

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 902**

51 Int. Cl.:
A61K 51/04 (2006.01)
C07F 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05796769 .7**
96 Fecha de presentación: **04.10.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1799274**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.06.2007**

54 Título: **Nuevos complejos de tecnecio y renio, ligandos usados en su preparación y su uso como productos radiofarmacéuticos**

30 Prioridad:
04.10.2004 GB 0421987

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.03.2012

73 Titular/es:
**GE HEALTHCARE LIMITED
AMERSHAM PLACE
LITTLE CHALFONT BUCKINGHAMSHIRE HP7
9NA, GB**

72 Inventor/es:
BHALLA, Rajiv

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 376 902 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCION

Nuevos complejos de tecnecio y renio, ligandos usados en su preparación y su uso como productos radiofarmacéuticos

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a complejos de tecnecio (Tc) y renio (Re) radioactivos y en particular a complejos de Tc basados en tecnecio(I) [Tc(I)]. Mediante la presente invención, se proporcionan nuevos complejos de Tc y Re, así como un cierto número de nuevos ligandos adecuados para uso en la formación de dichos complejos. Adicionalmente, la presente invención se refiere a productos radiofarmacéuticos que comprenden los nuevos complejos de Tc y Re y a kits para la fácil preparación de dichos productos radiofarmacéuticos. Igualmente, se encuentran cubiertos por la presente invención diversos usos de estos productos radiofarmacéuticos.

Descripción de la técnica relacionada

15 La química de coordinación de Tc y Re juega un papel importante en el diseño y síntesis de nuevos productos radiofarmacéuticos para medicina nuclear. Los productos radiofarmacéuticos de ^{99m}Tc tienen una aplicación ampliamente difundida en el campo de la medicina nuclear. Las propiedades físicas del ^{99m}Tc le hace ser uno de los radionúclidos más deseados para la obtención de imágenes externas. Se encuentra fácilmente disponible a partir de sistemas generadores de ^{99}Mo - ^{99m}Tc , tiene una vida media de 6 horas y una emisión de energía gamma óptima de 140 keV. Los complejos de Re son modelos estructurales de los complejos de Tc, puesto que los compuestos homólogos muestran parámetros de coordinación y propiedades físicas muy similares. Además, los complejos de Re con los núcleos ^{186}Re y ^{188}Re tienen propiedades atractivas dado que son β -emisores con energía útil terapéuticamente. Se ha informado de una amplia diversidad de complejos con estos metales, algunos de los cuales son actualmente usados en medicina nuclear.

25 Los productos radiofarmacéuticos a base de Tc(I) son deseables debido al hecho de que el ion Tc(I) de bajo spin d^6 es cinéticamente inerte, lo que significa que dichos productos radiofarmacéuticos son extremadamente estables *in vivo*. Durante muchos años, el único producto radiofarmacéutico importante con Tc en un estado de baja oxidación ha sido el $^{99m}\text{Tc}[\text{MIBI}]_6^+$, el cual es estable *in vivo*, pero no muy adecuado para sustitución química. Más recientemente, el desarrollo de productos radiofarmacéuticos Tc(I) adicionales ha estado basado en el descubrimiento de un procedimiento rápido y simple para la preparación de un resto Tc(I) reactivo, facilitándose, de esta forma, la extensa aplicación de la química organometálica. Este resto Tc(I) reactivo es $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ y fue informado por Alberto y otros [J. Am. Chem. Soc., vol. 120, págs. 7987-8, (1998)]. Las tres moléculas de agua unidas a al núcleo *fac*- $[\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ altamente inerte pueden ser fácilmente substituidas por un cierto número de grupos funcionales para tapar una cara del ion Tc(I) y producir complejos estables conteniendo el resto $\text{Tc}(\text{CO})_3$. Por ejemplo, Kothari y otros [Appl. Rad. Isot., vol. 58, págs. 543-9, (2003)] han demostrado que el ligando NP_2 reacciona con $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ para formar un quelato estable.

35 Sería ventajoso si el desarrollo adicional de los productos radiofarmacéuticos de tecnecio y renio condujera a la disposición de complejos de metal estables que sean (i) fácilmente acoplados a una diversidad de vectores biológicos, (ii) fácilmente modificados para producir tanto complejos de metal neutros como cargados unipositivamente, y (iii) fácilmente derivados con el fin de modificar tanto las propiedades electrónicas como la solubilidad de los complejos de metal.

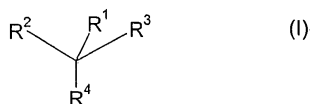
40 El ligando trípode *tris*(2-piridil)metilamina, y algunos de sus derivados, ha sido informado por Arnold y otros [JCS Dalton Trans, págs. 736-46, (2001)]. El artículo divulga complejos de los ligandos con cobre(II) y cinc(II) conjuntamente con sus estructuras cristalinas para demostrar los modos de coordinación de los diversos complejos. No se sugiere por Arnold el que los ligandos divulgados pudieran ser útiles en la producción de complejos de tecnecio y renio radioactivos.

Sumario de la invención

45 La presente invención proporciona nuevos complejos de tecnecio y renio que comprenden ligandos trípodes. Los ligandos trípodes usados en la presente invención forman complejos de metal que muestran propiedades superiores sobre los complejos de metal de la técnica anterior.

Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un complejo de metal del ligando de Fórmula I:



50

en la que:

el metal es un isótopo radioactivo o bien de tecnecio o bien de renio;

R¹ - R³ están independientemente seleccionados entre piridilo, imidazolilo y pirazolilo; y

R⁴ es -NH(CO)Ph, -NH(CO)(CH₂)₃-(CO)NHCH₂Ph, -NH(CO)(3-piridilo), -NH(CO)(4-piridilo), -NH(CO)CH₂-piperidinilo, -NH(CO)NH₂, o -NH(CO)(2,4-imidazolilo);

5 y en la que no más de tres de cinco posibles átomos del ligando están implicados en el acomplejamiento.

