

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 577 709**

51 Int. Cl.:

C07D 403/06 (2006.01)

C07B 59/00 (2006.01)

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 51/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.04.2008 E 08745183 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2132200**

54 Título: **Agentes de nitroimidazol para imagenología de hipoxia**

30 Prioridad:

05.04.2007 US 921932 P

10.08.2007 US 964254 P

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

18.07.2016

73 Titular/es:

**THRESHOLD PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
170 Harbor Way, Suite 300
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**KOLB, HARTMUTH C;
WALSH, JOSEPH C.;
GANGADHARMATH, UMESH B.;
KARIMI, FARHAD;
PADGETT, HENRY CLIFTON;
KASI, DHANALAKSHMI;
GAO, ZHIYONG;
LIANG, QIANWA;
COLLIER, THOMAS LEE;
DUCLOS, BRIAN A. y
ZHAO, TIEMING**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 577 709 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

Agentes de nitroimidazol para imagenología de hipoxia

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos trazadores biorreducibles marcados radiactivamente, útiles para detectar *in vivo* células hipóxicas. En un aspecto, la presente solicitud se refiere a un nuevo agente para imagenología de hipoxia que presenta baja absorción de fondo, lo que conduce a buenos cocientes entre tumor y fondo.

Antecedentes de la invención

10 La tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés) es una tecnología de imagenología molecular que se utiliza eficazmente para la detección de enfermedades. Los sistemas de imagenología mediante PET crean imágenes basándose en la distribución de isótopos emisores de positrones en el tejido de un paciente. Los isótopos se administran típicamente a un paciente por inyección de moléculas sonda que comprenden un isótopo emisor de positrones, tal como F-18, C-11, N-13 u O-15, unido covalentemente a una molécula que se metaboliza o se ubica fácilmente en las células (por ejemplo, glucosa) o que se une químicamente a sitios de receptor dentro de las células. En algunos casos, al paciente se le administra el isótopo en forma de una disolución iónica o mediante inhalación. Una de las sondas para imagenología molecular mediante PET marcada con emisor de positrones más ampliamente utilizada es la 2-desoxi-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucosa ([¹⁸F]FDG).

15 La exploración mediante PET utilizando el análogo de glucosa [¹⁸F]FDG, que tiene como dianas principales los transportadores de glucosa y la hexoquinasa, constituye una herramienta clínica precisa para la detección temprana, la estadificación y la reestadificación del cáncer. También se utiliza la imagenología mediante PET-FDG para realizar el seguimiento de la quimioterapia y quimiorradioterapia del cáncer, ya que se ha demostrado que cambios tempranos en la utilización de la glucosa están correlacionados con las predicciones de pronóstico. Un rasgo característico de las células tumorales es su tasa de glucólisis acelerada, que es consecuencia de las elevadas demandas metabólicas de un tejido tumoral en rápida proliferación. Análogamente a la glucosa, la FDG es captada por las células cancerosas a través de transportadores de glucosa y es fosforilada por la hexoquinasa para dar FDG-6-fosfato. La FDG-6-fosfato no puede continuar más allá en la cadena de la glucólisis, ni salir de la célula debido a su carga, permitiendo que se detecten las células con altas tasas de glucólisis.

20 Aunque es útil en muchos contextos, existen también limitaciones en la imagenología mediante FDG-PET para el seguimiento del cáncer. La acumulación en el tejido inflamatorio limita la especificidad de la FDG-PET. A la inversa, la captación no específica de FDG también puede limitar la sensibilidad de la PET para predecir la respuesta tumoral. Se ha demostrado que reacciones de estrés celular inducidas por terapia provocan un aumento temporal en la captación de FDG en líneas celulares tumorales tratadas con radioterapia y fármacos quimioterapéuticos. Además, una actividad de fondo normal fisiológicamente elevada (por ejemplo, en el cerebro) puede hacer imposible en algunas zonas del cuerpo cuantificar la captación de FDG relacionada con el cáncer.

25 Debido a estas limitaciones, se están desarrollando otros trazadores para imagenología mediante PET con el fin de apuntar a otras transformaciones mediadas por enzimas en el tejido canceroso, tales como la 3'-[F-18]fluoro-3'-desoxitimidina (FLT) para la replicación del ADN y la [C-11](metil)colina para la colina-cinasa, así como la fijación a ligando de receptor con actividad específica ultra-elevada (por ejemplo, 16α[F-18]fluoroestradiol) y, potencialmente, la expresión génica (por ejemplo, [F-18]fluoro-ganciclovir). Los agentes dirigidos molecularmente han demostrado un gran valor potencial para la imagenología no invasiva mediante PET en cánceres.

30 Estos estudios han demostrado el gran valor de la imagenología no invasiva mediante PET para dianas metabólicas específicas de cáncer. A pesar de la clara utilidad clínica de la incorporación de la imagenología mediante PET en la gestión del paciente, existen limitaciones. En algunos casos, las sondas de imagenología actuales carecen de especificidad o bien presentan características inadecuadas de cociente entre señal y fondo. Además, las nuevas dianas biológicas que se están ensayando para la intervención terapéutica requerirán nuevas sondas de imagenología para evaluar su potencial terapéutico.

35 Por lo tanto, se necesitan biomarcadores adicionales que muestren una afinidad muy alta para dianas tumorales, y especificidad hacia las mismas, con el fin de apoyar el desarrollo de fármacos anticáncer y dotar a los proveedores de cuidados médicos de un medio para diagnosticar con precisión enfermedades y seguir su tratamiento. Tales sondas para imagenología podrían mejorar drásticamente el pronóstico para el paciente, permitiendo detectar tumores más pequeños mediante la inyección en el paciente de sólo cantidades nanomolares del trazador.

40 La capacidad de predecir cómo va a responder al tratamiento un tipo particular de cáncer es clave para el éxito clínico del tratamiento del cáncer. En el caso específico de los tumores, factores como el fenotipo, el tamaño y la ubicación del tumor afectan drásticamente a las decisiones de tratamiento terapéutico. Aunque se emplean regímenes estándares de quimio o radioterapia para tratar diversos tumores, determinados tipos de tumores se resisten a los regímenes terapéuticos estándares y, por tanto, pueden empeorar el pronóstico clínico de un paciente.

45 Debido a la naturaleza única del crecimiento celular canceroso, su naturaleza proliferativa puede ofrecer pistas para

su tratamiento terapéutico. Por ejemplo, debido al crecimiento rápido y desorganizado de los tumores cancerosos, a menudo éstos desarrollan una neovascularización desorganizada que conduce a entornos insuficientemente vascularizados (Wang, J. y L. Maurer, *Positron Emission Tomography: Applications in Drug Discovery and Drug Development*. Curr. Top. Med. Chem., 2005, 5: págs. 1053-1075). A su vez, los ambientes que están a una distancia de 100-200 μm de aportes sanguíneos pueden quedar hipóxicos, lo que se caracteriza por una pO_2 tisular inferior a 10 mm Hg. En respuesta a estas condiciones hipóxicas, la sobreexpresión de factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1) en el tumor conduce a la regulación al alza de varias proteínas necesarias para la supervivencia del tumor, entre ellas el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), la anhidrasa carbónica IX (CA-IX) y enzimas de glucólisis.

Los tumores hipóxicos son clínicamente problemáticos: resisten tanto a los efectos de la radioterapia por radiación como de la terapia con citotóxicos, lo que puede conducir al fracaso del tratamiento (Adams, G., *Hypoxia-mediated drugs for radiation and chemotherapy*. Cancer, 1981. 48: págs. 696-707; Moulder, J. y S. Rockwell, *Hypoxic fractions of solid tumors: experimental techniques, methods of analysis, and a survey of existing data*. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1984, 10: págs. 695-712; Nordsmark, M., M. Overgaard y J. Overgaard, *Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck*. Radiother. Oncol., 1996. 41: págs. 31-39). Además, se ha relacionado a células cancerosas hipóxicas con cánceres malignos conocidos por extenderse de manera invasiva en el paciente (Brizel, D.M. *et al.*, *Tumour oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma*. Cancer Res., 1996. 56: págs. 941-943; Höckel, M. *et al.*, *Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the cervix*. Cancer Res., 1996. 56: págs. 941-943). Varios tipos de cánceres humanos son bien conocidos por convertirse en hipóxicos, entre ellos el cáncer de mama, el cáncer cervical y el cáncer de pulmón no microcístico (Vaupel, P. *et al.*, *Oxygenation of human tumours: evaluation of tissue oxygen distribution in breast cancers by computerized O_2 tension measurements* Cancer Res., 1991, 51: págs. 3316-3322).

Dado que los tumores hipóxicos responden mal tanto a la radiación tradicional como a las terapias citotóxicas, existen varios enfoques alternativos para el tratamiento de las células cancerosas hipóxicas, entre ellos el O_2 hiperbárico, ARCON, radiosensibilizadores y agentes citotóxicos biorreductores (Seddon, B.M. y P. Workman, *The role of functional and molecular imaging in cancer drug discovery and development*. Brit. J. Radiol., 2003. 76: págs. S 128 - S 138). En este último ejemplo se reducen intracelularmente agentes biorreductores que contienen el quimiotipo nitroimidazol, formándose metabolitos aniónicos radicálicos que eventualmente quedan atrapados intracelularmente. En ambientes óxicos, el anión radical reacciona con O_2 y vuelve a su estado premetabolizado.

La confirmación de la hipoxia tumoral en pacientes es necesaria para planificar adecuadamente terapias de tratamiento basadas en la biorreducción. La determinación de la hipoxia tumoral a través de mediciones de las concentraciones de pO_2 dentro del tumor por medio de electrodos es un esfuerzo, como mínimo, poco práctico. Además, con esta técnica sólo es posible examinar tumores superficiales. Un método más general y menos invasivo para detectar la naturaleza hipóxica de las células cancerosas se basa en trazadores biorreducibles marcados radiactivamente, que se localizan dentro de las células hipóxicas de manera inversamente proporcional a su pO_2 celular.

Existen varios agentes imagenológicos biorreducibles que pueden detectar *in vivo* células hipóxicas, entre ellos [^{18}F]F-MISO (Rasey, J.S. *et al.*, *Determining the hypoxic fraction in a rat glioma by uptake of radiolabeled fluoromisonidazole*. Radiat. Res., 2000. 153: págs. 84-92; Bentzen, L. *et al.*, *Feasibility of detecting hypoxia in experimental mouse tumours with ^{18}F -fluorinated tracers and positron emission tomography: a study evaluating ^{18}F -Fluoromisonidazole and [^{18}F] Fluoro-2-deoxy-D-glucose*. Acta Oncol., 2000. 39: págs. 629-637), [^{18}F]F-EF1 (Hustinx, R. *et al.*, *Non-invasive assessment of tumor hypoxia with the 2-nitroimidazole ^{18}F -EF1 and PET*. J. Nucl. Med., 1999. 4: pág. 99P (resumen 401)), [^{18}F]F-FETNIM (Chao, K.S. *et al.*, *A novel approach to overcome hypoxic tumor resistance: Cu-ATSM-guided intensity-modulated radiation therapy*. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 2001. 49: págs. 1171-1182; Yang, D.J. *et al.*, *Development of ^{18}F -labeled fluoroerythronitronimidazole as a PET agent for imaging tumor hypoxia*. Radiology, 1995. 194: págs. 795-800; Gronroos, T. *et al.*, *Pharmacokinetics of [^{18}F]F-FETNIM. A potential hypoxia marker for PET*. J. Nucl. Med., 2001. 42: págs. 1397-1404), [^{18}F]FRP-170 (Ishikawa, Y. *et al.*, *Development of [^{18}F]FRP-170 injection for imaging hypoxia by PET*. Kaku Igaku, 2005. 42: págs. 1-10) y [^{62}Cu]ATSM (Fujibayashi, Y. *et al.*, *Copper-62-ATSM - a new hypoxia imaging agent with high membrane permeability and low redox potential*. J. Nucl. Med., 1997. 38: págs. 1155-1160).

Uno de los marcadores de hipoxia más estudiados clínicamente es [^{18}F]F-MISO, el análogo fluorado del radiosensibilizador de células hipóxicas misonidazol. [^{18}F]F-MISO identifica con éxito tumores hipóxicos en pacientes, pero su difusión lenta en tumores hipóxicos requiere mayores tiempos de captación antes de la toma de imágenes y, además, la elevada absorción de fondo conduce a bajos cocientes tumor/fondo. Como alternativa, varios grupos han preparado nitroimidazoles con menor carácter lipófilo en un intento de elevar el cociente tumor/fondo mediante el incremento del arrastre del trazador por lavado fuera del tejido normóxico.

El documento WO 96/04249 describe una serie de análogos fluorados de 2-nitroimidazol de los que se reivindica que son útiles para detectar células tumorales hipóxicas.

Aunque estos agentes para imagenología de hipoxia son clínicamente prometedores, existe una necesidad no satisfecha de trazadores para hipoxia que posean perfiles farmacocinéticos mejorados que lleven a cocientes

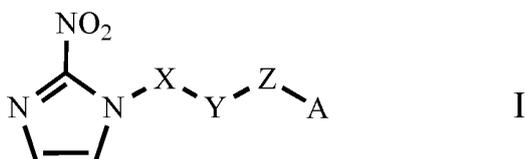
máximos entre señal y ruido en períodos más breves, a fin de conseguir evaluaciones de hipoxia más rápidas y potencialmente más precisas.

Compendio de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos agentes para imagenología de hipoxia que presentan baja absorción de fondo, lo que conduce a elevados cocientes tumor/fondo. Más específicamente, la presente invención se refiere a nuevos agentes para imagenología de hipoxia basados en 2-nitroimidazol que presentan un rápido aclaramiento, predominantemente renal, lo que conduce a una captación de fondo reducida, una captación abdominal reducida y en general a elevados cocientes tumor/fondo.

10 La presente invención se refiere a nuevos trazadores biorreducibles marcados radiactivamente, útiles para detectar *in vivo* tumores hipóxicos. En una realización, los marcadores constan de un resto de 2-nitroimidazol, un enlazador metabólicamente estable, de triazol, con sustituyentes mejoradores de la farmacocinética, y un radioisótopo adecuado para la imagenología mediante tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT, por sus siglas en inglés) o tomografía por emisión de positrones (PET). La modalidad de imagenología *in vivo* preferida es la tomografía por emisión de positrones. Dado que las células hipóxicas resisten a las terapias con citotóxicos y con radiación y poseen asimismo una mayor propensión hacia la proliferación y la propagación a tejidos vecinos, una evaluación precisa de la naturaleza hipóxica del cáncer de un paciente puede guiar y afectar en gran medida al régimen terapéutico y al pronóstico.

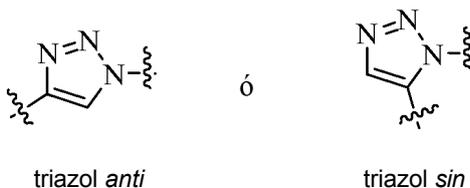
En un aspecto, se proporciona un compuesto que comprende la fórmula I:



20 en donde:

X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;

25 cada X¹ es, de manera independiente, hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo o halo;
 Y es un triazolilo de fórmula;



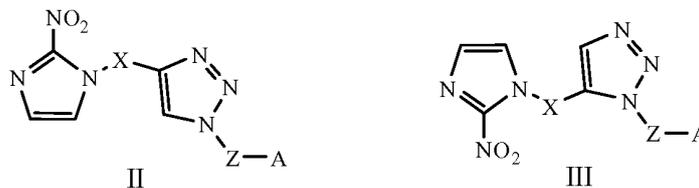
30 Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR", -NR"CO-, -NR"-, -O- y -S-, y en donde el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;

A es un elemento radiactivo; y R' y R" son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente, del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)).

En una variación de lo anterior, X es un grupo alquilenilo(C₁-C₄) opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos hidroxilo o bien 1, 2 o 3 grupos -NH₂ o -NH(alquilo(C₁-C₄)). En otra variación, X se selecciona del grupo consistente en

40 -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-, -CH(OH)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH(OH)- y -CH₂-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-. En una variación particular, X se selecciona del grupo consistente en -CONR', -(alquilo(C₁-C₄))CONR', -CONR'(alquilo(C₁-C₄)), -(alquilo(C₁-C₄))CONR'(alquilo(C₁-C₄)), en donde R' es H o alquilo(C₁-C₃). En una variación particular del compuesto anterior, A es ¹¹C.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula II o III



en donde X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR'-, -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;

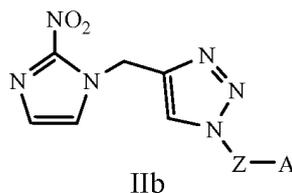
cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo;

Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR"-, -NR"CO-, -NR"-, -O- y -S-, está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;

A es un elemento radiactivo; y

R' y R" son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente, del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)).

