(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 739 504**

(51) Int. CI.:

A61K 51/04 (2006.01)
A61K 51/08 (2006.01)
A61K 47/50 (2007.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.12.2011 PCT/US2011/065036**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **28.06.2012 WO12087725**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2011 E 11811223 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2019 EP 2654798**

(54) Título: **Uso de anilina en la radioestabilización de una ligadura de oxima**

(30) Prioridad:

21.12.2010 US 201061425399 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.01.2020

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

ENGELL, TORGRIM y
OSBORN, NIGEL

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

Uso de anilina en la radioestabilización de una ligadura de oxima

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método de radioestabilizar y catalizar de una reacción de ligadura de oxima utilizando anilina.

Antecedentes de la invención

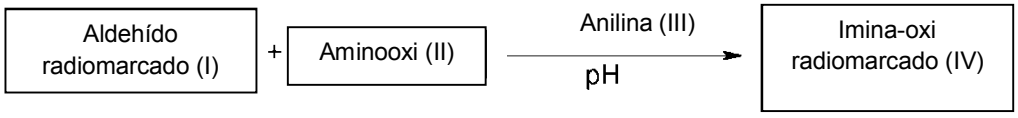
Se ha demostrado que el uso de anilina en ligaduras de oxima o en formación de imina es eficaz para aumentar la velocidad de reacción general y para permitir que tales reacciones se produzcan a valores de pH menos ácidos (A. Dirksen, et al., "Nucleophilic Catalysis of Oxime Angew. Chem. Int. Ed. 2006, 45, 7581-7584 (A. Dirksen, T.Hackeng y P. Dawson). Sin embargo, tales reacciones se han limitado a compuestos no radiomarcados.

Como se describe con más detalle a continuación, ahora se ha encontrado sorprendentemente que la anilina se puede usar para radioestabilizar la reacción de ligadura de oxima o formación de imina de reactivos radiomarcados con los resultados inesperados de cinética de reacción mejorada y radioestabilización significativa.

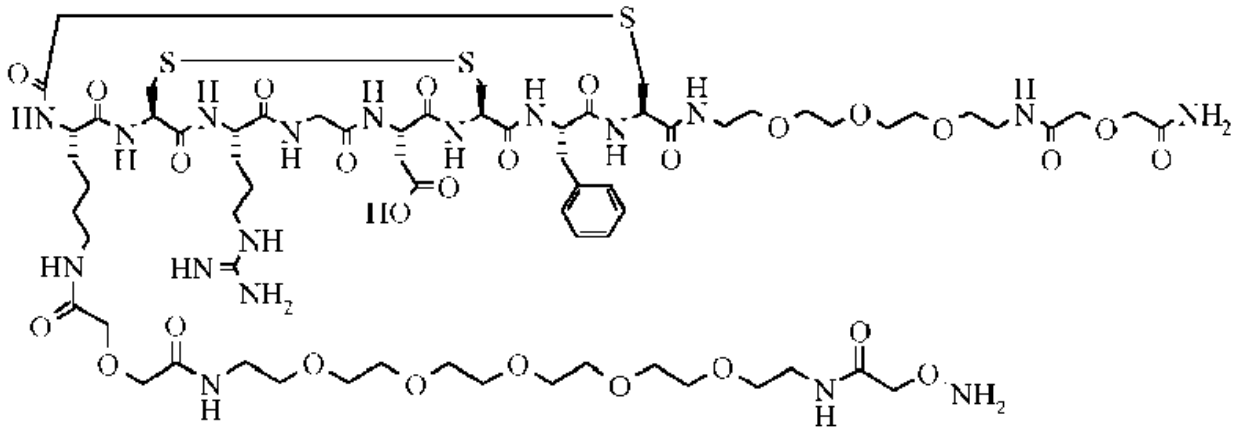
Compendio de la invención

La invención proporciona un método de radioestabilización que comprende la etapa de hacer reaccionar un aldehído radiomarcado (I) con un aminooxi (II) en presencia de anilina (III) en un intervalo de pH de 2,8-3,5 para formar imina-oxi radiomarcado (IV), cada uno como se describe en la presente memoria:

Esquema A



Donde el compuesto (II) es:

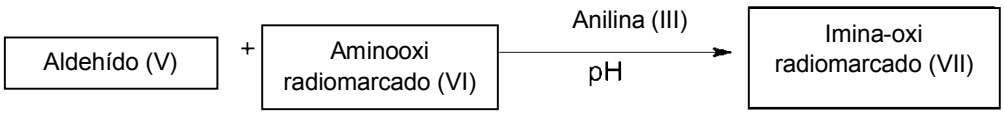


(precursor de péptido fluciclatido)

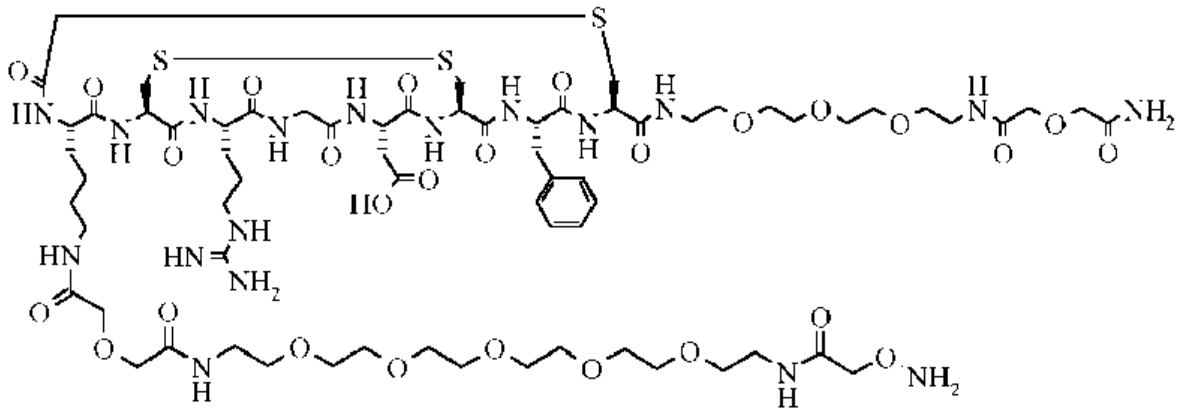
y el compuesto (IV) es fluciclatido.

La invención también proporciona un método de radioestabilización que comprende la etapa de hacer reaccionar un aldehído (V) con un aminooxi radiomarcado (VI) en presencia de anilina (III) en un intervalo de pH de 2,8-3,5 para formar imina-oxi radiomarcada (VII), cada uno como se describe en la presente memoria:

Esquema B



Donde el compuesto (IV) es:



(precursor de péptido fluciclatido)

y el compuesto (VII) es fluciclatido.

El uso de anilina en un método de radioestabilización de la invención proporciona dos ventajas distintas: (i) cinética de reacción mejorada y, sorprendentemente, (ii) radioestabilización significativa. Por lo tanto, la anilina, como se usa en un método de radioestabilización de la invención, exhibe una doble funcionalidad inesperada como catalizador y radioestabilizador. El aumento en la radioestabilización permite un aumento en el rendimiento de imina-oxi radiomarcada resultante, especialmente a alta radioactividad.

Descripción detallada de la invención

Aldehído radiomarcado

El aldehído (I) radiomarcado para uso en un método de radioestabilización de la presente invención es parabenzaldehído marcado con al menos un radioisótopo, como se describe en la presente memoria, capaz de reaccionar con un aminooxi como se describe en la presente memoria.

