

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 838**

51 Int. Cl.:

**C07D 213/82** (2006.01)

**C07F 9/02** (2006.01)

**A61K 31/44** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.11.2011** **PCT/EP2011/070981**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2012** **WO12069608**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.11.2011** **E 11788439 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017** **EP 2643301**

54 Título: **Complejo de Tecnecio 99m como herramienta de diagnóstico in vivo de los tumores cancerosos**

30 Prioridad:

**24.11.2010 FR 1059690**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**15.02.2018**

73 Titular/es:

**PIERRE FABRE MÉDICAMENT (50.0%)**  
**45, Place Abel Gance**  
**92100 Boulogne-Billancourt, FR y**  
**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (50.0%)**

72 Inventor/es:

**GUMINSKI, YVES;**  
**IMBERT, THIERRY;**  
**PESNEL, SABRINA;**  
**GUILBAUD, NICOLAS;**  
**LE PAPE, ALAIN y**  
**LERONDEL, STÉPHANIE**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

ES 2 654 838 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

Complejo de Tecnecio 99m como herramienta de diagnóstico *in vivo* de los tumores cancerosos.

La presente invención se refiere a unos derivados radio-farmacéuticos constituidos por poliaminas conjugadas con HYNIC (hidrazinonicotinamida) que pueden formar complejos de Tecnecio 99m, a sus procedimientos y a su utilización en forma de agentes de formación de imágenes que permite poner en evidencia el sistema de transporte de las poliaminas en las células cancerosas para permitir la selección de los pacientes portadores de tales tumores para adaptar su tratamiento.

Las posibilidades que se han vuelto ineludibles ofrecidas por las aplicaciones de los trazadores y de la radioactividad en medios biológicos y en medicina han sido uno de los factores esenciales del progreso médico durante el siglo XX. Las técnicas que utilizan la radioactividad amplían las posibilidades de diagnóstico para detectar y curar mejor las enfermedades: es la medicina nuclear. En lugar de hacer pasar las radiaciones por todo el cuerpo, como en la radiografía, se introduce en el organismo una pequeña cantidad de moléculas marcadas por un radioisótopo emisor de radiación gamma. Este trazador reconocerá ciertos objetivos de interés que se detectarán después por una cámara-γ.

El cáncer es todavía una de las principales causas de mortalidad del mundo occidental. Los medios de lucha que son la prevención, la cirugía, la radioterapia, la inmunoterapia y la quimioterapia no permiten todavía, en numerosos casos, erradicar la enfermedad. Las razones de este fracaso se basan en parte en la dificultad de identificar la célula tumoral y tratarla selectivamente sin dañar demasiado los tejidos sanos.

La formación de imágenes por escintigrafía *in vivo* es una herramienta que permite identificar los tejidos tumorales con respecto a los tejidos sanos. Este enfoque de marcado por radioactividad es capaz de detectar unos tumores de tamaño extremadamente pequeño. Se basa en la obtención de una cartografía *in vivo* procedente de la detección externa de la radiación gamma emitida por los radioisótopos durante su desintegración dentro de los tejidos dando una imagen en 3D.

El radioisótopo ideal para la formación de imágenes TEMP (tomografía de emisión monofotónica) es el  $^{99m}\text{Tc}$ , debido a su bajo coste por dosis y su disponibilidad mediante sistemas generadores disponibles en los medios hospitalarios. Más del 80% de todos los estudios de formación de imágenes en medicina nuclear de diagnóstico en el mundo se efectúan utilizando este radioisótopo ( $^{99m}\text{Tc}$ ). Este elemento radioactivo emite una radiación y particularmente muy adecuada para la formación de imágenes médicas y para su utilización extensiva para el diagnóstico médico. La radiación emitida por el isótopo se detecta *in vivo* con la ayuda de una cámara gamma para formar unas imágenes escintigráficas.

El Tecnecio 99m es particularmente interesante para las aplicaciones médicas: la radiación emitida por desintegración de este isótopo tiene la misma longitud de onda que los rayos X utilizados en radiografía clásica, lo cual le confiere una longitud de penetración adecuada causando unos daños mínimos para un fotón gamma. Además, la vida media tan corta de este isótopo conjugada con la vida media relativamente larga del isótopo hijo Tc-99 permite su eliminación del cuerpo antes de desintegrarse de nuevo. Su vida media es de 6 horas, lo cual da suficiente tiempo para la adquisición de las imágenes y permite una eliminación rápida de la radioactividad. Esto permite realizar un diagnóstico nuclear a cambio de la introducción de una dosis relativamente baja de radiación en el organismo.

Además, está fácilmente disponible en los hospitales gracias a un generador de Tecnecio. El generador contiene molibdeno 99 radioactivo, unido (absorbido) sobre una columna de alúmina. El molibdeno se desintegra para dar  $^{99m}\text{Tc}$ , que se recupera por aclarado de la columna en una solución fisiológica en forma de pertechnetato de sodio ( $\text{Na}^+ \text{TcO}_4^-$ ).

El Tecnecio 99m se puede utilizar en una forma molecular simple ( $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetato) pero se asocia más frecuentemente a unas moléculas que le confieren unas propiedades particulares. Por ejemplo, el Tecnecio 99m complejo con ácido dietilentriaminapentacético ( $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA) eliminado exclusivamente por filtración glomerular es un buen marcador de la función renal. El Tecnecio 99m unido al metildifosfonato ( $^{99m}\text{Tc}$ -MDP) tiene una afinidad particular para el tejido óseo. Este compuesto radio-farmacéutico se utiliza para detectar unas zonas de actividad osteoblástica. La intensidad de la radiación permite entonces determinar la concentración de compuesto radio-farmacéutico en el líquido biológico o el órgano estudiado.

Entre los compuestos complejados con Tecnecio 99m, se puede citar también H.M.P.A.O. (hexa-metil-propil-amina-oxima) que sirve para estudiar los accidentes vasculares cerebrales, la epilepsia parcial, algunos estados demenciales y el sufrimiento cerebral del niño; el sesta-M.I.B.I. (metoxi-iso-butil-isonitrilo) utilizado para el diagnóstico de la isquemia miocárdica (parada o insuficiencia de la aportación de sangre y de oxígeno al corazón). El Tecnecio 99m puede también complejarse con los glóbulos rojos que permiten estudiar la concentración de los ventrículos cardiacos, así como con las micropartículas de albúmina, que sirven para estudiar la vascularización de los pulmones, en particular en el diagnóstico de las embolias. Se puede citar

también el DMSA (ácido di-mercaptosuccínico); el DTPA (ácido dietilen-triamino-pentacético) o la M.A.G.3 (mercapto-acetil-tri-glicina) utilizados para la evaluación funcional separada de cada riñón en numerosas patologías renales, la evaluación preoperatoria de la ablación de un riñón y la exploración de las malformaciones renales congénitas; el IDA (ácido imino-diacético) que sirve para visualizar las vías biliares en cirugía digestiva; los coloides marcados para el estudio de las vías y ganglios linfáticos y la localización del ganglio centinela (primer ganglio alcanzado por la extensión tumoral). Finalmente, unos alimentos marcados con Tecnecio 99m sirven para explorar el tránsito digestivo (esófago, estómago, o intestino delgado y colon).

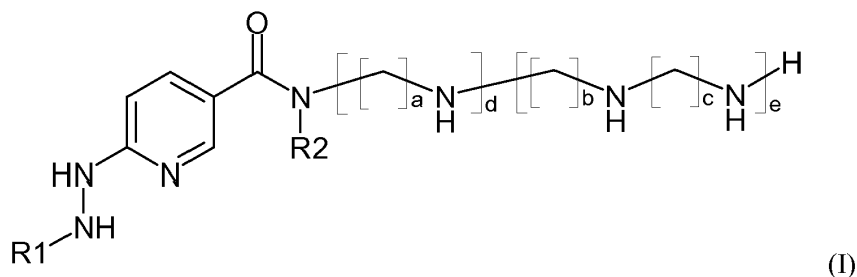
El Tecnecio 99m se utiliza también frecuentemente en las escintigrafías de doble marcado, que permiten, por sustracción de imagen, estudiar un órgano que no tiene trazador específico. Así, las glándulas paratiroides se visualizan comparando las imágenes obtenidas utilizando talio 201, que se fija sobre las tiroides y las paratiroides, con las obtenidas utilizando Tecnecio 99m, que se fija sólo sobre las tiroides.

Los complejos marcados por un radiometal, tal como el Tecnecio 99m, se describen en el documento WO 98/31399. Estos complejos son unos sustratos del factor XIIIa útiles para el diagnóstico, en particular del cáncer.

No obstante, existe todavía la necesidad de determinar la localización precisa y/o la capacidad de respuesta de una célula a un agente citotóxico particular. En el presente caso, el interés se refiere a las células tumorales o tumores que sobreexpresan el sistema de transporte de las poliaminas (sistemas PTS). No existe, en efecto, en la actualidad, ningún medio para determinar rápidamente y de manera no invasiva si un tumor responderá o no a un tratamiento dirigido al sistema PTS.

La presente invención se propone por lo tanto resolver este problema.

