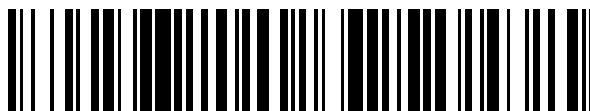


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 559 764**

51 Int. Cl.:

C07D 213/38 (2006.01)

C07F 13/00 (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2003** **E 03711512 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.12.2015** **EP 1482985**

54 Título: **Complejos de tecnecio-dipiridina, y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

11.03.2002 US 363142 P

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

15.02.2016

73 Titular/es:

MOLECULAR INSIGHT PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
777 Old Saw Mill River Road
Tarrytown, New York 10591, US

72 Inventor/es:

BABICH, JOHN, W. y
MARESCA, KEVIN, P.

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 559 764 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

Complejos de tecnecio-dipiridina, y métodos de uso de los mismos

Antecedentes de la invención

Se pueden utilizar radiofármacos como agentes de diagnóstico o terapéuticos en virtud de las propiedades físicas de sus radionúclidos constituyentes. Por lo tanto, su utilidad no se basa en ninguna acción farmacológica per se. Los fármacos más utilizados clínicamente de esta clase son agentes de diagnóstico que incorporan un núcleo que emite gamma, debido a las propiedades físicas, metabólicas o bioquímicas de sus ligandos coordinados, se localiza en un órgano específico después de inyección intravenosa. Las imágenes resultantes pueden reflejar la estructura o la función del órgano. Estas imágenes se obtienen por medio de una cámara gamma que detecta la distribución de radiación de ionización emitida por moléculas radiactivas.

En la formación de radioimágenes, el radiomarcador es un radionúclido que emite radiación gamma y el radiotrazador se ubica utilizando una cámara que detecta radiación gamma (este proceso se denomina a menudo como gammagrafía). El sitio de imagen es detectable porque el radiotrazador se elige o bien se localiza en un sitio patológico (denominado contraste positivo) o, alternativamente, se elige el radiotrazador específicamente para que no se localice en dichos sitios patológicos (denominado contraste negativo).

Muchos de los procedimientos llevados a cabo actualmente en el campo de la medicina nuclear involucran radiofármacos que proporcionan imágenes de diagnóstico del flujo sanguíneo (perfusión) en los órganos principales y en los tumores. La captación regional de estos radiofármacos dentro del órgano de interés es proporcional al flujo; regiones de alto flujo exhibirán la mayor concentración de radiofármacos, mientras que las regiones de poco o ningún flujo tienen relativamente bajas concentraciones. Las imágenes de diagnóstico que muestran estas diferencias regionales son útiles en la identificación de áreas de mala perfusión, pero no proporcionan información metabólica del estado del tejido dentro de la región de aparentemente baja perfusión.

Es bien sabido que los tumores a menudo tienen regiones dentro de su masa, que son hipóxicas. Esto resulta cuando el rápido crecimiento del tumor no está correspondiendo con la extensión de la vasculatura del tumor. Se puede utilizar un radiofármaco que se localiza preferiblemente dentro de las regiones de hipoxia para proporcionar imágenes que son útiles en el diagnóstico y manejo de la terapia de tumores, como lo sugiere Champman, "Measurement of Tumor Hypoxia by Invasive and Non-Invasive procedures –A Review of Recent Clinical Studies", *Radiother. Oncol.*, 20(SI), 13-19 (119). Adicionalmente, un compuesto que se localiza dentro de la región hipóxica de los tumores, pero se marca con un radionúclido adecuado con emisiones alfa o beta se podría utilizar para radioterapia interna de tumores. En el cerebro o corazón, la hipoxia normalmente sigue episodios isquémicos producidos mediante, por ejemplo, oclusiones arteriales o mediante una combinación de aumento de demanda y flujo insuficiente.

Sin embargo, muchos radionúclidos son menos que ideales para el uso clínico de rutina. Por ejemplo, los isótopos que emiten positrones (tales como ^{18}F) son producidos por ciclotrón y de corta duración, requiriendo de esta manera que la producción de isótopos, síntesis radioquímica, y formación de imágenes diagnósticas se pueden realizar en un único sitio o región. Los costes de procedimientos con base en isótopos que emiten positrones son muy altos, y hay muy pocos de estos centros en el mundo. Mientras que se puede utilizar ^{123}I -radiofármacos con los sistemas de formación de imágenes de cámara gamma ampliamente disponibles, el ^{123}I tiene 13 horas y media de vida (lo que restringe la distribución de radiofármacos con base en este isótopo) y es costoso de producir. Los nitroimidazoles marcados con ^3H no son adecuados para formación de imágenes clínicas in vivo y se pueden utilizar sólo para estudios de investigación básica.

Se deben considerar un número de factores para formación de radioimágenes óptimas en los humanos. Para maximizar la eficiencia de detección, se prefiere un radionúclido que emite energía gamma en el rango de 100 a 200 keV. Para minimizar la dosis de radiación absorbida por el paciente, la semivida física del radionúclido debe ser tan corta como lo permita el procedimiento de formación de imágenes. Para permitir que se realicen exámenes en cualquier día y en cualquier momento del día, es ventajoso tener siempre disponible una fuente del radionúclido en el sitio clínico.

Se sabe que una variedad de radionúclidos son útiles para formación de radioimágenes, que incluyen Ga-67, Tc-99m, In-111, I-123, e I-131. El radioisótopo preferido para formación de imágenes médicas es Tc-99m. Su gamma-fotón 140 keV es ideal para su uso con cámaras gamma ampliamente disponibles. Tiene una vida media corta (6 horas), lo cual es deseable al considerar la dosimetría del paciente. El Tc-99m está disponible fácilmente a un coste relativamente bajo a través de sistemas generadores de $^{99}\text{Mo}/\text{Tc-99m}$ producidos comercialmente. Como resultado, más del 80% de todos los estudios de formación de imágenes de radionúclidos realizados en todo el mundo utilizan Tc-99m. Véase en general Reedijk J. "Medicinal Applications of heavy-metal compounds" *Curr. Opin. Chem. Biol.* (1999) 3(2):236-240; y Hom, R. K., Katzenellenbogen, J. A. "Technetium-99m-labeled. receptor-specific

small-molecule radiopharmaceuticals: recent developments and encouraging results" Nuc. Med. And Biol. (1997) 24:485-498. Estas ventajas, junto con el hecho de que las cámaras de Tomografía De Emisión de Fotones Única se han optimizado para la energía de 140 keV de Tc-99m, demuestran claramente la superioridad de los agentes de formación de imágenes marcados de Tc-99m.

Recientemente, se ha desarrollado un nuevo sistema de marcado Tc(I). Alberto, R., Schibli, R., Egli, A., Schubiger, A. P., Abram, U., Kaden, T. A. "A Novel Organometallic Aqua Complex of Technetium for the Labeling of Biomolecules: Synthesis of $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ from $[^{99m}\text{TcO}_4]^-$ in Aqueous Solution and Its Reaction with a Bifunctional Ligand" J. Am. Chem. Soc. (1998) 120: 7987-7988; y Alberto, R., Schibli, R., Daniela, A., Schubiger, A. P., Abram, U., Abram, S., Kaden, T. A. "Application of technetium and rhenium carbonyl chemistry to nuclear medicine - Preparation of $[\text{Net}_4]_2[\text{TcCl}_3(\text{CO})_3]$ from $[\text{NBu}_4][\text{TcO}_4]$ and structure of $[\text{NEt}_4][\text{Tc}_2(\text{u-Cl})_3(\text{CO})_6]$; structures of the model complexes $[\text{NEt}_4][\text{Re}_2(\text{u-OEt})_2(\text{u-OAc})(\text{CO})_6]$ and $[\text{ReBr}(\{-\text{CH}_2\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{Cl}\}_2(\text{CO})_3)]$ " Transition Met. Chem. (1997) 22:597-601. Este sistema toma ventaja de la química de carbonilo Tc(I) organometálica. Es importante destacar que la química de $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ se ha aclarado y simplificado hasta el punto donde los métodos son rutinarios y ofrecen una alternativa práctica a la química Tc(V) actualmente empleada. En contraste a los núcleos Tc(V)-oxo altamente reactivos, donde la química es a veces impredecible e incluye etapas de limpieza de marcado, el método Tc(I) ofrece una atractiva alternativa de marcado. Sin embargo, a diferencia del núcleo Tc(V)-oxo, el núcleo $\text{Tc(I)}(\text{CO})_3^+$ limita el número de posibles geometrías de coordinación disponibles para Tc debido a la presencia de tres grupos carbonilo. La disposición facial de los ligandos carbonilo alrededor del centro metálico también impone restricciones estéricas sobre las posibilidades de unión de los tres sitios restantes.

Más aún, el complejo $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ se puede preparar fácilmente en solución salina bajo 1 atm de monóxido de carbono (CO). Este complejo Tc(I) estable al agua y aire es un precursor práctico para los complejos de Tc(I) altamente inertes, debido en parte a la configuración electrónica d^6 del centro de metal. Como ya se ha señalado, la preparación del ión organometálico tris (acu) es simple y directa, lo que permite la manipulación conveniente y formación de producto. Se ha demostrado que la sustitución de los ligandos de H_2O lábiles deja intacto el núcleo de $\text{Tc}(\text{CO})_3^+$. Este núcleo estable tiene la ventaja adicional de ser más pequeño y menos polar que los sistemas Tc(V)-oxo empleados rutinariamente. Esta característica puede ser ventajosa en sistemas biológicamente importantes en donde la adición del centro metálico afecta el tamaño, forma, y, potencialmente, la bioactividad de los compuestos.

Aunque actualmente se emplean diversos quelantes en la unión de tecnecio, todos estos trazadores sufren de una o más desventajas que les hacen menos que ideales: los HYNIC requiere coligandos; el MAG3 se puede utilizar con la especie de Tc(V)-oxo; el EDTA/DTPA se utiliza principalmente con Tc(V)-oxo y es pobre su capacidad para retener la marca. Por lo tanto, se necesitan quelantes de tecnecio-99m adicionales. Los quelantes radiomarcados novedosos que exhiben marcado rápido, eficiente y demuestran retención de marcado superior para ambos núcleos de Tc (I)-oxo y Tc(I)- tricarbonilo sin el uso de coligandos son candidatos atractivos para la evaluación clínica como quelantes potenciales para moléculas biológicamente importantes.

Schibli, R. et al. en "Influence of the Denticity of Ligand Systems on the in Vitro and in Vivo Behavior of $^{99m}\text{Tc(1)}$ -Tricarbonil Complexes: A Hint for the Future Functionalization of Biomolecules" Bioconjugate Chem. 2000, 11, 345-351) enseñan la funcionalización de biomoléculas con sistemas de ligandos tridentados-quelantes para marcado con $\text{fac-}[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$.

Resumen de la invención

En general, esta invención se relaciona con nuevos complejos de tecnecio (Tc) con diversos ligandos heteroaromáticos, por ejemplo, ligandos de piridilo e imidazolilo y su uso en radiofármacos para una variedad de diagnósticos clínicos y aplicaciones terapéuticas. También se describen ligandos de piridilo novedosos que forman una parte de los complejos mencionados anteriormente. También se describen métodos para la preparación de los complejos de tecnecio. También se describen ligandos de piridilo novedosos con base en lisina derivada, alanina y ácidos bis-amino para la conjugación con péptidos pequeños por métodos de síntesis de fase sólida. Adicionalmente, también se describen métodos para regiones de formación de imágenes de un mamífero utilizando los complejos de la invención.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la estructura de $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{L3a})]$.

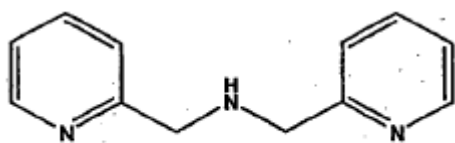
La Figura 2 representa la estructura de $[\text{ReCl}_3 \text{ L3a-etiléster}]$.

La Figura 3 representa la estructura de $[\text{Re}(\text{CO})_3 (\text{LIA-gly})]$.

Descripción detallada de la invención

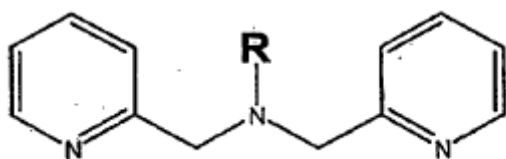
Hemos desarrollado una nueva clase de agentes quelantes de tecnecio con base en la derivación de di(piridinometil) amina (DMPA), un compuesto que ha demostrado afinidad para unir tecnecio. Específicamente se describen aquí la síntesis, radiomarcado, modelado de renio, y ensayo de derivados de dimetilpiridina radiactivos novedosos como quelantes bifuncionales que demuestran una alta afinidad de unión para Tc-99m, y se han derivado para convertirse en sondas bioquímicas para evaluación de una variedad de procesos biológicos, que van desde infección hasta diagnóstico del cáncer. Hemos optimizado las características estructurales de un quelato marcado con tecnecio-99m, de tal manera que se desarrolla un agente que exhibe un alto rendimiento de marcado, la retención superior y versatilidad para marcar ambos núcleos Tc(V)-oxo y Tc(I)-tricarbonilo. Los complejos de dipiridinometilamina de la presente invención permiten el marcado sin la necesidad de la implicación de coligandos. La eliminación del requisito de un coligando simplifica dramáticamente los procedimientos de marcado de la presente invención.

Un aspecto de la presente invención implica el uso de di(piridinometil)amina (DPMA) como un ligando tridentado para radionúclidos. El ligando demuestra notable capacidad de unirse rápidamente a ambos núcleos Tc(V)-oxo y Tc(I)-tricarbonilo. De forma notable, el ligando neutro utiliza los tres nitrógenos como donantes para quelar el centro metálico.



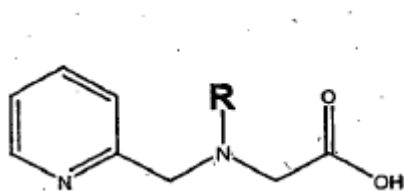
DPMA

Más aún, una molécula biológicamente importante, por ejemplo, un péptido o ligando DAT, se puede unir covalentemente al nitrógeno central del ligando DPMA sin interferir con la capacidad del ligando para quelar el radionúclido. El siguiente dibujo representa esta realización, en donde R representa una molécula biológicamente importante.

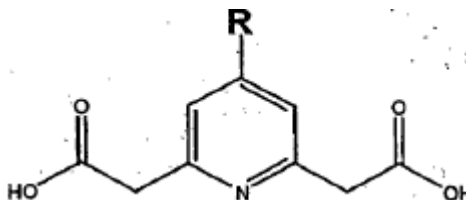


R = molécula biológicamente importante.

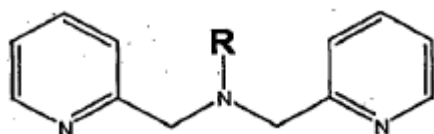
Los quelantes con base en DPMA sirven como donantes neutros, es decir, donantes sin carga, tridentados (N-N-N) para ambos núcleos Tc(V)-oxo y Tc(I)-tricarbonilo. Sin embargo, también se han preparado ligandos que son catiónicos o aniónicos, por ejemplo, dependiendo de la carga del grupo (R) unido al nitrógeno central en la estructura anterior. Adicionalmente, las diversas clases de ligandos mostradas adelante se pueden utilizar con el núcleo de Tc(I)-tricarbonilo.



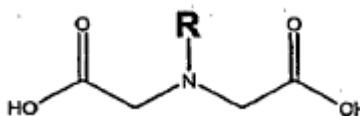
Carga = -1



Carga = -2

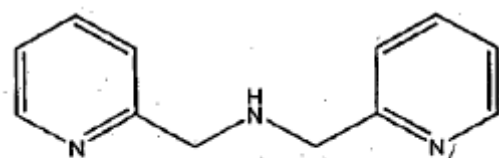


Donante neutro



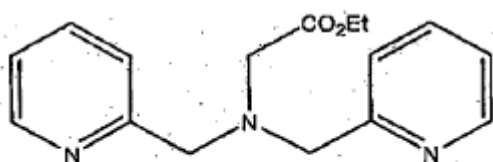
Carga = -2

Otro aspecto de la presente invención se refiere al desarrollo de análogos de DPMA marcados Tc-99m novedosos, y la evaluación de su potencial como agentes de formación de imágenes de flujo sanguíneo miocárdico. Los complejos de Tc-99m (DPMA) (1) y Tc-99m (éster etílico del DPMA) (6) fueron investigados como potenciales agentes de formación de imágenes del corazón en ratas. La lógica detrás de estos estudios es que el quelato es pequeño, lipofílico, y potencialmente catiónico a pH fisiológico, todas las cuales son características de los agentes de flujo de sangre efectivos.



(Tc-99m)

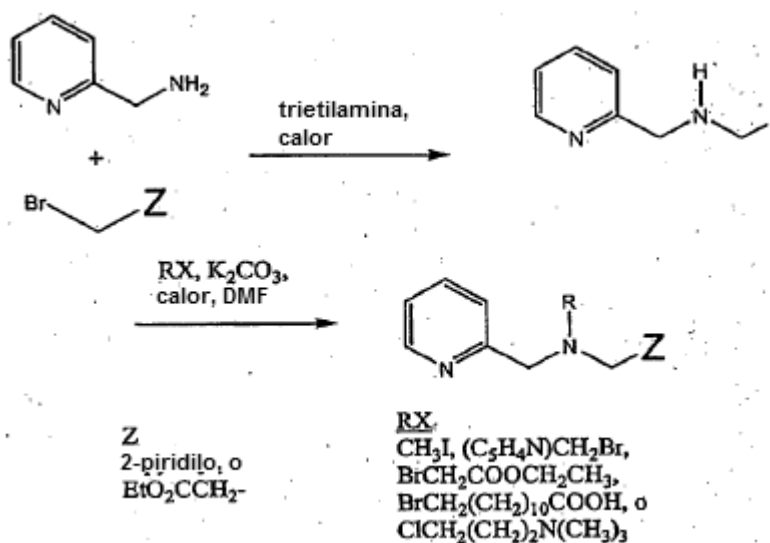
1



(Tc-99m)

6

Hemos sintetizado una serie de derivados modificados novedosos pendientes. Una preocupación importante al diseñar un producto farmacéutico marcado Tc-99m quelado es que la inclusión del ligando Tc en la molécula portadora no debe alterar drásticamente el comportamiento biológico del portador. Por lo tanto, hemos examinado varias técnicas de conjugación pendientes. Hom, R. K., Katzenellenbogen, J. A. "Technetium-99m-labeled receptor-specific small-molecule radiopharmaceuticals: recent developments and encouraging results" Nuc. Med. and Biol. (1997) 24: 485-498. En estos métodos de marcado, el radionúclido quelado se une a la biomolécula a través de una cadena pendiente distante al sitio de unión al receptor. Las ventajas de este diseño incluyen la capacidad de cambiar la longitud y localización de la cadena pendiente, así como la capacidad de variar las unidades estructurales quelantes. Al adoptar estas ideas fuimos capaces de sintetizar rápidamente una serie de quelantes versátiles que se pueden funcionalizar con diversas moléculas biológicas. El esquema 1 representa la síntesis de diversos derivados de DPMA. Véase ejemplificación.



Esquema 1: Síntesis de diversos derivados de DPMA

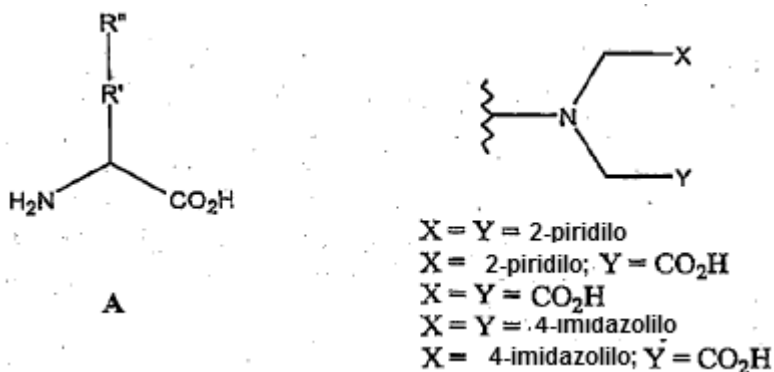
Este trabajo lleva al diseño de quelantes bifuncionales contruidos a partir de aminoácidos, con el fin de proporcionar un grupo de donantes para la coordinación efectiva de Tc(I) y un grupo ligador para adhesión a unidades de péptido. La importancia de este diseño de ligando es que los quelantes bifuncionales se pueden desarrollar como reactivos para la incorporación directa en la síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS) convencional, explotando de esta manera las ventajas considerables en pureza, costes, escala y diseño ofrecido por SPPS.

En un estudio preliminar, el derivado de alanina ($(NC_5H_4CH_2)_2NCH_2CH_2CO_2H$) (ácido bis-2-piridilmetilamioetilcarboxílico, L3a) fue preparado por los métodos descritos adelante. El complejo Tc(I) de L3a[Tc(CO)₃(L3a)](2) se preparó con un rendimiento casi cuantitativo (Figura 1), así como un material inusual que exhibe el núcleo de tricloruro de renio (IV) [ReCl₃(L3a-etiléster)](3) (Figura 2). Las preparaciones fáciles de estos compuestos modelo sugieren que una familia de quelantes bifuncionales, derivados de aminoácidos simples o ácidos bis-amino podrían ser desarrollados, que a través de manipulación adecuada del ligando, los grupos de donantes pueden proporcionar complejos de Tc(I) neutros, catiónicos o aniónicos.

Uno de los objetivos de la presente invención es desarrollar una familia de quelantes bifuncionales con base en aminoácidos o bis-aminoácidos derivados de piridilo o carboxilato para la conjugación con péptidos pequeños por métodos de síntesis en fase sólida. Para lograr esto, se modificarán lisina, alanina, aminoalanina y una serie de bis aminoácidos para incorporar un terminal de quelación tridentado (A), así como una terminal (B) para la conjugación a péptidos pequeños que explotan la síntesis en fase sólida. También se investigará el diseño óptimo de la atadura(C) (Esquema 2).

En determinadas realizaciones, la presente invención se relaciona con aminoácidos, por ejemplo, ácidos alfa-amino, que llevan quelantes bifuncionales unidos covalentemente para radionúclidos, por ejemplo, tecnecio. Por ejemplo, la presente invención se relaciona con los compuestos representados por A, en donde R' representa una atadura covalente, por ejemplo, un ligador de butileno como en Lys, entre el carbono alfa del alfa-aminoácido y R" y R" representa una quelante bifuncional para un radionúclido. También se representan adelante las estructuras de ejemplo para el quelante bifuncional para un radionúclido representado por R". Se pueden utilizar aminoácidos, tales como A, que llevan un quelante bifuncional para un radionúclido en lugar de aminoácidos naturales en cualquiera de los métodos de oligopéptido, polipéptido o síntesis de proteínas, que incluyen los métodos de síntesis de proteínas automatizados.

Realizaciones de ejemplo de R"



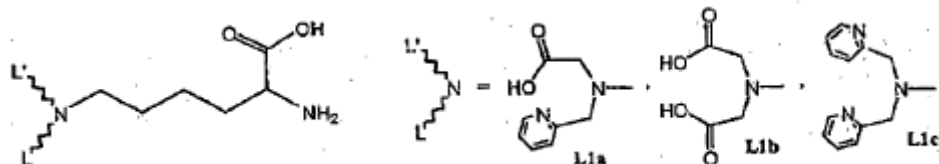
Diseño y síntesis de quelatos bifuncionales

El "método organometálico" para funcionalización y radiomarcado de biomoléculas específicas objetivo, por primera vez por Jaouen, ha recibido considerable atención en los últimos años. Salmain, M.; Gunn, M.; Gorfe, A.; Top, S.; Jaouen, G. Bioconjugate Chem. 1993, 4; 425. En particular, los complejos Tc(I)- y Re(I)-tricarbonilo son candidatos ideales para el marcado de los receptores de biomoléculas ávidos en términos de reducción de tamaño e inercia cinética de sus complejos. El núcleo $[M(CO)_3]^{+1}$ exhibe particular afinidad para ligandos de donantes nitrógeno y oxígeno y forma complejos robustos con dichos ligandos donantes de N, O tridentados del tipo general $[M(CO)_3(N_xO_{3-x})]$, donde N_xO_{3-x} es el quelante tridentado. Esta observación proporciona el punto de partida conceptual para el diseño de nuestros quelatos bifuncionales para el marcado del péptido.

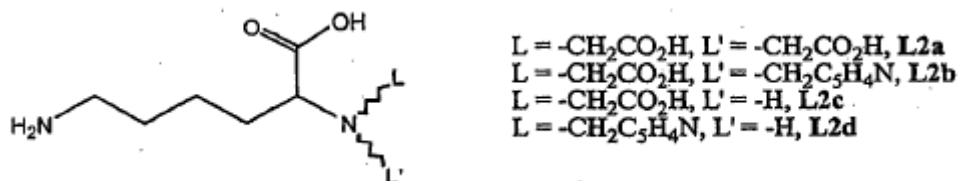
Como se ilustra adelante en el Esquema 3, ciertos quelatos bifuncionales novedosos se derivan de lisina, alanina, aminoalanina o ácidos bis-amino. Dado que tanto la identidad de los grupos de donantes y la cadena principal de aminoácidos se pueden modificar fácilmente, el quelante y el terminal ligador se pueden optimizar para la coordinación de ^{99m}Tc y conjugación péptido, respectivamente. Adicionalmente, al modificar las identidades de los grupos de donantes quelantes, se pueden preparar complejos neutros, aniónicos y catiónicos de los tipos generales

$[M(CO)_3(L1a)]$, $[M(CO)_3(L1b)]^-$ y $[M(CO)_3(L1C)]^+$ para diferentes aplicaciones. La síntesis de ligandos representativa se detalla a continuación para L1c-Boc y L2d-Boc, que ilustra la metodología directa y fácil.

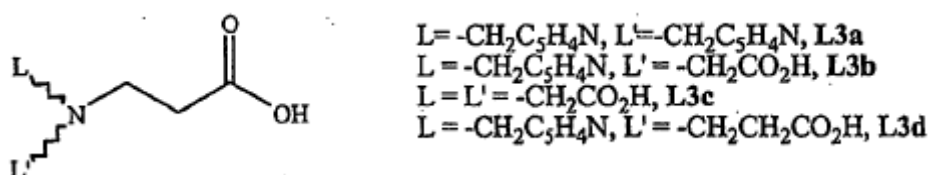
lisina ϵ - derivada, L1



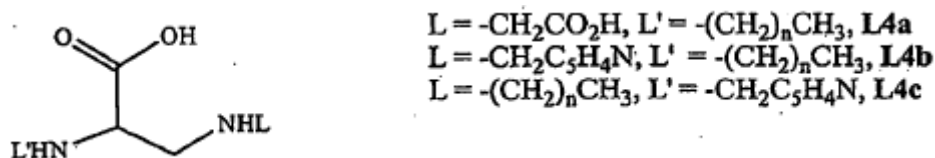
5 Lisina α -derivada, L2



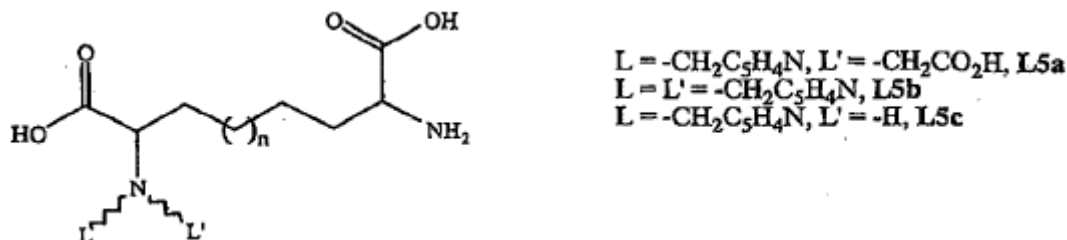
Análogos BFC con base en alanina, L3



Análogos BFC con base en aminoalanina, L4

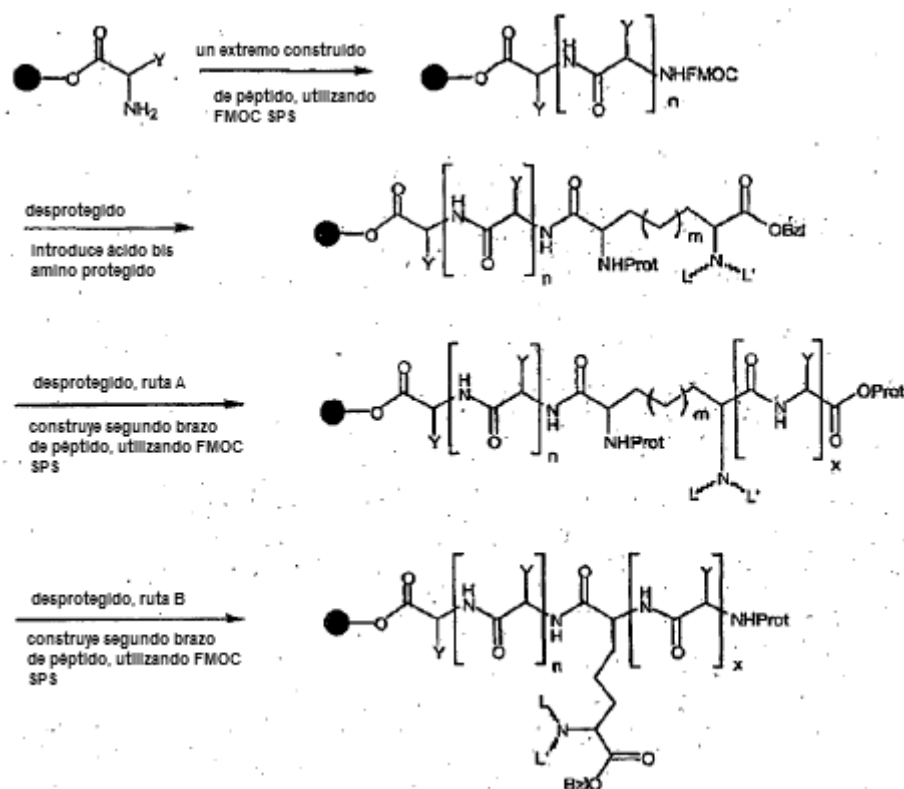


10 Análogos BFC de ácidos bis amino, L5



Esquema 3: Los quelados bifuncionales con base en aminoácido de este estudio

En esta etapa, se puede explotar la síntesis en fase sólida convencional para preparar el conjugado de péptido. Bodansky, M., Principles of Peptide Synthesis, Springer-Verlag: Berlin, 1984; y Bodansky, M.; Bodansky, A., The Practice of Peptide Synthesis, Springer-Verlag: Berlin, 1984. La cadena de péptido se puede construir utilizando protocolos FMOC y se finaliza con un grupo protector BOC. El quelante bifuncional (BFC) ahora se puede introducir para proporcionar un diseño BFC de péptido pendiente. Alternativamente, los BFC con base en ácido bis amino se pueden incorporar en la secuencia de péptidos para proporcionar una variante del concepto de diseño integrado (Esquema 4).



Esquema 4. Integración del quelato bifuncional en la secuencia de péptidos

Se han preparado ligandos bifuncionales L1a-L2d, L3a, L4a y L5a y están actualmente bajo investigación los conjugados de péptidos para MLF y para -NlcFNlcY de L1a-L2d.

5 Síntesis de análogos de renio para caracterización estructural

Muchas de las propiedades de los metales tecnecio y renio Grupo VII son similares. Se anticipa que los metales demostrarán química de reacción similar, lo cual es a menudo el caso para la química de tiol, nitrógeno, fosfina y oxo de estos dos metales. Del mismo modo, el perrenato y pertecnato tienen comportamientos de reacción muy similares. Rose, D. J., Maresca, K. P., Nicholson, T., Davison, A., Jones, A. G., Babich, J., Fischman, A., Graham, W., DeBord, J. R. D., Zubieta, J. "Synthesis and Characterization of Organohydrazine Complexes of Technetium, Rhenium, and Molybdenum with the $\{M(\eta^1\text{-HxNNR})(\eta^2\text{-HyNNR})\}$ Core and Their Relationship to Radiolabeled Organohydrazine-Derivatized Chemotactic Peptides with Diagnostic Applications" *Inorg. Chem.* (1998) 37: 2701-2716. Las reducciones similares de las especies $M(VII)$ oxo por SnCl_2 permiten una fácil sustitución del renio no radioactivo como modelo para el tecnecio-99m medicinalmente útil, que utiliza rutinariamente estaño reducido ^{99m}Tc . Sintetizar los complejos de renio-dipiridinometilamina proporcionan una ruta fácil para caracterizar estructuralmente los productos. Los productos caracterizados pueden, a su vez, conducir al desarrollo de nuevos derivados Tc-DPMA con base en la presencia o ausencia de una característica estructural observada en los datos de renio. La relación periódica entre Tc y Re indica que los radiofármacos de Tc-99m se pueden diseñar al modelar complejos. Nicholson, T., Cook, J., Davison, A., Rose, D. J., Maresca K. P., Zubieta, J. A., Jones, A. G. "The synthesis and characterization of $[\text{MCl}_3(\text{N}=\text{NC}_5\text{H}_4\text{NH})(\text{HN}=\text{NC}_5\text{H}_4\text{N})]$ from $[\text{MO}_4]^-$ (where $M = \text{Re}, \text{Tc}$) organodiazenido, organodiazene-chelate complexes" *Inorg. Chim. Acta* (1996) 252:421-426. La química de coordinación con $\{\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3\}^+$ ha producido una serie de derivados que incluyen el compuesto modelo de $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{L1a-gly})]$ (4), mostrado en la Figura 3.

Núcleo $\text{Re}(V)$ -oxo

La síntesis de análogos de renio sigue la química establecida del sistema N_2S_2 en la formación de complejos de renio-oxo estables, neutros. Davison A, Jones AG, Orvig C, et al: "A new class of oxotechnetium (5+) chelate complexes containing a TcON_2S_2 core" *Inorg. Chem.* 20: 1629-1631, 1981; Kung HF, Guo Y-Z, Mach RH, et al: "New Tc-99 complexes based on N_2S_2 ligands" *J. Nucl. Med.* 27: 1051, 1986 (abstr.); Kung HF, Molnar M, Billings J, et al: "Synthesis and biodistribution of neutral lipid-soluble Tc-99m complexes that cross the blood-brain barrier" *J. Nucl. Med.* 25:326-332, 1984; y Kung HF, Yu CC, Billings J, et al: "Síntesis de new bis(aminoethanethiol) (BAT) derivatives: Possible ligands for ^{99m}Tc brain imaging agents" *J. Med. Chem.* 28:1280-1284, 1985. Nuestro sistema N_3 , con tres donantes de nitrógeno forma un complejo de metal predecible con una carga neta total de cero. La

síntesis de los complejos de Re(III) se lleva a cabo al hacer reaccionar $[TBA][ReOBr_4(OPPh_3)]$ con el ligando apropiado en la relación de 1:1.2 en 10 mL de metanol y tres equivalentes de NEt_3 como base. La reacción se deja a reflujo durante aproximadamente 1/2 hora. Después de enfriar, los productos de reacción se pueden purificar utilizando una pequeña columna que utiliza el método establecido por Spies y compañeros de trabajo. Spies, H., Fietz, T., Glaser, M., Pietzsch, H.-J., Johannsen, B. In "Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine 3", Nicollini, M., Bandoli, G., Mazzi, U., eds., Padova, Italy, 1995, 4, 243. Alternativamente, el material de partida de renio (V) $[ReOCl_3(PPh_3)_2]$ se pueden emplear como el material de partida de renio potencial. Este material versátil ha demostrado éxito en el pasado para tratamiento con átomos donantes de nitrógeno y azufre. Maresca, K. P., Femia, F. J., Bonavia, G. H., Babich, J. W., Zubieta, J. "Cationic complexes of the '3+1' oxorhenium-thiolate complexes" Inorganic Chemistry Acta (2000) 297:98-105; y Maresca, K. P., Rose, D. J., Zubieta, J. "Synthesis and characterization of a binuclear rhenium nitropyrazole" Inorganica Chimica Acta (1997) 260:83-88. Los complejos de renio-DPMA sintetizados se han ejecutado a través de una columna de HPLC para propósitos de separación y purificación siguiendo los procedimientos descritos para los complejos de tecnecio. Los complejos luego se analizaron mediante análisis elemental, espectroscopia infrarroja, espectroscopia de masas, y espectroscopia de RMN.

Núcleo Re(I)(CO)₃⁺

El sistema $Re(I)(CO)_3^+$ exhibe química de reacción similar a aquella del núcleo Tc-99m tricarbonilo. El uso de $[Net_4]_2[ReBr_3(CO)_3]$ como material de partida lleva a la fácil formación del núcleo fac- $Re(CO)_3(L)_3$. El $[Net_4]_2[ReBr_3(CO)_3]$ se deriva fácilmente de $[ReBr(CO)_5]$. La síntesis de los complejos de Re(I) se ha logrado al hacer reaccionar $[Net_4]_2[ReBr_3(CO)_3]$ con el ligando DPMA apropiado en la relación de 1:1.2 en 10 mL de H_2O y tres equivalentes de NEt_3 como base. La reacción se permite calentar a 80° C durante 4 horas. Después de enfriar, los productos de reacción se purifican utilizando una pequeña columna que utiliza el método establecido por Alberto y compañeros de trabajo Spies, H., Fietz, T., Glaser, M., Pietzsch, H.-J., Johannsen, B. In "Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine 3", Nicollini, M., Bandoli, G., Mazzi, U., eds., Padova, Italia, 1995, 4, 243. Este material versátil ha demostrado éxito en el pasado para tratar con átomos donantes de nitrógeno y oxígeno. Los complejos de renio-DPMA sintetizados luego se realizaron a través de una columna de HPLC para propósitos de separación y purificación, siguiendo los procedimientos descritos anteriormente para los complejos de tecnecio. A continuación, los complejos se analizaron mediante: análisis elemental, espectroscopia de infrarrojos, espectroscopia de masas, y espectroscopia de RMN.

La estabilidad y la solidez de los complejos de tecnecio-di(piridina) se evalúa utilizando exposiciones con cisteína e histidina. Específicamente, los experimentos se realizaron utilizando $[^{99m}Tc(CO)_3(dipiridinometilamina)]^{1+}$. Se encuentra que el complejo es estable frente a concentraciones relativamente elevadas de estos aminoácidos. Por ejemplo, los análisis de HPLC no mostraron ningún cambio significativo en los componentes cuando se incubaba una solución acuosa del complejo con cisteína durante 18 horas a 37 C a pH 7.4.

También hemos explorado ampliamente la síntesis y uso como ligandos para tricarbonilos de metal, por ejemplo, tricarbonilos de Re y Tc, versiones protegidas y no protegidas de $\{ \epsilon - [N,N\text{-di(piridil-2-metil)}] \alpha\text{-(Fmoc)lisina} \}$ (Fmoc-DpK). La elección de DpK tridentado para la exploración de un solo quelato de aminoácido se basa en RCP y RCY excelente, y el potencial para preparar equipos de radiofármacos. La piridina-2-metilamina se deriva fácilmente en el aminoácido. Los resultados de biodistribución mostraron que el $[^{99m}Tc(CO)_3(DpK)]$ tiene rápida depuración en sangre $\%ID/g = 0.6$ a 5 minutos a $\%ID/g = 0.07$ por 30 minutos.

Este método permite la creación de colecciones que contienen el núcleo $\{M(CO)_3\}^{1+}$. Hemos comenzado a definir el destino biológico de los complejos ^{99m}Tc -dipiridina, lo que nos permite comparar una serie de futuros análogos tridentados. El marcado de dipiridina procede con alto rendimiento y es estable a un exceso de exposiciones a histidina y cisteína durante más de 18 horas. Los estudios de biodistribución mostraron acumulación importante solo en riñón e hígado, en los primeros puntos de tiempo. La actividad disminuida en todos los tejidos como una función del tiempo, excepto en el tracto GI, que aumenta con el tiempo. Estos experimentos sugieren que la dipiridina es una tecnología que permite el potencial para el marcado de biomoléculas importantes.

Definiciones

Por conveniencia, se agrupan aquí determinados términos empleados en la especificación, ejemplos y reivindicaciones adjuntas.

El término "heteroátomo" como se utiliza aquí significa un átomo de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Los heteroátomos preferidos son boro, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre y selenio.

El término "grupo aceptor de electrones" se reconoce en la técnica, y denota la tendencia de un sustituyente para atraer electrones de valencia de los átomos vecinos, es decir, el sustituyente es electronegativo con respecto a los átomos vecinos. Una cuantificación del nivel de capacidad de aceptar electrones es dada por la constante sigma

Hammett (σ). Este constante bien conocida se describe en muchas referencias, por ejemplo, J. March, *Advanced Organic Chemistry*, McGraw Hill Book Company, Nueva York, (edición de 1977) pp. 251-259. Los valores constantes de Hammett son generalmente negativos para los grupos donantes de electrones ($\sigma[\text{P}] = -0.66$ para NH_2) y positiva para los grupos aceptores de electrones ($\sigma[\text{P}] = 0.78$ para un grupo nitro), $\sigma[\text{P}]$ indica sustitución para. Los grupos aceptores de electrones de ejemplo incluyen nitro, acilo, formilo, sulfonilo, trifluorometilo, ciano, cloruro, y similares. Grupos donantes de electrones de ejemplo incluyen amino, metoxi, y similares.

El término "alquilo" se refiere a el radical de grupos alifáticos saturados, que incluyen grupos alquilo de cadena recta, grupos alquilo de cadena ramificada, grupos cicloalquilo (alíclico), grupos alquilo sustituidos con cicloalquilo, y grupos cicloalquilo sustituidos con alquilo. En realizaciones preferidas, un alquilo de cadena recta o cadena ramificada tiene 30 o menos átomos de carbono en su estructura principal (por ejemplo, $\text{C}_1\text{-C}_{30}$ para cadena recta, $\text{C}_3\text{-C}_{30}$ para cadena ramificada), y más preferiblemente 20 o menos. Del mismo modo, los cicloalquilos preferidos tienen de 3 a 10 átomos de carbono en su estructura de anillo, y más preferiblemente tienen 5, 6 o 7 carbonos en la estructura de anillo.

A menos que el número de carbonos se especifique de otra manera, "alquilo inferior" como se utiliza aquí significa un grupo alquilo, como se definió anteriormente, pero que tiene desde uno hasta diez carbonos, más preferiblemente desde uno hasta seis átomos de carbono en su estructura principal. Del mismo modo, "alquenilo inferior" y "alquinilo inferior" tienen longitudes de cadena similares. Los grupos alquilo preferidos son alquilos inferiores. En realizaciones preferidas, un sustituyente designado aquí como alquilo es un alquilo inferior.

El término "aralquilo", como se utiliza aquí, se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo arilo (por ejemplo, un grupo aromático o heteroaromático).

Los términos "alquenilo" y "alquinilo" se refieren a análogos de grupos alifáticos no saturados en longitud y posible sustitución para los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen por lo menos un enlace doble o triple respectivamente.

El término "arilo" como se utiliza aquí incluye grupos aromáticos de único anillo de 5, 6 y 7 miembros que pueden incluir desde cero hasta cuatro heteroátomos, por ejemplo, benceno, naftaleno, antraceno, pireno, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares. Aquellos grupos arilo que tienen heteroátomos en la estructura de anillo también se pueden denominar como "aril heterociclos" o "heteroaromáticos". El anillo aromático, se puede sustituir en una o más posiciones de anillo con dichos sustituyentes como se describió anteriormente, por ejemplo, halógeno, azida, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, alcoxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, sulfonamido, cetona, aldehído, éster, heterocíclico, unidades estructurales aromáticas o heteroaromáticas, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$, o similares. El término "arilo" también incluye sistemas de anillo policíclico que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes (los anillos son "anillos fusionados") en donde por lo menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos y/o heterociclos.

Los términos orto, meta y para aplican a bencenos 1,2-, 1,3- y 1,4-disustituidos, respectivamente. Por ejemplo, los nombres 1,2-dimetilbenceno y orto-dimetilbenceno son sinónimos.

Los términos "heterociclilo" o "grupo heterocíclico" se refieren a estructuras de anillo de 3 a 10 miembros, más preferiblemente anillos de 3 a 7 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen uno a cuatro heteroátomos. Los heterociclos también pueden ser policiclos. Los grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, azetidina, azepina, tiofeno, tiantreno, furano, pirano, isobenzofurano, cromeno, xanteno, fenoxatiina, pirrol, imidazol, pirazol, isotiazol, isoxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, indolizina, isoindol, indol, indazol, purina, quinolizina, isoquinolina, quinolina, ftalazmo, naftiridina, quinoxalina, quinazolina, cinnolina, pteridina, carbazol, carbolina, fenantridina, acridina, pirimidina, fenantrolina, fenazina, fenarsazina, fenotiazina, furazan, fenoxazina, pirrolidina, oxolano, tiolano, oxazol, piperidina, piperazina, morfolina, lactonas, lactamas tales como azetidinonas y pirrolidinonas, sultamas, sultonas, y similares. el anillo heterocíclico puede ser sustituido en una o más posiciones con dichos sustituyentes como se describió anteriormente, como por ejemplo, halógeno, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, ainido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, un heterociclilo, una unidad estructural aromática o heteroaromática, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$, o similares.

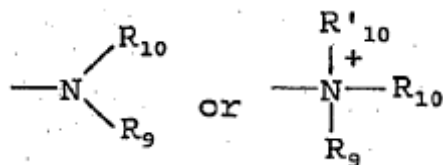
Los términos "policiclilo" o "grupo policíclico" se refieren a dos o más anillos (por ejemplo, cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos y/o heterociclos) en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos adyacentes, por ejemplo, los anillos son "anillos fusionados". Los anillos que se unen a través de átomos no adacentes se denominan anillos "puenteados". Cada uno de los anillos del policiclo pueden ser sustituidos con dichos sustituyentes como se describió anteriormente, como por ejemplo, halógeno, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo; sililo,

éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, un heterociclilo, una unidad estructural aromática o heteroaromática, -CF₃, -CN, o similares.

El término “carbociclo”, como se utiliza aquí, se refiere a un anillo aromático o no aromático en el que cada átomo del anillo es carbono.

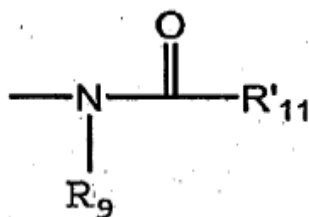
- 5 Como se utiliza aquí, el término “nitro” significa -NO₂; el término “halógeno” designa -F, -Cl, -Br o -I; el término “sulfhidrilo” significa -SH; el término “hidroxilo” significa -CH; y el término “sulfonilo” significa -SO₂-,

Los términos “amina” y “amino” se reconocen en la técnica y se refieren a aminas sustituidas y no sustituidas, por ejemplo, una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:



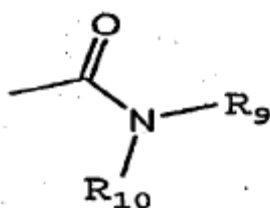
- 10 en donde R₉, R₁₀ y R'₁₀ cada uno independientemente representa un grupo permitido por las reglas de valencia.

El término “acilamino” se reconoce en la técnica y se refiere a una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:



- 15 en donde R₉ es como se definió anteriormente, y R'₁₁ representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o -(CH₂)_m-R₈, donde m y R₈ son como se definió anteriormente.

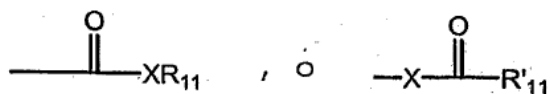
El término “amido” se reconoce en la técnica como un carbonilo amino-sustituido e incluye una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:



- 20 en donde R₉, R₁₀ son como se definió anteriormente. Las realizaciones preferidas de la amida no incluirán imidas que pueden ser inestables.

El término “alquiltio” se refiere a un grupo alquilo, como se definió anteriormente, que tiene un radical azufre adherido a este. En realizaciones preferidas, la unidad estructural “alquiltio” se representa por uno de -S-alquilo, -S-alquenilo, -S-alquinilo, y -S-(CH₂)_m-R₈ en donde m y R₈ se definieron anteriormente. Grupos alquiltio representativos incluyen metiltio, etiltio, y similares.

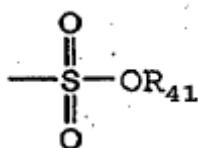
- 25 El término “carbonilo” se reconoce en la técnica e incluye dichas unidades estructurales que se pueden representar por la fórmula general:



en donde X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre, y R_{11} representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenoilo, $-(CH_2)_m-R_8$ o una sal farmacéuticamente aceptable, R'_{11} representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenoilo o $-(CH_2)_m-R_8$, donde m y R_8 son como se definió anteriormente. Donde X es un oxígeno y R_{11} o R'_{11} no es hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Donde X es un oxígeno, y R_{11} es como se definió anteriormente, la unidad estructural se denomina aquí como un grupo carboxilo, y particularmente cuando R_{11} es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico". Donde X es un oxígeno, y R'_{11} es hidrógeno, la fórmula representa un "formiato". En general, donde el átomo de oxígeno de la fórmula anterior se reemplaza por azufre, la fórmula representa un grupo "tiolcarbonilo". Donde X es un azufre y R_{11} o R'_{11} no es hidrógeno, la fórmula representa un "tioléster". Donde X es un azufre y R_{11} es hidrógeno, la fórmula representa un "ácido tiolcarboxílico". Donde X es un azufre y R'_{11} es hidrógeno, la fórmula representa un "tiolformato". Por otro lado, donde X es un enlace, y R_{11} no es hidrógeno, la fórmula anterior representa un grupo "cetona". Donde X es un enlace, y R_{11} es hidrógeno, la fórmula anterior representa un grupo "aldehído".

Los términos "alcoxilo" o "alcoxi" como se utiliza aquí se refieren a un grupo alquilo, como se definió anteriormente, que tiene un radical oxígeno adherido a este. Grupos alcoxilo representativos incluyen metoxi, etoxi, propiloxi, tert-butoxi y similares. Un "éter" es dos hidrocarburos ligados covalentemente por un oxígeno. De acuerdo con lo anterior, el sustituyente de un alquilo que hace que un alquilo éter sea o se asemeje a un alcoxilo, tal como se puede representar por uno de $-O$ -alquilo, $-O$ -alquenoilo, $-O$ -alquinilo, $-O-(CH_2)_m-R_8$, donde m y R_8 se describieron anteriormente.

El término "sulfonato" se reconoce en la técnica e incluye una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:

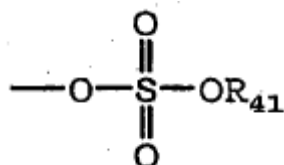


en la que R_{41} es un par de electrones; hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, o arilo.

Los términos triflilo, tosilo, mesilo, y nonaflilo se reconocen en la técnica y se refieren a grupos trifluorometanosulfonilo, p-toluenosulfonilo, metanosulfonilo, y nonafluorobutanosulfonilo, respectivamente. Los términos triflato, tosilato, mesilato, y nonaflato se reconocen en la técnica y se refieren a grupos funcionales éster de trifluorometanosulfonato, éster de p-toluenosulfonato, éster de metanosulfonato, y éster de nonafluorobutanosulfonato y moléculas que contienen dichos grupos, respectivamente.

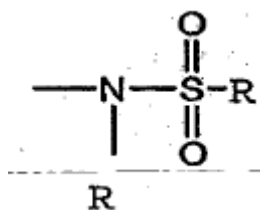
Las abreviaturas Me, Et, Ph, Tf, Nf, Ts, Ms representan metilo, etilo, fenilo, trifluorometanosulfonilo, nonafluorobutanosulfonilo, p-toluenosulfonilo y metanosulfonilo, respectivamente. Una lista más completa de las abreviaturas utilizadas por los químicos orgánicos de experiencia común en la técnica aparece en la primera emisión de cada volumen del Journal of Organic Chemistry; esta lista se presenta normalmente en una tabla titulada Lista Estándar de Abreviaturas.

El término "sulfato" se reconoce en la técnica e incluye una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:

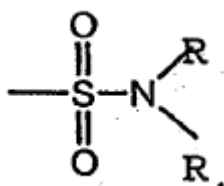


en la que R_{41} es como se definió anteriormente.

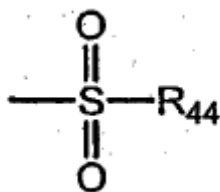
El término “sulfonilamino” se reconoce en la técnica e incluye una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:



5 El término “sulfamilo” se reconoce en la técnica e incluye una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:



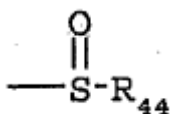
El término “sulfonilo”, como se utiliza aquí, se refiere a una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:



10

en la que R_{44} se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo.

El término “sulfóxido” como se utiliza aquí, se refiere a una unidad estructural que se puede representar por la fórmula general:



15

en la que R_{44} se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, heterociclilo, aralquilo, o arilo.

Un “selenoalquilo”, se refiere a un grupo alquilo que tiene un grupo seleno sustituido unido al mismo. “éteres seleno” de ejemplo que pueden estar sustituidos en el alquilo se seleccionan de uno de -Se-alquilo, -Se-alqueno, -Se-alquino, y -Se-(CH₂)_m-R₇, m y R₇ se definieron anteriormente.

20

Se pueden hacer sustituciones análogas a los grupos alqueno y alquino para producir, por ejemplo, aminoalquenos, aminoalquinos, amidoalquenos, amidoalquinos, iminoalquenos, iminoalquinos, tioalquenos, tioalquinos, alquenos o alquinos sustituidos con carbonilo.

Como se utiliza aquí, la definición de cada expresión, por ejemplo, alquilo, m, n, etc., cuando se produce más de una vez en cualquier estructura, pretende ser independiente de su definición en la misma estructura en otros lugares.

25

Se entenderá que “sustitución” o “sustituido con” incluye la condición implícita de que dicha sustitución está de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución resulta en un compuesto

estable, por ejemplo, que no experimenta de forma espontánea transformación tal como mediante reorganización, ciclación, eliminación, etc.

Como se utiliza aquí, el término "sustituido" se contempla para incluir todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes ilustrativos incluyen, por ejemplo, los descritos aquí anteriormente. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más y el mismo o diferente para los compuestos orgánicos apropiados. Para los propósitos de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes hidrógeno y/o cualesquier sustituyentes permisibles de los compuestos orgánicos descritos aquí que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Esta invención no se pretende limitar de ninguna manera por los sustituyentes permisibles de los compuestos orgánicos.

La frase "grupo protector", como se utiliza aquí, significa sustituyentes temporales que protegen un grupo funcional potencialmente reactivo de transformaciones químicas no deseadas. Ejemplos de dichos grupos protectores incluyen ésteres de ácidos carboxílicos, éteres de sililo de alcoholes, y acetales y cetales de aldehídos y cetonas, respectivamente. Se ha revisado el campo de la química de grupo protector (Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. *Protective Groups in Organic synthesis*, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991).

Pueden existir determinados compuestos de la presente invención, en particular, formas geométricas o estereoisoméricas. La presente invención contempla todos estos compuestos, que incluyen isómeros cis y trans, enantiómeros R y S, diastereómeros, (D) isómeros, (L) isómeros, las mezclas racémicas de los mismos, y otras mezclas de los mismos, que caen dentro del alcance de la invención. Pueden estar presentes átomos de carbono asimétricos adicionales en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Todos estos isómeros, así como mezclas de los mismos, están destinados a ser incluidos en esta invención.

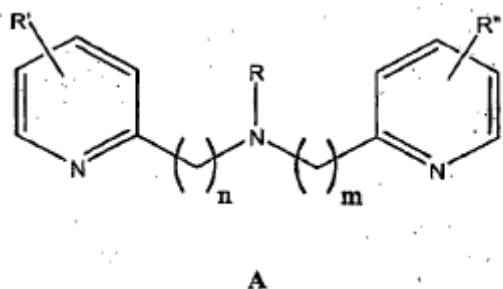
Si, por ejemplo, se desea un enantiómero particular de un compuesto de la presente invención, se puede preparar mediante síntesis asimétrica, se puede aislar utilizando métodos de cromatografía quiral, o mediante derivación con un auxiliar quiral, donde se separa la mezcla diastereomérica resultante y el grupo auxiliar se divide para proporcionar los enantiómeros puros deseados. Alternativamente, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, tal como amino, o un grupo funcional ácido, tal como carboxilo, las sales diastereoméricas se forman con un ácido o base ópticamente activa apropiada, seguido por la resolución de los diastereómeros así formados mediante cristalización fraccionada o medios de cromatografía bien conocidos en la técnica, y posterior recuperación de los enantiómeros puros.

Los equivalentes contemplados de los compuestos descritos anteriormente incluyen compuestos que de otro modo corresponden a estos, y que tienen las mismas propiedades generales de estos (por ejemplo, que funcionan como analgésicos), en donde se hacen una o más variaciones simples de sustituyentes que no afectan negativamente la eficacia del compuesto en la unión a los receptores opioides. En general, los compuestos de la presente invención se pueden preparar por los métodos ilustrados en los esquemas de reacción generales como, por ejemplo, se describe a continuación, o mediante modificaciones de los mismos, utilizando materias primas fácilmente disponibles, reactivos y procedimientos de síntesis convencionales. En estas reacciones, también es posible hacer uso de variantes que son en sí mismas conocidas, pero no se mencionan aquí.

Para los propósitos de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, *Handbook of Chemistry and Physics*, 67th Ed., 1986-87, dentro de la portada.

Compuestos de la descripción

En determinados ejemplos, un compuesto se representa por A:



en donde

R representa H, alquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, aminoalquilo, tioalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, acilo, aminoacilo, hidroxiacilo, tioacilo, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_d\text{-R}_{80}$ o un radical de aminoácido;

R' está ausente o presente desde 1 hasta 4 veces;

R'' está ausente o presente desde 1 hasta 4 veces;

- 5 cada caso de R' o R'' se selecciona independientemente del grupo que consiste de halógeno, alquilo, alqueno, alquino, hidroxilo, alcoxilo, acilo, aciloxi, acilamino, sililoxi, amino, nitro, sulfhidrilo, alquiltio, imino, amido, fosforilo, fosfonato, fosfina, carbonilo, carboxilo, carboxamida, anhídrido, sililo, tioalquilo, alquilosulfonilo, arilosulfonilo, selenoalquilo, cetona, aldehído, éster, heteroalquilo, ciano, guanidina, amidina, acetal, cetar, óxido de amina, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, azido, aziridina, carbamoilo, epóxido, ácido hidroxámico, imida, oxima, sulfonamida, tioamida, tiocarbamato, urea, tiourea, y $-(\text{CH}_2)_d\text{-R}_{80}$;
- 10

R₈₀ representa independientemente para cada ocurrencia carboxaldehído, carboxilato, carboxamido, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, amonio, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, cicloalqueno, heterociclilo, policiclilo, aminoácido, péptido, sacárido, ácido ribonucleico, ácido (desoxi)ribonucleico, o ligando para un receptor acoplado a proteína G;

d es un entero en el rango de 0 a 12 inclusive;

- 15 m es un entero en el rango de 0 a 6 inclusive; y

n es un entero en el rango de 0 a 6 inclusive.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido, en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde m es 1.

- 20 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde n es 1.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde m es 1; y n es 1.

En determinadas realizaciones, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R' está ausente.

- 25 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R'' está ausente.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R' está ausente; y R'' está ausente.

- 30 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde m es 1; n es 1; R' está ausente; y R'' está ausente.

En determinadas realizaciones, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R es $-(\text{CH}_2)_d\text{-R}_{80}$.

En determinados ejemplos, los compuestos de la presente invención se representan por A y las definiciones asistentes, en donde m es 1; n es 1; R' está ausente; R'' está ausente; y R es $-(\text{CH}_2)_d\text{-R}_{80}$.

- 35 En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención se representan por A y las definiciones asistentes, en donde m es 1; n es 1; R' está ausente; R'' está ausente; y R es $-(\text{CH}_2)_d\text{-R}_{80}$; en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido.

- 40 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde m es 1; n es 1; R' está ausente; R'' está ausente; y R es $-(\text{CH}_2)_d\text{-R}_{80}$; en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido, en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido.

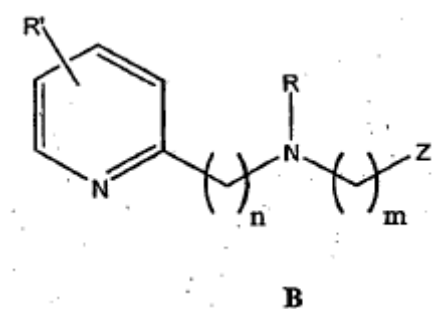
En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido; m es 1; y n es 1.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido; m es 1; n es 1; R' está ausente; y R'' está ausente.

- 5 En determinados ejemplos, los compuestos de la presente invención se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido; m es 1; n es 1; R' está ausente; y R'' está ausente; en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido.

- 10 En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención se representan por A y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido; m es 1; n es 1; R' está ausente; y R'' está ausente; en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido, en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio.

En determinados ejemplos, un compuesto de la descripción se representa por B:



en donde

- 15 Z representa tioalquilo, carboxilato, 2-(carboxi)arilo, 2-(carboxi)heteroarilo, 2-(hidroxi)arilo, 2-(hidroxi)heteroarilo, 2-(tiol)arilo, o 2-(tiol)heteroarilo;

R representa H, alquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, aminoalquilo, tioalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, acilo, aminoacilo, hidroxiacilo, tioacilo; $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_d\text{-R}_{80}$, o un radical de aminoácido;

R' está ausente o presente desde 1 hasta 4 veces;

- 20 cada caso de R' se selecciona independientemente del grupo que consiste de halógeno, alquilo, alqueno, alquino, hidroxilo, alcoxilo, acilo, aciloxi, acilamino, sililoxi, amino, nitro, sulfhidrilo, alquiltio, imino, amido, fosforilo, fosfonato, fosfina, carbonilo, carboxilo, carboxamida, anhídrido, sililo, tioalquilo, alquilosulfonilo, arilosulfonilo, selenoalquilo, cetona, aldehído, éster, heteroalquilo, ciano, guanidina, amidina, acetal, cetel, óxido de amina, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, azido, aziridina, carbamoilo, epóxido, ácido hidroxámico, imida, oxima, sulfonamida, tioamida, tiocarbamato, urea, tiourea, y $-(\text{CH}_2)_d\text{-R}_{80}$;

- 25 R_{80} representa independientemente para cada ocurrencia carboxaldehído, carboxilato, carboxamido, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, amonio, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, cicloalqueno, heterociclilo, policiclilo, aminoácido, péptido, sacárido, ácido ribonucleico, ácido (desoxi)ribonucleico, o ligando para un receptor acoplado a proteína G;

d es un entero en el rango de 0 a 12 inclusive;

m es un entero en el rango de 0 a 6 inclusive; y

- 30 n es un entero en el rango de 0 a 6 inclusive.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido, en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio.

- 35 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde Z es carboxilato.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde m es 1.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde n es 1.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde m es 1; y n es 1.

5 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde Z es carboxilato; m es 1; y n es 1.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde R' está ausente.

10 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde Z es carboxilato; m es 1; n es 1; y R' está ausente.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde R es $-(CH_2)_d-R_{80}$.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde Z es carboxilato; m es 1; n es 1; R' está ausente; y R es $-(CH_2)_d-R_{80}$.

15 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde Z es carboxilato; m es 1; n es 1; R' está ausente; y R es $-(CH_2)_d-R_{80}$; en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido.

20 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde Z es carboxilato; m es 1; n es 1; R' está ausente; y R es $-(CH_2)_d-R_{80}$; en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido, en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido.

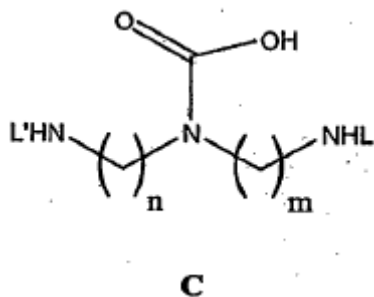
En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido; m es 1; y n es 1.

25 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido; m es 1; n es 1; y R' está ausente.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y las definiciones asistentes, en donde R es un radical de aminoácido; m es 1; n es 1; y R' está ausente; en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido.

30 En determinados ejemplos, los compuestos se representan por B y la definición asistente en donde R es un radical de aminoácido; m es 1; n es 1; y R' está ausente; en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido, en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio.

En determinadas realizaciones, un compuesto de la presente invención se representa por C:



35 en donde

L y L' representan independientemente para cada ocurrencia 2-metilenopiridilo, metilenocarboxilato, alquilo, arilo, o aralquilo, en donde por lo menos uno de L o L' es metilenocarboxilato o 2-metilenopiridilo, y en donde el 2-metilenopiridilo puede no ser sustituido en el anillo o sustituido con 1 a 4 casos de R';

5 R' se selecciona independientemente para cada ocurrencia del grupo que consiste de halógeno, alquilo, alqueno, alquino, hidroxilo, alcoxi, acilo, aciloxi, acilamino, sililoxi, amino, nitro, sulfhidrilo, alquiltio, imino, amido, fosforilo, fosfonato, fosfina, carbonilo, carboxilo, carboxamida, anhídrido, sililo, tioalquilo, alquilosulfonilo, arilosulfonilo, selenoalquilo, cetona, aldehído, éster, heteroalquilo, ciano, guanidina, amidina, acetal, cetel, óxido de amina, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, azido, aziridina, carbamoilo, epóxido, ácido hidroxámico, imida, oxima, sulfonamida, tioamida, tiocarbamato, urea, tiourea, y $-(CH_2)_d-R_{80}$;

10 R_{80} representa independientemente para cada ocurrencia carboxaldehído, carboxilato, carboxamido, alcocarbonilo, ariloxycarbonilo, amonio, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, cicloalqueno, heterociclilo, policiclilo, aminoácido, péptido, sacárido, ácido ribonucleico, ácido (desoxi)ribonucleico, o ligando para un receptor acoplado a proteína G;

d es un entero en el rango de 0 a 12 inclusive;

m es un entero en el rango de 0 a 6 inclusive; y

15 n es un entero en el rango de 0 a 6 inclusive.

En determinados ejemplos, los compuestos se representan por C y las definiciones asistentes, en donde dicho compuesto se compleja con un radionúclido.

20 En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención se representan por C y las definiciones asistentes, en donde dicho compuesto se compleja Con un radionúclido, en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio.

En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención se representan por C y las definiciones asistentes, en donde L es metilenocarboxilato; y L' es alquilo.

En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención se representan por C y las definiciones asistentes, en donde L es 2-metilenopiridilo; y L' es alquilo.

25 En determinadas realizaciones, los compuestos de la presente invención se representan por C y las definiciones asistentes, en donde L es alquilo; y L' es 2-metilenopiridilo.

En determinados ejemplos, la presente descripción se relaciona con una formulación, que comprende un compuesto representado por A, B, o C y las definiciones asistentes; y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 Los ligandos novedosos descritos anteriormente, se pueden incorporar en los complejos de radionúclidos utilizados como agentes de formación de imágenes radiográficas. Adicionalmente, estos ligandos o complejos se pueden unir de forma covalente o no covalente a las moléculas portadoras biológicamente activas, tales como, anticuerpos, enzimas, péptidos, hormonas, peptidomiméticos y similares. Los complejos de la presente descripción se preparan al hacer reaccionar uno de los ligandos mencionados anteriormente con un radionúclido que contiene solución bajo condiciones de reacción que forman el complejo radionúclido. En particular, si se desea un agente de tecnecio, la reacción se lleva a cabo con una solución de pertechnetato bajo condiciones de reacción que forman el complejo de tecnecio-99m. El solvente se puede eliminar por cualquier medio apropiado, tal como la evaporación. Los complejos luego se preparan para administración al paciente mediante disolución o suspensión en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

40 La presente invención también se relaciona con agentes de formación de imágenes que contienen un complejo radionúclido como se describió anteriormente, en una cantidad suficiente para formación de imágenes, junto con un vehículo radiológico farmacéuticamente aceptable. El vehículo radiológico debe ser adecuada para la inyección o aspiración, tal como albúmina de suero humano; soluciones reguladoras acuosas, por ejemplo, tris (hidrometil) aminometano (y sus sales), fosfato, citrato, bicarbonato, etc.; agua estéril; solución salina fisiológica; y soluciones iónicas equilibradas que contienen sales de cloruro y o dicarbonato o cationes normales de plasma sanguíneo tales como calcio, potasio, sodio, y magnesio. La concentración del agente de formación de imágenes de acuerdo con la presente invención en el vehículo radiológico debe ser suficiente para proporcionar formación de imágenes satisfactoria, por ejemplo, al utilizar una solución acuosa, la dosis es de aproximadamente 1.0 a 50 milicurios. El agente de formación de imágenes se debe administrar con el fin de permanecer en el paciente durante aproximadamente 1 a 3 horas, aunque períodos de tiempo más largos y más cortos son aceptables. Por lo tanto, se pueden preparar ampollas convenientes que contienen de 1 a 10 mL de solución acuosa.

50

La formación de imágenes se puede llevar a cabo de la manera normal, por ejemplo al inyectar una cantidad suficiente de la composición de formación de imágenes para proporcionar formación de imágenes adecuada y luego escanear con dicha máquina adecuada, tal como una cámara gamma. En determinadas realizaciones; la presente invención se relaciona con un método para formar imágenes de una región en un paciente, que comprende las etapas de: administrar a un paciente una cantidad diagnósticamente efectiva de un compuesto de la presente invención en complejo con un radionúclido; exponer una región de dicho paciente a radiación; y obtener una imagen de dicha región de dicho paciente. En determinadas realizaciones del método para formar imágenes de una región en un paciente, dicha región de dicho paciente es la cabeza o el tórax.

Formulaciones farmacéuticas

En otro aspecto, la presente descripción proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos de la invención como se describió anteriormente, formuladas juntas con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables (aditivos) y/o diluyentes. Como se describe en detalle adelante, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para la administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquellas adaptadas para lo siguiente: (1) administración oral, por ejemplo, porciones (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, por ejemplo, aquellos destinados para absorción bucal, sublingual, y sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación a la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril, o una formulación de liberación sostenida; (3) aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, pomada, o un parche de liberación controlada o rociado aplicado a la piel; (4) intravaginal o intrarrectalmente, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; (5) sublingualmente; (6) ocularmente; (7) transdérmicamente; o (8) nasalmente.

La frase "cantidad terapéuticamente efectiva" como se utiliza aquí significa la cantidad de un compuesto, material o composición que comprende un compuesto de la presente invención que es efectiva para producir algún efecto terapéutico deseado en por lo menos una sub-población de células en un animal a una relación de beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea aquí para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que están, dentro del alcance del criterio médico, adecuados para uso en contacto con tejidos humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

La frase "portador farmacéuticamente aceptable" como se utiliza aquí significa un material farmacéuticamente aceptable, composición o vehículo, tal como un relleno líquido o sólido, diluyente, excipiente, o material de encapsulación de solvente, implicado en llevar o transportar el compuesto objeto desde un órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o porción del cuerpo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes de regulación, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras de pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones de la presente invención se pueden basar en parte en liposomas.

Los liposomas consisten en una bicapa de fosfolípidos que forma una cubierta alrededor de un núcleo acuoso. Los métodos para preparar liposomas para administración a un paciente son conocidos por aquellos expertos en la técnica; Por ejemplo, la Patente Estadounidense No. 4,798,734 describe métodos para la encapsulación de materiales biológicos en liposomas. El material biológico se disuelve en una solución acuosa, y se agregan los fosfolípidos y lípidos apropiados, junto con surfactantes si se requiere. El material luego se dializa o se somete a sonicación, según sea necesario. Una revisión de los métodos conocidos es presentada por G. Gregoriadis, Capítulo 14 ("Liposomes"), in *Drug Carriers in Biology and Medicine*, pp. 287-341 (Academic Press, 1979).

Las formulaciones de la presente invención se pueden basar en parte en micropartículas poliméricas. Las microesferas formadas por polímeros o proteínas son bien conocidas por aquellos expertos en la técnica, y se pueden adaptar para el paso a través del tracto gastrointestinal, como se describe por ejemplo en las Patentes Estadounidenses Nos. 4,906,474, 4,925,673, y 3,625,214. Se presenta una serie de métodos bien conocidos, que incluyen la evaporación del solvente y la coacervación/separación de fase, para la preparación de microesferas. Las microesferas bioerosionables se pueden preparar utilizando cualquiera de los métodos desarrollados para la

fabricación de microesferas para el suministro de fármacos, como se describe, por ejemplo, por Mathiowitz et al., J. Appl. Polymer Sci. 35, 755-774 (1988), y P. Deasy, in Microencapsulation and Related Drug Processes, pp. 61-193 (Dekker, 1984). La selección de un método depende de las propiedades del fármaco y elección del polímero, así como el tamaño, morfología externa, y grado de cristalinidad deseada, como se discute, por ejemplo, en Benita et al., J. Pharm. Sci. 73, 1721-1724 (1984), Jalil and Nixon, J. Microencapsulation, 7,297-325 (1990), and Mathiowitz et al., Scanning Microscopy 4, 329-340 (1990).

En la evaporación del solvente, descrito, por ejemplo, en Mathiowitz et al., (1990), Benita, y Patente Estadounidense No. 4,272,398 otorgada a Jaffe, el polímero se disuelve en un solvente orgánico volátil. El fármaco, ya sea en forma soluble o en partículas, se agrega a la solución de polímero y la mezcla se suspende en una fase acuosa que contiene un agente de superficie activa tal como poli(alcohol vinílico). La emulsión resultante se agita hasta que la mayoría de los solventes orgánicos se evapora, dejando microesferas sólidas. Se pueden obtener microesferas de diferentes tamaños (1-1000 micrones) y morfologías por este método, que es útil para polímeros no lábiles.

Las técnicas de coacervación/ separación de fase se han utilizado para encapsular ambos materiales de núcleo sólidos y líquidos con diversos recubrimientos poliméricos. Las Patentes Estadounidenses Nos. 2,730,456, 2,730,457, y 2,800,457 otorgadas a Green y Schleichter, describen, por ejemplo sistemas de recubrimiento de gelatina y gelatina-acacia (goma árabe). La coacervación simple emplea un único coloide (por ejemplo, gelatina en agua) e involucra la eliminación del agua asociada de todo el coloide disperso mediante agentes con una mayor afinidad al agua, tales como alcoholes y sales. La coacervación compleja emplea más de un coloide, y la separación procede principalmente por la carga de neutralización de los coloides que transportan cargas opuestas en lugar de mediante deshidratación. También se puede inducir coacervación utilizando vehículos no acuosos, como se describe en, por ejemplo Nakano et al., Int. J. Pharm, 4, 29-298 (1980).

Se pueden preparar microesferas de hidrogel hechas de polímeros de tipo gel tales como alginato o polifosfazenos u otros polímeros dicarboxílicos al disolver el polímero en una solución acuosa, suspender el material que se va a incorporar en la mezcla, y extrudir la mezcla de polímero a través de un dispositivo que forma microgotas, equipado con un chorro de gas nitrógeno. Las microesferas resultantes caen en un baño de agitación lenta, de endurecimiento iónico, como se ilustra, por ejemplo, por Salib, et al., Pharmazeutische Industrie 40-11A, 1230 (1978). La ventaja de este sistema es la capacidad de modificar adicionalmente la superficie de las microesferas al recubrirlas con polímeros policationicos (tales como polilisina) después de fabricación, como se describe, por ejemplo, por Lim et al, J. Pharm Sci. 70, 351-354 (1981). El tamaño de partícula de las microesferas depende del tamaño de la extrusora, así como los índices de flujo de polímero y gas.

Ejemplos de polímeros que se pueden utilizar incluyen poliamidas, policarbonatos, polialquilenos y derivados de los mismos que incluyen, polialquilenglicoles, óxidos de polialquileno, tereftalatos de polialquileno, polímeros de ésteres acrílicos y metacrílicos, que incluyen poli(metacrilato de metilo), poli (metacrilato de etilo), poli (metacrilato de butilo), poli (metacrilato de isobutilo), poli (metacrilato de hexilo), poli (metacrilato de isodecilo), poli (metacrilato de laurilo), poli (metacrilato de fenilo), poli (acrilato de metilo), poli (acrilato de isopropilo), poli (acrilato de isobutilo), y poli (acrilato de octadecilo), polímeros de polivinilo que incluyen alcoholes de polivinilo, éteres de polivinilo, ésteres de polivinilo, haluros de polivinilo, poli (acetato de vinilo) y polivinilpirrolidona, poliglicólidos, polisiloxanos, poliuretanos y copolímeros de los mismos, celulosas que incluyen celulosa de alquilo, celulosas de hidroxialquilo, éteres de celulosa, ésteres de celulosa, nitro celulosas, metil celulosa, etil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, hidroxibutil metil celulosa, acetato de celulosa, propionato de celulosa, acetato butirato de celulosa, acetato ftalato de celulosa, carboxietil celulosa, triacetato de celulosa, y sal de sodio de sulfato de celulosa, polipropileno, polietilenos, que incluyen poli (etilenglicol), poli (óxido de etileno) y poli (tereftalato de etileno), y poliestireno. Ejemplos de polímeros biodegradables incluyen polímeros sintéticos tales como polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poli(orto) ésteres, poliuretanos, poli(ácido Bútico), poli (ácido valérico), y poli (lactida-cocaprolactona), y polímeros naturales tales como alginato y otros polisacáridos que incluyen dextrano y celulosa, colágeno, derivados químicos de los mismos (sustituciones, adiciones de grupos químicos, por ejemplo, alquilo, alquileno, hidroxilaciones, oxidaciones, y otras modificaciones hechas rutinariamente por los expertos en la técnica), albúmina y otras proteínas hidrófilas, zeína y otras prolaminas y proteínas hidrofóbicas, copolímeros y mezclas de los mismos. En general, estos materiales se degradan ya sea mediante hidrólisis enzimática o exposición al agua in vivo, por erosión de superficie o voluminosa.

Polímeros bioadhesivos de particular interés incluyen hidrogeles bioerosionables descritos por H. S. Sawhney, C P., Pathak and J. A. Hubbell in Macromolecules, 1993, 26, 581-587, ácidos polihialurónicos, caseína, gelatina, glutina, polianhídridos, ácido poliacrílico, alginato, quitosano, poli (metacrilatos de metilo), poli (metacrilatos de etilo), poli (metacrilato de butilo), poli (metacrilato de isobutilo), poli (metacrilato de hexilo), poli (metacrilato de isodecilo), poli (metacrilato de laurilo), poli (metacrilato de fenilo), poli (acrilato de metilo), poli (acrilato de isopropilo), poli (acrilato de isobutilo), y poli (acrilato de octadecilo).

Un diluyente utilizado en una composición de la presente invención puede ser uno o más compuestos que son capaces de densificar el principio activo para dar la masa deseada. Los diluyentes preferidos son fosfatos minerales tales como fosfatos de calcio; azúcares tales como lactosa hidratada o anhidra, o manitol; y celulosa o derivados de

celulosa, por ejemplo celulosa microcristalina, almidón, almidón de maíz o almidón pregelatinizado. Los diluyentes muy particularmente preferidos son monohidrato de lactosa, manitol, celulosa microcristalina y almidón de maíz, utilizado por sí mismos o en una mezcla, por ejemplo una mezcla de monohidrato de lactosa y almidón de maíz o una mezcla de monohidrato de lactosa, almidón de maíz y celulosa microcristalina.

5 Un aglutinante empleado en una composición de la presente invención puede ser uno o más compuestos que son capaces de densificar un compuesto de fórmula (I), convertirlo en partículas más gruesas y más densas con mejores propiedades de flujo. Los aglutinantes preferidos son el ácido alginico o alginato de sodio; celulosa y derivados de celulosa tales como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa o metil celulosa, gelatina; polímeros de ácido acrílico; y povidona, por ejemplo povidona K-30; hidroxipropil metil celulosa y povidona K-30 son los aglutinantes muy particularmente preferidos.

10 Un agente disgregante empleado en una composición de la presente invención puede ser uno o más compuestos que facilitan la desintegración de la formulación preparada cuando se coloca en un medio acuoso. Los agentes de desintegración preferidos son celulosa o derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa de sodio reticulada, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, crospovidona; almidón pregelatinizado, gliconato de almidón sodio, carboximetil de almidón sodio, o almidón. La crospovidona, carboximetil celulosa de sodio reticulada y carboximetil almidón sodio son agentes disgregantes preferidos.

Un antiadhesivo empleado en una composición de la presente invención puede ser uno o más compuestos que son capaces de reducir el carácter pegajoso de la formulación, por ejemplo, de evitar la adherencia a las superficies metálicas. Los antiadhesivos preferidos son compuestos que contienen silicio, por ejemplo sílice o talco.

20 Un promotor de flujo empleado en una composición de la presente invención puede ser uno o más compuestos que son capaces de facilitar el flujo de la formulación preparada. Los promotores de flujo preferidos son compuestos que contienen silicio, por ejemplo sílice coloidal anhidra o sílice precipitada. Un lubricante empleado en una composición de la presente invención puede ser uno o más compuestos que son capaces de prevenir los problemas asociados con la preparación de formas secas, tales como problemas de pegado y/o dimensión que se producen en las máquinas durante la compresión o llenado. Los lubricantes preferidos son ácidos grasos o derivados de ácidos grasos tales como estearato de calcio, monoestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerilo, estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio, estearilfumarato de sodio, estearato de zinc o ácido esteárico; aceites vegetales hidrogenados, por ejemplo aceite de ricino hidrogenado; polialquilenglicoles o polietilenglicol; benzoato de sodio; o talco. De acuerdo con la presente invención se prefiere estearato de magnesio o estearilfumarato de sodio.

30 Un color empleado en una formulación de la presente invención puede ser uno o más compuestos que son capaces de impartir el color deseado a la formulación preparada. La adición de un color puede servir por ejemplo para diferenciar entre las formulaciones que contienen diferentes dosis de principio activo. Los colores preferidos son óxidos de hierro.

35 Como se indicó anteriormente, determinadas realizaciones de los presentes compuestos pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino o alquilamino, y son, por lo tanto, capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" a este respecto, se refiere a las sales de adición de ácido relativamente no tóxicas, inorgánicas y orgánicas de compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar in situ en el vehículo de administración o el proceso de fabricación de forma de dosificación, o al hacer reaccionar de forma separada un compuesto purificado de la invención en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislar la sal así formada durante la purificación posterior. Las sales representativas incluyen el bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, y laurilsulfonato y similares. (Véase, por ejemplo, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19)

45 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos objeto incluyen las sales convencionales no tóxicas o sales de amonio cuaternario de los compuestos, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, dichas sales no tóxicas convencionales incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos tales como clorhidrato, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico, y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, palmítico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etano disulfónico, oxálico, isotiónico, y similares.

50 En otros casos, los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, por tanto, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" en estos casos se refiere a las sales de adición de base relativamente no tóxicas, inorgánicas y orgánicas de compuestos de la presente invención. Estas sales pueden asimismo ser preparadas in situ en el vehículo de administración o en el proceso de fabricación de forma de dosificación, o al

hacer reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal como hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión de metal farmacéuticamente aceptable, con amoníaco, o con una amina primaria, secundaria o terciaria orgánica farmacéuticamente aceptable. Las sales de alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares. (Véase, por ejemplo, Berge et al., supra)

Los agentes de humectación, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en las composiciones.

Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, propilo, galato, alfa-tocoferol, y similares; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (que incluyen bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualesquier métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del anfitrión que está siendo tratado, el modo particular de administración. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una única forma de dosificación generalmente será aquella cantidad del compuesto que produzca un efecto terapéutico. Generalmente, de un cien por ciento, esta cantidad variará de aproximadamente 1 por ciento a aproximadamente el noventa y nueve por ciento de ingrediente activo, preferiblemente de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 70 por ciento, más preferiblemente de aproximadamente 10 por ciento a aproximadamente 30 por ciento.

En determinadas realizaciones, una formulación de la presente invención comprende un excipiente seleccionado del grupo que consiste en ciclodextrinas, liposomas, agentes formadores de micelas, por ejemplo, ácidos biliares y portadores poliméricos, por ejemplo, poliésteres y polianhídridos; y un compuesto de la presente invención. En determinadas realizaciones, una formulación mencionada anteriormente hace biodisponible por vía oral un compuesto de la presente invención.

Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de poner en asociación un compuesto de la presente invención con el portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, se preparan las formulaciones al poner de forma uniforme e íntima en asociación un compuesto de la presente invención con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, conformar el producto.

Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, pastillas (usando una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión aceite en agua o emulsión líquida de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) y/o como enjuagues bucales y similares, cada uno contiene una cantidad predeterminada de un compuesto de la presente invención como un ingrediente activo. Un compuesto de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

En las formas de dosificación sólidas de la invención para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio, y/o cualquiera de los siguientes: (1) rellenos o extendedores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, y/o ácido silícico; (2) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio; (5) agentes que retardan solución, tales como parafina; (6) aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes de humectación, tales como, por, ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol, y agentes surfactantes no iónicos; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y sus mezclas; y (10) agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes de regulación. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en cápsulas de gelatina de cubiertas blandas y duras utilizando dichos excipientes como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Se puede fabricar un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más, ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar utilizando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetil celulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón sodio o carboximetil celulosa de sodio reticulada), agente de superficie activa o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden elaborar al moldear en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, pueden estar opcionalmente calificados como o prepararse con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. También se pueden formular de tal manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo de las mismas utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden formular para liberación rápida, por ejemplo, liofilizadas. Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o al incorporar agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición tal que libere solo el ingrediente activo, o preferiblemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden utilizar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para la administración oral de los compuestos de la invención incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilen glicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, maní, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes de humectación, emulsionantes y agentes de suspensión, edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y agentes conservantes.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes etoxilados de isoestearilo, sorbitol de polioxietileno y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, que se puede preparar al mezclar uno o más compuestos de la invención con uno o más excipientes adecuados o portadores que comprenden, por ejemplo no irritantes, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o la cavidad vaginal y libera el compuesto activo.

Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen dichos portadores como se conoce en la técnica que son apropiadas.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta invención incluyen polvos, pulverizadores, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhaladores. El compuesto activo se puede mezclar bajo condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualesquier conservantes, reguladores, o propulsores que puedan ser necesarios.

Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de un compuesto activo de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y pulverizadores pueden contener, además de un compuesto de esta invención, excipientes, tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener adicionalmente propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja agregada de proporcionar el suministro controlado de un compuesto de la presente invención al cuerpo. Dichas formas de dosificación se pueden hacer al disolver o dispersar el compuesto en el medio apropiado. Los potenciadores de absorción también pueden ser utilizados para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. El índice de dicho flujo se puede controlar ya sea al proporcionar una membrana de control de índice o al dispersar el compuesto en una matriz polimérica o gel.

Las formulaciones oftálmicas, pomadas oculares, polvos, soluciones y similares, también se contemplan dentro del alcance de esta invención.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más compuestos de la invención en combinación con uno o más soluciones acuosas o no acuosas estériles isotónicas, dispersiones, suspensiones o emulsiones farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones inyectables estériles o dispersiones justo antes de uso, que pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, reguladores, bacteriostáticos, solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes de suspensión o espesantes.

Ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que se pueden emplear en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Se puede mantener la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de surfactantes.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes de humectación, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos sobre los compuestos objeto se puede asegurar por la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido sórbico de fenol, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, se puede provocar la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable por la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada parenteralmente se logra al disolver o suspender el fármaco en un vehículo oleoso.

Las formas de depósito inyectables se elaboran al formar matrices microencapsuladas de los compuestos objeto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco con polímero, y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar el índice de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli (anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan al atrapar el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

Cuando los compuestos de la presente invención se administran como productos farmacéuticos, a humanos y animales, se les puede suministrar per se o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, 0.1 a 99.5% (más preferiblemente, de 0.5 a 90%) de ingrediente activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

Las preparaciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, tópica, o rectal. Por supuesto, se dan en formas adecuadas para cada ruta de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o cápsulas, por inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, etc. administración mediante inyección, infusión o inhalación; tópica mediante loción o ungüento; y rectal mediante supositorios. Se prefieren las administraciones orales.

Las frases "administración parenteral" y "administrados parenteralmente" como se utiliza aquí, significa modos de administración distintos de administración enteral y tópica, normalmente mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal y intrasternal e infusión.

Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente" como se utiliza aquí significa la administración de un compuesto, fármaco u otro material que no

sea directamente en el sistema nervioso central, de tal manera que entra en el sistema del paciente y, por lo tanto, está sujeto al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Se pueden administrar estos compuestos a humanos y otros animales para terapia por cualquier ruta de administración adecuada, que incluyen vía oral, nasal, como, por ejemplo, un aerosol, rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, tal como mediante polvos, ungüentos o gotas, que incluyen por vía bucal y sublingual.

Independientemente de la ruta de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que se pueden utilizar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales conocidos por aquellos expertos en la técnica.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que es eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente en particular, composición y modo de administración, sin ser tóxico para el paciente.

El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular de la presente invención empleado, o el éster, sal o amida del mismo, la ruta de administración, el tiempo de administración, el índice de excreción o metabolismo del compuesto particular que se emplea, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, edad, sexo, peso, condición, salud general e historial médico previo del paciente que se va a tratar, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Un médico o veterinario que tiene experiencia común en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría comenzar con dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica a niveles más bajos que los requeridos con el fin de lograr el efecto terapéutico deseado e incrementar gradualmente la dosificación hasta que se alcanza el efecto deseado.

En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será aquella cantidad del compuesto que es la dosis más baja efectiva para producir un efecto terapéutico. Dicha dosis efectiva dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Generalmente, las dosis intravenosas, intracerebroventriculares y subcutáneas de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se utiliza para los efectos analgésicos indicados, variarán desde aproximadamente 0.0001 a aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal por día.

Si se desea, la dosis diaria efectiva del compuesto activo se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas por separado a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias.

Mientras que es posible para un compuesto de la presente invención ser administrado solo, es preferible administrar el compuesto como una formulación farmacéutica (composición).

En otro aspecto, la presente descripción proporciona composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más de los compuestos objeto, como se describió anteriormente, formulada junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables (aditivos) y/o diluyentes. Como se describe en detalle adelante, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular especialmente para administración en forma sólida o líquida, incluyendo aquellas adaptadas para lo siguiente: (1) administración oral, por ejemplo, porciones (soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, bolos, polvos, gránulos, pastas para aplicación a la lengua; (2) administración parenteral, por ejemplo, por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa como, por ejemplo, una solución o suspensión estéril; (3) aplicación tópica, por ejemplo, como una crema, ungüento o pulverizador aplicado a la piel, pulmones o cavidad oral; o (4) intravaginalmente o intrarrectalmente, por ejemplo, como un pesario, crema o espuma; (5) sublingual; (6) ocularmente; (7) transdérmicamente; o (8) nasalmente.

Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden formular para administración de cualquier manera conveniente para uso en medicina humana o veterinaria, por analogía con otros productos farmacéuticos.

El término "tratamiento" pretende abarcar también profilaxis, terapia y cura.

El paciente que recibe este tratamiento es cualquier animal que lo necesite, incluyendo primates, en particular humanos y otros mamíferos tales como equinos, ganado, cerdos y ovejas; y aves de corral y animales domésticos en general.

El compuesto de la invención se puede administrar como tal o en mezclas con portadores farmacéuticamente aceptables y también se puede administrar en conjunto con agentes antimicrobianos tales como penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos y glucopéptidos. La terapia conjunta, por tanto, incluye la administración secuencial, simultánea y separada del compuesto activo en una forma que los efectos terapéuticos del primero administrado no desaparecen completamente cuando se administra el siguiente.

Colecciones combinatorias

Los compuestos objeto se agregan fácilmente a sí mismos para la creación de colecciones combinatorias para la selección de productos farmacéuticos, agroquímicos u otra actividad relacionada biológica o médicamente o cualidades relacionadas con el material. Una colección combinatoria para los propósitos de la presente invención es una mezcla de compuestos químicamente relacionados que se pueden seleccionar juntos por una propiedad deseada; dichas colecciones pueden estar en solución o unidas covalentemente a un soporte sólido. La preparación de muchos compuestos relacionados en una única reacción reduce en gran medida y simplifica el número de procesos de selección que se deben llevar a cabo. La selección de la propiedad biológica, farmacéutica, agroquímica o física adecuada se puede hacer por métodos convencionales.

La diversidad en una colección se puede crear en una variedad de diferentes niveles. Por ejemplo, los grupos arilo de sustrato utilizados en un método combinatorio pueden ser diversos en términos de la unidad estructural arilo del núcleo, por ejemplo, una variegación en términos de la estructura del anillo, y/o se puede variar con respecto a los otros sustituyentes.

Una variedad de técnicas están disponibles en la materia para generar colecciones combinatorias de pequeñas moléculas orgánicas. Véase, por ejemplo, Blondelle et al. (1995) Trends Anal. Chem. 14:83; Affymax Patentes Estadounidenses 5,359,115 y 5,362,899 ; Ellman Patente Estadounidense 5,288,514 ; Still et al. Publicación PCT WO 94/08051; Chen et al. (1994) JACS 116:2661; Kerr et al. (1993) JACS 115:252; Publicaciones PCT WO92/10092, WO93/09668 y WO91/07087; y Lerner et al. Publicación PCT WO93/20242). De acuerdo con lo anterior, una variedad de colecciones en el orden de aproximadamente de 16 a 1,000,000 o más diversómeros se puede sintetizar y seleccionar para una actividad o propiedad particular.

En una realización de ejemplo, una colección de diversómeros sustituidos se puede sintetizar utilizando las reacciones sujetas adaptadas a las técnicas descritas en Still et al. La publicación PCT WO 94/08051, por ejemplo, que se liga a una microesfera de polímero por un grupo hidrolizable o fotolizable, por ejemplo, situado en una de las posiciones del sustrato. De acuerdo con la técnica de Still et al., la colección se sintetiza sobre un conjunto de microesferas, cada microesfera incluye un conjunto de etiquetas que identifican el diversómero particular, en esa microesfera. En una realización, que es particularmente adecuada para el descubrimiento de inhibidores de la enzima, las microesferas se pueden dispersar sobre la superficie de una membrana permeable, y los diversómeros se liberan de las microesferas mediante lisis del ligador de microesfera. El diversómero de cada microesfera se difundirá por la membrana hasta una zona de ensayo, donde interactuará con un ensayo enzimático. Se proporcionan a continuación descripciones detalladas de una serie de metodologías combinatorias.

A) Caracterización Directa

Una tendencia creciente en el campo de la química combinatoria es explotar la sensibilidad de técnicas tales como espectrometría de masas (MS), por ejemplo, que se pueden utilizar para caracterizar cantidades sub-femtomolares]

+ de un compuesto, y para determinar directamente la constitución química de un compuesto seleccionado de una colección combinatoria. Por ejemplo, cuando se proporciona la colección en una matriz de soporte insoluble, primero se pueden liberar poblaciones discretas de compuestos del soporte y caracterizadas por la MS. En otras realizaciones, como parte de la técnica de preparación de muestra de MS, dichas técnicas MS como MALDI se pueden utilizar para liberar un compuesto desde la matriz, en particular cuando se utiliza originalmente un enlace lábil para atar el compuesto a la matriz. Por ejemplo, una microesfera seleccionado de una colección se puede irradiar en una etapa MALDI con el fin de liberar el diversómero de la matriz, e ionizar el diversómero para análisis MS.

B) Síntesis de Multipar

Las colecciones del método en cuestión pueden tomar el formato de colección multipar. Brevemente, Geysen y colaboradores (Geysen et al (1984) PNAS 81:3998 -4002) introdujeron un método para generar colecciones de compuestos mediante una síntesis paralela sobre pines de polietileno rallados -ácido poliacrílico dispuestos en el formato de placa de microtitulación. Se puede utilizar la técnica Geysen para sintetizar y seleccionar miles de compuestos por semana utilizando el método multipar, y los compuestos atados se pueden reutilizar en muchos ensayos. Las unidades estructurales ligadoras apropiadas también se pueden adjuntar a los pines de tal manera que

los compuestos se pueden dividir de los soportes después de síntesis para evaluación de pureza y evaluación adicional (c.f., Bray et al. (1990) *Tetrahedron Lett* 31:5811-5814; Valerio et al. (1991) *Anal Biochem* 197:168-177; Bray et al. 1991) *Tetrahedron Lett* 32:6163-6166).

C) Divide-acopla -recombina

- 5 En aún otra realización, se puede proporcionar una colección variada de compuestos en un conjunto de microperlas utilizando la estrategia de divide-acopla-recombina (véase, por ejemplo, Houghten (1985) *PNAS* 82:5131-5135; y Patentes Estadounidenses 4,631,211; 5,440,016; 5,480,971). Brevemente, como su nombre indica, en cada etapa de síntesis donde se introduce degeneración en la colección, las microesferas se dividen en grupos separados iguales al número de diferentes sustituyentes que se van a agregar en una posición particular en la colección, los diferentes sustituyentes acoplados en reacciones separadas, y las microesferas se recombinan en un grupo para la siguiente iteración.

- 15 En una realización, la estrategia de divide-acopla -recombina se puede llevar a cabo utilizando un método análogo al método denominado "bolsa de té" desarrollado primero por Houghten, donde se produce la síntesis de compuesto sobre resina sellada dentro de bolsas de polipropileno porosas (Houghten et al. (1986) *PNAS* 82:5131-5135). Los sustituyentes se acoplan a las resinas que llevan el compuesto al colocar las bolsas en soluciones de reacción apropiadas, mientras que todas las etapas comunes tales como lavado de resina y desprotección se desarrollan simultáneamente en un recipiente de reacción. Al final de la síntesis, cada bolsa contiene un único compuesto.

D) Colecciones combinatorias mediante Síntesis Química paralela espacialmente direccionable, de Luz dirigida

- 20 Un esquema de síntesis combinatoria en la que se proporciona la identidad de un compuesto por sus localizaciones sobre un sustrato de síntesis se denomina una síntesis espacialmente direccionable. En una realización, el proceso combinatorio se lleva a cabo al controlar la adición de un reactivo químico a localizaciones específicas en un soporte sólido (Dower et al. (1991) *Annu Rep Med Chem* 26:271-280; Fodor, S.P.A. (1991) *Science* 251:767; Pirrung et al. (1992) *Patente Estadounidense No.* 5,143,854; Jacobs et al. (1994) *Trenes Biotechnol* 12:19-26). La resolución espacial de la fotolitografía permite la miniaturización. Esta técnica se puede llevar a cabo mediante el uso de reacciones de protección/desprotección con grupos protectores fotolábiles.

- 30 Los puntos clave de esta tecnología se ilustran en Gallop et al. (1994) *J Med Chem* 37: 1233-1251. Un sustrato de síntesis se prepara para acoplar a través de la unión covalente de ligadores amino protegidos de nitroveratriloicarbonilo fotolábiles (NVOC) u otros ligadores fotolábiles. La luz se utiliza para activar selectivamente una región especificada del soporte de síntesis para el acoplamiento. La eliminación de los grupos protectores fotolábiles mediante luz (desprotección) da como resultado activación de áreas seleccionadas. Después de la activación, el primero de un conjunto de análogos de aminoácidos, cada uno lleva un grupo protector fotolábil en el terminal amino, se expone a la superficie completa. El acoplamiento sólo se produce en las regiones que se direccionaron por la luz en la etapa anterior. La reacción se detiene, las placas se lavan y el sustrato se ilumina de nuevo a través de una segunda máscara, que activa una región diferente para reacción con un segundo componente básico protegido. El patrón de máscaras y la secuencia de reactivos definen los productos y sus ubicaciones. Puesto que este proceso utiliza técnicas de fotolitografía, el número de compuestos que se pueden sintetizar se limita sólo por el número de sitios de síntesis que se pueden direccionar con resolución apropiada. La posición de cada compuesto se conoce precisamente; por lo tanto, se pueden evaluar directamente sus interacciones con otras moléculas.

- 40 En una síntesis química dirigida por luz, los productos dependen del patrón de iluminación y del orden de adición de los reactivos. Al variar los patrones litográficos, muchas series diferentes de compuestos de prueba se pueden sintetizar simultáneamente; esta característica lleva a la generación de muchas estrategias de enmascaramiento diferentes.

E) Colecciones combinatorias codificadas

- 45 En aún otra realización, el método objeto utiliza una colección de compuestos provista de un sistema de etiquetado codificado. Una mejora reciente en la identificación de compuestos activos de colecciones combinatorias emplea sistemas de indexación química que utilizan etiquetas que codifican únicamente las etapas que han experimentado reacción para una microesfera dada y, por inferencia, la estructura que lleva. Conceptualmente, este método imita colecciones de exhibición de fagos, donde la actividad se deriva de péptidos expresados, pero las estructuras de los péptidos activos se deducen de la secuencia de ADN genómico correspondiente. La primera codificación de colecciones combinatorias sintéticas empleó ADN como código. Se ha reportado una variedad de otras formas de codificación, que incluyen codificación con bio-oligómeros secuenciables (por ejemplo, oligonucleótidos y péptidos), y codificación binaria con etiquetas no secuenciables adicionales.

1) Etiquetado con bio-oligómeros secuenciables

El principio de utilizar oligonucleótidos para codificar colecciones sintéticas combinatorias se describió en 1992 (Brenner et al. (1992) PNAS 89:5381-5383), y un ejemplo de dicha colección apareció el año siguiente (Needles et al. (1993) PNAS 90:10700-10704). Una colección combinatoria de nominalmente 7^7 (= 823,543) péptidos compuestos por todas las combinaciones de Arg, Gin, Phe, Lys, Val, D-Val y Thr (código de aminoácidos de tres letras), cada uno de los cuales fue codificado por un dinucleótido específico (TA, TC, CT, AT, TT, CA y AC, respectivamente), se preparó mediante una serie de rondas alternas de síntesis de péptidos y oligonucleótidos sobre un soporte sólido. En este trabajo, la amina que une la funcionalidad en la microesfera se diferenció específicamente hacia péptido o síntesis de oligonucleótidos al preincubar simultáneamente las microesferas con reactivos que generan grupos OH protegidos para la síntesis de oligonucleótidos y grupos NH_2 protegidos para la síntesis de péptidos (aquí, en una relación de 1:20). Cuando se completa, cada una de las etiquetas consiste en 69-meros, 14 unidades de las cuales llevan el código. La colección unida a microesfera se incubó con un anticuerpo marcado con fluorescencia, y las microesferas que contienen el anticuerpo unido se cosecha fuertemente por fluorescencia mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS). Las etiquetas de ADN se amplificaron por PCR y se secuenciaron, y se sintetizaron los péptidos predichos. Siguiendo dichas técnicas, las colecciones de compuestos se pueden derivar para uso en el método objeto, donde la secuencia de oligonucleótidos de la etiqueta identifica las reacciones combinatorias secuenciales que una microesfera particular experimentó, y por lo tanto proporciona la identidad del compuesto sobre la microesfera.

El uso de etiquetas de oligonucleótidos permite análisis de etiqueta exquisitamente sensible. Aún así, el método requiere elección cuidadosa de conjuntos ortogonales de grupos protectores requeridos para la cosíntesis de la etiqueta y el integrante de la colección alterna. Adicionalmente, la labilidad química de la etiqueta, particularmente los ligadores anoméricos de fosfato y azúcar, pueden limitar la elección de reactivos y condiciones que se pueden emplear para la síntesis de colecciones no oligoméricas. En realizaciones preferidas, las colecciones emplean ligadores que permiten la separación selectiva del integrante de colección del compuesto de prueba para ensayo.

También se han empleado péptidos como moléculas de etiquetado para colecciones combinatorias. Se describen en la técnica, dos métodos de ejemplo, ambos de los cuales emplean ligadores ramificados para fase sólida sobre los cuales las hebras de codificación y ligando se elaboran alternativamente. En el primer método (Kerr JM et al. (1993) J Am Chem Soc 115:2529-2531) de ortogonalidad en la síntesis se logra al emplear la protección de ácido lábil para la hebra de codificación y protección de base lábil para la hebra compuesta.

En un método alternativo (Nikolaiev et al. (1993) Pept Res 6:161-170), se emplean ligadores ramificados de tal manera que la unidad de codificación y el compuesto de prueba pueden ambos estar unidos al mismo grupo funcional sobre la resina. En una realización, un ligador divisible se puede colocar entre el punto de ramificación y la microesfera de tal manera que la escisión libera una molécula que contiene tanto el código como el compuesto (Ptek et al. (1991) Tetrahedron Lett. 32:3891-3894). En otra realización, el ligador divisible se puede colocar de tal manera que el compuesto de prueba se puede separar selectivamente de la microesfera, dejando el código atrás. Esta última construcción es particularmente valiosa porque permite la selección del compuesto de ensayo sin interferencia potencial de los grupos de codificación. Ejemplos en la técnica de división independiente y secuenciación de integrantes de la colección de péptidos y sus correspondientes etiquetas han confirmado que las etiquetas pueden predecir con precisión la estructura peptídica.

2) Etiquetado no secuenciable: Codificación binaria

Una forma alternativa de codificar la colección de compuestos de prueba emplea un conjunto de moléculas de etiquetado electroforéticas no secuenciables que se utilizan como un código binario (Ohlmeyer et al. (1993) PNAS 90:10922-10926). Las etiquetas de ejemplo son éteres de alquilo haloaromáticos que son detectables como sus éteres de trimetilsililo a menos de los niveles femtomolares por cromatografía de gases de captura de electrones (ECGC). Las variaciones en la longitud de la cadena alquilo, así como la naturaleza y posición de los sustituyentes de haluro aromáticos, permiten la síntesis de por lo menos 40 de dichas etiquetas, que en principio pueden codificar 2^{40} (por ejemplo, más de 10^{12}) moléculas diferentes. En el informe original (Ohlmeyer et al., supra) las etiquetas se unen a aproximadamente 1% de los grupos amino disponibles de una colección de péptidos a través de un ligador o-nitrobencilo fotodivisible. Este método es conveniente al preparar colecciones combinatorias de moléculas similares a péptidos u otras moléculas que contienen aminas. Sin embargo, se ha desarrollado un sistema más versátil que permite la codificación de esencialmente cualquier colección combinatoria. Aquí, el compuesto se une al soporte sólido a través del ligador fotodivisible y la etiqueta se une a través de un ligador de éter de catecol mediante la inserción de carbeno en la matriz de la microesfera (Nestler et al (1994) J Org Chem. 59:4723-4724). Esta estrategia de adhesión ortogonal permite la separación selectiva de los integrantes de la colección para el ensayo en solución y decodificación posterior mediante ECGC después de separación oxidativa de los conjuntos de etiquetas.

Aunque diversas colecciones ligadas a amida en la técnica emplean codificación binaria con las etiquetas de electrófono adjuntas a grupos amino, unir estas etiquetas directamente a la matriz de la microesfera proporciona una versatilidad mucho mayor en las estructuras que se pueden preparar en colecciones combinatorias codificadas. Adjuntas de esta manera, las etiquetas y su ligador son casi no reactivas como la matriz de la microesfera en sí misma. Se han reportado dos colecciones combinatorias codificadas en binario en donde las etiquetas de

electrófono se unen directamente a la fase sólida (Ohlmeyer et al. (1995) PNAS 92:6027-6031) y proporcionan una guía para generar la colección de compuestos objeto. Ambas colecciones se construyeron utilizando una estrategia de unión ortogonal en la que el integrante de la colección se liga al soporte sólido mediante un ligador fotolábil y las etiquetas se unen a través de un ligador divisible sólo mediante oxidación vigorosa. Debido a que los integrantes de la colección pueden ser repetidamente parcialmente fotoeluididos del soporte sólido, se pueden utilizar integrantes de la colección en múltiples ensayos. La fotoelución sucesiva también permite una estrategia de selección iterativa de muy alto rendimiento: primero, múltiples microesferas se colocan en placas de microtitulación de 96 pozos; segundo, los compuestos se separan parcialmente y se transfieren a placas de ensayo; tercero, un ensayo de unión de metal identifica los pozos activos; cuarto, las microesferas correspondientes se redistribuyen individualmente en nuevas placas de microtitulación; quinto, los compuestos activos individuales son identificados; y sexto, se decodifican las estructuras.

Ejemplificación

La invención que ahora se describe de forma general, se entenderá más fácilmente mediante referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen solo para propósitos de ilustración de determinados aspectos y realizaciones de la presente invención, y no pretenden limitar la misma.

Ejemplo 1

Síntesis de $(C_5H_4NCH_2)_2NH$

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se coloca 2-aminometilpiridina (2.50 g, 0.023 moles). El sistema se coloca bajo nitrógeno. El sólido se disuelve en 20 mL de acetonitrilo seguido por la adición de 7 mL de trietilamina. Luego se agrega bromhidrato de 2-bromometilpiridina (5.80 g, 0.023 moles). Se deja agitar la mezcla de reacción durante 0.5 horas a 55 °C, después de lo cual la reacción se aspira hasta residuo. La mezcla se purifica utilizando una columna de sílice grande (10% de metanol/cloruro de metileno). 1H RMN ($CDCl_3$, ppm): 2.97 (s, H), 3.98 (s, 4H), 7.15 (m, 2H), 7.28 (m, 2H), 7.65 (m, 2H), 8.55 (m, 2H). La espectroscopia de masa demuestra que el peso molecular es 199.

Ejemplo 2

Síntesis de $(C_5H_4NCH_2)_3N$

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se coloca 2-aminometilpiridina (2.50 g, 0.023 moles). El sistema se coloca bajo nitrógeno. El sólido se disuelve en 20 mL de acetonitrilo seguido por la adición de 7 mL de trietilamina. Luego se agrega bromhidrato de 2-bromometilpiridina (5.80 g, 0.023 moles). Se deja agitar la mezcla de reacción durante 0.5 horas a 55 °C, después de lo cual la reacción se aspira hasta residuo. La mezcla se purifica utilizando una columna de sílice grande (10% de metanol/cloruro de metileno). 1H RMN ($CDCl_3$, ppm): 3.98 (s, 4H), 7.15 (m, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.65 (m, 2H), 8.55 (m, 2H). La espectroscopia de masa demuestra que el peso molecular es 291 ($M+1$).

Ejemplo 3

Síntesis de $(C_5H_4NCH_2)_2NCH_3$

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se coloca dipiridinametilamina DPMA (1.00 g, 5.03 mmoles). El sólido se disuelve en 10 mL de acetonitrilo seguido por la adición de 2 mL de dimetilformamida. Luego se agrega yoduro de metilo (0.637 g, 4.52 mmoles). Se deja agitar la mezcla de reacción durante 0.5 horas a temperatura ambiente, después de lo cual la reacción se aspira hasta residuo. La mezcla se purifica utilizando una columna de sílice grande (10% de metanol/cloruro de metileno). 1H RMN ($CDCl_3$, ppm): 2.19 (s, 3H), 3.85 (s, 4H), 7.15 (m, 2H), 7.50 (d, 2H), 7.65 (m, 2H), 8.55 (d, 2H). La espectroscopia de masa demuestra que el peso molecular es 214 ($M+1$).

Ejemplo 4

Síntesis de $(C_5H_4NCH_2NCH_2COOH) \{(CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_3)\}$

En un matraz de fondo redondo de 100 mL se coloca ácido piridinametilamina monoacético (PAMA) (0.30 g, 1.55 mmoles). El sólido se disuelve en 10 mL de acetonitrilo seguido por la adición de 5 mL de dimetilformamida. Luego, se agregan dos equivalentes de la sal de yoduro de 1-cloropropiltrimetilamina (0.815 g, 3.10 mmoles). Por último, se agrega carbonato de potasio (0.10 g, 0.724 mmol). La mezcla de reacción se calienta a 130 °C durante 3 horas, después de lo cual la reacción se aspira hasta residuo. La mezcla se purifica utilizando una columna C18 de fase

inversa (99% de H₂O/1% de CH₃CN). ¹H RMN (CDCl₃, ppm): 2.20. (s, 2H), 3.05 (s 2H), 3.14 7 (s, 9H), 3.34 (m, 2H), 4.28 (s, 2H), 7.60 (d, 2H), 7.70 (d, 2H), 8.1 (d, 2H), 8.65 (d, 2H).

Ejemplo 5

Síntesis de (C₅H₄NCH₂NCH₂COOH)(CH₂(CH₂)₁₀COOH)

- 5 Este compuesto se prepara utilizando el mismo protocolo sintético como en la síntesis de (C₅H₄NCH₂NCH₂COOH){(CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₃}. Véase Ejemplo 4. ¹H RMN (CDCl₃, ppm): 1.25 (m, 10H), 1.45 (s, 2H), 1.60 (s, 2H), 1.75 (m, 2H), 2.3 (m, 2H), 2.55 (m, 2H), 3.63 (s, 3H), 3.80 (s, 2H), 7.05 (dd, 2H), 7.55 (d, 2H), 7.65 (dd, 2H), 8.53 (d, 2H).

Ejemplo 6

Síntesis de (C₅H₄NCH₂)₂N(CH₂COOCH₂CH₃)

- 10 Este compuesto se prepara utilizando el mismo protocolo sintético como en la síntesis de (C₅H₄NCH₂NCH₂COOH){(CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₃}. Véase Ejemplo 4. Sin embargo, se utiliza DPMA en lugar de PAMA. ¹H RMN (CDCl₃, ppm): 1.25 (t, 3H), 3.45 (s, 2H), 3.95 (s, 4H), 4.15 (q, 2H), 7.1 (m, 2H), 7.55 (m, 4H), 8.53 (s, 2H).

Ejemplo 7

Ácido (Bis(2-piridilmetil)amino)acético

- 15 Clorhidrato de 2-clorometilpiridina (9.2 g, 8.53 mol) y glicina (2 g, 26.6 mmol) se disuelven en agua (30 mL) y se agitan a temperatura ambiente durante cinco días, con adición de 5 mol de solución de NaOH acuosa a intervalos para mantener el pH a 8-10. La solución roja oscura resultante se extrae con acetato de etilo, se neutraliza con HCl y se concentra. El residuo se disuelve en diclorometano, y el cloruro de sodio insoluble se filtra. Cristales amarillo pálido se forman a partir del filtrado, que se recolectan y se secan bajo vacío. Rendimiento (2.87 g) (11.2 mmol, 42%). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): 3.39 (s, 2H), 3.98 (s, 4H), 7.06 (t, 2H), 7.30 (d, 2H), 7.56 (t, 2H), 8.36 (d, 2H). ¹³C RMN (CD₃OD, 300 MHz): 57.36 (C, CH₂), 59.77 (2C, PyCH₂), 124.77 (2CH, Py), 125.15 (2CH, Py), 139.00 (C, CH₂), 149.76 (2CH, Py), 156.10 (2C, Py) 173.05 (C, CO₂H).
- 20

Ejemplo 8

Ácido (Bis(2-piridilmetil)amino)propiónico

- 25 Este compuesto se sintetiza mediante un procedimiento similar como se describió anteriormente, excepto que se utiliza ácido 3-aminopropiónico en lugar de glicina. El producto se recolecta como cristales rojo pálido a partir de diclorometano. Rendimiento (2.74 g, 10.1 mmol, 45%). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): 2.64 (t, 2H), 3.03 (t, 2H), 3.95 (s, 4H), 7.21 (t, 2H), 7.38 (d, 2H), 8.55 (t, 2H), 8.66 (d, 2H). ¹³C RMN (CD₃OD, 300 MHz): 33.15 (C, CH₂), 51.90 (C, NCH₂), 60.22 (2C, PyCH₂), 124.37 (2CH, Py), 125.29 (2CH, Py), 138.98 (2C, Py), 149.72 (2CH, Py), 158.50 (2C, Py), 176.79 (C, CO₂H).
- 30

Ejemplo 9

Etil-(bis(2-piridilmetil)amino)acetato

- 35 Ácido (bis(2-piridilmetil)amino) acético (1 g, 3.89 mmol) se toma en HCl etanólico saturado (20 mL) y se somete a reflujo durante 3 h. La mezcla de reacción se detiene con trietilamina y se concentra. El residuo se disuelve en diclorometano, se lava con agua, se seca (Na₂SO₄) y se concentra. El residuo se purifica sobre cromatografía de columna en gel de sílice utilizando metanol:cloroformo (3:97) para dar etil-(bis(2- piridilmetil)amino)acetato como líquido viscoso. Rendimiento (0.910 g, 3.19 mmol, 82%). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): 1.22 (t, 2H), 3.42 (s, 2H), 3.97 (s, 4H), 4.12 (q, 2H), 7.12 (t, 2H), 7.53 (d, 2H), 7.62 (t, 2H), 8.49 (d, 2H). ¹³C RMN (CD₃OD, 300 MHz): 13.99 (C, CH₃), 54.67 (C, CH₂), 59.70 (2C, PyCH₂), 60.21 (2C, OCH₂), 121.88 (2CH, Py), 122.93 (2CH, Py), 136.32 (2CH, Py), 148.80 (2CH, Py), 158.80 (2C, Py), 171.05 (C, CO₂H).
- 40

Ejemplo 10

Etil-(bis(2-piridilmetil)amino)propionato

- 45 Este compuesto se sintetiza mediante un procedimiento similar como se describió anteriormente, excepto que e utiliza ácido (bis(2-piridilmetil)amino)propiónico en lugar de ácido (bis(2- piridilmetil)amino) acético. El producto se recolecta como un líquido viscoso. Rendimiento (1.37 g, 4.59 mmol, 83%). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz): 1.09 (t, 3H),

2.45 (t, 2H), 2.84 (t, 2H), 3.74 (s, 4H), 3.98 (q, 2H), 7.03 (t, 2H), 7.39 (d, 2H), 7.51 (t, 2H), 8.48 (d, 2H). ^{13}C RMN (CD_3OD , 300 MHz): 13.70 (C, CH_3), 32.22 (C, CH_2), 49.39 (C, NCH_2), 59.45 (2C, PyCH_2), 59.55 (C, OCH_2), 121.47 (2CH, Py), 122.42 (2CH, Py), 135.82 (2CH, Py), 148.40 (2CH, Py), 158.91 (2C, Py), 171.74 (C, CO_2H).

Ejemplo 11

5 Síntesis de N- α -(tert-Butoxicarbonil)-N- ω -bis(2-piridilmetil)-L-lisina (L1c-Boc)

Clorhidrato de 2-clorometilpiridina (1.4g, 8.53 mmol) y N- α -(tert-butoxicarbonil)-L-lisina (1 g, 4.06 mmol) se disuelven en agua y se agita a temperatura ambiente durante cinco días, con adición de 5 mol dm^{-3} de solución de NaOH acuosa a intervalos para mantener el pH a 8-10. La solución roja oscura resultante se extrae con acetato de etilo, y luego la fase acuosa se acidifica a pH 3-4 por 1 mol dm^{-3} de HCl y se extrae con Cloroformo y se concentra. Este residuo se purifica mediante cromatografía de columna utilizando 10% de cloroformo en metanol para dar N- α -(tert-butoxicarbonil)-N- ω -bis(2-piridilmetil)-L-lisina (950 mg, 55%). ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz): 1.41 (s, 9H), 1.26-1.62 (m, 6H), 2.58 (t, 2H), 3.84 (s, 4H), 4.24 (t, H), 7.15 (m, 2H), 7.48 (d, 2H), 7.65 (m, 2H), 8.53 (d, 2H). ^{13}C RMN (CD_3OD , 300 MHz): 24.31 (C, CH_2), 26.66 (C, CH_2), 28.93 (3C, t-Bu), 33.15 (C, CH_2), 55.50 (C, NCH_2), 60.12 (2C, PyCH_2), 80.06 (C, NCH), 124.34 (2C, Py), 125.11 (2CH, Py), 138.93 (2CH, Py), 149.72 (2CH, Py), 157.71 (2C, Py), 177.49 (C, CO_2H).

Ejemplo 12

Síntesis de N- α -(2-piridilmetil)-N- ω -(tert-butoxicarbonil)-L-lisina (L2d-Boc)

Clorhidrato de 2-clorometilpiridina (730 mg, 4.46 mmol) y N- α -(tert-butoxicarbonil)-L-lisina (1 g, 4.06 mmol) se disuelven en agua y se agita a temperatura ambiente durante dos días, con adición de 5 mol dm^{-3} de solución de NaOH acuosa a intervalos para mantener el pH a 8-10. La solución roja oscura resultante se extrae con acetato de etilo, y luego la fase acuosa se acidifica a pH 6 por 1 mol dm^{-3} de HCl y seguida por tratamiento con cloroformo el producto requerido se precipita, el cual se filtra y se seca bajo vacío (670 mg, 49%).

Ejemplo 13

25 Marcado de análogos de DPMA con Tc-99m utilizando métodos de marcado con base en los núcleos Tc(V)-oxo y Tc(I)(CO) $_3\text{L}_3$

Núcleo Tc(V)-oxo

Se logra la preparación de los derivados de DPMA marcados con Tc-99m al agregar 10 mCi de TcO_4 a una solución salina al 0.9% del derivado de DPMA (200 mg/3 mL). La mezcla se calienta a 80°C durante 30 min. Dependiendo del ligando biológico, la solución se utiliza según se necesite o la mezcla se extrae con acetato de etilo (porciones de 3,1 mL), se seca sobre sulfato de sodio, y se seca bajo N_2 . El residuo luego se vuelve a disolver en etanol (400 μL) y se verifica la pureza a través de HPLC mediante una columna Vydac C18 (5 mm, 25 cm) utilizando metanol para eluir los productos de reacción.

Núcleo Tc(I)(CO) $_3$ +

La química del Tc(I) carbonilo permite la posibilidad de una ruta alternativa para formar complejos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DPMA estables. Para explorar este método de marcado comenzamos al colocar Na_2CO_3 (0.004 g, 0.038 mmol), NaBH_4 (0.005 g, 0.13 mmol), y 2 mg del derivado de DPMA en un frasco. A continuación, el frasco se cierra herméticamente y se purga con CO durante 10 min. Al frasco se agrega 1 mL de $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ en solución salina. Finalmente la solución se calienta a 100°C durante 30 minutos. Después de enfriar, luego la reacción se verifica para pureza a través de HPLC mediante una columna Vydac C18 (5 mm, 25 cm) utilizando metanol para eluir los productos de reacción.

Alternativamente, se puede llevar a cabo una síntesis de 'dos etapas', donde se agrega el derivado de DPMA después de la formación de $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH})_2(\text{CO})_3]^+$. Después de enfriar, 0.3 mL de solución de PBS 1 M se agrega (pH 7.4), dando como resultado la formación estable de $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH})_2(\text{CO})_3]^+$. Luego esta especie de Tc(I) tricarbonilo se calienta a 75°C durante 30 minutos con el derivado de DPMA para formar el complejo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DPMA. Luego la reacción se verifica a través para pureza a través de HPLC mediante una columna Vydac C18 (5 mm, 25 cm) utilizando metanol para eluir los productos de reacción. La versatilidad de la reacción permite la reacción de una variedad de ligandos derivados de DPMA biológicos sensibles que se mantienen bajo condiciones idealizadas.

Ejemplo 14

Síntesis de $\text{ReCl} \{(\text{C}_5\text{H}_4\text{NCH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3)\}$

A una solución de $[\text{ReOCl}_3(\text{PPh}_3)_2]$ (0.0822 g, 0.0986 mmol) en 1 mL de cloroformo se agrega en forma de gotas una solución de exceso de acetato de etilo dipiridinametilamina en 1 mL de cloroformo. La solución permanece de color verde oliva hasta la adición de trietilamina (0.08 mL, 0.574 mmol) después de lo cual se cambia inmediatamente de verde oliva a verde bosque con precipitación del producto. La solución se agita durante unos 30 minutos adicionales y luego se evapora hasta secado. Los cristales de calidad de rayos X se hacen crecer mediante difusión lenta de pentano en una solución del compuesto en cloruro de metileno. ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): 1.25 (t, 3H), 3.45 (s, 2H), 3.95 (s, 4H), 4.15 (q, 2H), 7.1 (m, 2H), 7.55 (m, 4H), 8.53 (s, 2H).

Ejemplo 15

Síntesis de $\text{ReCO}_2\{(\text{C}_5\text{H}_4\text{NCH}_2)_2\text{N}_2\text{H}_2\text{Br}\}$

El uso de $[\text{NEt}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$, como el material de partida lleva a fácil formación del núcleo $\text{Re}(\text{CO})_3(\text{L})_3$. El $[\text{NEt}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ se deriva fácilmente del $[\text{ReBr}(\text{CO})_5]$. La síntesis de los complejos de $\text{Re}(\text{I})$ se logra al hacer reaccionar $[\text{NEt}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ con la piridina-2-metilamina adecuada en la relación de 1:2 en 10 mL de H_2O . La reacción se deja calentar a 80°C durante 3 horas. Después de enfriar los productos de reacción se purifican utilizando una columna de sílice pequeña utilizando 95% cloruro de metileno 5% de metanol. Los cristales de calidad de rayos X se hacen crecer mediante difusión lenta de pentano en una solución del compuesto en cloruro de metileno.

Ejemplo 16

Síntesis de $[\text{Re}(\text{CO})_3\{(2\text{-C}_5\text{H}_4\text{NCH}_2)_2\text{N-CH}_3\}]$

La síntesis de los complejos de $\text{Re}(\text{I})$ se logra al hacer reaccionar $[\text{NEt}_4]_2[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ con la piridina-2-metilamina adecuada en la relación de 1:2 en 10 mL de H_2O . La mezcla de reacción se calienta a 80°C durante 3 horas. Después de enfriar, los productos de reacción se purifican utilizando una columna de sílice pequeña que utiliza cloruro de metileno (95%)/metanol (5%) como eluyente. ESMS $m/z = 484$ (observado).

Ejemplo 17

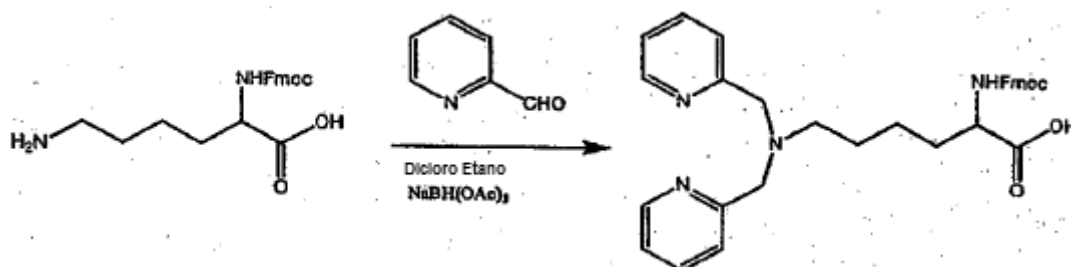
Síntesis de $[\{N,N\text{-di}(\text{piridil-2-metil})\}N\text{-butil-ftalimida}]$ y marcado Tc-99m del mismo

La dipiridinametilamina (0.5 g, 2.51 mmol) y N-(4-bromobutil)-ftalimida (0.85 g, 3.02 mmol) se mezclan en un tubo de presión de 100 mL en 2 mL de DMF. Se agrega carbonato de potasio (0.05 g) a la solución. La mezcla se calienta a 120°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se aspira hasta residuo. El residuo se purifica a través de una almohadilla de gel de sílice utilizando metanol-cloruro de metileno para proporcionar el producto en 41 % de rendimiento. ^1H RMN(CDCl_3): 1.57 (m), 2.54 (m), 2.85 (s), 2.93 (s), 3.58 (m), 3.76 (s), 7.09 (m), 7.52 (d), 7.61 (m), 7.68 (m), 7.80 (m), 7.99 (d), 8.44 (d).

$^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$ se calienta con $[\{N,N\text{-di}(\text{piridil-2-metil})\}N\text{-butil-ftalimida}]$ en 0.5 mL (1 mg/mL) de metanol a 100°C durante 60 minutos. La pureza, analizada a través de C18 HPLC, mostró >99% de RCY. El producto se eluye con metanol a 20.8 minutos. Se realiza el análisis HPLC utilizando una columna Supelco C18, columna de 25 cm x 4.6 mm (5 μm tamaño de poro), equipada con 2 cm de guarda utilizando un solvente A= regulador de fosfato de trietilamonio 0.05 M de pH 2.5 y el solvente B = metanol. El método empleado fue un gradiente de 5-95% de B, 1 mL/minuto durante 30 minutos. El gradiente en rampa 5-95 de 3-20 minutos. En experimentos de exposición el producto purificado por HPLC no demuestra ninguna degradación, ya sea en cisteína 10 mM o histidina en PBS pH 7.2 a 37°C durante 20 horas.

Ejemplo 18

Síntesis de complejos de Re y Tc Tricarbonilo de $[\epsilon\text{-}\{N,N\text{-di}(\text{piridil-2-metil})\}\alpha\text{-(fmoc)lisina}]$ (Fmoc-DpK) $[\epsilon\text{-}\{N,N\text{-di}(\text{piridil-2-metil})\}\alpha\text{-(fmoc)lisina}]$ (Fmoc-DpK)



La fmoc-lisina, 2-piridinacarboxaldehído y triacetoxiborohidruro de sodio se mezclan en 1,2-dicloroetano. La suspensión se agita a temperatura ambiente bajo una atmósfera de argón durante 1 hora. La mezcla de reacción se divide en partes entre cloroformo y agua. El residuo se purifica a través de una almohadilla de gel de sílice utilizando metanol-cloroformo para proporcionar el producto en 85% de rendimiento. La desprotección de Fmoc emplea agitar 4-dimetilaminopiridina en DMF/metanol a 25°C durante 12 horas. Se realiza confirmación estructural por ^1H y ^{13}C RMN. ^1H RMN (δ (ppm), CDCl_3): 10.85 (bs, 1H, CO_2H), 8.50 (d, $J = 5.10$ Hz, 2H, PyH), 7.70 (d, $J = 7.24$ Hz, 2H, F1H), 7.55 (m, 4H, PyH, F1H), 7.46 (d, $J = 7.24$, 2H, F1H), 7.32 (t, $J = 7.72$, 2H, Py), 7.22 (t, $J = 7.52$, 2H, Py), 7.09 (t, $J = 6.20$, 2H, F1H), 6.0 (d, $J = 9.31$, 1H, NH), 4.29 (m, 3H, OCH_2 , NCHCO_2), 4.17 (t, $J = 6.20$, 1H, CH), 3.86 (s, 4H, PyCH_2), 2.57 (t, 2H, NCH_2), 1.90-1.20 (m, 6H, CH_2). ^{13}C RMN (δ (ppm), CDCl_3): 175.96 (C, CO_2H), 157.74 (2C, Py), 156.15 (C, CONH), 148.29 (2CH, Py), 144.12 (2C, FI), 141.27 (2C, FI), 137.38 (2CH, Py), 127.68 (2CH, Py), 127.08 (2CH, Py), 125.26 (2CH, FI), 123.92 (2CH, FI), 122.64 (2CH, FI), 119.96 (2CH, FI), 66.81 (1C, OCH_2), 59.03 (2C, PyCH_2), 54.48 (C, NCHCO_2), 53.87 (C, NCH_2), 47.24 (C, FI), 32.54 (C, CH_2), 26.04 (C, CH_2), 22.86 (C, CH_2).

$[\text{Re}(\text{CO})_3\{\eta^3\text{-}\epsilon\text{-}[(\text{N,N-di}(\text{piridil-2-metil}))\alpha(\text{fmoc})\text{lisina}]][\text{Br}]$

A una solución agitada de $[\text{NEt}_4][\text{Re}(\text{CO})_3\text{Br}_3]$ (1.12 g, 1.45 mmol) en metanol (20 mL) se agrega $[\epsilon\text{-}[(\text{N,N-di}(\text{piridil-2-metil}))\alpha(\text{fmoc})\text{lisina}]]$ (0.8 g, 1.45 mmol) en 2 mL de metanol, después de lo cual la solución se somete a reflujo durante 5 horas y se concentra. El residuo se disuelve en cloroformo, se lava con agua, se seca (NaSO_4) y se evapora hasta secado para dar un producto incoloro (1.04 g, 80%). ^1H RMN (δ (ppm), $\text{MeOH-}d_4$): 8.88 (d, $J = 5.29$, 2H), 8.02-7.37 (m, 14H), 5.05 (d, $J = 17.64$ Hz, 2H, PyCH_2), 4.82 (d, $J = 17.64$ Hz, 2H, PyCH_2), 4.44-4.35 (m, 4H), 3.88 (m, 2H), 2.20-1.50 (m, 6H, CH_2). ^{13}C RMN (δ (ppm), $\text{MeOH-}d_4$): 197.47, 196.44 (fac-Re-CO₃), 175.42 (C, CO_2H), 161.82 (2C, Py), 158.30 (C, CONH), 152.87 (2CH, Py), 145.13 (2C, F1H), 142.29 (2C, F1H), 141.48 (2CH, Py), 129.07 (2CH, Py), 128.46 (2CH, Py), 126.94 (2CH, F1H), 126.58 (2CH, F1H), 124.83 (2CH, F1H), 121.23 (2CH, F1H), 71.66 (NCH_2), 68.72 (2C, PyCH_2), 67.70 (C, OCH_2), 55.27 (NCHCO_2), 32.15 (C, CH_2), 25.71 (2C, CH_2), 24.39 (C, CH_2).

Marcado Tc-99m

$^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3^+$ se calienta con $[\epsilon\text{-}[(\text{N,N-di}(\text{2-piridil-metil}))\alpha(\text{Fmoc})\text{lisina}]]$ (DpK) en 0.5 mL (1 mg/mL) de metanol a 100°C durante 30 minutos. La pureza, analizada a través de C18 HPLC, mostró >99% de RCY. En experimentos de exposición el producto purificado por HPLC no demostró ninguna degradación en cualquiera cisteína 100 mM o histidina en PBS pH 7.2 a 37°C durante 18 horas. Los rendimientos de marcado de >50% de RCY, eran alcanzables en niveles tan bajos como 2 $\mu\text{g/mL}$.

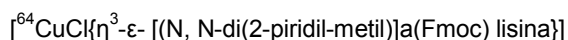
Tabla. Resultados de etiquetado de Complejos de Tc99m-DpK.

Cantidades de ligandos (μg)	% de Fmoc-DpK marcado	% de DpK marcado
500	100	100
100	100	47
10	93.9	32
1	52	16
0.1	7	5

Síntesis de Complejos de Cobre de Fmoc-DpK



A una solución de CuCl_2 en 10 mL de metanol se agrega un exceso de lisina dipiridina protegida Fmoc (Fmoc-DpK). La solución se calienta a 150 °C durante 3 horas en un tubo de presión sellado de 100 mL. Al finalizar la solución se enfría y se aspira hasta residuo. El residuo se disuelve en cloruro de metileno y en capas con éter. Después de 12 horas se forma un aceite de color verde-azul oscuro. El aceite se envía para ES/MS resultando en masas observadas de 648 a 650, que corresponden al complejo $[\text{CuCl}(\text{DpK})]$. El producto oleoso se limpia utilizando una sep pak C18 Waters utilizando 10% de etanol/ H_2O para la carga. El producto purificado pesaba 60 mg para un rendimiento del 81%. Se realiza ^1H RMN (CDCl_3 , 300 mhz, ppm): 1.23(m), 3.71(d), 3.83 (m), 4.19 (m), 4.35 (s), 7.13(m), 7.26 (m), 7.35 (m), 7.46 (m), 7.51 (m), 7.61 (m), 7.72 (m), 8.51 (s). Se realiza análisis mediante HPLC en una columna Vydac C18, 25 cm x 4.6 mm columna (5 μm tamaño de poro), equipada con 2 cm de protección utilizando solvente A = H_2O + 0.1% de TFA B = CH_3CN + 0.1% de TFA. El método empleado es un gradiente de 15-80% de B, 1 mL/minuto durante 30 minutos. El gradiente en rampa de 15-80 de 3-22 minutos. El producto se eluye como dos picos (mezcla racémica de ligando DpK) en 19.3 y 19.6 minutos.



$^{64}\text{CuCl}_2$ se calienta con lisina dipiridina protegida Fmoc (Fmoc-DpK) en 0.5 mL (100 $\mu\text{g/mL}$) de metanol a 70°C durante 20 minutos. La pureza, analizada a través de C18 HPLC, mostró >85%. De RCY. El producto se eluye a 19.8 minutos.

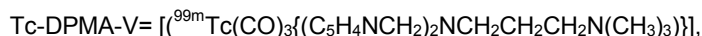
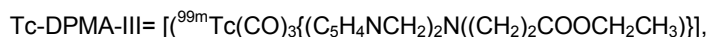
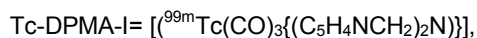
Ejemplo 20

Estudios en Animales

Resumen de biodistribución para Tc-DPMAs

Complejo Tc *	Relación 5'HT/BL	Relación 60' HT/BL	5' % de ID/g HT	60' % de ID/g HT
Tc-DPMA-I	1.82 $\pm$ 0.44	4.70 $\pm$ 0.18	0.46 $\pm$ 0.08	0.37 $\pm$ 0.01
Tc-DPMA-III	0.50 $\pm$ 0.03	0.88 $\pm$ 0.04	0.21 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.01
Tc-DPMA-V	0.34 $\pm$ 0.03	6.49 $\pm$ 2.86	0.34 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.01

Complejos Tc *:



Biodistribución de Tc-99m-DpK

La biodistribución de Tc-99m-DpK se investigó en ratas macho (Sprague Dawley, n = 5/punto de tiempo, ~180 gms). El compuesto se inyectó a través de la vena de la cola en solución salina (10 $\mu\text{Ci}/100 \mu\text{l}$). Los animales se sacrificaron a los 5, 30, 60 y 120 minutos p.i. Los resultados se muestran en la Tabla.

Tabla. Resultados de biodistribución seleccionados del Complejo Tc99m-DpK, expresados como % promedio de ID/g $\pm$ (EEM).

Órgano	5 Min $\pm$ (EEM)	30 Min. $\pm$ (EEM)	60 Min. $\pm$ (EEM)	120 Min. $\pm$ (EEM)
Sangre	0.579 $\pm$ 0.051	0.069 $\pm$ 0.009	0.025 $\pm$ 0.005	0.013 $\pm$ 0.001

Corazón	0.243 ± 0.020	0.034 ± ¿?????	0.014 ± 0.001	0.008 ± 0.001
Pulmón	0.504 ± 0.023	0.076 ± 0.013	0.033 ± 0.002	0.021 ± 0.003
Hígado	3.359 ± 0.442	2.748 ± 0.113	2.590 ± 0.077	2.119 ± 0.062
Riñón	6.053 ± 1.027	4.948 ± 0.106	4.931 ± 0.430	3.888 ± 0.419
GI	0.491 ±	0.886 ±	1.462 ±	2.725 ±
	0.081	0.065	0.085	0.565

Ejemplo 21

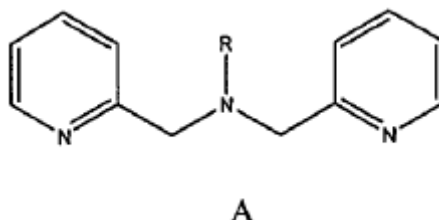
El Tc-99m (DPMA) (1) y Tc-99m (éster etílico de DPMA) (6) se investigaron como posibles agentes de formación de imágenes de corazón por su cuenta en un grupo de ratas. Los animales vertebrados en este proyecto de investigación se utilizaron para investigar la biodistribución y farmacocinética de nuevos complejos de tecnecio-DPMA y determinar la absorción en el corazón. Se utilizaron ratas (Sprague Dawley, macho, a 80-100 gramos cada una) para los estudios de biodistribución enteros cuerpo. Los compuestos se evaluaron en dos momentos, es decir, 5 y 60 minutos, con cuatro animales por punto de tiempo. El uso de este número de animales proporciona estadísticas precisas en las mediciones de índice de depuración, y representa variación intraespecífica. Los resultados preliminares se tabulan adelante.

Resultados de biodistribución seleccionadas de los estudios en ratas que examinan la absorción de miocardio

Complejo Tc	Relación HT/BL a 5 min.	Relación HT/BL a 60 min.	% de corazón DPG a 5 min.	% de corazón DPG a 60 min.
Tc-DPMA (1)	1.82	4.700	0.462	0.367
Tc-DPMA etil ester (6)	0.499	0.881	0.208	0.111

Reivindicaciones

1. Un complejo que comprende un radionúclido y un compuesto representado por A:



en donde

5 R representa H, alquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, aminoalquilo, tioalquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, acilo, aminoacilo, hidroxiacilo, tioacilo, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-(\text{CH}_2)_d\text{R}_{80}$, o un radical de aminoácido;

en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio;

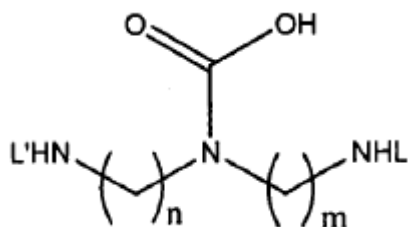
10 R_{80} representa independientemente para cada ocurrencia carboxaldehído, carboxilato, carboxamido, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, amonio, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, cicloalqueno, heterociclilo, policiclilo, aminoácido, péptido, sacárido, ácido ribonucleico, ácido (desoxi) ribonucleico, o ligando para un receptor acoplado a proteína G; y

d es un entero en el rango 0 a 12 inclusive.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R es $-(\text{CH}_2)_d\text{R}_{80}-$.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R es un radical de aminoácido.

4. Un complejo que comprende un radionúclido y un compuesto representado por C:



15

en donde

L y L' representan independientemente para cada ocurrencia 2-metilenopiridilo, metilenocarboxilato, alquilo, arilo, o aralquilo, en donde por lo menos uno de L o L' es metilenocarboxilato o 2-metilenopiridilo, y en donde el 2-metilenopiridilo puede no ser sustituido en el anillo o sustituido con 1 a 4 casos de R';

20 R' se selecciona independientemente para cada ocurrencia del grupo que consiste de halógeno, alquilo, alqueno, alquino, hidroxilo, alcoxilo, acilo, aciloxi, acilamino, sililoxi, amino, nitro, sulfhidrilo, alquiltio, imino, amido, fosforilo, fosfonato, fosfina, carbonilo, carboxilo, carboxamida, anhídrido, sililo, tioalquilo, alquilosulfonilo, arilosulfonilo, selenoalquilo, cetona, aldehído, éster, heteroalquilo, ciano, guanidina, amidina, acetal, cetel, óxido de amina, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, azido, aziridina, carbamoilo, epóxido, ácido hidroxámico, imida, oxima, sulfonamida, tioamida, tiocarbamato, urea, tiourea, y $-(\text{CH}_2)_d\text{R}_{80}$;

25

en donde dicho radionúclido es tecnecio o renio;

R_{80} representa independientemente para cada ocurrencia carboxaldehído, carboxilato, carboxamido, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, amonio, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, cicloalqueno, heterociclilo, policiclilo, aminoácido, péptido, sacárido, ácido ribonucleico, ácido (desoxi)ribonucleico, o ligando para un receptor acoplado a proteína G,

30 d es un entero en el rango de 0 a 12 inclusive;

m es un entero en el rango de 0 a 6 inclusive; y

n es un entero en el rango de 0 a 6 inclusive.

5. El compuesto de la reivindicación 4, en donde L es metilenocarboxilato; y L' es alquilo o en donde L es 2-metilenopiridilo; y L' es alquilo; o en donde L es alquilo; y L' es 2-metileno piridilo.

5 6. Una formulación, que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para uso en un método para formar imágenes de una región en un paciente, que comprende las etapas de administrar a un paciente una cantidad diagnósticamente efectiva del compuesto; y obtener una imagen de dicha región de dicho paciente.

10 8. El compuesto de la reivindicación 7, en donde dicha región de dicho paciente es la cabeza o el tórax.

9. Un método para preparar un conjugado de péptido que incorpora un compuesto de la reivindicación 4, en donde el conjugado de péptido se prepara utilizando técnicas sintéticas de fase sólida.