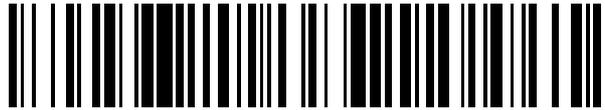


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 696**

51 Int. Cl.:

A61K 51/04	(2006.01)
A61K 101/02	(2006.01)
C07B 59/00	(2006.01)
A61K 49/00	(2006.01)
A61K 9/08	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.11.2007 PCT/JP2007/072444**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2008 WO08075522**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.11.2007 E 07832174 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 2106808**

54 Título: **Agente radiactivo de diagnóstico por imagen que comprende ácido 1-amino-3-[18F]fluorociclobutanocarboxílico**

30 Prioridad:

21.12.2006 JP 2006343753

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

16.04.2018

73 Titular/es:

**NIHON MEDI-PHYSICS CO., LTD (100.0%)
3-4-10 SHINSUNA KOTO-KU
TOKYO 136-0075, JP**

72 Inventor/es:

**HAYASHI, AKIO;
SHINMURA, TOSHIYUKI;
NAKAMURA, DAISAKU;
NAKAMURA, SOICHI;
TOKUNAGA, SHINJI;
KANEKO, EMI y
TOYAMA, MASAHIITO**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 663 696 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

Agente radiactivo de diagnóstico por imagen que comprende ácido 1-amino-3-[¹⁸F]fluorociclobutanocarboxílico

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a una composición de un compuesto de aminoácido marcado con flúor radiactivo. Más específicamente, se refiere a una composición de un compuesto de aminoácido marcado con flúor radiactivo útil para detectar tumores mediante tomografía de emisión positrónica (PET).

Técnica anterior

- 10 El agente radiactivo de diagnóstico por imagen es un medicamento administrado directamente a un cuerpo humano y es una composición farmacéutica que contiene un compuesto marcado con un radioisótopo específico como un ingrediente eficaz. El agente radiactivo de diagnóstico por imagen permite el diagnóstico al administrar un agente a un sujeto y detectar una radiación emitida desde el compuesto, seguido por obtención de imágenes basándose en la información obtenida a partir de la radiación. El método de diagnóstico así efectuado se denomina examen por medicina nuclear y es eficaz en el diagnóstico de una variedad de enfermedades incluyendo cardiopatías y cáncer. Además, el examen por medicina nuclear es característico por que tiene no solo altas especificidad y sensibilidad hacia enfermedades, sino que también tiene la ventaja de proporcionar información sobre la funcionalidad de las lesiones, en comparación con otras técnicas de examen.

- 15 Compuestos que se investigan y desarrollan como estos agentes radiactivos de diagnóstico por imagen incluyen ácido 1-amino-3-[¹⁸F]fluorociclobutanocarboxílico (denominado en lo sucesivo en la presente [¹⁸F]-FACBC). Se sabe que el [¹⁸F]-FACBC es recogido en una célula a través de un transportador de aminoácidos. Así, se espera que el [¹⁸F]-FACBC se desarrolle como un agente de diagnóstico de tumores ya que es recogido en gran cantidad en células tumorales que son altamente proliferativas y activas en la síntesis de proteínas.

- 20 En los agentes radiactivos de diagnóstico por imagen, a menudo surge el problema de que los compuestos se descomponen por autorradiación durante el aporte de los agentes de modo que provocan una disminución en la pureza radioquímica debido a la llamada radiolisis. Particularmente, en agentes de PET para la detección de núclidos positrónicos tales como ¹⁸F, la radiolisis a menudo se hace más problemática puesto que la semivida de los núclidos usados allí es más corta que la de los núclidos usados en agentes de SPECT para la detección de núclidos que emiten rayos gamma tales como ^{99m}Tc, y así la radiactividad durante el transporte debe ser mayor que los agentes de SPECT, haciendo superior de ese modo su energía de radiación resultante.

- 25 Para productos farmacéuticos generales, se recomienda en la guía del ICH que si las impurezas en un agente superan el 1,0%, las impurezas se deben someter a determinación estructural cuando la dosificación diaria máxima de un componente eficaz del mismo sea tan pequeña como no más de 1 mg (Documento No Relacionado con las Patentes 1). En la mayoría de los casos, la cantidad física de impurezas resultantes de la radiolisis que se debe considerar un aspecto de la descomposición de un agente es tan pequeña como aproximadamente 10⁻¹² mol, aunque supere 1,0%. Puesto que la cantidad de producción de impurezas tales como materias radiactivas descompuestas es muy pequeña, la determinación estructural de las impurezas mediante análisis por NMR es difícil, si bien solo la determinación del peso molecular y la suposición de sus fragmentos se pueden realizar mediante espectrometría de masas, que es excelente en sensibilidad de detección. Además, es muy difícil realizar la verificación de si las impurezas afectan o no a la eficacia, tal como la acumulación del agente en el tumor.

- 30 Por lo tanto, las impurezas en el agente radiactivo de diagnóstico por imagen se deben mantener tan bajas como sea posible, y es preferible que la radiolisis que puede provocar la producción de impurezas también se inhiba tanto como sea as posible.

Se han examinado diversos métodos para inhibir la radiolisis que se dirigen a la aplicación a [¹⁸F]-fluorodesoxiglucosa (denominada en lo sucesivo en la presente [¹⁸F]-FDG).