La presente invención tiene así como primer objeto unas poliaminas conjugadas con hidrazinonicotinamida o poliaminas HYNIC de fórmula (I) siguiente:



en la que:

- R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo N-protector seleccionado de entre el formilo, el acetilo, el trifluoroacetilo, el benzoilo, el pivaloilo, el fenilsulfonilo, el bencilo (Bn), el t-butiloxycarbonilo (BOC), el benciloxycarbonilo (Z), el p-metoxibenciloxycarbonilo, el p-nitrobenciloxycarbonilo, el tricloroetoxycarbonilo (TROC), el aliloxycarbonilo (Alloc), el 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc), el trifluoroacetilo, y los carbamatos de bencilo sustituidos o no,
- R2 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de C<sub>1-6</sub> eventualmente fluorado o perfluorado, o un grupo amino-alquilo de C<sub>1-6</sub>,
- a, b y c representan, independientemente unos de otros, un número entero de 2 a 5, y
- d y e representan, independientemente el uno del otro, 0, 1 o 2, con la condición de que d y e no sean simultáneamente iguales a 0,

o una sal farmacéuticamente aceptable de éstos.

Por «grupo protector» o «grupo de protección», se entiende designar, en el sentido de la presente invención, un grupo que bloquea selectivamente un sitio reactivo en un compuesto multifuncional de tal manera que una reacción química se puede efectuar selectivamente a nivel de otro sitio reactivo no protegido en el significado clásicamente asociado al de la química de síntesis.

Por «grupo N-protector», se entiende, en el sentido de la presente invención, cualquier sustituyente que protege el grupo NH o NH<sub>2</sub> contra las reacciones indeseables tales como los grupos N-protector descritos en Greene, "Protective Groups In Organic synthesis", (John Wiley & Sons, New York (1981)) y Harrison *et al.* "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vols. 1 a 8 (J. Wiley & sons, 1971 a 1996). Los grupos N-protectores comprenden

los carbamatos, las amidas, los derivados N-alquilados, los derivados amino acetato, los derivados N-bencilados, los derivados imina, los derivados enamina y los derivados N-heteroátomo. En particular, el grupo N-protector comprende el formilo, el acetilo, el trifluoroacetilo, el benzoilo, el pivaloilo, el fenilsulfonilo, el bencilo (Bn), el t-butiloxicarbonilo (BOC), el benciloxicarbonilo (Z), el p-metoxi benciloxicarbonilo, el p-nitrobenciloxicarbonilo, el tricloroetoxicarbonilo (TROC), el aliloxicarbonilo (Alloc), el 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), el trifluoroacetilo, los carbamatos de bencilo y similares. Podrá tratarse en particular de un grupo BOC, Z o trifluoroacetilo (CF<sub>3</sub>CO).

Por grupo "alquilo de C<sub>1-6</sub>", se entiende, en el sentido de la presente invención, una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, que comprende de 1 a 6, preferentemente de 1 a 4, átomos de carbono. A título de ejemplo, se pueden citar los grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo o también hexilo.

Un grupo "alquilo de C<sub>1-6</sub> fluorado" es un grupo alquilo de C<sub>1-6</sub> tal como se ha definido anteriormente, para el cual uno o varios átomos de hidrógeno están sustituidos por un átomo de flúor.

Un grupo "alquilo de C<sub>1-6</sub> perfluorado" es un grupo alquilo de C<sub>1-6</sub> tal como se ha definido anteriormente, para el cual todos los átomos de hidrógeno están sustituidos por un átomo de flúor.

Por grupo "amino-alquilo de C<sub>1-6</sub>", se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo NH<sub>2</sub>-alquilo de C<sub>1-6</sub> con el grupo alquilo de C<sub>1-6</sub> tal como se ha definido anteriormente.

En la presente invención, se entiende designar por "farmacéuticamente aceptable" lo que es útil en la preparación de una composición destinada a ser administrada a un animal, tal como un mamífero, incluyendo el hombre, que es generalmente seguro, no tóxico y ni biológicamente ni de otra manera no deseable y que es aceptable para una utilización veterinaria, así como farmacéutica o de diagnóstico humano.

Se entiende designar por "sales farmacéuticamente aceptables" de un compuesto, unas sales que son farmacéuticamente aceptables, como se define en la presente memoria, y que poseen la actividad farmacológica o de diagnóstico deseada del compuesto original. Estas sales comprenden:

(1) los hidratos y los solvatos,

(2) las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptable formados con unos ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como el ácido clorhídrico o el ácido bromhídrico, o

(3) las sales de adición de base farmacéuticamente aceptable formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original está sustituido por un ion metálico, por ejemplo un ion de metal alcalino, un ion de metal alcalinotérreo o un ion de aluminio; o bien coordinado con una base orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable.

Preferentemente, se tratará de sales de adición de ácido, tal como una sal de adición de ácido clorhídrico.

En la definición de R<sub>1</sub>, el grupo N-protector será más particularmente un grupo protector escindible en medio ácido tal como un grupo BOC o trifluoroacetilo (CF<sub>3</sub>CO).

R<sub>1</sub> representará más particularmente un átomo de hidrógeno o un grupo *terc*-butiloxicarbonilo (tBuOCO) o trifluoroacetilo (CF<sub>3</sub>CO).

R<sub>2</sub> representa en particular un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de C<sub>1-6</sub> tal como metilo.

Más particularmente, a, b y c representan, independientemente unos de otros, 3 o 4.

Preferentemente, d y e representan 1 o 2, y ventajosamente 1.

Según otro modo de realización de la invención, e representa 2 y d representa 0.

Según también otro modo de realización de la invención, e representará <sub>[GS1]</sub>1, preferentemente 1, y d representará 0, 1 o 2, preferentemente 1 o 2.

Podrá tratarse más particularmente de un compuesto de fórmula (I) para la cual:

- R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, a = 4, d = 1 y e = 0,
- R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, b = 3, c = 4, d = 0 y e = 1,
- R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1,
- R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 2 y e = 1,
- R<sub>1</sub> = CF<sub>3</sub>CO, R<sub>2</sub> = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1,

- R1 = *t*BuOCO, R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1, o
- R1 = H, R2 = CH<sub>3</sub>, b = 3, c = 4, d = 0 y e = 1,

o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

5

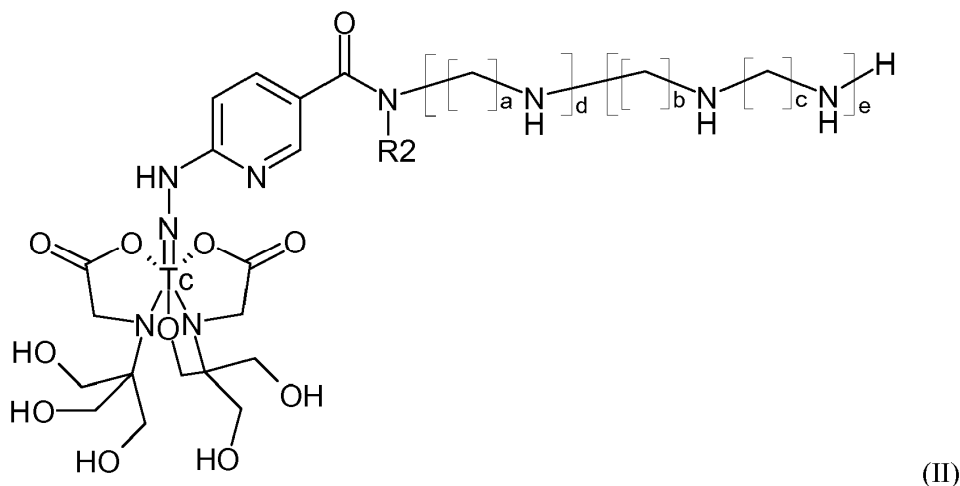
Ventajosamente, se tratará del compuesto de fórmula I para la cual:

- R1 = R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1,
- R1 = R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 2 y e = 1,
- R1 = CF<sub>3</sub>CO, R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1, o
- R1 = tBuOCO, R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1,

o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

15 Unos compuestos de este tipo no son útiles como tales, pero permiten formar complejos de Tecnecio 99m con otros ligandos tales como la tricina. El complejo así formado será útil como radio-trazador para una utilización en formación de imágenes por escintigrafía para poner en evidencia unos tumores cancerosos que expresan el sistema de transporte de las poliaminas.

20 La presente invención tiene por lo tanto como segundo objeto un complejo de fórmula (II) siguiente:



en la que el Tecnecio (Tc) está presente en forma de su isótopo  $99m$  y R2, a, b, c, d y e son tales como se han definido anteriormente.

o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

R2 representará en particular un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de C<sub>1-6</sub> tal como metilo.

Más particularmente,  $a$ ,  $b$  y  $c$  representan, independientemente unos de otros, 3 o 4.

Preferentemente, d y e representan 1 o 2, y ventajosamente 1.

En efecto, es preferible que la unidad poliamina de los compuestos de la presente invención comprenda por lo menos tres, y ventajosamente tres, nitrógenos básicos con el fin de que los compuestos de fórmula (II) estén bien soportados por el sistema de transporte de las poliaminas y por lo tanto, que el marcado sea suficiente para permitir la puesta en evidencia de los tumores que expresan este sistema de transporte de las poliaminas.

