

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 255**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7072 (2006.01)

C07H 19/073 (2006.01)

C07H 19/067 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2009 E 09785024 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2012 EP 2331106**

54 Título: **Análogos de nucleósidos útiles como agentes de formación de imágenes de tomografía por emisión de positrones (PET)**

30 Prioridad:

01.09.2008 GB 0815831

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.03.2013

73 Titular/es:

**IMPERIAL INNOVATIONS LIMITED (100.0%)
Level 12 Electrical and Electronic Engineering
Building Imperial College
London SW7 2AZ, GB**

72 Inventor/es:

**ABOAGYE, ERIC, OFORI y
SMITH, GRAHAM**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 397 255 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).

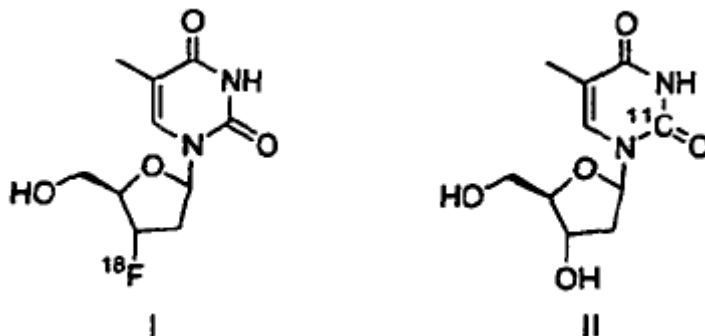
DESCRIPCIÓN

Análogos de nucleósidos útiles como agentes de formación de imágenes de tomografía por emisión de positrones (PET)

Descripción

5 La presente invención se refiere a compuestos que se consideran útiles como agentes de formación de imágenes de tomografía por emisión de positrones (PET), que se podrían usar para medir la proliferación celular *in vivo*. Los compuestos se consideran útiles en el pronóstico y la predicción de la respuesta terapéutica.

10 Los análogos de nucleósidos se han usado específicamente para la formación de imágenes de la proliferación debido a su idoneidad como sustratos para la proteína regulada por el ciclo celular TK1 (1) y, en algunos casos, a su idoneidad para ser incorporados al ADN (2). Dichos agentes de formación de imágenes se consideran útiles en la medición de la rapidez con que se dividen las células cancerosas. Dado que esta propiedad es una característica distintiva de la mayoría de los cánceres, se considera que dichos agentes tienen una posible utilidad genérica en el diagnóstico, el pronóstico y la detección de la respuesta a tratamientos. El patrón actual para la generación de imágenes de la proliferación celular en tumores murinos y humanos es la PET con [^{18}F]fluorotimidina (FLT; I). A diferencia del agente nucleósido de formación de imágenes de idéntica naturaleza, la 2- ^{11}C timidina (^{11}C TdR (II), la FLT es estable a la degradación metabólica. El presente grupo ha demostrado que la absorción de FLT tumoral en pacientes humanos con cáncer de mama, determinada mediante PET, está estrechamente relacionada con la inmunotinción con Ki-67 (3). Los estudios en pacientes con cáncer de pulmón de otro grupo también demostraron una alta relación entre la absorción de la FLT tumoral y Ki-67 (4). Además, los presentes inventores han demostrado que la PET con FLT es capaz de formar imágenes de la respuesta temprana hacia agentes tanto citostáticos como citotóxicos en modelos murinos de cáncer y en pacientes (5-9). Esto convierte a la FLT en un agente prometedor para la formación de imágenes de la proliferación celular y la formación de imágenes de la respuesta temprana a un tratamiento. Las dos principales limitaciones de la PET con FLT son la baja sensibilidad global de detección, particularmente, para tumores de baja tasa de proliferación, y el bajo rendimiento radiosintético.



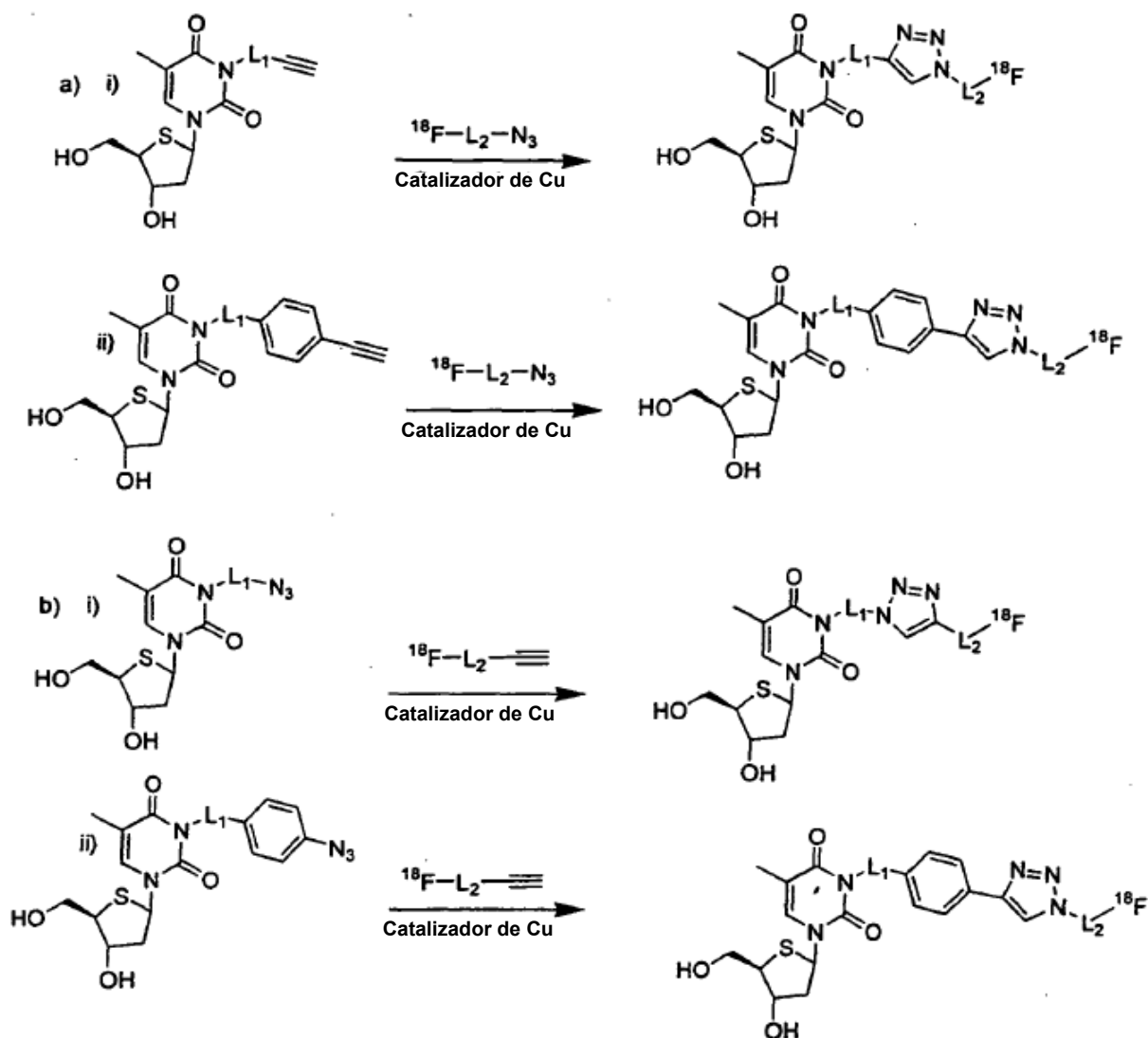
25 El objetivo de la presente invención ha sido el desarrollo de un marcador de la proliferación que sea sensible, específico y resistente a la degradación metabólica. Los presentes y otros inventores han demostrado que, aunque es más específica de la formación de imágenes de proliferación, la absorción de la FLT tumoral total es menos sensible en comparación con la de la [^{18}F]fluorodesoxiglucosa (5, 10). Esto se puede deber a una serie de factores entre los que se incluyen la tendencia relativamente más elevada de las células tumorales hacia la glucólisis en comparación con la síntesis de nucleósidos, pero también las propias propiedades de FLT. La FLT es absorbida en las células por el sistema transportador de nucleósidos y fosforilada por TK1; la especificidad de FLT por TK1 como sustrato es mucho menor que la de la TdR y, una vez fosforilada, el fosfato de FLT no es un buen sustrato para la fosforilación adicional y la incorporación al ADN (5, 11). Es posible que en células con una baja tasa de proliferación, las nucleotidas puedan desfosforilar el fosfato de FLT, conduciendo a una reducción de la señal de la PET. Los presentes inventores consideran que es deseable un análogo que se incorpore más irreversiblemente al ADN y que pueda proporcionar la alta sensibilidad necesaria para la detección de tumores con una baja tasa de proliferación. Dicho análogo tendría que conservar la potente estabilidad metabólica de la FLT, que se debe a la sustitución de un átomo de flúor en la posición 3' del anillo de azúcar. Sin embargo, esta sustitución es responsable de la reducción de la afinidad de la FLT por TK1 (12). Se sabe que TK1 tolera pequeñas modificaciones en la posición 5; recientemente, se ha demostrado que la enzima también tolera grandes sustituciones en la posición N-3 (12).

El documento EP 1916003 describe análogos de timidina marcados que son particularmente útiles para la tomografía por emisión de positrones (PET).

45 El objetivo de la presente invención también ha sido diseñar sondas que se puedan radiomarcarse de manera eficaz, preferentemente, con flúor-18 debido a sus propiedades adecuadas para la PET (un $t_{1/2}$ de 109,8 min, una baja energía de positrones y, por lo tanto, una buena resolución y un alto flujo de fotones); o con otros radioisótopos emisores de positrones o emisores de un solo fotón (por SPECT). La semivida del flúor-18, por ejemplo, ofrece la

capacidad de usar los agentes de formación de imágenes en zonas que carecen de un ciclotrón in situ. Los ejemplos de isótopos para la PET/SPECT adecuados incluyen ^{11}C , ^{18}F , ^{61}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{75}Br , ^{76}Br , $^{94\text{m}}\text{Tc}$, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{201}Tl .

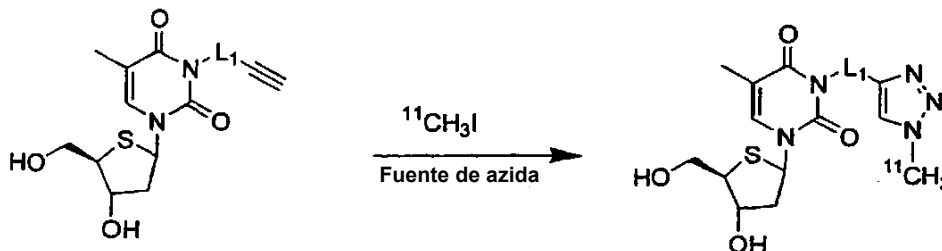
- 5 Las metodologías actuales para la introducción de flúor-18 en moléculas biológicamente relevantes tienen varias limitaciones. La cicloadición de Huisgen 1,3-dipolar catalizada por Cu (I) de alquinos terminales a derivados de azida marcados, también conocida como la "reacción clic", para formar triazoles marcados con [^{18}F] es una estrategia flexible que los presentes inventores consideran que ofrece la posibilidad de superar varias de estas limitaciones (por ejemplo, la incompatibilidad funcional entre los grupos) y, a menudo, se desarrolla a rendimientos radioquímicos muy elevados. El presente trabajo engloba la cicloadición de Huisgen con el uso de grupos prostéticos
- 10 funcionalizados tanto con azida como con alquino terminal (Esquema 1).



- Los grupos ligadores L_1 y L_2 de los Esquemas 1, 2, 3 y 4 son cada uno independientemente una cadena de hidrocarburo C_{1-30} que puede ser ramificada o lineal, aunque comúnmente se prefiere la cadena lineal. La cadena de hidrocarburo puede estar opcionalmente sustituida con 1 a 15 heteroátomos tales como oxígeno, nitrógeno o azufre.
- 15 La cadena también puede incluir unidades de alqueno, alquino o cicloalquilo. El anillo de cicloalquilo consistiría en 3 a 12 átomos de carbono, opcionalmente sustituidos con 1 a 5 heteroátomos tales como oxígeno, nitrógeno o azufre. La unidad ligadora puede comprender además una unidad de arilo, poliarilo o heteroarilo. El arilo se define como un anillo aromático de 5 ó 6 átomos de carbono centrales. Poliarilo se refiere a múltiples anillos de arilo que están condensados, como en naftilo, o no condensados, como en bifenilo. Heteroarilo se refiere a un anillo aromático de 5 ó 6 átomos de carbono en el que uno o más átomos de carbono están sustituidos con un heteroátomo, comúnmente, con oxígeno, nitrógeno o azufre. La unidad de heteroarilo también puede estar condensada a otra unidad de arilo o heteroarilo. La unidad de arilo, poliarilo o heteroarilo puede estar opcionalmente
- 20

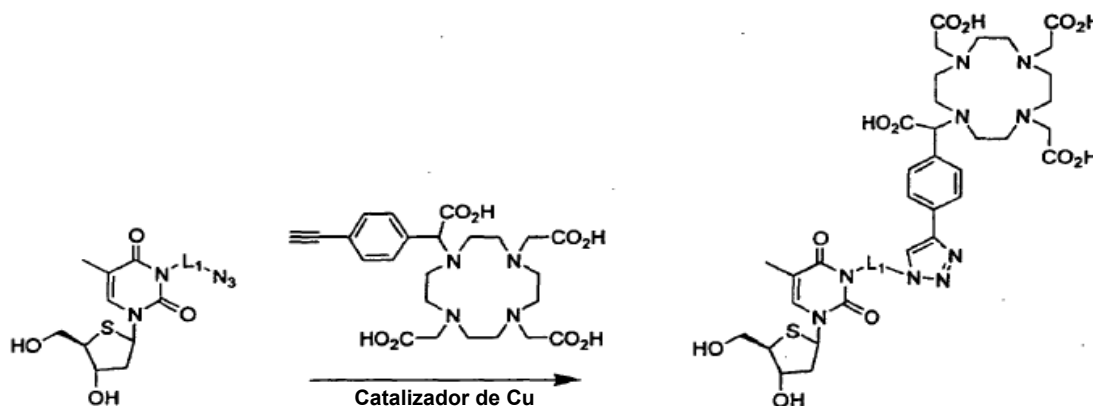
sustituida con uno o más alquilo C₁₋₅, alqueno C₃₋₆, alquino C₃₋₆, halógeno (flúor, cloro, bromo, yodo), -CF₃, nitro, hidroxilo, aldehído, COO-alquilo C₁₋₅, -O-alquilo C₁₋₅, CONH-alquilo C₁₋₅ y -NHCO-alquilo C₁₋₅ y -NHSO₂-alquilo C₁₋₅.

5 La reacción se ha desarrollado recientemente para el marcaje de péptidos (15). Las reacciones tienen lugar en condiciones suaves para producir productos estables de un tamaño similar al de un átomo de yodo y una polaridad similar a la de una amida. Además de proporcionar nucleósidos marcados con [¹⁸F], recientemente, se ha desarrollado, por ejemplo, la química clic para proporcionar triazoles marcados con ¹¹C. Esta se puede usar para proporcionar nucleósidos marcados con [¹¹C] como se muestra en el Esquema 2.