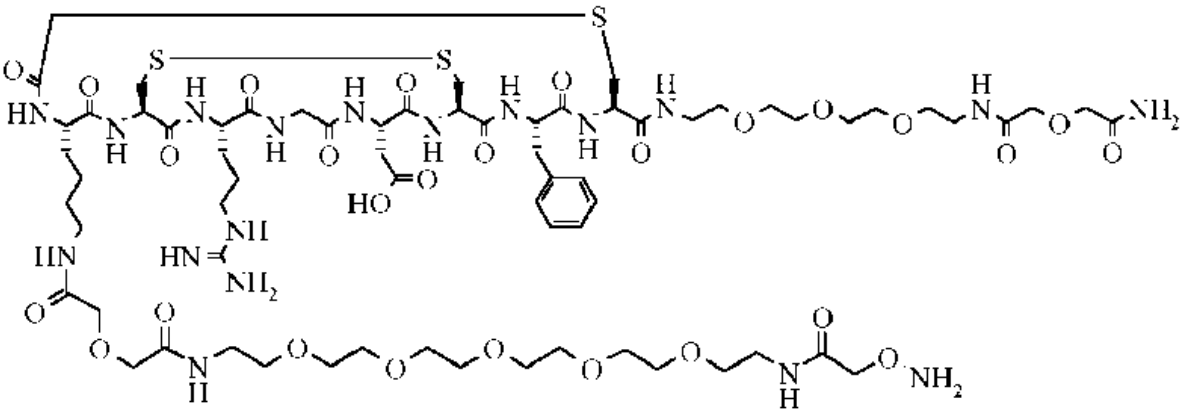
Preferiblemente, el radioisótopo o radionúclido es un radioisótopo/radionúclido adecuado para la formación de imágenes (por ejemplo, PET, SPECT). En una realización, el radionúclido es un radioisótopo adecuado para la obtención de imágenes PET. Incluso más preferiblemente, el radionúclido es ^{18}F. En una realización, el radionúclido es un radioisótopo adecuado para la formación de imágenes SPECT.

En una realización de la invención, el aldehído radiomarcado es [18F] -parabenzaldehído.

Un aldehído radiomarcado, como se describe en la presente memoria, se puede preparar por métodos conocidos en la literatura y en la técnica.

Aminooxi

El aminooxi (II) para uso en un método de radioestabilización de la presente invención es

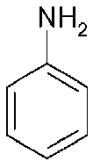


(precursor de péptido fluciclatido)

Un aminooxi, como se describe en la presente memoria, se puede preparar por métodos conocidos en la literatura y en la técnica.

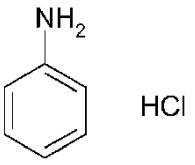
Anilina

La anilina (III) para uso en un método de radioestabilización de la presente invención puede ser cualquier anilina conocida en la técnica (por ejemplo, Adam R. Blanden, et al., Bioconjugate Chem., 2011, 22 (10), pp 1954-1961; Mikkel B. Thygesen, et al., J. Org. Chem., 2010, 75 (5), pp 1752-1755) que incluye anilina disponible comercialmente de la siguiente fórmula:



o una de sus sales (por ejemplo, bromuro, cloruro, yoduro, HBr, HCl, HI, ácido trifluoroacético (TFA)) o uno de sus derivados (por ejemplo, 4-metoxianilina, 4-nitroanilina, 2,6-dimetilanilina, derivados de anilina deuterada (es decir, un compuesto de anilina en el que al menos un hidrógeno ha sido reemplazado por un deuterio, anilina unida a polímero (ver, por ejemplo, el producto de Sigma-Aldrich número 564761)). Un derivado de anilina es cualquier compuesto a base de anilina que se puede usar para lograr un método de radioestabilización de la invención. En una realización de la invención, la anilina (III) para uso en un método de radioestabilización de la presente invención también puede ser una mezcla de anilinas como se describe aquí (por ejemplo, una mezcla de anilina y clorhidrato de anilina).