Según otro modo de realización de la invención, e representa 2 y d representa 0.

Según también otro modo de realización de la invención, e representará 1, preferentemente 1, y d representará 0, 1 o 2, preferentemente 1 o 2.

Podrá tratarse, más particularmente de un compuesto de fórmula (II) para la cual:

- $R2 = H, a = 4, d = 1 \text{ y } e = 0,$
- $R2 = H, b = 3, c = 4, d = 0 \text{ y } e = 1,$
- $R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 \text{ y } e = 1,$

- R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 2 y e = 1, o
- R2 = CH<sub>3</sub>, b = 3, c = 4, d = 0 y e = 1,

o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

5

Ventajosamente, se tratará de un compuesto de fórmula II para la cual:

- R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1, o
- R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 2 y e = 1,

10

o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

La presente invención tiene como tercer objeto un complejo de fórmula (II) tal como se ha definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para su utilización como sonda de diagnóstico para la formación de imágenes médicas, en particular por escintigrafía, más particularmente para poner en evidencia un tumor canceroso que expresa el sistema de transporte de las poliaminas *in vivo* o *in vitro*, y en particular *in vivo*.

15

La escintigrafía es un método de formación de imágenes médicas que utiliza unos compuestos marcados con unos isótopos radioactivos. Estos compuestos radiomarcados se administran a un animal, tal como un mamífero, incluyendo el hombre, y permiten producir una imagen médica mediante la detección de las radiaciones emitidas por los isótopos radioactivos. Según el compuesto marcado utilizado, será posible visualizar diferentes partes del cuerpo, según el objetivo del compuesto marcado.

20

La presente invención tiene como cuarto objeto un complejo de fórmula (II) tal como se ha definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para su utilización en el diagnóstico, más particularmente *in vivo*, de un tumor canceroso que expresa el sistema de transporte de las poliaminas, en particular por formación de imágenes médicas, tal como por escintigrafía.

25

En efecto, el complejo del Tecnecio 99m de fórmula (II) reconoce las células tumorales aprovechando su capacidad de internalizar las poliaminas naturales que necesita para su metabolismo.

30

Un complejo de Tecnecio 99m de este tipo, inyectado al paciente, permite poner en evidencia la existencia de un foco tumoral ya que el complejo se distribuye preferentemente en el tumor.

35

Este enfoque permite seleccionar los pacientes cuyo tumor expresa bien el transportador de poliamina o sistema PTS. Es determinante para poder tratar a dichos pacientes con un producto anticanceroso que sería el mismo vectorizado por las poliaminas naturales, teniendo así como diana las células tumorales con respecto a las células sanas. Esta selección de pacientes permite obtener un porcentaje de respuesta más favorable, y no tratar a los pacientes no respondedores.

40

La presente invención se refiere también a un complejo de fórmula (II) tal como se ha definido anteriormente, utilizado para la preparación de una composición de diagnóstico destinada a la puesta en evidencia de un tumor canceroso que expresa el sistema de transporte de las poliaminas, más particularmente *in vivo*, en particular por formación de imágenes médicas, tal como por escintigrafía.

45

La presente invención se refiere también a un método de puesta en evidencia (o de diagnóstico) de un tumor canceroso que expresa el sistema de transporte de las poliaminas que comprende la administración a una persona que lo necesita de una cantidad suficiente de un complejo de fórmula (II) tal como se ha definido anteriormente. Esta administración va seguida de una etapa de detección de la radioactividad emitida por el Tecnecio 99m, en particular por formación de imágenes de escintigrafía con el fin de visualizar el tumor.

50

La presente invención tiene como quinto objeto una composición que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable de éste y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

55

El excipiente farmacéuticamente aceptable será más particularmente un excipiente utilizado en las composiciones administrada por vía parenteral.

Estas composiciones comprenderán en particular unas suspensiones acuosas, unas soluciones salinas isotónicas o unas soluciones estériles e inyectables que contienen unos agentes de dispersión y/o unos agentes humectantes farmacológicamente compatibles.

60

Los compuestos de fórmula (I) pueden estar presentes a unas dosis comprendidas entre 0,01 mg y 1000 mg. La dosis puede estar ventajosamente comprendida entre 5 mg y 500 mg, y en particular entre 10 mg y 200 mg. Puede ser necesario utilizar unas dosis que se salen de estas gamas, de lo cual el experto en la materia podrá darse cuenta por sí mismo.

65

La presente invención tiene como sexto objeto una composición de diagnóstico que comprende por lo menos un complejo de fórmula (II) según la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de éste y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Por "composición de diagnóstico", se entiende, en el sentido de la presente invención, una composición destinada a ser administrada a un animal tal como un mamífero, incluyendo el hombre, para realizar un diagnóstico, y más particularmente un diagnóstico *in vivo*, en particular por formación de imágenes médicas, tal como por escintigrafía. En el marco de la presente invención, se tratará más particularmente de permitir la puesta en evidencia de tumores cancerosos que expresan el sistema de transporte de las poliaminas.

El Tecnecio presente en dicha composición en forma de complejo de fórmula (II) estará total o parcialmente (es decir por lo menos un 80%, preferentemente por lo menos un 90%, también preferentemente de más del 90%, también más preferentemente por lo menos un 95% y todavía preferentemente cerca del 100%) en forma de isótopo <sup>99m</sup>Tc.

Las composiciones de diagnóstico según la invención se pueden formular para cualquier tipo de administración deseada, preferentemente por vía parenteral, en particular por intravenosa.

El ingrediente activo se puede administrar en formas unitarias de administración, en mezcla con unos soportes farmacéuticos clásicos, a los animales o a los seres humanos.

Para una administración intravenosa, se utilizarán en particular unas suspensiones acuosas, unas soluciones salinas isotónicas o unas soluciones estériles e inyectables que contienen unos agentes de dispersión y/o unos agentes humectantes farmacológicamente compatibles.

Los complejos de fórmula (II) como agente de diagnóstico se pueden utilizar a unas dosis comprendidas entre 5 mg y 500 mg. Puede ser necesario utilizar unas dosis fuera de estos rangos, de lo cual el experto en la materia podrá darse cuenta por sí mismo.

Una composición de diagnóstico de este tipo es útil para el diagnóstico de un tumor canceroso que expresa el sistema de transporte de las poliaminas, en particular por formación de imágenes médicas, tal como por escintigrafía.

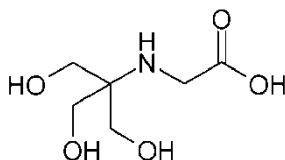
La presente invención tiene como séptimo objeto, un procedimiento de preparación de una composición de diagnóstico tal como se ha definido anteriormente, que comprende la mezcla de una composición que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de éste tal como se ha definido anteriormente con una sal de pertecnetato-<sup>99m</sup>Tc, por lo menos un agente reductor y tricina.

El procedimiento se realiza preferentemente a temperatura ambiente, es decir a una temperatura comprendida entre 15 y 40°C, en particular entre 20 y 35°C, en particular a aproximadamente 25°C.

La sal de pertecnetato será preferentemente una sal de metal alcalino tal como una sal de sodio. Una sal de este tipo se utilizará más particularmente en solución en una solución fisiológica. Dicha solución se obtiene con la ayuda de un generador de molibdeno <sup>99</sup>Mo como se ha descrito anteriormente.

El agente reductor podrá ser una mezcla de fluoruro de estaño y de ácido ascórbico que permite reducir el Tecnecio del grado de oxidación +VII al grado +III para permitir su complejación con el compuesto de fórmula (I) y la tricina.

La tricina sirve de ligando del Tecnecio <sup>99m</sup>Tc. Responde a la fórmula siguiente:



Por ejemplo, para 1,5 mg de compuesto de fórmula (I), se podrán utilizar 24 mg de tricina, 80 µg de fluoruro de estaño y 0,5 mg de ácido ascórbico.

Una composición de este tipo se prepara de manera extemporánea, es decir justo antes de su utilización.

La presente invención tiene por lo tanto como octavo objeto un kit que comprende:

(1) una composición que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable de éste y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable,

(2) tricina, y

(3) un agente reductor.

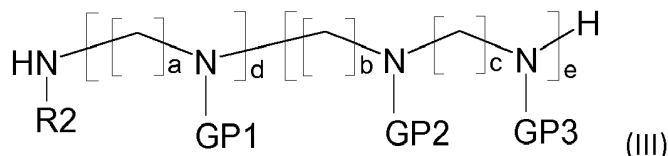
Este kit podrá comprender además las instrucciones necesarias para utilizarlo, en particular en el diagnóstico de tumores cancerosos.

El agente reductor podrá ser una mezcla de fluoruro de estaño y de ácido ascórbico.

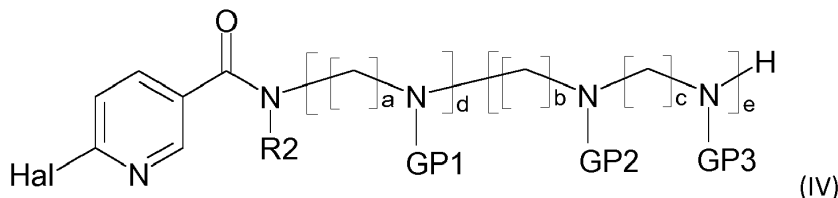
Por ejemplo, para 1,5 mg de compuesto de fórmula (I) presente en la composición (1), el kit podrá contener 24 mg de tricina, 80 µg de fluoruro de estaño y 0,5 mg de ácido ascórbico.

La presente invención tiene como noveno objeto un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste que comprende las etapas sucesivas siguientes:

(a) reacción del ácido 6-halogeno-nicotínico con una poliamina protegida de fórmula (III) siguiente:

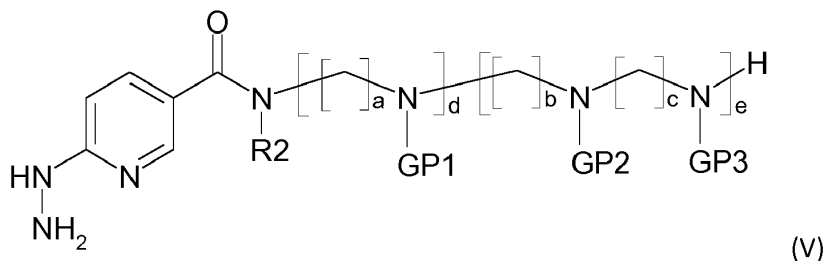


para la cual R2, a, b, c, d y e son tales como se han definido anteriormente y GP1, GP2 y GP3, idénticos o diferentes, representan cada uno un grupo N-protector, para dar un compuesto de fórmula (IV) siguiente:



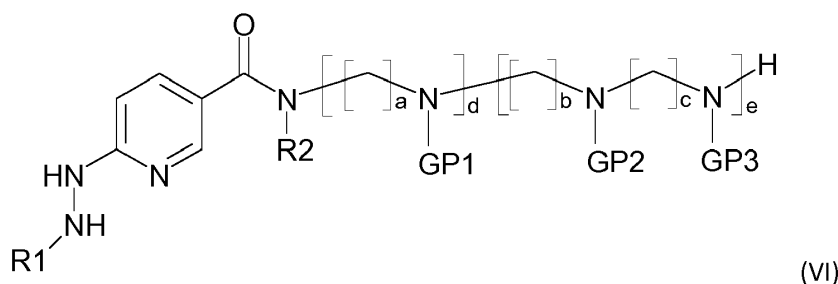
para la cual R2, a, b, c, d, e, GP1, GP2 y GP3 son tales como se han definido anteriormente y Hal representa un átomo de halógeno,

(b) reacción del compuesto de fórmula (IV) obtenido en la etapa (a) anterior con hidracina para dar un compuesto de fórmula (V) siguiente:



para la cual R2, a, b, c, d, e, GP1, GP2 y GP3 son tales como se han definido anteriormente,

(c) eventualmente protección por un grupo N-protector de la función hidracina del compuesto de fórmula (V) obtenido en la etapa (b) anterior para dar un compuesto de fórmula (VI) siguiente:



para la cual R2, a, b, c, d, e, GP1, GP2 y GP3 son tales como se han definido anteriormente y R1 representa un grupo N-protector tal como se ha definido anteriormente,

(d) desprotección de las funciones aminas protegidas por los grupos GP1, GP2 y GP3 en el compuesto de fórmula (V) o (VI) obtenido en la etapa (b) o (c) anterior para dar un compuesto de fórmula (I) según la invención,

(e) eventualmente salificación del compuesto de fórmula (I) obtenido en la etapa (d) anterior para obtener una sal farmacéuticamente aceptable de éste, y

(f) separación del compuesto de fórmula (I) o de su sal farmacéuticamente aceptable obtenido en la etapa anterior del medio de reacción.

Por "halógeno", se entiende, en el sentido de la presente invención, un átomo de yodo, de flúor, de bromo o de cloro. Se trata en particular de un átomo de cloro.

#### Etapas (a):

El ácido 6-halogeno-nicotínico será preferentemente el ácido 6-cloro-nicotínico, compuesto disponible en el comercio.

En esta etapa, los grupos GP1, GP2 y GP3 pueden representar un grupo BOC o Z. Preferentemente, estos tres grupos protectores son idénticos.

Las poliaminas no protegidas están disponibles en el comercio y pueden protegerse mediante unas técnicas bien conocidas por el experto en la materia que permite obtener acceso fácilmente a los compuestos de fórmula (III). Un ejemplo de derivado poliamina, la espermina protegida por tres grupos BOC, se describe en Tetrahedron Lett. 1998, 39, 439.

La función amida del compuesto de fórmula (IV) se puede formar mediante acoplamiento peptídico entre la función ácido carboxílico del ácido 6-halogeno-nicotínico y la función amina libre de la poliamina protegida de fórmula (III).

El acoplamiento peptídico se podrá realizar en presencia de un agente de acoplamiento, tal como la diisopropilcarbodiimida (DIC), el dicitlohexilcarbodiimida (DCC), el clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC), el carbonildiimidazol (CDI), el 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HBTU), el 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU) o también el O-(7-azobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HATU), eventualmente asociado a un auxiliar de acoplamiento tal como la N-hidroxi succinimida (NHS), el N-hidroxi benzotriazol (HOBt), el 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazol (HOObt), el 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HAt) o la N-hidroxisilfosuccinimida (sulfo NHS). En particular, el acoplamiento podrá realizarse en presencia de TBTU.

El acoplamiento podrá realizarse además en presencia de una base tal como la trietilamina. Se podrá utilizar un disolvente inerte tal como el acetonitrilo.

#### Etapas (b):

La hidracina utilizada será más particularmente el hidrato de hidrazina, disponible en el comercio.

La reacción se podrá realizar a temperatura elevada, en particular en reflujo de la hidracina, en particular a aproximadamente 100°C.

#### Etapas (c):

Esta etapa de protección se puede efectuar mediante unas técnicas bien conocidas por el experto en la materia.

Cuando el grupo N-protector es un grupo BOC, se puede realizar por reacción con *tert*-butilcarbonato en presencia de una base tal como la trietilamina. Esta reacción se puede realizar a temperatura ambiente, en particular en un disolvente tal como el THF.

#### 5 Etapa (d):

La etapa de desprotección se puede realizar mediante técnicas bien conocidas por el experto en la materia.

10 Cuando los grupos protectores son unos grupos BOC, la desprotección se podrá realizar en medio ácido, en particular en presencia de ácido clorhídrico o de ácido trifluoroacético. Dicha reacción se podrá realizar a temperatura ambiente, en particular en un disolvente tal como el dioxano o el isopropanol.

15 Cuando los grupos protectores son unos grupos Z, la desprotección se podrá realizar por hidrogenación bajo atmósfera de hidrógeno en presencia de un catalizador de hidrogenación tal como Pd/C. Esta reacción podrá realizarse en medio alcohólico, en particular en el metanol o el etanol. Se prefiere una protección por unos grupos Z cuando R1 represente un grupo N-protector escindible en medio ácido. En efecto, esto permitirá desproteger los grupos GP1, GP2 y GP3 sin desproteger el grupo R1.

#### 20 Etapa (e):

Esta etapa podrá realizarse por reacción del compuesto de fórmula (I) obtenido en la etapa (d) con un ácido o una base farmacéuticamente aceptable. Se tratará preferentemente de un ácido farmacéuticamente aceptable tal como el ácido clorhídrico.

25 Según la naturaleza de los grupos protectores GP1, GP2 y GP3 y la sal farmacéuticamente aceptable deseada (y en particular cuando GP1 = GP2 = GP3 = BOC y la sal es el clorhidrato), se puede considerar efectuar las etapas (d) y (e) de manera "one-pot", es decir en un mismo reactor, sin aislar el intermediario de síntesis entre las dos etapas, y en particular utilizando los mismos reactivos (en particular el mismo ácido para desproteger los grupos GP1, GP2 y GP3 y para formar la sal farmacéuticamente aceptable).

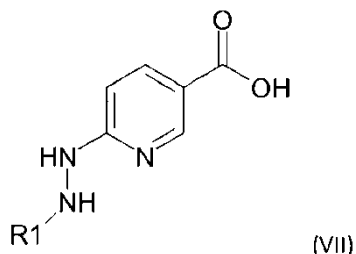
#### 30 Etapa (f):

35 El compuesto obtenido se podrá separar del medio de reacción mediante unos métodos bien conocidos por el experto en la materia, como por ejemplo por extracción, evaporación del disolvente o también por precipitación y filtración.

40 El compuesto se podrá purificar, si fuese necesario, mediante unas técnicas bien conocidas por el experto en la materia, como por recristalización si el compuesto es cristalino, por destilación, por cromatografía sobre columna sobre gel de sílice o también por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

La presente invención tiene como noveno objeto un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente, para la cual R1 ≠ H o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste que comprende las etapas sucesivas siguientes:

- 45 (i) protección por un grupo N-protector de la función hidrazina del ácido 6-hidrazinil-nicotínico para dar un compuesto de fórmula (VII) siguiente:



50 para la cual R1 representa un grupo N-protector tal como se ha definido anteriormente,

- 55 (ii) reacción de un compuesto de fórmula (VII) obtenido en la etapa (i) anterior con una poliamina protegida de fórmula (III) tal como se ha definido anteriormente para dar un compuesto de fórmula (VI) tal como se ha definido anteriormente,

- (iii) desprotección de las funciones aminas protegidas por los grupos GP1, GP2 y GP3 en el compuesto de fórmula (VI) obtenido en la etapa (ii) anterior para dar un compuesto de fórmula (I) según la invención

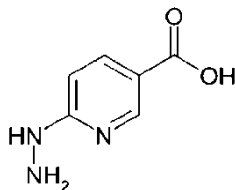
para la cual  $R1 \neq H$ ,

(iv) eventualmente salificación del compuesto de fórmula (I) obtenido en la etapa (iii) anterior para obtener una sal farmacéuticamente aceptable de éste, y

(v) separación del compuesto de fórmula (I) o de su sal farmacéuticamente aceptable obtenido en la etapa anterior del medio de reacción.

Etapas (i):

El ácido 6-hidrazinil-nicotínico responde a la fórmula siguiente:



Se puede obtener por reacción de un ácido 6-halogeno-nicotínico, tal como el ácido 6-cloro-nicotínico, con hidrazina, y más particularmente hidrato de hidrazina. Esta reacción se podrá realizar a temperatura elevada, en particular a reflujo de la hidrazina, en particular a aproximadamente 100°C.

La reacción de protección de la función hidrazina por un grupo N-protector se lleva a cabo mediante unos métodos bien conocidos por el experto en la materia, en particular mediante uno de los métodos descritos en la etapa (c) anterior.

Cuando el grupo protector es el trifluoroacetilo, la reacción de protección se puede efectuar en presencia de cloruro del ácido trifluoroacético o bien por protección por un grupo Boc (véase la etapa (c)) en particular como se describe en J. Med. Chem. 2007, 50, 1418-1422.

Etapas (ii):

Esta etapa se puede realizar en las mismas condiciones que las de la etapa (a) descrita anteriormente.

Etapas (iii): véase la etapa (d) anterior.

Etapas (iv): véase la etapa (e) anterior.

Etapas (v): véase la etapa (f) anterior.

La presente invención tiene como décimo objeto un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (II) tal como se ha definido anteriormente o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste que comprende la mezcla de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste con una sal de pertecnetato-99m, por lo menos un agente reductor y tricina.

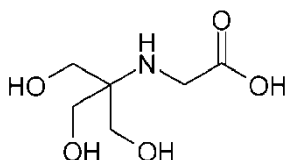
El procedimiento se realiza preferentemente a temperatura ambiente, es decir a una temperatura comprendida entre 15 y 40°C, en particular entre 20 y 35°C, en particular a aproximadamente 25°C.

Este procedimiento se realizará ventajosamente en un medio acuoso, en particular farmacéuticamente aceptable.

La sal de pertecnetato será preferentemente una sal de metal alcalino tal como una sal de sodio.

El agente reductor podrá ser una mezcla de fluoruro de estaño y de ácido ascórbico que permite reducir el Tecnecio del grado de oxidación +VII al grado +III para permitir su complejación con el compuesto de fórmula (I) y la tricina.

La tricina sirve de ligando del Tecnecio 99m. Responde a la fórmula siguiente:



Por ejemplo, para 1,5 mg de compuesto de fórmula (I), se podrán utilizar 24 mg de tricina, 80 µg de fluoruro de estaño y 0,5 mg de ácido ascórbico.

- 5 La presente invención se comprenderá mejor a la luz de los ejemplos no limitativos siguientes.

### Figuras

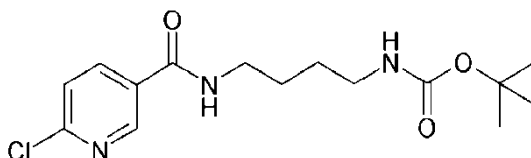
10 La Figura 1 representa el porcentaje de incorporación de un complejo de fórmula (II) en unas células B16/F10 y A549 incubadas con diferentes concentraciones de complejo de fórmula (II) y de espermina.

La Figura 2 representa la imagen TEMP de un ratón tratado según el ejemplo 30 1).

15 Las Figuras 3a y 3b representan unas imágenes TEMP de un ratón tratado según el ejemplo 31 con un compuesto de fórmula (II), para la cual R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = e = 1, obtenido a partir de un compuesto de fórmula (I) para la cual R1 = H o CF<sub>3</sub>CO respectivamente.

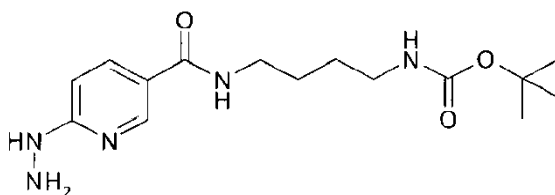
### Ejemplos

20 **Ejemplo 1: Preparación del éster *terc*-butílico del ácido {4-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-butil}-carbámico**



25 A la mezcla de 2 g de ácido 6-cloronicotínico y de 2,4 g de N-BOC-1,4-diaminobutano en solución en 100 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente bajo agitación y en presencia de 2,1 ml de trietilamina se añaden de una vez 4,1 g de TBTU. La mezcla se deja en contacto a esta temperatura aproximadamente 5 horas. El medio de reacción se hidroliza con 300 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M, y después se extrae con acetato de etilo (3x100 ml). Después de la decantación, del secado sobre sulfato de sodio anhidro y de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a la mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol/NH<sub>4</sub>OH (80/18/2) para obtener 2,1 g de sólido color crema después de la evaporación de las fracciones en cuestión. (Rendimiento: 50%). CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/9/1). Rf: 0,63.

35 **Ejemplo 2: Preparación del éster *terc*-butílico del ácido {4-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-butil}-carbámico.**



40 A 2,1 g del éster *terc*-butílico del ácido {4-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-butil}-carbámico se añaden 30 ml de hidrato de hidrazina. La mezcla obtenida se lleva a reflujo durante aproximadamente 5 horas. Después de la hidrólisis en 300 ml de agua, el medio se extrae con acetato de etilo (3x100 ml). Las fases orgánicas se lavan con una solución saturada en NaCl, y después se secan sobre sulfato de sodio anhidro. Después de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol 80/20. Se ha realizado una purificación complementaria por HPLC preparativa sobre columna Sunfire C18 OBD de Waters 10 µ, 19x250 mm, con, como fase móvil, un gradiente que va de HCl 5 mmoles a acetonitrilo/HCl 5 mmoles 50/50 para obtener, después de la liofilización de las fracciones en cuestión 210 mg del compuesto en su forma clorhidrato obtenido en forma de polvo blanco. (Rendimiento: 10%).

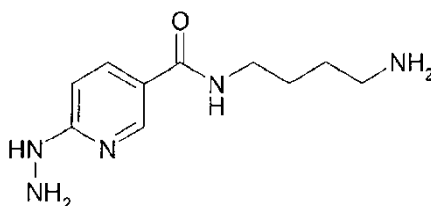
50 C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: 323,398

Análisis HPLC sobre columna Waters X-Brigde C18, 5 µ, 4,6x250 mm

Elución: Acetonitrilo/Tampón KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6,8 g/l pH 4 (2/98), caudal 1 ml/minuto, γ: 220 nm. Tiempo de retención: 3,43 min.

55

**Ejemplo 3: Preparación de {N-(4-Amino-butil)-6-hidrazino-nicotinamida, compuesto de fórmula (I) (R1 = R2 = H, a = 4, d = 1, e = 0).**



Se disuelven 0,21 g del clorhidrato del éster *terc*-butilico del ácido {4-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-butil}-carbámico en 10 ml de solución 4M de ácido clorhídrico en dioxano. El medio de reacción obtenido se deja bajo agitación 6 horas a temperatura ambiente. El precipitado resultante se filtra al vacío, se aclara con éter etílico y se seca al vacío. Se ha realizado una purificación por HPLC preparativa sobre columna Sunfire C18 OBD de Waters 10  $\mu$ , 19x250 mm con, como fase móvil, un gradiente que va de HCl 5 mmoles a acetonitrilo/HCl 5 mmoles 50/50 para obtener, después de la liofilización de las fracciones en cuestión 55 mg de clorhidrato del compuesto en forma de polvo de color crema. (Rendimiento: 28%).

P.f.: 275°C.

Análisis HPLC sobre columna Waters Atlantis HILIC, 5  $\mu$ , 4,6x150 mm

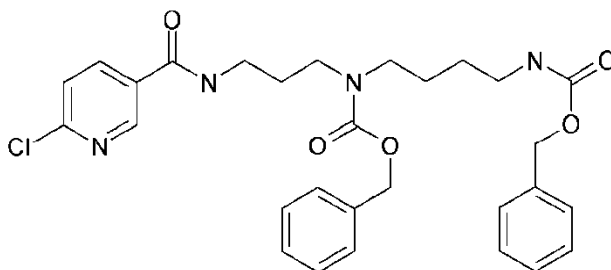
Elución: Acetonitrilo/agua/formiato de amonio 750/250/0,63 g pH 5, caudal 1 ml/minuto,

$\lambda$ : 220 nm. Tiempo de retención: 14,64 min.