Un "complejo de metal" tal como se define en la presente invención, significa un complejo de coordinación relativamente estable, en el que el ligando es de Fórmula I y el metal central es un isótopo de Tc o Re. Cuando el metal es un isótopo de Tc, es preferiblemente ^{99m}Tc o ^{94m}Tc, en cuyo caso el complejo Tc de la invención adecuado para la obtención de imágenes de diagnóstico *in vivo* mediante tomografía computerizada por emisión de un único fotón (SPECT) o mediante tomografía por emisión de positrón (PET), respectivamente. Cuando el metal es un isótopo de Re, este es preferiblemente ¹⁸⁶Re o ¹⁸⁸Re y, en consecuencia, adecuado para terapia. Se prefiere firmemente que el complejo de metal sea "resistente a la transquelatación", es decir, no experimente fácilmente intercambio de ligandos con otros ligandos potencialmente en competencia por los sitios de coordinación del metal.

15 El grupo acilo de R⁺ no compite con los átomos donantes de los grupos R¹, R² y R³. Dicha competencia puede ser un problema cuando R⁴ es amino (es decir, q = 0 e Y es amino), puesto que el grupo amina puede formar igualmente un quelato de 5 anillos favorecido tras la coordinación del metal.

En un complejo de metal preferido del ligando de Fórmula I, el metal se coordina a través del átomo de nitrógeno de R¹ - R³, de manera tal que el ligando actúa como un agente de quelatación trípode.

20 Las realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención señalado anteriormente, son complejos de metal con un estado de oxidación de +1. Estos complejos son de particular interés cuando el metal es tecnecio debido a la baja inercia cinética del ion Tc(I) de bajo spin d⁶. Además, es posible derivar el ligando con un cierto número de moléculas diana biológicas que permiten el uso de los complejos resultantes en una diversidad de aplicaciones. Una ventaja clave del protocolo de síntesis es que los ligandos trípodes pueden modificarse fácilmente para producir tanto complejos neutros como cargados.

25 Los complejos de radiometal de la presente invención pueden prepararse mediante la reacción de una solución del radiometal en un estado de oxidación apropiado con el ligando de Fórmula I al pH apropiado. Preferiblemente, la solución puede contener un ligando que se acompleje débilmente al metal (tal como gluconato o citrato), es decir, el complejo de radiometal se prepara mediante intercambio de ligandos o transquelatación. Dichas condiciones son útiles para suprimir reacciones secundarias indeseables tales como la hidrólisis del ion del metal. Cuando el ion del radiometal es ^{99m}Tc, el material de partida usual es un pertecneiato sódico a partir de un generador de ⁹⁹Mo. El tecnecio está presente en el pertecneiato de ^{99m}Tc en el estado de oxidación de Tc(VII), el cual es relativamente no reactivo. La preparación de complejos de tecnecio de estado de oxidación inferior Tc(I) a Tc(V), requiere usualmente, en consecuencia, la adición de un agente de reducción aceptable farmacéuticamente adecuado tal como ditionito sódico, bisulfito sódico, ácido ascórbico, ácido formamidino sulfínico, ion estannoso, Fe(II) o Cu(II), para facilitar el acomplejamiento. El agente de reducción aceptable farmacéuticamente es, preferiblemente, una sal estannosa, lo más preferiblemente cloruro estannoso, fluoruro estannoso o tartrato estannoso.

30 Mease y otros [Semin. Nucl. Med., vol. 31, (nº. 4), págs. 274-285, (2001)] muestran detalles adicionales sobre la preparación de complejos de metal de ^{99m}Tc. Hashimoto y otros [Capítulo 9, págs.. 275-291, en Technetium ad Rhenium: Their Chemistry and its Applications, Yoshihara and Omori (Eds), Springer, Berlin, (1996)] muestran detalles adicionales sobre la preparación de complejos de metal de renio radioactivos. Un procedimiento preferido de preparación de complejos de ^{99m}Tc de la presente invención es mediante el uso de kits liofilizados, tal como se describe en la quinta realización, más adelante.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona un complejo de metal de Fórmula II:



45 en la que L es un ligando de Fórmula I tal como se ha definido para la primera realización,

M es un isótopo radioactivo de tecnecio o de renio;

X está seleccionado entre CO, halógeno, fosfina o isonitrilo; y

n es la carga sobre el complejo de metal, y puede ser -1, 0, +1 ó +2.

50 Cuando X es un isonitrilo, este es de manera adecuada un isonitrilo monodentado. Cuando los tres grupos X son fosfinas, los tres átomos donantes X pueden estar formados hasta por tres fosfinas monodentadas, una única fosfina tridentada o una mezcla de una fosfina monodentada y una bidentada.

La carga sobre el complejo de metal (n) de Fórmula II dependerá de los átomos donantes presentes en el ligando (L) y de la identidad de X. Así, por ejemplo, cuando X es CO, fosfina o isonitrilo, estos son donantes neutros y no afectan a la carga. Sin embargo, cuando X es halógeno estos son donantes cargados negativamente.

5 Los complejos de metal de Fórmula II pueden prepararse tal como se ha descrito para la primera realización (anteriormente), además de los procedimientos de Barrera y otros [*Inorg. Chem.*, vol. 35, págs. 335-341, (1996)].

Un grupo X preferido de Fórmula II es CO (es decir, un grupo carbonilo). Este corresponde al complejo cargado de Fórmula IIa y al complejo neutro de Fórmula IIb, tal como se describe a continuación:



en la que: M es tal como se ha definido en la Fórmula II;

10 L es un ligando tal como se ha definido anteriormente;

R^1 es un grupo E o es $-\text{CH}_2(\text{AR}^5)$, en la que R^5 es alquilo de C_{1-6} ;

en la que n es +1 ó +2.