En una realización de la invención, la anilina (III) usada en la reacción de la invención está en su forma de sal de HCl disponible comercialmente:



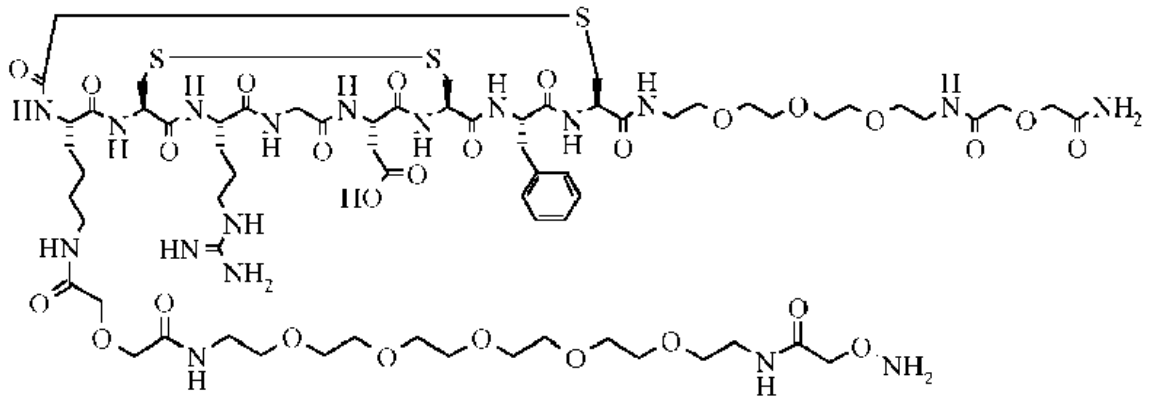
pH

Un método de radioestabilización de la presente invención se puede realizar a aproximadamente pH 2,8-3,5.

Imina-oxi radiomarcada (IV).

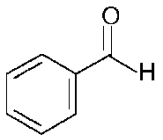
Imina-oxi (IV) radiomarcada de un método de radioestabilización de la presente invención es el producto de reacción de ligadura de oxima del aldehído (I) y aminooxi (II) radiomarcados en presencia de anilina (III) y pH, cada uno como se describe en la presente memoria.

En una realización de la invención, la imina-oxi radiomarcada es



Aldehído

El aldehído (V) para uso en un método de radioestabilización de la presente invención es benzaldehído:



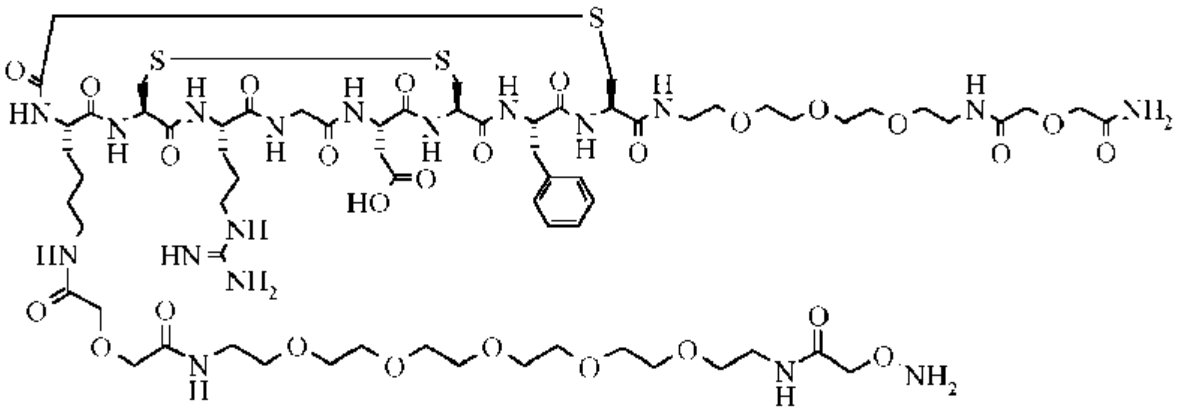
Un aldehído, como se describe en la presente memoria, está disponible comercialmente o puede prepararse por métodos conocidos en la bibliografía y en la técnica.

