



ESPECIALIZACIÓN EN RADIOQUÍMICA Y APLICACIONES NUCLEARES

Síntesis de ^{18}F -PSMA-1007

TRABAJO FINAL

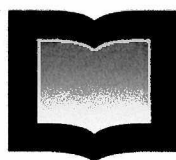
Tesista: Lic. Gabriela Elizabeth Peña

Director: Lic Adrián Pablo Durán.

Lugar de trabajo: Fundación Centro Diagnóstico Nuclear.



Comisión Nacional
de Energía Atómica



UNSAM

UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
SAN MARTÍN

-2022/2023-

"No hay que temer a nada en la vida, solo tratar de comprender"

Maria Salomea Skłodowska-Curie

Este Trabajo Final fue llevado a cabo en las instalaciones de la Fundación Centro Diagnóstico Nuclear (FCDN) bajo la dirección del Lic Adrian Durán cuyo cargo es Jefe de Instalación contando con la ayuda del Operador de Celda Jonathan Santiñan, la Directora Técnica Farm. Alicia Coronel y todo el personal de Control de Calidad de la FCDN.

La FCDN está ubicada en Av. Nazca 3449 en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Fue inaugurada en Mayo del 2007, brindando servicios de PET-CT, RMN, Tomografía Computada Multicorte (CT), Ecografía, Densitometría, Medicina Nuclear SPECT-CT, Laboratorio de Análisis Clínicos, Centro del Corazón y Centro de la Mujer. Es un centro de capacitación con actividades de Docencia, Investigación y Desarrollo.

Cuenta con un Ciclotrón Siemens Eclipse RDS 111, Laboratorio de Radiofarmacia y Laboratorio de Control de Calidad.

EXPRESIONES DE GRATITUD

Mi agradecimiento a todas las personas que me alentaron a realizar esta Especialización, a Sandra Siri por alentarme a inscribirme, a mi marido por apoyarme durante todo este periodo.

A Adrián, excelente profesional, docente, director de tesis y compañero que me propuso este tema de tesis que me cautivó desde el primer minuto.

A Alicia, Jonathan, Cecilia, Fabiana y todo el personal de la Fundación Centro Diagnóstico Nuclear (FCDN) que me brindaron su predisposición y conocimiento.

A mis padres, fuente de inspiración, mi ejemplo a seguir, me apoyaron siempre para que logre cumplir mis metas.

A Juan Pablo y Ernesto por ser el sostén en mi vida

ÍNDICE

EXPRESIONES DE GRATITUD	4
ÍNDICE.....	5
RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
CAPÍTULO 1.....	10
MARCO TEÓRICO.....	10
1.1 Introducción.....	11
1.2 Diagnóstico.....	15
1.3 Radiofármacos.....	16
1.3.1 Características de un Radiofármaco.....	17
1.3.2 Radionucleídos Emisores de Positrones.....	18
1.3.3 ¹⁸ Fluor Obtención y Química.....	19
1.3.4 Radiofármacos PET para Diagnóstico de Cáncer de Próstata.....	21
1.4 Indicaciones de Estudios con PSMA.....	23
1.5 PSMA.....	23
1.6 Inhibidores de PSMA.....	28

1.7 Necesidad de ^{18}F -PSMA.....	33
1.8 [^{18}F]-FDG versus [^{18}F]-F-PSMA-1007.....	37
CAPÍTULO 2.....	39
OBJETIVOS	39
2.1 Objetivo General.....	40
2.2 Objetivos específicos:.....	40
CAPÍTULO 3.....	41
SINTESIS	41
3.1 Introducción	42
3.2 Materiales y métodos	42
3.2.1 Materiales	42
3.2.2. Métodos.....	43
3.2.2.2 Obtención del ^{18}F Flúor.....	46
3.2.2.3 Medición de la actividad con activímetro.....	47
3.2.2.3 Descripción del Proceso.....	47
3.2.2.4 Síntesis de [^{18}F]F-PSMA-1007.....	48
3.3 Resultados y Discusiones Parciales.....	52
CAPÍTULO 4.....	54
CONTROL DE CALIDAD.....	54

4.1	Introducción	55
4.2	Materiales y métodos	57
4.2.1	Materiales	57
4.2.1.1	Apariencia	57
4.2.1.2	Pureza Radioquímica	58
4.2.2	Métodos.....	59
4.2.2.1	Descripción Ensayo de Apariencia	59
4.2.2.2	Descripción Ensayo de Pureza Radioquímica	59
4.3	Resultados y Discusiones Parciales	59
4.3.1	Apariencia.....	59
4.3.2	Pureza Radioquímica.....	60
CAPÍTULO 5.....		65
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVA A FUTURO		65
5.1	Conclusiones.....	66
5.2	Perspectiva a Futuro	66
BIBLIOGRAFÍA		68

RESUMEN

El cáncer de próstata es el más común de los cánceres urológicos, el cual tiene una incidencia de aproximadamente un 18%, aumentando la probabilidad en hombres mayores de 50 años. La detección temprana de la enfermedad reduce considerablemente la mortalidad.

El antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) es una proteína de membrana integral que se sobre expresa en los tumores de próstata, proporciona un paso a la detección temprana de la enfermedad.

En la actualidad, como método de diagnóstico se utiliza ^{68}Ga -PSMA (^{68}Ga -PSMA), pero dado que el periodo de semidesintegración ($T_{1/2}$) del ^{68}Ga es de 68 minutos, se han buscado estrategias para la marcación de la molécula de PSMA con otro radionucleido emisor de positrones con $T_{1/2}$ mayor al ^{68}Ga , surgiendo de este estudio el radiofármaco de ^{18}F ($T_{1/2}$ 109,74min)

Este trabajo consistió en realizar irradiaciones para obtener ^{18}F a partir del ciclotrón de la Fundación Centro Diagnóstico Nuclear de manera de poder marcar en un módulo de síntesis automatizado la molécula de PSMA-1007, evaluar los rendimientos de síntesis y la calidad del producto final.

ABSTRACT

In Argentina, Prostate Cancer (PC) is the most common cancer with the highest incidence in men and represents the most frequent cause of death. Due to this, early diagnosis of prostate cancer is important.

Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) is a transmembrane glycoprotein overexpressed in prostate cancer cells, making it an excellent candidate as a marker for diagnostic imaging.

^{68}Ga -PSMA-11 is the most used radiopharmaceutical and recently ^{68}Ga -PSMA-617, but $t_{1/2}$ ^{68}Ga is 68 min, this condition does not allow be distributed to distant places.

^{18}F is commonly produced via a cyclotron in routine daily, its $t_{1/2}$: 109,74 min is favorable to distribute to more remote centers.

During the last few years, there have been many investigations to obtain a simple and successful way to label a PSMA molecule with ^{18}F .

^{18}F -PSMA-1007 has an edge over the rest, it can be produced in a one-step radiosynthesis procedure and is excreted through the hepatobiliary system, leading to better PET imaging.

^{18}F Fluorine was obtained using the Siemens Eclipse RDS111 cyclotron. Radiochemical labeling with ^{18}F Fluorine was carried out in a Synthera V2 Module (IBA) with good radiochemical yields (>60%) as it is a versatile and easy-to-use module.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1 Introducción

La próstata es una glándula que produce el líquido del semen que solo poseen los hombres. El cáncer de próstata (PCa) es el más común de los cánceres urológicos, el cual se origina cuando las células de la próstata comienzan a crecer sin control afectando principalmente a varones mayores de 65 años.

Es un tumor que usualmente se manifiesta lentamente sin presentar síntomas en sus estadios tempranos. La sintomatología más frecuente es: flujo urinario débil, aumento de la frecuencia para orinar, sangrado, dolor pélvico o lumbar entre otros. La edad es uno de los factores de riesgo, la probabilidad aumenta considerablemente en mayores de 50 años y también los antecedentes familiares. (Instituto Nacional del Cáncer, 2020)

Según el Instituto Nacional de Cáncer, en Argentina, en el año 2020 hubo 130.878 casos nuevos de cáncer en ambos sexos, 62327 corresponde a varones, dentro de los cuales 11686 fueron cáncer de próstata, dando una incidencia del 18.7%, la mayor incidencia en varones.

SITIO TUMORAL	AMBOS SEXOS		VARONES		MUJERES	
	Casos	%	Casos	%	Casos	%
Mama	22.024	16,8	-	-	22.024	32,1
Colon-recto	15.895	12,1	8.493	13,6	7.402	10,8
Pulmón	12.110	9,3	7.738	12,4	4.372	6,4
Próstata	11.686	8,9	11.686	18,7	-	-
Riñón	5.093	3,9	3.370	5,4	1.723	2,5
Páncreas	5.026	3,8	2.357	3,8	2.669	3,9
Cervicouterino	4.583	3,5	-	-	4.583	6,7
Tiroides	4.106	3,1	669	1,1	3.437	5,0
Estomago	4.003	3,1	2.549	4,1	1.454	2,1
Vejiga	3.785	2,9	2.955	4,7	830	1,2
Linfoma No-Hodgkin	3.557	2,7	1.988	3,2	1.569	2,3
Leucemia	3.234	2,5	1.797	2,9	1.437	2,1
Cuerpo de útero	2.455	1,9	-	-	2.455	3,6
Hígado	2.437	1,9	1.467	2,4	970	1,4
Ovario	2.199	1,7	-	-	2.199	3,2
Testículo	2.047	1,6	2.047	3,3	-	-
Esófago	1.993	1,5	1.388	2,2	605	0,9
Encéfalo y otros SNC	1.831	1,4	935	1,5	896	1,3
Otros	9.688	7,4	6.001	15,5	3.687	5,4
Total	130.878	100	62.327	100	68.551	100

TABLA 1

Distribución de Casos de Cáncer

Distribución absoluta y relativa de casos incidentes de cáncer estimados por la IARC para Argentina en 2020, según localizaciones tumorales más frecuentes y sexo. (N=130.878) Fuente: Elaborado por SIVER/INC en base a los datos de Globocan2020. Argentina, 2021. (Instituto Nacional del Cáncer, 2020).

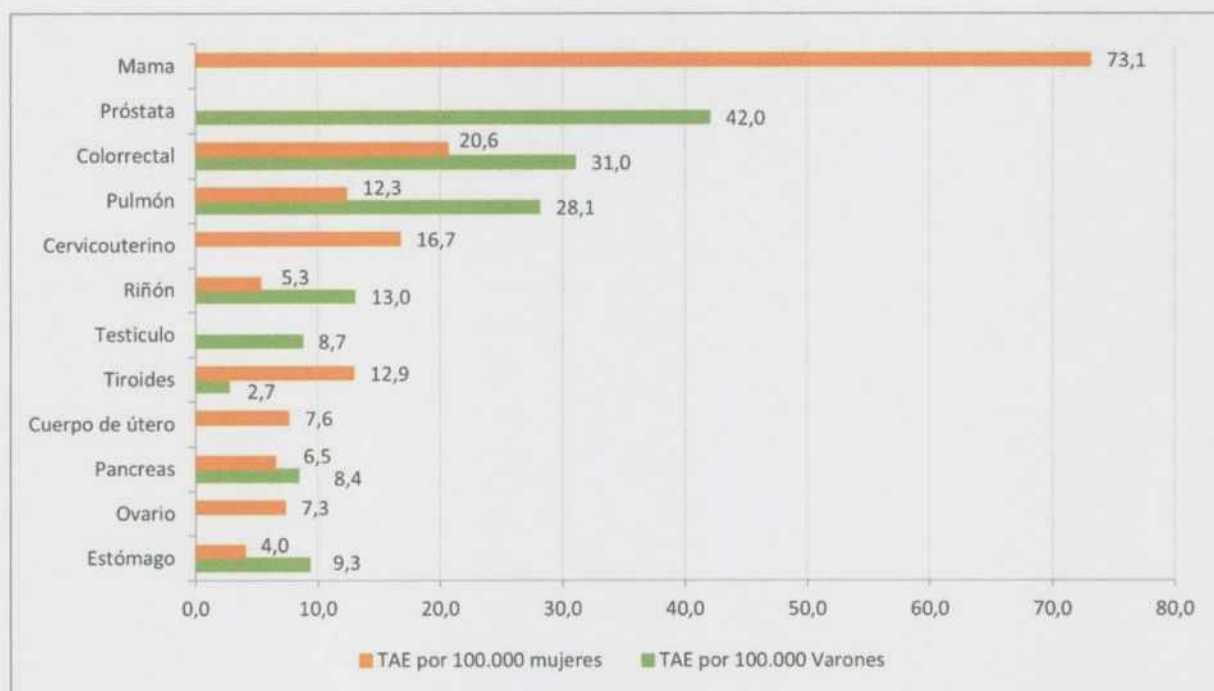


FIGURA 1

Gráfico de Incidencia de cáncer para las principales localizaciones topográficas en varones y mujeres estimadas por la IARC para Argentina en 2020. Tasas ajustadas por edad según población mundial por 100.000 varones y mujeres. (Instituto Nacional del Cáncer, 2020).

En Argentina la mortalidad por cáncer de próstata mostró dos segmentos temporales durante el período analizado 2002-2020. Hasta el año 2006 se observó un descenso a ritmo de -0,5% por año y, a partir de ese año, se registró una tendencia descendente a razón de -2,7% anual, valor que resultó estadísticamente significativo (Instituto Nacional del Cáncer, 2020)

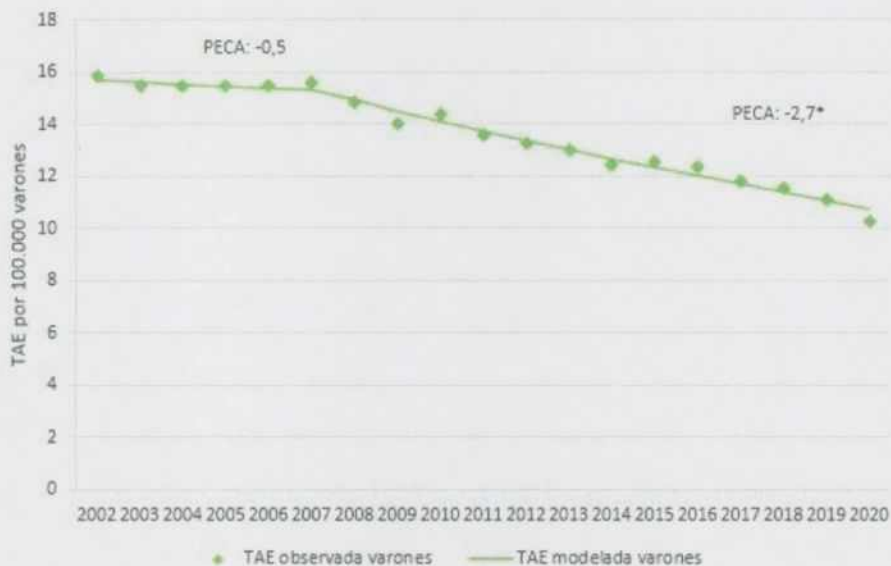


FIGURA 2

Gráfico de Tendencia de Mortalidad por Cáncer de Próstata. Tendencia de mortalidad por cáncer de próstata. Tasas ajustadas por edad según población mundial por 100.000 varones. Argentina, 2002-2020. Elaborado por el SIVER-Ca con base a los registros de mortalidad de la DEIS, Ministerio de Salud de la Nación. Instituto Nacional del Cáncer (INC), Argentina 2022.

A nivel mundial, durante el 2020 el cáncer de próstata contribuyó con una incidencia del 14,1% y una mortalidad del 6,8%. Es el segundo cáncer más comúnmente diagnosticado y la sexta causa principal de muerte por cáncer entre hombres en todo el mundo, con un estimado de 1.276.000 nuevos casos de cáncer y 359.000 muertes en 2018. Se espera que la carga mundial de cáncer de próstata aumente a casi 2,3 millones de casos nuevos y 740.000 muertes para 2040 simplemente debido al crecimiento y envejecimiento de la población. (Huang Junjie, 2023)

1.2 Diagnóstico

El Antígeno Prostático Específico (PSA) es producido por las células epiteliales de la próstata y puede predecir el cáncer de próstata (PCa) como también proporcionar información acerca de la recurrencia del tumor después de terapia primaria.

Según la American Cancer Society, los valores de PSA son los siguientes:

- La mayoría de los hombres sin cáncer de próstata tiene niveles de PSA menores a 4 ng/mL de sangre. Sin embargo, un nivel por debajo de 4 no garantiza que un hombre no tenga cáncer.
- Los hombres con un nivel de PSA de 4 a 10 tienen (a menudo llamado "intervalo límite") tienen una probabilidad de 1 en 4 de padecer cáncer de próstata.
- Si el PSA es mayor de 10, la probabilidad de tener cáncer de próstata es de más de 50%.

La prostatectomía radical quirúrgica es la primera terapia curativa por realizar. La mayoría de los pacientes se recuperan, pero un tercio de los pacientes pueden presentar recurrencia bioquímica. En este caso, como primera línea de tratamiento se lleva a cabo una terapia de privación de andrógenos, siendo exitosa solamente en aquellos tumores que son dependiente de andrógenos. Sin embargo, cerca de un 20% de los pacientes se vuelve resistente a esta terapia, conocidos como pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración (mCRPC)

El diagnóstico temprano del cáncer de próstata es sumamente importante para la estadificación, consiste en un análisis de sangre para medir el PSA y en un examen digital a través del recto, aunque el diagnóstico definitivo se determina a través de una biopsia prostática. La prueba de PSA puede dar falsos positivos y conducir a biopsias innecesarias.

En el caso que alguna de estas pruebas muestre alguna anomalía, es esencial saber la estadificación precisa y localización para reducir tanto el tratamiento insuficiente como el excesivo ya que existen diferentes vías de tratamiento para la enfermedad localizada, localmente avanzada y metastásica ya

que la prueba de PSA no distingue entre tumores de bajo o alto riesgo. (Lisney Anna Rebecca Lisney, 2022)

En este sentido, se pueden realizar estudios como: Ultrasonido transrectal (TRUS), Resonancia Magnética Nuclear (RM), Tomografía computada (CT), Gammagrafía Ósea con ^{99m}Tc -Difosfato. (^{99m}Tc -Difosfato)

Desde hace algunos años, los métodos de medicina nuclear que brindan imágenes funcionales y actividad metabólica se utilizan más; estos son PET (Tomografía de emisión de positrones) /CT o PET/RM. Estos estudios mejoran la sensibilidad y precisión del diagnóstico. Dentro de los radiofármacos usados en estudios PET, se pueden destacar: ^{11}C -Colina, ^{18}F -Colina, ^{68}Ga -PSMA y ^{18}F -PSMA. Estos últimos, los radiofármacos de PSMA, son más eficientes dado que el radiofármaco se dirige a la zona de sobre expresión de PSMA (American Cancer Society) obteniéndose imágenes funcionales con detección de actividad metabólica. (Hoffmann Manuela A, 2022)

Este trabajo se centrará en el diagnóstico mediante radiofármacos de PSMA.

1.3 Radiofármacos

Los radiofármacos son radioisótopos unidos a moléculas biológicas capaces de dirigirse a órganos, tejidos o células específicos del cuerpo humano. (Organismo Nacional de Energía Atómica-IAEA).

Cuando se desarrolla un nuevo radiofármaco hay que tomar en cuenta ciertas consideraciones, una muy importante es la accesibilidad al blanco: la penetración en la célula o en barrera hematoencefálica en el caso de los radiofármacos para Sistema Nervioso Central (SNC) como también la velocidad y el tipo de eliminación (por vejiga, hepatobiliar).

Las imágenes de la distribución in vivo del radionucleido en todo el cuerpo, o en partes específicas del cuerpo, puede determinarse mediante la detección de rayos gamma y/o rayos X utilizando una tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) o una tomografía por emisión de positrones (PET). El contraste de la imagen dependerá de la diferencia en la concentración del radionucleído en el tejido blanco con respecto al tejido circundante.

La vía de administración puede ser oral, intravenosa o por inhalación.

1.3.1 Características de un Radiofármaco

En general, un radiofármaco (radiopharmaceutical) consta de tres componentes: una molécula vector (Vector molecule), un radionucleido para diagnóstico o aplicaciones terapéuticas y un conector intermedio, ver Figura 3

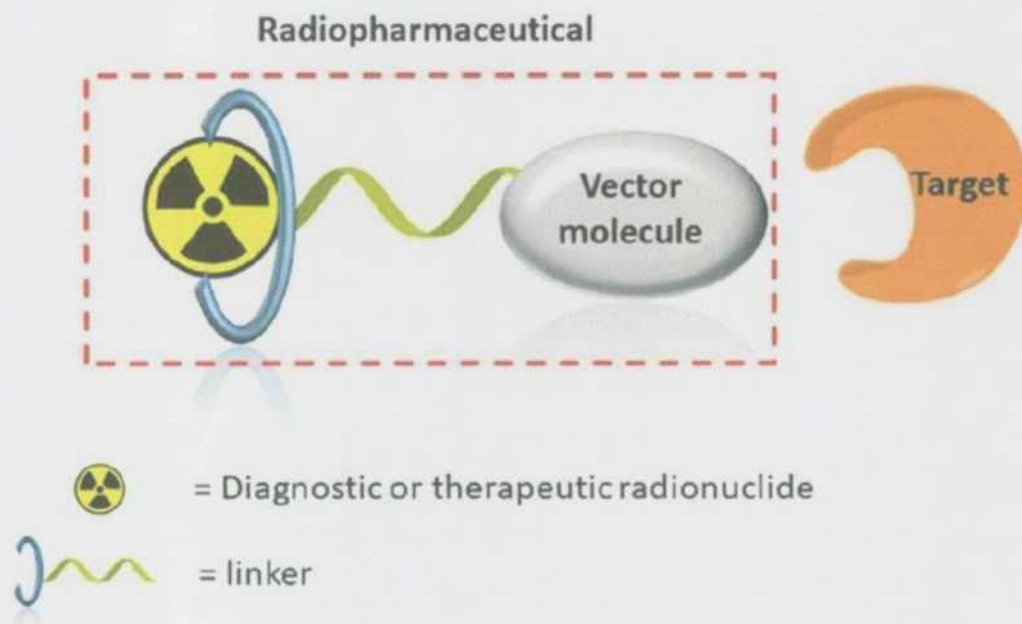


FIGURA 3

Esquema de un Radiofármaco: Diseño Esquemático de un radiofármaco. (Vermeulen Koen, 2019) Design and Challenges of Radiopharmaceuticals. Nuclear Medicine. 339-356, 49 (5)).

El radionucleido proporciona el componente de radiación (radiactividad), el cual de acuerdo con su naturaleza será una herramienta de diagnóstico (Gamma, Beta (+) o terapia (Beta (-) o Alfa).

La molécula del vector puede consistir en una pequeña molécula inorgánica u orgánica, un péptido, una proteína, fragmentos de anticuerpos o una

nanopartícula. Es esencial porque da la selectividad de interacción con el blanco por lo que es importante que la molécula del vector mantenga una alta especificidad y selectividad por el blanco luego de la conjugación con el radionucleido. Las moléculas pequeñas generalmente toleran pequeñas modificaciones. Los péptidos son fácilmente sintetizables en sintetizadores automáticos; tienen la capacidad de soportar condiciones químicas extremas como ser pH, temperatura. Tienen fácil difusión en el tejido y alta especificidad.

El Linker o conector forma una conexión química estable entre el radionucleído y la molécula vector.

1.3.2 Radionucleídos Emisores de Positrones

También llamados Radionucleídos PET (PET: Positron Emission Tomography).

La emisión de positrones o desintegración Beta (+) consiste en la desintegración de un protón del núcleo madre en un neutrón que permanece en el núcleo hija, y el núcleo emite un neutrino y un positrón.

El positrón es una partícula que tiene la masa de un electrón, pero con carga positiva. La hija tendrá un número atómico inferior a la madre conservando el número de masa.



El positrón emitido tiene una existencia transitoria, pierde su energía cinética interactuando con un electrón de la materia produciéndose una aniquilación. Como resultados de esto, tanto la masa del electrón como la del positrón se convierten en energía emitiendo dos fotones de 511keV en direcciones opuestas. El recorrido que realiza el positrón para aniquilarse dependerá de su energía cinética.

Un Tomógrafo de Emisión de Positrones (PET) es un equipo capaz de detectar la coincidencia que se produce cuando un positrón interacciona en el

cuerpo generado la aniquilación en donde se producen dos fotones de 511 keV que viajan en sentido contrario. Consiste en un anillo de detectores que rodea al paciente y detecta los fotones de 511 keV coincidentes, de esta manera se mejora la sensibilidad ya que por cada desintegración se obtienen dos fotones detectados por el anillo.

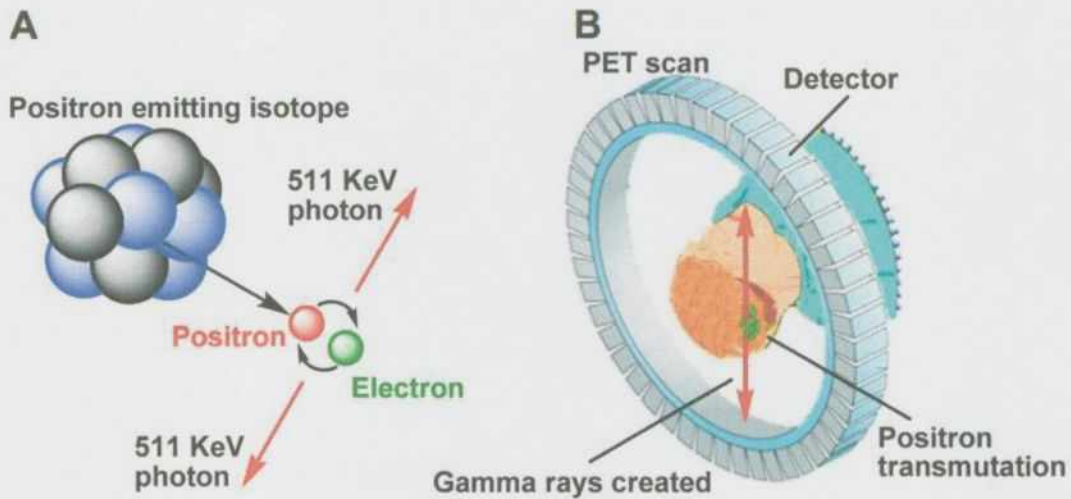


FIGURA 4

Esquema de Emisión β^+ y Cámara PET. Nota: (A) Un positrón y un electrón se aniquilan produciendo dos fotones de 511 keV en direcciones opuestas. (B) El fotón de 511 keV es detectado por el anillo circular, cámara PET (Tomógrafo de Emisión de Positrones). (Adaptación Li Zibo, Conti Peter, 2010).

1.3.3 ^{18}F Fluor Obtención y Química

El ^{18}F decae por emisión de positrones (97%) y por captura electrónica (3%) emitiendo un beta (+) con una energía máxima de 653keV. (Technical Reports Series N° 468-IAEA).

Existen muchas reacciones nucleares para la obtención de ^{18}F , pero usualmente el Fluor-18 se produce a partir de un ciclotrón mediante la reacción nuclear $^{18}\text{O} (p,n) ^{18}\text{F}$ partiendo de pequeños volúmenes de agua enriquecida en Oxígeno-18 en un rango de Energía de 4-14 MeV.

Nuclear reaction	Useful energy range (MeV)	Natural abundance (%)	References
$^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$	14–4	0.2	[2.18.1]
$^{16}\text{O}(^3\text{He}, p)^{18}\text{F}$	15–1	99.7	[2.18.2]
$^{16}\text{O}(^3\text{He}, n)^{18}\text{Ne}; ^{18}\text{F}$	40–15	99.7	[2.18.3]
$^{16}\text{O}(\alpha, np)^{18}\text{F}$	40–20	99.7	[2.18.4]
$^{16}\text{O}(\alpha, 2n)^{18}\text{Ne}; ^{18}\text{F}$	52–10	99.7	[2.18.5]
$^{20}\text{Ne}(d, \alpha)^{18}\text{F}$	15–0	90.5	[2.18.6]
$^{20}\text{Ne}(p, 2pn)^{18}\text{F}$	40–30	90.5	[2.18.7, 2.18.8]
$^{20}\text{Ne}(^3\text{He}, \alpha p)^{18}\text{F}$	40–10	90.5	[2.18.9]

TABLA 2

Reacciones Nucleares de Obtención de Fluor-18. Technical Reports Series N° 468-IAEA.

El ^{18}F obtenido a partir de agua enriquecida en ^{18}O tiene mayor Actividad Especifica (SA) que el ^{18}F obtenido a partir de ^{18}O gaseoso, ya que es necesario un carrier de Fluor-19 para moverlo y eso disminuye considerablemente la actividad especifica. El primero se usa en reacciones nucleofílicas y el ^{18}F gaseoso en reacciones electrofílicas.

Dado que la obtención de ^{18}F vía ciclotrón se realiza a partir de un blanco líquido (H_2O^{18}), es necesario contar con un portablanco (holder) que lo contenga, el cual debe cumplir con ciertos requisitos como: no debe reaccionar con el radionucleido a producir, es necesario elegir un material cuya activación durante la irradiación sea la más baja posible de manera de evitar dosis por exposición a la radiación de los operadores. Los materiales usados para la construcción de portablanco pueden ser: Titanio, Plata, Metales aureados, Niobio y Tantalio. El material usado en la mayoría de los ciclotrones es Niobio.

La energía óptima del protón incidente para que se dé la reacción nuclear de producción de ^{18}F a partir de agua enriquecida en ^{18}O es entre 6-8 MeV (ver Figura 5).

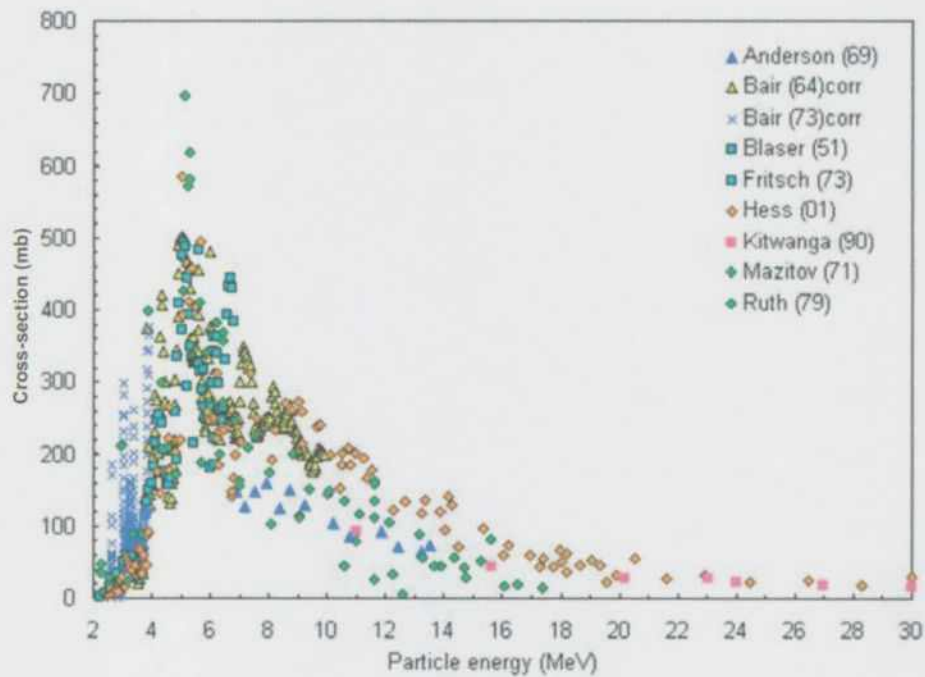


FIGURA 5

Función de Excitación para la reacción $^{18}\text{O}(p, n)^{18}\text{F}$ (Technical Reports Series N° 468-IAEA).

1.3.4 Radiofármacos PET para Diagnóstico de Cáncer de Próstata

Existen varios radiofármacos utilizados en el diagnóstico del PCa, entre ellos ^{11}C -Colina, ^{18}F -Colina, ^{68}Ga -PSMA, ^{18}F -PSMA.

La colina, es un precursor de la fosfatidilcolina, un componente de la membrana celular. La marcación de colina con ^{11}C o con ^{18}F se ha utilizado durante años como marcador de proliferación de células cancerosas.

^{11}C -Colina era considerado el Gold Estándar en los estudios de diagnóstico de cáncer de próstata, hasta que, años atrás se introdujo la tomografía por emisión de positrones de radiofármacos de PSMA que, debido a los resultados altamente

prometedores, se aplica cada vez más en las rutinas clínicas, especialmente en pacientes con recurrencia bioquímica después de una prostatectomía radical y/o radioterapia. (Johannes Schwenck-2016). Se ha detectado que para valores bajos de PSA, por debajo de 2ng/ml, tanto la ^{11}C -Colina como ^{18}F -Colina, adolecen de sensibilidad. (Paymani Zeinab, 2020).

Si bien el PSMA también se expresa en tejido prostático sano, se demostró que la expresión aumenta fuertemente en la neoplasia maligna. Altos niveles de expresión de PSMA se correlacionan con una recaída temprana después de la prostatectomía.

A mediados de los años 90, la FDA (Food and Drug Administration) aprobó un radiofármaco ProstaScint®, Cytogen Corporation, era un anticuerpo monoclonal murino marcado con Indio-111, pero no tuvo gran aceptación debido al clearance sanguíneo lento dando como resultado una mala relación blanco/fondo.

Entre 2012-2013 se introdujo el primer radiofármaco de PSMA, fue el ^{68}Ga -PSMA-11, mostrando superioridad en la captación con respecto a ^{11}C -Colina y ^{18}F -Colina, con un clearance sanguíneo rápido el cual se traduce en un buen contraste de imagen.

La siguiente tabla muestra los radiofármacos de PSMA y sus usos

Tracers	Nuclides	Class
PSMA-11	^{68}Ga	Diagnostics
PSMA-617	^{68}Ga , ^{177}Lu , ^{225}Ac	Theranostics
PSMA-I&T	^{68}Ga , ^{177}Lu , ^{225}Ac	Theranostics
DCFPyL	^{18}F	Diagnostics
DCFBC	^{18}F	Diagnostics
PSMA-1007	^{18}F	Diagnostics

Table adapted from Ref. [9].

TABLA 3

Ligandos de PSMA. Nota: Ligandos de PSMA, radionucleídos y potencial aplicaciones. (Lisney Anna R, 2022).

1.4 Indicaciones de Estudios con PSMA

Las indicaciones de estudios de PET/CT con PSMA está dada en:

- Recaídas bioquímicas, especialmente recomendado para pacientes con PSA entre 0,2 y 10ng/ml de manera que se pueda identificar que tipo de tratamiento llevar a cabo.
- Estadificación antes de una cirugía.
- Localización del cáncer de próstata recurrente o persistente.
- Planificación de radioterapia.
- Estadificación antes y después de terapia con ^{177}Lu y ^{225}Ac .
- Orientación en biopsia dirigida a pacientes con biopsia negativa con alta sospecha.
- Seguimiento de tratamiento sistémico del cáncer de próstata metastásico (Fendler, Elbert, 2023)

1.5 PSMA

El antígeno prostático específico de membrana, PSMA, es una glicoproteína transmembrana: Glutamato carboxipeptidasa II (GCP II) o N-acetil-L-Aspartil-L-glutamato peptidasa I (NAALADasa I) compuesta de 750 aminoácidos y ubicada en el cromosoma 11. Hasta la fecha, se han identificado dos sustratos fisiológicamente relevantes procesados tanto por GCP II: N-acetil-L-aspartil-L-glutamato (NAAG) y folatos poliglutamilados (FolGlun), obteniendo N-acetilaspártato y glutamato o Folato y glutamato.

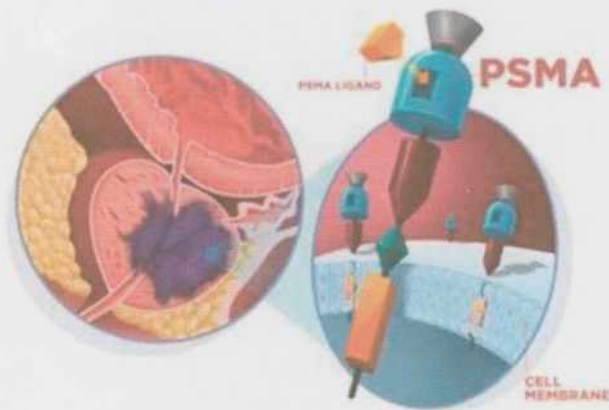


FIGURA 6

Mecanismo de Expresión de PSMA. Nota: Ilustración de mecanismo de expresión de PSMA que explican la captación del radiotrazador en el cáncer de próstata. (Adaptación de Galiza Barbosa, 2020).

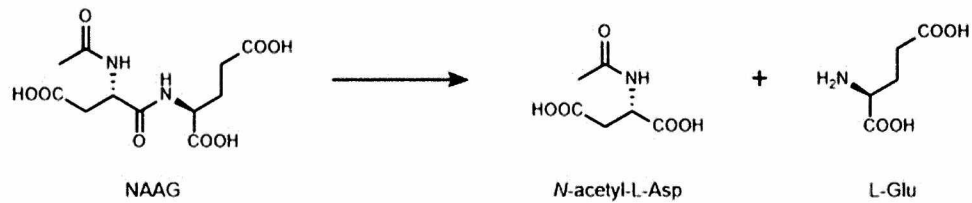
A pesar de tratarse de una proteína multifuncional expresada en tejidos sanos, los niveles de expresión más significativos se encuentran en humanos en el epitelio prostático, debido a esto, la proteína se denomina principalmente antígeno de membrana específico de la próstata: PSMA. (Vorlova Barbora, 2019).

Se expresa en tejido sano, en muy bajas cantidades: en el Epitelio Acinar de la próstata, Astrocitos y células de Schwann (Sistema Nervioso), mucosa duodenal (intestino delgado), riñón, glándulas salivales.

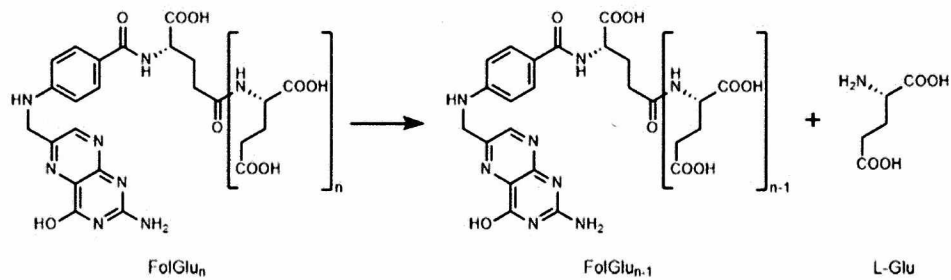
El glutamato es el neurotransmisor excitatorio más abundante. En condiciones normales, es indispensable para procesos fisiológicos como: aprendizaje, memoria y la plasticidad del desarrollo.

En el caso de células que han mutado a células cancerígenas, una de las formas de buscar energía (ATP) es a través del glutamato, por ello, visualizan estos trazadores sanguíneos: NAAG y FoGlu y son metabolizadas por la GCP II. Las células cancerígenas la CGPII pasa a expresarse en la membrana celular y así obtener Glutamato. En células normales de próstata esta proteína está sobreexpresada en una relación 6:1, pero en células cancerosas alrededor de

600.000 a 800.000 moléculas de PSMA por célula cancerosa (Rajasekaran A, 2005), particularmente en las etapas metastásicas C y los refractarios a hormonas (Rasul S, 2022).



NAAG-hydrolyzing reaction catalyzed by GCP_{II} or GCP_{III}.



FolGlu_n-hydrolyzing reaction catalyzed by GCP_{II} or GCP_{III}.

FIGURA 7

Hidrólisis de GCP_{II} de NAAG y FolGLu. Nota: Hidrólisis de GCP_{II} de NAAG y FolGLu. (Vorlova Barbora. Frontiers in Bioscience, Landmark, 24, 648-687, March 1, 2019).

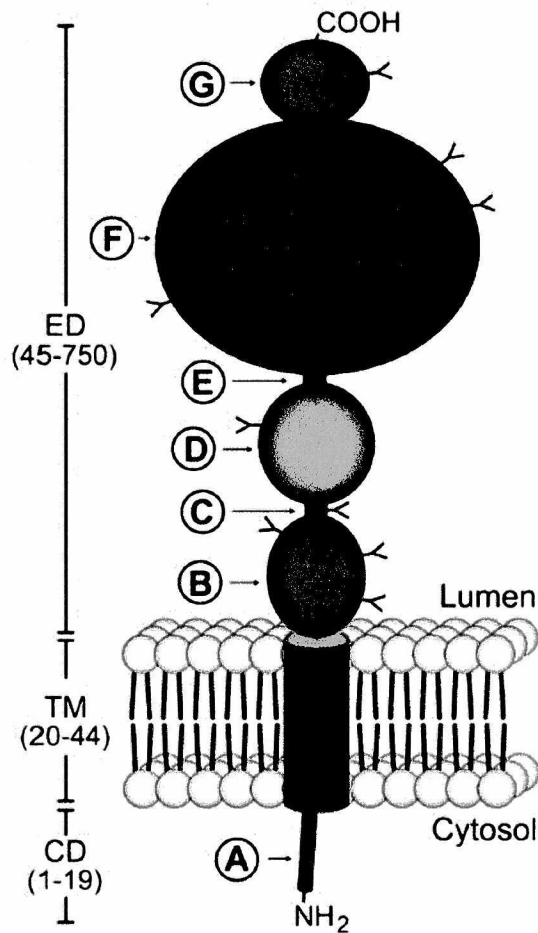


FIGURA 8

Diagrama esquemático de la estructura del antígeno prostático específico de membrana (PSMA). El PSMA es una proteína transmembrana de tipo II con un dominio citoplasmático (CD) NH₂-terminal corto, una región transmembrana hidrofóbica (TM) y un dominio extracelular grande (ED). (Rajasekaran. Am J Physiol Cell Physiol 288: C975–C981, 2005).

El patrón Glutamato-Urea-Lisina (Glu-Urea-Lys) se conoce como una secuencia inhibidora de PSMA eficiente. (Morgat C, 2019).

La proteína PSMA tiene un dominio extracelular grande, un dominio transmembrana corto y una cola citoplasmática corta. El dominio Extracelular

consta de tres subdominios: la proteasa, el dominio apical y el dominio de dimerización, todos son necesarios para la unión al sustrato. En la cavidad, el bolsillo farmacóforo estabiliza los restos similares al glutamato mediante interacciones polares y de van del Waals. (Hyväkkä A, 2021).

Hay que tener en cuenta que no es lo mismo PSA y PSMA, en la siguiente tabla se muestran las diferencias.

PSA	PSMA
<ul style="list-style-type: none"> • Es una proteína secretora • Función conocida: licuefacción del semen. • Medido en suero como marcador de cáncer • Disminuye con la privación de andrógenos 	<ul style="list-style-type: none"> • Proteína integral de membrana • Posee varias funciones enzimáticas • Esta sobre regulado con privación de andrógenos • RT-PCR utilizada para detectar en suero; no verificado como herramienta/marcador de detección • La expresión se correlaciona con la agresividad del cáncer y representa un indicador independiente de mal pronóstico.

TABLA 4

Diferencias entre PSA y PSMA. Nota: Comparación del antígeno prostático específico (PSA) y el antígeno prostático específico de membrana (PSMA). (Chang Sam S. Vol 6 Suppl 10. 2004. Reviews in Urology).

Por esto, se puede resumir que hay una pequeña diferencia entre el PSA (antígeno prostático específico) y el PSMA, y esa diferencia es la membrana.

El PSA se produce dentro de las células, se secreta en la sangre y es un biomarcador circulante útil.

El PSMA está adherido a la superficie celular. No sale de la célula y no circula a menos que la célula entera esté circulando (p. ej., como con una célula tumoral circulante). Por esto, el PSMA es un blanco útil en la superficie celular, tanto desde el punto de vista diagnóstico como terapéutico, porque no está flotando libre en la sangre; está adherido y se puede utilizar tanto para la obtención de imágenes como para el tratamiento.

1.6 Inhibidores de PSMA

En principio, los inhibidores de PSMA de molécula pequeña se unen a PSMA, también llamada glutamato carboxipeptidasa II, que es una proteasa de zinc unida a la membrana binuclear.

La elucidación de la estructura cocrystalizada de PSMA con un sustrato y un inhibidor ha demostrado interacciones electrostáticas entre los ácidos carboxílicos de residuos aspárticos y glutámicos y los aminoácidos Arg534/Arg536 y Asn519 de PSMA. Sin embargo, el bolsillo hidrofóbico también puede aprovecharse para diseñar inhibidores. Hay un patrón o secuencia glutamato-urea- lisina (Glu-Urea-Lys) que se conoce como una secuencia inhibidora de PSMA altamente eficiente. El desafío es crear inhibidores de PSMA para diseñar radiofármacos manteniendo las propiedades inhibitorias. (Morgat C, 2019).

El PSMA-11 marcado con ^{68}Ga fue presentado en el año 2012 y se convirtió en uno de los radiotrazadores más utilizados para obtener imágenes PET con PSMA para estudios de cáncer de próstata. En este caso, se puede observar que las características complejas del sitio de unión de PSMA, requiere interacciones lipofílicas definidas dentro del embudo que flanquea el sitio activo de PSMA.

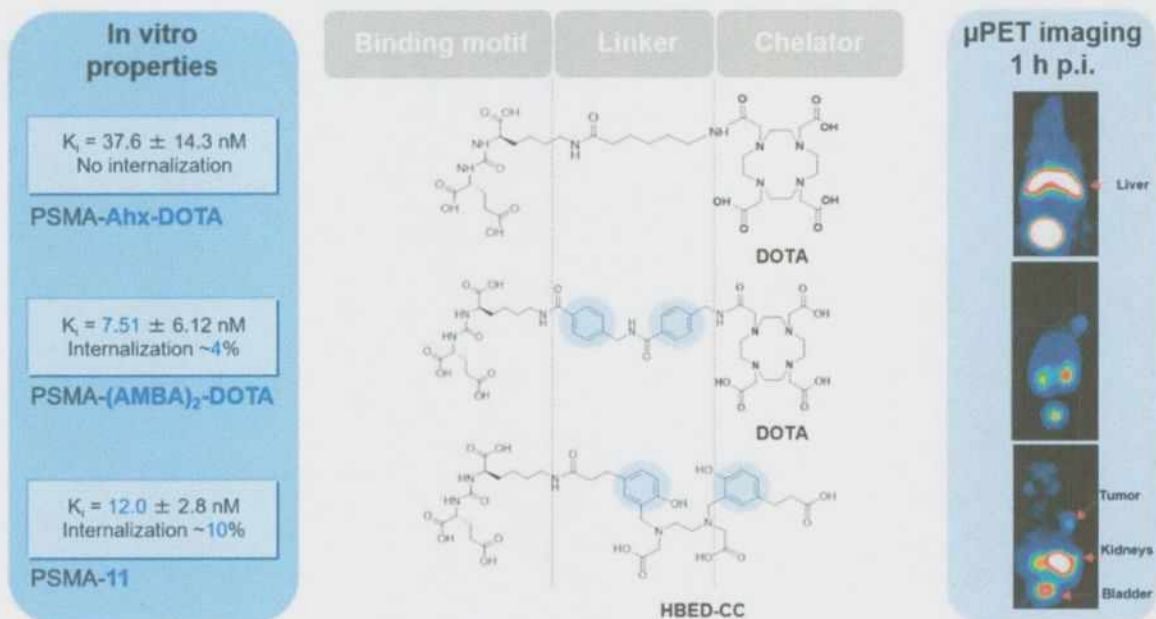


FIGURA 9

Propiedades farmacocinéticas y de unión del PSMA marcado con ^{68}Ga . Nota: Propiedades farmacocinéticas y de unión del PSMA marcado con ^{68}Ga dirigido a los inhibidores basados en urea. (Ute Hennrich. *Pharmaceuticals* 2021, 14, 713).

Las propiedades farmacocinéticas y de unión del PSMA marcado con ^{68}Ga dirigido a los inhibidores basados en urea se ven claramente afectadas por la composición exacta del enlazador (linker) y la presencia de fracciones aromáticas.

Si el linker es completamente alifático (PSMA-Ahx-DOTA), la afinidad y la internalización son bajas o se pierden, respectivamente, y el trazador se localiza principalmente en el hígado sin ninguna señal detectable en el tumor. Al introducir fracciones aromáticas en la región del linker como es el caso de PSMA-(AMBA)₂-DOTA, el compuesto exhibe una mejor afinidad y comienza a mostrar una internalización significativa del trazador en la célula tumoral, lo que da como resultado una captación tumoral visible y un perfil farmacocinético modificado.

Para el caso del PSMA-11, el quelante HBED-CC tiene estos requisitos funcionales por sus fracciones aromáticas y, por lo tanto, interactúa bien con el bolsillo de unión, lo que da como resultado un rendimiento in vivo prometedor de toda la molécula. (Hennrich U, 2021).

El ^{68}Ga se introduce en PSMA-11 a través del quelante N,N9-bis[2-hidroxi-5-(etileno-b-carboxi)bencil]etilendiamina-N,N9-ácido diacético (HBED-CC), sin embargo, el agente quelante HBED-CC no puede formar complejos estables con los radionúclidos terapéuticos ^{177}Lu , ^{225}Ac por lo que solamente puede usarse para fines diagnósticos.

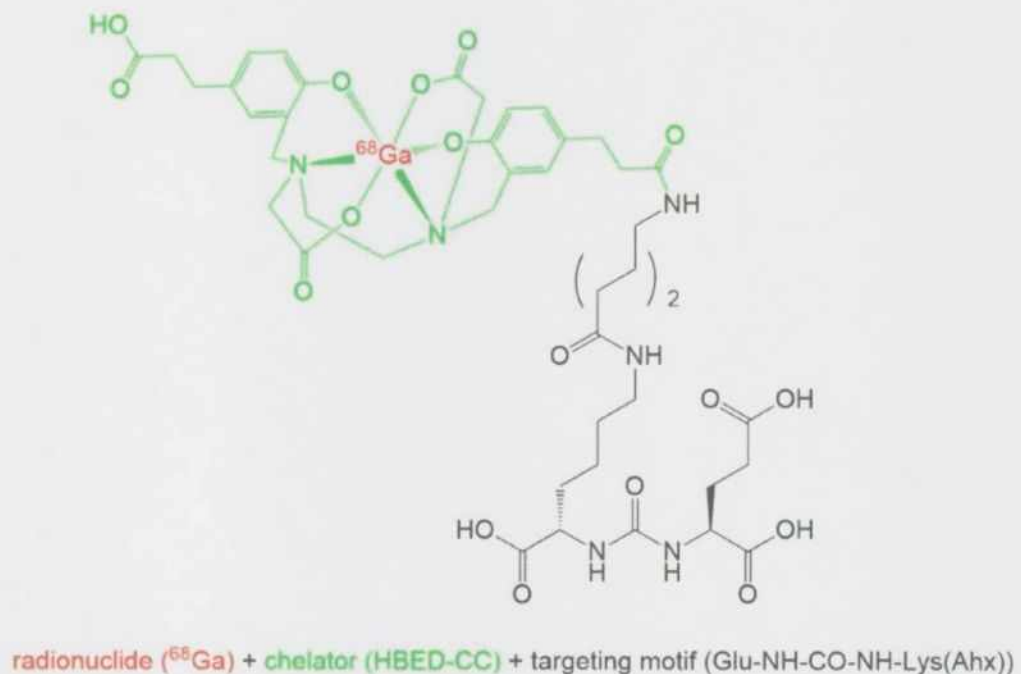


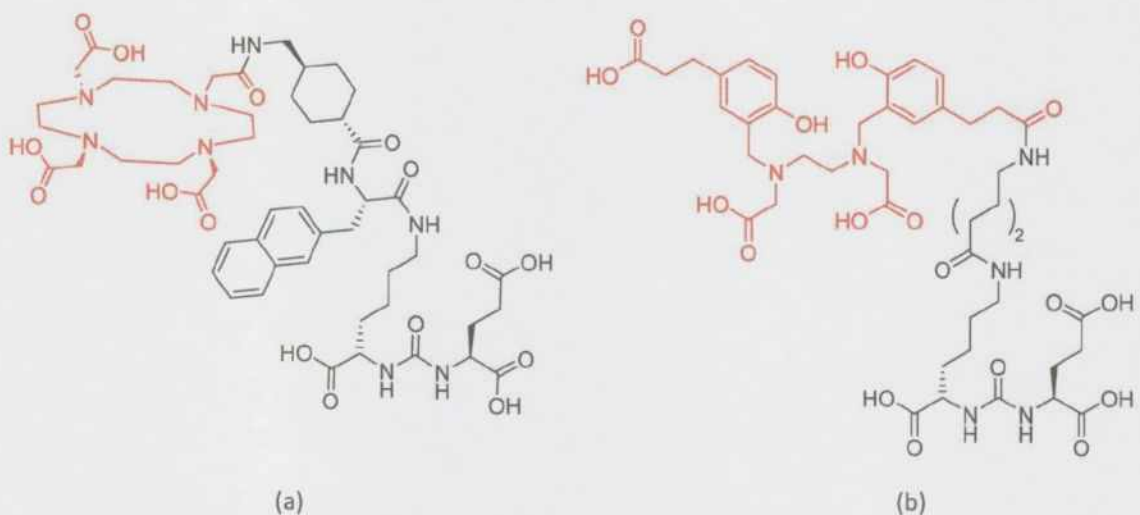
FIGURA 10

Estructura Química de $[\text{Ga-68}]\text{Ga-PSMA-11}$. Nota: Estructura Química de $^{68}\text{Ga-PSMA-11}$ (Ute Hennrich. *Pharmaceuticals* 2021, 14, 713).

Como consecuencia de esto, se plantea la idea de modificar el PSMA-11 con fines teranósticos, se introduce el PSMA-617 en el año 2015.

La clave del PSMA-617 está en el diseño del linker que desencadena la unión y la internalización de la sustancia a través de una supuesta interacción de los aminoácidos rígidos (ácido tranexámico) y aromáticos (2-naftilalanina) con partes rígidas del bolsillo de unión de PSMA. (Cardinale J, 2016).

PSMA-617, puede radiomarcarse los radiometales trivalentes terapéuticamente relevantes ^{177}Lu o ^{90}Y para β -terapia y ^{225}Ac para α -terapia. La diferencia entre el PSMA-11 y el PSMA-617 es el quelante utilizado, siendo DOTA utilizado en la síntesis de ^{68}Ga PSMA-617, lo que permite establecer enlaces estables con radioisótopos terapéuticos, mientras que HBED-CC se utiliza en ^{68}Ga PSMA-11.



Structures of (a) PSMA-617 and (b) PSMA-11.

FIGURA 11

Estructura Química de PSMA-617 y PSMA-11. Nota: Estructuras de (a) PSMA-617 y (b) PSMA-11. (Elisabeth Eppard. Theranostics 2017, Vol. 7, Issue 18).

Luego de una extensa evaluación preclínica, se vió que los inhibidores de PSMA conjugados con DOTA lograron una mejor internalización celular dependiente de PSMA y mejoraron las propiedades farmacocinéticas con respecto al PSMA-11. Comparando los tiempos de eliminación, 1 h después de la inyección, la captación renal de PSMA-11 no se redujo significativamente a las 24 h después de la inyección, mientras que el PSMA-617 se eliminó casi por completo. Este clearance renal rápido de la radiactividad es necesario para reducir la posible toxicidad de la radiación (radiotoxicidad) en los riñones y para evitar posibles efectos secundarios crónicos a largo plazo. (Kopka K, 2015).

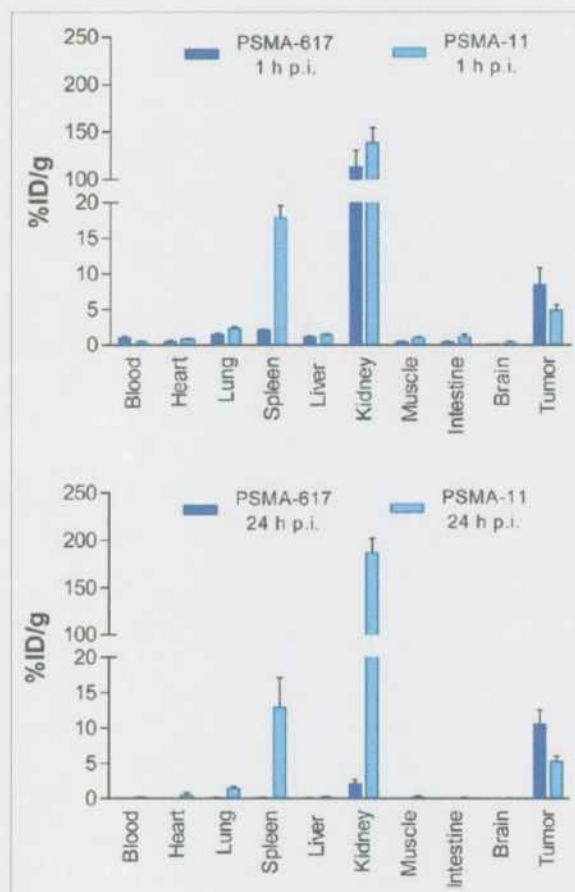


FIGURA 12

Distribución en órganos de ^{68}Ga -PSMA-617 y ^{68}Ga -PSMA-11 1 h después de la inyección y 24 h después de la inyección. (Reimpreso con permiso de (21). (Klaus Kopka con permiso de Martina Benesová J Nucl Med 2015; 56:914–920).

1.7 Necesidad de ^{18}F -PSMA

Tanto el PSMA-11 como el PSMA-617, en el caso de estudios diagnósticos, solo pueden ser marcados con ^{68}Ga .

El ^{68}Ga es un emisor β^+ , con un $t_{1/2}$ de 67,71 minutos, el cual mayoritariamente puede obtenerse a partir de un generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ cuya actividad ronda los 2,4GBq (64,8mCi), como consecuencia de esto, hay una limitación en la cantidad de pacientes a realizar ya que con cada elución se realizan de 2 a 4 estudios aproximadamente.

Una alternativa es la producción a partir de blancos líquidos y sólidos en un ciclotrón usando la reacción nuclear $^{68}\text{Zn} (p,n) ^{68}\text{Ga}$. A pesar de que aumentan los rendimientos de producción, el $t_{1/2}$ del ^{68}Ga condiciona el traslado a centros de medicina nuclear alejados, la logística del traslado debe estar muy bien organizada.

Debido a esta problemática, se instala la idea de marcación de un inhibidor de PSMA con ^{18}F cuyo $t_{1/2}$ es de 109,74 minutos.

La ventaja de contar con un generador $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ es la disponibilidad del radionucleido todos los días. Existen algunas desventajas del ^{68}Ga con respecto al ^{18}F , por empezar el periodo de semidesintegración del ^{68}Ga con respecto al ^{18}F , luego, el rendimiento de positrones del ^{68}Ga es menor en comparación con el ^{18}F (89,14 % frente a 96,86 %), lo que aumenta el ruido de la imagen debido a la posible interferencia gamma inmediata en los datos de PET y afecta negativamente a la sensibilidad de detección. Además, la mayor energía de positrones del ^{68}Ga (^{18}F 633 keV frente a ^{68}Ga 1.899 keV) conduce a que los positrones deban recorrer mayores distancias para aniquilarse lo que da como resultado una resolución espacial más baja y una capacidad reducida para detectar lesiones que son pequeñas y que están muy cerca unas de otras. (Pirón S, 2021) (Rodríguez Fraile, 2022).

Es necesario, que el inhibidor de PSMA marcado con ^{18}F forme un par teranóstico con aquellos radionucleidos utilizados en terapia (^{177}Lu , ^{225}Ac).

Comparando las moléculas de PSMA más utilizadas en diagnóstico y teragnosis.

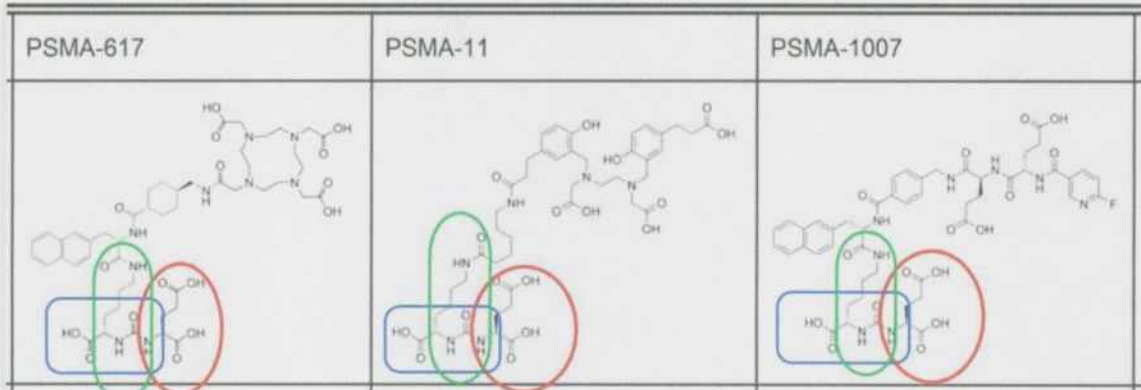
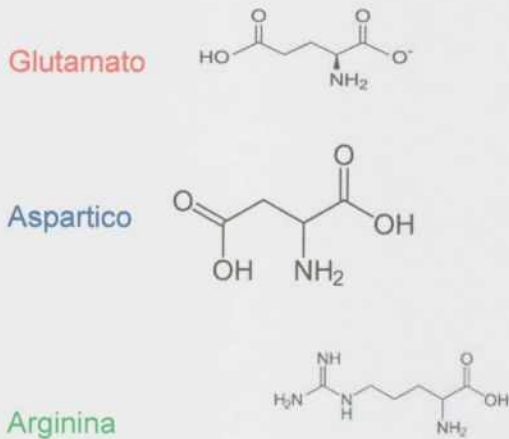


FIGURA 13

Comparación de Radioligandos de PSMA-617, PSMA-11 y PSMA-1007 basados en glu-ureido. Adaptación (Kopka Journal of Nuclear Medicine 2017; 58; 17S-26S).



Tanto el Glutamato como el Aspártico y la Arginina se encuentran en las tres moléculas de PSMA (PSMA-11, PSMA-617, PSMA-1007), sin embargo, se pueden observar algunas diferencias:

Primero, tanto el PSMA 617 como el PSMA-1007 cuentan con la presencia de un Naftaleno, esto le concede propiedades lipofílicas optimizando el anclaje en el bolsillo de la proteína GCPII permitiendo un mayor tiempo de residencia en ese receptor.

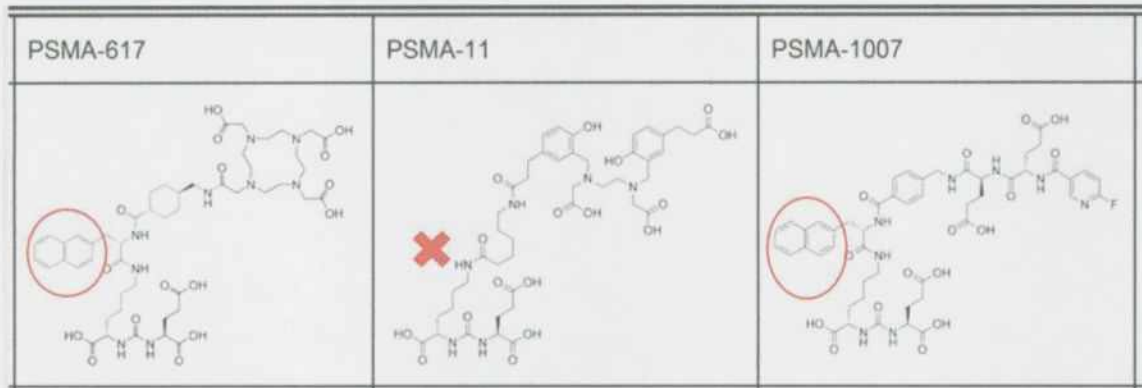


FIGURA 14

Comparación de Radioligandos de PSMA-617, PSMA-11 y PSMA-1007 basados en glu-ureido. (Adaptación Kopka Journal of Nuclear Medicine 2017; 58; 17S-26S).

Segundo, la molécula de PSMA-1007 contiene un grupo Fenilo, este grupo, cambia la forma de metabolización de esta molécula. Se trata ahora de una molécula más lipofílica que el resto, como consecuencia de esto su eliminación será hepato- biliar.

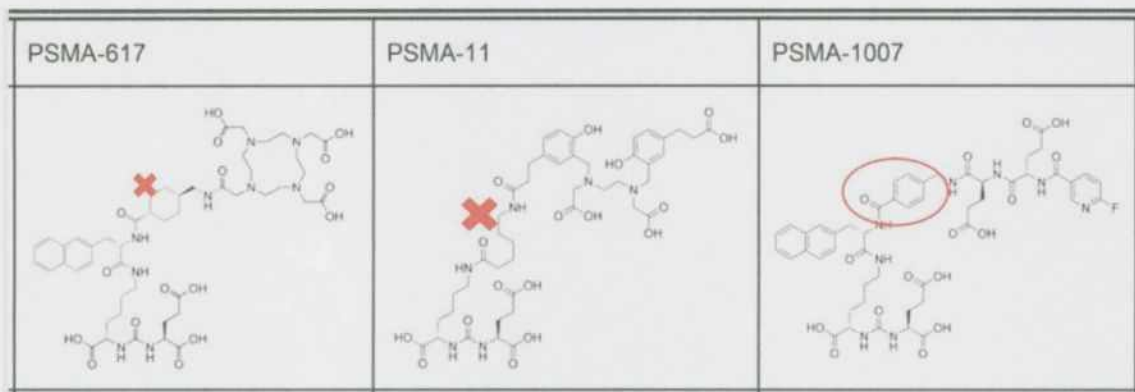


FIGURA 15

Comparación de Radioligandos de PSMA-617, PSMA-11 y PSMA-1007 basados en glu-ureido. (Adaptación Kopka Journal of Nuclear Medicine 2017; 58; 17S-26S).

Esta propiedad queda demostrada en las imágenes de estudios con los distintos radiofármacos (Fendler W, 2023)



Fig.1 Normal body distribution of PSMA-ligands. [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11, [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-I&T, [¹⁸F]F-DCFPyL, and [¹⁸F]F-rhPSMA-7.3 applications lead to notable kidney uptake. Bladder retention is high for [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11, [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-I&T, and [¹⁸F]F-DCFPyL and lower for [¹⁸F]F-rhPSMA-7.3. Reference organs for ligands with kidney-dominant excretion are liver and parotid

gland. [¹⁸F]F-PSMA-1007 leads to high liver uptake due to hepatic excretion. Reference organs for ligands with liver excretion are spleen and parotid gland. Focal uptake in the pelvic bone is noted on the [¹⁸F]F-rhPSMA-7.3 PET corresponding to metastatic disease. [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-I&T subpart was modified with permission from [130]

FIGURA 16

Distribución corporal normal de los ligandos de PSMA. Nota: Distribución corporal normal de los ligandos de PSMA. Las aplicaciones de [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11, [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-I&T, [¹⁸F]F-DCFPyL y [¹⁸F]F-rhPSMA-7.3 conducen a una captación renal notable. La retención vesical es alta para [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11, [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-I&T y [¹⁸F]F-DCFPyL y menor para [¹⁸F]F-rhPSMA-7.3. Los órganos de referencia para ligandos con excreción

predominantemente renal son el hígado y la glándula parótida. [¹⁸F]F-PSMA-1007 conduce a una alta captación hepática debido a la excreción hepática. Los órganos de referencia para ligandos con excreción hepática son el bazo y la glándula parótida. En el PET [¹⁸F]F-rhPSMA-7.3 se observa captación focal en el hueso pélvico correspondiente a enfermedad metastásica. [⁶⁸Ga] Ga-PSMA-I&T. (Fendler Wolfgang P. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* (2023) 50:1466–1486).

Table 3 PSMA-ligands for PET/CT imaging

Characteristic	[⁶⁸ Ga]Ga-PSMA-11	[⁶⁸ Ga]Ga-PSMA-I&T	[¹⁸ F]F-DCFPyL	[¹⁸ F]F-PSMA-1007	[¹⁸ F]F-rhPSMA-7.3
Binding motif	Urea-based	Urea-based	Urea-based	Urea-based	Urea-based
Half-life	68 min	68 min	110 min	110 min	110 min
Dominant excretion route	Kidney	Kidney	Kidney	Liver	Kidney
Published	2012 [15]	2015 [18, 94]	2011 [14], 2015 [19]	2016 [20]	2020 [21]
Status	Extensive retrospective data; completed phase 2/3; Approved*	Extensive retrospective data	Extensive retrospective data; completed phase 2/3; Approved*	Extensive retrospective data; completed phase 2/3; Approved*	Extensive retrospective data; under phase 3 investigation (NCT04186819 and NCT04186845)

Characteristics and current status. *Refers to regulatory approval for clinical use and distribution on a national or international level

TABLA 5

Ligandos de PSMA para imágenes en PET/CT. (Fendler W European Journal of Medicine and Molecular Imaging 2023).

1.8 [¹⁸F]-FDG versus [¹⁸F]-F-PSMA-1007

Es sabido que el aumento de la captación de glucosa y la preferencia por la glucólisis aeróbica en lugar de la fosforilación oxidativa, incluso en presencia de oxígeno es considerado una de las características metabólicas de muchos cánceres. Sin embargo, la [¹⁸F]-Fluorodeoxiglucosa ([¹⁸F]-FDG) suele presentar una baja captación en el cáncer de próstata debido al crecimiento lento del tumor, especialmente en las primeras etapas de la enfermedad.

La [^{18}F]-FDG -PET podría ser un método de imagen eficiente en cánceres de próstata bajos en PSMA que expresan altos niveles de transportadores de glucosa y hexoquinasas por lo tanto, hay una mayor captación de glucosa.

La [^{18}F]-FDG también podría desempeñar un papel, junto con las imágenes de PSMA, en la selección de pacientes para la terapia dirigida con PSMA.

Los pacientes con MCRPC (cáncer de próstata metastásico resistente a la castración) con hallazgos de imagen discordantes en metástasis con alta captación de [^{18}F]-FDG con baja o inexistente captación de PSMA no se consideran candidatos para radioterapia molecular. (Hyväkkä A, 2021).

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Sintetizar ^{18}F -PSMA-1007

2.2 Objetivos específicos:

- Sintetizar ^{18}F -PSMA-1007 por medio de un módulo de síntesis comercial IBA.
- Optimización de la Síntesis.
- Calcular el rendimiento de Síntesis.
- Evaluar la calidad del radiofármaco: pureza radioquímica, pureza radionucleídica.

CAPÍTULO 3

SINTESIS

3.1 Introducción

La marcación del PSMA-1007 con ^{18}F se llevó a cabo en el Laboratorio de Radiofarmacia perteneciente a la Fundación Centro Diagnóstico Nuclear.

Se eligió el PSMA-1007 ya que es una molécula desarrollada por la Universidad de Heidelberg (Alemania) libre de patentes, usada para investigación de nuevos radiofármacos sin posibilidad de patentarlos.

Para la marcación se eligió un método que se pueda llevar a cabo en uno de los módulos de síntesis automatizado (IBA), y posteriormente se realizó el Control de Calidad para evaluar el radiofármaco obtenido.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Materiales

Para la obtención de ^{18}F se partió de Agua enriquecida en ^{18}O Marca Taiyo 98% de enriquecimiento adquirida en Taiyo Nippon Sanso.

Es necesario contar con el Procesador de Fluido Integrado (IFPTM) desechable para el módulo Synthera IBA, el cual cuenta con ocho válvulas rotatorias, dos contenedores para los cartuchos, dos contenedores de reactor, un reactor de vidrio, agujas, y un dispositivo de seguridad para las agujas todo esto se encuentra dentro de una bolsa estéril.

El kit de reactivos para la marcación de PSMA-1007 fue adquirido en ABX (Advanced Biochemical Compounds) y cuenta con:

- Vial 1: 600ul de una solución de TBA-HCO₃ 0.075M (Tetra butil amonio)
- Vial 2: 1,5ml de Dimetil Sulfóxido para disolver el Precursor
- Vial 2b: Precursor PSMA-1007
- Vial 3: 33ml de Solución de Etanol al 5%
- Vial 4: 6,0 ml de Solución de Etanol 25%
- Vial 5: Solución Fisiológica

- Vial 6: PBS (Buffer Fosfato salino)
- Cartucho de Separación Sep- Pack Light QMA
- Cartucho Sep- Pack C18
- Cartucho Macherey- Nagel SCX

3.2.2. Métodos

3.2.2.1 Preparación del Módulo de Síntesis Synthera V2 IBA.

Previo al envío de ^{18}F a la celda de síntesis, se debe acondicionar el módulo Synthera V2 para la síntesis de ^{18}F -PSMA-1007.



FIGURA 17

Foto Módulo Synthera V2 IBA.

En una campana de flujo laminar, colocar los frascos de reactivos, jeringas, agujas y sacar el Procesador de Fluido Integrado (IFPTM) de su envoltorio estéril. Revisar que el IFPTM se encuentre en buen estado, que cuente con todas las válvulas y que las tuberías estén sanas sin obstrucciones y conectadas. Las válvulas deben estar en posición vertical antes de la carga en el módulo

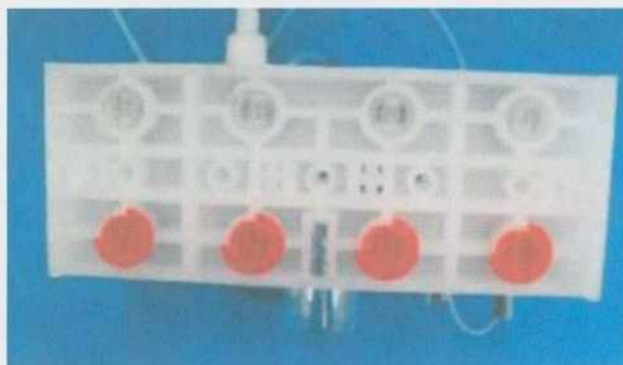


FIGURA 18

Foto Posición de Válvulas en el IFPTM para Módulo Synthera V2 IBA.

Disolver el precursor PSMA-1007 con 1,5ml de Dimetil Sulfóxido. Colocar los frascos en la posición que corresponde:

- Vial 1: Posición Frontal Izquierda
- Vial 2b: Posición Posterior Izquierda
- Vial 3: Posición Posterior Derecha a través del tubo conector, aguja y filtro
- Vial 4: Posición Frontal Derecha
- Cartucho QMA: Posición Frontal
- Cartucho C-18: Posición Posterior
- Cartucho SCX: conector del tubo de salida
- Solución para Colect Vial: Colocar 10ml de Solución Fisiológica conteniendo 75mg de Ascorbato de Sodio.

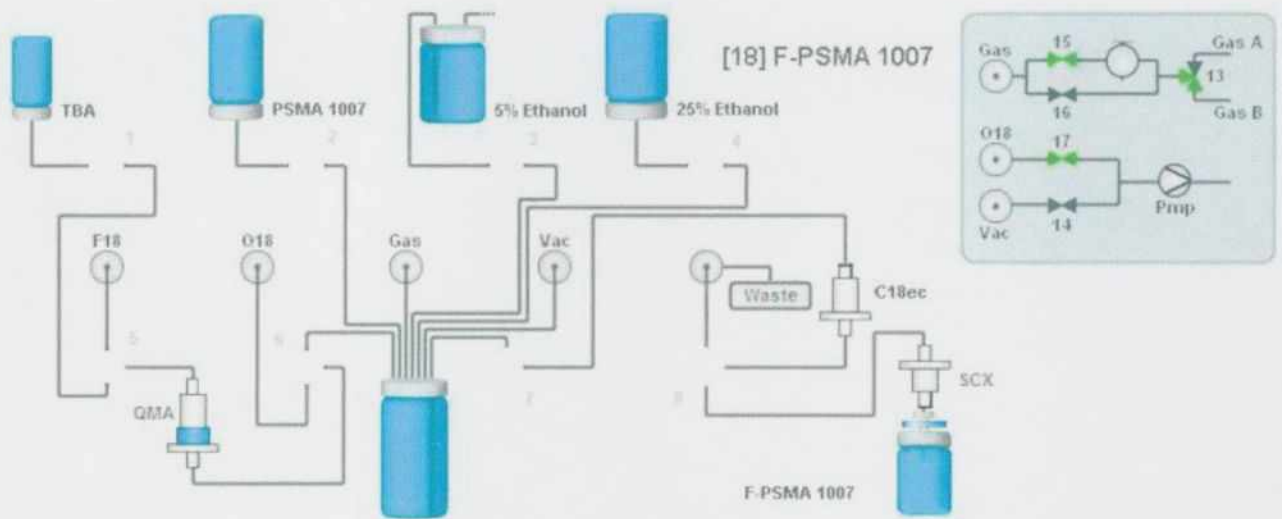


FIGURA 19

Esquema Módulo Synthera V2 IBA.

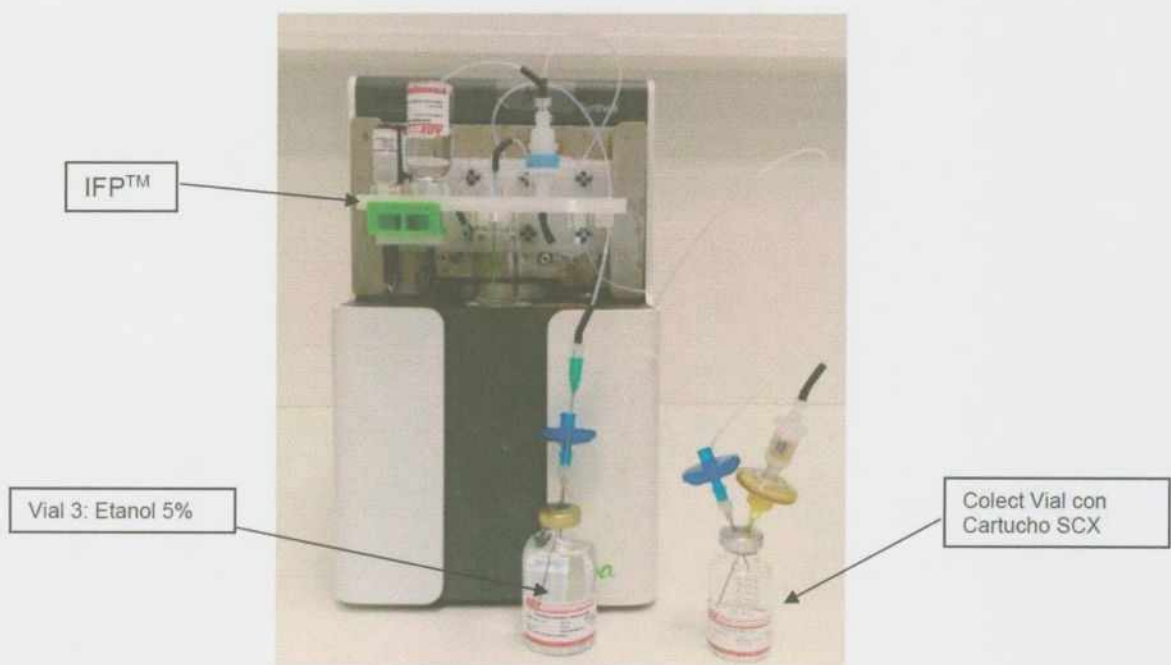


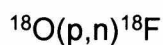
FIGURA 20

Foto Módulo Synthera IBA.

Desde el software IBA, el operador se loguea y abre el programa cargado para ^{18}F -PSMA-1007 y sigue las instrucciones, se carga el IFPTM, se conectan las tuberías y el programa se encarga de realizar todas las verificaciones previas a la síntesis. El software indica cuando todo está en condiciones para iniciar el proceso, en ese momento se retira la pieza de seguridad verde, se cierra la celda de síntesis a la espera del ^{18}F proveniente del ciclotrón.

3.2.2.2 Obtención del ^{18}F Flúor

Para la obtención de ^{18}F se irradió Agua enriquecida en ^{18}O en un Ciclotrón Siemens Eclipse RDS111 mediante la reacción nuclear.



Las condiciones de irradiación fueron las siguientes:

Irradiación	Hora de Inicio	Hora de Fin	Tiempo De Irrad (min)	Actividad Entregada (mCi)	Rendimiento (mCi/uA)	Corriente (uA)	Agua	Blanco
1	10:20	11:15	63	2270	141	50	TAIYO	BL1
2	10:50	11:30	44	2130	151,7	59	TAIYO	BL1

TABLA 6

Tabla con Condiciones de Irradiación. Operación de Ciclotrón-FCDN.

Una vez que se cumplió el tiempo de irradiación, el agua fue transportada al frasco colector que se encuentra dentro de un activímetro dentro de la celda de síntesis.



FIGURA 21

Foto Colector de H_2O^{18} . Nota: Foto Colector de Agua H_2O^{18} irradiada en Cámara de Ionización dentro de la Celda de Caliente.

3.2.2.3 Medición de la actividad con activímetro

Se midió la Actividad de ^{18}F dentro de la Celda de Síntesis:

Irradiación 1: 2.030 mCi.

Irradiación 2: 2.070 mCi.

3.2.2.3 Descripción del Proceso.

Una vez que se mide la actividad de ^{18}F a partir del agua irradiada proveniente del ciclotrón, comienza el proceso de síntesis.

El ^{18}F es retenido en el cartucho QMA (quaternary ammoniumchloride polymer), el agua pasa a través del cartucho y es colectada en un vial colector junto con las impurezas catiónicas metálicas provenientes del blanco. Posteriormente el ión Fluoruro se eluye con 600ul de una solución acuosa estabilizada con etanol de

TBA-HCO₃⁻ 0.075M. El anión HCO₃⁻ eluye el anión [¹⁸F]F⁻ y el TBA⁺ actúa como catalizador de transferencia de fase en la reacción de Sustitución Nucleofílica.

Se lleva a secado con ayuda de flujo de gas Nitrógeno y vacío. Se agrega el 1,0 mg de precursor en 1,5ml de DMSO y se calienta durante 10 minutos a 85°C para realizar la marcación. Se toma esta mezcla de reacción con 4ml de etanol al 5% y se pasa por el cartucho C-18, esto permite purificar el producto de impurezas hidrofílicas. Se lava veces con 5ml de etanol al 5%. El producto se eluye con 5ml de Etanol al 25% pasa por el cartucho SCX y se recoge en una solución fisiológica con ascorbato de sodio. La adición de ascorbato de sodio es para estabilizar el producto final, se demostró la estabilidad con la adición de ascorbato por 8hs adicionales.

Se transfirió el producto final a la celda de fraccionamiento en donde se llevó a cabo primero la medición de la actividad obtenida luego de la síntesis, luego se fraccionó la muestra que se envió a Control de Calidad.

3.2.2.4 Síntesis de [¹⁸F]F-PSMA-1007

La síntesis de [¹⁸F]F-PSMA-1007 es una sustitución aromática nucleofílica.

El ión ¹⁸Fluoruro, es un buen nucleófilo, en solución acuosa forma puente de Hidrógeno y se convierte en un anión no reactivo para sustitución nucleofílica. Sus propiedades nucleofílicas mejoran con la adición de un catalizador de transferencia de fase como es el TBA (Tetra Butil Amonio).

El catalizador de transferencia de fase (PTC) aloja a la molécula como un complejo dentro de su cavidad con un mecanismo similar a las interacciones enzima/sustrato. Los PTC son solubles tanto en medio acuoso como orgánico; transfieren al ion ¹⁸Fluoruro de la fase acuosa a la fase orgánica, cuando se elimina el agua del medio, el complejo PTC/¹⁸Fluoruro se solubiliza en el disolvente orgánico deseado.

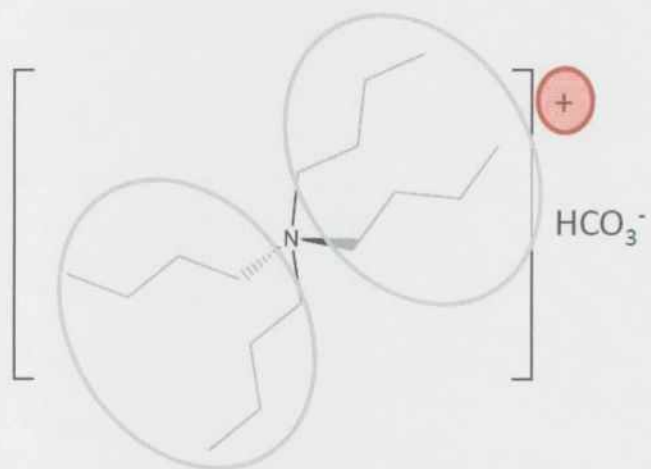


FIGURA 22

Esquema Molécula de TBAHCO-3.

El TBAHCO-3 tiene estabilidad térmica, la evaporación se lleva a cabo a aproximadamente 95°C.

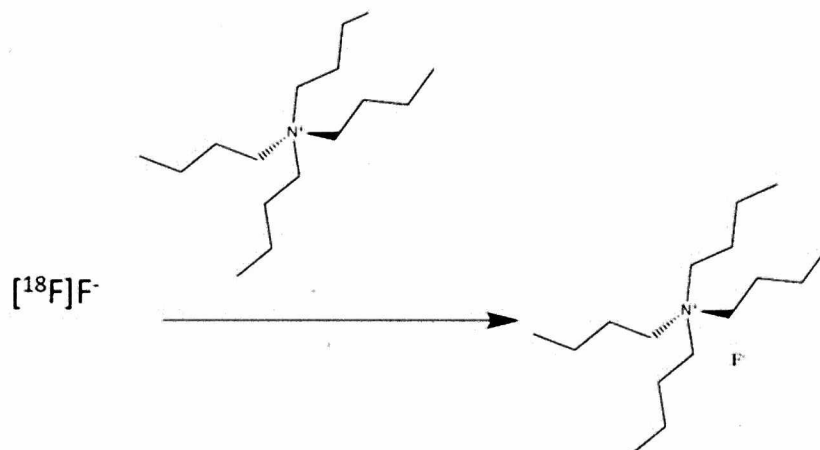


FIGURA 23

Formación del Complejo de TBA con ^{18}F Fluor.

Una vez formado el Complejo TBA- ^{18}F Fluor, se realiza el ataque nucleofílico al precursor, la marcación se lleva a cabo durante 10 minutos a 95°C . Es una sustitución aromática nucleofílica.

Para llevar a cabo una sustitución aromática nucleofílica es necesario que el anillo se encuentre activado, la presencia de buenos grupos salientes ayuda la sustitución, estos grupos pueden ser la sal de triamonio y el grupo nitro. Usualmente las sustituciones aromáticas nucleofílicas se llevan a cabo a temperaturas cercanas a los $100/110^{\circ}\text{C}$, pero para la fluorinación aromática en el grupo triamonio se utilizan temperaturas más bajas, por ello también se usa el DMSO como solvente ya que es estable a esta temperatura.

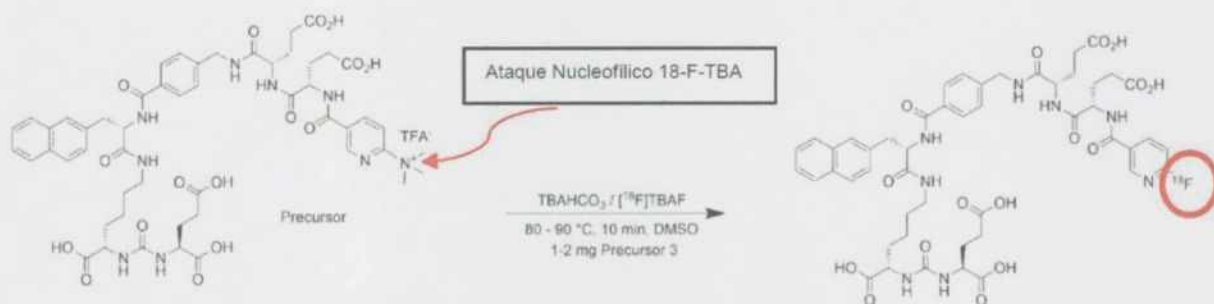


FIGURA 24

Reacción de Síntesis de [¹⁸F]FPSMA-1007. Nota: Esquema de radiosíntesis of [¹⁸F]PSMA-1007. TBAHCO₃: Tetra butil amonio hidrogen carbonato; TBAF: Tetra butill amonio fluouro; DMSO: Dimetil sulfóxido. (Jens Cardinale Pharmaceuticals 2017, 10, 77).

Una vez llevada a cabo la marcación, el producto final pasa a la etapa de purificación. Primero interviene un cartucho de C-18. Un cartucho de C-18 está hecho con una base de sílice derivatizado con cadenas de C-18, debido a su naturaleza apolar, se trata de un cartucho que purifica el producto final de impurezas polares y el DMSO. Retiene en [¹⁸F]FPSMA-1007 mientras que las impurezas son eliminadas en el frasco de desechos.

EL cartucho SCX (Strong Cation Exchange) retiene impurezas catiónicas como ser el TBA.

El [¹⁸F]FPSMA-1007 purificado es eluido con el etanol al 25%.

3.3 Resultados y Discusiones Parciales

Batch	Hora De Inicio	Hora Final	Actividad Inicial (mCi)	Tiempo (min)	Actividad Final (mCi)	Rendimiento	Rendimiento Corregido
23011701	11:32	12:06	2030	0:34	1120	55,2	68,4
23020301	11:36	12:19	2070	0:43	1180	57,0	74,8

TABLA 7

Registro de Producción de [¹⁸F]F-PSMA-1007 Radioquímica-FCDN.

Las actividades ingresadas en el módulo fueron similares y los rendimientos de las síntesis fueron óptimos tal cual lo informado en publicaciones científicas.

Las curvas que se obtuvieron en el registro de los procesos fueron las siguientes:



FIGURA 25

Gráfico Correspondiente a las Síntesis de [¹⁸F]F-PSMA-1007 Lote 23011701.

	<u>Begin</u>	<u>End</u>	<u>Total time</u>
Run:	11:31:40	12:16:53	00:45:13

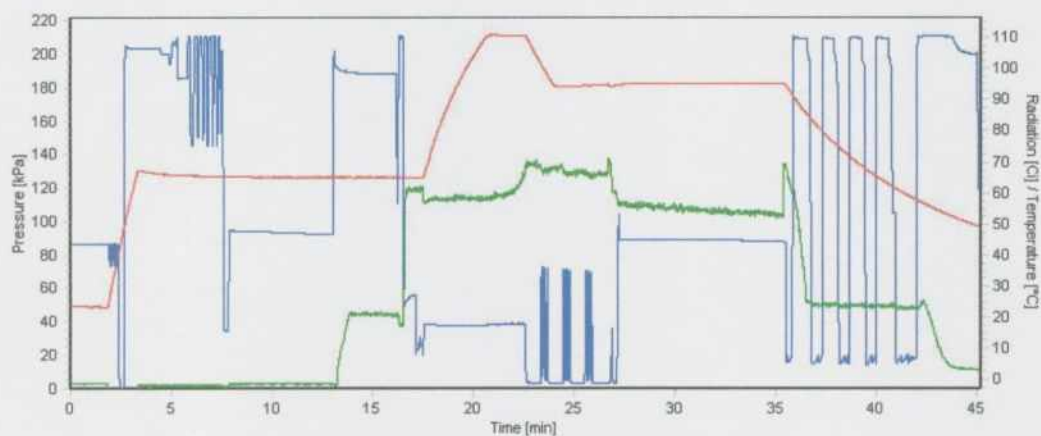


FIGURA 26

Gráfico Correspondiente a las Síntesis de [^{18}F]FPSMA-1007 Lote 23020301.

No se observan modificaciones en los reportes gráficos, la marcación fue exitosa, de acuerdo con los valores esperados.

CAPÍTULO 4

CONTROL DE CALIDAD

4.1 Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (WHO), el término "control de calidad" se refiere a la suma de todos los procedimientos realizados para garantizar la identidad y la pureza de un producto farmacéutico en particular.

El control de calidad de [¹⁸F]F-PSMA-1007 se basa en la Farmacopea Europea que establece ensayos a llevar a cabo de manera de evaluar parámetros físicos, químicos y microbiológicos para asegurar la calidad del radiofármaco.

- Ensayos Físicoquímicos.
- Apariencia.
- pH.
- Pureza Radioquímica
- Pureza Química:
- Pureza Radionucleídica.
- Ensayos Biológicos.
- Endotoxinas.
- Esterilidad.

Siglas de los Ensayos

HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia

TLC: Cromatografía en Capa Delgada

CG: Cromatografía Gaseosa

PARÁMETRO	METODO	CRITERIO DE ACEPTACION
APARIENCIA	Visual	Solución incolora o levemente amarillenta, transparente, libre de partículas
pH	Potenciométrico o tiras de pH	4,5-8,5
IDENTIDAD	HPLC	Rt ± 0.5 min del standard de referencia
PUREZA	HPLC	≥ 95 %
RADIOQUIMICA	TLC	≥ 95 %
PUREZA	Semiperiodo	110 ± 5 min
RADIONUCLEIDICA	Espectroscopia Gamma	511 keV ≥ 99.9% 1022 keV
PUREZA QUIMICA	HPLC	PSMA-1007: ≤ 0.1 mg/Vmax Otras impurezas: ≤ 0.1 mg/Vmax Suma de todas las impurezas: ≤ 0.5 mg/Vmax TBA: ≤ 2.6 mg/Vmax Acetonitrilo: ≤ 4.1 mg/Vmax DMSO: ≤ 50 mg/Vmax EtOH: ≤ 10% V/V Acetona: ≤ 50 mg/Vmax
ENDOTOXINAS	Test LAL	≤ 175 IU/Vmax
INTEGRIDAD DE FILTRO	Punto de Burbuja	≥ 3.5 bar (Cathivex-GV 0.22 µm)
ESTERILIDAD	Post liberación	Estéril

TABLA 8

Criterios de Aceptación para [¹⁸F]F-PSMA-1007 basados en European pharmacopoeia. Vmax: 10ml por paciente.

Se realizaron los ensayos de Apariencia y Pureza Radioquímica. Debido a la falta de estándares y columnas para el equipo de HPLC propios para el control de calidad de $[^{18}\text{F}]\text{F-PSMA-1007}$, se realizó la Pureza Radioquímica según el protocolo de control de calidad de TLC para $^{68}\text{Ga-PSMA-11}$.

La Pureza Radioquímica se define como la fracción porcentual de radiactividad del radionucleido declarado que está presente en la Preparación Radiofarmacéutica en la forma química declarada con relación a la radiactividad total de ese radionucleido (Guía para la evaluación de solicitudes de autorización de comercialización de preparaciones radiofarmacéuticas- Serie de Guías ANMAT – SG007-Año 2014)

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Materiales

4.2.1.1 Apariencia

Para el ensayo de Apariencia se necesita una jeringa y un tubo eppendorf

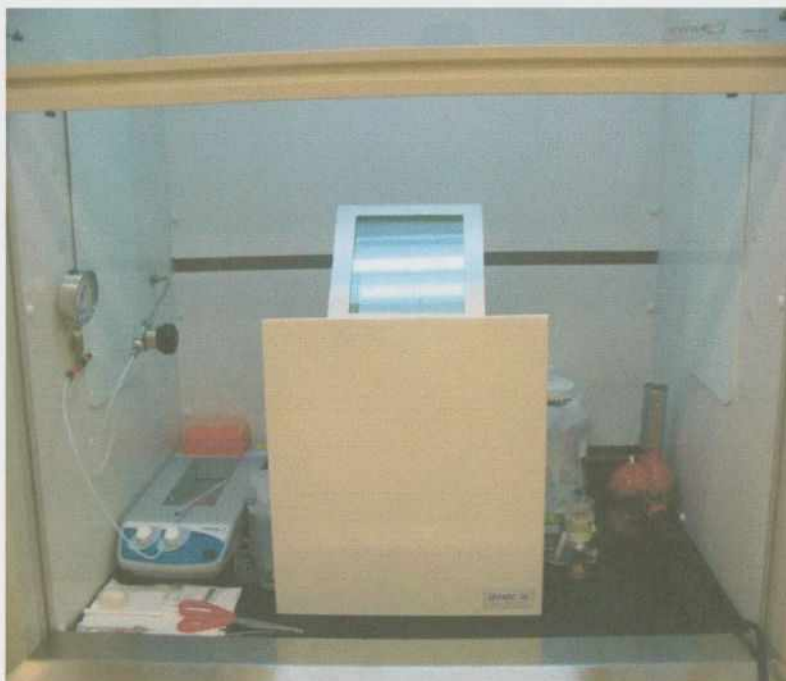


FIGURA 27

Foto Campana de Control de Calidad- Laboratorio Control de Calidad FCDN.

4.2.1.2 Pureza Radioquímica

Se utilizaron placas cromatográficas de 1,5cm x 10cm de papel para cromatografía de microfibra de vidrio impregnada en Sílica Gel (TLC-SG) y una radio TLC Elysia-raytest miniGita (PET).

Como Fase Móvil se usó una mezcla de Acetato de Amonio 77g/l /Metanol (50:50)



FIGURA 28

Radio TLC Elysia-raytest miniGita (PET) <https://www.elysia-raytest.com>.

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Descripción Ensayo de Apariencia

Este ensayo se realiza detrás de un vidrio plomado. Tomar la muestra del radiofármaco con una jeringa, dispensar el contenido de esta a un tubo eppendorf y observar el aspecto de la solución.

4.2.2.2 Descripción Ensayo de Pureza Radioquímica

Tomar la placa cromatográfica, marcar con un lápiz a 1 cm del límite inferior y a 5 cm aproximadamente que es la línea hasta donde se dejará llegar el solvente. Se siembran 2 μ l de muestra.

Verter en la cámara/cuba cromatográfica la fase móvil de manera de tener una altura de 3 mm de mezcla aproximadamente. Tapar para dejar que se sature la atmósfera de la cámara.

Depositar la placa sembrada en la cuba y esperar el tiempo necesario para llegar a la distancia estipulada de corrida. Retirar la placa.

Colocar en el radio scanner (TLC Scanner Gina miniGita star), realizar la corrida hasta obtener la/s curvas.

4.3 Resultados y Discusiones Parciales

4.3.1 Apariencia

El ensayo de apariencia fue satisfactorio, ambas muestras de los Lotes 230117 y 230203 fueron transparentes, con una leve coloración amarillenta, libre de partículas.

4.3.2 Pureza Radioquímica

Los resultados obtenidos de la radio TLC fueron:

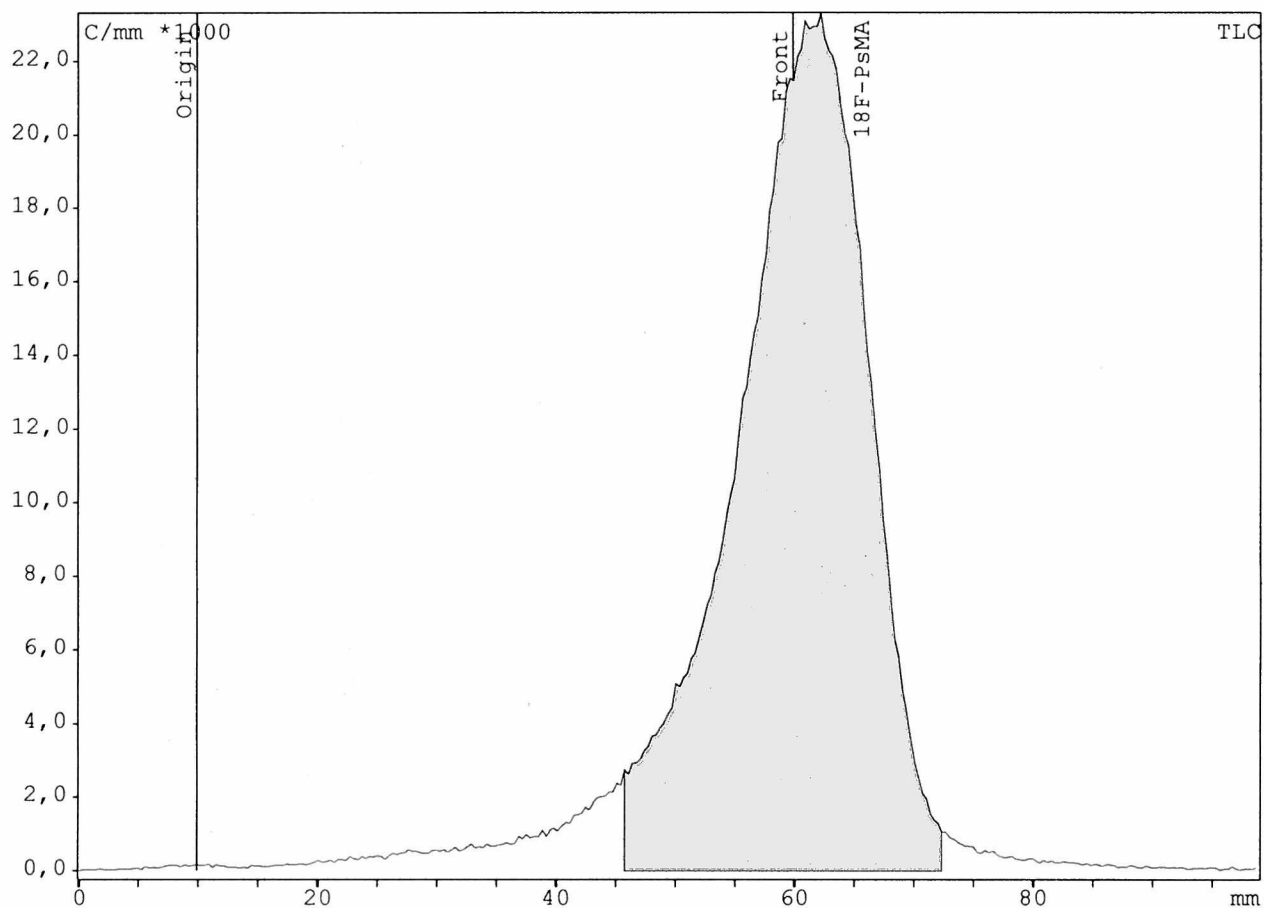


FIGURA 29

Gráfico de Ensayo de Pureza Radioquímica con radioTLC Producción 23011701.

Sample description

Study: ENERO 2023

Measurement: PRUEBA F-PSMA, started: 17/01/2023 12:25 p.m.

Method: 68 GALIO Date: 11/01/2023 07:40 a.m.

Origin: 10 mm Front: 60 mm

Meas. time: 0:02:02 h:m:s Resolution: 0,33 mm

High voltage: 675,0 V

Op: CC

Radio detector: Elysia-raytest miniGita (PET) Serial Nr: 1901334

Software Version: 6.3, Build 6411

Integration TLC

Substance	R/F	%Total %	Type	Area Counts	%Area %	R/T mm
18F-PsMA	1,033	90,60	DD(M)	299380,0	100,00	61,51
Sum in ROI	-	-	-	299380,0	100,00	-
Total area	-	-	-	330433,0	-	-
Area (total) RF	-	-	-	153280,0	-	-

FIGURA 30

Informe Descriptivo Ensayo de Pureza Radioquímica con radioTLC Producción 23011701.

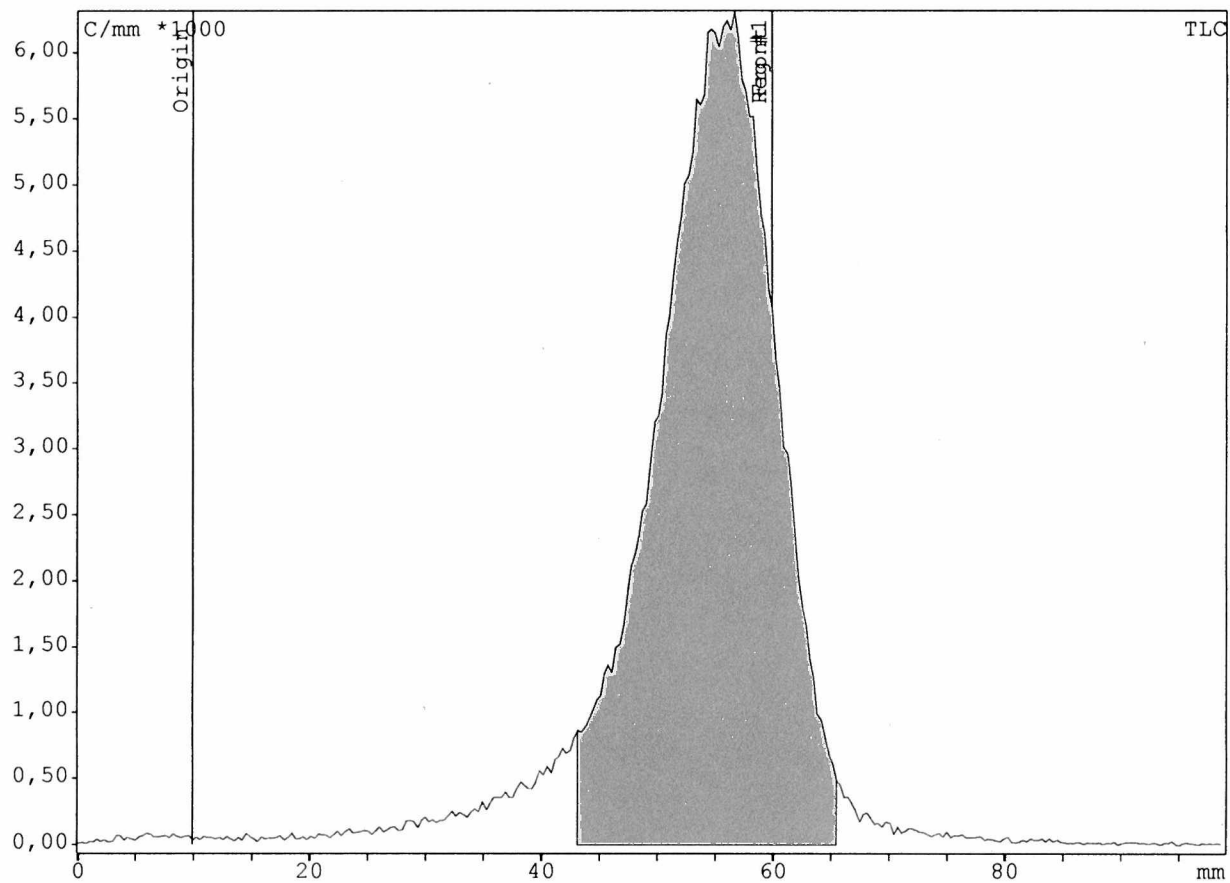


FIGURA 31

Gráfico de Ensayo de Pureza Radioquímica con radioTLC Producción 23020301.

Sample description

Study: ENERO 2023

Measurement: 18F-PSMA C. started: 03/02/2023 01:19 p.m.

Method: 68 GALIO Date: 11/01/2023 07:40 a.m.

Origin: 10 mm Front: 60 mm

Meas. time: 0:02:02 h:m:s Resolution: 0.33 mm

High voltage: 675,0 V

Op: CC

Radio detector: Elysia-raytest miniGita (PET) Serial Nr: 1901334

Software Version: 6.3, Build 6411

Integration TLC

Substance	R/F	%Total %	Type	Area Counts	%Area %	R/T mm
Reg #1	0.928	88,59	DD(M)	74932.00	100.00	56,24
Sum in	-	-	-	74932,00	100,00	-
ROI						
Total area	-	-	-	84579.00	-	-
Area (total) RF	-	-	-	70319.00	-	-

FIGURA 32

Informe descriptivo de Ensayo de Pureza Radioquímica con radioTLC Producción 23020301.

En las dos producciones realizadas la pureza radioquímica fue mayor al 95% con un ¹⁸F libre menor al 1%.

Si bien la fase móvil utilizada para el ensayo de [¹⁸F]F-PSMA-1007 es Acetonitrilo/Agua 60:40 v/v y el usado fue el protocolo de ⁶⁸Ga-PSMA-11 con una mezcla 50/50 v/v de Acetato de Amonio/Metanol, las polaridades de estas mezclas no difieren demasiado, por lo que estimamos que sería el protocolo más cercano al recomendado por la Farmacopea.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVA A FUTURO

5.1 Conclusiones

El objetivo de este Trabajo Final fue la síntesis de [^{18}F]F-PSMA-1007 en un módulo comercial con altos rendimientos de marcación.

Se tomó como referencia el trabajo "Procedures for the GMP-Compliant Production and Quality Control of [^{18}F]PSMA-1007- A Next Generation Radiofluorinated Tracer for the Detection of Prostate Cancer" de Cardinale en el cual se describe la síntesis de este radiofármaco con diferentes módulos automatizados.

Se eligió realizar la marcación con el Módulo Synthera® V2 IBA, se trata de una síntesis de un solo paso con una purificación final con un cartucho que simplifica el proceso, con buenos valores de rendimiento.

Los rendimientos de síntesis corregidos fueron 68,4% y 74,8% respectivamente, en concordancia con la publicación, por lo que no hubo que modificar ningún parámetro (temperatura, presión, tiempo).

Queda claro, que a pesar de no poder realizar los controles de calidad establecidos por la Farmacopea para [^{18}F]F-PSMA-1007, el resultado obtenido con el protocolo de ^{68}Ga -PSMA-11 fue mayor al 95%, este valor confirma el éxito de la síntesis.

5.2 Perspectiva a Futuro

Es necesario adquirir nuevos insumos para el módulo Synthera V2 IBA, así poder llevar a cabo más pruebas y evaluar la reproducibilidad de los resultados.

Se planteó la idea de probar la síntesis en el módulo TRASIS ALL IN ONE, poner a punto el método, de manera de contar con más opciones de marcación; para llevar a cabo esta prueba es necesario adquirir los insumos TRASIS.

A mediano plazo, es necesario contar con los estándares para realizar los controles de calidad propios de [^{18}F]F-PSMA-1007 y poner a punto las técnicas, validar los procesos y realizar un estudio de estabilidad del radiofármaco.

En lo personal, he planteado mi compromiso para seguir colaborando con desarrollo del proceso de obtención de [^{18}F]F-PSMA-1007 a la espera de la aprobación del radiofármaco por parte del ente regulador INAME-ANMAT.

BIBLIOGRAFÍA

ANMAT. (2014). Guía para la evaluación de solicitudes de autorización de comercialización de preparaciones radiofarmacéuticas- Serie de Guías ANMAT –SG007

American Cancer Society. Prostate Cancer.

<https://www.cancer.org/cancer/types/prostate-cancer.html>

Benesová M, Schäfer M, Bauder-Wüst U, Afshar-Oromieh A, Kratochwil C, Haberkorn U, Kopka K, Eder M. (2015) Preclinical Evaluation of a Tailor-Made DOTA-Conjugated PSMA Inhibitor with Optimized Linker Moiety for Imaging and Endoradiotherapy of Prostate Cancer. *The Journal of Nuclear Medicine* Vol 56 914–920.

DOI: 10.2967/jnumed.114.147413

Cardinale Jens, Martin R, Remde Y, Schäfer M, Hienzsch A, Hübner, Zerges A, Marx H, Hesse R, Weber K, Smits R, Hoepfing A, Müller M, Neels O and Kopka K. (2017) Procedures for the GMP-Compliant Production and Quality Control of [18F]-PSMA-1007: A Next Generation Radiofluorinated Tracer for the Detection of Prostate Cancer. *Pharmaceuticals* 10, 77.

DOI:10.3390/ph10040077

Cardinale Jens, Schäfer M, Benesová M, Ulrike Bauder-Wüst, Leotta K, Eder M, Neels O, Haberkorn U, Giesel F, and Kopka K (2017) Preclinical Evaluation of 18F-PSMA-1007, a New Prostate-Specific Membrane Antigen Ligand for Prostate Cancer Imaging. *The Journal of Nuclear Medicine* Vol 58:425–431.

Chang Sam S. (2004) Overview of Prostate-Specific Membrane Antigen. *Advances in Prostate Cancer. Reviews in Urology.* Vol 6 Suppl 10.

De Galiza Barbosa F, Queiroz M, Fernandes Nunes R, Bastos Costa L, Caroline Zaniboni E, Gomes Marin J, Cerri G and Buchpiguel C. (2020). Nonprostatic diseases on PSMA PET imaging: a spectrum of benign and malignant findings. *Cancer Imaging* 20:23

<https://doi.org/10.1186/s40644-020-00300-7>

Eppard E, de la Fuente A, Benesová M, Khawar A, Bundschuh R, Gärtner F, Kreppel B, Kopka K, Essler M and Rösch F. (2017) Clinical Translation and First In-Human Use of 44-Sc-PSMA-617 for PET Imaging of Metastasized Castrate-Resistant Prostate Cancer. *Theranostics* Vol 7, Issue 18 4359-4369.

European Pharmacopoeia 11.0. (2021) PSMA-1007 (¹⁸F) injection. Pag 1292-1294.

Fendler W P, Eiber M, Beheshti M, Bomanji J, Calais J, Ceci F, Cho S, Fanti S, Giesel F, Gofn K, Haberkorn U, Jacene H, Koo P, Kopka K, Krause B, Lindenberg L, Marcus C · Mottaghy F, Oprea-Lager D, Osborne J, Piert M, Rowe S, Schöder H, Wan S, Jürgen Wester H, Hope T and Herrmann K. (2023) PSMA PET/CT: joint EANM procedure guideline/SNMMI procedure standard for prostate cancer imaging 2.0. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 50:1466–1486.

<https://doi.org/10.1007/s00259-022-06089-w>

Henrich Ute and Eder Matthias, (2021) [68Ga]Ga-PSMA-11: The First FDA-Approved 68Ga-Radiopharmaceutical for PET Imaging of Prostate Cancer. *Pharmaceuticals* 14, 713.

<https://doi.org/10.3390/ph14080713>

Hoffmann Manuela A, von Eyben F, Fischer N, Rosar F, Müller-Hübenthal J, Georg Buchholz H, Wieler H and Schreckenberger M. (2022) Comparison of [18F]PSMA-1007 with [68Ga]Ga-PSMA-11 PET/CT in Restaging of Prostate Cancer Patients with PSA Relapse. *Cancers*. 14, 1479.

<https://doi.org/10.3390/cancers14061479>

Huang Junjie, On-Ting Chan E, Liu X, Lok V, Ngai C, Lin Zhang L, Xu W, Zheng Z, Fung Chiu P, Vasdev N, Enikeev D, Shariat S, Chi-Fai, Chun Teoh J and Wong M. (2023) Global Trends of Prostate Cancer by Age, and Their Associations With Gross Domestic Product (GDP), Human Development Index (HDI), Smoking, and Alcohol Drinking, *Clinical Genitourinary Cancer*, Vol. 000, 1–10

<https://doi.org/10.1016/j.clgc.2023.02.003>

Hyväkkä Anniina, Virtanen V, Kemppainen J, Grönroos T, Minn H and Sundvall M. (2021) More Than Meets the Eye: Scientific Rationale behind Molecular Imaging and Therapeutic Targeting of Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) in Metastatic Prostate Cancer and Beyond. *Cancers*. 13, 2244.

<https://doi.org/10.3390/cancers13092244>

Instituto Nacional del Cáncer, 2020. Estadísticas - Incidencias.

<https://www.argentina.gob.ar/salud/instituto-nacional-del-Cancer/estadisticas/incidencia>

Kessel Katharina, Bernemann C, Bögemann M and Rahbar K. (2021) Review. Evolving Castration Resistance and Prostate Specific Membrane Antigen Expression: Implications for Patient Management. *Cancers*. 13, 3556.

<https://doi.org/10.3390/cancers131435>

Kopka Klaus, Benesová M, Barrinka C, Haberkorn U and Babich J. (2017) Glu-Ureido-Based Inhibitors of Prostate-Specific Membrane Antigen: Lessons

Learned During the Development of a Novel Class of Low-Molecular-Weight Theranostic Radiotracers. *Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 58:17S-26S.

DOI: 10.2967/jnumed.116.186775

Li Zibo, Conti S. (2010) Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Advanced Drug Delivery Reviews* 62 (11) 1031-1051

doi:10.1016/j.addr.2010.09.007

Lisney Anna R, Leitsmann C, Strauß A, Meller B, Bucerius J and Oliver Sahlmann C. (2022) The Role of PSMA PET/CT in the Primary Diagnosis and Follow-Up of Prostate Cancer—A Practical Clinical Review. *Cancers*. 14, 3638.

<https://doi.org/10.3390/cancers14153638>

Morgat C, de Clermont Gallerande H, Fernandez P, Hindié R. (2019) Radiopharmaceuticals targeting PSMA for imaging and/or therapy. *Medicaments radiopharmaceutiques ciblant le PSMA pour l'imagerie et/ou la therapie. Médecine Nucléaire* 43 284-286.

<https://doi.org/10.1016/j.mednuc.2019.04.003>

Organismo Internacional de Energía Atómica. Radiofármacos de Diagnóstico.

<https://www.iaea.org/es/temas/radiofarmacos-de-diagnostico>.

Paymani Zeinab, Rohringer T, Vali R, Loidl W, Alemohammad N, Geinitz H, Langsteger W and Beheshti M. (2020) Diagnostic Performance of [18F]Fluorocholine and [68Ga]Ga-PSMA PET/CT in Prostate Cancer: A Comparative Study. *Journal of Clinical Medicine*. 9, 2308.

doi:10.3390/jcm9072308

Piron S, Verhoeven J, Vanhove C, De Vos F (2022). Recent advancements in 18F-labeled PSMA targeting PET radiopharmaceuticals. *Nuclear Medicine and Biology* 106-107, 29-51.

Rajasekaran A K, Gopalakrishnapillai A and Christiansen J. (2005) Is prostate-specific membrane antigen a multifunctional protein? *American Journal of Cell Physiology* 288: C975–C981
doi:10.1152/ajpcell.00506.2004.

Rasul Sazan and Haug A. (2022) Clinical Applications of PSMA PET Examination in Patients with Prostate Cancer. *Cancers*. 14, 3768.
<https://doi.org/10.3390/cancers14153768>

Rodriguez Fraile M, Tamayo Alonso, P Rosales JJ, de Arcocha-Torres M, Caresia- Aróztegui A, Puig Cózar-Santiago M, Orcajo- Rincón J, Simó M, Delgado Bolton R, Artigas Guix C. (2022) The role of PSMA radioligands in the diagnosis and treatment of prostate carcinoma. *Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular* 41 126–135.

Schwenck J, Rempp H, Reischl G, Kruck S, Stenzl A, Nikolaou K, Pfannenbergl C and la Fougère C. (2017). Comparison of 68Ga-labelled PSMA-11 and 11C-choline in the detection of prostate cancer metastases by PET/CT. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 92-101, 44
DOI 10.1007/s00259-016-3490-6

Technical Reports Series N° 468. Cyclotron Produced Radionuclides: Physical Characteristics and Production Methods. IAEA. 2009. Pag 106-114.

Vermeulen Koen, Vandamme M, Bormans G and Cleeren F. (2019) Design and Challenges of Radiopharmaceuticals. *Nuclear Medicine*. 339-356, 49 (5).
<https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2019.07.001>

Vorlova Barbora, Knedlik T, Tykvart J and Konvalinka J. (2019) GCPII and its close homolog GCPIII: from a neuropeptidase to a cancer marker and beyond. *Frontiers in Bioscience, Landmark*, 24, 648-687