplos

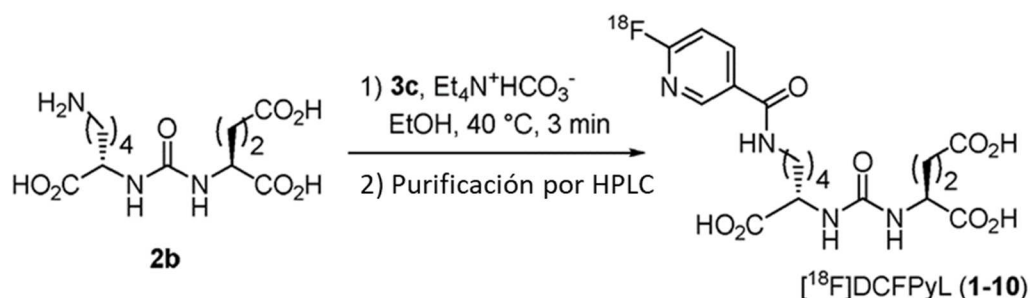
Abreviaturas:

βAla (beta-alanina), Boc (terc-butiloxycarbonilo), DCC (N,N'-diciclohexilcarbodiimida), DMF (dimetilformamida), DMM (dimetoximetano), DMSO (sulfóxido de dimetilo), EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida), EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), Glu (ácido glutámico), Gly (glicina), Lys o syL (lisina), mCPBA (ácido metacloroperoxibenzoico), MeCN (acetonitrilo), ONSu (N-oxisuccinimida), OTf (trifluorometanosulfonato), Tos (tosilo), PMB (p-metoxibencilo), Py (piridinilo), tBu (terc-butilo), TFA (ácido trifluoroacético), TFE (alcohol tetrafluoroetilico), TFP (2,3,5,6-tetrafluorofenilo), THF (tetrahidrofurano), TIS (triisopropilsilano), TMS (trimetilsililo).

Ejemplo 01: Preparación del 6- ^{18}F fluoronicotinato de 2,3,5,6-Tetrafluorofenil (^{18}F F-Py-Tfp, **3c).**

Procedimiento A: El ^{18}F fluoruro acuoso (0,05-50 GBq) se atrapó en una resina de intercambio aniónico (cartucho QMA o Chromafix® 30-PS- HCO_3^-). Cabe señalar que, en el caso de los cartuchos QMA, el ^{18}F fluoruro acuoso se cargó en el cartucho desde el lado macho, mientras que el enjuagado con EtOH y la elución de $^{18}\text{F}^-$ se realizó desde el lado hembra del cartucho. El cartucho se lavó con EtOH (1 ml) y el ^{18}F fluoruro se eluyó de la resina en el vial de reacción con trifluorometanosulfonato de *N,N,N*-trimetil-5-[(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)-carbonil]piridin-2-aminio **4c** (10 mg, 20 μmol) en EtOH (200 μL) seguido de MeCN/tBuOH 1:4 (2 ml). La mezcla se agitó durante 15 min a 40°C. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se cargó en un cartucho de polímero RP (el cartucho se preconditionó con 2 ml de EtOH seguido de 30 ml de H_2O). El cartucho se lavó con H_2O (5 ml) y el ^{18}F F-Py-Tfp **3c** (hasta 15 GBq, 70-75 % de EOB; sin deci-corrección) se eluyó con EtOH (300 μL). Las purezas radioquímicas y químicas después de la purificación con SPE fueron > 98 % determinadas por HPLC analítico (Eluyente: agua con MeCN al 50%. Caudal: 1,5 ml/min. Columna: Chromolith® SpeedROD RP-18e (Merck, Darmstadt Alemania), 50x4,6 mm. Tiempo de retención: ^{18}F F-Py-TFP **3c** ~ 2 minutos).

Procedimiento B: El ^{18}F fluoruro acuoso (0,05-50 GBq) se atrapó en una resina de intercambio aniónico (cartucho QMA o Chromafix® 30-PS- HCO_3^-). Cabe señalar que, en el caso de los cartuchos QMA, el ^{18}F fluoruro acuoso se cargó en el cartucho desde el lado macho, mientras que el lavado con EtOH y la elución de $^{18}\text{F}^-$ se realizó desde el lado hembra del cartucho. El ^{18}F fluoruro se eluyó de la resina en el vial de reacción con una solución metanólica de bicarbonato de tetraetilamonio (5 mg, 500 μL). El disolvente se eliminó a presión reducida a 70°C en 2 min. Posteriormente se añadió el precursor disuelto en MeCN/tBuOH 1:4 (2 ml) y la mezcla se agitó durante 15 min a 40°C. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se cargó en un cartucho de polímero RP (el cartucho se preconditionó con 2 ml de EtOH seguido de 30 ml de H_2O). El cartucho se lavó con H_2O (5 ml) y ^{18}F F-Py-TFP **3c** (hasta 15 GBq, 70-75 % de EOB; sin deci-corrección) se eluyó con EtOH (300 μL). Las purezas radioquímicas y químicas después de la purificación con SPE fueron > 98 % determinadas por HPLC analítico (Eluyente: agua con MeCN al 50%. Caudal: 1,5 ml/min. Columna: Chromolith® SpeedROD RP-18e (Merck, Darmstadt Alemania), 50x4,6 mm. Tiempo de retención: ^{18}F F-Py-TFP **3c** ~ 2 minutos).

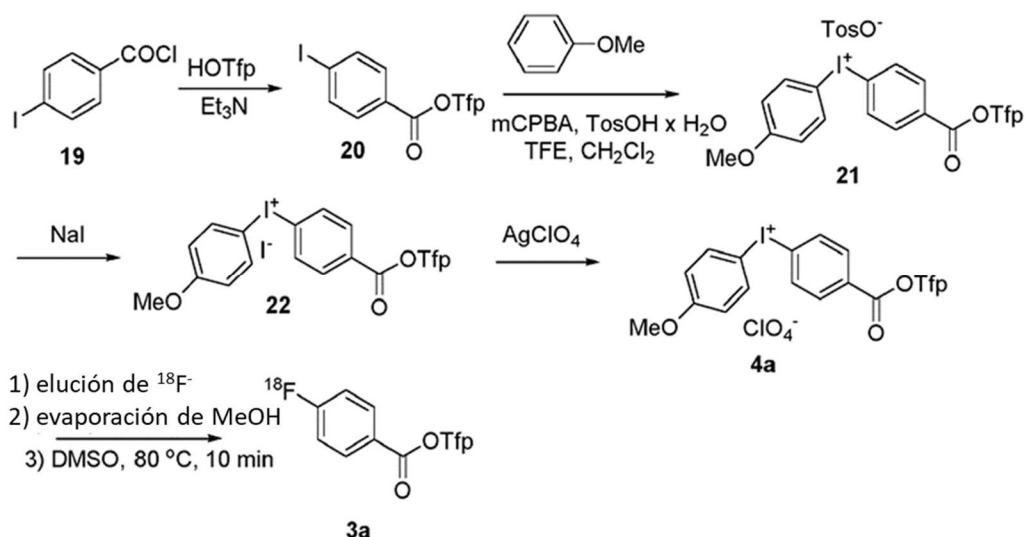
Ejemplo 02: Preparación de ^{18}F DCFPyL 1-10

A una solución etanólica recién preparada de HO-Lys-C(O)-Glu-OH **2b** (2,5 mg, 100 μL) y bicarbonato de tetraetilamonio (0,5 M) en EtOH (60 μL) se añadió una solución etanólica de ^{18}F F-Py-Tfp **3c** (0,05-10 GBq en 150 μL). La mezcla de reacción se agitó durante 3 min a 40°C. Posteriormente, la mezcla se paró con agua (2 ml) y se purificó mediante HPLC preparativo. Eluyente: solución salina (NaCl al 0,9 %) con EtOH al 10%. Caudal: 8 ml/min. Columna: Synergi 4 μm Hydro-RP 80Å 100x21,2 mm. Tiempo de retención: ~7 min. El producto purificado se filtró en condiciones estériles antes de su uso. El ^{18}F DCFPyL **1-10** se obtuvo con un RCY del 75-90% (decaimiento corregido). Las purezas radioquímicas y químicas después de la purificación por HPLC fueron > 98 %, determinadas por HPLC analítico: Eluyente: solución tampón de ácido fosfórico (pH = 2) con EtOH al 10 % durante 5 min, luego al 50 % durante 2 min. Caudal: 1,5 ml/min. Columna: Chromolith® SpeedROD RP-18e column (Merck, Darmstadt Alemania), 50x4,6 mm. Tiempos de retención: ^{18}F DCFPy ~3 min; ^{18}F F-Py-Tfp ~ 5,7 min).

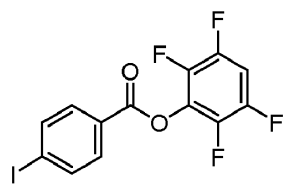
Ejemplo 03: Síntesis automatizada de ^{18}F DCFPyL 1-10 a partir de ^{18}F fluoruro utilizando la purificación por HPLC final (Figura. 1)

El ^{18}F fluoruro (0,05-50 GBq) se transfirió al vacío desde el objetivo a un vial de captura. El ^{18}F fluoruro acuoso se

transfirió desde el vial de captura a través de un cartucho de resina de intercambio aniónico (QMA) desde el lado macho del cartucho, y [^{18}O]H $_2$ O se recogió en un vial separado. Posteriormente, el cartucho se lavó con EtOH (1 ml) del vial **A** desde el lado hembra del cartucho. Se desecharon los lavados. Después de eso, el [^{18}F]fluoruro se eluyó de la resina con trifluorometanosulfonato de *N,N,N*-trimetil-5-[(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)-carbonil]piridin-2-aminio **4c** (10 mg, 20 μmol) en EtOH (200 μL) del vial **B** en el reactor **R1**. Después de esto, MeCN/*t*BuOH 1:4 (2 ml) del recipiente **C** se pasó a través del cartucho al reactor **R1**. El reactor **R1** se llenó con helio, se selló y la mezcla de reacción se calentó a 45°C durante 20 min. Después de enfriar a temperatura ambiente el crudo [^{18}F]F-Py-Tfp **3c** se transfirió al vial colector **C1**, que contiene 20 ml de H $_2$ O. La solución se pasó a través de un cartucho de polímero RP (Strata X). El cartucho se lavó con H $_2$ O (5 ml) del depósito **D** y se secó aplicando una corriente de helio durante 5 min. El [^{18}F]F-Py-TFP **3c** se eluyó con EtOH (400 μL) del vial **E** en el reactor **R2** que contiene una mezcla de una solución etanólica recién preparada de HO-syL-C(O)-Glu-OH **2b** (2,5 mg, 100 μL) y bicarbonato de tetraetilamonio 0,5 M en EtOH (60 μL). Después de la adición de [^{18}F]F-Py-TFP la mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 3 min. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con H $_2$ O (2 ml) del vial **F** y el [^{18}F]DCFPyL se cargó en el HPLC para su purificación. El marcador crudo se purificó por HPLC preparativo para dar [^{18}F]DCFPyL **1-10** en un RCY del 40-65% (desde ^{18}F ; decaimiento corregido) en una pureza radioquímica $\geq 95\%$. Eluyente: solución salina (NaCl al 0,9%) con 10 % de EtOH. Caudal: 8 ml/min. Columna: Synergi 4 μm Hydro-RP 80Å 100 $\times$ 21,2 mm. Tiempo de retención: ~ 7 min. El producto purificado se filtró de forma estéril antes de su uso como (determinado por HPLC analítico (control de calidad): Eluyente: solución tampón de ácido fosfórico (pH = 2) con EtOH al 10 % durante 5 min, luego solución tampón de ácido fosfórico (pH = 2) con EtOH al 50% durante 2 min Caudal: 1,5 ml/min Columna: Chromolith[®] SpeedROD RP-18e column (Merck, Darmstadt Alemania), 50 $\times$ 4,6 mm. Tiempos de retención: [^{18}F]DCFPyL ~ 3 min; [^{18}F]F-Py-Tfp $\sim 5,7$ min).



