

Optimización de la marcación del
antígeno prostático de membrana,
GLU-UREA-LYS(AHX)-HBED-CC
(PSMA) empleando el complejo
 $[Al^{18}F]^{2+}$

Bach. Quím. Maia Zeni, Dr. Javier Giglio,
Dr. Eduardo Savio, Prof. Dr. Henry Engler



El antígeno prostático PSMA es una metaloenzima con sobreexpresión en cáncer de próstata



Inhibidores de esta enzima, derivados de urea, que contienen la estructura Glu-NHCO- NH-Lys, se unen en forma específica a PSMA y mediante un espaciador adecuado también se unen a HBED-CC un agente quelante acíclico, formando con su posterior marcado con ^{68}Ga



Radiofármaco ^{68}Ga -PSMA

Ampliamente utilizado

El ^{68}Ga se obtiene por generador



Límita la actividad al producir el radiofármaco



Resulta interesante la marcación con ^{18}F

¿Por qué ^{18}F ?

Se obtiene en ciclotrón

→ **Potencial radiofármaco con mayor actividad**

Tiempo de semidesintegración de 109,8 min

→ **Adquisición de imágenes tardías**

$E_{\text{max}} = 0,64 \text{ MeV}$

→ **Mejor resolución en las imágenes**



Marcaciones exitosas de PSMA con ^{18}F ya han sido reportadas, pero las mismas se dan por ataque nucleofílico por parte del ^{18}F , y son síntesis de varias etapas



Con la utilización del complejo $[\text{Al } ^{18}\text{F}]^{2+}$ se pretende llegar a un método de marcación directa.

¿Por qué $[\text{Al } ^{18}\text{F}]^{2+}$? → se asemeja en tamaño al Ga^{3+}

- se puede utilizar igual precursor que ^{68}Ga -PSMA

OBJETIVO

Optimización de la marcación manual del PSMA-11 a través del complejo $[Al^{18}F]^{2+}$

OPTIMIZACIÓN DE LA MARCACIÓN

Como referencia, punto de partida, se toma el trabajo siguiente:

Eur J Nucl Med Mol Imaging
DOI 10.1007/s00259-016-3437-y



ORIGINAL ARTICLE

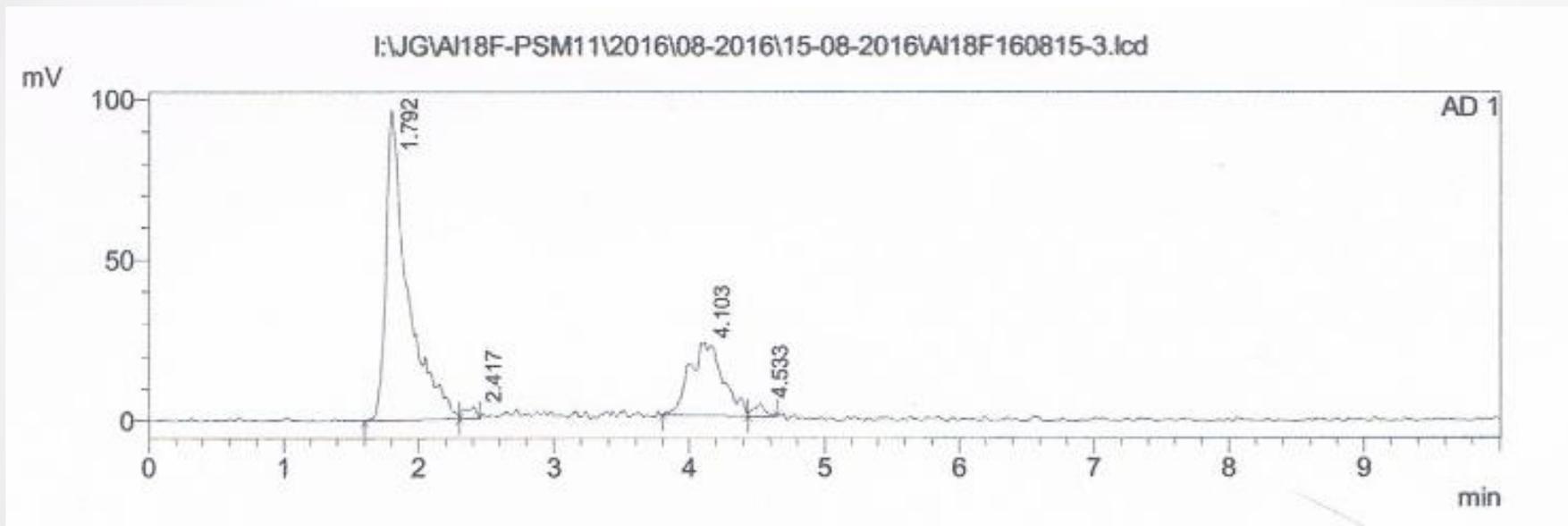
Synthesis and preclinical evaluation of an Al¹⁸F radiofluorinated GLU-UREA-LYS(AHX)-HBED-CC PSMA ligand

Stefano Boschi¹ • Jason T. Lee² • Seval Beykan³ • Roger Slavik⁴ • Liu Wei⁴ •
Claudio Spick⁴ • Uta Eberlein³ • Andreas K. Buck³ • Filippo Lodi¹ •
Gianfranco Cicoria⁵ • Johannes Czernin⁴ • Michael Lassmann³ • Stefano Fanti¹ •
Ken Herrmann^{3,4}

SISTEMA DE HPLC UTILIZADO EN EL TRABAJO DE REFERENCIA

Columna: Eclipse XDB-C8, 5 mm, 4,6x150 mm, solventes: A ácido trifluoroacético 0.1% en agua, B ácido trifluoroacético 0.1% en acetonitrilo, flujo: 1mL/min.

Sistema isocrático 85% A 15%B



OPTIMIZACION DEL SISTEMA DE HPLC

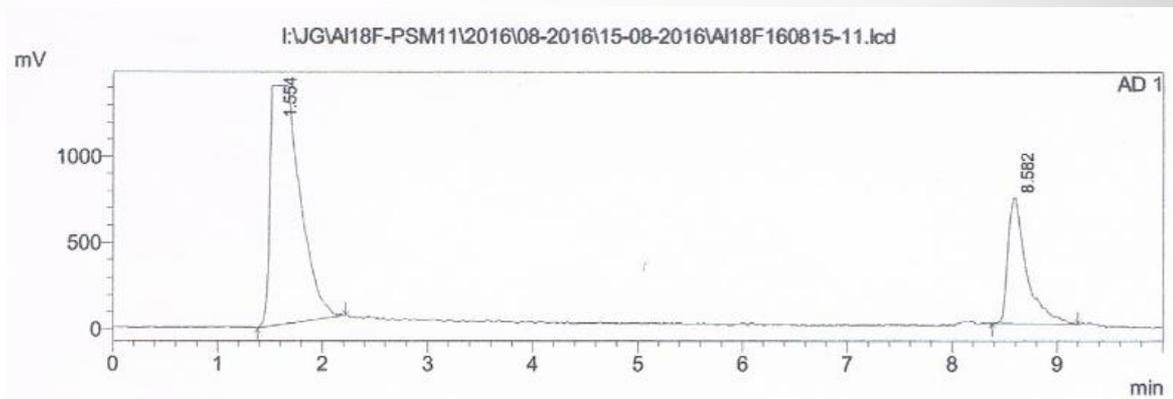
Se utiliza igual columna y solventes, se varia el programa cromatográfico con el objetivo de mejorar la resolución

OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA HPLC

Cambio de sistema a gradiente

Gradiente: 0-10 min 0 %B,
de 10-11 min (0-50) %B.

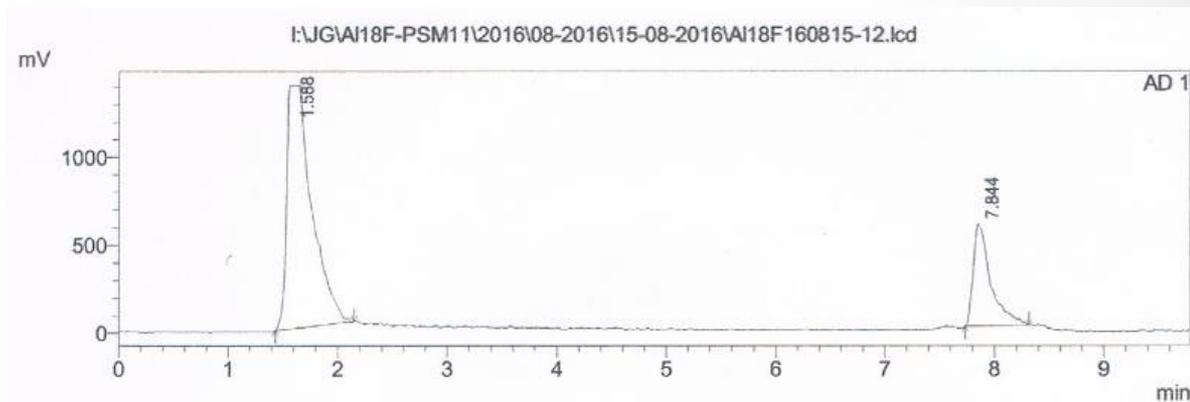
Flujo 1mL/min



Cambio de gradiente

Gradiente: 0-7 min 0 %B,
de 7-10 min (0-50) %B.

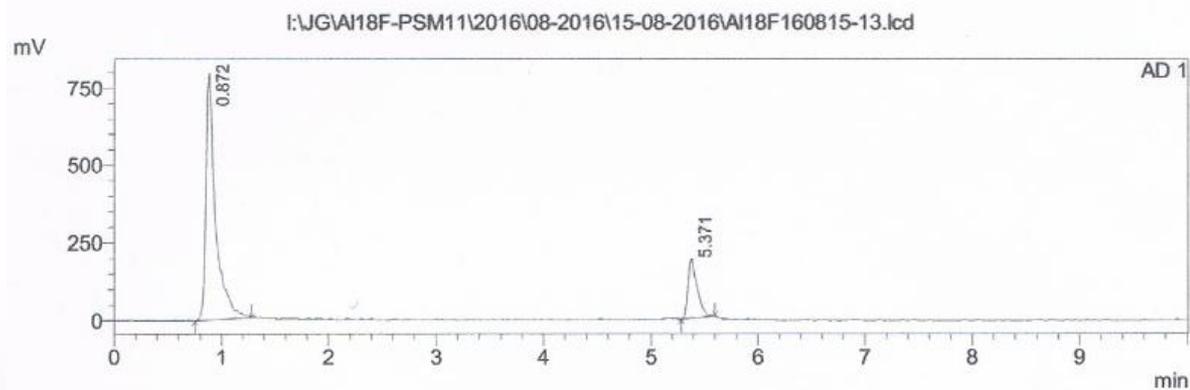
Flujo 1mL/min



Cambio de flujo

Gradiente: 0-7 min 0 %B,
de 7-10 min (0-50) %B.

Flujo 2mL/min



PURIFICACIÓN DE ^{18}F

Se realiza por el pasaje a través de cartucho QMA



Se activa : 5 mL de acetato de sodio 0,5M

Se lava: 10mL de agua Milli-Q
(resistividad $\geq 18,2\text{M}\Omega$)

Luego de su activación

Se realiza el pasaje del ^{18}F obtenido del ciclotrón por el cartucho

Se lava con 5 mL agua Mili-Q

Se eluye el fluoruro en forma de Na^{18}F con 500 μL buffer acetato 0,5M, pH 4,5

OPTIMIZACIÓN DE LA MARCACIÓN

Proceso de marcación:

1 Solución que contiene: AlCl_3 , PSMA y etanol



2

Se agrega el ^{18}F purificado

3

Se incuba a temperatura por cierto tiempo con agitación



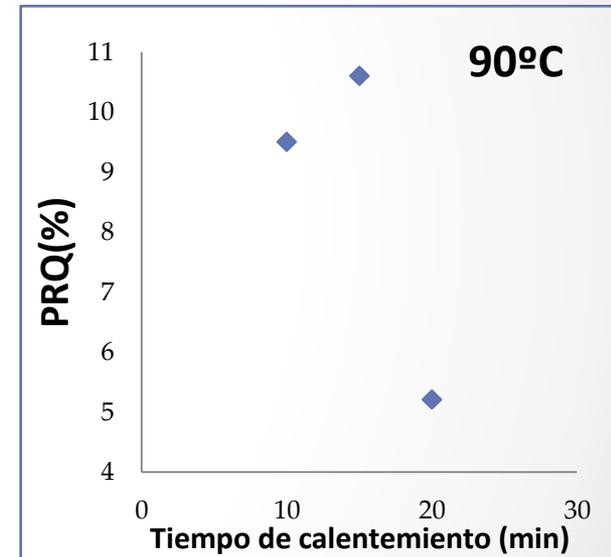
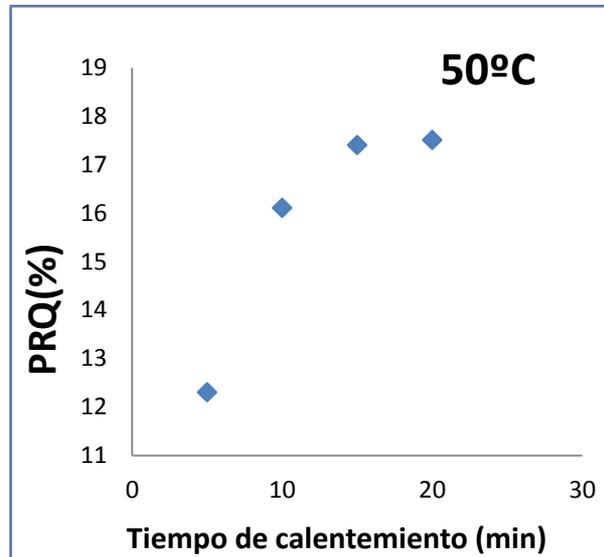
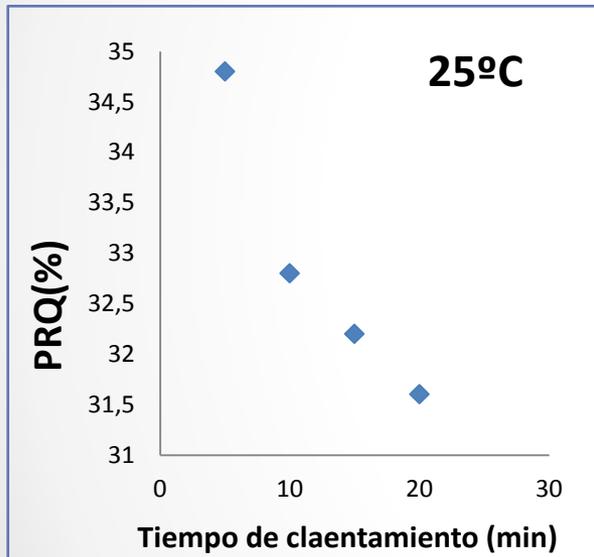
Variables a estudiar

- Cantidad de AlCl_3
- % etanol
- pH
- Tiempo de calentamiento
- Temperatura de calentamiento

OPTIMIZACIÓN DE LA MARCACIÓN

INFLUENCIA DE TEMPERATURA Y TIEMPO DE CALENTAMIENTO

Se añade 100 μL de Na^{18}F (100 a 300 MBq) a una solución de 3 μL de 0,01 M AlCl_3 , 25 μg de PSMA y 150 μL etanol. La mezcla se incuba a diferentes temperaturas durante distintos tiempos



A 25°C se descompone el potencial radiofármaco.

Al aumentar la temperatura de 50°C a 90°C disminuye el rendimiento de la marcación.

A los 50°C después de los 10 minutos no se observa un aumento significativo del rendimiento.

OPTIMIZACIÓN DE LA MARCACIÓN

INFLUENCIA DEL % ETANOL

Se añade 100 μL de Na^{18}F (100 a 300 MBq) a una solución de 3 μL de 0,01 M AlCl_3 , 25 μg de PSMA y etanol. La mezcla se incubaba a 50°C durante 10 min

Etanol (μl)	Etanol (%)	PRQ (%)
100	46	26
150	57	16-22-45-95
200	63	20

No se obtenía repetibilidad en los resultados

OPTIMIZACIÓN DE LA MARCACIÓN

INFLUENCIA DEL pH

- ✿ No se obtenía repetibilidad en los resultados
- ✿ No se lograba obtener una pureza radioquímica mayor (PRQ) al 90%

Estudiar pH

Es un factor importante en el rendimiento ya que de él depende la disponibilidad de aluminio libre

CLIN. CHEM. 32/10, 1797-1806 (1986)

The Chemistry of Aluminum as Related to Biology and Medicine

R. Bruce Martin

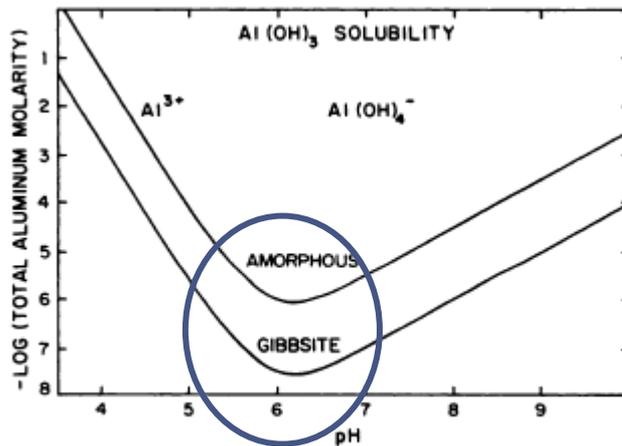


Fig. 2. Negative logarithm of total molar concentration of aluminum allowed by $\text{Al}(\text{OH})_3$ solubility vs pH

Al fijarse el pH agregando acetato de sodio a la solución se consigue repetibilidad en los resultados

Los óptimos resultados, PRQ >90%, se obtuvieron a pH en el rango 5,5 - 6,0,

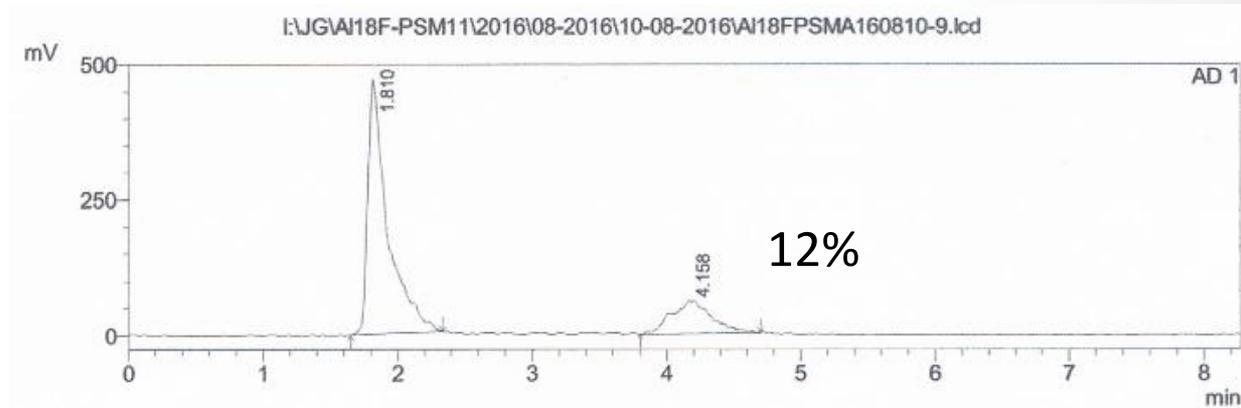
OPTIMIZACIÓN DE LA MARCACIÓN

INFLUENCIA DEL pH

Se añade 100 μL de Na^{18}F (100 a 300 MBq) a una solución de 25 μg de PSMA, 3 μL AlCl_3 0,01M , 150 μL etanol. La mezcla se incuba a 50°C durante 10 min

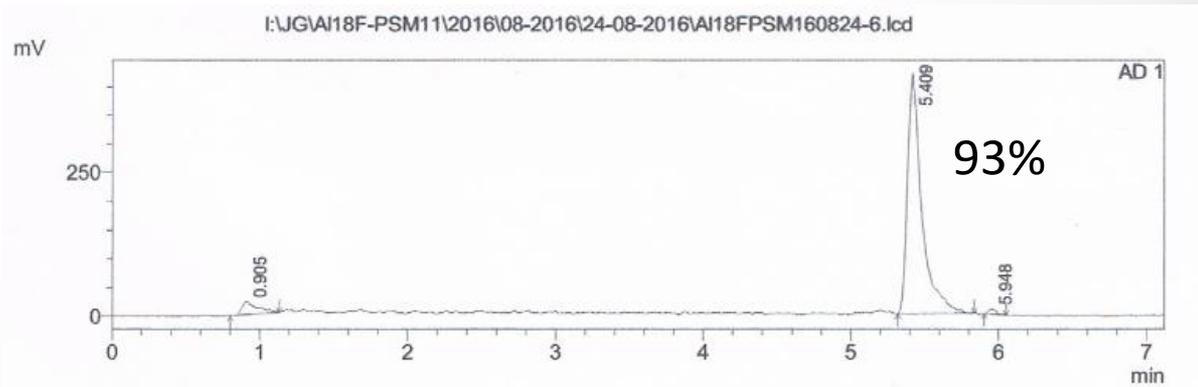
4 < pH < 4,5 

Se ajusta con ácido acético



5,5 < pH < 6 

Se ajusta con acetato de sodio 0,5M

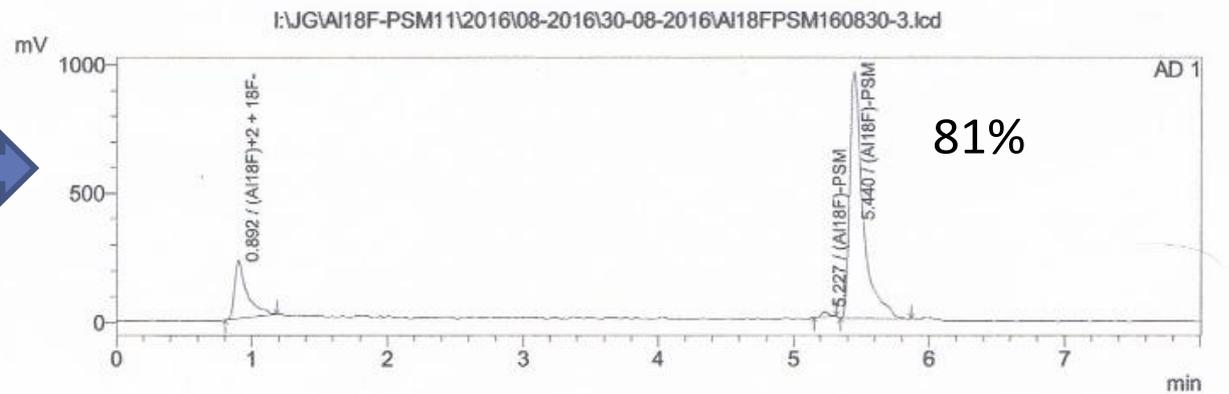


OPTIMIZACIÓN DE LA MARCACIÓN

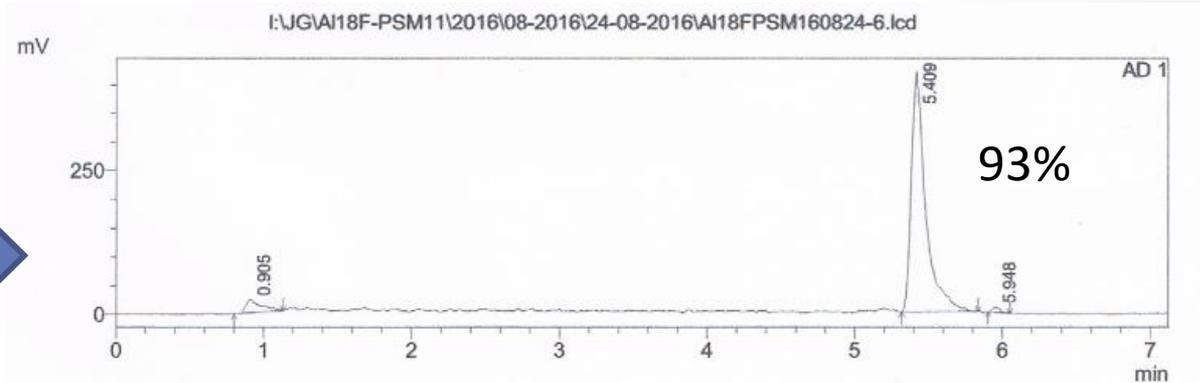
INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE AlCl_3

Se añade 100 μL de Na^{18}F (100 a 300 MBq) a una solución de 25 μg de PSMA, 100 μL acetato de sodio 0,5M , 150 μL etanol y AlCl_3 . La mezcla se incuba a 50°C durante 10 min

6 μL de 0,01 M AlCl_3



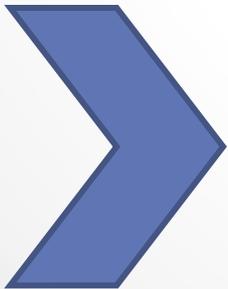
3 μL de 0,01 M AlCl_3



El incremento de la concentración de aluminio produce una disminución de la eficiencia

CONCLUSIÓN

Se consiguió optimizar el proceso de marcación logrando una pureza radioquímica superior al 90%, agregando 100 μl de Na^{18}F (100 a 300 MB) a una solución de 3 μl de AlCl_3 (30 nM) , 25 μg de PSMA, 100 μl acetato de sodio 0,5M y 150 μl etanol, incubando a 50 ° C durante 10 min.

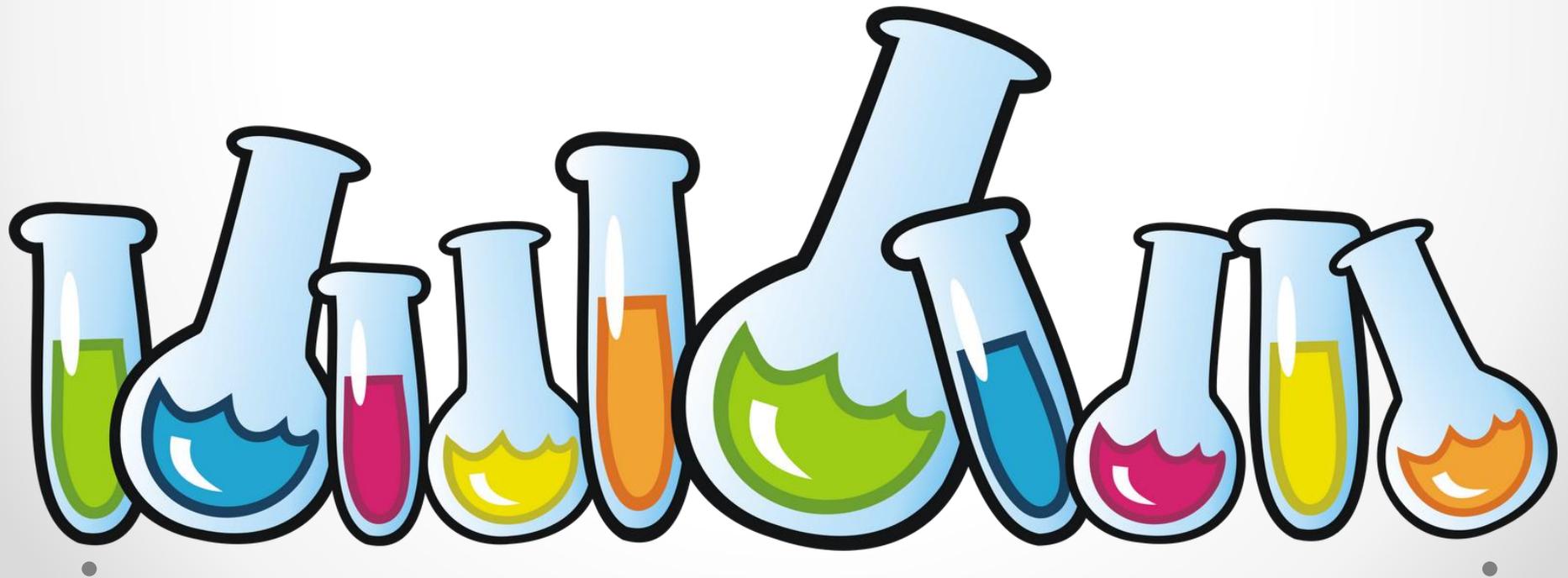


Como continuación del trabajo se plantea la automatización del método a fin de poder realizar la síntesis a una mayor escala, realizando la purificación y formulación adecuada para el uso clínico

BIBLIOGRAFIA

- Boschi E., et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2016; 43(12); 2122-2130.
- Malik N., et al. Mol. Imaging Biol. 2015; 17; 777-785.
- Martin B. Clin. Chem. 1986; 32(10); 1797-1806.

Gracias!



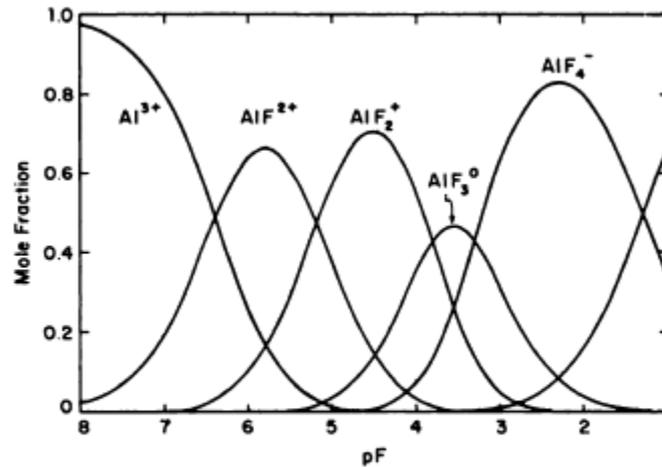


Fig. 5. Mole fraction of total aluminum found as fluoride complexes as a function of $\text{pF} = -\log[\text{F}^-]$, where $[\text{F}^-]$ is the ambient F^- molar concentration