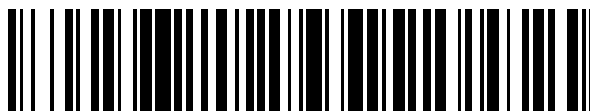


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 950**

51 Int. Cl.:

**C07B 59/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2011 PCT/EP2011/073670**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.07.2012 WO12089594**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2011 E 11808853 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.02.2017 EP 2658831**

54 Título: **Disolución de eluyente**

30 Prioridad:

**29.12.2010 US 201061427839 P**

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

**05.07.2017**

73 Titular/es:

**GE HEALTHCARE LIMITED (100.0%)  
Amersham Place  
Little Chalfont, Buckinghamshire HP7 9NA, GB**

72 Inventor/es:

**WICKSTROM, TORILD;  
SVADBERG, ANDERS;  
HJELSTUEN, OLE KRISTIAN;  
EVJE, DAG, M. y  
OCHSENFELD, LIANE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 621 950 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

Disolución de eluyente

**Campo técnico de la invención**

5 La presente invención se refiere al campo de compuestos radiofarmacéuticos, y en particular a la preparación de compuestos apropiados para uso en tomografía por emisión de positrones (PET). Se proporciona un método útil en la síntesis de compuestos marcados con  $^{18}\text{F}$ . También se proporciona por la presente invención una reacción de radiofluoración que comprende el método de la invención y en forma de un casete para llevar a cabo convenientemente el método y la reacción de radiofluoración de la invención.

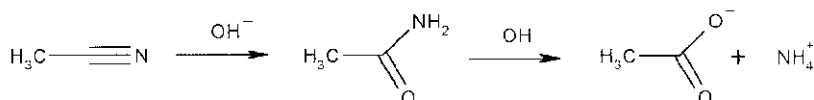
**Descripción de la técnica relacionada**

10 La sustitución nucleófila con  $^{18}\text{F}$  fluoruro ( $^{18}\text{F}^-$ ) es actualmente la ruta más importante para obtener sondas marcadas con  $^{18}\text{F}$  para generación de imágenes de PET (Schubiger et al., Eds. "PET Chemistry: The Driving Force or Molecular Imaging" (En: Ernst Schering Res Found Workshop; 2007: 62); 2007 Springer GmbH).

El  $^{18}\text{F}^-$  se produce normalmente en forma de una disolución acuosa a partir de la reacción nuclear  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  por irradiación con protones de  $^{18}\text{O}$  agua (Ruth and Wolf, Radiochim. Acta 1979; 26:21). Es bien conocido que el  $^{18}\text{F}^-$  en forma acuosa no es muy reactivo y son necesarias varias manipulaciones para proporcionar un reactivo nucleófilo reactivo. Una etapa importante es la adición de un contraión catiónico (por ejemplo, el complejo catiónico de Kryptofix y potasio o TBA<sup>+</sup>). Típicamente, la disolución acuosa de  $^{18}\text{F}^-$  se adsorbe primero sobre una resina de intercambio aniónico (Schlyer et al., Appl Rad Isotop 1990; 41: 531), seguido de elución con una disolución acuosa de acetonitrilo que contiene una sal de carbonato tal como  $\text{K}_2\text{CO}_3$  o  $\text{KHCO}_3$  acompañada por un criptando tal como Kryptofix<sup>TM</sup> ( $\text{K}_{222}$ ) o tetrabutilamonio (Hamacher et al., J. Nucl Med 1986; 27: 235; Brodack et al. App Rad Isotop 1988; 39: 699). Alternativamente, el  $^{18}\text{F}^-$  se puede eluir de la columna de intercambio aniónico con la sal de carbonato y adición de esto a una disolución de criptando en acetonitrilo como se describe por McConathy et al. (Appl Rad Isotop 2003; 58: 657-666). El acetonitrilo es el disolvente de elección para la disolución de eluyente principalmente debido a la excelente solubilidad de  $\text{K}[^{18}\text{F}]/\text{Kryptofix}$  o tetrabutilamonio  $^{18}\text{F}^-$  en ella. Además, dado que la etapa siguiente en la preparación de  $^{18}\text{F}^-$  reactivo generalmente implica el uso de acetonitrilo para proporcionar un azeótropo de menor punto de ebullición para la retirada de agua hace que sea razonable usar acetonitrilo como disolvente en la etapa de adición del contraión catiónico. Otros disolventes descritos en la técnica como apropiados para disoluciones de eluyente incluyen tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, acetona, 2-butanona, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, 1,2-dimetoxietano, sulfolano y N-metilpirrolidona (EP2230229 A1, WO 2009/083530 A2). El uso de estos métodos estándar en la preparación de  $^{18}\text{F}^-$  para la síntesis de varias sondas de PET se describe en la técnica. En particular el uso de acetonitrilo en la etapa de añadir un contraión catiónico es una característica consistente, como se describe por ejemplo por Yu (Biomedic Imaging Interven J 2006; 2(4): 1-11) en la síntesis de: 2-desoxi-2- $^{18}\text{F}$  fluoroglucosa ( $^{18}\text{F}$ -FDG, por Oh et al. (Nuc Med Biol 2005; 32(8): 899-905) en la síntesis de 1-H-1-(3- $^{18}\text{F}$  fluoro-2-hidroxiopropil)-2-nitroimidazol ( $^{18}\text{F}$  FMISO), por OH et al. (Nuc Med Biol 2004; 31:803-809) en la síntesis de 3-desoxi-3- $^{18}\text{F}$  fluorotimidina ( $^{18}\text{F}$ -FLT), por McConathy et al. (Appl Rad Isotop 2003; 58: 657-666) en la síntesis de ácido 1-amino-3- $^{18}\text{F}$  fluorociclobutano-1-carboxílico ( $^{18}\text{F}$  FACBC), por Kryza et al. (Nuc Med Biol 2008; 35: 255-260) en la síntesis de  $^{18}\text{F}$  fluorocolina, por Ackerman et al. (2011 J Label Comp Radiopharm; 54: 788-794) en la síntesis de 2-[(4- $^{18}\text{F}$  fluorobenzoiloxi)metil]-1,4-naftalenodiona, y por Sun et al. (Nuc Med Biol 2006; 33: 153-158) en la síntesis de  $^{18}\text{F}$  fluoroacetato de sodio.