En una realización, un método de radioestabilizador de la presente invención se automatiza por medio de un aparato de radiosíntesis automatizado. Hay varios ejemplos disponibles comercialmente de tales aparatos, incluidos TRACERlab™ y FASTlab™ (ambos disponibles comercialmente en GE Healthcare, una división de General Electric Company). Tales aparatos comprenden comúnmente un "casete", a menudo desechable, en el que se realiza la radioquímica, que se ajusta al aparato para realizar una radiosíntesis. Normalmente, el casete incluye vías de fluidos, un recipiente de reacción y puertos para recibir viales de reactivos, así como cartuchos de extracción en fase sólida utilizados en las etapas de limpieza post-radiosintéticos. Por consiguiente, la presente invención proporciona un casete para un método automatizado de radioestabilización de la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1. Reacción de conjugación de fluciclatido radioestabilizado

4-[18F] fluorobenzaldehído se hizo reaccionar con aminooxi, AH111695 (precursor peptídico fluciclatido):



(AH111695 o precursor de peptídico fluciclatido)

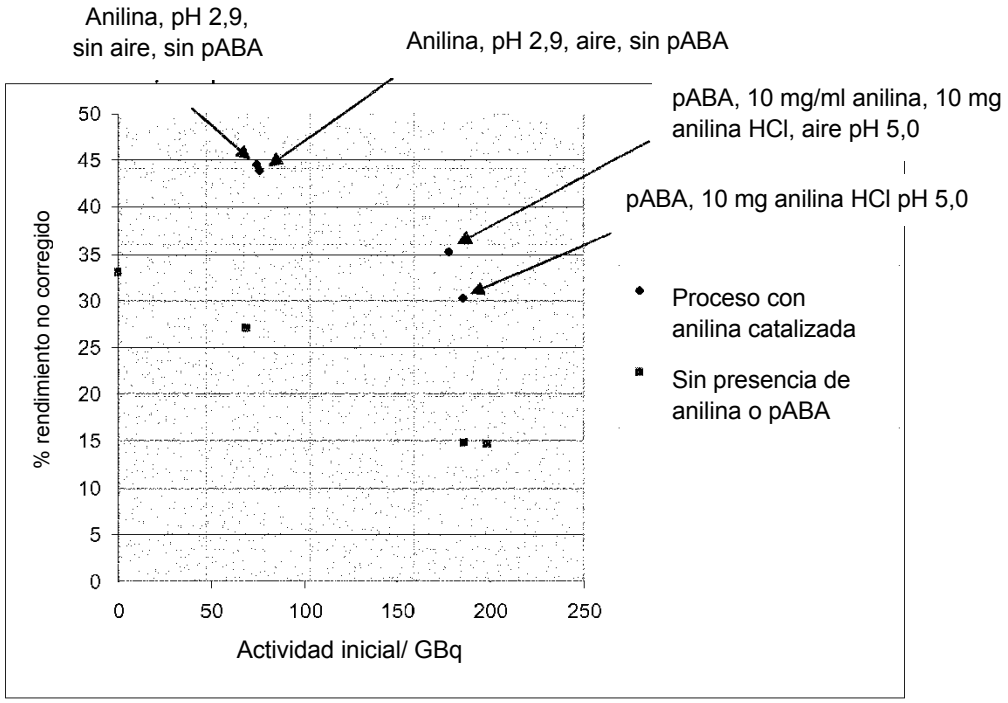
en presencia de anilina en diversos intervalos de pH para dar fluciclatido. Los resultados radioquímicos de la reacción se ilustran en la figura 1.

La figura 1 a continuación ilustra los resultados para la producción de fluciclatido crudo en FASTlab. Los diamantes son para la reacción de conjugación no radioestabilizada (es decir, sin anilina o pABA) y muestran claramente el enlace lineal entre la cantidad de actividad de inicio y el rendimiento no corregido. Los triángulos muestran los resultados para la producción de fluciclatido crudo en FASTlab en condiciones de reacción de conjugación radioestabilizada (es decir, adición de pABA a pH 6,1 a la reacción de conjugación añadía alrededor de 50% al rendimiento no corregido y la presencia de aire ayudó a estabilizar aún más la conjugación La reducción de pH alrededor de una unidad de pH añadió un 5% adicional al rendimiento y la adición de anilina adicional mejoró el RCP en una cantidad similar.

La figura 1 muestra claramente el efecto de radioestabilización de anilina en la reacción de conjugación entre el precursor peptídico fluciclatido y el [18F]-fluorobenzaldehído. Los puntos con forma de rombo (no radioestabilizados) muestran la clara correlación entre el % de rendimiento no corregido de la reacción en ausencia de cualquier radioestabilizador. Sin embargo, los puntos triangulares (radioestabilizados) muestran claramente el dramático impacto de usar un radioestabilizador.

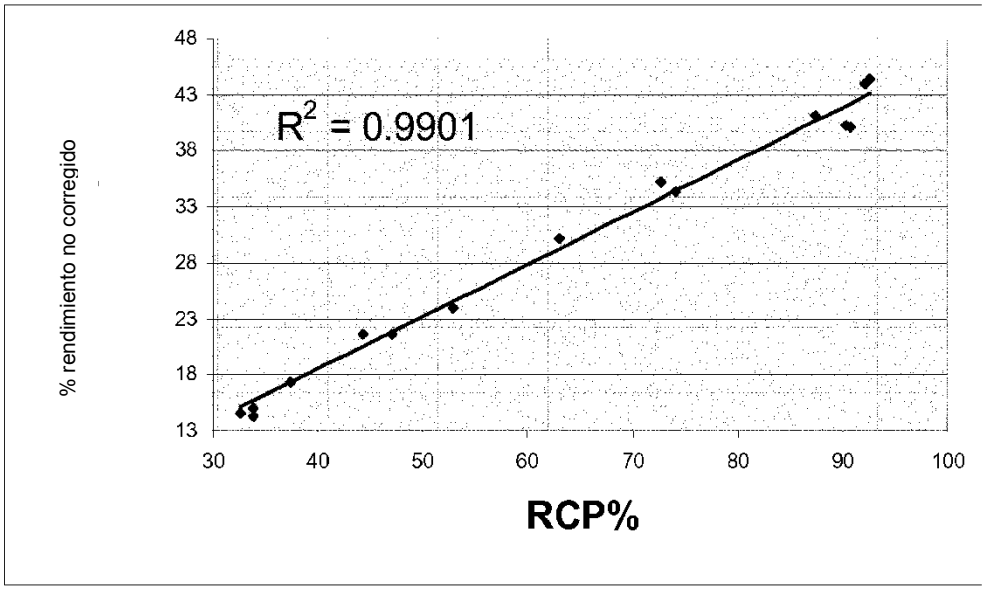
Figura 1: radioestabilización de la reacción de conjugación de fluciclatido

La presencia de 10 mg de clorhidrato de anilina a pH 5,0 o una mezcla de 10 mg de anilina y clorhidrato de anilina al mismo pH ve una mejora dramática en el porcentaje de rendimiento no corregido. Sin embargo, la presencia del radioestabilizante para el ácido amino benzoico no impide que esto sea en parte responsable de la radioestabilización de la reacción de conjugación. Sin embargo, la eliminación total del ácido p-amino benzoico en presencia o ausencia de aire produce un cambio dramático en el porcentaje de rendimiento no corregido, lo que establece que los resultados se deben a la presencia de anilina en lugar de a cualquier impacto de la presencia de pABA.



Ejemplo comparativo 1. Reacción de conjugación de fluciclatido no radioestabilizado

El gráfico a continuación muestra la fuerte correlación entre el rendimiento y el % RCP para la reacción no radioestabilizada entre el precursor del péptido fluciclatido y [18F] fluorobenzaldehído. El análisis regresivo del conjunto de datos ha forzado la línea a través del punto de origen. Claramente, el rendimiento se correlaciona directamente con el % RCP de fluciclatido, sin que se requiera ningún otro factor significativo para explicar la variación observada.

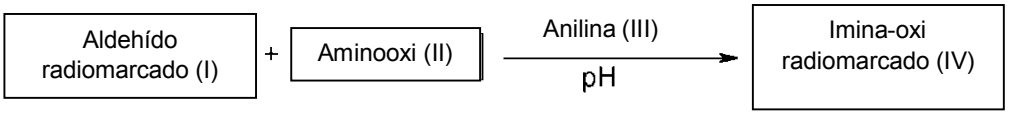


Ejemplo 2

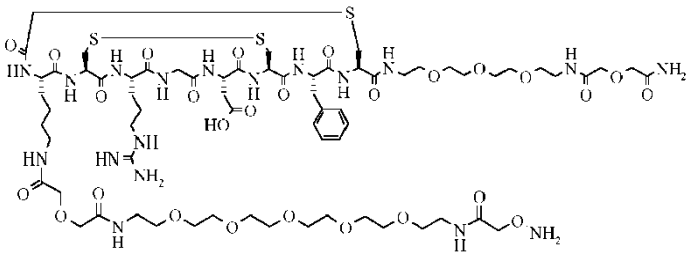
Se añaden 5 mg de precursor peptídico fluciclatido a 1,7 ml de clorhidrato de anilina en agua (10 mg/ml) y se agregan 1,15 ml de etanol que contiene el [18F] fluorobenzaldehído. La reacción se deja progresar durante 5 minutos a 60ºC.

REIVINDICACIONES

1. Uso de anilina como un radioestabilizador en un método que comprende la etapa de hacer reaccionar un aldehído radiomarcado (I) con un aminooxi (II) en presencia de anilina (III) en un intervalo de pH de 2,8-3,5 para formar imina-oxi (IV):



en donde el compuesto (I) es parabenzaldehído, el compuesto (II) es



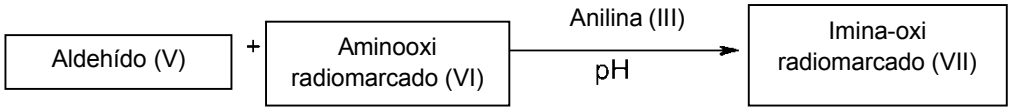
(precursor del péptido fluciclatido)

y el compuesto (IV) es fluciclatido.

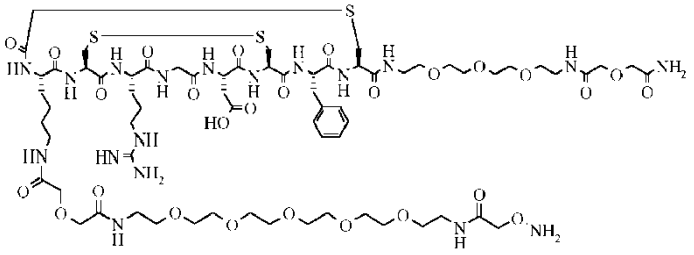
2. Uso según la reivindicación 1, en el que el radiomarcador es un radioisótopo adecuado para la obtención de imágenes PET o SPECT.

3. Uso según la reivindicación 1, en el que dicho aldehído radiomarcado es [^{18}F] parabenzaldehído.

4. Uso de anilina como un radioestabilizador en un método que comprende la etapa de reacción de un aldehído (V) con un aminooxi radiomarcado (VI) en presencia de anilina (III) en un intervalo de pH de 2,8-3,5 para formar imina-oxi (VII):



en donde el compuesto (V) es parabenzaldehído, el compuesto (VI) es

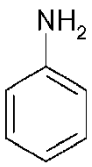


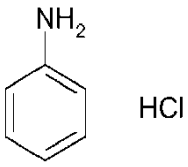
(precursor de péptido fluciclatido)

y el compuesto (VII) es fluciclatido.

5. Uso según la reivindicación 4, en el que la radiomarca es un radioisótopo adecuado para la obtención de imágenes PET o SPECT.

6. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que dicha anilina tiene la siguiente fórmula:



una sal de la misma o una mezcla de las mismas.

7. Uso según la reivindicación 6, en el que dicha anilina es: