

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 086**

51 Int. Cl.:

A61K 51/04 (2006.01)

A61K 51/12 (2006.01)

C07B 59/00 (2006.01)

C07C 213/08 (2006.01)

A61K 101/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.05.2011 PCT/EP2011/058820**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.12.2011 WO11151283**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2011 E 11723431 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.07.2017 EP 2579902**

54 Título: **Procedimiento para la producción de ligandos de beta amiloide marcados con F-18**

30 Prioridad:

04.06.2010 EP 10164949

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

15.11.2017

73 Titular/es:

PIRAMAL IMAGING SA (100.0%)

Route de l'Ecole 13

1753 Matran, CH

72 Inventor/es:

BERNDT, MATHIAS;

FRIEBE, MATTHIAS;

SAMSON, FABRICE;

BRAUN, RAINER;

GARKE, GUNNAR;

PATT, MARIANNE;

SCHILDAN, ANDREAS y

SMUDA, CHRISTOPH

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 642 086 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

Procedimiento para la producción de ligandos de beta amiloide marcados con F-18.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a procedimientos que proporcionan acceso a derivados de (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminas [F-18]fluoropegiladas.

10 **Antecedentes**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo marcado por pérdida de memoria, la cognición y estabilidad conductual. La EA se define patológicamente por placas seniles extracelulares compuestas de depósitos fibrilares del péptido beta-amiloide (A β) y ovillos neurofibrilares compuestos de filamentos helicoidales pareados de tau hiperfosforilada. Los péptidos A β que comprenden 39 a 15 43 aminoácidos derivan de la proteína precursora de amiloide más grande (APP). En la vía amiloidogénica, los péptidos A β se escinden de APP por la proteólisis secuencial por las beta- y gamma-secretasas. Los péptidos A β son liberados como proteínas solubles y se detectan a nivel bajo en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en el cerebro de envejecimiento normal. Durante el progreso de la EA, los péptidos A β se agregan y forman depósitos 20 de amiloide en el parénquima y los vasos sanguíneos del cerebro, que pueden detectarse post mortem como placas difusas y seniles y amiloide vascular durante el examen histológico (para una revisión reciente, véase: Blennow et al. Lancet. 2006 Jul 29; 368(9533):387-403).

La enfermedad de Alzheimer (EA) se está convirtiendo en un gran problema económico social y de salud en todo 25 el mundo. Hay grandes esfuerzos para desarrollar técnicas y procedimientos para la detección temprana y el tratamiento eficaz de la enfermedad. Actualmente, el diagnóstico de EA en un entorno clínico académico de trastornos de memoria es aproximadamente 85-90% exacto (Petrella JR et al. Radiology. 2003 226:315-36). Se basa en la exclusión de una variedad de enfermedades que causan síntomas similares y el examen cuidadoso 30 neurológico y psiquiátrico, así como pruebas neuropsicológicas.

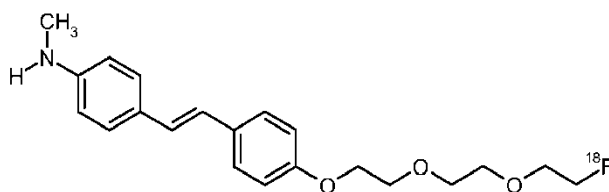
La formación de imágenes moleculares tiene el potencial de detectar progresión de la enfermedad o la eficacia 35 terapéutica antes que la mayoría de los procedimientos convencionales en los campos de la neurología, oncología y cardiología. Entre las varias tecnologías prometedoras de formación de imágenes moleculares, tal como la formación de imágenes ópticas, MRI, SPECT y PET, PET es de particular interés para el desarrollo de fármacos debido a su alta sensibilidad y capacidad de proporcionar datos cuantitativos y cinéticos.

Por ejemplo, isótopos emisores de positrones incluyen por ejemplo carbono, yodo, nitrógeno y oxígeno. Estos 40 isótopos pueden sustituir a sus homólogos no radioactivos en los compuestos diana para producir trazadores de PET que tienen propiedades biológicas similares. Entre estos isótopos, F-18 es un isótopo de marcaje preferido debido a su período de semidesintegración de 110 min., lo que permite la preparación de trazadores de diagnóstico y estudio posterior de los procedimientos bioquímicos. Además, su baja energía β^+ (634 keV) también es ventajosa.

El examen histológico post mortem del cerebro sigue siendo el único diagnóstico definitivo de la enfermedad de 45 Alzheimer. Por lo tanto, se cree que la detección *in vivo* de una característica patológica de la enfermedad - la deposición agregados amiloides en el cerebro - tiene un fuerte impacto en la detección temprana de la EA y la diferencia de otras formas de demencia. Además, la mayoría de las terapias modificadoras de la enfermedad que están en desarrollo están destinadas a la reducción de la carga amiloide en el cerebro. Por lo tanto, la formación de imágenes de la carga amiloide en el cerebro puede proporcionar una herramienta esencial para la 50 estratificación del paciente y el seguimiento del tratamiento (para una revisión reciente, véase: Nordberg. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2008 Mar; 35 Supl. 1:S46-50).

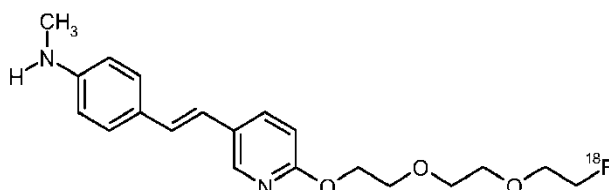
Además, también se sabe que los depósitos de amiloide juegan un papel en la amiloidosis, en la que las 55 proteínas amiloides (por ejemplo, tau) se depositan anormalmente en diferentes órganos y/o tejidos, causando la enfermedad. Para una revisión reciente, véase Chiti et al. Annu Rev Biochem. 2006; 75:333-66.

Las (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminas fluoropegiladas, tales como 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2- 60 fluoroeтокси)etoxi]etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina y 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-fluoroeтокси)etoxi]etoxi}piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina se han marcado con F-18 fluoruro y están cubiertas por las solicitudes de patente WO2006066104, WO2007126733 y miembros de las familias de patentes correspondientes.



4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilaniлина

5



4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}piridin-3-il)vinil]-N-metilaniлина

10

La utilidad de estos radiotrazadores para la detección de placas de A β se ha dado a conocer en la bibliografía (W. Zhang et al., Nuclear Medicine and Biology 32 (2005) 799-809; C. Rowe et al., Lancet Neurology 7 (2008) 1-7; S. R. Choi et al., The Journal of Nuclear Medicine 50 (2009) 1887-1894).

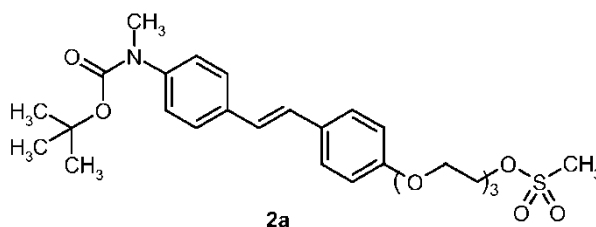
15

Para no limitar el uso de tales diagnósticos marcados con F-18, se necesitan procedimientos que permitan una fabricación robusta y segura de los trazadores marcados con F-18. Además, tales procedimientos deberían proporcionar un alto rendimiento de la síntesis global para permitir la producción de las cantidades del diagnóstico para suministrar el radiotrazador, a pesar del período de semidesintegración de 110 min., a instalaciones sin ciclotrón o instalación de producción radiofarmacéutica.

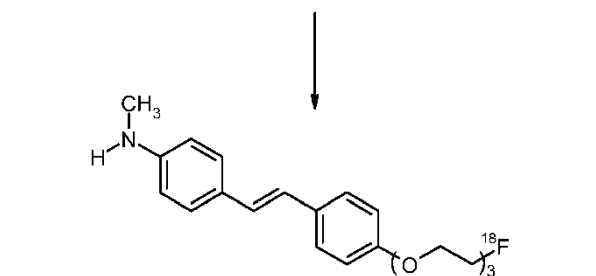
20

Se ha descrito antes la síntesis de (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminas fluoropegladas, marcadas con F-18:

4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}fenil)vinil]-N-metilaniлина



2a



25

4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilaniлина

a) W. Zhang et al., Nuclear Medicine and Biology 32 (2005) se 799-809

30

Se hicieron reaccionar 4 mg de precursor 2a (metanosulfonato de 2-[2-(2-{4-[(E)-2-{4-[(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]-fenil]vinil]fenoxi]etoxi]etoxi]etilo) en 0,2 ml de DMSO n con complejo de [F-18]fluoruro/kryptofix/carbonato de potasio. El intermedio se desprotegió con HCl y se neutralizó con NaOH. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. El disolvente se secó y se evaporó. El residuo se disolvió en acetonitrilo y se purificó mediante HPLC semipreparativa (acetonitrilo/5 mM de amortiguador de dimetilglutarato pH 7 9/1). Se obtuvieron en 90 min. 20% (desintegración corregida), 11% (no corregido para la desintegración) de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}fenil)vinil)-N-metilaniлина. No se describe una reformulación adicional, necesaria para obtener una disolución adecuada para la inyección en seres humanos.

35

b) Documento WO2006066104

5 Se hicieron reaccionar 4 mg de precursor **2a** (metanosulfonato de 2-[2-(2-{4-[(E)-2-{4-[(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]-fenil]vinil]fenoxi}etoxi)etoxi]etilo) en 0,2 ml de DMSO con complejo de [F-18]fluoruro/kryptofix/carbonato de potasio. El intermedio se desprotegió con HCl y se neutralizó con NaOH. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. El disolvente se secó y se evaporó, el residuo se disolvió en acetonitrilo, y se purificó mediante HPLC semipreparativa. Se obtuvieron 30% (desintegración corregida), 17% (no corregido para la desintegración) de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina en 90 min. No se describe una reformulación adicional, necesaria para obtener una disolución adecuada para inyección en un ser humano.

c) C. C. Rowe et al., Lancet Neurology 7 (2008) 129-135

15 Tras el radiomarcaje, la hidrólisis ácida y la purificación mediante HPLC semipreparativa, la 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina se formuló vía extracción en fase sólida (SPE).

d) H. Wang et al., Nuclear Medicine and Biology 38 (2011) 121-127

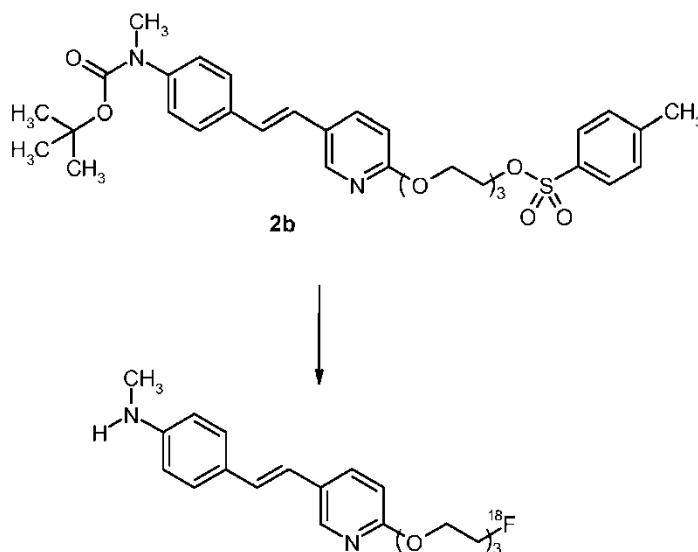
20 Se hicieron reaccionar 5 mg (9,33 µmoles) de precursor **2a** (metanosulfonato de 2-[2-(2-{4-[(E)-2-{4-[(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]-fenil]vinil]fenoxi}etoxi)etoxi]etilo) en 0,5 ml de DMSO con complejo de [F-18]fluoruro/kryptofix/carbonato de potasio. El intermedio se desprotegió con HCl y se neutralizó con NaOH. El producto bruto se diluyó con acetonitrilo/formiato de amonio 0,1M (6/4) y se purificó mediante HPLC semipreparativa. La fracción del producto se recogió, se diluyó con agua, se hizo pasar a través de un cartucho C18 y se eluyó con etanol, produciendo 17% (no corregido para la desintegración) de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina en 50 min. En el mismo documento, se describe la conversión del precursor de mesilato sin proteger:

30 se hicieron reaccionar 5 mg (11,48 µmoles) de precursor de mesilato sin proteger (4-metanosulfonato de 2-{2-[2-(4-{(E)-2-[4-(metilamino)fenil]vinil]fenoxi)etoxi]-etoxi]etilo) en 0,5 ml de DMSO con complejo de [F-18]fluoruro/kryptofix/carbonato de potasio. El producto bruto se diluyó con acetonitrilo/formiato de amonio 0,1M (6/4) y se purificó mediante HPLC semipreparativa. La fracción del producto se recogió, se diluyó con agua, se hizo pasara través de un cartucho C18 y se eluyó con etanol, produciendo 23% (no corregido para la desintegración) de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina en 30 min. Se encontró que un procedimiento en el que el radiotrazador se purificó solo mediante SPE (sin HPLC), proporciona un producto con una pureza radioquímica aceptable (>95%); sin embargo, la pureza química fue demasiado baja, por ejemplo no se pudieron eliminar productos secundarios derivados del exceso de precursor,

e) documento US20100113763

40 Se hizo reaccionar **2a** (metanosulfonato de 2-[2-(2-{4-[(E)-2-{4-[(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]fenil]vinil]-fenoxi}etoxi)etoxi]etilo) con reactivo de [F-18]fluoruro en una mezcla de *tert*-alcohol y acetonitrilo. Tras la fluoración, el disolvente se evaporó, y se añadió una mezcla de HCl y acetonitrilo. Tras la desprotección (calentando a 100-120°C), la mezcla de producto bruto se purificó mediante HPLC (C18, 60% de acetonitrilo, 40% de formiato de amonio 0,1M). No se describe una reformulación adicional, necesaria para obtener una disolución adecuada para inyección en un ser humano.

4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina



4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)piridin-3-il)-N-metilanolina

5 a) S. R. Choi et al., *The Journal of Nuclear Medicine* 50 (2009) 1887-1894.

Se hizo reaccionar 1 mg de precursor **2b** (4-metilbencenosulfonato de 2-{2-[2-((E)-2-{4-[(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]-fenil}vinil]piridin-2-il)oxi]etoxi]etoxi]etilo) en 1 ml de DMSO con complejo de [F-18]fluoruro/kryptofix/carbonato de potasio. El intermedio se desprotegió con HCl y se neutralizó con NaOH. El DMSO y componentes inorgánicos se eliminaron mediante extracción en fase sólida en un cartucho SepPak light C18 (Waters). El producto bruto se purificó mediante HPLC semipreparativa (55% de acetonitrilo, 45% de NH₄OAc 20 mM + 0,5% p/v de ascorbato de sodio). La fracción del producto se diluyó con agua y se hizo pasar a través de un cartucho SepPak light C18. El radiotrazador se eluyó con etanol. El rendimiento para 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilanolina fue 10-30% (desintegración corregida).

b) Documento WO2010078370

Se hicieron reaccionar 1,5 mg (2,45 μmoles) de precursor **2b** (4-metilbencenosulfonato de 2-{2-[2-((E)-2-{4-[(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]-fenil}vinil]piridin-2-il)oxi]etoxi]etoxi]etilo) en 2 ml de DMSO con complejo de [F-18]fluoruro/kryptofix/carbonato de potasio. El intermedio se desprotegió con HCl y se diluyó con una disolución al 1% de NaOH para la neutralización. La mezcla se cargó en un cartucho de fase inversa. El cartucho se lavó con agua (que contiene 5% p/v de ascorbato de sodio). El producto bruto se eluyó con acetonitrilo en un depósito que contiene agua + 5% p/v de ascorbato de sodio y disolvente de HPLC. Tras la purificación mediante HPLC semipreparativa, la fracción del producto se recogió en un depósito que contiene agua + 0,5% p/v de ascorbato de sodio. La disolución se hizo pasar a través de un cartucho C18, el cartucho se lavó con agua (que contiene 0,5% p/v de ascorbato de sodio), y el producto final se eluyó con etanol en un vial que contiene disolución de cloruro sódico al 0,9% con 0,5% p/v de ascorbato de sodio.

c) Y. Liu et al., *Nuclear Medicine and Biology* 37 (2010) 917-925

Se hizo reaccionar 1 mg (1,63 μmoles) de precursor **2b** (4-metilbencenosulfonato de 2-{2-[2-((E)-2-{4-[(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]-fenil}vinil]piridin-2-il)oxi]etoxi]etoxi]etilo) en 1 ml de DMSO con complejo de [F-18]fluoruro/kryptofix/carbonato de potasio. El intermedio se desprotegió con HCl y se diluyó con una disolución de NaOH al 1%. La mezcla se cargó en un cartucho Oasis HLB. El cartucho se lavó con agua, se secó en un caudal de argón, y el producto se eluyó con etanol en un vial que contiene una disolución salina. Aunque las impurezas radioquímicas se eliminaron mediante este procedimiento, en la disolución del producto final quedaron subproductos no radioactivos derivados de la hidrólisis del exceso de precursor.

El rendimiento para 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilanolina fue 34% (no corregido para la desintegración) en 50 min. a un nivel radioactivo de 10-100 mCi (370-3700 MBq) de [F-18]fluoruro.

d) L. Silva et al., *Abstract/Poster EANM 2010*

Se adaptó una plataforma IBA Synthera para la síntesis de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilanolina. Adicionalmente, se integró un sistema de HPLC semipreparativa y otro módulo Synthera para la reformulación.

e) G. Casale et al. World Journal of Nuclear Medicine, 9 S1 (2010), S-174 (Abstract of 10th Congress of WFNMB, Cape Town, África del Sur, 18-23 de septiembre de 2010)

5 La fabricación de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina se logró mediante el uso de un módulo de síntesis IBA Synthera, combinado con un sistema de purificación semipreparativa de HPLC y un módulo adicional para formulación (dilución de la fracción de HPLC, atrapamiento en un cartucho C18, lavado y elución con etanol).

10 Aunque se han investigado procedimientos de purificación a base de cartuchos, solamente se ha demostrado y probado un óptimo de calidad de producto con respecto a la pureza radioquímica y separación de subproductos no radioactivos para la purificación mediante HPLC. Hasta ahora, las (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminas fluoropegiladas marcadas con F-18 se han purificado mediante HPLC usando sistemas de disolventes que consisten en acetonitrilo y amortiguador acuoso. Obviamente, las fracciones del producto recogidas no se pueden usar directamente para la administración a un paciente. Se han de eliminar el acetonitrilo y otros compuestos de los sistemas de disolventes que no son tolerados para la inyección en un ser humano. Esto se podría lograr mediante evaporación o mediante extracción en fase sólida (por ejemplo, atrapamiento en un cartucho de extracción en fase sólida C18 y elución con etanol; véase la figura 1: cartucho C3 de extracción en fase sólida final, elución con etanol de V8; véase también la figura 7, cartucho 11 de extracción en fase sólida final, elución con etanol de uno de los viales 9).

25 Sin embargo, especialmente a mayores niveles de radioactividad, la descomposición del radiotrazador debido a procesos de radiolisis puede ser un problema. Este problema es bien conocido: para evitar la radiolisis durante la purificación de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina, se añadió ascorbato de sodio (como depurador de radicales) al disolvente de HPLC y a las disoluciones de lavado (S. R. Choi et al, documento WO2010078370). Sin embargo, la concentración del radiotrazador tras la HPLC mediante evaporación o mediante extracción en fase sólida es una etapa crítica de la fabricación. En experimentos de aumento de escala, tras la HPLC se pueden encontrar mayores purezas radioquímicas de (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminas fluoropegiladas marcadas con F-18, antes de la extracción en fase sólida, en comparación con la composición tras la extracción en fase sólida.

30 En la figura 7 se ilustra el montaje general del procedimiento de fabricación para aminas de (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminas fluoropegiladas marcadas con F-18 como se describe previamente. El procedimiento de fabricación se puede dividir en tres partes principales:

- 35
- A) Síntesis
 - B) Purificación mediante HPLC
 - C) Formulación

40 Las etapas en el procedimiento de fabricación de secado de [F-18]fluoruro, radiomarcaje de la molécula precursora, y desprotección, se llevan a cabo en la parte A del dispositivo de síntesis (figura 7). La mezcla de producto bruto se transfirió a la segunda parte B para la purificación mediante HPLC (sobre gel de sílice de fase inversa que usa como eluyente acetonitrilo/amortiguador). Para obtener el radiotrazador en una Formulación, adecuada para inyección en un ser humano, el disolvente (acetonitrilo) presente en la fracción del producto necesita ser eliminado e intercambiado por una composición que sea apropiada para la fabricación de un medicamento. Típicamente (y descrito en las referencias anteriores), la fracción del producto se diluye con agua (vasija "8", figura 7, parte C), y entonces se hace pasar a través de un cartucho de fase inversa ("11", figura 7, parte C). El cartucho se lava con una disolución acuosa de uno de los depósitos 9 (figura 7, parte C), y finalmente se eluye del cartucho con una disolución etanólica (o etanol) de otro de los depósitos 9 en el vial del producto, que comprende opcionalmente otras partes y excipientes de la formulación final. Es obvio para los expertos en la materia que la ilustración de la figura 7 es una simplificación del procedimiento y del equipo, y que otras partes tales como válvulas, viales, tuberías, etc., pueden ser parte de tal procedimiento o equipo.

55 En el documento WO2010078370 y en C.-H. Yao et al., Applied Radiation and Isotopes 68 (2010) 2293-2297 se describe un procedimiento de fabricación "que cumple con GMP" para 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina. Para evitar la descomposición de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina, se añadió ascorbato de sodio al disolvente de HPLC (45% de acetonitrilo, 55% de acetato de amonio 20 mM que contiene 0,5% (p/v) de ascorbato de sodio) y la Formulación final (0,5% (p/v) de ascorbato de sodio). El procedimiento dio hasta 18,5 GBq (25,4 ± 7,7%, corregido para la desintegración) de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina. La pureza radioquímica fue 95,3 ± 2,2%.

60 Aunque se añadió ascorbato/ácido ascórbico a los disolventes implicados en la purificación, la pureza radioquímica fue solamente alrededor de 95,3 ± 2,2% a niveles de actividad del producto de hasta 18,5 GBq (Yao et al.) - probablemente debido a la descomposición por radiolisis.

65

Se descubrió una variación incluso mayor de pureza radioquímica a mayores niveles de actividad del producto para la fabricación de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]fenil}vinil)-N-metilaniлина (Ejemplo 7, figura 9, procedimiento A).

5 Aparte de la variación de la pureza radioquímica, la re-Formulación durante el procedimiento actual (conversión del radiotrazador desde el medio de HPLC en una disolución inyectable) requiere un tiempo adicional del procedimiento, y demanda un equipo más complejo. Por ejemplo, el procedimiento para la síntesis de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il)vinil]-N-metilaniлина descrito por Silva et al. y por Casale et al. demanda tres módulos para el procedimiento de fabricación global. La síntesis del producto bruto (ilustrada esquemáticamente en la figura 7, Parte A) se basó en un módulo IBA Synthera, se usó un sistema de HPLC semipreparativa para la purificación (ilustrado esquemáticamente en la figura 7, Parte B), y se usó un módulo de síntesis IBA Synthera adicional para la reformulación (ilustrado esquemáticamente en la figura 7, Parte C).

15 El problema a resolver por la presente invención es proporcionar un procedimiento de purificación mediante HPLC mejorado para (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminas fluoropegiladas marcadas con F-18 que proporcione purezas químicas y radioquímicas elevadas del radiotrazador, evitando una concentración del producto marcado tras la purificación para evitar la radiolisis, especialmente a mayores niveles de radioactividad. Tal procedimiento debería ser adecuado para la fabricación de cantidades más grandes (radioactividad) del radiotrazador para permitir una distribución a instalaciones formadoras de imágenes sin producción radiofarmacéutica propia. Hasta ahora, la actividad máxima para una de (aril/heteroaril vinil)-fenil metil amina fluoropegilada marcada con F-18 dada a conocer es 18,5 GBq (Yao et al.). Sin embargo, incluso mayores rendimientos serían de apoyo para un uso generalizado y disponibilidad del radiotrazador. Un requisito previo del nuevo procedimiento de fabricación debería ser una pureza radioquímica elevada (por ejemplo >95%) en un amplio intervalo de radioactividad. Más precisamente, tal procedimiento debería ser adecuado para la fabricación de mayores niveles de actividad del radiotrazador que los descritos previamente (por ejemplo, > 20 GBq, o incluso > 50 GBq, o incluso > 100 GBq), con purezas radioquímicas de manera fiable $\geq 95\%$. Como una característica adicional, tal procedimiento debería ser menos complejo que los procedimientos descritos anteriormente.

30 Los problemas descritos anteriormente se resolvieron mediante un procedimiento de purificación modificado. Para simplificar el montaje global para la fabricación, se modificó la composición de disolventes para la purificación mediante HPLC. En lugar de una mezcla de acetonitrilo/amortiguador, se usa una mezcla de etanol/amortiguador. Una ventaja de la nueva mezcla de disolventes para HPLC es que todos los constituyentes del disolvente de HPLC - en contraste con composiciones descritas previamente - son bien tolerados como parte de la Formulación, y de ese modo son adecuado para inyección a un ser humano. Por lo tanto, ya no se requiere una reformulación para eliminar constituyentes del disolvente de HPLC (como se ilustra en la figura 7, Parte C). Esta ventaja adicional del nuevo procedimiento - el montaje simplificado - se ilustra esquemáticamente en la figura 8. (Obviamente, esta ilustración es una simplificación que muestra un montaje general del nuevo procedimiento descrito en la presente memoria). Siguiendo el dibujo en la figura 8, la fracción del producto se recoge directamente (conmutando la válvula "7") en el vial del producto (que podría contener otras partes de la Formulación final). Debido a la complejidad reducida, el tiempo global de fabricación usando el nuevo procedimiento descrito en la presente memoria es más corto, contribuyendo directamente a mayores rendimientos no corregidos para la desintegración en comparación con el procedimiento usado previo en el que se usa una purificación mediante HPLC con reformulación adicional (que consume tiempo) en un cartucho en fase sólida (SPE).

45 La ventaja principal del nuevo procedimiento descrito en la presente memoria es la pureza radioquímica confiablemente elevada de las (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminas fluoropegiladas marcadas con F-18 sintetizadas mediante el nuevo procedimiento. En el Ejemplo 7 y en la figura 9, se demuestra la pureza radioquímica dependiente del procedimiento de purificación y la cantidad (radioactividad) de producto radiomarcado. Los puntos/cuadrados (que representan cada uno un experimento individual) y las líneas de tendencia en la figura 9 demuestran claramente que la pureza radioquímica obtenida tras la HPLC con reformulación mediante SPE varía significativamente (figura 9, cuadrados en blanco). Especialmente a mayores niveles de radioactividad (> 20 GBq), la pureza radioquímica a menudo es incluso $\leq 95\%$. Por el contrario, la variabilidad de las purezas radioquímicas obtenidas por el nuevo procedimiento de la presente invención es mucho menor y se lograron purezas radioquímicas elevadas de >95%, incluso a niveles de radioactividad del producto de más de 50 GBq o incluso mayores que 100 GBq (figura 9, puntos negros).

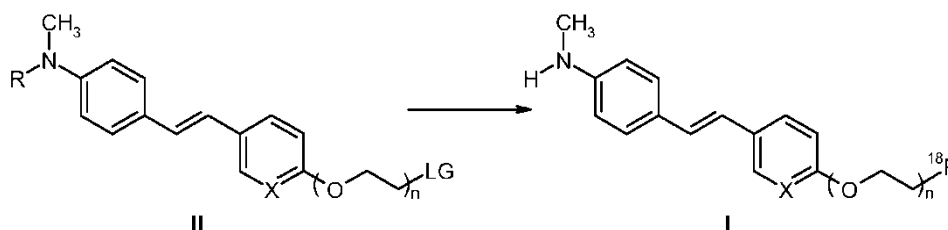
Sumario de la invención

- 60 • La presente invención proporciona un procedimiento para la producción de compuesto radiomarcado de Fórmula I y sales adecuadas de un ácido inorgánico u orgánico del mismo, hidratos y solvatos del mismo, y opcionalmente un vehículo, diluyente, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El procedimiento comprende las etapas de:

- 65 - radiofluorar el compuesto de Fórmula II

- opcionalmente, escindir un grupo protector
- purificar y formular el compuesto de Fórmula I mediante HPLC usando un sistema de disolvente que puede ser parte de una Formulación inyectable

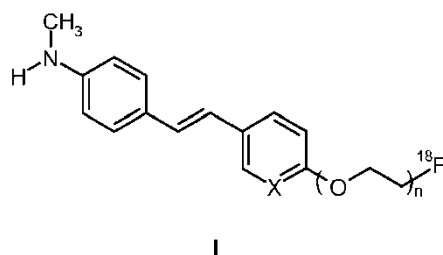


10 El procedimiento proporcionado por la presente invención se ilustra esquemáticamente en la figura 8. La radiofluoración del compuesto de Fórmula II, y opcionalmente la escisión de un grupo protector, se llevan a cabo en la parte izquierda del equipo (figura 8, parte A). La purificación del compuesto de Fórmula I se lleva a cabo de manera que la fracción del producto obtenida mediante HPLC (figura 8, parte B) se puede transferir directamente al vial del producto, en el que el vial del producto contiene opcionalmente vehículos, diluyentes, adyuvantes o excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales. Una parte adicional del procedimiento y equipo como se ilustra en la figura 7 (Parte C) ya no es requerida por el procedimiento de la presente invención.

- También se describen en la presente memoria composiciones que comprenden un compuesto radiomarcado de Fórmula I o sales adecuadas de un ácido inorgánico u orgánico del mismo, hidratos, complejos, ésteres, amidas, solvatos y profármacos del mismo, y opcionalmente un vehículo, diluyente, adyuvante o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- También se describe en la presente memoria un kit para preparar una preparación radiofarmacéutica mediante el procedimiento descrito en la presente memoria, comprendiendo dicho kit un vial cerrado herméticamente que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de Fórmula II.

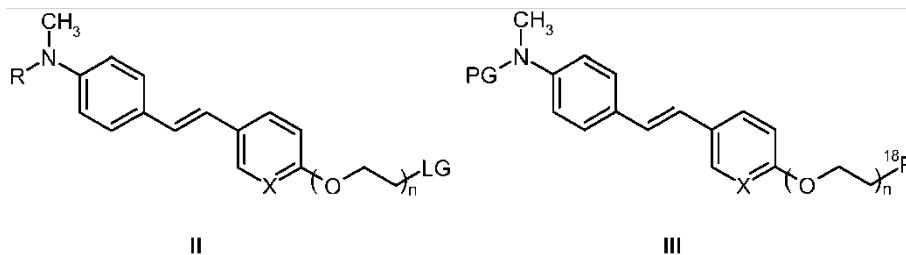
25 **Descripción de la invención**

30 En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir el compuesto de Fórmula I



que comprende las etapas de:

35 Etapla 1: Radiomarcicar el compuesto de Fórmula II con un agente fluorante con F-18, para obtener el compuesto de Fórmula I, si R = H, o para obtener el compuesto de Fórmula III, si R = PG



40 Etapla 2: Opcionalmente, si R = PG, escindir el grupo protector PG para obtener el compuesto de Fórmula I

Etapla 3: Purificar y formular el compuesto de Fórmula I

en la que:

n = 1-6, preferentemente 2-4, más preferentemente 3.
X se selecciona del grupo que comprende

5

- a) CH,
- b) N.

En una forma de realización preferida, X = CH.
En otra forma de realización preferida, X = N.

10

R se selecciona de entre el grupo que comprende

15

- a) H,
- b) PG.

PG es un "grupo protector de amina".

En una forma de realización preferida, PG se selecciona del grupo que comprende:

20

- a) Boc,
- b) tritilo y
- c) 4-metoxitritilo.

25

En una forma de realización más preferida, R es H.

En otra forma de realización más preferida, R es Boc.

LG es un grupo saliente.

30

En una forma de realización preferida, LG se selecciona del grupo que comprende:

35

- a) halógeno y
- b) sulfoniloxi.

Halógeno es cloro, bromo o yodo. Preferentemente, halógeno es bromo o cloro.

En una forma de realización preferida, sulfoniloxi se selecciona del grupo que consiste en metanosulfoniloxi, *p*-toluenosulfoniloxi, trifluorometilsulfoniloxi, 4-cianofenilsulfoniloxi, 4-bromofenilsulfoniloxi, 4-nitrofenilsulfoniloxi, 2-nitrofenilsulfoniloxi, 4-isopropil-fenilsulfoniloxi, 2,4,6-triisopropil-fenilsulfoniloxi, 2,4,6-trimetilfenilsulfoniloxi, 4-*tert*-butil-fenilsulfoniloxi, 4-adamantilfenilsulfoniloxi y 4-metoxifenilsulfoniloxi.

40

En una forma de realización más preferida, sulfoniloxi se selecciona del grupo que comprende:

45

- a) metanosulfoniloxi,
- b) *p*-toluenosulfoniloxi,
- c) (4-nitrofenil)sulfoniloxi,
- d) (4-bromofenil)sulfoniloxi.

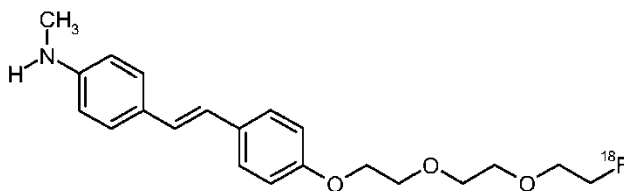
50

En una forma de realización incluso más preferida, LG es metanosulfoniloxi.

En otra forma de realización incluso más preferida, LG es *p*-toluenosulfoniloxi.

Un compuesto preferido de Fórmula I es:

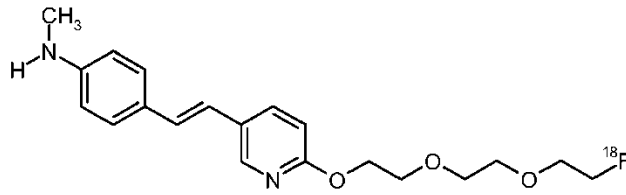
55



4-[(*E*)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}fenil)vinil]-*N*-metilanilina.

60

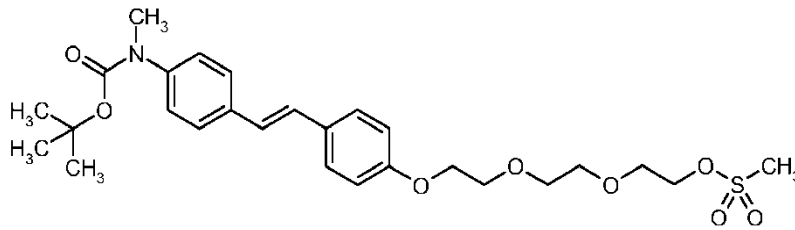
Otro compuesto preferido de Fórmula I es:



4-[(E)-2-(6-(2-[2-(2-[F-18]fluoroethoxy)ethoxy]ethoxy)piridin-3-il)vinil]-N-metilanolina.

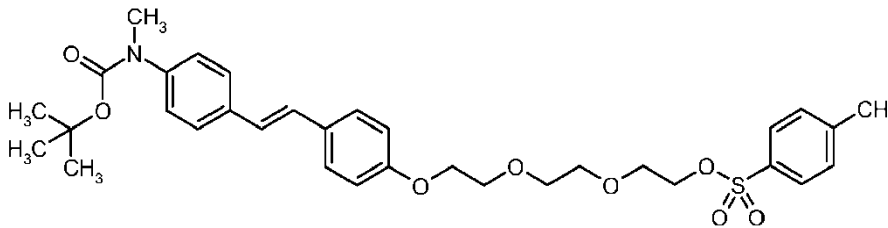
5

Un compuesto preferido de Fórmula II es:



10 Metanosulfonato de 2-[2-(2-(4-[(E)-2-(4-[(*tert*-butoxicarbonil)(metil)amino]fenil)vinil]fenoxi)-etoxi)etoxi]etilo.

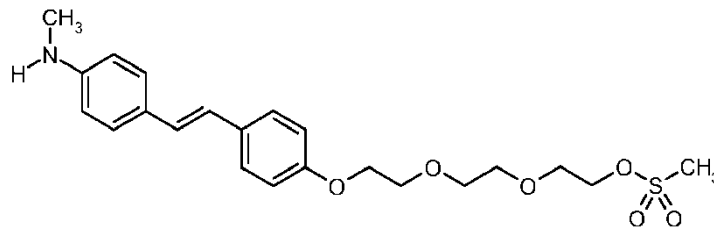
Otro compuesto preferido de Fórmula II es:



15

4-metilbencenosulfonato de 2-[2-(2-(4-[(E)-2-(4-[(*tert*-butoxicarbonil)(metil)amino]fenil)vinil]fenoxi)-etoxi)etoxi]etilo

Otro compuesto preferido de Fórmula II es:

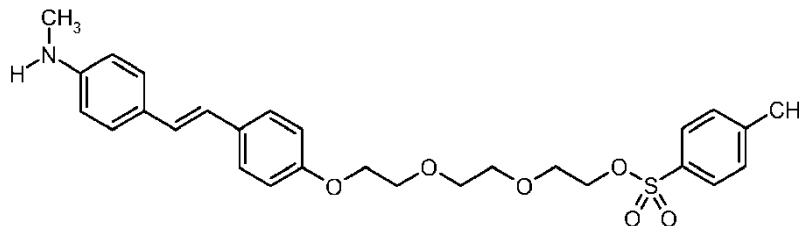


20

4-metilbencenosulfonato de 2-[2-(2-(4-[(E)-2-(4-(metilamino)fenil)vinil]fenoxi)etoxi)etoxi]etilo

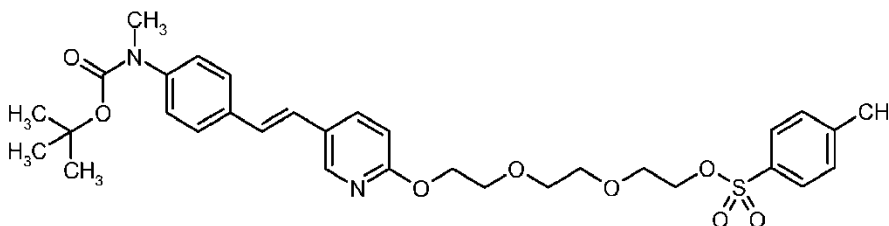
Otro compuesto preferido de Fórmula II es:

25



4-metilbencenosulfonato de 2-[2-(2-(4-[(E)-2-(4-(metilamino)fenil)vinil]fenoxi)etoxi)etoxi]etilo

30 Otro compuesto preferido de Fórmula II es:



4-metilbencenosulfonato de 2-{2-[2-((E)-2-{(terc-butoxicarbonil)(metil)amino]fenil}vinil]piridin-2-il}oxi)etoxi]etoxi}etilo

5

La Etapa 1 comprende una reacción de marcaje con [F-18]fluoro directa de compuestos de Fórmula II para obtener el compuesto de Fórmula I (si R = H), o el compuesto de Fórmula III (si R = PG).

10

El procedimiento de radiomarcaje comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II con un agente fluorante con F-18 para obtener un compuesto de Fórmula III o un compuesto de Fórmula I. En una forma de realización preferida, el derivado de [F-18]fluoruro es 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]-hexacosano K[F-18]F (Kryptofix K[F-18]F), K[F-18]F, H[F-18]F, KH[F-18]F₂, Cs[F-18]F, Na[F-18]F o sal de [F-18]F de tetraalquilamonio (por ejemplo, [F-18]fluoruro de tetrabutilamonio). Más preferentemente, el agente de fluoración es K[F-18]F, H[F-18]F, [F-18]fluoruro de tetrabutilamonio, Cs[F-18]F o KH[F-18]F₂, todavía más preferentemente K[F-18]F, Cs[F-18]F o [F-18]fluoruro de tetrabutilamonio.

15

Un agente fluorante con F-18 incluso más preferido es kryptofix/[F-18]fluoruro de potasio, preferentemente generado a partir de [F-18]fluoruro, kryptofix y carbonato de potasio.

20

Las reacciones de radiofluoración se llevan a cabo en acetonitrilo, dimetilsulfóxido o dimetilformamida, o una mezcla de los mismos. Pero también se pueden usar otros disolventes que son bien conocidos por un experto en la materia. El agua y/o los alcoholes pueden estar implicados en tal reacción como codisolventes. Las reacciones de radiofluoración se llevan a cabo durante menos de 60 minutos. Los tiempos de reacción preferidos son menores que 30 minutos. Otros tiempos de reacción preferidos son menores de 15 min. Éstas y otras condiciones para tal radiofluoración son conocidas por los expertos (Coenen, Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions, (2006), en: Schubiger P.A., Friebe M., Lehmann L., (eds), PET-Chemistry - The Driving Force in Molecular Imaging. Springer, Berlin Heidelberg, p. 15-50).

25

30

En una forma de realización, en la Etapa 1 se usan 7,5-75 μ moles, preferentemente 10-50 μ moles, más preferentemente 10-30 μ moles, e incluso más preferentemente 12-25 μ moles, e incluso más preferentemente 13-25 μ moles de compuesto de Fórmula II.

35

En otra forma de realización, en la Etapa 1 se usan más de 7,5 μ moles, preferentemente más de 10 μ moles, y más preferible más de 12 μ moles, e incluso más preferentemente más de 13 μ moles de compuesto de Fórmula II.

40

En otra forma de realización, en la Etapa 1 se usan más de 5 mg, preferentemente más de 6 mg, y más preferentemente más de 7 mg de compuesto de Fórmula II.

En otra forma de realización, en la Etapa 1 se usan 7 mg de compuesto de Fórmula II.

45

En una forma de realización preferida, la radiofluoración del compuesto de Fórmula II se lleva a cabo en acetonitrilo o en una mezcla de acetonitrilo y codisolventes, en la que el porcentaje de acetonitrilo es al menos 50%, más preferentemente al menos 70%, incluso más preferentemente al menos 90%.

50

Opcionalmente, si R = PG, la Etapa 2 comprende la desprotección del compuesto de Fórmula III para obtener el compuesto de Fórmula I.

55

Las condiciones de reacción son conocidas por u obvias un experto en la materia, que se escogen de las descritas en el libro texto Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, tercera edición, página 494-653. Las condiciones de reacción preferidas son adición de un ácido y agitación a 0°C-180°C; adición de una base y calentamiento a 0°C-180°C, o una combinación de las mismas.

Preferiblemente, la etapa 1 y etapa 2 se llevan a cabo en la misma vasija de reacción.

La Etapa 3 comprende la purificación y formulación del compuesto de Fórmula I usando un sistema de

separación mediante HPLC, en el que el eluyente del disolvente de HPLC (por ejemplo, mezclas de etanol y amortiguadores acuosos) puede ser parte de la Formulación inyectable del compuesto de Fórmula I. La fracción del producto recogida se puede diluir o mezclar con otras partes de la Formulación. La mezcla de disolventes de HPLC consiste en etanol o un amortiguador acuoso o una mezcla de etanol/amortiguador acuoso, en la que el amortiguador acuoso consiste en componentes o excipientes que se pueden inyectar en un ser humano. Los ejemplos de tales amortiguadores acuosos son disoluciones de cloruro de sodio, amortiguador de fosfato de sodio, ácido ascórbico, amortiguador de ascorbato, o mezclas de los mismos.

En una forma de realización preferida, el procedimiento para fabricar el compuesto de Fórmula I se lleva a cabo usando un módulo (revisión: Krasikowa, Synthesis Modules and Automation in F-18 labeling (2006), en: Schubiger P.A., Friebe M., Lehmann L., (eds), PET-Chemistry - The Driving Force in Molecular Imaging. Springer, Berlin Heidelberg, p. 289-316), que permite una síntesis automatizada. Más preferentemente, el procedimiento se lleva a cabo usando un módulo de un solo recipiente. Todavía más preferentemente, el procedimiento se lleva a cabo en módulos de tipo no de casete conocidos normalmente (por ejemplo, Eckert&Ziegler Modular-Lab, GE Tracerlab FX, Raytest SynChrom) y módulos de tipo casete (por ejemplo GE Tracerlab MX, GE Fastlab, IBA Synthera, Eckert&Ziegler Modular-Lab PharmTracer); opcionalmente, se adjuntan a los mencionados módulos otros equipos tales como dispositivos de HPLC o de distribución.

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento totalmente automatizado y/o controlado remotamente para la producción del compuesto de Fórmula I, en el que los compuestos de Fórmula I, II y III y las Etapas 1, 2 y 3 se describen anteriormente. En una forma de realización preferida, este procedimiento es un procedimiento totalmente automatizado, que cumple las directrices de las GMP, que proporciona una Formulación de Fórmula I para el uso de la administración (inyección) en el ser humano. También se describe en la presente memoria un kit para la producción de una composición farmacéutica del compuesto de Fórmula I. El kit puede comprender un vial cerrado herméticamente que contiene una cantidad predeterminada del compuesto de Fórmula II. Preferentemente, el kit contiene 1,5-75 μ moles, preferentemente 7,5-50 μ moles, más preferentemente 10-50 μ moles, e incluso más preferentemente 12-25 μ moles, e incluso más preferentemente 12-25 μ moles, e incluso más preferentemente 13-25 μ moles de compuesto de Fórmula II. El kit puede contener más de 7,5 μ moles, preferentemente más de 10 μ moles, y más preferentemente más de 12 μ moles, e incluso más preferentemente más de 13 μ moles de compuesto de Fórmula II. El kit puede contener más de 5 mg, preferentemente de más de 6 mg, y más preferentemente más de 7 mg de compuesto de Fórmula II. El kit puede contener 7 mg de compuesto de Fórmula II. El kit puede contener 8 mg de compuesto de Fórmula II. El kit también contiene un disolvente o mezcla de disolventes, o los componentes para el disolvente (mezcla) para la purificación mediante HPLC, en el que ese disolvente, mezcla de disolventes, o componentes son apropiados para el uso directo para inyección en un paciente. Opcionalmente, el kit contiene otros componentes para fabricar el compuesto de Fórmula I, tales como cartuchos de extracción en fase sólida, reactivo para la fluoración (como se describe anteriormente), acetonitrilo o acetonitrilo y un codisolvente, reactivo para la escisión del grupo de desprotección, disolvente o mezclas de disolventes para la purificación, disolventes y excipiente para la Formulación.

En una forma de realización, el kit contiene una plataforma (por ejemplo, casete) para un "módulo tipo casete" (tal como Tracerlab MX o IBA Synthera).

Definiciones

En el contexto de la presente invención, las sales preferidas son sales farmacéuticamente adecuadas de los compuestos según la invención. La invención también comprende sales que por su parte no son adecuadas para aplicaciones farmacéuticas, pero que se pueden usar, por ejemplo, para aislar o purificar los compuestos según la invención.

Las sales farmacéuticamente adecuadas de los compuestos según la invención incluyen sales de adición de ácidos de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, por ejemplo sales de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

Las sales farmacéuticamente adecuadas de los compuestos según la invención también incluyen sales de bases habituales, tales como, a título de ejemplo y a título de preferencia, sales de metales alcalinos (por ejemplo, sales de sodio y sales de potasio), sales de metales alcalino-térreos (por ejemplo, sales de calcio y sales de magnesio) y sales de amonio, derivadas de amoníaco o aminas orgánicas que tienen 1 a 16 átomos de carbono, tales como, a título de ejemplo y a título de preferencia, etilamina, dietilamina, trietilamina, etildiisopropilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitlohexilamina, dimetilaminoetanol, procaína, dibencilamina, N-metilmorfolina, arginina, lisina, etilendiamina y N-metilpiperidina

El término halógeno o halo se refiere a Cl, Br, F o I.

La expresión “grupo protector de amina”, como se utiliza por sí misma o como parte de otro grupo, es conocida u obvia para alguien experto en la materia, que se selecciona de una clase de grupos protectores, a saber, carbamatos, amidas, imidas, N-alquilaminas, N-arilaminas, iminas, enaminas, boranos, grupos protectores de N-P, N-sulfenilo, N-sulfonilo y N-sililo, y que se escoge de los descritos en el libro de texto de Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, tercera edición, página 494-653. El grupo protector de amina es preferentemente carbobenciloxi (Cbz), *p*-metoxibencilcarbonilo (Moz o MeOZ), *tert*-butiloxicarbonilo (BOC), 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), bencilo (Bn), *p*-metoxibencilo (PMB), 3,4-dimetoxibencilo (DMPM), *p*-metoxifenilo (PMP), o el grupo amino protegido es un 1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-ilo (ftalimido) o un grupo azido.

La expresión “grupo saliente”, como se utiliza en la presente memoria por sí misma o como parte de otro grupo, es conocida u obvia para alguien experto en la materia, y significa que un átomo o grupo de átomos es desprendible de una sustancia química por un agente nucleófilo. En Synthesis (1982), p. 85-125, tabla 2 (p. 86; (la última entrada de esta tabla 2 necesita ser corregida: “n-C₄F₉S(O)₂-O- nonaflat” en lugar de “n-C₄H₉S(O)₂-O-nonaflat”), Carey y Sundberg, Organische Synthese, (1995), páginas 279-281, tabla 5.8; o Netscher, Recent Res. Dev. Org. Chem., 2003, 7, 71-83, esquemas 1, 2, 10 y 15 y otros), por ejemplo, se dan ejemplos. (Coenen, Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions, (2006), en: Schubiger P.A., Friebe M., Lehmann L., (eds), PET-Chemistry - The Driving Force in Molecular Imaging. Springer, Berlin Heidelberg, p. 15-50, explícitamente: esquema 4 p. 25, esquema 5 p. 28, tabla 4 p. 30, figura 7 p. 33).

El término sulfonilo se refiere a -O-S(O)₂-Q, en el que Q es arilo opcionalmente sustituido o alquilo opcionalmente sustituido.

El término “alquilo”, como se utiliza en la presente memoria por sí mismo o como parte de otro grupo, se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificado de C₁-C₁₀, tal como, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, *tert*-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, heptilo, hexilo, decilo o adamantilo. Preferentemente, alquilo es alquilo de cadena lineal o ramificado de C₁-C₆, o alquilo de cadena lineal o ramificado de C₇-C₁₀. Alquilo inferior es un alquilo de cadena lineal o ramificado de C₁-C₆.

El término “arilo”, como se utiliza en la presente memoria por sí mismo o como parte de otro grupo, se refiere a grupos aromáticos monocíclicos o bicíclicos que contienen de 6 a 10 carbonos en la porción anular, tal como fenilo, naftilo o tetrahidronaftilo.

Siempre que se use el término “sustituido”, se quiere hacer referencia a que uno o más hidrógenos en el átomo indicado en la expresión que usa “sustituido” está/están sustituidos por uno o más restos del grupo que comprende halógeno, nitro, ciano, trifluorometilo, alquilo y O-alquilo, con la condición de que no se supere la valencia normal del átomo respectivo, y de que la sustitución dé como resultado un compuesto químicamente estable, es decir, un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento hasta un grado útil de pureza de una mezcla de reacción.

Excepto que se especifique lo contrario, cuando se haga referencia a los compuestos de Fórmula de la presente invención per se, así como a cualquier composición farmacéutica de los mismos, la presente invención incluye todos los hidratos y sales. El término “F-18” significa el isótopo de flúor ¹⁸F. El término “F-19” significa el isótopo de flúor ¹⁹F.

Ejemplos

Determinación de la pureza radioquímica y química

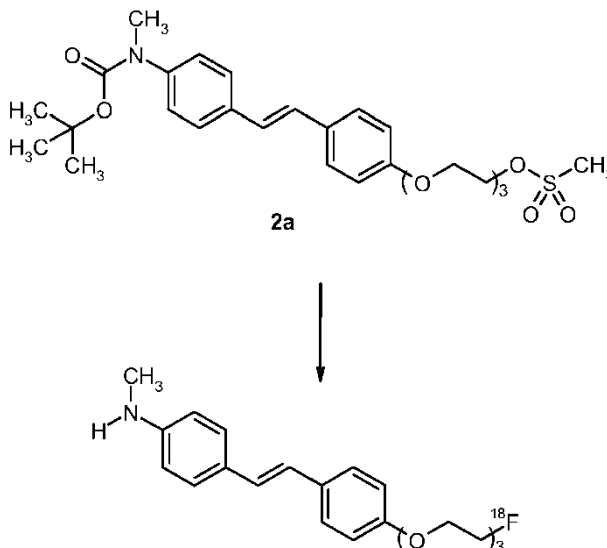
Las purezas radioquímicas y químicas de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]fenil}vinil)-N-metilnilina y 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]fenil}vinil)-N-metilnilina se determinaron mediante HPLC analítica (columna: Atlantis T3; 150 x 4,6 mm, 3 μm, Waters; disolvente A: K₂HPO₄ 5 mM pH 2,2; disolvente B: acetonitrilo; caudal: 2 ml/min., gradiente: 0:00 min. 40% B, 0:00-05:50 min. 40-90% B, 05:50-05:60 min. 90-40% B, 05:60-09:00 min. 40% B).

- Tiempo de retención de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]fenil}vinil)-N-metilnilina: 3,5-3,9 min., dependiendo del sistema de HPLC usado para el control de calidad. Debido a diferentes equipos (por ejemplo, tuberías), se observa una diferencia en el tiempo de retención entre los diferentes sistemas de HPLC. La identidad de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]fenil}vinil)-N-metilnilina se verificó mediante coinyección con la referencia no radioactiva 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-19]fluoroetoxi)etoxi]fenil}vinil)-N-metilnilina.
- Tiempo de retención de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il}vinil)-N-metilnilina: 3.47 min. La identidad de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il}vinil)-N-metilnilina se verificó mediante coelución con la referencia no radioactiva 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-19]fluoroetoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il}vinil)-N-metilnilina.

etoxi)piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina.

Ejemplo 1. Síntesis de radiosíntesis de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina en un Eckert&Ziegler modular lab

5



4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina

10 La síntesis de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina se ha llevado a cabo en un sintetizador de Eckert&Ziegler modular lab. Se atrapó [F-18]fluoruro (60362 MBq) en un cartucho QMA. La actividad se eluyó con una mezcla de mesitato potásico/kryptofix/n-Bu₄NHCO₃/metanol en el reactor. El disolvente se eliminó mientras se calentaba bajo una corriente suave de nitrógeno y a vacío. El secado se repitió tras la adición de acetonitrilo. Se añadió al resto seco una disolución de 4 mg de 2a en 1 ml de alcohol *terc*-amílico/acetonitrilo (9:1), y la mezcla se calentó durante 20 min. a 120°C. Durante el calentamiento, el sistema de evacuación del reactor se abrió para permitir la evaporación del disolvente. Se añadió una mezcla de 2,2 ml de HCl 1,5 M, 1,1 ml de acetonitrilo y 30 mg de ascorbato de sodio, y el reactor se calentó a 100°C durante 10 min. El producto bruto se neutralizó (1,5 ml de NaOH 2M + 0,3 ml de amortiguador), y se transfirió a una columna de HPLC semipreparativa (Synergy Hydro-RP, 250 x 10 mm, Phenomenex). Se hizo pasar a través de la columna una mezcla de 60% de etanol y 40% de amortiguador de ascorbato (pH 7,0), con 3 ml/min. La fracción del producto a ≈18 min. (figura 2) se recogió directamente en el vial del producto que contiene 8,5 ml de base de Formulación (amortiguador de fosfato, ácido ascórbico, PEG400). La HPLC analítica del producto final (figura 3) mostró una pureza radioquímica y química excelente. Solamente se ha detectado 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina fría en el cromatograma de UV (figura 3, abajo), y todas las impurezas no radioactivas se han separado. Se determinó que la pureza radioquímica era 99,6%.

Ejemplo 2. Síntesis de radiosíntesis de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina en Tracerlab FX_N

30 Se ha adoptado un sintetizador Tracerlab FX_N para el “enfoque de HPLC de corte directo” (figura 4).

35 Se atrapó [F-18]fluoruro (3700 MBq) en un cartucho QMA. La actividad se eluyó con una mezcla de carbonato potásico/kryptofix/acetonitrilo/agua en el reactor. El disolvente se eliminó mientras se calentaba bajo una corriente suave de nitrógeno y a vacío. El secado se repitió tras la adición de acetonitrilo. Se añadió una disolución de 7 mg de 2a en 1 ml de acetonitrilo al residuo seco, y la mezcla se calentó durante 8 min. a 120°C. Tras enfriar hasta 60°C, se añadió una mezcla de 0,5 ml de HCl 2M y 0,5 ml de acetonitrilo, y el reactor se calentó a 110°C durante 4 min. El producto bruto se neutralizó (1 ml de NaOH 1M + 2 ml de amortiguador), y se transfirió a una columna de HPLC semipreparativa (Synergy Hydro-RP, 250 x 10 mm, Phenomenex). Se hizo pasar una mezcla de 60% de etanol y 40% de amortiguador de ascorbato (pH 7,0) a través de la columna con 3 ml/min. La fracción del producto a ≈16 min. (figura 2) se recogió directamente en el vial del producto que contiene 8,5 de base de Formulación (amortiguador de fosfato, ácido ascórbico, PEG400). Se determinó que la pureza radioquímica era >99%.

Ejemplo 3. Síntesis de radiosíntesis de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina en Tracerlab MX y una unidad de purificación Eckert&Ziegler

45

Para la síntesis de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina se ha ensamblado un

kit (Tabla 1).

Tabla 1. Composición del kit para fabricar 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi}fenil)vinil]-N-metilnilina en tracerlab MX y una unidad de purificación Eckert&Ziegler

Vial del eluyente	22 mg de kryptofix. 7 mg de carbonato de potasio en 300 µl de agua + 300 µl de acetonitrilo
Vial de tapa azul	8 ml de acetonitrilo
Vial de tapa roja	8 mg de precursor 2a
Vial de tapa verde	2 ml de HCl 1,5M + 30 mg de ascorbato de sodio
Jeringuilla de 2 ml	1,5 ml de NaOH 2M + 0,3 ml de amortiguador de fosfato
Bolsa de agua	Agua
Línea de producto a unidad de purificación Eckert&Ziegler	Tubo con ajustes de cierre roscado de ajuste hermético (<i>luer</i>)
Cartucho de intercambio aniónico	QMA light, Waters (preacondicionado)
Válvula de 3 vías desechable	Con tubería y aguja al vial del producto, incl. filtros estériles
Vial del producto	Vial de 20 ml
Base de Formulación	8,5 ml (PEG 400, Na ₂ HPO ₄ ·H ₂ O, ácido ascórbico en agua)
Disolvente de HPLC	- etanol - agua - ascorbato de sodio - ácido ascórbico
Caudal de HPLC	3 ml/min

Se adoptó el diseño del casete Tracerlab MX (figura 5). Se atrapó [F-18]fluoruro en el cartucho QMA. La actividad se eluyó con mezcla de carbonato potásico/kryptofix/acetonitrilo/agua (del "vial de eluyente") en el reactor. El disolvente se eliminó mientras se calentaba bajo una corriente suave de nitrógeno y a vacío. El secado se repitió tras la adición de acetonitrilo. Se añadió una disolución de 8 mg de 2a en 1,8 ml de acetonitrilo (se añadió acetonitrilo del "vial con una tapa azul" a 2a sólido en el "vial con tapa roja" durante la secuencia) al resto seco, y la mezcla se calentó durante 10 min. a 120°C. Se añadió HCl 5M (procedente del "vial con tapa verde"), y el reactor se calentó a 110°C durante 5 min. El producto bruto se neutralizó (1 ml de NaOH 1M + 0,3 ml de amortiguador, procedente de la "jeringuilla de 2 ml"), y se transfirió a la válvula de inyección de la HPLC de Eckert&Ziegler (figura 6) mediante la bomba de jeringuilla izquierda del módulo MX. El producto bruto se purificó en una columna de HPLC Synergy Hydro-RP, 250 x 10 mm, Phenomenex, usando una mezcla de 60% de etanol y 40% de amortiguador de ascorbato (pH 7,0). La fracción del producto a ≈17,5 min. (figura 2) se recogió directamente en el vial del producto que contiene 8,5 de base de Formulación (amortiguador de fosfato, ácido ascórbico, PEG400).

Ejemplo 4. Síntesis de radiosíntesis de 4-[(E)-2-(4-(2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]etoxi)fenil)vinil]-N-metilnilina en un Eckert&Ziegler modular lab

La síntesis se ha llevado a cabo en un sintetizador Eckert & Ziegler ModularLab usando acetonitrilo como disolvente para la fluoración. En la Tabla 2 se resumen el montaje del sintetizador y los resultados.

Se atrapó [F-18]fluoruro en un cartucho QMA (C1). La actividad se eluyó con una mezcla de kryptofix (procedente de "V1") en el reactor. El disolvente se eliminó mientras se calentaba bajo una corriente suave de nitrógeno y a vacío. El secado se repitió tras la adición de 100 µl de acetonitrilo (procedente de "V2"). La disolución de precursor 2a (procedente de "V3") se añadió al residuo seco, y la mezcla se calentó durante 10 min. a 120°C. Tras enfriar hasta 40°C, se añadieron 2 ml de HCl 1,5 M (procedente de "V4"), y la disolución se calentó durante 5 min. a 110°C.

La mezcla de producto bruto se diluyó con 1,2 ml de NaOH 2M y 0,8 ml de formiato de amonio (1M) procedente del vial "V5", y entonces se transfirió al vial de HPLC ("Vial de Mezcla") que contiene previamente 1 ml de acetonitrilo y 0,5 ml de etanol.

La mezcla se transfirió al circuito de inyección de muestra de 10 ml de la HPLC semipreparativa usando una sobrepresión de nitrógeno en el vial de HPLC ("Vial de Mezcla") y vía un sensor de líquido que controló el final de la carga. La mezcla se cargó a una columna de HPLC semipreparativa (Synergi Hydro-RP, 250 x 10 mm, Phenomenex). Se hizo pasar una mezcla de 60% de etanol y 40% de amortiguador de ascorbato a través de la columna con 6 ml/min. La fracción del producto a ≈7 min. se recogió directamente en el vial del producto que contiene 15 ml de base de Formulación (que consiste en amortiguador de fosfato, PEG400 y ácido ascórbico). La HPLC analítica del producto final mostró una pureza radioquímica y química excelente. No se cuantificó ninguna impureza mayor que 0,3 µg/ml.

Tabla 2

Vial V1	22 mg de kryptofix 7 mg de carbonato de potasio 300 µl de acetonitrilo 300 µl de agua
Vial V2	100 µl de acetonitrilo
Vial V3	8 mg de precursor 2a en 1,8 ml de acetonitrilo
Vial V4	2 ml de HCl 1,5M
Vial V5	1,2 ml de NaOH 2,0M 800 µl de formiato de amonio 1 M
Cartucho C1	QMA light (Waters) acondicionado con carbonato de potasio 0,5M
Vial de Mezcla	1 ml de acetonitrilo 500 µl de etanol
Columna de HPLC	Synergi Hydro-RP, 250*10 mm, 10 µm 80Å, Phenomenex
Disolvente de HPLC	60% de etanol, 40% de amortiguador de ascorbato (ascorbato de sodio 5 g/l y ácido ascórbico 50 mg/l)
Caudal de HPLC	6 ml/min
Actividad de inicio de [F-18]fluoruro	46,0 GBq
Actividad del producto	19,4 GBq
Radiopureza del producto (RCP)	99%
Rendimiento radioquímico	42% (no corregido para la desintegración)

5 **Ejemplo 5. Síntesis de radiosíntesis de 4-[(E)-2-(4-(2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi)-etoxi)fenil)vinil]-N-metilnilina en tracerlab MX y unidad de purificación Eckert&Ziegler**

10 La síntesis se llevó a cabo en un sintetizador GE Tracerlab MX, y la purificación de 4 se ha llevado a cabo en una unidad de purificación Eckert & Ziegler. El llenado del circuito de inyección de la HPLC se controló usando la jeringuilla del módulo de MX. El montaje de ambos autómatas y los resultados se resumen en la Tabla a continuación. Se atrapó [F-18]fluoruro en un cartucho QMA (C1). La actividad se eluyó con una mezcla de kryptofix (procedente de "V1") en el reactor. El disolvente se eliminó mientras se calentaba bajo una corriente suave de nitrógeno y a vacío. El secado se repitió tras la adición de acetonitrilo (procedente de "V2"). Se añadió la disolución de precursor 2a (procedente de "V3") al residuo seco, y la mezcla se calentó durante 10 min. a 120°C. Tras enfriar hasta 40°C, se añadieron 2 ml de HCl 1,5M (procedente de "V4"), y la disolución se calentó durante 5 min. a 110°C.

15 La mezcla de producto bruto se diluyó con 1,2 ml de NaOH 2M y 0,8 ml de formiato de amonio (1M) de la jeringuilla "S1", y entonces se transfirió al vial de HPLC ("Vial de Mezcla"), en el que se añadieron por separado 1 ml de acetonitrilo (procedente de "V2") y 0,5 ml de etanol (procedente de "V5").

20 La mezcla promedio de 6-7 ml se transfirió a una jeringuilla de 30 ml, que entonces empujó la totalidad del volumen en el circuito de inyección de muestra de 10 ml de la HPLC semipreparativa. La mezcla se cargó a la columna de HPLC semipreparativa (Synergi Hydro-RP, 250 x 10 mm, Phenomenex). Se hizo pasar una mezcla de 60% de etanol y 40% de amortiguador de ascorbato a través de la columna con 6 ml/min. La fracción del producto a ≈9 min. se recogió directamente durante 50 s en el vial del producto que contiene 15 ml de base de Formulación (que consiste en amortiguador de fosfato, PEG400 y ácido ascórbico). La HPLC analítica del producto final mostró una pureza radioquímica y química excelente. No se cuantificó ninguna impureza mayor que 0,5 µg/ml.

30 Tabla 3

Vial V1	22 mg de kryptofix 7 mg de carbonato de potasio 300 µl de acetonitrilo 300 µl de agua
Vial V2	8 ml de acetonitrilo
Vial V3	8 mg de precursor en 1,8 ml de acetonitrilo
Vial V4	2 ml de HCl 1,5M
Vial V5	8 ml de etanol
Jeringuilla S1	1,2 ml de NaOH 2,0M 800 µl de formiato de amonio 1 M
Cartucho C1	QMA light (Waters) acondicionado con carbonato de potasio 0,5M

Columna de HPLC	Synergi Hydro-RP, 250*x10 mm, 10 µm 80Å, Phenomenex
Disolvente de HPLC	60% de etanol, 40% de amortiguador de ascorbato (ascorbato de sodio 5 g/l y ácido ascórbico 50 mg/l)
Caudal de HPLC	6 ml/min
Actividad de inicio de [F-18]fluoruro	36,9 GBq
Actividad del producto	14,2 GBq
Radiopureza del producto (RCP)	100%
Rendimiento radioquímico	38% (no corregido para la desintegración)

Ejemplo 6. síntesis de radiosíntesis de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilnilina en Tracerlab MX y una unidad de purificación Eckert&Ziegler

- 5 La síntesis se llevó a cabo en un sintetizador GE Tracerlab MX, y la purificación de 4 se ha llevado a cabo en una unidad de purificación Eckert & Ziegler. El llenado del circuito de inyección de la HPLC se controló mediante un detector de fluidos de la unidad de purificación Eckert&Ziegler. El montaje de ambos autómatas y los resultados se resumen en la Tabla a continuación. Se atrapó [F-18]fluoruro en un cartucho QMA (C1). La actividad se eluyó con una mezcla de kryptofix (procedente de "V1") en el reactor. El disolvente se eliminó mientras se calentaba bajo una corriente suave de nitrógeno y a vacío. El secado se repitió tras la adición de acetonitrilo (procedente de "V2"). Se añadió la disolución de precursor (procedente de "V3") al residuo seco, y la mezcla se calentó durante 10 min. a 120°C. Tras enfriar hasta 40°C, se añadieron 2 ml de HCl 1,5M (procedente de "V4"), y la disolución se calentó durante 5 min. a 110°C.
- 10
- 15 La mezcla de producto bruto se diluyó con 1,2 ml de NaOH 2M y 0,8 ml de formiato de amonio (1M) de la jeringuilla "S1". Se añadieron por separado 1 ml de acetonitrilo (procedente de "V2") y 0,5 ml de etanol (procedente de "V5"), y entonces se transfirió a la jeringuilla derecha del autómata GE TracerLab MX.
- 20 La mezcla se transfirió al circuito de inyección de muestra de 10 ml de la HPLC semipreparativa usando la jeringuilla derecha del autómata GE TracerLab MX vía un sensor de líquidos que controló el final de la carga. La mezcla se cargó a la columna de HPLC semipreparativa (Synergi Hydro-RP, 250 x 10 mm, Phenomenex). Se hizo pasar una mezcla de 60% de etanol y 40% de amortiguador de ascorbato a través de la columna con 6 ml/min. La fracción del producto a ≈9 min. se recogió directamente durante 50 s en el vial del producto que contiene 15 ml de base de Formulación (que consiste en amortiguador de fosfato, PEG400 y ácido ascórbico). La HPLC analítica del producto final mostró una pureza radioquímica y química excelente. No se cuantificó ninguna impureza mayor que 0,7 µg/ml.
- 25

Tabla 4

Vial V1	22 mg de kryptofix 7 mg de carbonato de potasio 300 µl de acetonitrilo 300 µl de agua
Vial V2	8 ml de acetonitrilo
Vial V3	8 mg de precursor en 1,8 ml de acetonitrilo
Vial V4	2 ml de HCl 1,5M
Vial V5	8 ml de etanol
Jeringuilla S1	1,2 ml de NaOH 2,0M 800 µl de formiato de amonio 1 M
Cartucho C1	QMA light (Waters) acondicionado con carbonato de potasio 0,5M
Columna de HPLC	Synergi Hydro-RP, 250*x10 mm, 10 µm 80Å, Phenomenex
Disolvente de HPLC	60% de etanol, 40% de amortiguador de ascorbato (ascorbato de sodio 5 g/l y ácido ascórbico 50 mg/l)
Caudal de HPLC	6 ml/min
Actividad de inicio de [F-18]fluoruro	62,2 GBq
Actividad del producto	24,8 GBq
Radioactividad del producto (RCP)	100%
Rendimiento radioquímico	40% (no corregido para la desintegración)

30

Ejemplo 7. Influencia del procedimiento de purificación sobre la pureza radioquímica

Se llevó a cabo una serie de síntesis de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilnilina en dos sintetizadores diferentes (Eckert & Ziegler modular lab y GE tracerlab MX) como se describe de forma

general en los ejemplos 1, 3-6. Los radiomarcajes se han llevado a cabo usando 4-10 mg de precursor 2a en acetonitrilo, así como en mezcla de alcohol terc-amílico/acetonitrilo a 100-120°C durante 10-20 min. (en el caso de los radiomarcajes en alcohol terc-amílico, el disolvente se evaporó previamente a la desprotección). El grupo protector de N-Boc se eliminó calentando con HCl (1,5M-2M).

5 Las mezclas de producto bruto se purificaron individualmente mediante uno de los dos procedimientos A) o B).

Método A):

10 La mezcla de producto bruto obtenida tras la desprotección se neutraliza con una mezcla de NaOH 2M y formiato de amonio 0,1M, y se inyecta en una HPLC semipreparativa (por ejemplo columna: Gemini C18, 10 x 250 mm, 5 µm, Phenomenex; disolvente: 70% de acetonitrilo, 30% de amortiguador de formiato de amonio 0,1M con ascorbato sódico 5 mg/ml, caudal 3 ml/min.). La fracción del producto se recoge en un matraz que contiene aprox. 160 ml de agua con ascorbato sódico 10 mg/ml. La mezcla se hace pasar a través de un cartucho C18
15 (tC18 SepPak environmental, Waters). El cartucho se lava con aprox. 8-10 ml de EtOH al 20% en agua (que contiene ascorbato sódico 10 mg/ml). Finalmente, el producto se eluye con 1,5 a 3 ml de etanol en un vial que contiene 8,5 a 17 ml de "base de Formulación" (que comprende PEG400, amortiguador de fosfato y ácido ascórbico).

20 Método B):

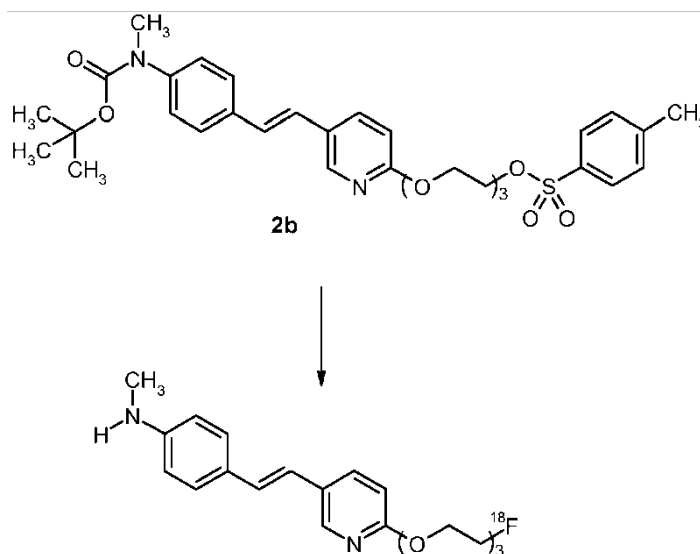
La mezcla de producto bruto obtenida tras la desprotección se neutraliza con una mezcla de NaOH 2M y formiato de amonio 0,1M, y se inyecta en una HPLC semipreparativa (columna: por ejemplo: Gemini C18, 10 x 250 mm, 5 µm, Phenomenex o Synergi Hydro-RP, 250 x 10 mm, 10 µm 80A, Phenomenex o Synergi Hydro-RP, 250 x 10
25 mm, 4 µm 80A, Phenomenex; disolvente: 60-70% de etanol, 40-30% de amortiguador de ascorbato ≈ 5 mg/ml de ascorbato; caudal 3 ml/min. o 4 ml/min. o 6 ml/min.). La fracción del producto se recoge directamente en un vial que contiene "base de la Formulación" (que comprende PEG400, amortiguador de fosfato y ácido ascórbico) para proporcionar 10-24 ml de la Formulación final. El tiempo de corte del pico se ajustó en el software para obtener una Formulación que comprende 15% de EtOH.

30 Cada cuadrado en blanco (cada uno resultante para una síntesis que comprende una purificación mediante el procedimiento A, 110 experimentos) y cada punto en negro (cada uno resultante para una síntesis que comprende una purificación mediante el procedimiento B, 105 experimentos) en la figura 9 representa un experimento individual para la fabricación de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilnilina. La tendencia de la pureza radioquímica en correlación con la radioactividad del producto final se ilustra mediante líneas de tendencia lineales.

35 La pureza radioquímica obtenida tras la HPLC con re-Formulación mediante SPE (método A) varía significativamente (figura 9, cuadrados en blanco). Especialmente a mayores niveles radioactivos (> 20 GBq), la pureza radioquímica es a menudo incluso ≤95%.

40 Por el contrario, la variabilidad es mucho menor para el procedimiento B). Se lograron purezas radioquímicas consistentemente elevadas de >95% a niveles de actividad del producto de más de 50 GBq, e incluso mayores que 100 GBq (figura 9, puntos negros).

45

Ejemplo 8. Síntesis de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}piridin-3-il)vinil]-N-metilanilina en Tracerlab FX_N

5

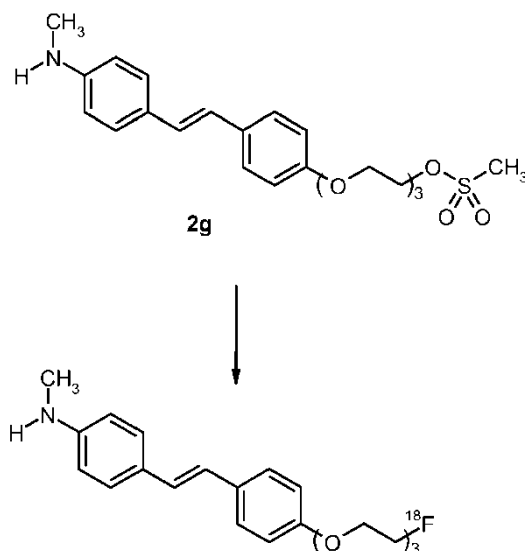
4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)piridin-3-il)-N-metilanilina

Se ha adoptado un sintetizador Tracerlab FX_N para el “enfoque de HPLC de corte directo” (figura 4).

- 10 Se atrapó [F-18]fluoruro (10 GBq) en un cartucho QMA. La actividad se eluyó con una mezcla de carbonato potásico/kryptofix/acetonitrilo/agua en el reactor. El disolvente se eliminó mientras se calentaba bajo una corriente suave de nitrógeno y a vacío. El secado se repitió tras la adición de acetonitrilo. Se añadió una disolución de 8 mg de 2b en 1,5 ml de acetonitrilo al residuo seco, y la mezcla se calentó durante 10 min. a 120°C. Tras enfriar hasta 60°C, se añadió 1 ml de HCl 1,5M, y el reactor se calentó a 110°C durante 5 min. El producto bruto se neutralizó (1 ml de NaOH 1M/formiato de amonio), se diluyó (con 0,5 ml de EtOH y 1,5 ml de MeCN) y se transfirió a una columna de HPLC semipreparativa (Synergy Hydro-RP, 250 x 10 mm, Phenomenex). Se hizo pasar una mezcla de 60% de etanol y 40% de amortiguador de ascorbato (ascorbato de sodio 5 g/l y ácido ascórbico 50 mg/l pH 7,0) a través de la columna con 3 ml/min. La fracción del producto a ≈10 min. (véase la figura 10) se recogió directamente durante 100 s y se mezcló con 15 ml de base de Formulación (amortiguador de fosfato, ácido ascórbico, PEG400).
- 20

Se obtuvieron 4,2 GBq (42% no corregido para desintegración) en un tiempo de síntesis global de 60 min. Se determinó que la pureza radioquímica (determinada mediante HPLC, t_R = 3,42 min.) era >99%.

- 25 **Ejemplo 9. Síntesis de 4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]-etoxi}fenil)vinil]-N-metilanilina en Tracerlab FX_N**



4-[(E)-2-(4-{2-[2-(2-[F-18]fluoroetoxi)etoxi]fenil}vinil)-N-metilnilina

Se ha adoptado un sintetizador Tracerlab FX_N para el “enfoco de HPLC de corte directo” (figura 4).

Se atrapó [F-18]fluoruro (6,85 GBq) en un cartucho QMA. La actividad se eluyó con una mezcla de carbonato potásico/kryptofix/acetoneitrilo/agua en el reactor. El disolvente se eliminó mientras se calentaba bajo una corriente suave de nitrógeno y a vacío. El secado se repitió tras la adición de acetoneitrilo. Se añadió una disolución de 8 mg de 2c en 1,5 ml de acetoneitrilo al residuo seco, y la mezcla se calentó durante 10 min. a 120°C. Tras enfriar hasta 60°C, el producto bruto se diluyó con 4 ml de eluyente de HPLC, y se transfirió a una columna de HPLC semipreparativa (Synergy Hydro-RP, 250 x 10 mm, Phenomenex). Se hizo pasar una mezcla de 60% de etanol y 40% de amortiguador de ascorbato (ascorbato de sodio 5 g/l y ácido ascórbico 50 mg/l pH 7,0) a través de la columna con 3 ml/min. La fracción del producto a ≈12 min. se recogió directamente durante 100 s y se mezcló con 15 ml de base de Formulación (amortiguador de fosfato, ácido ascórbico, PEG400).

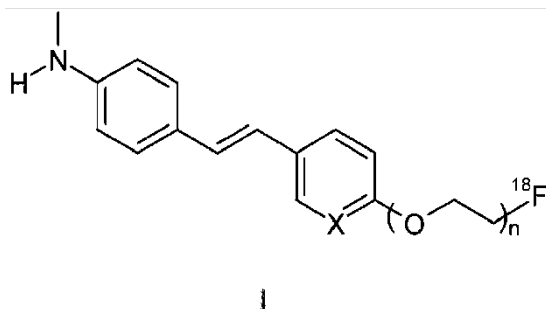
Se obtuvieron 2,54 GBq (37% no corregido para desintegración) en un tiempo de síntesis global de 53 min. Se determinó que la pureza radioquímica (determinada mediante HPLC, t_R = 3,78 min.) era >99%.

Descripción de las figuras

- figura 1 Montaje de Tracerlab FX_N para purificación con re-Formulación (adoptado del software de tracerlab).
- figura 2 Cromatograma de la purificación usando columna Synergy en un Eckert&Ziegler modular lab (canal de radioactividad)
- figura 3 HPLC analítica de producto radiomarcado (canal de radioactividad parte superior, canal de UV parte inferior)
- figura 4 Montaje de Tracerlab FX_N para purificación sin re-formulación (adoptado del software de tracerlab)
- figura 5 Montaje de Tracerlab MX (adoptado del software Coincidence FDG)
- figura 6 Montaje de la unidad de purificación Eckert&Ziegler (adoptado del software de Modular-Lab)
- figura 7 Ilustración esquemática del procedimiento y equipo para fabricar de (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminos fluoropegiladas marcadas con F-18, que comprende tres partes: A) Síntesis, B) HPLC, C) Formulación; que incluye (1) viales para reactivos y disolventes, (2) una vasija de reacción, (3) línea diana para el F-18, opcionalmente líneas para gases, vacío, etc., (4) opcionalmente detector de fluidos o filtro, etc., (5) válvula de inyección, (6), columna de HPLC, (7) válvula para corte del pico, (W) línea o líneas de residuos, (8) vasija para recogida/dilución de la fracción de HPLC, (9) viales de disolvente para lavado y elución, (10) válvula, (11), cartucho, por ejemplo cartucho C18 para atrapar el producto, (12) válvula.
- figura 8 Ilustración esquemática del procedimiento y equipo para fabricar (aril/heteroaril vinil)-fenil metil aminos fluoropegiladas marcadas con F-18, que comprende dos partes: A) Síntesis, B) HPLC; que incluye (1) viales para reactivos y disolventes, (2) una vasija de reacción, (3) línea diana para F-18, opcionalmente líneas para gases, vacío, etc., (4) opcionalmente detector de fluidos o filtro, etc., (5) válvula de inyección, (6) columna HPLC, (7) válvula para corte del pico.
- figura 9 Influencia del procedimiento de purificación sobre la pureza radioquímica
- figura 10 Cromatograma de la purificación de 4-[(E)-2-(6-{2-[2-(2-[F-18]fluoro-etoxi)etoxi]etoxi]piridin-3-il}vinil)-N-metilnilina en Eckert&Ziegler modular lab (canal de radioactividad)

REIVINDICACIONES

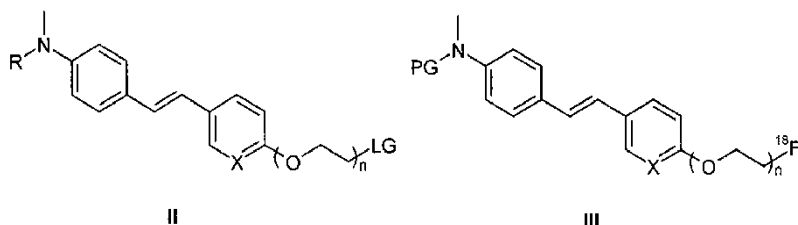
1. Procedimiento para producir un compuesto de Fórmula I



5

que comprende las etapas de:

10 Etapa 1: radiomarcarse el compuesto de Fórmula II con un agente de fluoración F-18, para obtener el compuesto de Fórmula I, si R = H, o para obtener el compuesto de Fórmula III, si R = PG



15

Etapa 2: si R = PG, escindir el grupo protector PG para obtener un compuesto de Fórmula I

Etapa 3: purificar y formular el compuesto de Fórmula I

en el que:

20

n = 1-6,
X se selecciona de entre el grupo que consiste en

25

- a) CH,
- b) N,

R se selecciona de entre el grupo que consiste en

30

- a) H,
- b) PG,

PG es un "grupo protector de amina",

LG es un grupo saliente,

35

en el que en la etapa 3 se utiliza un método de HPLC, en el que el disolvente o la mezcla de disolventes de HPLC es parte de una formulación inyectable de compuesto I adecuada para inyección en seres humanos, en el que el disolvente de HPLC se selecciona de entre el grupo que consiste en etanol, un amortiguador acuoso o una mezcla de etanol/amortiguador acuoso.

40

2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que PG se selecciona de entre el grupo que consiste en:

45

- a) Boc,
- b) tritilo y
- c) 4-metoxitritilo.

3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que LG se selecciona de entre el grupo que consiste en:

- a) halógeno, y
- b) sulfonilo,

halógeno es cloro, bromo o yodo.

- 5 4. Procedimiento según la reivindicación 3, en el que el sulfoniloxi se selecciona de entre el grupo que comprende:
- a) metanosulfoniloxi,
 - b) p-toluenosulfoniloxi,
 - 10 c) (4-nitrofenil)sulfoniloxi,
 - d) (4-bromofenil)sulfoniloxi.
5. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que $n = 3$ y $X = \text{CH}$.
- 15 6. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que $n = 3$, $X = \text{CH}$, $R = \text{Boc}$, y $\text{LG} = \text{metanosulfoniloxi}$.
7. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, en el que el amortiguador acuoso se selecciona de entre el grupo de disoluciones de cloruro de sodio, amortiguador de fosfato de sodio, ácido ascórbico, amortiguador de ascorbato, o mezclas de los mismos.
- 20 8. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 7, en el que el disolvente de HPLC es una mezcla de etanol y un amortiguador acuoso que comprende ácido ascórbico o sales de ácido ascórbico.
9. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 8, en el que se utilizan 10-50 μmoles de un compuesto de fórmula II.
- 25 10. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 9, en el que el procedimiento se lleva a cabo como un procedimiento automatizado completamente.

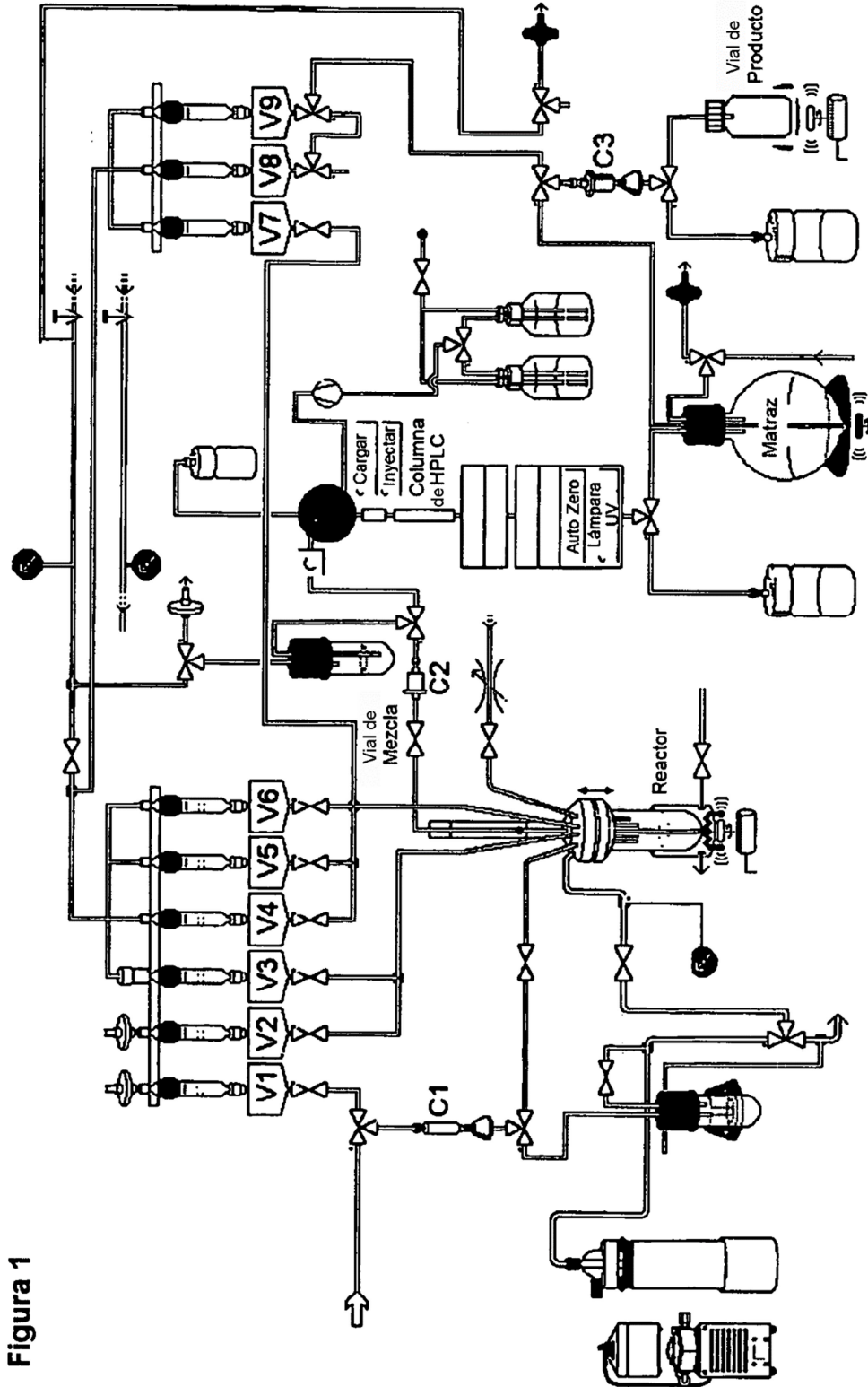


Figura 1

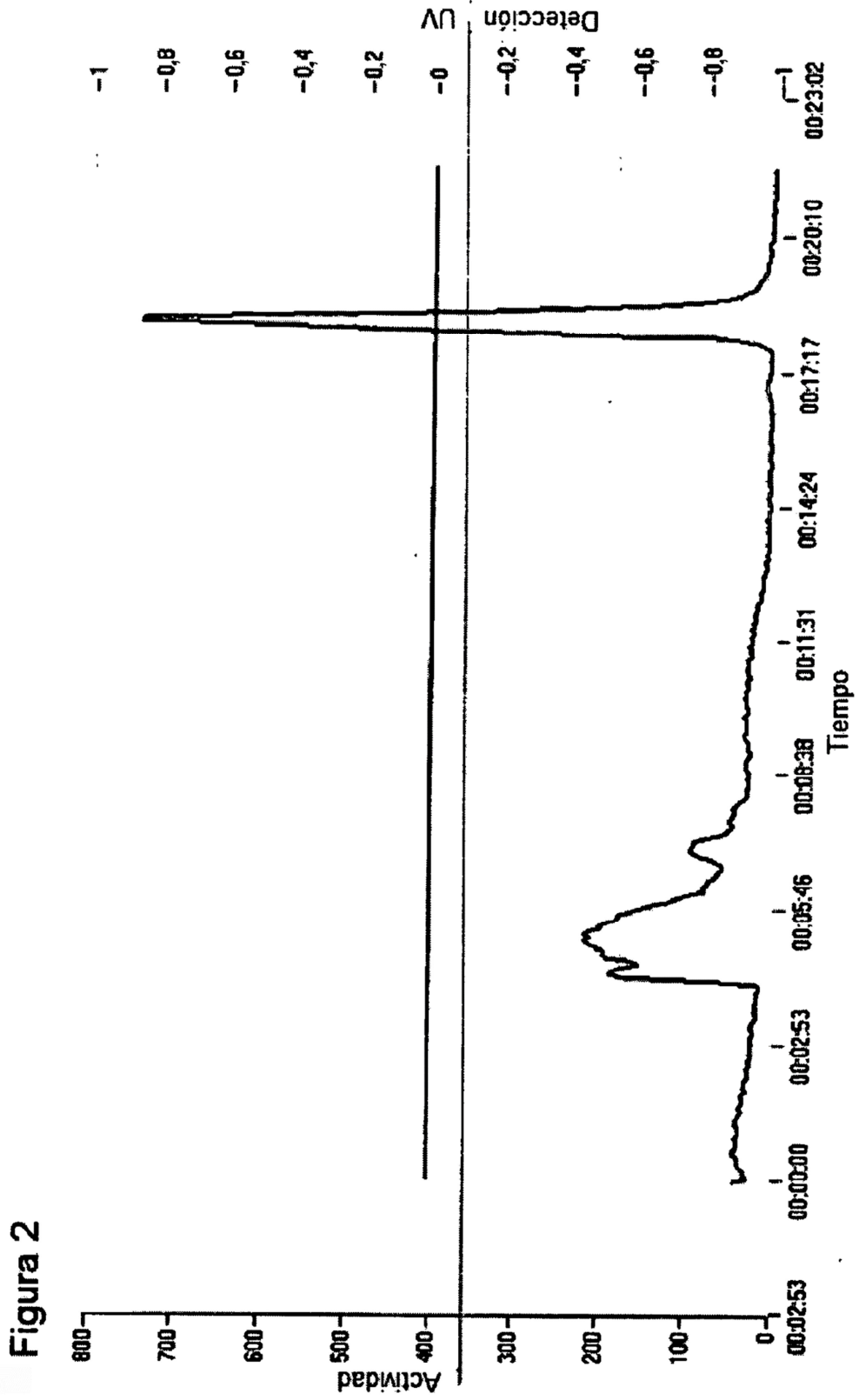


Figura 3

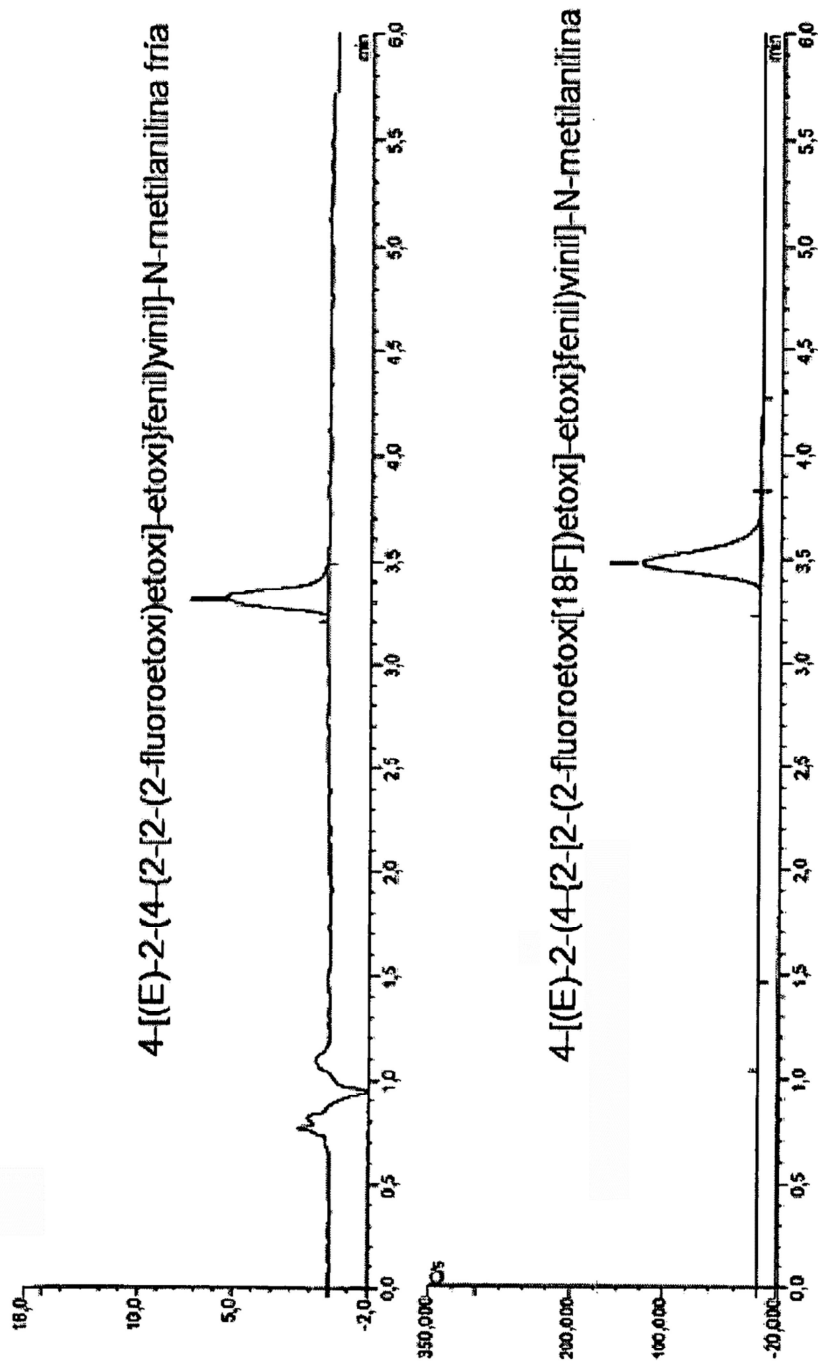
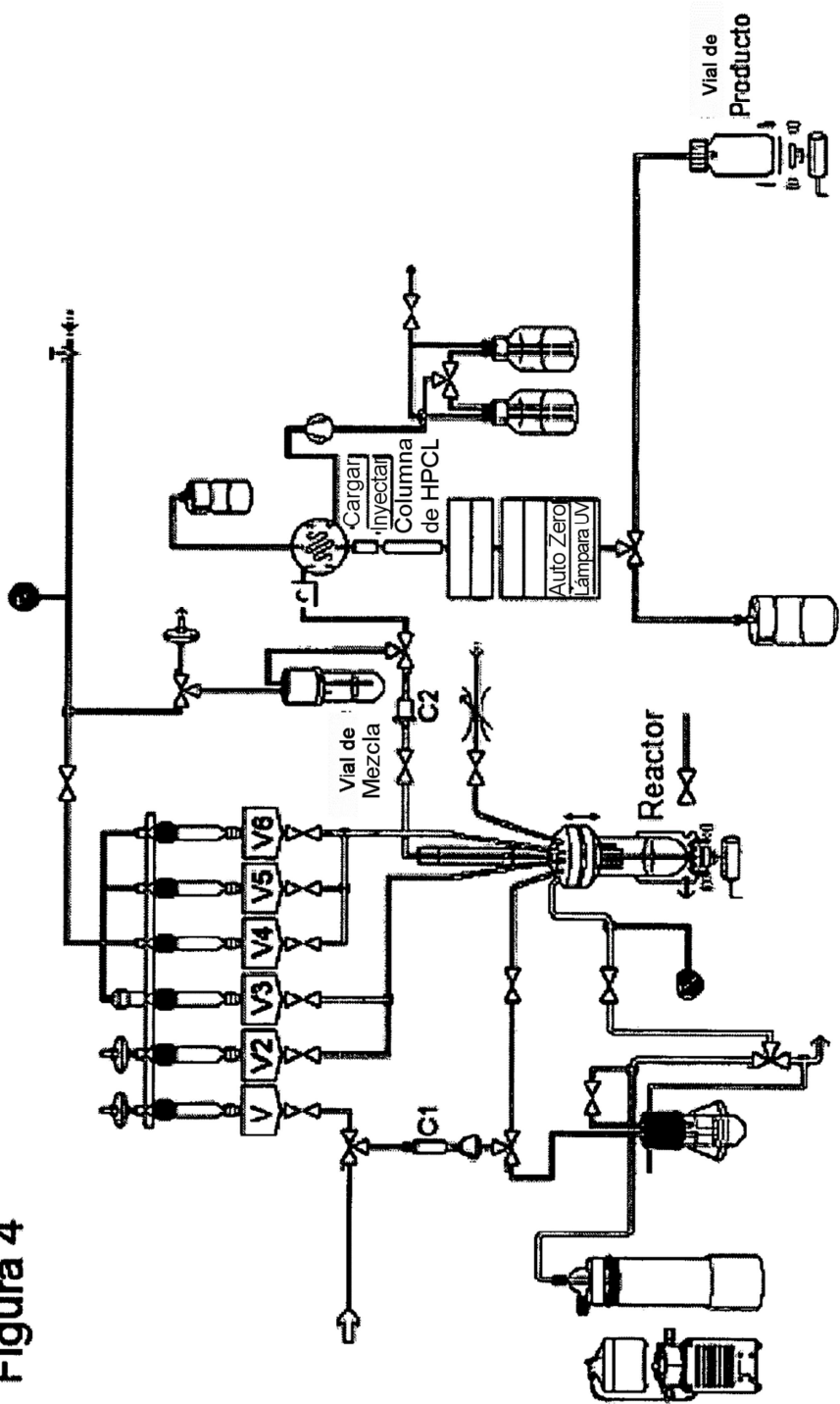


Figura 4



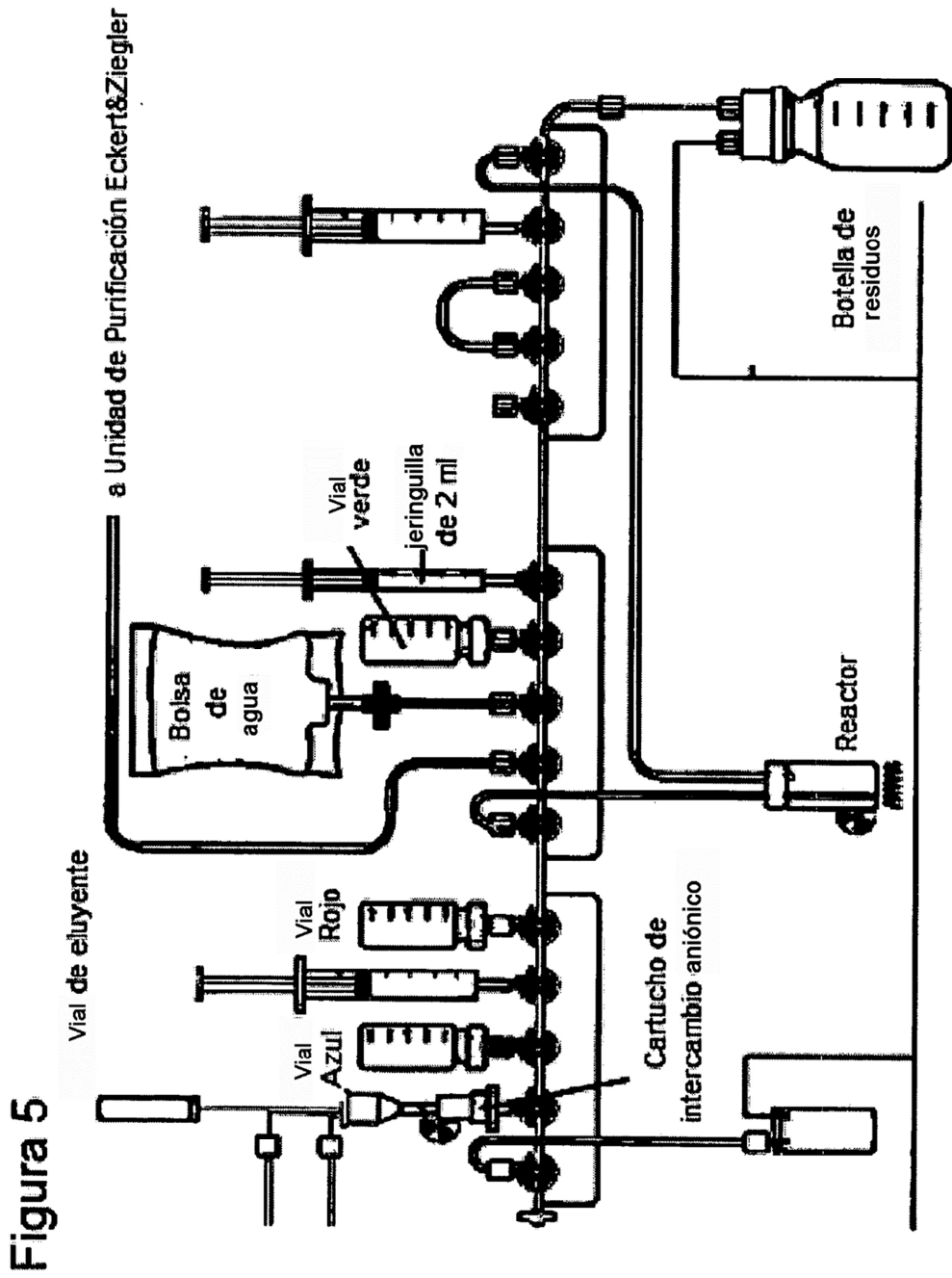
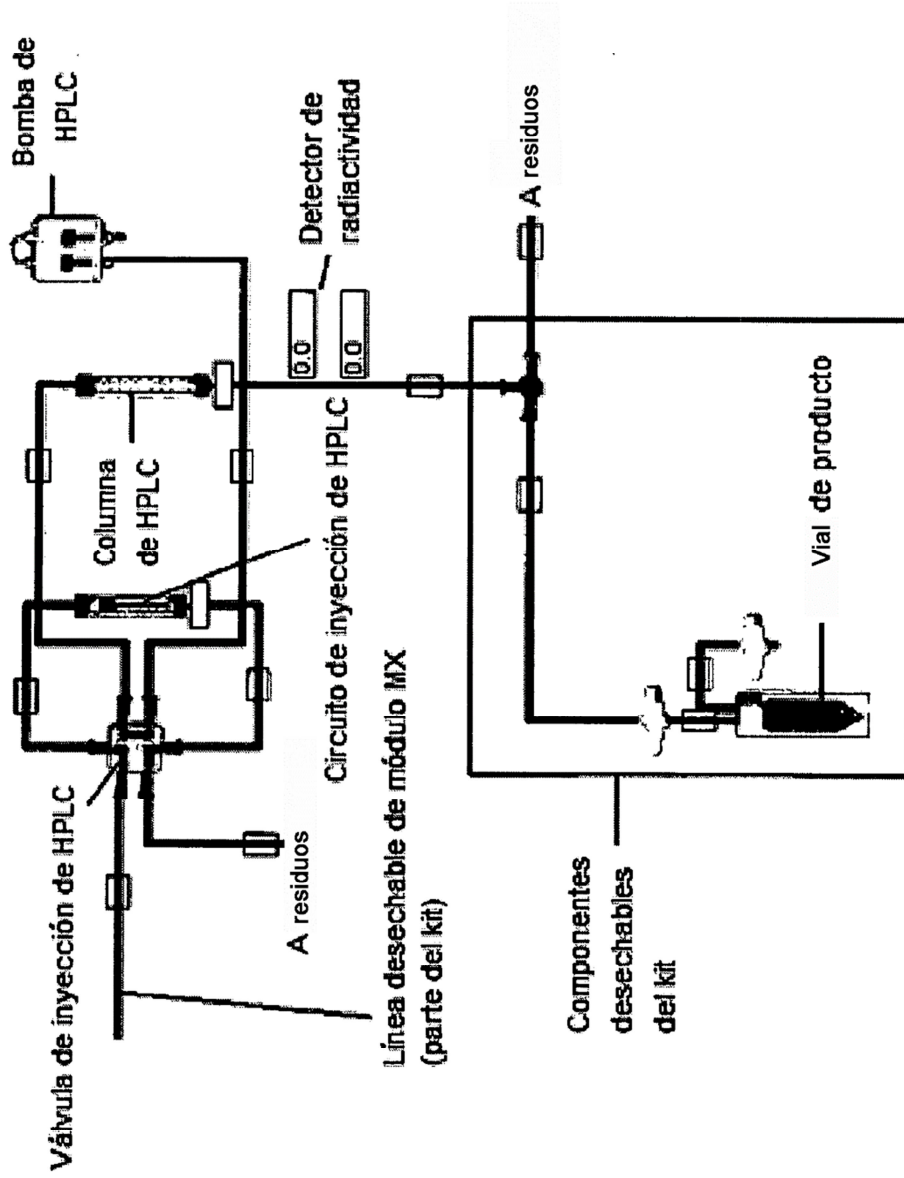


Figura 5

Figura 6



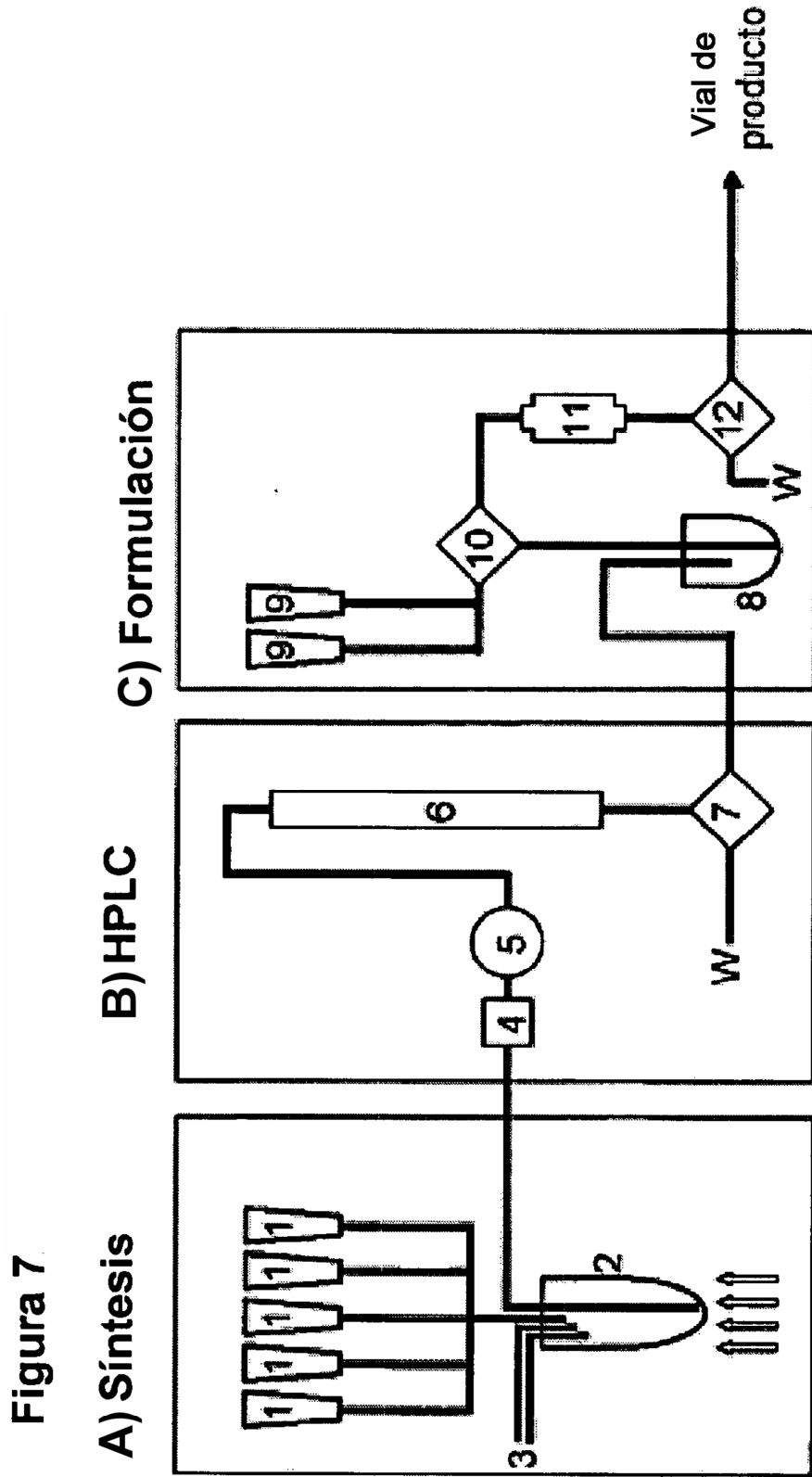
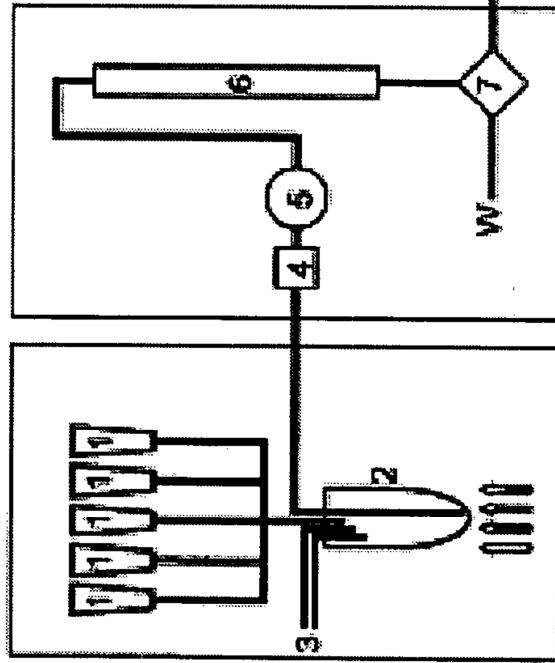


Figura 8

A) Síntesis B) HPLC



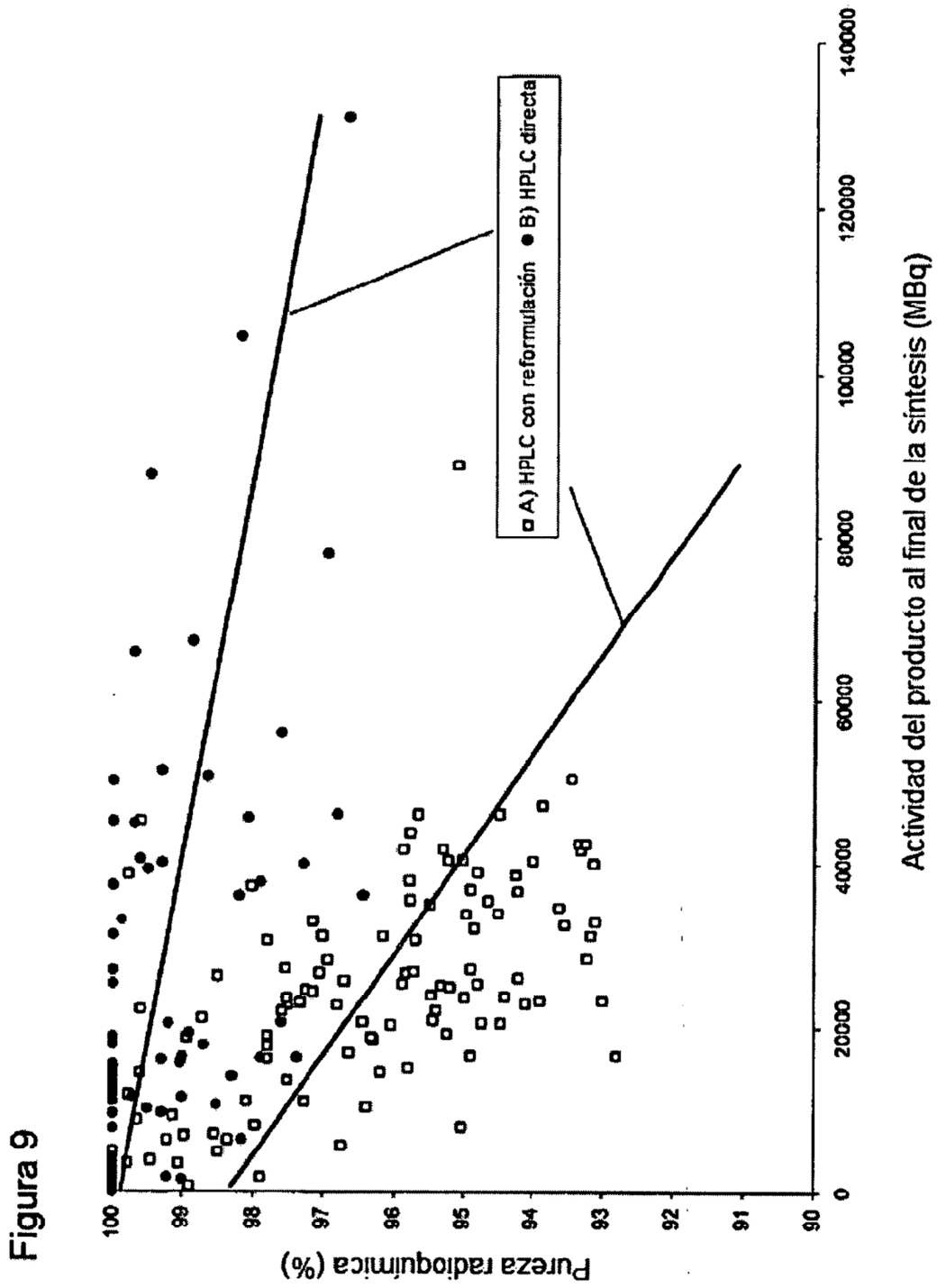


Figura 10