- 35 El folleto de Publicación Internacional N° WO03/090789 divulga un método para reducir la radiolisis de [¹⁸F]-FDG al añadir un tampón basado en ácido débil a una solución de [¹⁸F]-FDG y una inyección preparada mediante el método (Documento de Patente 1). Además, el folleto de Publicación Internacional N° WO04/043497 divulga añadir etanol a una solución de [¹⁸F]-FDG para obtener una composición de inyección que se puede reducir en la radiolisis de [¹⁸F]-FDG para mejorar la estabilidad (Documento de patente 2).

- 40 La Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público (Kokai) N° H10-147542 divulga una técnica que utiliza un compuesto orgánico con alta aceptabilidad fisiológica tal como monosacáridos, disacáridos, ácidos orgánicos y sales o ésteres de los mismos como un agente protector de la radiación (Documento de Patente 3). En esta publicación, el compuesto orgánico con alta aceptabilidad fisiológica y particularmente eficaz como agente protector de la radiación

se define por tener una constante de velocidad de reacción con radicales OH, radicales H o un electrón hidratado en el intervalo de 1×10^6 a $5 \times 10^{10} \text{ mol}^{-1}\text{s}^{-1}$.

- 5 El folleto de Publicación Internacional N° WO04/056725 divulga un método de síntesis en fase sólida para trazadores marcados con ^{18}F incluyendo [^{18}F]-FACBC (Documento de Patente 4). En este documento, se sugiere que la radiolisis de trazadores marcados con ^{18}F se reduce al añadir ácido ascórbico a una composición de inyección.

Documento No Relacionado con las Patentes 1 : ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE, IMPARITIES IN NEW DRUG PRODUCTS Q3B (R2) (página 7) (URL: http://www.pmda.go.jp/ich/q/q3br2_06_7_3e.pdf)

- 10 Documento de Patente 1: Folleto de Publicación Internacional N° WO03/090709

Documento de Patente 2: Folleto de Publicación Internacional N° WO04/043497

Documento de Patente 3: Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público (Kokai) N° H10-147542

Documento de Patente 4: Folleto de Publicación Internacional N° WO04/056725

Divulgación de la invención

- 15 Problemas a resolver por la invención

Según se describe anteriormente, el folleto de Publicación Internacional N° WO03/090789 y el folleto de Publicación Internacional N° WO04/043497 divulgan condiciones para prevenir la radiolisis de [^{18}F]-FDG en la solución. Sin embargo, estos documentos solo divulgan técnicas para reducir la radiolisis de [^{18}F]-FDG, pero no divulgan ninguna técnica para reducir la radiolisis de una serie de compuestos de aminoácido marcados con flúor radiactivo tales como [^{18}F]-FACBC.

Además, una característica técnica de la invención divulgada en el folleto de Publicación Internacional N° WO03/090789 es añadir un tampón, esto es, incrementar la estabilidad radioquímica de [^{18}F]-FDG a un pH que tiene una acción tamponadora, y está indicado como Ejemplos comparativos que la estabilidad radioquímica de [^{18}F]-FDG no se incremente con NaCl que no tiene acción tamponadora.

La Patente Japonesa Abierta a Consulta por el Público (Kokai) N° H10-147542 divulga una técnica que utiliza un compuesto orgánico con alta aceptabilidad fisiológica como un agente protector de la radiación para productos radiofarmacéuticos. Sin embargo, no es evidente que el compuesto se seleccione como el compuesto orgánico con alta aceptabilidad fisiológica o en qué cantidad se añade el compuesto a fin de prevenir la radiolisis de la serie de compuestos de aminoácido marcados con flúor radiactivo tales como [^{18}F]-FACBC.

El folleto de Publicación Internacional N° WO04/056725 propone que la adición de ácido ascórbico a una composición de inyección reduce la radiolisis de trazadores marcados con ^{18}F . Sin embargo, no contiene ninguna divulgación concreta del uso de ácido ascórbico como un aditivo para [^{18}F]-FACBC. Además, no hay ninguna divulgación en cuanto a qué condición se debe usar.

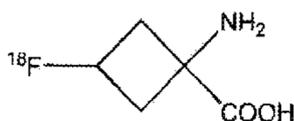
La presente invención se ha elaborado a la vista de las circunstancias anteriores, y se ha dirigido a proporcionar una composición que comprende un compuesto de aminoácido marcado con flúor radiactivo, que pueda tener una radiolisis reducida.

Medios para resolver el problema

Como resultado de diligentes investigaciones, los inventores han encontrado que la radiolisis de [^{18}F]-FACBC se reduce dependiendo del pH. Particularmente, se ha encontrado que cuando el valor del pH es no mayor de 5,9, la estabilidad del mismo se mantiene aunque no existan aditivos farmacéuticos o tampones que prevengan la radiolisis.

Por lo tanto, se ha encontrado que la disminución de la pureza radioquímica del agente radiactivo de diagnóstico por imagen se puede reducir al mantener el pH del agente final a 2,0-5,9, y así se ha completado la presente invención.

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona un agente radiactivo de diagnóstico por imagen que comprende una solución que contiene un compuesto radiactivo representado por la siguiente fórmula (1) como un componente eficaz:



(1)

en donde la solución tiene un valor del pH de 2,0-5,9. En una realización preferible del agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la presente invención, la solución anterior puede tener un valor del pH de 2,0-4,9. El valor del pH se ajusta con ácido clorhídrico.

El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la presente invención puede ser uno al que se añada un aditivo farmacéutico. Como aditivos farmacéuticos, se pueden usar diversos compuestos que generalmente son aceptados como compuestos aditivos, incluyendo un regulador del pH y un adyuvante de disolución así como un azúcar, un alcohol sacárico, una lactona sacárica y similares. Preferiblemente, se puede usar un alcohol sacárico.

