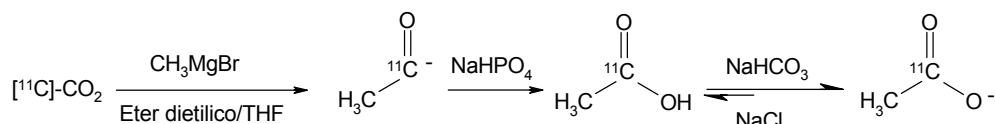


SÍNTESIS DEL [¹¹C]-ACETATO: APLICACIONES EN EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL CÁNCER DE PROSTATA MEDIANTE PET-CT

Fred Alonso López Durán, *¹ Efraín Zamora Romo, ¹ José Luis Alonso Morales ¹
¹ Unidad PET-CICLOTRÓN, Área de Radiofarmacia, Facultad de Medicina,
 Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad No. 3000, México, D. F.,
 04510. México.
 fred@correo.unam.mx

Resumen

La síntesis del [¹¹C]-Acetato está basada en la carboxilación del [¹¹C]-dióxido de carbono con una pequeña cantidad de bromuro de metilmagnesio. El uso del ácido fosforico diluido reacciona en una etapa posterior con el anion [¹¹C]-acetato generado previamente para producir al ácido acético, [¹¹C]CH₃CO₂H, el cual en una etapa siguiente es destilado a un vial intermediario que contiene una mezcla isotónica, finalmente el producto final es esterilizado por filtración membrana.



1. INTRODUCTION

El [¹¹C]-acetato es el trazador metabólico que debido a su gran poder diagnóstico ha ganado un gran interés en la medicina nuclear debido a su naturaleza complementaria con el radiofarmaco [¹⁸F]-FDG el cual se emplea como trazador del metabolismo de la glucosa por los tumores con la ayuda de la técnica PET.

El estudio PET (por sus siglas en inglés: *Positron Emission Tomography*) o Tomografía por Emisión de Positrones es la técnica más avanzada de imagenología que emplea las propiedades especiales de la aniquilación de los positrones y de esta forma crea, con la ayuda de un software (ECAT, Siemens), las imágenes tridimensionales de la biodistribución de un radiofármaco en el organismo. En la **Figura 1a** y **1b** se observan dos tomografías por emisión de positrones de cuerpo completo en seres humanos. En el primer estudio (**Figura 1a**) se observa una biodistribución normal del radiofármaco con diagnóstico negativo en la proliferación celular de cáncer y en el segundo estudio (**Figura 1b**) se observa un estudio positivo en la proliferación celular de cáncer con múltiples metástasis. Los dos estudios fueron adquiridos y procesados con la ayuda de un tomógrafo **ECAT EXACT HR⁺** (Siemens), empleando al [¹⁸F]-FDG como radiotrazador. [1]

La ruta catabólica del [¹¹C]-acetato es acoplada al ciclo del ácido tricarboxílico y es una alternativa a la ruta glicolítica del [¹⁸F]-FDG. Resultados muy alentadores han sido descritos en la detección del cancer de próstata recurrente con este radiofarmaco PET. El [¹¹C]-acetato es parcialmente integrado como fosfatidilcolina en el interior de



las membranas celulares en las células proliferantes, otra parte es catabolizada. El [^{11}C]-acetato ha demostrado una gran utilidad en la evaluación del metabolismo del miocardio con la ayuda de la técnica PET. [2-7]

Varios procedimientos se han descrito para la síntesis del [^{11}C]-acetato, la mayoría de ellos basados en la [^{11}C]-carboxilación de un haluro de metilmagnesio. Dichos procedimientos difieren principalmente en la metodología del separación del producto final, [^{11}C]-acetato, de la fase orgánica en una forma radioquímica y químicamente pura. La separación se basa principalmente en la extracción de la fase líquida-líquida, en la extracción de la fase sólida, en la destilación del ácido empleado en la reacción o en la destilación del ácido clorhídrico. [8-18]

Por tal motivo la preparación de forma rutinaria del [^{11}C]-acetato requiere una metodología simple y reproducible. Las distintas metodologías para la producción de este trazador han demostrado ser reproducibles, rápidas con sus desventajas y ventajas. El objetivo de este trabajo es compartir de manera muy breve nuestras primeras experiencias en Latinoamérica en la producción de este trazador.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Experimental

2.1. Materiales and métodos

Reactivos: El bromuro de metilmagnesio (3.0 M en éter dietílico), Tetrahidrofurano, anhidro (>99.9%, ACS), ácido fosfórico (99+%, 85 peso, % solución en agua), fueron adquiridos de la compañía Sigma-Aldrich (Toluca, México). Todos lo reactivos fueron empleados sin purificación posterior.

Soluciones: Aproximadamente 6 mL de una solución salina isotónica (0.9% solución of NaCl en agua, BAXTER) más 50 μL de una solución de bicarbonato de sodio (8.4%, ABBOTT LABORATORIES) fueron preparadas y esterilizadas previo uso por filtración de membrana. Una solución de ácido fosfórico al 10% fue preparada de una solución estándar (1 mL de la solución original del ácido, 85%) y 7.5 mL de agua estéril para inyección (USP) y posteriormente fue esterilizada por filtración de membrana.

Material para la captura del [^{11}C]-CO₂ sin reaccionar. Una trampa de carbón activado se colocó en la salida del módulo con la finalidad de capturar el [^{11}C]-CO₂ sin reaccionar.

Carbono-11: El [^{11}C]-CO₂ libre de acarreador se produjo empleando la reacción nuclear $^{14}\text{N}(p,\alpha)^{11}\text{C}$ en el target de aluminio de un acelerador de partículas tipo ciclotrón RDS 111 de 11 MeV (CTI). En la **Figura 2** se muestra el acelerador RDS 111 de 11 MeV (por sus siglas en inglés: *Radioisotope Delivery System*), el cual está diseñado para la producción de radionúclidos emisores de positrones (^{11}C , ^{18}F , ^{13}N y ^{15}O). El gas blanco se cargo en el target entre 270-280 psi con una mezcla de gases altamente puros consistiendo de nitrógeno natural (N₂) con 1 a 2.5% de oxígeno (O₂) previo producción del radionúclido emisor de positrones. Con una corriente de 20 μA

durante 10 min se producen más de 150 mCi of del $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$. Posterior a la etapa de irradiación el gas es liberado del blanco hacia una unidad de soporte del blanco (TSU, target support unit). Posteriormente el $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ es descargado directamente hacia el tubo de reacción del módulo, en donde para mejorar la captura dicho tubo se enfría (-14°C). Para liberar el $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ hacia el modulo es transferido con la ayuda de nitrógeno (8-10 mL/min). Tan pronto el $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ es liberado hacia el modulo el detector de radiación personal comienza a registrar la actividad asociada al radionúclido y toda vez que se ha concluido con la descarga se da inicio a la síntesis.

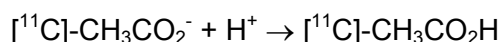
2.2. Síntesis del $[^{11}\text{C}]\text{-acetato}$

El modulo de síntesis se muestra en la **Figura 3**, con algunas modificaciones. En la **Figura 4**, se muestra la reacción para la producción del $[^{11}\text{C}]\text{-acetato}$. En el primero paso de la reacción el $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ es liberado hacia el tubo de reacción el cual contiene la mezcla del bromuro de metilmagnesio 0.3 M en éter dietílico/THF. La solución es enfriada durante este proceso para prevenir la evaporación del disolvente durante la etapa de la descarga. Tan pronto el detector de radiación comienza a sonar es fácil asumir que la actividad es colectada de manera adecuada. El $[^{11}\text{C}]\text{-CO}_2$ reacciona con el CH_3MgBr para producir al anion del $[^{11}\text{C}]\text{-acetato}$ ($[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{CO}_2^-$) de acuerdo a la siguiente reacción:



Una vez concluida la descarga del blanco, una pequeña alícuota de agua estéril para inyección (USP) es adicionada para quench al CH_3MgBr sin reaccionar. El tubo de reacción es calentado a 135°C y los disolventes (éter dietílico/THF) son evaporados bajo un flujo de helio. Los disolventes son colectados en una trampa aunque debido a su baja eficacia de captura se colocó una trampa de carbón activado en la salida de la trampa de disolventes, mientras que el anion del $[^{11}\text{C}]\text{-acetato}$ permanece en el tubo de reacción.

Después de concluida la etapa de evaporación, el contenido del tubo de reacción es enfriado nuevamente previa adición del ácido fosfórico (H_3PO_4). El ácido reacción con el anion del $[^{11}\text{C}]\text{-acetato}$ para producir al ácido acético, $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, de acuerdo a la siguiente reacción:



El $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ es destilado del tubo de reacción hacia el vial intermediario que contiene la mezcla de la solución salina y del bicarbonato de sodio. En esta etapa el detector de radiación la intensidad del sonido comienza a disminuir conforme el producto es destilado completamente. El $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ reacciona con el bicarbonato para producir el $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{CO}_2^-$ de acuerdo a la siguiente reacción:



Como etapa final del proceso, el vial intermediario con el producto final es presurizado con nitrógeno para liberar la solución del $[^{11}\text{C}]\text{-CH}_3\text{CO}_2^-$ del modulo hasta el vial para el producto estéril para el producto final, y finalmente ser esterilizado por filtración de membrana y así estar listo para su administración (I.V.).



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la producción del [^{11}C]-acetato, la irradiación de la mezcla de gases de nitrógeno natural (N_2) con 1 a 2.5% de oxígeno (O_2) durante un periodo de tiempo igual a 10-20 minutos a una corriente de 20 μA dirigido con protones de 11 MeV es suficiente para producir al trazador con un alta actividad 45 mCi (30-40 mCi $\pm 5\%$, $n = 10$). Adicionalmente, se demuestra que con cambios simples en las producciones automatizadas, *i.e.*, el cambio de parámetros de los tiempos de reacción, el uso de detectores de radiación, trampas de disolventes es posible mejorar la técnica de producción del [^{11}C]-acetato, en periodos de tiempo razonables (10-15 min), la aplicación inmediata a pacientes requiriendo únicamente la administración de 20-30 mCi por dosis para el correspondiente estudio PET.

El análisis del HPLC demostró que la pureza radioquímica del [^{11}C]-acetato fue >95.0 y el producto final presento cantidades menores de 2 μgr de acetato no radiactivo.

Por otra parte la cantidad del reactivo de "Grignard" usado en cada síntesis es alrededor de 0.3 M por lo que no presenta riesgo de una contaminación no aceptable por impurezas inorgánicas y las impurezas orgánicas son muy bajas.

CONCLUSIÓN

El [^{11}C]-acetato se sintetizó con una alta actividad (>10 mCi/mL) y una aceptable pureza radioquímica ($>95\%$), además con una rápida y simple técnica automatizada con la ventaja del monitoreo del transcurso en tiempo real de la síntesis radioquímica de novedoso trazador.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Coordinación de la Investigación Científica de la UNAM por las facilidades y recursos otorgados para la ejecución de las actividades de diagnóstico, investigación y desarrollo realizadas en la Unidad PET-Ciclotrón, al personal de la Unidad PET-Ciclotrón (Dr. Erick Alexanderson Rosas, Fis. Armando Flores Moreno, M. en C. Adolfo Zárate Morales, TMN Antonio Manzo Sánchez, TMN Isabel Porrás Orta, TMN Luis Osorio Cardiel, LAE. Alejandro Martínez, Sra. Patricia Miranda Torres).

REFERENCIAS

1. Fred Alonso López Durán, Rene Drucker Colín, Revista TIP,
2. Kato T, Tsukamoto E, Kuge Y, Takei T, Shiga T, Shinohara N, et al. Accumulation of [^{11}C] acetate in normal prostate and benign prostatic hyperplasia: comparison with prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002;29:1492–5.
3. Oyama N, Miller TR, Dehdashti F, Siegel BA, Fischer KC, Michalski JM, et al. ^{11}C -acetate PET imaging of prostate cancer: detection of recurrent disease at PSA relapse. *J Nucl Med* 2003;44:549–5
4. Kotzerke J, Volkmer BG, Glatting G, van den Hoff J, Gschwend JE, Messer P, et al. Intraindividual comparison of [^{11}C]acetate and [^{11}C]choline PET for detection of metastases of prostate cancer. *Nuklearmedizin* 2003;42:25–30.
5. Seltzer MA, Jahan SA, Dahlbom M, Sathyamurthy N, Barrio JR, Phelps ME, et al. Combined metabolic imaging using C-11 acetate and FDG PET for the evaluation of patients with suspected recurrent prostate cancer. *J Nucl Med* 2003;44:132P.
6. Fricke E, Machtens S, Hofmann M, van den Hoff J, Bergh S, Brunkhorst T, et al. Positron emission tomography with ^{11}C -acetate and ^{18}F -FDG in prostate cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:607–11.
7. Berridge et al., 1995 M.S. Berridge, E.H. Cassidy and F. Miraldi, [^{11}C]Acetate and [^{11}C]methionine: improved syntheses and quality control, *Appl. Radiat. Isotopes* **46** (1995), pp. 173–175.
8. Ishiwata et al., 1995 K. Ishiwata, S.-I. Ishii and M. Senda, Successive Preparation of ^{11}C labeled sodium acetate and/or sodium hexanoate, *Appl. Radiat. Isotopes* **46** (1995), pp. 1035–1037.
9. Kihlberg et al., 1994 T. Kihlberg, S. Valind and B. Langstrom, Synthesis of [$1\text{-}^{11}\text{C}$], [$2\text{-}^{11}\text{C}$], [$1\text{-}^{11}\text{C}$]($^2\text{H}_3$) and [$2\text{-}^{11}\text{C}$]($^2\text{H}_3$)acetate for in vivo studies of myocardium using PET, *Nucl. Med. Biol.* **21** (1994), pp. 1067–1072.
10. Korsakov et al., 1991 Korsakov, M.V., Soloviev, D.V., Horti, A.G., Kuznetsova, O.F., Nilsson, L.-E., Ulin, J., 1991. Robotic synthesis of [1-carbon-11]acetic acid. In: *Proceedings of the fourth International Workshop on Targetry and Target Chemistry*. PSI Villigen, Switzerland, 9–12 September, pp. 218–219.
11. Korsakov et al., 1996 M.V. Korsakov, R.N. Krasikova, D.V. Soloviev, C.W. Chang, L.H. Min, R.S. Liu and S.H. Yeh, Optimisation of robotic preparation of 1-[C-11]acetate, *Ann. Nucl. Med. Sci. (Taiwan)* **9** (1996), pp. 127–132.
12. Kruijer et al., 1995 P.S. Kruijer, T.T. Linden, R. Mooij, F.C. Visser and J.D.M. Herscheid, A practical method for the preparation of [^{11}C]acetate, *Appl. Radiat. Isotopes* **46** (1995), pp. 317–321.
13. Le Bars, 2003 D. Le Bars, Towards the simplest [^{11}C]acetate synthesis, *J. Labelled Compd. Radiopharm.* **46** (2003) (S1), p. S224.
14. Mitterhauser et al., 2004 M. Mitterhauser, W. Wadsak, A. Krcal, J. Schmaljohann, E. Bartosch, H. Eidherr, H. Viernstein and K. Kletter, New aspects on the preparation of [^{11}C]acetate—a simple and fast approach via distillation, *Appl. Radiat. Isotopes* **61** (2004), pp. 1147–1150.
15. Moerlein et al., 2002 S.M. Moerlein, G.G. Gaehele and M. Welch, Robotic preparation of sodium acetate C 11 injection for use in clinical PET, *J. Nucl. Med. Biol.* **29** (2002), pp. 613–621.
16. Oberdorfer et al., 1996 F. Oberdorfer, A. Theobald and C. Prenant, Simple production of [1-carbon-11]acetate, *J. Nucl. Med.* **37** (1996), pp. 341–342.

17. Pike et al., 1984 V.W. Pike, P.L. Horlock, C. Brown and J.C. Clark, The remotely controlled preparation of a ^{11}C -labelled radiopharmaceutical— $[1-^{11}\text{C}]$ acetate, *Int. J. Appl. Radiat. Isotopes* **35** (1984), pp. 623–627.
18. Roeda et al., 2002 D. Roeda, F. Dollé and C. Crouzel, An improvement of $[^{11}\text{C}]$ acetate synthesis -non-radioactive contaminants by irradiation-induced species emanating from the $[^{11}\text{C}]$ carbon dioxide production target, *Appl. Radiat. Isotopes* **57** (2002), pp. 857–860.

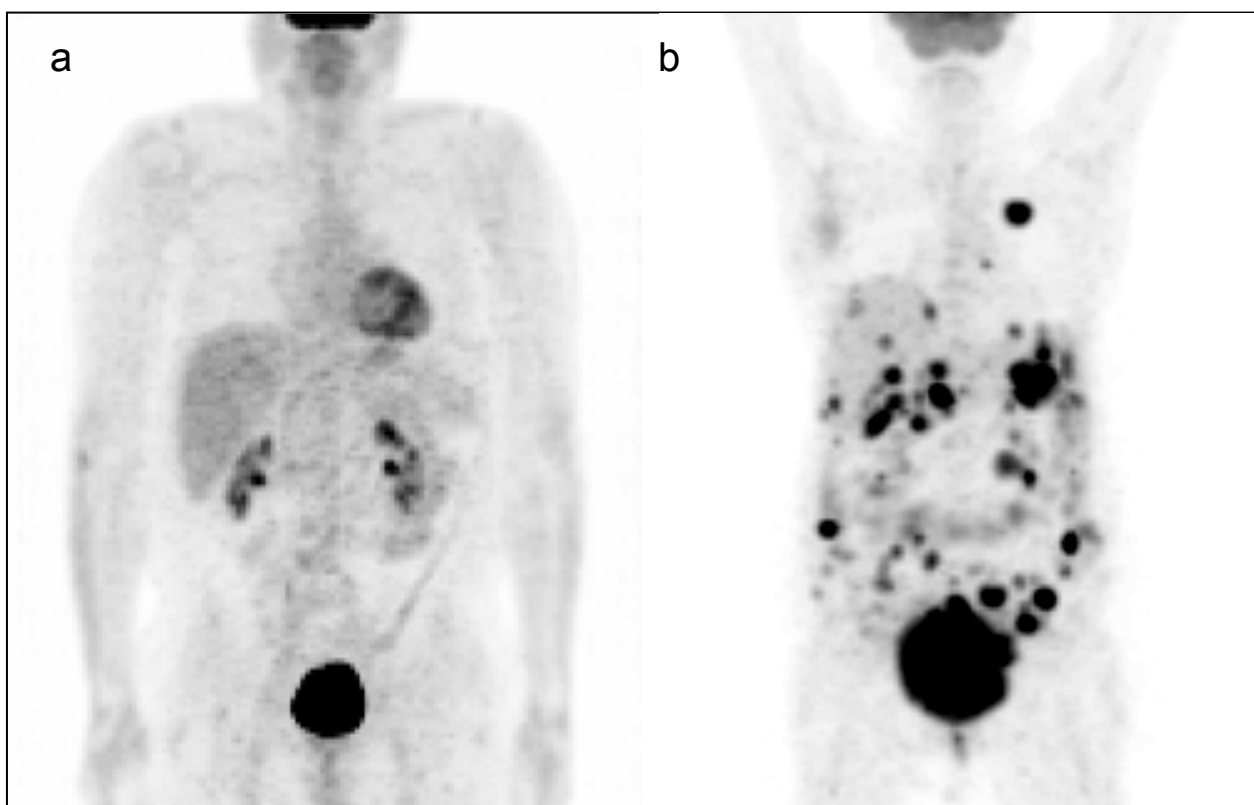


Figura 1a y 2a. Estudios PET de cuerpo completo con el radiofármaco $[^{18}\text{F}]$ -FDG.
a) Estudio normal y diagnóstico negativo en la proliferación celular de cáncer y
b) estudio con diagnóstico positivo en la proliferación celular de cáncer con múltiples metástasis.

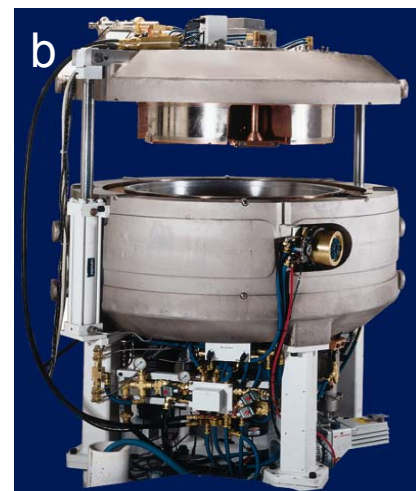


Figura 2. a) Vista panorámica y b) vista interna del Acelerador de partículas tipo ciclotrón (RDS 111 de 11 MeV).



Figura 3. Modulo de síntesis del [^{11}C]-acetato.

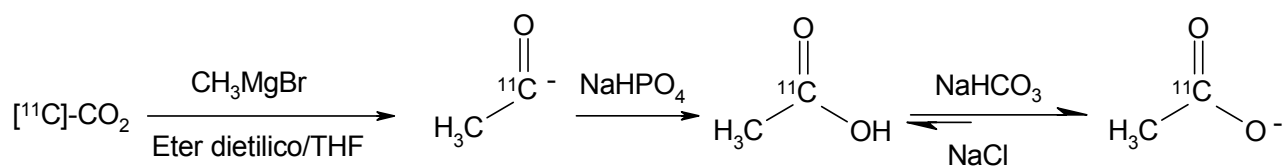


Figura 4. Esquema general de la reacción para la producción del [^{11}C]-acetato.