40 Tradicionalmente, la disolución de eluyente está recién preparada el día de la síntesis, pero los fabricantes modernos de sonda de tomografía por emisión de positrones (PET) pueden preparar por conveniencia disoluciones patrón o viales prellenados para almacenamiento. El uso de viales prellenados permite procedimientos de síntesis mejor definidos, fiables y reproducibles (Hjelstuen et al., Eur J Pharm Biopharm 2011; 78: 307). Además, los viales prellenados se pueden preparar con una baja carga biológica y una vida útil documentada, que sirve como mejor punto de partida para fabricación de calidad de buena práctica de fabricación (GMP) comparado con las disoluciones mezcladas manualmente.

Es sabido que el acetonitrilo se hidrolizará a pH alcalino, formando acetamida y acetato de amonio en un mecanismo de dos etapas (Chin, Acc Chem Res 1991; 24: 145) como se ilustra en la Fig. 1:



50 Las constantes de velocidad para la reacción anterior son relativamente bajas. El acetato se considera normalmente un nucleófilo débil y no debería presentar ningún problema en los procedimientos de marcado con  $^{18}\text{F}$ . Además, la acetamida es un conocido disolvente de marcado de  $^{18}\text{F}$  fluoruro y no se cree que impacte negativamente en las reacciones de marcado de  $^{18}\text{F}$  (Knust et al., J Radioanal Chem 1982; 74: 283; Knust et al., Appl Radiat Isot 1986; 37: 853).

Los presentes inventores, sin embargo, han observado ahora que las disoluciones de eluyente que comprenden acetonitrilo usadas en la síntesis de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC y [ $^{18}\text{F}$ ]FDG generaban niveles de mg/ml de acetamida y acetato de amonio durante el almacenamiento a temperatura ambiente o por encima de ella, que conducen a problemas previamente no reconocidos en las reacciones de síntesis. Se encontró que la síntesis de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC estaba afectada por la degradación del eluyente, con una reducción del RCY de 62,5% a 44,7% cuando la disolución eluyente estaba almacenada durante 12 meses a 30°C. La síntesis de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG estaba afectada cuando el eluyente se almacenó a 50°C, reduciendo el RCY de 86,8% a 66,7% después de 3 meses de almacenamiento.

A la vista de estos problemas recientemente reconocidos, existe una necesidad de desarrollar nuevas estrategias para la síntesis de sondas de PET marcadas con  $^{18}\text{F}$ .

## 10 Sumario de la invención

La presente invención proporciona un nuevo método para la preparación de  $^{18}\text{F}$ -fluoruro ( $^{18}\text{F}$ ) para uso en reacciones de radiofluoración que tiene ventajas sobre los métodos conocidos. El método de la invención es particularmente ventajoso cuando se preparan y almacenan disoluciones patrón en viales prellenados en lugar de ser recién preparadas el día de la síntesis. También se proporciona por la presente invención una reacción de radiofluoración que comprende el método de la invención, así como un casete para uso para llevar a cabo el método de la invención y/o el método de radiofluoración de la invención en un aparato de radiosíntesis automatizada.

### Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un gráfico que muestra acetamida generada en viales de eluyente [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC y [ $^{18}\text{F}$ ]FDG durante el almacenamiento a 5°C, 25°C y 40°C (n = 2-3).

20 La Figura 2 es un gráfico que muestra el acetato generado en viales de eluyente [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC y [ $^{18}\text{F}$ ]FDG durante el almacenamiento a 5°C, 25°C y 40°C (n = 2-3).

La Figura 3 muestra el RCY de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC después del eluyente almacenado a 30°C (●), 40°C (◆) y el RCY de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG después del eluyente almacenado con el eluyente a 25°C (■), 40°C (▲).

25 La Figura 4 ilustra el RCY de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC después del eluyente con metanol (MeOH) almacenado a 30°C (▲), 50°C (●) y el RCY de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG después de eluyente con acetonitrilo (MeCN) almacenado con el eluyente a 30°C (◆), 40°C (■).

### Descripción detallada de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona un método para la preparación de  $^{18}\text{F}^-$  para su uso en una reacción de radiofluoración en el que dicho método comprende:

30 (i) atrapar una disolución acuosa de  $^{18}\text{F}^-$  en una columna de intercambio iónico; y,

(ii) hacer pasar una disolución de eluyente a través de dicha columna de intercambio iónico en la que se adsorbe dicho  $^{18}\text{F}^-$  para obtener un eluyente de  $^{18}\text{F}^-$ , en el que dicha disolución de eluyente comprende un contraión catiónico en un disolvente apropiado en el que dicho disolvente apropiado comprende etanol o metanol, con la condición de que dicha disolución de eluyente no comprenda acetonitrilo.

35 El término "radiofluoración" en el contexto de la presente invención se refiere a una reacción radioquímica para la producción de un compuesto marcado con  $^{18}\text{F}$  en el que  $^{18}\text{F}^-$  se hace reaccionar con un compuesto precursor que comprende un sustituyente apropiado para la sustitución nucleófila con  $^{18}\text{F}^-$ .

40 El término "atrapar" una disolución acuosa de  $^{18}\text{F}^-$  en una columna de intercambio iónico se refiere al proceso mediante el cual se retiene  $^{18}\text{F}^-$  en la columna de intercambio iónico. Un "cartucho de intercambio iónico" apropiado en el contexto de la presente invención es un cartucho de extracción en fase sólida (SPE) que retiene  $^{18}\text{F}^-$  y permite que pase a través  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  cuando se hace pasar a través una disolución acuosa de la reacción nuclear  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$ . Preferentemente, dicho cartucho de intercambio iónico es un cartucho de intercambio aniónico, lo más preferentemente un cartucho de metilamonio cuaternario (QMA).

45 El término "eluyente de  $^{18}\text{F}^-$ " se refiere a la disolución que comprende  $^{18}\text{F}^-$  y la disolución de eluyente obtenida cuando la disolución de eluyente se hace pasar a través de la columna de intercambio iónico.

Dicha "disolución de eluyente" está libre de acetonitrilo, y preferentemente consiste en dicho contraión catiónico en dicho disolvente apropiado.

50 Un "contraión catiónico" en el contexto de la presente invención es un contraión cargado positivamente que actúa para mejorar la reactividad de  $^{18}\text{F}^-$  cuando se combina con el mismo. Los ejemplos de contraiones catiónicos apropiados para uso en el método de la presente invención incluyen iones metálicos grandes pero blandos tales como rubidio, cesio, potasio complejado con un criptando, o sales de tetraalquilamonio. Un contraión catiónico preferido es un complejo metálico de un criptando, lo más preferentemente en el que dicho metal es potasio y en el

que dicho criptando es Kryptofix 222.

El "disolvente apropiado" para la disolución de eluyente no comprende ningún acetonitrilo. Dicho disolvente apropiado es un alcohol seleccionado de etanol o metanol, lo más preferentemente metanol. Dicho disolvente apropiado es 100% alcohol, o es alternativamente una "disolución acuosa de un alcohol". Por ejemplo, dicho disolvente apropiado puede comprender una relación de alcohol:agua en el intervalo de 60:40 a 100:0, preferentemente en el intervalo de 80:20 a 100:0 y lo más preferentemente de 90:10 a 100:0. Una cierta cantidad de agua puede ayudar a la elución consistente de  $^{18}\text{F}^-$  pero es preferible tener tan poco agua como sea posible ya que el porcentaje de agua es directamente proporcional al subsecuente tiempo de secado.

El método de la invención es lo más ventajoso cuando la disolución de eluyente se prepara por conveniencia en forma de disolución patrón y/o en viales prellenados para almacenamiento. Como se advirtió en la descripción de la técnica anterior, el uso de viales prellenados permite procedimientos de síntesis mejor definidos, fiables y reproducibles (Hjelstuen et al., Eur J Pharm Biopharm 2011; 78:307), y los viales prellenados se pueden preparar con una baja carga biológica y una vida útil documentada, que sirve como mejor punto de partida para la fabricación de calidad de buena práctica de fabricación (GMP) comparado con las disoluciones mezcladas a mano.

El método de la invención puede comprender opcionalmente la etapa adicional:

(iii) secar dicho  $^{18}\text{F}^-$  eluido de dicha columna en la etapa (ii).

El término "secar" se refiere a la evaporación del disolvente apropiado (como se describe anteriormente) para dar como resultado  $^{18}\text{F}^-$  anhidro. Esta etapa de secado se lleva a cabo apropiadamente por aplicación de calor y/o uso de un disolvente tal como acetonitrilo para proporcionar un azeótropo de más bajo punto de ebullición.

Las sondas de PET marcadas con  $^{18}\text{F}$  se preparan convenientemente por medio de un aparato de radiosíntesis automatizada. Hay varios ejemplos de tales aparatos comercialmente disponibles. Un aparato tal como FASTlab™ (GE Healthcare) comprende un casete desechable en el que se realiza la radioquímica, que se acopla al aparato para realizar la radiosíntesis.

En una realización preferida, el método de la presente invención está automatizado. Lo más preferentemente, el método de la presente invención se lleva a cabo en un casete apropiado para uso con un aparato de radiosíntesis automatizada.

El término "automatizado" se refiere a cuando un procedimiento se lleva a cabo predominantemente usando una máquina o aparato, es decir, que comprende un mínimo número de etapas manuales.

El término "casete" se refiere a una unidad desechable en la que se realiza la radioquímica. El casete está acoplado a un aparato de síntesis automatizada para realizar una radiosíntesis y normalmente incluye conducciones de fluido, un recipiente de reacción, y puertos para recibir viales de reactivo así como cualquier cartucho de extracción de fase sólida usado en etapas de limpieza después de la radiosíntesis. Hay varios ejemplos de "aparato de síntesis automática" comercialmente disponibles, que incluyen TRACERlab™ y FASTlab™ (GE Healthcare Ltd).

En otro aspecto, la presente invención proporciona una reacción de radiofluoración para obtener una sonda de tomografía por emisión de positrones (PET) marcada con  $^{18}\text{F}$  en el que dicha reacción de radiofluoración comprende la reacción de un compuesto precursor con  $^{18}\text{F}^-$ , en el que dicho compuesto precursor puede comprender uno o más grupos protectores, y en el que dicho  $^{18}\text{F}^-$  se obtiene por el método como se define aquí.

Las realizaciones apropiadas y preferidas de cualquier característica del método de la invención que son comunes a la reacción de radiofluoración de la invención también se aplican a la reacción de radiofluoración de la invención.

Una "sonda de PET marcada con  $^{18}\text{F}$ " es un compuesto marcado con  $^{18}\text{F}$  que cuando se administra a un sujeto preferentemente se une a una diana particular dentro de dicho sujeto para que se puedan generar imágenes de la diana detectando emisiones del  $^{18}\text{F}$  externas a dicho sujeto usando generación de imágenes de PET. La expresión "generación de imágenes de PET" se refiere a la técnica de generación de imágenes en medicina nuclear que produce una imagen o dibujo tridimensional de procedimientos funcionales en el cuerpo. La técnica detecta pares de rayos gamma emitidos indirectamente por radionúclido emisor de positrones tal como flúor 18, que se introduce en el cuerpo como parte de una sonda de PET. Las imágenes tridimensionales de la concentración de sonda dentro del cuerpo se construyen a continuación por análisis con ordenador.

Un "compuesto precursor" comprende un derivado no radiactivo de una sonda de PET marcada con  $^{18}\text{F}$  diseñado de modo que la reacción química con  $^{18}\text{F}^-$  ocurre específicamente en el sitio, se puede realizar en el mínimo número de etapas (idealmente una sola etapa) y sin la necesidad de purificación significativa (idealmente sin purificación adicional), para dar una sonda de PET marcada con  $^{18}\text{F}$ . Tales compuestos precursores son sintéticos y se pueden obtener convenientemente con buena pureza química.

Los "grupos protectores" apropiados son bien conocidos en la técnica y se discuten con más detalle por Theodora W. Greene and Peter G.M. Wuts en "Protective Groups in Organic Synthesis" (Fourth Edition, John Wiley & Sons,

2007).