Como el alcohol sacárico, se pueden usar uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en eritritol, xilitol, sorbitol y manitol. La cantidad de adición del mismo no está limitada con tal de que pueda reducir adicionalmente la radiolisis, pero preferiblemente no es menor de 0,5 $\mu\text{mol/ml}$, más preferiblemente no menor de 1,0 $\mu\text{mol/ml}$, aún más preferiblemente no menor de 5,0 $\mu\text{mol/ml}$ y de forma particularmente preferible no menor de 10,0 $\mu\text{mol/ml}$. El límite superior de la cantidad de adición necesita ser una cantidad que sea aceptable para aditivos farmacéuticos; por ejemplos, el límite superior como una dosis diaria total es 200 mg para el xilitol, 1,5 g para el sorbitol y 1,2 g para el manitol.

En el agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la presente invención, la concentración de material radiactivo no está particularmente limitada con tal de que se pueda asegurar una cantidad suficiente de radiactividad cuando se use. Más específicamente, la concentración radiactiva en uso es preferiblemente 25-125 MBq/ml y más preferiblemente 25-100 MBq/ml.

En la presente memoria descriptiva, compuestos aceptables como aditivos farmacéuticos significa compuestos que están aprobados como aditivos farmacéuticos en la Farmacopea Japonesa, la Farmacopea de Estados Unidos, la Farmacopea Europea, etc. Además, alcohol sacárico significa una forma reducida de un azúcar, y lactona sacárica significa un compuesto de éster cíclico que se deriva mediante condensación con deshidratación intramolecular de un azúcar.

Efecto de la invención

Según la presente invención, un valor de pH de una solución que contiene un compuesto de aminoácido marcado con flúor radiactivo (representado por la fórmula (1)) se regula hasta 2,0-5,9 con ácido clorhídrico, y así se proporciona una composición de un compuesto de aminoácido marcado con flúor radiactivo que tiene una radiolisis reducida.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

Posteriormente en la presente, se describirán las realizaciones más preferibles para la composición del compuesto de aminoácido marcado con flúor radiactivo según la presente invención.

El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la presente invención se produce en 4 etapas; una etapa de impartir flúor radiactivo a un precursor (etapa 1); una etapa de realizar la desprotección del compuesto al que se ha impartido el flúor radiactivo (etapa 2); una etapa de realizar la purificación de una solución que contiene anti-[^{18}F]-FACBC después de la desprotección (etapa 3); y una etapa de procesar la solución de anti-[^{18}F]-FACBC purificado como una preparación (etapa 4).

El flúor radiactivo se puede obtener mediante un método conocido, por ejemplo, un método en el que se usa agua enriquecida en H_2^{18}O como un objetivo y se expone a bombardeo protónico. En este caso, existe flúor radiactivo en el agua enriquecida en H_2^{18}O usada como un objetivo. El agua enriquecida en H_2^{18}O que contiene flúor radiactivo se deja pasar, por ejemplo, a través de una columna de intercambio aniónico de modo que el flúor radiactivo sea adsorbido y recogido en la columna, separándose de ese modo del agua enriquecida en H_2^{18}O . Después de eso, una solución de carbonato potásico se deja pasar a través de la columna para eluir el flúor radiactivo, y el eluato se complementa con un catalizador de transferencia de fase y se evapora hasta sequedad, activando de ese modo el flúor radiactivo.

En la etapa 1, el flúor radiactivo secado se disuelve en acetonitrilo, y se añade cis-1-(N-terc-butoxicarbonil)amino-3-[(trifluorometil)sulfonilo]xí-ciclobutanocarboxilato de etilo, como un precursor, a la solución de acetonitrilo para permitirlos reaccionar bajo calentamiento. Como resultado, se añade flúor radiactivo al precursor, con lo que se sintetiza trans-1-(N-terc-butoxicarbonil)amino-3-[^{18}F]fluorociclobutanocarboxilato de etilo.

En la etapa 2, el trans-1-(N-terc-butoxicarbonil)amino-3-[¹⁸F]fluorociclobutanocarboxilato de etilo obtenido en la etapa 1 se desprotege para dar una solución que contiene anti-[¹⁸F]-FACBC como un producto buscado. En esta etapa, la condición de desprotección es preferiblemente ácida. Por ejemplo, se puede añadir ácido clorhídrico a una solución que contiene trans-1-(N-terc-butoxicarbonil)amino-3-[¹⁸F]fluorociclobutanocarboxilato de etilo para realizar la desprotección. La cantidad de ácido que se va a añadir no necesita restringirse con tal de que la cantidad pueda proporcionar una condición ácida suficiente para la desprotección.

En la etapa 3, se realiza la purificación de la solución que contiene anti-[¹⁸F]-FACBC que se obtiene en la etapa 2. El procedimiento de purificación que se va a usar incluye diversos procedimientos tales como un procedimiento de extracción líquido-líquido y un procedimiento de separación en columna. Por ejemplo, se puede usar un procedimiento en el que la solución de reacción se inyecta en HPLC para obtener una fracción que contiene anti-[¹⁸F]-FACBC. La solución de anti-[¹⁸F]-FACBC se puede obtener en esta etapa.