Ejemplo de referencia 04: Preparación de 4-yodobenzoato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo **20**



Se añadió Et $_3$ N gota a gota (1,504 ml, 0,76 g, 7,51 mmol) a una solución vigorosamente agitada de cloruro de 4-yodobenzoílo **19** (2 g, 7,51 mmol) y 2,3,5,6-tetrafluorofenol (1,25 g, 7,51 mmol) en Et $_2$ O (60 ml) y se continuó agitando durante 10 min más. La mezcla de reacción se filtró, la torta del filtro se lavó con Et $_2$ O (30 ml) y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en Et $_2$ O (10 ml) y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se recrystalizó de Et $_2$ O/hexano para dar el compuesto del título (1,38 g, 48%) como un sólido incoloro.

R_f = 0,46, EtOAc:hexano = 1:10.

^1H -NMR (CDCl $_3$, 300 MHz): δ = 7,07 (tt, J = 9,9, 7,1 Hz, 1 H), 7,82-7,98 (m, 4 H);

^{19}F -NMR (CDCl $_3$, 282,4 MHz): δ = -152,70, -138,80;

^{13}C -NMR (CDCl $_3$, 75,5 MHz): δ = 103,0, 103,4 (t, J = 23,0 Hz), 126,6, 131,9, 138,3, 138,9-142,7 (m), 144,4 (dt, J = 3,8, 12,1 Hz), 147,7 (dt, J = 4,5, 12,1 Hz), 162,2. MS (ESI): modo positivo m/z = 397,3 ($[\text{M} + \text{H}]^+$). MS (EI, 70 eV): m/z (%): 395,9 [M^+] (3), 230,9 [$\text{C}_7\text{H}_4\text{OI}^+$] (100), 202,9 [$\text{C}_6\text{H}_3\text{I}^+$] (100), 104,0 [$\text{C}_7\text{H}_4\text{O}^+$] (10).

Ejemplo de referencia 05: Preparación del tosilato de (4-metoxifenil) [4-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxycarbonil)fenil]yodonio 21:

Se añadió Tos·H₂O (0,72 g, 3,79 mmol) a una solución de 4-yodobenzoato de 2,3,5,6-tetrafenilo **20** (1 g, 2,52 mmol), mCPBA [1,44 g, 85 % de pureza, 7,09 mmol; el mCPBA al 77 % disponible comercialmente (Aldrich) se secó a 2 mbar y 40°C durante 3 h antes de su uso] y anisol (0,51 ml, 0,51 g, 4,72 mmol) en CF₃CH₂OH (TFE) al 50% en CH₂Cl₂ (20 ml) y la mezcla se agitó durante 3 días. La mezcla de reacción se añadió agitado vigorosamente a Et₂O (450 ml) y se continuó agitando durante 45 min más. El precipitado se filtró y se lavó con Et₂O (100 ml), se volvió a disolver en CH₂Cl₂ (20 ml) y se filtró a través de Celite®. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se recrystalizó de CH₂Cl₂/Et₂O para dar el compuesto del título (1,53 g, 90%) como un sólido incoloro.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ= 2,28 (s, 3 H), 3,77 (s, 3 H), 6,80 (d, *J* = 9,0 Hz, 2 H), 6,97 (d, *J* = 6,0 Hz, 2 H), 7,01-7,14 (m, 1 H), 7,36 (d, *J* = 9,0 Hz, 2 H), 7,98-8,03 (m, 4 H), 8,18 (d, *J* = 9,0 Hz, 2 H);

¹⁹F-NMR (CDCl₃, 282,4 MHz): δ= -152,70, -138,55;

¹³C-NMR (CDCl₃, 75,5 MHz): δ= 21,2, 55,5, 103,7 (t, *J* = 23,0 Hz), 104,7, 117,4, 123,0, 125,9, 128,5, 129,3, 132,7, 135,3, 137,9, 138,8-423142,3 (m), 139,6, 142,2, 144,4 (dt, *J* = 3,8, 15,9 Hz), 147,7 (dt, *J* = 4,5, 16,6 Hz), 161,3, 162,4.

MS (ESI): modo positivo *m/z* = 503,0 ([M]⁺); MS (ESI): modo negativo *m/z* = 171,0 ([C₇H₇SO₃]⁻); ESI HRMS: calcd para C₂₀H₁₂F₄O₃I⁺: 502,9762; encontrado: 502,9769.

Ejemplo de referencia 06: Preparación del yoduro de (4-metoxifenil) [4-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxycarbonil)fenil]yodonio 22:

El tosilato de (4-metoxifenil)[4-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxycarbonil)fenil]yodonio **21** (1,19 g, 1,76 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (20 ml). Después de la adición de NaI saturado (10 ml), la mezcla se agitó vigorosamente durante 15 min y se centrifugó (4000 rpm, 15°C, 10 min). La solución acuosa y el precipitado se separaron, se añadió NaI saturado (10 ml) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 15 min y se centrifugó (x3). La fracción orgánica se filtró, secó y concentró a presión reducida. El residuo se recrystalizó de CH₂Cl₂/Et₂O, el precipitado se filtró, se lavó con acetona (10 ml) y Et₂O (80 ml) para dar el compuesto del título (0,29 g, 26 %) como un sólido blanquecino.

La sustancia podría almacenarse a 4°C bajo argón al menos durante 4 meses. Sin embargo, era inestable en solución, especialmente a temperaturas elevadas (disuelto en DMF o DMSO ya era inestable a temperatura ambiente).

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ= 3,79 (s, 3 H), 6,65-6,73 (m, 2 H), 6,95-7,10 (m, 1 H), 7,56 (d, *J* = 8,9 Hz, 2 H), 7,81-8,05 (m, 3 H), 8,21-8,35 (m, 1 H);

¹⁹F-NMR (CDCl₃, 282,4 MHz): δ= -152,63, -138,72;

¹³C-NMR (CDCl₃, 75,5 MHz): δ = 55,5, 82,3, 103,0, 103,5 (t, *J* = 22,6 Hz), 116,4, 126,6, 128,8, 131,9, 138,3, 138,6-142,5 (m), 144,2-144,7 (m), 144,5-144,9 (m), 159,5, 162,2.

MS (ESI): modo positivo *m/z* = 502,9 ([M]⁺); MS (ESI): modo negativo *m/z* = 126,9 ([I]⁻); ESI HRMS: calcd para C₂₀H₁₂F₄O₃I⁺: 502,9762; encontrado: 502,9741.

Ejemplo de referencia 07: Preparación del perclorato de (4-metoxifenil) [4-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxycarbonil)fenil]yodonio 4a

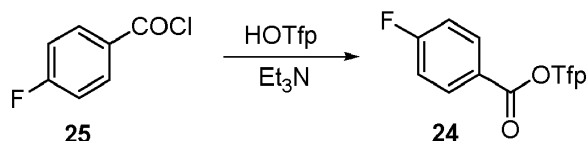
A una solución del yoduro de (4-metoxifenil)[4-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxycarbonil)fenil]-yodonio **22** (0,2 g, 0,32 mmol) en acetona (12 ml) se añadió AgClO₄ (66 mg, 0,32 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 min, el AgI precipitado se separó por centrifugación. El sobrenadante se concentró a presión reducida y el residuo se recrystalizó de CH₂Cl₂/Et₂O para dar el compuesto del título (168 mg, 88%) como un sólido incoloro.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ= 3,80 (s, 3 H), 6,88-6,98 (m, 2 H), 7,06 (tt, *J* = 9,9, 7,1 Hz, 1 H), 8,04-8,13 (m, 2 H), 8,14-8,18 (m, 2 H), 8,21-8,26 (m, 2 H);

¹⁹F-NMR (CDCl₃, 282,4 MHz): δ= -152,52, -138,48;

¹³C-NMR (CDCl₃, 75,5 MHz): δ= 55,5, 101,1, 103,8 (t, *J* = 21,1 Hz), 118,4, 120,1, 130,6, 133,5, 135,1, 138,3, 138,7-139,3 (m), 142,1-144,4 (m), 147,5-147,7 (m), 161,0, 163,4.

MS (ESI): modo positivo *m/z* = 503,0 ([M]⁺); ESI HRMS: calcd para C₂₀H₁₂F₄O₃I⁺: 502,9762; encontrado: 502,9769. MS (ESI): modo positivo *m/z* = 503,0 ([M]⁺); MS (ESI): modo negativo *m/z* = 171,0 ([C₇H₇SO₃]⁻); ESI HRMS: calcd para C₂₀H₁₂F₄O₃I⁺: 502,9762; encontrado: 502,9749.

Ejemplo de referencia 08: Preparación del 4-fluorobenzoato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo 24:

Et₃N (0,54 ml, 0,39 g, 3,87 mmol) se añadió gota a gota a una solución vigorosamente agitada de cloruro de 4-fluorobenzoato **25** (0,46 ml, 0,61 g, 3,87 mmol) y 2,3,5,6-tetrafluorofenol (0,64 g, 3,87 mmol) en Et₂O (30 ml) y se continuó agitando durante 10 min más. La mezcla de reacción se filtró, se lavó con H₂O (15 ml) y salmuera (2 x 10 ml), se secó y se concentró a presión reducida. El residuo se recristalizó de hexano para dar **24** (0,41 g) como un sólido incoloro. Las aguas madres se concentraron a presión reducida y el residuo se recristalizó de hexano para dar una segunda cosecha de **24** (0,45 g, total 77%).