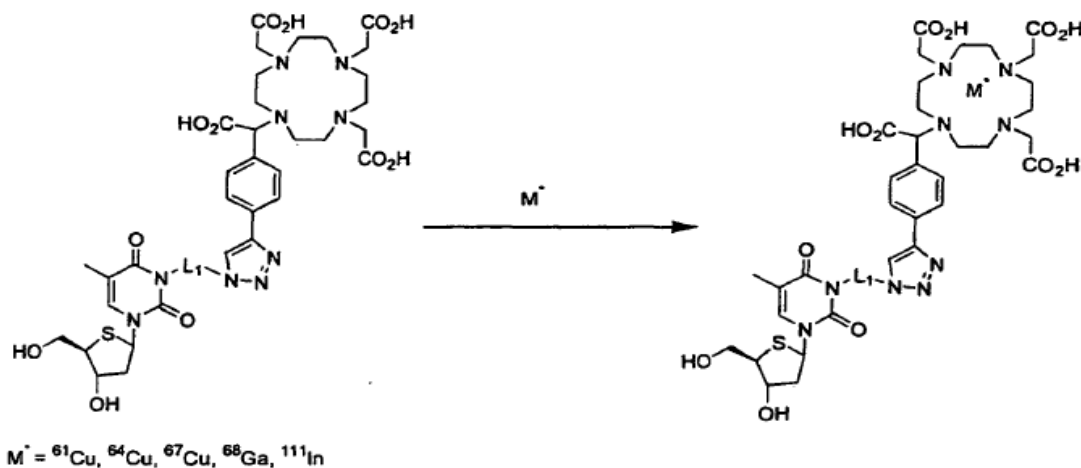


Esquema 2

10 En una alternativa adicional, se puede unir un agente quelante de metales, tal como DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazacyclodecan-1,4,7,10-tetraacético) o HYNIC (ácido 6-hidrazinopiridin-3-carboxílico), a través de una cicloadición de química clic como se muestra en el Esquema 4 (para un apéndice de DOTA). La complejación de DOTA se podría entonces realizar como se muestra en los Esquemas 3 y 4. Se puede usar un apéndice de HYNIC, por ejemplo, para la complejación del tecnecio (^{94m}Tc, ^{99m}Tc).



Esquema 3



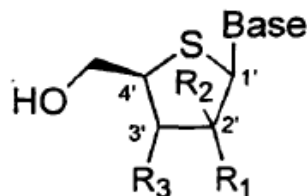
Esquema 4

Los presentes inventores se han centrado en el desarrollo de "4'-tio-nucleósidos", por ejemplo, análogos de 4'-tio-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina. En la actualidad, está totalmente reconocido que la sustitución 3' o 2' del grupo azúcar con flúor electronegativo estabiliza el enlace *N*-glucosídico con las fosforilasas, siendo la sustitución 3' en FLT y la sustitución 2' en [¹⁸F]fluoro-(2'-desoxi-2'-β-arabinofuranosil)timidina (FMAU) ejemplos clásicos (2). La tolerancia mucho menor de TK1 por las sustituciones realizadas en la posición secuencia arriba de 2' (12) es probablemente responsable de la baja absorción celular de FMAU en comparación con FLT, a pesar de que la primera se incorpora de manera más eficaz al ADN (11); ambas sondas tienen una absorción celular mucho menor que la TdR radiomarcada debido a la sustitución 3'/2' (12). Además, como el análogo de yodo de FMAU, FIAU, la sustitución secuencia arriba de 2' realizada en FMAU es fosforilada de una manera más eficaz por TK2, una enzima que no está regulada por el ciclo celular (16) y que puede ser responsable de la alta absorción de FMAU en el miocardio (17, 18). Una estrategia alternativa para estabilizar el enlace *N*-glucosídico es a través de la sustitución del oxígeno del anillo furanosa con azufre, un procedimiento que ha sido usado por Toyohara y colaboradores para desarrollar análogos yodados de tiotimidina (19-21). Estos análogos de tiotimidina tienen una configuración, así como una fosforilación *in vitro* y una cinética de incorporación al ADN similares a la TdR. Considerando que los análogos de tiotimidina originales de Toyohara eran inadecuados para la PET clínica habitual, se demostró que, con un enfoque de marcaje adecuado, los análogos de tiotimidina tendrían un perfil de estabilidad aceptable, así como que se incorporarían al ADN, aumentando así su sensibilidad de detección tumoral. En la bibliografía actual se pueden encontrar estructuras que contienen trazadores que contienen azufre radiomarcado con carbono-11 (Toyohara *J. Nucl. Med. Biol.* 2008, 35, 67-74) o yodo-124/125 (Toyohara *et al.*, (2002) *J. Nucl. Med.* 43(9), 1218-1226; Toyohara *et al.*, (2003) *J. Nucl. Med.* 44, 1671-1676).

Un primer aspecto de la invención proporciona un 4'-tio-nucleósido que es un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende un radioisótopo, preferentemente, un radioisótopo emisor de positrones o de un solo fotón, o el correspondiente isótopo no radiactivo (estable) unido a través de un enlace de triazol a la posición N-3. En el Esquema 1 o el Esquema 2 anteriores, se describen algunos ejemplos. Alternativamente, el enlace de triazol podría ser un agente quelante de metales, tal como DOTA (e HYNIC), según lo expuesto en los Esquemas 3 y 4.

El término 4'-tio-nucleósido será ampliamente conocido por los expertos en la técnica. Una estructura ejemplar es:

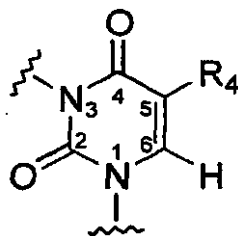
1)



Para la presente invención, R₁, R₂ y R₃ es H, OH o OCH₃.

Una estructura ejemplar para la base es:

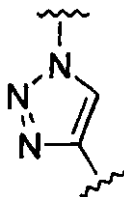
2)



R₄ puede ser, por ejemplo, H o CH₃. R₄ puede ser alternativamente un grupo alquilo lineal o ramificado, por ejemplo, un grupo alquilo C₂-C₄, alqueniilo, alquinilo, alquilo cíclico, por ejemplo, grupo alquilo cíclico C₃-C₇, o halógeno. Alternativamente, R₄ puede ser un soporte sólido funcionalizado con Sn o Ge. Preferentemente, R₄ es H o CH₃. Los esquemas de reacción y las moléculas de la invención se ilustran en la presente memoria mediante compuestos en los que R₄ es CH₃. Sin embargo, el lector apreciará que, en estos esquemas de reacción y las moléculas, se podría reemplazar el grupo CH₃ por otro grupo R₄ según lo definido anteriormente, por ejemplo, por H.

La expresión enlace de triazol también será ampliamente conocida por los expertos en la técnica. Se puede denominar 1,2,3-triazol 1,4-disustituido. La estructura se puede representar como:

3)



5 El 4'-tio-nucleósido puede estar en forma de sal. Las sales que se pueden usar convenientemente para inyección incluyen sales de bases fisiológicamente aceptables, por ejemplo, derivadas de una base apropiada, tales como un metal alcalino (por ejemplo, sodio), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio), sales de amonio y NX_4^+ (en la que X es alquilo C_{1-4}). Las sales de ácidos fisiológicamente aceptables incluyen clorhidrato, sulfato, mesilato, besilato, fosfato y glutamato.

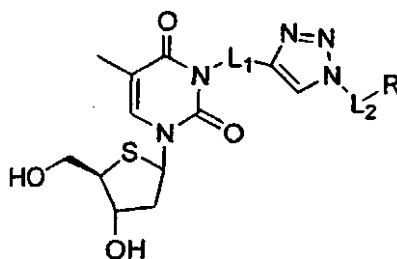
10 Las sales según la invención se pueden preparar de manera convencional, por ejemplo, mediante la reacción del compuesto precursor con una base apropiada, formando la sal de base correspondiente, o con un ácido apropiado, formando la sal de ácido correspondiente.

El radioisótopo emisor de positrones puede ser [^{18}F] o su isótopo no radiactivo (estable) correspondiente, que es ^{19}F .

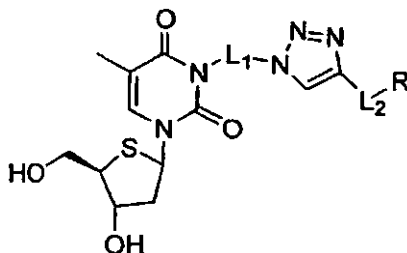
Alternativamente, el radioisótopo emisor de positrones o de un solo fotón puede ser ^{11}C , ^{61}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{94m}Tc , ^{99m}Tc , ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I o ^{201}Tl . Alternativamente, el radioisótopo puede ser, por ejemplo, 3H , ^{14}C , ^{35}S or ^{125}I , por ejemplo, para investigaciones de laboratorio.

15 Para ^{11}C hay dos isótopos estables de origen natural correspondientes (^{12}C y ^{13}C). Como los expertos en la técnica sabrán, los elementos más pesados tienen múltiples isótopos estables.

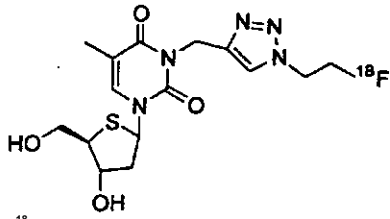
20 En realizaciones, el 4'-tio-nucleósido puede tener la estructura que se muestra a continuación, en la que los grupos ligadores L_1 y L_2 son como se han definido anteriormente. R es un resto indicador que comprende un radionucleido para PET o SPECT seleccionado de la lista anterior. Los radionucleidos metálicos se pueden incorporar mediante el uso de un agente quelante de metales tal como DOTA (o un quelante de aminocarboxilato bifuncional similar) o HYNIC.



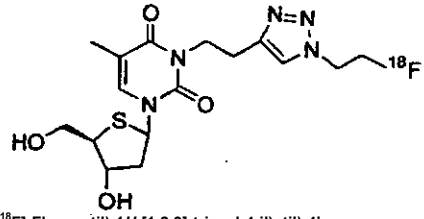
25 En realizaciones, el 4'-tio-nucleósido puede tener la estructura que se muestra a continuación, en la que los grupos ligadores L_1 y L_2 son como se han definido anteriormente. R es un resto indicador que comprende un radionucleido para PET o SPECT seleccionado de la lista anterior. Los radionucleidos metálicos se pueden incorporar mediante el uso de un agente quelante de metales tal como DOTA (o un quelante de aminocarboxilato bifuncional similar) o HYNIC.



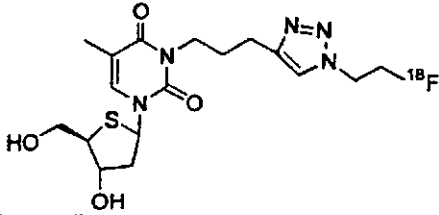
Las siguientes estructuras representan realizaciones particularmente preferidas del 4'-tio-nucleósido de la invención:



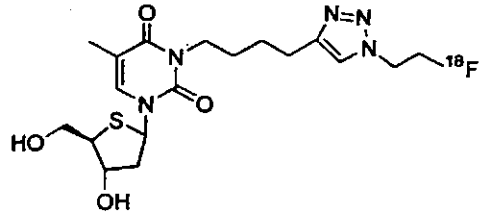
*N*²-((1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



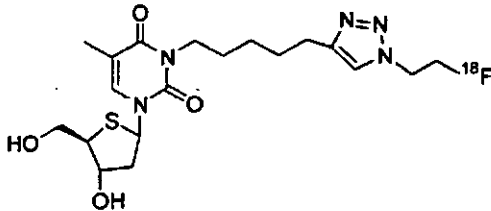
*N*²-(2-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)etil)-4'-tio-β-timidina



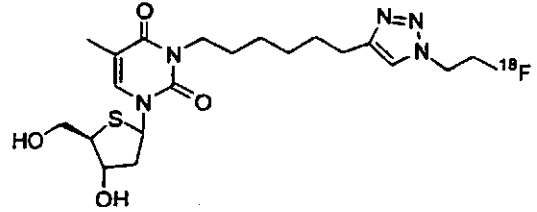
*N*²-(3-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)propil)-4'-tio-β-timidina



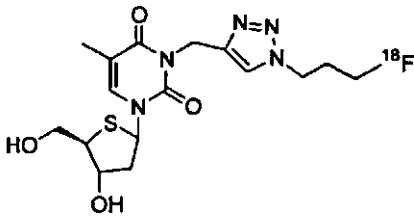
*N*²-(4-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)butil)-4'-tio-β-timidina



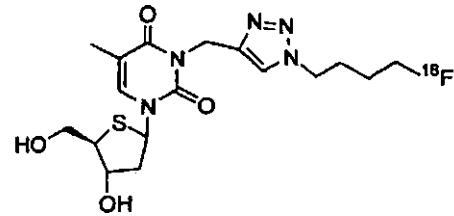
*N*²-(5-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)pentil)-4'-tio-β-timidina



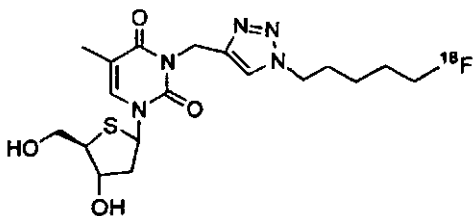
*N*²-(6-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)hexil)-4'-tio-β-timidina



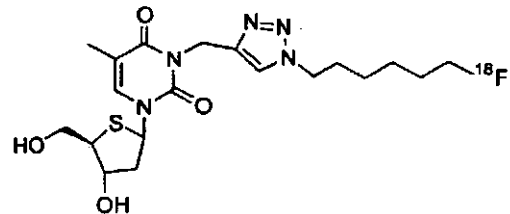
*N*²-((1-(3-[¹⁸F]-Fluoropropil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



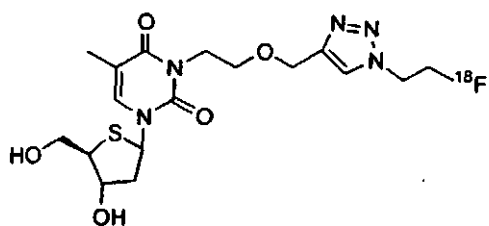
*N*²-((1-(4-[¹⁸F]-Fluorobutil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



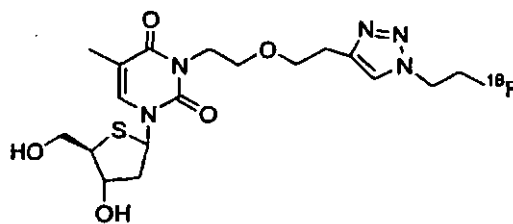
*N*²-((1-(5-[¹⁸F]-Fluoropentil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



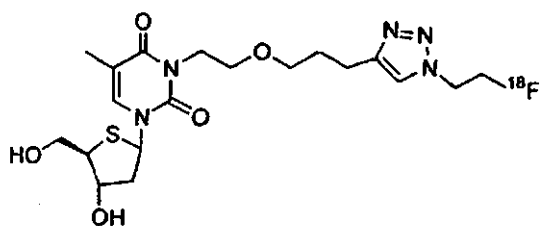
*N*²-((1-(6-[¹⁸F]-Fluorohexil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



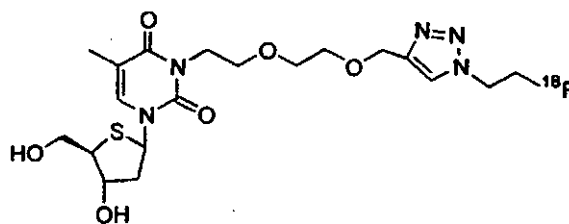
*N*³-(2-((1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metoxi)etil)-4'-tio-β-timidina



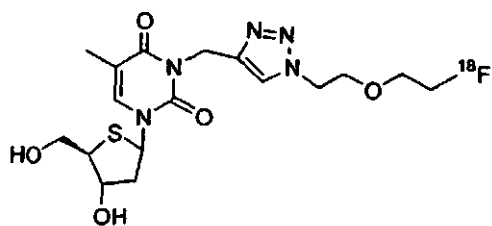
*N*³-(2-(2-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)etoxi)etil)-4'-tio-β-timidina



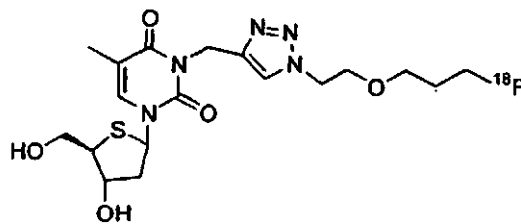
*N*³-(2-(3-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)propoxi)etil)-4'-tio-β-timidina