El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la presente invención se puede obtener al someter a la solución de anti-[¹⁸F]-FACBC obtenida en la etapa 3 a diversas operaciones requeridas para elaborar una preparación, incluyendo una operación de vaporización de disolventes orgánicos, una operación de adición de aditivos farmacéuticos, una operación de ajuste del pH, una operación de ajuste de la concentración radiactiva y una operación de realización de esterilización por medio de un autoclave, filtración o similares. En esta etapa, es preferible que el valor del pH se controle en el intervalo de 2,0 a 5,9. Con este propósito, es preferible que el valor del pH se controle previamente en el intervalo de 2,0 a 5,9 en la etapa 3. Además, es posible que el pH se controle en el intervalo de 2,0 a 5,9 inmediatamente después de que se obtenga la solución de anti-[¹⁸F]-FACBC. Por medio de esta etapa 4, se puede tener un agente radiactivo de diagnóstico por imagen que contiene el anti-[¹⁸F]-FACBC como un ingrediente eficaz y se ajusta al pH de la solución en el intervalo de 2,0 a 5,9.

Entretanto, el agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la presente invención debe tener una radiactividad que permita la obtención de imágenes de PET cuando se use, y así la concentración radiactiva en el momento de la producción se ajusta para alcanzar esa radiactividad. Por ejemplo, si tiene una radiactividad de 1,4 GBq en aproximadamente 2 ml inmediatamente después de la producción, tendrá una radiactividad de 50-225 MBq cuando se use, permitiendo de ese modo una obtención de imágenes de PFT suficiente para adultos.

Ejemplos

En lo sucesivo, la presente invención se describe posteriormente con más detalle por medio de Ejemplos.

Ejemplos 1-16, Ejemplos comparativos 1-5: Relación entre el pH y la disminución de la pureza radioquímica

H₂¹⁸O que contenía ion fluoruro [¹⁸F] se dejó pasar a través de una columna de intercambio aniónico para adsorber y recoger ion fluoruro [¹⁸F] en la columna. A continuación, la columna se lavó con agua y se obtuvo una mezcla que contenía ion fluoruro [¹⁸F], una solución de carbonato potásico y un catalizador de transferencia de fase según el método convencional (por ejemplo, un método descrito en las referencias (Radioisotopes, 50, (2001), p.205-227; Radioisotopes, 50, (2001), p.228-256; production and quality control of radioactive agents for PET - Handbook of synthesis and clinical use-(2ª edición)", editado por PET Chemistry Workshop).

La mezcla obtenida se calentó en un recipiente de reacción para evaporar el agua hasta sequedad y se sometió a destilación azeotrópica con adición de acetonitrilo, y se añadió a esto una solución de cis-1-(N-terc-butoxicarbonil)amino-3-[(trifluorometil)sulfonilo]ciclobutanocarboxilato de etilo en acetonitrilo. La solución obtenida se calentó bajo agitación a fin de no evaporar el acetonitrilo, permitiendo de ese modo que avanzara una reacción de sustitución nucleófila para obtener compuesto marcado con flúor [¹⁸F].

Después de que el recipiente de reacción se enfriara hasta aproximadamente 40°C, se añadió agua para inyección a la solución de reacción para dilución, y la mezcla se hizo pasar a través de una columna de gel de sílice en fase inversa para recoger el compuesto marcado con flúor [¹⁸F]. Esta columna se lavó y se barrió rápidamente con un flujo de helio gaseoso, y a continuación una solución de 4 mol/l de hidróxido sódico se cargó en la columna, seguido por el cierre de la salida de la columna. Después de 3 minutos, la salida de la columna se abrió y una solución alcalina se eluyó desde la columna y se recogió en un vial. Esta operación se repitió dos veces, y se lavó con agua, y a continuación los lavados se combinaron con la solución alcalina recogida como anteriormente.

Posteriormente, se añadió ácido clorhídrico a la solución recogida como anteriormente, y se calentó hasta aproximadamente 60°C para efectuar la reacción de desprotección. A continuación, la mezcla se hizo pasar a través de una columna de resina de retardo iónico, una columna de alúmina y una columna de resina en fase inversa en este orden para realizar la purificación y obtener una solución de reserva de anti-[¹⁸F]-FACBC. El valor del pH de la solución de reserva de anti-[¹⁸F]-FACBC se ajustó hasta aproximadamente 3,5 al poner previamente una solución de ácido clorhídrico en el recipiente que recibía la solución de reserva de anti-[¹⁸F]-FACBC,

- 5 Se midió la radiactividad de la solución de reserva de anti-[¹⁸F]-FACBC obtenida, y a continuación la solución de reserva se diluyó con una solución salina fisiológica a fin de tener una concentración radiactiva de aproximadamente 510 MBq/ml en el momento en el que se iniciaba el experimento (0 horas en la Tabla 2). 2,23 ml de esta solución se prorrataron en un vial de 5 ml de volumen, y se añadió a esto una cantidad predeterminada de una solución predeterminada indicada en la Tabla 1, para obtener una solución de muestra. La concentración radiactiva de las soluciones de muestra inmediatamente después de la preparación era 653-686 MBq/ml.