$R_f = 0,62$, EtOAc:hexano = 1:10.

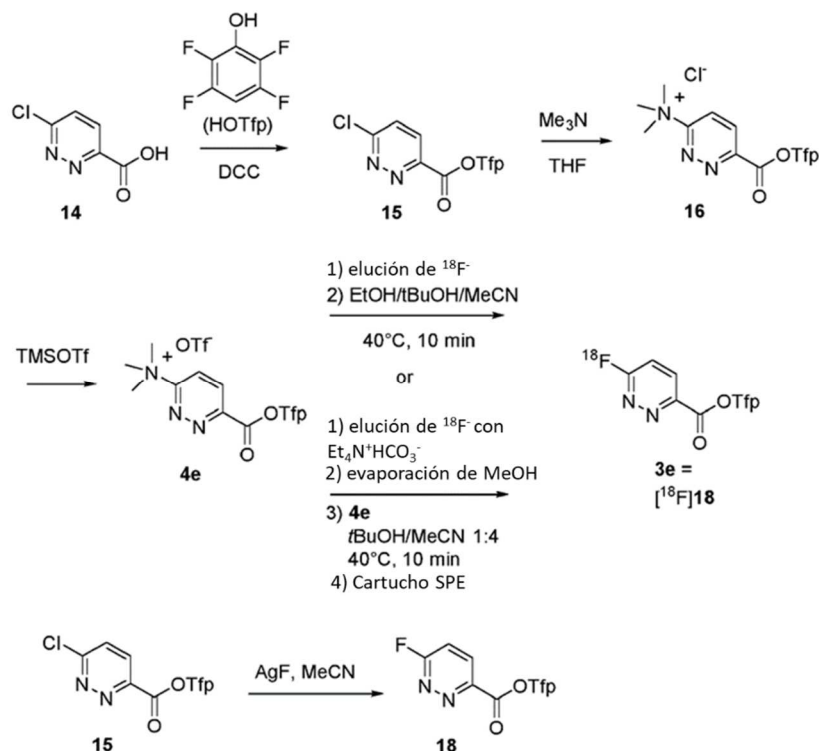
¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): $\delta = 7,07$ (tt, $J = 9,9, 7,1$ Hz, 1 H), 7,21-7,30 (m, 2 H), 8,21-8,37 (m, 2 H);

¹⁹F-NMR (CDCl₃, 282,4 MHz): $\delta = -152,75, -138,93, -102,24$;

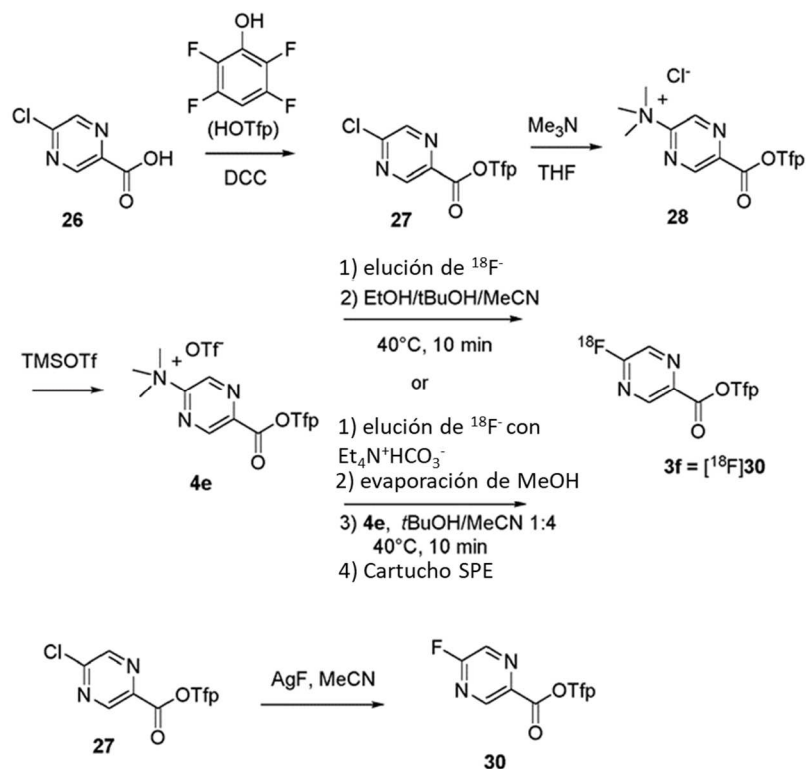
¹³C-NMR (CDCl₃, 75,5 MHz): $\delta = 103,4$ (t, $J = 21,9$ Hz), 116,2 (d, $J = 21,9$ Hz), 123,5 (d, $J = 1,5$ Hz), 133,5 (d, $J = 2,3$ Hz), 139,0-142,7 (m), 144,5-145,1 (m), 147,3-148,2 (m), 163,3 (d, $J = 259,7$ Hz), 168,5. MS (ESI): modo positivo $m/z = 288,3$ ([M]⁺). EM (EI, 70 eV): m/z (%): 165,0 [C₆H₄F⁺O] (10), 123,0 [C₆H₄FO⁺] (100), 95,0 [C₆H₄F⁺] (10).

Ejemplo de referencia 09: Preparación del 4-[¹⁸F]fluorobenzoato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo 3a

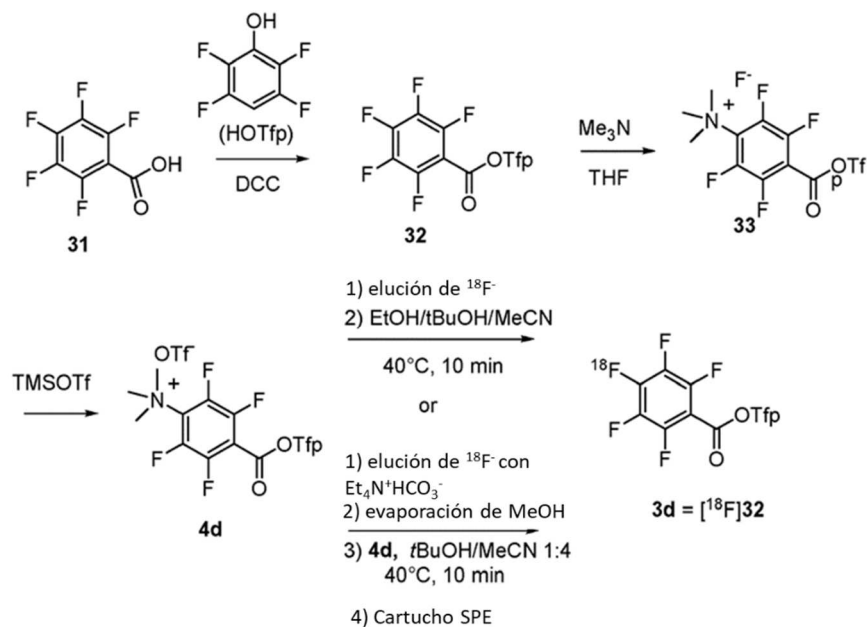
El [¹⁸F]fluoruro acuoso (0,05-50 GBq) se atrapó en una resina de intercambio aniónico (cartucho QMA o Chromafix® 30-PS-HCO₃). Cabe señalar que, en el caso de los cartuchos QMA, el [¹⁸F]fluoruro acuoso se cargó en el cartucho desde el lado macho, mientras que el lavado con MeOH y la elución del ¹⁸F⁻ se realizó desde el lado hembra del cartucho. Si el cartucho QMA se cargaba, enjuagaba y eluía solo desde el lado hembra, a veces una cantidad significativa de [¹⁸F]fluoruro permanecía en la resina (esto es probablemente porque los cartuchos QMA-light (46 mg) tienen una sola frita en el lado macho, pero cuatro en el lado hembra). El cartucho se lavó con MeOH (1 ml) y el [¹⁸F]fluoruro se eluyó en un vial de reacción con una solución del perclorato de (4-metoxifenil) [4-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxycarbonil)fenil]yodonio (5 mg) **4a** en MeOH (0,5 ml). El metanol se evaporó a presión reducida a 70°C en 2-3 min. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió DMSO (500 μ l). La mezcla de reacción se agitó a 130°C durante 10 min. Posteriormente la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió agua (4 ml) y la mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 30 s. El análisis de la mezcla por radio-HPLC mostró la formación del deseado éster activo marcado con ¹⁸F en un RCY del 24%. Condiciones de HPLC: columna: Chromolith® SpeedROD RP-18e (Merck, Darmstadt, Alemania), 50 x 4,6 mm; eluyente: MeCN al 50%; caudal: 3 ml/min.

Ejemplo 10: Preparación del 6-[¹⁸F]fluoropiridazina-3-carboxilato de 2,3,15,6-tetrafluorofenilo (3e)

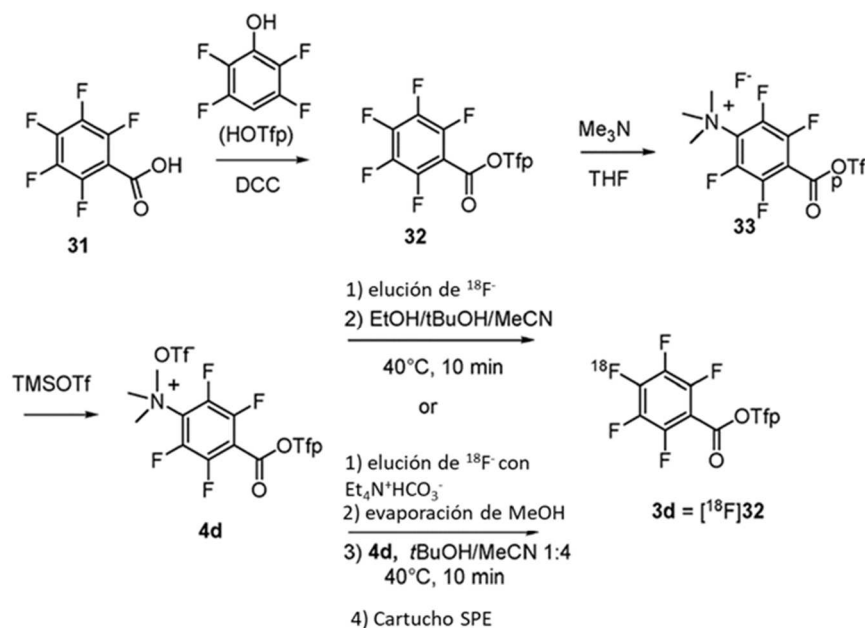
3e se puede preparar a partir de un precursor radiomarcado **4e** utilizando uno de los dos procedimientos alternativos de radiomarcado. Según el primero el ¹⁸F⁻ se fija sobre una resina de intercambio aniónico. La resina se lava con EtOH y se drena. El ¹⁸F⁻ se eluye con una solución etanólica de **4e**. La resina se lava adicionalmente con tBuOH/MeCN 1:4 y los eluatos recogidos se calientan durante un breve periodo de tiempo. Finalmente, **3e** se aísla mediante SPE. Alternativamente **3e** se eluye con bicarbonato de tetraetilamonio metanólico, se evapora el disolvente y se recoge el residuo en una solución de **4e** en tBuOH/MeCN 1:4 y se calienta durante un tiempo breve. Finalmente, el éster activo deseado se aísla mediante SPE. El precursor de radiomarcaje **4e** se puede preparar a partir de un precursor comercialmente disponible **14** como sigue: Esterificación con 1,2,5,6-tetrafluorofenol/DCC, tratamiento del éster activo intermedio **15** con trimetilamina anhidra en THF seguida de metátesis de aniones usando TMSOTf. El compuesto de referencia **18** se puede preparar a partir de intermedio **15** por tratamiento con AgF en condiciones anhidras.

