

Agentes para el diagnóstico por imágenes predirigidas

La presente invención se refiere a un compuesto N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida, y la versión etiquetada con ^{18}F de este compuesto, y a sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico de estos compuestos, y a intermedios para la preparación de estos compuestos, y a métodos para usar de estos compuestos para el diagnóstico por imágenes predirigidas, y a composiciones y formulaciones de estos compuestos para imágenes de diagnóstico (tales como imágenes predirigidas), y a métodos para el diagnóstico por imágenes predirigidas mediante el uso de estos compuestos, composiciones y formulaciones.

Históricamente, el diagnóstico por imágenes de PET mediante moléculas grandes se ha logrado a través del etiquetado directo de anticuerpos de longitud completa. Los anticuerpos poseen una especificidad y selectividad exquisitas, pero a menudo se ven obstaculizados por su lenta depuración. El diagnóstico por imágenes con anticuerpos usa radionúclidos de duración, donde el diagnóstico por imágenes se realiza después de una inyección 7-10 días después del radioinmunoconjugado para que se depure la señal de fondo no específica. Esta línea temporal no se incorpora fácilmente a la práctica clínica y expone al paciente a niveles innecesarios de radioactividad. Con el fin de minimizar las alteraciones en la práctica clínica normal y la exposición radioactiva del paciente, se han desarrollado sistemas de diagnóstico por imágenes predirigidas. Este enfoque predirigido es un proceso de dos etapas basado en la reacción biortogonal de demanda inversa de electrones de Diels-Alder (IEDDA) entre tetrazinas y derivados de *trans*-cicloocteno (TCO), que aprovecha la especificidad y selectividad de una molécula grande y la farmacocinética rápida de moléculas pequeñas con radionúclidos de vida corta. Hay numerosos ejemplos preclínicos de diagnóstico por imágenes predirigidas que se han descrito en la bibliografía para dianas periféricas (ver J. Med. Chem. 2017, 60, 8201–8217 y J. Label Compd. Radiopharm 2014, 57 285–290.).

Para los agentes de diagnóstico por imágenes del SNC basados en anticuerpos, la barrera hematoencefálica (BBB) presenta un desafío adicional. En 2017, el profesor Syvänen y sus colaboradores (Universidad de Uppsala) demostraron una mejor absorción cerebral de anticuerpos biespecíficos dirigidos a la protofibrilla A β , a través del transporte mediado por el receptor de transferrina (TfR) a través de la barrera hematoencefálica. Estudios de diagnóstico por imágenes de PET posteriores

con anticuerpos etiquetados con ^{124}I mostraron una distribución diferenciada entre ratones transgénicos y de tipo silvestre, 3 días después de la inyección. El patrón de distribución en diversas regiones del cerebro estaba en buena correlación con la patología A β , ver Stina Syvänen *et al. Theranostics*, 2017; 7 (2): 308-318.

Más allá de las moléculas grandes que penetran el cerebro, el otro requisito para cualquier estudio exitoso de diagnóstico por imágenes predirigidas del SNC es la disponibilidad de cazadores de micromolécula, reactivos pero estables, de depuración rápida, que penetran el cerebro y que contienen grupos reactivos tetrazina. Se ha informado que varios cazadores de tetrazina de micromolécula etiquetados con ^{11}C y ^{18}F tienen absorción cerebral apreciable (ver, Hannes Mikula *et al., Bioconjugate Chem* 2016, 27, 7, 1707-1712; Hannes Mikula *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 9655-9659). Sin embargo, no se ha informado su aplicación en estudios de diagnóstico por imágenes predirigidas del SNC.

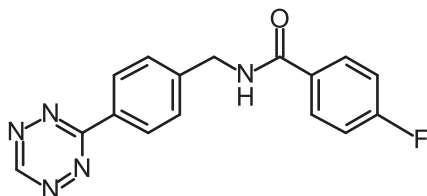
En 2019, Brendon Cook y sus colaboradores informaron sobre el primer caso de diagnóstico por imágenes predirigidas del SNC para estudiar la distribución de un oligonucleótido antisentido (ASO) en cerebro de rata (World Molecular Imaging Congress Conference, Póster 139). A las ratas se les administró por vía intratecal conjugado ASO-TCO 2,5 mm en 30 μl de solución salina y después una inyección intravenosa de una tetrazina penetrante del SNC, [^{18}F]-537-Tz, 24 y 168 horas después de ASO-TCO. Se realizaron barridos estáticos de PET-CT 75-90 minutos después de la administración de [^{18}F]-537-Tz. Se observó una mayor absorción del radiomarcador en el cerebro y la columna vertebral de los animales que recibieron ASO-TCO en comparación con el grupo de control. También se informó que [^{18}F]-537-Tz mostró absorción cerebral ($1,7 \pm 0,9$ % de ID a los 10 min después de la inyección) en ratones de tipo silvestre mediante diagnóstico por imágenes dinámicas de PET.

En comparación, el diagnóstico por imágenes dinámicas de PET de [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida en ratones WT mostró que este compuesto cruza fácilmente la barrera hematoencefálica y alcanza una absorción máxima en el cerebro de $4,1 \pm 0,3$ % de ID/g aproximadamente 2,5 min después de la inyección, seguida de una depuración constante del marcador a $0,8 \pm 0,1$ % de ID/g a los 60 minutos. Un agente que posee una penetración cerebral robusta y un lavado rápido y completo del cerebro proporcionan una ventana más grande para lograr mayores relaciones de señal con respecto a fondo, lo que da como resultado una

mejor calidad de imagen. Por lo tanto, se espera que [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida proporcione una ventaja para el diagnóstico por imágenes predirigidas del SNC.

Las presentes modalidades proporcionan compuestos, composiciones, formulaciones y métodos novedosos para el diagnóstico por imágenes predirigidas. Este tipo de tecnología mejorada que potencia la capacidad de obtener imágenes de los pacientes también es necesario, por lo tanto, para expandir los beneficios clínicos y el impacto de las imágenes de diagnóstico. Un agente para el diagnóstico por imágenes mejorado proporcionará imágenes predirigidas mejoradas, en comparación con los agentes conocidos actualmente.

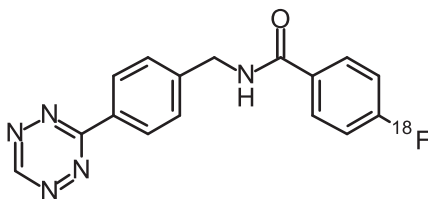
Las presentes modalidades también proporcionan el compuesto N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida, también denominado en la presente "Compuesto 1", que puede representarse estructuralmente como el compuesto de la Fórmula I:



I

El compuesto de la Fórmula I puede ser una base libre, como se muestra anteriormente, o puede ser una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico.

Las presentes modalidades proporcionan el compuesto [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida, que también se denomina en la presente "Compuesto 2", que puede representarse estructuralmente como el compuesto de la Fórmula II:



II

El compuesto de la Fórmula II puede ser una base libre, como se muestra anteriormente, o puede ser una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico.

Las presentes modalidades proporcionan sales aceptables desde un punto de vista farmacéutico del Compuesto 1 o del Compuesto 2 o el uso de los compuestos como base libre.

Las presentes modalidades proporcionan además el uso del compuesto de la Fórmula I y/o el compuesto de la Fórmula II, y/o mezclas de estos, para la preparación de agentes para diagnóstico por imágenes, tales como, por ejemplo, agentes para diagnóstico por imágenes predirigidas.

Las presentes modalidades proporcionan el uso de compuestos de la Fórmula I o II para la fabricación de un agente radiofarmacéutico para el diagnóstico por imágenes (diagnóstico por imágenes predirigidas) en seres humanos. En otro aspecto, la invención proporciona métodos para preparar compuestos de la Fórmula I o II.

En otro aspecto, las presentes modalidades proporcionan una composición farmacéutica que comprende el Compuesto 1 o el Compuesto 2, o una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico de estos, formulada en etanol (tal como, por ejemplo, EtOH al 10 % (v/v)) y amortiguador (que puede ser amortiguador PBS), preferentemente para su uso en seres humanos. También debe tenerse en cuenta que, en algunas modalidades, la formulación no incluye ascorbato o ácido ascórbico, ya que se ha descubierto que la porción tetrazina en la Fórmula I y la Fórmula II podría reducirse fácilmente con la formulación de ascorbato. Por lo tanto, si bien la formulación de ascorbato se usa fácilmente en muchas formulaciones para el diagnóstico por imágenes, puede que no sea adecuada para diagnóstico por imágenes con los compuestos de la Fórmula I o la Fórmula II.

La presente invención también proporciona métodos para el diagnóstico por imágenes predirigidas que comprenden introducir en un paciente una cantidad detectable del Compuesto 1 o 2, o una sal aceptable desde un punto de vista farmacéutico de este, o una composición de este.

Los siguientes esquemas, preparaciones y ejemplos se proporcionan para aclarar mejor la puesta en práctica de la presente invención. Las condiciones de reacción adecuadas para las etapas de estos esquemas, preparaciones y ejemplos son bien conocidas en la técnica y la modificación adecuada de las condiciones de

reacción, incluso la sustitución de disolventes y correactivos, se encuentra dentro de las capacidades de los expertos en la técnica.

Además, el experto en la técnica apreciará que, en algunas circunstancias, el orden en el que se introducen las porciones no es fundamental. El orden particular de las etapas requeridas para producir los compuestos de la Fórmula I o la Fórmula II depende del compuesto particular que se sintetiza, el compuesto de partida y la labilidad relativa de las porciones sustituidas, como bien aprecian los expertos en química. El experto en la técnica apreciará que no todos los sustituyentes son compatibles con todas las condiciones de reacción. Estos compuestos pueden protegerse o modificarse en un punto conveniente de la síntesis mediante métodos bien conocidos en la técnica. Los productos intermedios y acabados de la presente invención pueden purificarse adicionalmente, si se desea, mediante técnicas habituales, tales como recristalización o cromatografía sobre soportes sólidos, como gel de sílice o alúmina.

Los compuestos de la presente invención se formulan preferentemente como composiciones radiofarmacéuticas administradas mediante diversas vías. Preferentemente, tales composiciones son para uso intravenoso, preferentemente en seres humanos. En la técnica se conocen tales composiciones farmacéuticas y procesos para prepararlas. Ver, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (P.P. Gerbino, 21.^a ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2006).

Las formulaciones preferidas pueden ser preparaciones del Compuesto 1 o el Compuesto 2. Se prefiere particularmente que el Compuesto 1 o el Compuesto 2 se prepare de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente. Una formulación preferida del Compuesto 1 o el Compuesto 2 se formula en etanol, tal como, por ejemplo, EtOH al 10 % (v/v). Esta formulación también puede incluir un amortiguador, tal como un amortiguador PBS. También se pueden usar otros ingredientes.

Se ha descubierto que los compuestos de las Fórmulas I y II son sorprendente e inesperadamente ventajosos para el diagnóstico por imágenes predirigidas, preferentemente el diagnóstico por imágenes clínicas de seres humanos. En algunas modalidades, se pueden usar los Compuestos de la Fórmula I y II para el diagnóstico por imágenes predirigidas. Por ejemplo, los compuestos de las Fórmulas I y II pueden penetrar el cerebro y, por lo tanto, pueden usarse como marcador para el diagnóstico por imágenes predirigidas del SNC (sistema nervioso central). En algunas

modalidades, el diagnóstico por imágenes predirigidas de dianas del SNC puede lograrse en 3 o 4 etapas:

1. Administración por vía IV (intravenosa) o IT (intratecal) de conjugado biológico-TCO (por ejemplo, conjugado anticuerpo biespecífico-TCO transportado o conjugado oligonucleótido-TCO);
2. Espera del tiempo suficiente (días) para permitir la distribución y la depuración sistemática del conjugado biológico-TCO
3. Una etapa opcional de inyección IV de tetrazinas restringidas a la periferia para enmascarar el conjugado biológico-TCO que circula en la periferia;
4. Administración por vía IV de un compuesto que penetra el cerebro de la Fórmula I o la Fórmula II, seguida de diagnóstico por imágenes de PET del cerebro.

Con respecto a la preparación del conjugado biológico-TCO, el uso de dicha tecnología está publicado en la bibliografía (ver más abajo) y es conocido para estudios de diagnóstico por imágenes predirigidas en oncología:

1. Bioconjugate Chem. 2018, 29, 538–545 (conjugación de TCO-anticuerpo; uso de un agente de depuración para enmascarar el anticuerpo-TCO circulante)
2. Bioconjugate Chem. 2013, 24, 1210–1217 (conjugación de TCO-anticuerpo)
- J. Med. Chem. 2017, 60, 8201–8217 (conjugación de TCO-anticuerpo, optimización de radioligando predirigido)

Para la conjugación de oligonucleótido-TCO, este tipo de conjugado (una modificación de oligonucleótido TCO-PEG4) está disponible en el mercado a través de la empresa Bio-Synthesis de Lewisville, Texas, EE. UU. Por lo tanto, los expertos en la técnica apreciarán cómo realizar la preparación del conjugado biológico-TCO.

Algunos de los posibles beneficios del diagnóstico por imágenes predirigidas incluyen: la capacidad de usar radionúclidos de vida corta al separar la administración de la radioactividad del vector diana, como los productos biológicos con alta especificidad y selectividad, y la capacidad de reducir la exposición del paciente a la radioactividad.

Es posible que se usen ciertas abreviaturas a continuación. Estas abreviaturas significan lo siguiente: "núm. de CAS" se refiere al número de registro de Chemical Abstracts; "Ci" se refiere a curio o curios; "CT" se refiere a tomografía computarizada; " δ " se refiere al cambio químico en la espectroscopia de resonancia magnética nuclear; "DMF" se refiere a N,N-dimetilformamida; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "ES/MS" se refiere a espectrometría de masas por electropulverización; "HPLC" se refiere a cromatografía de líquidos de alta resolución; "min" se refiere a minuto o minutos; "mCi" se refiere a milicurio o milicurios; "MHz" se refiere a megahercios; " μ l" se refiere a microlitro o microlitros; "N" se refiere a la cantidad de repeticiones o tamaño de la muestra en un experimento; "NMR" se refiere a resonancia magnética nuclear; "PET" se refiere a tomografía por emisión de positrones; "OAc" se refiere a acetato; "ppm" se refiere a partes por millón; "SEM" se refiere a error estándar de la media; " t_R " se refiere a tiempo de retención; "WT" se refiere a tipo silvestre.

Química general y preparaciones

Las siguientes Preparaciones y Ejemplos ilustran adicionalmente la invención y representan la síntesis típica de los compuestos de la invención. Los expertos en la técnica pueden acceder con facilidad a los reactivos y materiales de partida, o los pueden sintetizar con facilidad. Debe entenderse que los Ejemplos se exponen a modo de ilustración y no de limitación y que un experto en la técnica puede realizar diversas modificaciones.

La espectroscopía de NMR se realiza en un espectrómetro de NMR Bruker AVIII HD de 400 MHz, obtenida como una solución de DMSO- d_6 , informada en ppm, mediante el uso de disolvente residual [DMSO- d_6 , 2,50 ppm] como estándar de referencia. Cuando se informan las multiplicidades de los picos, se pueden usar las siguientes abreviaturas: s (singulete), d (doblete), t (triplete), m (multiplete), las constantes de acoplamiento (J), cuando se informan, se expresan en hercios (Hz).

La ES/MS se realizó en un sistema Waters® Acquity UPLC. Se llevan a cabo mediciones de espectrometría de masas por electropulverización (adquiridas en modo negativo y/o positivo) en un detector de masas Waters Acquity® QDa interconectado con el sistema de UPLC. Condiciones de LC-MS: columna: Waters Acquity UPLC®

BEH 2,1 × 30 mm, 1,7 μ; gradiente: B al 10-98 % en 3 min, mantener B al 98 % durante 0,5 min y después volver a B al 10 % durante 0,6 min; temperatura de la columna: 40 °C +/-10 °C; caudal: 1,2 ml/min; Disolvente A: agua desionizada con HCOOH al 0,1 %; Disolvente B: acetonitrilo al 100 %; longitud de onda 250-650 nm.

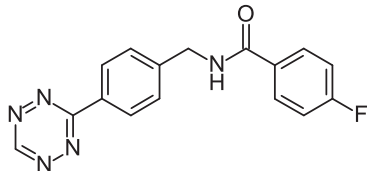
Los datos de HRMS se obtuvieron en un espectrómetro de masas Waters QTof mediante el uso de un modo de barrido positivo de ionización por electropulverización. Los datos de MS de resolución nominal se obtuvieron en un espectrómetro de masas Waters Micromass ZQ mediante el uso de un modo de barrido positivo de ionización por ESI.

Por supuesto, en la técnica se conocen otros instrumentos y medios de detección y para ES/MS y un experto en la técnica los conocería.

Las condiciones de HPLC preparativa y analítica, cuando se usan, se detallan a continuación.

Ejemplo 1

N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida

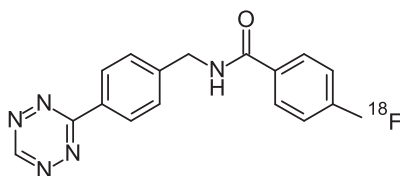


A una suspensión agitada de clorhidrato de [4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)fenil]metanamina (90 mg, 0,4 mmol, disponible en el mercado a través de Click Chemistry Tools, núm de CAS 1416711-59-5), trietilamina con soporte de polímero (400 mg, 1,2 mmol) en diclorometano (10 ml) se agrega gota a gota una solución de cloruro de 4-fluorobenzoílo (70 mg, 0,44 mmol, disponible en el mercado a través de Sigma-Aldrich, núm de CAS 403-43-0) en diclorometano (2 ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 30 min, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía sobre gel de sílice, eluyéndose con un gradiente de diclorometano al 0-60 %/acetato de etilo, para obtener el compuesto del título como un sólido púrpura (60 mg, rendimiento del 48 %) después de la evaporación de las fracciones cromatográficas deseadas. ¹H NMR (400,13 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 4,62 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 7,35-7,30 (m, 2H), 7,62 (d, J = 8,7 Hz, 2H),

8,02-7,98 (m, 2H), 8,49-8,46 (m, 2H), 9,16 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 10,57 (s, 1H). ^{19}F NMR (376,45 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: -109,3. ES/MS m/z 310 (M+H).

Ejemplo 2

^{18}F -N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida



Un rendimiento radioquímico típico del compuesto del título es del 3 % (mediante el uso de 0,7-3,7 Ci de actividad de partida) con un tiempo de síntesis total de 120-130 min. El intermedio 4- ^{18}F fluorobenzoato de N-succinimidilo se prepara de acuerdo con los métodos de la bibliografía (ver Wüst, F., Hultsch, C., Bergmann, R., Johannsen, B., Henle, T., 2003; Radiolabelling of isopeptide N- ϵ -(γ -glutamyl)-L-lysine by conjugation with N-succinimidyl-4- ^{18}F fluorobenzoate. Appl. Radiat. Isot. 59, 43–48) adaptado a una TRACERlab FX $_{\text{F-N}}$. ^{18}F fluorobenzoato (0,15-0,51 Ci) en acetonitrilo (1 ml) se seca bajo una corriente de nitrógeno a 60 °C y al residuo resultante, se agregan una solución de clorhidrato de [4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)fenil]metanamina (5 mg, 26,5 μmol) y trietilamina (29,1 mg, 287 μmol) en DMF anhidra (1 ml) y la solución resultante se mantiene a temperatura ambiente durante 15 min con agitación ocasional. La reacción en bruto se diluye con agua (2 ml) y se purifica por HPLC semipreparativa (Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4 x 250 mm, 5 μm , NH $_4$ OAc 20 mM al 55 % en agua/acetonitrilo al 45 %, caudal 4 ml/min, 280 nm). La fracción que contiene el compuesto del título purificado se diluye con agua (40 ml) y se reconstituye en una formulación de EtOH al 10 % (v/v) en solución salina al 0,9 % (10 ml) para su uso posterior. La cantidad de radiactividad específica del compuesto del título obtenido varía de 0,015 a 0,044 Ci.

Diagnóstico por imágenes de PET-CT de ^{18}F -N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida

Se usa un escáner Siemens Inveon[®] Multimodality (Siemens, Alemania) para el diagnóstico por imágenes de micro PET/CT. Se anestesian ratones macho CD-1 (6

semanas de edad, ~30 g) con isoflurano al 3 %/oxígeno al 97 % y se los coloca sobre el lecho del escáner. Se les administra a los ratones [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida mediante una inyección intravenosa en bolo en la vena de la cola (~300 μCi en un volumen total de 200 μl de solución salina). Se realiza un total de seis (cuatro de 60 min y dos de 90 min) barridos PET dinámicos, seguidos de un barrido computarizado breve de alta resolución para el registro anatómico. Se generan imágenes de PET por cada minuto del tiempo de adquisición. La absorción del marcador en el cerebro, músculo y hueso se determina al dibujar visualmente regiones de interés (ROI) en función de las imágenes de PET/CT fusionadas y los valores de actividad correspondientes se determinan con el *software* Inveon[®] Research Workplace. Todos los valores se representan como % de dosis inyectada por gramo (% ID/g).

El análisis de los cuatro barridos PET de 60 minutos indica que [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida cruza fácilmente la barrera hematoencefálica. Se observa una absorción cerebral máxima del 4,1 % ID/g 2,5 min después de la inyección, seguida de una depuración constante del marcador hasta el 0,8 % ID/g a los 59,5 min. También se observa la absorción de [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida en todo el cuerpo en órganos tales como el hígado, los riñones y el corazón. La absorción ósea durante el período de barrido se mantuvo baja, lo que coincide con la ausencia de desfluoración para este marcador. Los resultados de los barridos de 90 min son similares a los resultados del barrido de 60 min con una absorción cerebral máxima observada a 3,4 % ID/g a los 2,5 min después de la inyección seguida de un lavado inmediato a 0,6 % ID/g a los 59,5 min. También se observa absorción residual en todo el cuerpo del ratón. Se generan curvas de actividad en el tiempo para [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida en ratones macho CD-1 (n=4). Los datos se muestran en formato gráfico en las Figuras 1A y 1B y en formato tabular a continuación.

La Figura 1A es un gráfico de curvas de actividad en el tiempo de PET de 60 minutos para [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida (cerebro, músculo y hueso, N=4)

La Figura 1B es un gráfico de curvas de actividad en el tiempo de PET de 90 minutos para [^{18}F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida (cerebro, músculo y hueso, N=2)

Tabla 1A. Tabla de actividad en el tiempo de PET de 60 minutos para [¹⁸F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida (cerebro, músculo y hueso)

Tiempo (min)	Cerebro			Músculo			Hueso		
	Media	SEM	N	Media	SEM	N	Media	SEM	N
0	0	0	4	0	0	4	0	0	4
0,5	0,32	0,32	4	0,02	0,02	4	0,08	0,08	4
1,5	3,67	0,37	4	0,84	0,24	4	0,97	0,12	4
2,5	4,06	0,28	4	1,14	0,20	4	1,28	0,17	4
3,5	3,70	0,25	4	1,13	0,21	4	1,09	0,16	4
4,5	3,36	0,21	4	1,15	0,22	4	1,04	0,13	4
5,5	3,20	0,18	4	1,17	0,21	4	1,01	0,17	4
6,5	3,01	0,18	4	1,10	0,21	4	1,07	0,17	4
7,5	2,81	0,17	4	1,11	0,20	4	1,12	0,18	4
8,5	2,62	0,15	4	1,15	0,19	4	1,04	0,19	4
9,5	2,46	0,14	4	1,09	0,19	4	0,97	0,14	4
10,5	2,32	0,14	4	1,09	0,16	4	1,03	0,12	4
11,5	2,17	0,12	4	1,08	0,17	4	1,01	0,14	4
12,5	2,07	0,13	4	1,06	0,17	4	0,93	0,19	4
13,5	1,97	0,13	4	1,06	0,15	4	0,96	0,11	4
14,5	1,88	0,12	4	1,00	0,13	4	0,78	0,13	4
15,5	1,79	0,12	4	1,02	0,14	4	0,89	0,11	4
16,5	1,70	0,11	4	1,02	0,15	4	0,96	0,10	4
17,5	1,64	0,11	4	1,03	0,15	4	0,87	0,09	4
18,5	1,58	0,11	4	1,05	0,14	4	0,92	0,12	4
19,5	1,52	0,11	4	0,94	0,12	4	0,93	0,10	4
20,5	1,47	0,11	4	0,95	0,11	4	1,01	0,13	4
21,5	1,42	0,10	4	1,06	0,14	4	0,88	0,12	4
22,5	1,38	0,11	4	1,04	0,15	4	0,99	0,11	4
23,5	1,33	0,10	4	0,92	0,13	4	0,85	0,16	4
24,5	1,29	0,10	4	0,96	0,13	4	0,88	0,10	4

25,5	1,26	0,10	4	0,97	0,15	4	1,02	0,08	4
26,5	1,23	0,10	4	0,92	0,12	4	0,88	0,08	4
27,5	1,18	0,10	4	0,89	0,13	4	0,83	0,20	4
28,5	1,17	0,10	4	0,91	0,12	4	0,92	0,15	4
29,5	1,14	0,10	4	0,94	0,12	4	0,93	0,07	4
30,5	1,11	0,10	4	0,93	0,12	4	0,92	0,05	4
31,5	1,09	0,09	4	0,99	0,14	4	0,96	0,09	4
32,5	1,07	0,10	4	0,89	0,12	4	0,85	0,16	4
33,5	1,04	0,09	4	0,93	0,12	4	0,95	0,07	4
34,5	1,04	0,10	4	0,92	0,11	4	0,87	0,10	4
35,5	1,03	0,10	4	0,91	0,16	4	0,84	0,07	4
36,5	1,00	0,10	4	0,93	0,14	4	0,84	0,11	4
37,5	0,98	0,09	4	0,91	0,15	4	0,90	0,09	4
38,5	0,97	0,09	4	0,93	0,15	4	0,87	0,13	4
39,5	0,97	0,10	4	0,97	0,14	4	0,85	0,11	4
40,5	0,95	0,09	4	0,93	0,14	4	0,89	0,12	4
41,5	0,93	0,09	4	0,89	0,14	4	0,93	0,14	4
42,5	0,93	0,09	4	0,95	0,17	4	0,88	0,10	4
43,5	0,91	0,09	4	0,88	0,11	4	0,75	0,14	4
44,5	0,90	0,09	4	0,91	0,12	4	0,87	0,10	4
45,5	0,89	0,09	4	0,95	0,16	4	0,86	0,07	4
46,5	0,87	0,09	4	0,92	0,13	4	0,79	0,09	4
47,5	0,87	0,09	4	0,95	0,15	4	0,87	0,15	4
48,5	0,86	0,09	4	0,86	0,12	4	0,86	0,05	4
49,5	0,86	0,09	4	0,99	0,17	4	0,87	0,12	4
50,5	0,85	0,09	4	0,91	0,13	4	0,90	0,11	4
51,5	0,85	0,09	4	0,88	0,12	4	0,92	0,06	4
52,5	0,84	0,08	4	0,81	0,10	4	0,85	0,12	4
53,5	0,85	0,09	4	0,96	0,13	4	0,85	0,05	4
54,5	0,84	0,09	4	0,91	0,09	4	0,80	0,11	4
55,5	0,83	0,09	4	0,87	0,10	4	0,85	0,13	4
56,5	0,82	0,09	4	0,91	0,11	4	0,93	0,13	4

57,5	0,82	0,09	4	0,82	0,14	4	0,84	0,13	4
58,5	0,81	0,09	4	0,83	0,11	4	0,89	0,10	4
59,5	0,82	0,09	4	0,88	0,12	4	0,88	0,12	4

Tabla 1B. Tabla de actividad en el tiempo de PET de 90 minutos para [¹⁸F]-N-(4-(1,2,4,5-tetrazin-3-il)bencil)-4-fluorobenzamida (cerebro, músculo y hueso, % ID/g ± SEM)

Tiempo (min)	Cerebro			Músculo			Hueso		
	Media	SEM	N	Media	SEM	N	Media	SEM	N
0	0	0	2	0	0	2	0	0	2
0,5	0	0	2	0	0	2	0	0	2
1,5	2,02	0,66	2	0,29	0,05	2	0,48	0,10	2
2,5	3,41	0,74	2	0,63	0,02	2	0,90	0,29	2
3,5	3,06	0,66	2	0,66	0,05	2	0,90	0,15	2
4,5	2,76	0,58	2	0,63	0,08	2	0,90	0,30	2
5,5	2,50	0,50	2	0,60	0,13	2	0,87	0,02	2
6,5	2,38	0,49	2	0,68	0,09	2	0,97	0,30	2
7,5	2,19	0,44	2	0,62	0,13	2	0,94	0,29	2
8,5	2,02	0,40	2	0,68	0,17	2	0,93	0,17	2
9,5	1,87	0,37	2	0,71	0,17	2	1,01	0,35	2
10,5	1,74	0,34	2	0,65	0,12	2	0,70	0,38	2
11,5	1,63	0,33	2	0,66	0,19	2	0,82	0,28	2
12,5	1,55	0,32	2	0,67	0,14	2	0,84	0,17	2
13,5	1,44	0,29	2	0,65	0,14	2	0,83	0,45	2
14,5	1,36	0,27	2	0,64	0,19	2	0,63	0,21	2
15,5	1,29	0,27	2	0,64	0,21	2	0,62	0,36	2
16,5	1,23	0,25	2	0,60	0,20	2	0,71	0,42	2
17,5	1,16	0,24	2	0,62	0,20	2	0,51	0,19	2
18,5	1,11	0,23	2	0,63	0,22	2	0,71	0,15	2
19,5	1,04	0,21	2	0,63	0,22	2	0,74	0,34	2
20,5	1,02	0,22	2	0,66	0,21	2	0,63	0,36	2

21,5	0,97	0,20	2	0,61	0,13	2	0,70	0,35	2
22,5	0,95	0,22	2	0,61	0,21	2	0,69	0,34	2
23,5	0,91	0,20	2	0,65	0,18	2	0,78	0,33	2
24,5	0,88	0,20	2	0,64	0,25	2	0,73	0,34	2
25,5	0,85	0,19	2	0,62	0,19	2	0,95	0,49	2
26,5	0,83	0,18	2	0,58	0,21	2	0,64	0,28	2
27,5	0,82	0,19	2	0,60	0,21	2	0,69	0,20	2
28,5	0,81	0,19	2	0,62	0,21	2	0,60	0,21	2
29,5	0,78	0,18	2	0,63	0,23	2	0,76	0,42	2
30,5	0,76	0,18	2	0,64	0,24	2	0,76	0,39	2
31,5	0,75	0,18	2	0,66	0,19	2	0,60	0,35	2
32,5	0,74	0,20	2	0,63	0,24	2	0,70	0,41	2
33,5	0,72	0,18	2	0,62	0,25	2	0,67	0,29	2
34,5	0,70	0,17	2	0,60	0,24	2	0,74	0,48	2
35,5	0,70	0,17	2	0,65	0,25	2	0,69	0,24	2
36,5	0,70	0,18	2	0,65	0,25	2	0,79	0,43	2
37,5	0,68	0,17	2	0,59	0,27	2	0,62	0,40	2
38,5	0,68	0,17	2	0,63	0,24	2	0,87	0,16	2
39,5	0,66	0,17	2	0,61	0,23	2	0,60	0,29	2
40,5	0,66	0,17	2	0,61	0,27	2	0,82	0,44	2
41,5	0,66	0,17	2	0,59	0,25	2	0,77	0,40	2
42,5	0,65	0,18	2	0,63	0,20	2	0,61	0,23	2
43,5	0,64	0,17	2	0,64	0,22	2	0,65	0,44	2
44,5	0,64	0,17	2	0,66	0,20	2	0,61	0,39	2
45,5	0,64	0,17	2	0,63	0,20	2	0,66	0,30	2
46,5	0,64	0,17	2	0,64	0,22	2	0,67	0,32	2
47,5	0,64	0,17	2	0,65	0,27	2	0,69	0,43	2
48,5	0,62	0,16	2	0,61	0,25	2	0,76	0,42	2
49,5	0,62	0,16	2	0,62	0,20	2	0,91	0,40	2
50,5	0,61	0,16	2	0,60	0,22	2	0,58	0,28	2
51,5	0,63	0,17	2	0,59	0,20	2	0,70	0,43	2
52,5	0,63	0,16	2	0,65	0,18	2	0,51	0,27	2

53,5	0,62	0,17	2	0,64	0,24	2	0,68	0,27	2
54,5	0,63	0,16	2	0,69	0,27	2	0,55	0,28	2
55,5	0,61	0,16	2	0,63	0,20	2	0,68	0,42	2
56,5	0,62	0,17	2	0,67	0,22	2	0,65	0,44	2
57,5	0,63	0,17	2	0,63	0,29	2	0,62	0,32	2
58,5	0,63	0,17	2	0,67	0,25	2	0,67	0,31	2
59,5	0,62	0,16	2	0,63	0,17	2	0,58	0,25	2
60,5	0,62	0,16	2	0,63	0,24	2	0,70	0,35	2
61,5	0,62	0,17	2	0,65	0,22	2	0,76	0,26	2
62,5	0,62	0,16	2	0,65	0,24	2	0,79	0,41	2
63,5	0,62	0,17	2	0,69	0,28	2	0,79	0,27	2
64,5	0,62	0,17	2	0,57	0,18	2	0,65	0,20	2
65,5	0,62	0,17	2	0,63	0,21	2	0,66	0,12	2
66,5	0,62	0,17	2	0,69	0,30	2	0,79	0,50	2
67,5	0,63	0,18	2	0,70	0,26	2	0,89	0,47	2
68,5	0,64	0,17	2	0,64	0,21	2	0,71	0,51	2
69,5	0,64	0,17	2	0,63	0,24	2	0,68	0,25	2
70,5	0,63	0,17	2	0,61	0,28	2	0,53	0,13	2
71,5	0,63	0,17	2	0,67	0,20	2	0,82	0,36	2
72,5	0,64	0,18	2	0,65	0,18	2	0,74	0,23	2
73,5	0,64	0,17	2	0,68	0,26	2	0,73	0,26	2
74,5	0,65	0,17	2	0,68	0,25	2	0,72	0,25	2
75,5	0,66	0,18	2	0,63	0,25	2	0,67	0,20	2
76,5	0,65	0,18	2	0,68	0,18	2	0,58	0,24	2
77,5	0,65	0,18	2	0,66	0,21	2	0,63	0,28	2
78,5	0,64	0,17	2	0,63	0,16	2	0,71	0,44	2
79,5	0,65	0,17	2	0,69	0,15	2	0,51	0,27	2
80,5	0,65	0,17	2	0,66	0,19	2	0,70	0,29	2
81,5	0,66	0,17	2	0,66	0,21	2	0,56	0,09	2
82,5	0,65	0,17	2	0,68	0,21	2	0,76	0,53	2
83,5	0,65	0,18	2	0,68	0,23	2	0,77	0,33	2
84,5	0,66	0,17	2	0,70	0,21	2	0,70	0,22	2

85,5	0,65	0,17	2	0,67	0,17	2	0,57	0,12	2
86,5	0,66	0,18	2	0,68	0,26	2	0,59	0,37	2
87,5	0,66	0,16	2	0,71	0,22	2	0,76	0,24	2
88,5	0,66	0,17	2	0,66	0,24	2	0,81	0,38	2
89,4	0,66	0,17	2	0,70	0,23	2	0,76	0,26	2