Tabla 1: La solución añadida a cada solución de muestra y su pH después del ajuste

	Solución añadida (cantidad de adición)	pH después del ajuste
Ejemplo 1	500 mmol/l de HCl (40 µl)	2,00
Ejemplo 2	500 mmol/l de HCl (40 µl), solución salina fisiológica (40 µl)	2,05
Ejemplo 3	100 mmol/l de HCl (50 µl)	2,66
Ejemplo 4	Solución salina fisiológica (80 µl)	3,41
Ejemplo 5	Solución salina fisiológica (50 µl)	3,46
Ejemplo 6	11 mmol/l de NaOH (70 µl), solución salina fisiológica (10 µl)	3,97
Ejemplo 7	10 mmol/l de NaOH (70 µl)	4,04
Ejemplo 8	12 mmol/l de NaOH (70 µl), solución salina fisiológica (10 µl)	4,55
Ejemplo 9	11 mmol/l de NaOH (70 µl)	4,58
Ejemplo 10	12 mmol/l de NaOH (70 µl)	4,88
Ejemplo 11	17 mmol/l de NaOH (60 µl), solución salina fisiológica (20 µl)	5,03
Ejemplo 12	13 mmol/l de NaOH (70 µl)	5,11
Ejemplo 13	15 mmol/l de NaOH (70 µl), solución salina fisiológica (10 µl)	5,46
Ejemplo 14	14,3 nmol/L NaOH (60 µl)	5,54
Ejemplo 15	17 mmol/l de NaOH (70 µl), solución salina fisiológica (10 µl)	5,90
Ejemplo 16	14 mmol/l de NaOH (70 µl)	5,94
Ejemplo comparativo 1	18,5 mmol/l de NaOH (60 µl), solución salina fisiológica (20 µl)	6,28
Ejemplo comparativo 2	14,1 mmol/l de NaOH (70 µl)	6,31
Ejemplo comparativo 3	16 mmol/l de NaOH (80 µl), solución salina fisiológica (10 µl)	6,57
Ejemplo comparativo 4	15 mmol/l de NaOH (70 µl)	6,83
Ejemplo comparativo 5	17 mmol/l de NaOH (80 µl), solución salina fisiológica (0 µl)	7,70

- 10 La solución de muestra se almacenó en una cámara termostática eléctrica ajustada hasta 25°C, el análisis por TLC se realizó en las siguientes condiciones en el momento del inicio del experimento (0 horas) y 8,5 horas después del inicio del experimento, y se calculó un valor de la pureza radioquímica según la siguiente ecuación (1). La medida de la pureza radioquímica se repitió tres veces para cada solución de muestra.

- 15 Condiciones del análisis por TLC

Fase móvil: acetonitrilo/agua/ácido acético al 100% = 4/1/1

Placa de TLC: Silica Gel 60F₂₅₄ (nombre comercial, grosor de la membrana: 0,25 mm, fabricada por Merck & Co., Inc.)

Longitud móvil: 10 cm

- 20 Escáner de TLC: Rita Star (fabricado por Raytest)

Número de análisis: Tres veces

$$\text{Pureza radioquímica (\%)} = \frac{\text{Radiactividad del pico de } [^{18}\text{F}]\text{FACBC}}{\text{Radiactividad total en la placa de TLC}} \times 100 \quad (1)$$

Los resultados se muestran en la Tabla 2 y la Fig. 1.

Tabla 2: Cambios de pureza radioquímica y disminución de la pureza radioquímica de solución de anti-[¹⁸F]-FACBC en diferente pH

5

	pH	Pureza radioquímica (%)		Disminución* (%)
		0 horas	8,5 horas	8,5 horas
Ejemplo 1	2,00	99,41	99,44	0,03
Ejemplo 2	2,05	99,59	99,42	-0,17
Ejemplo 3	2,66	99,38	99,33	-0,05
Ejemplo 4	3,41	99,51	99,21	-0,30
Ejemplo 5	3,46	99,39	99,26	-0,13
Ejemplo 6	3,97	98,48	99,02	-0,46
Ejemplo 7	4,04	99,38	99,11	-0,27
Ejemplo 8	4,55	99,56	99,01	-0,55
Ejemplo 9	4,58	99,35	98,98	-0,37
Ejemplo 10	4,88	99,44	99,07	-0,37
Ejemplo 11	5,03	99,46	98,89	-0,57
Ejemplo 12	5,11	99,51	98,93	-0,58
Ejemplo 13	5,46	99,52	99,06	-0,46
Ejemplo 14	5,54	99,49	99,03	-0,46
Ejemplo 15	5,90	99,51	98,86	-0,65
Ejemplo 16	5,94	99,45	98,93	-0,52
Ejemplo comparativo 1	6,28	99,53	98,81	-0,72
Ejemplo comparativo 2	6,31	99,37	98,80	-0,57
Ejemplo comparativo 3	6,57	99,43	98,67	-0,76
Ejemplo comparativo 4	6,83	99,32	98,35	-0,97
Ejemplo comparativo 5	7,70	99,37	97,31	-2,06

* Disminución (%) = (Pureza radioquímica después de 8,5 horas) - (pureza radioquímica después de 0 horas)

10 En referencia a la relación entre el pH y la disminución de la pureza radioquímica, se observó una disminución relativamente suave de la pureza radioquímica con el incremento del pH desde 2,00 hasta 5,94. Se calculó la pendiente basada en la aproximación lineal y, como resultado, la pendiente era -0,145 en el intervalo de pH de 2,00-4,88, y era -0,010 en el intervalo de pH de 5,03-5,94.

15 Por otra parte, cuando el valor del pH no era menor de 6,28, se producía una disminución brusca de la pureza radioquímica con el incremento del pH. Se calculó la pendiente basada en la aproximación no lineal y, como resultado, era -1,000. Este valor era aproximadamente 6,7 veces el valor en el intervalo de pH de 2,00-4,88, y aproximadamente 100 veces el valor en el intervalo de pH de 5,03-5,94. A partir de estos, se indicaba que cuando el valor del pH no es menor de 6,28, se produce una disminución drástica en la pureza radioquímica en comparación con el intervalo de pH de 2,00-5,94.

Ejemplos 17-28: Relación entre la concentración de manitol y la pureza radioquímica a valores de pH de 3,44 y 4,78

Se preparó una solución de reserva de anti- ^{18}F -FACBC del mismo modo que en el Ejemplo 1 usando H_2^{18}O que contiene ion fluoruro ^{18}F . A continuación, se añadieron a la solución de reserva de anti- ^{18}F -FACBC preparada un ácido clorhídrico y una solución salina fisiológica a fin de tener una concentración radiactiva de aproximadamente 500 MBq/ml y un valor del pH de aproximadamente 4,8 en el momento en el que se iniciaba el experimento (0 horas en la Tabla 4). 2,23 mCi de la solución obtenida se prorrataron en un vial de 5 ml de volumen, y se añadió una solución de manitol o un ácido clorhídrico en la concentración mostrada en la Tabla 3 en una cantidad mostrada en la Tabla 3 para obtener una solución de muestra. La concentración radiactiva de las soluciones de muestra inmediatamente después de la preparación era 553-565 MBq/ml.

Tabla 3: Cantidad de adición de solución de manitol en cada solución de muestra

	pH	Solución añadida (cantidad de adición)	Concentración de manitol después del ajuste ($\mu\text{mol/ml}$)
Ejemplo 17	3,44	Solución de manitol de 0,83 mg/ml (50 μl) 40 mmol/l de HCl (20 μl)	0,1
Ejemplo 18	3,44	Solución de manitol de 4,17 mg/ml (50 μl) 40 mmol/l de HCl (20 μl)	0,5
Ejemplo 19	3,44	Solución de manitol de 8,34 mg/ml (50 μl) 40 mmol/l de HCl (20 μl)	1,0
Ejemplo 20	3,44	Solución de manitol de 41,72 mg/ml (50 μl) 40 mmol/l de HCl (20 μl)	5,0
Ejemplo 21	3,44	Solución de manitol de 83,43 mg/ml (50 μl) 40 mmol/l de HCl (20 μl)	10,0
Ejemplo 22	3,44	Solución de manitol de 166,87 mg/ml (50 μl) 40 mmol/l de HCl (20 μl)	20,0
Ejemplo 23	4,78	Solución de manitol de 0,83 mg/ml (50 μl)	0,1
Ejemplo 24	4,78	Solución de manitol de 4,17 mg/ml (50 μl)	0,5
Ejemplo 25	4,78	Solución de manitol de 8,34 mg/ml (50 μl)	1,0
Ejemplo 26	4,78	Solución de manitol de 41,72 mg/ml (50 μl)	5,0
Ejemplo 27	4,78	Solución de manitol de 83,43 mg/ml (50 μl)	10,0
Ejemplo 28	4,78	Solución de manitol de 166,87 mg/ml (50 μl)	20,0

La solución de muestra se almacenó en una cámara termostática eléctrica ajustada hasta 25°C, y el valor de la pureza radioquímica se calculó del mismo modo que en el Ejemplo 1 en el momento del inicio del experimento (0 horas) y 8,5 horas después del inicio del experimento. La medida de la pureza radioquímica se repitió tres veces para cada solución de muestra.

Los resultados se muestran en la Tabla 4 y la Fig. 2. En todos los Ejemplos a los valores de pH de 3,44 y 4,78, la disminución de la pureza radioquímica se reducía drásticamente con el incremento de la concentración de manitol, y el efecto de reducción se saturaba a una concentración de manitol de no menos de 5,0 $\mu\text{mol/ml}$.

Además, la disminución de la pureza radioquímica se inhibía más a ambas concentraciones de manitol al valor de pH de 3,44 que de 4,78.

A partir de los resultados anteriores, se confirmaba que el valor del pH de la solución contribuye a la estabilidad radioquímica. Además, se mostraba que la radiólisis se puede reducir adicionalmente al añadir un manitol.

Tabla 4: Cambio de pureza radioquímica y disminución de pureza radioquímica de solución de anti-[¹⁸F]-FACBC en presencia de manitol

	pH	Concentración de manitol (µmol/ml)	Pureza radioquímica (%)		Disminución* (%)
			0 horas	8,5 horas	8,5 horas
Ejemplo 17	3,44	0,1	99,38	99,10	-0,28
Ejemplo 18	3,44	0,5	99,46	99,22	-0,24
Ejemplo 19	3,44	1,0	99,39	99,25	-0,14
Ejemplo 20	3,44	5,0	99,47	99,42	-0,05
Ejemplo 21	3,44	10,0	99,42	99,33	-0,09
Ejemplo 22	3,44	20,0	99,47	99,41	-0,06
Ejemplo 23	4,78	0,1	99,39	98,93	-0,46
Ejemplo 24	4,78	0,5	99,47	99,09	-0,38
Ejemplo 25	4,78	1,0	99,38	93,14	-0,24
Ejemplo 26	4,78	5,0	99,45	99,30	-0,15
Ejemplo 27	4,78	10,0	99,41	99,26	-0,15
Ejemplo 28	4,78	20,0	99,46	99,27	-0,19

* Disminución (%) = (Pureza radioquímica después de 8,5 horas) - (pureza radioquímica después de 0 horas)

5 Ejemplos 29-31, Ejemplos comparativos 6-8: Relación entre la disminución de la pureza radioquímica y la concentración radiactiva

10 Se preparó una solución de reserva de anti-[¹⁸F]-FACBC del mismo modo que en el Ejemplo 1 usando H₂¹⁸O que contiene fluoruro [¹⁸F]. Se midió la radiactividad de la solución de reserva de anti-[¹⁸F]-FACBC obtenida, y se diluyó y ajustó a fin de tener una concentración radiactiva de 507 MBq/ml y una concentración de manitol de 10 µmol/ml (en lo sucesivo en la presente, denominada una solución estándar para la preparación de muestras en estos Ejemplos y Ejemplos comparativos). 2,23 ml de la solución estándar obtenida para la preparación de muestras se prorrataron en un vial de 5 ml de volumen, y se añadió a esto un ácido clorhídrico de modo que el valor del pH se ajustara hasta 3,94. A partir de este vial, una solución se fraccionó en una cantidad mostrada en la Tabla 5, y una solución salina fisiológica se añadió respectivamente para elaborar una solución de muestra de 1 ml de volumen.

