(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0000562
(43) 공개일자 2024년01월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 30/34 (2006.01) *G01N 30/88* (2006.01)
G01N 33/00 (2006.01) *G01N 33/15* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 30/34 (2013.01)
G01N 30/88 (2020.05)
(21) 출원번호 10-2023-7040178
(22) 출원일자(국제) 2022년04월26일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년11월22일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/061004
(87) 국제공개번호 WO 2022/229155
국제공개일자 2022년11월03일
(30) 우선권주장
2105950.6 2021년04월26일 영국(GB)

(71) 출원인
지이 헬쓰케어 리미티드
영국 에이치피8 4에스피 버킹햄셔 챌폰트 에스티. 길스 나이팅게일스 레인 폴라즈 우드
(72) 발명자
클라크 앨런
노르웨이 0401 오슬로 니달렌 니코비엔 1 피오 박스 4220 지이 헬스케어 에이에스 내
엥겔브레츠 헨드릭 페트루스
미국 37604 테네시 존슨 시티 레드 펀 써클 8
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 류현경

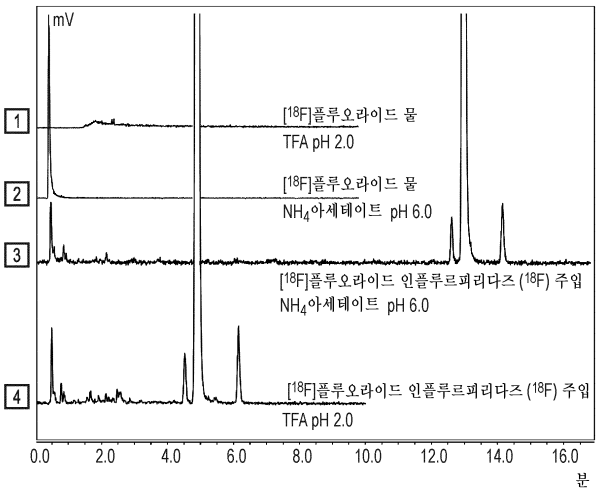
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 **분석용 HPLC**

(57) 요 약

본 발명은 양전자 방출 단층촬영 (PET) 트레이스를 포함하는 [^{18}F] 표지된 화합물의 합성에 유용한 HPLC 분리 방법에 관한 것이다. 본 발명의 방법은 유리 5 [^{18}F]플루오라이드의 필요성에 의해 부과되는 이전 방법의 제약을 해결한다. 본 발명은 [^{18}F] 표지된 화합물의 합성에서 유리 [^{18}F]플루오라이드 및 화학적 불순물의 신속한 분리 및 분석을 가능하게 하는 단순화된 공정을 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G01N 33/15 (2019.01)
G01N 2030/8859 (2013.01)
G01N 2033/0093 (2013.01)
(72) 발명자
그릭 줄리안
영국 에이치피8 4에스피 버킹햄셔 챌폰트 에스티. 길스 나이팅게일스 레인 폴라즈 우드 지이 헬쓰케어 리미티드 내
칸 임티아즈 아메드
영국 에이치피8 4에스피 버킹햄셔 챌폰트 에스티. 길스 나이팅게일스 레인 폴라즈 우드 지이 헬쓰케어 리미티드 내
위켄 크리스틴
노르웨이 0401 오슬로 니달렌 니코비엔 1 피오 박스 4220 지이 헬스케어 에이에스 내
맥로비 그레이엄
영국 에이치피8 4에스피 버킹햄셔 챌폰트 에스티. 길스 나이팅게일스 레인 폴라즈 우드 지이 헬쓰케어 리미티드 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

역상 HPLC를 사용하여 방사성제약 조성물 내의 방사화학적 순도 및 화학적 불순물을 분석하는 방법이며, 상기 방사성제약 조성물은 [^{18}F]로 표지된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하고, 상기 방법은:

(a) 방사성제약 조성물의 샘플을, 이동상이 물, 또는 물 및 유기 용매, 또는 중성 pH 완충제, 또는 중성 pH 완충제 및 유기 용매인 동안 HPLC 컬럼에 제공하는 단계; 및 후속적으로

(b) 산 개질제, 물 및 유기 용매를 포함하는 다른 이동상을 HPLC 컬럼에 제공하는 단계

를 포함하는 것인 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 단계 (a)의 이동상이 물 및 유기 용매인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 유기 용매가 아세토니트릴 또는 메탄올로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a) 및/또는 단계 (b)의 이동상이 하나 이상의 유기 용매를 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 유기 용매가 단계 (a) 및 단계 (b)에서 동일한 것인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)에서 유기 용매의 비율이 10% 내지 60%인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)에서 유기 용매의 비율이 1% 내지 100%인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)에서 유기 용매의 비율이 구배로 증가되는 것인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 단계 (b)에서 유기 용매의 비율의 증가가 단계적으로 또는 연속적인 증가로서 수행되는 것인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)에서 산 개질제의 비율이 적어도 0.1%인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)에서 산 개질제가 트리플루오로아세트산 (TFA), 포름산, 아세트산, 인산, 시트르산, 및 하나 이상의 산성 포스페이트 완충제 또는 이들의 조합으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 방사성제약 조성물이 에탄올 및 시클로덱스트린을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 방사성제약 조성물이 아스코르브산을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a) 및 단계 (b) 사이의 시간이 적어도 1 초인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a) 및 단계 (b) 사이의 시간이 1 초 내지 5 분인 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a) 및 단계 (b) 사이의 시간이 5 초 내지 60 초인 방법.

청구항 17

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a) 및 단계 (b) 사이의 시간이 0 초인 방법.

청구항 18

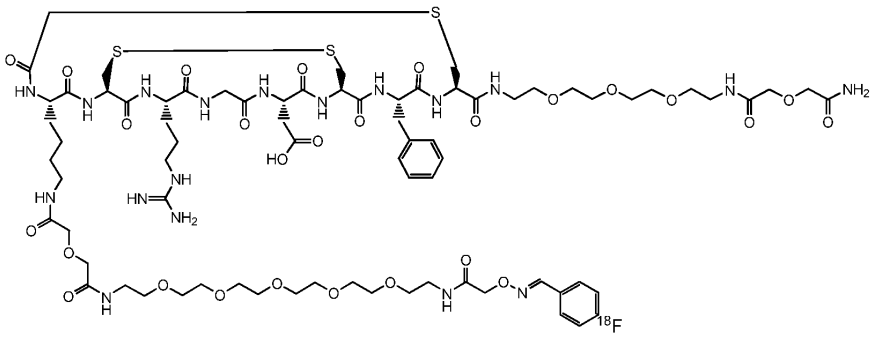
제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 이동상 A 중의 완충제의 농도가 0.1 내지 100 mM인 방법.

청구항 19

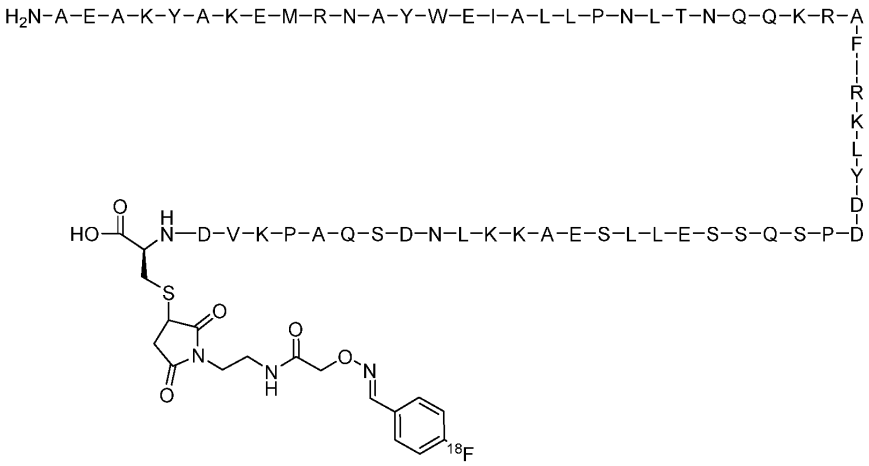
제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 방사성제약 조성물이 양전자 방출 단층촬영 (PET)에 사용하기 위한 것인 방법.

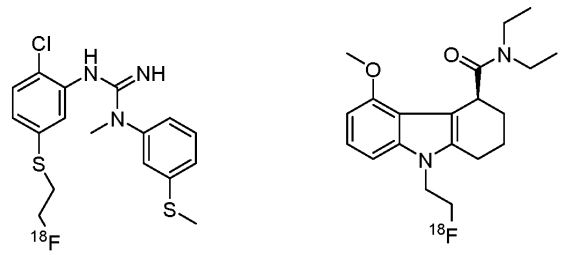
청구항 20

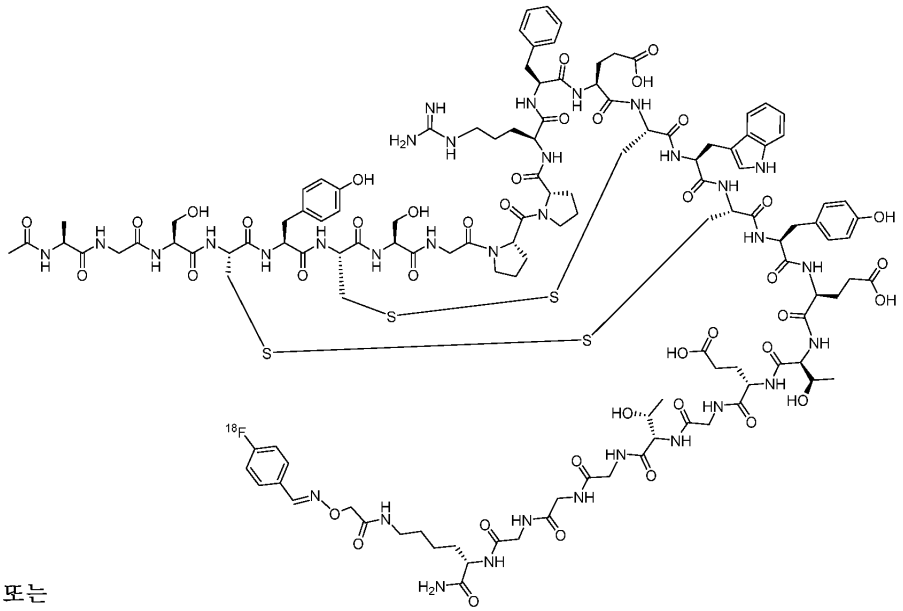
제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 방사성제약이 [^{18}F]FMAU (2'-데옥시-2'-[^{18}F]플루오로-5-메틸-1-베타-D-아라비노푸라노실우라실), [^{18}F]FMISO ([^{18}F]플루오로미소니다졸), [^{18}F]FHBG (9-(4-[^{18}F]-플루오로-3-[히드록시메틸]부틸)구아닌), [^{18}F]AV-45, [^{18}F]AV-19, [^{18}F]AV-1, [^{18}F]플루테메타몰, [^{18}F]FES (플루오로에스트라디올 F18), [^{18}F]플루르피리다즈, [^{18}F]K5, [^{18}F]HX4, [^{18}F]W372, [^{18}F]VM4-037, [^{18}F]CP18, [^{18}F]ML-10, [^{18}F]T808, [^{18}F]T807, 2-[^{18}F]플루오로메틸-L-페닐알라닌,



,





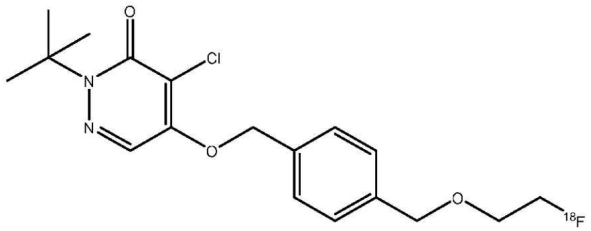


또는

또는 이들의 조합으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 방사성제약이 [^{18}F]플루르피리다즈



인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 일반적으로 역상 HPLC를 사용하여 방사성제약 조성물 중의 방사화학적 순도 및 화학적 불순물을 분석하는 개선된 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 방사성제약은 의료 영상, 진단 또는 치료 분야에서 사용하기 위한 포유동물 생체 내 투여에 적합한 방사성 원소로 표지된 화합물이다. 방사성제약 조성물은 방사성 표지된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 용매 및 하나 이상의 안정화제를 포함한다. 방사성제약 조성물 또는 '약물 제품'이 환자에게 투여될 수 있기 전에 철저한 품질 관리 (QC) 공정을 거쳐야 한다. 품질 관리 또는 품질 보증 표준은 USP (usp.org), 예를 들어 처음에 2019년 6월 1일에 게재된 일반 챕터 <825> 방사성제약 - 제조, 조제, 분배, 및 재포장, 및 일반 챕터 <1823> 양전자 방출 단층촬영 약물 - 정보에 게재된다. QC 공정의 핵심 테스트 중 하나는 약물 제품의 화학적 불순물 및 방사화학적 순도 (RCP)를 정량화하는 것이다. 상기 분석은 고압 액체 크로마토그래피 (HPLC)에 의해 정례적으로 수행된다.

[0003] 방사성제약은 환자에게 투여되기 전 짧은 시간 내에 제조된다. 이는 방사성 붕괴로 인해 시간이 지남에 따라 방사성제약 중 방사성 원소의 방사능이 감소하여, 제품의 방사능 효능이 감소하기 때문이다. 방사성제약 조성물에 대해 QC 공정을 수행해야 하며 환자에게 투여하기 위해 개봉되기 전에 모든 QC 테스트를 통과해야 한다. 그러므로 QC 공정을 수행하는 데 필요한 시간은 가능한 한 짧은 것이 바람직하다.

[0004] 플루오린-18 ([^{18}F])은 진단에 사용하기에 적합한 방사성제약에 일반적으로 사용되는 방사성 플루오린 동위원소이다. 플루오린-18 붕괴는 양전자 방출 (97%) 및 전자 포획 (3%)에 의해 발생한다. 방사성 동위원소 [^{18}F]가 붕괴됨에 따라, 방출된 양전자는 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상에 활용된다. 이러한 생체 내 영상화 방법은 특히 심장 영상화, 종양 영상화 및 뇌 영상화에 사용된다.

[0005] [^{18}F]의 반감기는 109.77 분이다. 즉, [^{18}F]를 함유한 방사성제약 샘플의 방사능 양은 109 분마다 절반으로 줄어든다. 따라서, 방사성제약 약물 제품 샘플을 분석하고 환자에게 투여하기 위해 개봉하는 속도가 중요하다.

[0006] [^{18}F] 방사성제약의 HPLC 분석에는 고농도의 약물 제품 매트릭스 성분의 존재 하에 화학적 불순물 및 방사성 불순물을 둘 다 분석하는 것이 요구된다. 방사성 불순물은 모두 [^{18}F] 방사성핵종을 포함한다. [^{18}F] 방사성제약의 HPLC 분석은 [^{18}F] 방사성핵종의 특성으로 인해 더욱 복잡해질 수 있다. 방사성제약에서, [^{18}F] 핵종은 종종 소수성 화합물에 통합된다. 그러나, 환자에게 투여하기 위해 개봉되기 전 약물 제품에 존재할 수 있고 정량화되어야 하는 유리 [^{18}F]플루오라이드는 매우 친수성이다. 보다 소수성인 PET 방사성제약의 역상 HPLC 분석에 사용되는 고정상에 유리 [^{18}F]플루오라이드가 흡착되어 분석이 더욱 복잡해지며, 이는 유리 [^{18}F]플루오라이드의 정량화가 문제가 되게 한다. 역상 HPLC 컬럼으로부터 유리 [^{18}F]플루오라이드를 정량화가능한 피크로 용리하는 것을 보장하려면 전통적으로 pH가 거의 중성 pH로 제어되는 이동상이 요구되었다. 그러나, 보다 소수성인 PET 방

사성제약의 모든 분석이 중성 pH에서 가장 잘 달성되는 것은 아니다. HPLC 시스템에 이동상을 제공하기 위해 복잡한 용매 시스템이 필요하다. 방사성제약의 일부 HPLC 분석은 산성 이동상에서 가장 잘 달성된다. 그러나, 유리[^{18}F]플루오라이드는 산성 조건 하에서는 정량화할 수 없다.

[0007] 유리 [^{18}F]플루오라이드의 필요성에 따라 부과되는 임의의 제약 없이 HPLC 분리 방법을 개발할 수 있다는 것은 큰 이점이 될 것이다. 본 발명은 방사성제약 약물 제품 중 유리 [^{18}F]플루오라이드 및 화학적 불순물의 신속한 분석을 가능하게 하는 단순화된 공정을 제공함으로써 이를 달성할 수 있도록 허용한다.

발명의 내용

[0008] 본 발명은 [^{18}F] 방사성제약 중 [^{18}F]플루오라이드 정량화 및 화학적 불순물 정량화를 위한 개선된 분석용 HPLC 방법에 관한 것이다.

[0009] 본 발명의 한 측면은 역상 HPLC를 사용하여 방사성제약 조성물 중 방사화학적 순도 및 화학적 불순물을 분석하는 방법에 관한 것이며, 여기서 방사성제약 조성물은 [^{18}F]로 표지된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하고, 여기서 방법은 하기를 포함한다:

[0010] (a) 방사성제약 조성물의 샘플을, 이동상이 물, 또는 물 및 유기 용매, 또는 중성 pH 완충제; 또는 중성 pH 완충제 및 유기 용매인 동안 HPLC 컬럼에 제공하는 단계 및 후속적으로

[0011] (b) 산 개질제, 물 및 유기 용매를 포함하는 다른 이동상을 HPLC 컬럼에 제공하는 단계.

[0012] 상기 방법은 방사성제약 조성물을 포함하는 샘플을 역상 HPLC로 분석할 수 있도록 하며, 여기서 유리 [^{18}F]플루오라이드는 단계 (b) 동안 용리되는 [^{18}F]로 표지된 방사성제약 화합물 또는 이의 염을 포함하여 샘플의 나머지 성분과 별도로 단계 (a) 동안 용리된다.

[0013] (a) 단계에서 방사성제약 조성물 (또는 '약물 제품')의 샘플을 HPLC 컬럼에 제공할 때, 이동상 ('이동상 A')은 오직 유기 용매 및 물, 또는 유기 용매 및 중성 pH 완충제만 함유한다. 방사성제약 조성물 자체는 초기에 이동상 A 내에서 국소적인 pH 제어 환경을 제공한다. 즉, 단계 (a)가 물 및 유기 용매를 사용하여 수행되는 경우, 샘플 플러그는 플루오라이드 회수를 위한 pH 제어를 제공한다. 중성 완충제 및 유기 용매를 사용하여 단계 (a)를 수행하는 경우, 이동상에 의해 pH 제어가 제공된다. 이는 약물 제품 매트릭스에 의해 제공되는 이동상이 쉽게 정량화가능한 크로마토그래피 피크로서 유리 [^{18}F]플루오라이드의 용리에 유리한 pH 환경 (pH 5 내지 7)을 보장하므로 유리 [^{18}F]플루오라이드를 회수할 수 있게 한다.

[0014] 단계 (b)에서, 유리 [^{18}F]플루오라이드가 컬럼 아래로 용리되거나 컬럼 아래로 용리되기 시작한 후, 물, 유기 용매 및 산 개질제를 포함하는 다른 이동상 ('이동상 B')이 컬럼 내로 분배된다. 산 개질제는 이동상 B가 산성 pH를 갖도록 유발한다. 이동상 B의 산성 pH는 약물 제품 매트릭스 성분의 용리를 제어하는 데 이점을 제공하며, 샘플의 나머지 성분의 컬럼을 통한 용리를 위해 보다 최적의 이동상 pH를 제공할 수 있다. 본 발명의 방법은 [^{18}F]플루오라이드의 신속하고 정확한 정량화 및 화학적 불순물 및 방사성 불순물의 우수한 분리를 허용한다.

[0015] 본 발명은 유리[^{18}F]플루오라이드의 정량화 필요성에 의해 방법이 제한되지 않으면서 방사성제약 조성물의 가능한 최상의 분석을 제공하는 임의의 이동상을 선택할 수 있는 자유를 제공한다. 방사성 불순물 및 약물 관련 화학적 불순물의 최적화된 분리는 종종 산성 이동상을 사용하여 달성된다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 본 발명의 방법 및 유리 [^{18}F]플루오라이드의 정량화를 가능하게 하도록 특별히 고안된 현재 HPLC 용매 시스템의 HPLC 크로마토그램 간의 비교를 나타낸다.

도 2는 현재 방법에 따른 및 본 발명의 방법에 따른 [^{18}F]플루오라이드로 표지된 방사성제약 조성물의 샘플의 HPLC 크로마토그램에서 방사성 불순물 분리 간의 비교를 나타낸다.

도 3은 현재 방법 및 본 발명의 방법에 따른 HPLC 크로마토그램에서 이동상 시스템의 구배를 기반으로 한 방사성 불순물 분리 간의 비교를 나타낸다.

도 4는 현재 방법 및 본 발명의 방법에 따른 HPLC 크로마토그램에서 이동상 시스템을 기반으로 한 화학적 불순물 분리 간의 비교를 나타낸다.

도 5는 본 발명의 방법에 따른 HPLC 트레이스 및 화학적 불순물 및 방사성 불순물을 분리하기 위해 이동상에 사용되는 구배를 나타낸다.

도 6은 본 발명의 방법에서 이동상에 사용되는 용매 농도 구배를 예시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 방사성제약 및 방사성제약 조성물은 전형적으로 방사성 약국 또는 PET 센터에서 제조되며, 이곳에서도 품질 관리 테스트를 거친다. 약물 제품이 품질 관리 (QC) 공정을 통과하고 환자에게 투여하기 위해 개봉되면, PET 스캐닝 시설이 존재하는 현장에서 환자에게 투여하거나, 또는 PET 스캐닝 시설로 배송할 수 있다.