15 Los complejos de metal preferidos de Fórmula IIa comprenden los ligandos preferidos tal como se han descrito para la primera realización (anteriormente). Preferiblemente, n es +1. Preferiblemente, R^1 , R^2 y R^3 en la Fórmula IIa son cada uno $\text{NH}(\text{CO})-(\text{Z})_x$ -Y 2-piridilo, en la que x es un número entero de valor 0 a 9 tal como se ha descrito anteriormente para la Fórmula II. Cuando Y no es un resto diana biológico, Y es preferiblemente amino, fenilo, piridilo, piperidilo o imidazolilo. Lo más preferiblemente, R^4 es $-\text{NH}(\text{CO})\text{Ph}$, $-\text{NH}(\text{CO})(\text{CH}_2)_3-(\text{CO})\text{NHCH}_2\text{Ph}$, $-\text{NH}(\text{CO})(3\text{-piridilo})$, $-\text{NH}(\text{CO})(4\text{-piridilo})$, $-\text{NH}(\text{CO})\text{CH}_2\text{-piperidinilo}$, $-\text{NH}(\text{CO})\text{NH}_2$, o

En las Fórmulas II y IIa, M es preferiblemente $^{94\text{m}}\text{Tc}$ o $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{186}Re o ^{188}Re y es lo más preferiblemente $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

20 Cuando cada X es CO y M es $^{99\text{m}}\text{Tc}$, los complejos del segundo aspecto de la invención pueden prepararse de manera conveniente a partir del precursor $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3$ tal como ha sido descrito por Schibli y otros [*Bioconj. Chem.*, vol. 11, págs. 345-351, (2000)] y Kothari y otros [*Appl. Rad. Isotop.*, vol. 58, págs. 543-549, (2003)]. Las tres moléculas de agua del precursor pueden ser fácilmente reemplazadas mediante átomos donantes del ligando de Fórmula I con el fin de formar complejos de Tc de la invención. El precursor $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$ para uso no clínico puede obtenerse también usando un kit Isolink™ (Mallinckrodt, Petten, Países Bajos). La posterior reacción de $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$ con un ligando de la invención da como resultado la formación de un complejo de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ de la invención. Los complejos de metal de renio correspondientes pueden prepararse mediante los procedimientos de Pietzsch y otros [*Bioconj. Chem.*, vol. 11, págs. 414-424, (2000)].

En la Figura 1 se ilustran un cierto número de ejemplos de complejos de metal de la Fórmula IIa.

30 En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un ligando tal como se define en la Fórmula.

Los ligandos de la presente invención pueden prepararse mediante el procedimiento de Arnold y otros [*JCS Dalton Trans.*, págs. 736-746, (2001)]. Cuando R^1 , R^2 y R^3 comprenden cada uno un grupo 2-piridilo y R^4 es H, el protón cabeza de puente (grupo R^4) puede desprotonarse con butil litio, y posteriormente alquilarse con haluros de alquilo tal como expone Koderá y otros [*Inorg. Chem.*, vol. 42, págs. 1193-1203, (2003)]. Las versiones funcionalizadas de los mismos, incluyendo los conjugados con restos diana biológicos, pueden prepararse igualmente mediante la vía de quelato bifuncional. Así, es bien conocida la forma de preparar ligandos o agentes quelantes, los cuales tienen unidos a ellos un grupo funcional ("ligadores bifuncionales" o "quelatos bifuncionales", respectivamente). Los grupos funcionales que han sido unidos incluyen: amina, tiocianato, maleimida y ésteres activos tal como N-hidroxi-succinimida o pentafluorofenol. El Ligando 1 de la presente invención es un ejemplo de un quelato funcional amino-funcionalizado. Los quelatos bifuncionales adecuadas para el acomplejamiento a un núcleo tricarbonilo de tecnecio o renio están descritos por Stichelberger y otros [*Nucl. Med. Biol.*, vol. 30, págs. 465-470, (2003)]. Dichos quelatos bifuncionales pueden reaccionar con grupos funcionales adecuados sobre los restos diana biológicos para formar el conjugado deseado. Los grupos funcionales adecuados sobre los compuestos a conjugar incluyen:

carboxilos (para la formación del enlace amida con un quelatador bifuncional amino-funcionalizado);

45 aminas (para la formación del enlace amida con un quelatador bifuncional carboxilo- o éster activo-funcionalizado);

halógenos, mesilatos, y tosilatos (para la N-alkilación de un quelatador bifuncional amino-funcionalizado); y

tioles (para la reacción con un quelatador bifuncional maleimida-funcionalizado).

Los Ejemplos 1 a 4 proporcionan síntesis adicionales de ligandos de la invención.

50 En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona un producto radiofarmacéutico que comprende el complejo de metal de la invención en cualquiera de los aspectos y reivindicaciones descritos anteriormente, conjuntamente

con un vehículo biocompatible en una forma adecuada para administración a mamíferos, especialmente humanos. El "vehículo biocompatible" es un fluido, especialmente un líquido, en el cual el agente para la obtención de imágenes puede suspenderse o disolverse, de manera tal que la composición es fisiológicamente tolerable, es decir, puede administrarse al cuerpo del mamífero sin toxicidad o incomodidad indebida. El vehículo biocompatible es de manera adecuada un vehículo líquido inyectable tal como agua libre de pirógenos, estéril, para inyección; una solución acuosa tal como solución salina (la cual puede de manera ventajosa estar compensada de manera tal que el producto final para inyección sea o bien isotónico o bien no hipotónico); una solución acuosa de una o más sustancias para ajuste de la tonicidad (por ejemplo, sales de cationes de plasma con contraiones biocompatibles), azúcares (por ejemplo, glucosa o sacarosa), alcoholes de azúcar (por ejemplo, sorbitol o manitol), glicoles (por ejemplo, glicerol), u otros materiales polioles no iónicos (por ejemplo, polietilenglicoles, propilenglicoles y similares).

Dichos productos radiofarmacéuticos son suministrados de manera adecuada bien en un envase que está provisto de un sellado que es adecuado para una punción única o múltiple con una aguja hipodérmica (por ejemplo, un cierre de sellado de membrana rebordeada) al tiempo que mantiene la integridad estéril. Dichos envases pueden contener dosis para paciente individual o múltiple. Son preferidos los envases de dosis múltiples que comprenden un vial de volumen único (por ejemplo, de 10 a 30 cm³ de volumen) que contiene dosis para paciente múltiples, del cual pueden de esta forma extraerse dosis de paciente individuales dentro de jeringuillas de grado clínico a diversos intervalos de tiempo durante el tiempo de vida viable de la preparación para adecuarse a la situación clínica. Las jeringuillas pre-llenadas están diseñadas para contener un dosis humana única, y, en consecuencia, son preferibles a una desechable u otro tipo de jeringuilla adecuada para uso clínico. La jeringuilla pre-llenada puede opcionalmente proporcionarse con un escudo para la jeringuilla con el fin de proteger al operador de la dosis radioactiva. Dichos escudos para jeringuillas adecuados para productos radiofarmacéuticos son conocidos en la técnica y, preferiblemente, comprenden o bien plomo o bien tungsteno.