15

Tabla 5: Condiciones de dilución en cada muestra

	pH antes de la dilución	Cantidad fraccionada ml	Grado de dilución	Concentración radiactiva después de la dilución* MBq/ml
Ejemplo 29	3,94	1	1 (sin dilución)	573
Ejemplo 30		0,5	2	292
Ejemplo 31		0,1	10	61

*La concentración radiactiva después de la dilución se calculó basándose en la radiactividad medida aproximadamente 10 minutos antes del inicio del experimento.

20 Separadamente, 2,23 ml de la solución estándar preparada anteriormente para la preparación de muestras se prorrataron en un vial de 5 ml de volumen, y se añadió una solución de hidróxido sódico para ajustar el valor del pH hasta 7,91. A partir de este vial, una solución se fraccionó en una cantidad mostrada en la Tabla 6, y una solución salina fisiológica se añadió respectivamente para elaborar una solución de muestra de 1 ml de volumen para el uso en los Ejemplos comparativos 6-8.

Tabla 6: Condiciones de dilución en cada muestra

	pH antes de la dilución	Cantidad fraccionada ml	Grado de dilución	Concentración radiactiva después de la dilución* MBq/ml
Ejemplo comparativo 6	7,91	1	1 (sin dilución)	586
Ejemplo comparativo 7		0,5	2	296
Ejemplo comparativo 8		0,1	10	62

*La concentración radiactiva después de la dilución se calculó basándose en la radiactividad medida aproximadamente 10 minutos antes del inicio del experimento.

5 La solución de muestra se almacenó en una cámara termostática eléctrica ajustada hasta 25°C, y el valor de la pureza radioquímica se calculó del mismo modo que en el Ejemplo 1 en el momento del inicio del experimento (0 horas) y 8,5 horas después del inicio del experimento. La medida de la pureza radioquímica se repitió tres veces para cada solución de muestra.

10 Los resultados se muestran en las Tablas 7 y 8. En los Ejemplos 29-31, independientemente de cuál fuera la concentración radiactiva, difícilmente se observaba una disminución de la pureza radioquímica (Tabla 7). Por otra parte, en ambos Ejemplos comparativos 6-8, se observaba una disminución de la pureza radioquímica con el transcurso del tiempo, y se indicaba que la pureza radioquímica tendía a disminuir con el incremento de la concentración radiactiva (Tabla 8).

15 A partir de los resultados anteriores, al valor de pH de 3,94, se confirmaba que la disminución de la pureza radioquímica se reducía significativamente a una concentración radiactiva de hasta 600 MBq/ml.

20 Además, la disminución de la pureza radioquímica se potenciaba con el incremento de la concentración radiactiva al valor del pH de 7,91, y así se indicaba que la disminución con el transcurso del tiempo de la pureza radioquímica de anti-[¹⁸F]-FACBC no estaba provocada por la descomposición del anti-[¹⁸F]-FACBC debido a la falta de estabilidad química frente al pH, sino que estaba provocada por la descomposición del anti-[¹⁸F]-FACBC debida a la radiólisis por radiación.

25 Tabla 7: Relación entre la pureza radioquímica y la concentración radiactiva en muestras derivadas a pH 3,94

	Concentración radiactiva después de la dilución* MBq/ml	Pureza radioquímica (%)		
		0 horas	6,5 horas	disminución
Ejemplo 29	573	99,64	99,59	0,05
Ejemplo 30	292	99,60	99,56	0,04
Ejemplo 31	61	99,55	99,59	-0,04

*La concentración radiactiva después de la dilución se calculó y se midió aproximadamente 10 minutos antes del inicio del experimento.

Tabla 8: Relación entre la pureza radioquímica y la concentración radiactiva en muestras derivadas a pH 7,91

	Concentración radiactiva después de la dilución* MBq/ml	Pureza radioquímica (%)		
		0 horas	6,5 horas	disminución
Ejemplo comparativo 6	586	99,24	97,57	1,67
Ejemplo comparativo 7	296	99,33	98,01	1,32
Ejemplo comparativo 8	62	99,44	98,83	0,61

*La concentración radiactiva después de la dilución se calculó basándose en la radiactividad medida aproximadamente 10 minutos antes del inicio del experimento.

Ejemplos 32-33: Relación entre la adición de manitol y la disminución de pureza radioquímica

Se preparó una solución de reserva de anti-[¹⁸F]-FACBC del mismo modo que en el Ejemplo 1. La solución de reserva de anti-[¹⁸F]-FACBC preparada se diluyó con un ácido clorhídrico y una solución salina fisiológica a fin de tener una concentración radiactiva de 568,1 MBq/ml en el momento predeterminado en el que se iniciaba el experimento (0 horas en la Tabla 9) (pH 3,98). Esta solución se prorrateó en una cantidad de 2,23 ml como una solución de muestra (Ejemplo 32). Separadamente, la solución ajustada hasta 507 MBq/ml se prorrateó en una cantidad de 2,23 ml, y se añadió a la misma una solución de manitol para preparar una solución ajustada para tener una concentración de manitol de 10 µmol/ml para el uso en el experimento (Ejemplo 33).

La solución de muestra se almacenó en una cámara termostática eléctrica ajustada hasta 25°C, se realizó análisis por TLC en el momento del inicio del experimento (0 horas), 2,5 horas más tarde, 4,5 horas más tarde, 6,5 horas más tarde y 8,5 horas más tarde del mismo modo que en el Ejemplo 1, y se calculó el valor de la impureza radiactiva según la siguiente ecuación (2). La medida de la impureza radioquímica se repitió tres veces para cada solución de muestra.

$$\text{Impureza radioquímica (\%)} = \frac{\text{Radiactividad de la impureza radioquímica}}{\text{Radiactividad total en la placa de TLC}} \times 100 \quad (2)$$

Los resultados se muestran en la Tabla 9. En la solución de muestra que no se combinaba con manitol (Ejemplo 32), la impureza radioquímica se reducía hasta 1% o menos en todos los puntos temporales en virtud del efecto del ajuste del pH. Sin embargo, se indicaba una tendencia de incremento con el transcurso del tiempo hasta 6,5 horas después del inicio del experimento. Por otra parte, en la solución de muestra que se combinaba con manitol (Ejemplo 33), no se observaba incremento de la pureza radioquímica con el transcurso del tiempo.

A partir de los resultados anteriores, se indicaba que la combinación de manitol permite que el incremento de la pureza radioquímica mediante radiolisis se inhiba adicionalmente. A partir de esto, se confirmaba que el efecto de la estabilización de la pureza radioquímica se reforzaba más mediante la adición de manitol.

Tabla 9: Cambio con el transcurso del tiempo o impureza radiactiva

	Impureza radioquímica (%)				
	0 hora	2,5 horas	4,5 horas	6,5 horas	8,5 horas
Ejemplo 32	0,52	0,73	0,90	0,98	0,95
Ejemplo 33	0,50	0,52	0,48	0,56	0,49

Aplicabilidad industrial

La presente invención puede reducir la radiolisis de compuestos de aminoácido marcados con flúor radiactivo útiles como agentes de PET, y es útil en el campo de los productos radiofarmacéuticos.

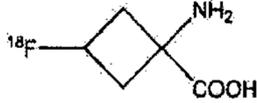
Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una gráfica que muestra una relación entre el pH y la disminución de la pureza radioquímica.

La Fig. 2 es una gráfica que muestra una relación entre la concentración de manitol y la disminución de la pureza radioquímica.

REIVINDICACIONES

1. Un agente radiactivo de diagnóstico por imagen, que comprende una solución de un compuesto de aminoácido marcado con flúor radiactivo representado por la siguiente fórmula (1):



(1)

- 5
- en donde la solución tiene un valor del pH ajustado hasta 2,0-5,9 con ácido clorhídrico.
- 10
2. El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la reivindicación 1, en el que la solución tiene un valor del pH de 2,0-4,9.
3. El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la reivindicación 1 o 2, que comprende además un aditivo farmacéutico.
- 15
4. El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la reivindicación 3, en el que el aditivo farmacéutico es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un alcohol sacárico, un azúcar y una lactona sacárica.
5. El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la reivindicación 4, en el que el aditivo farmacéutico es un alcohol sacárico.
- 20
6. El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la reivindicación 5, en el que el alcohol sacárico es al menos uno del grupo que consiste en eritritol, xilitol, sorbitol y manitol.
- 25
7. El agente radiactivo de diagnóstico por imagen según la reivindicación 5 o 6, en el que el alcohol sacárico está contenido en una cantidad no menor de 0,5 $\mu\text{mol/ml}$ y no mayor de la cantidad máxima aceptable para aditivos farmacéuticos.

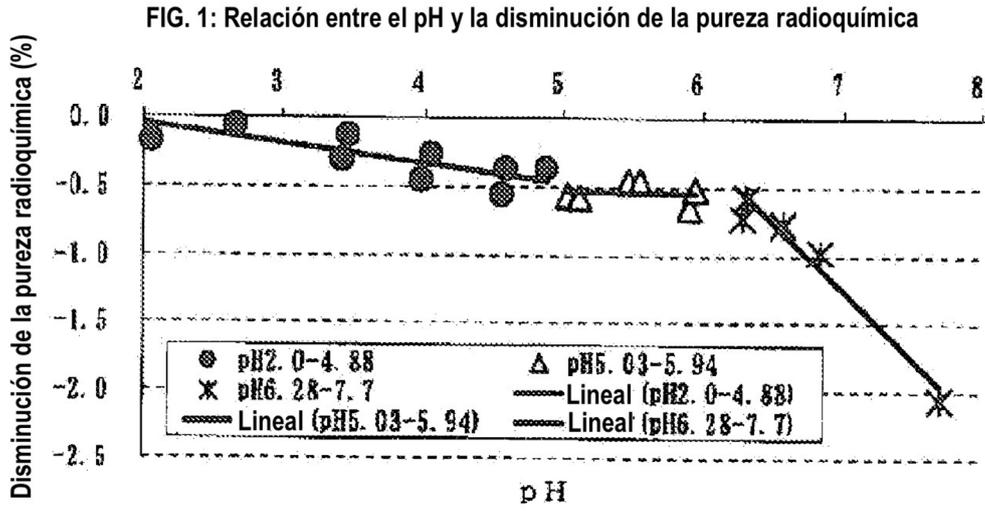


FIG. 2: Relación entre la concentración de manitol y la disminución de la pureza radioquímica