Ejemplo 11: Preparación del 5-[¹⁸F]fluoropirazina-2-carboxilato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo (3f)

El Compuesto **3f** se puede preparar exactamente como **3e** como se describe en el Ejemplo 10.

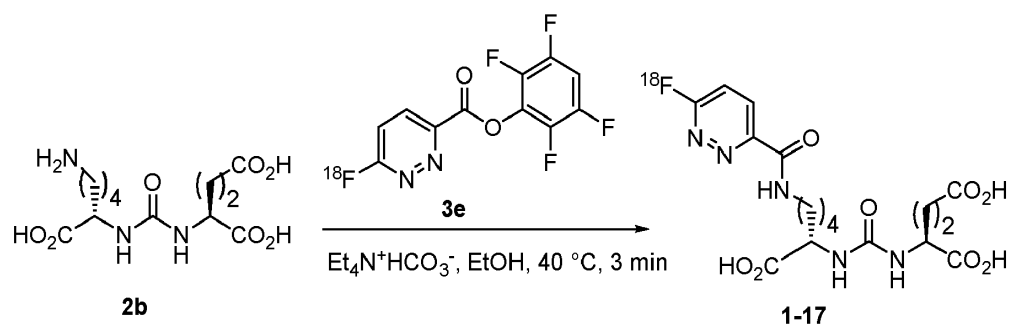
Ejemplo 12: Preparación del 4-[¹⁸F]fluoro-2,3,5,6-tetrafluorobenzoato de 2,3,5,6-tetrafluorofenilo (3d)

o



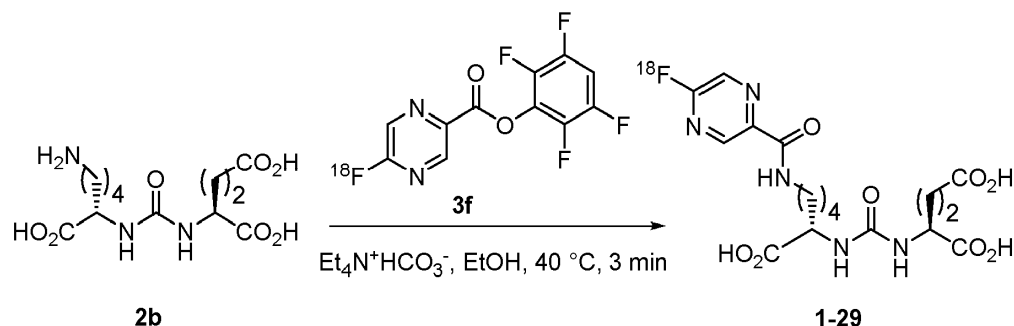
El Compuesto **3d** se puede preparar exactamente como **3e** como se describe en el Ejemplo 10.

Ejemplo 13: Preparación del ácido (2S)-2-({[(1S)-1-carboxi-5-{[6-¹⁸F]fluoropiridazin-3-il}formamido}pentil]carbamoil)amino)butanodioico (1-17)



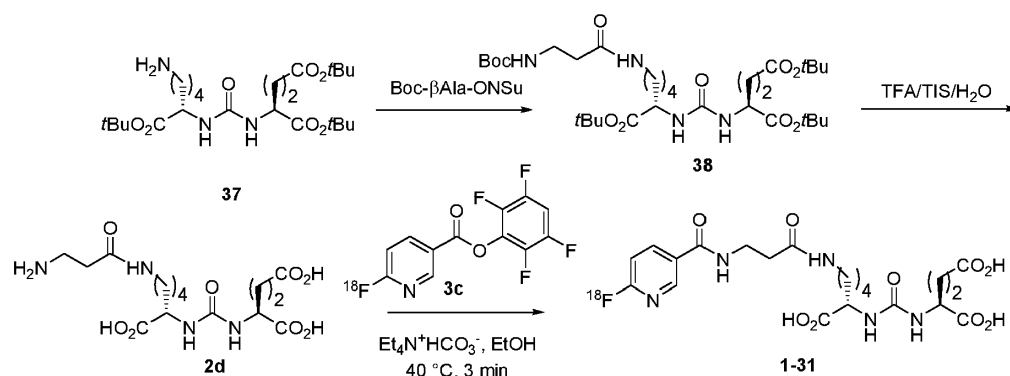
Compuesto **1-17** se puede preparar exactamente como [¹⁸F]DCFPyL (**1-10**) como se describe en el ejemplo 2.

Ejemplo 14: Preparación del ácido (2S)-2-({[(1S)-1-carboxi-5-{[5-¹⁸F]fluoropiridazin-2-il}formamido}pentil]carbamoil)amino)butanodioico (1-29)



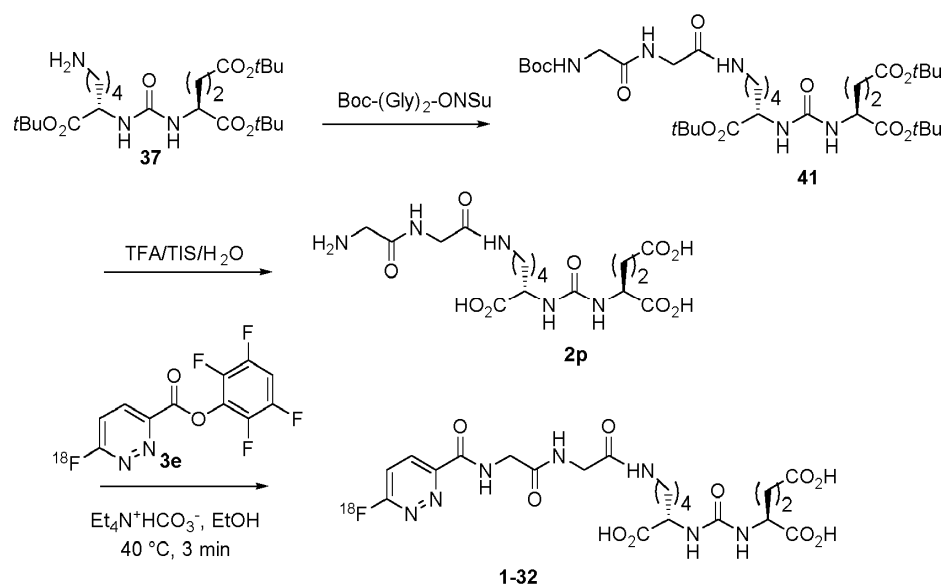
El Compuesto **1-29** se puede preparar exactamente como [¹⁸F]DCFPyL ([¹⁸F] **1-10**) como se describe en el ejemplo 2.

Ejemplo de referencia 15: Preparación del ácido (2S)-2-([[(1S)-1-carboxi-5-(3-[6-¹⁸F]fluoropiridin-3-il]formamido}propanamido)pentil]carbamoil]amino)butanodioico (1-31)



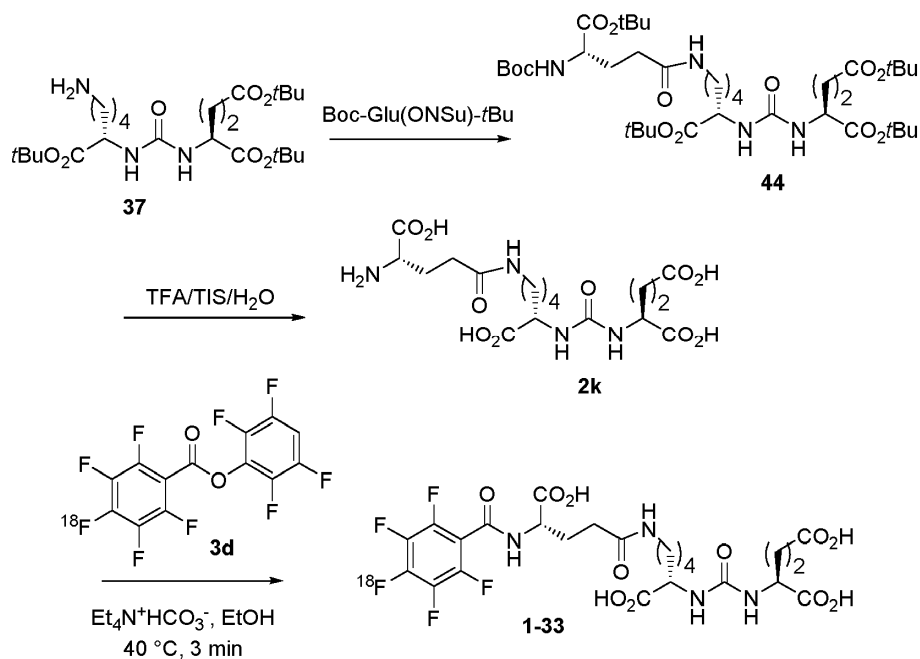
El Compuesto **1-33** se puede preparar de forma análoga a [¹⁸F]DCFPyL (**1-10**) utilizando **2d** en vez de **2b**. **2d** a su vez puede prepararse utilizando métodos convencionales de síntesis de péptidos, por ejemplo, mediante la acilación de **37** conocido con Boc-βAla-ONSu seguido de escisión de los grupos protectores.

Ejemplo de referencia 16: Preparación del ácido (2S)-2-([[(1S)-1-carboxi-5-(2-[6-¹⁸F]fluoropiridazin-3-il]formamido}acetamido)pentil]carbamoil]amino)butanodioico (1-32)



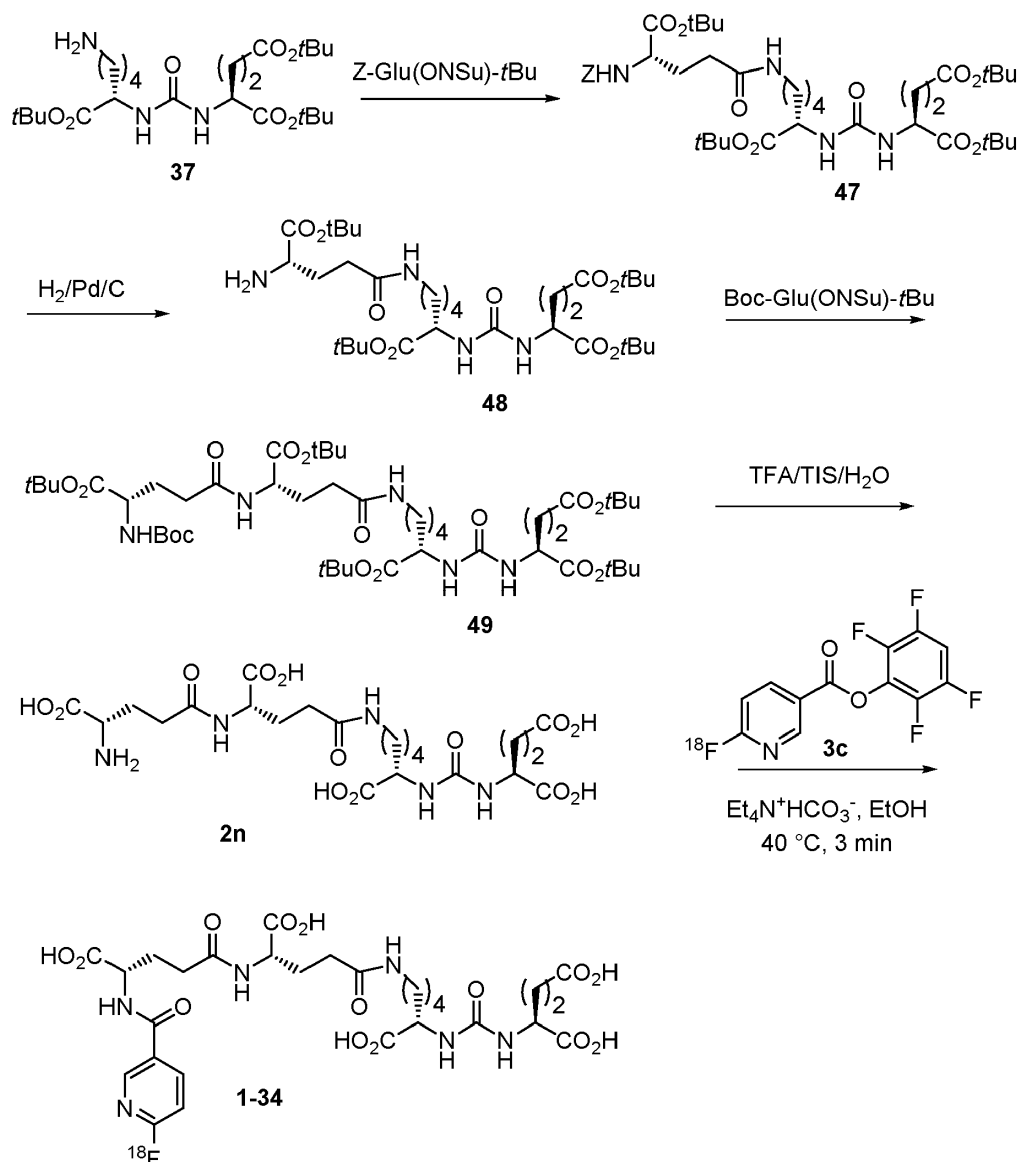
El Compuesto **1-32** se puede preparar de forma análoga a [¹⁸F]DCFPyL (**1-10**) utilizando **2p** en vez de **2b**. **2p** a su vez puede prepararse utilizando métodos convencionales de síntesis de péptidos, por ejemplo, mediante la acilación de **37** conocido con Boc-Gly-Gly-ONSu seguido de escisión de los grupos protectores.

Ejemplo 17: Preparación del ácido (2S)-2-((1S)-1-carboxi-5-[(4S)-4-carboxi-4-[[4-[¹⁸F]fluoro-2,3,5,6-tetrafluorofenil]formamido}butanamido]pentil]carbamoil)amino)butanodioico (1-33)



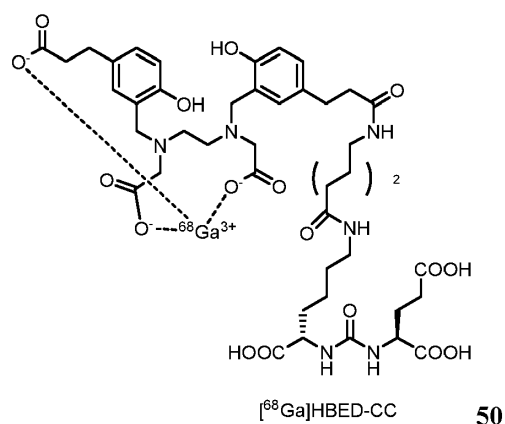
5 El Compuesto **1-33** se puede preparar de forma análoga a [¹⁸F]DCFPyL (**1-10**) utilizando **2k** en vez de **2b**. **1-33** a su vez puede prepararse utilizando métodos convencionales de síntesis de péptidos, por ejemplo, mediante la acilación de **37** conocido con Boc-Glu(ONSu)-OtBu seguido de escisión de los grupos protectores.

Ejemplo 18: Preparación del ácido (2S)-2-({[(1S)-1-carboxi-5-[(4S)-4-carboxi-4-[(4S)-4-carboxi-4-[[6-¹⁸F]fluoropiridin-3-il]formamido]-butanamido]butanamido]-pentil]carbamoil}amino)butanodioico (1-34)



5 El Compuesto **1-34** se puede preparar de forma análoga a [^{18}F]DCFPyL ([^{18}F]**1-10**) utilizando **2n** en vez de **2b**. **2n** a su vez puede prepararse utilizando métodos convencionales de síntesis de péptidos, por ejemplo, mediante la acilación de **37** conocido con Z-Glu(ONSu)-OtBu seguido de la escisión del grupo Z (Z = benciloxicarbonilo, Boc = terc-butiloxicarbonilo), seguido de la acilación del intermedio **49** con $\text{Boc-Glu(ONSu)-OtBu}$ y desprotección final con TFA.

Ejemplo 19: Comparación de [^{18}F]DCFPyL ([^{18}F]1-10) con [^{68}Ga]HBED-CC (50) en PSMA⁺ en Ratones con xenoinjerto de PCa



Métodos:

5 Cinco ratones machos C.B-Igh-1b/lcrTac-Prkdcscid (Taconic) de 8 semanas de edad fueron inyectados por vía subcutánea en la región del cuello con 4×10^6 células tumorales de próstata LNCaP-C4-2. Tres semanas después de la implantación del tumor, dos mediciones de PET con [^{18}F]DCFPyL ([^{18}F]1-10) y [^{68}Ga]HBED-CC (50), respectivamente, se realizaron con un escáner Inveon $\mu\text{PET/CT}$ (Siemens) con una resolución de 1,4 mm FWHM en el centro del campo de visión. La primera medición de PET fue seguida inmediatamente por una tomografía computarizada durante la cual se dejó al animal en la misma posición. Ambos marcadores se inyectaron i.v. a través de la vena lateral de la cola ([^{18}F]1-10: 21-32 MBq; [^{68}Ga]HBED-CC: 19-33 MBq, en dos días consecutivos). La recopilación de datos de emisión comenzó 60 min después de la inyección y duró 45 min. La reconstrucción de la imagen se realizó mediante rebinning de Fourier y un procedimiento de maximización de expectativas de subconjunto ordenado (3D-OSEM), produciendo imágenes con tamaños de vóxel de $0,78 \times 0,78 \times 0,80$ mm. El análisis de imágenes se realizó con VINCI 4.0 (MPI for Metabolism Research, Colonia, Alemania). La absorción del marcador en el tumor, así como en el hígado, el riñón y el fondo se determinó utilizando volúmenes de interés (VOIs) que cubren la estructura respectiva. Las diferencias significativas se evaluaron utilizando ANOVA de medidas repetidas de dos vías con factores "estructura" y "marcador", seguido de una comparación post hoc de Holm-Sidak. Los tamaños de los tumores se midieron dibujando los VOIs tumorales precisos en las imágenes de CT y extrayendo el volumen VOI. La absorción del marcador se correlacionó con el tamaño del tumor usando la prueba de correlación de Pearson.

Resultados

Como se muestra en la Figura 2, la absorción del marcador tumoral fue similar para los dos marcadores (Figura 2): $1,4 \pm 1,7$ % ID/g para [^{18}F]1-10, y $1,8 \pm 2,0$ % ID/g para [^{68}Ga]HBED-CC (50) (insignificante). Hubo una correlación positiva significativa entre el tamaño del tumor y la absorción del marcador para ambos marcadores: $R=0,97$, $p=0,0059$ para [^{18}F]1-10, y $R=0,98$, $p=0,0019$ para [^{68}Ga]HBED-CC (50). La relación señal-ruido (tumor versus fondo) también fue casi idéntica con $5,9 \pm 4,2$ para [^{18}F]1-10 y $6,7 \pm 6,9$ para [^{68}Ga]HBED-CC (50). Si bien la absorción hepática también fue similar ($1,1 \pm 0,5$ % ID/g para [^{18}F]1-10, y $0,7 \pm 0,2$ % ID/g para [^{68}Ga]HBED-CC (50); insignificante), la absorción de [^{18}F]1-10 en el riñón ($3,0 \pm 1,9$ % ID/g) fue significativamente menor que la absorción de [^{68}Ga]HBED-CC (50) ($13,9 \pm 6,4$ % ID/g; $F(3,12)=25,6$, $p<0,0001$ para interacción de factores, post-hoc $p<0,05$).

Ejemplo 20: Síntesis automatizada de [^{18}F]DCFPyL 1-10 a partir de [^{18}F]fluoruro sin purificación por HPLC (Figura. 3)

El [^{18}F]fluoruro acuoso (0,05-50 GBq) se transfirió desde el objetivo a un vial de captura. El [^{18}F]fluoruro acuoso se transfirió al vacío desde el vial de captura a través de un cartucho de resina de intercambio aniónico (Sep-Pak QMA carbonate light 46 mg, preacondicionado con 1 ml de agua) desde el lado macho del cartucho, y el [^{18}O]H₂O se recogió en un vial separado. Posteriormente, el cartucho se lavó con EtOH (3 ml) del vial A desde el lado hembra del cartucho. Se desecharon los lavados. Después de eso, [^{18}F]fluoruro se eluyó lentamente de la resina con el trifluorometanosulfonato de *N,N,N*-trimetil-5-[(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)-carbonil]piridin-2-aminio 4c (10 mg, 20 μmol) en EtOH (200 μL) del vial B en el reactor R1 con un flujo bajo de helio. Después de esto, MeCN/*i*BuOH 1:4 (2 ml) del recipiente C se pasó a través del cartucho al reactor R1. El reactor R1 se llenó con helio, se selló y la mezcla de reacción se calentó a 45°C durante 15 min. Después de enfriar a temperatura ambiente el crudo [^{18}F]F-Py-TFP 3c se diluyó con agua (15 ml) del recipiente E y se pasó a través de un cartucho de polímero RP (Strata X, preacondicionado con 1 ml de EtOH y lavado con 5 ml de agua). El cartucho se lavó con H₂O (10 ml) del depósito D y se secó aplicando una corriente de helio durante 5 min. El [^{18}F]F-Py-TFP 3c se eluyó con una mezcla de etanol (250 μL), solución etanólica recién preparada de HO-syL-C(O)-Glu-OH 2b (2,5 mg, 100 μL) y bicarbonato de tetraetilamonio 0,5 M en EtOH (60 μL) del vial F en el reactor R2. La mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 3 min. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con agua del vial G y se transfirió al recipiente M que contiene

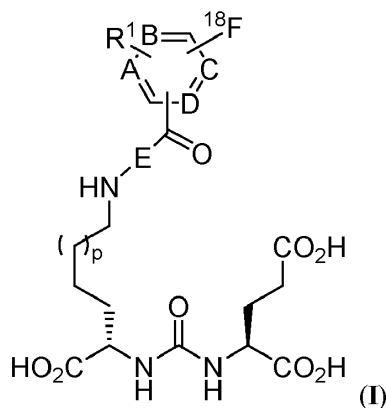
TFA al 0,1 % (20 ml). La solución ácida se cargó en un cartucho tC18 (Sep-Pak tC18 Plus Long Cartridge, 900 mg, preacondicionado con 10 ml de EtOH y lavado con 30 ml de agua). Posteriormente, el cartucho se lavó con agua (10 ml) del vial **H** y el [¹⁸F]DCFPyL se eluyó con solución de EtOH al 10 % de ácido fosfórico al 1,7 % (60 ml) en un cartucho HLB (Oasis HLB Plus Short Cartridge de 225 mg, preacondicionado con 10 ml de EtOH y lavado con 30 ml de agua) de Recipiente I. El cartucho HLB se lavó con 10 ml de agua por recipiente **L** y el [¹⁸F]DCFPyL se eluyó con etanol al 50% en volumen en solución salina isotónica (2 ml; v/v). La solución se diluyó con solución salina isotónica (9 ml) y se filtró de forma estéril. Control de calidad: eluyente: ácido fosfórico (1,7 %) con EtOH al 10 % durante 5 min, después con EtOH al 50 % durante 2 min. Caudal: 3 ml/min. Columna: Chromolith® SpeedROD RP-18e column (Merck, Darmstadt Alemania), 50×4,6 mm. Tiempos de retención: [¹⁸F]DCFPyL ~ 3 min; [¹⁸F]F-Py-Tfp ~ 5,7 min.

10 **Ejemplo 21. Síntesis del módulo de casete automatizado de [¹⁸F]DCFPyL 1-10 a partir de [¹⁸F]fluoruro sin purificación por HPLC (Figura 4)**

Se transfirió [¹⁸F]fluoruro acuoso (0,05-50 GBq) desde el objetivo al vial receptor en la posición E. A continuación, se transfirió al vacío el [¹⁸F]fluoruro acuoso desde el vial receptor E a través de un cartucho de resina de intercambio aniónico (Sep-Pak QMA carbonate light 46 mg, preacondicionado con 1 ml de agua) a través de C→B→A. Se recogió [¹⁸O]H₂O en el vial de recogida. Posteriormente, el cartucho se lavó con EtOH (1 ml) del depósito D mediante la acción de la jeringa 1 (S1) a través de D→S1 y luego S1→B→C→Desecho dos veces. A continuación, se eluyó lentamente el [¹⁸F]fluoruro de la resina con trifluorometanosulfonato de N,N,N-trimetil-5-[(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)-carbonil]piridin-2-amino 4c (10 mg, 20 μmol) en EtOH (200 μL) desde el vial en la posición J hacia el reactor a través de J→S1 y luego S1→B→C→G. El disolvente de reacción MeCN/tBuOH 1:4 (2 ml) del recipiente en la posición K se pasó a través del cartucho al reactor a través de K→S1 y luego S1→B→C→G, también. El reactor se selló y la mezcla de reacción se calentó a 50°C durante 15 min. El [¹⁸F]F-Py-Tfp 3c crudo se purificó mediante SPE. Esto se logró mediante un procedimiento de dilución por etapas de la mezcla de reacción cruda. Al principio, la mezcla de reacción caliente se inactivó con agua (2 ml) del depósito en la posición M mediante la acción de la jeringa 2 (S2) a través de M→S2 y luego S2→G. Luego, la jeringa 2 se llenó parcialmente con agua (5,5 ml) a través de M→S2, y una alícuota (1 ml) de [¹⁸F]F-Py-Tfp crudo se succionó en la jeringa 2 a través de G→S2. La solución diluida se pasó a través de un cartucho C18 pequeño (Sep-Pak C18 Plus Light Cartridge, 130 mg) en la posición H a través de S2→H→R→Desecho. Se repitió todo el procedimiento hasta que se logró la recuperación total de la mezcla de reacción. El cartucho se lavó con agua (5 ml) vía M→S2 y S2→H→R→Desecho, y se secó con una corriente de nitrógeno durante 20 s vía A→H→R→Desecho. El reactor, el colector, el tubo H→R y la jeringa 1 se limpiaron a fondo mediante un procedimiento que implicaba el lavado con etanol y secado con una corriente de nitrógeno. El [¹⁸F]F-Py-Tfp 3c se eluyó del cartucho pequeño C18 con una solución de HO-syL-C(O)-Glu-OH 2b (2,5 mg) y bicarbonato de tetraetilamonio 0,5 M en EtOH (500 μL) del vial en la posición L en el reactor a través de L→R→H→G aplicando vacío en V→Reactor. La mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 3 min y, a continuación, se inactivó con ácido trifluoroacético al 0,5 % (4 ml) del recipiente en la posición N a través de N→S2 y S2→G. La solución ácida de [¹⁸F]DCFPyL se diluyó aún más con H₂O y se cargó en un cartucho tC 18 (Sep-Pak tC 18 Plus Long Cartridge, 900 mg, preacondicionado con 5 ml de EtOH y lavado con 15 ml de agua). Para lograr esto, la jeringa 2 se llenó parcialmente con agua (4 ml) a través de M→S2, luego se succionó una alícuota de la mezcla de reacción cruda (1 ml) en la jeringa 2 a través de G→S2. Esta solución se pasó a través del cartucho tC 18 (Sep-Pak C18 Plus Light Cartridge, 130 mg) a través de S2→H→R→Desecho. Todo el procedimiento de dilución se realizó al menos cuatro veces para lograr una recuperación completa de la mezcla de reacción en el reactor. Posteriormente, el cartucho se lavó con agua (5 ml) del depósito a través de M→S2 y S2→H→R→Desecho, y se secó aplicando una corriente de nitrógeno de alto flujo durante 5 s a través de A→H→R→Desecho. El [¹⁸F]DCFPyL se eluyó por etapas de la fase tC 18 con solución de EtOH al 10 % en volumen de ácido fosfórico al 1,7 % (volumen total de 60 ml) en un cartucho HLB (Oasis HLB Plus Short Cartridge de 225 mg, preacondicionado con 5 ml de EtOH y lavado con 15 ml de agua) del recipiente en la posición O mediante la acción de la jeringa 2 a través de O→S2 y luego S2→P→Q→S→T→Desecho para lograr una purificación adicional. Después de esto, el cartucho HLB se lavó con 10 ml de agua vía M→S2 y luego S2→S→T→Desecho. El [¹⁸F]DCFPyL purificado se eluyó con etanol (1 ml) del depósito D a través de D→S1 en la jeringa 3 (S3) a través de S1→S→T→S3. La solución etanólica de [¹⁸F]DCFPyL en la jeringa 3 se diluyó aún más con solución salina isotónica (volumen total de 10 ml) del recipiente I a través de I→S→T→S3 y se dispensó a pedido del operador en el vial del marcador en la posición U (S3→U) con filtración estéril simultánea para dar el marcador de PET como una solución lista para inyección en EtOH al 9 % en solución salina isotónica. Control de calidad: eluyente: ácido fosfórico al 1,7 %/EtOH = 9/1 durante 5 min, luego ácido fosfórico al 1,7 %/EtOH = 1/1 durante 2 min. Caudal: 3 ml/min. Columna: Chromolith® SpeedROD RP-18e column (Merck, Darmstadt Alemania), 50×4,6 mm. Tiempos de retención: [¹⁸F]DCFPyL ~ 3 min; [¹⁸F]F-Py-Tfp ~ 5,7 min.