Los productos radiofarmacéuticos preferidos de la presente invención comprenden los radioisótopos de tecnecio ^{99m}Tc o ^{94m}Tc, lo más preferiblemente ^{99m}Tc. Cuando el isótopo de tecnecio es ^{99m}Tc, un contenido de radioactividad adecuado para una obtención de imágenes de diagnóstico radiofarmacéutico está dentro del intervalo de 180 a 1500 MBq de ^{99m}Tc, dependiendo del sitio del que se ha obtenido la imagen *in vivo*, la retención y la relación de diana o base.

Cuando X de la Fórmula II es CO, los productos radiofarmacéuticos de ^{99m}Tc de la presente invención pueden prepararse, en primer lugar, preparando el [^{99m}Tc(CO)₃(H₂O)₃]⁺ tal como se ha descrito anteriormente. La posterior reacción de [^{99m}Tc(CO)₃(H₂O)₃]⁺ con un ligando de la invención, da como resultado la formación de un complejo de ^{99m}Tc de la invención. Ambas etapas se llevan a cabo bajo condiciones estériles o bien se usa esterilización terminal.

En un quinto aspecto, la presente invención proporciona un kit no radioactivo para la preparación de la composición radiofarmacéutica descrita anteriormente, el cual comprende el ligando de Fórmula (I), tal como se ha definido en la primera realización. Cuando el radiometal es ^{99m}Tc, el kit de manera adecuada comprende además un reductor biocompatible. Dichos kits están diseñados para proporcionar productos radiofarmacéuticos estériles adecuados para administración humana, por ejemplo, mediante inyección directa dentro de la corriente sanguínea. Para ^{99m}Tc, el kit preferiblemente está liofilizado y diseñado para ser reconstituido con pertecnetato de ^{99m}Tc (TcO₄⁻) a partir de un generador de radioisótopo de ^{99m}Tc, para proporcionar una solución adecuada para administración humana sin manipulación adicional. Los kits adecuados comprenden un envase (por ejemplo, un vial sellado mediante una membrana) que contiene el ligando o el quelatador conjugado o bien en forma de base libre o bien de sal de ácido, conjuntamente con un reductor biocompatible tal como ditionito sódico, bisulfito sódico, ácido ascórbico, ácido formamido sulfínico, ion estannoso, Fe(II) o Cu(I). El reductor biocompatible es, preferiblemente, una sal estannosa tal como cloruro estannoso o tartrato estannoso. Como alternativa, el kit puede opcionalmente contener un complejo de metal, el cual, tras la adición del radiometal, produce una transmetalación (es decir, intercambio de metal), proporcionando el producto deseado.

Los kits no radioactivos pueden comprender opcionalmente además componentes adicionales tales como un transquelatador, radioprotector, conservante antimicrobiano, agente para ajuste del pH o carga. El "transquelatador" es un compuesto que reacciona rápidamente para formar un compuesto débil con tecnecio, el cual, a continuación, es desplazado por el ligando. Esto minimiza el riesgo de formación tecnecio hidrolizado reducido (RHT) debido a la rápida reducción del pertecnetato que compite con el acomplejamiento del tecnecio. Dichos transquelatadores adecuados son sales de un ácido orgánico débil, es decir, un ácido orgánico que tiene un pKa dentro del intervalo de 3 a 7, con un catión biocompatible. Dichos ácidos orgánicos débiles adecuados son ácido acético, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido glucónico, ácido glucoheptónico, ácido benzoico, fenoles y ácidos fosfónicos. Por lo tanto, las sales adecuadas son acetatos, citratos, tartratos, gluconatos, glucoheptonatos, benzoatos, fenolatos o fosfonatos. Dichas sales preferidas son tartratos, gluconatos, glucoheptonatos, benzoatos, o fosfonatos, lo más preferiblemente fosfonatos, lo más especialmente difosfonatos. Un transquelatador preferido de este tipo es una sal de MDP, es decir, ácido metilendifosfónico, con un catión biocompatible.

Por el término "radioprotector" se entiende un compuesto que inhibe las reacciones de degradación, tales como procesos redox, mediante la retención de radicales libres altamente reactivos, tales como radicales libres que contienen oxígeno surgidos a partir de la radiolisis del agua. Los radioprotectores de la presente invención son adecuadamente seleccionados entre: ácido ascórbico, ácido para-aminobenzoico (es decir, ácido 4-aminobenzoico), ácido

gentísico (es decir, ácido 2,5-dihidroxibenzoico) y sales de los mismos, con un catión biocompatible tal como se ha descrito anteriormente.

5 Por el término "conservante antimicrobiano" se entiende un agente que inhibe el desarrollo de microorganismos potencialmente perjudiciales tales como bacterias, levaduras o mohos. El conservante antimicrobiano puede igualmente mostrar algunas propiedades bactericidas, dependiendo de la dosis. El papel principal del conservante(s) antimicrobiano de la presente invención es inhibir el desarrollo de cualquiera de dichos microorganismos en la composición radiofarmacéutica post-reconstitución, es decir, en el propio producto de diagnóstico radioactivo. No obstante, el conservante antimicrobiano puede, igualmente, opcionalmente usarse para inhibir el desarrollo de microorganismos potencialmente perjudiciales en uno o más componentes del kit no radioactivo de la presente invención antes de la reconstitución. El conservante(s) antimicrobiano adecuado incluye: los parabenos, es decir, metil, etil, propil o butil parabeno o meclas de los mismos; alcohol bencílico; fenol; cresol; cetrimida y tiomersal. El conservante(s) antimicrobiano preferido son los parabenos. El término "agente para ajuste del pH" significa un compuesto o mezcla de compuestos útiles para asegurar que el pH del kit reconstituido está dentro de límites aceptables (aproximadamente pH de 4,0 a 10,5) para administración humana o mamífera. Dichos agentes para ajuste del pH adecuados incluyen tampones aceptables farmacéuticamente, tales como tricina, fosfato o TRIS [es decir, *tris*(hidroximetil)aminometano], y bases aceptables farmacéuticamente tales como carbonato sódico, bicarbonato sódico o mezclas de los mismos. Cuando el conjugado se usa en forma de sal de ácido, el agente para ajuste del pH puede proporcionarse opcionalmente en un vial o envase separado, de manera tal que el usuario del kit puede ajustar el pH como parte del procedimiento multi-etapa.

20 Por el término "carga" se entiende un agente de relleno aceptable farmacéuticamente que puede facilitar la manipulación del material durante la producción y liofilización. Las cargas adecuadas incluyen sales inorgánicas tales como cloruro sódico, y azúcares o alcoholes de azúcares solubles en agua tales como sacarosa, maltosa, manitol o tetrahalosa.

25 En un sexto aspecto, la presente invención se refiere al uso del producto radiofarmacéutico de la invención, en el que el radiometal es un emisor gamma, para la obtención de imágenes mediante SPECT. Después de la administración del producto radiofarmacéutico a un sujeto, la distribución del producto radiofarmacéutico dentro de dicho sujeto es detectado por medio de una cámara gamma, la cual produce una imagen indicativa de dicha distribución.

30 La invención se ilustra mediante los Ejemplos no limitativos detallados más adelante. Los Ejemplos 1 a 4 proporcionan la síntesis de los Ligandos 2 a 8. El Ejemplo 5 proporciona un procedimiento de preparación de un complejo tricarbonilo de ^{99m}Tc del Ligando 6. La pureza del producto radioquímico (RCP) fue del 98%. El Ejemplo 4 proporciona el procedimiento de preparación de los complejos tricarbonilos de ^{99m}Tc de los Ligandos 1, 2, 4, 5 y 6.

Breve descripción de las Figuras

La Figura 1 muestra diversos complejos de metal de la invención.

La Figura 2 resume las estructuras químicas de los ligandos de los Ejemplos.

Ejemplos Experimentales

El Ligando 1 [es decir, 1,1,1-*tris*(piridin-2-il)metilamina] se preparó mediante el procedimiento de Arnold y otros [*JCS Dalton Trans.*, págs. 736-746, (2001)].

Ejemplo 1: Síntesis del Ligando 2

40 Se agregó anhídrido benzoico (280 mg, 1,24 mmol) en una sola porción a una solución agitada del Ligando 1 (250 mg, 0,95 mmol) en CH_2Cl_2 (2 ml) a temperatura ambiente. La agitación se continuó durante 24 horas y la mezcla de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 (18 ml). Esta solución se lavó con bicarbonato sódico saturado (20 ml x 2) y agua (20 ml x 2) y, a continuación, se secó (MgSO_4), se filtró y el disolvente se evaporó, dejando un residuo de color amarillo. La recristalización de este material a partir de una mezcla de CH_2Cl_2 /pentano proporcionó el producto (180 mg, 52%), en forma de un polvo de color amarillo, p.fus.: 233-234°C.

45 RMN^{-1}H (CDCl_3): δ_{H} 7,10-7,17(3H, m, 5-H), 7,41-7,51(3H, m, 4-H), 7,59-7,64(6H, m, 3-H [x2], *meta*-H [x2], *para*-H), 8,0(2H, dd, $J = 7$ y 2 Hz, *orto*-H [x2]), 8,53(3H, d ancho, $J = 5$ Hz, 6-H [x3]).

Espectroscopía de masa (ES) m/e: Calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}$ (M+H) 367; Encontrada 367.

Ejemplo 2: Síntesis de los Ligandos 3 y 4

50 Se calentaron cloruro de tionilo (5,0 g, 42 mmol) y ácido nicotínico (620 mg, 5,0 mmol) bajo reflujo durante 3 horas y, a continuación, se eliminó el exceso de reactivo bajo presión reducida, dejando un residuo de color blanco. Este residuo se co-evaporó con tolueno (25 ml x 2) bajo presión reducida, dejando un polvo de color blanco. Este sólido resultante se agregó en porciones de 50 mg con agitación a una solución del Ligando 1 (250 mg, 0,95 mmol) en CH_2Cl_2 (10 ml) que contenía trietilamina (1,10 g, 10,0 mmol). Después de agitación a temperatura ambiente durante 16 horas, la solución se lavó con agua (20 ml x 2), se secó (MgSO_4), se filtró y el disolvente se eliminó bajo presión

reducida, dejando un residuo de color pardo. Este residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice, eluyéndose con una mezcla de CH₂Cl₂/MeOH (20:1). El producto requerido se aisló en forma de un sólido de color amarillo ($r_f = 0,25$), el cual se recrystalizó a partir de CH₂Cl₂/pentano, proporcionando un polvo de color amarillo pálido (Rendimiento 210 mg, 60,0%), p.fus.: 206-207°C.

- 5 RMN-¹H (CDCl₃): δ_H 7,14(3H, dt, J = 5,0 y 2,7 Hz, 5-H [x3]), 7,35(1H, dd, J = 8,0 y 5,0 Hz, 5'-H), 7,58-7,61(3H, m, 4-H [x3]), 7,62(3H, dt, J = 8,2 y 1,5 Hz, 3-H [x3]), 8,23(1H, dt, J = 8,0 y 2,0 Hz, 4'-H), 8,51(3H, d ancho, J = 5 Hz, 6-H [x3]), 8,71(1H, dd, J = 5,0 y 1,5 Hz, 6'-H), 9,25(1H, d, J = 2,0 Hz, 2'-H), 10,4(1H, s, NH).

Espectroscopía de masa (ES) m/e: Calculada para C₂₂H₁₈N₅O (M+H) 368; Encontrada 368.

- 10 El Ligando 4 se preparó de una manera análoga a partir de ácido isonicotínico como el material de partida, proporcionando un polvo de color amarillo pálido (140 mg, 40,0%), p.fus.: 183-185°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ_H 7,15(3H, dt, J = 5,0 y 1,5 Hz, 5-H [x3]), 7,57-7,66(6H, m, 4-H [x3], 3-H [x3]), 7,80(2H, d, J = 5,9 Hz, 2'-H 6'-H), 8,51(3H, d, J = 5 Hz, 6-H [x3]), 8,74(2H, d, J = 5,9 Hz, 3'-H, 5'-H), 10,45(1H, bs, NH).

Espectroscopía de masa (ES) m/e: Calculada para C₂₂H₁₈N₅O (M+H) 368; Encontrada 368.

Ejemplo 3: Síntesis del Ligando 5

- 15 Etapa (a): 2-(piperidin-1-il)acetato de etilo

Se agregó bromoacetato de etilo (8,5 g, 50,9 mmol) gota a gota a una solución agitada de piperidina (4,3 g, 50,5 mmol) y trietilamina (5,5 g, 54,4 mmol) en cloroformo (20 ml) a velocidad tal como para mantener un reflujo suave. Una vez completada la adición, se continuó la agitación durante 2 horas y la mezcla de reacción se lavó con agua (20 ml x 3). La capa de cloroformo se secó (MgSO₄), se filtró y el disolvente se evaporó, dejando un aceite de color amarillo. Este aceite se pasó a través de una columna corta de sílice, eluyéndose con una mezcla 40:60 de CH₂Cl₂/éter de petróleo (1:1). La eliminación del disolvente a partir de la solución resultante proporcionó el producto requerido en forma de un aceite de color amarillo pálido (Rendimiento 5,5 g, 64%).

RMN-¹H (CDCl₃): δ_H 1,20(3H, t, J = 7,0 Hz, CH₃), 1,40(2H, m, 4'-H), 1,55(4H, m, 3'-H 5'-H), 2,42(4H, m, 2'-H 6'-H), 3,10(2H, s, NCH₂CO), 4,10(2H, q, J = 7 Hz, OCH₂).

- 25 Etapa (b): Clorhidrato de ácido piperidin-1-il acético

Se calentaron 2-(piperidin-1-il)acetato de etilo (5,5 g, 32,2 mmol), agua (12 ml) y HCl conc. (3 ml) bajo reflujo durante 20 horas. Los componentes volátiles se eliminaron bajo presión reducida, dejando un sólido de color blanquecino. Este sólido se co-evaporó con tolueno (50 ml x 3) y se secó en vacío, proporcionando un polvo de color blanquecino (Rendimiento 4,8 g, 83%).

- 30 RMN-¹H (D₂O): δ_H 1,42-1,46(1H, m, 4'-H), 1,73-1,86(5H, m, 2'-H 3'-H 4'-H), 2,97-3,05(2H, m, 2'-H 6'-H), 3,52-3,57(2H, m, 2'-H, 6'-H), 4,02(2H, s, NCH₂CO).

Etapa (c): 2-(piperidin-1-il)-N-[1,1,1-tris(piridil-2-il)metil]acetamida

Se disolvieron hidróxido de litio (85 mg, 3,5 mmol) y clorhidrato del ácido piperidin-1-il acético (300 mg, 1,68 mmol) en metanol (10 ml), proporcionando una solución incolora. A continuación, el metanol se eliminó bajo presión reducida y el sólido incoloro se co-evaporó con tolueno hasta que quedó un polvo de libre fluidez. A esta sal de litio se agregó DMF seco (10 ml), Ligando 1 (250 mg, 0,95 mmol), Pybop (510 mg, 0,98 mmol) y la mezcla se calentó hasta que se obtuvo una solución transparente. Se eliminó el calor y la agitación continuó durante 16 horas. Los componentes volátiles se eliminaron bajo presión reducida, dejando un residuo de color naranja, el cual se disolvió en CH₂Cl₂ (20 ml) y se lavó con agua (20 ml x 3). La capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y el disolvente se evaporó, dejando un aceite de color naranja. Este residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice, eluyéndose con una mezcla de CH₃CN/MeOH (200:5). El producto requerido se aisló ($r_f = 0,2$) en forma de un aceite de color amarillo pálido, el cual solidificó al reposar (100 mg, 27%), p.fus.: 123-125°C.

- 45 RMN-¹H (CDCl₃): δ_H 1,45-1,50(2H, m, 4'-H), 1,65-1,63(4H, m, 3'-H 5'-H), 2,54-2,57(4H, m, 2'-H 6'-H), 3,01(2H, s, NCH₂CO), 7,12(3H, ddd, J = 7,5, 5,0 y 1,0 Hz, 5-H [x3]), 7,46-7,50(3H, m, 3'-H [x3]), 7,60(3H, dt, J = 7,5 y 5,0 Hz, 4-H [x3]), 8,50-8,53(3H, m, 6-H [x3]), 10,61(1H, s, NH).

Espectroscopía de masa (ES) m/e: Calculada para C₂₃H₂₆N₅O (M+H) 388; Encontrada 388.

Ejemplo 4: Síntesis de los Ligandos 6, 7 y 8

- 50 Se disolvieron ácido 1H-imidazol-4-carboxílico (200 mg, 1,8 mmol) e hidróxido de litio (45 mg, 1,9 mmol) en metanol (10 ml) para proporcionar una solución transparente. Los componentes volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se co-evaporó con tolueno hasta que se obtuvo un polvo de libre fluidez. A la sal de litio se agregó DMF seco (10 ml), Ligando 1 (250 mg, 0,95 mmol) y Pybop (510 mg, 0,98 mmol). La mezcla se calentó hasta que se ob-

tuvo una solución de color naranja transparente. A continuación, se eliminó el calor y la solución se agitó durante 16 horas. El disolvente se eliminó mediante evaporación rotatoria, dejando un residuo de color naranja viscoso, el cual se purificó mediante cromatografía sobre sílice, eluyéndose con CH₃CN/MeOH (95:5). El compuesto del epígrafe (100 mg, 29%) se aisló ($r_f = 0,3$) en forma de un polvo de color blanco, p.fus.: >250°C.

- 5 RMN-¹H (d⁶ DMSO): δ_H 5,76(1H, s, NH imid), 7,23-7,28(3H, m, 5-H [x3]), 7,44-7,47(3H, m, 3-H [x3]), 7,53(1H, s, C-H, imid), 7,72(3H, bt, J = 7 Hz, 4-H [x3]), 7,82(1H, s, C-H, imid), 8,50(3H, m, 6-H [x3]), 10,48(1H, s, NH).

Espectroscopía de masa (ES) m/e: Calculada para C₂₀H₁₇N₆O (M+H) 357; Encontrada 357.

El Ligando 7 se preparó de una manera análoga a partir de clorhidrato del ácido 4-piridilacético, proporcionando un polvo incoloro (Rendimiento 40 mg, 11%), p.fus.: 134-135°C.