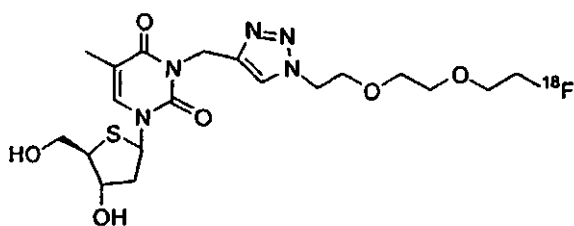
*N*³-(2-(2-(2-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)etoxi)etoxi)etil)-4'-tio-β-timidina



*N*³-(1-(2-(2-[¹⁸F]-Fluoroetoxi)etil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)etil)-4'-tio-β-timidina

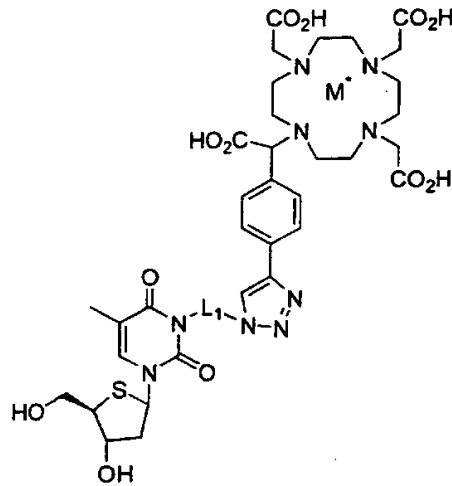


*N*³-(1-(2-(3-[¹⁸F]-Fluoropropoxi)etil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)etil)-4'-tio-β-timidina

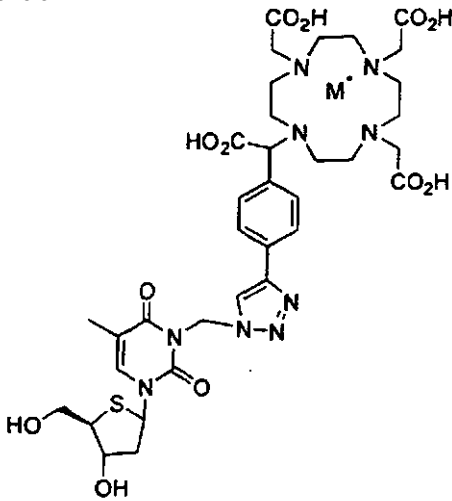


*N*³-(1-(2-(2-(2-[¹⁸F]-Fluoroetoxi)etoxi)etil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)etil)-4'-tio-β-timidina

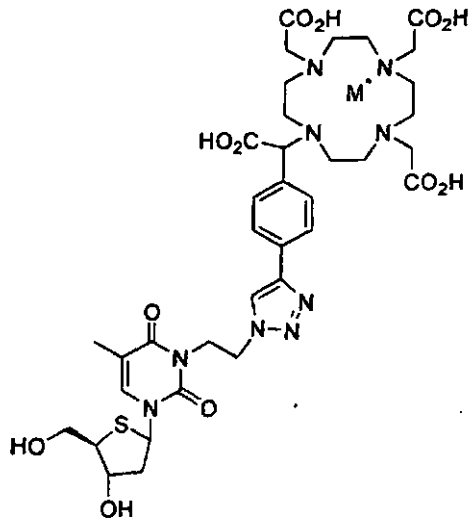
5 En otras realizaciones, el 4'-tio-nucleósido puede tener la estructura que se expone a continuación, en la que el radioisótopo para PET/SPECT (M^*), por ejemplo, ^{61}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{111}In , ^{201}Tl , ^{94m}Tc , ^{99m}Tc (u otro radioisótopo mencionado anteriormente, por ejemplo, ^3H , ^{14}C o ^{125}I) forma un complejo mediante un agente quelante adecuado, y el agente quelante se une al tionucleósido a través de un enlace de triazol. Los agentes quelantes adecuados incluyen DOTA (o un quelante de aminocarboxilato bifuncional similar) e HYNIC. L_1 es como se ha descrito anteriormente.



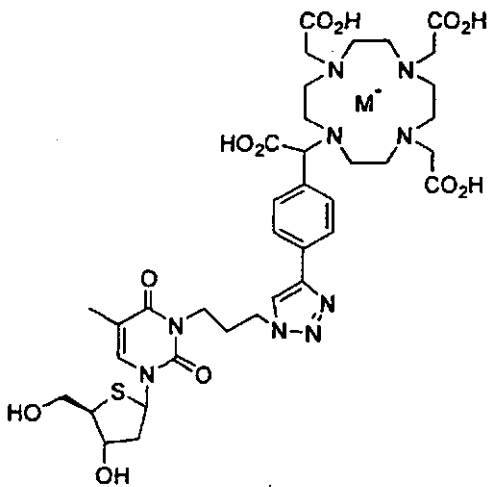
Las siguientes estructuras representan más realizaciones particularmente preferidas del 4'-tio-nucleósido de la invención:



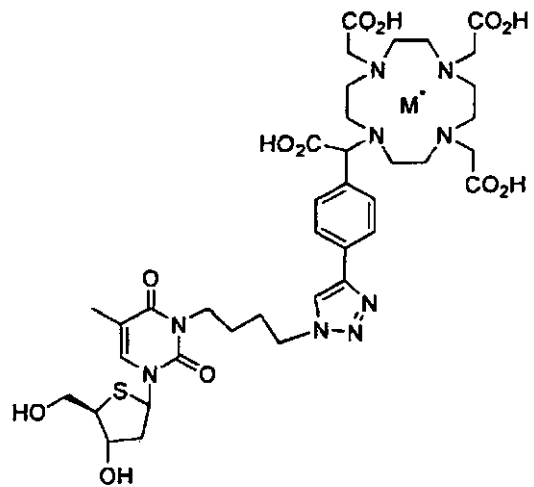
N³-(((4-(4-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]metil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propil)-4'-tio-β-timidina



N³-(2-((4-(4-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]metil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)-4'-tio-β-timidina



N³-(3-((4-(4-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]metil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propil)-4'-tio-β-timidina



N³-(4-((4-(4-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]metil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)butil)-4'-tio-β-timidina

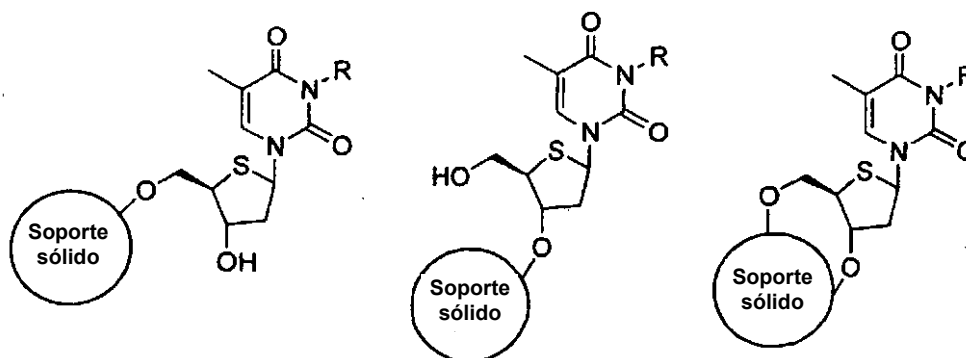
M* es un indicador radiometálico, que se puede seleccionar entre los siguientes ejemplos: ^{61}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , $^{94\text{m}}\text{Tc}$, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{201}Tl , ^3H , ^{14}C o ^{125}I .

Un aspecto adicional de la invención proporciona un procedimiento para preparar un 4'-tio-nucleósido de la invención que comprende la etapa de exponer un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende un alquino terminal unido por la posición N-3 a un compuesto radiomarcado (o compuesto no radiomarcado correspondiente) que comprende un grupo azida; o la etapa de exponer un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende un grupo azida unido por la posición N-3 a un compuesto radiomarcado (o un compuesto no radiomarcado correspondiente) que comprende un grupo alquino terminal. El radiomarcador es como el expuesto anteriormente en relación con los aspectos anteriores de la invención, por ejemplo, un radioisótopo emisor de positrones o de un solo fotón.

En una realización del procedimiento del aspecto anterior, la etapa de exposición se lleva a cabo en presencia de un catalizador metálico. Como sería apreciado por el experto en la técnica, el catalizador metálico puede ser cualquier catalizador adecuado. En una realización preferida, el catalizador es un catalizador que contiene cobre. El catalizador puede ser polvo de cobre. Se prefiere particularmente que el catalizador sea sulfato de cobre/ascorbato sódico. Se prevé la posibilidad de usar un ligando monodentado de fosforamidita (véase Campbell-Verduyn *et al.*, (2009) *Chem. Commun* (16):2139-41) o batofenantrolina como aditivos para el sistema catalizador de sulfato de cobre/ascorbato de sodio.

En una realización más del procedimiento del aspecto anterior, la etapa de exposición se lleva a cabo a una temperatura de entre 0 y 150 °C. Se prefiere que la etapa de exposición se lleve a cabo a o por encima de la temperatura ambiente. Por lo tanto, la etapa de exposición se puede llevar a cabo entre 10 y 100 °C, por ejemplo, entre 15 y 95 °C, entre 20 y 90 °C o entre 25 y 85 °C. En una realización particularmente preferida, la etapa de exposición se lleva a cabo a 85 °C.

En una realización, el nucleósido está unido a un soporte sólido a través de uno o ambos grupos hidroxilo del anillo de azúcar, como se muestra a continuación. En este caso, R es un grupo precursor que comprende el grupo azida o alquino terminal para la reacción destinada a dar el compuesto radiomarcado final, que entonces se podría escindir del soporte sólido.



El soporte sólido puede ser cualquier resina en fase sólida adecuada que esté funcionalizada con un grupo alquilo, tritilo o acilo. Lo ideal es que la resina se hinche en el disolvente de elección. Los ejemplos de resinas adecuadas incluyen polímeros tales como poliestireno, poliamida, poli(acrilamida), o vidrio o silicio revestido con un polímero. La resina en fase sólida puede estar en forma de pequeñas partículas diferenciadas tales como perlas o revestir la superficie interna de un cartucho o en el revestimiento de una cuba de reacción.

Otro aspecto más de la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un 4'-tio-nucleósido de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El vehículo puede ser, por ejemplo, etanol al 5 % en solución salina, pero también se pueden usar otros vehículos.

Los compuestos de la invención se pueden administrar normalmente por vía oral o por cualquier vía parenteral, en forma de una formulación farmacéutica que comprende el ingrediente activo, opcionalmente, en forma de una sal de adición de ácido o de base no tóxica orgánica o inorgánica, en una forma de dosificación farmacéuticamente aceptable. Dependiendo del trastorno y del paciente que se vaya a tratar, así como de la vía de administración, las composiciones se pueden administrar a dosis variables.

En terapia humana, los compuestos de la invención se pueden administrar solos, pero generalmente se administrarán mezclados con un excipiente, diluyente o vehículo farmacéutico adecuado seleccionado con respecto a la vía de administración deseada y a la práctica farmacéutica estándar.

Por ejemplo, los compuestos de la invención se pueden administrar por vía oral, bucal o sublingual en forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, soluciones o suspensiones, que pueden contener agentes aromatizantes o colorantes para aplicaciones de liberación inmediata, retardada o controlada. Los compuestos de la invención

también se pueden administrar mediante inyección intracavernosa.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar parenteralmente, por ejemplo, por vía intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intraesternal, intracraneal, intramuscular o subcutánea, o se pueden administrar mediante técnicas de infusión. Se usan mejor en forma de una solución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo, suficientes sales o glucosa para volver la solución isotónica con la sangre. Las soluciones acuosas deben estar adecuadamente tamponadas (preferentemente, a un pH de 3 a 9), si es necesario. La preparación de las formulaciones parenterales adecuadas en condiciones estériles se realiza fácilmente mediante técnicas farmacéuticas convencionales muy conocidas por los expertos en la técnica.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones estériles acuosas y no acuosas para inyección que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes monodosis o multidosis, por ejemplo, en ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en un estado criodesecado (liofilizado) que sólo requiera la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, de agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y las suspensiones inyectables extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo anteriormente descrito.

Para un uso veterinario, un compuesto de la invención se administra como una formulación convenientemente aceptable según la práctica veterinaria normal, y el cirujano veterinario determinará la pauta de dosificación y la vía de administración más adecuada para el animal en particular.

Otro aspecto más de la invención proporciona un 4'-tio-nucleósido de la invención para su uso en medicina.

Un aspecto adicional de la invención proporciona un 4'-tio-nucleósido de la invención para su uso en la ayuda de la formación de imágenes, el pronóstico, el diagnóstico o el análisis de la respuesta al tratamiento de una enfermedad proliferativa. Otro aspecto más de la invención proporciona el uso de un 4'-tio-nucleósido de la invención en la fabricación de un medicamento para su uso en la formación de imágenes, el pronóstico, el diagnóstico, la selección de tratamiento o el análisis de la respuesta al tratamiento de una enfermedad proliferativa.

La enfermedad proliferativa es comúnmente cáncer, incluyendo todos los tumores sólidos, linfomas y leucemia. Otras enfermedades proliferativas incluyen, pero sin limitación, artritis reumatoide, hiperplasia endometrial, restenosis vascular y esclerosis. Las situaciones en las que los derivados de la presente invención serán útiles serán evidentes para los expertos en la técnica, por analogía con otros agentes de formación de imágenes de positrones o agentes experimentales de formación de imágenes.

Un aspecto adicional de la invención proporciona un kit de partes que comprende un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende una azida o un alquino terminal unido por la posición N-3 y un compuesto radiomarcado (o el compuesto no radiomarcado correspondiente), que comprende un grupo azida o un grupo alquino terminal.

En un aspecto más, la invención proporciona el uso de un 4'-tio-nucleósido de la invención para el análisis *in vitro* de la proliferación y la actividad anti-proliferativa.

A continuación, se describe la invención más detalladamente con referencia a los siguientes ejemplos no restrictivos.

Referencias

- Barthel H., Perumal M., Latigo J., He Q., Brady F., Luthra S. K., *et al.*, "The uptake of 3'-deoxy-3'-[18F]Fluorothymidine into L5178Y tumors in vivo is dependent on thymidine kinase 1 protein and ATP levels". *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2005; 32:257-263.
- Kenny L. M., Aboagye E. O., Price P. M., "Positron emission tomography imaging of cell proliferation in oncology". *Clin. Oncol.* 2004;16:176-185.
- Kenny L. M., Vigushin D. M., Al-Nahhas A., Osman S., Luthra S. K., Shousha S., *et al.*, "Quantification of cellular proliferation in tumor and normal tissues of patients with breast cancer by [18F]fluorothymidine-positron emission tomography imaging: evaluation of analytical methods". *Cancer Res* 2005; 65:10104-10112.
- Buck A. K., Halter G., Schirmeister H., Kotzerke J., Wurzing I., Glatting G., *et al.* "Imaging proliferation in lung tumors with PET: 18F-FLT versus 18F-FDG". *J. Nucl. Med.* 2003; 44:1426-1431.
- Barthel H., Cleij M. C., Collingridge D. R., Hutchinson O. C., Osman S., He Q., *et al.* "3'-deoxy-3'-[18F]Fluorothymidine as a new marker for monitoring tumor response to anti-proliferative therapy in vivo with positron emission tomography". *Cancer Res* 2003; 3:3791-3798.
- Kenny L., Coombes R. C., Vigushin D. M., Al-Nahhas A., Shousha S., Aboagye E. O., "Imaging early changes in proliferation at 1 week post chemotherapy: a pilot study in breast cancer patients with 3'-deoxy-3'-[(18F)]fluorothymidine positron emission tomography". *Eur. J. Nuc. I. M ed. Mo I. Imag ing* 2007; [Publicación electrónica como avance de la publicación impresa].
- Leyton J., Alao J. P., Da Costa M., Stavropoulou A. V., Latigo J. R., Perumal M., *et al.*, "In vivo biological activity of the histone deacetylase inhibitor LAQ824 is detectable with 3'-deoxy-3'-[18F]fluorothymidine positron

emission tomography". *Cancer Res.* 2006; 66:7621-7629.