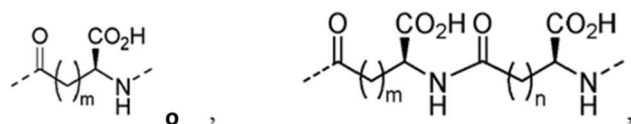
REIVINDICACIONES

1. Un método para la preparación de un compuesto de fórmula (I)



- 5 en donde **A**, **B**, **C** y **D** representan independientemente entre sí C-H, C-F, C-Cl o N; y no más de dos de **A**, **B**, **C** y **D** representan N;

E representa un enlace covalente,



en donde

- 10 **R¹** representa alquilo de C₁-C₃, alcoxi de C₁-C₃, haloalquilo de C₁-C₃, tioalquilo de C₁-C₃, perfluoroalquilo, haloalcoxi de C₁-C₃, alquilcarbonilo de C₁-C₄, alquiloxicarbonilo de C₁-C₄, alquilcarboxi de C₁-C₄, arilo, alquilarilo, arilo, arilcarboxi, halógeno, preferiblemente Cl o Br, trifluorometilo, ciano o nitro;

n es 2;

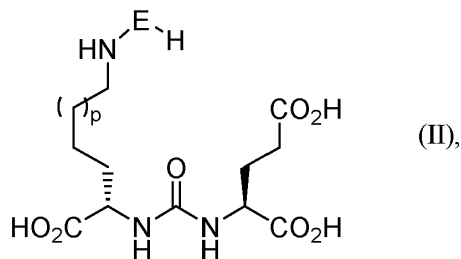
m es 2 o 3;

p es 0 o 1;

- 15 e hidratos y sales de los mismos,

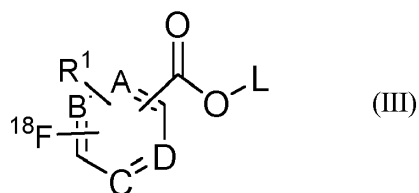
en el que dicho método comprende las etapas:

(A) proporcionar una solución de un compuesto de fórmula (II)



- 20 en un disolvente prótico polar, preferiblemente en EtOH, o en una mezcla de disolventes que contenga un disolvente prótico polar que contenga al menos una base, preferiblemente en Et₄NHCO₃;

(B) proporcionar una solución de un compuesto de fórmula (III)

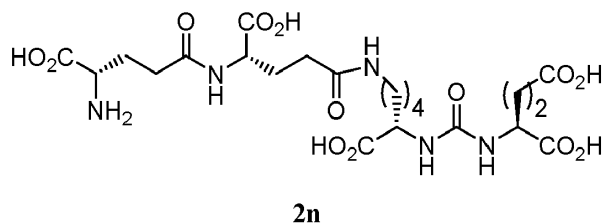
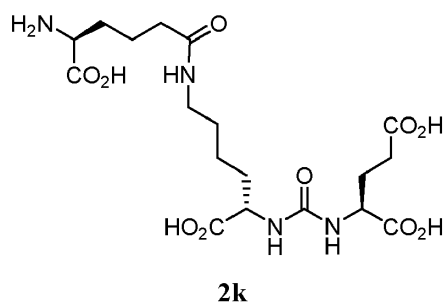
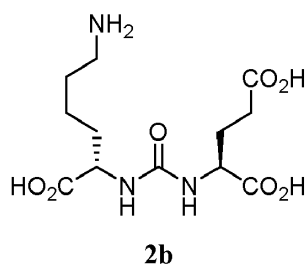
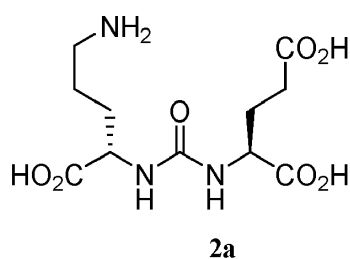


en un disolvente prótico polar, preferiblemente en EtOH, o en una mezcla de disolventes que contenga un disolvente prótico polar;

5 (C) mezclar la solución del compuesto de fórmula (II) y la solución del compuesto de fórmula (III) y dejar que el compuesto de fórmula (II) reaccione con el compuesto de fórmula (III) para obtener el compuesto de fórmula (I),

(D) purificar el compuesto de fórmula (I), preferiblemente usando una solución isotónica de cloruro de sodio;

en donde dicho compuesto de fórmula (II) se selecciona del grupo que comprende los compuestos 2a - 2n:



10

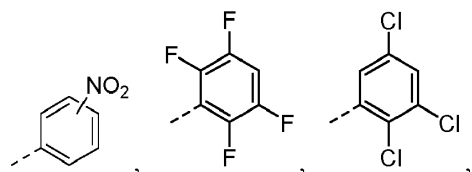
e hidratos y sales de los mismos;

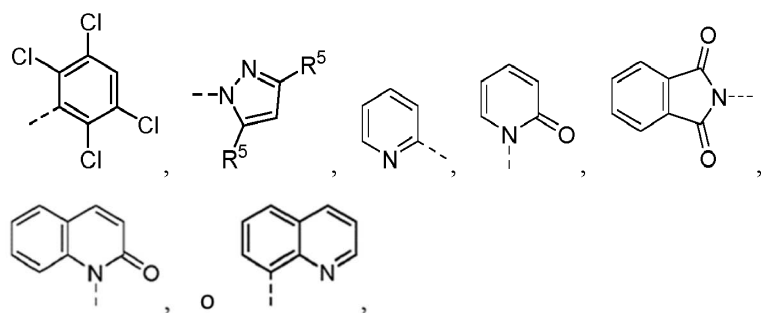
en donde dicho compuesto de fórmula (III) se define como sigue:

A, B, C, y D representan independientemente entre sí C-H, C-F, C-Cl o N; y no más de dos de **A, B, C, y D** representan N;

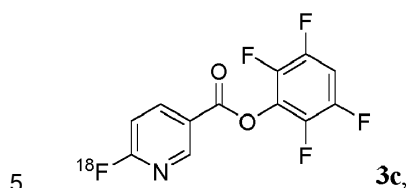
15 **R¹** representa alquilo de C₁-C₃, alcoxi de C₁-C₃, haloalquilo de C₁-C₃, tioalquilo de C₁-C₃, perfluoroalquilo, haloalcoxi de C₁-C₃, alquilcarbonilo de C₁-C₄, alquiloiloxycarbonilo de C₁-C₄, alquilcarboxi de C₁-C₄, arilo, alquilarilo, arilo, arilcarboxi, halógeno, preferiblemente Cl o Br, trifluorometilo, ciano o nitro;

y **OL** representa un grupo saliente, en el que opcionalmente el residuo L del grupo saliente OL en la fórmula (III) representa preferiblemente:

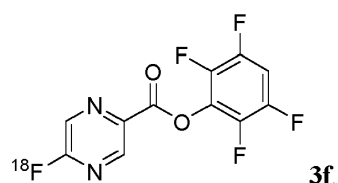




y en donde R⁵ se selecciona de metilo, etilo o n-propilo, en donde además opcionalmente el compuesto (III) se selecciona del grupo que comprende:



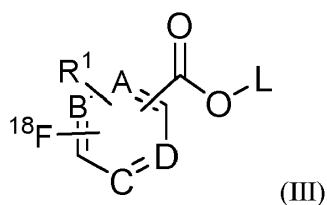
o



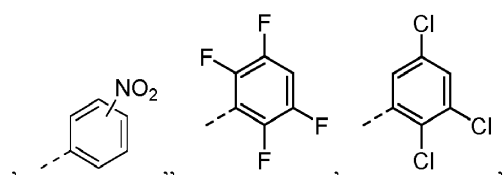
2. El uso de un compuesto de fórmula (II) como precursores directos en un método para preparar un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1.

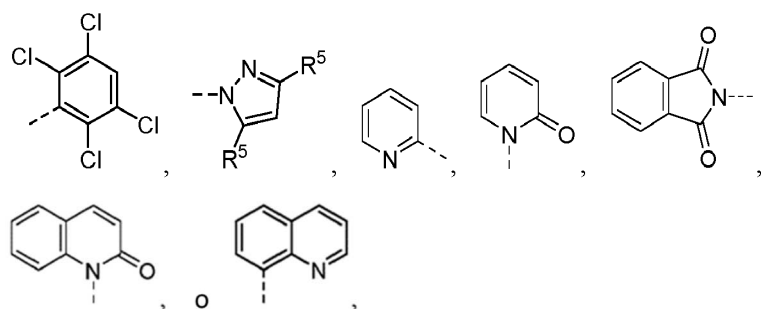
3. El uso de un compuesto de fórmula (II) como precursores directos en un método para preparar un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1, en el que la sal se selecciona del grupo que comprende acetato, trifluoroacetato, tosilato, mesilato, triflato, cloruro, bromuro, yoduro, sulfato, hidrosulfato, nitrato, perclorato, sales de litio, sodio, potasio, cesio, trialquilammonio-, tetraaril-, tri- y tetraalquilammonio.

4. El uso de un compuesto de fórmula (II) como precursores directos en un método para preparar un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1, en donde el precursor directo del compuesto de fórmula (I) es adecuado para acoplarse a un compuesto de fórmula (III), opcionalmente en un disolvente prótico anhidro, preferiblemente en un alcohol de C₂-C₅, preferiblemente etanol en donde la fórmula (III) es

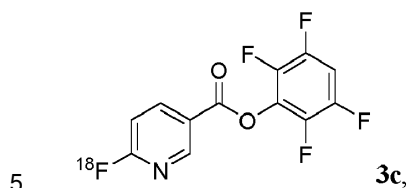


en donde **A**, **B**, **C**, **D** y **R¹** tienen los significados definidos en las reivindicaciones anteriores, y **OL** representa un grupo saliente, en el que opcionalmente el residuo L del grupo saliente OL en la fórmula (III) representa preferiblemente:

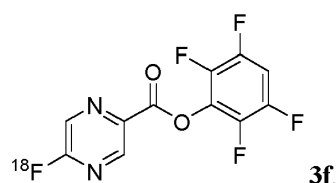




y en donde R⁵ se selecciona de metilo, etilo o n-propilo, en donde además opcionalmente el compuesto (III) se selecciona del grupo que comprende:



o

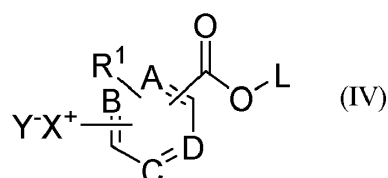


5. Un método para preparar un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, en el que la etapa (C) se realiza a una temperatura de reacción T₂ que está en el intervalo de 30°C a 60°C, preferiblemente de 20°C a 60°C, en donde el tiempo de reacción t₂ de la etapa (C) es opcionalmente de 1-30 min, y donde el valor de pH de la solución de reacción en la etapa (C) está opcionalmente en el intervalo de 7,0-11,0.

6. El uso de un compuesto de fórmula (II) como precursores directos en un método para preparar un compuesto de fórmula (I) como se define en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto de fórmula (III) no se purificó mediante HPLC,

y/o en el que el método no comprende la aplicación de ningún otro aditivo, preferiblemente ningún activador seleccionado de Kryptofix® y 18-corona-6;

y/o en donde el método comprende la aplicación del precursor de la sal de onio (IV) y [¹⁸F]fluoruro;



en donde **A**, **B**, **C**, **D** y **R**¹ tienen los significados definidos en la reivindicación 1;

X representa NR²₃, IR³, SR³₂ y OL representa un grupo saliente;

Y representa Br, I, BF₄, O₂CCF₃, OSO₂CF₃, ClO₄, NO₂, OSO₂C₆H₄CH₃, OSO₂CH₃;

R² representa un alquilo de C₁ - C₄ ; y

25 R³ representa un arilo;

y/o en el que el método no comprende ninguna etapa de secado azeotrópico;

y/o en el que el método no requiere ninguna etapa de evaporación.