[0018] QC 공정의 주요 테스트 중 하나는 약물 제품의 화학적 불순물 및 방사화학적 순도 (RCP)를 정량화하는 것이다. 이 분석은 고압 액체 크로마토그래피 (HPLC)에 의해 정례적으로 수행된다. HPLC는 고정상 (일반적으로 실리카 기반 컬럼) 및 컬럼을 통과하는 이동상 또는 용리액과 성분의 상이한 상호 작용으로 인해 액체 조성물의 다양한 성분을 분리를 달성한다. 성분의 화학적 특성은 분자간 상호 작용 및 용리 전 컬럼에서 소요되는 시간을 기반으로 고정상에 대한 친화력을 결정한다. 이동상 조성은 일정할 수도 있거나 (즉, 등용매 용리) 또는 분리 공정 동안 변경될 수도 있다 (즉, 구배 용리). 매우 상이한 화학적 특성을 갖는 성분을 포함하는 조성물을 분리하기 위해, 전형적으로 이동상에서 용매의 비율을 증가시킴으로써 추가 용매를 컬럼에 도입할 수 있다. 검출 유닛 (예를 들어 UV 검출기) 및 컴퓨터 프로세싱 유닛은 분석물질이 용리되는 시간을 기록하고 분리된 성분의 신호 피크를 나타내는 크로마토그램을 생성한다. 신호 피크는 정성적 및 정량적 데이터를 제공하고 성분의 농도를 계산할 수 있도록 허용한다. 머무름 시간 (t_R)은 성분을 시스템에 주입하는 것 및 컬럼에서 용리 (검출)되는 것 사이의 시간을 지칭한다. 역상 HPLC는 극성 이동상 및 비극성 고정상을 사용하는 크로마토그래피 모드를 설명한다. 이동상이 점점 비극성이 됨에 따라, 일반적으로 유기 용매의 수준을 증가시키는 것을 추가하여, 즉 이동상에서 유기 용매의 비율을 증가시킴으로써, 화합물이 고정상으로부터 선택적으로 용리된다. 역상 크로마토그래피에는 폴리머 기반 컬럼을 사용할 수 있다. 그러나 가장 일반적인 고정상은 유기 물질과 실리카 입자의 공유 결합에 의해 제조된다. 유기 물질은 페닐 유형 화합물일 수 있으며, 보다 일반적으로는 알킬 사슬일 수 있다. 알킬 사슬 길이는 고정상의 소수성을 결정하며 HPLC 컬럼은 C2 내지 C30 범위의 알킬 사슬 길이일 수 있다. 일반적인 고정상은 실리카에 결합된 C18이며, 전형적인 이동상은 물 및 유기 용매, 예를 들어 아세토니트릴 또는 메탄올의 수성 혼합물을 포함한다.

[0019] 방사화학적 순도 (RCP)는 HPLC를 사용하여 결정할 수 있으며 크로마토그램의 총 (방사성 표지된) 피크에 대한 (방사성 표지된) 약물 물질 피크의 비율로 정의할 수 있다.

[0020] 방사성제약이라는 용어는 통상적인 의미를 가지며, 진단 또는 치료에 사용하기 위한 포유동물 생체 내 투여에 적합한 방사성 화합물을 지칭한다.

[0021] 포유동물, 예를 들어 인간에게 주사하기에 적합한 [^{18}F] 표지된 방사성제약 및 제약상 허용되는 부형제, 안정화제, 용매 등을 포함하는 임의의 방사성제약 조성물은 본 발명의 HPLC 방법에 의해 분석할 수 있다.

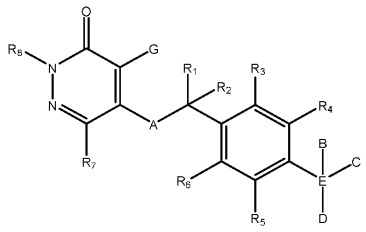
[0022] "포함하는"이라는 용어는 본 출원 전반에 걸쳐 통상적인 의미를 가지며, 조성물이 나열된 성분을 가져야 하지만, 기타 불특정 화합물 또는 종이 추가로 존재할 수 있음을 암시한다.

[0023] 방사성제약 조성물

[0024] 하기 기재는 방사성제약 조성물의 다양한 가능한 성분을 예시하는 역할을 한다. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 방사성제약 조성물은 방사성제약, 용매, 가용화제 및 방사성 안정화제를 포함한다. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 방사성제약 조성물은 역상 HPLC에 의해 분석가능한 [^{18}F] 표지된 방사성제약을 포함할 수 있다. 방사성 표지된 화합물은 [^{18}F] 표지된 방사성제약 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있다. 이러한 [^{18}F] 표지된 방사성제약의 예는 [^{18}F]FMAU (2'-데옥시-2'-[^{18}F]플루오로-5-메틸-1-베타-D-아라비노푸라노실우라실),

[^{18}F]FMISO (F18 플루오로미소니다졸), [^{18}F]FHBG (9-(4-18F-플루오로-3-[히드록시메틸]부틸)구아닌), [^{18}F]AV-45, [^{18}F]AV-19, [^{18}F]AV-1, [^{18}F]플루테메타몰, [^{18}F]FES (플루오로에스트라디올 F18), [^{18}F] 플루르피리다즈, [^{18}F]K5, [^{18}F]HX4, [^{18}F]W372, [^{18}F]VM4-037, [^{18}F]CP18, [^{18}F]ML-10, [^{18}F]]T808, [^{18}F]T807, 2-[^{18}F]플루오로메틸-L-페닐알라닌, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0025] 방사성 표지된 화합물은 화학식 (I)의 화합물일 수 있다:



화학식 (I)

[0026]

[0027] A는 N(R^7), S, O, C(=O), C(=O)O, $NHCH_2CH_2O$, 결합, 또는 C(=O)N(R^7)로부터 선택되고;

[0028] 존재하는 경우, B는 수소, 알콕시알킬, 알킬옥시, 아릴, 영상화 모이어티로 선택적으로 치환된 C_1-C_6 알킬, 헤테로아릴 및 영상화 모이어티로부터 선택되고;

[0029] 존재하는 경우, C는 수소, 알콕시알킬, 알킬옥시, 아릴, 영상화 모이어티로 선택적으로 치환된 C_1-C_6 알킬, 헤테로아릴 및 영상화 모이어티로부터 선택되고;

[0030] D는 수소, 알콕시알킬, 알킬옥시, 아릴, 영상화 모이어티로 선택적으로 치환된 C_1-C_6 알킬, 헤테로아릴, 및 영상화 모이어티로부터 선택되거나; 또는

[0031] C 및 D는 이들이 부착된 원자와 함께 3원 또는 4원 탄소고리 화합물을 형성하고;

[0032] G는 할로 또는 할로알킬이고;

[0033] n은 0, 1, 2 또는 3이고;

[0034] R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6 및 R^7은 수소, 영상화 모이어티로 선택적으로 치환된 C_1-C_6 알킬 및 영상화 모이어티로부터 독립적으로 선택되고;

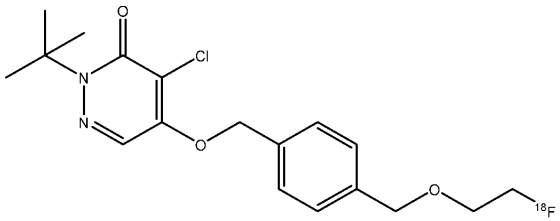
[0035] R^8은 영상화 모이어티로 선택적으로 치환된 C_1-C_6 알킬이고; 및

[0036] E는 결합, 탄소, 및 산소로부터 선택되며, 단, E가 결합인 경우, B 및 C는 존재하지 않고 D는 아릴 및 헤테로아릴로부터 선택되며, 단, E가 산소인 경우 B 및 C는 존재하지 않고 D는 수소, 알콕시알킬, 아릴, 영상화 모이어티로 선택적으로 치환된 C_1-C_6 알킬 및 헤테로아릴로부터 선택되고;

[0037] 단, 적어도 하나의 영상화 모이어티가 화학식 (I)에 존재한다.

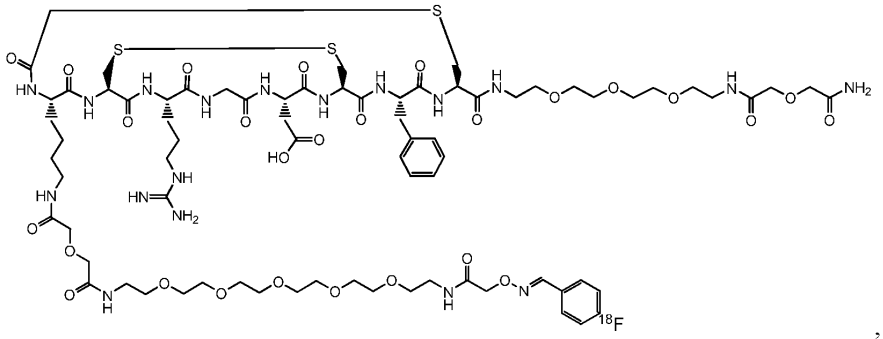
[0038] 화학식 (I)의 치환기 A는 O일 수 있다. R^8은 tert-부틸일 수 있다. G는 클로로일 수 있다. 영상화 모이어티는 본원에 언급된 임의의 방사성 동위원소, 예를 들어 ^{18}F일 수 있다.

[0039] 방사성 표지된 화합물은 [^{18}F]플루르피리다즈 (플루르피리다즈 ^{18}F로도 공지됨)를 포함할 수 있으며, 이는 하기 구조를 갖는다:

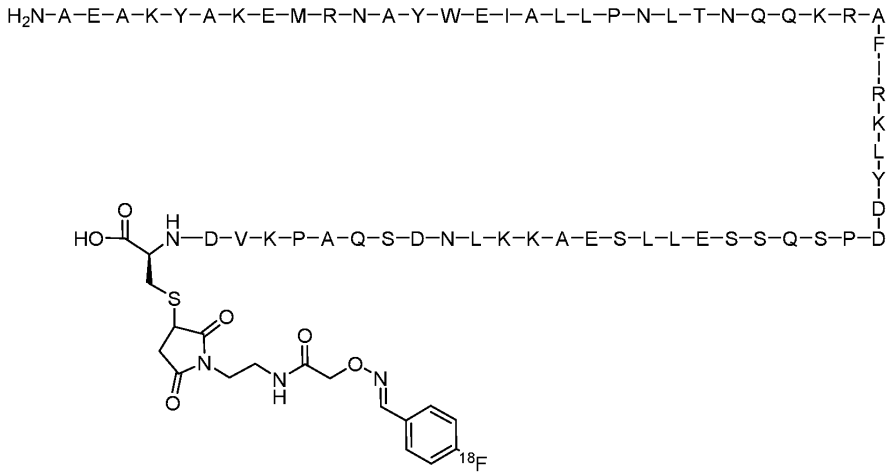


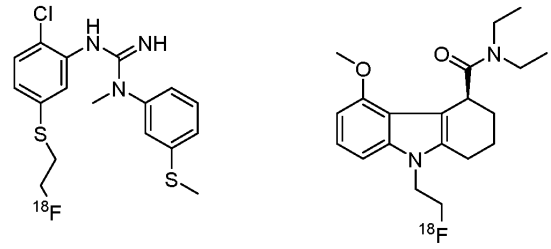
[0040]

[0041] 방사성 표지된 화합물은 하기로부터 선택된 화합물일 수 있다:



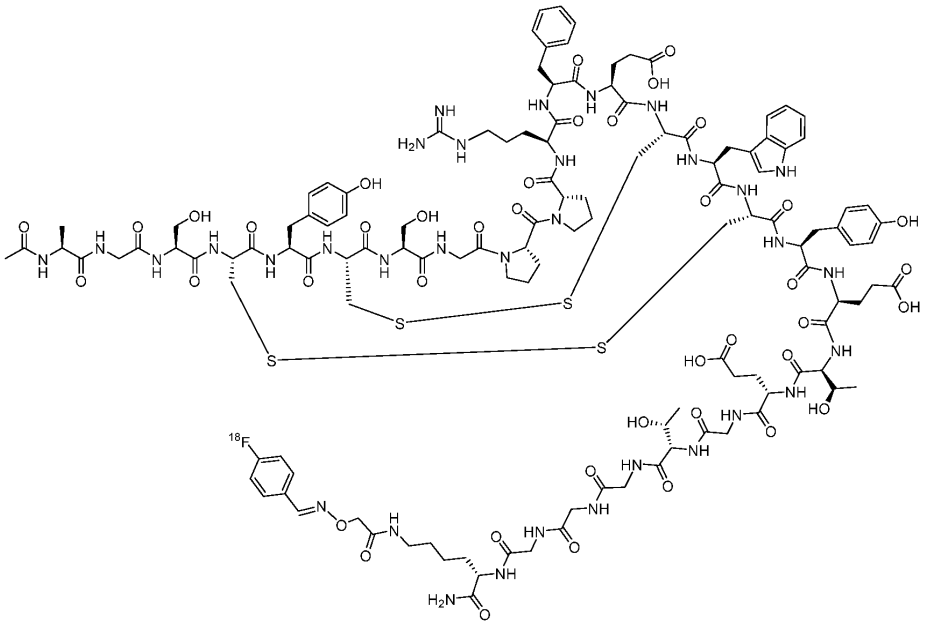
,





, ,

[0042] 또는



[0043]

[0044] 방사성제약 조성물은 추가의 선택적인 부형제를 함유할 수 있다. 예를 들어, 이러한 추가의 선택적인 부형제는 항미생물 보존제, pH 조정제 (완충제), 충전제, 가용화제 또는 삼투압 조정제를 포함한다. 방사성제약 제제에는 저장 기간 동안 방사성 불순물의 형성을 감소시키기 위해 안정화제가 필요하다. 적합한 안정화제는 특히 에탄올, 나트륨 아스코르브산염, 아스코르브산, 말레산, 파라 아미노 벤조산, 폴리소르베이트, 폴리에틸렌 글리콜, 겐티신산 및 칼슘 클로라이드 등을 포함한다.

[0045] 방사성제약 조성물은 생체적합성 담체를 포함할 수 있다. 생체적합성 담체는 방사성제약이 현탁화되거나 바람직하게는 용해되어 조성물이 생리학적으로 허용될 수 있는, 즉 독성 또는 과도한 불편 없이 포유동물 신체에 투여될 수 있는 유체, 특히 액체이다. 생체적합성 담체는 적합하게는 주사가능한 담체 액체, 예컨대 멸균되고 발열원이 없는 주사용수; 식염수와 같은 수용액 (주사를 위한 최종 제품이 등장성이도록 유리하게 균형을 이룰 수 있음); 생체적합성 완충제 (예를 들어 포스페이트 완충제)를 포함하는 수성 완충 용액; 하나 이상의 장성 조정 물질 (예를 들어 생체적합성 반대이온과 플라즈마 양이온의 염)의 수용액, 당 (예를 들어 포도당 또는 자당), 당 알코올 (예를 들어 소르비톨 또는 만니톨), 글리콜 (예를 들어 글리세롤) 또는 기타 비이온성 폴리올 물질 (예를 들어 폴리에틸렌글리콜, 프로필렌 글리콜 등)이다. 바람직하게는, 생체적합성 담체는 발열원이 없는 주사용수, 등장성 식염수 또는 포스페이트 완충제이다.

[0046] 방사성제약 조성물은 예를 들어 방사성 표지된 화합물, 아스코르브산, 에탄올 및 시클로덱스트린을 포함할 수 있다. 예시적인 방사성제약 조성물은 아스코르브산 및 에탄올, 시클로덱스트린, 예를 들어 히드록시프로필-베타-시클로덱스트린 (HPbCD), 및 방사성 표지된 화합물 [^{18}F]플루르피리다즈를 포함한다. 아스코르브산은 약 1 내지 약 100 mg/mL의 양으로 존재할 수 있고, 에탄올은 약 2 내지 약 10% (v/v)의 양으로 존재할 수 있으며, HPbCD는 약 1 내지 약 1000 mg/mL, 예를 들어 약 1 내지 약 350 mg/mL, 예를 들어 약 1 내지 약 100 mg/mL, 예를 들어 약 30 mg/mL 내지 약 70 mg/mL, 예를 들어 약 50mg/mL의 양으로 존재할 수 있다. 에탄올은 전형적으로 조성물의 10 부피% 이하를 차지한다.

[0047] HPLC 방법

[0048] [^{18}F]플루오라이드 HPLC 분석은 일반적으로 많은 요소를 고려해야 하기 때문에 까다롭다. 산성 환경에서 유리 [^{18}F]플루오라이드는 컬럼의 고정상에 흡수되어 용리가 어렵다: 유리 [^{18}F]플루오라이드는 정량화가능한 별도의 크로마토그래피 피크로 용리되지 않는다.

[0049] 본 발명은 방사성제약 조성물을 포함하는 샘플 중 방사화학적 순도 및 화학적 불순물을 역상 HPLC를 사용하여 분석하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방사성제약 조성물은 [^{18}F]로 표지된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하고, (a) 방사성제약 조성물을 포함하는 샘플을 이동상이 물, 또는 물 및 유기 용매, 또는 중성 pH 완충제, 또는 중성 pH 완충제 및 유기 용매인 동안 HPLC 컬럼에 제공하는 단계; 및 후속적으로 (b) 산 개질제,

물 및 유기 용매를 포함하는 다른 이동상을 HPLC 컬럼에 제공하는 단계를 포함한다.

[0050] 전형적으로, 방사성제약 조성물은 물, 에탄올, 완충제 또는 안정화제, 예컨대 아스코르브산 및 시클로덱스트린을 포함한다.

[0051] 방사성제약 조성물 (약물 제품)의 샘플이 HPLC 컬럼에 제공되면, 이동상 ('이동상 A')은 오직 유기 용매 및 물만 함유한다. 대안적으로, 이동상 A는 중성 pH 완충제, 또는 중성 pH 완충제 및 유기 용매를 포함할 수 있다.

[0052] '이동상 A'가 오직 유기 용매 및 물만 함유하는 경우, 상기 이동상은 pH 제어를 제공하지 않는다. 방사성제약 조성물의 샘플이 HPLC 컬럼에 주입되면, 샘플의 매트릭스가 pH 제어를 설정한다. 즉, 샘플의 매트릭스는 초기 이동상 ('이동상 A') 내에서 플루오라이드 이온 (유리 [^{18}F]플루오라이드) 주위에 국소적인 미세 환경을 제공하여 플루오라이드가 컬럼 아래로 용리되도록 보장한다. 유리 [^{18}F]플루오라이드는 컬럼 아래로 용리되는데, 그 이유는 매트릭스 성분으로 인해 주입된 샘플이 pH 5 내지 7의 pH 환경을 제공하기 때문이다. 이는 컬럼에서 유리 [^{18}F]플루오라이드가 용리되는 데 유리한 환경을 조성하여 쉽게 정량화가능한 크로마토그래피 피크를 초래한다.

[0053] 약물 제품의 '매트릭스'는 [^{18}F]플루오라이드로 방사성 표지된 화학적 화합물을 제외하고 약물 제품 (예를 들어 방사성제약 조성물)에 존재하는 모든 구성요소로 정의된다. 매트릭스는 예를 들어 방사성제약 조성물에 대해 상기 기재한 바와 같이 에탄올, 완충염 (포르메이트, 포스페이트, 시트레이트, 아세테이트, 및/또는 하나 이상의 아미노산), 방사성 안정화제, 가용화제를 포함할 수 있다.

[0054] 유리 [^{18}F]플루오라이드가 컬럼 아래로 용리되거나 컬럼 아래로 용리되기 시작한 후, 다른 이동상 ('이동상 B')이 컬럼으로 분배된다. 이동상 B는 산 개질제, 물 및 유기 용매를 포함한다. 모든 산 개질제는 이동상 B에 사용될 수 있으며 이동상 B에 산성 pH를 부여한다. 산성 pH는 7.0 미만으로 정의된다. 바람직하게는 이동상 B의 pH는 5.0 미만, 보다 바람직하게는 4.5 미만, 0 내지 5.0, 0 내지 4.0, 1.0 내지 3.0, 1.5 내지 2.5, 예를 들어 약 2.0이다. 이동상 중 적합한 산 개질제의 예는 특히 트리플루오로아세트산 (TFA), 포름산, 아세트산, 인산, 시트르산 및 산성 포스페이트 완충제를 포함한다. 이동상 B 중 산 개질제 비율은 일정하거나 점차적으로 증가할 수 있다. 이동상 B에 상이한 성분의 혼합물이 사용되는 경우, 그들 각각의 비율은 구배에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.

[0055] pH 개질제는 pH 제어 또는 조정을 돕기 위해 이동상에 첨가되는 임의의 물질이다. 산 개질제는 일반적으로 7.0 미만의 임의의 pH로 정의되는 산성 pH를 설정하기 위해 이동상에 첨가되는 임의의 물질이다. 본 발명의 목적을 위해, 산 개질제는 이동상에 첨가되어 5.0 이하의 산성 pH를 설정하는 임의의 물질로 정의된다. 염기 개질제는 폴리머 기반 컬럼에서 일반적으로 7.0 초과의 임의의 pH로 정의되는 염기성 pH를 설정하는 이동상에 첨가되는 임의의 물질이다.

[0056] 일반적으로, 트리플루오로아세트산 (TFA)은 화학적 및 방사화학적 불순물을 포함하여 샘플의 성분을 우수하게 분리하는 데 도움이 되므로 HPLC의 이동상 또는 용리액에서 매우 유용한 pH 개질제 (산 개질제)이다. 그러나, [^{18}F] 방사성제약 분석을 위한 HPLC 방법 (예를 들어 [^{18}F]로 방사성 표지된 PET 제품의 품질 관리 테스트)에서는 TFA가 유리 [^{18}F]플루오라이드의 정량화를 허용하지 않으므로 일반적으로 TFA를 이동상 산 개질제로 사용하지 않는다. 본 발명자들은 이동상 A (임의의 pH 개질제를 함유하지 않음)의 초기, 임시 pH 제어를 제공하는 방사성제약 조성물 샘플 플러그 자체에 의해, 샘플에 존재하는 유리 [^{18}F] 플루오라이드의 단순한 분석이 달성된다는 것을 밝혀내었다.

[0057] 후속적으로, 이동상을 조정하여 샘플의 나머지 성분 분리를 최적화할 수 있다. 산 개질제는 오직 샘플 (특히 유리 [^{18}F]플루오라이드)이 컬럼 아래로 용리되기 시작한 후에만 단계 (b) ('이동상 B'의 성분)에서 이동상으로 분배된다. 산 개질제는 증가하는 구배로 이동상으로 분배될 수 있어 정확한 pH 제어가 가능하며 이는 컬럼에서 나머지 성분의 용리 제어에 기여한다.

[0058] 친수성인 유리 [^{18}F]플루오라이드와 달리, 나머지 성분은 보다 소수성이고 이러한 성분이 컬럼을 통해 용리되기 위해서는 이동상이 점점 더 비극성이 되어야 한다. 이는 예를 들어 이동상에서 물에 대한 유기 용매의 비율을 증가시켜 보다 많은 소수성 성분이 용리되도록 유발함으로써 달성될 수 있다. 이동상은 2개 이상의 용매 저장

소에서 컬럼으로 공급된다. 저장소, 예를 들어 제1 저장소 및 제2 저장소로부터 컬럼으로의 기여 비율을 변경함으로써, 이동상의 조성이 변경될 수 있다. HPLC 장치는 적어도 2개의 저장소, 예를 들어 2개, 3개 또는 4개의 저장소를 포함할 수 있다. 예를 들어 저장소는 다양한 성분 또는 특정 성분의 다양한 농도를 함유할 수 있다. 각 저장소의 조성은 일정하게 유지되지만, 이동상의 조성은 임의의 주어진 시간에 각 저장소로부터 이동상으로의 기여 비율을 변경함으로써 변경될 수 있다.

[0059] 이동상 A는 임의의 산 개질제를 함유하지 않는 컬럼을 통과하는 이동상으로서 본원에서 정의된다. 이동상 B는 일정량의 산 개질제를 포함하는 컬럼을 통과하는 이동상으로 본원에서 정의된다. 이동상 B의 조성은 성분의 비율을 변경함으로써, 예를 들어 구배에서 저장소로부터의 기여를 변경함으로써 변경될 수 있다.

[0060] 이동상 A는 물 및 일정량의 유기 용매이다. 예를 들어, 이동상 A는 물 중 0 내지 60% 유기 용매, 예를 들어 10 내지 60% 유기 용매, 예를 들어 30% 유기 용매 내지 50% 유기 용매를 함유할 수 있다. 이동상 A는 하나 이상의 유기 용매를 포함할 수 있다.

[0061] 본 발명의 대안적인 실시양태에서, 하나 이상의 중성 pH 완충제가 이동상 A로 사용될 수 있다. 적합한 중성 pH 완충제는 pH를 약 4.0 내지 8.0 범위로 유지하는 임의의 완충제이다. 적합한 완충제는 포스페이트, 암모늄 아세테이트, 암모늄 포르메이트, 나트륨 아세테이트, 타르트레이트, 시트레이트-포스페이트, 시트레이트, 피리딘-포르메이트, 피리딘-아세테이트, 디메틸글루타레이트, 숙시네이트, 프탈레이트, 피콜린 아세테이트, 카코딜레이트 완충제, 트리스-말레에이트, 나트륨 수소 말레에이트 완충제, 나트륨 아세네이트, 및 이미다졸 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 바람직한 중성 pH 완충제는 포스페이트, 암모늄 아세테이트, 및 암모늄 포르메이트를 포함한다. 중성 pH 완충제의 바람직한 농도 범위는 0.1 내지 100 mM이다.

[0062] 이동상 B에서는, 산 개질제가 유기 용매 및 물과 함께 컬럼에 도입된다. 이동상 B 내 유기 용매의 비율은 1% 내지 100% 유기 용매, 예를 들어 30% 내지 100% 유기 용매일 수 있다. 유기 용매의 비율이 100% 미만인 경우 나머지는 물이다. 이동상 B 내 유기 용매의 양은 컬럼으로부터의 용리를 돕기 위해 구배, 예를 들어 1% 내지 95%, 1% 내지 50%, 30% 내지 95%, 30% 내지 80%, 50% 내지 80% 또는 50% 내지 70%의 물 중 유기 용매로 구배를 따라 증가할 수 있다. 이동상 B는 하나 이상의 유기 용매를 포함할 수 있다.

[0063] 하나 이상의 유기 용매는 이동상 A 및 이동상 B에서 동일하거나 상이할 수 있다. 바람직하게는, 하나 이상의 유기 용매는 이동상 A 및 이동상 B에서 동일하다. 산 개질제의 비율은 0.05% 내지 1%, 예를 들어 0.1% 내지 0.25%일 수 있다. 산 개질제의 비율은 예를 들어 0.1%로 일정하게 유지될 수도 있고, 포함된 용매의 비율 증가에 비례하여 증가할 수도 있다. 이는 사용된 HPLC 장치에 따라 달라질 수 있다.

[0064] 이동상 A 및/또는 이동상 B의 유기 용매는 예를 들어 아세토니트릴 또는 메탄올로부터 선택될 수 있다. 예를 들어 이동상 A는 초기에 30% MeCN 및 70% 물을 포함할 수 있다. 컬럼을 통과하는 이동상의 MeCN 비율은 용매 저장소로부터의 기여를 조정함으로써 구배에 따라 증가할 수 있다. 이동상 B는 MeCN, 물 및 산 개질제를 포함할 수 있다. 구배의 가파른 정도 (시간 경과에 따른 유기 용매 비율의 증가)는 샘플 성분의 특성에 따라 달라질 것이다. 컬럼을 통과하는 이동상의 최종 비율은 예를 들어 70% MeCN, 29.9% 이하의 물 및 적어도 0.1% 산 개질제일 수 있다. 또 다른 예에서 이동상 A 및 B는 MeOH 및 물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 이동상 A는 50% MeOH 및 50% 물을 포함할 수 있다. 이동상 B 중 MeOH 비율은 용매 저장소로부터의 기여를 조정함으로써 구배에 따라 증가할 수 있다. 이동상 B는 산 개질제를 추가로 포함한다. 산 개질제는 예를 들어 트리플루오로아세트산, 포름산 아세트산, 인산, 시트르산 및 산성 포스페이트 완충제 또는 포스페이트 완충제일 수 있다.

[0065] 크로마토그래피에서는 pH 제어가 매우 중요한 것으로 간주된다. 이는 이온화 가능한 작용기가 이온화 상태에 따라 역상 크로마토그래피에서 다르게 행동하기 때문이다. 이온화 가능한 기의 전하는 pH에 따라 달라질 것이다. 그러므로, HPLC와 같은 분석을 수행할 때 pH 제어가 종종 매우 중요하다. pH 제어는 pH 개질제, 예를 들어 산성 pH를 달성하기 위한 산 개질제 (및 폴리머 기반 컬럼에서 염기성 pH를 달성하기 위한 염기 개질제)에 의해 달성될 수 있다. 완충제는 또한 강력한 pH 제어를 달성하고 변동의 균형을 맞추는 데 사용될 수 있다.

[0066] 관련 기술분야의 표준 절차와는 대조적으로, pH 제어가 요구되는 분석물질 (예를 들어 플루오라이드)의 분석의 경우, 이동상 A에는 pH 개질제가 포함되어 있지 않다. 오히려, 플루오라이드 근처의 pH 제어 (약 pH 5 내지 pH 7)는 약물 제품 매트릭스 자체로부터 발생한다. 이를 통해 유리 [^{18}F]플루오라이드의 용리 및 정확한 정량화가 가능하다. 이동상 A가 중성 완충제인 경우 pH 제어는 중성 완충제에 의해 제공된다. 후속적으로 이동상 B에 산 개질제를 도입하면 산성 환경이 제공되며, 유리 [^{18}F]플루오라이드의 용리 및 정량화를 방해하지 않으면서 화

학적 불순물을 포함한 샘플의 나머지 성분을 우수하게 분리하고 정량화할 수 있다. 본 발명의 방법은 [^{18}F]플루오라이드를 쉽게 정량화할 수 있을 뿐만 아니라 샘플 내 화학적 불순물의 우수한 분리를 허용한다. 하기에 보다 상세히 기재된 바와 같이, 산 개질제의 첨가는 약물 제품의 매트릭스 물질로 인한 크로마토그램의 큰 피크를 제어하는 데 매우 중요하다.

[0067] 약물 제품 샘플을 컬럼에 도입하는 것 및 이동상 B를 컬럼에 도입하는 것 사이의 시간은 1 초 정도일 수 있다. 바람직하게는, 약물 제품 샘플을 컬럼에 도입하는 것 및 이동상 B를 컬럼에 도입하는 것 사이의 시간은 1 초 내지 5 분, 바람직하게는 5 초 내지 60 초, 보다 바람직하게는 5 초 내지 30 초, 예를 들어 약 20 초이다. 또 다른 실시양태에서, 약물 제품 샘플을 컬럼에 도입하는 것 및 이동상 B를 컬럼에 도입하는 것 사이의 시간은 0 초이다.

[0068] 본 발명 방법의 또 다른 이점은 약물 제품 샘플의 HPLC 분석이 약 10 분 이내에 수행될 수 있다는 것이다. 이는 일반적으로 약 20 분 정도 소요되는 현재 방법과 대조적이다. 기재된 바와 같이, 방사성핵종의 방사성 붕괴를 고려하여, 방사성제약 조성물은 환자에게 투여하기 전 짧은 시간 내에 제조될 뿐만 아니라 품질 관리 테스트를 받게 된다. HPLC 분석을 수행하는 데 요구되는 시간을 절반으로 줄이는 것은 매우 유리하다. 본 발명의 방법은 비유리 [^{18}F] 플루오라이드 성분의 추후 분리가 가능한 가장 최적의 방식으로 수행될 수 있으므로, 분석 시간이 크게 감소되는 것을 허용한다. 이는 도면을 참조하여 추가로 기재된다.

[0069] 본 발명의 HPLC 방법은 [^{18}F]플루오라이드로 방사성 표지된 방사성제약 약물 제품에 대한 임의의 역상 HPLC 분석에 적용가능하다. 임의의 컬럼 치수, 입자 크기 및 기공 크기의 임의의 실리카 기반 역상 HPLC 컬럼 (C2 내지 C30)이 본 발명의 방법에 사용하기에 적합하다. 본 발명에 사용될 수 있는 예시적인 컬럼으로는 조르박스(Zorbax) SB-C18 P/N 822975-902 (애질런트(Agilent), 미국), 및 키네텍스(Kinetex) C18, P/N 00B-4462-E0 (페노메넥스 인크.(Phenomenex Inc.))을 포함한다.

[0070] 도 1은 HPLC 크로마토그램을 도시한다. 트레이스는 위에서 아래로 트레이스 1, 트레이스 2, 트레이스 3, 및 트레이스 4로 번호가 지정된다.

[0071] 트레이스 1은 물 중 유리 [^{18}F]플루오라이드 샘플에 대해 HPLC를 수행하여 생성된 크로마토그램을 도시한다. 이동상은 초기에는 산을 함유하지 않는다. 샘플 주입 후 TFA가 이동상에 첨가된다. 결과적으로 pH는 약 2.0으로 낮아진다. 그러나, 트레이스 1로부터 볼 수 있듯이, 오직 물로만 구성된 샘플 매트릭스에서는 유리 [^{18}F]플루오라이드가 약 2.3 분 내지 3.8 분에 넓은 피크로 컬럼으로부터 용리된다. 넓은 피크는 정량화할 수 없다.

[0072] 트레이스 2는 물 중 유리 [^{18}F]플루오라이드 샘플에 대해 HPLC를 수행하여 생성된 크로마토그램을 도시한다. 이동상은 pH 6.0의 완충염 암모늄 아세테이트 (NH_4 아세테이트)를 포함한다. 유리 [^{18}F]플루오라이드는 쉽게 용리되며 크로마토그램에서 정량화가능한 피크를 제공한다. 그러나, 이 이동상은 방사성-약국 또는 PET 센터에서 취급하기가 더 어렵다. 완충 이동상을 사용하면 환자에게 투여하기 위해 약물 제품을 개봉하기 전에 분석을 수행하는 방사성 약국에 추가적인 부담이 가해진다. 완충염 및 pH 변형을 사용하여 이동상을 제조하는 것은 보다 노동 집약적이며, 완충 이동상을 사용한 후에는 기기 내에서 완충염이 침전되는 것을 방지하기 위해 기기를 엄격하게 세척해야 한다.

