

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 770 364**

51 Int. Cl.:

A61K 51/04 (2006.01)

A61K 31/375 (2006.01)

A61K 31/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.04.2010 PCT/US2010/001120**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.10.2010 WO10120368**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2010 E 10764772 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019 EP 2419096**

54 Título: **Estabilización de composiciones radiofarmacéuticas utilizando ácido ascórbico**

30 Prioridad:

15.04.2009 US 169353 P

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

01.07.2020

73 Titular/es:

**LANTHEUS MEDICAL IMAGING, INC. (100.0%)
331 Treble Cove Road
North Billerica, MA 01862, US**

72 Inventor/es:

**CASTNER, JAMES, F.;
ZDANKIEWICZ, DIANNE, D. y
ANDERSON, JAMES, E.**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 770 364 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

Estabilización de composiciones radiofarmacéuticas utilizando ácido ascórbico

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención está dirigida a la estabilización de composiciones radiofarmacéuticas, y la protección de las mismas de la descomposición radical radiolítica y propagativa. En particular, la divulgación está dirigida al uso de una especie antioxidante en una formulación radiofarmacéutica a través de la amortiguación de la composición. Además, la invención se refiere al uso del ácido ascórbico antioxidante, en condiciones tamponadas en un intervalo de pH particular, para estabilizar una composición radiofarmacéutica útil para la obtención de imágenes médicas y, de ese modo, mejorar la vida útil de la composición, manteniendo la composición como adecuada para administración a un humano y otros sujetos mamíferos.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Los radiofármacos son fármacos que contienen un radionúclido. Los radiofármacos se usan habitualmente en medicina nuclear para el diagnóstico o la terapia de diversas enfermedades. Son típicamente pequeños compuestos orgánicos o inorgánicos con una composición definida. También pueden ser macromoléculas, como anticuerpos o fragmentos de anticuerpos que no están marcados estequiométricamente con un radionúclido. Los radiofármacos constituyen la base química para el diagnóstico y la terapia de diversas enfermedades. La información de diagnóstico *in vivo* puede obtenerse mediante inyección intravenosa del radiofármaco, y determinación de su biodistribución utilizando una cámara gamma o una cámara PET. La biodistribución del radiofármaco generalmente depende de las propiedades físicas y químicas del compuesto radiomarcado y se puede utilizar para obtener información sobre la presencia, la progresión y el estado de la enfermedad.

[0003] Los radiofármacos pueden generalmente ser divididos en dos clases principales: aquellos cuya biodistribución se determina exclusivamente por sus propiedades químicas y físicas, y aquellas cuya última distribución está determinada por su unión al receptor u otras interacciones biológicas. La última clase a menudo se describe como específica de la diana.

[0004] Recientemente, mucho esfuerzo se ha invertido en el descubrimiento y desarrollo de radiofármacos para diagnóstico por imágenes que contienen isótopos emisores de positrones. Los isótopos que emiten positrones incluyen ^{82}Rb , ^{124}I , ^{11}C , ^{13}N y ^{18}F , entre otros. Estos isótopos se descomponen por la emisión de un positrón desde el núcleo. Un positrón es una partícula que tiene una masa equivalente de un electrón, pero una carga positiva correspondiente. El positrón, después de la expulsión del núcleo, viaja hasta que encuentra un electrón, y la reacción de los dos resulta en una aniquilación física de las masas. La energía se libera en direcciones opuestas a un valor de 511 keV, y debido a que la aniquilación no tiene momento angular, los fotones se proyectan desde el punto de aniquilación aproximadamente a 180 grados de separación, lo que permite la determinación precisa de una línea a lo largo de la cual ocurrió dicha descomposición. Esta propiedad da como resultado una sensibilidad y resolución exquisitas, y permite una excelente reconstrucción y calidad de imagen.

[0005] Una ventaja del carbono, el nitrógeno y los isótopos de flúor es que se pueden incorporar en moléculas orgánicas pequeñas, tales como productos farmacéuticos conocidos o de investigación que podrían ser utilizados para determinar la biodistribución del agente, así como diagnosticar la presencia, ausencia o extensión de la enfermedad. Pueden insertarse convenientemente en estas moléculas mediante una variedad de métodos conocidos por los químicos orgánicos y los radioquímicos habitualmente expertos en la técnica. Se ha hecho un uso generalizado en la investigación de investigación de yoduro de ^{11}C -metilo ($^{11}\text{CH}_3\text{I}$), metilando un alcohol o una amina para producir el éter o alquilamina correspondiente. Estos compuestos se esterilizan, formulan e inyectan de manera apropiada en un sujeto.

[0006] El principal inconveniente de la utilización generalizada de muchos radiofármacos PET es vidas medias relativamente cortas asociadas con muchos de los isótopos. Rubidio-82, carbono-11 y nitrógeno-13 tienen vidas medias de 1,27, 20,3 y 9,97 minutos, respectivamente. El rubidio se administra como la sal de cloruro de un generador ^{82}Sr - ^{82}Rb , y no se modifica ni manipula sintéticamente. El nitrógeno 13 se administra típicamente como amoníaco ($^{13}\text{NH}_3$) producido en un ciclotrón adyacente a un centro de imágenes con la proximidad adecuada a una cámara. Los reactivos basados en ^{11}C y ^{13}N se han utilizado en el radiomarcado de agentes de imagen. Deben cumplirse importantes desafíos logísticos y de ingeniería para permitir el uso de los compuestos como radiofármacos dada la corta vida media y el tiempo necesario para lograr las reacciones y la purificación requeridas antes de la formulación y administración del medicamento.

[0007] Isótopos que emiten positrones correspondientemente de vida más larga se pueden incorporar en nuevos radiotrazadores para obtención de imágenes. Estos incluyen los ^{131}I y ^{18}F antes mencionados, con vidas medias de 4,2 días y 107,9 minutos, respectivamente. El uso más frecuente de última hora ha sido ^{18}F , ya que la descomposición se produce por completo a través de la emisión de positrones y tiene una vida media favorable. Las dos horas aproximadas permiten la incorporación sintética en una molécula, la purificación y la distribución posterior de una

radiofarmacia ubicada en el centro, obvia el requisito/inversión en un ciclotrón in situ o la compra mensual de un generador ^{82}Sr - ^{82}Rb .

5 **[0008]** Durante el curso de la fabricación, formulación, liberación y administración de dosis, el isótopo típicamente decae a una velocidad de orden cero dictada por la física de cada isótopo en particular. Sin embargo, esta descomposición también puede desencadenar la descomposición química de la dosis, por radiólisis. Esto puede propagarse por reacción radical y disminuir seriamente la calidad de la composición.

10 **[0009]** La descomposición de la composición radiofarmacéutica antes o durante la administración puede dramáticamente disminuir el potencial de orientación y aumentar la toxicidad de la composición radiofarmacéutica terapéutica. Por lo tanto, en algunos casos, es importante asegurarse de que el radionúclido esté unido al resto de direccionamiento, y garantizar aún más que se conserve la especificidad del agente de direccionamiento.

15 **[0010]** Radiólisis es causada por la formación de radicales libres, tales como hidroxilo y superóxido radicales (Garrison, W. M. Chem. Rev. 1987, 87, 381-398). Los radicales libres son muy reactivos con las moléculas orgánicas. La reactividad de estos radicales libres hacia las moléculas orgánicas puede afectar la estabilidad de la solución de una composición radiofarmacéutica. La estabilización de la composición radiofarmacéutica es un desafío recurrente en el desarrollo de radiofármacos específicos del objetivo, y los eliminadores de radicales a menudo se emplean como estabilizadores para minimizar la radiólisis de las moléculas radiomarcadas. Algunos estabilizadores son "antioxidantes captadores de radicales" que reaccionan fácilmente con los radicales hidroxilo y superóxido. El agente estabilizante para composiciones radiofarmacéuticas puede poseer ventajosamente las siguientes características: baja o esencialmente ninguna toxicidad cuando se usa para administración humana, baja o esencialmente ninguna interferencia con la administración o unión del receptor del compuesto radiomarcado a las células o tejidos diana, y/o la capacidad de estabilizar el radiofármaco durante un período de tiempo razonable (por ejemplo, durante la preparación, liberación, almacenamiento y transporte del radiofármaco).

20

25

30 **[0011]** Eliminadores radicales tales como ácido ascórbico se han utilizado para radiofármacos estabilizar $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (DeRosch, et al, WO95/33757) y $^{186/188}\text{Re}$ (Anticancer Res. 1997, 17, 1783-1796). La patente de Estados Unidos 5,393,512 describe el uso de ácido ascórbico como agente estabilizante para anticuerpos o fragmentos de anticuerpos marcados con ^{186}Re y ^{131}I . Las patentes estadounidenses 5,093,105 y 5,306,482 describen el uso de ácido ascórbico como antioxidante para radiofármacos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

35 **[0012]** Varias estrategias se han desarrollado para el uso de antioxidantes tales como ácido ascórbico para terminar las vías de caries antes de que ocurre un daño significativo. El ácido ascórbico se ha utilizado en diversas composiciones farmacéuticas y radiofarmacéuticas. A diferencia de otros agentes tamponantes como el ácido succínico y los aminocarboxilatos, el ácido ascórbico no contiene grupos amino o carboxílicos. PCT/US94/06276 describe agentes estabilizadores tales como ácido ascórbico y sales solubles en agua y ésteres de ácido ascórbico.

40 **[0013]** La patente de EE.UU. N° 6,066,309 describe el uso de ácido ascórbico y derivados de los mismos en la estabilización de proteínas y péptidos radiomarcados contra la pérdida oxidativa de radiomarcadores y autorradiólisis. En algunos casos, se agrega ácido ascórbico después del radiomarcado, incluido cualquier período de incubación requerido, pero antes de la administración del paciente. Además, los derivados del ácido ascórbico se definen como sales de ácido ascórbico, ésteres de ácido ascórbico o mezclas de los mismos.

45 **[0014]** Aunque el uso de ácido ascórbico/ascorbato como estabilizante se ha descrito para una variedad de diagnósticos y composiciones radiofarmacéuticas terapéuticas (véase, por ejemplo, Deausch, EA et al./Patente de EE.UU. N° 5384113/1995; Vanderheyden, J.-L., Et al./Patente de EE.UU. N° 5,393,512/1995; Flanagan, RJ y Tartaglia, D./Patente de EE.UU. N° 5,093,105/1992; Tartaglia, D. y Flanagan, RJ/Patente de EE.UU. N° 5,306,482/1994; Shochat, D. et al./Patente de EE.UU. N° 5,961,955/1999; y Zamora, PO y Merek, MJ/Patente de EE.UU. N° 6,066,309/2000), ha habido poca o ninguna divulgación sobre el uso de ascorbato dentro de un rango especificado de pH para mejorar la acción antioxidante del compuesto para aplicaciones clínicas.

50

55 **[0015]** Mientras que el uso significativo de antioxidantes tales como ácido ascórbico se han ejemplificado en la literatura, poca atención se ha prestado al estado del antioxidante, por ejemplo, como cuando se añade en una solución tamponada para estudios de estabilidad a baja pH o en mayor pH para material adecuado para inyección.

60 **[0016]** El material adecuado para la inyección en seres humanos puede ser seleccionado para que tenga un pH superior a 4,0 para reducir el riesgo de irritación localizada y el dolor asociado con una solución fuertemente ácida en un sitio de inyección. Típicamente, las soluciones inyectables han sido tamponadas con fosfato (solución salina tamponada con fosfato (PBS)) en el rango de pH de 6-8. Sin embargo, el empleo de ácido ascórbico/ascorbato en soluciones tamponadas en rangos de pH biológicos típicos (6-8) a menudo exhibe una menor capacidad para estabilizar soluciones radiofarmacéuticas. Por el contrario, si bien el trabajo anterior puede demostrar la estabilidad de las preparaciones radiofarmacéuticas que usan ácido ascórbico a valores de pH bajos (2-3), tales formulaciones generalmente no son adecuadas para su uso en modelos animales o humanos debido a reacciones localizadas, como se señaló anteriormente. Además, el trabajo previo puede establecer un amplio rango de pH ácido para el ácido ascórbico que sea útil, o no especificar ningún rango particular en absoluto. Hasta la fecha, se cree que ha habido

65

poca orientación para el experto en la selección de pH cuando se usa ácido ascórbico para aplicaciones clínicas de radiofármacos.

[0017] Por consiguiente, se necesitan composiciones y métodos mejorados.

[0018] El documento US 5 384 113 A describe que "el ácido gentísico o sus derivados pueden... usarse en combinación con otros estabilizadores tales como inositol y ácido ascórbico para inhibir la autoradiólisis de péptidos radiomarcados".

[0019] El documento WO 2005/009393 A2 describe "estabilizadores útiles en la preparación y la estabilización de radiodiagnóstico dirigidos compuestos y radioterapéuticos".

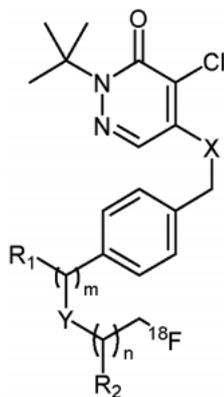
[0020] El documento EP 0 111 415 A2 describe "un procedimiento para preparar una composición liofilizada útil para obtener imágenes del esqueleto mediante el cual se pone en contacto una solución acuosa que contiene un ascorbato, gentisato, o estabilizador de reductato con el metal de estaño o una aleación que contiene estaño y, a partir de entonces, se liofiliza".

[0021] El documento WO 2008/099800 A1 describe un "método para producir un agente de diagnóstico por imagen de radiación, que comprende las siguientes etapas una etapa de preparación de solución de compuesto orgánico marcado con flúor radioactivo para la preparación de una solución que contiene un amino compuesto de ácido marcado con un halógeno radioactivo, y una etapa de dilución para diluir la solución que contiene el compuesto orgánico marcado con el flúor radioactivo para ajustar la concentración radiactiva en la solución, en donde el método comprende además una etapa de adición de ácido para agregar un ácido a la solución que contiene el compuesto orgánico marcado con el flúor radioactivo después de la etapa de preparación de la solución de compuesto orgánico marcado con flúor radioactivo y antes de la etapa de dilución, y la cantidad de ácido a agregar en la etapa de adición de ácido es una cantidad suficiente para ajustar el valor de pH de la solución después de la etapa de dilución a 2,0 a 5,9, por ejemplo, 0,40 a 2.8 mmol por 1 L de la solución después de la etapa de dilución".

SUMARIO DE LA INVENCION

[0022] Las realizaciones de la presente invención se exponen en las reivindicaciones adjuntas.

[0023] En un aspecto, la presente invención proporciona una composición, que comprende: uno o más compuestos radiofarmacéuticos de fórmula:



en la que:

X es O, S, o NR;

Y es O, S, NR, o CH₂;

R es H o Me;

m es 0, 1, 2 o 3;

n es 0, 1, 2 o 3; y

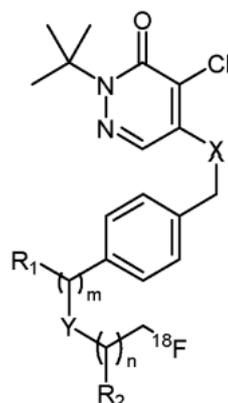
R₁ y R₂ son hidrógeno o C₁₋₁₀ alquilo,

junto con un estabilizador que comprende ácido ascórbico,

en el que el pH de dicha composición está dentro del intervalo de 3,5 a 6,0; y

en donde la composición comprende más de 0,25 M de ácido ascórbico.

[0024] En otro aspecto la presente invención proporciona un método para preparar una composición de la invención, que comprende: la adición de una primera solución que comprende un compuesto radiofarmacéutico de fórmula:



en la que:

X es O, S, o NR;

Y es O, S, NR, o CH₂;

R es H o Me;

m es 0, 1, 2 o 3;

n es 0, 1, 2 o 3; y

R₁ y R₂ son hidrógeno o C₁₋₁₀ alquilo,

a una segunda solución que comprende ácido ascórbico dentro de un intervalo de pH de 3,5 a 6,0, para formar el radiofármaco composición que comprende el compuesto ácido y ascórbico,

y en el que la composición radiofarmacéutica comprende mayor de 0,25M de ácido ascórbico.

[0025] La presente invención proporciona el uso de ácido ascórbico como estabilizador en un intervalo de pH. Los agentes y estabilizadores se formulan en etanol acuoso o tampón acuoso de modo que la solución esté preferiblemente en el rango de pH ácido de 3,5-5,5, más preferiblemente en el rango de 4-5, y lo más preferiblemente en el rango de 4-4,5.

[0026] Por lo tanto, en algunas realizaciones, la invención proporciona una composición, que comprende uno o más radiofarmacéuticos compuestos, junto con un ácido ascórbico estabilizante que comprende, en el que el pH de dicha composición está dentro del intervalo de 3,05 – 5,05. Los compuestos radiofarmacéuticos como parte de la composición de la divulgación pueden seleccionarse del grupo que consiste en rotenona, piridabeno, fenazaquina, fenpiroximato, tebufenpirrad, piericidinas y cromonas 2-sustituidas, y análogos de los mismos. En algunas realizaciones, dicho compuesto radiofarmacéutico es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en piridabeno y sus análogos. En algunas realizaciones, dicho compuesto radiofarmacéutico es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en compuestos que contienen un 2-alquilo-4-cloro-2H-piridazina-3-ona con una cadena lateral lipofílica sustituida en la posición 5. En algunas realizaciones, dicho compuesto radiofarmacéutico es 2-terc-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[¹⁸F]fluoroetoximetilo)-benciloxi]-2H-piridazina-3-ona.

[0027] En algunas realizaciones, dicho compuesto radiofarmacéutico está marcado con un radioisótopo, tal como un radioisótopo se selecciona del grupo que consiste en ¹¹C, ¹³N, ¹⁸F, ⁸⁶Br, ¹²⁴I, ¹²⁵I, y ¹³¹I. En algunas realizaciones, dicho radioisótopo se selecciona del grupo que consiste de ¹¹C, ¹³N, y ¹⁸F. En algunas realizaciones, dicho radioisótopo es ¹⁸F.

[0028] En cualquiera de las realizaciones anteriores, la composición radiofarmacéutica comprende entre 5 y 100 mg/ml de ácido ascórbico, más preferiblemente entre 25 y 500 mg/ml, y más preferiblemente entre 50 y 200 mg/mL. En algunas realizaciones, hay más de aproximadamente 5 mg, más de aproximadamente 10 mg, más de aproximadamente 20 mg, más de aproximadamente 30 mg, más de aproximadamente 40 mg, más de aproximadamente 50 mg, más de aproximadamente 100 mg o más de aproximadamente 200 mg de ácido ascórbico por mililitro.

[0029] La divulgación también proporciona un método para preparar una composición como se describe en cualquiera de las realizaciones anteriores, que comprende la adición de una primera solución que contiene un compuesto radiofarmacéutico a una segunda solución que contiene ácido ascórbico dentro del intervalo de pH de 3,5 a 5,5, más preferiblemente dentro del rango de 4 -5, y aún más preferiblemente dentro del rango de 4 - 4,5, para formar una tercera solución que comprende el compuesto radiofarmacéutico y el ácido ascórbico. En algunas realizaciones, el compuesto radiofarmacéutico se purifica por cromatografía, antes de la adición de la primera solución a la segunda solución. En algunas realizaciones, el compuesto radiofarmacéutico no se purifica por cromatografía, antes de la adición de la primera solución a la segunda solución. En algunas realizaciones, el método comprende además la etapa de ajustar el pH de la tercera solución a 6-8, después de la adición de la primera solución a la segunda solución y antes de usar la composición en un paciente.

[0030] Además, como parte de la invención, hay una composición radiofarmacéutica para su uso en un método que comprende administrar a un paciente una composición radiofarmacéutica, en donde dicha composición radiofarmacéutica contiene ácido ascórbico, de manera que la composición tiene un pH dentro del intervalo de 3,5 - 5,5, más preferiblemente dentro del rango de 4-5, e incluso más preferiblemente dentro del rango de 4 - 4,5.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0031]

La FIG. 1 muestra una gráfica de la pureza radioquímica de varias composiciones de la invención, en función del tiempo.

La FIG. 2 muestra un gráfico de la velocidad de formación de impurezas radioquímicas para diversas composiciones de la invención a un pH de (a) 4,0, (b) 8,2, (c) 6,3, (d), 5,4, (e) 6,0 y (f) 4,5.

FIG. 3 muestra un gráfico de pureza radioquímica de una serie de soluciones que comprenden ácido ascórbico a una concentración de (a) 20 mg/ml ($p > 0,001$), (b) 50 mg/ml, (c) 100 mg/ml, (d) y 200 mg/ml.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0032] Hay varias ventajas en el uso de ácido ascórbico como agente tampón. El ácido ascórbico ha sido aprobado para aplicaciones farmacéuticas y radiofarmacéuticas. El ácido ascórbico tiene un pKa de 4,2 y tiene una capacidad de amortiguación a pH 3,0 -5,0. A concentraciones más altas (> 50 mg/ml o 0,25 M), también puede tener suficiente capacidad de amortiguación en el rango de pH 5,5-6,0, o mayor. Típicamente, también se emplea como un tampón primario.

[0033] La invención se dirige en general a nuevas composiciones (por ejemplo, composiciones radiofarmacéuticas), y para el aumento imprevisto y dramático en la capacidad antioxidante y efecto de estabilización del ácido ascórbico antioxidante en las composiciones de radiofármacos en un cierto intervalo de pH. A este pH, una porción significativa del antioxidante está protonada, pero la acidez de la solución no es tan grande como para causar una reacción severa en el sujeto. Es particularmente adecuado para realizar protocolos de fabricación y almacenamiento en las condiciones descritas en este documento, y ajustarse a un pH más alto dentro de los 5, 10 o 15 minutos de la administración a un sujeto. En algunas realizaciones, se proporcionan radiotrazadores (por ejemplo, radiotrazadores marcados con ^{18}F) que utilizan ácido ascórbico como agente estabilizante y/o como un agente clínico de formación de imágenes de PET.

[0034] La invención proporciona ventajosamente formulaciones radiofarmacéuticas que utilizan ácido ascórbico como estabilizador dentro de un cierto rango de pH. El rango de pH mejora la estabilidad y la vida útil de la composición al tiempo que minimiza las reacciones localizadas graves en el sitio tras la inyección. Además, algunas realizaciones utilizan ácido ascórbico como agente estabilizante para la preparación de moléculas marcadas, en particular moléculas marcadas con ^{18}F , en composiciones radiofarmacéuticas. En algunos casos, ácido ascórbico y sus análogos, dentro de un cierto intervalo de pH, puede servir como un estabilizador durante la preparación, la liberación, y el transporte de la composición radiofarmacéutica, y en particular para aquellos compuestos que son etiquetados con radioisótopos tales ^{18}F .

[0035] El pH de las composiciones radiofarmacéuticas se selecciona para colocarse en o cerca del pKa de cualquiera del pKa primario o, en el caso de iones dibásicos, secundario del antioxidante. Para el ácido ascórbico, con un pK de 4,17, el pH se puede seleccionar para que esté en el rango de aproximadamente 3,5-5,5, aproximadamente 4-5 o 4-4,5.

[0036] El ácido ascórbico se utiliza típicamente como un componente estabilizador de la composición radiofarmacéutica de la invención. El ácido ascórbico se conoce como vitamina C, y se ha utilizado como antioxidante para prevenir la descomposición radiolítica de ciertos radiofármacos (WO95/33757; Anticancer Res. 1997, 17, 1783-1796; patente de Estados Unidos 5,093,105 y patente de Estados Unidos 5,306,482) o péptidos radiomarcados (Patente de Estados Unidos 5,393,512; patente de Estados Unidos 5,384,113 y patente de Estados Unidos 5,961,955). Como se usa en el presente documento, el término "ácido ascórbico" incluye el ácido ascórbico en sí mismo, así como los análogos y sales del ácido conocidos por los expertos en la materia. El ácido ascórbico es una sustancia GRAS fácilmente disponible (generalmente reconocida como segura) y puede usarse en composiciones farmacéuticas y otras formulaciones usadas para fines biológicos, a niveles tan altos como 200 mg/ml de la formulación final. Las composiciones anteriores que incluían ácido ascórbico estaban típicamente a valores de pH dentro del intervalo de pH biológico (por ejemplo, 6-8) durante esencialmente todos los pasos de procesamiento, así como la administración a un sujeto, para reducir el riesgo de irritación y dolor asociados con soluciones ácidas. Sin embargo, dentro del rango de pH biológico, la capacidad del ácido ascórbico/ascorbato en soluciones tamponadas para estabilizar soluciones radiofarmacéuticas se reduce sorprendentemente.

[0037] Algunas de las ventajas de la utilización de ácido ascórbico o de sus análogos en una composición radiofarmacéutica descrita en esta invención incluyen: (1) la capacidad para preparar composiciones de radiofármacos en alto rendimiento ($> 90\%$) y (2) la capacidad de almacenar las composiciones radiofarmacéuticas durante varias

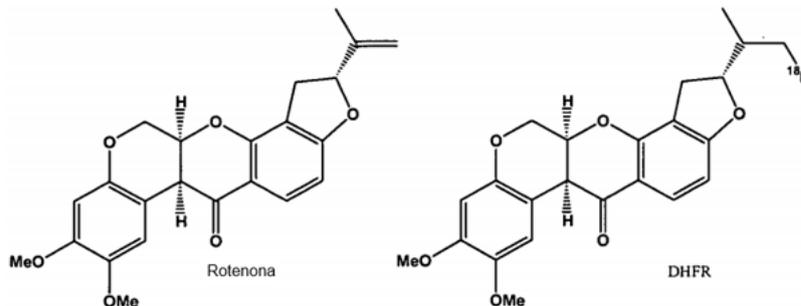
horas o incluso días, mientras se mantiene la pureza radioquímica o RCP (> 90%) del radiofármaco. En algunos casos, se pueden agregar sales de ascorbato a la formulación. En algunos casos, el ácido ascórbico se puede usar en forma no cargada, o en composiciones en las que un porcentaje más alto de ácido ascórbico se protona al pH apropiado. Sin limitarse a ninguna teoría en particular, la eficacia del antioxidante puede, en algunos casos, estar directamente relacionada con la naturaleza no iónica de los enlaces de hidrógeno-oxígeno en el antioxidante, con una mayor estabilidad a niveles de acidez en donde una porción significativa de la antioxidante está en forma protonada.

[0038] En algunas realizaciones, las composiciones radiofarmacéuticas pueden incluir ácido ascórbico como estabilizador, en la ausencia de otros compuestos estabilizantes.

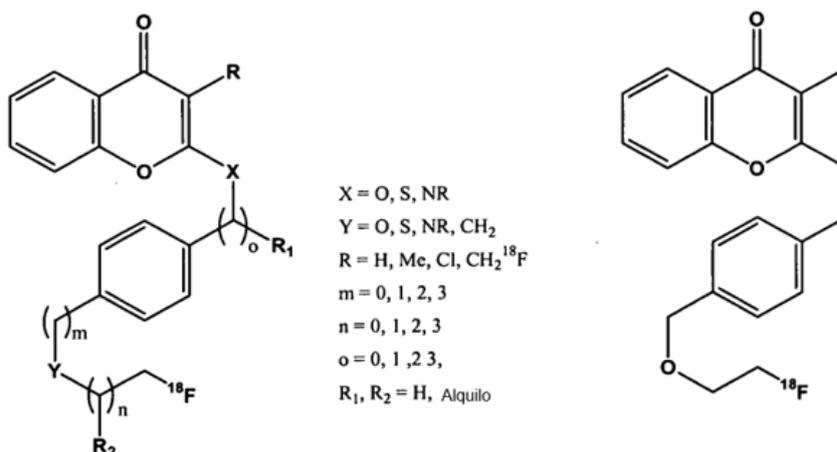
[0039] La invención contempla formulaciones radiofarmacéuticas que contienen uno o más de los descritos más adelante agentes formadores de imágenes de perfusión miocárdica o compuestos radiofarmacéuticos de la invención, junto con ácido ascórbico, en el intervalo de pH como establecen hasta ahora sucesivamente.

[0040] Recientemente, se han descrito varias series de nuevos agentes de formación de imágenes de perfusión miocárdica (Casebier, et al. US 2007036716A1; Purohit y Casebier, U.S. 2006083681 A1; Radeke, et al U.S. 2005244332A1; Casebier, et al. WO2005/079391A2) que tienen propiedades altamente deseables para un posible uso de diagnóstico clínico. Estos agentes son a menudo preparados como radiotrazadores, y a menudo se etiquetan con los radioisótopos, tales como el radioisótopo ^{18}F .

[0041] Algunos compuestos radiofarmacéuticos útiles en la invención pueden ser potentes inhibidores de complejo mitocondrial 1 (MC-1) y tienen utilidad clínica potencial. Estos compuestos pueden radiomarcarse con un radiotrazador (descrito a continuación, como ^{18}F a modo de ilustración) y, por lo tanto, puede desearse la estabilización de la solución de tal manera que se evite la descomposición iniciada por radiolisis. Varias clases de compuestos pueden ser útiles como compuestos radiofarmacéuticos dentro del contexto de la divulgación, como se describe más detalladamente a continuación. Por ejemplo, el producto natural rotenona es un insecticida comercial conocido y se usa ampliamente en el comercio. El modo principal de actividad es a través de la inhibición de MC-1. El compuesto es conveniente para el uso de cultivos debido a su potencia así como su rápida descomposición a productos benignos en el medio ambiente. Se sabe que varios análogos de la rotenona inhiben la MC-1 y algunos se han utilizado en modelos no humanos de imágenes de perfusión miocárdica, como la dihidrofluorotenona (DHFR), por ejemplo.

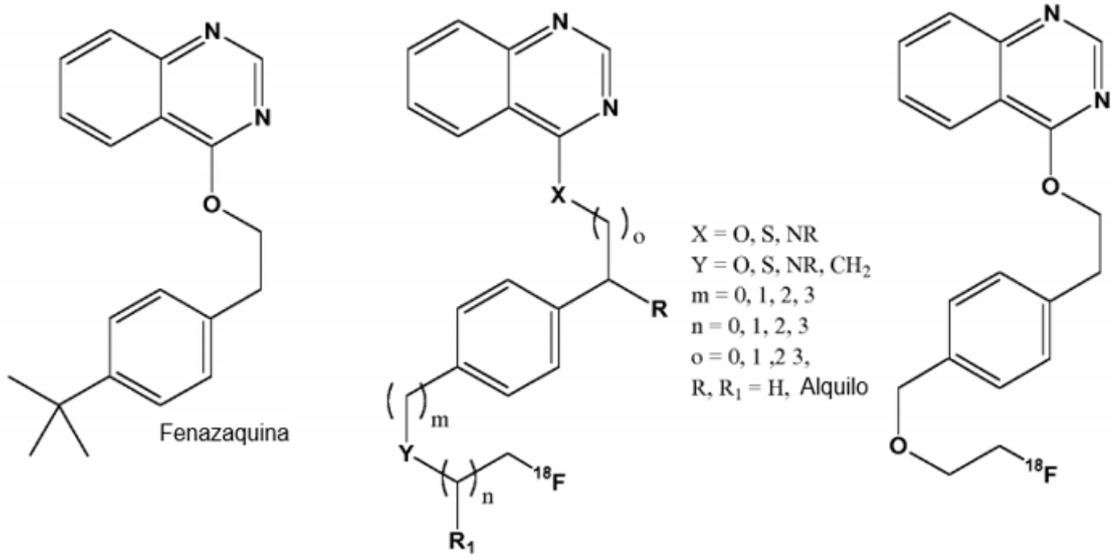


[0042] Otra clase de compuestos que puede usarse para formación de imágenes de perfusión miocárdica, y las soluciones de las cuales puede estabilizarse por el ácido ascórbico es una clase de derivados de cromona se muestra a continuación. Estos compuestos son compuestos sintéticos que han demostrado una buena utilidad en la perfusión miocárdica en primates, especialmente el compuesto específico que se muestra a continuación.



[0043] Otra clase de compuestos que puede usarse para formación de imágenes de perfusión miocárdica, y las soluciones de las cuales pueden ser estabilizados por el ácido ascórbico son los derivados de una quinalzolina llamada fenazaquina. La fenazaquina en sí mismo es un fuerte inhibidor de MC-1 y se usa comercialmente como insecticida. Los derivados radiomarcados de fenazaquina y sus análogos han demostrado una buena utilidad en la obtención de imágenes de perfusión de miocardio en primates y otros mamíferos. Fenazaquina y sus análogos se muestran a continuación, junto con un compuesto específico especialmente preferido para imágenes de perfusión miocárdica.

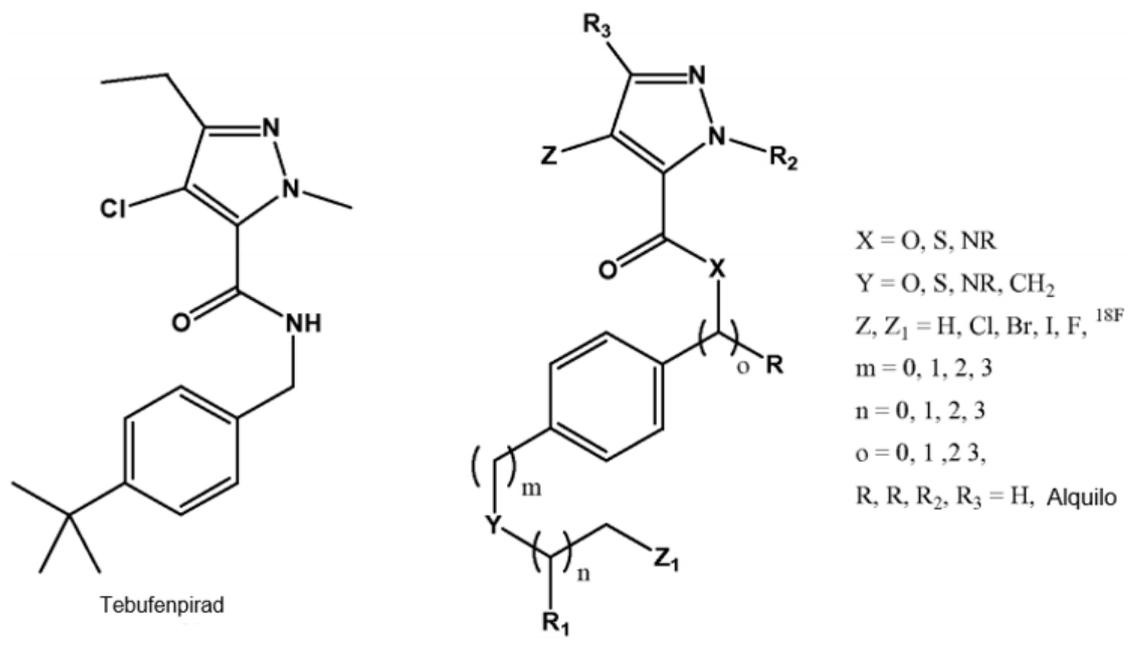
10
15
20
25



30

[0044] Del mismo modo, los análogos de otros inhibidores comercialmente útiles MC-1 son útiles en la presente divulgación, tales como tebufenpirad y análogos de los mismos, como se muestra a continuación. La estructura original de estos compuestos se usa comercialmente como insecticidas, pero sus análogos se pueden radiomarcarse para su uso como agentes de imagen de perfusión miocárdica.

35
40
45
50
55

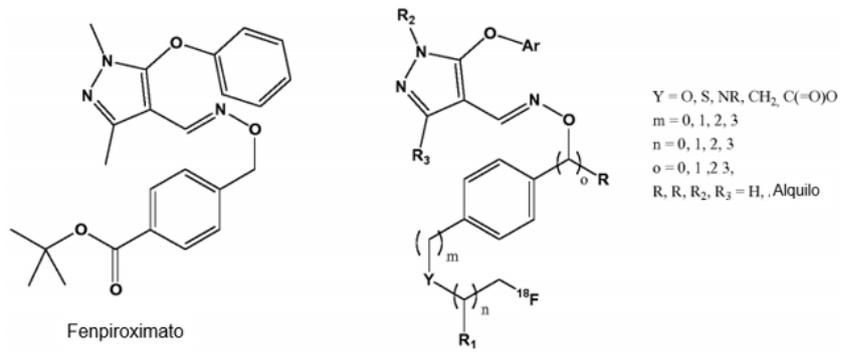


60

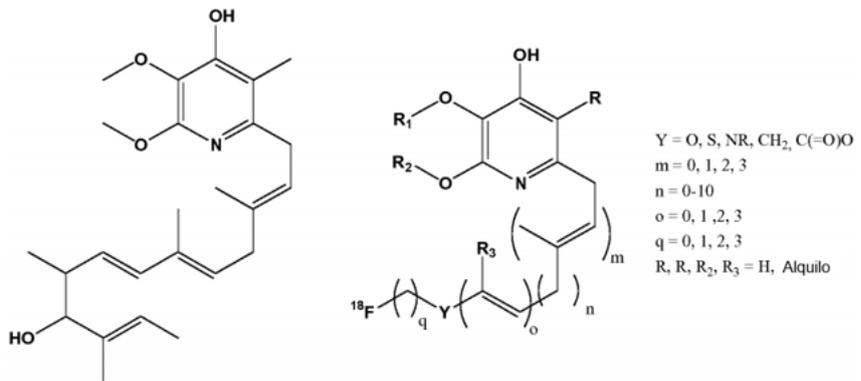
[0045] De manera similar, análogos de otros inhibidores comercialmente útiles MC-1 son útiles en la presente divulgación, tales como análogos de fenpiroximato, como se muestra a continuación. La estructura original de estos compuestos se usa comercialmente como insecticidas, pero sus análogos se pueden radiomarcarse para su uso como agentes de imagen de perfusión miocárdica.

65

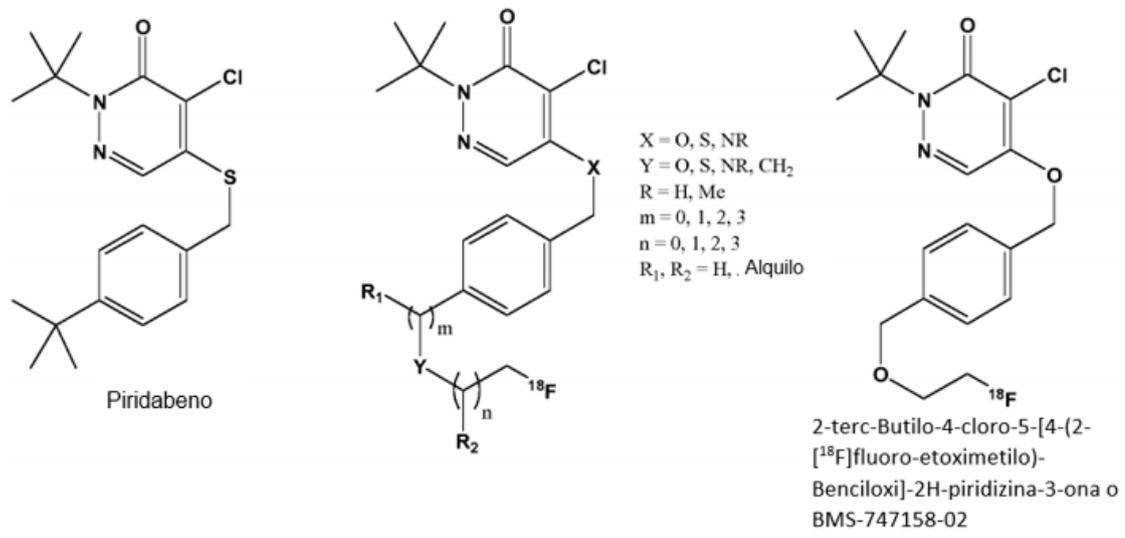
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



[0046] Además, los análogos de los piericidinas de productos naturales, como se muestra a continuación son útiles como compuestos como parte de la divulgación. Las piericidinas son una clase de compuestos con variabilidad en la subestación y la cadena lateral, pero generalmente se pueden caracterizar como una 2-alquilo-4-hidroxipiridina. Típicamente, en las piericidinas, las posiciones 3, 5 y 6 también están sustituidas con funcionalidades alquilo o alcoxi. Los derivados de estos compuestos y análogos pueden radiomarcarse para su uso como agentes de imagen de perfusión miocárdica.



Otra clase de compuestos adecuados para su uso en la invención se basa en el compuesto comercial piridabeno. En algunos casos, el compuesto comprende un heterociclo de piridazinona unido a través de una cadena lateral lipófila a un radioisótopo, tal como ¹⁸F-fluoruro. Estos compuestos pueden comprender una potente serie de inhibidores del complejo mitocondrial 1. La potencia se retiene durante la sustitución de los grupos X e Y por los calcógenos, y la tolerancia de la cadena lateral (grupos m, n y Y) es amplia, con grupos ramificados y de cadena lineal de hasta diez átomos de cadena que aún ofrecen potentes actividad. En algunos casos, el compuesto es 2-alquilo-4-cloro-5-[4-(2-[¹⁸F]fluoroetoximetilo)-benciloxi]-2H-piridazina-3-ona. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede ser 2-terc-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[¹⁸F]fluoro-etoximetilo)-benciloxi]-2H-piridazina-3-ona.



[0047] Los compuestos descritos en el presente documento se pueden preparar por métodos conocidos por los

expertos en la técnica de la orgánica radioquímica y aquellos familiarizados con las técnicas utilizadas para la fabricación de dichos radiofármacos como fluorodesoxiglucosa (^{18}F -FDG), por ejemplo, el único radiotrazador ^{18}F aprobado actualmente para imágenes en humanos. Los compuestos pueden purificarse antes de su uso y tales métodos se ejemplifican en esta solicitud. Otros métodos están fácilmente disponibles para el experto en la materia.

En algunos casos, los compuestos radiofarmacéuticos pueden incluir un centro asimétrico, es decir, un átomo sustituido asimétricamente. Los compuestos que contienen un átomo sustituido asimétricamente pueden aislarse en formas ópticamente activas o racémicas. Es bien conocido en la técnica cómo preparar formas ópticamente activas, incluidos métodos tales como la resolución de formas racémicas o la síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos. Muchos isómeros geométricos de olefinas, enlaces dobles $\text{C} = \text{N}$ y similares también pueden estar presentes en los compuestos descritos en el presente documento, y todos estos isómeros estables se contemplan para su uso en la presente invención. Los isómeros geométricos *cis* y *trans* de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas. Todas las formas quirales, diastereoméricas, racémicas y todas las formas isoméricas geométricas de una estructura están destinadas, a menos que la estereoquímica específica o la forma isomérica se indique específicamente. Todos los procesos utilizados para preparar los compuestos de la presente invención y los intermedios preparados en los mismos se consideran útiles en la presente invención.

[0048] Como se ha indicado, los compuestos radiofarmacéuticos descritos en este documento pueden contener sustituyentes alquilo. Como ese término se puede usar en el presente documento, "alquilo" y "alq", como se pueden emplear en el presente documento solo o como parte de otro grupo, incluyen tanto hidrocarburos de cadena lineal como ramificada que contienen de 1 a 20 carbonos, preferiblemente de 1 a 10 carbonos, más preferiblemente de 1 a 8 carbonos, en la cadena normal, como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, 4,4-dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetilpentilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, los diversos isómeros de cadena ramificada de los mismos, y similares así como tales grupos que incluyen 1 a 4 sustituyentes tales como halo, por ejemplo F, Br, Cl o I o CF_3 , alquilo, alcoxi, arilo, ariloxi, arilo(arilo) o diarilo, arilalquilo, arilalquiloxi, alquenoilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenoilo, cicloalquilalquilo, cicloalquilalquiloxi, hidroxi, hidroxialquilo, acilo, alcanóilo, heteroarilo, heteroariloxi, cicloheteroalquilo, arilheteroarilo, arilalcoxicarbonilo, heteroarilalquilo, heteroarilalcoxi, ariloxialquilo, ariloxiarilo, alquilamido, alcanoilamino, arilcarbonilamino, nitro, ciano, tiol, haloalquilo, trihaloalquilo y/o alquiltio.

[0049] Los compuestos radiofarmacéuticos como parte de la presente invención pretenden incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. Los isótopos de carbono incluyen C-13 y C-14.

[0050] Cuando un enlace a un sustituyente se muestra que cruza un enlace que conecta dos átomos en un anillo, entonces dicho sustituyente puede estar unido a cualquier átomo en el anillo. Cuando se enumera un sustituyente sin indicar el átomo a través del cual dicho sustituyente está unido al resto del compuesto de una fórmula dada, entonces dicho sustituyente puede estar unido a través de cualquier átomo en dicho sustituyente. Las combinaciones de sustituyentes y/o variables son permisibles solo si tales combinaciones dan como resultado compuestos estables.

[0051] Los compuestos radiofarmacéuticos anteriormente descritos se consideran farmacéuticamente aceptables. La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuados para usar en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

[0052] Los compuestos radiofarmacéuticos anteriormente descritos también incluyen sales farmacéuticamente aceptables. Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto original se modifica haciendo sales de ácido o base del mismo. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; y sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto original formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales no tóxicas convencionales incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico y nítrico; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamoico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etano disulfónico, oxálico e isetiónico.

[0053] Las sales farmacéuticamente aceptables útiles en la presente invención se pueden sintetizar a partir de la matriz de producto radiofarmacéutico que contiene un resto básico o ácido mediante procedimientos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical

Sciences, 17ª edición, Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418.

[0054] Como se establece hasta ahora sucesivamente, los compuestos radiofarmacéuticos en el presente documento se utilizan son preferiblemente inhibidores de MC-1. El término "inhibidor de MC-1" se refiere a compuestos específicos conocidos y análogos de aquellos compuestos que tienen la capacidad de inhibir MC-1. Específicamente, los compuestos que se pueden radiomarcarse con un radioisótopo adecuado de manera que se pueda obtener una imagen de tejido miocárdico mediante la administración de dicho compuesto a un paciente, seguido de escaneo del paciente en una cámara adecuada, ya sea PET, SPECT o plano. Dichos inhibidores pueden incluir, pero no están limitados a, piridabeno, fenazaquina, rotenona, deguelina y derivados de cromona sustituidos.

[0055] Los compuestos radiofarmacéuticos de la invención se marcan preferiblemente con un radioisótopo adecuado. El término "radioisótopo adecuado" se refiere a isótopos que pueden incorporarse covalentemente a una molécula sin afectar negativamente la potencia biológica y que poseen parámetros de desintegración, como una vida media suficientemente larga, y energía de partículas/emisión adecuada de modo que se pueda obtener una imagen satisfactoria. Los radioisótopos de la divulgación pueden incluir, pero no se limitan a, ^{11}C , ^{13}N , ^{18}F , ^{86}Br , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I . El ^{18}F es para uso con la invención.

[0056] El marcaje radiactivo se logra utilizando materiales y técnicas disponibles para los expertos en la técnica. Por ejemplo, el radiomarcaje con flúor se puede lograr por fluoración electrofílica, usando gas flúor [^{18}F -F] en condiciones apropiadas, pero lo más preferiblemente se logra mediante el desplazamiento nucleofílico de un grupo saliente apropiado por ión fluoruro [^{18}F]. El ión fluoruro [^{18}F] se vuelve más reactivo mediante la adición de criptatos para secuestrar el contraión de potasio. Los grupos salientes preferidos pueden seleccionarse de aquellos conocidos por los profesionales habitualmente expertos en la técnica, pero son preferiblemente halógenos, que incluyen yoduro, bromuro, cloruro y fluoruro. Lo más preferiblemente, el grupo saliente es un éster alquilo o aril sulfonado, específicamente un éster de toluenosulfonato.

[0057] En un conjunto de realizaciones, la composición radiofarmacéutica comprende 2-terc-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[^{18}F]fluoro-etoximetilo) benciloxi]-2H-piridazina-3-ona, junto con un estabilizador que comprende ácido ascórbico, en el que el pH de la composición está dentro del intervalo de 4 - 4,5 y la composición radiofarmacéutica comprende más de aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico por mililitro.

[0058] Las formulaciones estabilizadas radiofarmacéuticas de la invención se pueden preparar por adición de una primera solución (por ejemplo, una solución acuosa o solución etanólica) que comprende un compuesto radiofármaco crudo (por ejemplo, no purificado) o purificado a una segunda solución preparada que comprende ácido ascórbico, para formar una tercera solución que comprende el compuesto radiofarmacéutico y el ácido ascórbico. La primera solución puede ser una solución acuosa o una solución de alcohol, como una solución etanólica. En algunos casos, la segunda solución se ajusta al pH deseado (por ejemplo, pH en el rango de 3,5-5,5) mediante la adición de una solución ácida (por ejemplo, solución de ácido clorhídrico) o una solución básica (por ejemplo, una solución acuosa de hidróxido de sodio), antes del contacto con la primera solución.

[0059] Los métodos de la invención pueden incluir etapas de procesamiento adicionales. Por ejemplo, después de la adición de la primera solución a la segunda solución, la tercera solución puede ajustarse a un pH diferente, como un pH dentro del rango biológico, es decir, 6-8. En algunas realizaciones, la composición radiofarmacéutica comprende más de aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico por mililitro, y el método comprende además la etapa de ajustar el pH de la tercera solución a aproximadamente menos de 6, después de la adición de la primera solución a la segunda solución.

[0060] En un conjunto de realizaciones, el método implica la adición de una primera solución que comprende 2-terc-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[^{18}F]fluoro-etoximetilo)benciloxi]-2H-piridazina-3-ona, o un análogo ^{19}F de la misma, a una segunda solución que comprende ácido ascórbico, en el que la segunda solución tiene un pH dentro del rango de 4-4,5 y comprende más de aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico por mililitro, para formar una tercera solución que comprende 2-terc-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[^{18}F]fluoroetoximetilo)-benciloxi]-2H-piridazina-3-ona y ácido ascórbico.

[0061] En algunas realizaciones, el método puede incluir una o más etapas de purificación, tales como la purificación por cromatografía. Por ejemplo, el método puede incluir la purificación del compuesto radiofarmacéutico por cromatografía, es decir, antes de la adición a una solución que comprende ácido ascórbico. La cromatografía puede ser cromatografía de fase inversa, cromatografía de fase regular y/o cromatografía de intercambio iónico. En algunas realizaciones, la cromatografía de fase regular puede implicar el uso de una columna de alúmina o gel de sílice. En algunos casos, los métodos de la invención pueden implicar el uso de una columna de HPLC de fase inversa. Para la cromatografía de fase inversa, la columna de HPLC puede eluirse usando una fase móvil que comprende agua, acetonitrilo, un tampón (por ejemplo, tampón de acetato de amonio), un alcohol (por ejemplo, metanol, etanol), un ácido (por ejemplo, ácido fórmico) o mezclas del mismo. En algunos casos, la columna de HPLC es una columna de fase inversa y la columna se eluye usando una fase móvil que comprende tampón de acetato de amonio, acetonitrilo, etanol, ácido fórmico o mezclas de los mismos.

[0062] La composición radiofarmacéutica típica de la divulgación comprende una solución acuosa que contiene no

más del 0 - 10% de etanol por volumen, y más de aproximadamente 5 mg de ácido ascórbico por mililitro. En algunos casos, la solución acuosa contiene más de aproximadamente 10 mg, más de aproximadamente 20 mg, más de aproximadamente 30 mg o más de aproximadamente 40 mg. La composición radiofarmacéutica típica de la invención comprende una solución acuosa que contiene no más de 0-10% de etanol en volumen, y más de aproximadamente 50 mg, más de aproximadamente 100 mg o, en algunos casos, más de aproximadamente 200 mg de ácido ascórbico por mililitro de forma de dosificación. En algunas realizaciones, la solución acuosa también incluye no más de aproximadamente 20 mCi de un compuesto radiofarmacéutico (p. ej., 10-20 mCi) y no más de aproximadamente 5 µg del análogo frío ¹⁹F del radiotrazador (p. ej., 1 - 5 µg) por cada mililitro de forma de dosificación. La radiólisis se inicia típicamente mediante la adición de Na¹⁸F en la solución.

[0063] Algunos aspectos de la invención se refieren al descubrimiento de que, durante el desarrollo de composiciones radiofarmacéuticas según la invención para la fabricación generalizada, distribución y uso, ácido ascórbico expone una capacidad mejorada para estabilizar la preparación de radiofármacos en ciertos valores de pH. Se encontró que a los valores de pH establecidos aquí, las preparaciones radiofarmacéuticas exhibieron una estabilidad significativamente mayor contra la descomposición. A valores de pH más altos, la estabilización de estas soluciones fue notablemente menos efectiva. La comparación del pH de las soluciones que contienen ácido ascórbico, la estabilidad durante un período de seis horas y el pKa del ácido ascórbico revelaron que la estabilización más eficaz estaba en el rango en el que se protonaba el centro oxidativo en el estabilizador.

[0064] En algunos casos, el uso de ácido ascórbico o de sus análogos en composiciones radiofarmacéuticas describe en este documento puede estabilizar un radiofármaco de tal manera que una alta pureza radioquímica (por ejemplo, >90%, >95%, >97%) se puede mantener durante esencialmente la vida útil total del radiofármaco. Por ejemplo, un radiofármaco que incluye ¹⁸F puede mantenerse a una pureza radioquímica alta durante 1 hora o más, 2 horas o más o, en algunos casos, 5 horas o más.

[0065] La invención también incluye una composición radiofarmacéutica para su uso en métodos para la administración de dicha composición radiofarmacéutica a un sujeto. En algunos casos, la composición radiofarmacéutica contiene ácido ascórbico y tiene un pH dentro del rango de 3,5 - 5,5. En algunos casos, la composición radiofarmacéutica contiene ácido ascórbico en una cantidad mayor de aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico por mililitro y tiene un pH que es inferior a aproximadamente 6. En un conjunto de realizaciones, la invención proporciona una composición radiofarmacéutica para usar en un método para administrar dicha composición radiofarmacéutica a un paciente, en donde dicha composición radiofarmacéutica comprende 2-terc-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[¹⁸F]fluoroetoximetilo)-benciloxi]-2H-piridazina-3-ona, ácido ascórbico en una cantidad superior a aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico por mililitro, en el que la composición radiofarmacéutica tiene un pH que es inferior a aproximadamente 6.

[0066] Las composiciones de la invención aquí descritas se pueden administrar de la siguiente manera, a modo de ilustración: un catéter o línea de bloqueo de heparina se prepara en la vena de un sujeto, y está a nivel con la solución salina apropiada solución y o heparina. La dosis se administra a través de luer-lock en el catéter o la línea de bloqueo de heparina. El paciente está in situ en una cámara PET, y las imágenes pueden comenzar de inmediato, o se le permite al paciente descansar un tiempo antes de colocarlo en una cámara PET. Alternativamente, el paciente se dosifica de manera similar, a través de un catéter o bloqueo de heparina, bajo cinta o estrés farmacológico, utilizando protocolos similares a los conocidos en la técnica.

[0067] Los siguientes ejemplos utilizan varias formas de realización de la invención, pero no deben interpretarse como limitantes de su alcance:

EJEMPLOS

[0068] La integridad de un radiofármaco se mide por la pureza radioquímica (RCP) del compuesto radiomarcado usando ITLC o más preferiblemente HPLC. La ventaja de usar HPLC es que las radioimpurezas causadas por la degradación radiolítica pueden separarse del radiofármaco en ciertas condiciones cromatográficas. La estabilidad mejorada en el tiempo para las composiciones radiofarmacéuticas de esta invención puede demostrarse determinando el cambio en RCP del compuesto radiomarcado en muestras tomadas en puntos de tiempo representativos. Las composiciones radiofarmacéuticas de esta invención son efectivas para mantener la estabilidad de las muestras durante hasta diez horas.

[0069] La RCP inicial de un radiofármaco depende en gran medida de las condiciones radiomarcadas tales como el pH, temperatura de calefacción y tiempo. Una vez que se prepara un radiofármaco con alto rendimiento, la estabilidad de la composición radiofarmacéutica se mide mediante el cambio RCP del radiofármaco durante un cierto período de tiempo.

[0070] El ácido acético (ultra puro), hidróxido de amonio (ultra puro), y el ácido gentísico se compraron de Aldrich o Sigma Chemical Co., y se utilizaron como se recibieron. El ácido clorhídrico adquirido de Fisher y el hidróxido de sodio (solución 1 N) de VWR se usaron para ajustar el pH. El ácido ascórbico (500 mg/ml, solución inyectable de USP) se adquirió de Myoderm Medical y se diluyó con agua estéril para inyección (SWFI) según sea necesario. El fluoruro de

sodio [F-18] (Na ¹⁸F) se adquirió de Siemens Biomarker Solutions como una sal depositada en un soporte de columna polimérico. El fluoruro se eluyó de la columna en un matraz o vial de reacción usando una solución de carbonato de potasio (K₂CO₃) y Kryptofix [222].

5 **[0071]** Los siguientes métodos analíticos HPLC pueden ser utilizados. El método 1 de HPLC utilizó un sistema HPLC HP-1100 con un detector UV/visible ($\lambda = 220$ nm), un radiodetector IN-US y una columna Zorbax C₁₈ (4,6 mm x 250 mm, tamaño de poro 80 Å). La velocidad de flujo fue de 1 ml/min, comenzando la fase móvil con 92% de disolvente A (tampón de acetato de amonio 0,025 M, pH 6,8) y 8% de disolvente B (acetonitrilo) a los 18 minutos, seguido de un lavado isocrático con 40% de solvente A y 60% de solvente B de 19 a 25 min.

10 **[0072]** HPLC método 2 utilizó un sistema de HPLC HP-1100 con un detector UV/visible ($\lambda = 220$ nm), un radio-detector IN-US, y una columna Zorbax C₁₈ (4,6 mm x 250 mm, tamaño de poro 80 Å). El caudal fue de 1 ml/min, comenzando la fase móvil con 92% de disolvente A (tampón de acetato de amonio 0,025 M, pH 6,8) y 8% de disolvente B (acetonitrilo) a los 18 minutos, seguido de un lavado isocrático con 40% de solvente A y 60% de solvente B de 19 a 25 min.

15 **[0073]** El Método 3 de HPLC utiliza un sistema de HPLC HP-1100 con un detector UV/visible ($\lambda = 220$ nm), un radio-detector IN-US, y una columna Zorbax C₁₈ (4,6 mm x 250 mm, tamaño de poro 80 Å). El caudal fue de 1 ml/min con una fase móvil isocrática con 92% de disolvente A (tampón de acetato de amonio 0,025 M, pH 6,8) y 8% de disolvente B (acetonitrilo) durante 25 minutos, seguido de un lavado isocrático con 40% de disolvente A y 60% de disolvente B de 26 a 30 min.

20 **[0074]** El Método 4 de HPLC utiliza un sistema de HPLC HP-1100 con un detector de EG & G Berthold Radioflow, y una columna Zorbax C₁₈ (4,6 mm x 50 mm, 1,8 μ m de tamaño de partícula). El caudal fue de 1 ml/min con la fase móvil de acetonitrilo al 50%/agua al 50% en ácido fórmico al 0,1% con un tiempo de ejecución de 12 min.

25 **[0075]** Los siguientes ejemplos describen la preparación y purificación de radiotrazadores de imágenes de perfusión miocárdica marcados con ¹⁸F. Utilizando el siguiente procedimiento general, se prepararon piridabeno, análogos de fenazaquina y cromona con buenos rendimientos, y se formularon en composiciones radiofarmacéuticas estables.

30 Ejemplo 1: Procedimiento sintético para la preparación de radiotrazador de imagen de perfusión miocárdica ¹⁸F para estudios de estabilización del pH.

35 **[0076]** El carbonato de potasio (K₂CO₃, grado USP, 10 mg) se disolvió en agua destilada/desionizada (H₂O, 1 ml) y se añadió con agitación a una solución de 4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosano (denominado Kryptofix™, K222) en acetonitrilo anhidro (CH₃CN, 4 ml), y se utilizó una alícuota de la solución resultante (1 ml) para eluir la columna de resina con ¹⁸F. Se determinó el contenido de radiactividad del eluato de columna y el eluido se transfirió al recipiente de reacción del módulo de química Explora RN. Este sistema fue controlado por computadora usando el software GINA-Star. La solución compleja eluida se concentró hasta sequedad (70-95°C), sangrado de argón; vacío parcial (250-12 mbar)). Esto proporcionó una forma relativamente seca, altamente activada de fluoruro [¹⁸F]. La solución del éster de toluenosulfonato correspondiente del radiotrazador deseado disuelto en acetonitrilo al 100% se añadió luego al recipiente de reacción. La mezcla se calentó a 90°C durante 10 minutos.

40 Ejemplo 2: Purificación de radiotrazadores de imagen de perfusión miocárdica ¹⁸F y preparación de dosis para estudios de estabilización del pH.

45 **[0077]** Después de la reacción fue completa, se evaporó el acetonitrilo (55°C, argón de purga; vacío parcial (250-15 mbar)) y la mezcla de reacción se suspendió en fase móvil de acetato de amonio 50 mM (60% de acetonitrilo/40% en agua, 1,3 mL). La mezcla se extrajo en un circuito de muestra y se inyectó en una columna de HPLC (Phenomenex Synergi 4 m Hydro-RP C18, 250 x 10 mm). La mezcla se purificó por cromatografía en condiciones isocráticas (acetonitrilo al 60%/acetato de amonio 50 mM al 40% en agua, 5 ml/min, tiempo de ejecución 36 min). El módulo de radiosíntesis (Módulo de Química Explora RN) está equipado con detectores UV (254 nm) y Geiger-Mueller (GM).

50 **[0078]** Se recogió la fracción que contiene el radio-trazador marcado en un vial. Se añadió solución de ácido ascórbico que tenía una concentración de ácido ascórbico de 50 mg/ml (10-15 ml), y la solución se pasó a través de un cartucho Sep-Pak® (previamente acondicionado con 10 ml de etanol seguido de 10 ml de la solución de ácido ascórbico). El trazador radiomarcado con ¹⁸F se adsorbe en la columna y se descarta el eluato acuoso. El Sep-Pak® se lavó con una alícuota adicional de solución de ácido ascórbico (10 ml) para eliminar cualquier producto adicional y acetonitrilo residual. El radio-trazador se eluyó con etanol ($\leq 0,5$ ml) y se añadió a un vial que contenía 9,5 ml de solución de ácido ascórbico.

55 Ejemplo 3: Determinación del efecto del valor del pH sobre la estabilización de las soluciones de dosis de radiotrazadores.

65

[0079] Se formuló la serie A de soluciones de ácido ascórbico en diversos valores de pH, cada solución que contiene 5 µg/ml de un compuesto radiofarmacéutico frío de análogo ¹⁹F, 2-terc-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[¹⁸F]fluoroetoximetilo)-benciloxi]-2H-piridazina-3-ona (p. ej., BMS-747158-01 (API)), etanol/agua (5/95) y 50 mg/ml de ácido ascórbico. El pH de cada solución se ajustó mediante la adición de una solución acuosa de reserva de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, según sea necesario. La lista de soluciones se muestra en la Tabla 1. La radiólisis se inició mediante la adición de Na¹⁸F en la solución que contiene el compuesto radiofarmacéutico de análogo frío ¹⁹F, y las soluciones se monitorizaron mediante el método de análisis de HPLC para la pureza radioquímica sobre un (mínimo) período de 6 horas. Las soluciones se analizaron usando una columna C18 RP-HPLC con una fase móvil gradiente y el perfil de elución se monitoreó usando detectores UV y radioquímicos. Los resultados se muestran en la FIG. 1.

Tabla 1. Soluciones de ácido ascórbico utilizadas en el Ejemplo 3.

| Solución | Lote N° | pH |
|----------|---------|-----|
| A | 070327 | 4,0 |
| B | 070328 | 5,8 |
| C | 070330 | 4,0 |
| D | 070403 | 4,0 |
| E | 070404 | 4,5 |
| F | 070418 | 4,6 |
| G | 070424 | 4,6 |
| H | 070425 | 4,6 |
| I | 070501 | 6,5 |
| J | 070502 | 2,4 |

[0080] Como puede verse a partir del gráfico en la FIG. 1, la pureza de las soluciones resultantes tras el almacenamiento dependía directamente del pH de la dosis tamponada inicial. Las soluciones a valores de pH más altos (más cercanos al pH fisiológico de 7-7,5) tuvieron notablemente menos estabilidad al almacenamiento que aquellos con valores relativamente más ácidos. Esto se ilustra en las gráficas específicamente con los valores de pH de la solución en 5,8 (Solución B) y 6,5 (Solución I), respectivamente. Estas son las dos gráficas más bajas en el gráfico que se muestra en la FIG. 1, respectivamente.

[0081] Estudios adicionales que controlan la formación de una impureza radioquímica como una función del pH de la solución sobre un rango de 4,0 - 8,2, como se muestra en la FIG. 2. Para cada solución, se monitorizó la formación de pureza radioquímica por HPLC, y se trazó el área del pico cromatográfico correspondiente a las impurezas radioquímicas en función del tiempo. Las soluciones que tienen un rango de pH entre 3,5.-5,5 exhibieron una mayor estabilidad en relación con las soluciones que tienen un pH de 6,0 o mayor, lo que demuestra una tasa de formación de impurezas radioquímicas mucho más lenta. Los resultados mostrados en la FIG. 2 demuestran además el efecto de la estabilidad mejorada de la formulación en condiciones ácidas críticas. Sobre el rango de pH probado, las velocidades de reacción de primer orden observadas para la formación de la impureza radioquímica se reducen en más de un factor de 10.

Ejemplo 4: Determinación del efecto de la concentración de ácido ascórbico en la estabilización de las soluciones de dosis de radiotrazadores.

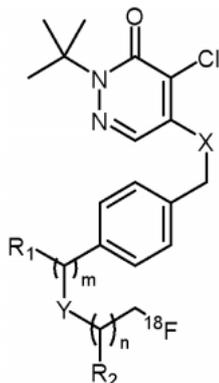
[0082] Este ejemplo describe el efecto de la concentración de ácido ascórbico en la pureza radioquímica. En este ejemplo, la pureza radioquímica (RCP) del producto farmacológico marcado con ¹⁸F (2-terc-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[¹⁸F]fluoro-etoximetilo)-benciloxi]-2H-piridazina-3-ona) se monitorizó para soluciones que tienen un rango de concentración de ácido ascórbico de 200 mg/ml (nivel de saturación) a 20 mg/ml, a pH 5,8. Los resultados mostrados en la FIG. 3 indican que los niveles de RCP no cambian significativamente en el rango de 200 a 50 mg/ml, pero se observó un aumento de impurezas (es decir, un nivel de RCP más bajo) en la muestra de 20 mg/ml.

[0083] Estos ejemplos están destinados a ilustrar la aplicación de la invención y no son de ninguna manera limitante en el intento, aplicación y utilidad de la invención como se expone en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:

5 uno o más compuestos radiofarmacéuticos de fórmula:

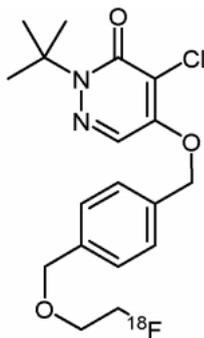


en donde:

- 25 X es O, S o NR;
 Y es O, S, NR, o CH₂;
 R es H o Me;
 m es 0, 1, 2 o 3;
 n es 0, 1, 2 o 3; y
 30 R₁ y R₂ son hidrógeno o C₁₋₁₀ alquilo,

junto con un estabilizador que comprende ácido ascórbico, en el que el pH de dicha composición está dentro del intervalo de 3,5 a 6,0; y en donde la composición comprende más de 0,25 M de ácido ascórbico.

35 2. La composición de la reivindicación 1, en la que dicha composición comprende 2-*tert*-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[¹⁸F]fluoro-etoximetilo)benciloxi]-2H-piridazina-3-ona:



50 3. La composición de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la composición tiene un pH dentro del intervalo de 5,5 a 6,0.

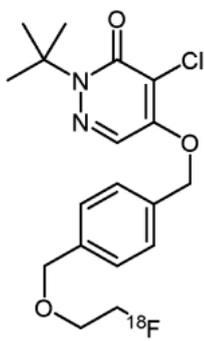
55 4. La composición de la reivindicación 2, en la que la composición tiene un pH de aproximadamente 5,8.

5. La composición de la reivindicación 2 o la reivindicación 4, en la que dicha composición comprende:

- 60 (a) aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico por mililitro;
 (b) aproximadamente 100 mg de ácido ascórbico por mililitro; o
 (c) aproximadamente 200 mg de ácido ascórbico por mililitro.

65 6. La composición de la reivindicación 1, en donde la composición comprende 2-*tert*-butilo-4-cloro-5-[4-(2-[¹⁸F]fluoro-etoximetilo)-benciloxi]-2H-piridazina-3-ona:

5



10

15

en donde la composición tiene un pH de aproximadamente 5,8 y en donde la composición comprende aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico por mililitro.

20

7. La composición de la reivindicación 1, en donde la composición comprende más de 50 mg de ácido ascórbico por mililitro.

25

8. La composición de la reivindicación 1, en la que la composición comprende más de 100 mg de ácido ascórbico por mililitro, o más de 200 mg de ácido ascórbico por mililitro.

9. La composición de la reivindicación 1, en la que la composición comprende entre 50 y 200 mg de ácido ascórbico por mililitro.

10. La composición de la reivindicación 1, en donde la composición comprende entre 50 y 500 mg de ácido ascórbico por mililitro.

30

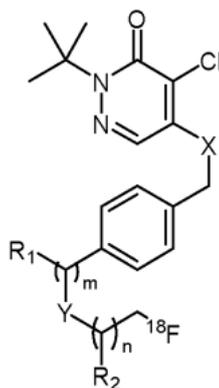
11. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para usar en un método de obtención de imágenes de un sujeto.

12. Un método para preparar una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende:

35

añadir una primera solución que comprende un compuesto radiofarmacéutico de fórmula:

40



45

50

en la que:

55

X es O, S o NR;
 Y es O, S, NR, o CH₂;
 R es H o Me;
 m es 0, 1, 2 o 3;
 n es 0, 1, 2 o 3; y
 R₁ y R₂ son hidrógeno o C₁₋₁₀ alquilo,

60

a una segunda solución que comprende ácido ascórbico dentro de un intervalo de pH de 3,5 a 6,0, para formar la composición radiofarmacéutica que comprende el compuesto ácido y ascórbico, y en donde la composición radiofarmacéutica comprende mayor de 0,25M de ácido ascórbico.

65

13. El método de la reivindicación 12, en el que el método comprende además el paso de ajustar el pH de la composición radiofarmacéutica a menos de 6.

14. El método de la reivindicación 12, en el que el compuesto radiofarmacéutico es

- (a) purificado por cromatografía antes de adición de la primera solución a la segunda solución, o
- (b) no purificado por cromatografía, antes de la adición de la primera solución a la segunda solución.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

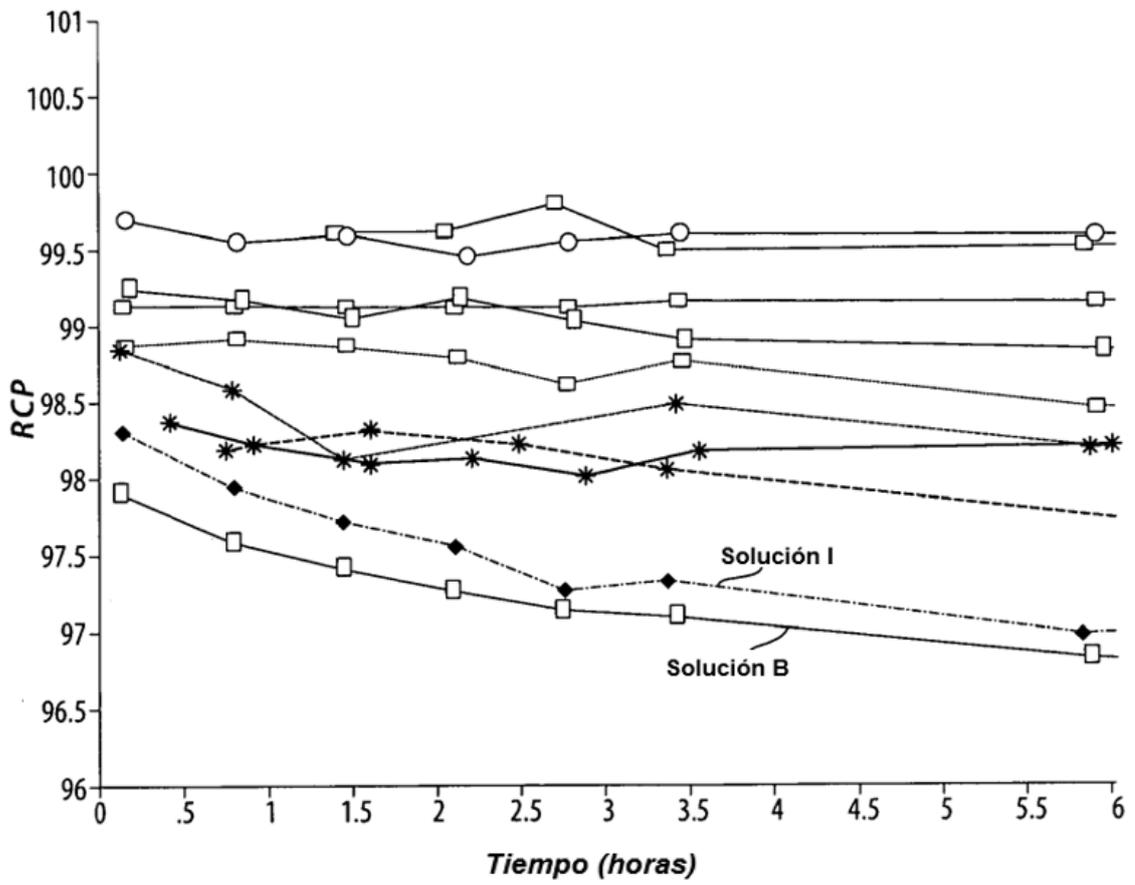


Fig. 1

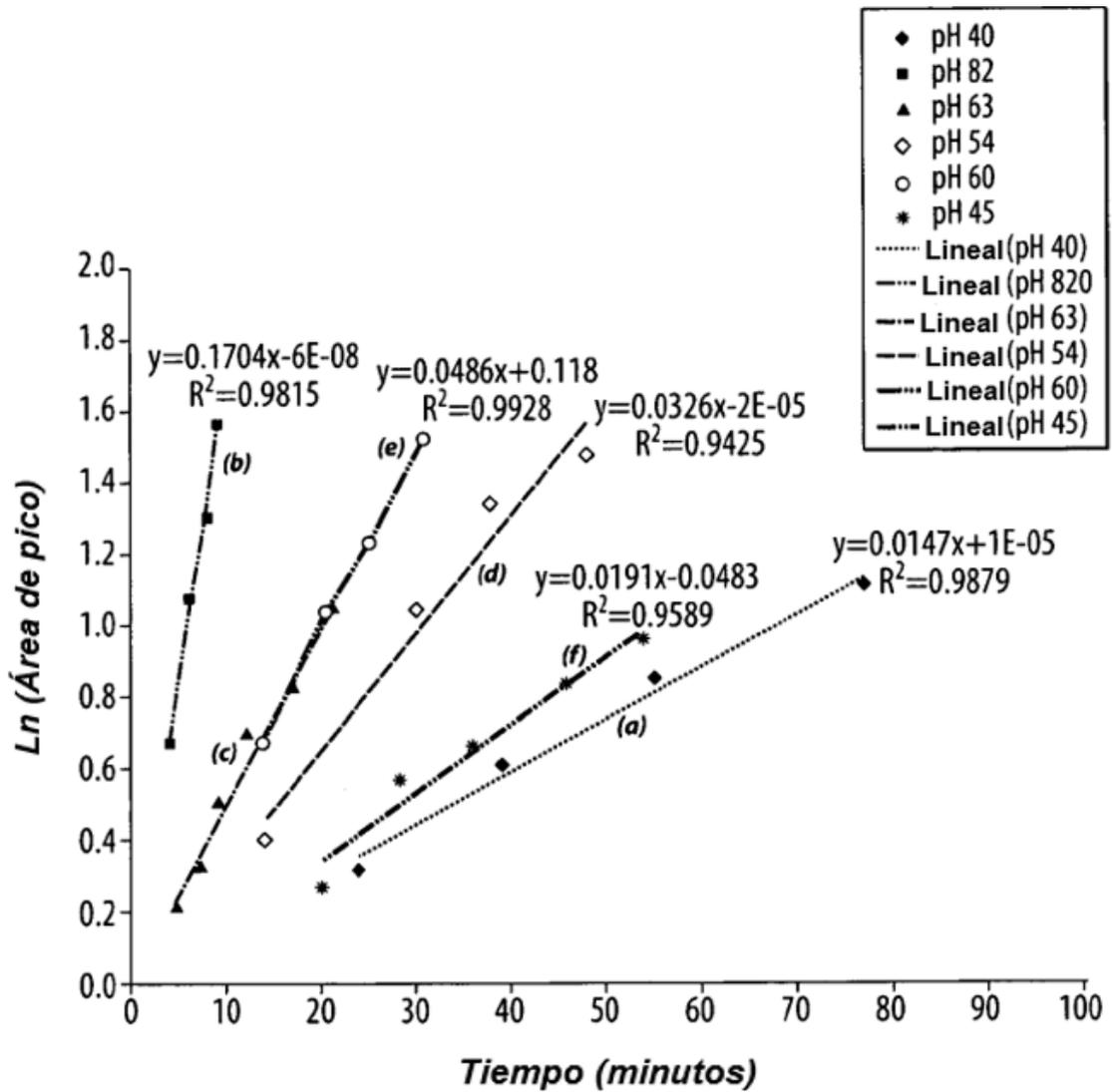


Fig. 2

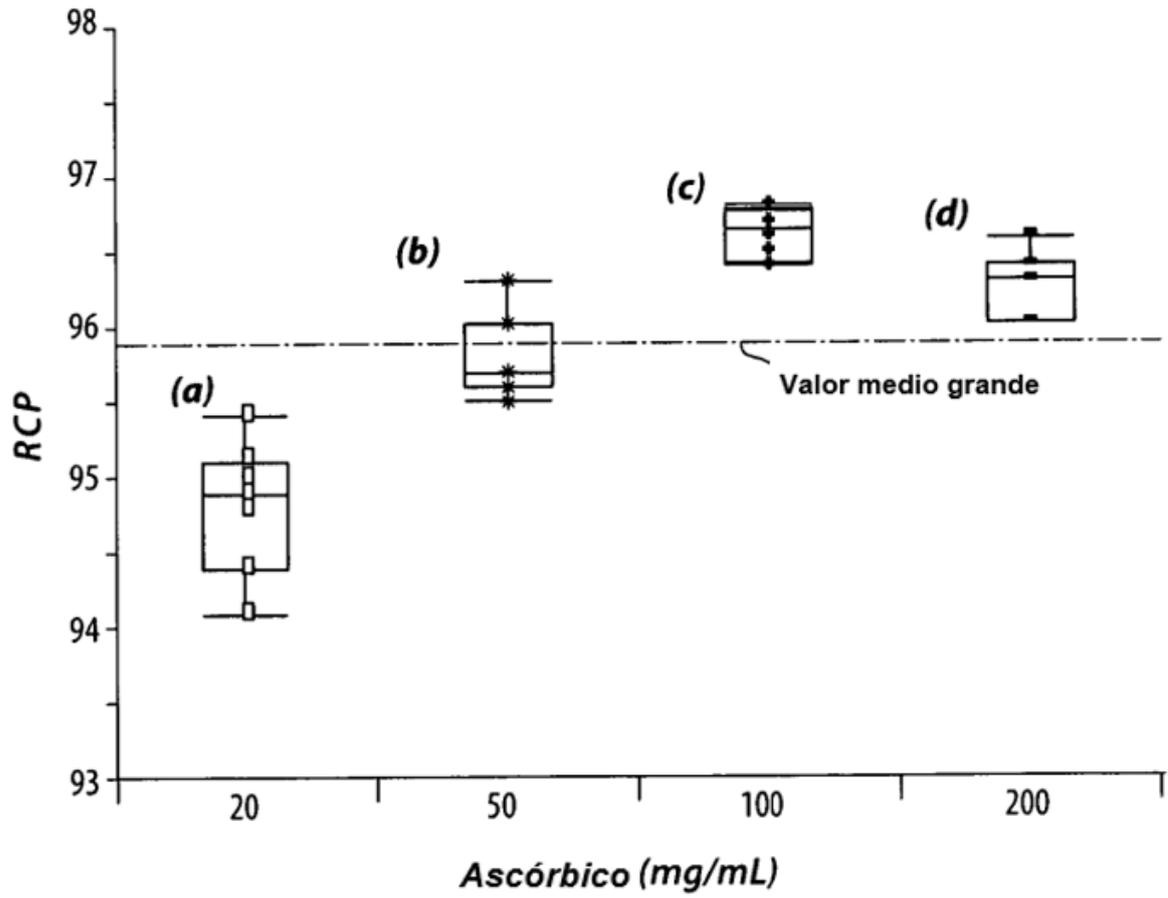


Fig. 3