

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 196**

51 Int. Cl.:

**C07D 233/91** (2006.01)

**A61K 51/04** (2006.01)

**C07D 405/06** (2006.01)

**C07B 59/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.09.2012** **E 12833263 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016** **EP 2759538**

54 Título: **Compuesto marcado con flúor radiactivo**

30 Prioridad:

**22.09.2011 JP 2011207926**

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

**09.05.2016**

73 Titular/es:

**IHON MEDI-PHYSICS CO., LTD. (50.0%)**  
**3-4-10 Shinsuna Koto-ku**  
**Tokyo 136-0075, JP y**  
**NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION**  
**HOKKAIDO UNIVERSITY (50.0%)**

72 Inventor/es:

**NAKATA, NORIHITO;**  
**OKUMURA, YUKI;**  
**KIRIU, MASATO;**  
**NAGATA, ERIKO;**  
**MATSUMOTO, HIROKI;**  
**KUGE, YUJI;**  
**ZHAO, SONGJI y**  
**NISHIJIMA, KEN-ICHI**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 569 196 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

Compuesto marcado con flúor radiactivo

## 5 ÁMBITO TÉCNICO

La presente invención se refiere a un compuesto marcado con flúor radiactivo.

## 10 ESTADO TÉCNICO CORRESPONDIENTE

Un estado hipóxico proporciona información importante respecto a la fisiología, a la patología y al tejido proliferativo en el caso de un tumor. Como en el interior de un tumor sólido la formación de vasos sanguíneos y capilares es insuficiente, el tumor está en una situación de carencia de nutrientes y de oxígeno, y subsiste en un estado hipóxico hasta que muere. Debido a la baja concentración de oxígeno, que tiene una radiosensibilidad excelente, las células tumorales en estado hipóxico grave se vuelven resistentes a la radioterapia. Se ha referido que en la quimioterapia también es difícil administrar un fármaco, debido a la isquemia causada por una estructura de vasos sanguíneos que funciona correctamente pero es incompleta, y entonces el pronóstico es malo (documentos no de patente 1 a 5).

Para estudiar esta resistencia de los tumores y desarrollar y evaluar nuevos métodos terapéuticos es importante disponer de un método que permita identificar in vivo una región hipóxica formada a partir de células en estado hipóxico y evaluar el nivel de hipoxia. Como procedimiento para identificar una región hipóxica se conoce, por ejemplo, un método basado en el uso de un electrodo de oxígeno (documentos no de patente 3, 6 y 7).

Por otra parte, como compuesto indicador representativo de una región hipóxica existe el misonidazol, que posee un esqueleto de 2-nitroimidazol y ha sido estudiado durante largo tiempo. Este compuesto sufre una nitrorreducción en condiciones hipóxicas y se acumula dentro de una célula como una especie química electrófila que forma un aducto con macromoléculas celulares tales como ADN o proteínas (documentos no de patente 8 y 9).

Hasta la fecha se ha desarrollado un gran número de indicadores de regiones hipóxicas, utilizando las propiedades del esqueleto de 2-nitroimidazol. Por ejemplo, el pimonidazol (1-(2-hidroxi-3-piperidinopropil)-2-nitroimidazol), que es un derivado débilmente básico del 2-nitroimidazol, se utiliza para la medición de una región hipóxica en un ensayo inmunohistoquímico basado en un anticuerpo (documentos de patente 1, 2; documentos no de patente 10 y 11). Además suele suministrarse actualmente como un kit experimental de detección de hipoxia tisular (documento no de patente 12).

Como pruebas conocidas para detectar una región hipóxica in vivo, los compuestos con esqueleto de 2-nitroimidazol se han marcado con varios núclidos radiactivos y se han sometido, por ejemplo, a una tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT) (documentos no de patente 13 a 16) o a una tomografía por emisión de positrones (TEP) mediante el empleo de  $[F^{18}]$ fluoromisonidazol ( $[F^{18}]$ FMISO), que es un derivado de misonidazol marcado con flúor radiactivo (documento no de patente 17).

Como compuestos con esqueleto de 2-nitroimidazol marcados con flúor radiactivo también se conocen el  $[F^{18}]$ fluoroetanidazol ( $[F^{18}]$ FETA) (documento no de patente 18), el  $[F^{18}]$ fluoroeritronitroimidazol ( $[F^{18}]$ FETNIM) (documento de patente 3; documento no de patente 19), la 2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)-N-(3- $[F^{18}]$ fluoropropil)-acetamida ( $[F^{18}]$ EF1) (documento de patente 4; documento no de patente 20), la 2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)-N-(2,2,3,3- $[F^{18}]$ pentafluoropropil)-acetamida ( $[F^{18}]$ EF5) (documento de patente 5; documento no de patente 21), el  $[F^{18}]$ fluoroazomicinarabinofuranósido ( $[F^{18}]$ FAZA) (documento no de patente 22, documento no de patente 23), el 4-bromo-1-(3- $[F^{18}]$ fluoropropil)-2-nitroimidazol (4-Br- $[F^{18}]$ FPN) documento no de patente 24), etc.

La patente WO 95/09844 revela compuestos de nitroimidazol que tienen un grupo  $F^{18}$ , tales como el  $F^{18}$ -fluoromisonidazol y compuestos análogos que tienen 2 grupos CHOH en la cadena lateral, en particular el  $[F^{18}]$ fluoroeritronitroimidazol ( $[F^{18}]$ FETNIM). Las patentes JP H06 211805 y JP H06 298739 revelan compuestos de pentaeritrita nitroimidazol que son capaces de reoxigenar células hipóxicas.

## 55 DOCUMENTOS RELACIONADOS

## DOCUMENTOS DE PATENTE

[Documento de patente 1] Pat US nº. 5674693  
[Documento de patente 2] Pat US nº. 5086068  
[Documento de patente 3] Pat US nº. 5728843  
[Documento de patente 4] Pat US nº. 6252087  
[Documento de patente 5] Pat US nº. 7230115

## 65 DOCUMENTOS NO DE PATENTE

- [Documento no de patente 1] Thomlinson RH y Gray LH, "The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy" [*Estructura histológica de algunos cánceres de pulmón humanos y las posibles consecuencias para la radioterapia*], Br J Cancer. 9 diciembre (4): 539-49, 1955
- 5 [Documento no de patente 2] Kennedy KA y otros, "The hypoxic tumor cell: a target for selective cancer chemotherapy" [*La célula tumoral hipóxica: una diana para la quimioterapia selectiva del cáncer*], Biochem Pharmacol. 1 enero; 29 (1): 1-8, 1980
- [Documento no de patente 3] Brizel DM y otros, "Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of carcinoma of the head and neck" [*La hipoxia tumoral perjudica el pronóstico del carcinoma de cabeza y cuello*], Int J Radiat Oncol Biol Phys 1 mayo; 38: 285-289, 1997
- 10 [Documento no de patente 4] Hockel M y otros, "Intratumoral pO<sub>2</sub> predicts survival in advanced cancer of the uterine cervix" [*La pO<sub>2</sub> intratumoral pronostica la supervivencia en el cáncer avanzado de cérvix uterino*], Radiother Oncol 26 (1): 45-50, 1993
- [Documento no de patente 5] Nordsmark M, Overgaard M, Overgaard J "Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck" [*El pretratamiento de oxigenación predice la respuesta a la radiación en el carcinoma avanzado de células escamosas de cabeza y cuello*] Radiother Oncol 41: 31-39, 1996
- 15 [Documento no de patente 6] Brizel DM y otros, "Tumor oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma" [*La oxigenación tumoral predice la probabilidad de metástasis distantes en el sarcoma humano de tejidos blandos*], Cancer Res. 1 marzo; 56 (5): 941-3, 1996
- 20 [Documento no de patente 7] Suzuki Y y otros, "Oxygenated and reoxygenated tumors show better local control in radiation therapy for cervical cancer" [*Los tumores oxigenados y reoxigenados muestran un mejor control local en la terapia de radiación para el cáncer cervical*], Int J Gynecol Cancer, enero-febrero; 16 (1): 306-11, 2006
- [Documento no de patente 8] Varghese AJ y otros, "Hypoxia-dependent reduction of 1-(2-nitro-1-imidazolyl)-3-methoxy-2-propanol by Chinese hamster ovary cells and KHT tumor cells in vitro and in vivo" [*Reducción de 1-(2-nitro-1-imidazolil)-3-metoxi-2-propanol dependiente de hipoxia por células de ovario de hámster chino y células tumorales KHT in vitro e in vivo*], Cancer Res. 36: 3761-3765, 1976
- 25 [Documento no de patente 9] Pettersen EO, "Toxic and Radiosensitizing Effect of the 2-Nitroimidazole Misonidazole (Ro-07-0582) on Murine CFU in vivo" [*Efecto tóxico y radiosensibilizador del 2-nitroimidazol misonidazol (Ro-07-0582) en UFC murinas in vivo*], Br. J. Cancer, 37, Suppl. III, 107-110, 1978 [Documento no de patente 10] Durand RE y Raleigh JA "Identification of nonproliferating but viable hypoxic tumor cells in vivo" [*Identificación in vivo de células tumorales hipóxicas no proliferantes pero viables*], Cancer Res 58: 3547-3550, 1998
- 30 [Documento no de patente 11] Nordsmark M y otros, "Measurements of hypoxia using pimonidazole and polarographic oxygen-sensitive electrodes in human cervix carcinomas" [*Mediciones de hipoxia con el uso de pimonidazol y electrodos polarográficos sensibles al oxígeno en carcinomas humanos de cérvix*], Radiotherapy and Oncology; 67 (1), p. 35-44, 2003
- 35 [Documento no de patente 12] Hypoxyprobe<sup>®</sup> [en línea], Cosmo Bio Co., Ltd., 2011 [recuperado el 28 de junio de 2011], internet <URL: [http://www.cosmobio.co.jp/product/signal/cat41/cat93/00220001.asp?ent ry\\_id=1465](http://www.cosmobio.co.jp/product/signal/cat41/cat93/00220001.asp?ent ry_id=1465)>
- [Documento no de patente 13] Urtasun RC y otros, "Measurement of hypoxia in human tumours by non-invasive spect imaging of iodoazomycin arabinoside" [*Medición de hipoxia en tumores humanos por escaneo SPECT no invasivo de yodoazomicina arabinósido*], Br J Cancer Suppl. Julio; 27: S209-S212, 1996
- 40 [Documento no de patente 14] Iyer RV y otros, "A dual hypoxic marker technique for measuring oxygenation change within individual tumors" [*Técnica dual de marcadores hipóxicos para medir el cambio de oxidación en tumores individuales*], Br J Cancer. Julio; 78 (2): 163-169, 1998
- [Documento no de patente 15] Ballinger JR y otros, "In Vitro and In Vivo Evaluation of a Technetium-99m-Labeled 2-Nitroimidazole (BMS181321) as a Marker of Tumor Hypoxia" [*Evaluación in vitro e in vivo de un 2-nitroimidazol marcado con tecnecio-99m (BMS181321) como indicador de hipoxia tumoral*], J Nucl Med, 37: 1023-1031, 1996
- 45 [Documento no de patente 16] Strauss HW y otros, "Nitroimidazoles for imaging hypoxic myocardium" [*Nitroimidazoles para el escaneo del miocardio hipóxico*], J Nucl Cardiol., 2: 437-445, 1995
- [Documento no de patente 17] Rasey JS y otros, "Radiolabelled fluoromisonidazole as an imaging agent for tumor hypoxia" [*Fluoromisonidazol radiomarcado como agente de escaneo de la hipoxia tumoral*], Int J Radiat Oncol Biol Phys, noviembre; 17 (5): 985-991, 1989
- 50 [Documento no de patente 18] Rasey JS y otros, "Characterization of [18F]Fluoroetanidazole, a New Radiopharmaceutical for Detecting Tumor Hypoxia" [*Caracterización del [F<sup>18</sup>]fluoroetanidazol, un nuevo producto radiofarmacéutico para detectar la hipoxia tumoral*] J. Nucl. Med. 40: 1072-1079, 1999
- 55 [Documento no de patente 19] Yang DJ y otros, "Development of F-18-labeled fluoroerythronitroimidazole as a PET agent for imaging tumor hypoxia" [*Desarrollo de fluoroeritronitroimidazol marcado con F<sup>18</sup> como agente de TEP para el escaneo de la hipoxia tumoral*] Radiology 194: 795-800, 1995
- [Documento no de patente 20] Evans y otros, "Noninvasive Detection of Tumor Hypoxia Using the 2-Nitro-imidazole [18F]EF1" [*Detección no invasiva de la hipoxia tumoral mediante el uso del 2-nitroimidazol [F<sup>18</sup>]EF1*], J. Nucl. Med. 41: 327-336, 2000
- 60 [Documento no de patente 21] Ziemer L y otros, "Noninvasive imaging of tumor hypoxia in rats using the 2-nitroimidazole 18F-EF5" [*Escaneo no invasivo de la hipoxia tumoral en ratas mediante el uso del 2-nitroimidazol F<sup>18</sup>-EF5*], Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 30: 259-266, 2003
- [Documento no de patente 22] Sorger D y otros, "[18F]fluoroazomycinarabinofuranoside (18FAZA) and [18F]fluoromisonidazole (18FMISO): a comparative study of their selective uptake in hypoxic cells and PET imaging in experimental rat tumors" [*[F<sup>18</sup>]fluoroazomicinarabinofuranósido (F<sup>18</sup>FAZA) y [F<sup>18</sup>]fluoromisonidazol ([F<sup>18</sup>]FMISO):*
- 65

estudio comparativo de su absorción selectiva en células hipóxicas y escaneo TEP en tumores de rata experimentales], Nucl. Med. Biol. 30: 317-326, 2003

[Documento no de patente 23] Piert M, y otros, "Hypoxia-specific tumor imaging with  $^{18}\text{F}$ -fluoroazomycin arabinoside" [Escaneo específico de tumores hipóxicos con  $^{18}\text{F}$ -fluoroazomicinarabinofuranósido], J Nucl Med, enero; 46 (1): 106-13, 2005

[Documento no de patente 24] Yamamoto F y otros, "Synthesis and Evaluation of 4-Bromo-1-(3- $^{18}\text{F}$ fluoro-propyl)-2-nitroimidazole with a Low Energy LUMO Orbital Designed as Brain Hypoxia-Targeting Imaging Agent" [Síntesis y evaluación de 4-bromo-1-(3- $^{18}\text{F}$ fluoro-propil)-2-nitroimidazol con un orbital LUMO de baja energía designado como agente de escaneo dirigido a la hipoxia cerebral], Biol. Pharm. Bull. 25: 616-621

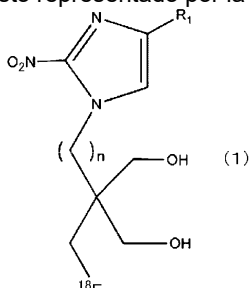
## SUMARIO

El alcance de la presente invención está definido por las reivindicaciones. El contenido no cubierto por ellas no forma parte de dicha invención. Sin embargo, de acuerdo con los conocimientos de los presentes inventores, queda claro que no hay una correlación suficiente entre la intensidad de acumulación de  $^{18}\text{F}$ FMISO in vivo y el gradiente de concentración de una región hipóxica detectada por pimonidazol. Por ello los presentes inventores consideran que aún hay margen para mejorar la precisión de la evaluación cuantitativa in vivo de una región hipóxica mediante TEP, empleando un compuesto marcado con flúor radiactivo.

El documento no de patente 18 revela un ejemplo en el cual la concentración de oxígeno y la acumulación de  $^{18}\text{F}$ -FETA se examinaron utilizando varios tipos de células tumorales, pero no se evaluó in vivo una correlación entre la acumulación de marcador y la concentración de oxígeno. Los documentos de patente 3 a 5 y los documentos no de patente 19 a 24 tampoco revelan una técnica centrada en una correlación entre la acumulación de marcador y la concentración de oxígeno en una región hipóxica.

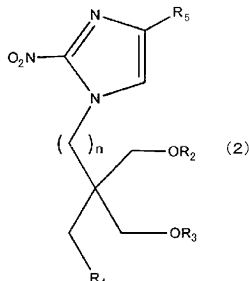
La presente invención se ha llevado a cabo teniendo en cuenta las circunstancias anteriores y un objeto de la misma consiste en proporcionar un compuesto marcado con flúor radiactivo que permita evaluar cuantitativamente in vivo una región hipóxica con buena precisión.

La presente invención proporciona un compuesto representado por la siguiente fórmula (1) o una sal del mismo.



En la fórmula (1)  $R_1$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o un grupo hidroximetilo y n es el número entero 1 o 2.

Además la presente invención proporciona un compuesto representado por la siguiente fórmula (2) o una sal del mismo.



En la fórmula (2)  $R_2$  y  $R_3$  representan el mismo o distintos grupos protectores de hidroxilo, o bien  $R_2$  y  $R_3$  juntos representan un grupo protector del diol,  $R_4$  representa un halógeno no radiactivo, un grupo trialquilamonio de 3 a 12 átomos de carbono, un grupo alquilsulfonilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo haloalquilsulfonilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo arilsulfonilo sustituido o no sustituido o un grupo dialquilsulfonio de 2 a 8 átomos de carbono,  $R_5$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o  $-\text{CH}_2\text{OR}_6$ ,  $R_6$  representa un grupo protector de hidroxilo y n es el número entero 1 o 2.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica radiactiva que contiene un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal del mismo.

Además la presente invención proporciona un método para producir un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal del mismo, a partir de un compuesto representado por la fórmula (2) o una sal del mismo.

La presente invención también proporciona un aparato para producir un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal del mismo, a partir de un compuesto representado por la fórmula (2) o una sal del mismo.

Según la presente invención se puede proporcionar un compuesto marcado con flúor radiactivo que permita evaluar cuantitativamente in vivo una región hipóxica con buena precisión.

#### DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS

El objetivo anteriormente citado, otros objetivos, características y ventajas resultan evidentes viendo las formas de ejecución preferidas descritas a continuación y sus figuras adjuntas.

FIG. 1: es un esquema de síntesis del 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano.

FIG. 2: es un esquema de síntesis del 1-(2,2-dihidroxi-3-fluoropropil)-2-nitroimidazol.

FIG. 3: es un esquema de síntesis del 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-2-nitroimidazol.

FIG. 4: es un esquema de síntesis del 2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano.

FIG. 5: es un esquema de síntesis del 1-(2,2-dihidroxi-3-fluoropropil)-4-hidroxi-2-nitroimidazol.

FIG. 6: es un esquema de síntesis del 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-4-hidroxi-2-nitroimidazol.

[FIG. 7]: diagrama que muestra un esquema de síntesis del 2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano.

FIG. 8: es un esquema de síntesis del 1-(3,3-dihidroxi-4-fluorobutil)-2-nitroimidazol.

FIG. 9: es un esquema de síntesis del 1-(3,3-dihidroxi-4-[F<sup>18</sup>]fluorobutil)-2-nitroimidazol.

FIG. 10: es una imagen tomográfica coronal de 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-2-nitroimidazol en un ratón modelo portador de tumor.

FIG. 11: es una imagen tomográfica axial de 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-2-nitroimidazol en un ratón modelo portador de tumor.

FIG. 12(a): es una imagen tomográfica coronal de un ratón modelo portador de tumor al cual se administró 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-4-hidroxi-2-nitroimidazol. FIG. 12(b): es una imagen tomográfica coronal de un ratón modelo portador de tumor al cual se administró 1-(3,3-dihidroxi-4-[F<sup>18</sup>]fluorobutil)-2-nitroimidazol. FIG. 12(c): es una imagen tomográfica coronal de un ratón modelo portador de tumor al cual se administró [F<sup>18</sup>]FMISO.

FIG. 13(a): es una imagen tomográfica axial de un ratón modelo portador de tumor al cual se administró 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-4-hidroxi-2-nitroimidazol. FIG. 13(b): es una imagen tomográfica axial de un ratón modelo portador de tumor al cual se administró 1-(3,3-dihidroxi-4-[F<sup>18</sup>]fluorobutil)-2-nitroimidazol. FIG. 13(c): es una imagen tomográfica axial de un ratón modelo portador de tumor al cual se administró [F<sup>18</sup>]FMISO.

FIG. 14(a): es una imagen de tinción inmunohistoquímica. FIG. 14(b): es una autorradiografía de acumulación de 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-2-nitroimidazol en un tumor.

FIG. 15(a): es un diagrama que muestra una imagen de tinción inmunohistoquímica. FIG. 15 (b): es una autorradiografía de acumulación de 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-4-hidroxi-2-nitroimidazol en un tumor.

FIG. 16(a): es un diagrama que muestra una imagen de tinción inmunohistoquímica. FIG. 16(b): es una autorradiografía de acumulación de 1-(3,3-dihidroxi-4-[F<sup>18</sup>]fluorobutil)-2-nitroimidazol en un tumor.

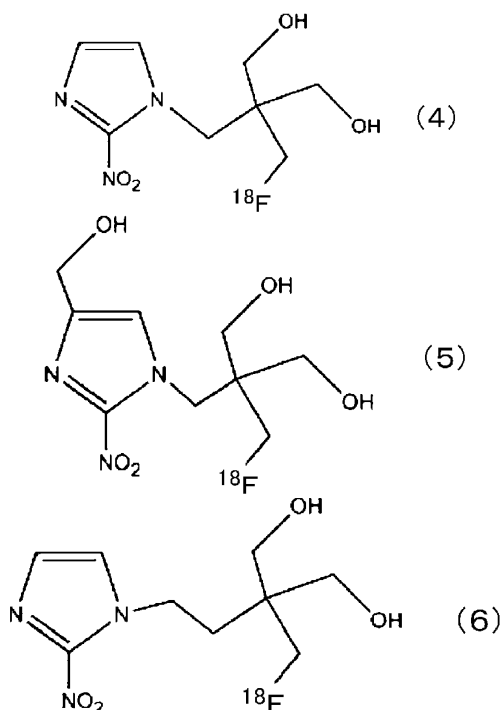
FIG. 17(a): es una imagen de tinción inmunohistoquímica. FIG. 17(b) es una autorradiografía de acumulación de [F<sup>18</sup>]FMISO en un tumor.

FIG. 18: es un gráfico que muestra la correlación entre el área de una región hipóxica y la señal de intensidad en una autorradiografía de acumulación de 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-2-nitroimidazol, 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-4-hidroxi-2-nitroimidazol, 1-(3,3-dihidroxi-4-[F<sup>18</sup>]fluorobutil)-2-nitroimidazol y [F<sup>18</sup>]FMISO en un tumor.

#### DESCRIPCIÓN DE LAS FORMAS DE EJECUCIÓN

A continuación se explican los modos de llevar a cabo la presente invención.

El compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo, tal como se ha descrito arriba, es un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal del mismo, y conforme a formas de ejecución particularmente preferidas puede ser por ejemplo 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-2-nitroimidazol, que está representado por la siguiente fórmula (4), 1-(2,2-dihidroxi-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-4-hidroxi-2-nitroimidazol, que está representado por la siguiente fórmula (5), o 1-(3,3-dihidroxi-4-[F<sup>18</sup>]fluorobutil)-2-nitroimidazol, que está representado por la siguiente fórmula (6).



- 5 En cuanto al compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo, hay un caso en que un compuesto representado por la fórmula (1) forma una sal, la cual puede incluirse en la presente invención siempre que sea una sal farmacéuticamente aceptable. Como ejemplos concretos de esta sal cabe mencionar una sal inorgánica con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, etc. y una sal con un ácido orgánico tal como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido metano-
- 10 sulfónico, ácido etanosulfónico, ácido *p*-toluensulfónico, ácido aspártico o ácido glutámico.

El compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo se puede producir utilizando un compuesto representado por la fórmula (2) o una sal del mismo como precursor del compuesto marcado. En esta exposición el

15 "precursor del compuesto marcado" es un compuesto que sirve de material de partida para la etapa de introducción del flúor 18, que es un isótopo radiactivo.

En la fórmula (2)  $R_2$  y  $R_3$  representan el mismo o distintos grupos protectores de hidroxilo, o bien  $R_2$  y  $R_3$  juntos representan un grupo protector del diol. Como grupos protectores de hidroxilo y de diol se pueden usar los descritos en Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, p. 17-245 (Wiley-Interscience; 4ª edición).

20

Cuando  $R_2$  y  $R_3$  representan independientemente el mismo o distintos grupos protectores de hidroxilo,  $R_2$  y  $R_3$  se pueden elegir preferiblemente del grupo formado por un grupo tritilo, un grupo monometoxitritilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo trimetoxitritilo, un grupo metoximetilo, un grupo 1-etoxietilo, un grupo metoxietoximetilo, un grupo bencilo, un grupo *p*-metoxibencilo, un grupo 2-tetrahidropiranilo, un grupo trimetilsililo, un grupo trietilsililo, un grupo *t*-butildimetilsililo, un grupo *t*-butildifenilsililo, un grupo acetilo, un grupo propanoilo, un grupo pivaloilo, un grupo palmitoilo, un grupo dimetilaminometilcarbonilo, un grupo alanilo, un grupo 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, un grupo benzoilo y un grupo aliloxicarbonilo.

25

Asimismo, cuando en la fórmula (2)  $R_2$  y  $R_3$  representan conjuntamente un grupo protector de diol,  $R_2$  y  $R_3$  juntos representan por ejemplo un grupo metileno [ $-\text{CH}_2-$ ], un grupo 1-metiletan-1,1-diilo [ $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ ], un grupo etan-1,1-diilo [ $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ ] o un grupo 1-fenilmetan-1,1-diilo [ $-\text{CHPh}$ ] y como resultado pueden formar un anillo de 1,3-dioxano. Entre ellos  $R_2$  y  $R_3$  son con particular preferencia un grupo acetónido.

30

En la fórmula (2)  $R_4$  no está particularmente limitado, siempre que se trate de un grupo funcional susceptible de sufrir una reacción de sustitución nucleófila y es un átomo de halógeno no radiactivo, un grupo trialquilamonio de 3 a 12 átomos de carbono, un grupo alquilsulfonilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo haloalquilsulfonilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo arilsulfonilo sustituido o no sustituido o un grupo dialquilsulfonio de 2 a 8 átomos de carbono.

35

Como ejemplos de átomo de halógeno no radiactivo cabe citar un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo y un átomo de yodo. Se prefiere un átomo de bromo o un átomo de yodo.

40

El grupo trialquilamonio de 3 a 12 átomos de carbono se representa por  $-N^+(R_{11})(R_{12})(R_{13})X_a^-$ .  $R_{11}$ ,  $R_{12}$  y  $R_{13}$  se eligen independientemente entre sí del grupo formado por radicales alquilo sustituidos o no sustituidos que pueden ser de cadena lineal o ramificada y son preferiblemente radicales alquilo no sustituidos de cadena lineal. Entre ellos se prefiere trimetilamonio o trietilamonio.  $X_a^-$  puede ser un anión de ácido orgánico como  $CF_3S(O)_2O^-$ ,  $C_4F_9S(O)_2O^-$  o un anión de ácido trifluoroacético ( $CF_3-C(O)O^-$ ) o un anión de ácido inorgánico tal como un anión yoduro, un anión bromuro, un anión cloruro, un anión perclorato ( $ClO_4^-$ ) o un anión fosfato.

Como ejemplos de grupos alquilsulfonilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono cabe citar un grupo metansulfonilo y un grupo etansulfonilo.

Como ejemplos de grupos haloalquilsulfonilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono cabe citar un grupo trifluorometansulfonilo.

Como ejemplos de grupos arilsulfonilo cabe citar los de 6 a 10 átomos de carbono, tales como un grupo bencenosulfonilo o un grupo naftalensulfonilo. Los ejemplos de un grupo con el cual estos grupos arilsulfonilo pueden estar sustituidos incluyen un grupo alquilo opcionalmente sustituido tal como un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo *n*-propilo, un grupo isopropilo, un grupo *n*-butilo, un grupo isobutilo, un grupo sec-butilo, un grupo *terc*-butilo o un grupo *n*-pentilo; un átomo de halógeno tal como un átomo de flúor, un átomo de cloro o un átomo de bromo; un grupo alcoxi tal como un grupo metoxi o un grupo etoxi; un grupo alquilcarbonilo tal como un grupo acetilo o un grupo propionilo; y un grupo nitro. Como ejemplos concretos de un grupo arilsulfonilo sustituido con uno de estos grupos cabe citar un grupo *p*-toluensulfonilo y un grupo 2-nitrobencenosulfonilo.

El grupo dialquilsulfonio de 2 a 8 átomos de carbono está representado por  $-S^+(R_{14})(R_{15})X_b^-$ .  $R_{14}$  y  $R_{15}$  se eligen independientemente entre sí del grupo formado por grupos alquilo sustituidos o no sustituidos que pueden ser de cadena lineal o ramificada y son preferiblemente radicales alquilo no sustituidos de cadena lineal. Entre ellos se prefiere dimetilsulfonio o dietilsulfonio.  $X_b^-$  puede ser un anión de ácido orgánico como  $CF_3S(O)_2O^-$ ,  $C_4F_9S(O)_2O^-$  o un anión de ácido trifluoroacético ( $CF_3-C(O)O^-$ ) o un anión de ácido inorgánico tal como un anión yoduro, un anión bromuro, un anión cloruro, un anión de ácido perclórico ( $ClO_4^-$ ) o un anión fosfato.

En la fórmula (2)  $R_4$  es preferiblemente un átomo de bromo o un átomo de yodo no radiactivos, un grupo *p*-toluensulfonilo, un grupo trifluorometilsulfonilo, un grupo metansulfonilo o un grupo 2-nitrobencenosulfonilo. Entre ellos se prefiere especialmente un átomo de bromo o un átomo de yodo no radiactivo o un grupo *p*-toluensulfonilo.

En la fórmula (2)  $R_5$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o  $-CH_2OR_6$ .  $R_6$  no está particularmente limitado, siempre que sea un grupo protector de un grupo hidroxilo; para ello se pueden emplear los descritos en Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, p. 17-245 (Wiley-Interscience; 4ª edición). Preferiblemente puede emplearse un grupo tritilo, un grupo monometoxitritilo, un grupo dimetoxitritilo, un grupo trimetoxitritilo, un grupo metoximetilo, un grupo 1-etoxietilo, un grupo metoxietoximetilo, un grupo bencilo, un grupo *p*-metoxibencilo, un grupo 2-tetrahidropirano, un grupo trimetilsililo, un grupo trietilsililo, un grupo *t*-butildimetilsililo, un grupo *t*-butildifenilsililo, un grupo acetilo, un grupo propanoilo, un grupo pivaloilo, un grupo palmitoilo, un grupo dimetilaminometilcarbonilo, un grupo alanilo, un grupo 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, un grupo benzoilo y un grupo aliloxicarbonilo.

Cuando  $R_2$  y  $R_3$  representan independientemente el mismo o distintos grupos protectores de hidroxilo,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_6$  pueden ser el mismo grupo protector de hidroxilo o grupos protectores de hidroxilo distintos entre sí.

A continuación se explica un método de síntesis de un precursor del compuesto de la presente invención, marcado con flúor radiactivo, tomando como ejemplo el 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano.

El esquema de síntesis del 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano está representado en la FIG. 1. Para sintetizar el 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano primero se introduce un grupo protector de dos grupos hidroxilo del 2-bromometil-2-hidroximetil-1,3-propanodiol. En este caso, como grupo protector se puede emplear uno que no sea reactivo en condiciones neutras o básicas, pero que sea fácil de eliminar por desprotección en condiciones ácidas. En una forma de ejecución preferida se hace reaccionar 2-bromometil-2-hidroximetil-1,3-propanodiol y acetona con un ácido como catalizador, a fin de preparar 5-bromometil-2,2-dimetil-5-hidroximetil-1,3-dioxano, en el cual el grupo protector se introduce en el diol (FIG. 1, etapa 1). En este caso, como catalizador ácido se pueden usar varios ácidos que no sean reactivos con dichos compuestos empleados como material de partida. Normalmente puede usarse un ácido tal como el ácido 10-canforsulfónico, el ácido sulfúrico o el ácido *p*-toluensulfónico, preferiblemente el ácido 10-canforsulfónico. Esta etapa se puede realizar, por ejemplo, mediante un método de Piganiol, P y otros (Bulletin de la Société Chimique de France, 1959, p. 1860-1863).

A continuación se introduce un grupo protector en el grupo hidroxilo del 5-bromometil-2,2-dimetil-5-hidroximetil-1,3-dioxano obtenido (FIG. 1, etapa 2) y luego se introduce 2-nitroimidazol mediante una reacción de sustitución del átomo de bromo del grupo bromometilo (FIG. 1, etapa 3).

En este caso, como grupo protector de hidroxilo se pueden usar varios tipos de los que normalmente se emplean para proteger un grupo hidroxilo, pero hay que usar uno que no requiera condiciones ácidas para la desprotección. En una forma de ejecución preferida se puede usar un grupo *t*-butildimetilsililo como grupo protector. La introducción de un grupo *t*-butildimetilsililo se puede efectuar, por ejemplo, mediante un método de E. J. Corey y otros (Journal of American Chemical Society, 1972, 94, p. 6190).

Asimismo, la introducción de 2-nitroimidazol en el grupo bromometilo se puede efectuar, por ejemplo, mediante un método de Hay, Michael P y otros (Journal of Medicinal Chemistry, 1995, 38 (11), p. 1928-41).

A continuación el 5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano obtenido se hace reaccionar con fluoruro de tetra-*n*-butilamonio en un disolvente orgánico, por ejemplo mediante un método de E. J. Corey y otros (Journal of American Chemical Society, 1972, 94, p. 6190), y se purifica para dar 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 1, etapa 4).

El 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano obtenido se hace reaccionar con cloruro de *p*-toluensulfonilo, por ejemplo mediante un método de L. F. Fieser y otros (Reagents for Organic Synthesis, vol.1, Wiley, Nueva York, p. 1179 (1967)) y se purifica para dar el deseado 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano (FIG. 1, etapa 5).

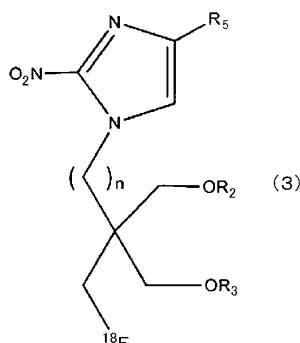
Además, al sintetizar 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano cada uno de los grupos protectores se puede introducir en los respectivos grupos hidroxilo del diol, o bien se puede introducir un solo grupo protector para los dos grupos hidroxilo.

Cuando se obtiene un compuesto en el cual el grupo hidroximetilo en la posición 5 del anillo de dioxano del 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano está sustituido con un sustituyente distinto de un grupo *p*-toluensulfonilo, es decir, un compuesto representado por la fórmula (2) en que R<sub>4</sub> es un sustituyente distinto de un grupo *p*-toluensulfonilo, en la etapa 5 de la FIG. 1 se pueden usar para cualquier fin varios reactivos en lugar del cloruro de *p*-toluensulfonilo, en un disolvente apropiado. Por ejemplo, para obtener un compuesto representado por la fórmula (2) en el cual R<sub>4</sub> sea un grupo trifluorometilsulfonilo se puede usar cloruro de metilsulfonilo.

El precursor del compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo se puede sintetizar combinando reacciones conocidas con el empleo de materiales de partida generalmente asequibles, sin limitarse a los ejemplos anteriores. Por ejemplo, un compuesto representado por la fórmula (2) en el cual R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son oxígenos unidos a un grupo 1-metiletan-1,1-diilo, R<sub>4</sub> es un grupo *p*-toluensulfonilo, R<sub>6</sub> es un grupo metoximetoxi-metilo y n es 1 se puede sintetizar de acuerdo con las etapas de la FIG. 1 arriba descritas, añadiendo una reacción de sustitución del átomo de hidrógeno en la posición 4 del esqueleto de imidazol por un grupo hidroximetilo tras la etapa 3 de la FIG. 1.

Además el precursor del compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo puede incluir un caso en que el compuesto representado por la fórmula (2) forme una sal. Los ejemplos concretos de dicha sal incluyen una sal inorgánica formada con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico o ácido fosfórico y una sal orgánica formada con ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido *p*-toluensulfónico, ácido aspártico o ácido glutámico.

Como método para sintetizar un compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo mediante el uso del precursor obtenido se puede mencionar, por ejemplo, un método de síntesis de un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal del mismo, que consiste en hacer reaccionar ion fluoruro[F<sup>18</sup>], obtenido por un método conocido, en presencia de una base, para sintetizar un compuesto representado por la fórmula (3) o una sal del mismo a partir de un compuesto representado por la fórmula (2) o una sal del mismo, y eliminar luego los grupos protectores de hidroxilo independientes entre sí o el grupo protector del diol en R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> de la fórmula (3).





En la fórmula (3)  $R_2$  y  $R_3$  representan el mismo o distintos grupos protectores de hidroxilo, o bien  $R_2$  y  $R_3$  juntos representan un grupo protector de diol,  $R_5$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o  $-\text{CH}_2\text{OR}_6$ ,  $R_6$  representa un grupo protector de hidroxilo y  $n$  es el número entero 1 o 2.

5 El compuesto de la fórmula (3) se obtiene preferiblemente efectuando la reacción a una temperatura de 20°C hasta 120°C con el uso de una solución acuosa de ion fluoruro [ $\text{F}^{18}$ ] producida con ion fluoruro [ $\text{F}^{18}$ ] a partir de agua [ $\text{O}^{18}$ ] mediante un ciclotrón y una base tal como tetrabutilamonio o carbonato potásico/Kryptofix 222, en un disolvente apropiado de tipo aprótico tal como acetonitrilo, N,N-dimetilformamida o dimetilsulfóxido.

10 Los grupos protectores de hidroxilo o el grupo protector de diol representados por  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_6$  se pueden eliminar mediante un método conocido.

Las etapas de producción para obtener el compuesto de la presente invención, marcado con flúor radiactivo, a partir de un compuesto representado por la fórmula (2) o una sal del mismo se pueden efectuar utilizando, por ejemplo, un aparato provisto de un recipiente de reacción y una pantalla protectora. Además el aparato de síntesis puede ser un equipo sintetizador automático con todas sus etapas automatizadas.

15 En la presente invención también se puede preparar una composición farmacéutica radiactiva a partir del compuesto producido marcado con flúor radiactivo. En la presente descripción, la "composición farmacéutica radiactiva" puede definirse como una formulación preparada que contiene un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal del mismo en una forma adecuada para la administración a un cuerpo vivo. Esta composición farmacéutica radiactiva se administra preferentemente por vía parenteral, es decir mediante inyección, y con mayor preferencia es una solución acuosa. Esta composición puede contener un componente adicional apropiado, tal como un agente regulador del pH o un agente solubilizante, estabilizante o antioxidante farmacéuticamente aceptable.

20 Se puede obtener una imagen de una región hipóxica introduciendo el compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo en un organismo y detectando la radiactividad mediante un detector de radiación, un escaneo tomográfico de emisión de positrones, una autorradiografía, etc.

25 Es posible detectar una región hipóxica in vivo de manera no invasiva, administrando el compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo a un cuerpo vivo y detectando la radiactividad con un aparato TEP de uso general. Además, como el compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo tiene una estructura representada por la fórmula (1) es eliminado rápidamente por lavado del tejido normal, pero tiene afinidad por una región hipóxica in vivo. Por lo tanto se puede obtener un agente diagnóstico de regiones hipóxicas con excelente capacidad para captar imágenes de una región hipóxica in vivo.

30 Además, como el compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo se absorbe poco en un órgano que no sea un tumor, por ejemplo el hígado debido a la liposolubilidad de un compuesto, la relación de tumor a tejido normal es alta. Por consiguiente el compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo se puede usar preferiblemente para obtener imágenes de una región hipóxica de un tumor y también sirve como agente diagnóstico de tumores.

## EJEMPLOS

45 La presente invención se explica seguidamente con mayor detalle haciendo referencia a los ejemplos, pero no debe considerarse limitada al contenido de los mismos. En los ejemplos siguientes, los nombres de los compuestos preparados en los experimentos son los definidos en la tabla 1.

Nombre del compuesto	Nombre común
Compuesto 1	1-(2,2-Dihidroximetil-3-[ $\text{F}^{18}$ ]fluoropropil)-2-nitroimidazol
Compuesto 2	1-(2,2-Dihidroximetil-3-[ $\text{F}^{18}$ ]fluoropropil)-4-hidroximetil-2-nitroimidazol
Compuesto 3	1-(3,3-Dihidroximetil-4-[ $\text{F}^{18}$ ]fluorobutil)-2-nitroimidazol

En los ejemplos, el análisis y la purificación de cada compuesto se llevaron a cabo como sigue.

50 1. Determinación de la estructura molecular del compuesto no radiactivo por espectroscopia de RMN

En los ejemplos la estructura de un compuesto no radiactivo se identificó por espectroscopia de RMN. Los espectros de RMN se obtuvieron con un espectrómetro JNM-ECP-500 (fabricado por JEOL). La frecuencia de resonancia fue de 500 MHz para RMN- $\text{H}^1$  y de 470 MHz para RMN- $\text{F}^{19}$ . Para la RMN- $\text{H}^1$  se usó como referencia una señal residual del disolvente en un disolvente deuterado (DMSO- $d_6$   $\delta$ 2,5;  $\text{CD}_3\text{OD}$   $\delta$ 3,3;  $\text{CDCl}_3$   $\delta$ 7,26). Todos los desplazamientos químicos están expresados en ppm en la escala delta ( $\delta$ ) y la división fina de una señal se expresa con abreviaturas (s: singulete, d: doblete, t: triplete, dt: doble triplete, m: multiplete, brs: singulete ancho).

60 2. Identificación y purificación de los compuestos 1 al 3 por cromatografía HPLC

Columna: CAPCELL PAK (marca comercial, Shiseido, tamaño: 10 mmø x 250 mm). Detector: absorciómetro de UV-visible (longitud de onda de detección: 280 nm)

3. Medición de la pureza radioquímica de los compuestos 1 al 3 por análisis de CCF

Placa de CCF: Silica Gel 60 F254 (nombre de producto; fabricado por Merck). Fase de desarrollo: acetato de etilo

Detector: Rita Star (nombre de producto; fabricado por Raytest)

Ejemplo 1: producción de 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano

El 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano es precursor del compuesto marcado 1. La FIG. 1 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

Síntesis de 5-bromometil-2,2-dimetil-5-hidroximetil-1,3-dioxano (FIG. 1, etapa 1)

Se disolvieron 423 mg (2,13 miliequivalentes) de 2-bromometil-2-hidroximetil-1,3-propanodiol en 1,0 ml de acetona, se le añadieron 247 mg (1,07 miliequivalentes) de ácido 10-canforsulfónico y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 2 días. Una vez completada la reacción se agregó trietilamina, se eliminó el disolvente por destilación y luego el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 3/1) para obtener 409 mg (1,71 miliequivalentes) de 5-bromometil-2,2-dimetil-5-hidroximetil-1,3-dioxano.

RMN-<sup>1</sup>H (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-bromometil-2,2-dimetil-5-hidroximetil-1,3-dioxano: δ 3,79-3,74 (m, 4H), 3,71 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 3,56 (s, 2H), 1,59 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 1,41 (s, 3H), 1,41 (s, 3H).

Síntesis de 5-bromometil-5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano (FIG. 1, etapa 2)

Se disolvieron 409 mg (1,71 miliequivalentes) de 5-bromometil-2,2-dimetil-5-hidroximetil-1,3-dioxano en 5 ml de dimetilformamida, se le añadieron 233 mg (3,42 miliequivalentes) de imidazol y 309 mg (2,05 miliequivalentes) de *t*-butildimetilclorosilano y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 18 horas. Una vez completada la reacción se añadió una solución acuosa saturada de cloruro amónico y agua, y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío, y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 20/1) para obtener 578 mg (1,64 miliequivalentes) de 5-bromometil-5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano.

RMN-<sup>1</sup>H (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-bromometil-5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano: δ 3,78-3,70 (m, 4H), 3,59 (s, 2H), 3,54 (s, 2H), 1,40 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,06 (s, 6H).

Síntesis de 5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 1, etapa 3)

Se disolvieron 578 mg (1,64 miliequivalentes) de 5-bromometil-5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano en 10 ml de dimetilformamida, se le añadieron 186 mg (1,64 miliequivalentes) de 2-nitroimidazol y 680 mg (4,92 miliequivalentes) de carbonato potásico y la mezcla se calentó a 100°C durante 18 horas. Una vez completada la reacción, el líquido de la misma se enfrió hasta la temperatura ambiente (25°C), se le agregó una solución acuosa saturada de cloruro amónico y agua, y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío, y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 3/1) para dar 363 mg (0,942 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

RMN-<sup>1</sup>H (disolvente: dimetilsulfóxido deuterado) del 5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano: δ 7,21 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 4,74 (s, 2H), 3,74 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,56 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,48 (s, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 0,88 (s, 9H), 0,04 (s, 6H).

Síntesis de 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 1, etapa 4)

Se disolvieron 363 mg (0,942 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildimetilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano en 10 ml de tetrahidrofurano, se le añadieron 0,94 ml (solución 1,0 mol/l, 0,94 miliequivalentes) de una solución de fluoruro de tetrabutilamonio en tetrahidrofurano y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 10 minutos. Una vez completada la reacción se le agregó una solución acuosa saturada de cloruro amónico y agua, y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío, y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/

acetato de etilo (v/v) = 1/3) para dar 221 mg (0,815 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

- 5 RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,31 (d, J = 1,0 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 1,0 Hz, 1H), 4,82 (s, 2H), 3,78 (d, J = 12,6 Hz, 2H), 3,58 (d, J = 12,6 Hz, 2H), 3,48 (d, J = 4,7 Hz, 2H), 1,72 (t, J = 4,7 Hz, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,45 (s, 3H).

Síntesis de 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(p-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano (FIG. 1, etapa 5)

- 10 Se disolvieron 100 mg (0,369 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano en 4,0 ml de piridina y se enfrió a 0°C, luego se le añadieron 77,3 mg (0,406 miliequivalentes) de cloruro de p-toluensulfonilo y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 1 hora. Una vez completada la reacción se le agregó una solución acuosa saturada de cloruro amónico y agua, y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron por
- 15 sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío, y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 1/1) para obtener 115 mg (0,270 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(p-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano.

- 20 RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(p-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano:  $\delta$  7,76 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,38 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,20 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 4,72 (s, 2H), 3,93 (s, 2H), 3,71 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,60 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 2,47 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,34 (s, 3H).

Ejemplo 2: producción de 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-2-nitroimidazol

- 25 El 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-2-nitroimidazol es un compuesto (compuesto 1 no radiactivo) que tiene la misma estructura que la del compuesto 1, con la excepción de que el átomo de flúor del compuesto 1 está cambiado de flúor 18 a flúor 19. La FIG. 2 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

Síntesis de 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 2, etapa 1)

- 30 Se disolvieron 30 mg (0,0705 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(p-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano en 1,0 ml de acetonitrilo, se le añadieron 39,8 mg (0,106 miliequivalentes) de Kryptofix 222 (nombre comercial, Merck), 5,1 mg (0,088 miliequivalentes) de fluoruro potásico y 2,0 mg (0,014 miliequivalentes) de carbonato potásico, y la mezcla se agitó a reflujo calentando durante 3 horas. Una vez completada la reacción, el líquido de la misma se enfrió hasta la temperatura ambiente (25°C), luego se eliminó el disolvente por destilación y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 2/1) para obtener 9,2 mg (0,034 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

- 40 RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) de 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,23 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 4,80 (s, 2H), 4,36 (d, JH-F = 47,2 Hz, 2H), 3,83 (d, J = 12,6 Hz, 2H), 3,64 (d, J = 12,6 Hz, 2H), 1,45 (s, 3H), 1,44 (s, 3H).

- 45 La reacción de la etapa 1 representada en la FIG. 2 se repitió para sintetizar una cantidad de 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano suficiente para ser usada en la etapa siguiente.

Síntesis de 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-2-nitroimidazol (FIG. 2, etapa 2)

- 50 Se disolvieron 56,3 mg (0,206 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano en 2 ml de metanol, se le añadieron 2 ml de ácido clorhídrico de 1 mol/l y la mezcla se agitó a 80°C durante 2 horas. Una vez completada la reacción, el líquido de la misma se enfrió hasta la temperatura ambiente (25°C), luego se eliminó el disolvente por destilación y el producto crudo resultante se lavó con acetato de etilo para obtener 47,3 mg (0,203 miliequivalentes) de 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-2-nitroimidazol (FIG. 2, etapa 2).

- 55 RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-2-nitroimidazol:  $\delta$  7,33 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 4,76 (s, 2H), 4,41 (d, JH-F = 47,2 Hz, 2H), 3,69-3,68 (m, 4H).

Ejemplo 3: producción de 1-(2,2-dihidroximetil-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-2-nitroimidazol (compuesto 1)

La FIG. 3 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

- 60 Se pasó H<sub>2</sub>O<sup>18</sup> con contenido de ion fluoruro[F<sup>18</sup>] (cantidad de radiactividad 1393 MBq, valor corregido al iniciar la síntesis) a través de una columna de intercambio aniónico (Sep-Pak (nombre comercial registrado) Accell Plus QMA Plus Light (nombre comercial, fabricada por Nihon Waters K.K.) previamente tratada con una solución acuosa de carbonato potásico, para recoger ion fluoruro[F<sup>18</sup>] por adsorción. Luego se pasó por esta columna una solución acuosa de carbonato potásico (42,4  $\mu$ moles/l, 0,3 ml) y una solución de 14 mg (37,2  $\mu$ equivalentes) de Kryptofix 222 (nombre comercial, Merck) en 0,7 ml de acetonitrilo para eluir el ion fluoruro[F<sup>18</sup>].
- 65

Este producto eluido se calentó en una corriente de gas argón a 110°C para evaporar el agua, luego se añadió acetonitrilo (0,3 ml x 2) y la mezcla se sometió a destilación azeotrópica hasta sequedad. Se agregó una solución de 5 mg (11,4  $\mu$ equivalentes) de 2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(p-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano sintetizado en el ejemplo 1, disueltos en 0,3 ml de acetonitrilo, y la mezcla se calentó a 110°C durante 10 minutos. A continuación se añadieron 0,3 ml de ácido clorhídrico de 1 mol/l y la mezcla se calentó a 110°C durante 3 minutos. Una vez completada la reacción se agregó 1,0 ml de agua, la mezcla se sometió a HPLC (fase móvil: solución acuosa de ácido trifluoroacético al 0,1% (v/v)/acetonitrilo (con un contenido de 0,1% (v/v) de ácido trifluoroacético) (v/v) = 85/15, caudal: 4,0 ml/min) y se identificó usando el compuesto no radiactivo 1 obtenido en el ejemplo 2, de manera que el pico con un tiempo de retención de 10 minutos fue identificado como una fracción de compuesto 1 y se recogió.

A esta fracción se le añadieron 10 ml de agua y el líquido resultante se pasó a través de una columna Sep-Pak (marca comercial registrada) HLB Plas (nombre comercial, fabricada por Nihon Waters K.K.), y el compuesto 1 se recogió en la columna por absorción. Esta columna se lavó con 3 ml de agua y luego se pasaron 2 ml de etanol para eluir el compuesto 1. La cantidad de radiactividad obtenida fue de 388 MBq (69 minutos después del comienzo de la síntesis). Al efectuar el análisis por CCF se encontró una pureza radioquímica del 98%.

Ejemplo 4: producción de 2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(p-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano

El 2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(p-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano es un precursor del compuesto marcado 2. La FIG. 4 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

#### Síntesis de 5-bromometil-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 1)

Se disolvieron 1,1 g (4,6 miliequivalentes) de 5-bromometil-2,2-dimetil-5-hidroximetil-1,3-dioxano en 23 ml de dimetilformamida, se le añadieron 626 mg (9,2 miliequivalentes) de imidazol y 1,43 ml (5,5 miliequivalentes) de cloruro de *t*-butildifenilsilano y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 5 horas. Una vez completada la reacción se le agregó gota a gota una solución acuosa saturada de cloruro amónico y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 20/1) para obtener 1,70 g (3,56 miliequivalentes) de 5-bromometil-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-bromometil-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano:  $\delta$  7,67-7,65 (m, 4H), 7,44-7,38 (m, 6H), 3,81 (d,  $J$  = 11,9 Hz, 2H), 3,76 (d,  $J$  = 11,9 Hz, 2H), 3,67 (s, 2H), 3,65 (s, 2H), 1,41 (s, 3H), 1,36 (s, 3H), 1,06 (s, 9H).

#### Síntesis de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 2)

Se disolvieron 1,70 g (3,56 miliequivalentes) de 5-bromometil-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano en 36 ml de dimetilformamida, se le añadieron 402 mg (3,56 miliequivalentes) de 2-nitroimidazol y 1,48 g (10,7 miliequivalentes) de carbonato potásico, y la mezcla se calentó en un baño de aceite a 80°C y luego se agitó durante 18 horas. Una vez completada la reacción se le agregó agua gota a gota y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 3/1) para obtener 362 mg (0,71 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,61-7,56 (m, 4H), 7,40-7,35 (m, 6H), 7,00 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 4,73 (s, 2H), 3,69 (d,  $J$  = 12,4 Hz, 2H), 3,49 (d,  $J$  = 12,4 Hz, 2H), 3,49 (s, 2H), 1,35 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,08 (s, 9H).

#### Síntesis de 5-[(4-bromo-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 3)

Se disolvieron 315 mg (0,62 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano en 6 ml de dimetilformamida, se le añadieron 110 mg (0,62 miliequivalentes) de N-bromo-succinimida y la mezcla se agitó a temperatura ambiente (25°C) durante 17 horas. Una vez completada la reacción se le agregó gota a gota una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, seguidamente una solución acuosa saturada de tiosulfato sódico gota a gota y luego la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Después las capas reunidas de acetato de etilo se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 4/1) para dar 131 mg (0,22 miliequivalentes) de 5-[(4-bromo-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-((4-bromo-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano:  $\delta$  7,60-7,56 (m, 4H), 7,49-7,45 (m, 2H), 7,43-7,40 (m, 4H), 6,99 (s, 1H), 4,76 (s, 2H), 3,68 (d,  $J = 12,4$  Hz, 2H), 3,48 (d,  $J = 12,4$  Hz, 2H), 3,47 (s, 2H), 1,37 (s, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,08 (s, 9H).

- 5 Las reacciones de las etapas 1 a 3 representadas en la FIG. 4 se repitieron para sintetizar una cantidad de 5-((4-bromo-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano suficiente para ser usada en la etapa siguiente.

Síntesis de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-vinil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 4)

- 10 Se disolvieron 280 mg (0,48 miliequivalentes) de 5-((4-bromo-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxano en 4,7 ml de dimetilformamida, se le añadieron 278  $\mu\text{l}$  (0,95 miliequivalentes) de tributilvinil-estaño y 55 mg (0,05 miliequivalentes) de tetrakis(trifenilfosfin)paladio y la mezcla se calentó en un baño de aceite a 80°C y luego se agitó durante 5 horas. Una vez completada la reacción el líquido de la misma se concentró al vacío y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 4/1) para dar 163 mg (0,30 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-vinil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

- 20 RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-vinil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,60-7,58 (m, 4H), 7,47-7,44 (m, 2H), 7,42-7,38 (m, 4H), 6,96 (s, 1H), 6,43 (dd,  $J = 11,0$ , 17,4 Hz, 1H), 5,88 (d,  $J = 17,4$  Hz, 1H), 5,30 (d,  $J = 11,0$  Hz, 1H), 4,71 (s, 2H), 3,69 (d,  $J = 12,4$  Hz, 2H), 3,53 (d,  $J = 12,4$  Hz, 2H), 3,52 (s, 2H), 1,39 (s, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,09 (s, 9H).

- 25 Síntesis de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-formil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 5)

- 30 Se añadieron 2,0 ml de una solución mixta de agua/1,4-dioxano = 3/1 a 163 mg (0,30 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-vinil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano, se le agregaron 38 mg de óxido de osmio (en microcápsulas, Wako Pure Chemical Industries, Ltd., 0,015 miliequivalentes) y 130 mg (0,60 miliequivalentes) de yodato sódico, y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 5 días. Una vez completada la reacción se separó el óxido de osmio y el líquido de la reacción se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se secaron con sulfato magnésico anhidro, luego se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 5/1) para obtener 107 mg (0,20 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-formil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

- 40 RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-formil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano:  $\delta$  9,86 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,59-7,57 (m, 4H), 7,48-7,40 (m, 6H), 4,86 (s, 2H), 3,66 (d,  $J = 12,6$  Hz, 2H), 3,57 (d,  $J = 12,6$  Hz, 2H), 3,42 (s, 2H), 1,31 (s, 3H), 1,29 (s, 3H), 1,07 (s, 9H).

- 45 Síntesis de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-hidroximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 6)

- 50 Se disolvieron 107 mg (0,20 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-formil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano en 3,0 ml de etanol, se le añadieron 10 mg (0,24 miliequivalentes) de borohidruro sódico y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 10 minutos. Una vez completada la reacción se agregó acetona gota a gota y la mezcla se concentró al vacío. El producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 1/1) para obtener 101 mg (0,19 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-hidroximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

- 55 RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-hidroximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,61-7,59 (m, 4H), 7,48-7,45 (m, 2H), 7,43-7,39 (m, 4H), 6,96 (s, 1H), 4,72 (s, 2H), 4,51 (d,  $J = 6,5$  Hz, 2H), 3,69 (d,  $J = 12,4$  Hz, 2H), 3,53 (d,  $J = 12,4$  Hz, 2H), 3,52 (s, 2H), 1,90 (t,  $J = 6,5$  Hz, 1H), 1,38 (s, 3H), 1,32 (s, 3H), 1,09 (s, 9H).

- 60 Síntesis de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 7)

- 65 Se disolvieron 101 mg (0,19 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-hidroximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano en 2,0 ml de diclorometano y se enfrió a 0°C aproximadamente en un baño de hielo. Se añadieron 125  $\mu\text{l}$  (0,72 miliequivalentes) de N,N-diisopropiletilamina y 41  $\mu\text{l}$  (0,51 miliequivalentes) de cloruro de metoximetilo, y la mezcla se agitó durante 26 horas, incrementando la temperatura hasta la temperatura ambiente (25°C). Una vez completada la reacción se agregó acetona gota a gota una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se lavaron con agua y salmuera, luego se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de

etilo (v/v) = 2/1) para dar 86 mg (0,15 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

RMN-<sup>1</sup>H (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,64-7,58 (m, 4H), 7,48-7,45 (m, 2H), 7,43-7,39 (m, 4H), 7,06 (s, 1H), 4,74 (s, 2H), 4,69 (s, 2H), 4,47 (s, 2H), 3,70 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,52 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,51 (s, 2H), 3,37 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,07 (s, 9H).

#### Síntesis de 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 8 1)

Se disolvieron 86 mg (0,15 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano en 1,0 ml de tetrahidrofurano, se le añadieron 0,17 ml (solución de 1 mol/l, 0,17 miliequivalentes) de una solución de fluoruro de tetrabutilamonio en tetrahidrofurano y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 10 minutos. Una vez completada la reacción se eliminó el disolvente por destilación y el producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 1/1) para obtener 47 mg (0,14 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano.

RMN-<sup>1</sup>H (disolvente: cloroformo deuterado) del 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,30 (s, 1H), 4,80 (s, 2H), 4,72 (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 3,78 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,60 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,49 (s, 2H), 3,41 (s, 3H), 1,47 (s, 3H), 1,45 (s, 3H).

#### Síntesis de 2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano (FIG. 4, etapa 8 2)

Se disolvieron 23 mg (0,11 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-1,3-dioxano en 1,0 ml de trietilamina, se le añadió 1 mg (0,01 miliequivalentes) de *N,N*-dimetilaminopiridina y 23 mg (0,12 miliequivalentes) de cloruro de *p*-toluensulfonilo, y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 16 horas. Una vez completada la reacción se agregó una solución acuosa saturada de cloruro amónico y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía flash en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 1/3) para obtener 16 mg (0,03 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano.

RMN-<sup>1</sup>H (disolvente: dimetilsulfóxido deuterado) del 2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano:  $\delta$  7,75 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,38 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,20 (s, 1H), 4,73-4,71 (m, 4H), 4,55 (s, 2H), 3,93 (s, 2H), 3,74 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,60 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,41 (s, 3H), 2,47 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

#### Ejemplo 5: producción de 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-4-hidroximetil-2-nitroimidazol

El 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-4-hidroximetil-2-nitroimidazol es un compuesto (compuesto 2 no radiactivo) que tiene la misma estructura que la del compuesto 2, con la excepción de que el átomo de flúor del compuesto 2 está cambiado de flúor 18 a flúor 19. La FIG. 5 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

Se disolvieron 3,6 mg (7,6  $\mu$ equivalentes) de 2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano en 1 ml de acetonitrilo, se le añadieron 17 mg (34,5  $\mu$ equivalentes) de Kryptofix 222 (nombre comercial, Merck), 5,8 mg (100  $\mu$ equivalentes) de fluoruro potásico y 1,8 mg (23  $\mu$ equivalentes) de carbonato potásico, y la mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas. Una vez completada la reacción se agregó agua y la mezcla se extrajo tres veces con cloroformo. Las capas reunidas de cloroformo se secaron con sulfato sódico anhidro y a continuación se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 1/1). A una fracción así obtenida se le añadió gota a gota 1 ml de ácido clorhídrico de 1 mol/l y la mezcla se calentó a 80°C en un baño de aceite y luego se agitó durante 50 minutos. Una vez completada la reacción, la mezcla se concentró al vacío y se obtuvieron unas trazas de 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-4-hidroximetil-2-nitroimidazol.

RMN-<sup>1</sup>H (disolvente: cloroformo deuterado) del 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-4-hidroximetil-2-nitroimidazol:  $\delta$  6,99 (s, 1H), 4,77-4,76 (m, 4H), 4,57-4,55 (m, 2H), 4,48-4,46 (m, 2H), 3,63-3,60 (m, 2H).

RMN-F<sup>19</sup> (disolvente: cloroformo deuterado) del 1-(2,2-dihidroximetil-3-fluoropropil)-4-hidroximetil-2-nitroimidazol:  $\delta$  - 235,8 (t, J<sub>H-F</sub> = 46,7 Hz, 1F).

#### Ejemplo 6: producción de 1-(2,2-dihidroximetil-3-[F<sup>18</sup>]fluoropropil)-4-hidroximetil-2-nitroimidazol (compuesto 2)

La FIG. 6 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

Se pasó  $\text{H}_2\text{O}^{18}$  con contenido de ion fluoruro [ $\text{F}^{18}$ ] (cantidad de radiactividad 2,37 GBq, valor corregido al iniciar la síntesis) a través de una columna de intercambio aniónico (Sep-Pak (nombre comercial registrado) Accell Plus QMA Plus Light (nombre comercial, fabricada por Nihon Waters K.K.) previamente tratada con una solución acuosa de carbonato potásico, para recoger ion fluoruro [ $\text{F}^{18}$ ] por adsorción. Luego se pasó por esta columna una solución acuosa de carbonato potásico (42,4  $\mu\text{moles/l}$ , 0,3 ml) y una solución de 14 mg (37,2  $\mu\text{equivalentes}$ ) de Kryptofix 222 (nombre comercial, Merck) en 0,7 ml de acetonitrilo para eluir el ion fluoruro [ $\text{F}^{18}$ ].

Este producto eluido se calentó en una corriente de gas argón a  $110^\circ\text{C}$  para evaporar el agua, luego se añadió acetonitrilo (0,3 ml x 2) y la mezcla se sometió a destilación azeotrópica hasta sequedad. Se agregaron 0,3 ml de una solución de 5 mg (10  $\mu\text{equivalentes}$ ) de 2,2-dimetil-5-[(4-metoximetoximetil-2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano sintetizado en el ejemplo 4, disueltos en acetonitrilo, y la mezcla se calentó a  $110^\circ\text{C}$  durante 10 minutos. A continuación se añadieron 0,3 ml de ácido clorhídrico de 1 mol/l y la mezcla se calentó a  $110^\circ\text{C}$  durante 3 minutos. Una vez completada la reacción, la mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente, se agregó 1,0 ml de agua para la inyección y la mezcla se sometió a HPLC (fase móvil: solución acuosa de ácido trifluoroacético al 0,1% (v/v)/acetonitrilo (con un contenido de 0,1% (v/v) de ácido trifluoroacético) (v/v) = 90/10, caudal: 3,0 ml/min) y se identificó usando el compuesto no radiactivo 2 obtenido en el ejemplo 5, de manera que el pico con un tiempo de retención de 13 minutos fue identificado como una fracción de compuesto 2 y se recogió.

A esta fracción se le añadieron 10 ml de agua y el líquido resultante se pasó a través de una columna Sep-Pak (marca comercial registrada) HLB Plas (nombre comercial, fabricada por Nihon Waters K.K.) para recoger por absorción el compuesto 2 en la columna. Esta columna se lavó con 3 ml de agua y luego se pasaron 2 ml de etanol para eluir el compuesto 2. La cantidad de radiactividad obtenida fue de 143 MBq (87 minutos después del comienzo de la síntesis). Al efectuar el análisis por CCF se encontró una pureza radioquímica del 98%.

Ejemplo 7: síntesis de 2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano

El 2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano es precursor del compuesto marcado 3. La FIG. 7 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

#### Síntesis de 2-(2-benciloxietil)malonato de dietilo (FIG. 7, etapa 1)

Se añadieron 506 mg (al 60% en aceite, 13 miliequivalentes) de hidruro sódico a 5,0 ml de tetrahidrofurano y la mezcla se enfrió a  $0^\circ\text{C}$  aproximadamente en un baño de aceite. Se le agregaron 3,2 ml (20,7 miliequivalentes) de malonato de dietilo (solución A). Se disolvieron 2,3 g (10,7 miliequivalentes) de 2-benciloxi-1-bromoetano en 3,0 ml de tetrahidrofurano; esta disolución se agregó gota a gota a la solución A, a lo largo de 10 minutos, y la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. Una vez completada la reacción se añadió gota a gota al líquido de reacción una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 mol/l y la mezcla se extrajo tres veces con dietiléter. Las capas reunidas de dietiléter se lavaron con salmuera, luego se secaron con sulfato magnésico anhidro y a continuación se concentraron al vacío, y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 20/1) para obtener 2,85 g (9,67 miliequivalentes) de 2-(2-benciloxietil)malonato de dietilo.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 2-(2-benciloxietil)malonato de dietilo:  $\delta$  7,36-7,28 (m, 5H), 4,48 (s, 2H), 4,21-4,14 (m, 4H), 3,60 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 3,53 (t,  $J = 5,5$  Hz, 2H), 2,22 (dt,  $J = 5,5, 7,3$  Hz, 2H), 1,25 (t,  $J = 7,3$  Hz, 6H).

#### Síntesis de 2-(2-benciloxietil)-2-hidroximetilmalonato de dietilo (FIG. 7, etapa 2)

Se disolvieron 2,85 g (9,67 miliequivalentes) de 2-(2-benciloxietil)malonato de dietilo en 20 ml de acetonitrilo, se le añadieron 1,60 g (11,7 miliequivalentes) de bicarbonato potásico y 465 mg (11,7 miliequivalentes, calculado como formaldehído) de paraformaldehído, y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C}$ ) durante la noche. Una vez completada la reacción se añadió gota a gota al líquido de reacción una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 mol/l y la mezcla se extrajo tres veces con cloroformo. Las capas reunidas de cloroformo se secaron con sulfato magnésico anhidro y luego se concentraron al vacío, y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 4/1) para obtener 2,78 g (8,76 miliequivalentes) de 2-(2-benciloxietil)-2-hidroximetilmalonato de dietilo.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 2-(2-benciloxietil)-2-hidroximetilmalonato de dietilo:  $\delta$  7,36-7,27 (m, 5H), 4,48 (s, 2H), 4,18 (m, 4H), 4,03 (d,  $J = 7,3$  Hz, 2H), 3,60 (t,  $J = 5,5$  Hz, 2H), 3,03 (t,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 2,33 (t,  $J = 5,5$  Hz, 2H), 1,24 (t,  $J = 7,3$  Hz, 6H).

#### Síntesis de 4-benciloxi-2,2-dihidroximetilbutanol (FIG. 7, etapa 3)

Se disolvieron 1,03 g (3,24 miliequivalentes) de 2-(2-benciloxietil)-2-hidroximetilmalonato de dietilo en 10 ml de metanol y esta disolución se añadió gota a gota a 1,69 g (44,6 miliequivalentes) de borohidruro sódico a lo largo de

20 minutos. Esta mezcla se calentó a reflujo por la noche y después se enfrió hasta la temperatura ambiente (25°C). Se agregó agua al líquido de reacción y se efectuó una reacción durante 30 minutos. El líquido de la reacción se lavó con cloroformo y la fase acuosa se concentró al vacío. Se añadieron 100 ml de etanol al residuo resultante y la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. Inmediatamente después de completar la reacción la mezcla se sometió a una cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: etanol) para obtener 543 mg de 4-benciloxi-2,2-dihidroxi-metilbutanol en forma de producto crudo.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 4-benciloxi-2,2-dihidroxi-metilbutanol:  $\delta$  7,36-7,29 (m, 5H), 4,50 (s, 2H), 3,87 (brs, 2H), 3,71-3,65 (m, 2H), 3,59-3,53 (m, 7H), 1,21 (m, 2H).

#### Síntesis de 5-benciloxietil-2,2-dimetil-5-hidroxi-metil-1,3-dioxano (FIG. 7, etapa 4)

Se disolvieron 543 mg del producto 4-benciloxi-2,2-dihidroxi-metilbutanol crudo en 3 ml de acetona, se le añadieron 232 mg (1,0 miliequivalente) de ácido 10-canforsulfónico y se llevó a cabo una reacción a temperatura ambiente (25°C) por la noche. Una vez completada esta reacción se agregó trietilamina gota a gota y la mezcla se concentró al vacío. El producto crudo así obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 4/1) para dar 459 mg (1,64 miliequivalentes) de 5-benciloxietil-2,2-dimetil-5-hidroxi-metil-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-benciloxietil-2,2-dimetil-5-hidroxi-metil-1,3-dioxano:  $\delta$  7,37-7,28 (m, 5H), 4,52 (s, 2H), 3,70 (d, J = 11,9 Hz, 2H), 3,61-3,57 (m, 6H), 3,15 (t, J = 6,9 Hz, 1H), 1,74 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 1,40 (s, 6H).

#### Síntesis de 5-benciloxietil-2,2-dimetil-5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-1,3-dioxano (FIG. 7, etapa 5)

Se disolvieron 459 mg (1,64 miliequivalentes) de 5-benciloxietil-2,2-dimetil-5-hidroxi-metil-1,3-dioxano en 8 ml de dimetilformamida, se le añadieron 197 mg (3,20 miliequivalentes) de imidazol y 0,51 ml (1,92 miliequivalentes) de *t*-butildifenilclorosilano, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente (25°C) durante 22 horas. Una vez completada la reacción se agregó una solución acuosa saturada de cloruro amónico y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se lavaron con agua y salmuera, después se secaron con sulfato magnésico anhidro y luego se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 20/1) para dar 570 mg (1,56 miliequivalentes) de 5-benciloxietil-2,2-dimetil-5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-benciloxietil-2,2-dimetil-5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-1,3-dioxano:  $\delta$  7,68-7,66 (m, 4H), 7,43-7,35 (m, 7H), 7,33-7,25 (m, 4H), 4,39 (s, 2H), 3,79 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,76 (s, 2H), 3,69 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,51 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 1,66 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 1,41 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,05 (s, 9H).

#### Síntesis de 5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-2,2-dimetil-5-hidroxi-etil-1,3-dioxano (FIG. 7, etapa 6)

Se disolvieron 570 mg (1,56 miliequivalentes) de 5-benciloxietil-2,2-dimetil-5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-1,3-dioxano en 30 ml de acetato de etilo, se le añadieron 100 mg de paladio carbono en atmósfera de argón y la mezcla se agitó a temperatura ambiente (25°C) bajo atmósfera de hidrógeno durante 22 horas. Una vez completada la reacción se filtró un precipitado y el filtrado se concentró al vacío. El producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 4/1) para obtener 174 mg (0,41 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-2,2-dimetil-5-hidroxi-etil-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-2,2-dimetil-5-hidroxi-etil-1,3-dioxano:  $\delta$  7,68-7,66 (m, 4H), 7,46-7,38 (m, 6H), 3,85 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,76 (dd, J = 6,0, 6,0 Hz, 2H), 3,64 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,62 (s, 2H), 2,89 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,61 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 1,41 (s, 3H), 1,34 (s, 3H), 1,08 (s, 9H).

#### Síntesis de 5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano (FIG. 7, etapa 7)

Se disolvieron 48 mg (0,112 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-2,2-dimetil-5-hidroxi-etil-1,3-dioxano en 1 ml de tetrahidrofurano, se le añadieron 32 mg (0,123 miliequivalentes) de trifenilfosfina, 24  $\mu\text{l}$  (0,123 miliequivalentes) de azodicarboxilato de diisopropilo y 38 mg (0,336 miliequivalentes) de 2-nitroimidazol, y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 4 horas. Una vez completada la reacción, la mezcla se concentró al vacío y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 4/1) para obtener 46 mg (0,088 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 5-(*t*-butildifenilsiloxi-metil)-2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,68-7,66 (m, 4H), 7,46-7,38 (m, 6H), 7,11-7,13 (m, 1H), 6,96 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 4,51-4,47 (m, 2H), 3,83 (d, J = 11,9 Hz, 2H), 3,69 (s, 2H), 3,69 (d, J = 11,9 Hz, 2H), 1,89-1,86 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,09 (s, 9H).

#### Síntesis de 2,2-dimetil-5-hidroxi-metil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano (FIG. 7, etapa 8)



Se disolvieron 46 mg (0,088 miliequivalentes) de 5-(*t*-butildifenilsiloximetil)-2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano en 1 ml de tetrahidrofurano, se le añadieron 0,11 ml (solución 1 mol/l, 0,11 miliequivalentes) de una solución de fluoruro de tetrabutilamonio en tetrahidrofurano y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 1 hora. Una vez completada la reacción se eliminó el disolvente por destilación y el producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: cloroformo/metanol (v/v) = 10/1) para dar 25 mg (0,086 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,15-7,14 (m, 2H), 4,59-4,46 (m, 2H), 3,79 (d,  $J$  = 11,9 Hz, 2H), 3,78 (s, 2H), 3,72 (d,  $J$  = 11,9 Hz, 2H), 1,90-1,87 (m, 2H), 1,44 (s, 3H), 1,42 (s, 3H).

#### Síntesis de 2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano (FIG. 7, etapa 9)

Se disolvieron 25 mg (0,086 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-hidroximetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano en 1 ml de diclorometano, se le añadieron 19 mg (0,172 miliequivalentes) de 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano y 19 mg (0,10 miliequivalentes) de cloruro de *p*-toluensulfonilo, y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente (25°C) durante 4 horas. Una vez completada la reacción se agregó una solución acuosa saturada de cloruro amónico y la mezcla se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas reunidas de acetato de etilo se secaron con sulfato magnésico anhidro y luego se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: hexano/acetato de etilo (v/v) = 1/3) para dar 18 mg (0,041 miliequivalentes) de 2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano:  $\delta$  7,82 (d,  $J$  = 8,3 Hz, 2H), 7,38 (d,  $J$  = 8,3 Hz, 2H), 7,19 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 4,51-4,47 (m, 2H), 4,19 (s, 2H), 3,73 (d,  $J$  = 11,9 Hz, 2H), 3,66 (d,  $J$  = 11,9 Hz, 2H), 2,47 (s, 3H), 1,83-1,86 (m, 2H), 1,40 (s, 3H), 1,28 (s, 3H).

#### Ejemplo 8: producción de 1-(3,3-dihidroximetil-4-fluorobutil)-2-nitroimidazol

El 1-(3,3-dihidroximetil-4-fluorobutil)-2-nitroimidazol es un compuesto (compuesto 3 no radiactivo) que tiene la misma estructura que la del compuesto 3, con la excepción de que el átomo de flúor del compuesto 3 está cambiado de flúor 18 a flúor 19. La FIG. 8 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

#### Síntesis de 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano (FIG. 8, etapa 1)

Se disolvieron 5 mg (11,4  $\mu$ equivalentes) de 2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-5-(*p*-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano en 1 ml de acetonitrilo, se le añadieron 14 mg (34,5  $\mu$ equivalentes) de Kryptofix 222 (nombre comercial, Merck), 0,82 g (14,1  $\mu$ equivalentes) de fluoruro potásico y 0,4 mg (2,9  $\mu$ equivalentes) de carbonato potásico y la mezcla se calentó a reflujo durante 5 horas. Una vez completada la reacción se agregó agua y la mezcla se extrajo tres veces con cloroformo. Las capas reunidas de cloroformo se secaron con sulfato magnésico anhidro y luego se concentraron al vacío. El producto crudo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se obtuvieron trazas de 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) de 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano:  $\delta$  7,16 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 4,63-4,53 (m, 4H), 3,81-3,72 (m, 4H), 1,91-1,88 (m, 2H), 1,45 (s, 3H), 1,43 (s, 3H).

RMN- $^{19}\text{F}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano:  $\delta$  -231,0 (t,  $J_{\text{H-F}}$  = 49,0 Hz, 1F).

#### Síntesis de 1-(3,3-dihidroximetil-4-fluorobutil)-2-nitroimidazol (FIG. 8, etapa 2)

Se disolvió 2,2-dimetil-5-fluorometil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]-1,3-dioxano en 0,5 ml de acetonitrilo, se le añadieron 0,5 ml de ácido clorhídrico de 1 mol/l y la mezcla se agitó a 80°C durante 30 minutos. Una vez completada la reacción la mezcla se concentró al vacío y se obtuvieron trazas de 1-(3,3-dihidroximetil-4-fluorobutil)-2-nitroimidazol.

RMN- $^1\text{H}$  (disolvente: cloroformo deuterado) del 1-(3,3-dihidroximetil-4-fluorobutil)-2-nitroimidazol:  $\delta$  7,16 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 4,61-4,57 (m, 2H), 4,51 (d,  $J_{\text{H-F}}$  = 47,2 Hz, 2H), 3,76-3,67 (m, 4H).

#### Ejemplo 9: síntesis de 1-(3,3-dihidroximetil-4-[ $^{18}\text{F}$ ]fluorobutil)-2-nitroimidazol (compuesto 3)

La FIG. 9 muestra el correspondiente esquema de síntesis.

Se pasó  $\text{H}_2\text{O}^{18}$  con contenido de ion fluoruro [ $^{18}\text{F}$ ] (cantidad de radiactividad 2,87 GBq, valor corregido al iniciar la síntesis) a través de una columna de intercambio aniónico (Sep-Pak (nombre comercial registrado) Accell Plus QMA Plus Light (nombre comercial, fabricada por Nihon Waters K.K.) previamente tratada con una solución acuosa de

carbonato potásico, para recoger ion fluoruro[F<sup>18</sup>] por adsorción. Luego se pasó por esta columna una solución acuosa de carbonato potásico (42,4 µmoles/l, 0,3 ml) y una solución de 14 mg (37,2 µequivalentes) de Kryptofix 222 (nombre comercial, Merck) en 0,7 ml de acetonitrilo para eluir el ion fluoruro[F<sup>18</sup>].

Este producto eluido se calentó en una corriente de gas argón a 110°C para evaporar el agua, luego se añadió acetonitrilo (0,3 ml x 2) y la mezcla se sometió a destilación azeotrópica hasta sequedad. Se agregaron 0,3 ml de una solución de 5 mg (10 µequivalentes) de 2,2-dimetil-5-[2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil]-5-(p-toluensulfoniloximetil)-1,3-dioxano sintetizado en el ejemplo 7, disueltos en acetonitrilo, y la mezcla se calentó a 110°C durante 10 minutos. A continuación se añadieron 0,3 ml de ácido clorhídrico de 1 mol/l y la mezcla se calentó a 110°C durante 3 minutos. Una vez completada la reacción se agregó 1,0 ml de agua para la inyección y la mezcla se sometió a HPLC (fase móvil: solución acuosa de ácido trifluoroacético al 0,1% (v/v)/acetonitrilo (con un contenido de 0,1% (v/v) de ácido trifluoroacético) (v/v) = 85/15, caudal: 2,5 ml/min) y se identificó usando el compuesto no radiactivo 3 obtenido en el ejemplo 8, de manera que el pico con un tiempo de retención de 16 minutos fue identificado como una fracción del compuesto 3 y se recogió.

A esta fracción se le añadieron 10 ml de agua y el líquido resultante se pasó a través de una columna Sep-Pak (marca comercial registrada) HLB Plas (nombre comercial, fabricada por Nihon Waters K.K.) y el compuesto 3 se recogió por absorción en la columna. Esta columna se lavó con 3 ml de agua y luego se pasaron 2 ml de etanol para eluir el compuesto 3. La cantidad de radiactividad obtenida fue de 463 MBq (83 minutos después del comienzo de la síntesis). Al efectuar el análisis por CCF se encontró una pureza radioquímica del 99%.

#### Ejemplo 10: incorporación a células tumorales

Se estudió la acumulación de compuesto 1, compuesto 2 y compuesto 3 en células tumorales in vivo del modo siguiente, utilizando una línea celular de cáncer mamario obtenida de ratones (EMT6).

#### (Método)

Preparación de los ratones modelo portadores de tumor: los animales empleados fueron ratones hembra Balb/c nu/nu (obtenidos de Japan SLC). En estos animales se implantó subcutáneamente una suspensión Matrigel (recuento celular  $2,5 \times 10^6$  células/0,05 ml) de EMT6 – que es una línea celular de cáncer mamario obtenida de ratones (adquirida de ATCC) – en un lugar comprendido entre la costilla derecha y el hombro derecha. Al tercer día después de la implantación se confirmó que las células tumorales se habían fijado y el tumor alcanzó un volumen de 200 a 400 mm<sup>3</sup> transcurridos 9 a 11 días desde la implantación.

Método experimental: el compuesto 1, el compuesto 2, el compuesto 3 y fluorof<sup>18</sup>misonidazol ([F<sup>18</sup>]FMISO), sintetizado de acuerdo con un método de Rasey JS y otros (Int J Radiat Oncol Biol Phys, Nov; 17 (5): 985-991, 1989) se diluyeron respectivamente con 10 mg/ml de suero salino fisiológico que contenía ácido ascórbico, para obtener una solución de muestra con la concentración de radiactividad ajustada a 1000 MBq/ml. El ratón modelo portador del tumor preparado de este modo se anestesió con isoflurano y se le administraron aproximadamente 20 MBq de estas soluciones de muestra a través de una vena caudal. Las imágenes estáticas se obtuvieron usando un sistema TEP para animales (modelo: eXplore Vista, fabricado por GE) 60 minutos después de la administración. El tiempo de recolección fue de 20 minutos para un ratón modelo portador de tumor al que se había administrado el compuesto 1 y de 10 minutos para los ratones modelo portadores de tumor a los que se había administrado el compuesto 2, el compuesto 3 o el [F<sup>18</sup>]FMISO. Los datos así recogidos se reconstituyeron mediante el método OSEM para formar una imagen, y con el programa de análisis de imágenes se formó una imagen tomográfica coronal y una imagen tomográfica axial.

#### (Resultados)

Los resultados se muestran en las FIGS. 10 a 13. La FIG. 10 es una imagen tomográfica coronal del ratón modelo portador de tumor al que se ha administrado el compuesto 1. La FIG. 11 es una imagen tomográfica axial del ratón modelo portador de tumor al que se ha administrado el compuesto 1. La FIG. 12(a), la FIG. 12(b) y la FIG. 12(c) son imágenes tomográficas coronales de ratones modelo portadores de tumor. La FIG. 12 (a) es una imagen de un ratón al que se ha administrado el compuesto 2, la FIG. 12(b) es una imagen de un ratón al que se ha administrado el compuesto 3 y la FIG. 12(c) es una imagen de un ratón al que se ha administrado el [F<sup>18</sup>]FMISO. La FIG. 13(a), la FIG. 13(b) y la FIG. 13(c) son imágenes tomográficas axiales de ratones modelo portadores de tumor. La FIG. 13(a) es una imagen de un ratón al que se ha administrado el compuesto 2, la FIG. 13(b) es una imagen de un ratón al que se ha administrado el compuesto 3 y la FIG. 13(c) es una imagen de un ratón al que se ha administrado el [F<sup>18</sup>]FMISO. En las FIGS. 11 a 13 la localización de los tumores está marcada por la dirección de los extremos de las flechas.

A partir de la imagen tomográfica coronal (FIG. 10) se halló una acumulación intensa de compuesto 1 en la vejiga y una acumulación del mismo en la vesicular biliar y en el tracto intestinal 60 minutos después de la administración. Estos resultados demuestran que se eliminó a través de los sistemas de evacuación del riñón y del tracto urinario y hepatobiliar como vías de excreción. En comparación con el [F<sup>18</sup>]FMISO el compuesto 1 tuvo una baja acumulación

fisiológica en el hígado como vía de excreción y por lo tanto se sugiere que puede visualizar una lesión hipóxica dentro de un tumor en el cáncer de hígado. A partir de la imagen tomográfica axial (FIG. 11) también se encontró que a los 60 minutos tras la administración había una acumulación específica del tumor, separada de la de tejido normal como el muscular.

A partir de las imágenes tomográficas coronales (FIG. 12), a los 60 minutos de la administración se encontró una acumulación intensa de compuesto 2 y de compuesto 3 en la vejiga y una acumulación de los mismos en el tracto intestinal. Al igual que para el compuesto 1 se confirmó la acumulación de compuesto 3 en la vesicular biliar. Estos resultados demuestran que el compuesto 2 se eliminó predominantemente a través del riñón y del sistema del tracto urinario como vías de excreción y el compuesto 3 se eliminó a través de los sistemas de evacuación del riñón y del tracto urinario y hepatobiliar como el compuesto 1. Comparados con el  $[F^{18}]$ FMISO, el compuesto 2 y el compuesto 3 tuvieron una baja acumulación fisiológica en el hígado como vía de excreción y por lo tanto se sugiere que pueden visualizar una lesión hipóxica dentro de un tumor en el cáncer de hígado. A partir de la imagen tomográfica axial (FIG. 13) también se encontró que a los 60 minutos tras la administración había una acumulación de compuesto 2 y compuesto 3 específica del tumor, separada de la de tejido normal como el muscular.

Ejemplo 11: medición del VAN (valor de absorción normalizado) en el tumor y cálculo de la relación tumor/tejido normal

(Método)

El valor máximo del VAN en el tumor se midió usando las imágenes tomográficas axiales tomadas en el ejemplo 10. Se fijó y se midió una región de interés de todo el tumor (designada en lo sucesivo como RDI) a partir de todos los planos de corte de una imagen tomográfica axial en los cuales se visualizó el tumor. La imagen tomográfica axial se formó a partir de 61 planos de corte y el VAN más alto entre los planos de corte medidos se definió como un valor máximo de VAN a los 60 minutos tras la administración (valor VAN máximo en el tumor). Por otra parte el VAN del tejido normal se obtuvo usando como sitio diana el tejido pulmonar y muscular del lado izquierdo del cuerpo, que era el opuesto al lado del ratón modelo portador de tumor, pues éste se implantó en el lado derecho del cuerpo, y el RDI se estableció para todo el lado izquierdo del cuerpo, incluyendo el pulmón y el músculo a los 60 minutos tras la administración, y por tanto se midió así. Se determinó el valor medio de la intensidad de la señal dentro de la RDI y el valor medio de los valores medidos para los planos de corte se definió como el valor medio del VAN en el tejido normal. La relación tumor/tejido normal se calculó mediante la siguiente ecuación (1) y se usó como un indicador subjetivo del contraste entre el tumor y el tejido normal.

$$\text{Relación tumor/tejido normal} = \frac{\text{Valor máximo del VAN en el tumor}}{\text{Valor medio del VAN en el tejido normal}} \quad (1)$$

(Resultados)

La tabla 2 muestra el valor máximo del VAN y la relación tumor/tejido normal de los compuestos 1 al 3 y del  $[F^{18}]$ -FMISO. Los compuestos 1 al 3 mostraron todos una relación tumor/tejido normal mayor que el  $[F^{18}]$ FMISO a los 60 minutos tras la administración. De estos resultados se deduce que el compuesto 1, el compuesto 2 y el compuesto 3 pueden proporcionar la visualización de una imagen de una región hipóxica dentro de un tumor con un elevado contraste a un tiempo temprano tras la administración.

Tabla 2

Compuesto	Valor máximo del VAN	Relación tumor/tejido normal
$[F^{18}]$ FMISO	0,98	2,03
Compuesto 1	0,58	2,34
Compuesto 2	0,31	2,68
Compuesto 3	0,53	2,40

Ejemplo 12: confirmación de la localización de la acumulación en el tumor de los compuestos marcados

Para evaluar si el compuesto de la presente invención podía o no podía visualizar una región hipóxica de un tumor se llevó a cabo el siguiente experimento, usando los compuestos 1 al 3 y el  $[F^{18}]$ FMISO.

(Método)

La localización de la acumulación de cada uno de los compuestos marcados en un tumor se confirmó por autoradiografía. Después de completar el registro de imágenes TEP de un ratón modelo portador de tumor realizado por el método del ejemplo 11 se sacrificaron los ratones por sangrado mediante cardiocentesis e inmediatamente después se tomó muestra del tumor y se prepararon cortes de tejido (espesor: 10  $\mu$ m) usando un criostato (modelo: CM3050, fabricado por Leica). Para la medición autorradiográfica se usó un corte recién congelado de tejido tumoral sin fijar, que no requirió mucho tiempo de preparación, tomando en consideración la corta vida media del  $F^{18}$ . Al

exponer una placa sensible a este corte de tejido tumoral durante 8 a 10 horas se captó una imagen utilizando un analizador de bioimágenes (modelo: BAS-2500, fabricado por FUJIFILM). La imagen así captada se examinó con un programa analizador de imágenes.

Aparte de ello, como método para confirmar una región hipóxica en un tumor, el mismo corte, una vez disminuida la radiactividad, se sometió a una tinción inmunohistoquímica con pimonidazol, que es un marcador hipóxico, por el siguiente procedimiento. El corte de tejido tumoral, una vez fijado y activado, se hizo reaccionar con un anticuerpo policlonal de conejo anti-pimonidazol (obtenido de: Hypoxyprobe, Inc., 1:200) como anticuerpo primario y con un antisuero anticonejo marcado con biotina como anticuerpo secundario que reacciona con el anticuerpo primario, y a continuación se detectó la actividad de PRP (peroxidasa de rábano picante) mediante una reacción de color con DAB (3,3'-diaminobencidina) como sustrato, usando estreptavidina marcada con PRP, que reacciona con el anticuerpo secundario y por tanto identifica una región hipóxica del tejido tumoral. Además se usó hematoxilina de Mayer como contratinción nuclear, para teñir el núcleo de las células. Como control negativo se usó un corte adyacente a unos cortes practicados de manera consecutiva, llevando a cabo el mismo experimento anterior sin hacer reaccionar el anticuerpo primario, y se confirmó que no había tenido lugar ninguna reacción inespecífica entre el corte de tejido tumoral y cualquier otro componente que no fuera el anticuerpo primario. Se tomó una imagen entera de una imagen de la muestra obtenida por tinción inmunohistoquímica, empleando un sistema de microscopía (modelo: BZ-9000, fabricado por Keyence Corporation). La imagen entera tomada de este modo se procesó y se extrajo un sitio positivo al pimonidazol que indicaba una región hipóxica.

#### (Resultados)

Los resultados se muestran en las FIGS. 14 a 17. La FIG. 14(b) muestra una autorradiografía de la acumulación del compuesto 1 en el tumor y la FIG. 14(a) muestra una imagen de la tinción inmunohistoquímica del mismo corte de la FIG. 14(b). La FIG. 15(b) muestra una autorradiografía de la acumulación del compuesto 2 en el tumor y la FIG. 15(a) muestra una imagen de la tinción inmunohistoquímica del mismo corte de la FIG. 15(b). La FIG. 16(b) muestra una autorradiografía de la acumulación del compuesto 3 en el tumor y la FIG. 16(a) muestra una imagen de la tinción inmunohistoquímica del mismo corte de la FIG. 16(b). La FIG. 17(b) muestra una autorradiografía de la acumulación del  $[F^{18}]$ FMISO en el tumor y la FIG. 17(a) muestra una imagen de la tinción inmunohistoquímica del mismo corte de la FIG. 17(b). Tal como se muestra en las FIGS. 14 a 16, los sitios donde están acumulados los compuestos 1 al 3 coinciden visualmente con la localización del pimonidazol, es decir del marcador hipóxico. Por otra parte, tal como se muestra en la FIG. 17, hubo sitios (encuadrados por líneas de trazos en la FIG. 17) en que el lugar donde se había acumulado el  $[F^{18}]$ FMISO no coincidía visualmente con la localización del pimonidazol, es decir con el marcador hipóxico.

Ejemplo 13: correlación entre la intensidad de la señal de cada uno de los compuestos marcados en la imagen autorradiográfica y la localización del entorno hipóxico.

Para evaluar si el compuesto de la presente invención podía o no podía visualizar cuantitativamente una región hipóxica de un tumor, se llevó a cabo el siguiente experimento con los compuestos 1 al 3 y el  $[F^{18}]$ FMISO.

#### (Método)

Con un sistema de microscopía (modelo: BZ-9000, fabricado por Keyence Corporation) se tomó una imagen muy ampliada de un sitio positivo al pimonidazol, utilizando la imagen entera de una imagen patológica obtenida por tinción inmunohistoquímica en el ejemplo 12 y una lente objetivo 10x. La imagen muy ampliada se formó respecto a una zona de la misma seleccionada al azar. Al mismo tiempo, el sitio de adquisición de la imagen se registró como imagen de navegación mediante el empleo de la función navegadora del sistema de microscopía. La imagen muy ampliada tomada de este modo se sometió a un procesador de imágenes y en ella se comprobó la presencia de un área positiva al pimonidazol.

La imagen autorradiográfica y la imagen teñida de cada uno de los compuestos marcados utilizados fueron las que se tomaron en ejemplo 12. La resolución de la imagen de navegación se igualó con la resolución de la imagen autorradiográfica y las posiciones geométricas de las dos imágenes se alinearon mediante un programa de análisis de imágenes.

En la imagen autorradiográfica se estableció una RDI para el sitio que coincidía con el sitio de adquisición de la imagen muy ampliada y se determinó el valor LFE (luminiscencia fotoestimulada) de la RDI. También se estableció una RDI para un sitio de la misma imagen que no contenía ninguna muestra y el valor LFE correspondiente a ella se definió como el fondo. El valor LFE del fondo se sustrajo del valor LFE de la imagen muy ampliada para obtener el valor LFE neto. El área positiva al marcador hipóxico pimonidazol se representó en el eje de abscisas y el valor LFE de la imagen autorradiográfica se representó en el eje de ordenadas, y se determinó el factor de correlación. Esta serie de operaciones se efectuó para cada uno de los compuestos marcados.

#### (Resultados)

Los resultados se muestran en la FIG. 18 y en la tabla 3. La FIG. 18 es un gráfico que representa la correlación entre la intensidad de la señal y el área de una región hipóxica en la autorradiografía de la acumulación de los compuestos 1 al 3 y del  $[F^{18}]$ FMISO en el tumor. La tabla 3 muestra el factor de correlación entre la imagen inmunohistoquímica y la autorradiografía. Como se desprende de la FIG. 18, en el caso del  $[F^{18}]$ FMISO algunas zonas en las que se había observado localización del marcador hipóxico pimonidazol presentaron un valor LFE bajo y hubo otras zonas donde el valor LFE y la región hipóxica (sitio de localización del pimonidazol) no coincidían visualmente entre sí. También se desprende de la FIG. 18 y de la tabla 3 que hubo grandes variaciones en las representaciones gráficas del  $[F^{18}]$ FMISO en una gráfica de dispersión donde la intensidad de acumulación correspondía a la proporción ocupada por el entorno hipóxico. Por otra parte la acumulación de cada uno de los compuestos marcados mostró un valor LFE elevado en los sitios en que se había observado localización del marcador hipóxico, coincidiendo así visualmente de manera similar a los resultados del ejemplo 12. De la FIG. 18 se deduce claramente que hubo una correlación entre la intensidad de acumulación de cada uno de los compuestos marcados y la proporción ocupada por el entorno hipóxico en la misma posición. Además todos los compuestos marcados de la presente invención presentaron un factor de correlación mayor que el del  $[F^{18}]$ FMISO. Estos resultados sugieren que la intensidad de acumulación de cada uno de los compuestos marcados en un tumor refleja más cuantitativamente que el  $[F^{18}]$ FMISO el nivel de una región hipóxica en un tumor.

Tabla 3

Compuesto	Coefficiente de correlación
$[F^{18}]$ FMISO	0,55
Compuesto 1	0,85
Compuesto 2	0,80
Compuesto 3	0,61

Ejemplo 14: examen de la distribución de cada compuesto marcado en el cuerpo

Se midió la biodistribución de los compuestos 1 al 3 y del  $[F^{18}]$ FMISO en un tumor y en cada uno de los órganos de un ratón portador de tumor.

(Método)

Los ratones modelo portadores de tumor utilizados en este experimento fueron los mismos que se prepararon para el ejemplo 10 y de cada grupo se escogieron 3 o 4 casos en que el volumen del tumor llegaba a 200 hasta 400 mm<sup>3</sup>. El ratón modelo portador de tumor se anestesió con isoflurano; se le administró pimonidazol, que es un marcador de hipoxia, a través de una vena caudal y 10 minutos más tarde el respectivo compuesto marcado. El ratón modelo portador de tumor se sacrificó a los 60 minutos y a los 120 minutos tras la administración. Todos los ratones modelo portadores de tumor se sacrificaron por sangrado de la aorta abdominal o por cardiocentesis e inmediatamente después se diseccionaron. Aparte del tumor se tomaron muestras de sangre, del corazón, del pulmón, del estómago, del hígado, de la vesícula biliar, del riñón, del intestino delgado y del intestino grueso, del músculo y de orina, y los demás tejidos fueron definidos como cuerpo total restante. Después de pesar cada muestra de tejido se midió la cantidad de radiactividad del tejido utilizando un contador gamma y se comparó la biodistribución de cada uno de los compuestos marcados convirtiéndola en % de DI/g (% de dosis inyectada/g de órgano) para cada tejido.

Para examinar un estado hipóxico en un tumor se realizó una tinción inmunohistoquímica de una muestra del mismo con el fin de determinar si el interior del tumor era o no era hipóxico. La muestra del tumor se fijó con un tampón de formalina al 20% y se preparó un bloque de parafina empleando un aparato automático de inclusión en parafina (modelo: VIP-5-Jr-J0, Sakura Finetek). Se preparó un corte (espesor: 3 µm) por medio de un microtomo (modelo: Tissue-Tek Feather Trustome, Sakura Finetek). La tinción inmunohistoquímica se llevó a cabo por el mismo método que en el ejemplo 12.

(Resultados)

Los resultados se muestran en las tablas 4 y 5. La tabla 4 muestra el % de DI/g para cada tejido transcurridos 60 minutos después de la administración. La tabla 5 muestra el % de DI/g para cada tejido transcurridos 120 minutos después de la administración, pero en las tablas 4 y 5 la orina está indicada en % de DI. Además en las tablas 4 y 5 T/S se refiere a la relación tumor/sangre y T/M se refiere a la relación tumor/músculo. La radioacumulación de cada uno de los compuestos marcados en el tumor del ratón modelo portador de tumor fue inferior a la del  $[F^{18}]$ FMISO, pero las concentraciones de distribución del compuesto 1 y del compuesto 3 en la sangre fueron del 1,70% de DI/g y del 2,81% de DI/g respectivamente a los 60 minutos tras la administración de los respectivos compuestos marcados y disminuyeron a 0,75% de DI/g y 1,14% de DI/g respectivamente a los 120 minutos tras la administración de los respectivos compuestos marcados. Además las concentraciones de distribución en la orina fueron del 62,13% de DI y del 45,80% de DI respectivamente a los 60 minutos tras la administración de los respectivos compuestos marcados y aumentaron hasta 77,76% de DI y 68,78% de DI respectivamente a los 120 minutos tras la administración de los respectivos compuestos marcados. Con estos resultados se confirmó que la eliminación de la sangre y la excreción urinaria del compuesto 1 y del compuesto 3 fueron rápidas en comparación con el  $[F^{18}]$ FMISO. Por otra parte el compuesto 2 dio una concentración de distribución del 0,60% de DI/g en la sangre y del 80,42% de DI en la orina a

los 60 minutos tras la administración del compuesto marcado. Por tanto se confirmó que su eliminación de la sangre y su excreción urinaria fueron aún más rápidas. La relación tumor/sangre entre los 60 y los 120 minutos después de la administración de cada uno de los compuestos marcados fue mayor que la del  $[F^{18}]$ FMISO. Con el resultado de la tinción inmunohistoquímica se confirmó que interior del tumor era o hipóxico.

5

Tabla 4

		Sangre	Corazón	Pulmón	Hígado	Estómago	Intestino delgado	Intestino grueso	Vesícula biliar	Riñón	Músculo	Orina	Tumor	T/S	T/M
Compuesto 1	Error estándar de la media	1,70 0,14	2,35 0,25	1,96 0,12	3,34 0,18	1,53 0,15	3,72 0,29	3,71 0,18	26,34 12,62	4,23 0,90	1,71 0,06	62,13 1,74	2,38 0,07	1,42 0,08	1,39 0,05
Compuesto 2	Error estándar de la media	0,60 0,09	1,32 0,12	0,89 0,04	1,14 0,03	0,48 0,03	2,35 0,07	0,96 0,05	7,54 1,54	1,86 0,05	1,25 0,08	80,42 0,88	1,13 0,02	2,11 0,47	0,91 0,07
Compuesto 3	Error estándar de la media	2,81 0,93	3,46 1,09	2,92 0,83	4,46 1,90	1,99 0,82	4,68 1,15	5,40 0,71	16,71 9,17	9,95 3,35	2,66 0,79	45,80 12,76	2,05 0,31	0,86 0,20	0,87 0,18
[F <sup>18</sup> ]FMISO	Error estándar de la media	4,45 0,14	5,12 0,05	4,41 0,05	5,84 0,15	4,17 0,34	5,76 0,06	13,76 1,51	12,92 1,25	8,52 1,79	3,80 0,08	34,98 5,09	4,71 0,09	1,06 0,02	1,24 0,01

Tabla 5

		Sangre	Corazón	Pulmón	Hígado	Estómago	Intestino delgado	Intestino grueso	Vesícula biliar	Riñón	Músculo	Orina	Tumor	T/S	T/M
Compuesto 1	Error estándar de la media	0,75 0,14	1,90 0,21	0,89 0,14	4,31 2,79	0,88 0,03	2,78 0,24	2,37 0,65	8,21 0,78	2,91 0,86	0,84 0,09	77,76 3,85	1,65 0,08	2,47 0,45	2,03 0,18
Compuesto 2	Error estándar de la media	0,25 0,01	0,74 0,12	0,34 0,02	0,54 0,04	0,25 0,03	1,63 0,12	0,88 0,12	7,33 2,28	0,82 0,05	0,47 0,05	90,92 0,24	0,78 0,02	3,18 0,06	1,68 0,10
Compuesto 3	Error estándar de la media	1,14 0,55	1,82 0,97	1,38 0,73	2,13 1,17	1,26 0,68	3,66 1,16	6,89 1,58	15,45 3,95	9,20 7,68	1,44 0,66	68,78 14,09	1,93 0,49	2,11 0,43	1,62 0,31
[F <sup>18</sup> ]FMISO	Error estándar de la media	2,26 0,16	3,33 0,38	2,69 0,27	3,85 0,34	1,85 0,38	4,63 0,36	21,16 1,79	43,43 29,12	3,89 0,57	2,29 0,18	41,45 2,15	4,28 0,19	1,91 0,07	1,88 0,07

Los anteriores resultados sugieren que el compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo puede proporcionar una imagen que refleja con gran contraste un estado hipóxico dentro de un tumor al cabo de un tiempo relativamente breve tras la administración.



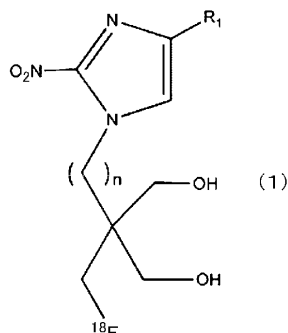
APLICABILIDAD INDUSTRIAL

El compuesto de la presente invención marcado con flúor radiactivo se puede aplicar en el campo de los agentes diagnósticos por imagen en la medicina nuclear.

5

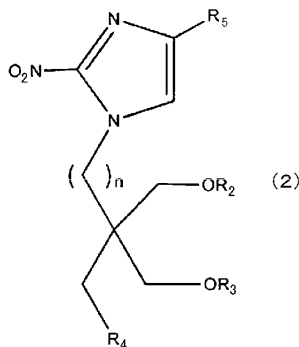
## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (1) o una sal del mismo,



de modo que en la fórmula (1)  $R_1$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o un grupo hidroximetilo y  $n$  es el número entero 1 o 2.

2. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (2) o una sal del mismo,



de modo que en la fórmula (2)  $R_2$  y  $R_3$  representan el mismo o distintos grupos protectores de hidroxilo, o bien  $R_2$  y  $R_3$  juntos representan un grupo protector del diol,  $R_4$  representa un halógeno no radiactivo, un grupo trialquilamonio de 3 a 12 átomos de carbono, un grupo alquilsulfonilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo haloalquilsulfonilo de cadena lineal o ramificada de 1 a 10 átomos de carbono, un grupo arilsulfonilo sustituido o no sustituido o un grupo dialquilsulfonio de 2 a 8 átomos de carbono,  $R_5$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o  $-CH_2OR_6$ ,  $R_6$  representa un grupo protector de hidroxilo y  $n$  es el número entero 1 o 2.

3. El compuesto según la reivindicación 2, en el cual  $R_2$  y  $R_3$  juntos representan un grupo metileno, un grupo 1-metiletan-1,1-diilo, un grupo etan-1,1-diilo o un grupo 1-fenilmetan-1,1-diilo, dando lugar a la formación de un anillo de 1,3-dioxano.

4. El compuesto según la reivindicación 2 o 3, en el cual  $R_4$  es un átomo de bromo o de yodo no radiactivo o un grupo p-toluensulfonilo.

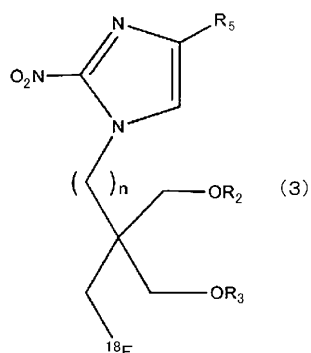
5. Composición farmacéutica radiactiva que comprende el compuesto según la reivindicación 1 o una sal del mismo.

6. La composición farmacéutica radiactiva según la reivindicación 5, que se usa para obtener imágenes de una región hipóxica.

7. La composición farmacéutica radiactiva según la reivindicación 5 o 6, que se usa para obtener imágenes de un tumor.

8. Método para producir el compuesto representado por la fórmula (1) o una sal del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, a partir del compuesto representado por la fórmula (2) o una sal del mismo, de acuerdo con la reivindicación 2.

9. El método según la reivindicación 8, que comprende una etapa de producción de un compuesto representado por la siguiente fórmula (3) o una sal del mismo, partiendo del compuesto representado por la fórmula (2) o una sal del mismo,



- 5 de modo que en la fórmula (3)  $R_2$  y  $R_3$  representan el mismo o distintos grupos protectores de hidroxilo, o bien  $R_2$  y  $R_3$  juntos representan un grupo protector de diol,  $R_5$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o  $-\text{CH}_2\text{OR}_6$ ,  $R_6$  representa un grupo protector de hidroxilo y  $n$  es el número entero 1 o 2, y una etapa de separación de los grupos protectores de hidroxilo independientes entre sí o del grupo protector de diol de  $R_2$  y  $R_3$  en la fórmula (3).

10

FIG. 1

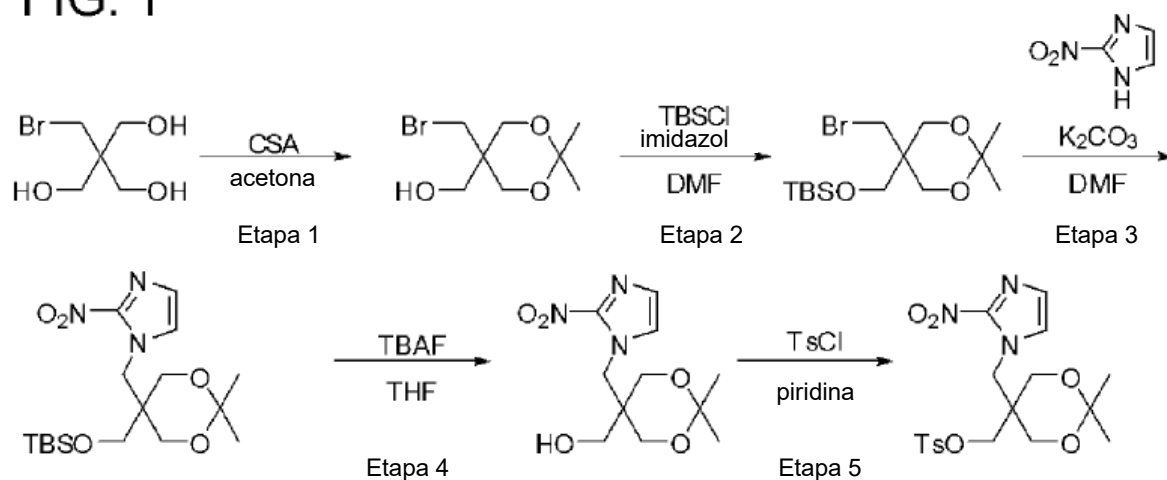


FIG. 2

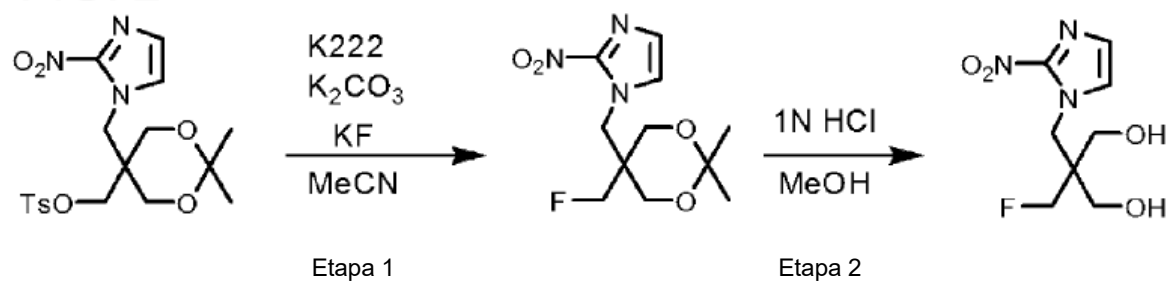


FIG. 3

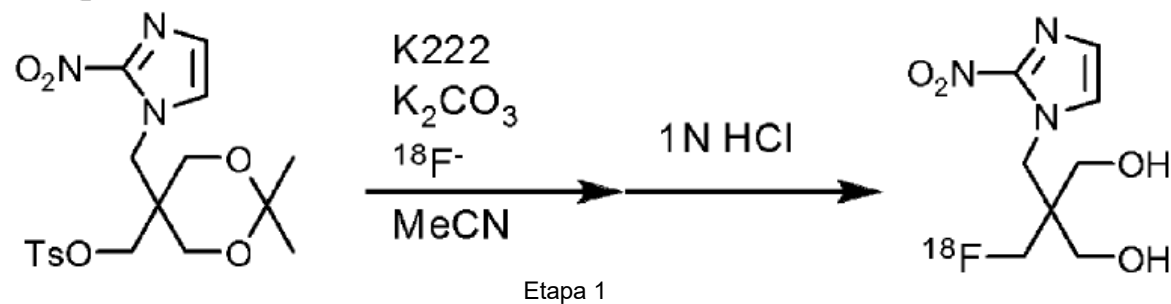


FIG. 4

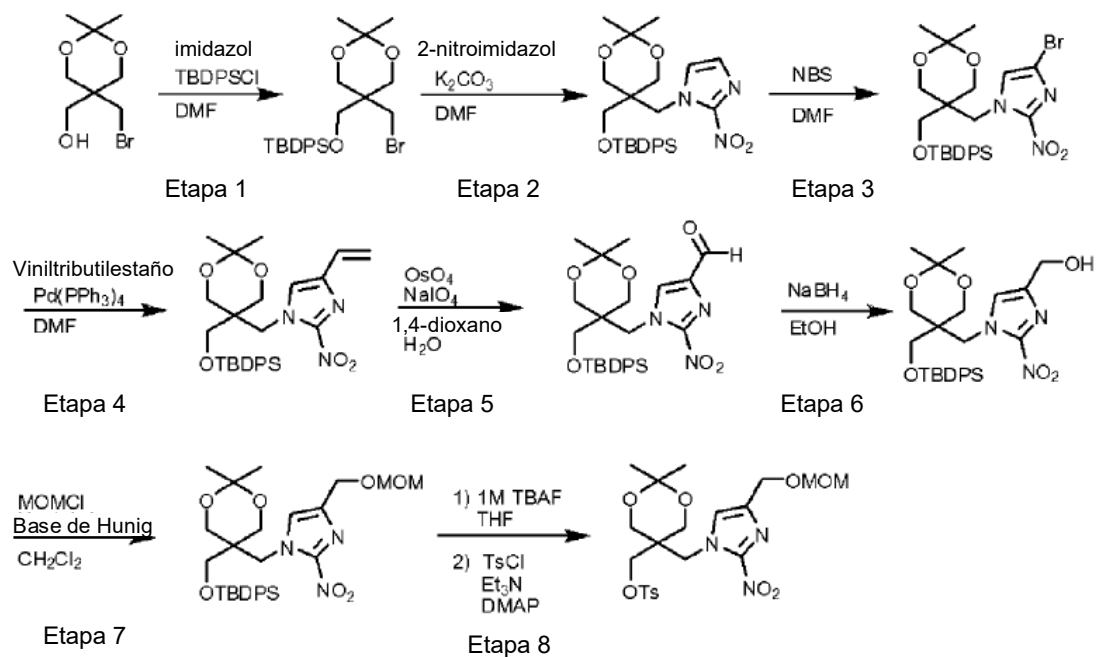


FIG. 5

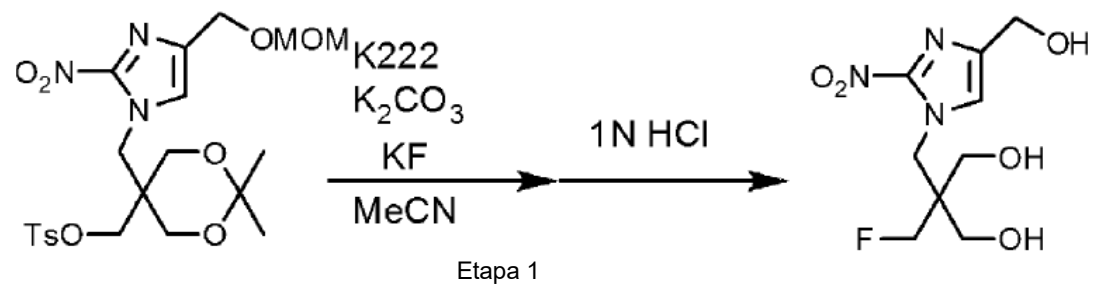


FIG. 6

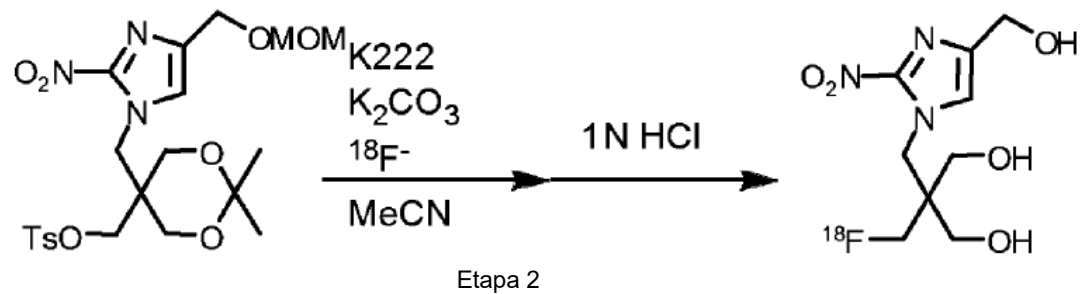


FIG. 7

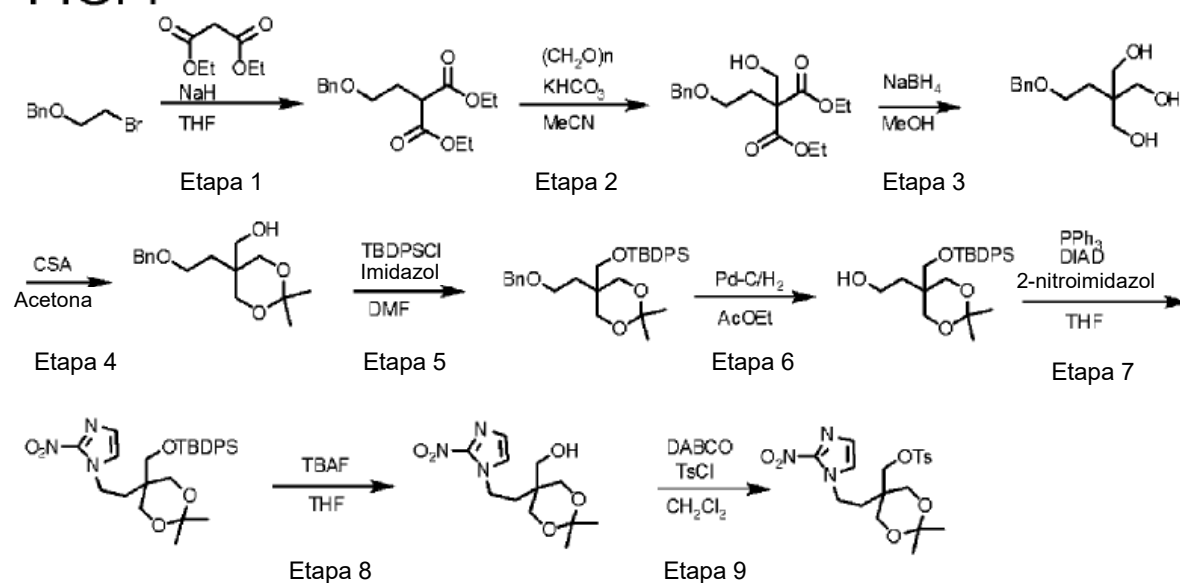


FIG. 8

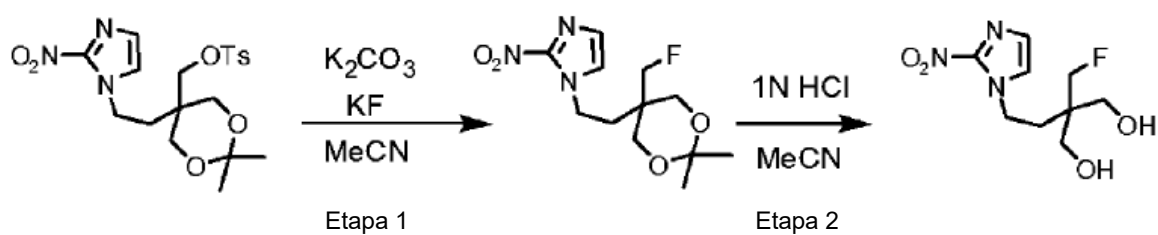


FIG. 9

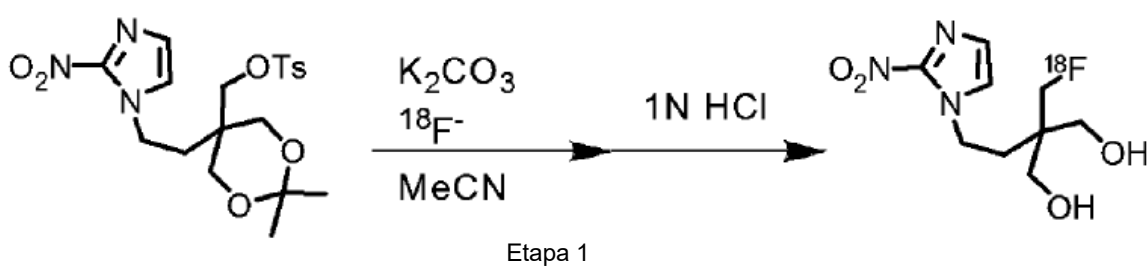


FIG. 10

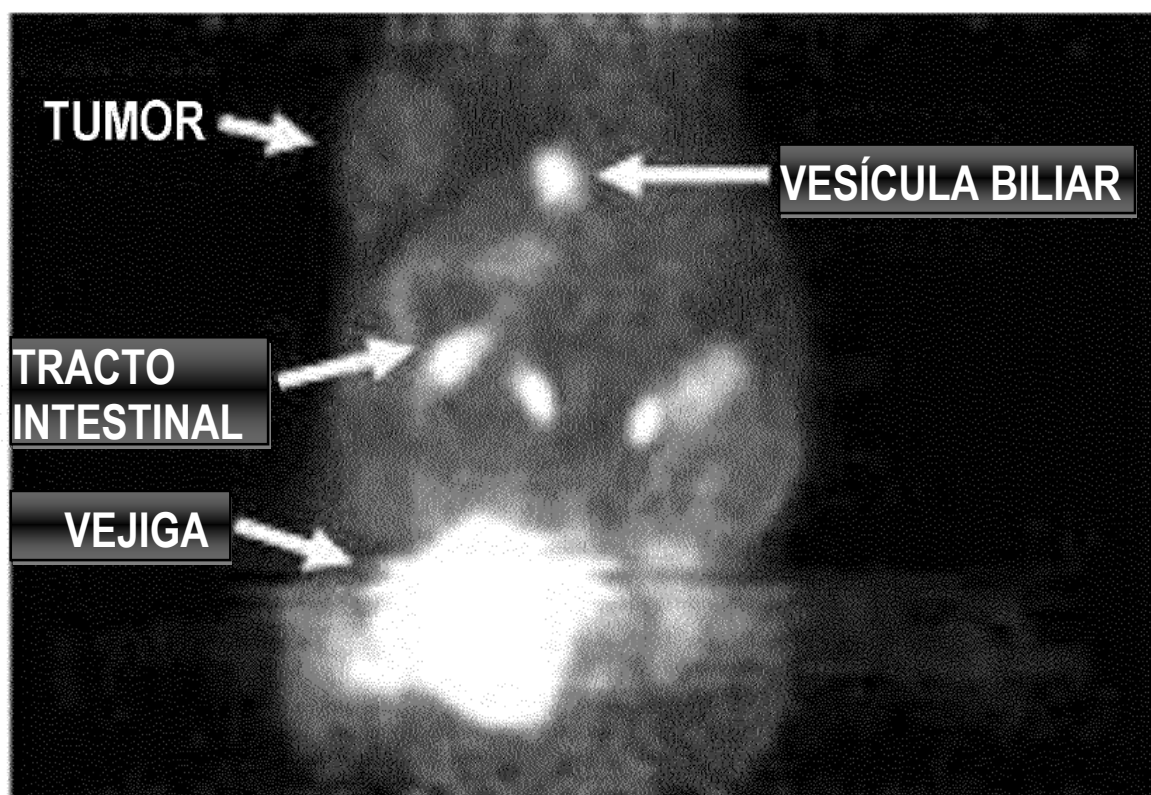


FIG. 11

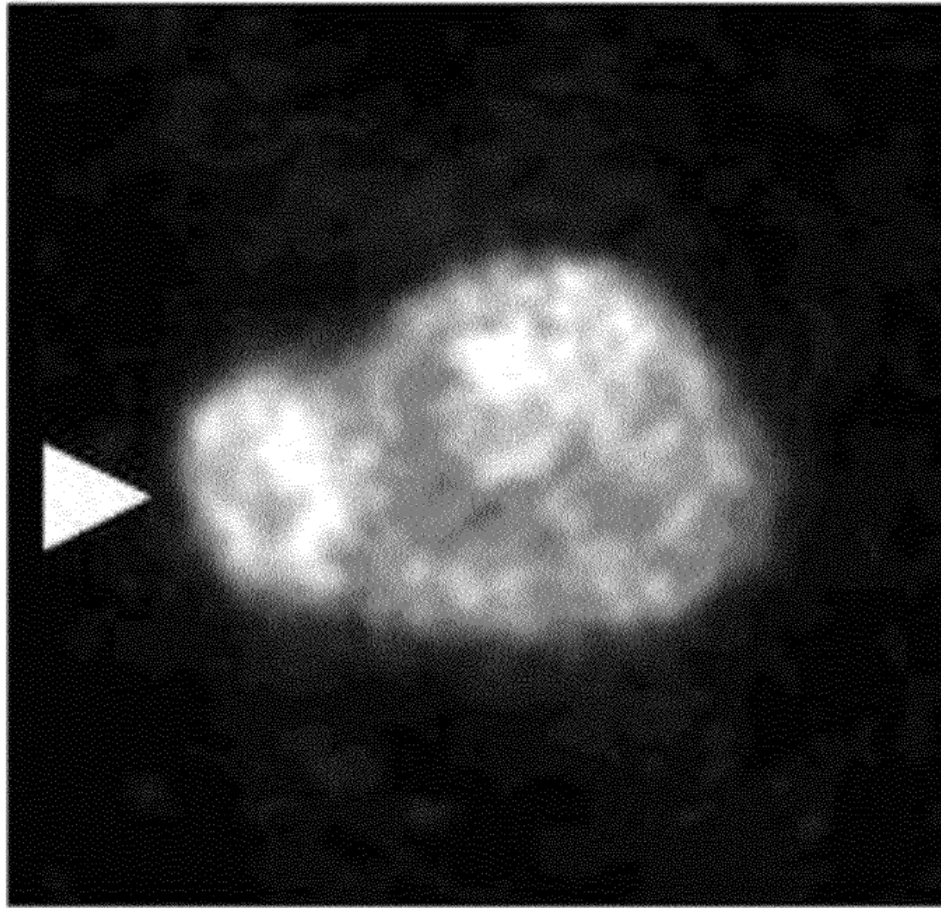


FIG. 12

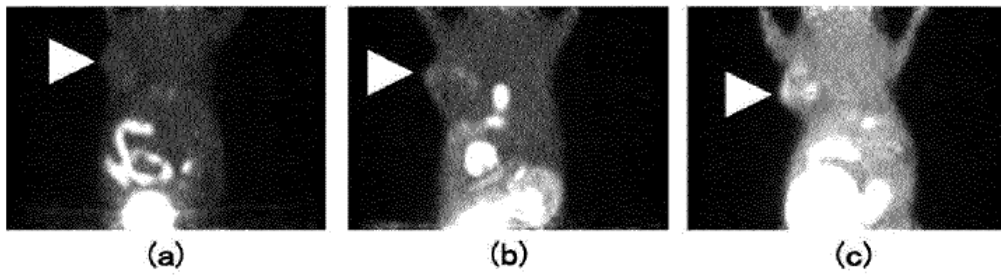


FIG. 13

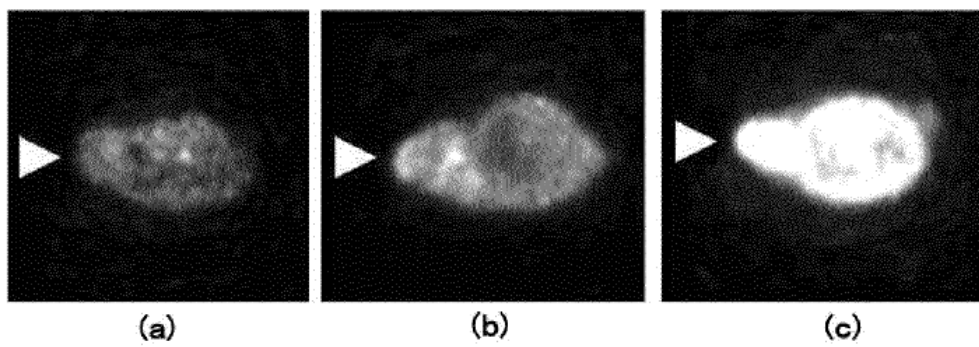
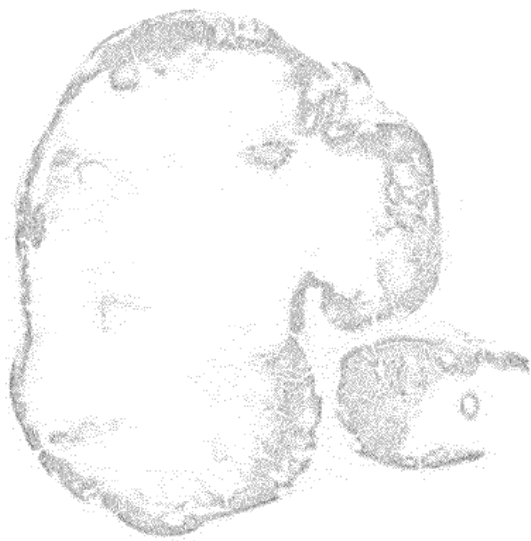
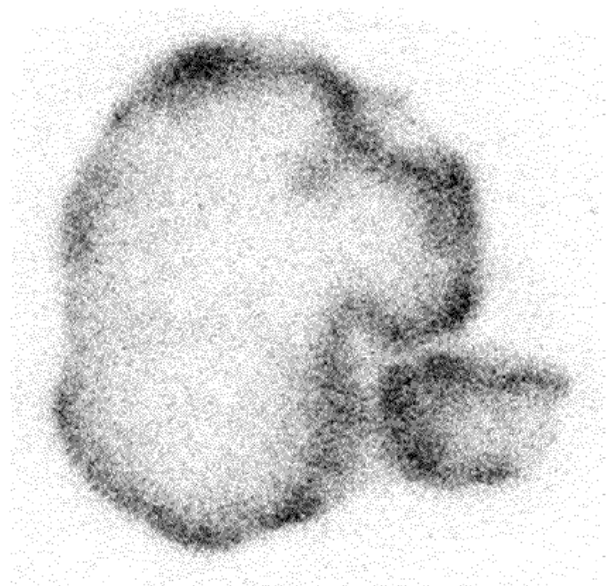




FIG. 14

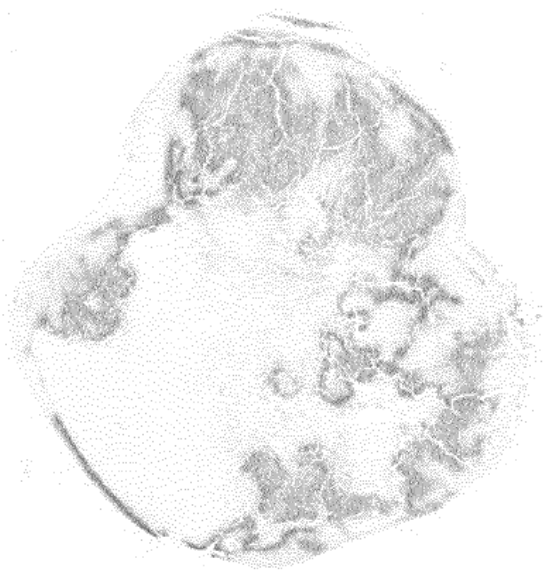


(a)

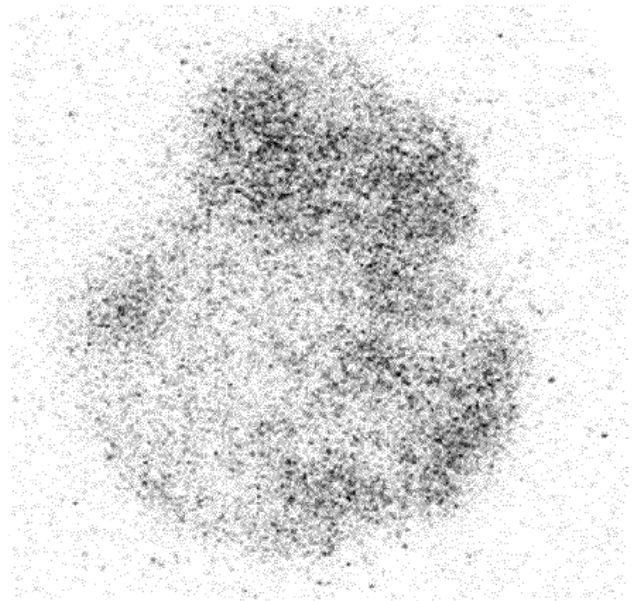


(b)

FIG. 15



(a)



(b)

FIG. 16

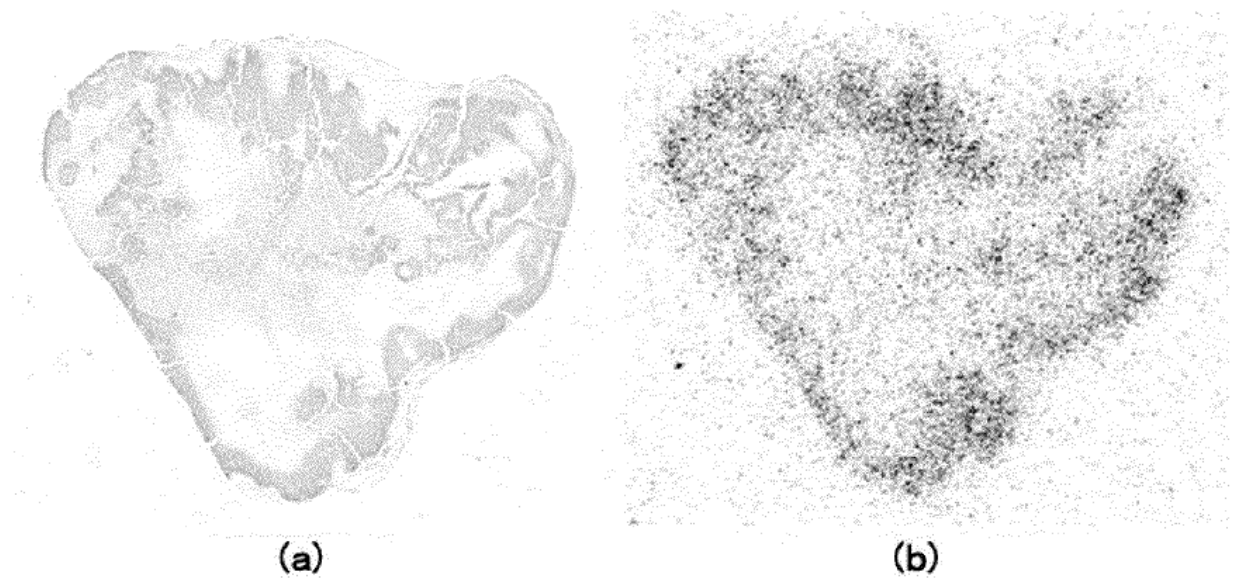


FIG. 17

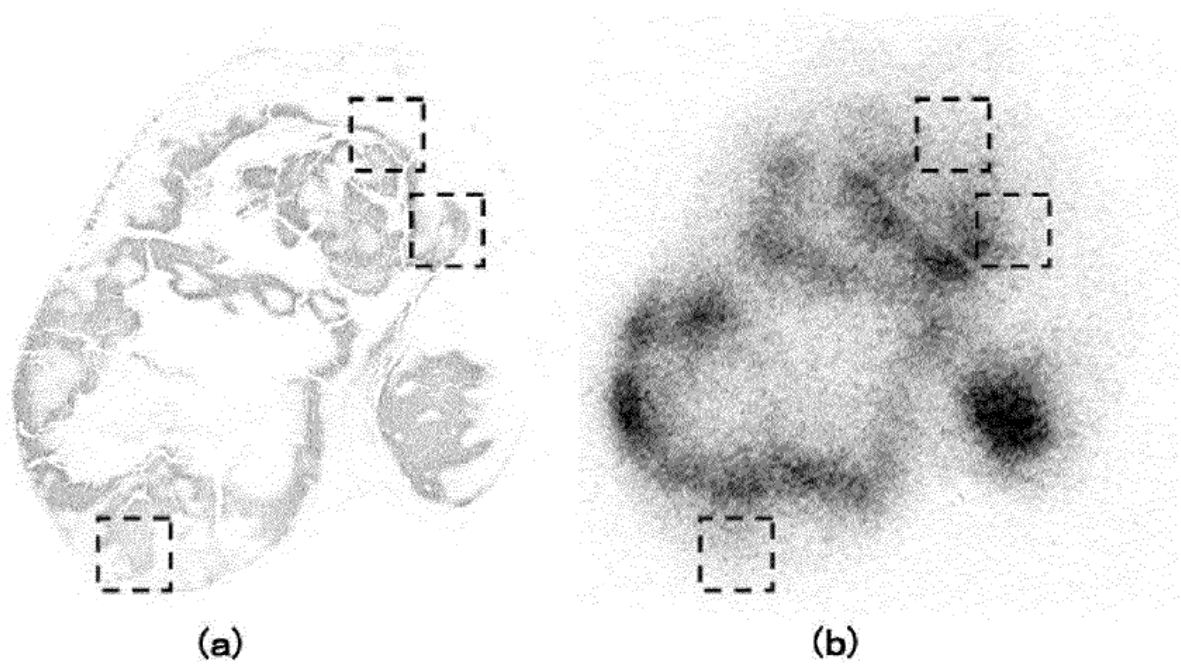


FIG. 18