8. Leyton J., Latigo J. R., Perumal M., Dhaliwal H., He Q, Aboagye E., "Early detection of tumour response to chemotherapy by 3'-deoxy-3'-[18F]Fluorothymidine positron emission tomography: the effect of cisplatin on a fibrosarcoma tumour model in vivo". *Cancer Res.* 2005; 65:4202-4210.

9. Leyton J., Lockley M., Aerts J. L., Baird S. K., Aboagye E. O., Lemoine N. R., *et al.*, "Quantifying the activity of adenoviral E1A CR2 deletion mutants using renilla luciferase bioluminescence and 3'-deoxy-3'-[18F]fluorothymidine positron emission tomography imaging". *Cancer Res.* 2006; 66:9178-9185.

10. Buck A. K., Schirrmester H., Hetzel M., von Der Heide M., Halter G., Glatting G., *et al.*, "3'-deoxy-3'-[(18)F]fluorothymidine-positron emission tomography for non-invasive assessment of proliferation in pulmonary nodules". *Cancer Res.* 2002; 62:3331-3334.

11. Grierson J. R., Schwartz J. L., Muzik M., Jordan R., Krohn K. A., "Metabolism of 3'-deoxy-3'-[F-18]fluorothymidine in proliferating A549 cells: validation for positron emission tomography". *Nucl. Med. Biol.* 2004;31:829-837.

12. Bandyopadhyaya A. K., Johnsamuel J., Al-Madhoun A. S., Eriksson S., Tjarks W., "Comparative molecular field analysis and comparative molecular similarity indices analysis of human thymidine kinase 1 substrates". *Biorg. Med. Chem.* 2005; 13:1681-1689.

13. Nicolas F., De Sousa G., Thomas P., Placidi M., Lorenzon G., Rahmani R., "Comparative metabolism of 3'-azido- 3'-deoxythymidine in cultured hepatocytes from rats, dogs and humans". *Drug Metab. Disp.* 1995; 23:308-313.

14. Rajaonarison J. F., Lacarelle B., De Sousa G., Catalin J., Rahmani R., "In vitro glucuronidation of 3'-azido-3'-deoxy- thymidine by human liver. Role of UDP-glucuronosyltransferase 2 form". *Drug Metab. Disp.* 1991; 19:809-815.

15. Glaser M., Arstad E. "Click Labeling' with 2-[(18)F]Fluoroethylazide for Positron Emission Tomography". *Bioconjugate Chem.* 2007; 18:989-993.

16. Wang J., Eriksson S., "Phosphorylation of the anti-hepatitis B nucleoside analog 1-(2'-deoxy-2'-fluoro-1-b-D-ribo- furanosyl)-5-iodouracil (FIAU) by human cytosolic and mitochondrial thymidine and implications for cytotoxicity". *Antimicrob. Agents Chemother* 1996; 40:1555-1557.

17. Sun H., Mangner T. J., Collins J. M., Muzik O., Douglas K., Shields A. F. "Imaging DNA synthesis in vivo with 18F- FMAU and PET". *J. Nucl. Med.* 2005; 46:292-296.

18. Sun H., Sloan A., Mangner T. J., Vaishampayan U., Muzik O., Collins J. M., *et al.*, "Imaging DNA synthesis with [18F] 5 FMAU and positron emission tomography in patients with cancer". *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2005; 32:15-22.

19. Toyohara J., Gogami A., Hayashi A., Yonekura Y., Fujibayashi Y. "Pharmacokinetics and metabolism of 5-125I- iodo-4'-thio-2'-deoxyuridine in rodents". *J. Nucl. Med.* 2003; 44:1671-1676.

20. Toyohara J., Hayashi A., Sato M., Tanaka H., Haraguchi K., Yoshimura Y., *et al.*, "Rationale of 5-(125)I-iodo-4'-thio- 2'-deoxyuridine as a potential iodinated proliferation marker". *J. Nucl. Med.* 2002; 43:1218-1226.

21. Toyohara J., Kumata K., Fukushi K., Irie T., Suzuki K. "Evaluation of 4'-[methyl-14C]thiothymidine for in vivo DNA synthesis imaging". *J. Nucl. Med.* 2006; 47:1717-1722.

Figura 1. Perfiles de CLAR para reacciones de radioquímica clic catalizadas por sulfato de cobre y polvo de cobre. A: patrón frío (5b); B y C: reacción catalizada por sulfato de cobre; D y E: análisis del producto purificado (eluido de un cartucho C18 con etanol, sin PBS añadido) de la reacción del sulfato de cobre. Condiciones de la CLAR: columna ACE de 10 x 100 mm, metanol al 5-70 % en 15 min, 3 ml/min, UV a 254 nm

Figura 2. Proporción de radiotrazador incorporado a la fracción insoluble de ácido (principalmente, ADN) de las células HCT116.

Figura 3. Imágenes de PET de [¹⁸F] FTT en ratones portadores de tumor HCT116 (T, flecha).

Figura 4. Curvas de tiempo frente a radiactividad obtenidas de la región de análisis de interés de los datos de la PET procedentes de ratones portadores de tumores HCT116.

Figura 5. Cromatogramas de radio-CLAR seleccionados del estudio de metabolitos descrito en el Ejemplo 3. (A) inyección de [¹⁸F]FTT de control; (B) Plasma 30 minutos; (C) Tumor 30 minutos; (D) Hígado 30 minutos; (E) Riñón 30 minutos; (F) Orina 30 minutos.

Ejemplo 1

El compuesto 2b del Esquema 5 (siguientes referencias 1 y 2) se sintetizó según una modificación del procedimiento de Inoue y Naka (siguientes referencias 1 y 2). Seguidamente, se derivatizaron los compuestos **2a/2b** para hacerlos susceptibles al radiomarcado de PET. Un ejemplo de esto consistió en centrarse en la reacción de cicloadición de Huisgen 3+2 o "química clic", dando **5a/5b**, cuya ruta se muestra en el Esquema 5 que figura a continuación. Este enfoque es atractivo debido a la excelente tolerancia del grupo funcional mostrada por la reacción, eliminando la necesidad de una estrategia de grupo protector y, por lo tanto, mejorando el tiempo de radiosíntesis.

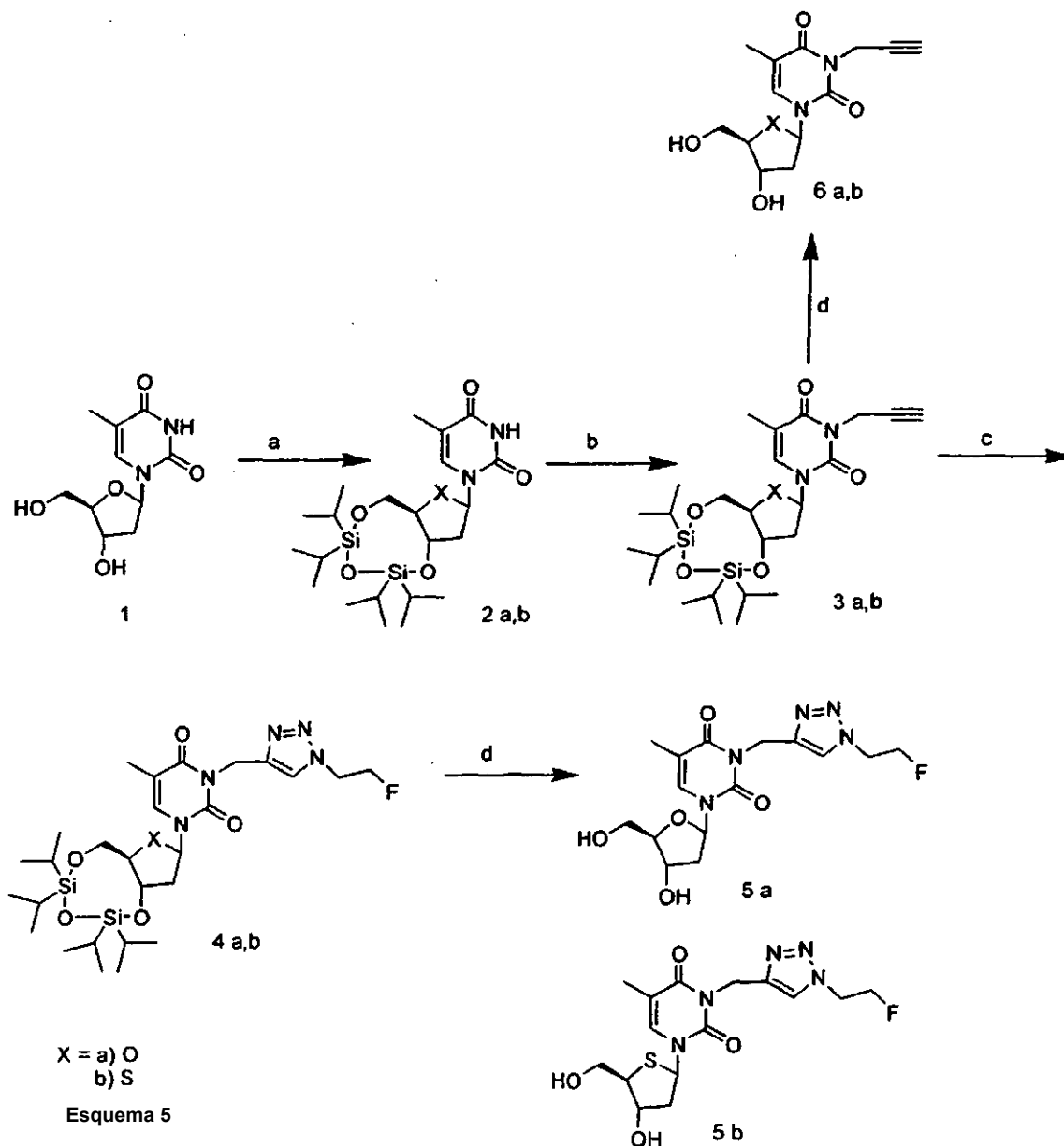
Referencias

- Inoue, N., Kaga, D., Minakawa, N., y Matsuda, A. "Practical Synthesis of 2'-Deoxy-4'-thioribonucleosides: Substrates for the Synthesis of 4'-ThioDNA". *Journal of Organic Chemistry*, 70:8597-8600, 2005.
- Naka, T., Minakawa, N., Abe, H., Kaga, D., y Matsuda, A. "The Stereoselective Synthesis of 4'-U-Thioribonucleosides via the Pummerer Reaction". *Journal of the American Chemical Society*, 122:7233-7243, 2000.

Síntesis

La presente metodología de síntesis se resume en el Esquema 5 que figura a continuación. La alquilación con bromuro de propargilo de los nucleósidos **2a/2b** protegidos con siloxano dio los nucleósidos *N*-alquilados **3** con un rendimiento del 94 y 89 %, respectivamente. La cicloadición con 2-fluoroetilazida (química "clic") dio los triazoles **4** antes de la desprotección del sililo mediante el uso de fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF), dando los análogos "fríos" finales **5**. Probablemente, el rendimiento inferior de la etapa de desprotección (~50 %) se deba simplemente a algo de material que haya quedado en el licor madre de la recrystalización.

Se descubrió que la secuencia de la reacción de cicloadición seguida de la desprotección era preferible a la secuencia alternativa de desprotección/cicloadición debido a las dificultades encontradas en el aislamiento del nucleósido **5a** de la mezcla de reacción de cicloadición cuando se intentó realizar la reacción de química clic usando **6a**.



Reactivos y condiciones: a) 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropildisiloxano, piridina, T.A., 40 h; b) bromuro de propargilo,

K₂CO₃, DMF, T.A., 48 h; c) 2-fluoroetilazida, CuSO₄, ácido ascórbico, DMF, T.A., 3 h; d) TBAF, THF, ácido acético, 0 °C, 1,5 h.

Apartado experimental

5 Los reactivos y los disolventes se adquirieron en Sigma-Aldrich (Gillingham, Reino Unido) y se usaron sin purificación adicional. El carbonato de potasio se almacenó en un desecador al vacío sobre pentóxido de fósforo. Todas las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera de argón a menos que se indique lo contrario. La cromatografía por desorción súbita se llevó a cabo usando sílice neutro Davisil (60 A, 60-200 micrómetros, Fisher Scientific, Loughborough, Reino Unido), las mezclas de disolventes se indican en volumen/volumen. Los espectros de RMN de ¹H se obtuvieron en un espectrómetro de RMN Bruker Avance de 600 MHz y los espectros están referenciados con respecto al disolvente residual. Las constantes de acoplamiento (*J*) se dan en hercios (Hz). Los espectros de masas se obtuvieron en el modo positivo de ionización por electronebulización en un Micromass LCT Premier de Waters. Los puntos de fusión se determinaron en tubos capilares en un aparato de medición del punto de fusión SMP1 de Stuart Scientific y se presentan sin corregir. Las mezclas de disolventes para la cromatografía de capa fina (CCF) se indican en volumen/volumen y las muestras se desarrollaron en placas de sílice neutro con soporte de aluminio (espesor de 0,2 mm) (Fluka, Seelze, Alemania).

La 4'-tiotimidina **2b** se sintetizó según el procedimiento de Inoue⁵ realizado por Creative Chemistry (Uxbridge, Middlesex, Reino Unido) y se usó como fue suministrada. El análisis por RMN indicó una coherencia con la estructura anteriormente publicada.

3',5'-O-(1,1,3,3-Tetraisopropildisiloxano-1,3-diil)timidina (2a)

20 A una solución de timidina (1,21 g, 5 mmol) en piridina seca (12 ml), se añadió 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropildisiloxano (1,74 g, 5,5 mmol) y se agitó la solución resultante en atmósfera de argón a temperatura ambiente. Tras 40 h, se eliminó al vacío todo el disolvente, dando un residuo incoloro. La trituración con hexano dio un polvo blanco que se usó sin purificación adicional.

3',5'-O-(1,1,3,3-Tetraisopropildisiloxano-1,3-diil)-N³-(2-propinil)timidina (3a)

25 A una solución de **2a** (0,73 g, 1,5 mmol) en DMF seca (10 ml), se añadió K₂CO₃ (0,41 g, 3 mmol) seguido de bromuro de propargilo (80 % en peso en tolueno) (0,71 g, 6 mmol), y se agitó la mezcla resultante bajo argón a temperatura ambiente. Tras 48 h, la CCF indicó la conversión completa de **2a**, y se vertió la mezcla sobre ácido cítrico ac. al 10 % (20 ml), se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml), y se secó sobre Na₂SO₄. La cromatografía en columna (hexanos/acetato de etilo (3:1)) proporcionó el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,74 g, 94 %).

30 RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 7,44 (d, *J* = 1,2 Hz, 1 H), 6,12 (d, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 4,71 (m, 2 H), 4,50-4,46 (m, 1 H), 4,12 (dd, *J* = 2,4 Hz, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 4,02 (dd, *J* = 3 Hz, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 3,75 (dt, *J* = 8,4 Hz, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 2,53-2,48 (m, 1 H), 2,27-2,23 (m, 1 H), 2,17 (t, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 1,95 (d, *J* = 1,2 Hz, 3 H), 1,10-0,92 (m, 28 H).

3',5'-O-(1,1,3,3-Tetraisopropildisiloxano-1,3-diil)-N³-(2-propinil)-4'-tio-β-timidina (3b)

35 A una solución de **2b** (1,00 g, 2 mmol) en DMF seca (12 ml), se añadió K₂CO₃ (0,55 g, 4 mmol) seguido de bromuro de propargilo (80 % en peso en tolueno) (0,95 g, 8 mmol), y se agitó la mezcla resultante bajo argón a temperatura ambiente. Tras 48 h, la CCF indicó la conversión completa de **2b**, y se vertió la mezcla sobre ácido cítrico ac. al 10 % (30 ml), se extrajo con EtOAc (3 x 15 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. La cromatografía en columna (hexanos/acetato de etilo (3:1)) proporcionó el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,96 g, 89 %). RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 7,89 (d, *J* = 1,8 Hz, 1 H), 6,11 (d, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 4,72 (d, *J* = 2,4 Hz, 2 H), 4,48-4,44 (m, 1 H), 4,13 (dd, *J* = 3 Hz, *J* = 6,6 Hz, 1 H), 3,95 (dd, *J* = 1,8 Hz, *J* = 6,6 Hz, 1 H), 3,33 (dt, *J* = 9 Hz, *J* = 1,8 Hz, 1 H), 2,51-2,46 (m, 1 H), 2,28-2,24 (m, 1 H), 2,17 (t, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 1,97 (d, *J* = 1,8 Hz, 3 H), 1,14-0,91 (m, 28 H).

3',5'-O-1,1,3,3-Tetraisopropildisiloxano-1,3-diil)-N³-((1-(2-fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)timidina (4a)

45 A una solución de **3a** (104 mg, 0,2 mmol) en DMF seca (1 ml), se añadió ácido ascórbico (36 mg, 0,2 mmol) en agua (0,3 ml) seguido de sulfato de cobre (25 mg, 0,1 mmol) en agua (0,3 ml), seguido de 2-fluoroetilazida (22 mg, 0,24 mmol) en DMF seca (1 ml), y se agitó la mezcla resultante bajo argón. Tras 3 h, la CCF indicó la conversión completa de **3a**, y se vertió la mezcla sobre ácido cítrico ac. al 10 % (10 ml), se extrajo con EtOAc (3 x 10 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. La cromatografía en columna (DCM:MeOH (95:5)) dio el producto deseado en forma de un aceite incoloro (93 mg, 76 %). RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 7,71 (s, 1 H), 7,41 (s, 1 H), 6,12 (d, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 5,27 (d, *J* = 19,2 Hz, 1 H), 5,25 (d, *J* = 19,2 Hz, 1 H), 4,77 (dt, *J* = 46,8 Hz, *J* = 4,8 Hz, 2 H), 4,62 (dt, *J* = 27 Hz, *J* = 4,8 Hz, 2 H), 4,49-4,45 (m, 1 H), 4,11 (dd, *J* = 2,4 Hz, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 4,01 (dd, *J* = 3 Hz, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 3,74 (dt, *J* = 7,8 Hz, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 2,51-2,46 (m, 1 H), 2,25-2,21 (m, 1 H), 1,94 (s, 3 H), 1,10-0,92 (m, 28 H).

3',5'-O-(1,1,3,3-Tetraisopropildisiloxano-1,3-diil)-N³-((1-(2-fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina (4b)

55 El tionucleósido **4b** se preparó según el procedimiento de preparación de **4a**, a excepción del uso de **3b**, dando un aceite incoloro (101 mg, 80 %). RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 7,85 (s, 1 H), 7,71 (s, 1 H), 6,12 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H),

5,26 (s, 2 H), 4,76 (dt, $J = 46,8$ Hz, $J = 4,8$ Hz, 2 H), 4,62 (dt, $J = 26,4$ Hz, $J = 4,8$ Hz, 2 H), 4,48-4,44 (m, 1 H), 4,12 (dd, $J = 3$ Hz, $J = 6,6$ Hz, 1 H), 3,96-3,94 (m, 1 H), 3,33-3,31 (m, 1 H), 2,50-2,42 (m, 1 H), 2,26-2,23 (m, 1 H), 1,94 (s, 3 H), 1,14-0,91 (m, 28 H).

N^3 -((1-(2-Fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)timidina (5a)

5 A una mezcla de **4a** (92 mg, 0,15 mmol) y ácido acético (5 μ l) enfriada en un baño con hielo, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1,0M in THF) (0,3 ml, 0,3 mmol). Tras 1,5 h, la CCF indicó la conversión completa de **4a**, y se eliminó al vacío todo el disolvente. La cromatografía en columna (DCM:MeOH (95:5)) produjo un aceite incoloro. La recristalización en EtOH dio el compuesto del título en forma de un sólido blanco (21 mg, 35 %). EMAR (IES) = 370,1521 (M + H)⁺. Calcd. para C₁₅H₂₁N₅O₅F: 370,1527. RMN de ¹H (600 MHz, CD₃CN) δ 7,73 (s, 1 H), 7,63 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 6,23 (t, $J = 7,2$ Hz, 1 H), 5,13 (d, $J = 15$ Hz, 1 H), 5,12 (d, $J = 15$ Hz, 1 H), 4,77 (dt, $J = 46,8$ Hz, $J = 4,8$ Hz, 2 H), 4,60 (dt, $J = 27,6$ Hz, $J = 4,8$ Hz, 2 H), 4,36-4,33 (m, 1 H), 3,83 (c, $J = 3,6$ Hz, 1 H), 3,73-3,65 (m, 2 H), 3,32 (d, $J = 4,2$ Hz, 1 H), 3,13 (t, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 2,21-2,16 (m, 2 H), 1,87 (d, $J = 1,2$ Hz, 3 H).

N^3 -((1-(2-Fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio- β -timidina (5b)

15 El tionucleósido **5b** se preparó según el procedimiento de preparación de **5a**, a excepción del uso de **4b**, dando un aceite incoloro. La recristalización en EtOH proporcionó un sólido blanco (32 mg, 55 %). EMAR (IES) = 386,1307 (M + H)⁺. Calcd. for C₁₅H₂₁N₅O₄FS: 386,129. RMN de ¹H (600 MHz, CD₃CN) δ 7,77 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 7,73 (s, 1 H), 6,38 (t, $J = 6,6$ Hz, 1 H), 5,12 (s, 2 H), 4,77 (dt, $J = 46,8$ Hz, $J = 4,8$ Hz, 2 H), 4,60 (dt, $J = 27,6$ Hz, $J = 4,8$ Hz, 2 H), 4,44-4,42 (m, 1 H), 10 3,72-3,69 (m, 2 H), 3,37-3,34 (m, 2 H), 3,25 (t, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 2,28-2,26 (m, 1 H), 2,21-2,16 (m, 1 H), 1,90 (d, $J = 1,2$ Hz, 3 H).

N^3 -(2-Propinil)timidina (6a)

20 A una mezcla **3a** (0,73 g, 1,4 mmol) y ácido acético (0,17 g, 2,8 mmol) enfriada en un baño con hielo, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1,0M in THF) (2,8 ml, 2,8 mmol). Tras 1,5 h, la CCF indicó la conversión completa de **3a**, y se eliminó al vacío todo el disolvente. La cromatografía en columna (cloroformo:MeOH (9:1)) dio el producto deseado en forma de un aceite incoloro (0,34 g, 87 %). EMAR (IES) = 303,0959 (M + Na)⁺. Calcd. para C₁₃H₁₆N₂O₅Na: 303,0957. RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 8,92 (sa, 1 H), 7,47 (s, 1 H), 6,09 (t, $J = 7,2$ Hz, 1 H), 5,59 (m, 1 H), 4,70 (d, $J = 1,8$ Hz, 2 H), 4,61-4,57 20 (m, 1 H), 4,06 - 3,91 (m, 2 H), 2,71 (sa, 1 H), 2,41-2,33 (m, 2 H), 2,16 (t, $J = 1,8$ Hz, 1 H), 1,89 (s, 3 H).

N^3 -(2-Propinil)-4'-tio- β -timidina (6b)

30 El tionucleósido **6b** se preparó según el procedimiento de preparación de **6a**, a excepción del uso de **3b**, dando un aceite incoloro (51 mg, 86 %). EMAR (IES) = 297,0911 (M + H)⁺. Calcd. para C₁₃H₁₇N₂O₄FS: 297,0909. RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 7,71 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 6,44 (t, $J = 7,2$ Hz, 1 H), 4,73 (d, $J = 1,2$ Hz, 2 H), 4,60-4,57 (m, 1 H), 4,01 (dd, $J = 4,2$ Hz, $J = 11,4$ Hz, 1 H), 3,85 (dd, $J = 6,6$ Hz, $J = 11,4$ Hz, 1 H), 3,53-3,51 (m, 1 H), 2,97 (sa, 1 H), 2,51-2,47 (m, 1 H), 2,35-2,31 (m, 1 H), 2,17 (t, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 1,98 (d, $J = 1,2$ Hz, 3 H).

Referencias

- 35 1. Kenny, L.; Coombes, R. C.; Vigushin, D. M.; Al-Nahhas, A.; Shousha, S.; Aboagye, E. O., "Imaging early changes in proliferation at 1 week post chemotherapy: a pilot study in breast cancer patients with 3'-deoxy-3'-[(18)F]fluorothymidine positron emission tomography". *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2007. En prensa (disponible en versión electrónica).
- 40 2. Leyton, J.; Alao, J. P.; Da Costa, M.; Stavropoulou, A. V.; Latigo, J. R.; Perumal, M.; Pillai, R.; He, Q.; Atadja, P.; Lam, E. W. F.; Workman, P.; Vigushin, D. M.; Aboagye, E. O., "In vivo biological activity of the histone deacetylase inhibitor LAQ824 is detectable with 3'-deoxy-3'-[18F]fluorothymidine positron emission tomography". *Cancer Research* 2006, 66, (15), 7621-7629.
- 45 3. Leyton, J.; Latigo, J. R.; Perumal, M.; Dhaliwal, H.; He, Q.; Aboagye, E. O., "Early detection of tumor response to chemotherapy by 3'-deoxy-3'-[18F]fluorothymidine positron emission tomography: the effect of cisplatin on a fibrosarcoma tumor model in vivo". *Cancer Research* 2005, 65, (10), 4202-4210.
4. Glaser, M.; Arstad, E., "'Click Labeling' with 2-[18F]Fluoroetilazide for Positron Emission Tomography". *Bioconjugate Chemistry* 2007, 18, 989-993.
5. Inoue, N.; Kaga, D.; Minakawa, N.; Matsuda, A., "Practical Synthesis of 2'-Deoxy-4'-thioribonucleosides: Substrates for the Synthesis of 4'-ThioDNA". *Journal of Organic Chemistry* 2005, 70, 8597-8600.

Ejemplo 2

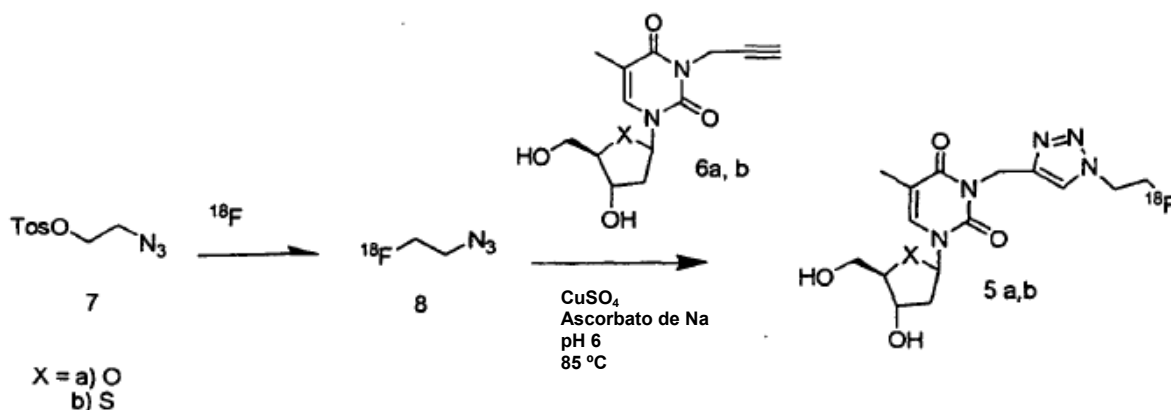
Antecedentes

A continuación, se describe la radiosíntesis de [¹⁸F] N^3 -((1-(2-fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio- β -timidina "[¹⁸F]FTT" y [¹⁸F] N^3 -((1-(2-fluoroetil)-1H-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)timidina "[¹⁸F]TOT"; esta última como radiotrazador de control que puede ser menos estable *in vivo*.

Descripción química

Se ha realizado la radiosíntesis de [^{18}F]FTT o [^{18}F]FOT mediante un procedimiento de química clic de dos etapas (Esquema 6; Figura 1). El procedimiento se ha optimizado de las siguientes maneras. En primer lugar, con respecto al catalizador, se descubrió que era preferible el sulfato de cobre/ascorbato de sodio al polvo de cobre. La reacción también se estudió tanto a temperatura ambiente como a 85 °C, sin que la reacción a temperatura ambiente llegara a finalizar (el consumo completo de azida) en 30 min. Por el contrario, a la temperatura más alta (85 °C), la reacción se completó en 15 min, sin observarse la degradación del precursor y, por consiguiente, no se realizó ninguna optimización más de la temperatura.

Inicialmente, el procedimiento se efectuó con 2 mg de precursor tio o precursor oxo; sin embargo, posteriormente, se redujo a 1 mg sin que se observara ningún impacto en el rendimiento radioquímico de EOS (5-10 % para el Esquema 6, 5 bis; 9±4 % para el Esquema 6, 5b).



Esquema 6

Una medición de la actividad específica representativa del compuesto tio **5b** dio un valor de 0,31 GBq/ μmol ; aproximadamente 100-300 veces por debajo del valor alcanzable de una manera realista. Esta anomalía se debe a la presencia de precursor de alquino en el producto formulado. Este valor se mejorará mediante una mejor separación de los picos de CLAR entre el producto y el precursor, que conduce a una menor transferencia del precursor; usando un mayor nivel de radiactividad de partida o con el uso de un eliminador de azida, tal como 2-(azidometil)naftaleno para eliminar el precursor de alquino sin reaccionar. Este valor de baja actividad específica tendrá probablemente un impacto negativo en la evaluación biológica llevada a cabo hasta la fecha.

Descripción de la biología

La [^{18}F]FTT se incorporó fácilmente a las células tumorales (cáncer de colon humano HCT116) en cultivo. A pesar de la baja radiactividad específica actual, se ha demostrado (Figura 2) una mayor incorporación de [^{18}F]FTT a la fracción insoluble de ácido (principalmente ADN) de las células tumorales en comparación con [^{18}F]FOT y [^{18}F]FLT (radiotrazador clínico actual). Todos los radiotrazadores fluorados tuvieron una menor absorción en la fracción insoluble de ácido que el radiotrazador de idéntica naturaleza, la [^3H]timidina. Las imágenes de PET demostraron la ubicación en el tumor, riñón, hígado y la primera parte del intestino delgado (Figura 3). La [^{18}F]FTT demostró una farmacocinética tisular simple (Figura 4).

Apartado experimental

Química:

Se llevó a cabo una purificación mediante radio-CLAR semi-preparativa en un Beckman System Gold (High Wycombe, RU) dotado de un detector de diodos PIN FC-3400 de Bioscan Flowcount (Lablogic) y un detector UV-106 lineal (longitud de onda de 254 nm). La separación de los analitos se realizó en una columna de CLAR ACE C₁₈ de 100 mm x 10 mm usando una fase móvil que comprendía agua y metanol (metanol del 5→70 % en 15 min) administrada a un caudal de 3 ml/min.

La radio-CLAR analítica y la actividad específica se midieron en un sistema de CLAR serie 1100 de Agilent (Agilent Technologies, Stockport, RU) dotado de un detector gamma modelo 3 γ -RAM (IN/US Systems Inc., Florida, EE.UU.) y el software Laura 3 (LabLogic, Sheffield, Reino Unido). La separación de los analitos se llevó a cabo en una columna de CLAR Phenomenex Luna de 5 μm C₁₈ de 50 mm x 4,6 mm, usando una fase móvil que comprendía K₂HPO₄ 10mM como disolvente A y acetonitrilo/K₂HPO₄ 10mM (7:3) (metanol del 5→70 % en 15 min) administrada a

un caudal de 1 ml/min y una longitud de onda de 268 nm.

Procedimiento General para la Síntesis de [¹⁸F]FOT 5a y [¹⁸F]FTT 5b: el 2-[¹⁸F]Fluoroetiltilosilato se sintetizó según un procedimiento establecido (15).

5 En una atmósfera de nitrógeno, se añadió una solución tamponada (tampón de fosfato sódico, pH 6,0, 250mM) de ascorbato de sodio (50 µl, 8,7 mg, 43,2 µmol) a un vial Wheaton (1 ml) que contenía una solución acuosa de sulfato de cobre (II) (50 µl, 1,7 mg de pentahidrato, 7,0 µmol). Después de un minuto, se añadió una solución de N³-(2-propinil)timidina (**Esquema 6, 6a**) o N³-(2-propinil)-4'-tio-β-timidina (**Esquema 6, 6b**) (1,0 mg, ~ 3 µmol) en DMF (25 µl) seguida de [¹⁸F]-2-fluoroetilazida destilada (185-740 MBq) en acetonitrilo (100 µl). Seguidamente, se calentó la mezcla a 85 °C durante 15 min, tras lo que la radio-CLAR analítica indicó el consumo completo de la azida. Se dejó enfriar la mezcla hasta la temperatura ambiente y se añadió agua (400 µl), se purificó el medio y se lavaron las células dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS) enfriada con hielo y se colocaron alícuotas de 100 µl de los lavados en tubos de recuento. Tras el lavado, se cosecharon las células mediante raspado, se recogieron en tubos de recuento y luego se centrifugaron a 1.200 g a 4 °C durante 10 minutos. Se homogeneizaron las células en 1 ml de ácido perclórico al 10 % enfriado con hielo (HClO₄) y se centrifugaron. Se eliminó la fracción soluble de ácido (sobrenadante) y se contaron alícuotas de 100 µl en un contador gamma. La radioactividad del precipitado insoluble de ácido (principalmente, ADN) se contó por separado.

Mediciones de la fracción insoluble de ácido:

20 Se realizó la extracción del ácido para separar la radiactividad asociada a las moléculas pequeñas, ARN y proteínas de la del ADN. Se cultivaron células HCT116 por triplicado en placas de 100 mm y se usaron las células para la extracción de ADN a las 24 h. En síntesis, se añadieron 5 ml del medio de ensayo que contenía 50 µCi de trazador a cada placa y se incubaron las placas a 37 °C durante 60 min. Después de la incubación, se retiró el medio y se lavaron las células dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS) enfriada con hielo y se colocaron alícuotas de 100 µl de los lavados en tubos de recuento. Tras el lavado, se cosecharon las células mediante raspado, se recogieron en tubos de recuento y luego se centrifugaron a 1.200 g a 4 °C durante 10 minutos. Se homogeneizaron las células en 1 ml de ácido perclórico al 10 % enfriado con hielo (HClO₄) y se centrifugaron. Se eliminó la fracción soluble de ácido (sobrenadante) y se contaron alícuotas de 100 µl en un contador gamma. La radioactividad del precipitado insoluble de ácido (principalmente, ADN) se contó por separado.

Estudios de formación de imágenes de PET:

30 Todos los experimentos con animales fueron realizados por investigadores autorizados según la Ley de 1986 de orientación sobre el uso de animales (Procedimientos Científicos) del Ministerio del Interior del Reino Unido y según las directrices establecidas por el comité coordinador del comité *ad hoc* de investigación del cáncer de Gran Bretaña sobre el bienestar de los animales en la neoplasia experimental. Se usaron tanto animales portadores de tumores (ratones atímicos Balb/c) como animales no portadores de tumores (ratones Balb/c). Se dejaron crecer los tumores de colon humano, HCT116, en ratones Balb/c *nu/nu* (Harlan) según lo publicado anteriormente. Se midieron de manera continua las dimensiones de los tumores con un calibrador y se calcularon los volúmenes tumorales mediante la ecuación: volumen = (π/6) x a x b x c, en la que a, b y c representan tres ejes ortogonales del tumor. Los ratones se usaron cuando sus tumores alcanzaron aproximadamente los 100 mm³.

40 Se llevaron a cabo exploraciones dinámicas de formación de imágenes de [¹⁸F]FTT en un escáner de PET para animales pequeños, módulo de PET Inveon de Siemens (Siemens Molecular Imaging Inc., Knoxville, EE.UU.). Las características de este instrumento se han descrito anteriormente. Para la exploración, se introdujeron cánulas en la vena de la cola de los ratones tratados con vehículo o con el fármaco tras anestesiárselos (isofluorano/O₂/N₂O). Se colocaron los animales en una plantilla de control termostático (calibrada para proporcionar una temperatura rectal de ~37 °C) y se dispusieron boca abajo en el escáner. Se inyectó [¹⁸F]FTT (2,96 a 3,7 MBq) a través de la cánula de la vena de la cola y comenzó la exploración. Se obtuvieron exploraciones dinámicas en formato de lista durante un periodo de 60 min según lo publicado anteriormente. A continuación, se clasificaron los datos en recipientes de sinogramas de 0,5 mm y 19 marcos temporales para la reconstrucción de la imagen, que se realizó mediante retroproyección filtrada. Se reconstruyeron iterativamente las imágenes acumuladas de los datos dinámicos (0 a 30 min) (OSEM3D) y se usaron para la visualización de la absorción del radiotrazador y para definir las regiones de interés (RdI) con el software Inveon Research Workplace de Siemens (se definieron RdI tridimensionales para cada tumor). Se calculó la media de las densidades de recuento para todas las regiones de interés en cada uno de los 19 puntos temporales para obtener una curva de tiempo frente a radiactividad (TAC). Los TAC tumorales se normalizaron con respecto al cuerpo entero en cada punto temporal, obteniéndose el valor de absorción normalizado (VAN).

Ejemplo 3

Análisis de metabolitos mediante radio-CLAR con [¹⁸F]FTT

55 El presente ejemplo demuestra que [¹⁸F]FTT es metabólicamente estable en ratones y, por lo tanto, es probable que sea estable en seres humanos.

Apartado experimental

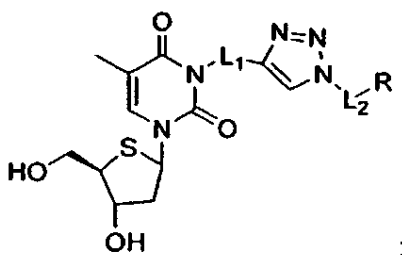
Se produjo [¹⁸F]FTT mediante el procedimiento descrito anteriormente. Se inyectó [¹⁸F]FTT (3,7 MBq) a ratones portadores de tumores HCT116 por vía intravenosa a través de la vena lateral de la cola y 30 min después de la inyección se sacrificaron por desangrado a través de una punción cardíaca bajo anestesia con isoflurano, extirpando luego el tejido. A continuación, se congelaron las muestras rápidamente usando hielo seco y se almacenaron hasta su uso. Se añadió acetonitrilo enfriado con hielo (1,5 ml) a plasma (0,2 ml), y se centrifugó la muestra (3 min, 4 °C, 15.493 xg). Luego se decantó el sobrenadante y se evaporó hasta la sequedad usando un evaporador giratorio (temperatura del baño de 40 °C). Después se volvió a disolver la muestra en etanol al 10 % en PBS (1,1 ml) y se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y después se inyectó. Las muestras de tumor, hígado y riñón se homogeneizaron en acetonitrilo enfriado con hielo (1,5 ml) usando un homogeneizador IKA Turrax y luego se procesaron como para las muestras de plasma. Se diluyeron las muestras de orina con etanol al 10 % en PBS (1,1 ml) y se filtraron a través de un filtro de 0,22 µm y después se inyectaron.

Condiciones de la CLAR: Sistema de CLAR serie 1100 de Agilent (Agilent Technologies, Stockport, RU) dotado de un detector gamma modelo 3 γ-RAM (IN/US Systems Inc., Florida, EE.UU.) y el software Laura 3 (LabLogic, Sheffield, Reino Unido). La separación de los analitos se llevó a cabo en una columna para CLAR de 300 mm x 7,8 mm C₁₈ de 10 µm Waters Bondapak usando una fase móvil que comprendía K₂HPO₄ 10mM como disolvente A y acetonitrilo/K₂HPO₄ 10mM (7:3) como disolvente B (disolvente B al 30 %, isocrático) administrado a un caudal de 3 ml/min y una longitud de onda de 268 nm.

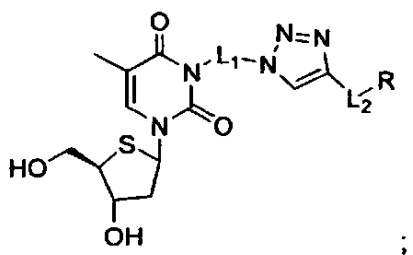
Los resultados del análisis de los metabolitos mediante radio-CLAR con [¹⁸F]FTT se muestran en la Figura 5.

REIVINDICACIONES

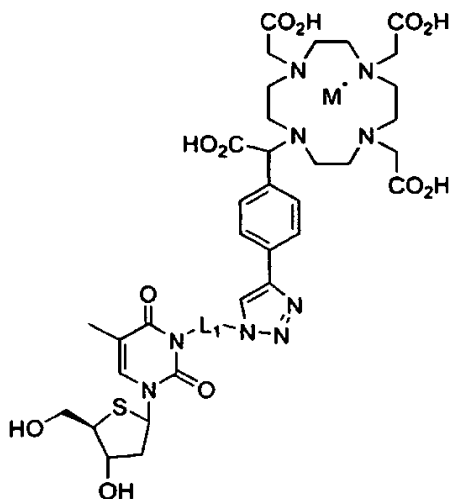
1. Un 4'-tio-nucleósido que es un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende un radioisótopo emisor de positrones o de un solo fotón, o el isótopo no radiactivo correspondiente, unido a través de un enlace de triazol a la posición N-3, estando el 4'-tio-nucleósido opcionalmente en forma de una sal.
- 5 2. El 4'-tio-nucleósido de la reivindicación 1, en el que el radioisótopo emisor de positrones es [¹⁸F] o el isótopo no radiactivo correspondiente es F.
3. El 4'-tio-nucleósido de la reivindicación 1, en el que el radioisótopo emisor de positrones o de un solo fotón es ¹¹C, ⁶¹Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ^{94m}Tc, ^{99m}Tc, ¹¹¹In, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I o ²⁰¹Tl; o en el que el radioisótopo es ³H, ¹⁴C o ³⁵S.
- 10 4. El 4'-tio-nucleósido de las reivindicaciones 1, 2 ó 3 que tiene la estructura:



o



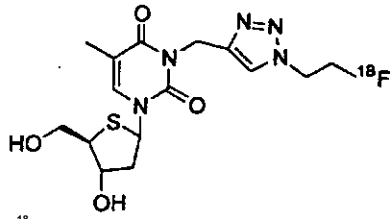
- 15 en la que R es un resto indicador con un radioisótopo de PET/SPECT que comprende ¹¹C, ¹⁸F, ⁶¹Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ^{94m}Tc, ^{99m}Tc, ¹¹¹In, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ²⁰¹Tl, ³H, ¹⁴C o ³⁵S; y
- en la que L₁ y L₂ son cada uno independientemente una cadena de hidrocarburo de C₁₋₃₀ que puede ser una cadena ramificada o lineal, opcionalmente en la que L₁ y/o L₂ comprenden una cadena de hidrocarburo sustituida con 1 a 15 heteroátomos, opcionalmente
- 20 en la que el heteroátomo es oxígeno, nitrógeno o azufre;
- o que tiene la estructura:



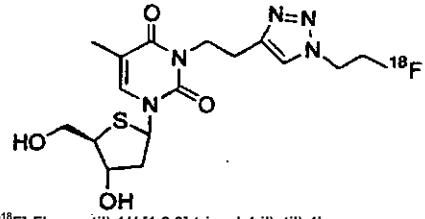
en la que M* es ⁶¹Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ¹¹¹In, ²⁰¹Tl, ^{94m}Tc, ^{99m}Tc, ³H, ¹⁴C or ¹²⁵I; y

en la que L_1 es una cadena de hidrocarburo de C_{1-30} que puede ser una cadena ramificada o lineal, opcionalmente en la que L_1 comprende una cadena de hidrocarburo sustituida con 1 a 15 heteroátomos, opcionalmente en la que el heteroátomo es oxígeno, nitrógeno o azufre.

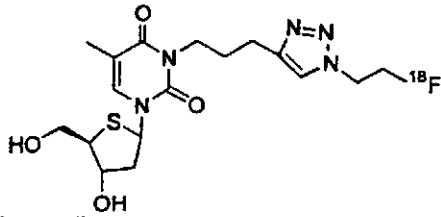
- 5 El 4'-tio-nucleósido de la reivindicación 4, en el que la cadena de hidrocarburo comprende además unidades alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, poliarilo o heteroarilo, opcionalmente en la que el anillo de cicloalquilo comprende de 3 a 12 átomos de carbono, opcionalmente en la que el anillo de cicloalquilo está sustituido con 1 a 5 heteroátomos, opcionalmente en la que el heteroátomo es oxígeno, nitrógeno o azufre; u opcionalmente en la que la unidad heteroarilo está fusionada a una unidad arilo o heteroarilo adicionales.
- 10 6. El 4'-tio-nucleósido de la reivindicación 5, en el que la unidad arilo, poliarilo o heteroarilo está sustituida con uno o más alquilo C_{1-5} , alqueno C_{3-6} , alquino C_{3-6} , halógeno (flúor, cloro, bromo, yodo), $-CF_3$, nitro, amino, hidroxilo, aldehído, COO -alquilo C_{1-5} , $-O$ -alquilo C_{1-5} , $CONH$ -alquilo C_{1-5} , $NHCO$ -alquilo C_{1-5} y $NHSO_2$ -alquilo C_{1-5} .
7. El 4'-tio-nucleósido de las reivindicaciones 1, 2 ó 4 que tiene una estructura seleccionada entre las siguientes estructuras:



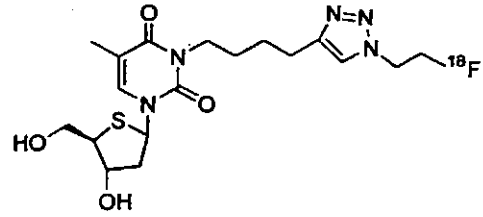
*N*²-((1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



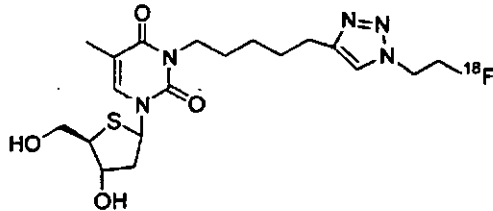
*N*²-(2-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)etil)-4'-tio-β-timidina



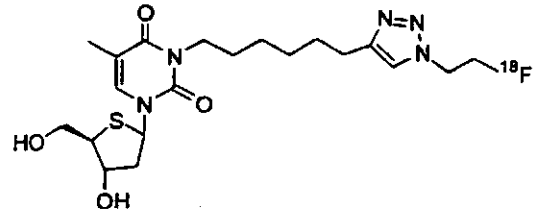
*N*²-(3-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)propil)-4'-tio-β-timidina



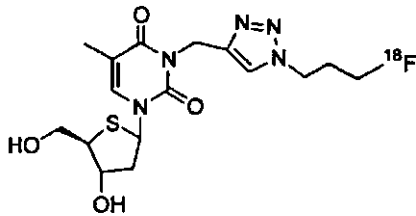
*N*²-(4-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)butil)-4'-tio-β-timidina



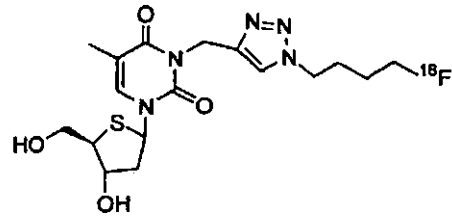
*N*²-(5-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)pentil)-4'-tio-β-timidina



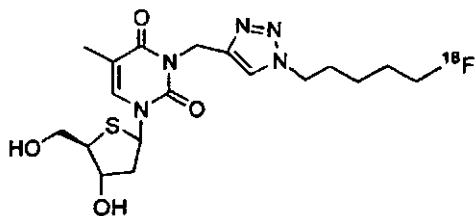
*N*²-(6-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)hexil)-4'-tio-β-timidina



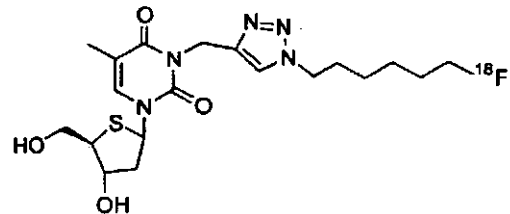
*N*²-((1-(3-[¹⁸F]-Fluoropropil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



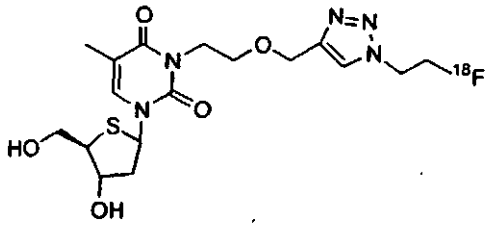
*N*²-((1-(4-[¹⁸F]-Fluorobutil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



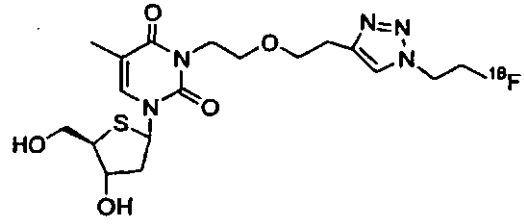
*N*²-((1-(5-[¹⁸F]-Fluoropentil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



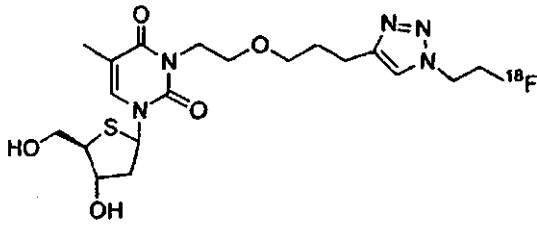
*N*²-((1-(6-[¹⁸F]-Fluorohexil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina



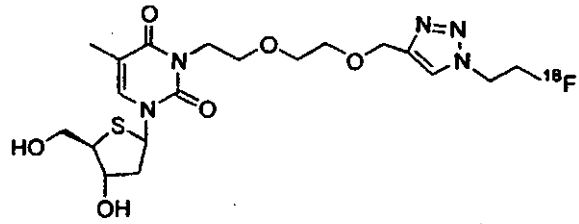
*N*³-(2-((1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metoxi)etil)-4'-tio-β-timidina



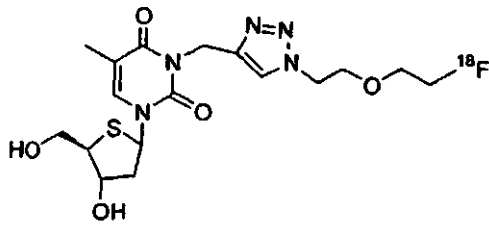
*N*³-(2-(2-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)etoxi)etil)-4'-tio-β-timidina



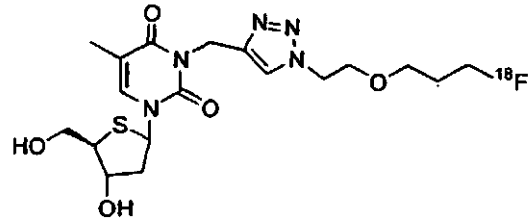
*N*³-(2-(3-(1-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)propoxi)etil)-4'-tio-β-timidina



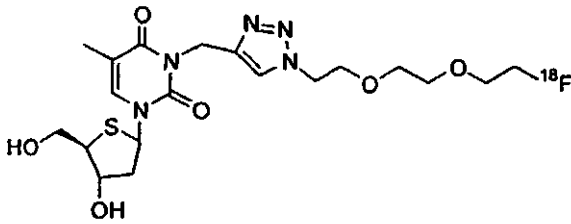
*N*³-(2-(2-(1-(2-(2-[¹⁸F]-Fluoroetil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)etoxi)etoxi)etil)-4'-tio-β-timidina



*N*³-(1-(2-(2-[¹⁸F]-Fluoroetoxi)etil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina

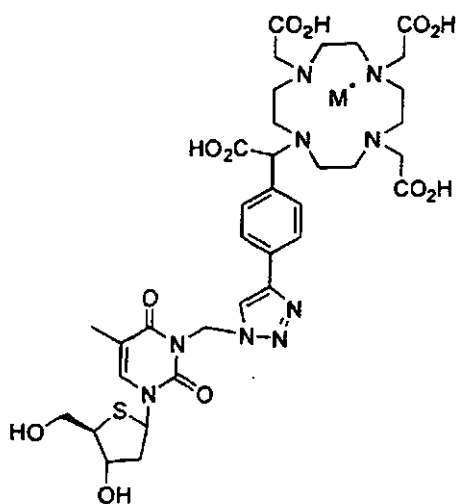


*N*³-(1-(2-(3-[¹⁸F]-Fluoropropoxi)etil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina

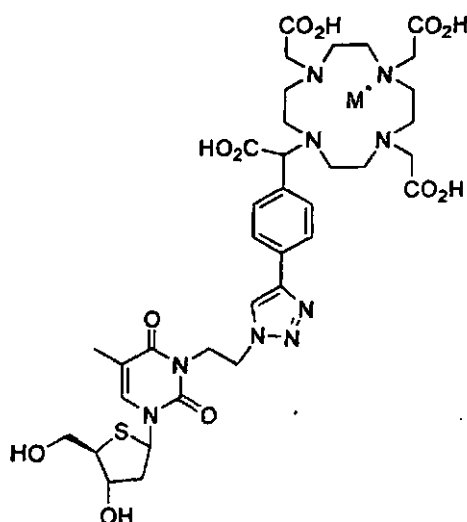


*N*³-(1-(2-(2-(2-[¹⁸F]-Fluoroetoxi)etoxi)etil)-1*H*-[1,2,3]-triazol-4-il)metil)-4'-tio-β-timidina

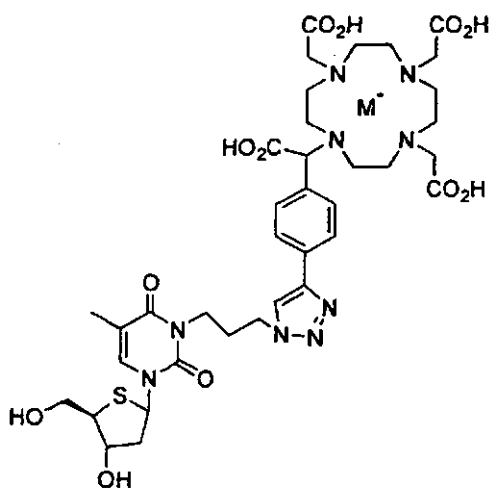
o que tiene una estructura seleccionada entre las siguientes estructuras:



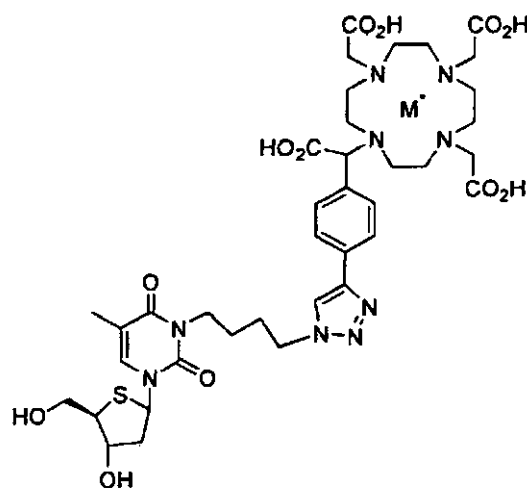
*N*³-((4-(4-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]metil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)-4'-tio-β-timidina



*N*³-(2-((4-(4-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]metil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)-4'-tio-β-timidina



*N*³-(3-((4-(4-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]metil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propil)-4'-tio-β-timidina



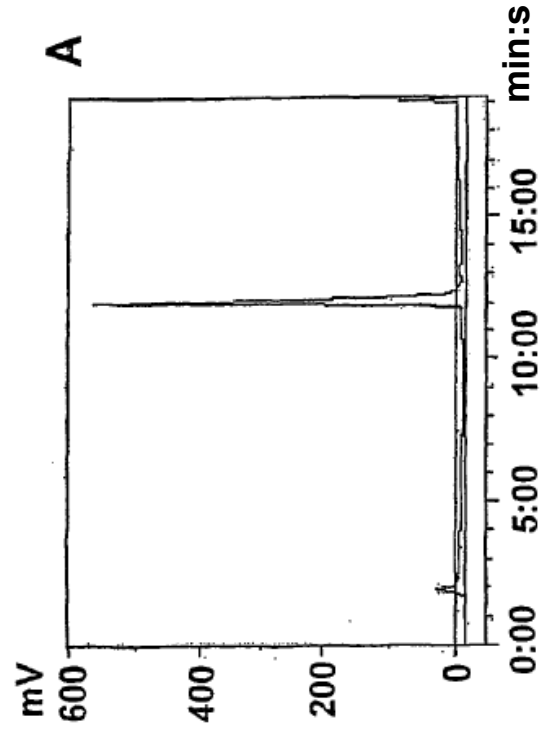
*N*³-(4-((4-(4-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]metil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)butil)-4'-tio-β-timidina

en la que M* es ⁶¹Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ^{94m}Tc, ^{99m}Tc, ¹¹¹In, ²⁰¹Tl, ³H, ¹⁴C o ¹²⁵I.

8. Un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende un alquino terminal unido por la posición N-3; o un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende una azida terminal unida por la posición N-3.
9. Un procedimiento para preparar un 4'-tio-nucleósido según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende la etapa de exponer un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende un alquino terminal unido por la posición N-3 a un compuesto radiomarcado (o compuesto no radiomarcado correspondiente) que comprende un grupo azida; o la etapa de exponer un derivado de 4'-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende un grupo azida unido por la posición N-3 a un compuesto radiomarcado (o correspondiente compuesto no radiomarcado) que comprende un grupo alquino terminal.
10. Una composición farmacéutica que comprende un 4'-tio-nucleósido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
11. Un 4'-tio-nucleósido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en medicina.
12. Un 4'-tio-nucleósido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en ayudar en la formación de imágenes, el pronóstico, el diagnóstico o el análisis de la respuesta a un tratamiento de una enfermedad proliferativa, opcionalmente en el que la enfermedad proliferativa es cáncer, artritis reumatoide, hiperplasia

endometrial, restenosis vascular o esclerosis.

- 5 13. Uso de un 4'-tio-nucleósido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en la fabricación de un medicamento para su uso en la formación de imágenes, el pronóstico, el diagnóstico, la selección de un tratamiento o el análisis de la respuesta a un tratamiento de una enfermedad proliferativa, opcionalmente en el que la enfermedad proliferativa es cáncer, artritis reumatoide, hiperplasia endometrial, restenosis vascular o esclerosis.
14. Un kit de partes que comprende un derivado de 4-tiotimidina o 4'-tio-2'-desoxiuridina que comprende una azida o un alquino terminal unido por la posición N-3 y un compuesto radiomarcado (o compuesto no radiomarcado correspondiente) que comprende un grupo azida o un grupo alquino terminal.
- 10 15. El derivado de la reivindicación 8 o kit de partes de la reivindicación 14, en el que el derivado está unido a un soporte sólido a través de uno o ambos grupos hidroxilo del anillo de azúcar, en el que el soporte sólido es una resina en fase sólida que está funcionalizada con un grupo alquilo, tritilo o acilo, opcionalmente en el que la resina es poliestireno, poliamida, poli(acrilamida), o silicona o vidrio revestidos con un polímero, opcionalmente en el que la resina en fase sólida está en forma de pequeñas partículas discretas tales como perlas, o reviste la superficie interna de un cartucho o está en el revestimiento de una cuba de reacción.
- 15 16. Uso de un 4'-tio-nucleósido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para el análisis *in vitro* de la proliferación y la actividad antiproliferativa.



277° en columna Ace
MeOH al 5-70 % en 15 min

Figura 1

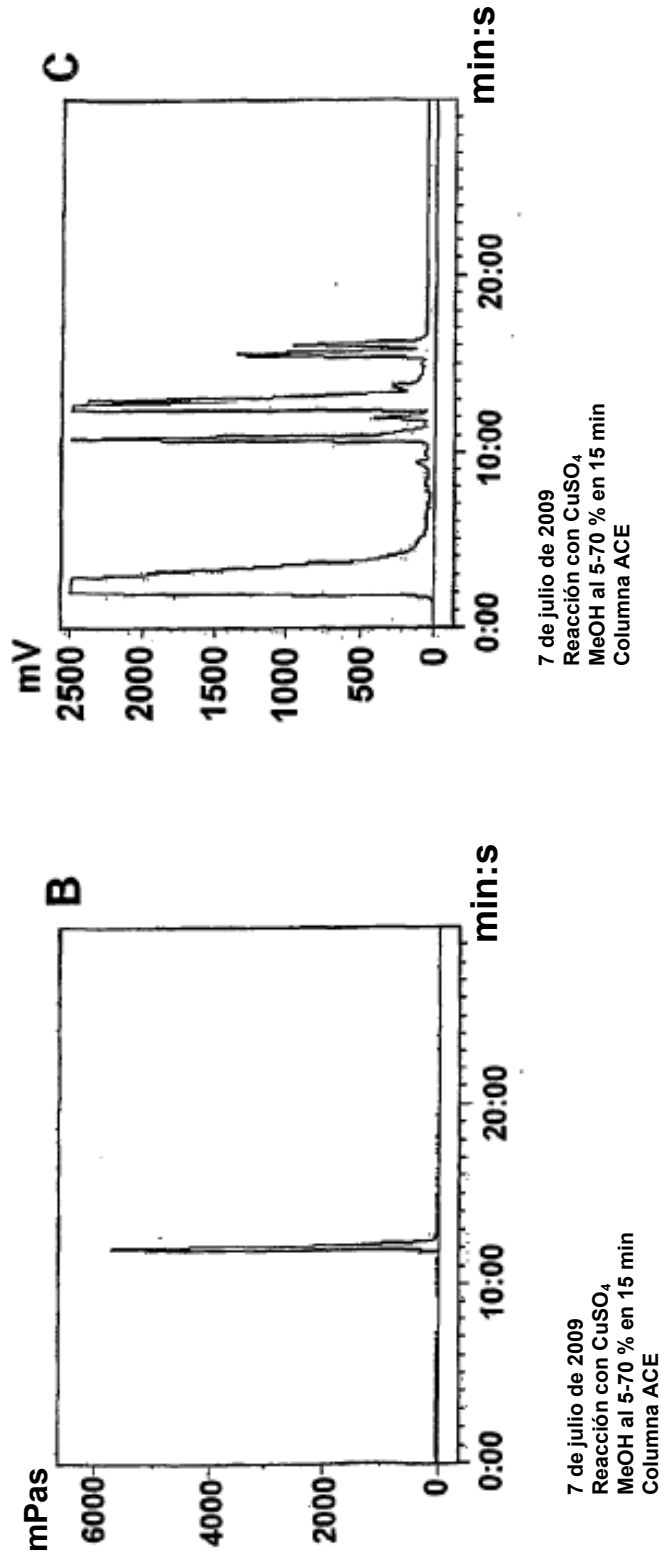
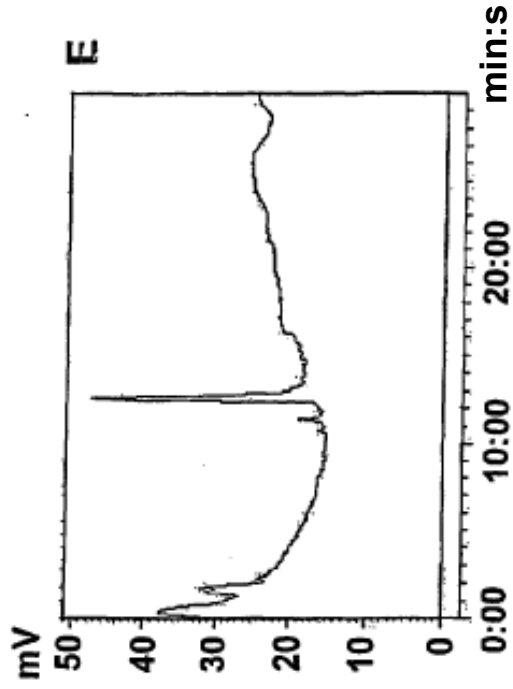
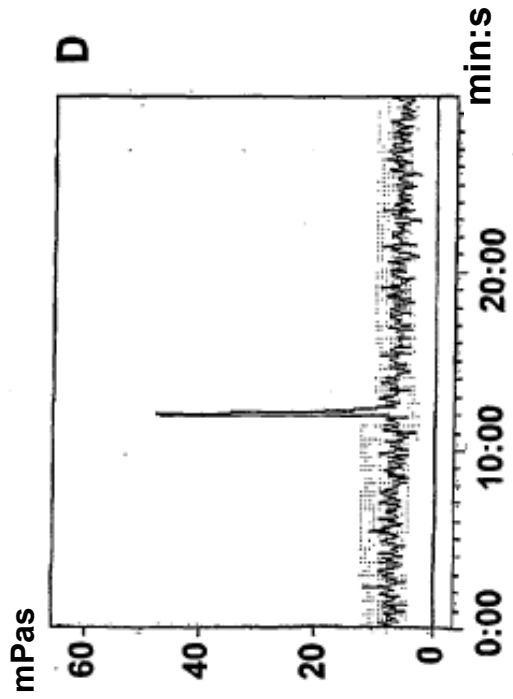


Figura 1



Control de calidad de CuSO_4
Formulación
20 ul de PBS:EtOH (5:1)



Control de calidad de CuSO_4
Formulación
20 ul de PBS:EtOH (5:1)

Figura 1

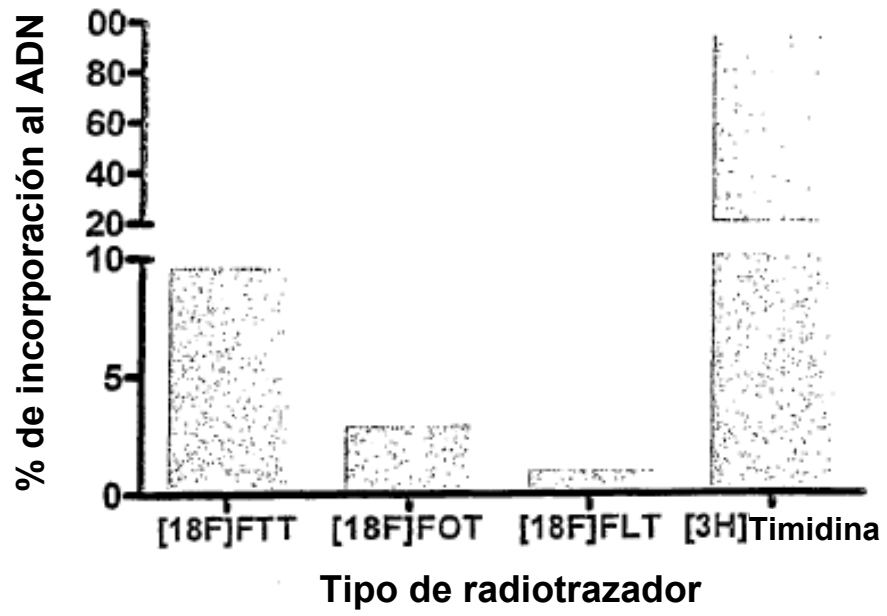


Figura 2

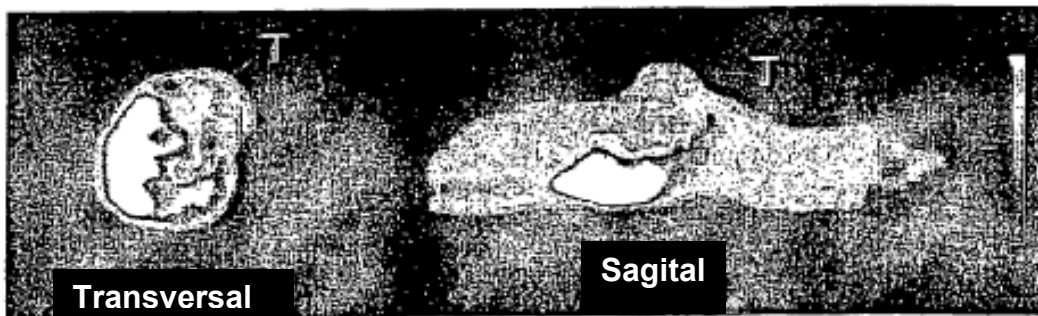


Figura 3

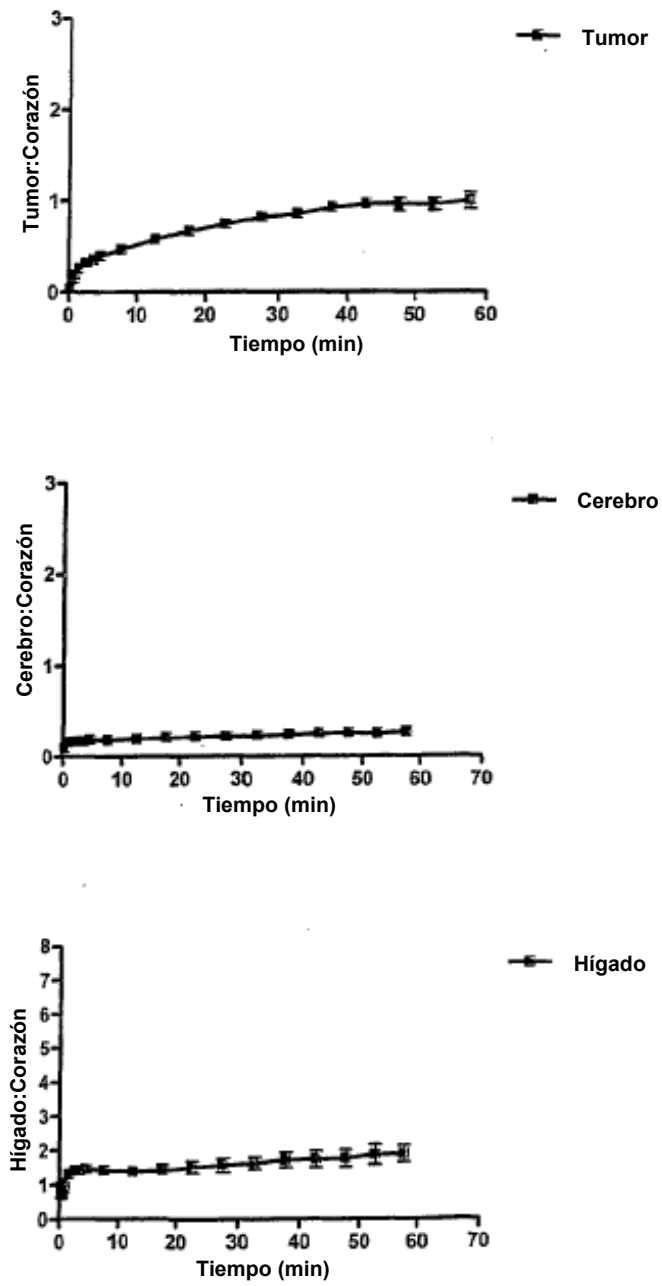


Figura 4

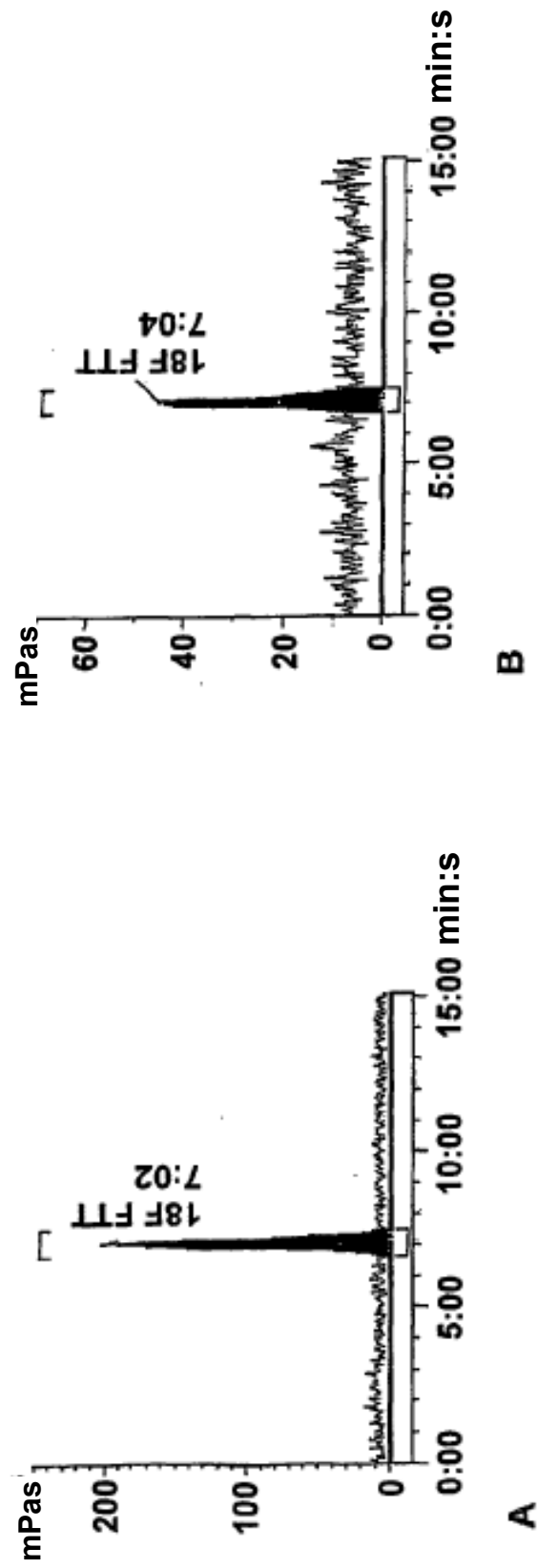


Figura 5

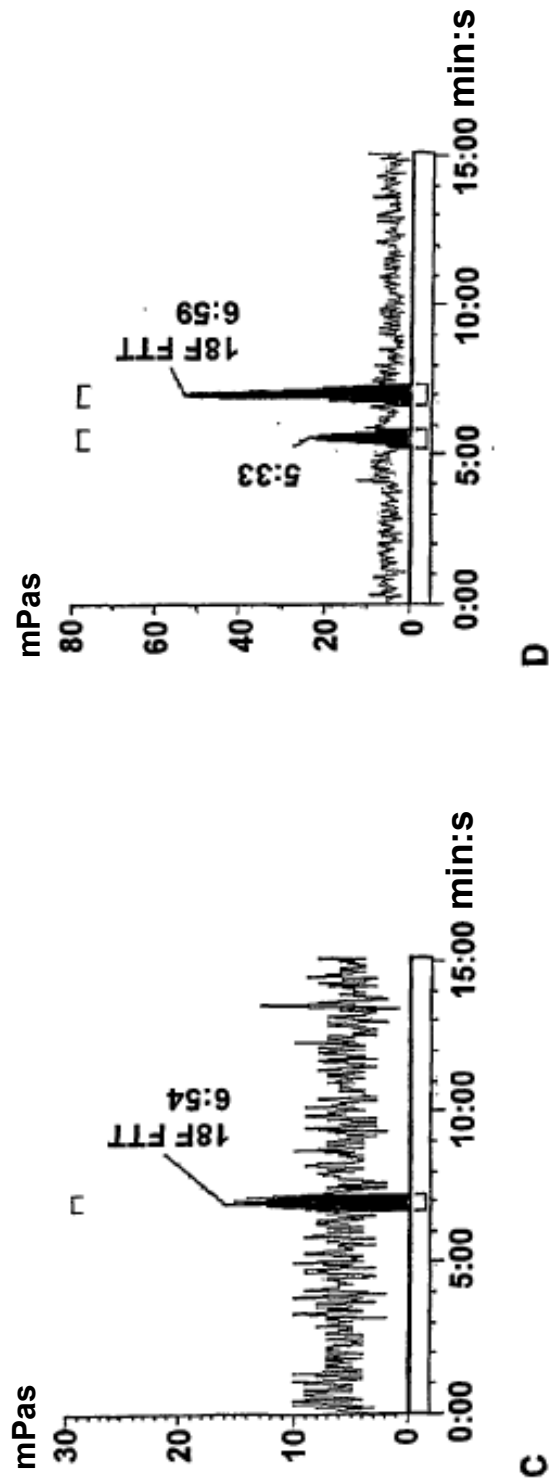


Figura 5

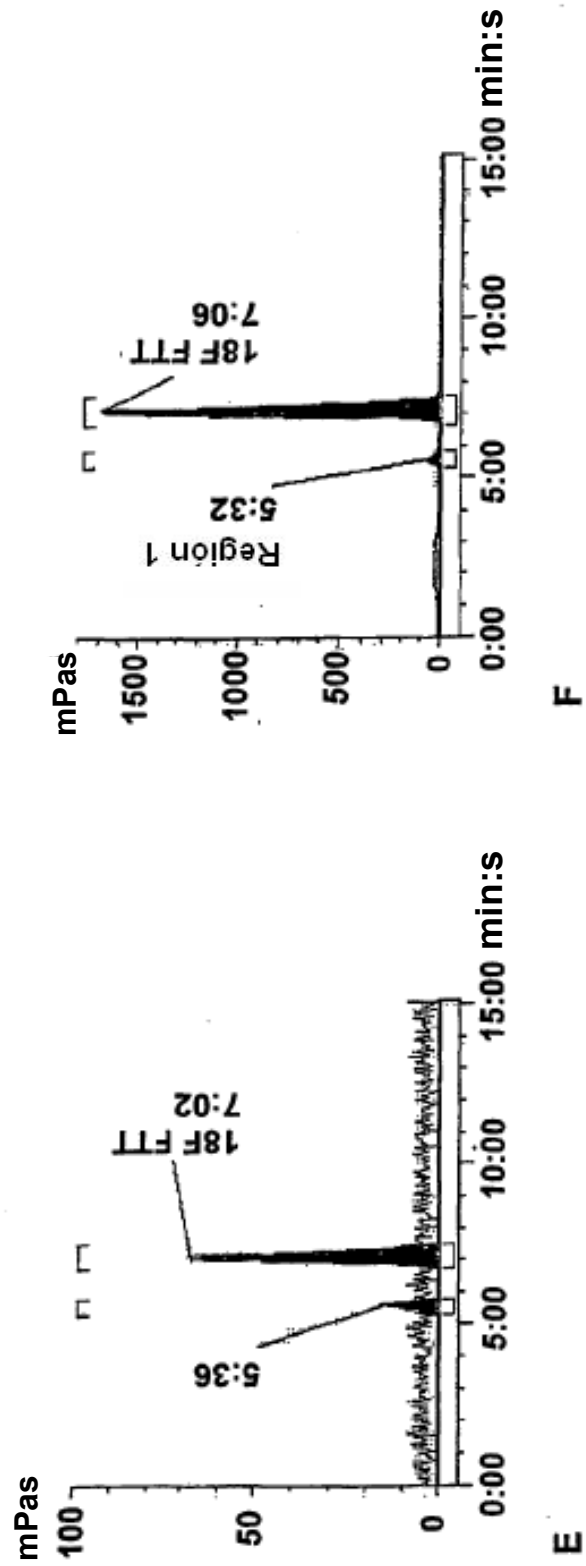


Figura 5