



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 320 565**

51 Int. Cl.:
C07B 59/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05727490 .4**

96 Fecha de presentación : **28.03.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1742897**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.01.2007**

54 Título: **Nuevo monosacárido marcado con ¹⁵O y método para su producción.**

30 Prioridad: **03.05.2004 US 566921 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.05.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.05.2009

73 Titular/es: **Astellas Pharma Inc.**
3-11, Nihonbashi-Honcho 2-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-8411, JP
Eiichi Nakamura

72 Inventor/es: **Nishimura, Shintaro;**
Murakami, Yoshihiro;
Nakamura, Eiichi y
Yorimitsu, Hideki

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 320 565 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

Nuevo monosacárido marcado con ^{15}O y método para su producción.

5 Campo técnico

Esta invención se refiere a monosacáridos nuevos marcados con ^{15}O útiles en la tomografía de emisión de positrones (PET) y el método de producir los mismos.

10 Antecedentes de la técnica

La tomografía de emisión de positrones (PET) es una tecnología de bio-imagen no invasiva que puede usarse para diagnosticar funciones o trastornos de una variedad de órganos tales como el cerebro y el corazón. En PET, se administra un trazador radioactivo a un sujeto para determinar la distribución del trazador en el cuerpo del sujeto. Hasta la fecha, se ha usado la [^{18}F] 2-flúor-2-desoxiglucosa (FDG) como el trazador PET más útil. FDG puede usarse para determinar el metabolismo del azúcar cuantitativamente y ha conducido a mejoras progresivas en el estudio del cerebro o en la diagnosis del cáncer. Sin embargo, el número de veces que se puede medir PET en un día es limitado debido a la semivida larga del ^{18}F (110 minutos). Además, puesto que el compuesto marcado con ^{18}F no es natural, el comportamiento del compuesto marcado con ^{18}F en el cuerpo es diferente del comportamiento del compuesto natural correspondiente. Además, aunque se ha intentado la síntesis de glucosa marcada con ^{15}O en la posición C1, dicha glucosa marcada con ^{15}O no se ha podido sintetizar. Además, el grupo OH en la posición C1 de la molécula de glucosa es inestable y fácilmente sujeto a reacciones de intercambio con H_2O en la sangre. Por lo tanto, dicha glucosa marcada no debería ser adecuada para medidas de PET.

Hasta la fecha, se ha usado la [^{18}F] 2-flúor-2-desoxiglucosa (FDG) como el trazador PET más útil. Se sabe, por ejemplo, que el método descrito en el documento EP 0 588 480, es un método de fabricación de FDG. FDG puede usarse para determinar el metabolismo del azúcar.

Compendio de la invención

Los inventores actuales han establecido un monosacárido nuevo marcado con ^{15}O y su método de producción para superar dichos inconvenientes de los compuestos convencionales marcados para PET. El método para producir el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención está basado parcialmente en el método de producción de alcohol descrito en el documento WO98/34893.

En un aspecto, la presente invención proporciona un monosacárido marcado con ^{15}O que está marcado con ^{15}O en el grupo hidroximetilo de la molécula de monosacárido.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para producir un monosacárido marcado con ^{15}O , que comprende hacer reaccionar un monosacárido, que está sustituido con un halógeno en el hidroxilo del grupo hidroximetilo de la molécula del monosacárido, con oxígeno ^{15}O en presencia de un compuesto de organoestaño y un agente reductor, en donde dicha reacción ocurre o en ausencia de un iniciador de radicales o en presencia de no más de 0,3 equivalentes, basado en el monosacárido halogenado, de un iniciador de radicales para proporcionar el monosacárido marcado con ^{15}O que está marcado con ^{15}O en el grupo hidroximetilo de la molécula de monosacárido.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso del monosacárido marcado con oxígeno ^{15}O anterior en la fabricación de un agente de diagnóstico para medir el metabolismo del monosacárido marcado con oxígeno ^{15}O en todo el cuerpo, órganos o tejidos de un sujeto.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un kit para producir monosacárido marcado con oxígeno ^{15}O , que comprende un monosacárido que está sustituido con un halógeno en la posición hidroxilo del grupo hidroximetilo en la molécula de monosacárido, un compuesto de organoestaño y un agente reductor, donde el kit se usa para hacer reaccionar el monosacárido halogenado con oxígeno ^{15}O en presencia del compuesto de organoestaño y el agente reductor para producir un monosacárido marcado con ^{15}O que está marcado con ^{15}O en el grupo hidroximetilo de la molécula de monosacárido.

El método de la invención puede usarse para producir el monosacárido marcado con ^{15}O rápidamente con rendimiento alto. Puesto que el ^{15}O tiene una semivida corta (2 minutos), el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención puede usarse para realizar más de una medida de PET por día en un sujeto exponiendo al sujeto a solo una pequeña dosis radioactiva. Además, el comportamiento del monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención en el cuerpo es más similar al del compuesto natural que es el del compuesto marcado con ^{18}F . Además, puesto que el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención está marcado con ^{15}O en el grupo hidroximetilo de la molécula de monosacárido, (o sea, la posición C6 en la hexosa o la posición C5 en la pentosa), es más estable en el cuerpo que el monosacárido marcado con ^{15}O en la posición C1. Por lo tanto, el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención puede usarse en medidas de PET para conseguir una imagen mejor.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra el reactor con filtro de vidrio usado en la hidroxilación radicalica de la glucosa halogenada en el Ejemplo. Los números en esta figura son la longitud en mm.

La Figura 2 muestra el sistema de purificación usado para la purificación de ^{15}O 2-desoxi-D-glucosa.

La Figura 3 muestra el sistema de ciclotrón usado en la generación del ^{15}O y la introducción de éste en el sistema de reacción.

La Figura 4 muestra los resultados de los escaneos de PET en la rata realizados usando varios compuestos marcados. Las figuras 4A y 4B muestran imágenes de PET integradas de 15 minutos a 30 minutos después de la administración de ^{15}O 2-desoxi-D-glucosa y ^{18}F FDG, respectivamente. Las Figuras 4C y 4D muestran la imagen de PET del flujo sanguíneo inicial desde 0 segundos a 90 segundos y desde 15 minutos a 30 minutos después de la administración de ^{15}O H_2O , respectivamente.

La Figura 5 muestra los resultados de los escaneos de PET en el ratón realizados usando varios compuestos marcados. Las figuras 5A y 5B muestran imágenes de PET integradas de 15 minutos a 30 minutos después de la administración de ^{15}O 2-desoxi-D-glucosa y ^{18}F FDG, respectivamente. Las Figuras 5C y 5D muestran la imagen de PET del flujo sanguíneo inicial desde 0 segundos a 90 segundos y desde 15 minutos a 30 minutos después de la administración de ^{15}O H_2O , respectivamente.

Descripción detallada de la presente invención

La presente invención se describe ahora en detalle.

El “monosacárido” útil en la presente invención incluye cualquier monosacárido y derivado de los mismos conocido en la técnica. Preferiblemente el “monosacárido” útil en la presente invención es hexosa o pentosa. Hexosas útiles en la presente invención incluyen D-glucosa, D-galactosa, D-manosa, D-fructosa y derivados de las mismas. Pentosas útiles en la presente invención incluyen D-xilosa, D-ribosa, D-desoxiribosa, D-arabinosa y derivados de las mismas. Preferiblemente, el “monosacárido” útil en la presente invención es D-glucosa o un derivado de la misma, y más preferiblemente, D-glucosa o 2-desoxi-D-glucosa.

El término “marcado con ^{15}O en el grupo hidroximetilo de la molécula de monosacárido” significa que el grupo hidroximetilo (CH_2OH) en la molécula de monosacárido está marcado con ^{15}O para formar un grupo $\text{CH}_2^{15}\text{O}[\text{H}]$. Más específicamente, el término significa, por ejemplo, que si el monosacárido es una hexosa, el grupo hidroxilo libre en el carbono C6 de la hexosa está marcado con ^{15}O , y que si el monosacárido es una pentosa, el grupo hidroxilo libre en el carbono C5 de la pentosa está marcado con ^{15}O .

“Un monosacárido que está sustituido con un halógeno” o “un monosacárido halogenado” en la presente invención se usa como un precursor en el método para producir el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención. Cada uno de los términos se refieren a un monosacárido que tiene un grupo metilo halogenado (CH_2X , X es un átomo de halógeno) formado sustituyendo el grupo hidroxilo del grupo hidroximetilo en la molécula de monosacárido con un halógeno.

El “halógeno” en el monosacárido halogenado que se va a usar en la presente invención incluye cloro, yodo, bromo y así sucesivamente, yodo es el halógeno más preferido para los propósitos de la invención.

El “compuesto de organoestaño” útil en la presente invención incluye, pero no está limitado a, hidruros de organoestaño (por ejemplo, hidruros de trialquilestaño e hidruros de triarilestaño) y haluros de organoestaño (por ejemplo, cloruro de tributilestaño, cloruro de dibutil(t-butil) estaño y haluros de triarilestaño (por ejemplo, cloruro de trifenilestaño). Preferiblemente, el compuesto de organoestaño incluye hidruros de trialquilestaño. Lo más preferible, el compuesto de organoestaño es el hidruro de tributilestaño.

La cantidad de compuesto de organoestaño que se usa en la presente invención puede ser una cantidad de catalizador, y es preferiblemente 1,0-6,0 equivalentes, y más preferiblemente 2,0-5,0 equivalentes, basado en el sustrato monosacárido halogenado.

El “agente reductor” útil en la presente invención incluye, pero no está limitado a, agentes reductores conocidos en la técnica tales como fosfinas, sulfuros, selenuros, telururos, arsinas, estibanos, bismutanos o derivados de los mismos, y borohidruros. El agente reductor preferido para uso en la presente invención es la trifenilfosfina.

La cantidad del agente reductor que se usa en la presente invención es suficiente para reducir el peróxido producido en la reacción, y preferiblemente al menos 1 equivalente basado en el sustrato monosacárido halogenado.

La reacción según la presente invención puede llevarse a cabo usando varios disolventes que no interfieran con la reacción. Tales disolventes incluyen disolventes de flúor (por ejemplo, fluorobenceno, trifluorobenceno, perfluorodecalina, etc.), alcoholes (por ejemplo etanol, alcohol isopropílico, butanol, t-butanol, etc.), BTX y éteres (por ejemplo,

ES 2 320 565 T3

tetrahidrofurano etc.), incluyendo las mezclas de los mismos, entre otros. Aquellos expertos en la técnica pueden elegir disolventes adecuados para la reacción basado en, por ejemplo, la solubilidad del monosacárido halogenado o el oxígeno ^{15}O en el sistema de la reacción. El disolvente preferido es una mezcla de un disolvente de flúor y alcohol.

5 La temperatura de reacción para uso en la presente invención no está particularmente restringida siempre que pueda proceder la reacción radicalica, aunque la reacción se conduce preferiblemente a no menos de 50°C , y más preferiblemente $75\text{--}85^{\circ}\text{C}$.

10 El ^{15}O usado en la presente invención puede producirse, por ejemplo, generando la reacción nuclear $^{15}\text{N}(\text{p}, \text{n})^{15}\text{O}$ por bombardeo de protones desde un ciclotrón sobre un gas diana que contiene $^{16}\text{O}_2$ y $^{15}\text{N}_2$, o generando la reacción nuclear $^{15}\text{N}(\text{d}, \text{n})^{15}\text{O}$ por bombardeo de deuterones desde un ciclotrón sobre un gas diana que contiene $^{16}\text{O}_2$ y $^{15}\text{N}_2$. Después se mezcla el gas diana que contiene ^{15}O producido con gas no marcado transportador y se introduce en el sistema de reacción (Figura 3).

15 Preferiblemente, antes de la introducción del oxígeno ^{15}O en el sistema de reacción, un gas transportador que contiene oxígeno ($^{16}\text{O}_2$) se introduce en el sistema de reacción para iniciar la reacción radicalica. Preferiblemente, se monitoriza la iniciación de la reacción radicalica, y la introducción del ^{15}O en el sistema de reacción se inicia simultáneamente con la iniciación de la reacción radicalica. La iniciación de la reacción radicalica puede ser fácilmente monitorizada por aquellos expertos en la técnica usando una técnica analítica (por ejemplo, CCF) conocida en la
20 técnica.

La concentración del $^{16}\text{O}_2$ en el gas transportador no marcado introducido en el sistema de reacción para iniciar la reacción radicalica es preferiblemente al menos 1,5% y más preferiblemente de 1,5% a 5,0%, aunque la concentración se ajusta adecuadamente por aquellos expertos en la técnica basado en, por ejemplo, las condiciones de la reacción tales
25 como el tiempo de inducción de la reacción radicalica. La concentración de $^{16}\text{O}_2$ en el gas diana es preferiblemente equivalente a la concentración de $^{16}\text{O}_2$ en el gas transportador no marcado, aunque es adecuadamente ajustada por aquellos expertos en la técnica basado en, por ejemplo, el rendimiento del monosacárido marcado con ^{15}O producido.

En el método para producir monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención, la reacción radicalica puede
30 causarse sin usar sustancialmente “iniciadores de radicales”. Sin embargo pueden introducirse “iniciadores de radicales” en el sistema de reacción para promover la reacción o para suprimir la producción de sustancias redundantes como productos secundarios. Si se usa un “iniciador de radicales” en el método de la presente invención, la cantidad del “iniciador de radicales” es preferiblemente no más de 0,3 equivalentes y más preferiblemente no más de 0,03 equivalentes, basado en el monosacárido halogenado.

35 El “iniciador de radicales” para uso en la presente invención incluye, pero no está limitado a, AIBN y el peróxido de dibenzoilo.

El método para producir el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención puede llevarse a cabo usando
40 cualquier recipiente de reacción usado en la técnica o un recipiente de reacción que aquellos expertos en la técnica puedan fácilmente hacer usando cualquier aparato experimental conocido en la técnica (por ejemplo, filtros de vidrio). Por ejemplo, un recipiente de reacción preferido útil en el método de la presente invención es un recipiente de reacción que comprende un filtro de vidrio en la parte de abajo como se muestra en los ejemplos siguientes, en donde el oxígeno ^{15}O en la mezcla de gases puede formar burbujas muy finas en el recipiente de reacción. Dicho recipiente
45 de reacción puede hacerse por aquellos expertos en la técnica tomando como referencia el contenido de la solicitud. Preferiblemente, el recipiente de reacción tiene una forma longitudinalmente larga a fin de disolver suficiente oxígeno ^{15}O en el sistema de reacción.

El kit para producir el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención comprende un monosacárido
50 halogenado, un compuesto de organoestaño y un agente reductor, en donde el kit se usa para hacer reaccionar el monosacárido halogenado con oxígeno ^{15}O en presencia del compuesto de organoestaño y el agente reductor para producir el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención. El oxígeno ^{15}O puede proporcionarse a partir de, por ejemplo, un ciclotrón disponible en una institución (por ejemplo, un hospital) en donde se diagnostica a sujetos. Preferiblemente, el kit de la presente invención comprende además no más de 0,3 equivalentes del iniciador
55 de radicales, basado en el monosacárido halogenado. En una realización, el kit de la presente invención comprende además un recipiente de reacción en el que puede practicarse la reacción para producir el monosacárido marcado con ^{15}O . Preferiblemente, el recipiente de reacción puede ser un recipiente en un formato de cassette desechable que se conoce en la técnica que puede ser capaz de producir el monosacárido marcado con ^{15}O fácil y rápidamente.

60 El monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención puede usarse en la fabricación de un agente de diagnóstico para diagnosticar un cuerpo completo, órganos o tejidos de un sujeto. El método de diagnóstico comprende administrar el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención al sujeto para medir el metabolismo del monosacárido marcado con ^{15}O en el sujeto. Dicha medida puede llevarse a cabo usando cualquier método médico de imagen conocido en la técnica tal como la tomografía de emisión de positrones. El órgano o tejido diagnosticado usando
65 el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención incluye, pero no está limitado a, el cerebro, corazón o tejido tumoral que metabolice glucosa activamente. Además, debido a la semivida mucho más corta del ^{15}O que del ^{18}F , el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención puede usarse para medir la variación diurna del metabolismo del azúcar en un sujeto a lo largo del tiempo.

ES 2 320 565 T3

Si el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención se usa como un agente de diagnóstico, el producto de la reacción preferiblemente se purifica para eliminar el compuesto de organoestaño y el agente reductor en la mezcla de reacción. Dicho método de purificación incluye, pero no está limitado a, extracción en fase sólida usando una columna de gel de sílice (por ejemplo, Sep-Pak C18) y HPLC.

Las condiciones de reacción de la presente invención se han descrito anteriormente. Al realizar una reacción específica, es necesario optimizar las condiciones de la reacción según la estructura del monosacárido halogenado y el tipo y cantidad del compuesto de organoestaño, entre otras variables, pero dicha optimización es algo que puede hacerse fácilmente por un experto en la técnica. Además, el método para producir el monosacárido marcado con ^{15}O de la presente invención es aplicable a disacáridos (por ejemplo, maltosa, sacarosa, lactosa) y oligosacáridos siempre que los sacáridos tengan un grupo hidroxilo libre en el carbono C6 del resto de hexosa o el carbono C5 del resto de pentosa en la molécula.

Los siguientes Ejemplos ilustran la presente invención en más detalle.

Ejemplo

Material

A no ser que se especifique de otro modo, los reactivos se usaron como se recibieron.

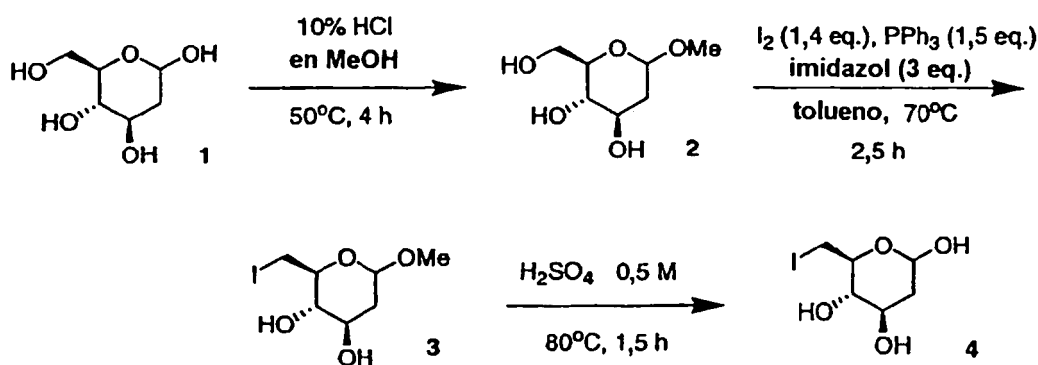
Se destiló 2-butanol (Kanto Chemical) con CaH_2 antes de su uso. Se obtuvieron trifluorobenceno, perfluorodecalina y AIBN de Acros, Fluorochem Ltd. Y Waco Pure Chemicals, respectivamente. Se obtuvo $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$ de Aldrich y se usó sin purificación adicional. El gas N_2/O_2 (98,5/1,5) se obtuvo de Nipón Sanso Co., Ltd.

Equipamiento

La hidroxilación de 2,6-didesoxi-6-yodo-D-glucosa y 6-yodo-6-desoxi-D-glucosa se realizó en un reactor con filtro de vidrio como se muestra en la figura 1. Se obtuvieron los cartuchos de Sep-Pak de Waters. El ciclotrón usado fue OSCAR-12 (NKK/Oxford). El gas diatómico consistió en 1,5% O_2 en $^{15}\text{N}_2$. Los escaneos de PET se obtuvieron en un sistema de Planar Positron Imaging (Hamamatsu Photonics K.K.).

Ejemplo 1

Síntesis de 2,6-didesoxi-6-yodo-D-glucosa



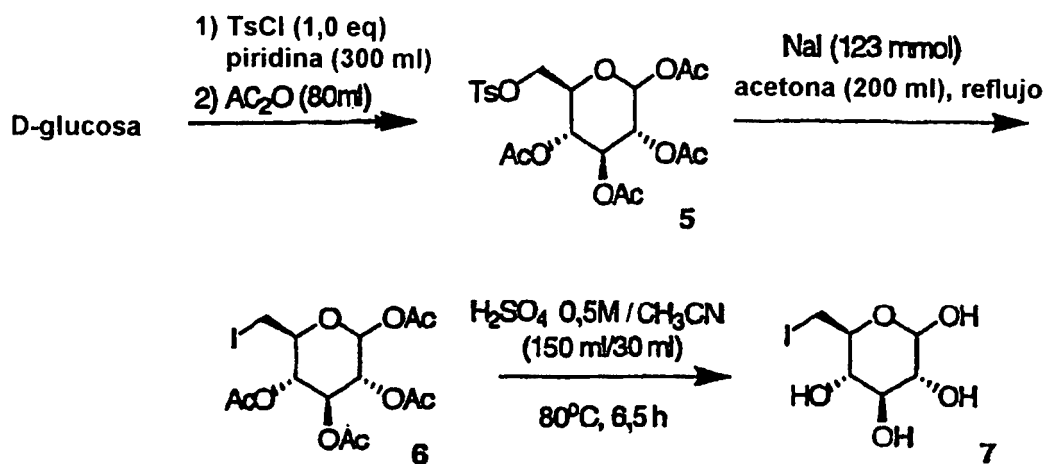
Se colocó en un matraz 2-desoxi-D-glucosa (1) (Aldrich) (5,0 g, 30 mmoles), y se añadió solución de HCl en metanol (10%, 60 ml). La mezcla resultante se calentó a 50°C durante la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió carbonato de plata y la mezcla se agitó vigorosamente hasta que la generación del gas CO_2 hubo finalizado. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y la solución resultante se evaporó. Se añadió tolueno (20 ml) a la solución y la mezcla resultante se evaporó para eliminar el metanol residual. Se añadió tolueno (250 ml) y se disolvió en el residuo concentrado y se añadió imidazol (6,12 g, 90,0 mmoles), trifenilfosfina (11,8 g, 45,0 mmoles) y yodo (11,5 g, 42,0 mmoles). Se añadió nuevamente tolueno (200 ml) y la mezcla resultante se agitó vigorosamente en corriente de N_2 a 70°C durante 2,5 horas. Después de que la reacción se completó, el sobrenadante del recipiente de reacción se transfirió a otro recipiente y evaporó. Por otra parte, se añadió cloroformo al componente sólido gomoso del recipiente de reacción para dar una suspensión y la suspensión se filtró a través de Celite. El filtrado se evaporó y combinó con la solución del sobrenadante concentrado obtenido previamente. La solución combinada se sometió a cromatografía en columna (cloroformo:metanol = 20:1, dos veces) para dar 5,9 g del compuesto 3. El rendimiento es 68% basado en el compuesto 1.

ES 2 320 565 T3

El compuesto 3 (5,9 g) se colocó en un matraz y se añadió ácido sulfúrico (solución acuosa 0,5 M, 200 ml). La solución se agitó a 80°C durante 1,5 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió cuidadosamente en pequeñas porciones bicarbonato sódico a la solución ácida para neutralizarla. La mezcla resultante fue después directamente evaporada (temperatura del baño no superior a 40°C). La evaporación se paró cuando el volumen de la solución se redujo hasta alrededor de 10-20 ml. Se añadió metanol (100 ml) a la solución concentrada resultante, lo que condujo al crecimiento del sólido blanco de sulfato sódico. La solución se filtró a través de Celite y el filtrado se evaporó a no más de 30°C. El residuo concentrado se sometió a cromatografía en columna (cloroformo:metanol = 8:1) repetidamente para dar 4,2 g de 2,6-didesoxi-6-yodo-D-glucosa (compuesto 4). El rendimiento es 51% basado en el compuesto 1.

Ejemplo 2

Síntesis de 6-yodo-6-desoxi-D-glucosa



Se colocó D-glucosa (20,0 g, 0,111 moles) en un matraz de fondo redondo de 1000 ml, y se añadió piridina (300 ml). Parte de la glucosa permaneció sin disolver.

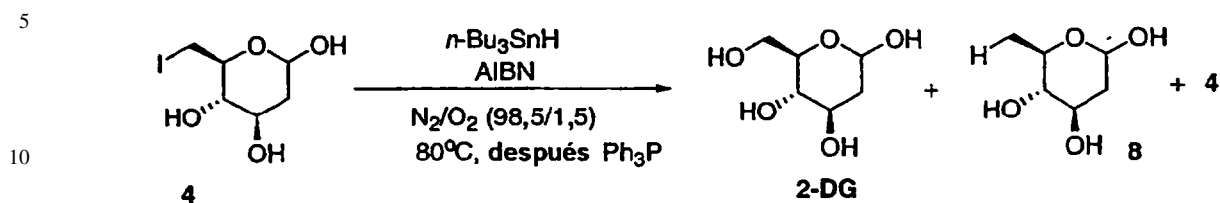
Se añadió cloruro de p-toluensulfonylo (22,0 g, 0,115 moles) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 11 horas, se añadió de una vez anhídrido acético (80 ml, 0,83 moles). Tuvo lugar una reacción ligeramente exotérmica. Después de ser agitada durante 1,5 horas, la mezcla se evaporó. Se añadió etanol (200 ml) a un aceite residual. El aceite se disolvió y pronto aparecieron cristales blancos. Después de que la mezcla se mantuvo en reposo a -10°C durante 27 horas, se recogieron los cristales en un filtro de vidrio, se lavaron con etanol frío (25 ml, dos veces) y secaron a presión reducida: se obtuvo 6-O-(p-toluensulfonyl)-1,2,3,4-tetra-O-acetil-β-D-glucosa (compuesto 5) con el 33% de rendimiento (18,5 g, 36,8 mmoles).

Se colocó 6-O-(p-toluensulfonyl)-1,2,3,4-tetra-O-acetil-β-D-glucosa (5, 18,5 g, 36,8 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 500 ml. Se añadió acetona (200 ml) y yoduro sódico (18,5 g, 123 mmoles). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 20 horas. La reacción procedió gradualmente. La mezcla se vertió en 1000 ml de agua y el sólido resultante se filtró con un filtro de vidrio. La recrystalización de etanol produjo 6-desoxi-6-yodo-1,2,3,4-tetra-O-acetil-β-D-glucosa (compuesto 6) con un rendimiento de 65% (11,0 g, 24,0 mmoles).

Se colocó 6-desoxi-6-yodo-1,2,3,4-tetra-O-acetil-β-D-glucosa (6, 6,87 g, 15,0 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 500 ml. Se añadió ácido sulfúrico (solución acuosa 0,5 M, 150 ml) y acetonitrilo (30 ml) a 6 y la mezcla se calentó a 80°C durante 6,5 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió en porciones muy cuidadosamente bicarbonato sódico a la solución ácida. La neutralización se monitorizó con papel indicador y la mezcla se evaporó después directamente (temperatura del baño 40°C). Antes de la eliminación completa del disolvente (cerca de 10-20 ml), se añadió metanol (100 ml) al matraz, lo que permitió el crecimiento del precipitado blanco. La filtración a través de Celite, concentración del filtrado (temperatura del baño 30°C) y purificación en columna de gel de sílice (cloroformo:metanol = 3:1) proporcionó 6-desoxi-6-yodo-D-glucosa (compuesto 7) (2,16 g, 7,44 mmoles, 50%).

Ejemplo 3

Hidroxilación radicalica de 2,6-didesoxi-6-yodo-D-glucosa en el reactor de filtro de vidrio (1)



15 Se colocaron en un vial de 20 ml 2,6-dideoxi-6-yodo-D-glucosa (4) (162 mg, 0,600 mmoles) obtenidos como en el Ejemplo 1 y AIBN (2,4 mg, 0,015 mmoles). Se añadió 2-butanol (1,8 ml) y 4 se disolvió. Se añadieron después trifluorobenceno (12,0 ml) y perfluorodecalina (2,7 ml). Se introdujo el hidruro de tributilestaño (485 μ l, 1,80 mmoles) por medio de una micro-jeringa. Nótese que la adición con una jeringa normal puede causar la iniciación de la reacción antes del burbujeo dando solo el compuesto 8. La solución homogénea se transfirió con una pipeta Pasteur dentro del reactor de filtro de vidrio. El reactor se sumergió después en un baño de aceite (80°C) con borboteo de gas mezclado (N₂/O₂ = 98,5/1,5, 200 ml/min). El filtro de vidrio hizo las burbujas muy finas. El análisis por CCF se realizó cada 30 segundos, lo que indicó que la reacción actualmente comenzó en 1,5 minutos y se completó en 4 minutos después de que comenzara la calefacción. Después de 7,0 minutos, la mezcla de reacción se transfirió a una solución de trifenilfosfina (157 mg, 0,600 mmoles) en tolueno (1,5 ml). El reactor fue enjuagado con 10 ml de metanol de una vez. La concentración a presión reducida produjo una mezcla de aceite y residuo viscoso. Se añadió tolueno (10 ml) y el sobrenadante resultante se pasó a través de sílice en un cartucho Sep-Pak (cuerpo largo, acondicionado con 10 ml de tolueno antes de usar). Aquí, el residuo gomoso, que consistió en glicósidos, no fue soluble en tolueno. El eluyente que contenía compuestos de estaño y fosfina se descartó. Nuevamente, se añadió tolueno al residuo gomoso y la capa de tolueno se pasó a través del mismo cartucho. El cartucho se lavó después con metanol (5 ml + 5 ml) usando la misma jeringa que se empleó para hacer las soluciones de tolueno. El eluyente metanólico se añadió a los glicósidos gomosos. La evaporación y la medida de ¹H RMN (1,1,2,2-tetraclorometano como estándar interno) reveló que la mezcla consistía en 0,182 mmoles de 2-desoxi-D-glucosa (2-DG) (31% basado en 4, 54% basado en el O₂ que pasó a través de la solución durante la cadena radicalica) y 0,402 mmoles (67%) de 8, en adición a trazas de impurezas de estaño e impurezas de fosfina.

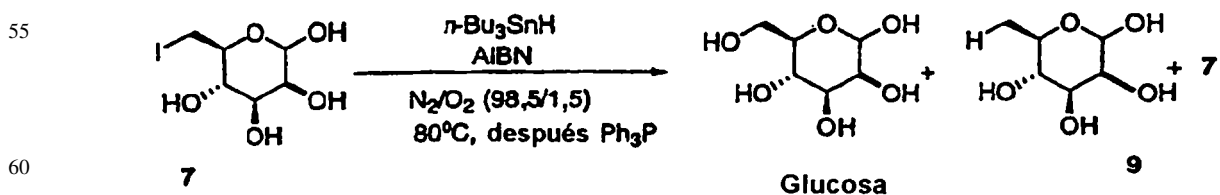
35 Ejemplo 4

Hidroxilación radicalica de 2,6-dideoxi-6-yodo-D-glucosa en el reactor de filtro de vidrio (2)

40 El método usado en este Ejemplo fue sustancialmente el mismo que el método mostrado en el anterior Ejemplo 3. Una mezcla de 4 (270 mg, 1,0 mmoles), hidruro de tributilestaño (3,0 mmoles) y AIBN (0,025 mmoles) en α,α,α -trifluorotolueno (20,0 ml)/perfluorodecalina (4,5 ml)/2-butanol (3,0 ml) se calentó a 80°C con concomitante burbujeo de N₂/O₂ (98,5/1,5, 180 ml/minuto de 0 a 2 minutos 40 segundos, 200 ml/minuto de 2 minutos 40 segundos a 6 minutos 20 segundos). El análisis por CCF se hizo cada 30 segundos, lo que indicó que la reacción actualmente comenzó en 3 minutos 20 segundos y se completó en 6,5 minutos después de que comenzara la calefacción. Después de 7 minutos, la elaboración con trifenilfosfina (1,0 mmoles) redujo el hidropéroxido a 2-DG. La medida de ¹H RMN reveló que la mezcla consistía en 0,280 mmoles de 2-DG (28% basado en 4, 70% basado en el O₂ que pasó a través de la solución durante la cadena radicalica) y 0,72 mmoles (72%) de 8, en adición a trazas de impurezas de estaño e impurezas de fosfina.

50 Ejemplo 5

Hidroxilación radicalica de 6-yodo-6-desoxi-D-glucosa en el reactor de filtro de vidrio



65 Se colocó 6-yodo-6-desoxi-D-glucosa (7) (261 mg, 0,900 mmoles) como se obtuvo en el Ejemplo 2 y AIBN (3, 6 mg, 0,015 mmoles) en un vial de 20 ml. Se añadió 2-butanol (3,5 ml) y 7 se disolvió. Se añadió después trifluorobenceno (15,0 ml) y perfluorodecalina (2,0 ml). Se introdujo hidruro de tributilestaño (484 μ l, 1,80 mmoles) con una micro-jeringa. La solución homogénea se transfirió con una pipeta Pasteur dentro del reactor de filtro de vidrio. El reactor fue después inmerso en un baño de aceite (80°C) con borboteo del gas mezclado (N₂/O₂ = 98,5/1,5, 200

ES 2 320 565 T3

ml/min). El análisis por CCF se hizo cada 30 segundos, lo que indicó que la reacción comenzó actualmente a 2,0 minutos y se completó en 5,0 minutos después de que comenzara la calefacción 15. Después de 7,0 minutos, la mezcla de reacción se transfirió a una solución de trifenilfosfina (236 mg, 0,900 mmoles) en tolueno (2,0 ml). El reactor se enjuagó con 10 ml de metanol dos veces. La elaboración, purificación, y análisis de RMN como se mostró en el ejemplo 3 reveló que la mezcla consistía en 0,198 mmoles de glucosa (22% basado en 7, 50% basado en el O₂ que pasó a través de la solución durante la cadena radicalica), 0,569 mmoles (63%) de 9 y 0,137 mmoles (15%) de 7 en adición a trazas de impurezas de estaño y impurezas de fosfina.

10 Ejemplo 6

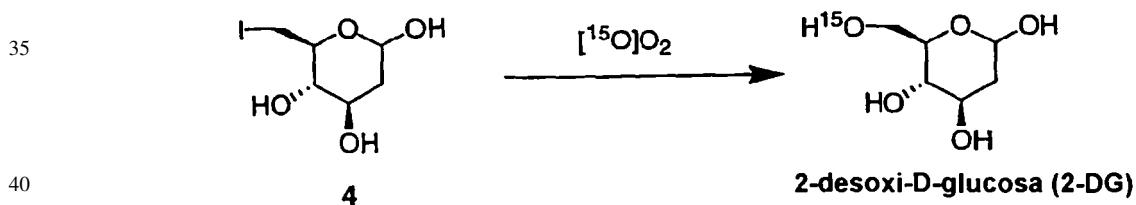
Hidroxilación de 2,6-didesoxi-6-yodo-D-glucosa en el reactor de filtro de vidrio seguido de purificación rápida

15 Para la administración a un animal, es necesario que el 2-DG producido se separe de los compuestos de estaño y los compuestos de fosfina. Por tanto, los presentes inventores construyeron un sistema de purificación como se muestra en la Figura 2 y se purificó el 2G producido utilizando el sistema.

Después de que la reacción se llevara a cabo durante 4 minutos como se mostró en el Ejemplo 3, se añadió trifenilfosfina (157 mg, 0,600 mmoles en 2 ml de PhCF₃) a la mezcla de reacción y el borboteo se continuó durante 20 segundos. Se añadió agua (3 ml) y el borboteo continuó 20 segundos. Toda la mezcla se transfirió a un depósito y después se mantuvo en reposo durante 20 segundos para que flotara la capa acuosa (cerca de 2,3 ml) sobre la capa orgánica fluorada. La capa inferior se eluyó pasándola a través de un cartucho Sep-Pak C18 (acondicionado con 10 ml de PhCF₃) mediante la utilización de presión reducida. La elución se paró en los límites de las dos capas. La capa acuosa en la parte superior del cartucho fue después pasada a través de otro cartucho Sep-Pak C18 (acondicionado con 25 10 ml de metanol y después con 10 ml de agua). El eluato fue una solución acuosa de 2-DG (17%, 0,103 mmoles), 4 (trazas) y 8 (47%, 0,280 mmoles) libres de fosfina y estaño.

30 Ejemplo 7

Imagen por PET usando ¹⁵[O] 2-desoxi-D-glucosa



Una solución de 2,6-dideoxi-6-yodo-D-glucosa (274 mg, 1,0 mmoles), hidruro de tributilestaño (807 μ l, 3,0 mmoles) y AIBN (4,0 mg, 0,025 mmoles) en PhCF₃ (20,0 ml)/C₁₀F₁₈ (4,5 ml)/2-BuOH (3,0 ml) se colocó en el reactor, que estaba en el aparato de síntesis automático (Figura 3). El bombardeo de protones (50 μ A de corriente del rayo) comenzó sobre el gas diana (N₂/O₂ = 98,5/1,5, presión del gas diana = 6 kg/cm²). El comienzo del bombardeo se definió como 0 segundos por conveniencia. Se proporcionó gas no marcado (N₂/O₂ = 1773/3, 180 ml/min) y el calentamiento con aire de temperatura controlada (80°C) comenzó simultáneamente a 2 minutos 40 segundos. A 4,0 minutos, el gas diana se evacuó del área diana en el sistema de ciclotrón (20 ml/minuto). El gas diana se mezcló con gas N₂/O₂ no marcado (gas diana/N₂/O₂ = 20/1773/3, 200 ml/minuto) y el gas resultante después se suministró al matraz de reacción. A 4 minutos 40 segundos, el contador RI en el detector indicó la llegada del gas marcado. A 5 minutos 20 segundos, el bombardeo paró. Sin embargo, la evacuación del gas diana continuó. Se añadió trifenilfosfina (262 mg, 1,0 mmoles en 1,5 ml de PhCF₃) en 6,0 minutos. A 6 minutos 10 segundos, toda la mezcla se transfirió desde el reactor a un cartucho de sílice Sep-Pak Vac (acondicionado con 10 ml de PhCF₃) (A en la Figura 3) y el eluyente se eliminó. Se pasó a continuación solución salina (3,0 ml) a través del cartucho de sílice Sep-Pak Vac. La solución acuosa eluida se pasó a través del cartucho Sep-Pak C18 (acondicionado con 10 ml de acetonitrilo y después con 10 ml de solución salina) (B en la Figura 3) y se produjo una solución acuosa libre de fosfina y estaño de ¹⁵[O]₂-desoxi-D-glucosa (¹⁵[O]2-DG) (cerca de 3 ml, 15-20 mCi). Para la imagen de la rata, 1 ml de la solución de ¹⁵[O] 2-DG se inyectó en su vena de la cola. Escaneos de PET de ¹⁵[O] 2-DG pudieron llevarse a cabo en un periodo de 30 minutos después de la administración. La imagen PET integrada desde 15 minutos a 30 minutos mostró acumulación de ¹⁵[O] 2-DG en el corazón, riñón y vejiga (Figura 4A). Por comparación con ¹⁵[O] 2-DG, los escaneos de ¹⁸F] FDG-PET se llevaron también a cabo y la imagen PET integrada durante el mismo periodo muestra acumulación de ¹⁸F] FDG-PET semejante a aquella de ¹⁵[O]2-DG (Figura 4B). Estas imágenes fueron claramente diferentes de la imagen del flujo de sangre inicial desde 0 segundos a 90 segundos (Figura 4C) y desde 15 minutos a 30 minutos (Figura 4D) de ¹⁵[O] H₂O. Resultados similares fueron también obtenidos para imágenes de ratón (figura 5). Estos resultados prueban que ¹⁵[O] 2-DG puede usarse como un trazador PET similar a ¹⁸F] FDG.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un monosacárido marcado con ^{15}O que está marcado con ^{15}O en el grupo hidroximetilo en la molécula de monosacárido.
2. El monosacárido marcado con ^{15}O de la reivindicación 1, en donde el monosacárido es hexosa o pentosa.
3. El monosacárido marcado con ^{15}O de la reivindicación 1, en donde el monosacárido es D-glucosa o 2-desoxi-D-glucosa.
10
4. Un método para producir el monosacárido marcado con ^{15}O , que comprende hacer reaccionar un monosacárido, que está sustituido con un halógeno en el hidroxilo del grupo hidroximetilo en la molécula de monosacárido, con oxígeno ^{15}O en presencia de un compuesto de organoestaño y un agente reductor, en donde dicha reacción sucede o en ausencia de un iniciador de radicales o en presencia de no más de 0,3 equivalentes, basado en el monosacárido halogenado, de un iniciador de radicales para proporcionar un monosacárido marcado con ^{15}O que está marcado con ^{15}O en el grupo hidroximetilo en la molécula de monosacárido.
15
5. El método de la reivindicación 4, en donde el monosacárido es hexosa o pentosa.
20
6. El método de la reivindicación 5, en donde el monosacárido es D-glucosa o 2-desoxi-D-glucosa.
7. El método de la reivindicación 4, en donde el halógeno es yodo.
8. El método de la reivindicación 4, en donde la cantidad de compuesto de organoestaño es 2,0-5,0 equivalentes basado en el monosacárido halogenado.
25
9. El método de la reivindicación 4, en donde el compuesto de organoestaño es un hidruro de organoestaño.
10. El método de la reivindicación 9, en donde el compuesto de organoestaño son hidruros de trialquilestaño.
30
11. El método de la reivindicación 4, en donde el agente reductor es una fosfina.
12. El método de la reivindicación 11, en donde el agente reductor es trifenilfosfina.
35
13. El método de la reivindicación 4, en donde en la etapa de reacción, el gas que contiene $^{15}\text{O}_2$ se introduce dentro de la reacción para iniciar la reacción radicalica antes de la introducción del oxígeno ^{15}O .
14. El método de la reivindicación 13, en donde la cantidad de $^{16}\text{O}_2$ en el gas es al menos 1,5%.
40
15. El uso del monosacárido marcado con ^{15}O de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, para la fabricación de un agente de diagnóstico para medir el metabolismo del monosacárido marcado con ^{15}O en todo el cuerpo, órganos o tejidos de un sujeto.
- 45 16. El uso de la reivindicación 15, en donde la medida se lleva a cabo usando tomografía de emisión de positrones.
17. El uso de la reivindicación 15, en donde el órgano es el cerebro o corazón.
18. El uso de la reivindicación 15, en donde el tejido es un tejido tumoral.
50
19. El uso de la reivindicación 15, en donde una variación diurna del metabolismo del monosacárido marcado con ^{15}O se mide en el sujeto a lo largo del tiempo.
20. Un kit para producir un monosacárido marcado con ^{15}O , que comprende un monosacárido que está sustituido con un halógeno en el hidroxilo del grupo hidroximetilo en la molécula de monosacárido, un compuesto de organoestaño y un agente reductor, en donde el kit se usa para hacer reaccionar el monosacárido halogenado con oxígeno ^{15}O en presencia del compuesto de organoestaño y el agente reductor para producir un monosacárido marcado con ^{15}O que está marcado con ^{15}O en el grupo hidroximetilo en la molécula de monosacárido.
55
- 60 21. El kit de la reivindicación 20, en donde el monosacárido es hexosa o pentosa.
22. El kit de la reivindicación 21, en donde el monosacárido es D-glucosa o 2-desoxi-D-glucosa.
23. El kit de la reivindicación 20, en donde el halógeno es yodo.
- 65 24. El kit de la reivindicación 20, en donde la cantidad del compuesto de organoestaño es 2,0-5,0 equivalentes basado en el monosacárido halogenado.

ES 2 320 565 T3

25. El kit de la reivindicación 20, en donde el compuesto de organoestaño es un hidruro de organoestaño.

26. El kit de la reivindicación 25, en donde el compuesto de organoestaño son hidruros de trialquilestaño.

5 27. El kit de la reivindicación 20, en donde el agente reductor es una fosfina.

28. El kit de la reivindicación 27, en donde el agente reductor es trifenilfosfina.

10 29. El kit de la reivindicación 20, en donde el kit además comprende un iniciador de radicales en no más de 0,3 equivalentes basado en el monosacárido halogenado.

30. El kit de la reivindicación 20, en donde el kit además comprende un recipiente de reacción, en donde la reacción puede llevarse a cabo para producir el sacárido marcado con ^{15}O .

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

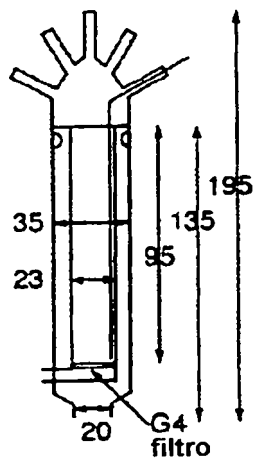


Figura 1

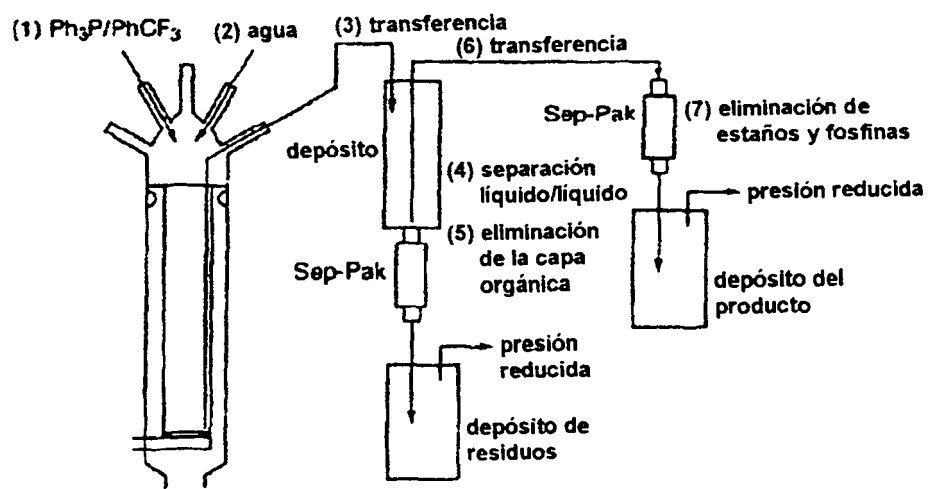


Figura 2

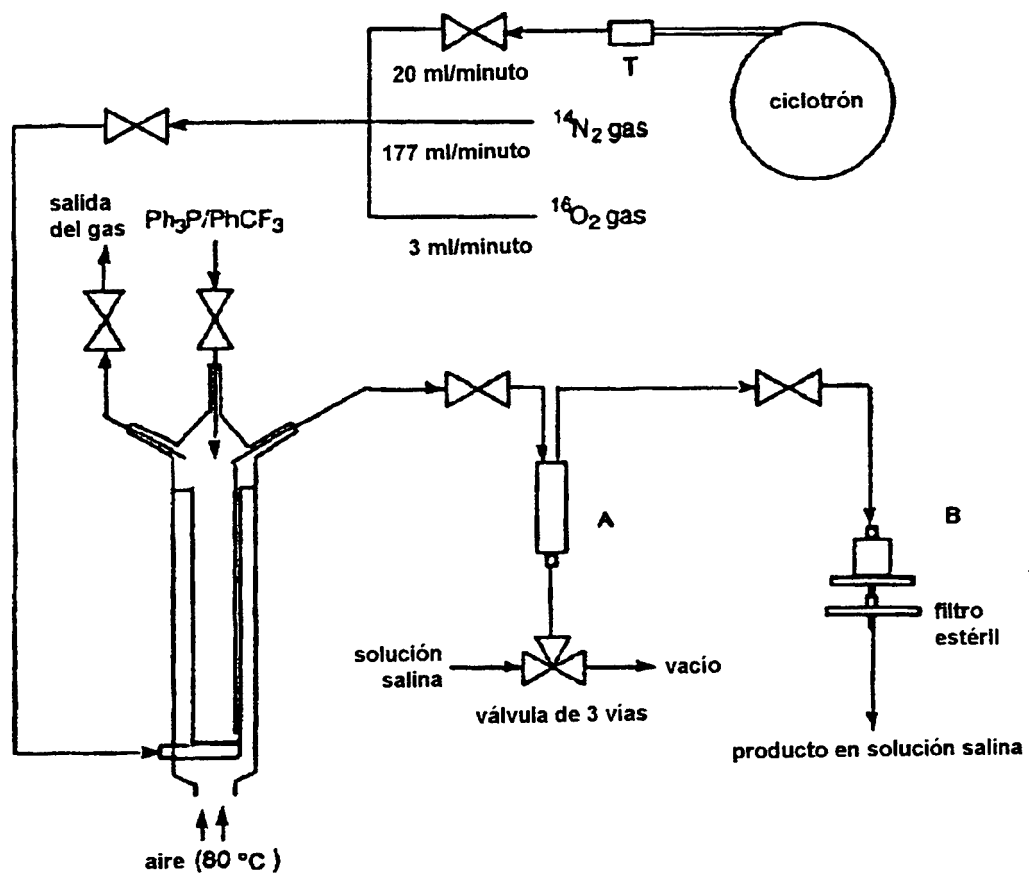


Figura 3

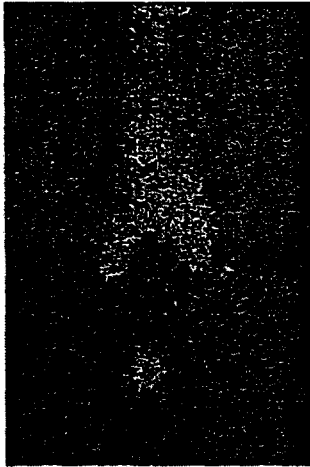


Figura 4A

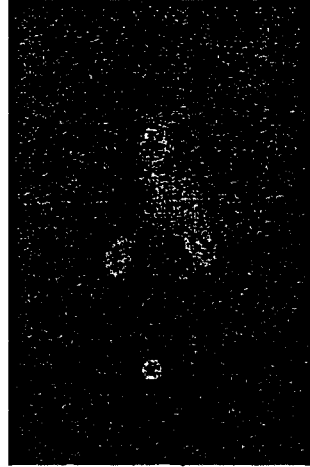


Figura 4B

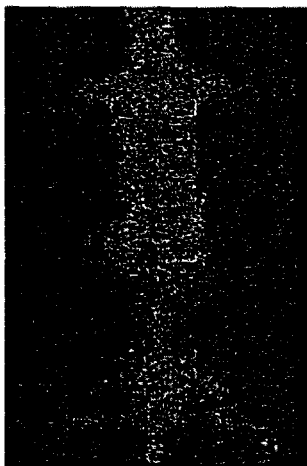


Figura 4C



Figura 4D

Figura 4

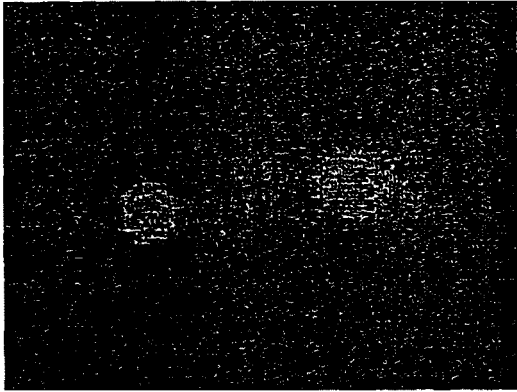


Figura 5A

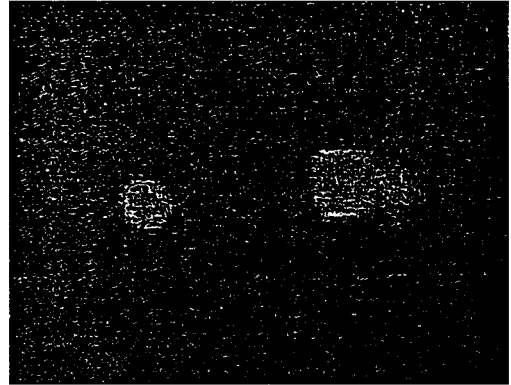


Figura 5B

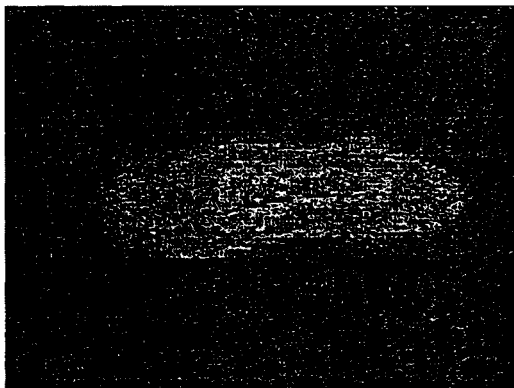


Figura 5C

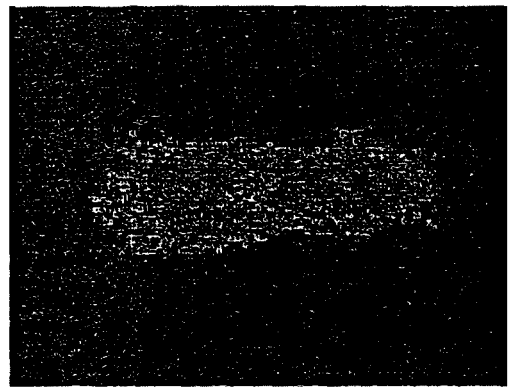


Figura 5D

Figura 5