- 10 RMN-¹H (CDCl₃): δ_H 3,70(2H, s, CH₂), 7,13(3H, m, 5-H [x3]), 7,26(2H, d, J = 5,0 Hz, 3-H 5-H), 7,43(3H, d, J = 6 Hz, 3-H [x3]), 7,57(3H, t, J = 6 Hz, 4-H [x3]), 8,47(3H, d, J = 5 Hz, 6-H [x3]), 8,53(2H, d, J = 5,0 Hz, 2-H 6-H), 9,49(1H, s ancho, NH).

Espectroscopía de masa (ES) m/e: Calculada para C₂₃H₂₀N₅O (M+H) 382; Encontrada 382.

- 15 El Ligando 8 se preparó de una manera análoga a partir de clorhidrato del ácido 3-piridilacético, proporcionando un polvo de color marrón claro (180 mg, 54%), p.fus.: 165-166°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ_H 3,68(2H, s, CH₂), 7,08(3H, ddd, J = 7,5, 5,0 y 1,0 Hz, 5-H [x3]), 7,19(1H, dd, J = 7,5 y 5,0 Hz, 5'-H), 7,43(3H, m, 3-H [x3]), 7,53(3H, dt, J = 7,5 y 5,0 Hz, 4-H [x3]), 7,64(1H, bd, J = 7,5 Hz, 4'-H), 8,43(3H, m, 6-H [x3]), 8,46(1H, d, J = 7,5 y 1,5 Hz, 6'-H), 8,56(1H, d, J = 1,5 Hz, 2'-H), 9,49(1H, s ancho, NH).

Espectroscopía de masa (ES) m/e: Calculada para C₂₃H₂₀N₅O (M+H) 382; Encontrada 382.

20 **Ejemplo 5: Preparación del complejo tricarbonilo de ^{99m}Tc del Ligando 6**

- Se agregó 1 ml de TcO₄⁻ eluido a partir de un generador a un kit de carbonilo de Tc (Isolink™, Mallinckrodt, Petten, Países Bajos). La actividad se midió a 983 MBq. Aproximadamente se eliminaron 4 ml del volumen superior del vial, el cual, a continuación, se calentó a aproximadamente 100°C durante 30 minutos. El vial se dejó enfriar, y la presión se igualó usando agujas para sangrías. Antes de la eliminación de los 4 ml del volumen superior, se agregaron 50-100 ug de Ligando 6. El vial se calentó hasta aproximadamente 100°C durante 30 minutos y, a continuación, se dejó enfriar, antes de igualar la presión del vial usando una aguja para sangrías. El pH se midió comprobándose que era de aproximadamente 11,5 y la pureza radioquímica (RCP) determinada mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) fue del 98%.

Se usaron dos procedimientos de HPLC tal como sigue:

30 Procedimiento A

Disolvente A = TFA al 0,1% en agua, disolvente B = TFA al 0,1% en acetonitrilo.

Procedimiento B

Disolvente A = solución de amoníaco 880 al 0,2%, disolvente B = acetonitrilo.

Para ambos procedimientos, se usó el gradiente siguiente:

Tiempo	% de B
0	20
5	45
14	45
15	100
19	100
21	20
23	20

Ejemplo 6: Preparación de los complejos tricarbonilo de ^{99m}Tc de los Ligandos 1, 2, 4, 5 y 6

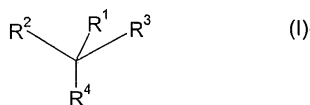
5 Se agregó 1 ml de TcO_4^- eluido a partir de un generador a un kit de carbonilo de Tc (Isolink™, Mallinckrodt, Petten, Países Bajos). La actividad se midió que era de 2,88 Gq. Aproximadamente se eliminaron 4 ml del volumen superior del vial, el cual, a continuación, se calentó a aproximadamente 100°C durante 30 minutos. El vial se dejó enfriar, y la presión se igualó usando agujas para sangrías.

10 Se agregaron 50-100 ug (en 0,1 ml de MeOH) de Ligando a un vial relleno con nitrógeno, seguido de 0,7 ml de tampón de fosfato 0,4 M (pH aprox. de 7,5). A continuación, se agregaron 0,2 ml de $[\text{TcCO}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ preparado a partir del kit y la actividad se midió que era de 593 Mq. El vial se calentó hasta aproximadamente 100°C durante 30 minutos antes de dejarlo enfriar, y la presión se igualó usando una aguja para sangrías. El pH fue de aproximadamente 8,5 y la RCP para cada complejo tal como se determinó mediante HPLC (descrita en el Ejemplo 5) fue la siguiente:

Complejo de ^{99m}Tc	RCP (%)
Ligando 1	94
Ligando 2	65
Ligando 4	40
Ligando 5	87
Ligando 6	90

REIVINDICACIONES

1. Un complejo de metal de un ligando de Fórmula I:



en la que:

- 5 el metal es un isótopo radioactivo o bien de tecnecio o bien de renio;
 $R^1 - R^3$ están independientemente seleccionados entre piridilo, imidazolilo y pirazolilo; y
 R^4 es -NH(CO)Ph, -NH(CO)(CH₂)₃-(CO)NHCH₂Ph, -NH(CO)(3-piridilo), -NH(CO)(4-piridilo), -NH(CO)CH₂-piperidilo, -NH(CO)NH₂, o -NH(CO)(2,4-imidazolilo);

y en la que no más de tres de cinco posibles átomos del ligando están implicados en el acomplejamiento.

- 10 2. El complejo de metal de la reivindicación 1, en la que R^1 , R^2 y R^3 son cada uno piridilo.
 3. El complejo de metal de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en las que R^1 , R^2 y R^3 son cada uno 2-piridilo.
 4. El complejo de metal de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3, en las que el metal es un isótopo radioactivo de tecnecio.
 5. El complejo de metal de la reivindicación 4, en la que el isótopo radioactivo de tecnecio es ^{99m}Tc.
 15 6. El complejo de metal de Fórmula II:



en la que:

L es un ligando de Fórmula I tal como se ha definido en las reivindicaciones 1-3,
 M es un isótopo radioactivo de tecnecio o de renio;

- 20 X está seleccionado entre CO, halógeno, fosfina o isonitrilo; y
 n es la carga sobre el complejo de metal, y es -1, 0, +1 ó +2.

7. El complejo de metal de la reivindicación 6, el cual es de Fórmula IIa:



en la que L es un ligando de Fórmula I tal como se ha definido en las reivindicaciones 1-3, en la que:

- 25 R^1 , R^2 y R^3 son cada uno 2-piridilo, y n es +1 ó +2.
 8. El complejo de metal de las reivindicaciones 6 ó 7, en las que M es un isótopo radioactivo de tecnecio.
 9. El complejo de metal de la reivindicación 8, en la que el isótopo radioactivo de tecnecio es ^{99m}Tc.
 10. Un ligando de Fórmula I tal como se ha definido en la reivindicación 1.
 11. El ligando de la reivindicación 10, en la que R^1 , R^2 y R^3 comprenden cada uno un grupo 2-piridilo.
 30 12. Un producto radiofarmacéutico que comprende el complejo de metal de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
 13. Un kit para la preparación del producto radiofarmacéutico de la reivindicación 12 que comprende un ligando de Fórmula I tal como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 10 ó 11.
 14. Uso del producto radiofarmacéutico de la reivindicación 12 para la obtención de imágenes por SPECT.

Figura 1: Complejos de metal de la presente invención

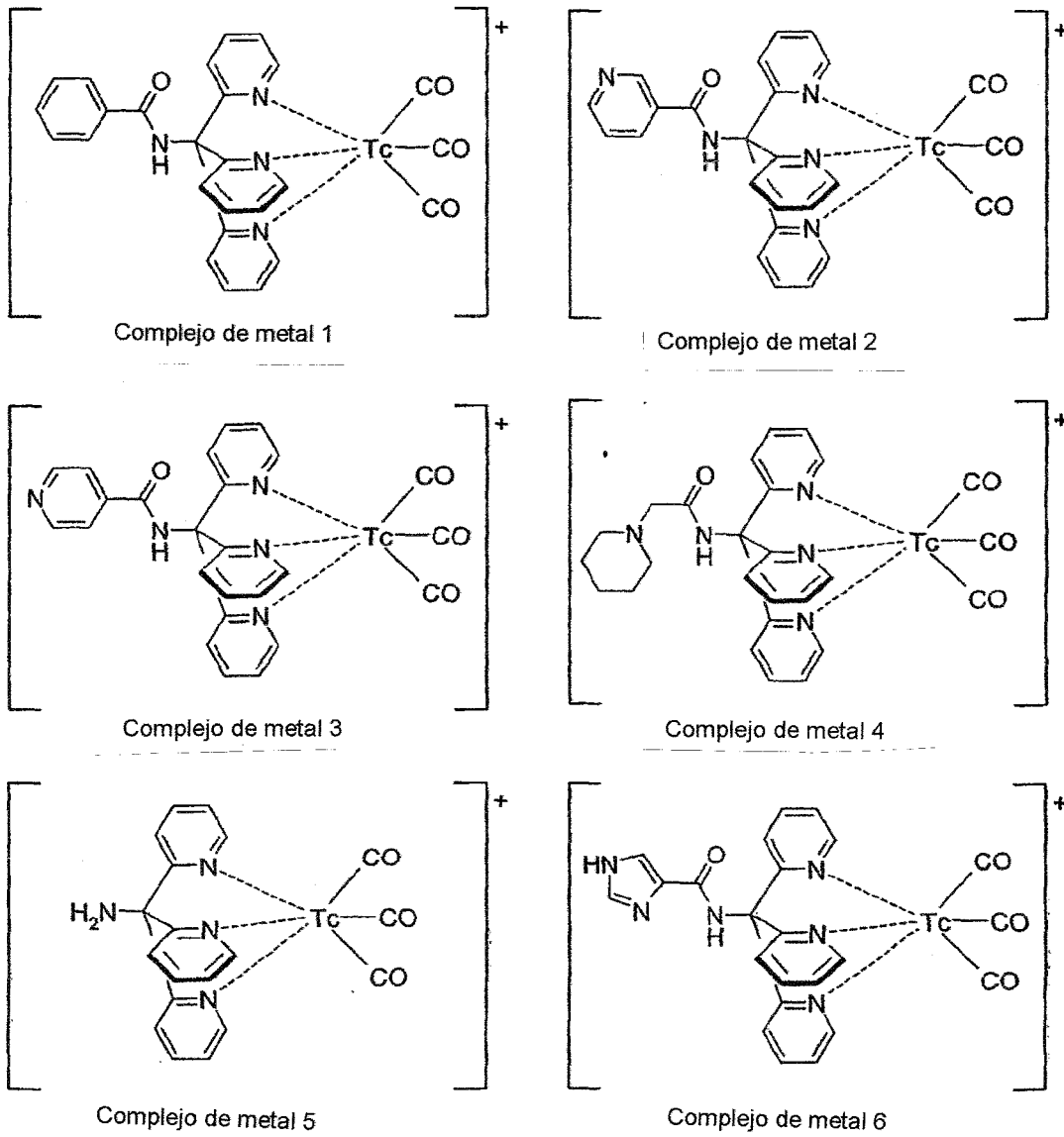
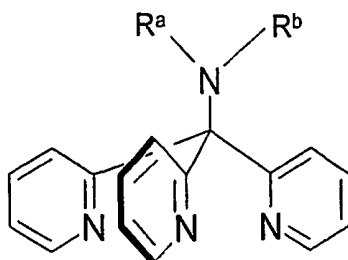
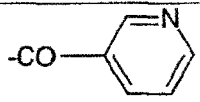
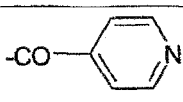
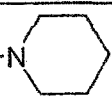
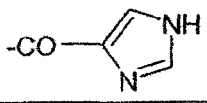
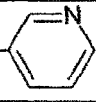
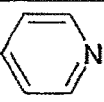


Figura 2: Ligandos de la presente invención



Ligando Número	R ^a	R ^b
1 (técnica anterior)	H	H
2	H	-COPh
3	H	-CO- 
4	H	-CO- 
5	H	-COCH ₂ - 
6	H	-CO- 
7	H	-COCH ₂ - 
8	H	-COCH ₂ - 

En la que: Ph = un grupo fenilo (C₆H₅)