Se apreciará por la persona experta que los métodos de la invención descritos aquí se pueden aplicar para la preparación de cualquier sonda de PET marcada con  $^{18}\text{F}$  que se puede preparar usando radiofluoración nucleófila con  $^{18}\text{F}$ . Los ejemplos no limitantes de tales sondas de PET marcadas con  $^{18}\text{F}$  incluyen aquellos descritos en la

5 Tabla 1 a continuación.

Sonda de PET marcada con $^{18}\text{F}$	Método nucleófilo conocido
2-desoxi-2- $^{18}\text{F}$ fluoro-D-glucosa ( $^{18}\text{F}$ -FDG)	Desplazamiento de triflato
$^{18}\text{F}$ fluorotimidina ( $^{18}\text{F}$ -FLT)	Desplazamiento de nosilato
$^{18}\text{F}$ fluoronitroimidazol ( $^{18}\text{F}$ -FMISO)	Desplazamiento de tosilato
6- $^{18}\text{F}$ fluoroDOPA	Substitución aromática de nitro
$^{18}\text{F}$ setoperona	Substitución aromática de nitro
$^{18}\text{F}$ altanserina	Substitución aromática de nitro
$^{18}\text{F}$ -metilespiperona	Substitución aromática de nitro
6- $^{18}\text{F}$ fluorodopamina	Substitución aromática de 6-nitroperonal
(-)-6- $^{18}\text{F}$ fluoro-norepinefrina	Substitución aromática
16 $\alpha$ - $^{18}\text{F}$ fluoroestradiol	Desplazamiento de una sulfona cíclica alifática
$^{18}\text{F}$ fleroxacina,	Desplazamiento de mesilato
$^{18}\text{F}$ fluconazol	Reacción de Schiemann aromática
ácido 1-amino-3- $^{18}\text{F}$ fluorociclobutano-1-carboxílico ( $^{18}\text{F}$ -FACBC)	Desplazamiento de triflato

Las reacciones listadas en la Tabla 1 anterior son conocimiento general común en la técnica y se describen, por ejemplo, en el capítulo 14 de "Fluorine in Medicinal Chemistry and Chemical Biology" (Wiley 2009, Ojima, Ed), capítulo 6 de "Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications" (Wiley 2003, Welch and Redvanley, Eds), capítulo 6 de "Basic Sciences of Nuclear Medicine" Springer 2011, Khalil, Ed) y en el capítulo 10 de "Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT" (Springer 2009, Vallabhajosula, Ed).

10

En una realización preferida, la sonda de PET marcada con  $^{18}\text{F}$  es uno de  $^{18}\text{F}$ FDG,  $^{18}\text{F}$ FMISO,  $^{18}\text{F}$ FLT y  $^{18}\text{F}$ FMISO, lo más preferentemente  $^{18}\text{F}$ FDG o  $^{18}\text{F}$ FACBC, y lo más especialmente preferentemente  $^{18}\text{F}$ FACBC.

15

En los experimentos publicados aquí en el almacenamiento de disoluciones de eluyente basado en acetonitrilo, se encontró que la concentración de acetato era 3 veces más alta durante el marcado de  $^{18}\text{F}$ FACBC comparado con  $^{18}\text{F}$ FDG:

Etapa del procedimiento FASTlab	Volumen (µl)	Acetamida (µg/ml)	Acetato (µg/ml)
Síntesis de [ <sup>18</sup> F]FAC1105BC			
Vial de eluyente	1.105	8.700	3.100
Reactor antes de secar	682	7.320	2.530
Reactor durante el marcado	1.000	3.495	1.795
Producto final	26.000	0,2-0,5	nm
Síntesis de [ <sup>18</sup> F]FDG			
Vial de eluyente	825	8.700	3.100
Reactor antes de secar	377	6.265	2.120
Reactor durante el marcado	1.600	844	597
Producto final	15.000	0,2-0,4	nm

5 Comparado con [<sup>18</sup>F]FDG, en la síntesis de [<sup>18</sup>F]FACBC se introduce en el recipiente de reacción más eluyente (1.105 µl vs. 825 µl) y por consiguiente más acetato. La diferencia se aumenta durante el marcado porque el volumen usado para el marcado para [<sup>18</sup>F]FACBC es menor (1,0 ml vs. 1,6 ml). Estos factores coincidentes como menor volumen de eluyente y mayor volumen de disolvente de marcado hicieron la síntesis de [<sup>18</sup>F]FDG como se describe aquí más resistente al almacenamiento de eluyente comparado con la reacción de [<sup>18</sup>F]FACBC. Bien puede ser que la síntesis de [<sup>18</sup>F]FDG descrita en otra parte podría ser más propensa al almacenamiento de eluyente. Esto podría ser igualmente cierto en el caso de otras sondas de PET marcadas con <sup>18</sup>F tales como los listados anteriormente, y la presente invención es por ello una disolución que es fácil de implementar y no es perjudicial para la calidad del producto final.

10 Lo más preferido es que la reacción de radiofluoración de la invención sea automática, lo más preferentemente en un aparato de radiosíntesis automatizada como apropiada y preferentemente se describe anteriormente.

15 En otro aspecto más, la presente invención proporciona un casete para llevar a cabo la reacción de radiofluoración en un aparato de síntesis automática en el que dicho casete comprende:

(i) una columna de intercambio aniónico apropiada para atrapar una disolución acuosa de <sup>18</sup>F<sup>-</sup>, en el que dicha columna de intercambio aniónico es como se define aquí;

(ii) un primer recipiente que contiene una disolución de eluyente como se define aquí;

20 (iii) un segundo recipiente que contiene un compuesto precursor que al reaccionar con <sup>18</sup>F<sup>-</sup> da como resultado una sonda de PET marcada con <sup>18</sup>F como se define aquí, en el que dicho <sup>18</sup>F se obtiene por los métodos como se define aquí.

Las realizaciones apropiadas y preferidas de cualquier característica del método de la invención y/o la reacción de radiofluoración de la invención que son comunes para el casete de la invención se aplican también para el casete de la invención.

### 25 Breve descripción de los ejemplos

El Ejemplo 1 describe un análisis de disoluciones de eluyente de la técnica anterior que se almacenaron.

El Ejemplo 2 describe la síntesis de [<sup>18</sup>F]FACBC y [<sup>18</sup>F]FDG con eluyente de la técnica anterior almacenado vs. recién preparado.

30 El Ejemplo 3 describe la síntesis de [<sup>18</sup>F]FACBC con eluyente de la presente invención almacenado vs. recién preparado.