7. El uso de un compuesto de fórmula (II) como precursores directos en un método para preparar un compuesto de fórmula (I) como se define en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto de fórmula (I) no se purificó mediante HPLC,

y en donde el método comprende la aplicación de disolventes ambientalmente benignos tales como etanol;

5 y/o en el que el método no comprende ninguna etapa de evaporación,

y/o en donde el método no requiere ninguna etapa de desprotección, en donde dichas etapas de desprotección pueden ser etapas de desprotección de p-metoxibencilo (PMB) o *t*Bu usando una mezcla de anisol/TFA;

y/o en donde el método no requiere una etapa de neutralización;

y/o en el que el método no requiere una etapa de formulación,

10 y/o en el que el método no requiere disolventes tóxicos.

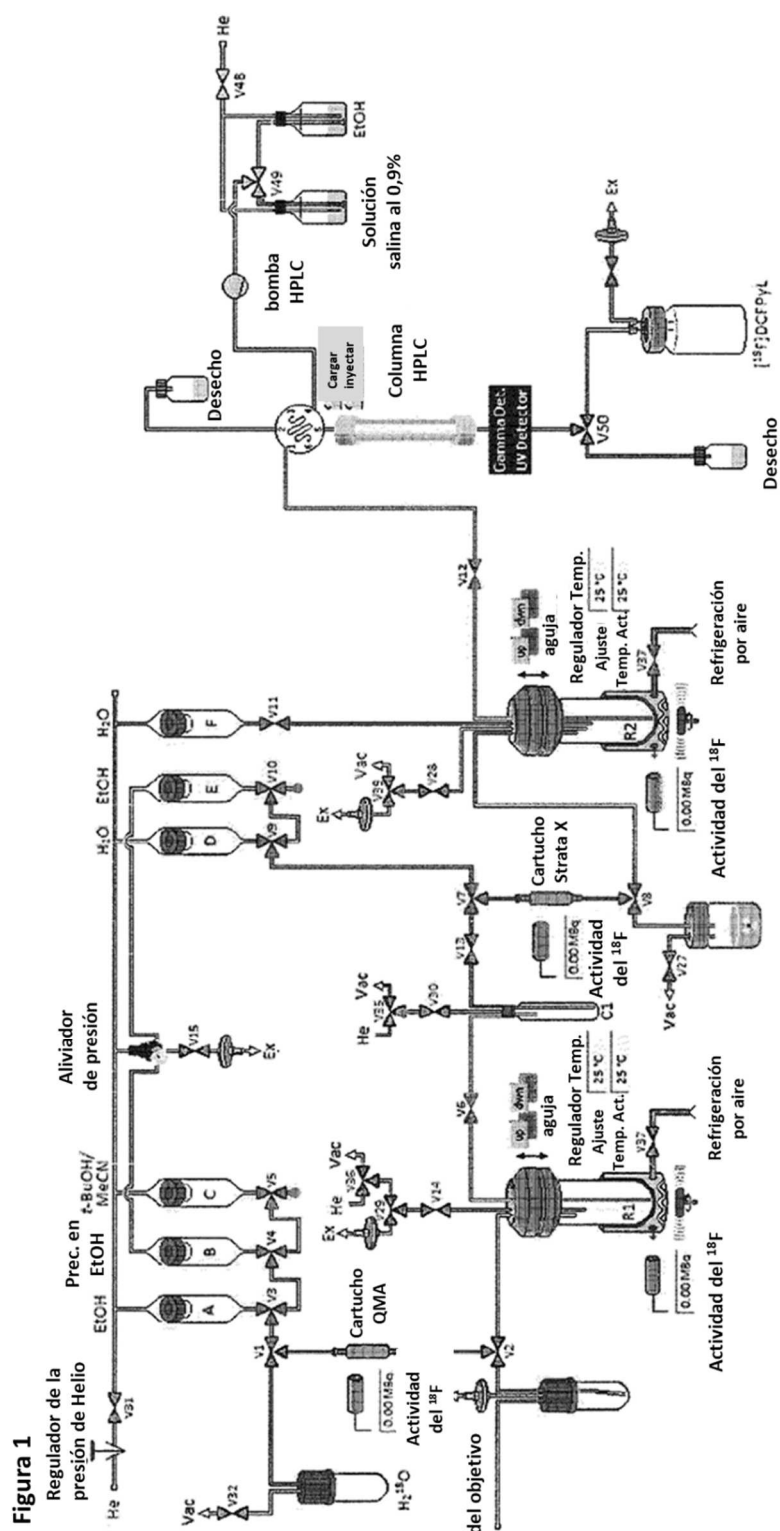
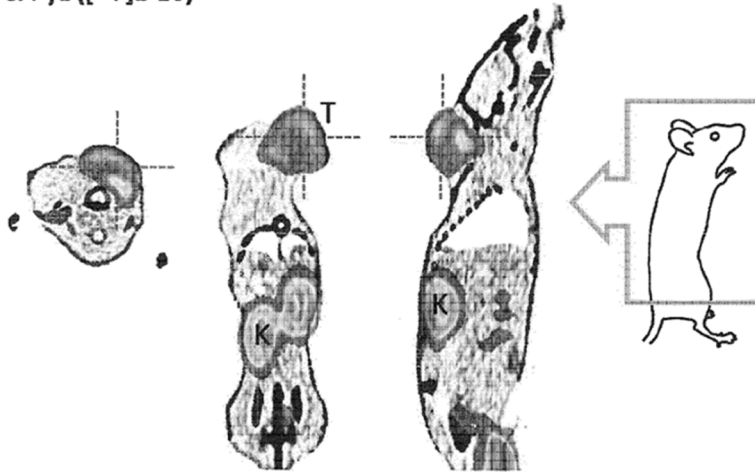
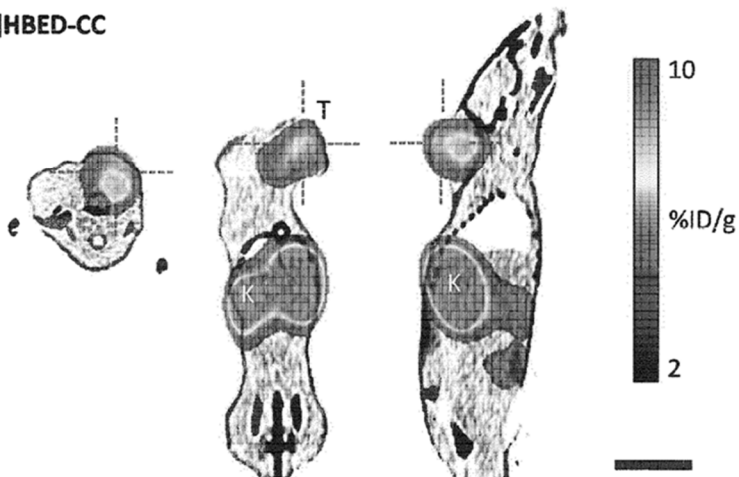


Figura 2

$[^{18}\text{F}]\text{DCFPyL}$ ($[^{18}\text{F}]\text{1-10}$)



$[^{68}\text{Ga}]\text{HBED-CC}$

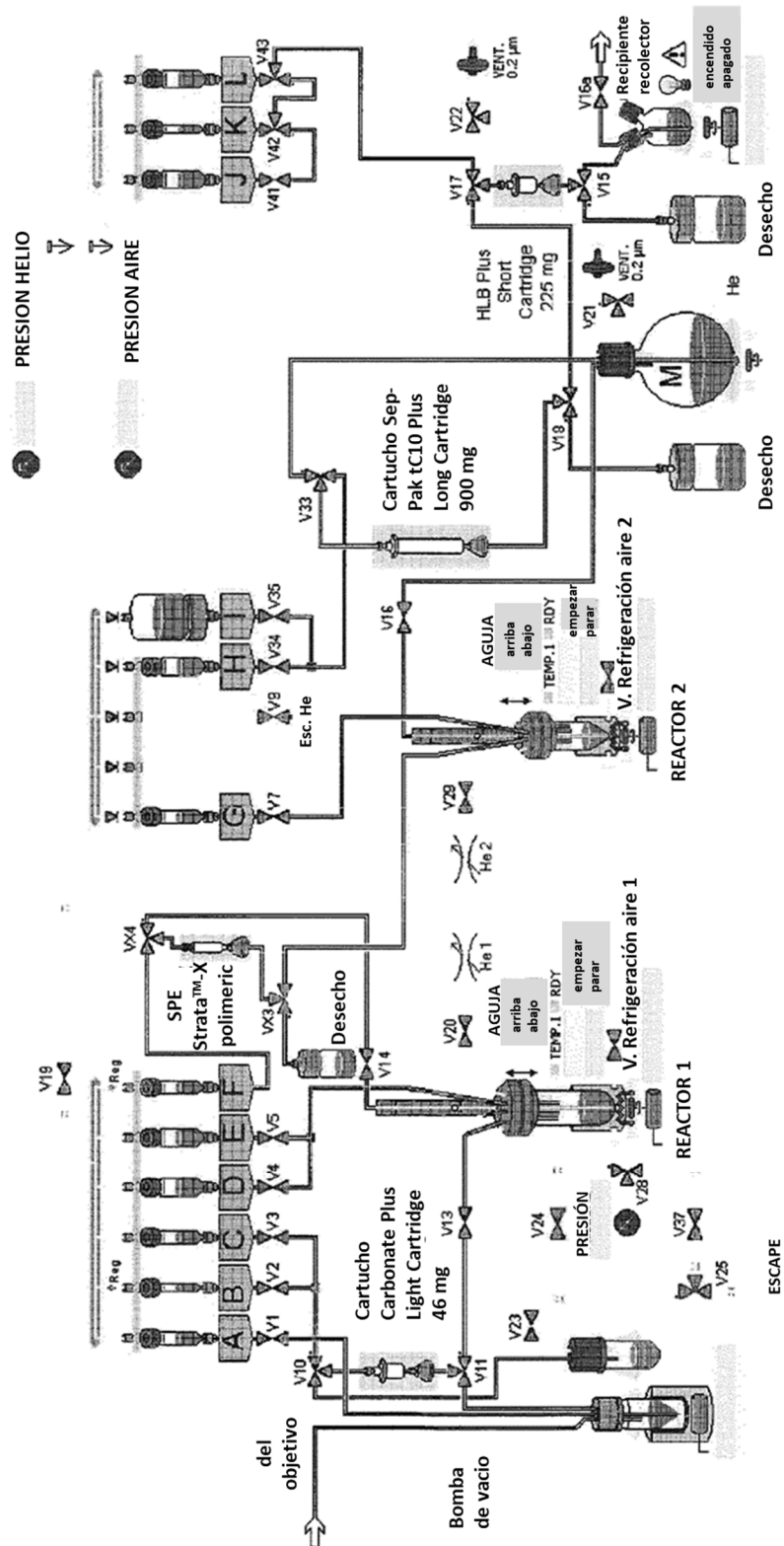


Transversal

horizontal

Sagital

Figura 3



IV

Figura 4

