

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 270**

51 Int. Cl.:

C07B 59/00 (2006.01)

C07F 7/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.03.2013 PCT/EP2013/056699**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.10.2013 WO2013144292**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2013 E 13712574 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016 EP 2831018**

54 Título: **Estannano de biotina para radioyodación sin HPLC**

30 Prioridad:

30.03.2012 US 201213435142

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

06.06.2017

73 Titular/es:

**GENERAL ELECTRIC COMPANY (50.0%)
1 River Road
Schenectady, NY 12345, US y
CENTRE FOR PROBE DEVELOPMENT AND
COMMERCIALIZATION (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CARTER, RANDALL LEE;
JOHNSON, BRUCE, FLETCHER;
SOOD, ANUP;
RISHEL, MICHAEL, JAMES;
VALLIANT, JOHN, FITZMAURICE;
STEPHENSON, KARIN, ANN;
WU, TAO y
YANG, YANG**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 615 270 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

Estannano de biotina para radioyodación sin HPLC

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a vectores radioyodados, en especial a radiofármacos radioyodados y a métodos para su preparación.

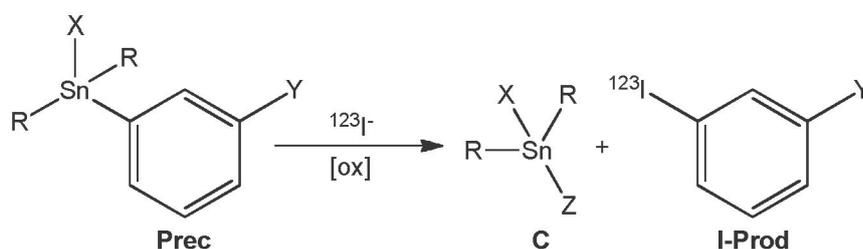
Antecedentes de la invención

10 Los vectores radioyodados son herramientas valiosas para la terapia, imagenología de diagnóstico médico e investigación. Por ejemplo, se usan vectores marcados con ^{123}I para imagenología por SPECT, se usan vectores marcados con ^{124}I para imagenología por PET, se usan vectores marcados con ^{125}I para ensayos biológicos y terapia y se usan vectores marcados con ^{131}I para terapia.

15 La radioyodación se puede lograr por el tratamiento de un precursor de vinil o aril-estaño con un radioisótopo del yodo (p. ej., una especie ^{123}I) en condiciones oxidativas para dar el producto radioyodado deseado, junto con un producto de escisión de estaño. Se usa exceso de precursor de aril-estaño para asegurar el uso rápido y eficaz del yodo radiactivo. Típicamente, se requiere HPLC para separar el producto radioyodado deseado del producto de escisión de estaño y precursor de aril-estaño sin reaccionar. Sin embargo, la HPLC requiere tiempo, produciendo así una pérdida de actividad, y también requiere en general inversión significativa, espacio y personal entrenado.

20 Un procedimiento sin HPLC que funcione en una amplia variedad de compuestos incluyendo biomoléculas como péptidos y antibióticos sería ventajoso. Véase, p. ej., Eersels, J.L.H. et al., *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 2005. 48(4): pág. 241-257 y Coenen, H.H. et al, *Radioiodination Reactions for Pharmaceuticals* 2006: Springer. pág. 101. Se reconoce la necesidad de un procedimiento sin HPLC, sin embargo, dos soluciones descritas tienen inconvenientes importantes:

Esquema 1



25 El primer procedimiento descrito usa una resina o polímero insoluble como X (como se representa en el esquema 1). El precursor Prec consiste en el vector unido a la resina por un conector de estaño. Tras la radioyodación oxidativa, el I-Prod radioyodado deseado es liberado durante la reacción y se puede separar del Prec y C por filtración. Véase, p. ej., Culbert, P.A. et al, *Reactive Polymers*, 1993. 19(3): pág. 247-253; Hunter, D.H. et al, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 1999. 42(7): pág. 653-661 y Kabalka, G. W. et al, *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 2001. 44(13): pág. 921-921 y documento W02004/035744.

30 Sin embargo, este procedimiento tiene varios inconvenientes. Por ejemplo, la preparación, purificación y caracterización del precursor unido a la resina son difíciles, en particular para un radiofármaco donde deben demostrarse la pureza y la esterilidad a agencias reguladoras con el fin de obtener la aprobación. Además, la química sobre una resina a menudo no es tan fácil como una química en fase de disolución, y no está claro que este procedimiento funcionara para una biomolécula grande sensible, tal como un anticuerpo.

35 En un segundo procedimiento, X (como se representa en el esquema 1) es una cola de fase de flúor, tal como $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5\text{CH}_2\text{CH}_2-$. Después de radioyodación, el I-Prod deseado se aísla por elución por un Sep-Pak de fase de flúor en el que el Prec y C son retenidos debido a la cola de fase de flúor. Véase, p. ej., Donovan, A.C. et al., *Nucl Med Biol*, 2008. 35(7): pág. 741-6; Donovan, A. et al., *J Am Chem Soc*, 2006. 128(11): pág. 3536-3537; y Valliant, J.F. et al., Patente de EE.UU. 7.335.347 B2 (2008). Para maximizar la interacción entre la fase de flúor el Sn lleva 3 colas de fase de flúor. Sin embargo, este procedimiento también tiene varias desventajas. Por ejemplo, si el vector es una molécula grande, p. ej., un péptido o anticuerpo, no es probable que el precursor sea retenido en el Sep-Pak de la fase de flúor porque las propiedades cromatográficas del precursor estarían dominadas por el vector grande, no por las colas de fase de flúor.

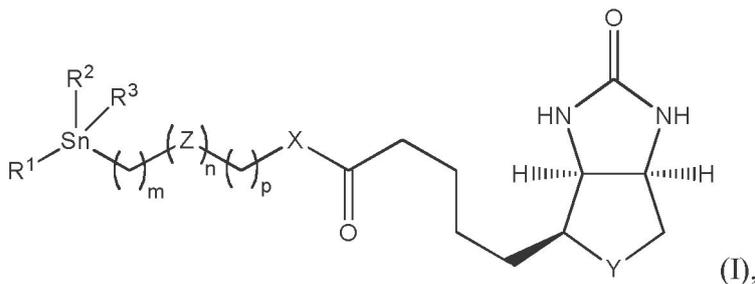
Resumen de la invención

45 Las presentes enseñanzas proporcionan métodos para la preparación y purificación de vectores radioyodados sin la necesidad de purificación por HPLC y nuevos precursores para usar en dichos métodos. Sin querer estar limitados

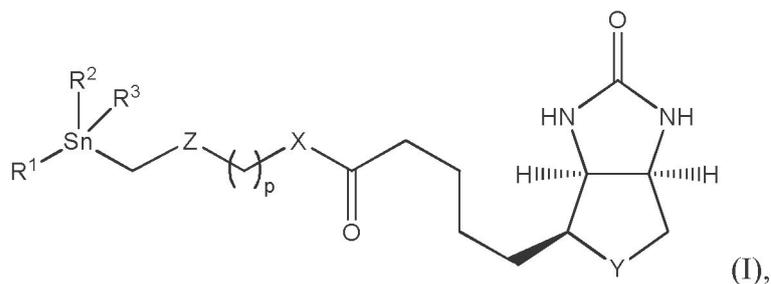
por ninguna teoría particular, se cree que dichos métodos serían ventajosos no solo en el ahorro de tiempo y coste, sino también en la maximización del uso del radioisótopo de partida y el mantenimiento de la radiactividad óptima del producto.

- 5 En algunas realizaciones, las presentes enseñanzas proporcionan un método para preparar un compuesto radioyodado, comprendiendo el método: poner en contacto un precursor de estaño que contiene biotina con un yoduro radiactivo y un oxidante para formar una mezcla de reacción que comprende un compuesto radioyodado, precursor sin reaccionar y subproductos de reacción; y poner en contacto la mezcla de reacción con avidina o estreptavidina; separando de esta forma el compuesto radioyodado del precursor y los subproductos de reacción.

En algunas realizaciones, las presentes enseñanzas proporcionan un compuesto de fórmula (I):



- 10 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; en donde:
- R^1 es un grupo aromático o vinilo capaz de ser sustituido en un carbono aromático o vinílico con yoduro;
- R^2 y R^3 se selecciona cada uno independientemente de R^1 ; alquilo o alcoxilalquilo, cada uno sustituido con 0-4 grupos R^5 ; o R^2 y R^3 , junto con el átomo de Sn al que están unidos, forman un anillo de 3 a 8 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S;
- 15 Z se selecciona de -alquilenol(C₁-C₄)-, -alquilenol(C₁-C₄)-O-, arileno, heteroarileno, cicloalquilenol o heterocicloalquilenol, con la condición de que m es al menos 1 cuando Z es arileno o heteroarileno;
- X se selecciona de -O-, y -NR⁴-;
- R^4 se selecciona de H y alquilo, en donde el alquilo está sustituido con 0-4 grupos R^6 ;
- 20 cada R^5 se selecciona independientemente de -H, -halógeno, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c y -OC(=O)R^c;
- R^6 se selecciona de -H, halógeno, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c y -OC(=O)R^c;
- R^a , R^b y R^c se selecciona cada uno independientemente de -H y alquilo (C₁-C₆);
- Y se selecciona de S, SO, SO₂ y O;
- 25 i es 0, 1 o 2; y
- m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 10, en donde $m + n + p \geq 1$.
- En una realización particular de fórmula (I) o (A), m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 10, en donde $m + n + p \geq 2$.
- En una realización particular de fórmula (I) o (A), R^2 y R^3 son ambos H.
- 30 En una realización particular de fórmula (I) o (A), m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 10, en donde $m + n + p \geq 2$ y R^2 y R^3 son ambos H.
- En algunas realizaciones, las presentes enseñanzas proporcionan un compuesto de fórmula (I):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; en donde:

R¹ es un grupo aromático o vinilo capaz de ser sustituido en un carbono aromático o vinílico con yoduro;

5 R² y R³ se selecciona cada uno independientemente de alquilo (C₁-C₆) o alcoxilalquilo; o R² y R³, junto con el átomo de Sn al que están unidos, forman un anillo de 4, 5 o 6 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S;

Z es -alquileno(C₁-C₄)-O-;

X se selecciona de O y NH;

Y se selecciona de S o SO₂; y p es un número entero de 2 a 4.

10 **Breve descripción de los dibujos**

Las figuras 1A-1E son gráficas que demuestran la estabilidad de precursores de biotina de ejemplo de las presentes enseñanzas frente a diferentes oxidantes usados en la radioyodación.

Las figuras 2A-2C son gráficas que demuestran la estabilidad de los precursores de sulfona de biotina de ejemplo de las presentes enseñanzas frente a diferentes oxidantes usados en la radioyodación.

15 Las figuras 3A-3E son gráficas que demuestran la capacidad de la resina de estreptavidina para retener los precursores de ejemplo de las presentes enseñanzas en diferentes proporciones de disolventes.

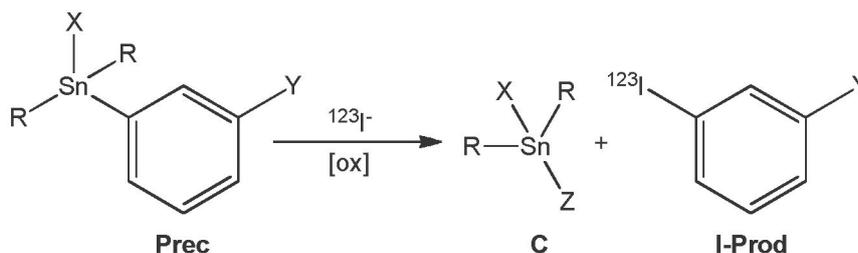
Las figuras 4 y 5 representan señales de UV y γ de un producto radioyodado de ejemplo de las presentes enseñanzas, antes y después de purificación.

Descripción detallada de la invención

20 La sensibilidad en la imagenología médica basada en PET y SPECT depende de la cantidad de radiactividad localizada en el sitio de interés y por consiguiente de la radiactividad por dosis de agente o "actividad específica" del agente. Es importante maximizar la pureza química de los agentes de imagenología de PET y SPECT para asegurar la seguridad del paciente y lograr una alta actividad específica eficaz. La actividad específica eficaz se define como los moles de agente radiomarcado dividido entre los moles de todas las moléculas con propiedades biológicas similares al agente radiomarcado.

25 La radioyodación (véase el esquema 1 a continuación) se puede lograr por el tratamiento de un precursor de vinil o aril-estaño ("Prec") con un radioisótopo de yodo (p. ej., una especie ¹²³I⁻) en condiciones oxidativas para dar el producto radioyodado deseado ("I-Prod") y un producto de escisión de estaño ("C"). El precursor de aril-estaño en exceso se usa para asegurar el uso rápido y eficaz del yoduro radiactivo.

30 Esquema 1



Debido a que se usa un exceso de precursor ("Prec") en las radioyodaciones, el Prec sin reaccionar es la fuente principal de la baja actividad específica. Para la imagenología de receptores de baja abundancia, el Prec sin reaccionar puede saturar el receptor y reducir la unión del producto radiomarcado I-Prod lo cual da como resultado

una mala calidad de la imagen.

También es importante maximizar la pureza química de un agente de imagenología de PET y/o SPECT para asegurar la seguridad del paciente. Los procedimientos actuales para potenciar la pureza química de compuestos radioyodados se basan en la purificación por HPLC que requiere tiempo conduciendo por lo tanto a la disminución de la radiactividad, limitado por la capacidad para separar de forma cromatográfica el producto radioyodado del precursor y es caro. Las presentes enseñanzas describen un método para preparar y purificar vectores radioyodados sin usar la purificación por HPLC, que logra una alta pureza química del vector radioyodado.

Las presentes enseñanzas se refieren a nuevos precursores para la radioyodación y a métodos para preparar y purificar vectores radioyodados usando estos precursores, p. ej., para el fin de investigación, imagenología de diagnóstico y terapia. Sin querer estar limitados por ninguna teoría particular, se cree que dichos métodos y precursores tienen muchas ventajas frente a la técnica, que incluyen, pero no se limitan a: eliminación de la necesidad de HPLC para purificar el vector radioyodado del precursor y el producto de escisión; preparación fácil, capacidad para caracterizar y purificar los precursores, puesto que son compuestos individuales; utilidad frente a una amplia variedad de vectores radioyodados, incluyendo moléculas grandes tales como péptidos o anticuerpos donde la diferenciación cromatográfica del precursor y el vector radioyodado es mínima; y compatibilidad de precursores con una mezcla de reacción acuosa.

Métodos de preparación y purificación

En al menos una realización, las presentes enseñanzas proporcionan métodos para preparar o purificar un compuesto radioyodado. Dichos métodos incluyen en general poner en contacto un precursor de estaño que contiene biotina con un yoduro radiactivo y un oxidante, para formar una mezcla de reacción que comprende un compuesto radioyodado, precursor sin reaccionar y subproductos de reacción; y poner en contacto la mezcla de reacción con avidina o estreptavidina para separar el compuesto radioyodado del precursor y los subproductos de reacción. En al menos una realización, el método comprende además poner en contacto la mezcla de reacción con un agente potenciador de la solubilidad.

En al menos una realización, las presentes enseñanzas proporcionan métodos para preparar o purificar un compuesto radioyodado. Dichos métodos incluyen en general poner en contacto un precursor de estaño que contiene biotina con un yoduro radiactivo, un oxidante y un agente potenciador de la solubilidad para formar una mezcla de reacción que comprende un compuesto radioyodado, agente potenciador de la solubilidad, precursor sin reaccionar y subproductos de reacción; y poner en contacto la mezcla de reacción con avidina o estreptavidina para separar el compuesto radioyodado del precursor y los subproductos de reacción.

En al menos una realización, las presentes enseñanzas proporcionan métodos para preparar o purificar un compuesto radioyodado. Dichos métodos incluyen en general poner en contacto un precursor de estaño que contiene biotina con un yoduro radiactivo y un oxidante para formar una mezcla de reacción que comprende un compuesto radioyodado, precursor sin reaccionar y subproductos de reacción; y poner en contacto la mezcla de reacción con un agente potenciador de la solubilidad y avidina o estreptavidina para separar el compuesto radioyodado del precursor y los subproductos de reacción.

En al menos una realización, las presentes enseñanzas proporcionan métodos para preparar o purificar un compuesto radioyodado. Dichos métodos incluyen en general poner en contacto un precursor de estaño que contiene biotina con un yoduro radiactivo y un oxidante, para formar una mezcla de reacción que comprende un compuesto radioyodado, precursor sin reaccionar y subproductos de reacción; poner en contacto la mezcla de reacción con un agente reductor para formar una mezcla de reacción reducida; poner en contacto la mezcla de reacción reducida con avidina o estreptavidina para separar el compuesto radioyodado del precursor y los subproductos de reacción. En al menos una realización, el método comprende además la etapa de poner en contacto la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida con un agente potenciador de la solubilidad.

En al menos una realización, las presentes enseñanzas proporcionan métodos para preparar o purificar un compuesto radioyodado. Dichos métodos incluyen en general poner en contacto un precursor de estaño que contiene biotina con un yoduro radiactivo, un oxidante y un agente potenciador de la solubilidad, para formar una mezcla de reacción que comprende un compuesto radioyodado, agente potenciador de la solubilidad, precursor sin reaccionar y subproductos de reacción; poner en contacto la mezcla de reacción con un agente reductor para formar una mezcla de reacción reducida; poner en contacto la mezcla de reacción reducida con avidina o estreptavidina para separar el compuesto radioyodado del precursor y los subproductos de reacción.

En al menos una realización, las presentes enseñanzas proporcionan métodos para preparar o purificar un compuesto radioyodado. Dichos métodos incluyen en general poner en contacto un precursor de estaño que contiene biotina con un yoduro radiactivo y un oxidante, para formar una mezcla de reacción que comprende un compuesto radioyodado, precursor sin reaccionar y subproductos de reacción; poner en contacto la mezcla de reacción con un agente reductor para formar una mezcla de reacción reducida; poner en contacto la mezcla de reacción reducida con un agente potenciador de la solubilidad y avidina o estreptavidina para separar el compuesto radioyodado del precursor y los subproductos de reacción.

En condiciones de reacción típicas el yodo radiactivo no unido residual es mínimo. En el caso de que el yodo radiactivo no se haya consumido completamente por la reacción, se entiende que la purificación previa o posterior del yodo radiactivo no unido residual con técnicas de extracción en fase sólida u otras, sería obvio para alguien experto en la técnica. Esto puede incluir, pero no se limita al intercambio iónico, gel de sílice, alúmina, resinas de fase inversa, etc.

Se entiende que el contacto con el agente potenciador de la solubilidad se puede hacer en cualquier momento durante los métodos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, el precursor de estaño que contiene biotina se puede poner en contacto con un agente potenciador de la solubilidad durante la formación de la mezcla de reacción, o alternativamente, la mezcla de reacción se puede formar como se ha descrito antes y después de un periodo de tiempo, la mezcla de reacción se puede poner en contacto con un agente potenciador de la solubilidad. Igualmente, el precursor de estaño que contiene biotina se puede poner en contacto con un agente potenciador de la solubilidad durante la formación de la mezcla de reacción y antes del contacto con el agente reductor, o alternativamente, la mezcla de reacción se puede formar como se ha descrito antes y después de un periodo de tiempo, la mezcla de reacción se puede poner en contacto con un agente potenciador de la solubilidad y después el agente reductor, o con el agente potenciador de la solubilidad y el agente reductor al mismo tiempo. Igualmente, cuando la mezcla de reacción reducida se pone en contacto con un agente potenciador de la solubilidad, el contacto se puede producir antes, al mismo tiempo, o después del contacto con la avidina o estreptavidina. Un experto en la técnica es capaz de determinar el momento adecuado de lo anterior.

Como se usa en la presente memoria, la expresión “compuesto radioyodado” o “compuesto radioyodado aislado” se refiere a compuestos aromáticos o vinílicos, que incluyen un sustituyente yodo radiactivo en una parte aromática o vinílica del compuesto. Los ejemplos de sustituyentes yodo radiactivos incluyen ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I . Por consiguiente, en algunas realizaciones, el compuesto radioyodado comprende un resto arilo, tal como un ácido de arilo. Los compuestos radioyodados de ejemplo incluyen, pero no se limitan a un ácido benzoico radioyodado, una benzamida radioyodada, una bencilamina radioyodada y una bencilguanidina radioyodada.

Como se usa en la presente memoria, “biotina” incluye biotina, productos de oxidación de la biotina, y sustituyentes de tipo biotina, que incluyen, por ejemplo biotina, oxibiotina, sulfona de biotina y sulfóxidos de biotina, así como estereoisómeros de los mismos que se unen a la avidina o estreptavidina. Como se usa en la presente memoria, la expresión “precursor que contiene biotina” se refiere a un complejo de estaño que incluye una biotina, productos de oxidación de la biotina, o un sustituyente de tipo biotina, así como un grupo aromático o vinílico que puede ser marcado con yoduro en un carbono aromático o vinílico y unirse a la avidina o estreptavidina. La molécula de estaño está unida por enlace directo a un átomo de carbono de al menos un carbono aromático o vinílico. La molécula de estaño también está unida, por enlace directo o por un conector, a una biotina, un producto de oxidación de la biotina o sustituyente de tipo biotina.

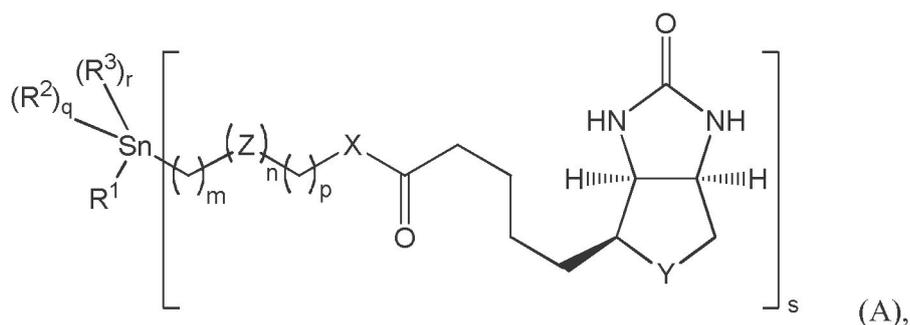
Como se usa en la presente memoria, la expresión “subproductos que contienen biotina” o “subproductos de reacción” se refiere a productos de la reacción de un yoduro y un precursor que contiene biotina como se define en la presente memoria. Esta reacción en general produce la escisión del resto de estaño del vector aromático que puede ser marcado con yoduro. Dichos subproductos típicamente incluyen un resto de estaño unido, sea directamente o por un conector, a una biotina o sustituyente de tipo biotina.

En algunas realizaciones, el oxidante se selecciona de lodogen y ácido peracético. Por ejemplo, el oxidante puede ser un sólido o estar en solución o suspensión, o el oxidante se puede aplicar como recubrimiento previamente a un tubo o perla. En algunas realizaciones, el yoduro radiactivo se selecciona de ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I .

Como se usa en la presente memoria, la expresión “agentes potenciadores de la solubilidad” se refiere a moléculas que potencian la solubilidad de moléculas orgánicas en agua o mezclas de agua y codisolventes orgánicos. Estos típicamente son anfífilicos, que contienen una región hidrófoba y regiones hidrófilas. Los agentes potenciadores de la solubilidad de ejemplo incluyen, pero por supuesto no se limitan a: polisorbato 80 (Tween 80), ciclodextrinas (por ejemplo, ciclodextrinas α , β , γ), análogos de ciclodextrinas tales como hidroxipropil- β -ciclodextrina, y laurilsulfatos de sodio.

Como se usa en la presente memoria, la expresión “agente reductor” se refiere a un agente que reduce el oxidante añadido y cualquier especie de yodo radiactivo electrófila que quede sin reaccionar. Los agentes de reducción de ejemplo incluyen, pero no se limitan a bisulfito sódico, tiosulfito sódico y metabisulfito sódico.

En algunas realizaciones, el precursor de estaño que contiene biotina es el compuesto representado por la fórmula (A):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde:

R^1 es un grupo aromático o vinilo capaz de ser sustituido en un carbono aromático o vinílico con yoduro;

5 R^2 y R^3 se selecciona cada uno independientemente de R^1 ; alquilo o alcoxilquilo, cada uno sustituido con 0-4 grupos R^5 ; o R^2 y R^3 , junto con el átomo de Sn al que están unidos, forman un anillo de 3 a 8 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S;

Z se selecciona de -alquileo(C_{1-4})-, -alquileo(C_{1-4})-O-, arileno, heteroarileno, cicloalquileo o heterocicloalquileo, con la condición de que m es al menos 1 cuando Z es arileno o heteroarileno, y $n = 1$ a 9, y con la condición de que $p = 2-10$ cuando Z es -alquileo(C_{1-4})-O-;

10 X se selecciona de -O-, y $-NR^4$ -;

R^4 se selecciona de H y alquilo, en donde el alquilo está sustituido con 0-4 grupos R^6 ;

cada R^5 se selecciona independientemente de -H, -halógeno, -CN, $-NO_2$, $-NR^aR^b$, $-OR^c$, $-S(O)_iR^c$, $-C(=O)R^c$, $-C(=O)OR^c$ y $-OC(=O)R^c$;

R^6 se selecciona de -H, halógeno, -CN, $-NO_2$, $-NR^aR^b$, $-OR^c$, $-S(O)_iR^c$, $-C(=O)R^c$, $-C(=O)OR^c$ y $-OC(=O)R^c$;

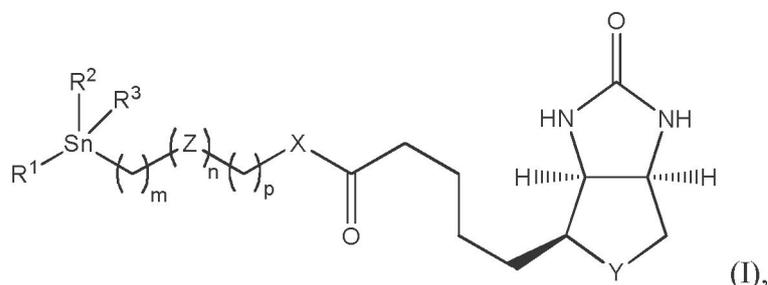
15 R^a , R^b y R^c se selecciona cada uno independientemente de -H y alquilo (C_{1-6});

i es 0, 1 o 2;

Y se selecciona de S, SO, SO_2 y O;

20 m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 10, en donde $m + n + p \geq 1$; y q y r son cada uno individualmente un número entero 0 o 1; y s es un número entero de 1 a 3, con la condición de que $q + r + s = 3$.

En otras realizaciones, el precursor de estaño que contiene biotina es un compuesto representado por la fórmula (I):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde:

R^1 es un grupo aromático o vinilo capaz de ser sustituido en un carbono aromático o vinílico con yoduro;

25 R^2 y R^3 se selecciona cada uno independientemente de R^1 ; alquilo o alcoxilquilo, cada uno sustituido con 0-4 grupos R^5 ; o R^2 y R^3 , junto con el átomo de Sn al que están unidos, forman un anillo de 3 a 8 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S;

30 Z se selecciona de -alquileo(C_{1-4})-, -alquileo(C_{1-4})-O-, arileno, heteroarileno, cicloalquileo o heterocicloalquileo, con la condición de que m es al menos 1 cuando Z es arileno o heteroarileno, y $n = 1$ a 9, y con la condición de que $p = 2-10$ cuando Z es -alquileo(C_{1-4})-O-;

X se selecciona de -O-, y -NR⁴-;

R⁴ se selecciona de H y alquilo, en donde el alquilo está sustituido con 0-4 grupos R⁶;

cada R⁵ se selecciona independientemente de -H, -halógeno, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c y -OC(=O)R^c;

5 R⁶ se selecciona de -H, halógeno, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c y -OC(=O)R^c;

R^a, R^b y R^c se selecciona cada uno independientemente de -H y alquilo (C₁-C₆);

Y se selecciona de S, SO, SO₂ y O;

i es 0, 1 o 2; y

m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 10, en donde m + n + p ≥ 1.

10 Como se usa en la presente memoria, un grupo aromático o vinilo capaz de ser marcado con yoduro significa que el resto yodo se une al grupo aromático (p. ej., un yoduro de arilo) o grupo vinílico (p. ej., yoduro de vinilo) para dar un agente terapéutico, un agente de diagnóstico o ambos. La expresión "yoduro de arilo" se refiere a un grupo aromático que lleva directamente un yoduro. La expresión "yoduro de vinilo" se refiere a un grupo vinílico que lleva directamente un yoduro. En una realización, el vector aromático que se puede marcar con yoduro comprende un resto arilo de 5 a 14 miembros o un resto heteroarilo de 5 a 14 miembros.

15 Como se usa en la presente memoria, el término "vector" se refiere a un grupo aromático o vinilo, en donde uno de los átomos de carbono aromático o vinílico está sustituido con yoduro. Como se usa en la presente memoria, la frase "vector aromático" se refiere a una sustancia, p. ej., un compuesto orgánico molécula pequeña o una macromolécula, que incluye al menos un resto aromático. Por lo tanto, un "vector aromático capaz de ser marcado con yoduro" se refiere a un vector aromático que puede intercambiar al menos un sustituyente del anillo por un sustituyente yoduro.

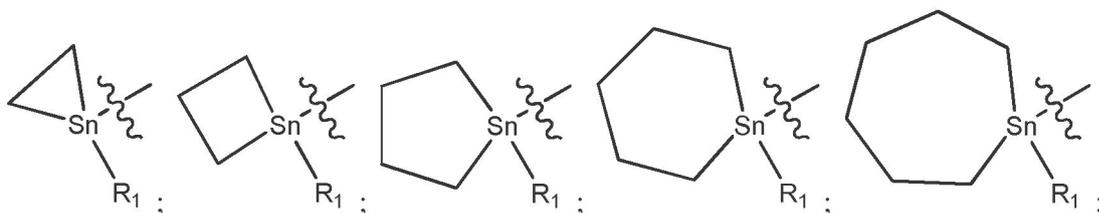
20 Como se usa en la presente memoria, la frase "vector vinílico" se refiere a una sustancia, p. ej., un compuesto orgánico molécula pequeña o una macromolécula, que incluye al menos un resto vinílico. Por lo tanto, un "vector vinílico capaz de ser marcado con yoduro" se refiere a un vector vinílico que puede intercambiar al menos un sustituyente de carbono vinílico por un sustituyente yoduro. En algunas realizaciones, el vector aromático o vinílico capaz de ser marcado con yoduro da (es decir, tras marcaje con yoduro) un agente terapéutico, un agente de diagnóstico o ambos.

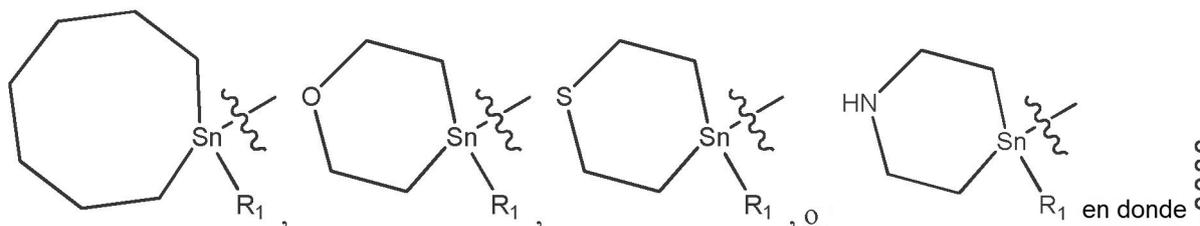
25 Como se usa en la presente memoria, la expresión "agente terapéutico" se refiere a un fármaco, medicamento, u otra sustancia capaz de producir un efecto en un cuerpo; por ejemplo, un agente que se puede usar para prevenir, curar, aliviar el inicio y/o el avance de una afección, trastorno patológico o enfermedad. Los agentes terapéuticos incluyen fármacos de bajo peso molecular, proteínas, péptidos, oligonucleótidos, ácidos nucleicos, polisacáridos y otras macromoléculas, cada uno de los cuales puede ser sintético o producido de forma natural. El término "fármacos" incluye moléculas pequeñas, tales como compuestos orgánicos con un peso molecular de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 1000 Daltons.

30 Como se usa en la presente memoria, la expresión "agente de diagnóstico" se refiere a una sustancia que permite la detección o seguimiento de una afección o función fisiológica; por ejemplo, un agente que se puede usar para la detección, imagenología y/o seguimiento de la presencia y/o avance de una afección, trastorno patológico o enfermedad.

35 En algunas realizaciones, R² y R³ en las fórmulas A, I y/o II se selecciona cada uno independientemente de alquilo (C₁-C₆), p. ej., metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo o alcóxialquilo, p. ej. metoximetilo, etoxietilo, metoximetoximetilo, -CH₂CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃. En algunas realizaciones, R² y R³ en las fórmulas A, I y/o II se selecciona cada uno independientemente de metilo, etilo, n-propilo o n-butilo.

40 En algunas realizaciones, R² y R³ en las fórmulas A, I y/o II, junto con el átomo de Sn al que están unidos, forman un anillo de 3 a 8 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S. Por ejemplo, el anillo formado puede ser uno de los siguientes:





indica la unión del átomo de Sn al resto de la molécula; y en donde uno cualquiera o más de los átomos de hidrógeno en el anillo formado se puede sustituir por halógeno, alquilo, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c o -OC(=O)R^c.

- 5 En algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, X se selecciona de O y NR⁴; y R⁴ se selecciona de H y alquilo (C₁-C₆). Por ejemplo, en algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, X se selecciona de O y NH. En algunas realizaciones, Y se selecciona de O, S, SO y SO₂. Por ejemplo, en algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, Y es S. En otras realizaciones de fórmulas A, I y/o II, Y es SO₂. En algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, Z se selecciona de -alquileo(C₁-C₄)-, -alquileo(C₁-C₄)-O-. Por ejemplo, en algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, Z es -alquileo(C₁-C₄)-O-.

En algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 5. Por ejemplo, en algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, m y n son ambos 0 y p es un número entero de 2 a 4.

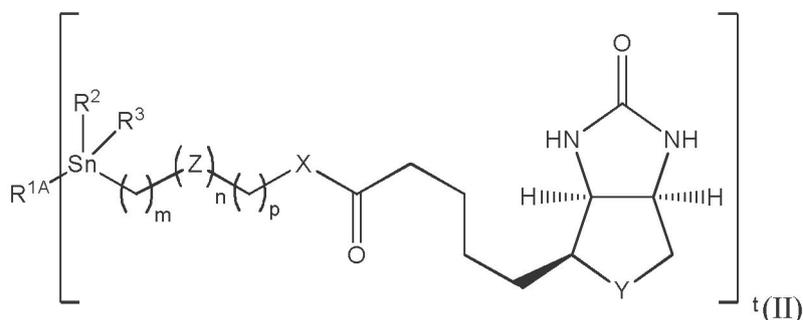
- 15 En algunas realizaciones, R² y R³ se selecciona cada uno independientemente de alquilo (C₁-C₆); X se selecciona de O y NR⁴; Y se selecciona de S, SO y SO₂; Z se selecciona de -alquileo(C₁-C₄)- y -alquileo(C₁-C₄)-O-; R⁴ se selecciona de H y alquilo (C₁-C₆); y m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 5.

En algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, R² y R³ se selecciona cada uno independientemente de metilo, etilo, n-propilo o n-butilo; X se selecciona de O y NH; Y es SO₂; Z es -alquileo(C₁-C₄)-O-; m y n son ambos 0 y p es un número entero de 2 a 4.

- 20 En algunas realizaciones, R² y R³, junto con el átomo de Sn forman un anillo de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S; X se selecciona de O y NR⁴; Y se selecciona de S, SO y SO₂; Z se selecciona de -alquileo(C₁-C₄)- y -alquileo(C₁-C₄)-O-; R⁴ se selecciona de H y alquilo (C₁-C₆); y m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 5.

- 25 En algunas realizaciones de fórmulas A, I y/o II, R² y R³ junto con el átomo de Sn forman un anillo de 5 o 6 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S; X se selecciona de O y NH; Y es SO₂; Z es -alquileo(C₁-C₄)-O-; m y n son ambos 0 y p es un número entero de 2 a 4.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, los subproductos que contienen biotina comprenden al menos un compuesto de fórmula (II):



- 30 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; en donde R²-R⁶, Z, X, Y, R^a, R^b, R^c, m, n y p son como se han definido antes para la fórmula (I) y diferentes realizaciones de los mismos; y en donde R^{1A} es -OH y t es 1 o en donde R^{1A} es -O- y t es 2.

En algunas realizaciones, poner en contacto la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida con avidina o estreptavidina comprende al menos uno de los siguientes:

- 35 pasar la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida por una columna de soporte sólido con avidina o estreptavidina;

mezclar un soporte sólido con avidina o estreptavidina con la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida, seguido de filtración;

5 depositar el precursor que contiene biotina sobre un soporte sólido con avidina o estreptavidina, seguido de poner en contacto el precursor que contiene biotina con el yoduro radiactivo y el oxidante, seguido de elución del compuesto radioyodado;

tratar la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida con avidina o estreptavidina soluble seguido de separación por tamaños de los complejos unidos a avidina o estreptavidina del compuesto radioyodado; o

pasar la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida sobre una superficie recubierta con avidina o estreptavidina.

10 La presente invención proporciona un compuesto radioyodado con un nivel de pureza comparable con el logrado por métodos de HPLC convencionales. El alto nivel de pureza permite el uso de los compuestos radioyodados preparados por los métodos descritos en la presente memoria, para usarlos como un agente de diagnóstico o terapéutico. En algunas realizaciones, dichos métodos permiten la producción de compuestos radioyodados que tienen impurezas mínimas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el compuesto radioyodado está en una
15 composición que comprende menos de aproximadamente 10%, menos de aproximadamente 5% o menos de aproximadamente 1% de precursores que contienen biotina o de subproductos que contienen biotina. En algunas realizaciones, el compuesto radioyodado está en una composición que comprende menos de aproximadamente 0,9%, menos de aproximadamente 0,8%, menos de aproximadamente 0,7%, menos de aproximadamente 0,6%, menos de aproximadamente 0,5%, menos de aproximadamente 0,4%, menos de aproximadamente 0,3%, menos de aproximadamente 0,2%, menos de aproximadamente 0,1%, o incluso menos de aproximadamente 0,05% de precursores que contienen biotina o de subproductos que contienen biotina. En general, el contaminante principal que resulta en la preparación del compuesto radioyodado es el precursor que contiene biotina sin reaccionar y/o los subproductos que contienen biotina. Como tales, debido a que los métodos descritos en la presente memoria son eficaces para separar el compuesto radioyodado deseado del precursor que contiene biotina sin reaccionar y/o los subproductos que contienen biotina, el compuesto radioyodado resultante es al menos 90%, al menos 95%, al menos 99%, al menos 99,1%, al menos 99,2%, al menos 99,3%, al menos 99,4%, al menos 99,5%, al menos 99,6%, al menos 99,7%, al menos 99,8%, al menos 99,9% o al menos 99,95% puro.

Como se usa en la presente memoria, el término "alquilo" se refiere a un radical hidrocarbonado monovalente de cadena lineal o ramificado, alifático, saturado. Salvo que se especifique otra cosa, un grupo alquilo típicamente tiene
30 1-6 átomos de carbono, es de decir alquilo (C₁-C₆). Como se usa en la presente memoria, un grupo "alquilo (C₁-C₆)" significa un radical que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en una disposición lineal o ramificada. Un "grupo alquileno" es un radical hidrocarbonado divalente, de cadena lineal o ramificada, alifático, saturado. Salvo que se especifique otra cosa, un grupo alquileno típicamente tiene 1-6 átomos de carbono, es decir, alquileno (C₁-C₆).

Como se usa en la presente memoria, el término "alcoxilalquilo" se refiere a un alquilo, en el que átomos de carbono no adyacentes son reemplazados por oxígeno. Los ejemplos de alcoxilalquilo incluyen, pero ejemplo, metoximetilo, etoxietilo, propoximetilo, o -CH₂CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₃.

El término "arilo" se refiere a un sistema de anillos hidrocarbonado aromático. El término "arilo" se puede usar de forma intercambiable con las expresiones "resto de arilo", "anillo de arilo" y "grupo arilo". Un grupo arilo típicamente tiene de 6 a 14 átomos en el anillo. "Arilo" incluye anillos monocíclicos y anillos policíclicos, en los que un anillo de arilo monocíclico está condensado con uno o más anillos de arilo adicionales. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a fenilo, naftilo, antraceno, 1,2-dihidronaftilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, fluorenilo, indanilo, indenilo y similares. Un "grupo arilo sustituido" está sustituido en uno cualquiera o más átomos del anillo sustituibles. Arileno se refiere a un radical arilo bivalente.

Los términos "heteroarilo", "anillo de heteroarilo", "grupo heteroarilo" y "resto de heteroarilo" se usan de forma intercambiable en la presente memoria para referirse a grupos de anillos aromáticos que típicamente tienen de 5 a 14 átomos en el anillo seleccionados de carbono y al menos un (típicamente de 1 a 4, más típicamente 1 o 2) heteroátomo (p. ej., oxígeno, nitrógeno o azufre). "Heteroarilo" incluye anillos monocíclicos y anillos policíclicos en los que un anillo heteroaromático monocíclico está condensado con uno o más anillos de arilo o heteroarilo adicionales. Los ejemplos de grupos heteroarilo monocíclicos incluyen, pero no se limitan a furanilo (p. ej., 2-furanilo, 3-furanilo), imidazolilo (p. ej., N-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo), isoxazolilo (p. ej., 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo), oxadiazolilo (p. ej., 2-oxadiazolilo, 5-oxadiazolilo), oxazolilo (p. ej., 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo), pirazolilo (p. ej., 3-pirazolilo, 4-pirazolilo), pirrolilo (p. ej., 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo), piridilo (p. ej., 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo), pirimidinilo (p. ej., 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo), piridazinilo (p. ej., 3-piridazinilo), tiazolilo (p. ej., 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo), isotiazolilo, triazolilo (p. ej., 2-triazolilo, 5-triazolilo), tetrazolilo (p. ej., tetrazolilo), y tienilo (p. ej., 2-tienilo, 3-tienilo). Los ejemplos de grupos heteroarilo aromáticos policíclicos incluyen carbazolilo, bencimidazolilo, benzotienilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, indolilo, benzotriazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indazolilo, isoindolilo, acridinilo o bencisoxazolilo. Un "grupo heteroarilo sustituido" está sustituido en uno cualquiera o más átomos del anillo sustituibles, que es un átomo de carbono del anillo o de nitrógeno del anillo unido a un hidrógeno. Heteroarileno se

refiere a un radical heteroarilo bivalente.

El término "cicloalquilo" se refiere a un sistema de anillos hidrocarbonados saturado, monocíclico o policíclico. Por ejemplo, un cicloalquilo C₅-C₇ incluye, pero no se limita a ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido. Cicloalquileno se refiere a un radical cicloalquilo bivalente.

- 5 El término "heterocicloalquilo" se refiere a anillos no aromáticos, en general con 3 a 10 miembros que contienen 1-4 heteroátomos en el anillo. Cada heteroátomo se selecciona independientemente de nitrógeno, nitrógeno cuaternario, nitrógeno oxidado (p. ej., NO); oxígeno, y azufre, incluyendo sulfóxido y sulfona. Los grupos heterocicloalquilo monocíclicos representativos incluyen morfolinilo, tiomorfolinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, hidantoinilo, valerolactamilo, oxiranilo, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, tetrahidropirindinilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrothiopiranilo, y similares. Heterocicloalquileno se refiere a un radical heterocicloalquilo bivalente.

Parte experimental

Abreviaturas

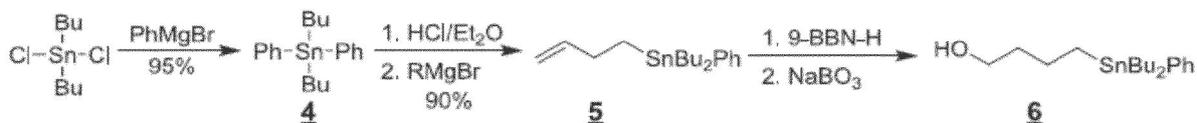
- Ac: Acetilo.
- 15 Bn: bencilo.
- DMAP: 4-(dimetilamino)piridina.
- DMF: dimetilformamida.
- DMSO: Dimetilsulfóxido.
- EDC: Hidrocloruro de la *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida.
- 20 HPLC: Cromatografía líquida de alto rendimiento.
- NMP: 1-Metil-2-pirrolidinona.
- PBS: solución salina tamponada con fosfato.
- TFA: ácido trifluoroacético.
- THF: tetrahidrofurano.
- 25 TFP: Tetrafluorofenilo.

Ejemplo 1: Síntesis de precursores

- Se diseñaron y prepararon arilestannanos que llevan unidades de biotina o sulfona de biotina. Se pueden preparar estannanos vinílicos por métodos similares. Se seleccionaron el éster/ácido 3-estannil-benzoico como el sistema modelo puesto que el correspondiente producto radiomarcado (éster/ácido 3-yodobenzoico) se puede conjugar con otros vectores de diagnóstico y terapéuticos por reacciones químicas sencillas. Aunque son posibles otros enlaces, se escogió un enlace éster entre la biotina y el arilestannano porque los ésteres son suficientemente estables en condiciones de marcaje ligeramente ácidas y porque el precursor para el enlace éster (es decir, un alcohol) es fácilmente accesible por reacciones establecidas y en general de alto rendimiento, p. ej., hidrobioración y ozonólisis.

- 35 El compuesto intermedio 6 clave se preparó con alto rendimiento a partir de Bu₂SnCl₂ (1) con buen rendimiento como se muestra en el esquema 2:

Esquema 2



- 40 Brevemente, a una solución de dicloruro de dibutylestaño (15,2 g, 50 mmol) en THF (50 ml) se añadió bromuro de fenilmagnesio (30 ml, 60 mmol, 2,0 M en THF) a 0°C. La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 1 h, después se inactivó con NH₄Cl (50 ml, solución ac. sat.) y se extrajo con Et₂O (100 ml x 3). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo aceitoso se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, 100% de hexanos) para dar el compuesto 4 con 95% de rendimiento (18,4 g, 47,5 mmol).

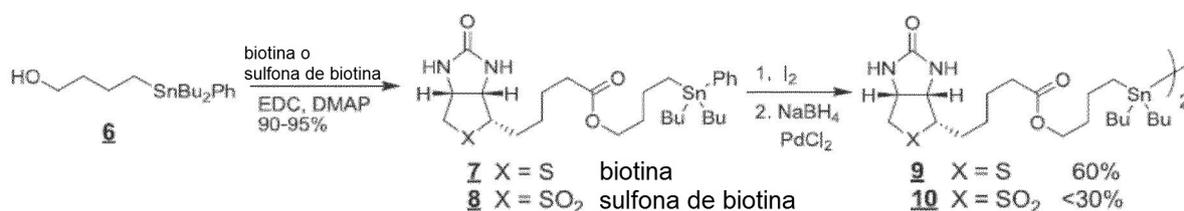
El compuesto 4 (1,94 g, 5,0 mmol) se recogió en Et₂O (5,0 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota una solución

anhidra de HCl en Et₂O (2,5 ml, 5,0 mmol, 2,0 M). La solución transparente resultante se dejó calentar a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió el reactivo de Grignard (15 ml, 7,5 mmol, 0,5 M en THF o Et₂O) a 0°C y la suspensión resultante se agitó durante 1 h más. Después de inactivar con NH₄Cl (10 ml, solución ac. sat.) y extracción con Et₂O (10 ml x 3), los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo aceitoso se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, 100% de hexanos) para dar el compuesto 5 con 90% de rendimiento.

A una solución del compuesto 5 (1,46 g, 4,0 mmol) en THF (4,0 ml) se añadió 9-BBN-H (6,0 ml, 6,0 mmol, 1,0 M en THF) a 0°C. La solución de la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió H₂O (10 ml) a la mezcla de reacción seguido de NaBO₃ (1,63 g, 20 mmol). La suspensión resultante se agitó enérgicamente a temperatura ambiente durante 12 h antes de extracción con éter dietílico (20 ml x 3). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo aceitoso se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, hexanos/acetato de etilo 1:1) para dar el compuesto 6 con 92% de rendimiento (1,41 g, 3,68 mmol).

Como se muestra en el esquema 3, el alcohol 6 se esterificó con biotina o sulfona de biotina para dar los arilestannanos 7 y 8. Los arilestannanos se trataron con I₂ para producir especies Sn-I, que después se redujeron a las especies de estaño diméricas 9 y 10 usando un procedimiento en un matraz.

Esquema 3

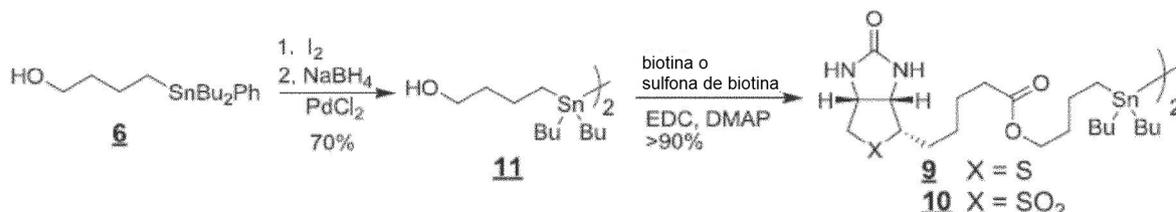


Brevemente, a una solución del compuesto 6 (383 mg, 1,0 mmol) en DMF (2,0 ml) se añadió biotina (366 mg, 1,5 mmol) o sulfona de biotina (414 mg, 1,5 mmol), EDC.HCl (287 mg, 1,5 mmol), DMAP (cat.). La solución resultante (suspensión para la sulfona de biotina) se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y los compuestos volátiles se separaron con vacío. La purificación se llevó a cabo por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, MeOH/CH₂Cl₂ al 10%) para dar el éster deseado 7 u 8 con 90~95% de rendimiento.

A una solución del éster 7 (305 mg, 0,5 mmol) en CH₂Cl₂ (2,0 ml) se añadió I₂ (379 mg, 1,5 mmol) en porciones a temperatura ambiente. La solución marrón resultante se agitó a temperatura ambiente durante otros 30 min. Se añadió NaBH₄ (113 mg, 3,0 mmol) seguido de la adición gota a gota de MeOH (1,0 ml). Después de desaparecer las burbujas, se añadió PdCl₂ (0,9 mg, 0,005 mmol) a la suspensión incolora. La suspensión amarillo pálido resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se separaron los disolventes a vacío y el residuo se sometió a cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, MeOH/CH₂Cl₂ al 10%) para dar el compuesto de diestaño 9 deseado (160 mg, 0,15 mmol, 60% de rendimiento) en forma de un sólido céreo. El compuesto 10 se sintetizó de una forma similar, aunque con rendimiento menor (< 30%).

Alternativamente, los compuestos de estaño diméricos 9 y 10 también se han preparado por esterificación del compuesto 11 con biotina o sulfona de biotina como se muestra en la esquema 4:

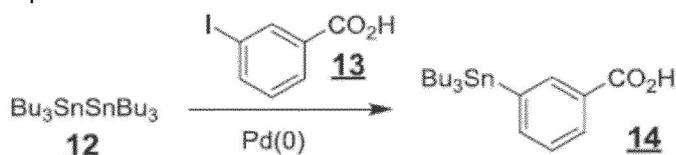
Esquema 4



Específicamente, el compuesto de diestaño 11 se preparó usando el procedimiento para la síntesis del compuesto 9. La esterificación se hizo como para el compuesto 7 para producir el diestaño 9 y 10 con >90% de rendimiento.

Con las especies 9 y 10 en mano, se exploraron las condiciones de acoplamiento de Stille usando el compuesto 12 y el yoduro de arilo 13, como compuestos modelo, como se muestra en el esquema 5. Se observaron rendimientos excelentes del estannano modelo 14 con Pd(PPh₃)₂Cl₂/KOAc/NMP.

Esquema 5

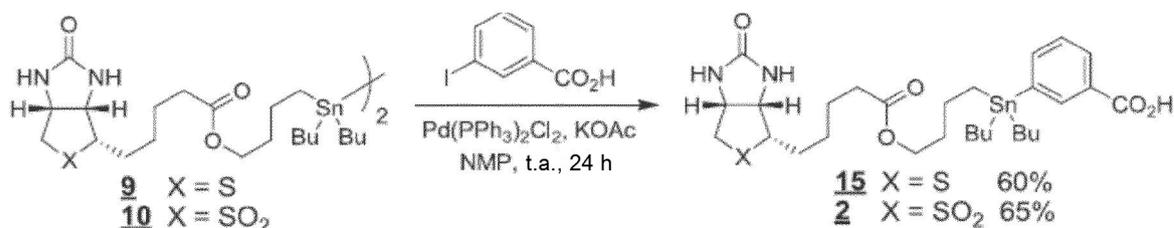


Catalizador, condiciones:
 Pd(PH₃)₄, THF o DMF, calor o MW, 0%
 Pd(OAc)₂, PA, THF, calor o MW 0%
 Pd(PPh₃)₂Cl₂, KOAc, NMP, 91%

5 Específicamente, a una solución desgasificada de ácido 3-yodobenzoico **13** (49 mg, 0,2 mmol) en NMP (0,3 ml) se añadieron KOAc (59 mg, 0,6 mmol) y Pd(PPh₃)₂Cl₂ (7 mg, 0,01 mmol). La solución naranja pálido resultante se agitó durante 10 min seguido de la adición de hexabutildiestaño **12** (290 mg, 0,5 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 24 h, la mezcla de reacción rojo oscuro se diluyó con éter dietílico (0,5 ml) y se cargó directamente en una columna de gel de sílice y se hizo un barrido con hexanos/acetato de etilo 1:1 para dar el arilestano **14** deseado con 91% de rendimiento (75 mg, 0,182 mmol).

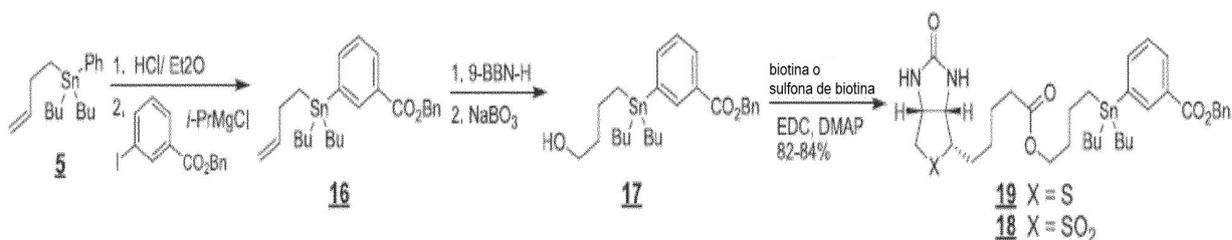
10 Estas mismas condiciones de acoplamiento de Stille se aplicaron al dímero que contiene biotina **9** y el dímero de sulfona de biotina **10** para dar los precursores de yodación **15** y **2** con 60%~65% de rendimiento (la purificación se hizo por HPLC semipreparativa), como se muestra en el esquema 6.

Esquema 6



15 Se usó un método alternativo para hacer enlaces aril-estaño, que implica la adición nucleófila de reactivos de Grignard de arilo a especies de estaño-halógeno, para preparar los precursores protegidos con bencilo de estaño-biotina **19** y estaño-sulfona de biotina **18**, como se muestra en el esquema 7.

Esquema 7

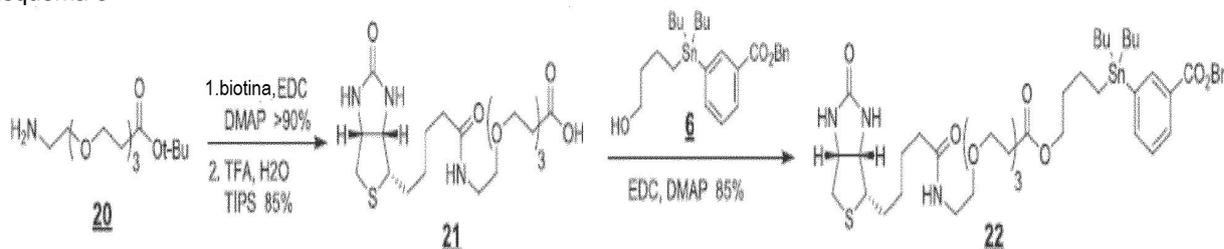


20 Brevemente, a una solución del arilestano **5** (730 mg, 2,0 mmol) en Et₂O se añadió HCl anhidro (1,0 ml, 2,0 mmol, 2,0 M en Et₂O) a 0°C. La mezcla de reacción transparente se calentó a t.a. durante 30 min. A esta solución de cloruro de estaño bruta se añadió después la solución de Grignard (3,0 mmol en 10 ml de THF, recién preparado a partir del éster de bencilo del ácido 3-yodobenzoico y cloruro de isopropilmagnesio) a -20°C. La suspensión gris resultante se dejó calentar a 0°C durante 2 h. Se usó NH₄Cl (10 ml, solución ac. sat.) para inactivar el exceso de reactivo de Grignard y la mezcla de reacción se extrajo con Et₂O (10 ml x 3). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación se llevó a cabo por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice, EtOAc/hexanos al 10%) para dar el arilestano deseado **16** con 75% de rendimiento (748 mg, 1,5 mmol).

25 La hidrobioración del arilestano **16** para dar el alcohol **17** se hizo como para la conversión del compuesto **5** al compuesto **6**. La esterificación del alcohol **17** se llevó a cabo como para la síntesis de los compuestos **7** y **8** para producir los compuestos **19** (60%) y **18** (65%).

También se preparó un precursor modificado con una cadena de PEG 22 partiendo de biotina-PEG-ácido **21** y el hidroxiestano **6** como se muestra en el esquema 8.

Esquema 8

Tabla A. Datos de RMN ^1H para los compuestos

Compuesto	Desplazamientos químicos	Disolvente
2	7,99 (1H, s, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 40,0$ Hz), 7,83 (1H, d, $J = 7,6$, Hz), 7,54 (1H, d, $J = 7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 37,6$ Hz), 7,37 (1H, dd, $J = 7,6$, $7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-C-H}} = 9,5$ Hz), 6,77 (1H, s, ancho), 6,61 (1H, s, ancho), 4,44 - 4,35 (2H, m), 4,00 (2H, t, $J = 6,0$ Hz), 3,31 (1H, dd, $J = 14,1$, $6,9$ Hz), 3,15 (1H, q, $J = 6,9$ Hz), 3,02 (1H, d, $J = 14,1$ Hz), 2,25 (2H, t, $J = 7,5$ Hz), 1,70 - 0,82 (30H, m)	DMSO- d_6
5	7,47 (2H, d, $J = 7,3$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 38,4$ Hz), 7,36-7,28 (3H, m), 5,89 (1H, ddt, $J = 16,7$, $10,1$, $6,3$ Hz), 5,01 (1H, dd, $J = 16,7$, $1,1$ Hz), 4,93 (1H, dd, $J = 10,1$, $1,1$ Hz), 2,32 (2H, m), 1,63-0,84 (20H, m).	CDCl_3
6	7,46 (2H, d, $J = 7,4$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 39,0$ Hz), 7,35 - 7,27 (3H, m), 3,64 (2H, m), 1,70 - 0,85 (24H, m)	CDCl_3
9	6,43 (2H, s, ancho), 6,36 (2H, s, ancho), 4,30 (2H, dd, $J = 7,5$, $5,1$ Hz, 1H), 4,12 (2H, ddd, $J = 7,5$, $4,5$, $1,8$ Hz), 4,00 (4H, t, $J = 6,1$ Hz), 3,08 (2H, ddd, $J = 8,6$, $6,1$, $4,5$ Hz), 2,81 (2H, dd, $J = 12,4$, $5,1$ Hz), 2,58 (2H, d, $J = 12,4$ Hz), 2,26 (4H, t, $J = 7,5$ Hz), 1,64-0,84 (60H, m)	DMSO- d_6
10	6,69 (2H, s, ancho), 6,60 (2H, s, ancho), 4,41 (2H, dd, $J = 10,2$, $7,0$ Hz), 4,41 (2H, ddd, $J = 10,2$, $6,0$, $1,8$ Hz), 4,01 (4H, t, $J = 6,2$ Hz), 3,30 (2H, dd, $J = 14,2$, $7,0$ Hz), 3,16 (2H, q, $J = 6,9$ Hz), 3,02 (2H, d, $J = 14,2$ Hz), 2,28 (4H, t, $J = 7,5$ Hz), 1,72 - 0,82 (60H, m)	DMSO- d_6
11	4,31 (2H, t, $J = 5,1$ Hz), 3,37 (4H, td, $J = 6,5$, $5,1$ Hz), 1,60 - 0,80 (48H, m)	DMSO- d_6
14	8,20 (1H, s, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 38,0$ Hz), 8,02 (1H, d, $J = 7,8$, Hz), 7,69 (1H, d, $J = 7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 35,5$ Hz), 7,41 (1H, dd, $J = 7,8$, $7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-C-H}} = 8,0$ Hz), 1,53 (6H, m, $J_{\text{Sn-C-C-C-H}} = 50,2$ Hz), 1,33 (6H, m), 1,09 (6H, m, $J_{\text{Sn-C-H}} = 51,4$ Hz), 0,88 (9H, t, $J = 7,3$ Hz).	CDCl_3
15	8,01 (1H, s, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 38,7$ Hz), 7,84 (1H, d, $J = 7,7$ Hz), 7,62 (1H, d, $J = 7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 35,9$ Hz), 7,42 (1H, dd, $J = 7,7$, $7,1$ Hz), 6,44 (1H, s, ancho), 6,35 (1H, s, ancho), 4,29 (1H, dd, $J = 7,6$, $5,1$ Hz), 4,12 (1H, ddd, $J = 7,6$, $4,4$, $1,4$ Hz), 4,00 (2H, t, $J = 6,0$ Hz), 3,07 (1H, ddd, $J = 8,4$, $6,1$, $4,4$ Hz), 2,81 (1H, dd, $J = 12,4$, $5,1$ Hz), 2,57 (1H, d, $J = 12,4$ Hz), 2,24 (2H, t, $J = 7,5$ Hz), 1,63-0,80 (30H, m)	DMSO- d_6
16	8,18 (1H, s, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 38,7$ Hz), 8,00 (1H, d, $J = 7,8$ Hz), 7,65 (1H, d, $J = 7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 36,2$ Hz), 7,46 (2H, d, $J = 7,5$ Hz), 7,42 - 7,32 (4H, m), 5,86 (1H, ddt, $J = 16,6$, $10,1$, $6,4$ Hz), 5,38 (2H, s), 4,99 (1H, dd, $J = 16,6$, $1,8$ Hz), 4,90 (1H, dd, $J = 10,1$, $1,8$ Hz), 2,30 (2H, td, $J = 8,0$, $6,4$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 52,6$ Hz), 1,68 - 0,84 (20H, m)	CDCl_3
17	8,17 (1H, s, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 38,7$ Hz), 7,99 (1H, d, $J = 7,8$ Hz), 7,64 (1H, d, $J = 7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 36,2$ Hz), 7,45 (2H, dd, $J = 7,8$, $7,1$ Hz), 7,42 - 7,32 (4H, m), 5,37 (2H, s), 3,63 (2H, m), 1,76-0,83 (24H, m)	CDCl_3
18	8,07 (1H, s, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 38,3$ Hz), 7,92 (1H, d, $J = 7,8$ Hz), 7,72 (1H, d, $J = 7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 36,0$ Hz), 7,49 (1H, dd, $J = 7,8$, $7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-C-H}} = 8,6$ Hz), 7,46 (2H, d, $J = 7,4$ Hz), 7,40 (2H, dd, $J = 7,4$, $7,3$ Hz), 7,35 (1H, t, $J = 7,3$ Hz), 6,69 (1H, s), 6,60 (1H, s), 5,35 (2H, s), 4,41 (1H, dd, $J = 10,1$, $7,1$ Hz), 4,37 (1H, ddd, $J = 10,1$, $6,1$, $1,7$ Hz), 3,99 (2H, t, $J = 5,9$ Hz), 3,30 (1H, dd, $J = 14,1$, $7,1$ Hz), 3,15 (1H, m), 3,02 (1H, d, $J = 14,1$ Hz), 2,25 (2H, t, $J = 7,5$ Hz), 1,71 - 0,79 (30H, m)	DMSO- d_6
19	8,07 (1H, s, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 38,3$ Hz), 7,92 (1H, d, $J = 7,9$ Hz), 7,72 (1H, d, $J = 7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-H}} = 36,0$ Hz), 7,48 (1H, dd, $J = 7,9$, $7,1$ Hz, $J_{\text{Sn-C-C-C-H}} = 8,6$ Hz), 7,45 (2H, d, $J = 7,4$ Hz), 7,39 (2H, t, $J = 7,4$ Hz), 7,35 (1H, t, $J = 7,4$ Hz), 6,42 (1H, s), 6,36 (1H, s), 5,35 (2H, s), 4,28 (1H, m), 4,11 (1H, m), 3,98 (2H, t, $J = 5,8$ Hz), 3,06 (1H, ddd, $J = 8,7$, $6,1$, $4,7$ Hz), 2,80 (1H, dd, $J = 12,4$, $5,1$ Hz), 2,57 (1H, d, $J = 12,4$ Hz), 2,22 (2H, t, $J = 7,5$ Hz), 1,64 - 0,77 (30H, m)	DMSO- d_6
(<i>t</i> -Bu)-21	6,79 (1H, s), 6,74 (1H, s), 6,33 (1H, s, ancho), 4,58 (1H, dd, $J = 7,8$, $4,9$ Hz), 4,39 (1H, dd, $J = 7,8$, $4,6$ Hz), 3,71 (2H, t, $J = 6,4$ Hz), 3,66 - 3,53 (10H, m), 3,44 (2H, m), 3,19 (1H, m), 2,94 (1H, dd, $J = 13,0$, $4,9$ Hz), 2,77 (1H, d, $J = 13,0$ Hz), 2,50 (2H, t, $J = 6,4$ Hz), 2,27 (2H, m), 1,77 - 1,62 (4H, m), 1,46 (2H, m), 1,44 (9H, s)	CDCl_3

Compuesto	Desplazamientos químicos	Disolvente
22	8,07 (1H, s, $J_{Sn-C-C-H} = 37,8$ Hz), 7,92 (1H, d, $J = 7,9$ Hz), 7,80 (1H, t, $J = 5,7$ Hz), 7,72 (1H, d, $J = 7,2$ Hz, $J_{Sn-C-C-H} = 36,3$ Hz), 7,48 (1H, dd, $J = 7,9, 7,2$ Hz, $J_{Sn-C-C-C-H} = 8,6$ Hz), 7,45 (2H, d, $J = 7,6$ Hz), 7,40 (2H, t, $J = 7,5$ Hz), 7,35 (1H, dd, $J = 7,6, 7,5$ Hz), 6,41 (1H, s), 6,35 (1H, s), 5,35 (2H, s), 4,29 (1H, dd, $J = 7,6, 5,3$ Hz), 4,11 (1H, ddd, $J = 7,6, 4,5, 1,9$ Hz), 4,00 (2H, t, $J = 5,8$ Hz), 3,58 (2H, t, $J = 6,2$ Hz), 3,49-3,43 (8H, m), 3,37 (2H, t, $J = 6,0$ Hz), 3,17 (2H, q, $J = 5,9$ Hz), 3,08 (1H, ddd, $J = 8,6, 6,2, 4,5$ Hz), 2,81 (1H, dd, $J = 12,4, 5,1$ Hz), 2,57 (1H, d, $J = 12,4$ Hz), 2,47 (2H, t, $J = 6,2$ Hz), 2,06 (2H, t, $J = 7,6$ Hz), 1,64 - 0,80 (30H, m)	DMSO-d ₆

Nota: Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro de RMN Bruker AVIII 700 MHz y se calibraron usando disolvente no deuterado residual como referencia interna. Se usaron las siguientes abreviaturas para explicar las multiplicidades: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuartete, an. = ancho. En RMN ¹H, se registraron las medias de J^{117}_{Sn-H} y J^{119}_{Sn-H} debido al fuerte solapamiento de las señales.

Ejemplo 2: Estudios de estabilidad

Se exploró la estabilidad de los compuestos 18 y 19 con diferentes oxidantes usados para la radioyodación sin adición de yoduro para verificar que la biotina o sulfona de biotina son compatibles con los oxidantes usados en las reacciones de radioyodación.

10 Ensayo de Iodogen: A un vial Eppendorf recubierto de Iodogen (20 µg) se añadió precursor (50 µg en 50 µl de MeOH que contenía AcOH al 5%). La mezcla se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 10~30 min y después se inactivó con Na₂S₂O₅ (100 µl, 0,1 M, solución ac.). Una pequeña muestra de la solución transparente resultante se examinó por LC-MS.

15 Ensayo con perla de yodación o ácido peracético: En un vial Eppendorf que contenía el precursor (50 µg en 50 µl de MeOH que contenía AcOH al 5%), se añadió oxidante (una perla de yodación o 5 µl de ácido peracético al 30%). La mezcla se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 10 min ~ 120 min y después se inactivó con Na₂S₂O₅ (100 µl, 0,1 M, solución ac.). Una pequeña muestra de la solución transparente resultante se examinó por LC-MS.

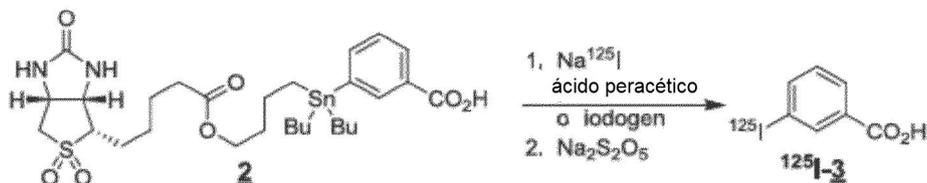
20 Se observó que la biotina 19 era estable en AcOH/MeOH al 5%; no se observó hidrodesestannilación catalizada después de 72 h (véase la figura 1A). El tratamiento del compuesto 19 en un vial recubierto de Iodogen condujo a una mezcla de productos compleja; el análisis por LC-MS mostró que ninguno de los nuevos picos eran sulfona de biotina o sulfóxidos de biotina (figura 1B). Las perlas de yodación, una clorosulfonamida soportada sobre sólido, reaccionaron con el compuesto 19 mucho más lentamente (figura 1C). Por otra parte, el ácido peracético, oxidó el compuesto 19 muy limpiamente a una mezcla de sulfona de biotina y sulfóxidos de biotina (figura 1D y 1E).

25 La sulfona de biotina 18 es más estable frente a oxidantes; solo se observaron cantidades minoritarias de productos de oxidación (véase la figura 2).

Ejemplo 3: Estudios de yodación y radioyodación

Se investigaron los precursores de yodación y radioyodación con ¹²⁵I, tales como la sulfona de biotina 2, con Iodogen o ácido peracético como oxidante. La radioyodación de ejemplo se muestra a continuación en el esquema 9.

30 Esquema 9



35 Procedimiento de yodación (frío/no radiactivo): En un vial Eppendorf recubierto con Iodogen (20 µg) se añadió el precursor (50 µg en 50 µl de EtOH o MeOH que contenía AcOH al 5%) seguido de NaI (5 µg en 10 µl de H₂O). La mezcla se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 5 min y después se inactivó con Na₂S₂O₅ (100 µl, 0,1 M, solución ac.). Una pequeña muestra de la solución transparente resultante se examinó por LC-MS para determinar la extensión de la reacción.

40 Se llevaron a cabo estudios en frío en un sistema de UPLC Waters Acquity usando una columna de UPLC analítica Waters Acquity (100 x 2,1 mm, C18, 1,7 µm BEH). La fase móvil consistía en disolvente A (H₂O, TFA al 0,1%) y disolvente B (Acetonitrilo, TFA al 0,1%) con un caudal de 0,30 ml/min. La cantidad de disolvente B variaba a lo largo del tiempo como se da a continuación en la tabla 1.

Tabla 1

Tiempo (min)	0	8	12,5	13	15
%B	10	100	100	10	10

5 Procedimiento de radioyodación con ^{125}I (caliente) con Iodogen: En un vial Eppendorf recubierto con Iodogen (20 μg) se añadió el precursor (50 μg en 50 μl de EtOH o MeOH que contenía AcOH al 5%) seguido de Na^{125}I (7,4 MBq [200 μCi], en 10 μl de NaOH 0,1 N). La mezcla se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 10 min y después se inactivó con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (100 μl , 0,1 M, solución ac.). Una pequeña muestra de la solución transparente resultante se examinó por HPLC.

10 Procedimiento de radioyodación con ^{125}I (caliente) con ácido peracético: En un vial Eppendorf se añadió el precursor (50 μg en 50 μl de EtOH o MeOH que contenía AcOH al 5%) seguido de Na^{125}I (7,4 MBq [200 μCi], en 10 μl de NaOH 1 N) y ácido peracético (5 μl , solución ac. al 30%). La mezcla se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 10 min y después se inactivó con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (100 μl , 0,1 M, solución ac.). Una pequeña muestra de la solución transparente resultante se examinó por HPLC.

15 Los estudios de HPLC se llevaron a cabo en un sistema de HPLC Waters usando una columna de HPLC analítica X-Bridge (100 x 4,6 mm, C18, 2,3 micrómetros). La fase móvil consistía en disolvente A (H_2O , formiato amónico al 0,4%) y disolvente B (MeOH) con un caudal de 0,8 ml/min. La cantidad de disolvente B varió a lo largo del tiempo como se da a continuación en la tabla 2.

Tabla 2

Tiempo (min)	0	6	15	16	20
%B	60	100	100	60	60

20 La figura 4 muestra los resultados de la radioyodación con ^{125}I de la sulfona de biotina 2. El ácido peracético generó un producto adicional pequeño (mostrado a los 6 min en el espectro de UV) mientras que el Iodogen no generó productos adicionales en el cromatograma de UV, aunque es evidente el Iodogen reducido. Ambas reacciones de marcaje produjeron el producto ^{125}I -3 deseado con excelente pureza radioquímica (>95%).

Ejemplo 4: Estudios de unión de estreptavidina.

25 Antes del intento de los estudios de marcaje, se evaluó la capacidad de la resina con estreptavidina para retener precursores, p.ej., el compuesto 15. Se cargó 1,0 ml de resina con estreptavidina de alta capacidad (dispensada como 2,0 ml de suspensión al 50% en agua) en un cartucho vacío de 1,5 ml y se lavó con EtOH al 10% en PBS (5 ml). Se preparó una mezcla de los compuestos 3 y 15 en EtOH/PBS al 10% (250 μl) y se cargó (400 μl volumen total) en la columna de resina de agarosa-estreptavidina de alta capacidad preempaquetada. Después de 20 min de incubación, la columna se lavó por barrido con una mezcla de EtOH/PBS (de EtOH/PBS al 10% al 100% de EtOH) y se recogieron fracciones de 1 ml. En la figura 3 se muestran las señales del eluyente en el HPLC. Como se
30 esperaba, el compuesto 3 eluyó con EtOH/PBS al 10%, mientras que el compuesto 15 era retenido en la columna. La elución del ácido de biotina-estaño 15 solo se observó en el lavado con 100% de EtOH. Se observó un comportamiento similar para el precursor de sulfona de biotina 2.

35 Estos resultados sugieren que la interacción sulfona de biotina-estreptavidina o biotina-estreptavidina se puede usar en la separación de las moléculas que no contienen biotina de los estannanos modificados con biotina. Por lo tanto, se puede usar cualquiera de los precursores de sulfona de biotina, tales como los compuestos 2 y 18, o precursores que contienen biotina, tales como 15, 19 y 22, en los métodos descritos en la presente memoria.

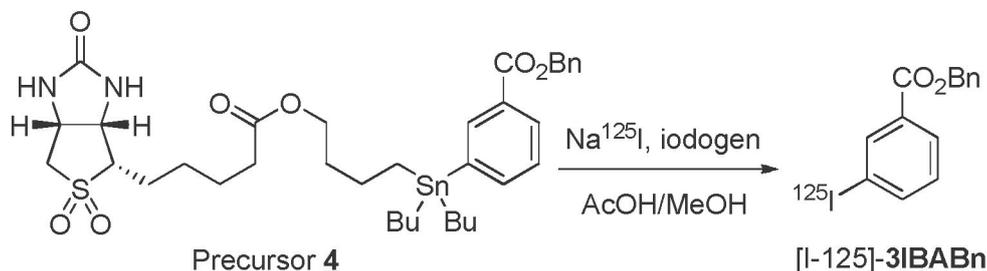
Ejemplo 5: Estudios de purificación.

40 La mezcla de reacción de radioligando de ^{125}I de 2 y Iodogen se purificó usando una columna de resina con estreptavidina. Usando las condiciones previamente desarrolladas, tales como las descritas antes en el ejemplo 4, la mezcla de marcaje se diluyó con EtOH/PBS al 10% y se cargó en una columna de resina con estreptavidina preempaquetada. Después de 20 minutos de incubación, la columna se lavó por barrido con EtOH/PBS al 10% (1 vc). Como se muestra en la figura 5, se recuperó 99% de actividad y no se detectó compuesto 2 residual por HPLC.
45 Por lo tanto, la tecnología de la sulfona de biotina-estreptavidina se puede usar fácilmente para la radioyodación sin HPLC.

Ejemplo 6: Estudio del agente potenciador de la solubilidad.

La radioyodación del precursor del éster de bencilo hidrófobo 4 para dar el producto radioyodado deseado ^{125}I -3IBaBn, no dio producto significativo después del paso por una resina funcionalizada con estreptavidina; prácticamente toda la reactividad quedó retenida en la resina en las condiciones previamente descritas. Sin

embargo, la adición de hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD) al 10%, 20% y 40% en p/v después de la reacción mejoró el rendimiento de ¹²⁵I-3IBABn purificado a 93%.



5 Procedimiento de radiomarcaje: En un vial Eppendorf se añadieron 56,6 μg del precursor 4 (56,6 μl, 1,0 mg/ml, EtOH), 5 μl de AcOH, Na¹²⁵I (18,5 MBq o 500 μCi, pH 8~11 en NaOH acuoso) y Iodogen (50 μl, 0,2 mg/ml en EtOH), posteriormente. La mezcla de reacción se dejó asentar a temperatura ambiente durante 20 minutos, con agitación ocasional. Después de inactivación con 100 μl de Na₂S₂O₃ (0,1 M ac.), la mezcla se diluyó con 100 μl de EtOH y después se añadió al tampón de unión ensayado descrito a continuación.

10 Procedimiento general para la purificación con columna de resina con estreptavidina en presencia de aditivos: Se empaquetó una columna de resina con estreptavidina usando 1,6 ml de suspensión de resina (0,8 ml de resina real) como se ha descrito previamente y se lavó con el tampón de unión adecuado (4,0 ml, 5 vc). Se diluyó una parte alícuota de 80 μl de la mezcla de radiomarcaje anterior con el tampón de unión adecuado (920 μl) y se mezcló durante 10 minutos antes de cargar en la columna de estreptavidina. Después de incubación durante 20 min, el producto radiomarcado se eluyó de la columna con tampón de unión (se recogieron tres fracciones de 0,5 ml). Todas las fracciones (incluyendo una fracción precedente recogida mientras se cargaba la mezcla de reacción en la columna) se sometieron a análisis por HPLC antes de combinarlas.

Tampón de unión ensayado:

EtOH en PBS al 10% (experimento de control)

HP-β-CD en PBS al 10% (p/v)

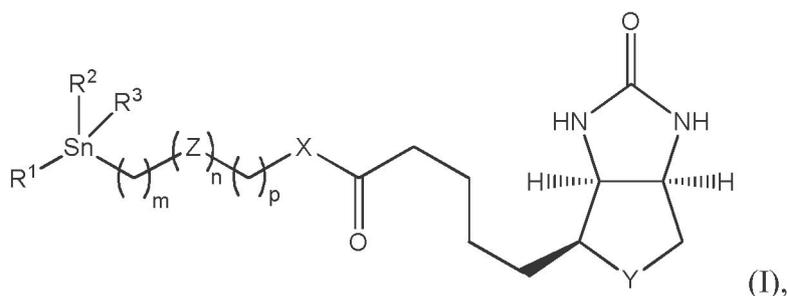
20 HP-β-CD en PBS al 20% (p/v)

HP-β-CD en PBS al 40% (p/v)

Eluyente	% HP-CD en el eluyente	Actividad que queda en la columna
10% EtOH en PBS (experimento de control)	0%	91%
PBS (HP-β-CD, p/v)	10%	16%
	20%	13%
	40%	7%

REIVINDICACIONES

- 1.- Un método para preparar un compuesto radioyodado, comprendiendo el método:
- 5 (i) poner en contacto un precursor de estaño que contiene biotina con yoduro radiactivo y un oxidante para formar una mezcla de reacción que comprende un compuesto radioyodado, precursor sin reaccionar y subproductos de reacción; en donde "biotina" incluye biotina, productos de oxidación de la biotina y sustituyentes de tipo biotina, que incluyen biotina, oxibiotina, sulfóxido de biotina así como todos sus estereoisómeros que se unen a la avidina o estreptavidina; y
- 10 (ii) poner en contacto la mezcla de reacción de la etapa (i) con avidina o estreptavidina, de modo que dicha avidina o estreptavidina se une a dicho precursor y subproductos para dar precursor unido a avidina/estreptavidina y subproductos unidos a avidina/estreptavidina;
- (iii) separar el compuesto radioyodado de dicho precursor unido a avidina/estreptavidina y subproductos unidos a avidina/estreptavidina.
- 2.- El método de la reivindicación 1, que además comprende poner en contacto la mezcla de reacción de la etapa (i) con un agente reductor para formar una mezcla de reacción reducida, y usar la mezcla de reacción reducida en las etapas (ii) y (iii).
- 15 3.- El método de la reivindicación 1 o reivindicación 2, que además comprende llevar a cabo la etapa (i) en presencia de un agente potenciador de la solubilidad, o poner en contacto la mezcla de reacción obtenida de la etapa (i) con un agente potenciador de la solubilidad.
- 20 4.- El método de la reivindicación 1 o reivindicación 2, que además comprende poner en contacto la mezcla de reacción con un agente potenciador de la solubilidad en la etapa (ii).
- 5.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde poner en contacto la composición con la avidina o estreptavidina comprende al menos uno de los siguientes:
- 25 pasar la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida por una columna de soporte sólido de avidina o estreptavidina;
- mezclar un soporte sólido de avidina o estreptavidina con la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida seguido de filtración;
- 30 depositar el precursor que contiene biotina en un soporte sólido de avidina o estreptavidina, seguido de poner en contacto el precursor que contiene biotina con el yoduro radiactivo y el oxidante, seguido de elución del compuesto radioyodado;
- tratar la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida con la avidina o estreptavidina soluble seguido de la separación por tamaños de complejos unidos a avidina o estreptavidina del compuesto radioyodado; o
- 35 pasar la mezcla de reacción o la mezcla de reacción reducida sobre una superficie recubierta con estreptavidina o avidina.
- 6.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el compuesto radioyodado comprende un resto arilo.
- 7.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el compuesto radioyodado comprende un resto vinilo.
- 8.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el compuesto radioyodado se selecciona de ácido benzoico radioyodado, una benzamida radioyodada, una bencilamina radioyodada y una bencilguanidina radioyodada.
- 40 9.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el precursor de estaño que contiene biotina es un compuesto de fórmula (I):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde:

R¹ es un grupo aromático o vinilo capaz de ser sustituido en un carbono aromático o vinílico con yoduro;

5 R² y R³ se selecciona cada uno independientemente de R¹; alquilo o alcoxilalquilo, cada uno sustituido con 0-4 grupos R⁵; o R² y R³, junto con el átomo de Sn al que están unidos, forman un anillo de 3 a 8 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S;

Z se selecciona de -alquileno(C₁-C₄)-, -alquileno(C₁-C₄)-O-, arileno, heteroarileno, cicloalquileno o heterocicloalquileno, con la condición de que m es al menos 1 cuando Z es arileno o heteroarileno, y n = 1 a 9, y con la condición de que p = 2-10 cuando Z es -alquileno(C₁-C₄)-O-;

10 X se selecciona de -O- y -NR⁴-;

R⁴ se selecciona de H y alquilo, en donde el alquilo está sustituido con 0-4 grupos R⁶;

cada R⁵ se selecciona independientemente de -H, -halógeno, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c y -OC(=O)R^c;

R⁶ se selecciona de -H, halógeno, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c y -OC(=O)R^c;

15 R^a, R^b y R^c se selecciona cada uno independientemente de -H y alquilo (C₁-C₆);

Y se selecciona de S, SO, SO₂ y O;

i es 0, 1 o 2; y

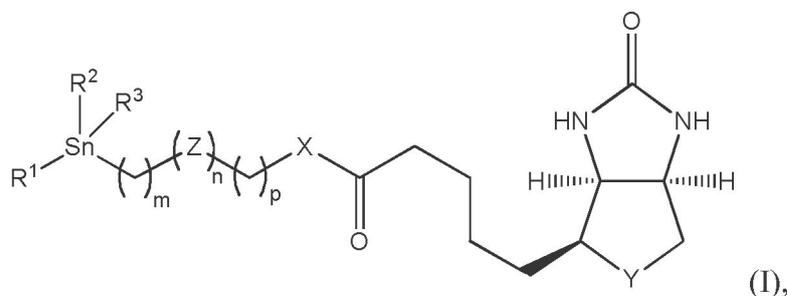
m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 10, en donde m + n + p ≥ 1.

20 10.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el yoduro radiactivo se selecciona de ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I y ¹³¹I.

11.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el oxidante se selecciona de Iodogen y ácido peracético.

12.- El método de la reivindicación 11, en donde el oxidante se aplica previamente como recubrimiento sobre un tubo o perla.

25 13.- Un compuesto de fórmula (I):



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde:

R¹ es un grupo aromático o vinilo capaz de ser sustituido en un carbono aromático o vinílico con yoduro;

30 R² y R³ se selecciona cada uno independientemente de R¹; alquilo o alcoxilalquilo, cada uno sustituido con 0-4 grupos R⁵; o R² y R³, junto con el átomo de Sn al que están unidos, forman un anillo de 3 a 8 miembros que

incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S;

Z se selecciona de -alquileo(C₁-C₄)-, -alquileo(C₁-C₄)-O-, arileno, heteroarileno, cicloalquileo o heterocicloalquileo, con la condición de que m es al menos 1 cuando Z es arileno o heteroarileno;

X se selecciona de -O-, y -NR⁴-;

5 R⁴ se selecciona de H y alquilo, en donde el alquilo está sustituido con 0-4 grupos R⁶;

cada R⁵ se selecciona independientemente de -H, -halógeno, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c y -OC(=O)R^c;

R⁶ se selecciona de -H, halógeno, -CN, -NO₂, -NR^aR^b, -OR^c, -S(O)_iR^c, -C(=O)R^c, -C(=O)OR^c y -OC(=O)R^c;

R^a, R^b y R^c se selecciona cada uno independientemente de -H y alquilo (C₁-C₆);

10 Y se selecciona de S, SO, SO₂ y O;

i es 0, 1 o 2; y

m, n y p son cada uno independientemente un número entero de 0 a 10, en donde m + n + p ≥ 1.

14.- Un compuesto según la reivindicación 13, en donde:

R¹ es un grupo aromático o vinilo que puede estar sustituido en un carbono aromático o vinílico con yoduro;

15 R² y R³ se selecciona cada uno independientemente de alquilo (C₁-C₆) o alcoxilquilo; o R² y R³, junto con el átomo de Sn al que están unidos, forman un anillo de 4, 5 o 6 miembros que incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de N, O o S;

Z es -alquileo(C₁-C₄)-O-;

X se selecciona de -O-, y -NH;

20 Y se selecciona de S o SO₂; y

p es un número entero de 2 a 4.

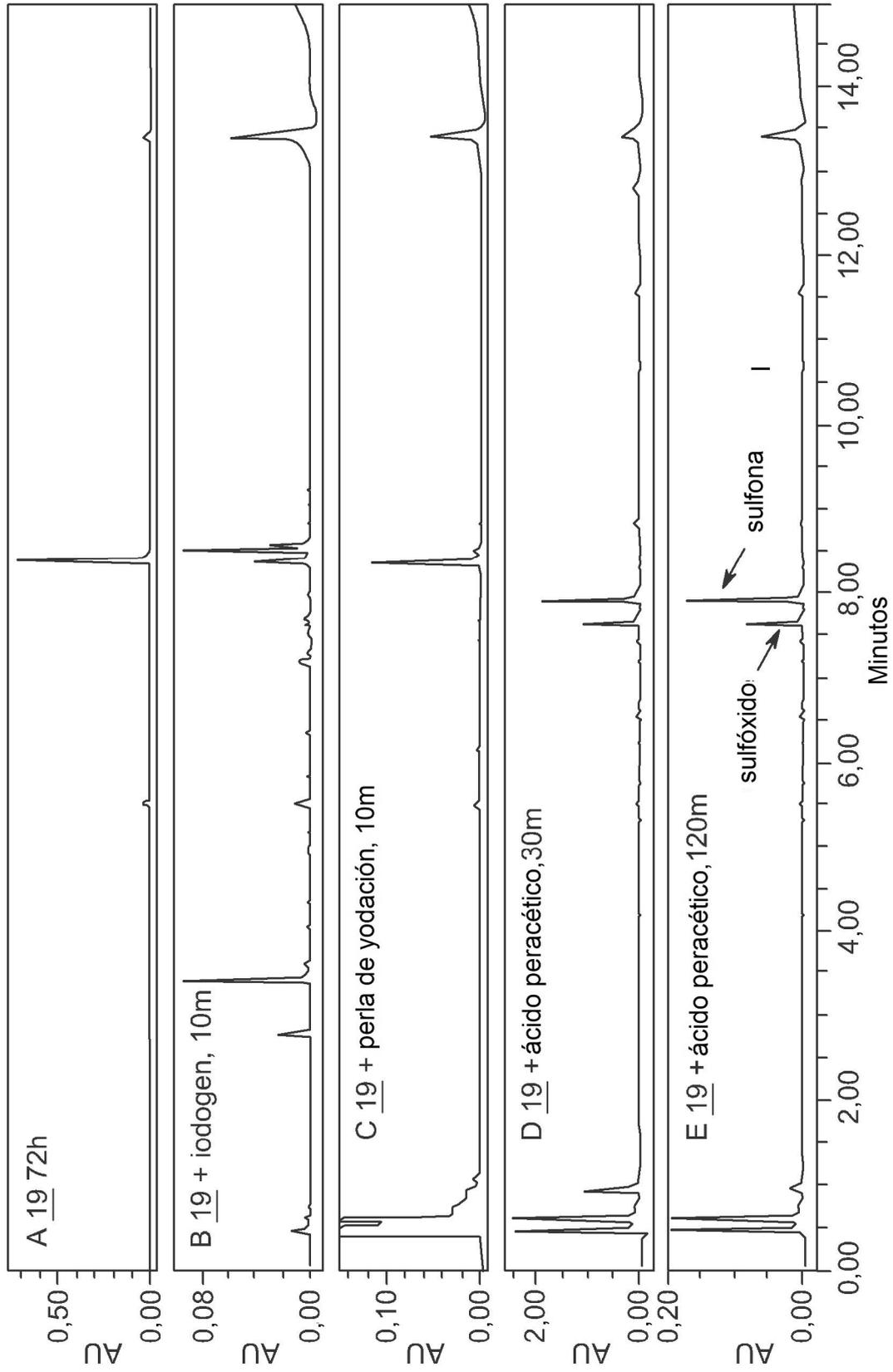


FIG. 1

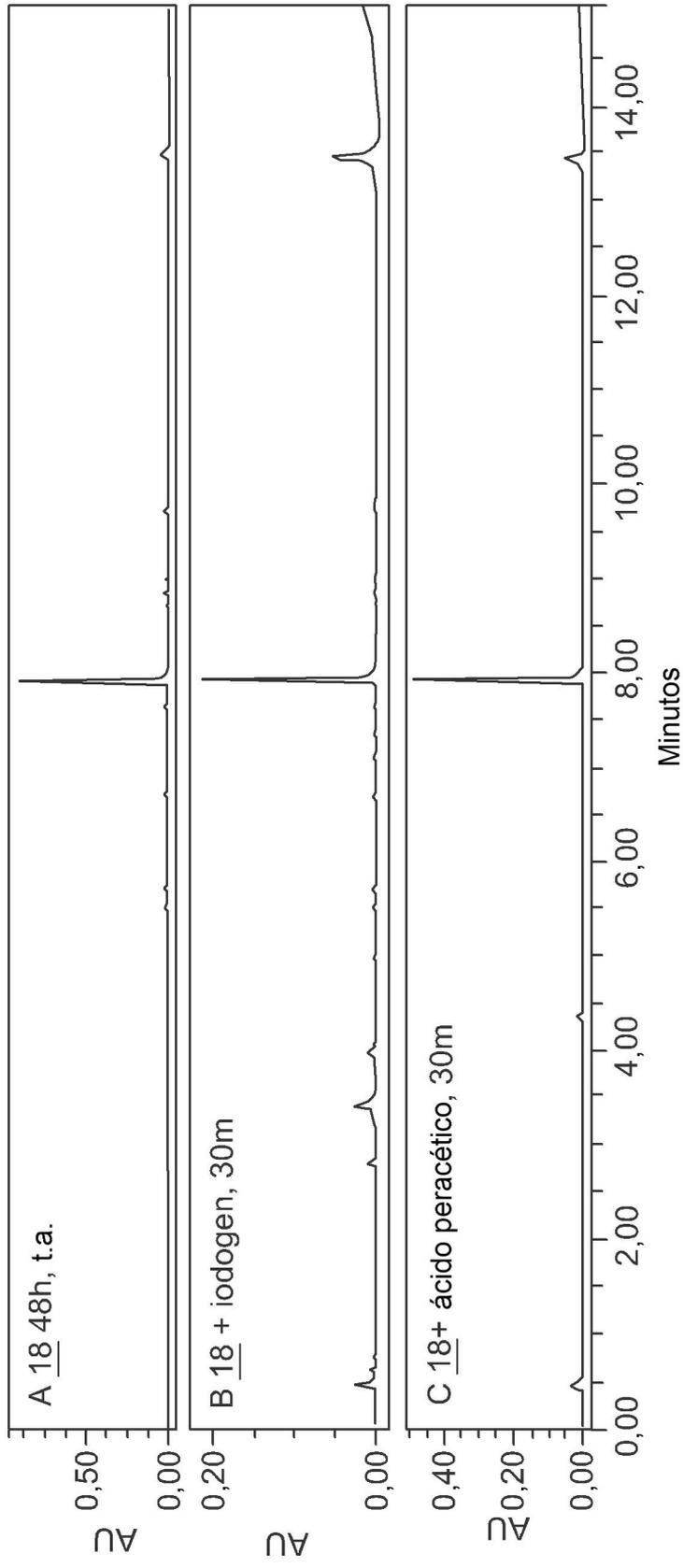


FIG. 2

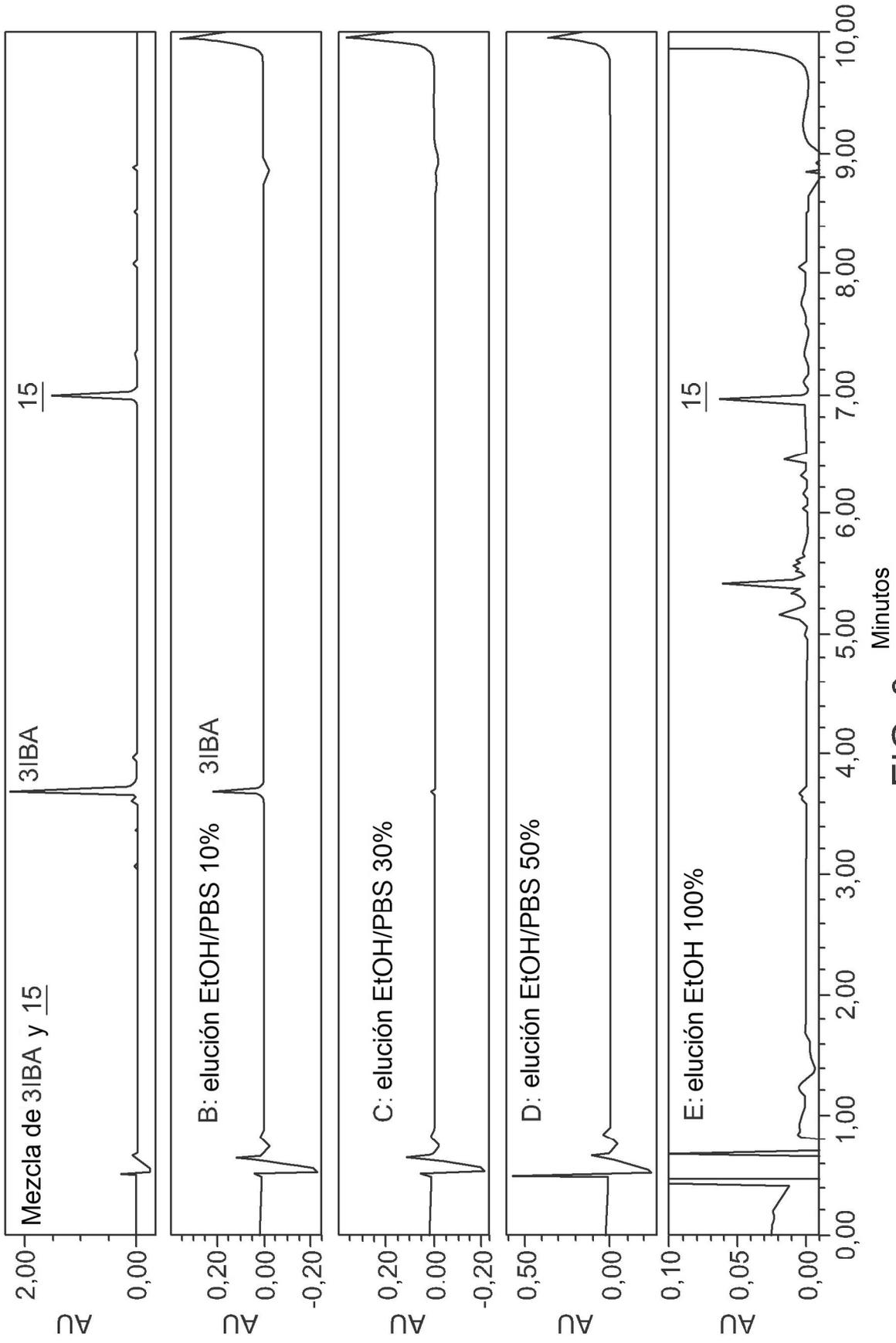


FIG. 3

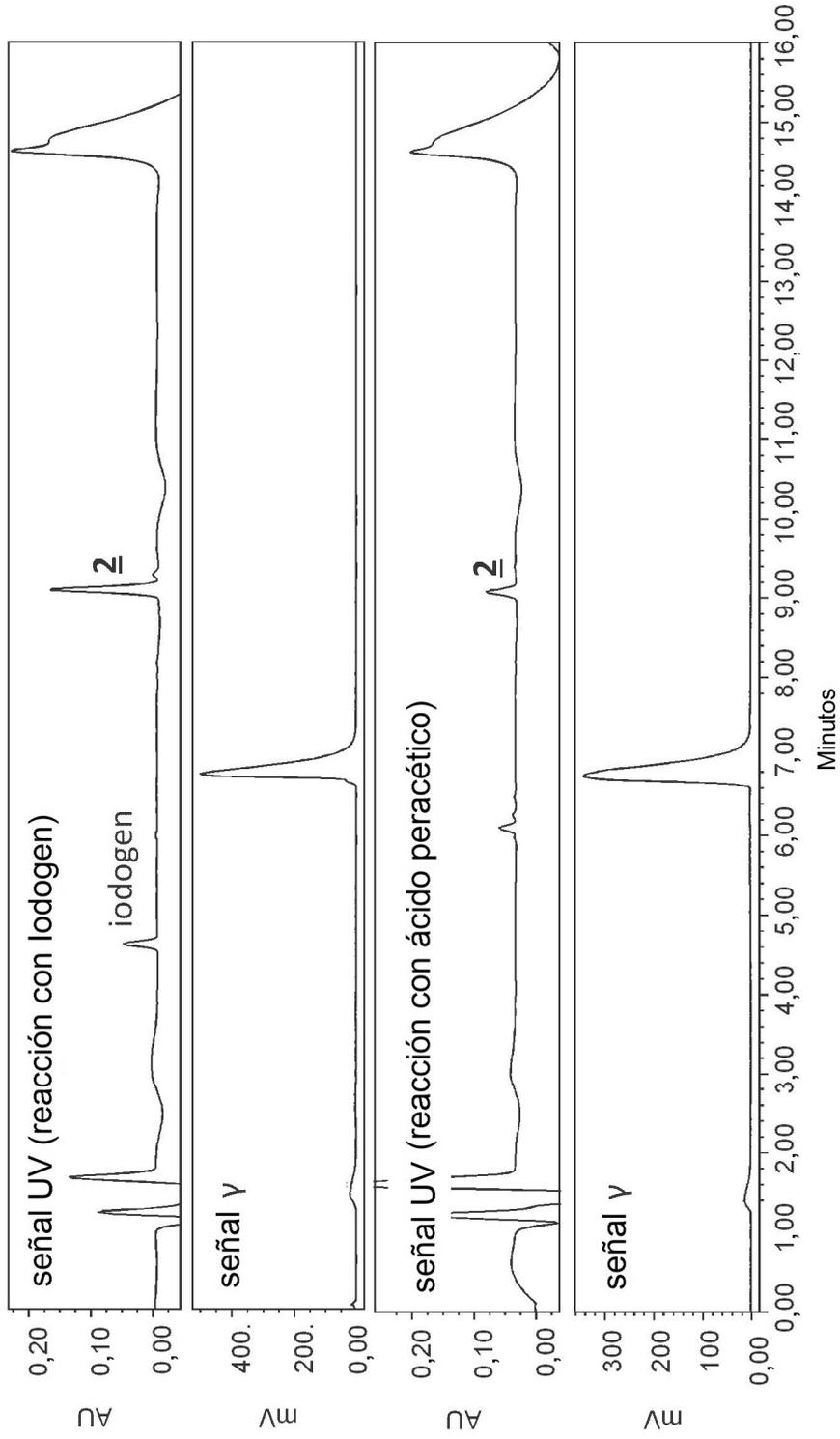


FIG. 4

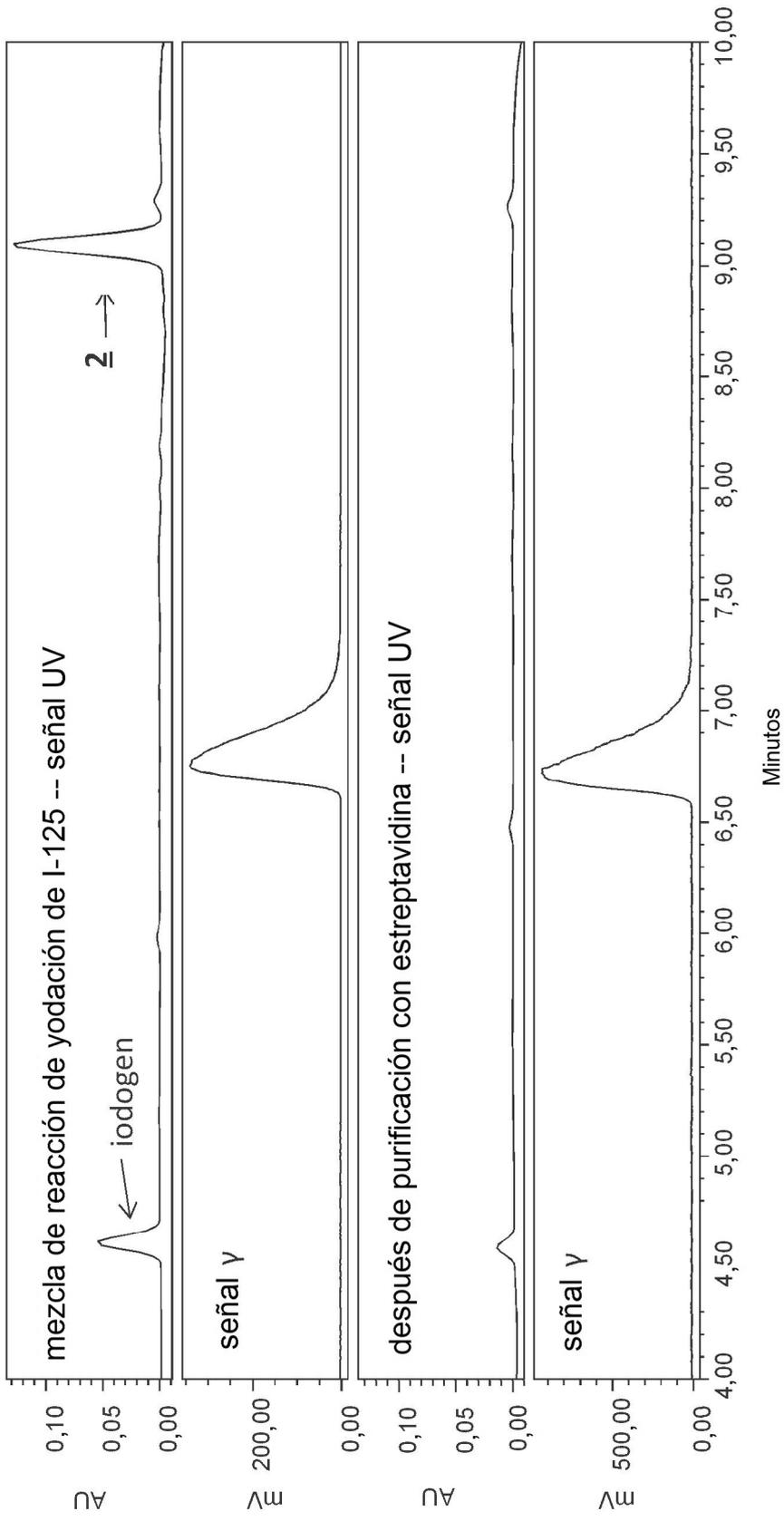


FIG. 5