### Lista de abreviaturas usadas en los Ejemplos

ATR reflectancia total atenuada

	DTGS	sulfato de triglicina deuterada
	[ <sup>18</sup> F]FACBC	ácido 1-amino-3-[ <sup>18</sup> F]fluorociclobutano-1-carboxílico
	[ <sup>18</sup> F]FDG	2-desoxi-2-[ <sup>18</sup> F]fluoro-D-glucosa
	FT-IR	infrarrojos con transformada de Fourier
5	K222	Kryptofix 222
	MeCN	acetonitrilo
	MeOH	metanol
	QMA	metilamonio cuaternario
	RCY	rendimiento radioquímico
10	SPE	extracción en fase sólida
	TLC	cromatografía en capa delgada
	UV	ultravioleta

### Ejemplos

25 Todos los reactivos y disolventes se compraron de Merck y se usaron sin purificación adicional. El precursor de [<sup>18</sup>F]FDG; 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-O-trifluorometanosulfonil-β-D-manopiranososa se compró de ABX mientras que el precursor de [<sup>18</sup>F]FACBC; éster etílico de ácido Syn-1-(N-(terc-butoxicarbonil)amino)-3-[[trifluorometil]sulfonil]oxi]ciclobutano-1-carboxílico se obtuvo de GE Healthcare. El cartucho Oasis HLB plus y los cartuchos Sep-Pak: QMA light Plus (forma de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), tC18 light, Alumina N light se compraron de Waters (Milford, MA, USA). Su usó una cámara iónica NaI Capintec para todas las medidas radiactivas (modelo CRC15R). Se realizó radio-cromatografía de capa fina (radio-TLC) en un generador de imágenes Packard instant usando placas pre-revestidas de gel de sílice (Merck 60F<sub>254</sub>).

Ejemplo1: almacenamiento de disoluciones de eluyente de la técnica anterior

25 Viales de eluyente FASTlab de 3,0 ml que consisten en vidrio de borosilicato de tipo 1 (FIOLAX, MGLas AG, Múnnerstadt, Alemania), tapados con un tapón de clorobutilo revestido con Fluorotec® (West) y sellados con un tapón de aluminio después de introducir la disolución de eluyente se usaron para el almacenamiento de dos disoluciones de eluyente optimizadas para la síntesis de [<sup>18</sup>F]FACBC o de [<sup>18</sup>F]FDG.

Las disoluciones de diluyente eran las siguientes:

Composición de eluyente	[ <sup>18</sup> F]FACBC	[ <sup>18</sup> F]FDG
K222	53,0 mg/ml	53,0 mg/ml
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	7,3 mg/ml	9,5 mg/ml
MeCN:H <sub>2</sub> O	79,5:20,5 (v/v)	79,5:20,5 (v/v)
Volumen de llenado	1,105 ml	0,825 ml

30 Los viales se almacenaron en la oscuridad en posición vertical usando temperaturas de almacenamiento de 5, 25, 30, 40 y 50°C. Ambos eluyente se almacenaron durante un periodo de nueve meses, tiempo durante el cual se midieron los niveles de acetamida y acetato. La acetamina se cuantificó por espectroscopía de infrarrojos usando un espectrómetro de FT-IR Perkin Elmer Spectrum 2000 Explorer con un detector de DTGS y una ATR de diamante de una sola reflexión (DuraSampIIR II de SensIR Technologies). El acetato se cuantificó por cromatografía de líquidos con detección UV (Agilent 1100 series).

35 Se generaron niveles notables (mg/ml) de acetamida y acetato durante un periodo de nueve meses de almacenamiento como se ve en la Figura 1 (acetamida generada en viales de eluyente de FACBC y FDG durante el almacenamiento a 5°C, 25°C y 40°C; n = 2-3) y la Figura 2 (acetato generado en viales de eluyente de FACBC y FDG durante el almacenamiento a 5°C, 25°C y 40°C. n = 2-3).

Ejemplo 2: Síntesis de [<sup>18</sup>F]FACBC y [<sup>18</sup>F]FDG con eluyente de la técnica anterior almacenado vs. recién preparado.

La síntesis de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC y [ $^{18}\text{F}$ ]FDG se ensayó con eluyentes tanto almacenados como recién preparados para investigar el impacto de los niveles generados de acetamida y acetato de amonio en el RCY.

Se produjo [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro sin vehículo añadido vía la reacción nuclear  $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  en un ciclotrón GE PETtrace 6 (Norwegian Cyclotron Centre, Oslo). Las irradiaciones se realizaron usando una corriente de 30  $\mu\text{A}$  de doble haz sobre dos dianas de Ag iguales con láminas HAVAR usando protones de 16,5 MeV. Cada diana contenía 1,6 ml de  $\geq 96\%$  de [ $^{18}\text{O}$ ]agua (Marshall Isotopes). Después de la irradiación y suministro a una celda caliente, cada blanco se lavó con 1,6 ml de [ $^{16}\text{O}$ ]agua (Merck, agua para análisis GR), dando aproximadamente 2-5 Gbq en 3,2 ml de [ $^{16}\text{O}$ ]agua.

Toda la radioquímica se realizó en un GE FASTlab™ comercialmente disponible con casetes de un solo uso. Cada casete se construye alrededor de un colector moldeado de una sola pieza con 25 llaves de paso de tres vías, todas hechas de polipropileno. En resumen, el casete incluye un reactor de 5 ml (copolímero de olefina cíclica), una jeringa de 1 ml y dos jeringas de 5 ml, espigas para conexión con cinco viales prellenados, una bolsa de agua (100 ml) así como varios cartuchos de SPE y filtros. Las conducciones de fluido se controlan con purga de nitrógeno, vacío y las tres jeringas. El sistema totalmente automatizado se diseña para fluoraciones de una sola etapa con [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro producido con ciclotrón. El FASTlab se programó con el paquete de software en una secuencia paso a paso dependiente del tiempo de sucesos tales como mover las jeringas, purgar con nitrógeno, vacío, y regulación de temperatura. Las síntesis de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG y [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC se personalizaron en casetes separados, pero ambas síntesis seguían las tres etapas generales: (a) [ $^{18}\text{F}$ ]fluoración, (b) hidrólisis de los grupos de protección y (c) purificación por SPE.

Síntesis de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG de la técnica anterior.