En una realización particular, se proporciona un compuesto que comprende la fórmula IIb:



en donde:

Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR", -NR"CO-, -NR"-, -O- y -S-, y el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;

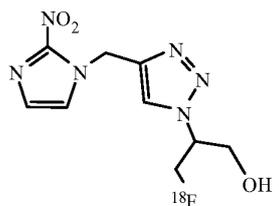
R" es H o bien se selecciona del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃));

cada X¹ es, de manera independiente, hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo o halo; y A es un elemento radiactivo.

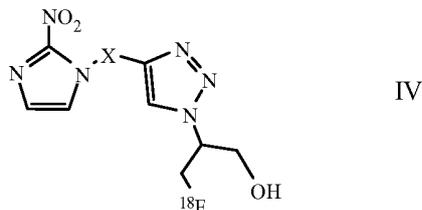
En una variación particular de acuerdo con cada uno de lo anterior, Z es un grupo alquilenilo (C₁-C₄) opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos seleccionados, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo(C₁-C₄), alcoxi(C₁-C₄), tioalquilo(C₁-C₄) y halo. En una variación del compuesto anterior, Z se selecciona del grupo consistente en

-CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-, -CH(OH)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-CH₂-, -CH(CH₂OH)-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH(OH)- y -CH₂-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-.

En una variación de acuerdo con cada uno de lo anterior, A es ¹⁸F u ¹¹C-Me. En una variación particular de lo anterior, A es ¹⁸F. En una variación de lo anterior, se proporciona un compuesto de fórmula:



En otra realización, se proporciona un compuesto que comprende la fórmula IV:



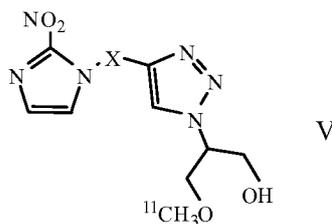
en donde:

5 X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR'-, -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;

10 R' es H o bien se selecciona del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)); y cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tior, amino, alquilo(C₁-C₄), alcoxi(C₁-C₄), tioalquilo(C₁-C₄) y halo.

15 En una variación particular del compuesto anterior, X es alquilenilo(C₁-C₅), sin sustituir o sustituido con 1 o 2 X¹, o en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CONR'- o -NR'CO-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido, sin sustituir o sustituido con 1, 2 o 3 X¹, en donde X¹ es -OH o NH₂.

En otra realización, se proporciona un compuesto que comprende la fórmula V:

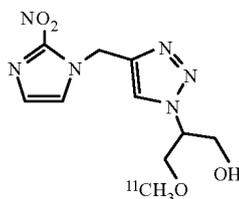


en donde:

20 X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR'-, -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;

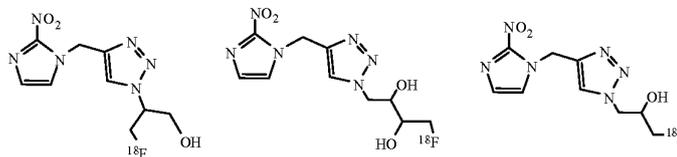
25 R' es H o bien se selecciona del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)); y cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tior, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo.

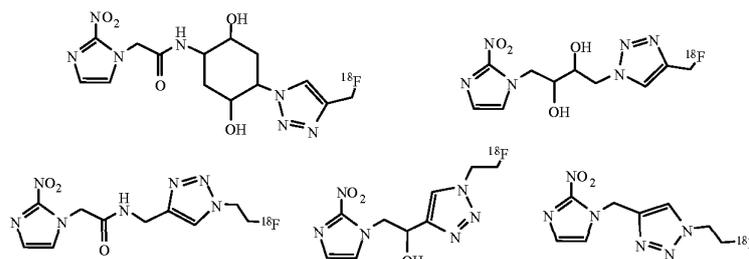
En una variación particular de lo anterior, se proporciona un compuesto que comprende la fórmula



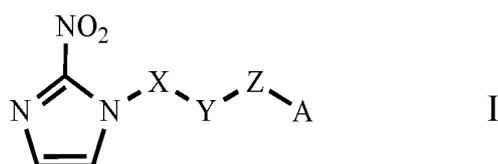
30

En otro aspecto de los compuestos anteriores, se proporcionan los siguientes compuestos:

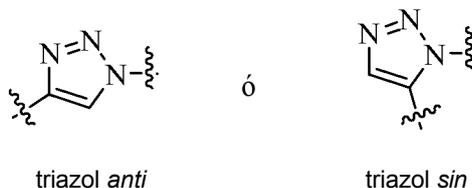




En otra realización, se proporciona un método para detectar hipoxia en células, que comprende: a) administrar a un mamífero un compuesto de fórmula I:



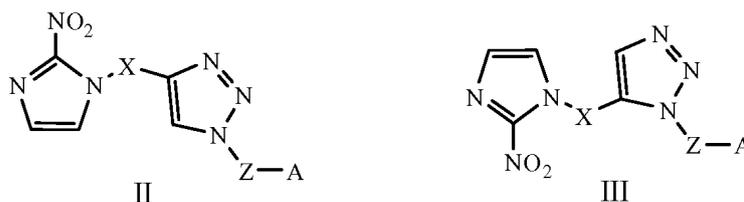
- 5 en donde X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;
- 10 cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo;
- Y es un triazolilo de fórmula;



- 15 Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, y en donde el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;
- A es un elemento radiactivo; y
- R' y R'' son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente,
- 20 del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)); y
- b) detectar mediante PET la presencia de elemento radioactivo retenido en células hipóxicas del mamífero.

- En una variación particular del método anterior, X es un grupo alquilenilo(C₁-C₄) opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos hidroxilo o bien 1, 2 o 3 grupos -NH₂ o -NH(alquilo(C₁-C₄)). En otra variación de lo anterior, X se selecciona del grupo consistente en -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-, -CH(OH)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH(OH)- y -CH₂-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-. En otra variación del método anterior, X se selecciona del grupo consistente en
- 25 -CONR', -(alquilo(C₁-C₄))CONR', -CONR'(alquilo(C₁-C₄))- y -(alquilo(C₁-C₄))CONR'(alquilo(C₁-C₄)), y en donde R' es H o alquilo(C₁-C₃).

En una variación particular del método anterior, el compuesto tiene la fórmula II o III



- 30 en donde: X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un

cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;

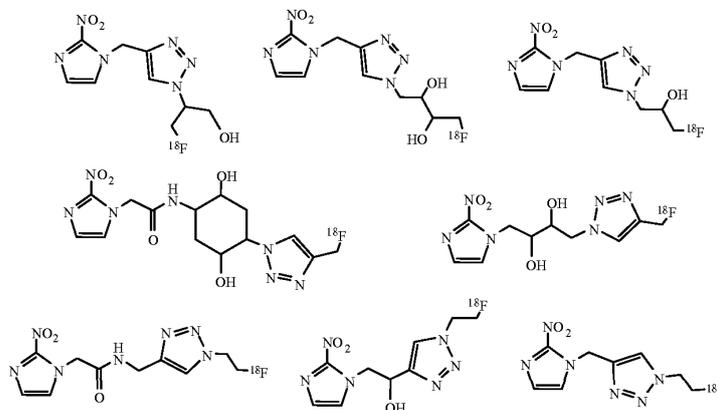
cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo;

5 Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR[']-, -NR[']CO-, -NR[']-, -O- y -S-, y el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;

10 A es un elemento radiactivo; y R['] y R['] son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente, del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)).

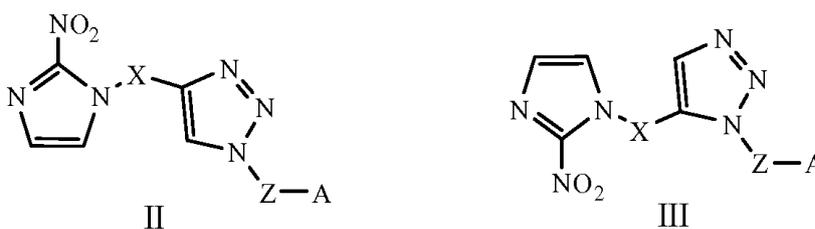
En una variación del método anterior, el compuesto tiene la fórmula II. En otra variación de cada uno de los métodos anteriores, Z es grupo alquilenilo(C₁-C₄) opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos hidroxilo o bien 1, 2 o 3 grupos hidroxialquilo(C₁-C₄). En una variación particular del método anterior, Z se selecciona del grupo consistente en -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-, -CH(OH)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-CH₂-, -CH(CH₂OH)-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH(OH)- y -CH₂-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-. En una variación particular de cada uno de los métodos anteriores, A es ¹⁸F u ¹¹C-Me. En otra variación particular del método, A es ¹⁸F.

En una variación del método anterior, el compuesto comprende la fórmula:



20 En un aspecto particular del método anterior, las células hipóxicas son células tumorales o células isquémicas.

En otra realización se proporciona un método para preparar un compuesto de fórmula II o III, o una mezcla de los mismos:



25 en donde X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR[']-, -NR[']CO-, -NR[']-, -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;

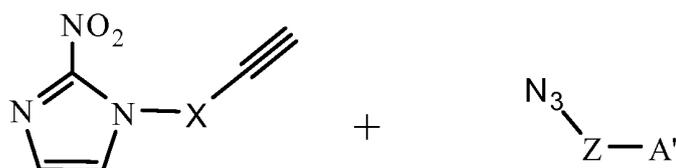
30 cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo;

Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR[']-, -NR[']CO-, -NR[']-, -O- y -S-, y el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;

A es un elemento radiactivo; y

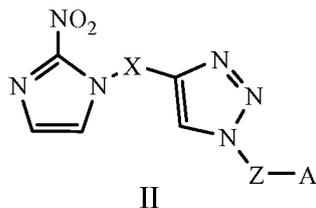
35 R['] y R['] son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente, del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)); comprendiendo el método:

a) tratar un compuesto sustituido con azida A[']-Z-N₃ con un nitroimidazol sustituido con acetileno, en donde A['] es un grupo eliminable; y



b) marcar radiactivamente el producto del paso a) mediante el desplazamiento de A' con un agente de radiomarcage, para formar el compuesto II o III o una mezcla de los mismos, en donde A es, o bien ^{18}F o bien ^{11}C .

En una variación de lo anterior, el compuesto tiene la fórmula



5

En una variante particular del método anterior, el agente de radiomarcage es K^{18}F .

En los dibujos

Figura 1. Biodistribución de Compuesto 1 en ratón blanco macho 120 minutos tras la inyección IV (200 μl de una disolución 5 mM).

10 Descripción detallada de la invención

Se describirá ahora con más detalle la presente invención en lo que sigue. Sin embargo, esta invención se puede realizar de muchas formas diferentes y no debe interpretarse como limitada a las realizaciones expuestas en la presente memoria; antes bien, estas realizaciones se ofrecen para que la presente descripción sea minuciosa y completa, y transmita completamente el alcance de la invención a los expertos en la técnica.

15 Los nuevos compuestos descritos en la presente memoria contienen el núcleo requerido de 2-nitroimidazol que es necesario para obtener imágenes de tumores hipóxicos. Mecánicamente, la biorreducción intracelular en condiciones hipóxicas modifica el núcleo de 2-nitroimidazol que luego experimenta localización mediada covalentemente dentro de la célula. En condiciones óxicas, el nitroimidazol biorreducido vuelve a su estado nativo y se difunde libremente dentro y fuera de la célula.

20 Los nuevos compuestos descritos en la presente memoria también presentan propiedades farmacocinéticas favorables para la obtención de imágenes. Los compuestos poseen propiedades de aclaramiento favorables a través de la excreción renal, mostrando así una menor absorción en las regiones hepáticas e intestinales. Estos compuestos también se aclaran rápidamente de la sangre y el tejido muscular, lo que conduce a cocientes tumor/fondo deseables. Además, estas propiedades de aclaramiento favorables se traducen en cocientes tumor/fondo máximos en un punto temporal más temprano que el del "patrón oro" [^{18}F]F-MISO. Estos marcadores son sumamente selectivos para tumores hipóxicos en comparación con tumores no hipóxicos. En ratones y ratas con xenoinjerto, el trazador se localiza preferentemente dentro de tumores hipóxicos y, en la mayoría de los casos, con cocientes entre tumor y fondo superiores a 2:1.

30 Esta clase de compuestos parece ser benigno a nivel celular ya que, por ejemplo, el Compuesto 1 no presenta efectos citotóxicos ni en células humanas normales ni en células cancerosas a concentraciones hasta 10.000 nM.

Definiciones

En la presente memoria, las formas singulares "un", "una", "el" incluyen los referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

35 "Alquilo" se refiere a una cadena de hidrocarburo, con una longitud que abarca típicamente de aproximadamente 1 a 20 átomos. Estas cadenas de hidrocarburo pueden ser ramificadas o de cadena lineal, aunque típicamente se prefiere la cadena lineal. Los grupos alquilo ilustrativos incluyen etilo, propilo, butilo, pentilo, 1-metilbutilo, 1-etilpropilo, 3-metilpentilo y similares. En la presente memoria, "alquilo" incluye cicloalquilo cuando se hace referencia a tres o más átomos de carbono.

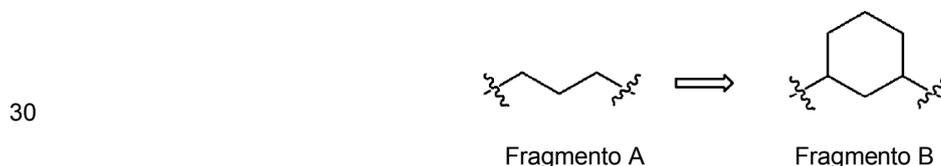
40 "Alquilenilo" se refiere a una cadena de hidrocarburo, con una longitud que abarca típicamente de aproximadamente 1 a 20 átomos o de 1 a 10 átomos de carbono, que está unida divalentemente a dos grupos diferentes. Estas cadenas de hidrocarburo pueden ser ramificadas o de cadena lineal. Los grupos alquilenilo ilustrativos incluyen etilenilo, propilenilo, iso-propilenilo, butilenilo, iso-butilenilo, pentilenilo, 1-metilbutilenilo, 1-etilpropilenilo,

3-metilpentilenilo y similares, en donde los enlaces divalentes pueden estar en cualquiera de los átomos de carbono del grupo alquilenilo, o como se indique específicamente. En la presente memoria, "alquilenilo" incluye también cicloalquilenilo cuando se hace referencia a tres o más átomos de carbono.

5 "Ariilo" significa uno o más anillos aromáticos, cada uno con 5 o 6 átomos de carbono de núcleo. Ariilo incluye múltiples anillos de ariilo que pueden estar condensados, como en naftilo, o sin condensar, como en bifenilo. Los anillos de ariilo también pueden estar o no condensados con uno o más anillos de hidrocarburo cíclico, de heteroarilo o heterocíclicos. En la presente memoria, "arilo" incluye heteroarilo.

10 Una "diana biológica" puede ser cualquier molécula biológica implicada en rutas biológicas asociadas con cualquiera de diversas enfermedades y afecciones, entre ellas cáncer (por ejemplo, leucemia, linfomas, tumores cerebrales, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer gástrico, así como cáncer de piel, cáncer de vejiga, cáncer de hueso, cáncer cervical, cáncer de colon, cáncer esofágico, cáncer de ojo, cáncer de vesícula biliar, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer laríngeo, cáncer oral, cáncer ovárico, cáncer pancreático, cáncer de pene, tumores glandulares, cáncer rectal, cáncer de intestino delgado, sarcoma, cáncer testicular, cáncer de uretra, cáncer uterino y cáncer vaginal), diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, enfermedades del sistema digestivo, enfermedades infecciosas, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias y similares. Las rutas biológicas ilustrativas incluyen, por ejemplo, la regulación del ciclo celular (por ejemplo, la proliferación celular y la apoptosis), la angiogénesis, rutas de señalización, rutas de supresores de tumores, de inflamación (COX-2), de oncogenes y de receptores de factores de crecimiento. A la diana biológica también se la puede denominar "biomacromolécula diana" o "biomacromolécula".
15 La diana biológica puede ser un receptor, por ejemplo receptores de enzimas, canales iónicos con puertas de ligando, receptores acoplados a proteína G y factores de transcripción. La diana biológica es, preferiblemente, una proteína o complejo proteico, por ejemplo enzimas, proteínas de transporte de membrana, hormonas y anticuerpos.