[0073] 트레이스 3은 C18 컬럼을 사용하여 현재 표준 방법에 따라 [^{18}F]플루오라이드로 표지된 방사성제약 약물 제품 샘플에 대해 HPLC를 수행함으로써 생성된 크로마토그램을 도시한다. 약물 제품은 [^{18}F]플루르피리다즈 (GE 헬스케어(Healthcare), 미국), 아스코르브산, 에탄올 및 시클로덱스트린 (HP-b-시클로덱스트린, 시클로덱스트린 HPB EMPROVE, 머크(Merck) P/N 1.42020)을 포함한다. 이동상은 pH 6.0의 완충염 암모늄 아세테이트 (NH_4 아세테이트)를 포함한다. 유리 [^{18}F]플루오라이드는 약 0.5 분에 용리된다. 방사성제약은 약 13 분에 크고 예리한 피크로 용리되며, 방사성 불순물은 12.5 내지 17.5 분 (작은 피크)에 용리된다. 크로마토그램에서는 예리한 피크를 나타내지만, 이동상이 암모늄 아세테이트를 포함하기 때문에, 이 방법은 20 분의 실행 시간을 요구한다. 이 방법이 10 분 더 많이 소요되는 이유는 이 방법이 다차원 분석이기 때문이다. 방사성 불순물 (모두 [^{18}F]플루오라이드로 표지됨) 및 또한 방사성 표지가 되지 않은 화학적 불순물도 있다. 예를 들어 다량의 아스코르브산 및 시클로덱스트린을 포함하는 제품 매트릭스는, HPLC 분석 (UV-광 흡광도를 사용한 검출)에서 큰 반응을 보인다.

산성 이동상은 이러한 매트릭스 성분이 컬럼에서 신속하게 용리될 수 있도록 한다. 그러나, 암모늄 아세테이트가 제공하는 중성 pH에서는, 매트릭스 성분이 컬럼에서 용리되어 크로마토그램에 큰 피크를 생성하는 데 약 10 분이 소요된다.

[0074] 트레이스 4는 본 발명에 따라 [^{18}F]플루오라이드로 표지된 약물 제품 샘플에 대해 HPLC를 수행함으로써 생성된 크로마토그램을 도시한다. 약물 제품은 [^{18}F]플루르피리다즈 (GE 헬스케어, 미국), 아스코르브산, 에탄올 및 시클로덱스트린을 포함한다. 샘플은 트레이스 4에서 분석한 바와 같이 [^{18}F]플루오라이드로 표지된 동일한 약물 제품이다. 약물 제품 샘플은 초기에 C18 컬럼에 주입되고 자체적으로 일시적 이동상 A를 제공한다. 샘플 플러그의 pH는 5.0 내지 7.0이며 약물 제품의 pH에 따라 결정된다. 이는 유리 [^{18}F]플루오라이드가 약 1.0 내지 1.4 분에 예리하고 정량화가능한 피크로 신속하게 용리될 수 있도록 한다. 약물 제품 샘플 주입에 이어서, TFA는 이동상 B의 성분으로서 컬럼에 분배된다. 이에 따라 pH는 대략 pH 2.0으로 낮아진다. 방사성제약은 약 5 내지 6.3 분에 강하고 예리한 피크로 용리되며, 방사성 불순물은 5.0 내지 7.5 분 (작은 피크)에 용리된다. 총 실행 시간은 약 10 분이다.

[0075] 도 2는 도 1의 트레이스 3 및 트레이스 4를 비교한다. HPLC 분석은 [^{18}F]플루오라이드로 표지된 동일한 방사성제약 약물 제품 샘플에 대해 수행된다. 트레이스 4에서는 약물 제품 샘플이 컬럼에 주입되고 그 자체가 이동상 A에서 일시적인 pH 제어를 제공한다. 유리 [^{18}F]플루오라이드는 약 1.0 내지 1.4 분에 예리한 정량화가능한 피크 (피크 1)로서 신속하게 용리된다. 약물 제품 샘플 주입 후, TFA는 이동상 B의 성분으로 컬럼에 분배된다. 이에 따라 pH 수준은 2.0으로 낮아진다. 방사성제약은 약 4.5 내지 5 분 (피크 3)에 예리한 피크로 용리되며, 추가 방사성 불순물은 4.0 내지 6.5 분 (피크 2 및 4)에 용리된다. 총 실행 시간은 약 10 분이다. 대조적으로, 트레이스 3에서는 이동상에서 pH 6.0을 제공하는 암모늄 아세테이트와 함께 동일한 약물 제품 샘플이 컬럼에 주입된다. 유리 [^{18}F]플루오라이드는 예리하고 정량화가능한 피크 (피크 1)로 신속하게 용리되는 반면, 방사성제약 (피크 3) 및 화학적 불순물 (피크 2 및 4)은 긴 머무름 시간을 갖고 12.5 내지 14.5 분에 컬럼에서 흘러나온다. 이 도면을 상세히 살펴보면 TFA에서 주 피크의 꼬리에 추가 방사성 불순물이 보이는 것을 알 수 있다. 달리 말하면, TFA를 사용할 수 있으면 방사성 불순물을 보다 잘 분리하고 방사성제약을 보다 정확하게 분석할 수 있다. 최적의 이동상을 선택할 수 있는 유연성을 갖는 것은 큰 이점이다.

[0076] 도 3은 도 1의 트레이스 3 및 트레이스 4의 방사성 불순물 분리를 비교한다. 크로마토그램 위에 파선으로 도시된 것은 이동상의 구배 프로파일이다. 저장소 A는 암모늄 아세테이트 및 물을 함유하며 초기 이동상을 제공한다. 저장소 B는 100% MeCN을 함유한다. 저장소로부터의 기여는 컬럼의 이동상의 구배를 달성하도록 조정된다. 암모늄 아세테이트 분석의 경우 파선은 분석 동안 이동상의 유기 용매 함량 변화를 나타내며, 양은 6.0 내지 14.5 분의 시간에 걸쳐 선형적으로 증가한다. 그 후, 모든 화합물이 컬럼으로부터 용리가 보장되도록 추가 1.5 분 동안 유기 용매의 수준을 일정하게 유지한다. 17.5 분에 유기 용매는 다음 분석 시작에 적합한 수준으로 돌아간다.

[0077] 도 4는 도 1의 트레이스 3 및 트레이스 4의 화학적 불순물 분리를 비교한다. 크로마토그램 위에 점선으로 도시된 것은 이동상의 구배 프로파일이다. 트레이스 4 (TFA를 포함하는 이동상 B)에서는 매트릭스 성분이 크로마토그램에서 큰 피크를 생상하고 2 분 이내에 용리되는 것을 볼 수 있다. 트레이스 3 (암모늄 아세테이트)에서, 매트릭스 성분 (본원에서: 아스코르브산 및 시클로덱스트린)은 크고 넓은 피크를 생성하며 용리에는 약 10 분이 소요된다. 이는 암모늄 아세테이트 완충 이동상의 pH가 중성이기 때문이다. 매트릭스 성분이 컬럼에서 완전히 용리될 때까지 임의의 다른 화합물을 분석하는 것은 불가능하다. 따라서, 화학적 불순물 피크는 약 12 내지 16 분까지 용리되지 않는다. 또한 이동상 B에서 TFA를 사용한 트레이스 (트레이스 4)에서는, 트레이스 3에서 볼 수 없는 피크 (1번)가 분리되었음을 알 수 있다. 추가로, 이동상 B에서 TFA를 사용한 트레이스에서는, 피크 2 및 3은 2개의 별도의 피크로 분리된다. 트레이스 3에서는, 피크 2 및 3이 분리되지 않는다. 이 비교는 이동상에서 산 개질제, 예를 들어 TFA의 역할을 매트릭스 물질의 용리 제어 측면 (용리하는 데 10 분 이상이 소요되고 후속 용리 프로파일에 영향을 미칠 넓은 피크 용리와 비교하여 2 분 이내에 보다 예리한 피크 용리 생성)뿐만 아니라 샘플 중 다른 성분의 분리도 개선시키는 측면 둘 다에서 강조한다.

[0078] 도 5는 분석의 다차원적 특성을 예시한다. 도 5는 [^{18}F] 표지된 방사성제약 조성물의 샘플에서 화학적 불순물 및 방사화학적 불순물의 분리를 나타내는 2개의 크로마토그램 트레이스를 도시한다 (도 1의 트레이스 4에 해

당). 유리 [^{18}F]플루오라이드가 용리되어 유리 [^{18}F]플루오라이드의 양을 정량화가능한 잘 분리된 피크가 생성되고, 방사성제약 약물 제품 샘플의 매트릭스 성분이 제어된 방식으로 용리된다. 크로마토그램 위에 도시된 것은 이동상 B의 구배 프로파일이다 (파선). 구배는 바이너리 펌프 HPLC 시스템에서 달성된다 - 즉, HPLC 시스템은 저장소 A 및 저장소 B라고 지칭되는 2개의 용매 저장소를 갖는다. 이동상의 구배 프로파일은 하기 표 1에 기재되어 있다. 저장소 A는 물 중 30% 아세토니트릴이다. 저장소 B는 95% v/v 아세토니트릴, 물 (5% v/v) 및 0.1% v/v TFA이다.

[0079]

1. 시간 (분)	저장소 A로부터의 이동상 % v/v	저장소 B로부터의 이동상 % v/v	온-칼럼 % v/v %MeCN	온-칼럼 % v/v %TFA
2. 0.0	100	0	30	0.000
3. 0.5	75	25	46	0.025
4. 4.0	65	35	53	0.035
5. 6.5	25	75	79	0.075
6. 7.0	100	0	30	0.000
7. 10.0	100	0	30	0.000

[0080] 표 1

[0081] 구배는 분석 과정에 걸쳐 TFA 농도가 0.00 내지 0.075% v/v 범위에 있음을 의미한다 (도 5에서 점선으로 표시된 구배 프로파일 사용). 그러나 농도가 구배의 제1 부분에서 0.00에서 0.025%로 증가하더라도 pH 제어를 적용하기에 충분한 산이 존재한다 (매트릭스 성분으로 인해 피크가 집중되는 것으로 나타남).

[0082] 상기 기재된 용매 구배는 바이너리 펌프 HPLC 시스템에서 수행된다. 그러나, 본 발명은 또한 저장소 A, B, C 및 D로부터 이동상의 3개 또는 4개의 개별 성분을 활용하는 3차 (3개 저장소) 또는 4차 (4개 저장소) 펌프 시스템에서 수행될 수도 있다.

[0083] 표 2는 예를 들어 4차 펌프 시스템에서 3개의 용리액 채널 (즉, 저장소 A, B 및 C)을 사용하여 수행되는 이동상 구배 프로토콜을 기재한다. 저장소 A는 100% 물이고, 저장소 B는 100% 아세토니트릴이며, 저장소 C는 물 중 0.15% v/v TFA이다 (요구되는 경우 TFA의 양은 달라질 수 있음).

[0084]

시간 (분)	저장소 A로부터의 기여 % v/v	저장소 B로부터의 기여 % v/v	저장소 C로부터의 기여 % v/v	온-칼럼 % v/v %MeCN	온-칼럼 % v/v %TFA
0.0	70	30	0	30	0.00
0.5	34	46	20	46	0.03
4.0	27	53	20	53	0.03
6.5	2	78	20	78	0.03
7.0	70	30	0	30	0.00
10.0	70	30	0	30	0.00

[0085] 표 2

[0086] 본 발명의 방법이 이용가능한 3개의 용리액 채널을 갖는 HPLC 시스템에서 수행되는 경우, 이동상의 제조가 크게 단순화된다. 기재된 예에서 TFA의 농도는 방사성제약과 관련된 화합물이 용리되는 크로마토그램 영역 전체에 걸쳐 일정하게 유지된다. 필요한 경우 이동상 C를 제조할 때 TFA를 더 첨가함으로써 컬럼의 TFA 농도를 증가시킬 수 있다.

[0087] 도 6에서 TFA 및 MeCN의 구배 프로파일은 표 2에 기재된 구배에서 예상되는 크로마토그램에 파선으로 겹쳐져 있다.

[0088] 본 발명의 방법은 단순한 용매 시스템을 사용하여 유리 [^{18}F]플루오라이드 및 방사성 및 화학적 불순물의 HPLC 분석을 허용한다. 본 발명자들은 약물 제품 샘플 자체를 사용하여 이동상 A 내 플루오라이드 근처에서 일시적인 pH 제어를 제공함으로써, 유리 [^{18}F]플루오라이드을 정량화하는 것을 달성하고 이동상 B의 성분으로서 산 개질제를 사용하는 능력으로 인해 방사성제약 및 화학적 불순물에 대해 잘 분리된 피크를 달성하는 것이 가능함을

밝혀내었다. 본 발명의 방법에 따른 HPLC 분석의 실행 시간은 현재 방법에 비해 절반 미만이며 이는 중요한 이점이다.

[0089] 본 발명은 하기의 비제한적인 실시예를 참조하여 기재된다.

[0090] 실시예

[0091] 본 발명의 방법을 사용한 유리 [^{18}F]플루오라이드의 정량화 및 [^{18}F]플루오라이드 회수의 정확성

[0092] 표 4의 데이터는 [^{18}F]플루르피리다즈를 포함하는 동일한 방사성제약 조성물에서 현재 방법 (암모늄 아세테이트) 및 본 발명의 방법 (TFA)을 사용하여, 조성물 자체를 사용하여 이동상 A에서 초기 일시적 pH 제어를 제공하고, 이어서 이동상 B에서 산 개질제로서 TFA를 제공하여 유리 [^{18}F]플루오라이드에 대한 HPLC 분석을 비교한 것이다. 결정의 정확성을 입증하기 위해 공지된 양의 유리 [^{18}F]플루오라이드를 샘플에 첨가하였다.

[0093] 활성도 측정 시 존재하는 유리 [^{18}F]플루오라이드 수준 (백그라운드 보정): 0.7%

[0094]

피크 #	피크 명칭	영역 %	
		암모늄 아세테이트 1)	트리플루오로 아세트산 2)
1.	[^{18}F]플루오라이드	0.7	0.7
2.	방사성-불순물 #1	0.8	0.8
3.	[^{18}F]플루르피리다즈	97.4	97.4
4.	방사성-불순물 #2	1.2	1.1

[0095] 표 4

[0096] 방사성 크로마토그램은 보고 임계값 0.3%를 적용하여 QC 절차에 따라 분석된다 (즉, 0.3% 미만 수준으로 존재하는 불순물은 보고되지 않는다).

[0097] 1) 조르박스 C18 (50 x 4.6 mm) 1.8 μm 컬럼에서 분석이 수행되었다. 이동상은 중성 pH, 암모늄 아세테이트 (pH 6)에 가깝다.

[0098] 2) 키네텍스 C18 (50 x 4.6 mm) 2.6 μm 컬럼에서 분석이 수행되었다. 이동상은 초기에 수성 MeCN (pH 개질제 없음)이며 구배 동안 0.1% TFA로 전환된다.

[0099] 두 방법 모두 유리 [^{18}F]플루오라이드 피크 (피크 1)에 대해 0.7%의 상대 면적을 제공한다.

[0100] 하기 실시예 및 표 5는 HPLC 시스템과 4차 펌프 시스템을 기반으로 중성 완충제를 통합하는 방법에 관한 것이다. 표 5는 예를 들어 4차 펌프 시스템에서 4개의 용리액 채널 (즉 저장소 A, B, C 및 D)을 사용하여 수행되는 이동상 구배 프로토콜을 기재한다. 저장소 A는 물 중 30% 아세토니트릴이고, 저장소 B는 95% 아세토니트릴 중 0.10% v/v TFA이고 (요구되는 경우 TFA의 양은 달라질 수 있음), 저장소 C는 물 중 10 mM 암모늄 아세테이트이고 (암모늄 아세테이트의 양은 요구되는 경우 변경하거나 대체 중성 완충제를 선택할 수 있음) 저장소 D는 100% 아세토니트릴이다.

[0101] 저장소 A: 30% MeCN

[0102] 저장소 B: 95% MeCN 중 0.10% TFA

[0103] 저장소 C: 물 중 10 mM 암모늄 아세테이트 (NH_4Ac)

[0104] 저장소 D: 100% MeCN

시간 (분)	저장소 A로부터의 기여 % v/v	저장소 B로부터의 기여 % v/v	저장소 C로부터의 기여 % v/v	저장소 D로부터의 기여 % v/v
0.0	0	0	70	30
0.5	75	25	0	0
4.0	65	35	0	0
6.5	25	75	0	0
7.0	0	0	70	30
10.0	0	0	70	30

[0105]

시간 (분)	온-칼럼 농도		
	%MeCN	%TFA	mM NH_4Ac
0.0	30	0.000	7.0
0.5	46	0.025	0.0
4.0	53	0.035	0.0
6.5	79	0.075	0.0
7.0	30	0.000	7.0
10.0	30	0.000	7.0

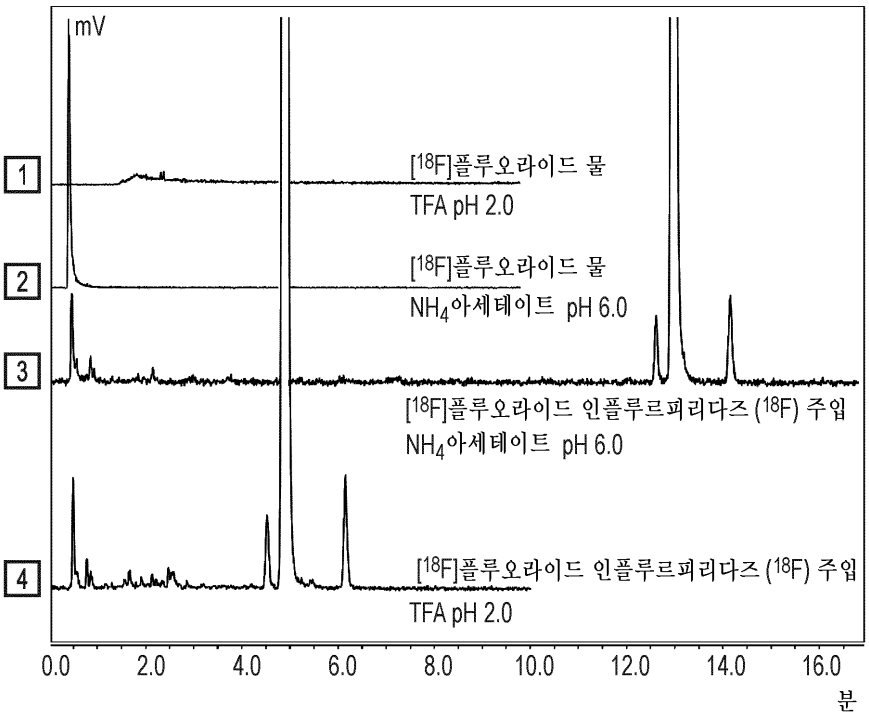
[0106]

[0107] 표 5

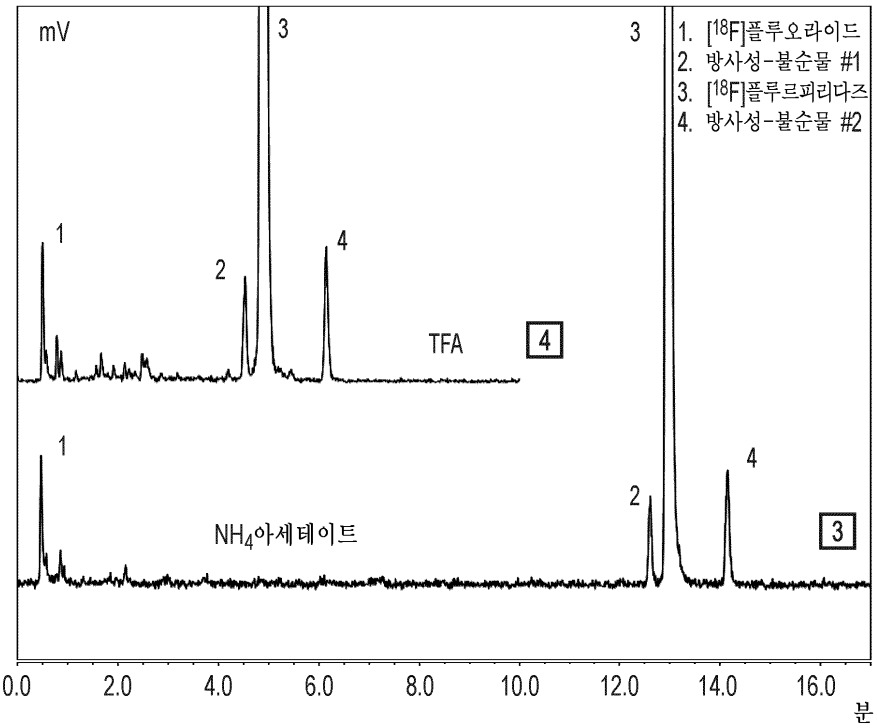
[0108] 본원에 기재된 본 발명의 실시양태가 광범위한 다목적성 및 응용이 가능하다는 것은 관련 기술분야의 통상의 기술자라면 쉽게 이해할 수 있을 것이다. 따라서, 본 발명은 예시적인 실시양태와 관련하여 본원에서 상세하게 기재되지만, 본 개시내용은 실시양태의 실증적이고 예시적이며 예시적인 실시양태의 가능한 개시내용을 제공하도록 만들어진 것으로 이해되어야 한다. 본 개시내용은 본 발명의 실시양태를 제한하도록 해석되거나 그렇지 않으면 다른 임의의 그러한 실시양태, 적응, 변형, 수정 및 동등한 배열을 배제하도록 의도되지 않는다. 본 발명의 범위는 첨부된 청구범위에 의해 정의된다.

도면

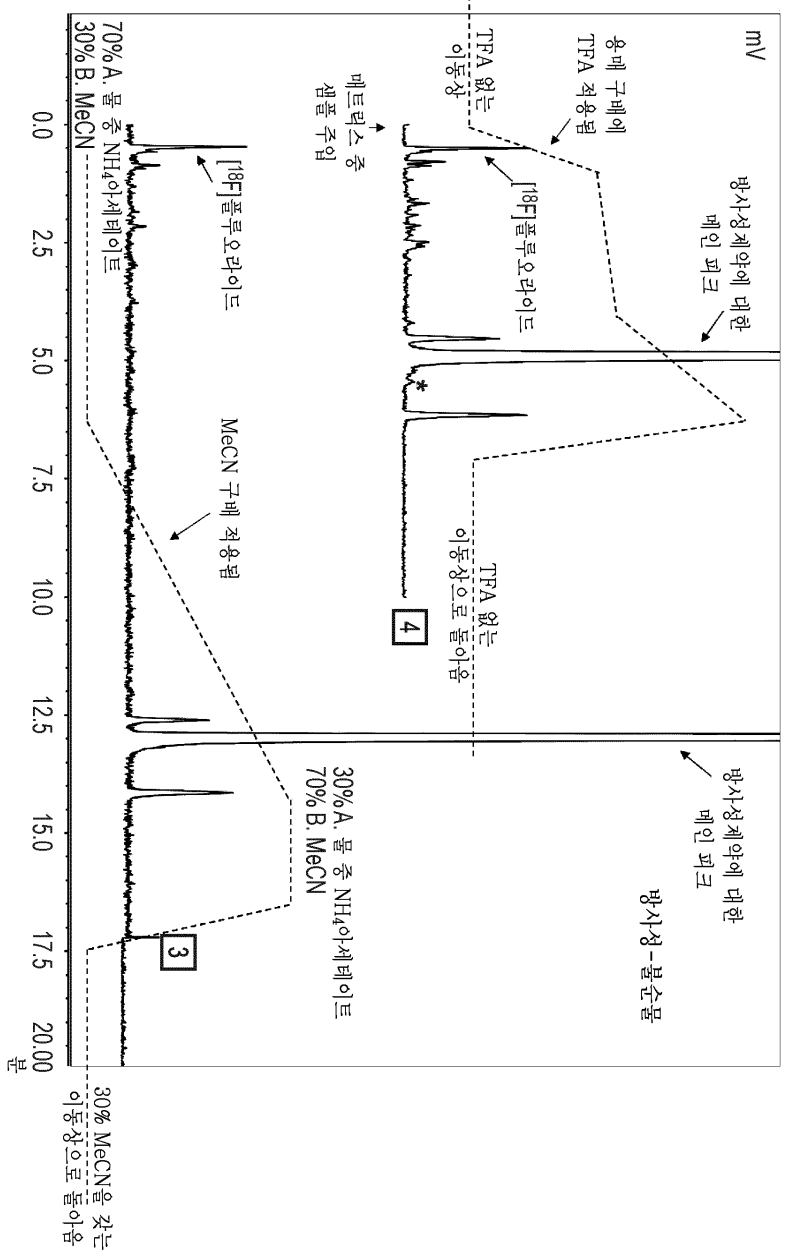
도면1



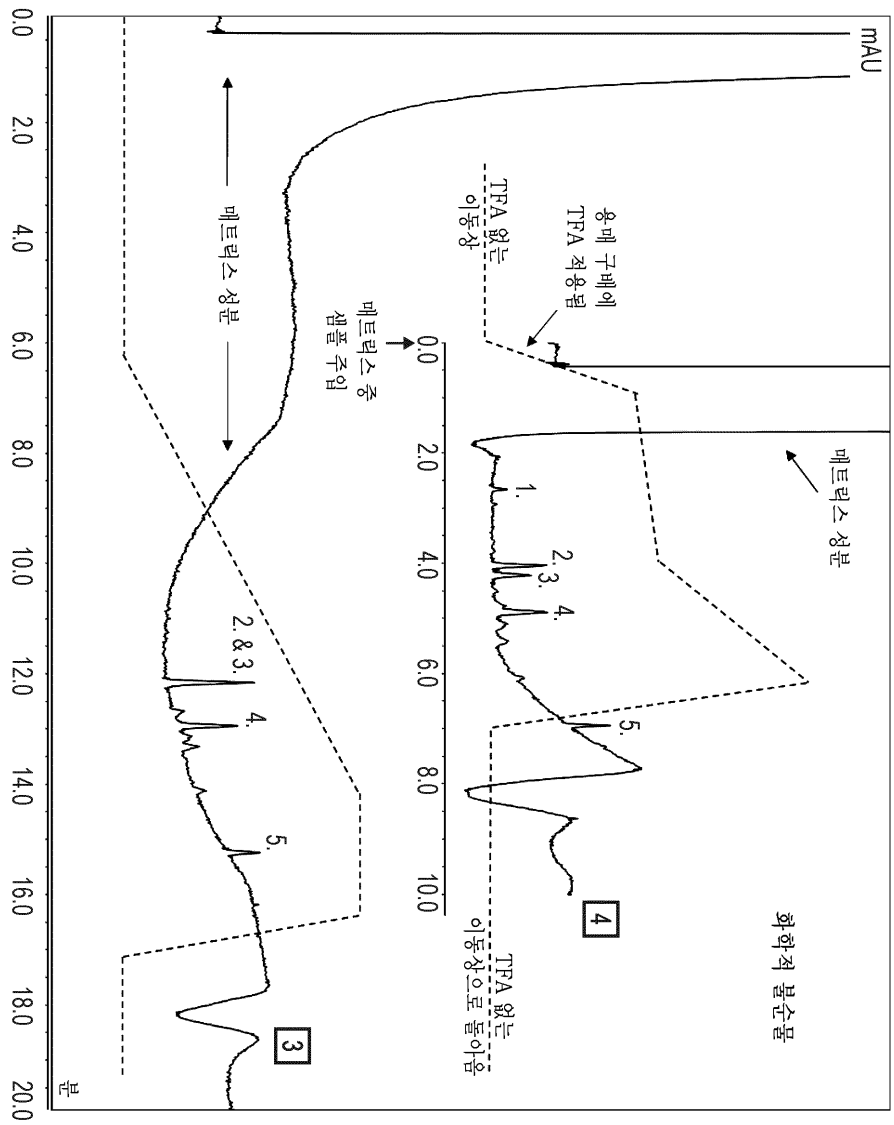
도면2


mV
3
3
1. [18F]플루오라이드
2. 방사성-불순물 #1
3. [18F]플루르피리다즈
4. 방사성-불순물 #2
1
2
4
TFA
4
1
2
4
NH4아세테이트
3
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
분

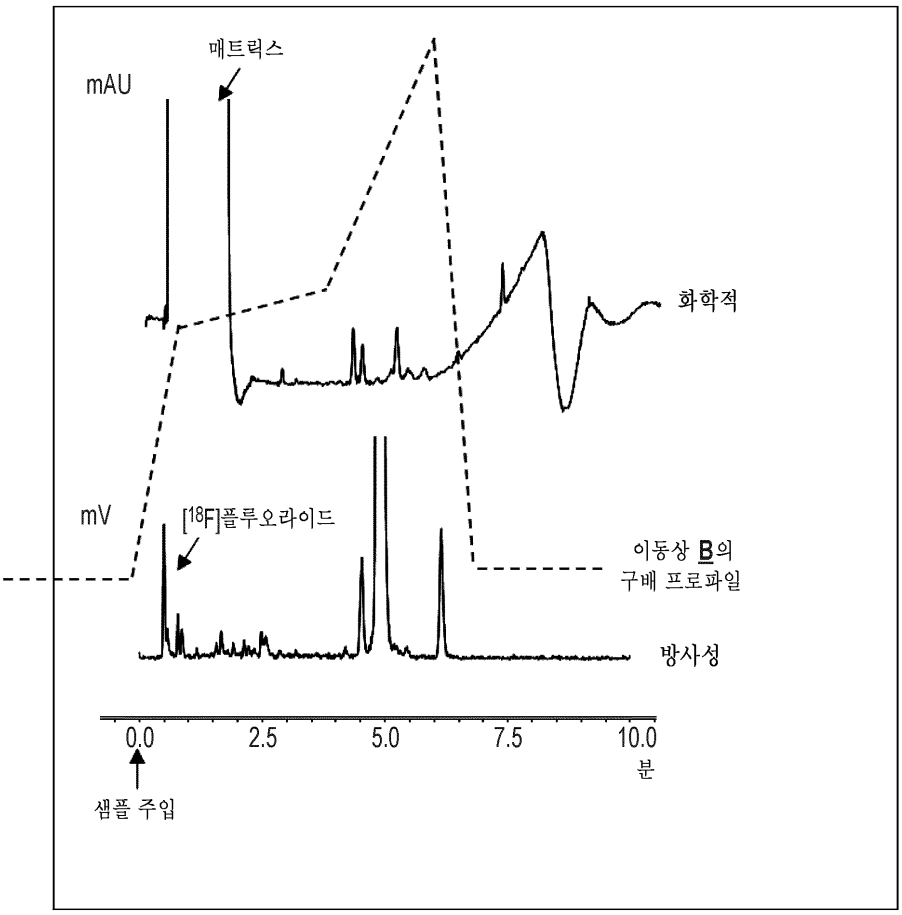
도면3


mV
방사성제약에 대한
메인 피크
용매 구배에
TFA 적용됨
TFA 없는
이동상
[18F]플루오라이드
메트릭스 중
샘플 주입
TFA 없는
이동상으로 돌아옴
4
방사성제약에 대한
메인 피크
방사성-불순물
30% A. 물 중 NH4아세테이트
70% B. MeCN
MeCN 구배 적용됨
[18F]플루오라이드
3
70% A. 물 중 NH4아세테이트
30% B. MeCN
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
12.5
15.0
17.5
20.00
분
30% MeCN을 갖는
이동상으로 돌아옴

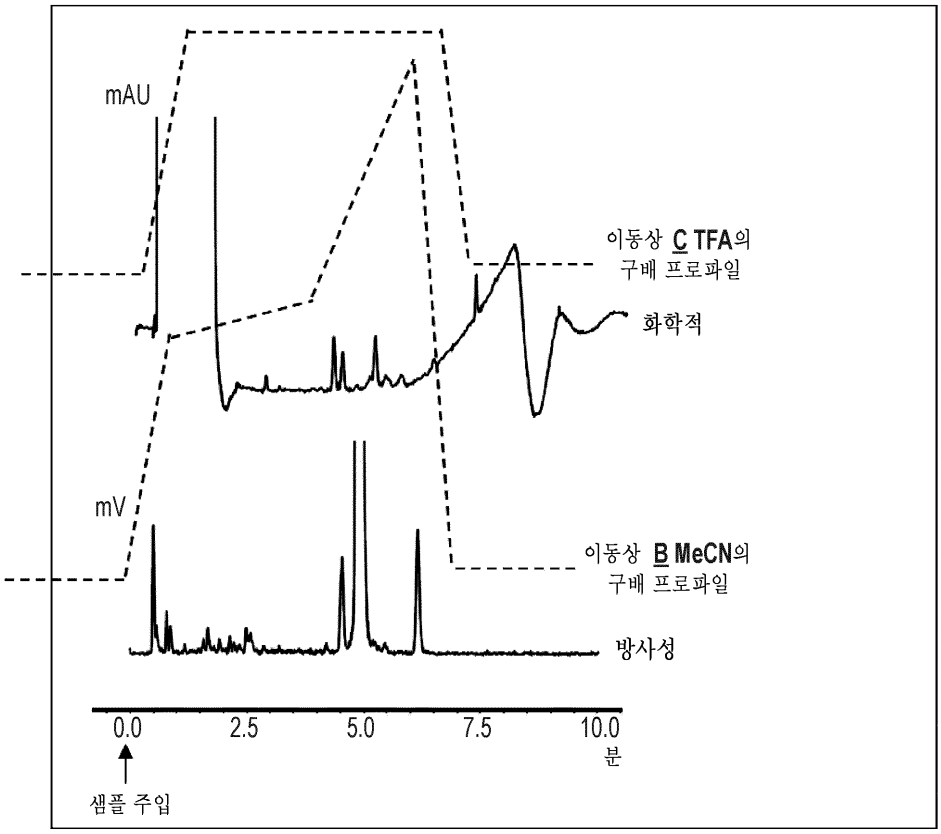
도면4


mAU
메트릭스 성분
화학적 불순물
용매 구배에
TFA 적용됨
TFA 없는
이동상
메트릭스 성분
메트릭스 중
샘플 주입
TFA 없는
이동상으로 돌아옴
1.
2.
3.
4.
5.
4
2. & 3.
4.
5.
3
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
14.0
16.0
18.0
20.0
분

도면5


매트릭스
mAU
화학적
mV
[18F]플루오라이드
이동상 B의
구배 프로파일
방사성
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
분
샘플 주입

도면6


mAU
이동상 C TFA의
구배 프로파일
화학적
mV
이동상 B MeCN의
구배 프로파일
방사성
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
분
샘플 주입