El vial A contenía K222 (43,7 mg, 117  $\mu\text{mol}$ ),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (7,8 mg, 56,7  $\mu\text{mol}$ ) en 79,5% (v/v) de  $\text{MeCN}_{(\text{ac})}$  (825  $\mu\text{l}$ ). El vial B contenía el precursor (39 mg, 81,2  $\mu\text{mol}$ ) en 2,0 ml de MeCN con 1.700 ppm de agua. El vial C contenía MeCN (4,1 ml). El vial D contenía NaOH 2M (4,1 ml). El vial E contenía ácido fosfórico 2,3M (4,1 ml). Se hizo pasar [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro acuoso (1 ml, 100-200 Mbq) a través de QMA y dentro del vial de recuperación de  $^{18}\text{O}-\text{H}_2\text{O}$ . El [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro atrapado se eluyó dentro del reactor usando eluyente del vial A (450  $\mu\text{l}$ ) y a continuación se concentró a sequedad por destilación azeotrópica con acetonitrilo (80  $\mu\text{l}$ , vial C). Aproximadamente 1,6 ml de la disolución de precursor (corresponde a 31,2 mg; 65  $\mu\text{mol}$  de precursor) del vial B se añadió al reactor y se calentó a 125°C durante 2 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se envió a través del cartucho tC18. El reactor se lavó con agua y se envió a través del cartucho tC18. El intermedio marcado, fijado en el cartucho tC18 se lavó primero con agua, a continuación se incubó con NaOH 2M (2,0 ml) durante 2 minutos. La mezcla en bruto se mezcló con agua (1,5 ml) y ácido fosfórico 2,3M (1,5 ml) y se hizo pasar a través de cartucho de HLB y alúmina al vial de producto hecho de vidrio (30 ml). El agua (9 ml) a continuación se envió a través de los cartuchos de HLB y alúmina y dentro del vial de producto. La formulación purificada de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG contenía un volumen final de 15 ml. La pureza radioquímica se ensayó por radio-TLC usando una mezcla de MeCN:H<sub>2</sub>O (95:5) como fase móvil. El rendimiento radioquímico (RCY) se expresó como la cantidad de radiactividad en la fracción de [ $^{18}\text{F}$ ]FDG dividida entre la actividad total del [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro usado (decaimiento corregido). El tiempo total de síntesis era 22 min.

Síntesis de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC de la técnica anterior.

El vial A contenía K222 (58,8 mg, 156  $\mu\text{mol}$ ),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (8,4 mg, 60,8  $\mu\text{mol}$ ) en 79,5% (v/v) de  $\text{MeCN}_{(\text{ac})}$  (1.105  $\mu\text{l}$ ). El vial B contenía HCl 4M (2,0 ml). El vial C contenía MeCN (4,1 ml). El vial D contenía el precursor (48,4 mg, 123,5  $\mu\text{mol}$ ) en su forma seca (almacenado a -20°C hasta el montaje del casete). El vial E contenía NaOH 2M (4,1 ml). El vial de vidrio de recogida de producto de 30 ml se llenó con tampón de citrato 200 mM (10 ml). Se hizo pasar [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro acuoso (1-1,5 ml, 100-200 Mbq) a través del QMA y dentro del vial de recuperación de  $^{18}\text{O}-\text{H}_2\text{O}$ . El QMA se lavó a continuación con MeCN y se envió a los desechos. El [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro atrapado se eluyó dentro del reactor usando eluyente del vial A (730  $\mu\text{l}$ ) y a continuación se concentró a sequedad por destilación azeotrópica con acetonitrilo (80  $\mu\text{l}$ , vial C). Aproximadamente 1,7 ml de MeCN se mezcló con precursor en el vial D del que 1,0 ml del precursor disuelto (corresponde a 28,5 mg; 72,7  $\mu\text{mol}$  de precursor) se añadió al reactor y se calentó a 85°C durante 3 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se envió a través del cartucho tC18. El reactor se lavó con agua y se envió a través del cartucho tC18. El intermedio marcado, fijado en el cartucho tC18 se lavó con agua, y a continuación se incubó con NaOH 2M (2,0 ml) durante 5 minutos. El intermedio marcado (sin el grupo éster) se eluyó fuera del cartucho tC18 dentro del reactor usando agua. El grupo BOC se hidrolizó añadiendo HCl 4M (1,4 ml) y calentando el reactor durante 5 min a 60°C. El contenido del reactor con el [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC en bruto se envió a través de los cartuchos de HLB y alúmina y dentro del vial de producto de 30 ml. Los cartuchos de HLB y alúmina se lavaron con agua (9,1 ml en total) y se recogió en el vial de producto. Finalmente, se añadió al vial de producto NaOH 2M (0,9 ml) y agua (2,1 ml), dando la formulación purificada de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC con un volumen total de 26 ml. La pureza radioquímica se midió por radio-TLC usando una mezcla de MeCN:MeOH:H<sub>2</sub>O:CH<sub>3</sub>COOH (20:5:5:1) como fase móvil. El rendimiento radioquímico (RCY) se expresó como la cantidad de radiactividad en la fracción de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC dividida entre la actividad total del [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro usado (decaimiento corregido). El tiempo total de síntesis era 43 min.

Usando eluyentes recién preparados, los RCY de [ $^{18}\text{F}$ ]FACBC y [ $^{18}\text{F}$ ]FDG eran 62,5% $\pm$ 1,93 (SD), n=4 y 86,8% $\pm$ 1,25 (SD), n=9 respectivamente.



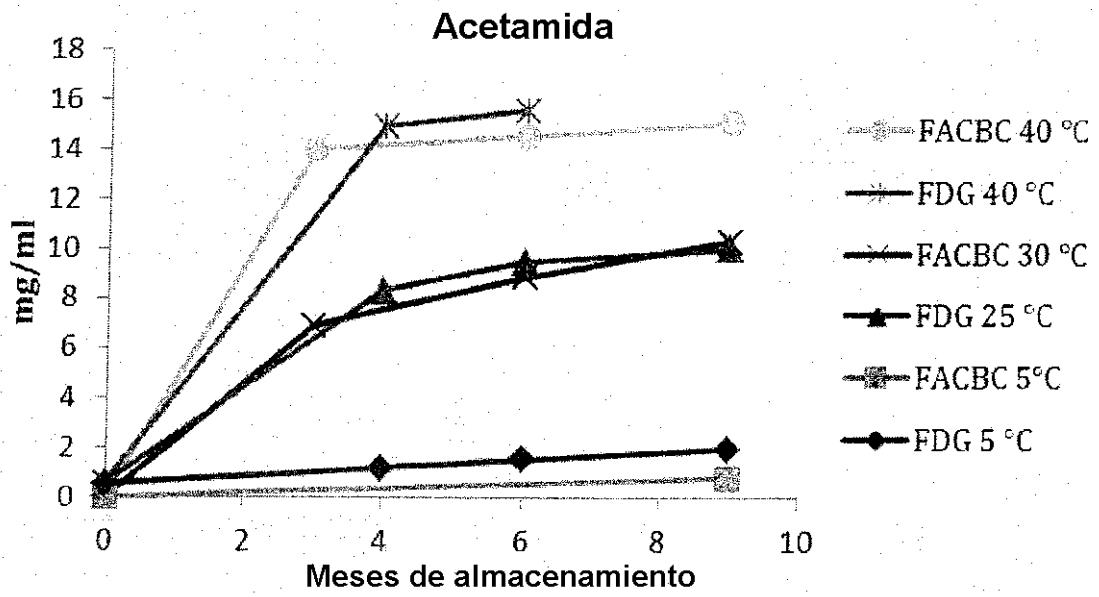
5 Cuando el eluyente FACBC se almacenó a 30 o 40°C, se observó una disminución del RCY con incremento del tiempo de almacenamiento como se muestra en la Figura 3, que muestra el RCY de [<sup>18</sup>F]FACBC después del eluyente almacenado a 30°C (●), 40°C (◆) y el RCY de [<sup>18</sup>F]FDG después del eluyente almacenado con el eluyente a 25°C (■), 40°C (▲). El RCY de [<sup>18</sup>F]FACBC disminuyó de 62,5% a 44,7% cuando el eluyente FACBC se almacenó a 30°C durante 12 meses y de 62,5% a 33,6% cuando se almacenó a 40°C durante 6 meses. Por lo tanto, se observó una correlación negativa entre la degradación del acetonitrilo y la reducción del RCY de [<sup>18</sup>F]FACBC. Se observó que el RCY de [<sup>18</sup>F] FDG disminuyó de 86,8% a 66,7% para [<sup>18</sup>F]FDG cuando la disolución de eluyente se almacenó a 50°C durante 3 meses (n=3).

Ejemplo 3: Síntesis de [<sup>18</sup>F]FACBC con eluyente de la presente invención almacenado vs. recién preparado

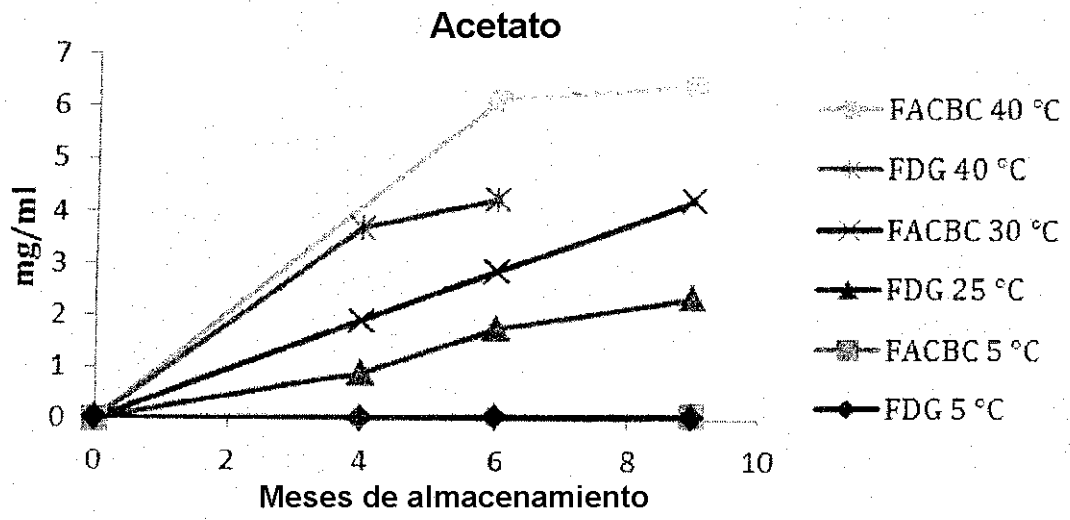
10 Los viales de eluyente de FACBC en los que el acetonitrilo fue reemplazado por metanol se almacenaron durante puntos de tiempo predeterminados y se ensayaron en la síntesis de [<sup>18</sup>F]FACBC. La Figura 4 ilustra el RCY de [<sup>18</sup>F]FACBC después de eluyente con MeOH almacenado a 30°C (▲), 50°C (●) y el RCY de [<sup>18</sup>F]FDG después del eluyente con MeCN almacenado con el eluyente a 30°C (◆), 40°C (■). Mientras que el eluyente basado en acetonitrilo dio como resultado una disminución gradual del RCY con el aumento del tiempo de almacenamiento, el RCY permaneció sin cambios con el eluyente basado en metanol incluso cuando se almacenó a 50°C durante 6 meses.

## REIVINDICACIONES

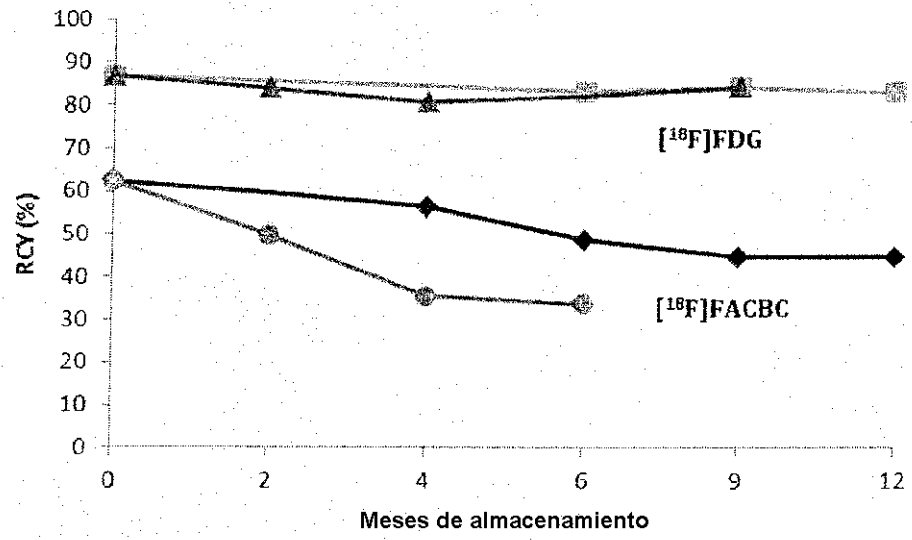
1. Un método para la preparación de  $^{18}\text{F}^-$  para uso en una reacción de radiofluoración en el que dicho método comprende:
  - (i) atrapar una disolución acuosa de  $^{18}\text{F}^-$  en una columna de intercambio aniónico; y,
  - 5 (ii) hacer pasar una disolución de eluyente a través de dicha columna de intercambio iónico en la que se absorbe dicho  $^{18}\text{F}^-$  para obtener un eluyente de  $^{18}\text{F}^-$ , en el que dicha disolución de eluyente comprende un contraión catiónico en un disolvente apropiado en el que dicho disolvente apropiado comprende etanol o metanol, con la condición de que dicha disolución de eluyente no comprenda acetonitrilo.
2. El método como se define en la reivindicación 1, en el que dicha columna de intercambio aniónico es una columna de metilamonio cuaternario (QMA).
3. El método como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que dicho contraión catiónico es un complejo metálico de un criptando.
4. El método como se define en la reivindicación 3, en el que dicho metal de dicho complejo metálico de un criptando es potasio.
- 15 5. El método como se define en la reivindicación 3 o la reivindicación 4, en el que dicho criptando de dicho complejo metálico de un criptando es Kryptofix 222 (K222).
6. El método como se define en la reivindicación 1, en el que dicho disolvente apropiado es una disolución acuosa de etanol o metanol.
7. El método como se define en la reivindicación 8, en el que dicho alcohol es metanol.
- 20 8. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 que comprende una etapa adicional:
  - (iii) secar dicho  $^{18}\text{F}^-$  eluido de dicha columna en la etapa (ii).
9. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 que está automatizado.
10. El método como se define en la reivindicación 9, que se lleva a cabo en un casete apropiado para uso con un aparato de radiosíntesis automatizada.
- 25 11. Una reacción de radiofluoración para obtener una sonda de tomografía por emisión de positrones (PET) marcada con  $^{18}\text{F}$  en la que dicha reacción de radiofluoración comprende la reacción de un compuesto precursor con  $^{18}\text{F}^-$ , en la que dicho compuesto precursor puede comprender uno o más grupos protectores, y en la que dicho  $^{18}\text{F}^-$  se obtiene por el método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
- 30 12. La reacción de radiofluoración como se define en la reivindicación 11, en la que dicha sonda de PET marcada con  $^{18}\text{F}$  es 2-desoxi-2- $^{18}\text{F}$ fluoro-D-glucosa ( $^{18}\text{F}$ -FDG),  $^{18}\text{F}$ fluorotimidina ( $^{18}\text{F}$ -FLT),  $^{18}\text{F}$ fluoronitroimidazol ( $^{18}\text{F}$ -FMISO), 6- $^{18}\text{F}$ fluoroDOPA,  $^{18}\text{F}$ setoperona,  $^{18}\text{F}$ altanserina,  $^{18}\text{F}$ -metilespiperona, 6- $^{18}\text{F}$ fluorodopamina, (-)-6- $^{18}\text{F}$ fluoro-norepinefrina, 16 $\alpha$ - $^{18}\text{F}$ fluoroestradiol,  $^{18}\text{F}$ fleroxacina,  $^{18}\text{F}$ fluconazol o ácido 1-amino-3- $^{18}\text{F}$ fluorociclobutano-1-carboxílico ( $^{18}\text{F}$ -FACBC).
- 35 13. La reacción de radiofluoración como se define en la reivindicación 11 o la reivindicación 12 que está automatizada.
14. La reacción de radiofluoración como se define en la reivindicación 13, que se lleva a cabo en un casete apropiado para uso con un aparato de radiosíntesis automatizada.
- 40 15. Un casete para llevar a cabo la reacción de radiofluoración como se define en la reivindicación 14, que comprende:
  - (i) una columna de intercambio aniónico apropiada para atrapar una disolución acuosa de  $^{18}\text{F}^-$ , en el que dicha columna de intercambio aniónico es como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2;
  - (ii) un primer recipiente que contiene una disolución de eluyente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-7;
  - 45 (iii) un segundo recipiente que contiene un compuesto precursor que al reaccionar con  $^{18}\text{F}^-$  da como resultado una sonda de PET marcada con  $^{18}\text{F}$  como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 13-15, en el que dicho  $^{18}\text{F}^-$  se obtiene por el método como se define en la reivindicación 10.



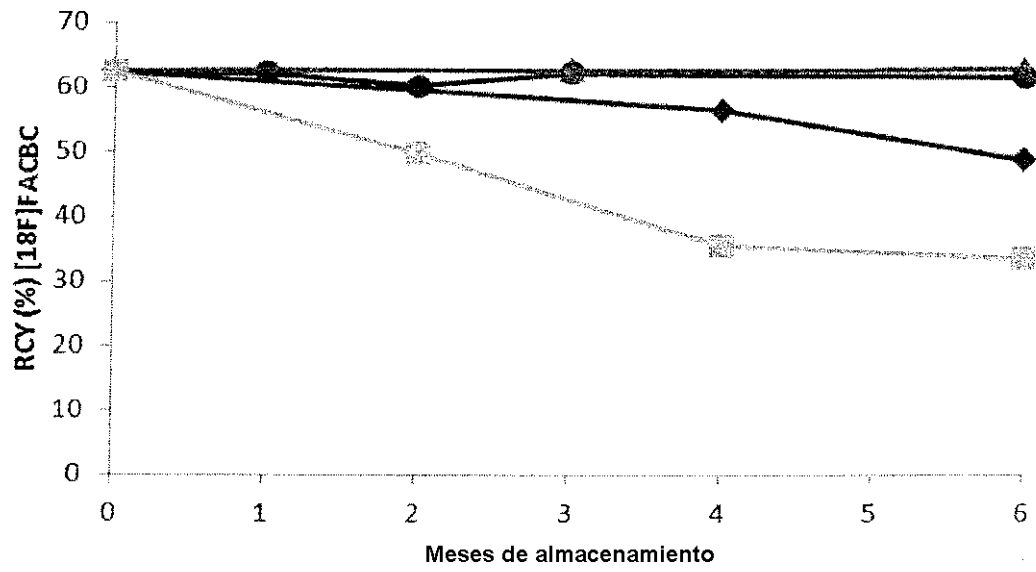
**FIGURA 1**



**FIGURA 2**



**FIGURA 3**



**FIGURA 4**