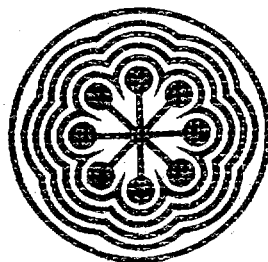




MX0600207

168
Ej. 2

instituto nacional de investigaciones nucleares



USO DEL FLUOR-18 LIBRE DE
PORTADOR PARA LA SINTESIS DE
LA 2-(¹⁸F)-FLUORO-2-DEOXI-D
GLUCOSA POR SUSTITUCION
NUCLEOFILICA

I. T. Q. 90-04

I. García Sosa y F. M. Ramírez

USO DEL FLUOR-18 LIBRE DE PORTADOR PARA LA
SINTESIS DE LA 2-(19F)-FLUORO-2-DEOXI-D-
GLUCOSA POR SUSTITUCION NUCLEOFILICA

INFORME TECNICO Q. 90-04

USO DEL FLUOR-18 LIBRE DE PORTADOR PARA LA SINTESIS DE LA
2-[¹⁸F]- FLURO-2-DEOXI-D-GLUCOSA POR SUSTITUCION NUCLEOFILICA.

Irma García Sosa y F. de M. Ramírez

Departamento de Química
Proy. BZ-124
Gerencia de Investigación Básica
Dirección de Investigación y Desarrollo
Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares
Centro Nuclear de México

RESUMEN

Se realizaron estudios preliminares sobre la síntesis de 2-[¹⁸F] - Fluoro - 2 - Deoxi - D - Glucosa (2-[¹⁸F]-FDG) mediante el método nucleofílico propuesto por K. Hamacher⁽¹⁾ y el ¹⁸F obtenido⁽²⁾ en el Reactor Nuclear TRIGA Mark III del Centro Nuclear de México.

Para el control de calidad radioquímico se empleó la técnica de cromatografía en papel y sílica gel con 4 sistemas de disolventes. La identificación de las especies marcadas con ¹⁸F se realizó mediante comparación de sus R_f con los R_f de las especies obtenidas no radiactivas, usando el mismo método de síntesis.

INTRODUCCION

El derivado de glucosa 2-[¹⁸F]-Fluoro-2-Deoxi-D- Glucosa (2-[¹⁸F]-FDG) es quizá el radiofármaco de ¹⁸F más empleado en medicina nuclear^(3,4) para el diagnóstico del metabolismo regional de glucosa en corazón⁽³⁾ y cerebro⁽⁴⁾ principalmente.

Por lo que respecta al radionúclido ¹⁸F decae por emisión de positrones en un 97% y captura electrónica en un 3%, y es el más utilizado en tomografía por emisión de positrones, su vida media es de 110 minutos.

Desde el punto de vista químico, el flúor tiene un tamaño comparable al hidrógeno, ambos forman fuertes enlaces con carbono, sin embargo, su reactividad química es muy diferente. Es posible reemplazar⁽⁵⁾ el grupo CH₃ por CF₃ en sistemas alifáticos y en aromáticos se asemeja a los grupos NO₂, CN y SO₂.

Un átomo de F puede introducirse a una molécula dada como un análogo de un grupo hidroxilo en compuestos polihidroxilados, tal como, los carbohidratos donde el flúor puede actuar solamente como aceptor de enlaces hidrógeno, mientras que el grupo hidroxilo como un donador y aceptor. El único isótopo natural del flúor es el ¹⁹F.

La síntesis para obtener 2-[¹⁸F]-FDG puede efectuarse tanto por un proceso electrofílico^(6,7) como nucleofílico^(7,1), mediante el empleo de diversos agentes fluorinantes como precursores para introducir el radionúclido en una etapa final del proceso.

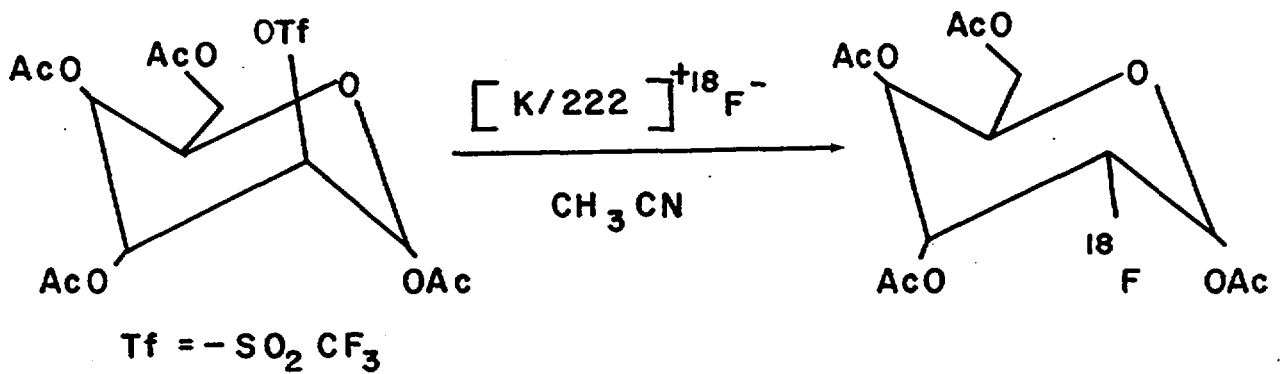
Con respecto al método nucleofílico, el fluoruro por sí solo no es buen nucleófilo, por lo que, se requiere primero obtenerlo como parte de un tosilato disuelto en un disolvente polar adecuado.

En este informe se describe el método de síntesis para la 2-[¹⁸F]-FDG de acuerdo a K. Hamacher⁽¹⁾ y que se realiza a partir de 1,3,4,6 tetra-O-acetil-2-O trifluorometansulfonilo -β-D-mano-piranosas, como precursor el 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo-(8,8,8) hexacosano, denominado también criptando [2.2.2] con carbonato de potasio, marcado con ¹⁸F en forma haluro (¹⁸F⁻).

La técnica de radiocromatografía en papel y silica gel es la más adecuada, en lo que se refiere a la determinación del control de calidad radioquímico^(2,3).

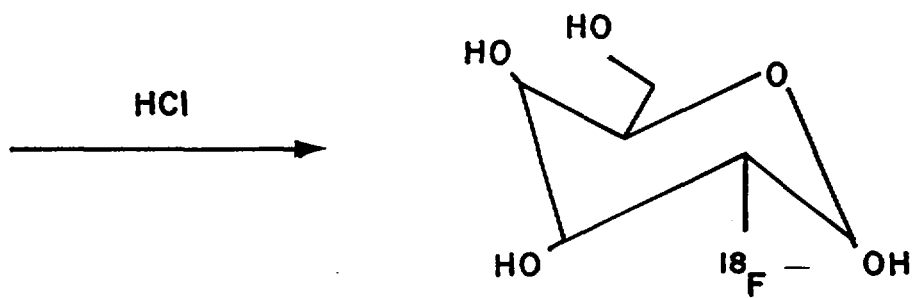
Se presentan los sistemas cromatográficos empleados así como los resultados obtenidos.

En la figura 1 se muestran las reacciones químicas que se llevan a cabo para la síntesis del 2-[¹⁸F]-FDG.



1,3,4,6 TETRA-O-ACETIL
2-O-TRIFLUOROMETANSULFONILO
B-D-MANOPIRANOSA.

1,3,4,6 TETRA-O-ACETIL
2-FLUORO B-D-MANO-
PIRANOSA.



$[2-^{18}\text{F}]$ FLUORO-2-DEOXI-D-GLUCOSA

^{18}F FDG

FIGURA 1

PARTE EXPERIMENTAL

A) Producción de flúor-18.

Este radionúclido se obtuvo libre de portador⁽²⁾, por medio de las reacciones nucleares ${}^6\text{Li} (n,\alpha) {}^3\text{H}$, ${}^{16}\text{O} (t,n) {}^{18}\text{F}$. El blanco irradiado durante 30 minutos en el reactor nuclear fue Li_2CO_3 en forma natural y enriquecido en Li al 95%. Se utilizó la posición SIFCA del reactor TRIGA Mark III del ININ.

Las muestras irradiadas fueron purificadas y analizadas cualitativa y cuantitativamente de acuerdo a métodos ya establecidos⁽²⁾ e informe técnico Q.89-02⁽⁸⁾ donde también se indica que la solución amoniacal marcada con ${}^{18}\text{F}$ en forma de fluoruro se concentró hasta un volumen de 0.4 ml. Esta solución acuosa alcanzó un PH=7. Se determinó el contenido de litio, aluminio, tritio y ${}^{18}\text{Flúor}$. Los dos primeros por absorción atómica y los últimos midiendo su radiactividad.

B) Preparación del precursor criptato $[\text{2.2.2}]\text{K}^{18}\text{F}$.

- 1.- Instalar un sistema de reflujo construido con cuarzo en un baño de aceite a temperatura aproximada de 125°C.
- 2.- Colocar en el tubo de reacción una mezcla compuesta por 26 mg de criptato $[\text{2.2.2}]$ y 4.6 mg de carbonato de potasio disueltos en una mezcla de acetonitrilo-agua (8.6:1.4.).
- 3.- Someter la mezcla de reacción a reflujo con corriente de helio (≈ 50 ml/m) durante 30 minutos. Concentrar a sequedad.
- 4.- Tomar una muestra para cromatografía.

C) Síntesis de 2-[¹⁸F]-FDG.

- 1.- Adicionar al residuo anterior una solución compuesta por 20 mg de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-O-trifluorometan sulfanilo β-D-manopiranososa disuelto en 1 ml de acetonitrilo anhidro.
- 2.- Calentar a 80°C con reflujo durante 5 minutos. Quitar el reflujo y concentrar hasta 0.4 ml y añadir 5 ml de agua destilada.
- 3.- Pasar esta solución por un cartucho C18 SEP-PAK lavado previamente con 2 ml de tetrahidrofurano y 5 ml de agua respectivamente.
- 4.- Recuperar el carbohidrato acetilado mediante la elución del cartucho con 2 ml de THF y evaporar el eluato a sequedad.
- 5.- Añadir al residuo 2 ml de HCl 1M y someterlo a reflujo. Enfriar el tubo de reacción a temperatura ambiente.
- 6.- Pasar la solución por el cartucho previamente usado. Lavar con 1 ml de H₂O destilada el tubo de reacción y pasar esta solución también por el cartucho.
- 7.- Pasar la anterior solución por una columna empacada con resina AG-11A8 (50-100 mallas) alúmina y nuevamente resina.
- 8.- Colectar el eluato y tomar muestra para cromatografía.

D) Control de Calidad.

Con el fin de confirmar la pureza radioquímica del radionúclido ¹⁸F, el precursor criptato [2.2.2] K¹⁸F, y el 2-[¹⁸F]-FDS, se

RESULTADOS Y DISCUSION

El flúor-18 producido en el Reactor Nuclear, purificado mediante cromatografía ^(2,9) concentrado por evaporación y ajustado a pH neutro se obtuvo con alta pureza radioquímica de acuerdo al control de calidad cromatográfico. Con este radionúclido se preparó un complejo macrocíclico denominado Criptato (2.2.2) $K^{18}F$ a partir del cual se obtuvo el ^{18}FDG .

Con el fin de identificar y comprobar que las especies activas eran las que se esperaban, se realizó también el mismo control de calidad a muestras inactivas de F^- , Criptato (2.2.2) KF y FDG .

En las tablas 1, 2 y 3 se presentan los valores de R_f promedio de los valores obtenidos en cada sistema y tipo de placa de las especies halladas en los diferentes sistemas utilizados, que a continuación se enumeran:

a) Fluoruro radiactivo y no radiactivo

De la tabla 1 y de acuerdo a los sistemas cromatográficos empleados, se observa que la especie principal en el sistema 1 en fase de sílica gel sin impregnar tiene un valor de R_f promedio de 0.90 que de acuerdo a la muestra inactiva corresponde al ion fluoruro.

Por lo que respecta a los sistemas 2, 3 y 4 la especie principal se queda en el origen tanto en las placas impregnadas, sin impregnar e ITLC.

b) Criptato (2.2.2) KF radiactivo y no radiactivo.

De acuerdo a la tabla 2 en el sistema 1 en placas de sílica sin impregnar se observan dos especies principales, una en el origen y

utilizó la técnica cromatográfica en placas de sílica gel F_{254} sin impregnar e impregnadas con $Na_2H_4PO_4$ y celulosa (ITLC: cromatografía instantánea en capa fina) de 1.2x5 cm. Se emplearon como sistemas eluyentes las 4 mezclas de solventes siguientes:

- Sistema 1 isopropanol: NH_4OH : (2: 8)
- Sistema 2 cloroformo: etanol: agua: (30: 9: 1)
- Sistema 3 acetonitrilo: agua: (9: 5)
- Sistema 4 acetato de etilo: etanol: agua: (25: 5: 1)
- Sistema 5 acetato de etilo: etanol: (4: 2)

También se utilizaron estos sistemas para los compuestos no radiactivos. Además se utilizó el sistema: Acetato de etilo: Etanol (4:1) para comparar los valores R_f del FDG adquirido comercialmente con los reportados en la literatura ⁽¹⁰⁾. Las cromatoplacas de F^- y criptato [2.2.2] KF se revelaron con una solución de KI al 5% y HCl al 10% y las de FDG con sulfato cérico.

Cada placa de sílica gel y celulosa se cortó en fracciones de 1 cm después de realizada la cromatografía y se contaron en el detector de radiactividad de NaI-Tl.

Con los datos obtenidos se construyeron las tablas 1, 2 y 3 señaladas en resultados.

la otra con un valor de Rf de 0.70. Sin embargo, cuando se emplean placas impregnadas, no se observa actividad en el origen.

Por lo que respecta a la separación en ITLC se observan dos especies distribuidas entre el origen y el frente del disolvente. La distribución en el sistema 2 tanto para las placas impregnadas y sin impregnar así como en ITLC quedan principalmente en el origen.

En el sistema 3 para los tres tipos de placas se observan dos especies principalmente en el origen y Rf de 0.5-0.75

En el sistema 4 se observan dos especies entre el origen y la mitad de la placa.

c) FDG radiactivo y no radiactivo

Según se indica en la tabla 3 en el sistema 1, la actividad se distribuye en las placas impregnadas, tanto en el origen como a un valor de Rf 0.90 y en ITLC entre 0.0 y 0.4 principalmente.

En el sistema 2 en las placas de ITLC se observa principalmente una especie a Rf 0.11, en sílica gel impregnada a Rf 0.11, 0.33 y 0.83, en la placa sin impregnar se observa una especie principal a 0.11.

En el sistema 3 para placas impregnadas y sin impregnar se nota una especie principal a Rf 0.40.

Por lo que respecta al resultado en ITLC se observa una especie principal cerca del origen.

Con respecto al sistema 4 en placas impregnadas se observa una especie cerca del origen y en placas sin impregnar se observa distribución de actividad a lo largo de la placa y por último en ITLC se nota una especie de mayor actividad cerca del origen y

distribución de actividad a lo largo de la placa.

Para comprobar la pureza química del FDG obtenido comercialmente y utilizado como referencia se analizó por cromatografía en placa de sílica sin impregnar, con el sistema 5 reportado en la literatura⁽¹¹⁾ con el fin de identificar el ¹⁸FDG.

De los resultados cromatográficos en los diferentes sistemas, se observa que el sistema más adecuado para identificar al ion fluoruro es el número 1 en sílica gel sin impregnar. Por lo que respecta al criptato (2.2.2) KF se halló que el mejor sistema fue también el número 1 pero en placas impregnadas, sin embargo, para la identificación de la especie, el soporte más adecuado es la placa de sílica gel sin impregnar.

Para el caso del FDG el sistema 1 es útil si se emplea ITLC como soporte, aunque el sistema 3 permite la separación del FDG a un valor de Rf 0.4 en placas de sílica tanto impregnadas como sin impregnar, lo cual confirma lo indicado por otros autores⁽⁹⁾, aun cuando el FDG utilizado como referencia se identificó a un valor de 0.51.

Los valores de Rf de 0.16 y 0.82 para el FDG analizado, indican la pureza química del compuesto ya que son valores muy cercanos (0.18, 0.88) a los reportados por Gatley⁽¹⁰⁾

TABLA 1

F⁻ y ¹⁸F⁻

Sistema	No radiactivo		Radiactivo		c
	^a Rf	^b Rf	^a Rf	^b Rf	
1			0.12	0.0 0.64	0.0
			0.56	0.14 0.76	0.17
				0.24 0.92	0.48
		0.88	0.88	0.44	0.90
2			0.0	0.0 0.95	0.0
		0.5	0.63	0.10	0.5
			0.75	0.29	0.76
		0.0		0.57 0.76	1.0
3			0.0	0.0 0.75	0.0
			0.88	0.14 0.92	0.25
		0.68		0.22	0.5
		0.0		0.36	0.75
4				0.0	0.0
				0.38	0.25
		0.0		1.0	0.88

a = sílica gel impregnada

b = sílica gel sin impregnar

c = ITLC

TABLA 2

[2.2.2] KF y [2.2.2] K¹⁸F

Sistema	No radiactivo		Radiactivo		
	^a Rf	^b Rf	^a Rf	^b Rf	^c Rf
1				0.04	0.25
		0.23	0.06	0.25	0.5
		0.65	0.72	0.70	0.75
2		0.07	0.0	0.20	0.02
		0.35	0.25	0.30	0.40
			0.62		0.60
		0.70	0.88	0.70	0.80
3					1.0
	0.11	0.14	0.0	0.070	0.0
	0.67	0.30	0.55	0.64	0.5
4	0.89	0.44			0.75
				0.0	0.0
4		0.0		0.62	0.62
		0.58		1.0	

a = sílica gel impregnada

b = sílica gel sin impregnar

c = ITLC

TABLA 3

2-[¹⁸F]-FDG y 2-FDG

Sistema	No radiactivo		Radiactivo	
	^b Rf	^a Rf	^b Rf	^c Rf
1		0.0	0.12	0.0
		0.38	0.63	0.25
	0.93	0.9	1	0.70
2	0.04	0.06	0.12	0.04
	0.53	0.40	0.34	0.42
			0.65	0.67
	0.80	0.80	0.90	0.84
3				0.03
				0.19
		0.0	0.11	0.52
		0.41	0.44	0.74
	0.51	0.95	1.0	0.89
4			0.11	0.07
	0.07	0.0	0.34	0.36
	0.40		0.61	0.69
	0.78	0.2	0.89	1.0
*5	0.16			
	0.82			

a = sílica gel impregnada

b = sílica gel sin impregnar

c = ITLC

*Rf 0.18; 0.88 (Gatley)¹⁰

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Hamacher K., Coenen H. H. y G. Stöcklin, J. Nucl. Med. 1986, 22, pág. 235.
- 2.- Bulbulian S., Ramírez F. de M., Iturbe J. L., Collins C. H. y Collins K. E. The Analyst, 1989, 114, pág. 349.
- 3.- Coenen H. H., Pike V. W., Stöcklin G. y Wagner. Appl. Radiat. Isot. 1987, 38, pág. 605.
- 4.- Sudesh S., Gunter F. y Garnett E. S. Int. J. Appl. Radiat. Isot. 1983, 34, pág. 743.
- 5.- Palmer A. J., Clark J. C. y Goulding R. W. Int. J. Appl. Rad. and Isot., 1977, 28 pág. 53.
- 6.- Hamacher K. Carbohidrate Research, 1984, 128 pág. 291.
- 7.- Fowler J. S. y Wolf A. P., Nuclear Medicine (Nuclear Science Series) NAS-NS-3201, 1982.
- 8.- Ramírez F. de M., García I., Iturbe J. L., Ordoñez E., y Bulbulian S. Informe Técnico Q. 89-02, Depto. de Química, 1989, ININ.
- 9.- Ramírez F. de M., García I., Bulbulian S., Iturbe J. L. y Ordoñez E., práctica No. 7 "Producción de ^{18}F en el reactor. Marcaje de un precursor y derivado de glucosa", del curso de capacitación sobre producción y procesamiento de radioisótopos, ININ-OIEA-ARCAL V, México, 1989.
- 10.- Gatley J. S., Brown S. G. y Thompson C. M. J. Nucl. Med., 1988, 29, pág. 1443.