20 "Átomos contiguos" significa átomos que son adyacentes entre sí. Por ejemplo, la frase "2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈)" significa que los 2, 3 o 4 átomos adyacentes de un grupo alquilenilo o un enlazador, por ejemplo, forman parte de un cicloalquilo(C₃-C₈) o de un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈). Por ejemplo, para los 3 átomos de carbono contiguos representados en el fragmento "A" a continuación, cuando los átomos forman un grupo cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir tal como un grupo ciclohexilo, el fragmento puede aparecer como se muestra en el "Fragmento B".



"Cicloalquilo" se refiere a una cadena de hidrocarburo cíclico saturado, parcialmente insaturado o insaturado, con inclusión de anillos con puente, condensados o espirocíclicos, preferiblemente compuesto de 3 a aproximadamente 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 3 a 8 átomos de carbono.

35 "Heteroarilo" es un grupo ariilo que contiene de uno a cuatro heteroátomos, preferiblemente N, O o S, o una combinación de los mismos. Los anillos de heteroarilo también pueden estar condensados con uno o más anillos de hidrocarburo cíclico, heterocíclicos, de ariilo o de heteroarilo.

40 "Heterociclo" o "heterocíclico" significa uno o más anillos de 3-12 átomos, preferiblemente 5-7 átomos, con o sin insaturación o carácter aromático, y que tienen al menos un átomo de anillo que no es un carbono. Los heteroátomos preferidos incluyen azufre, oxígeno y nitrógeno.

En la presente memoria, "grupo eliminable" se refiere a grupos que son desplazados fácilmente, por ejemplo mediante un nucleófilo, tal como una amina, un tiol o un nucleófilo de alcohol o su sal. Tales grupos eliminables son bien conocidos e incluyen, por ejemplo, carboxilatos, N-hidroxisuccinimida, N-hidroxibenzotriazol, haluros, triflatos, tosilatos, nosilatos, -OR y -SR y similares.

45 En la presente memoria, "enlazador" se refiere a una cadena que comprende 1 a 10 átomos y que puede comprender 1, 2 o 3 átomos o grupos tales como C, -NR-, O, S, -S(O)-, -S(O)₂-, CO, -C(NR)- y similares, adyacentes o no adyacentes, y en donde R es H o está seleccionado del grupo consistente en alquilo(C₁₋₁₀), cicloalquilo(C₃₋₈), aril(alquilo(C₁₋₅)), heteroaril(alquilo(C₁₋₅)), amino, ariilo, heteroarilo, hidroxilo, alcoxi(C₁₋₁₀), ariloxi, heteroariloxi, cada uno sustituido o sin sustituir. Es decir, por ejemplo, el enlazador puede comprender los grupos: -CH₂-, -CH₂-CH₂-,
50 -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-NHC(O)-CH₂-,
-CH₂-C(O)NH-CH₂-, -CH₂-C(O)-CH₂-, etc. La cadena de enlazador puede comprender también parte de un anillo saturado, insaturado o aromático, con inclusión de anillos policíclicos y heteroaromáticos. En cierto aspecto de los compuestos de la presente solicitud, las variables X y Z pueden ser el enlazador o la cadena enlazadora. En la presente memoria se utiliza la representación de "alquilo(C₁₋₃)", por ejemplo, de forma intercambiable con "alquilo

C₁-C₄" para significar lo mismo.

Los términos "paciente" y "sujeto" se refieren a cualquier sujeto humano o animal, en particular con inclusión de todos los mamíferos.

5 En la presente memoria, se pretende que "producto radioquímico" abarque cualquier compuesto orgánico, inorgánico u organometálico que comprenda un isótopo radiactivo enlazado covalentemente, cualquier disolución iónica radiactiva inorgánica (por ejemplo, disolución iónica de Na[¹⁸F]F) o cualquier gas radiactivo (por ejemplo, [¹¹C]CO₂), en particular con inclusión de sondas radiactivas para imagenología molecular destinadas a la administración a un paciente (por ejemplo, mediante inhalación, ingestión o inyección intravenosa) con el fin de obtener imágenes de tejidos, a los que también se les denomina en la técnica radiofármacos, radiotrazadores o radioligandos. Aunque la presente invención está orientada principalmente a la síntesis de sondas para imagenología molecular emisoras de positrones, para uso en sistemas de imagenología mediante PET, la invención se podría adaptar fácilmente a la síntesis de cualquier compuesto radiactivo que comprendiese un radionúclido, con inclusión de productos radioquímicos útiles en otros sistemas de imagenología, tales como tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT).

15 En la presente memoria, la expresión "isótopo radiactivo" o "elemento radiactivo" se refiere a isótopos que presentan desintegración radiactiva (es decir, que emiten positrones) y agentes de radiomarcaje que comprenden un isótopo radiactivo (por ejemplo, [¹¹C]metano, [¹¹C]monóxido de carbono, [¹¹C]dióxido de carbono, [¹¹C]fosgeno, [¹¹C]urea, [¹¹C]bromuro de cianógeno, así como diversos cloruros de ácido, ácidos carboxílicos, alcoholes, aldehídos y cetonas que contienen carbono-11). A tales isótopos o elementos también se les denomina en la técnica radioisótopos o radionúclidos. A los isótopos radiactivos se les nombra en la presente memoria utilizando diversas combinaciones de uso común del nombre o símbolo del elemento y su número másico (por ejemplo, ¹⁸F, F-18 o flúor-18). Los isótopos radiactivos ilustrativos incluyen I-124, fluoruro F-18, C-11, N-13 y O-15, que tienen semividas de 4,2 días, 110 minutos, 20 minutos, 10 minutos y 2 minutos, respectivamente. Preferiblemente se disuelve el isótopo radiactivo en un disolvente orgánico, tal como un disolvente aprótico polar. Preferiblemente, los isótopos radiactivos empleados en el presente método incluyen F-18, C-11, I-123, I-124, I-127, I-131, Br-76, Cu-64, Tc-99m, Y-90, Ga-67, Cr-51, Ir-192, Mo-99, Sm-153 y Tl-201. Preferiblemente, el isótopo radiactivo utilizado en el presente método es F-18. Otros isótopos radiactivos que se pueden emplear incluyen: As-72, As-74, Br-75, Co-55, Cu-61, Cu-67, Ga-68, Ge-68, I-125, I-132, In-111, Mn-52, Pb-203 y Ru-97.

30 En la presente memoria, "sustituido" o un "sustituyente" significa un compuesto o grupo funcional que comprende uno o más átomos de hidrógeno que están reemplazados por un grupo (un sustituyente) tal como un alquilo C₁₋₅, alqueno C₂₋₅, halógeno o halo (átomo de cloro, flúor, bromo, yodo), -CF₃, nitro, amino (-NH₂, -NHR, -NR₂, etc.), oxo (es decir, que forma -C(=O)-), -OH, carboxilo (-COOH), -COO(alquilo C₁₋₅), -O(alquilo C₁₋₅), -CONH(alquilo C₁₋₅), -NHCO(alquilo C₁₋₅), -OSO(alquilo C₁₋₅), -SOO(alquilo C₁₋₅), -SOONH(alquilo C₁₋₅), -NHSO₂(alquilo C₁₋₅), arilo, heteroarilo y similares, cada uno de los cuales puede estar adicionalmente sustituido.

35 "Tioalquilo" significa un grupo (alquilo C₁₋₅)-S- que puede estar sin sustituir o sustituido con un alquilo C₁₋₅, alqueno C₂₋₅, halógeno o halo (átomo de cloro, flúor, bromo, yodo), -CF₃, nitro, amino (-NH₂, -NHR, -NR₂, etc.), oxo (es decir, que forma -C(=O)-), -OH, carboxilo (-COOH), -COO(alquilo C₁₋₅), -O(alquilo C₁₋₅), -CONH(alquilo C₁₋₅), -NHCO(alquilo C₁₋₅), -OSO(alquilo C₁₋₅), -SOO(alquilo C₁₋₅), -SOONH(alquilo C₁₋₅), -NHSO₂(alquilo C₁₋₅), arilo y heteroarilo.

40 En la presente memoria, "triazol" significa 1,3,4-triazol o 1,2,3-triazol, o mezclas de los mismos. En una realización preferida, el "triazol" es un 1,2,3-triazol sustituido en las posiciones 1 y 5 ("sin") o en las posiciones 1 y 4 ("ant") o mezclas de los mismos. En una realización particularmente preferida, el 1,2,3-triazol está sustituido en las posiciones 1 y 4.

Método de química "clic"

45 La química "clic" (del inglés "Click Chemistry") ofrece a los químicos la oportunidad de producir rápidamente bibliotecas de agentes para imagenología candidatos, a partir de las cuales se pueden identificar potenciales trazadores de molécula pequeña para imagenología por PET, con óptimas propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas. La química clic es un enfoque modular de síntesis química que utiliza solamente las transformaciones químicas más prácticas y fiables. Se describen técnicas de química clic, por ejemplo, en las siguientes referencias:

- 55
1. Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angewandte Chemie, International Edition* 2001, 40, 2004-2021.
 2. Kolb, H.C.; Sharpless, K.B. *Drug Discovery Today* 2003, 8, 1128-1137.
 3. Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. *Angewandte Chemie, International Edition* 2002, 41, 2596-2599.
 4. Tornøe, C.W.; Christensen, C.; Meldal, M. *Journal of Organic Chemistry* 2002, 67, 3057-3064.
 5. Wang, Q.; Chan, T.R.; Hilgraf, R.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B.; Finn, M.G. *Journal of the American Chemical Society* 2003, 125, 3192-3193.
 6. Lee, L.V.; Mitchell, M.L.; Huang, S.-J.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B.; Wong, C.-H. *Journal of the American*

Chemical Society 2003, 125, 9588-9589.

6. Lewis, W.G.; Green, L.G.; Grynszpan, F.; Radic, Z.; Carlier, P.R.; Taylor, P.; Finn, M.G.; Barry, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* 2002, 41, 1053-1057.

7. Manetsch, R.; Krasinski, A.; Radic, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K.B.; Kolb, H.C. *Journal of the American Chemical Society* 2004, 126, 12809-12818.

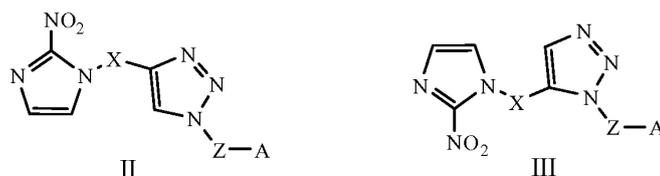
8. Mocharla, V.P.; Colasson, B.; Lee, L.V.; Roeper, S.; Sharpless, K.B.; Wong, C.-H.; Kolb, H.C. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 116-120.

9. M. Whiting, J. Muldoon, Y.-C. Lin, S.M. Silverman, W. Lindstrom, A.J. Olson, H.C. Kolb, M.G. Finn, K.B. Sharpless, J.H. Elder, V.V. Fokin, *Angew. Chem.* 2006, 118, 1463-1467; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2006, 45, 1435-1439.

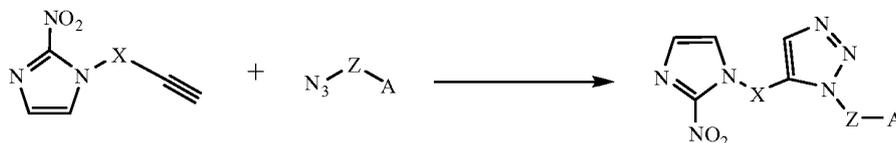
Aunque se pueden utilizar otros grupos funcionales de química clic, tales como los descritos en las referencias precedentes, se prefiere el uso de reacciones de cicloadición, en particular la reacción de azidas con grupos alquínico. Los alquinos, por ejemplo los alquinos terminales, y las azidas experimentan cicloadición 1,3-dipolar con formación de 1,2,3-triazoles 1,4-disustituidos. Como alternativa, se puede formar un 1,2,3-triazol 1,5-disustituido utilizando azida y reactivos de alquínico (Krasinski, A., Fokin, V.V. y Barry, K. *Organic Letters* 2004, 1237-1240). También se podrían utilizar reacciones hetero-Diels-Alder o reacciones de cicloadición 1,3-dipolar (véase Huisgen *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry* (Vol. 1) (compilado por A. Padwa), págs. 1-176, Wiley; Jorgensen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2000, 39, 3558-3588; Tietze, L.F. y Ketschau, G. *Top. Curr. Chem.* 1997, 189, 1-120). En una realización particular, el método de química clic proporcionado en la presente memoria provee nuevos compuestos a los que se incorpora ulteriormente una marca para PET.

Experimental

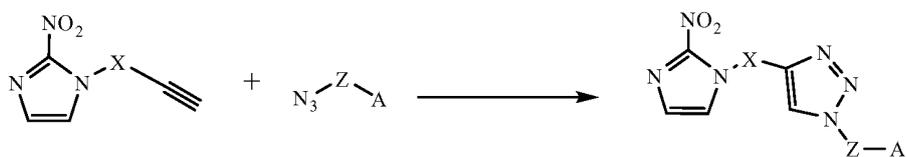
Se describen a continuación los procedimientos generales para la síntesis de los compuestos de fórmulas II y III:



Esquema general para la síntesis de triazoles ("sin") 1,5-disustituidos:



Esquema general para la síntesis de triazoles ("anti") 1,4-disustituidos:



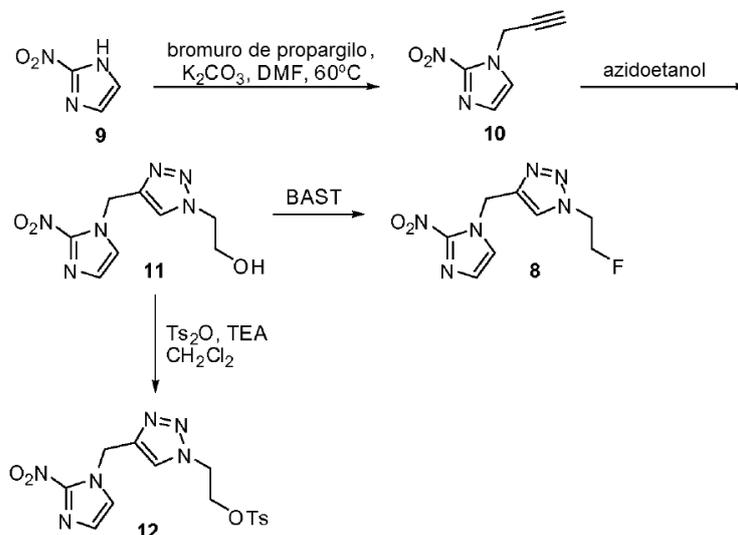
Como se muestra en los esquemas generales precedentes, cuando A es un grupo, por ejemplo un grupo alquilo, que comprende un grupo eliminable o cuando A es un grupo eliminable, entonces el triazol que comprende un isótopo radiactivo o elemento radiactivo se puede preparar mediante el desplazamiento o sustitución de A con el isótopo radiactivo o el elemento radiactivo, como se describe en la presente memoria.

Condiciones experimentales generales:

Todas las reacciones se realizaron en material de vidrio secado en estufa, bajo atmósfera de Ar. Las condiciones de gradiente para la purificación en fase normal mediante cartuchos de gel de sílice se enumeran a continuación para mezclas EtOAc:Hex. La duración de la elución se da en volúmenes de columna (v.c.). La longitud de onda de detección se fijó en 254 nm. Los disolventes para las reacciones se adquirieron como grado anhidro y se utilizaron sin purificación adicional.

Duración (v.c.)	0	1,8	19,6	5,4	0	1,8
% de EtOAc	0	0	100	100	0	0

Preparación de Compuestos 8 y 12:



2-Nitro-1-(prop-2-ynil)-1H-imidazol (10): A un matraz de fondo redondo se añadió 2-nitroimidazol (500 mg, 4,42 mmol), bromuro de propargilo (631 mg, 5,31 mmol), carbonato de potasio (733 mg, 5,31 mmol) y DMF (5 mL). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante una noche. La cromatografía en capa fina (CCF) (EtOAc) indicó que la reacción se había completado. Se vertió la reacción en agua (20 ml) y se extrajo en EtOAc (3x20 mL). Se lavaron con agua (5x20 mL) los extractos orgánicos combinados. Después se concentró en vacío la capa orgánica y se purificó sobre un cartucho de gel de sílice utilizando EtOAc:Hex como eluyente, para proporcionar 571 mg (rendimiento 85%) de 10 en forma de un sólido de color amarillo pálido. 1H RMN ($CDCl_3$, 400 MHz), δ : 2,63 (1H, d, $J = 5,6$ Hz), 5,23 (2H, d, $J = 2,4$ Hz), 7,20 (1H, d, $J = 1,2$ Hz), 7,46 (1H, s). Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para $C_6H_5N_3O_2$: 151,04; hallado: 152,10 (M+H).

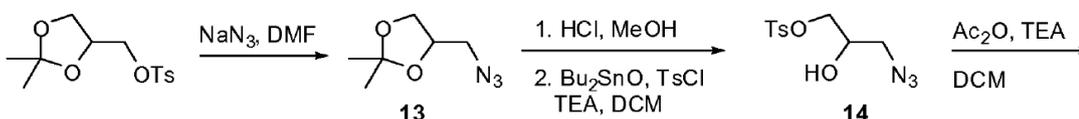
2-(4-((2-Nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etanol (11): A un matraz de fondo redondo se añadió nitropropino 10 (150 mg, 0,99 mmol) y azidoetanol (86 mg, 0,99 mmol). Se añadió a este matraz $CuSO_4$ (0,04 M, 100 μL) y ascorbato de sodio (0,1 M, 100 μL). Al cabo de 16 horas se vertió la reacción en EtOAc y se lavó con NH_4OH . Se combinaron las fases orgánicas y se purificó el residuo en un sistema CombiFlash utilizando EtOAc:Hex como eluyente, seguido de DCM:MeOH para proporcionar 180 mg (rendimiento 76,3%) de 11 en forma de un aceite transparente incoloro. Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para $C_8H_{10}N_6O_3$: 238,08; hallado: 239,10 (M+H).

2-(4-((2-Nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etanol (11): A un matraz de fondo redondo se añade nitropropino 10 (150 mg, 0,99 mmol) y azidoetanol (86 mg, 0,99 mmol). Se agita la reacción durante una noche a $60^\circ C$. Se purifica el residuo en un sistema CombiFlash utilizando EtOAc:Hex como eluyente seguido de DCM:MeOH, para proporcionar 11 en forma de un aceite transparente incoloro.

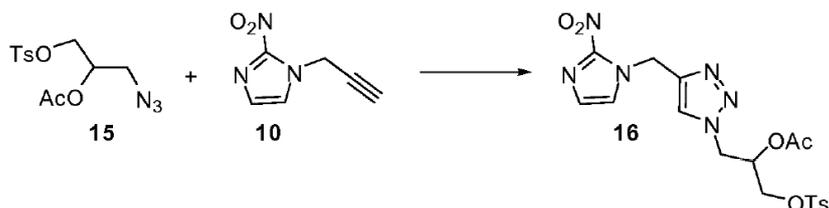
1-(2-Fluoroetil)-4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol (8): Se añadió BAST (20,3 mg, 0,126 mmol) a un matraz de fondo redondo que contenía alcohol 11 (20 mg, 0,084 mmol) en DCM (5 mL), a $0^\circ C$. Se agitó la reacción a $0^\circ C$ durante 1 hora. Se concentró en vacío la reacción y se purificó sobre un cartucho de gel de sílice, utilizando EtOAc:Hex como eluyente. para proporcionar 12 mg (rendimiento 60%) de 8 en forma de un aceite transparente incoloro.

4-Metilbencensulfonato de 2-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etilo (12): Se añadió Ts_2O (263 mg, 0,806 mmol) a un matraz de fondo redondo que contenía alcohol 11 (160 mg, 0,672 mmol), TEA (136 mg, 1,34 mmol) y DCM (5 mL). Se agitó la reacción a temp. amb. durante 4 horas. La CCF indicó que la reacción se había completado. Se concentró en vacío la reacción y se purificó sobre un cartucho de gel de sílice utilizando EtOAc:Hex como eluyente, para proporcionar 140 mg (rendimiento 53%) de 12 en forma de un aceite anaranjado pálido. Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para $C_{15}H_{16}N_6O_5S$: 392,092; hallado: 393,10 (M+H).

Preparación de Compuestos 3 y 16:



35



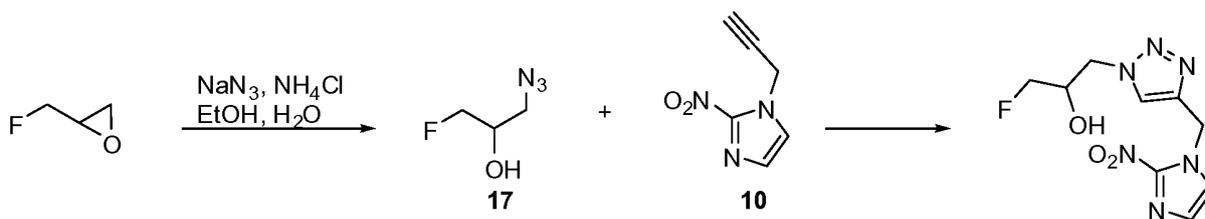
5 4-(Azidometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (13): Se añadió azida de sodio (2,6 g, 40,00 mmol) a una disolución de 4-metilbencensulfonato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metilo (5,73 g, 20,00 mmol) en DMF (40 ml), y se agitó a 80°C la mezcla de reacción durante 18 horas. Se evaporó el disolvente bajo presión reducida, se diluyó con agua (100 mL) y se extrajo 3 veces con acetato de etilo (3x75 mL), que se lavó consecutivamente con H₂O (100 mL) y salmuera (100 mL), y finalmente se secó sobre MgSO₄. Se eliminó en vacío el disolvente, para proporcionar 2,2 g de 13 en forma de un aceite pardo (rendimiento 76%). ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 4,21 – 4,27 (m, 1H), 4,02 (dd, *J* = 6,4, 8,4 Hz, 1H), 3,74 (dd, *J* = 6,0, 8,4 Hz, 1H), 3,36 (dd, *J* = 4,8, 12,8 Hz, 1H), 3,26 (dd, *J* = 5,6, 12,8 Hz, 1H), 1,43 (s, 3H), 1,33 (s, 3H).

10 4-Metilbencensulfonato de 3-azido-2-hidroxiopropilo (14): Se disolvió 4-(azidometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano 13 (2,2 g, 13,99 mmol) en metanol (25 ml). A esta disolución se añadió una disolución de HCl en éter dietílico (2 M, 5 mL) a 0°C. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche, y después se concentró bajo presión reducida para proporcionar un aceite amarillo que se utilizó sin purificación para el siguiente paso. Después de secar durante 0,5 horas, se disolvió el residuo en CH₂Cl₂ (30 mL) y se trató con Bu₂SnO (0,071 mg, 0,3 mmol), seguido de TsCl (2,86 g, 15,0 mmol) y TEA (2,2 mL, 16 mmol). Después de agitar durante 3 horas a temperatura ambiente, se añadió agua (30 ml) y se separó la capa orgánica. Se extrajo con CH₂Cl₂ (2x50 mL) la capa acuosa y se lavó consecutivamente la capa orgánica con H₂O (50 mL) y salmuera (50 mL), y se secó sobre MgSO₄. Se eliminó en vacío el disolvente y se purificó el residuo sobre gel de sílice utilizando como eluyente EtOAc al 33%/hexanos, para proporcionar 1,86 g de 14 (rendimiento 48%) en forma de un aceite transparente incoloro. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7,77 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,34 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,96 - 4,09 (m, 3H), 3,31 - 3,40 (m, 2H), 2,43 (s, 3H). Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₁₀H₁₃N₃O₄S: 271,06; hallado: 294,1 (M+Na⁺).

25 Acetato de 1-azido-3-(tosiloxi)propan-2-ilo (15): Se disolvió 4-metilbencensulfonato de 3-azido-2-hidroxiopropilo 14 (1,83 g, 6,70 mmol) en CH₂Cl₂ (15 mL) y se trató con TEA (1,4 mL, 10,00 mmol), una cantidad catalítica de DMAP y anhídrido acético (0,95 mL, 10,00 mmol) a temperatura ambiente. Tras agitar durante 1 hora, se añadió sílice a la mezcla de reacción, se evaporó el disolvente y se purificó el residuo sobre gel de sílice, utilizando como eluyente EtOAc al 50%/hexanos, para proporcionar 2,07 g de 15 (rendimiento 98,8%) en forma de un aceite espeso, transparente e incoloro. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7,79 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 5,02 – 5,07 (m, 1H), 4,09 – 4,21 (m, 2H), 3,43 - 3,53 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,05 (s, 3H). Espectro de masas (baja resolución): calculado para C₁₂H₁₅N₃O₅S: 313,07; hallado: 314,1 (M+H⁺).

30 Acetato de 1-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-3-(tosiloxi)propan-2-ilo (16): Se calienta 2-nitro-1-(prop-2-inil)-1H-imidazol 10 (0,2 g, 1,32 mmol) con acetato de 1-azido-3-(tosiloxi)propan-2-ilo 15 (0,41 g, 1,32 mmol) a 60°C durante una noche. Se purifica el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH/CH₂Cl₂, 1:10) para proporcionar 16.

35 Acetato de 1-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-3-(tosiloxi)propan-2-ilo (16): Se trató con CuI (0,025 g, 0,132 mmol) y DIPEA (0,3 mL, 1,46 mmol), a temperatura ambiente, una disolución de 2-nitro-1-(prop-2-inil)-1H-imidazol (0,2 g, 1,32 mmol) y acetato de 1-azido-3-(tosiloxi)propan-2-ilo (0,41 g, 1,32 mmol) en THF (2,5 ml). Tras agitar la mezcla de reacción durante una noche se añadió sílice, se evaporó bajo presión reducida el disolvente y se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (MeOH/CH₂Cl₂, 1/10) para proporcionar acetato de 1-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-3-(tosiloxi)propan-2-ilo (0,5 g, 81%) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7,76 - 7,78 (m, 3H), 7,35 - 7,39 (m, 3H), 7,15 (ancho, 1H), 5,68 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), 5,27 - 5,32 (m, 1H), 4,56 - 4,67 (m, 2H), 4,19 (dd, *J* = 4,0, 11,2 Hz, 1H), 4,08 (dd, *J* = 4,0, 11,2 Hz, 1H), 2,46 (s, 3H), 1,97 (s, 3H); Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₁₈H₂₀N₆O₇S: 464,11; hallado: 465,1 (M+H⁺).



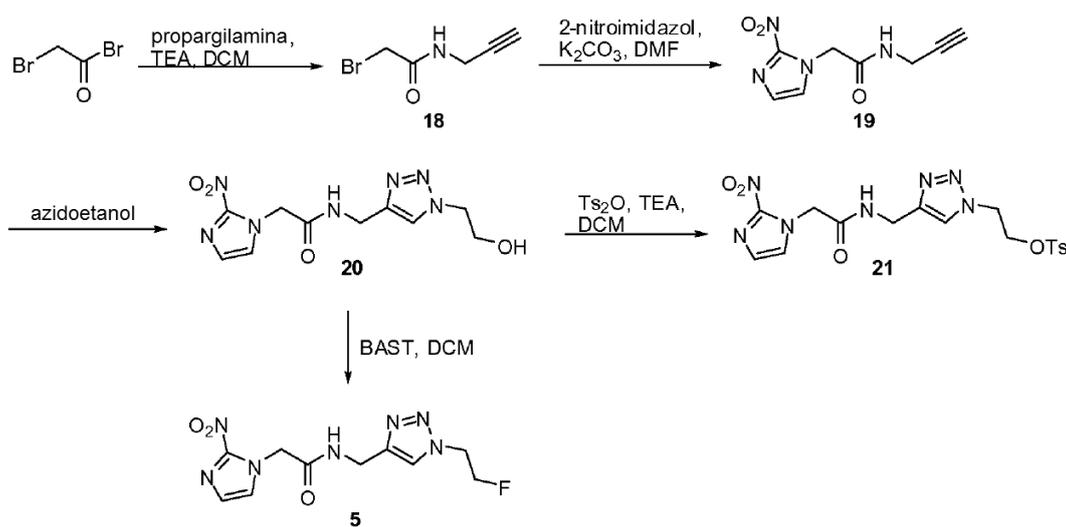
45 1-Azido-3-fluoropropan-2-ol (17): Se disolvió epifluorhidrina (13,15 mmol) en una mezcla de etanol (10 mL) y agua

(10 mL). Se añadió cloruro de amonio (23,6 mmol) seguido de azida de sodio (21,91 mmol). Se agitó a 50°C durante una noche la disolución resultante. Se eliminó en vacío el etanol. Se extrajo con acetato de etilo (2x50 mL) la mezcla. Después se concentró la capa orgánica y se purificó sobre una columna de gel de sílice utilizando como eluyente EtOAc:Hex, para proporcionar 740 mg de 17 en forma de un aceite transparente incoloro. El espectro de ¹H RMN era consistente con resultados publicados.

1-Fluoro-3-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (3): Se añadió a un vial fluoroazida 17 (690 mg, 5,79 mmol) y 1-propinil-2-nitro-imidazol (876 mg, 5,79 mmol). Se añadió a este matraz THF (3 mL), *t*-BuOH (3 mL), agua (3 mL), CuSO₄ (185 mg, 1,16 mmol) y ascorbato de sodio (1,15 g, 5,79 mmol). Al cabo de 16 horas se vertió la reacción en EtOAc y se lavó con NH₄OH. Se combinaron las fases orgánicas y después se purificó el material sobre una columna de gel de sílice utilizando EtOAc:Hex como eluyente. Se purificó adicionalmente el material mediante recristalización, utilizando EtOAc:Hex, para proporcionar 65 mg (rendimiento 4%) de cristales de color amarillo pálido. ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz), δ: 4,04 (1H, d ancho, *J* = 20,4 Hz), 4,20 - 4,47 (4H, m), 5,53 (1H, s ancho), 5,66 (2H, s), 7,16 (1H, s), 7,68 (1H, s), 8,05 (1H, s).

1-Fluoro-3-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (3): Se añade a un vial fluoroazida 17 (5,79 mmol) y 1-propinil-2-nitroimidazol (5,79 mmol). Se calienta a 60°C durante una noche la disolución. A continuación se purifica el material en una columna de gel de sílice utilizando EtOAc:Hex como eluyente. Después se purifica adicionalmente el material mediante recristalización, utilizando EtOAc:Hex, para proporcionar cristales de color amarillo pálido.

Preparación de Compuestos 5 y 21:



[2-Bromo-N-(prop-2-inil)acetamida (18): A un matraz de fondo redondo que contenía bromuro de 2-bromoacetilo (10 g, 49,5 mmol), TEA (5,01 g, 49,5 mmol) y DCM (20 mL) a 0°C se añadió gota a gota, durante 1 hora, propargilamina (2,73 g, 49,5 mmol) en forma de una disolución en DCM (10 mL). Se agitó a temp. amb. la reacción durante una noche. Se vertió en agua (20 mL) la reacción y se lavó con NaHCO₃ saturado (1 x 20 mL). Se lavó con 1N HCl (1x20 mL) la capa orgánica. Se concentró a sequedad la capa orgánica y se purificó sobre un cartucho de gel de sílice, utilizando EtOAc:Hex como eluyente, para proporcionar 2,44 g (rendimiento 28%) de 18 en forma de un sólido anaranjado pálido. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ: 2,25 (1H, s), 3,84 (2H, s), 4,05 (2H, s), 6,82 (1H, s ancho). Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₅H₈BrNO: 174,96; hallado: 176,00, 178,00 (M+H).

2-(2-Nitro-1H-imidazol-1-il)-N-(prop-2-inil)acetamida (19): A un matraz de fondo redondo se añadió alquino 18 (1,56 g, 8,84 mmol), 2-nitroimidazol 10 (1 g, 8,84 mmol) y K₂CO₃ (1,22 g, 8,84 mmol) en DMF (10 mL). Se agitó la reacción durante una noche. Se diluyó con agua (100 mL) la reacción y se separó por filtración el precipitado resultante (1,2 g) y se lavó con agua (2x40 mL). Se extrajo con EtOAc la capa acuosa. Se concentró a sequedad la capa orgánica y se combinó con el precipitado. Se purificó el material sobre un cartucho de gel de sílice utilizando EtOAc:Hex como eluyente, para proporcionar un sólido blanco 19 (324 mg, 18%). Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₈H₈N₄O₃: 208,06; hallado: 209,10 (M+H).

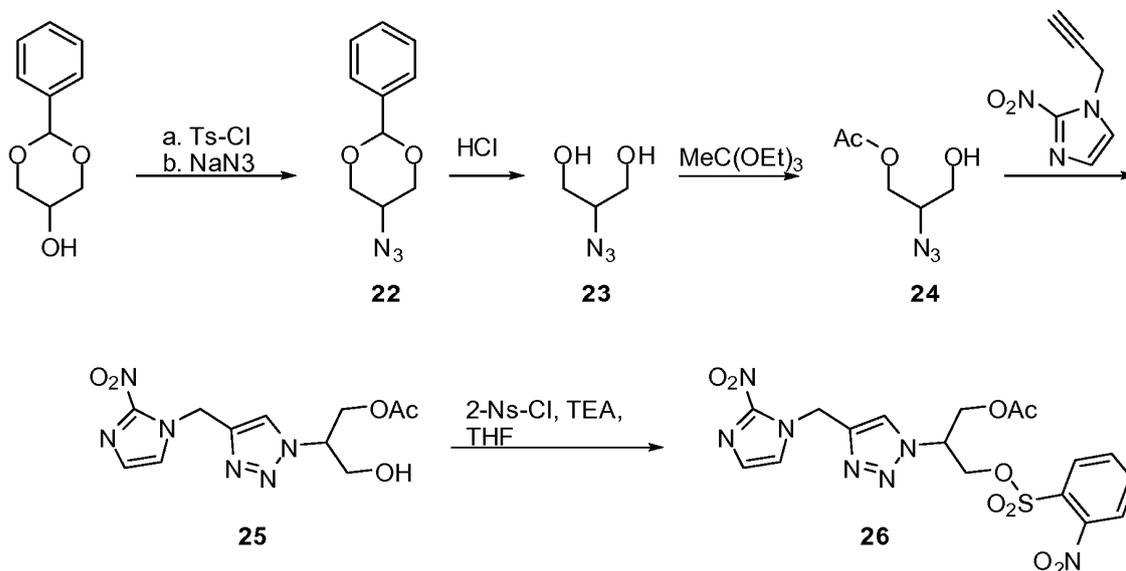
N-((1-(2-Hidroxietil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)acetamida (20): Se añadieron a un vial alquino (375 mg, 1,8 mmol) y azidoetanol (157 mg, 1,8 mmol). Se añadieron a este vial THF (5 mL), DIPEA (345 µL, 1,98 mmol) y yoduro de cobre (34,3 mg, 0,18 mmol). Tras algunas horas, se añadió ascorbato de sodio (50 mg) para forzar la reacción hasta su término. Después se purificó el material sobre una columna de gel de sílice, utilizando EtOAc:Hex como eluyente. Se purificó adicionalmente el material mediante recristalización, utilizando EtOAc:Hex, para proporcionar 300 mg (rendimiento 56%) de 20 en forma de un sólido.

N-((1-(2-Hidroxietil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)acetamida (20): Se añaden a un vial alquino (375 mg, 1,8 mmol) y azidoetanol (157 mg, 1,8 mmol). Se calienta la disolución a 60°C durante una noche. Después se purifica el material sobre una columna de gel de sílice, utilizando EtOAc:Hex como eluyente. Después se purifica adicionalmente el material mediante recristalización, utilizando EtOAc:Hex, para proporcionar 20 en forma de un sólido.

4-Metilbencensulfonato de 2-(4-((2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)acetamido)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etilo (21): Se añadió a un matraz de fondo redondo el alcohol 20 (106 mg, 0,359 mmol), TEA (36,3 mg, 0,359 mmol) y DCM (10 mL). Se añadió, en una porción, Ts₂O (117 mg, 0,359 mmol). Se agitó la reacción a temp. amb. durante 4 horas. Después se concentró la reacción a sequedad y se purificó sobre un cartucho de gel de sílice, utilizando EtOAc:Hex como eluyente, para proporcionar 55 mg (rendimiento 34%) de 21 en forma de un sólido blanco. Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₁₇H₁₉N₇O₆S: 449,11; hallado: 450,1 (M+H).

N-((1-(2-Fluoroetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il)acetamida (5): Se añadió BAST (20,3 mg, 0,126 mmol) a un matraz de fondo redondo que contenía alcohol 20 (20 mg, 0,07 mmol) en DCM (5 mL), a 0°C. Se agitó la reacción a 0°C durante 1 hora. Se concentró en vacío la reacción y se purificó sobre un cartucho de gel de sílice, utilizando EtOAc:Hex como eluyente, para proporcionar 5 en forma de un aceite transparente incoloro.

Preparación de compuestos 1 y 26:



4-Metilbencensulfonato de 2-fenil-1,3-dioxan-5-ilo: A un matraz de fondo redondo de 2 litros se añadieron 2-fenil-1,3-dioxan-5-ol (50 g, 277 mmol), trietilamina (42,1 g, 416 mmol), DMAP (3,39 g, 27,7 mmol) y diclorometano (1 L). Se enfrió a 0°C la reacción. Se añadió a esta disolución cloruro de tosilo (58,2 g, 305 mmol) y se agitó la reacción a temp. amb. durante una noche. Se vertió en agua (800 mL) la reacción y se extrajo con DCM. Se combinaron las capas orgánicas y se concentraron a sequedad. Se recristalizó en EtOAc:Hex la mezcla en bruto para proporcionar 88 g (rendimiento 96%) de un sólido blanco. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ: 2,44 (3H, s), 4,09 (2H, dd, J = 13,6, 2 Hz), 4,27 (2H, dd, J = 13,6, 1,6 Hz), 4,51 (2H, pseudo t, J = 1,6 Hz), 7,33 - 7,36 (5H, m), 7,44 - 7,45 (2H, m), 7,85 (2H, d, J = 8,39 Hz). Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₁₇H₁₈O₅S: 334,09; hallado: 335,1 (M+H).

5-Azido-2-fenil-1,3-dioxano (22): A un matraz de fondo redondo de 1 L se añadieron 4-metilbencensulfonato de 2-fenil-1,3-dioxan-5-ilo (40 g, 120 mmol) y DMF (500 mL). Se añadió NaN₃ (31,3 g, 478 mmol) en forma de una disolución en agua (150 mL). Se agitó la reacción a 105°C durante 2 días. Después se concentró a sequedad la reacción. Se disolvió en agua (700 mL) el sólido y se extrajo con EtOAc (3x500 mL). Se lavaron con agua (5x) las capas orgánicas combinadas y se concentraron a sequedad, para proporcionar un sólido anaranjado. Se recristalizó en hexanos el material, para proporcionar 20,7 g (rendimiento 84%) de 22 en forma de un sólido de color pardo pálido. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ: 3,67 (2H, pseudo t, J = 11,59 Hz), 3,78 - 3,88 (1H, m), 4,36 - 4,04 (2H, m), 7,36 - 7,39 (3H, m), 7,45 - 7,47 (2H, m). Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₁₀H₁₁N₃O₂: 205,09; hallado: 178,1 (M+H-N₂).

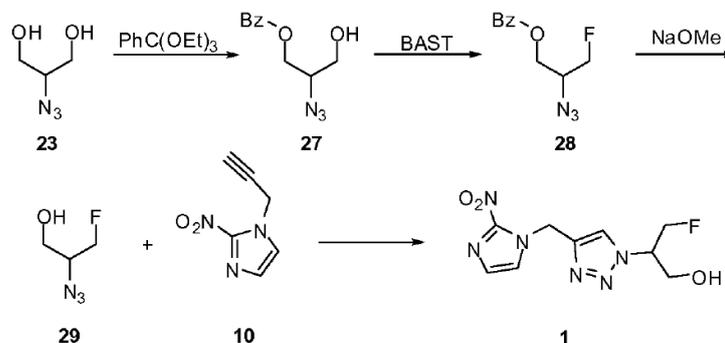
2-Azidopropan-1,3-diol (23): A un matraz de fondo redondo de 1 L que contenía 22 (21,7 g, 106 mmol) en Et₂O (294 mL) se añadió HCl conc. (126 mL). Se agitó la reacción a temp. amb. durante una noche. Se concentró en vacío el material sobre gel de sílice y se purificó, utilizando EtOAc:Hex como eluyente (de 20% de EtOAc a 100% de EtOAc), para proporcionar 10,5 g (rendimiento 84%) de 23 en forma de un aceite amarillo/ámbar. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ: 1,94 (2H, s ancho), 3,63 - 3,68 (1H, m), 3,75 - 3,86 (4H, m).

Acetato de 2-azido-3-hidroxi-propilo (24): Se disolvió 2-azidopropan-1,3-diol 23 (10,46 g, 89,3 mmol) en CH₂Cl₂ (450 mL) y se trató con una cantidad catalítica de monohidrato de ácido *p*-toluensulfónico (340 mg, 1,8 mmol) y ortoacetato de trietilo (24,4 mL, 134 mmol) a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de que se hubo completado la formación del ortoéster, se añadió a la mezcla una cantidad estequiométrica de agua (2,4 mL, 134 mmol). Después se agitó la mezcla durante 40 minutos y luego se concentró en vacío. La purificación del residuo sobre un cartucho de gel de sílice, utilizando EtOAc:Hex como eluyente (de 5% de EtOAc a 100% de EtOAc), proporcionó 8,14 g (rendimiento 57%) de 24 en forma de un aceite transparente incoloro. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ: 2,45 (1H, s ancho), 2,12 (3H, s), 3,63 - 3,78 (3H, m), 4,20 - 4,30 (2H, m).

Acetato de 3-hidroxi-2-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propilo (25): Se calentó a 60°C durante una noche un vial que contenía Compuesto 24 (500 mg, 3,14 mmol) y 1-propinil-2-nitro-imidazol (475 mg, 3,14 mmol). Se purificó el sólido resultante sobre un cartucho de gel de sílice, utilizando EtOAc:Hex como eluyente, para proporcionar 504 mg (rendimiento 52%) de un sólido blanco.

Acetato de 3-hidroxi-2-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propilo (25): Se añadieron CuSO₄·5H₂O (435 mg, 1,75 mmol), ascorbato de sodio (691 mg, 3,49 mmol) y 1-propinil-2-nitroimidazol (5,27 g, 34,9 mmol) a un vial que contenía Compuesto 24 (5,5 g, 34,9 mmol) en *t*-BuOH:THF:H₂O (120 mL, 1:1:1), y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante una noche. Después se concentró a sequedad, sobre sílice, la reacción. Se purificó el sólido resultante sobre un cartucho de gel de sílice, utilizando como eluyente 50% de EtOAc:Hex seguido de MeOH al 10%:DCM, para proporcionar 9,17 g (rendimiento 90%) de un aceite amarillo viscoso. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ: 2,06 (3H, s), 4,11 - 4,13 (2H, m), 4,47 - 4,59 (2H, m), 4,81 - 4,84 (1H, m), 5,72 (2H, s), 7,17 (1H, *d*, *J* = 1,12 Hz), 7,38 (1H, *d*, *J* = 1,12 Hz), 7,88 (1H, s). Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₁₁H₁₄N₆O₅: 310,10; hallado: 311,10 (M+H).

Acetato de 2-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-3-(2-nitrofenilsulfonilo)propilo 26: Se añadieron TEA (8,3 mL, 59,2 mmol) y tamices moleculares de 4Å (2 g) a un matraz de fondo redondo que contenía 25 (9,17 g, 29,6 mmol) en DCM (200 mL), a 0°C. Se agitó la reacción durante 1 hora. Se añadió cloruro de 2-nitrobenzensulfonilo (7,87 g, 35,5 mmol) y se dejó que la reacción se calentase hasta la temperatura ambiente. Se agitó la reacción a temp. amb. durante 2 horas. Se concentró en vacío la reacción, sobre gel de sílice, y se purificó sobre un cartucho de gel de sílice, utilizando MeOH:DCM (de MeOH al 2%:DCM a MeOH al 10%:DCM) como eluyente, para proporcionar 9,74 g de un sólido de color amarillo pálido. Se purificó adicionalmente el material mediante recristalización, utilizando EtOAc:Hex, para proporcionar 4,5 g (rendimiento 30,5%) de un sólido blanco. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ: 2,06 (3H, s), 4,54 (2H, *d*, *J* = 5,6 Hz), 4,75 (2H, *dt*, *J* = 11,2, 6,80), 5,12 - 5,16 (1H, m), 5,68 (2H, *d*, *J* = 3,20), 7,17 (1H, *d*, *J* = 0,8 Hz), 7,33 (1H, *d*, *J* = 1,12 Hz), 7,75 - 7,87 (4H, m), 8,09 (1H, *dd*, *J* = 7,59, 1,2 Hz). Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₁₇H₁₇N₇O₉S: 495,08; hallado: 496,10 (M+H).

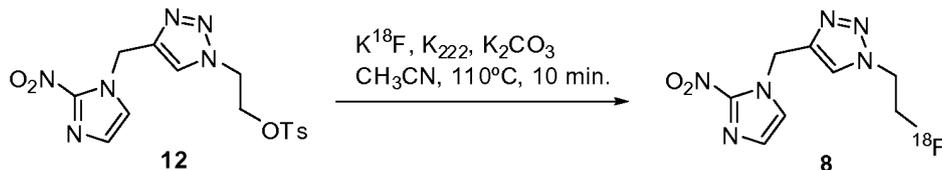


Benzoato de 2-azido-3-hidroxi-propilo (27): Se disolvió 23 puro (1,48 g, 12,65 mmol) en CH₂Cl₂ (127 mL) y se trató con una cantidad catalítica de monohidrato de ácido *p*-toluensulfónico (0,048 g, 20 mol) y (trimetoximetil)benzeno (3,26 mL, 18,98 mmol) en CH₂Cl₂, a temperatura ambiente, durante 1 hora. Una vez que se hubo completado la formación del ortoéster, se añadió una cantidad estequiométrica de agua (340 μL, 18,98 mmol) a la mezcla. Después se agitó la mezcla durante 40 minutos y se concentró en vacío. La purificación del residuo mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, utilizando EtOAc al 25%/hexanos, proporcionó 2,6 g de producto monoacilado 27 (93% de rendimiento) en forma de un aceite transparente incoloro. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8,03 - 8,06 (m, 2H), 7,58 (tt, *J* = 1,6, 2,0, 1,6 Hz, 1H), 7,43 - 7,47 (m, 2H), 4,54 (dd, *J* = 4,4, 12,0 Hz, 1H), 4,46 (dd, *J* = 6,8, 12,0 Hz, 1H), 3,85 - 3,91 (m, 1H), 3,80 (dd, *J* = 4,8, 11,6 Hz, 1H), 3,73 (dd, *J* = 6,0, 11,6 Hz, 1H).

Benzoato de 2-azido-3-fluoropropilo (28): Se disolvió Compuesto 27 (9 g, 40,72 mmol) en CH₂Cl₂ (70 mL) y se trató gota a gota, a temperatura ambiente, con BAST (3,75 mL, 20,36 mmol). Tras agitar durante 1 hora, se añadieron gota a gota, a temperatura ambiente, 3,75 ml (20,36 mmol) adicionales de BAST. Tras agitar durante 1 hora más, se añadieron gota a gota, a temperatura ambiente, 3,75 ml (20,36 mmol) adicionales de BAST y se agitó la mezcla de reacción durante 12 horas. Se desactivó con NaHCO₃ saturado la mezcla de reacción, se lavó consecutivamente la capa orgánica con H₂O y con salmuera, se secó sobre MgSO₄, y se eliminó en vacío el disolvente. Se purificó el residuo sobre gel de sílice, utilizando éter al 25%:hexanos como eluyente, para proporcionar 3,24 g (rendimiento

- 37%) de 28 en forma de un aceite transparente incoloro. También se recuperaron 5 g de 27. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 8,04 – 8,07 (m, 2H), 7,60 (tt, $J = 1,6, 2,0, 1,6$ Hz, 1H), 7,45 - 7,49 (m, 2H), 4,62 - 4,70 (m, 1H), 4,52 - 4,57 (m, 2H), 4,42 - 4,46 (m, 1H), 3,98 - 4,08 (m, 1H), 3,73 (dd, $J = 6,0, 11,6$ Hz, 1H).
- 5 2-Azido-3-fluoropropan-1-ol (29): Se disolvió Compuesto 28 (1,63 g, 7,30 mmol) en metanol (15 mL) y se trató con NaOMe (0,8 g, 14,8 mmol) a temperatura ambiente. Tras agitar durante 1 hora se añadió sílice a la mezcla de reacción y se evaporó el disolvente, y se purificó sobre gel de sílice, utilizando 50% de EtOAc/hexanos como eluyente, para proporcionar 0,828 g de 29 (rendimiento 95%) en forma de un aceite transparente incoloro. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 4,59 - 4,68 (m, 1H), 4,47 - 4,56 (m, 1H), 3,68 - 3,84 (m, 3H).
- 10 3-Fluoro-2-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-1-ol (1): Se añaden a un vial alquino 10 (1,9 g, 12,6 mmol) y 29 (1,5 g, 12,6 mmol). Se calienta la disolución a 60°C durante una noche. Después se purifica el material sobre una columna de gel de sílice, utilizando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como eluyente. Después se purifica adicionalmente el material por recristalización, utilizando EtOAc:Hex, para proporcionar 1 en forma de un sólido.
- 15 3-Fluoro-2-(4-((2-nitro-1H-imidazol-1-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-1-ol (1): Se trató con CuSO₄·5H₂O (0,31 g, 1,26 mmol) y ascorbato de sodio (0,5 g, 2,52 mmol) una disolución de 10 (1,9 g, 12,6 mmol) y 29 (1,5 g, 12,6 mmol) en *t*-BuOH:THF:H₂O (22,5 mL, 1:1:1) y se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se eliminaron en vacío los disolventes orgánicos, se disolvió en CH₂Cl₂ el residuo y se lavó consecutivamente con H₂O y con salmuera, y después se secó sobre MgSO₄. A continuación se concentró en vacío el disolvente y se purificó el residuo sobre gel de sílice, utilizando MeOH al 10%:CH₂Cl₂ como disolvente, para proporcionar 1 (3,00 g, 88%) en forma de un sólido blanco. Se purificó adicionalmente el producto mediante recristalización en EtOAc/hexanos. ^1H RMN ((CD₃)₂CO, 400 MHz) δ : 8,15 (s, 1H), 7,57 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 7,11 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 5,79 (s, 2H), 4,87 - 5,05 (m, 2H), 4,82 (dd, $J = 4,0, 10,0$ Hz, 1H), 4,17 - 4,45 (m, 1H), 4,03 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H). ^{13}C RMN ((CD₃)₂CO, 100 MHz) δ : 141,8, 127,9, 127,1, 123,5, 83,0, 81,3, 63,0 (d, $J = 18,69$ Hz, 1C), 60,5 (d, $J = 6,73$ Hz, 1C), δ : 44,8; ^{19}F RMN ((CD₃)₂CO, 376 MHz) 230,2 (ddd, $J = 19,18, 19,55, 21,60$ Hz, 1F); Espectrometría de masas (baja resolución): calculado para C₉H₁₁FN₆O₃: 270,09; hallado: 271,1 (M+H).
- 20
- 25 Descripción del proceso de radiomarcaje para trazadores de hipoxia marcados con [F-18]: preparación general para preparar [F-18]fluoruro para el radiomarcaje:
- La reacción se lleva a cabo en un módulo de química *explora*[®] RN, que se controla mediante un ordenador utilizando el "software" GINA-Star.
- 30 Preparación de ion [F-18]fluoruro: Se aporta ion [F-18]fluoruro acuoso, que se produce en la diana de ciclotrón, a un cartucho de resina de intercambio de aniones que se encuentra en el módulo de química, y queda atrapado en el mismo. A continuación se eluye el F-18 al recipiente de reacción con una disolución de carbonato potásico (3 mg) en agua (0,4 mL). Se añade entonces al recipiente de reacción Kryptofix[®] 222 (20 mg) disuelto en acetonitrilo (1 mL).
- Se concentra a sequedad la disolución para eliminar el acetonitrilo y agua (70-95°C, bajo presión reducida (250 mbar) y una corriente de argón), que permitirá obtener una forma relativamente seca, altamente activada, de ion [F-18]fluoruro.
- 35
- Reacción de radiomarcaje para [F-18]8:
- Se añade una disolución del precursor 12 (20 μmol) en acetonitrilo (0,9 mL) al ion [F-18]fluoruro seco. Se calienta la mezcla a aproximadamente 110°C durante 10 minutos para permitir la reacción con el ion [F-18]fluoruro.
- 40 Purificación de la mezcla de reacción y filtración esterilizante: Se transfiere la disolución bruta de producto trazador marcado con [F-18] al bucle de muestra (1,5 mL) y después se inyecta en la columna de HPLC semipreparativa (por ejemplo ACE C18, 5AQ, 250 x 10 mm, 10% de etanol/10% de agua (v/v), 4,0 mL/minuto).
- El módulo de química *explora*[®] RN está equipado con detectores UV y Geiger Mueller (GM). Se recoge el producto que sale de la columna en función de lo detectado mediante detectores de radiactividad de flujo pasante y UV (254 nm).
- 45 En las condiciones de elución descritas, el tiempo de retención del [F-18]8 es aproximadamente 8-10 minutos. Se hace pasar a través de un filtro esterilizante (0,22 μm) la fracción que contiene el trazador marcado con [F-18] y se recoge en un vial estéril. El volumen de la sustancia medicamentosa recogida es típicamente 8-10 mL.

Reacción de radiomarcaje para [F-18]8



Rendimiento radioquímico: 2,05%, corregido para tener en cuenta la desintegración
Pureza radioquímica: 100%

5 Reacción de radiomarcaje para [F-18]3:

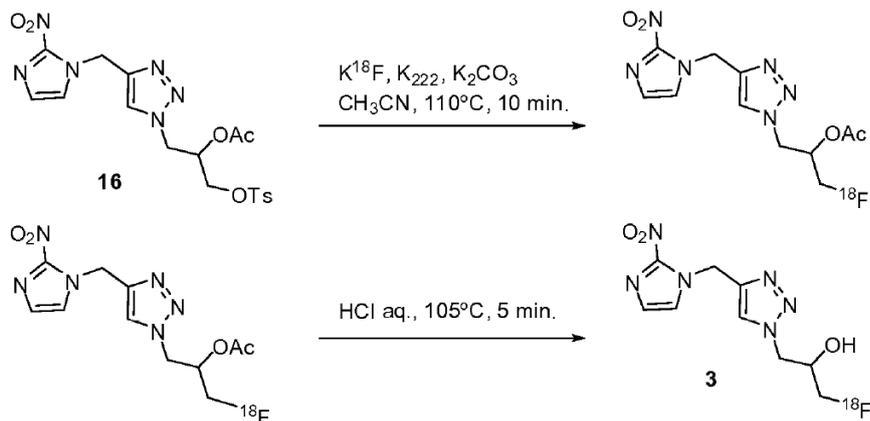
Se añade al recipiente de reacción que contiene el [F-18]fluoruro anhidro una disolución del precursor 16 (15 ± 5 mg, 20-40 μmol) disuelto en una mezcla de acetonitrilo (0,5 mL) y *t*-BuOH (0,5 mL). Se calienta el recipiente a 125 ± 15°C durante 7,5 ± 2,5 minutos para inducir el desplazamiento del grupo eliminable nosilato por [F-18]fluoruro.

10 Después de enfriar y evaporar el acetonitrilo y *t*-butanol se añade ácido clorhídrico acuoso (1,0 N, 0,8 mL) y se calienta la mezcla a 110 ± 5°C durante 7,5 ± 2,5 minutos. Esto hidroliza el grupo acetato, convirtiéndolo en un grupo hidroxilo. Esta reacción de hidrólisis origina la formación de [F-18]3 bruto. Se enfría la mezcla de reacción y se neutraliza mediante la adición de acetato de sodio (2,0 M, 0,4 mL).

15 Purificación de la mezcla de reacción y filtración esterilizante: Se transfiere la disolución bruta de producto marcado con trazador [F-18] al bucle de muestra (1,5 mL) y luego se inyecta en la columna de HPLC semipreparativa (por ejemplo Synergi, 250 x 10 mm, 5% de etanol/95% de agua (v/v), 5,0 mL/minuto).

El módulo de química *explora*[®] RN está equipado con detectores UV y Geiger Mueller (GM). Se recoge el producto que sale de la columna en función de lo detectado mediante detectores de radiactividad de flujo pasante y UV (254 nm).

20 En las condiciones de elución descritas, el tiempo de retención del [F-18]3 es aproximadamente 8-10 minutos. Se hace pasar a través de un filtro esterilizante (0,22 micras) la fracción que contiene el trazador marcado con [F-18] y se recoge en un vial estéril. El volumen de la sustancia medicamentosa recogida es típicamente 8-10 mL.



Rendimiento radioquímico: 38,42%, corregido para tener en cuenta la desintegración
Pureza radioquímica: 100%

25

Reacción de radiomarcaje para [F-18]5:

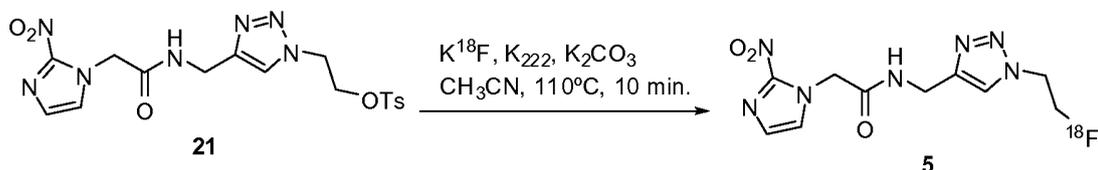
Se añade al recipiente de reacción que contiene el [F-18]fluoruro anhidro una disolución del precursor 21, (15 ± 5 mg, 20-40 μmol) disuelto en una mezcla de acetonitrilo (0,5 mL) y *t*-BuOH (0,5 mL). Se calienta el recipiente a 125 ± 15°C durante 7,5 ± 2,5 minutos para inducir el desplazamiento del grupo eliminable nosilato por [F-18]fluoruro.

30

Purificación de la mezcla de reacción y filtración esterilizante: Se transfiere la disolución bruta de producto marcado con trazador [F-18] al bucle de muestra (1,5 mL) y luego se inyecta en la columna de HPLC semipreparativa (por ejemplo Synergi, 250 x 10 mm, 8% de etanol en 92% de tampón de fosfato 21 mM (v/v), 4 mL/minuto).

El módulo de química *explora*[®] RN está equipado con detectores UV y Geiger Mueller (GM). Se recoge el producto que sale de la columna en función de lo detectado mediante detectores de radiactividad de flujo pasante y UV (254 nm).

- 5 En las condiciones de elución descritas, el tiempo de retención del [F-18]5 es aproximadamente 7-9 minutos. Se hace pasar a través de un filtro esterilizante (0,22 micras) la fracción que contiene el trazador marcado con [F-18] y se recoge en un vial estéril. El volumen de la sustancia medicamentosa recogida es típicamente 8-10 mL.



Rendimiento radioquímico: 12,14%, corregido para tener en cuenta la desintegración
Pureza radioquímica: 40%

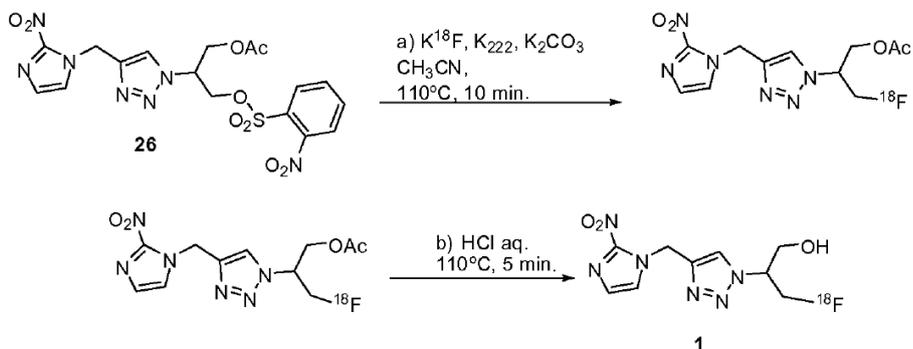
- 10 Reacción de radiomarcaje para [F-18]1:

Se añade al recipiente de reacción que contiene el [F-18]fluoruro anhidro una disolución del precursor 26, (15 ± 5 mg, 20-40 μmol) disuelto en una mezcla de acetonitrilo (0,5 mL) y *t*-BuOH (0,5 mL). Se calienta el recipiente a $125 \pm 15^\circ\text{C}$ durante $7,5 \pm 2,5$ minutos para inducir el desplazamiento del grupo eliminable nosilato por [F-18]fluoruro.

- 15 Después de enfriar y evaporar el acetonitrilo y *t*-butanol se añade ácido clorhídrico acuoso (1,0 N, 0,8 mL) y se calienta la mezcla a $110 \pm 5^\circ\text{C}$ durante $7,5 \pm 2,5$ minutos. Esto hidroliza el grupo acetato, convirtiéndolo en un grupo hidroxilo. Esta reacción de hidrólisis origina la formación de [F-18]1 bruto. Se enfría la mezcla de reacción y se neutraliza mediante la adición de acetato de sodio (2,0 M, 0,4 mL).

- 20 Purificación de la mezcla de reacción y filtración esterilizante: Se hace pasar la mezcla de reacción que contiene [F-18]1 bruto a través de un Sep-Pak Lite de alúmina (para eliminar [F-18]fluoruro sin reaccionar) y luego se transfiere al bucle de muestra de HPLC. El material de reacción bruto se purificó por separación cromatográfica utilizando una columna de HPLC semipreparativa (columna semipreparativa de fase inversa Waters ACE AQ (250 x 10 mm), ref. ACE-126-2510, 250 x 10 mm, 5% de etanol en 95% de tampón de fosfato 21 mM, 5,0 mL/minuto). Se controla el efluente de la columna mediante detectores UV (254 nm) y radiométricos conectados en serie.

- 25 El módulo de química *explora*[®] RN está equipado con detectores UV y Geiger Mueller (GM). Se recoge el producto que sale de la columna en función de lo detectado mediante detectores de radiactividad de flujo pasante y UV (254 nm). En las condiciones de elución descritas, el tiempo de retención del [F-18]1 es aproximadamente 17 ± 5 minutos. Se carga previamente un vial de recogida vacío, estéril, con 5-10 mL de diluyente estéril que contiene 1-6% de etanol, 75 mg/mL de ácido ascórbico y 95% de fosfato 21 mM. La fracción con [F-18]1 purificado eluida de la columna de purificación mediante HPLC se procesa a través de un filtro esterilizante de 0,2 μm hacia el vial de recogida precargado. Sobre la base de una valoración "en proceso" de la radioactividad total, se añaden ácido ascórbico y diluyente estéril suficientes para ajustar la concentración de ácido ascórbico a 5% (50 mg/mL) y la concentración radiactiva a no más de 30 mCi/mL.



- 35 Rendimiento radioquímico: 34%, corregido para tener en cuenta la desintegración
Pureza radioquímica: 100%

Reacción alternativa de radiomarcaje para [F-18]1:

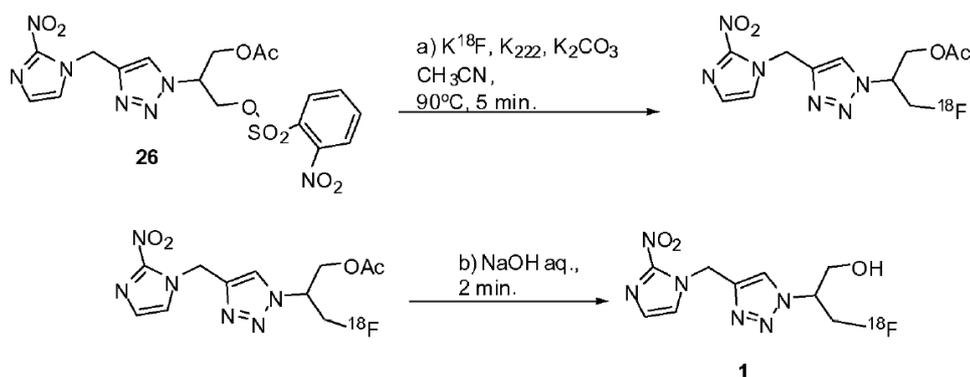
Se transfiere [F-18]fluoruro radioactivo a un vial en V de 3 mL con 0,5 mL de disolución de K222/K₂CO₃ (660 mg de

K222 y 210 mg de K_2CO_3 en 9 mL de MeCN y 9 mL de H_2O). Se seca azeotrópicamente el [F-18]fluoruro con 3 x 1 mL de MeCN en corriente de Ar. Se añade al recipiente de reacción que contiene el [F-18]fluoruro anhidro una disolución del precursor 26 (16 ± 5 mg, 20-40 μ mol) disuelto en acetonitrilo (1,0 mL). Se calienta el recipiente a $95 \pm 5^\circ C$ durante $7,5 \pm 2,5$ minutos para inducir el desplazamiento del grupo eliminable nosilato por el [F-18]fluoruro.

- 5 Después de enfriar y evaporar el acetonitrilo hasta aproximadamente 0,1 mL, se añade NaOH acuoso (0,05 N, 2,0 mL) y se calienta la mezcla a $60 \pm 5^\circ C$ durante 3 ± 1 minutos. Esto hidroliza el grupo acetato, convirtiéndolo en un grupo hidroxilo. Esta reacción de hidrólisis origina la formación de [F-18]1 bruto.

10 Purificación de la mezcla de reacción y filtración esterilizante: Se purificó mediante separación cromatográfica el material de reacción bruto, utilizando una columna de HPLC semipreparativa (columna semipreparativa de fase inversa Phenomenex Luna (250 x 10 mm, 10 μ m), 6% de etanol, 5,0 mL/minuto). El efluente de la columna se controla mediante UV (254 nm) y detectores radiométricos conectados en serie.

15 El módulo de química *explora*[®] RN está equipado con detectores UV y Geiger Mueller (GM). Se recoge el producto que sale de la columna en función de lo detectado mediante detectores de radiactividad de flujo pasante y UV (254 nm). En las condiciones de elución descritas, el tiempo de retención del [F-18]1 es aproximadamente 17 ± 5 minutos. Se carga previamente un vial de recogida vacío, estéril, con 5-10 mL de diluyente estéril que contiene 1-6% de etanol, 75 mg/mL de ácido ascórbico y 95% de fosfato 21 mM. La fracción con [F-18]1 purificado eluida de la columna de purificación mediante HPLC se procesa a través de un filtro esterilizante de 0,2 μ m hacia el vial de recogida precargado. Sobre la base de una valoración "en proceso" de la radioactividad total, se añaden ácido ascórbico y diluyente estéril suficientes para ajustar la concentración de ácido ascórbico a 5% (50 mg/mL) y la concentración radiactiva a no más de 30 mCi/mL



Rendimiento radioquímico: 34%, corregido para tener en cuenta la desintegración
Pureza radioquímica: 100%

Datos biológicos para la serie HX

25 Experimentos con animales

1) Biodistribución y bioestabilidad de HX4

1A: Estudio en ratones

30 Método: Se disolvió Compuesto 1 en DMSO para conseguir una disolución madre 100 mM. Después se diluyó esta con 1X PBS que contenía 3% de Solutol, para conseguir una concentración 5 mM. Bajo anestesia con isoflurano se inyectó en la vena caudal de animales ratones 200 μ L de disolución 5 mM de Compuesto 1. La captación *in vivo* duró dos horas.

35 Se tomaron muestras de sangre y de orina al cabo de 30, 60, 90 y 120 minutos. Se pusieron inmediatamente las muestras en hielo para evitar la degradación de los compuestos. Cuando se completó la toma de muestras de sangre y orina a los 120 minutos, se sacrificó el ratón por dislocación cervical. En el transcurso de 30-40 minutos se extrajeron los siguientes órganos enteros, en el siguiente orden: tracto GI inferior, tracto GI superior, bazo, páncreas, vesícula biliar, hígado, corazón, riñones, pulmones, aproximadamente 0,3 g de músculo de ambas patas, aproximadamente 0,4 g de piel del lomo, todo el cerebro y aproximadamente 0,4 g de grasa interna del abdomen.

40 Se añadió a las muestras una cantidad proporcional de tampón de lisis (aproximadamente 5 mL/gramo de tejido) antes de homogeneizar el tejido utilizando un homogeneizador motorizado. Se añadieron 50 μ L de tampón de lisis a las muestras de sangre y orina, seguido de una breve agitación con remolino. Se tomó una muestra de 200 μ L de homogeneizado de órganos en un tubo Eppendorf de 1,5 mL. Se calentaron todas las muestras a $100^\circ C$ durante 2 minutos para desnaturalizar las proteínas, y después se pusieron en hielo durante 15 minutos. A continuación, se añadieron 40 μ L de ácido fórmico a las muestras de órganos y se añadieron 20 μ L a las muestras de sangre y de

orina. Se agitaron con remolino todos los tubos para lograr una mezcla completa de la muestra con el ácido. Después, se pusieron las muestras en hielo durante 15 minutos antes de centrifugarlas a 13.000 rpm durante 15 minutos, a 4°C. Se transfirieron 30 µL del sobrenadante a un vial de HPLC para el análisis de MSD.

- 5 Se construyó una curva patrón con un amplio intervalo de concentraciones de Compuesto 1 utilizando el mismo método descrito con anterioridad para el tratamiento de lisado de tejido. Primeramente se identificó en los patrones el correspondiente pico del compuesto. Se midieron las áreas de los picos y se convirtieron a una curva patrón de correlación para estimar la concentración de Compuesto 1 en las muestras. La cantidad de compuesto en cada muestra se expresa como % de la dosis inyectada/gramo de tejido (% DI/gramo de tejido).

1B: Estudio en ratas

- 10 Método: Se preparó disolución de Compuesto 1 como se ha descrito con anterioridad. Bajo anestesia con isoflurano se inyectó en ratas por vía intravenosa (en la vena caudal) 1 mL de disolución 10 mM de Compuesto 1. Se tomaron muestras de sangre y de orina antes de la inyección y al cabo de 15, 30, 60, 90 y 120 minutos tras la inyección. Los tratamientos de las muestras y la medición mediante LC/MS son los mismos que en el caso de las muestras en ratones descritas en el apartado 1A.

- 15 Resultados:

Datos para ratones (Fig. 1):

- 20 En ratones, el nivel en sangre del Compuesto 1 era 4,1% DI/g a los 30 minutos y disminuyó hasta 0,59% al cabo de 120 minutos. El aclaramiento en sangre y la excreción por la orina son rápidos dado el elevado % DI/g en la orina y bajo % DI/g en la sangre (95,6% DI/g a los 30 minutos en la orina, 4,1% DI/g a los 30 minutos en la sangre). El índice de excreción por la orina (% DI/g medio en la orina dividido por el % DI/g en sangre a los 120 minutos) era 88,69. Los niveles de Compuesto 1 en la vesícula biliar y en el tracto GI son bajos.

Datos para ratas (Figura 2):

- 25 En ratas, los niveles sanguíneos de Compuesto 1 son 0,67 y 0,15% DI/g a los 30 y 120 minutos, respectivamente. El nivel en la orina era 5,3% DI/g a los 30 minutos. El índice de excreción por la orina (% DI/g medio en la orina dividido por el % DI/g en sangre a los 120 minutos) era 36,62. Por tanto, la excreción en la orina y el aclaramiento sanguíneo de Compuesto 1 en ratas son rápidos dado el elevado % DI/g en la orina y el bajo % DI/g en la sangre.

2) Ensayos de citotoxicidad de HX4 en líneas celulares humanas normales y cancerosas

- 30 Método: El ensayo se basa en la capacidad de las células viables para reducir bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio a cristales coloreados de formazano. Se seleccionaron para este estudio líneas celulares de adenocarcinoma colorrectal humano Ls174T, de glioblastoma cerebral humano A172, fibroblastos pulmonares humanos normales MRC5 y células hepáticas normales ALM 12 de ratón. Se cultivaron las células con distintas concentraciones de Compuesto 1 (0, 100, 500, 1.000, 5.000, 10.000 nM) durante 24 horas y después se incubaron durante 1 hora con 0,5 mg/mL de bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio. Se lisaron las células, se disolvieron con 2-propanol los cristales de formazano durante 1 hora y se midió la densidad óptica del 2-propanol coloreado resultante. Los porcentajes de supervivencia celular se calcularon basándose en las densidades ópticas.

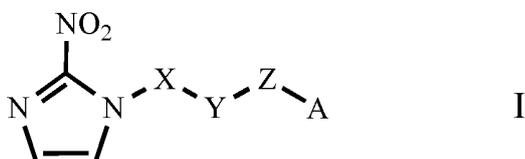
- 35 Resultados: Estadísticamente, en todas estas cuatro líneas celulares (normales y cancerosas), no se apreció diferencia el número de células viables entre las tratadas con diferentes concentraciones de Compuesto 1 y las células control que no habían sido tratadas. Por tanto, el Compuesto 1 no es citotóxico para las células normales ni para las cancerosas (Figuras 3-5).

- 40 Protocolo de obtención de imágenes (Figura 6):

- 45 Se anestesiaron los animales mediante inhalación de isoflurano/oxígeno durante toda la duración de cada procedimiento de exploración PET (hasta 2 horas). Se puso a los animales anestesiados en una almohadilla caliente durante toda la duración de cada exploración PET. Los volúmenes inyectados típicos fueron 250 µL, que contenían típicamente 250 µCi de actividad. La exploración PET continua y dinámica comenzó inmediatamente después de la administración del trazador marcado con F18.

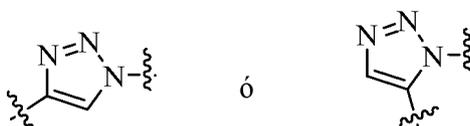
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



en donde:

- 5 X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;
- 10 cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo;
- Y es un triazolilo de fórmula;



triazol *anti*

triazol *sin*

- 15 Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR", -NR"CO-, -NR", -O- y -S-, y en donde el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;
- A es un elemento radiactivo; y
- R' y R" son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente, del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)).
- 20

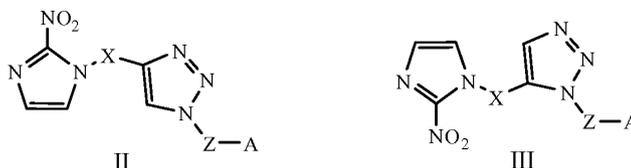
2. El compuesto según la reivindicación 1, en donde X es un grupo alquilenilo(C₁-C₄) opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos hidroxilo o bien 1, 2 o 3 grupos -NH₂ o -NH(alquilo (C₁-C₄)).

3. El compuesto según la reivindicación 2, en donde X se selecciona del grupo consistente en -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-, -CH(OH)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH(OH)- y -CH₂-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-.
25

4. El compuesto según la reivindicación 1, en donde X se selecciona del grupo consistente en -CONR', -(alquilo(C₁-C₄))CONR', -CONR'(alquilo(C₁-C₄)) y -(alquilo(C₁-C₄))CONR'(alquilo(C₁-C₄)), en donde R' es H o alquilo(C₁-C₃).

5. El compuesto según la reivindicación 1, en donde A es ¹¹C.

- 30 6. El compuesto según la reivindicación 1 de fórmula II o III



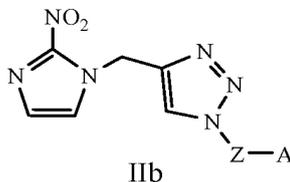
en donde:

- 35 X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;
- 40 cada X¹ es, de manera independiente, hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo o halo;
- Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR", -NR"CO-, -NR", -O- y -S-, y el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;

A es un elemento radiactivo; y

R' y R'' son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente, del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)).

7. El compuesto según la reivindicación 1 de fórmula IIb:



5

en donde:

Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR'', -NR''CO-, -NR'', -O- y -S-, y el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;

10 R'' es H o bien se selecciona del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃));

cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo o halo; y

A es un elemento radiactivo.

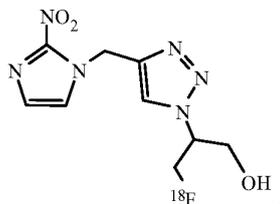
15 8. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₄) opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos seleccionados de manera independiente del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo(C₁-C₄), alcoxi(C₁-C₄), tioalquilo(C₁-C₄) y halo.

20 9. El compuesto según la reivindicación 8, en donde Z se selecciona del grupo consistente en -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-, -CH(OH)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-CH₂-, -CH(CH₂OH)-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH(OH)- y -CH₂-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-.

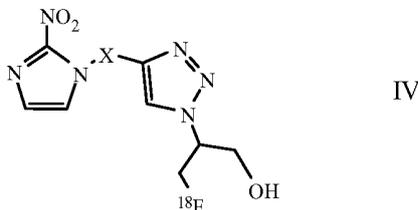
10. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde A es ¹⁸F u ¹¹C-Me.

11. El compuesto según la reivindicación 10, en donde A es ¹⁸F.

12. El compuesto según la reivindicación 11, de fórmula:



25 13. Un compuesto según la reivindicación 1, que es un compuesto de fórmula IV:



en donde:

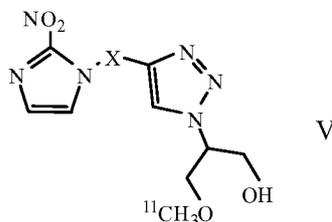
30 X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;

R' es H o bien se selecciona del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)); y

35 cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo(C₁-C₄), alcoxi(C₁-C₄), tioalquilo(C₁-C₄) y halo.

14. El compuesto según la reivindicación 13, en donde X es alquilenilo(C₁-C₅), sin sustituir o sustituido con 1 o 2 X¹, o en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CONR'- o -NR'CO-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido, sin sustituir o sustituido con 1, 2 o 3 X¹, en donde X¹ es -OH o NH₂.

5 15. Un compuesto según la reivindicación 1 de fórmula V:

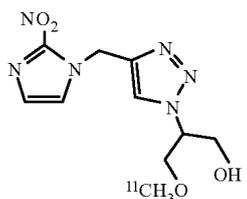


en donde:

10 X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR'-, -NR'CO-, -NR'-, -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;

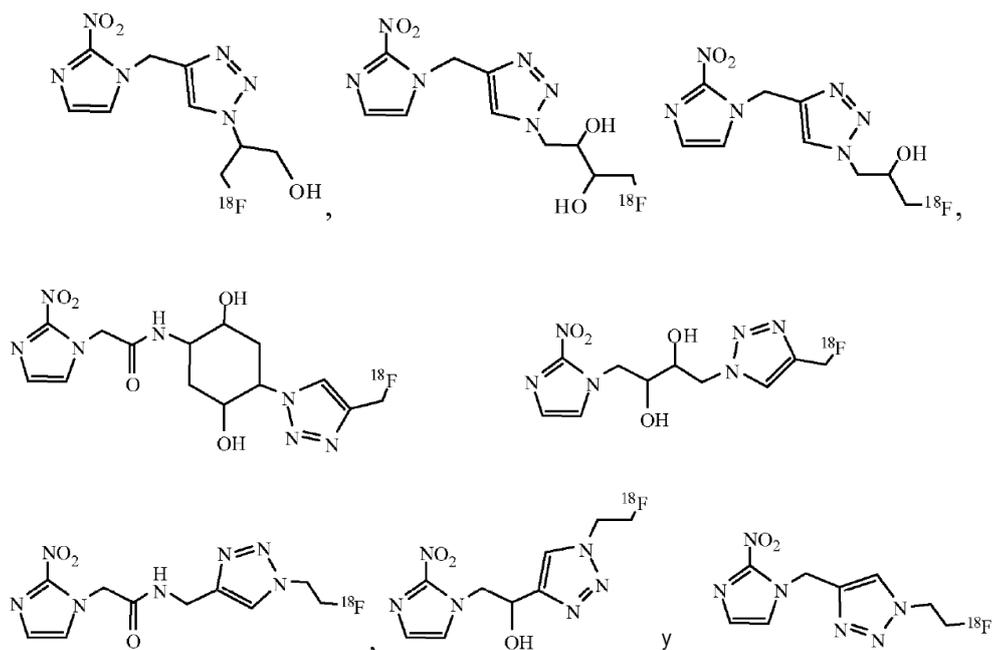
15 R' es H o bien se selecciona del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)); y cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo.

16. El compuesto según la reivindicación 15, de fórmula



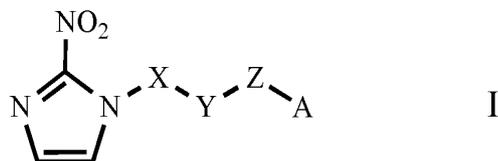
17. El compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo consistente en:

20



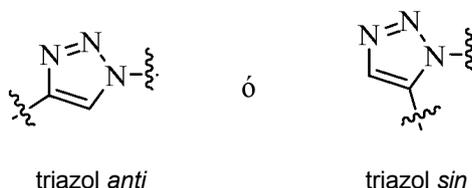
18. Un método para detectar hipoxia en células, que comprende:

a) administrar a un mamífero un compuesto de fórmula I:



en donde:

- 5 X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;
- 10 cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo;
- Y es un triazolilo de fórmula;



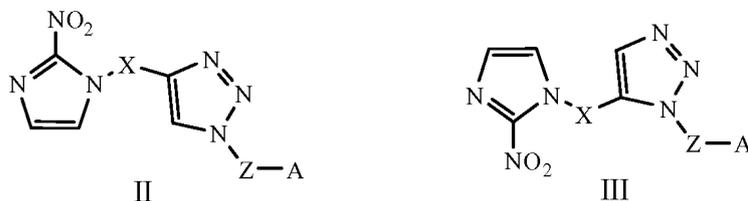
- 15 Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, y en donde el grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;
- A es un elemento radiactivo; y
- R' y R'' son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente, del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)); y
- 20 b) detectar mediante PET la presencia de elemento radioactivo retenido en células hipóxicas del mamífero.

19. El método según la reivindicación 18, en donde X es un grupo alquilenilo(C₁-C₄) opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos hidroxilo o bien 1, 2 o 3 grupos -NH₂ o -NH(alquilo(C₁-C₄)).

20. El método según la reivindicación 19, en donde X se selecciona del grupo consistente en -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-, -CH(OH)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH(OH)- y -CH₂-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-.

21. El método según la reivindicación 18, en donde X se selecciona del grupo consistente en -CONR', -(alquilo(C₁-C₄))CONR', -CONR'(alquilo(C₁-C₄))- y -(alquilo(C₁-C₄))CONR'(alquilo(C₁-C₄)), y en donde R' es H o alquilo(C₁-C₃).

- 30 22. El método según la reivindicación 18, en donde el compuesto tiene la fórmula II o III



en donde:

- 35 X es un alquilenilo(C₁-C₁₀), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, en donde uno de los átomos de carbono del alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR', -NR'CO-, -NR', -O- y -S-, o en donde 2, 3 o 4 átomos contiguos del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) forman un cicloalquilo(C₃-C₈) sin sustituir o sustituido o un anillo de heterocicloalquilo(C₃-C₈), sin sustituir o sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹, o una combinación de los mismos;
- 40 cada X¹ se selecciona, de manera independiente, del grupo consistente en hidroxilo, tiol, amino, alquilo, alcoxi, tioalquilo y halo;
- Z es un grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) en donde uno de los átomos de carbono del grupo alquilenilo(C₁-C₁₀) está opcionalmente reemplazado por un grupo seleccionado de -CO-, -CONR'', -NR''CO-, -NR'', -O- y -S-, y el grupo

alquilenilo(C₁-C₁₀) está sin sustituir o bien está sustituido con 1, 2, 3 o 4 X¹;

A es un elemento radiactivo; y

R' y R'' son cada uno, de manera independiente, H o bien se seleccionan cada uno, de manera independiente, del grupo consistente en alquilo(C₁-C₆), -CO(alquilo(C₁-C₃)), -CONH(alquilo(C₁-C₃)) y -CO₂(alquilo(C₁-C₃)).

5 23. El método según la reivindicación 22, en donde el compuesto tiene la fórmula II.

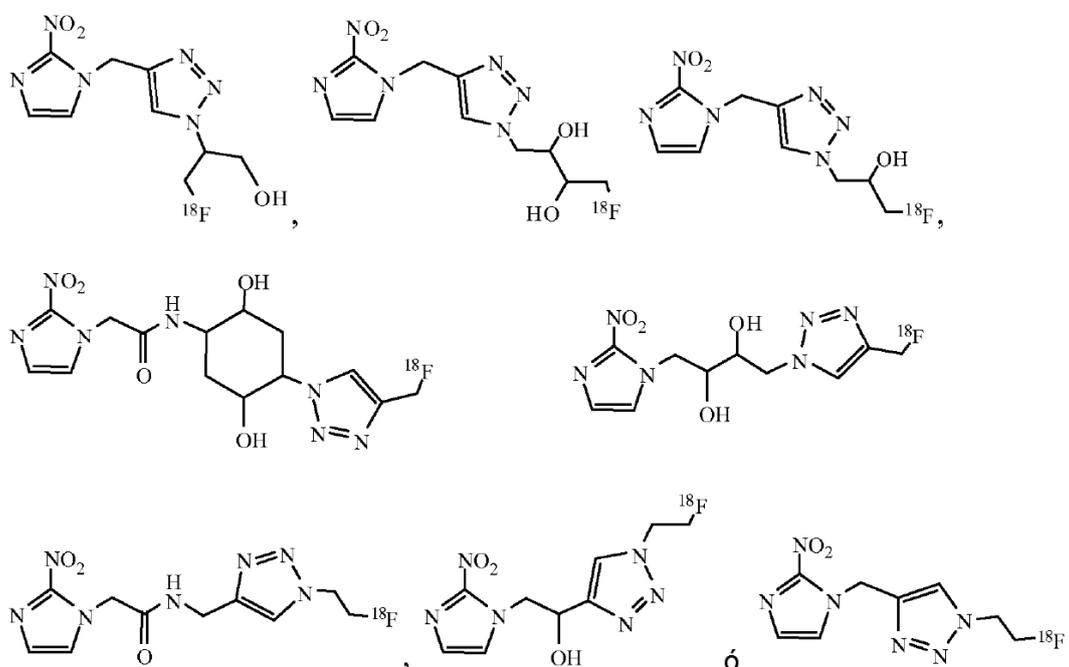
24. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 18-23, en donde Z es grupo alquilenilo(C₁-C₄) opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos hidroxilo o bien 1, 2 o 3 grupos hidroxialquilo(C₁-C₄).

25. El método según la reivindicación 24, en donde Z se selecciona del grupo consistente en -CH₂-, -CH₂-CH₂-,
 10 -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH(OH)-, -CH(OH)-CH₂-, -CH(OH)-CH₂-CH₂-, -CH(CH₂OH)-CH₂-,
 -CH₂-CH(OH)-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH(OH)- y -CH₂-CH(OH)-CH(OH)-CH₂-.

26. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 18-25, en donde A es ¹⁸F u ¹¹C-Me.

27. El método según la reivindicación 26, en donde A es ¹⁸F.

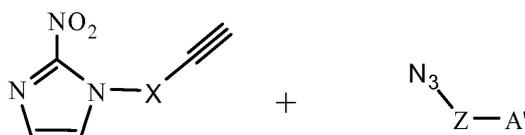
28. El método según la reivindicación 18, en donde el compuesto tiene la fórmula:



15 29. El método según la reivindicación 18, en donde las células hipóxicas son células tumorales o células isquémicas.

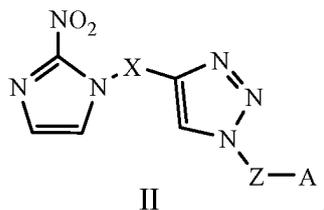
30. Un método para preparar un compuesto de fórmula II o III según la reivindicación 6, o una mezcla de los mismos, que comprende:

20 a) tratar un compuesto sustituido con azida A'-Z-N₃ con un nitroimidazol sustituido con acetileno, en donde A' es un grupo eliminable; y



b) marcar radiactivamente el producto del paso a) mediante el desplazamiento de A' con un agente de radiomarcaje, para formar el compuesto II o III o una mezcla de los mismos, en donde A es, o bien ¹⁸F o bien ¹¹C.

31. El método según la reivindicación 30, en donde el compuesto tiene la fórmula



32. El método según la reivindicación 30, en donde el agente de radiomarcaje es $K^{18}F$.

- 5 33. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para uso en la detección de tumores hipóxicos en un mamífero que lo necesite, comprendiendo la detección administrar al mamífero una cantidad eficaz para la detección, de dicho compuesto.

Figura 1. Biodistribución de Compuesto 1 en ratón blanco macho 120 minutos tras la inyección IV (200 µl de una disolución 5 mM).

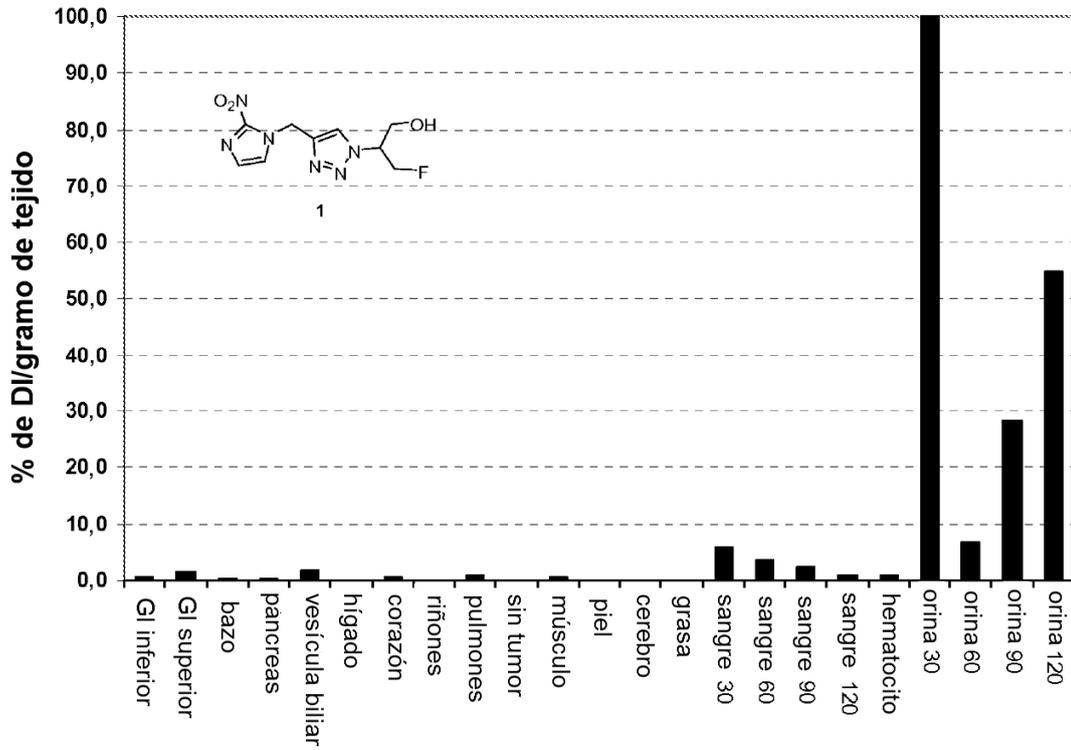


Figura 2. Estudio farmacológico en plasma y orina de Compuesto 1 en rata de tipo silvestre (1 ml a concentración 10 mM).

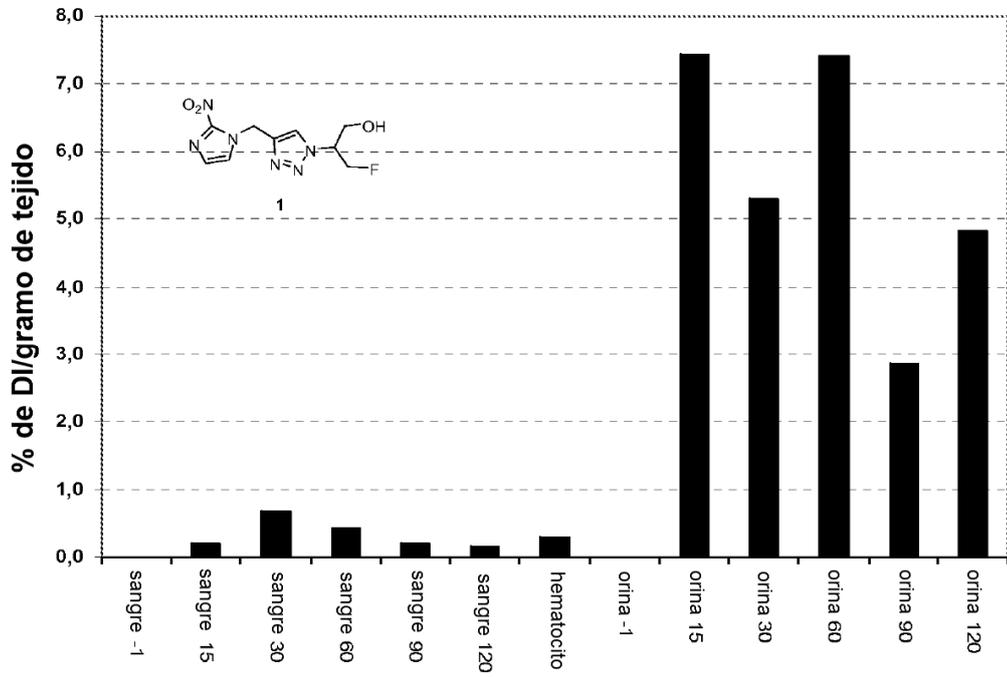


Figura 3:

Ensayo de citotoxicidad (células A172 incubadas con distinta concentración de compuestos)

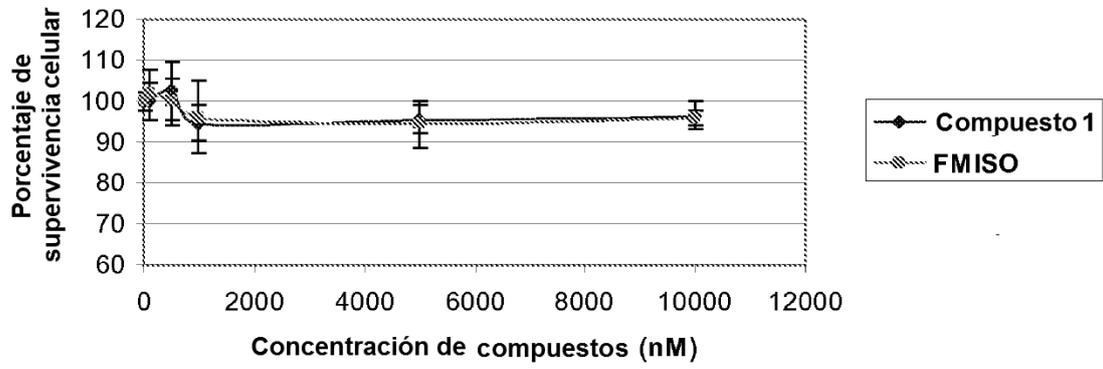


Figura 4:

Ensayo de citotoxicidad (células LS174T incubadas con distinta concentración de compuestos)

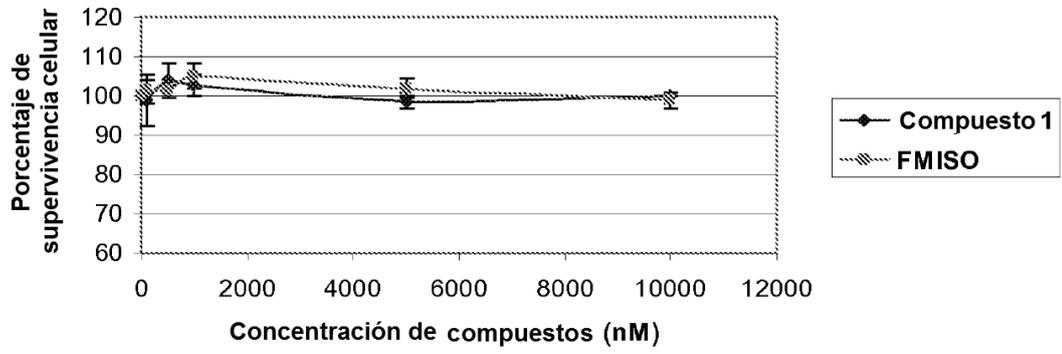


Figura 5:

Ensayo de citotoxicidad (células AML12 incubadas con distinta concentración de compuestos)

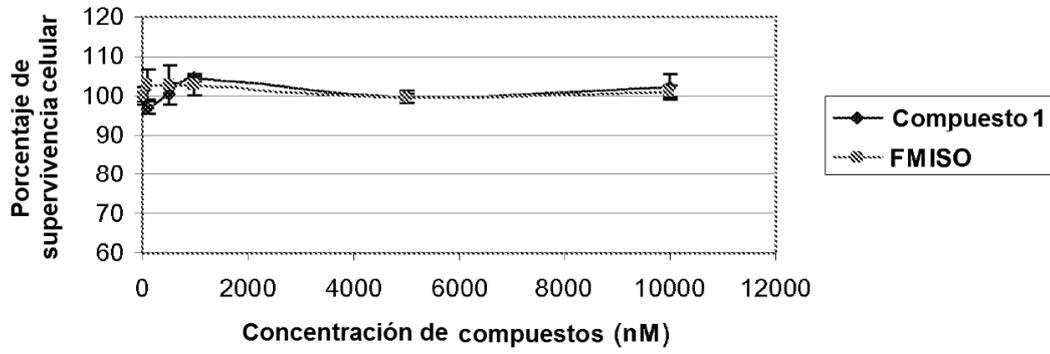
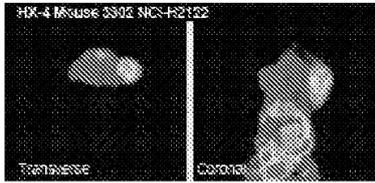
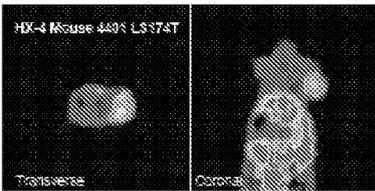


Figura 6: Imágenes PET

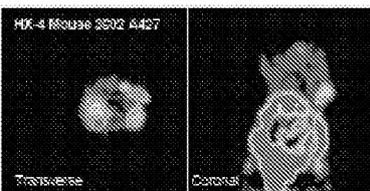
Tumor de xenoinjerto NCI hipóxico en un ratón atómico:



Tumor de xenoinjerto LS174T hipóxico en un ratón atómico:



Tumor de xenoinjerto A427 hipóxico en un ratón atómico:



Tumor de xenoinjerto BXP3 no hipóxico en una rata atómica:

