

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 073**

51 Int. Cl.:

C07B 59/00 (2006.01)

A61K 51/04 (2006.01)

C07C 227/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.06.2015 PCT/EP2015/064796**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.01.2016 WO16001199**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.06.2015 E 15732267 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019 EP 3160923**

54 Título: **Nueva formulación y método de síntesis**

30 Prioridad:

30.06.2014 GB 201411569

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

22.04.2019

73 Titular/es:

GE HEALTHCARE LIMITED (100.0%)

Amersham Place

Little Chalfont, Buckinghamshire HP7 9NA, GB

72 Inventor/es:

DYRSTAD, KNUT RICHARD;

WICKSTROM, TORILD y

RAJANAYAGAM, THANUSHAN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 710 073 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

Nueva formulación y método de síntesis

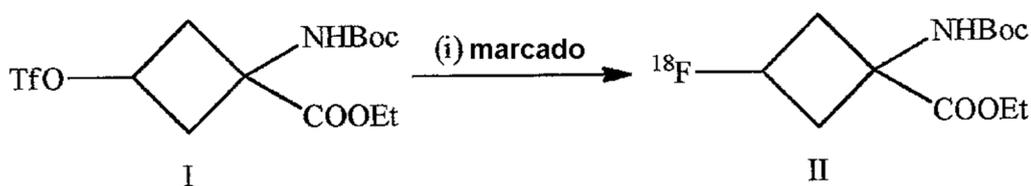
Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a una composición de un producto de fármaco y en particular a una composición que comprende un trazador de tomografía de emisión de positrones (PET). La composición de la presente invención y su método de síntesis tienen ciertas ventajas sobre la técnica anterior.

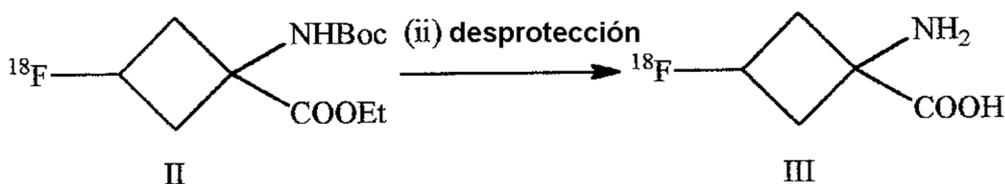
Descripción de la técnica relacionada

10 El aminoácido no natural ácido ^{18}F -1-amino-3-fluorociclobutano-1-carboxílico (^{18}F -FACBC, conocido también como ^{18}F -Fluciclovina) es absorbido específicamente por transportadores de aminoácidos, y muestra una promesa para la obtención de imágenes por tomografía de emisión de positrones (PET) del cáncer de próstata (Nanni et al 2014 Clinical Genitourinary Cancer; 12(2): 106-110).

La producción de ^{18}F -FACBC comprende el marcado de un compuesto precursor de triflato con fluoruro ^{18}F :



antes de la retirada de los dos grupos protectores:



15 Después de las etapas de desprotección se lleva a cabo una purificación para retirar impurezas. En los métodos practicados en la actualidad se usa una combinación de fases sólidas: retardo iónico para retirar el exceso de Na^+ y el exceso de Cl^- que han quedado de las etapas de desprotección, alúmina para retirar ^{18}F -fluoruro y una fase inversa para retirar impurezas relacionadas con FACBC tales como ácido 1-amino-3-hidroxi-ciclobutano-1-carboxílico (hidroxil-ACBC) y ácido 1-amino-3-cloro-ciclobutano-1-carboxílico (cloro-ACBC).

20 La síntesis se lleva a cabo típicamente en la actualidad por medio de un procedimiento de radiosíntesis automatizado que emplea una llamada "casete" o "cartucho" diseñado para encajar de manera retirable e intercambiable sobre un aparato de síntesis automatizado tal como los que están disponibles en el mercado en GE Healthcare, CTI Inc., Ion Beam Applications S.A. (Chemin du Cyclotron 3, B-1348 Louvain-La-Nouve, Bélgica); Raytest (Alemania) y Bioscan (EE.UU.). La casete comprende todos los reactivos, recipientes de reacción y aparatos necesarios para llevar a cabo la preparación de ^{18}F -FACBC después de la introducción de ^{18}F -fluoruro preparado adecuadamente por métodos bien conocidos en el campo de la producción de trazadores de PET. Una casete conocida para la síntesis de ^{18}F -FACBC es una casete FASTlab™ de GE Healthcare. Cada casete está construida alrededor de un colector moldeado en una pieza con 25 llaves de paso de tres vías, todas hechas de polipropileno. La casete incluye un cartucho de extracción en fase sólida (SPE) de metilamonio cuaternario (QMA), un reactor de copolímeros olefínicos cíclicos de 5 ml, una jeringuilla de 1 ml y dos jeringuillas de 5 ml, puntas para la conexión con cinco viales de reactivo prellenado A-E, una bolsa de agua (100 ml), tres cartuchos SPE (tC18, HLB y alúmina) y filtros. Los cinco viales de reactivo de la casete FASTlab™ están llenos como sigue: el vial A contiene una disolución eluyente que comprende Kryptofix 2.2.2. y K_2CO_3 en acetonitrilo (MeCN), el vial B contiene HCl, el vial C contiene MeCN, el vial D contiene el compuesto precursor seco de Fórmula I del esquema de reacción ilustrado anteriormente y el vial E contiene NaOH. Un método conocido para la producción del producto de fármaco ^{18}F -FACBC usando esta casete FASTlab™ se describe en el Ejemplo 1 de la solicitud de patente internacional WO 2013/093025. La radiosíntesis se inicia atrapando ^{18}F -fluoruro acuoso sobre el QMA seguido de una elución en el reactor usando el eluyente del vial A, y después se concentra a sequedad por destilación azeotrópica con el acetonitrilo del vial C. El MeCN se mezcla con el compuesto precursor del vial D y el precursor disuelto se añade al reactor y se calienta durante 3 min a 85°C . Después la mezcla de reacción se diluye con agua y se envía a través del cartucho tC18. El reactor se lava con agua y se envía a través del cartucho tC18. El compuesto intermedio marcado, fijado en el cartucho tC18, se lava con agua, y después se incubaba con NaOH durante 5 min para retirar el grupo éster. El compuesto intermedio desesterificado se retira por elución del cartucho tC18 y se

5 devuelve al reactor usando agua. El grupo BOC es hidrolizado en el reactor añadiendo HCl y calentando durante 5 min a 60°C. Después el ¹⁸F-FACBC bruto se envía a través del cartucho HLB (HLB = de equilibrio hidrófilo-lipófilo) para la retirada de impurezas relacionadas con FACBC, el cartucho de alúmina para la retirada de ¹⁸F-fluoruro, y después a un vial de producto de 30 ml que contiene tampón citrato. Después los cartuchos HLB y de alúmina se lavan con agua, que se envía al vial de producto. Finalmente, se añaden NaOH y agua al vial de producto para proporcionar la formulación purificada final de ¹⁸F-FACBC. Antes de la administración intravenosa, esta formulación se hace pasar a través de un filtro estéril.

10 Los presentes inventores han encontrado que la calidad del producto de fármaco ¹⁸F-FACBC final obtenido usando la casete y procedimiento FASTlab™ conocidos descritos anteriormente puede ser algo variable. Se ha encontrado que los niveles de acetonitrilo residual varían de aproximadamente 100 µg/ml a aproximadamente 600 µg/ml. Aunque aceptables en términos de exposición diaria permitida y en el contexto de los criterios de aceptación para el producto de fármaco ¹⁸F-FACBC, la cantidad y variabilidad observada es menor que la ideal. Además, se ha encontrado que el aluminio residual varía de aproximadamente 7 µg/ml a casi 20 µg/ml, lo que supondría una cantidad potencial de 100 µg en una inyección de ¹⁸F-FACBC de 5 ml. Donde el producto de fármaco ¹⁸F-FACBC también comprenda tampón citrato, es probable que estén presentes complejos de aluminio y citrato, lo que es problemático, ya que se sabe que tales complejos atraviesan la barrera sangre-cerebro (Rengel 2004 Biometals; 17: 669-689).

Hay por lo tanto alcance para una formulación de un producto de fármaco ¹⁸F-FACBC mejorada.

Compendio de la invención

20 La presente invención proporciona una composición de un producto de fármaco que comprende ¹⁸F-FACBC que vence los problemas vistos con tales composiciones conocidas. En particular, la composición de la presente invención tiene un perfil de impurezas mejorado, que la hace más segura y más eficaz para obtener imágenes en comparación con la técnica anterior. Los bajos y predecibles niveles de acetonitrilo y/o aluminio en el producto de fármaco final suponen que la composición de la invención cumple más fácilmente los requisitos de la farmacopea mundial. Además de una reducción significativa en la concentración de aluminio en el producto de fármaco final, la retirada del cartucho de alúmina tiene las ventajas añadidas de que se permite un procedimiento más corto y simplificado, y que no están presentes partículas que surjan de este cartucho, que los presentes inventores han advertido que pueden bloquear el filtro estéril usado antes de la inyección del producto de fármaco. Además, las ventajas de la presente invención se consiguen con solo cambios menores en el procedimiento conocido y sin perjudicar las calidades deseables de las composiciones de ¹⁸F-FACBC conocidas.

30 Descripción detallada de las realizaciones preferidas

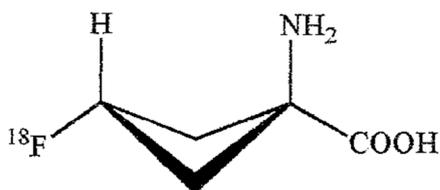
Para describir y señalar de manera más clara y concisa el tema de la invención reivindicada, se proporcionan definiciones en la descripción detallada a continuación para términos específicos usados en toda la presente memoria descriptiva y reivindicaciones. Cualquier ejemplificación de términos específicos en la presente memoria debe ser considerada como ejemplos no limitantes.

35 En un aspecto la presente invención se refiere a una composición trazadora de tomografía de emisión de positrones (PET) que comprende ácido *anti*-1-amino-3-¹⁸F-fluorociclobutil-1-carboxílico (¹⁸F-FACBC) caracterizada por que dicha composición comprende no más que 5,0 µg/ml de aluminio (Al) disuelto.

40 En un aspecto la presente invención se refiere a una composición trazadora de tomografía de emisión de positrones (PET) que comprende ácido *anti*-1-amino-3-¹⁸F-fluorociclobutil-1-carboxílico (¹⁸F-FACBC) caracterizada por que dicha composición comprende no más que 5,0 µg/ml de aluminio (Al) disuelto y no más que 50 µg/ml de acetonitrilo (MeCN).

45 En el contexto de la presente invención una "composición trazadora de PET" se refiere a una composición que comprende un trazador de PET junto con un vehículo biocompatible en una forma adecuada para la administración a mamíferos. La composición trazadora de PET de la invención se denomina también en lo sucesivo composición de la invención. Un "trazador de PET" se define en la presente memoria como una molécula biológicamente activa que comprende un átomo que es un emisor de positrones adecuado para la administración intravenosa a un sujeto mamífero seguido de obtención de imágenes PET para obtener una o más imágenes clínicamente útiles de la ubicación y/o distribución del trazador de PET. Un "vehículo biocompatible", como se define en la presente memoria, es un fluido, especialmente un líquido, en el que está suspendido o disuelto un producto farmacéutico, de tal modo que la composición sea físicamente tolerable, es decir, pueda ser administrada al cuerpo del mamífero sin toxicidad o incomodidad indebida. El vehículo biocompatible es adecuadamente un líquido portador inyectable tal como agua estéril apirogénica para inyección o una disolución acuosa tal como suero salino.

50 El compuesto "¹⁸F-FACBC" se representa mediante la siguiente estructura química:



5 El término “no más que”, como se emplea en la presente memoria, debe entenderse que significa cualquier cantidad menor que, y que incluye, la cantidad citada. En una realización idealizada de la composición de la presente invención habría cero µg/ml de cada impureza presente. Sin embargo, en la realidad, cero µg/ml de una impureza es improbable, y queda al menos una cantidad traza de cada impureza en la composición. El término “no más que” reconoce que está presente una cantidad traza de una o más impurezas en una composición trazadora de PET, y define un límite de concentración por encima del que la composición no se juzgaría aceptable para el uso.

En una realización, la composición de la invención comprende no más que no más que 3,0 µg/ml de Al disuelto, y en otra realización no más que 1,5 µg/ml de Al disuelto.

10 En una realización, la composición de la presente invención comprende MeCN en una concentración no más que 20 µg/ml.

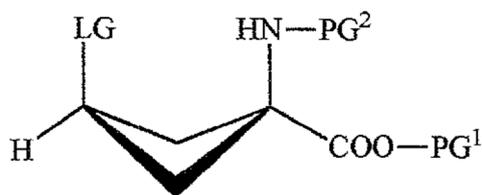
La composición de la invención, en una realización, tiene una pureza radioquímica (RCP) de fin de síntesis (EOS) de al menos 95%, en otra realización al menos 98%, y en aún otra realización al menos 99%.

15 El término “fin de síntesis” se refiere al punto en el tiempo en que el compuesto marcado se recoge en el vial de recogida de producto.

20 El documento EP 2119458 (A1) explica que se consigue una formulación de ¹⁸F-FACBC más estable cuando el pH es mantenido dentro del intervalo 2,0-5,9. Como se discute en la solicitud de patente internacional WO 2013/093025, el uso de tampón citrato permite mantener el pH dentro de un intervalo incluso más estrecho, proporciona resistencia a la degradación y permite tratar en autoclave la formulación. En una realización, la composición de la presente invención comprende por lo tanto alrededor de 50-100 mM de tampón citrato, en otra realización alrededor de 60-90 mM de tampón citrato y en aún otra realización alrededor de 75-85 mM de tampón citrato. El término “alrededor” en este contexto incorpora los valores exactos de los intervalos, así como una pequeña variación alrededor de estos valores que sería esperada por el experto en la técnica para conseguir el mismo efecto de estabilización.

25 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar una composición trazadora de PET de la invención, en donde dicho método comprende:

(a) hacer reaccionar en un recipiente de reacción una fuente de ¹⁸F-fluoruro con un compuesto precursor de Fórmula I:



(I);

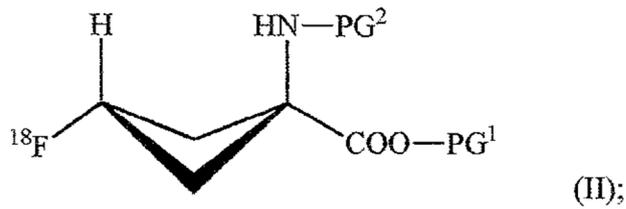
en donde:

30 LG es un grupo saliente;

PG¹ es un grupo protector de carboxi; y,

PG² es un grupo protector de amina;

para obtener una mezcla de reacción que comprende un compuesto de Fórmula II:



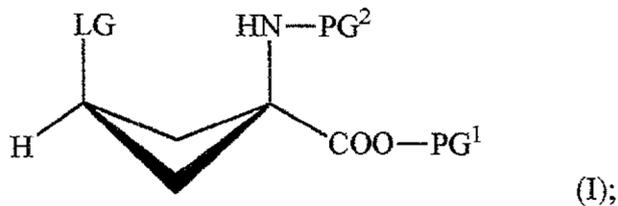
en donde PG¹ y PG² son como se definieron para la Fórmula I;

(b) llevar a cabo la retirada de PG¹ y PG² para obtener una mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC; y

5 (c) purificar dicha mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC haciéndola pasar a través de una fase sólida de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB), caracterizada por que dicha purificación no comprende hacer pasar la mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC a través de una fase sólida de alúmina.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar una composición trazadora de PET de la invención, en donde dicho método comprende:

10 (a) hacer reaccionar en un recipiente de reacción una fuente de ¹⁸F-fluoruro con un compuesto precursor de Fórmula I:



en donde:

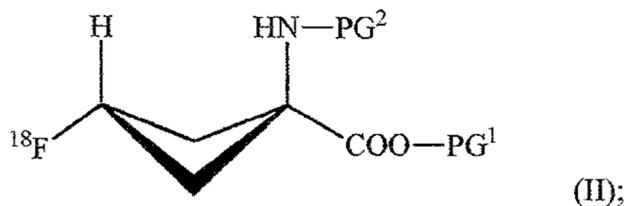
LG es un grupo saliente;

PG¹ es un grupo protector de carboxi; y,

15 PG² es un grupo protector de amina;

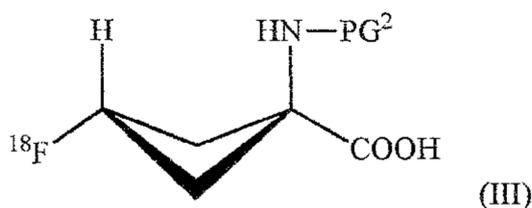
en donde dicha etapa de reacción se lleva a cabo en acetonitrilo;

para obtener una mezcla de reacción que comprende un compuesto de Fórmula II:



en donde PG¹ y PG² son como se definieron para la Fórmula I;

20 (b) transferir dicha mezcla de reacción que comprende dicho compuesto de Fórmula II fuera de dicho recipiente de reacción y llevar a cabo la retirada de PG¹ para obtener una mezcla de reacción que comprende un compuesto de Fórmula III:



en donde PG² es como se definió para la Fórmula I;

(c) aplicar calor a dicho recipiente de reacción al mismo tiempo que se lleva a cabo la retirada de PG¹;

(d) transferir dicha mezcla de reacción que comprende dicho compuesto de Fórmula III de vuelta a dicho recipiente de reacción y llevar a cabo la retirada de PG² para obtener una mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC;

- 5 (e) purificar dicha mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC haciéndola pasar a través de una fase sólida de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB), caracterizada por que dicha purificación no comprende hacer pasar la mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC a través de una fase sólida de alúmina.

La “fuente de ¹⁸F-fluoruro” adecuada para el uso en la etapa (a) del método de la invención se obtiene normalmente como una disolución acuosa a partir de la reacción nuclear ¹⁸O(p,n)¹⁸F. A fin de aumentar la reactividad del fluoruro y reducir o minimizar subproductos hidroxilados que resultan de la presencia de agua, típicamente se retira el agua del ¹⁸F-fluoruro antes de la reacción, y las reacciones de fluoración se llevan a cabo usando disolventes de reacción anhidros (Aigbirhio et al 1995 J Fluor Chem; 70: 279-87). Una etapa adicional que se usa para mejorar la reactividad del ¹⁸F-fluoruro para reacciones de radiofluoración es añadir un contraión catiónico antes de la retirada del agua. Adecuadamente, el contraión debe poseer suficiente solubilidad dentro del disolvente de reacción anhidro para mantener la solubilidad del ¹⁸F-fluoruro. Por lo tanto, los contraiones que se usan típicamente incluyen iones metálicos grandes pero suaves tales como rubidio o cesio, potasio complejado con un criptando tal como KryptofixTM, o sales de tetraalquilamonio, en donde se prefieren el potasio complejado con un criptando tal como KryptofixTM o las sales de tetraalquilamonio.

El “compuesto precursor” para la etapa (a) del método de la invención comprende un derivado no radiactivo de un compuesto radiomarcado, diseñado para que una reacción química con una forma química conveniente de la marca detectable se produzca de manera específica a sitio, pueda realizarse en el mínimo número de etapas (idealmente una única etapa), y sin necesidad de una purificación significativa (idealmente sin purificación adicional), para dar el compuesto radiomarcado deseado. Tales compuestos precursores son sintéticos, y pueden obtenerse convenientemente en buena pureza química.

Un “grupo saliente” adecuado, en el contexto del compuesto de Fórmula I en la etapa (a) del método de la presente invención, es un grupo químico que puede ser desplazado por una reacción de desplazamiento nucleofílico con el ión fluoruro. Estas son bien conocidas en la técnica de la química sintética. En algunas realizaciones el grupo saliente de la presente invención es un sustituyente de ácido haloalquilsulfónico C₁₋₁₀ lineal o ramificado, un sustituyente de ácido alquilsulfónico C₁₋₁₀ lineal o ramificado, un sustituyente de ácido fluorosulfónico, o un sustituyente de ácido sulfónico aromático. En otras realizaciones de la invención el grupo saliente se selecciona de ácido metanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido nitrobenenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido fluorosulfónico, y ácido perfluoroalquilsulfónico. En algunas realizaciones el grupo saliente es ácido metanosulfónico, ácido trifluorometanosulfónico o ácido toluenosulfónico, y en otra realización el grupo saliente es ácido trifluorometanosulfónico.

El término “grupo protector”, como se emplea en conexión con los sustituyentes PG¹ y PG², se refiere a un grupo que inhibe o suprime reacciones químicas indeseables, pero que está diseñado para ser suficientemente reactivo para que pueda ser escindido del grupo funcional en cuestión para obtener el producto deseado en condiciones lo suficientemente suaves para que no modifiquen el resto de la molécula. Los grupos protectores son bien conocidos por los expertos en la técnica, y se describen en “Protective Groups in Organic Synthesis”, Theodorora W. Greene y Peter G. M. Wuts, (Cuarta Edición, John Wiley & Sons, 2007).

El “grupo protector de carboxi” PG¹ en la presente memoria es preferiblemente una cadena de alquilo C₁₋₁₀ lineal o ramificado o un sustituyente de arilo. El término “alquilo”, usado en solitario o bien como parte de otro grupo, se define como cualquier grupo C_nH_{2n+1} lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado. El término “arilo” se refiere a cualquier fragmento molecular o grupo C₆₋₁₄ que deriva de un hidrocarburo aromático monocíclico o policíclico, o un hidrocarburo heteroaromático monocíclico o policíclico. En una realización del método de la invención PG¹ se selecciona de metilo, etilo, t-butilo y fenilo. En otra realización de la invención PG¹ es metilo o etilo y en aún otra realización PG¹ es etilo.

El “grupo protector de amina” PG² en la presente memoria se refiere a un grupo químico que impide adecuadamente la reacción entre ¹⁸F y el grupo amino en el procedimiento de provisión del compuesto de Fórmula II. Los ejemplos de grupos protectores de amina adecuados incluyen diversos sustituyentes de carbamato, diversos sustituyentes de amida, diversos sustituyentes de imida, y diversos sustituyentes de amina. Preferiblemente, el grupo protector de amina se selecciona del grupo que consiste en sustituyentes de alquiloxicarbonilo C₂₋₇ lineales o ramificados, sustituyentes de alqueniloxicarbonilo C₃₋₇ lineales o ramificados, sustituyentes de benciloxicarbonilo C₇₋₁₂ que pueden tener un grupo modificador, sustituyentes de alquilditiooxicarbonilo C₂₋₇, sustituyentes de alquilamida C₁₋₆ lineales o ramificados, sustituyentes de alquenilamida C₂₋₆ lineales o ramificados, sustituyentes de benzamida C₆₋₁₁ que pueden tener un grupo modificador, sustituyentes de imida cíclica C₄₋₁₀, sustituyentes de imina aromática C₆₋₁₁ que pueden tener un sustituyente, sustituyentes de alquilamina C₁₋₆ lineales o ramificados, sustituyentes de alquenilamina C₂₋₆ lineales o ramificados, y sustituyentes de bencilamina C₆₋₁₁ que pueden tener un grupo modificador. En algunas realizaciones de la invención PG² se selecciona de t-butoxicarbonilo, aliloxicarbonilo, ftalimida y N-bencilidenamina.

En otras realizaciones PG² se selecciona de t-butoxicarbonilo y ftalimida. En una realización de la invención PG² es t-butoxicarbonilo.

El término “reaccionar” en la etapa (a) del método de la invención, como es bien sabido por los expertos en la técnica, se refiere a reunir dos o más sustancias químicas (denominadas típicamente en la técnica “reaccionantes” o “reactivos”) para dar como resultado un cambio químico en una o ambas de las sustancias químicas.

La “retirada de PG¹” en la etapa (b) del método de la invención se lleva a cabo adecuadamente poniendo en contacto el compuesto de Fórmula II, comprendido dentro de la mezcla de reacción obtenida en la etapa (a), con un agente desprotector de carboxi. Un agente desprotector de carboxi adecuado puede ser una disolución ácida o bien alcalina, como es bien sabido por el experto en la técnica (véase Greene y Wuts, anteriormente). La concentración del agente desprotector de carboxi es adecuadamente justo la suficiente para retirar el grupo protector de carboxi. Preferiblemente el agente desprotector de carboxi es una disolución alcalina. En ciertas realizaciones el agente desprotector de carboxi es una disolución de hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, y en una realización preferida es una disolución de hidróxido de sodio, por ejemplo de 0,5-2,0 M. La temperatura y la duración usadas para la desprotección pueden ser adaptadas en algunas realizaciones para permitir la retirada del PG¹. Por ejemplo, en ciertas realizaciones la etapa de reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente y durante una duración de alrededor de 1-5 minutos. En una realización, la retirada del PG¹ se lleva a cabo haciendo pasar la mezcla de reacción que comprende el compuesto de Fórmula II a través de una columna de extracción de fase sólida (SPE) donde el compuesto de Fórmula II se une a la fase sólida. Una vez que el compuesto de Fórmula II está unido, se cierra la salida de la columna SPE para que el agente desprotector de carboxi sea retenido en la misma durante una cantidad de tiempo definida. Una fase sólida adecuada para el uso de esta manera es una fase sólida de fase inversa, p.ej. tC18.

La etapa (c) comprende aplicar calor al recipiente de reacción usando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, p.ej., usando un calentador dedicado en el que se coloca el recipiente de reacción durante la duración de la radiosíntesis. La aplicación de calor debe ser tal que el recipiente de reacción se pueda usar para la etapa (d) posterior, es decir, para que el recipiente de reacción esté intacto y sin daños, y también para que el disolvente residual sea retirado eficazmente. Esta etapa (c) se lleva a cabo al mismo tiempo que la retirada de PG¹, es decir, después de que la mezcla de reacción que comprende el compuesto de Fórmula II haya sido transferida fuera de dicho recipiente de reacción. Una temperatura adecuada para esta etapa de calentamiento no debe ser mayor que la tolerancia del recipiente de reacción, p.ej. para un recipiente de reacción hecho de copolímero olefínico cíclico (COC) una temperatura no mayor que aproximadamente 130°C, y para un recipiente de reacción hecho de poliétertercetona (PEEK) una temperatura no mayor que aproximadamente 200°C. Por conveniencia, la temperatura usada para calentar el recipiente de reacción en la etapa (c) puede seleccionarse para que sea tan cercana como sea posible a la temperatura usada durante la etapa de marcado (a). Las temperaturas adecuadas para la etapa de radiomarcado (a) están en el intervalo de aproximadamente 80-140°C, en otras realizaciones 85-130°C.

La “retirada de PG²” en la etapa (d) del método de la invención se lleva a cabo poniendo en contacto el compuesto de Fórmula III con un agente desprotector de amina. Un agente desprotector de amina adecuado puede ser una disolución ácida o bien alcalina, como es bien sabido por el experto en la materia (véase Greene y Wuts, anteriormente). La concentración del agente desprotector de amina es adecuadamente justo la suficiente para retirar PG². Preferiblemente el agente desprotector de amina es una disolución ácida. Un ácido adecuado es un ácido seleccionado de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico (HCl), ácido sulfúrico (H₂SO₄) y ácido nítrico (HNO₃), y ácidos orgánicos tales como ácidos perfluoroalquilcarboxílicos, p.ej., ácido trifluoroacético (CF₃CO₂H). En ciertas realizaciones, el agente desprotector de amina es HCl, p.ej., en una concentración de 1,0-4,0 M. La retirada de PG² se lleva a cabo en una realización con calor para permitir que la desprotección proceda más rápidamente. El tiempo depende de la temperatura de reacción u otras condiciones. Por ejemplo, en una realización la retirada de PG² se lleva a cabo a 60°C, con un tiempo de reacción de 5 minutos.

El objetivo de la etapa de “purificación” (e) es obtener ¹⁸F-FACBC sustancialmente puro. El término “sustancialmente” se refiere a la extensión o grado completo o casi completo de una acción, característica, propiedad, estado, estructura, elemento o resultado. El término “sustancialmente puro”, como se emplea en la presente memoria en el contexto de ¹⁸F-FACBC, abarca ¹⁸F-FACBC completamente puro o ¹⁸F-FACBC que es suficientemente puro para ser adecuado para el uso como trazador de PET. El término “adecuado para el uso como trazador de PET” significa que el producto de ¹⁸F-FACBC purificado es adecuado para la administración intravenosa a un sujeto mamífero seguido de obtención de imágenes por PET para obtener una o más imágenes clínicamente útiles de la ubicación y/o distribución de ¹⁸F-FACBC.

Una “fase sólida HLB” es una fase sólida de fase inversa que tiene componentes hidrófilos y lipófilos adecuados para una gama de propósitos. La fase sólida HLB está disponible en el mercado como cartuchos SPE adecuados para el uso en el método de la presente invención, p.ej. el cartucho SPE Oasis HLB.

Una “fase sólida de alúmina” es una fase sólida de fase normal de óxido de aluminio usada rutinariamente en métodos de marcado con ¹⁸F como medio para retirar ¹⁸F-fluoruro libre y optimizar la pureza radioquímica del producto final. La fase sólida de alúmina está disponible en el mercado como cartuchos SPE adecuados para el uso en el método de la presente invención, p.ej. el Waters Alumina N Light.

En el método de la invención, las etapas (a)-(c) o (a)-(e) se llevan a cabo en secuencia.

En una realización del método de la presente invención, el sustituyente LG en el compuesto de Fórmula I es un sustituyente de ácido haloalquilsulfónico C₁₋₁₀ lineal o ramificado, un sustituyente de ácido alquilsulfónico C₁₋₁₀ lineal o ramificado, un sustituyente de ácido fluorosulfónico o un sustituyente de ácido sulfónico aromático. Los ejemplos de LG incluyen ácido metanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido nitrobenenosulfónico, ácido benenosulfónico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido fluorosulfónico y ácido perfluoroalquilsulfónico. En una realización LG es ácido trifluorometanosulfónico.

En una realización del método de la presente invención el sustituyente PG¹ en los compuestos de Fórmula I y II es una cadena de alquilo C₁₋₁₀ lineal o ramificada o un sustituyente de arilo. Por ejemplo, PG¹ puede ser metilo, etilo, t-butilo o fenilo. En una realización PG¹ es metilo o etilo. En otra realización, PG¹ es etilo.

En una realización del método de la presente invención el sustituyente PG² en los compuestos de Fórmulas I-III es un sustituyente de carbamato, un sustituyente de amida, un sustituyente de imida o un sustituyente de amina. Los ejemplos incluyen t-butoxicarbonilo, aliloxicarbonilo, ftalimida y N-bencilidenamina. En una realización, PG² es t-butoxicarbonilo.

El método de la presente invención puede comprender además la etapa de formular la mezcla de reacción purificada obtenida en la etapa (e) con tampón citrato. En una realización, esta etapa de formulación da como resultado una concentración de 50-100 mM de tampón citrato, en otra realización 60-90 mM de tampón citrato y en aún otra realización 75-85 mM de tampón citrato.

En una realización, el método de la invención está automatizado, p.ej. llevado a cabo en un aparato de síntesis automatizado. Los trazadores de PET marcados con ¹⁸F se preparan convenientemente a menudo en aparatos de radiosíntesis automatizados. Mediante el término "aparato de radiosíntesis automatizado" se quiere decir un módulo automatizado basado en el principio de operaciones unitarias descrito por Satyamurthy et al (1999 Clin Positr Imag; 2(5): 233-253).

El término "operaciones unitarias" significa que los procedimientos complejos se reducen a una serie de operaciones o reacciones simples, que pueden aplicarse a una gama de materiales. Los aparatos sintetizadores automatizados adecuados están disponibles en el mercado en una gama de proveedores, que incluyen: GE Healthcare Ltd (Chalfont St Giles, RU); CTI Inc. (Knoxville, EE.UU.); Ion Beam Applications S.A. (Chemin du Cyclotron 3, B-1348 Louvain-La-Nouve, Bélgica); Raytest (Straubenhardt, Alemania) y Bioscan (Washington DC, EE.UU.).

Los aparatos de radiosíntesis automatizados comerciales también proporcionan recipientes adecuados para el desecho radioactivo líquido generado como resultado de la preparación radiofarmacéutica. Los aparatos de radiosíntesis automatizados no están provistos típicamente con protección contra la radiación, dado que se diseñan para ser empleados en una celda de trabajo radiactivo configurada adecuadamente. La celda de trabajo radiactivo, llamada también celda caliente, proporciona protección adecuada contra la radiación para proteger al operador de una dosis de radiación potencial, así como ventilación para retirar vapores químicos y/o radiactivos.

Los aparatos de radiosíntesis automatizados preferidos de la presente invención son los que interactúan con una "casete" desechable o de un solo uso (denominada habitualmente también "cartucho") que comprende todos los reactivos, recipientes de reacción y aparatos necesarios para llevar a cabo la preparación de un lote dado de compuesto radiofarmacéutico. Mediante el uso de tales casetes, el aparato de radiosíntesis automatizado tiene la flexibilidad de ser capaz de preparar diversos compuestos radiofarmacéuticos diferentes con un riesgo mínimo de contaminación cruzada, simplemente cambiando la casete. La estrategia de la casete tiene también las ventajas de una configuración simplificada y por tanto un riesgo reducido de error del operador; cumplimiento de la GMP (Buena Práctica de Fabricación) mejorado; capacidad multitrazadora; cambio rápido entre ejecuciones de producción; comprobación diagnóstica automatizada de preejecución de la casete y los reactivos; comprobación cruzada automatizada de códigos de barras de reactivos químicos frente a la síntesis a ser llevada a cabo; trazabilidad de los reactivos; un solo uso y por tanto ningún riesgo de contaminación cruzada, resistencia a la manipulación y al abuso.

La casete ha sido simplificada mediante la retirada del cartucho de alúmina. El cartucho de alúmina estaba presente en configuraciones de casete anteriores para retirar residuos de ¹⁸F-fluoruro libre de una purificación insuficiente y/o de radiólisis. Sin embargo, los presentes inventores han encontrado que la actividad en reposo sobre el cartucho de alúmina es muy baja (0,1-0,3%), indicando tanto un procedimiento de purificación robusto como un grado de radiólisis bajo. Estos datos sugieren que el cartucho de alúmina es superfluo y puede ser retirado. Esto tiene el beneficio adicional de que no hay riesgo de que esté presente ninguna partícula del cartucho de alúmina en el producto de fármaco, que plantee un riesgo de bloquear el filtro estéril.

El procedimiento ha sido mejorado mediante la adición de una etapa concurrente de retirada de acetonitrilo residual del reactor mientras procede la etapa de desesterificación en el cartucho tC18. Esto da como resultado un producto de fármaco final que tiene una concentración más baja y más predecible de acetonitrilo residual que la obtenida usando métodos de la técnica anterior.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 ilustra una casete ilustrativa para llevar a cabo el método de la invención.

Breve descripción de los ejemplos

Los siguientes ejemplos no limitantes sirven para ilustrar realizaciones particulares del tema de la presente invención.

5 Lista de abreviaturas usadas en los ejemplos

BOC	terc-Butoxicarbonilo
DP	producto de fármaco
HLB	equilibrio hidrófilo-lipófilo
K ₂₂₂	Kryptofix 222
MeCN	acetonitrilo
QMA	metilamonio cuaternario
RAC	concentración radiactiva
RCP:	pureza radioquímica

Ejemplos

Ejemplo Comparativo 1: Síntesis de ¹⁸F-FACBC de la técnica anterior

10 1(i) Casete FASTLab Toda la radioquímica se realizó en un FASTLab™ de GE disponible en el mercado con casetes de un solo uso. Cada casete está construida alrededor de un colector moldeado en una pieza con 25 llaves de paso de tres vías, todas hechas de polipropileno. Brevemente, la casete incluye un reactor de 5 ml (copolímero olefínico cíclico), una jeringuilla de 1 ml y dos jeringuillas de 5 ml, puntas para la conexión con cinco viales perfilados, una bolsa de agua (100 ml), así como diversos cartuchos SPE y filtros. Los caminos de los fluidos se controlan con purga de nitrógeno, vacío y las tres jeringuillas. El sistema totalmente automatizado está diseñado para fluoraciones de una sola etapa con ¹⁸F-fluoruro producido por ciclotrón. El FASTLab se programó mediante el paquete informático en una
15 secuencia de eventos dependiente del tiempo etapa por etapa, tal como moviendo las jeringuillas, la purga de nitrógeno, el vacío y la regulación de temperatura. El vial A contenía K₂₂₂ (58,8 mg, 156 μmol), K₂CO₃ (8,1 mg, 60,8 μmol) en 79,5% (en volumen) de MeCN_(aq) (1.105 μl). El vial B contenía HCl 4 M (2,0 ml). El vial C contenía MeCN (4,1 ml). El vial D contenía el precursor (48,4 mg, 123,5 μmol) en su forma seca (almacenado a -20°C hasta el ensamblaje de la casete). El vial E contenía NaOH 2 M (4,1 ml). El vial de vidrio de recogida de producto de 30 ml estaba lleno de citrato de trisodio 200 mM (10 ml).
20

1(ii) Producción de ¹⁸F-fluoruro

25 Se produjo ¹⁸F-fluoruro sin vehículo añadido por medio de la reacción nuclear ¹⁸O(p,n)¹⁸F en un ciclotrón GE PETtrace 6 (Norwegian Cyclotron Centre, Oslo). Las irradiaciones se realizaron usando una corriente de 30 μA de haz dual en dos dianas de Ag iguales con papeles HAVAR usando protones de 16,5 MeV. Cada diana contenía 1,6 ml de ≥ 96% [¹⁸O]agua (Marshall Isotopes). Posteriormente a la irradiación y entrega a una celda caliente, cada diana se lavó con [¹⁶O]agua (Merck, agua para análisis GR). El ¹⁸F-fluoruro acuoso se hizo pasar a través del QMA y hacia el vial de recuperación de ¹⁸O-H₂O. Después el QMA se inundó con MeCN y se envió a desecho.

1(iii) Marcado con ¹⁸F-fluoruro

30 El ¹⁸F-fluoruro atrapado se eluyó en el reactor usando el eluyente del vial A y después se concentró a sequedad por destilación azeotrópica con acetonitrilo (vial C). El MeCN se mezcló con el precursor en el vial D, desde el que se añadió el precursor disuelto al reactor y se calentó a 85°C.

1(iv) Retirada del grupo protector éster

35 La mezcla de reacción se diluyó con agua y se envió a través del cartucho tC18. El reactor se lavó con agua y se envió a través del cartucho tC18. El compuesto intermedio marcado, fijado en el cartucho tC18, se lavó con agua, y después se incubó con NaOH 2 M, después de lo cual el NaOH 2 M se envió a desecho.

1(v) Retirada del grupo protector BOC

El compuesto intermedio marcado (sin el grupo éster) se retiró después por elución del cartucho tC18 hacia el reactor usando agua. El grupo BOC se hidrolizó añadiendo HCl 4 M y calentando el reactor.

ES 2 710 073 T3

1(vi) Purificación

El contenido del reactor con el ^{18}F -FACBC bruto se envió a través de los cartuchos de HLB y Alúmina y hacia el vial de producto de 30 ml. Los cartuchos de HLB y Alúmina se lavaron con agua y se recogió en el vial de producto.

1(vii) Formulación

- 5 Se añadió NaOH 2 M y agua al vial de producto, dando un producto de fármaco (DP) purificado con un volumen total de 26 ml.

(1viii) Concentración de acetonitrilo

- 10 La concentración de acetonitrilo (MeCN) se determinó usando un sistema cromatográfico de gases con FID, un inyector de líquidos automatizado, una columna capilar de sílice fundida con fase estacionaria USP G43 (6% de cianopropilfenilo-94% de dimetilpolisiloxano) y un integrador de informes o sistema de datos con capacidad de reintegración. Se usaron 1.000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de MeCN como patrón. El blanco se preparó transfiriendo 1 ml de agua purificada a un vial con tapón encapsulado GC de 2 ml, que se cerró inmediatamente. Se transfirió 1 ml de patrón a viales con tapones encapsulados GC de 2 ml y se cerraron inmediatamente. Se transfirieron 0,20 ml de la muestra a un vial con tapón encapsulado GC de 2 ml con inserto de volumen bajo (0,25 ml) y se cerró inmediatamente. Las condiciones experimentales del instrumento GC fueron como sigue:

Flujo de gas portador, helio: 2,0 ml/min

Programa de temperatura de la estufa: 40°C durante 6 minutos, después 20°C/min hasta 240°C durante 4 minutos

Temperatura del inyector: 225°C

Relación de división: 10:1

- 20 Detector: FID

Temperatura del detector: 250°C

Caudal de hidrógeno: 30 ml/min

Caudal de aire: 400 ml/min

Caudal de gas de reconstitución (He): 25 ml/min

- 25 Las condiciones experimentales del inyector de líquidos automático fueron como sigue:

Prelavados con disolvente: 3

Bombas de muestra: 3

Postlavados con disolvente: 3

Volumen de inyección: 1 ml

- 30 La columna se acondicionó a 250°C durante al menos una hora antes del uso.

Se realizaron una inyección de cada patrón y dos inyecciones replicadas de la disolución de muestra además de las inyecciones de blanco en el siguiente orden:

1. Blanco

2. Patrón de calibración

- 35 3. Patrón de calibración

4. Blanco

5. Muestra, replicado 1

6. Muestra, replicado 2

7. Blanco

- 40 La concentración de cada analito, C_{muestra} , se calculó en $\mu\text{g}/\text{ml}$ usando la siguiente fórmula:

$$C_{muestra} = \frac{A_{muestra} \times C_{pat}}{A_{pat}}$$

donde:

$A_{muestra}$: Área de pico del analito en la muestra

C_{pat} : Concentración del analito en el patrón de calibración ($\mu\text{g/ml}$)

5 A_{pat} : Área de pico del analito en el patrón de calibración, media de 2 inyecciones

(1ix) Concentración de aluminio

La concentración de aluminio se determinó por espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-AES).

(1x) Parámetros radioquímicos

10 Se midió la pureza radioquímica (RCP) y la concentración radiactiva (RAC) de ^{18}F -FACBC.

La RCP se determinó por cromatografía en capa fina (TLC). La tira de TLC se eluyó usando una fase móvil que consistía en acetonitrilo:metanol:agua:ácido acético, 20:5:5:1 en volumen. La RCP y cualquier impureza radioquímica, incluyendo ^{18}F -fluoruro, se reportaron como porcentajes de la suma neta de todos los picos.

(1xi) Resultados

15 Se obtuvieron los siguientes resultados:

Nº de producción	RAC (MBq/ml)	RCP (%) T0	MeCN ($\mu\text{g/ml}$)	Al ($\mu\text{g/ml}$)
1	1.915	>99	506	14
2	1.804	>99	324	14
3	1.950	>99	302	13
4	1.698	>99	89	15
5	1.570	>99	596	17
6	1.815	>99	218	15

Ejemplo 2: Síntesis de ^{18}F -FACBC usando el método de la invención

2(i) Secuencia modificada

20 Se usó una casete FASTlab™ modificada, ilustrada en la Figura 1. Se usó la secuencia descrita en el Ejemplo 1, excepto que la secuencia incluyó el calentamiento/purga extra del recipiente de reacción. La etapa de hidrólisis se reemplazó con dos etapas, la primera etapa de las cuales incluyó hidrólisis y calentamiento en paralelo del reactor a 85°C , purga de nitrógeno (60 kPa (600 mbar) HF) del recipiente de reacción y vacío (-60 kPa (-600 mbar)). La segunda etapa también incluyó hidrólisis, pero se detuvo el calentamiento del reactor. Se usó purga de nitrógeno (60 kPa (600 mbar) HF) y vacío (-60 kPa (-600 mbar)) para el enfriamiento del recipiente de reacción. Además, se retiró el SPE de alúmina y se cambió la secuencia para transferir el producto directamente al vial de tampón de la formulación después de la etapa del cartucho HLB.

25

2(ii) Análisis

Se usaron los métodos de análisis descritos en el Ejemplo 1.

Nº de producción	RAC (MBq/ml)	RCP (%) T0	MeCN ($\mu\text{g/ml}$)	Al ($\mu\text{g/ml}$)
7	3.112	99,1	20	0,7
8	3.900	99,1	20	0,8

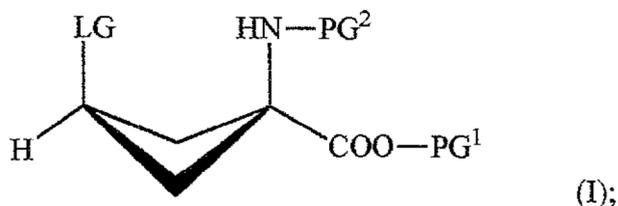
ES 2 710 073 T3

9	1.631	99,1	21	1,3
10	731	99,9	22	0,8
11	1.831	99,8	25	0,8
12	1.654	99,9	24	1,3
13	1.573	99,1	21	1,1
14	1.750	99,4	23	1,1
15	788	99,0	19	1,1
16	1.023	99,2	17	1,1

REIVINDICACIONES

1. Una composición trazadora de tomografía de emisión de positrones (PET) que comprende ácido *anti*-1-amino-3-¹⁸F-fluorociclobutil-1-carboxílico (¹⁸F-FACBC), caracterizada por que dicha composición comprende no más que 5,0 µg/ml de aluminio (Al) disuelto.
- 5 2. La composición trazadora de PET como se define en la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende no más que 50 µg/ml de acetonitrilo (MeCN).
3. La composición trazadora de PET como se define en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde dicha composición comprende no más que 3,0 µg/ml de Al disuelto.
- 10 4. La composición trazadora de PET como se define en la reivindicación 3, en donde dicha composición comprende no más que 1,5 µg/ml de Al disuelto.
5. La composición trazadora de PET como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que tiene una pureza radioquímica (RCP) de fin de síntesis (EOS) de al menos 95%.
6. La composición trazadora de PET como se define en la reivindicación 5, que tiene una RCP de EOS de al menos 98%.
- 15 7. La composición trazadora de PET como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, que comprende tampón citrato 50-100 mM.
8. Un método para preparar una composición trazadora de PET como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde dicho método comprende:

20 (a) hacer reaccionar en un recipiente de reacción una fuente de ¹⁸F-fluoruro con un compuesto precursor de Fórmula I:



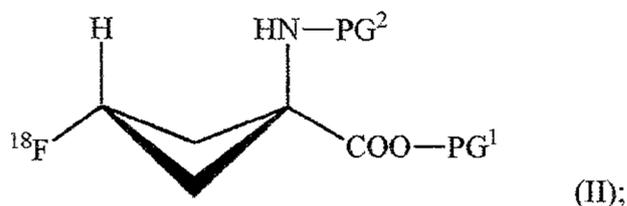
en donde:

LG es un grupo saliente;

PG¹ es un grupo protector de carboxi; y,

25 PG² es un grupo protector de amina;

para obtener una mezcla de reacción que comprende un compuesto de Fórmula II:



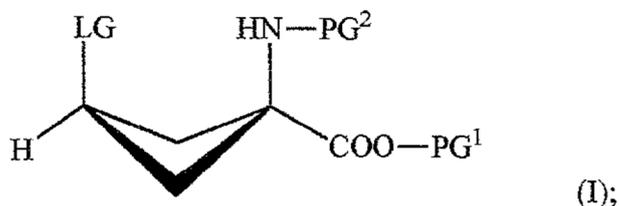
en donde PG¹ y PG² son como se definieron para la Fórmula I;

(b) llevar a cabo la retirada de PG¹ y PG² para obtener una mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC; y

30 (c) purificar dicha mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC haciéndola pasar a través de una fase sólida de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB), caracterizada por que dicha purificación no comprende hacer pasar la mezcla de reacción que comprende ¹⁸F-FACBC a través de una fase sólida de alúmina.

9. Un método según la reivindicación 8, en donde dicho método comprende:

(a) hacer reaccionar en un recipiente de reacción una fuente de ^{18}F -fluoruro con un compuesto precursor de Fórmula I:

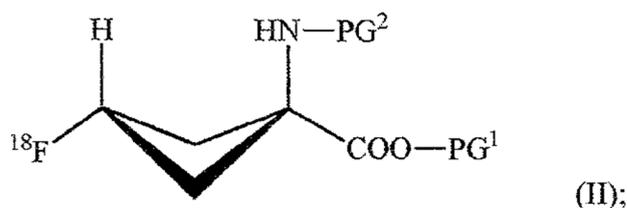


en donde:

- 5 LG es un grupo saliente;
 PG¹ es un grupo protector de carboxi; y,
 PG² es un grupo protector de amina;

en donde dicha etapa de reacción se lleva a cabo en acetonitrilo;

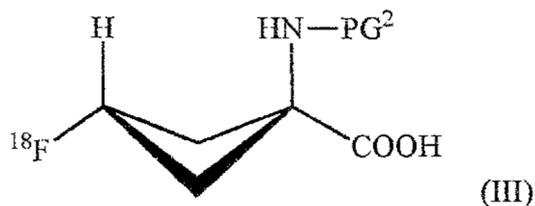
para obtener una mezcla de reacción que comprende un compuesto de Fórmula II:



10

en donde PG¹ y PG² son como se definieron para la Fórmula I;

(b) transferir dicha mezcla de reacción que comprende dicho compuesto de Fórmula II fuera de dicho recipiente de reacción y llevar a cabo la retirada de PG¹ para obtener una mezcla de reacción que comprende un compuesto de Fórmula III:



15

en donde PG² es como se definió para la Fórmula I;

(c) aplicar calor a dicho recipiente de reacción al mismo tiempo que se lleva a cabo la retirada de PG¹;

(d) transferir dicha mezcla de reacción que comprende dicho compuesto de Fórmula III de vuelta a dicho recipiente de reacción y llevar a cabo la retirada de PG² para obtener una mezcla de reacción que comprende ^{18}F -FACBC;

20

(e) purificar dicha mezcla de reacción que comprende ^{18}F -FACBC haciéndola pasar a través de una fase sólida de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB), caracterizada por que dicha purificación no comprende hacer pasar la mezcla de reacción que comprende ^{18}F -FACBC a través de una fase sólida de alúmina.

25

10. El método como se define en la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en donde LG es un sustituyente de ácido haloalquilsulfónico C₁₋₁₀ lineal o ramificado, un sustituyente de ácido alquilsulfónico C₁₋₁₀ lineal o ramificado, un sustituyente de ácido fluorosulfónico o un sustituyente de ácido sulfónico aromático.

11. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en donde PG¹ es una cadena de alquilo C₁₋₁₀ lineal o ramificada o un sustituyente de arilo.

12. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en donde PG² es un sustituyente de

carbamato, un sustituyente de amida, un sustituyente de imida o un sustituyente de amina.

13. El método como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8-12, que comprende además formular dicha mezcla de reacción purificada obtenida en las etapas (c) o (e) con tampón citrato.

5 14. Una composición trazadora de tomografía de emisión de positrones (PET) que comprende ácido *anti*-1-amino-3-¹⁸F-fluorociclobutil-1-carboxílico (¹⁸F-FACBC), en donde el trazador de PET se prepara por un método según una cualquiera de las reivindicaciones 8-13, caracterizada por que dicha composición comprende no más que 5,0 µg/ml de aluminio (Al) disuelto.

10 15. Una composición trazadora de tomografía de emisión de positrones (PET) como se define en la reivindicación 14, caracterizada por que dicha composición comprende no más que 5,0 µg/ml de aluminio (Al) disuelto y no más que 50 µg/ml de acetonitrilo (MeCN).

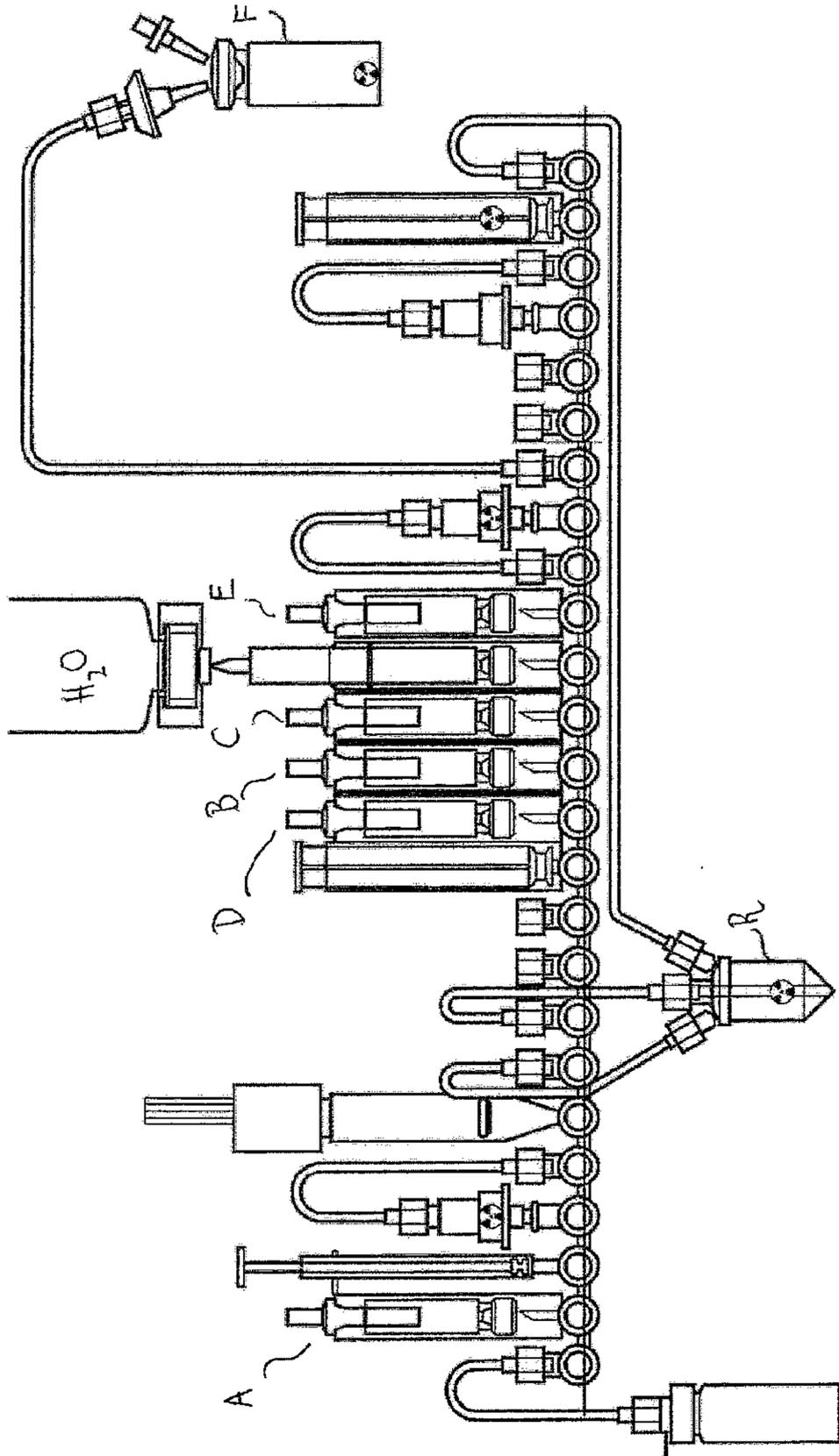


FIG. 1