

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043801**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.06.26

(51) Int. Cl. *A61K 51/04* (2006.01)
A61K 103/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
202200046

(22) Дата подачи заявки
2021.12.08

(54) СИНТЕЗ РАДИОФАРМПРЕПАРАТА ⁶⁸Ga-FAPI-46(43) **2023.06.22**(96) **2021/033 (AZ) 2021.12.08**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ШУКУРОВ РАЗИМ ТАИР ОГЛУ;
СУЛЕЙМАНОВ ТАИР АББАСАЛИ
ОГЛУ (AZ)**

(72) Изобретатель:
**Сулейманов Таир Аббасали оглу,
Шукуров Разим Таир оглу (AZ)**

(56) MEYER Catherina et al. Radiation dosimetry and biodistribution of ⁶⁸Ga-FAPI-46 PET imaging in cancer patients, *Journal of Nuclear Medicine*, 13.12.2019, p. 1-17 doi:10.2967/jnumed.119.236786, с. 4-5, раздел "Radiopharmaceutical Synthesis", реферат

SPRECKELMEYER Sarah et al. Fully-automated production of [⁶⁸Ga]Ga-FAPI-46 for clinical application. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, 17.12.2020, v. 5, no. 31, p. 1-10, doi: 10.1186/s41181-020-00112-x, с. 8, второй абзац - с. 9, первый абзац, реферат

JUSSING Emma et al. Clinically Applicable Cyclotron-Produced Gallium-68 Gives High-Yield Radiolabeling of DOTA-Based Tracers. *Biomolecules*, 29.07.2021, v. 11, p. 1-12, doi:10.3390/biom11081118, с. 5-6, раздел "Synthesis of [⁶⁸Ga]Ga-FAPI-46 and [⁶⁸Ga]Ga-DOTATOC"

US-A1-20210038749

CHOUTHKANTHIWA Vrinda et al. Development of ready-to-use ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 formulation for treatment of inoperable metastatic prostate cancer. *Trends in Radiopharmaceuticals (ISTR-2019)*, Proceedings of an International Symposium, 2020, реферат

(57) Изобретение относится к способу получения комплекса, содержащего изотоп ⁶⁸Ga, используемого в качестве радиомаркера в позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), и касается буферных комплексообразующих растворов. Сущностью изобретения является синтез ⁶⁸Ga-FAPI-46 и разработка состава буферного раствора (агента) для осуществления синтеза. Технический эффект заявляемого изобретения состоит в решении поставленной задачи. Заявляемый способ синтеза радиоактивного препарата ⁶⁸Ga-FAPI-46 позволяет получить $\geq 70\%$ готового продукта и снизить стоимость производства и самого радиофармпрепарата.

B1**043801****043801****B1**

Изобретение относится к способу получения комплекса, содержащего изотоп ^{68}Ga , используемого в качестве радиомаркера в позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) и касается буферных комплексообразующих растворов.

Посредством позитронно-эмиссионной томографии ^{68}Ga -FAPi/компьютерной томографии (ПЭТ/КТ) исследователям удалось вывести на экран четкое изображение более 30 видов злокачественной опухоли. Однако, его широкое применение в повседневной ядерной медицине осложнялось из-за ограниченного времени между использованием РФП и процессом введения метки (синтезом) из-за короткого периода полураспада изотопа (68 мин). В то же время малый период полураспада ^{68}Ga ($T_{1/2}=68,1$ мин) позволяет использовать РФП необходимой активности, не создавая при этом значительной дозовой нагрузки на пациента. Кроме того, катион $^{68}\text{Ga}^{3+}$ может формировать устойчивые комплексные соединения со многими лигандами, содержащими кислород, азот и серу как атомы-доноры, что делает его пригодным для синтеза большого количества хелатных комплексов и макромолекул различного функционального назначения. Проблема короткого периода между активностью радионуклидного комплекса и его использования в медицинских целях, решилась для большинства медицинских учреждений возможностью получения изотопа ^{68}Ga непосредственно в клинике и использования модуля синтеза для процесса введения метки. В настоящее время в ядерной медицине одним из наиболее распространенных примеров новых радиоактивных препаратов, содержащих FAPi, является радиоактивный препарат ^{68}Ga -FAPi-46, синтезированный с использованием ингибитора FAPi-46. Однако еще одна проблема в синтезировании комплекса и использовании его, состоит в том, что в каждом модуле синтеза используется свой регламент комплексообразования с определенным набором атрибутов (kit) и составом буферного раствора, что представляет собой коммерческую тайну и не всегда доступна потребителю.

Для синтеза комплекса с ^{68}Ga - перспективным генераторным радионуклидом, обладающим оптимальными ядерно-физическими свойствами ($T_{1/2}=68$ мин, $b+=89\%$, $E+b\text{max}=1,9$ МэВ) и для создания широкого спектра РФЛП, величина pH - одна из ключевых параметров процесса, так как даже при незначительном смещении интервала значений pH падает выход целевого продукта, а самые незначительные примеси, содержащиеся в исходном элюате, образуют другие комплексы, которые на экране ПЭТ - не видны. При формировании комплекса радиоактивного металла необходим подходящий буфер для обеспечения оптимального для комплекса pH. Выбор подходящего буфера, способного обеспечить стандартный pH, является предметом непрерывных исследований специалистов в данной области введения метки ^{68}Ga и остается открытым.

Известны (1) двадцать буферных растворов (Буферы Гуда) для биохимических и биологических исследований, выбранных и описанных Норманом Гудом и его коллегами в 1966-1980 годах. Среди них наиболее эффективный и в основном используемый является буферный агент (раствор) - HEPES (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота), однако он позволяет работать только в строго определенном диапазоне pH и не может сохранять необходимую буферную емкость при незначительном изменении кислотности элюата, которая зависит от нескольких факторов, в том числе и от используемой генераторной установки.

Известен (2) способ получения комплексов, содержащих ^{68}Ga , в котором в реакцию комплексообразования проводят в буфере муравьиная кислота/водный раствор формиата, и возможно в присутствии соединений, способных поглощать катионы металлов.

Однако известно, что для получения известных комплексов, содержащих ^{68}Ga , в том числе и комплекса ^{68}Ga -FAPi-46 существует ряд различных моделей генераторов и модулей для синтеза комплекса, с различными техническими характеристиками и набором необходимых реагентов, но без соответствующего регламента для проведения процесса синтеза, в котором ключевое значение имеет буферный раствор.

Задачей настоящего изобретения является синтез ^{68}Ga -FAPi-46 и разработка состава буферного раствора (агента) для осуществления синтеза.

Сущность изобретения состоит в способе получения комплексов ^{68}Ga (^{68}Ga -FAPi-46), в котором реакцию комплексообразования радиоактивных ингибиторов на основе хинолина для идентификации активного белка фибробластов, проводят в растворе буфера, содержащем 1 мл 0,32 М тригидрат ацетата натрия и 100 мкл 0,2 аскорбата натрия, в диапазоне pH 3,5-4,5 и нагревании при 95°C в течение 10 мин, полученный комплекс фильтруют через HLB и элюируют 70% раствором этанола.

Автором изобретения был впервые синтезирован этот новый вид радиоактивного препарата на полностью автоматизированном устройстве TASIC miniAIO (Бельгия). Для этого были разработаны параметры синтеза и состав буферного раствора (агента), процесс прошел валидацию.

Новизной заявляемого изобретения является состав буферного раствора (агента), содержащим 1 мл 0,32 М тригидрат ацетата натрия и 100 мкл 0,2 М аскорбата натрия.

Радионуклид галлия 68 (^{68}Ga) (4 мл), использованный для синтеза, был получен из генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ (ITG - Германия) и прекурсор FAPi-46 (SOFIE Biosciences - США) (50 мкг). Для синтеза препарата использовалась одноразовая реакционная посуда - синтезная кассета. Для определения радиохимической чистоты синтезированных радиоактивных препаратов ^{68}Ga -FAPi-46 авторами была разработана изократическая подвижная фаза. Способ синтеза осуществляется следующим образом.

Из образцов, включенных в набор реагентов, используемых в синтезе, и прилагаемых к используемой модели синтеза был разработан качественный и количественный состав буферного раствора для поддержания pH реакции в пределах 3,5-4,5, который содержит 1 мл 0,32 М тригидрат ацетата натрия ($\geq 99\%$ 136.08 г/мол) и 100 мкл 0,2 М раствора аскорбата натрия (+ Sodium L ascorbate $\geq 99\%$, 198.11 г/мол). Для подготовки 0,32 М тригидрата ацетата натрия 435 мг вещества растворяют в 10 мл воды. Для реакции синтеза используют 1 мл приготовленного раствора. Второе вещество в буферном растворе - 0,2 М 100 мкл аскорбат натрия. Для его приготовления 198 мг аскорбата натрия смешивают с 5 мл воды. Для реакции используют 100 мкл этого раствора. Прекурсор FAPI-46. Упаковка прекурсора - флакон содержит 1,2 мг. Вещество растворяют в 1,2 мл воды и по 50 мкг, распределяют по другим стерильным флаконам.

Перед началом процесса синтеза готовят смесь прекурсор + буферный раствор. Для этого в стерильный флакон добавляют 50 мкг предшественника (раствор прекурсора) FAPI-46 и 1,1 мл буферного раствора. Смесь раствора помещается в соответствующее место кассеты для синтеза. 4 мл HCl (0.05 М) и 5 мл раствора этанола также помещают в соответствующие места в кассете для синтеза. Этапы процесса синтеза происходят в следующей последовательности:

- 1) смесь предшественник FAPI-46 + буферный раствор переносят в реакционный сосуд кассеты для синтеза;
- 2) радионуклид $^{68}\text{Ga}^{3+}$ из генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ элюируют 4 мл раствора HCl и добавляют в реакционный сосуд;
- 3) раствор нагревают при 95°C в течение 10 мин;
- 4) для очистки синтезированного радиофармпрепарата ^{68}Ga -FAPI-46 от свободных ^{68}Ga радионуклидов не участвующих в реакции, раствор пропускают через фильтр HLB, в результате которого готовый продукт остается на фильтре, а свободные радионуклиды ^{68}Ga попадают в емкость для отходов;
- 5) на следующем этапе ^{68}Ga -FAPI-46, осажденный на фильтр HLB, элюируют 70%-м раствором этанола и пропускают через стерильный фильтр в стерильный флакон;
- 6) конечный объем готового продукта составляет 10 мл с 0,9% раствором NaCl.

Определение радиохимической чистоты синтезированных радиоактивных препаратов ^{68}Ga -FAPI-46 были выполнены высокоэффективной жидкостной хроматографией с использованием изократической подвижной фазы, состав которой был разработан авторами изобретения и который, по сравнению с существующими методами, отличается высокой точностью и чувствительностью и является более рентабельным. Метод может быть успешно использован для определения радиохимической чистоты радиоактивного препарата ^{68}Ga -FAPI-46.

Анализ ВЭЖХ был выполнен на приборе типа Agilent 1260 (США) с детекторами УФ (ультрафиолетовый) и RAD (радиационный детектор). Хроматографическая трубка типа Eclipse XDB-C18 (Agilent) (диаметр 4,6 мм, длина 150 мм) использована в качестве стационарной фазы в аналитическом методе, а в качестве подвижной фазы - смесь раствора из ацетонитрила (13%), воды (87%) и TFA (0,1%). Температура колонки 25°C , скорость потока мобильной фазы 1 мл/мин, объем пробы 20 мкл, время анализа 20 мин. Для анализа радиохимической чистоты полученного радиоактивного лекарственного средства сначала были сняты хроматограммы стандартного (эталонного) раствора FAPI-46 в высокоэффективном жидкостном хроматографе. Хроматограммы, полученные с помощью УФ-детектора (254 нм), установленного на хроматографическом устройстве, которые определяют время появления площадей пиков эталонного раствора (FAPI-46 (S)-2,2',2''-(10-(2-(4-(3-(((4-((2-(2-cyano-4,4-difluoropyrrolidin-1-yl)-2-oxoethyl)carbamoyl)quinolin-6-yl)oxy)propyl)piperazin-1-yl)-2-azaethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetic acid)). Затем на основе результатов, полученных с радиоактивного детектора, установленного на приборе высокоэффективной жидкостной хроматографии (CPS-Count Per Secunt), было определено время появления площадей пиков на хроматограммах радиоактивного препарата ^{68}Ga -FAPI-46. Проведенный сравнительный анализ результатов, полученных как в УФ, так и в радиоактивных детекторах показал, что время удерживания площади пиков исследованных по стандарту FAPI-46, совпадают с пиками на хроматограмме полученного радиоактивного препарата. Результаты, полученных как в УФ, так и в радиоактивных детекторах представлены на фиг. 1 - хроматограмма стандартного раствора FAPI-46, полученного на УФ-детекторе в ВЭЖХ; фиг. 2 - хроматограмма образца радиофармацевтического препарата ^{68}Ga -FAPI-46, полученного на радиоактивном детекторе ВЭЖХ.

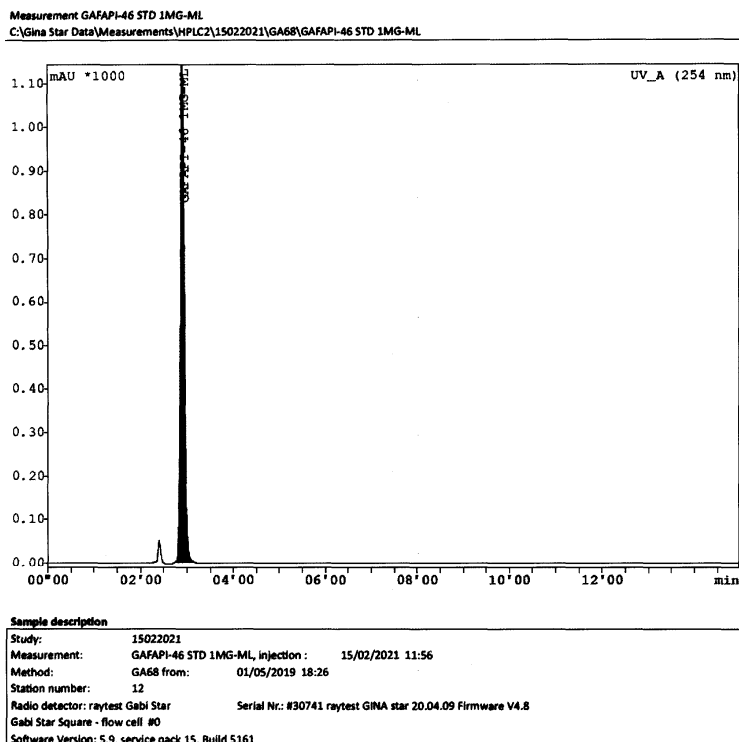
Технический эффект заявляемого изобретения состоит в решении поставленной задачи. Заявляемый способ синтеза радиоактивного препарата ^{68}Ga -FAPI-46 позволяет получить $\geq 70\%$ выход готового продукта и снизить стоимость производства и самого радиофармпрепарата.

Литература

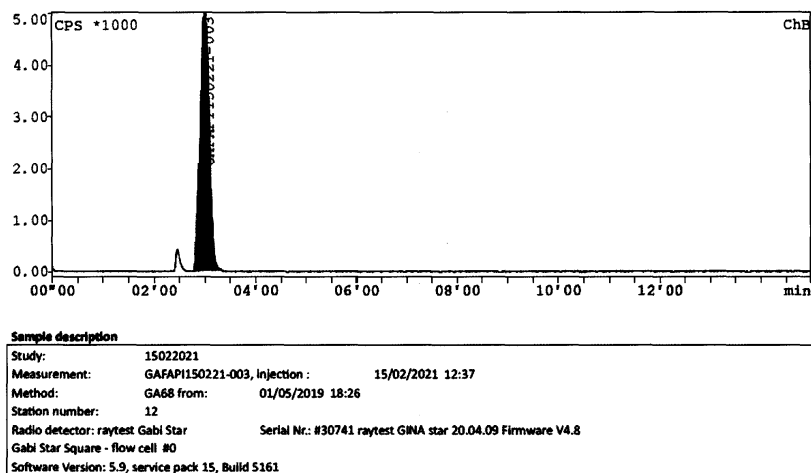
1. <https://www.dia-m.ru/news/hepes-khepes-dlya-kulturalnykh-rabot/>
2. Патент RU № 2605090 "СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСОВ ^{68}Ga ", 20.09.2015.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ получения комплексов ^{68}Ga , в котором реакцию комплексообразования радиоактивных ингибиторов на основе хинолина для идентификации активного белка фибробластов проводят в буфере, содержащем 1 мл 0,32 М тригидрат ацетата натрия и 100 мкл 0,2 М аскорбата натрия, в диапазоне pH 3,5-4,5 и нагревании при 95°C в течение 10 мин, полученный комплекс фильтруют через HLB и элюируют 70% раствором этанола.



Фиг. 1



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2