C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O: 223,28; Clorhidrato: C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O, 2 HCl: 296,200 - masa (ESI+400°C): 224,2 (M+H)

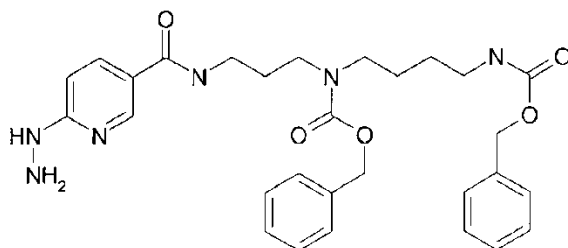
RMN <sup>1</sup>H (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  = 8,57 (1H, s, H-2 Ar), 8,13 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-4 Ar), 6,94 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-5 Ar), 3,28 (2H, m, CH<sub>2</sub>NHCO), 2,82 (2H, m, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2,54 (4H, m, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>).

**Ejemplo 4: Preparación del éster bencílico del ácido [4-(benciloxycarbonil-{3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico**



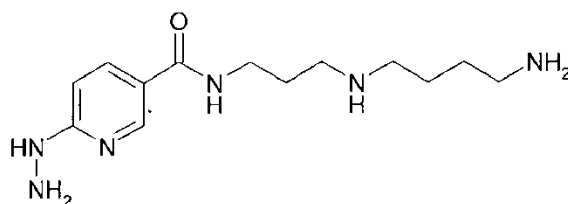
A la mezcla de 0,23 g de ácido 6-cloronicotínico y de 0,77 g del éster bencílico del ácido {4-[(3-amino-propil)-benciloxycarbonil-amino]-butil}-carbámico (J. Med. Chem. 1997, 40, 3842-3850) en solución en 30 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente bajo agitación y en presencia de 0,3 ml de trietilamina se añaden de una vez 0,6 g de TBTU. La mezcla se deja en contacto a esta temperatura aproximadamente 6 horas. El medio de reacción se hidroliza con 200 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M, y después se extrae con acetato de etilo (3x10 ml). Después de la decantación, del secado sobre sulfato de sodio anhidro y de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a la mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol (97/3) para obtener 0,52 g de aceite incoloro, después de la evaporación de las fracciones en cuestión. (Rendimiento: 50%).

CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol (95/5) - R<sub>f</sub>: 0,44

**Ejemplo 5: Preparación del éster bencílico del ácido [4-(benciloxicarbonil-{3-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico**

A 0,52 g del éster bencílico del ácido [4-(benciloxicarbonil-{3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico se añaden 20 ml de hidrato de hidrazina. La mezcla obtenida se lleva a reflujo durante aproximadamente 7 horas. Después de la hidrólisis en 300 ml de agua, el medio se extrae con acetato de etilo (3x100 ml). Las fases orgánicas se lavan con una solución saturada en NaCl, y después se secan sobre sulfato de sodio anhidro. Después de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con una mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol 97/3. Las fracciones en cuestión se evaporan bajo presión reducida para obtener 350 mg del compuesto en forma de aceite amarillo. (Rendimiento: 68%).

CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/10/1) - Rf: 0,41  
C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>: 548,647

**Ejemplo 6: Preparación de N-[3-(4-amino-butilamino)-propil]-6-hidrazino-nicotinamida, compuesto de fórmula (I) (R1= R2 = H, d = 0, b = 3, c = 4, e = 1).**

Se agitan 0,35 g del éster bencílico del ácido [4-(benciloxicarbonil-{3-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico en solución en 20 ml de metanol en presencia de Pd/10% vigorosamente bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 5 horas. El catalizador se filtra al vacío y se aclara con metanol. El filtrado se evapora bajo presión reducida para obtener un residuo oleoso. El tetra-clorhidrato se precipita por adición de 4 equivalentes de una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano a una solución del residuo obtenido en el éter etílico. Se filtra el precipitado naranja, se aclara con éter etílico y después se seca al vacío para dar 145 mg de sal. (Rendimiento: 53%)

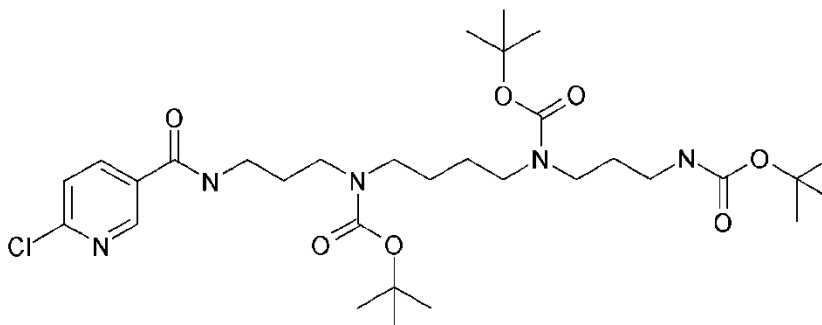
P.f.: 183°C

C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O: 280,376; sal C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O, 4 HCl: 426,220 - masa (ESI+ 400°C): 281,2 (M+H).

P.f.: 183°C

RMN <sup>1</sup>H (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8,64 (1H, s, H-2 Ar), 8,17 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-4 Ar), 6,95 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-5 Ar), 3,33 (2H, m, CH<sub>2</sub>NHCO), 2,91 (4H, m, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 2,80 (2H, m, CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>), 1,66-1,90 (6H, m, H<sub>2</sub>C-CH<sub>2</sub>).

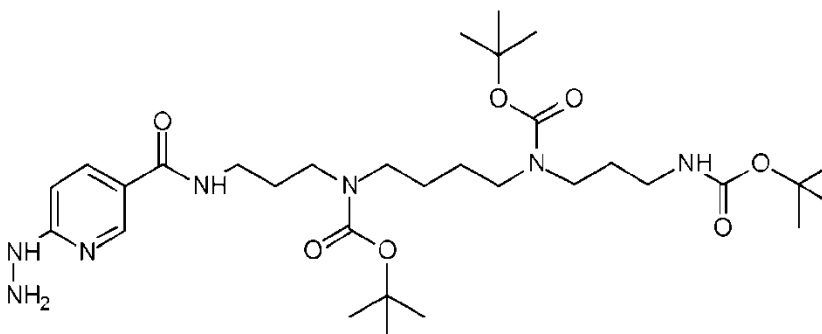
**Ejemplo 7: Preparación del éster *tert*-butilico del ácido (3-*tert*-butoxicarbonilamino-propil)-[4-(*tert*-butoxicarbonil-3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil)-amino]-butil]-carbámico**



A la mezcla de 0,31 g de ácido 6-cloronicotínico y de 1 g de Tri-BOC-espermina (según el documento FR 2919287) en solución en 40 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente bajo agitación y en presencia de 0,3 l de trietilamina se añaden de una vez 0,4 g de TBTU. La mezcla se deja en contacto a esta temperatura aproximadamente 1/2 hora. El medio de reacción se hidroliza con 100 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M, y después se extrae con acetato de etilo (3x50 ml). Después de la decantación, del secado sobre sulfato de sodio anhidro y de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% de heptano al 100% de acetato de etilo para obtener 0,79 g de aceite incoloro después de la evaporación de las fracciones en cuestión. (Rendimiento: 62%).

CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/9/1). Rf: 0,56

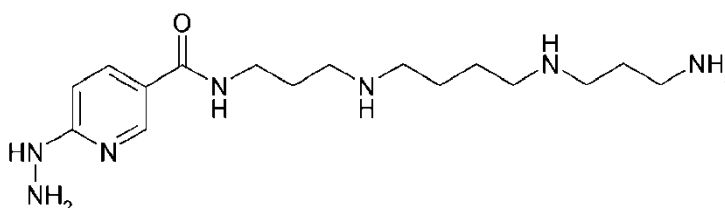
**Ejemplo 8: Preparación del éster *tert*-butilico del ácido (3-*tert*-butoxicarbonilamino-propil)-[4-(*tert*-butoxicarbonil-3-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil)-amino]-butil]-carbámico**



A 0,79 g del éster *tert*-butilico del ácido (3-*tert*-butoxicarbonilamino-propil)-[4-(*tert*-butoxicarbonil-3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil)-amino]-butil]-carbámico se añaden 30 ml de hidrato de hidrazina. La mezcla obtenida se lleva a reflujo durante aproximadamente 6 horas. Después de la hidrólisis en 500 ml de agua, el medio se extrae con acetato de etilo (3x100 ml). Las fases orgánicas se lavan con una solución saturada en NaCl, y después se secan sobre sulfato de sodio anhidro. Después de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida para dar 0,74 g de residuo oleoso verdoso. (Rendimiento: 94%).

CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/9/1). Rf: 0,46.  
C<sub>31</sub>H<sub>55</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub>: 637,827 - Masa (ESI+ 400°C): 638,4 (M+H).

**Ejemplo 9: Preparación de N-[3-[4-(3-amino-propilamino)-butil amino]-propil]-6-hidrazino-nicotinamida, compuesto de fórmula (I) (R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = e = 1).**



Se disuelve 0,74 g del éster *tert*-butilico del ácido (3-*tert*-butoxicarbonilamino-propil)-[4-(*tert*-butoxicarbonil-3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil)-amino]-butil]-carbámico

[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil)-amino)-butil]-carbámico en 20 ml de solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano. El medio de reacción obtenido se deja bajo agitación 7 horas a temperatura ambiente. El precipitado resultante se filtra al vacío, se aclara con éter etílico y se seca al vacío para dar 0,45 g de sólido de color crema. (Rendimiento: 87%).

P.f.: 282°C.

CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol/NH<sub>4</sub>OH (40/40/20). Rf: 0,16.

C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>N<sub>7</sub>O: 337,472, sal C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>N<sub>7</sub>O, 4 HCl: 483,332 - Masa: 338,2 (M+H) ESI+ 400°C.

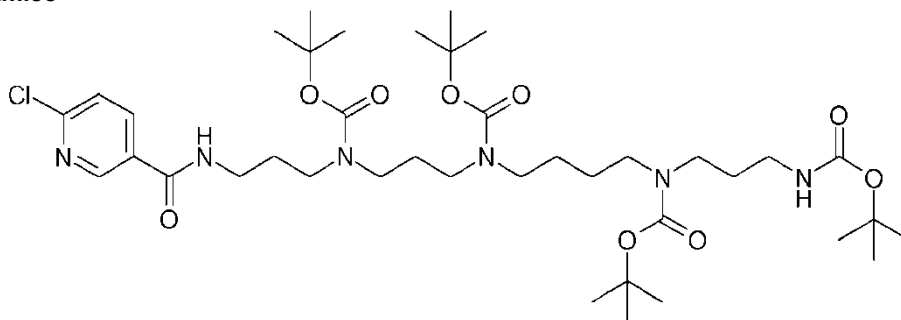
Análisis HPLC sobre columna Waters Atlantis HILIC, 5 µ, 4,6x150 mm

Elución: Acetonitrilo/agua/formiato de amonio 700/300/0,63 g pH 2,5, caudal 1 ml/minuto,

γ: 220 nm. Tiempo de retención: 11,35 min.

RMN 1H (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8,64 (1H, s, H-2 Ar), 8,16(1H, d, j = 8,8 Hz, H-4 Ar), 6,94 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-5 Ar), 3,34 (2H, m, CH<sub>2</sub>NHCO), 2,93 (8H, m, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 1,98 (4H, m, CH<sub>2</sub>), 1,88 (4H, m, H<sub>2</sub>C-CH<sub>2</sub>).

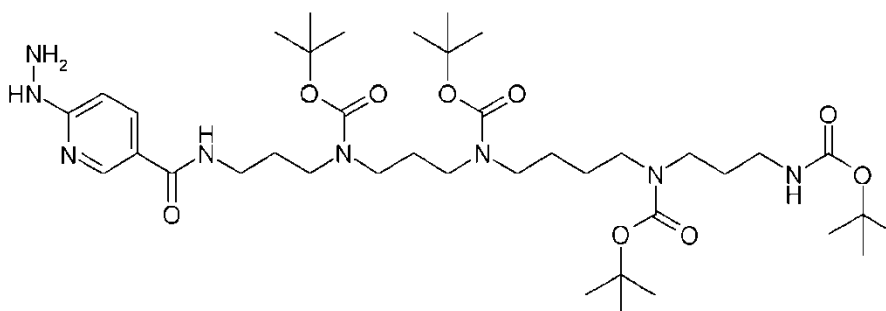
**Ejemplo 10: Preparación del éster *terc*-butilico del ácido [3-(*terc*-butoxicarbonil-{4-[*terc*-butoxicarbonil-(3-*terc*-butoxicarbonil amino-propil)-amino]-butil)-amino)-propil]-{3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-carbámico**



A la mezcla de 0,21 g de ácido 6-cloronicotínico y de 0,88 g de (N1,N4,N9,N13-tetra-*terc*-butoxicarbonil)-1,16-diamino-4,9,13-triazahexadecano (Tetrahedron 2000, 56 2449-2460) en solución en 100 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente bajo agitación y en presencia de 0,22 ml de trietilamina se añaden de una vez 0,43 g de TBTU. La mezcla se deja en contacto a esta temperatura aproximadamente 5 horas. El medio de reacción se hidroliza con 100 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5M, y después se extrae con acetato de etilo (3x50 ml). Después de la decantación, del secado sobre sulfato de sodio anhidro y de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a la mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol/NH<sub>4</sub>OH (80/18/2) para obtener 0,66 g de aceite incoloro después de la evaporación de las fracciones en cuestión. (Rendimiento: 62%).

CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/9/1). Rf: 0,53.

**Ejemplo 11: Preparación del éster *terc*-butilico del ácido [3-(*terc*-butoxicarbonil-{4-[*terc*-butoxicarbonil-(3-*terc*-butoxicarbonil amino-propil)-amino]-butil)-amino)-propil]-{3-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-carbámico**



A 0,66 g del éster *terc*-butilico del ácido [3-(*terc*-butoxicarbonil-14-[*terc*-butoxicarbonil-(3-*terc*-butoxicarbonil amino-propil)-amino]-butil)-amino)-propil]-{3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-carbámico se añaden 20

ml de hidrato de hidrazina. La mezcla obtenida se lleva a reflujo durante aproximadamente 5 horas. Después de la hidrólisis en 300 ml de agua, el medio se extrae con acetato de etilo (3x100 ml). Las fases orgánicas se lavan con una solución saturada en NaCl, y después se secan sobre sulfato de sodio anhidro. Después de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida para dar un residuo oleoso que se purifica por cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a la mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol (80/20) para obtener 0,31 g de aceite amarillo después de la evaporación de las fracciones en cuestión. (Rendimiento: 47%).

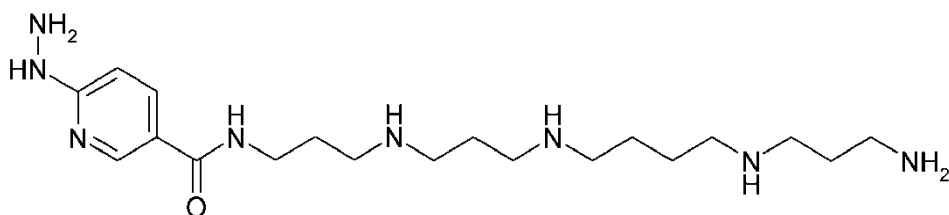
CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/9/1). Rf: 0,28.

C<sub>39</sub>H<sub>70</sub>N<sub>8</sub>O<sub>9</sub>: 795,041

Análisis HPLC sobre columna Waters X-Brigde C18, 5 µ, 4,6x250 mm

Elución: Acetonitrilo/Tampón KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6,8 g/l pH 4 (50/50), caudal 1 ml/minuto, γ: 220 nm. Tiempo de retención: 15,07 min.

**Ejemplo 12: Preparación de N-(3-{3-[4-(3-amino-propilamino)-butilamino]-propilamino}-propil)-6-hidrazino-nicotinamida, compuesto de fórmula (I) (R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 2, e = 1)**



Se disuelve 0,31 g del éster *tert*-butilico del ácido ([3-(*tert*-butoxicarbonil-{4-[*tert*-butoxicarbonil-(3-*tert*-butoxicarbonil-amino-propil)-amino]-butil)-amino]-propil]-{3-[6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-carbámico en 10 ml de solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano. El medio de reacción obtenido se deja bajo agitación 6 horas a temperatura ambiente. El precipitado resultante se filtra al vacío, se aclara con éter etílico y se seca al vacío. Se ha realizado una purificación por HPLC preparativa sobre columna Sunfire C18 OBD de Waters 10 µ, 19x250 mm con, como fase móvil, un gradiente que va de HCl 5 mmoles a acetonitrilo/HCl 5 mmoles 50/50 para obtener, después de la liofilización de las fracciones en cuestión 37 mg de penta-clorhidrato del compuesto en forma de polvo gris.

(Rendimiento: 16%).

P.f.: 307°C.

C<sub>19</sub>H<sub>38</sub>N<sub>8</sub>O: 394,568, sal C<sub>19</sub>H<sub>38</sub>N<sub>8</sub>O, 5 HCl: 576,870 - Masa (ESI + 400°C): 365,2 (M-NH-NH<sub>2</sub>).

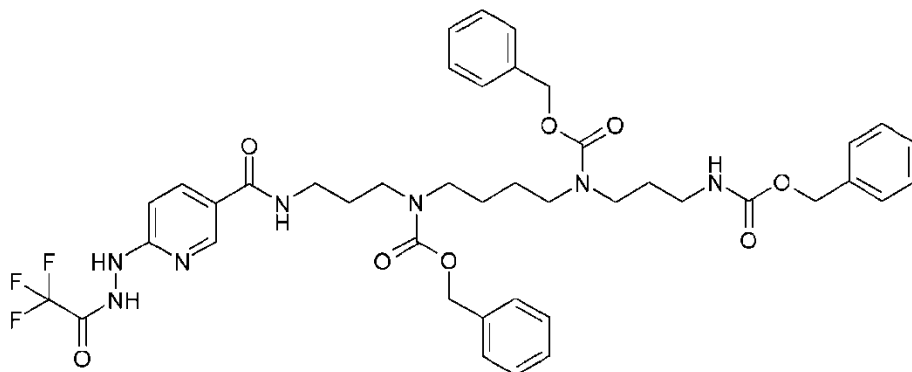
Análisis HPLC sobre columna Waters Atlantis HILIC, 5 µ, 4,6x150 mm

Elución: Acetonitrilo/agua/formiato de amonio 650/350/0,63 g pH 2, caudal 1 ml/minuto,

γ: 220 nm. Tiempo de retención: 7,33 min.

RMN <sup>1</sup>H (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8,63 (1H, s, H-2 Ar), 8,17 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-4 Ar), 6,95 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-5 Ar), 3,35 (2H, m, CH<sub>2</sub>NHCO), 2,98 (12H, m, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 1,97 (6H, m, CH<sub>2</sub>), 1,88 (4H, m, H<sub>2</sub>C-CH<sub>2</sub>).

**Ejemplo 13: Preparación del éster bencilico del ácido (3-benciloxicarbonil-amino-propil)-(4-{benciloxicarbonil-[3-({6-[N'-(2,2,2-trifluoro-acetil)-hidrazino]-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil)-carbámico**



A la mezcla de 0,49 g de ácido 6-(2-(2,2,2-trifluoroacetil)hidrazinil)nicotínico y de 1,2 g de tri-Z-espermina (Tetrahedron Letters 1998, 39, 439-442) en solución en 12 ml de DMF a temperatura ambiente bajo agitación y en presencia de 0,33 ml de trietilamina se añaden de una vez 0,63 g de TBTU. La mezcla se deja en contacto a esta temperatura aproximadamente 5 horas. El medio de reacción se hidroliza con 100 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M, y después se extrae con acetato de etilo (3x50 ml). Después de la decantación, del secado sobre sulfato de sodio anhidro y de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% heptano al 100% acetato de etilo para obtener 1,23 g de sólido amarillo. El clorhidrato se precipita en el diclorometano por adición de 1 equivalente de una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano para obtener 0,93 g de sólido amarillo pálido. (Rendimiento: 56%).

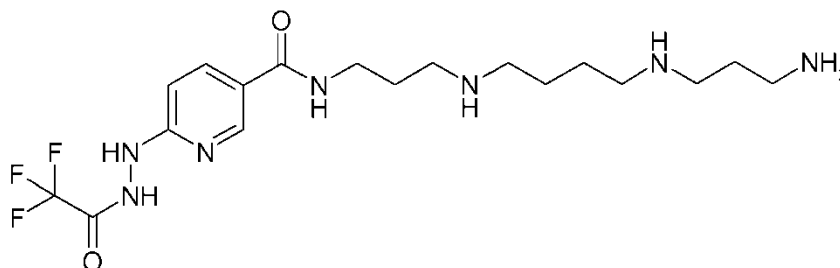
CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/9/1). R<sub>f</sub>: 0,2.

Análisis HPLC sobre columna Waters X-Brigde C18, 5 µ, 4,6x250 mm

Elución: Acetonitrilo/Tampón KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6,8 g/l pH 4 (60/40), caudal 1 ml/minuto.

γ: 220 nm. Tiempo de retención: 7,69 min.

**Ejemplo 14: Preparación de N-{3-[4-(3-amino-propilamino)-butilamino]-propil}-6-[N'-(2,2,2-trifluoro-acetil)-hidrazino]-nicotinamida, compuesto de fórmula (I) (R1 = CF<sub>3</sub>CO, R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = e = 1)**



Se agita 0,52 g del éster bencílico del ácido (3-benciloxicarbonilamino-propil)-(4-{benciloxicarbonil-[3-({6-[N'-(2,2,2-trifluoro-acetil)-hidrazino]-piridin-3-carbonil}-amino)-propil]-amino}-butil)-carbámico en solución en 30 ml de metanol en presencia de Pd/10% vigorosamente bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 5 horas. El catalizador se filtra al vacío y se aclara con metanol. El filtrado se evapora bajo presión reducida sin calentar para obtener un residuo oleoso. El tetra-clorhidrato se precipita por adición de 4 equivalentes de una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano a una solución del residuo obtenido en el diclorometano. El precipitado beige se filtra, se aclara con éter etílico y después se seca al vacío para dar 162 mg de sal. (Rendimiento: 40%).

P.f.: 237,5°C

C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub>: 433,481, sal C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>F<sub>3</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub>, 4 HCl: 579,341 - Masa (APCI + 500°C): 434,2 (M+H)

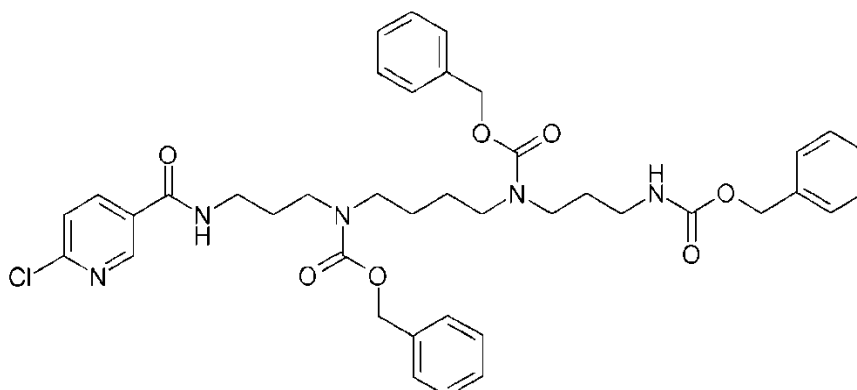
Análisis HPLC sobre columna Waters Atlantis HILIC, 5 µ, 4,6x150 mm

Elución: Acetonitrilo/agua/formiato de amonio 700/300/0,63 g pH 2,5, caudal 1 ml/minuto,

γ: 220 nm. Tiempo de retención: 5,62 min.

RMN <sup>1</sup>H (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8,58 (1H, s, H-2 Ar), 7,98 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-4 Ar), 6,74 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-5 Ar), 3,34 (2H, m, CH<sub>2</sub>NHCO), 2,95 (8H, m, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 1,95 (4H, m, CH<sub>2</sub>), 1,68 (4H, m, H<sub>2</sub>C-CH<sub>2</sub>).

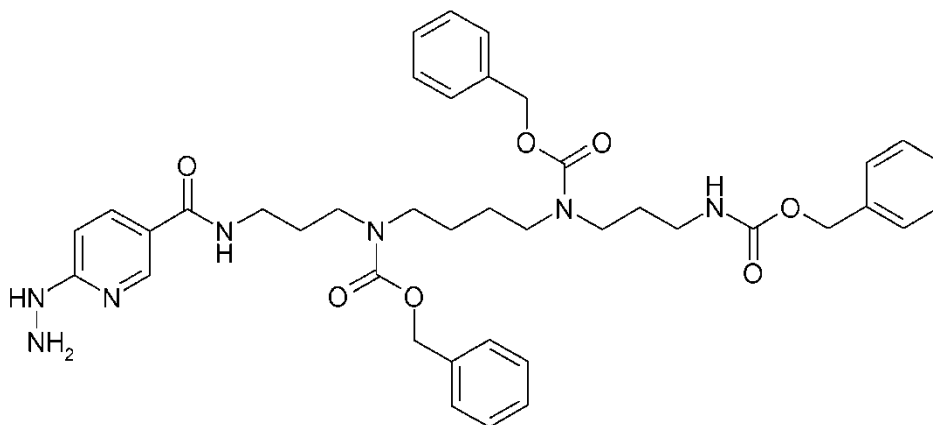
**Ejemplo 15: Preparación del éster bencílico del ácido (3-benciloxicarbonilamino-propil)-[4-(benciloxicarbonil-{3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico**



A la mezcla de 0,98 g de ácido 6-cloronicotínico y de 3,74 g de tri-Z-espermina (Tetrahedron Letters 1998, 39, 439-442) en solución en 100 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente bajo agitación y en presencia de 1,05 ml de trietilamina se añaden de una vez 2 g de TBTU. La mezcla se deja en contacto a esta temperatura aproximadamente 90 minutos. El medio de reacción se hidroliza con 100 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico 0,5 M, y después se extrae con acetato de etilo (3x50 ml). Después de la decantación, del secado sobre sulfato de sodio anhidro y de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% heptano al 100% acetato de etilo para obtener 1,6 g de aceite amarillo.

(Rendimiento: 35%).  
CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/9/1). R<sub>f</sub>: 0,45.  
C<sub>40</sub>H<sub>46</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>: 744,295

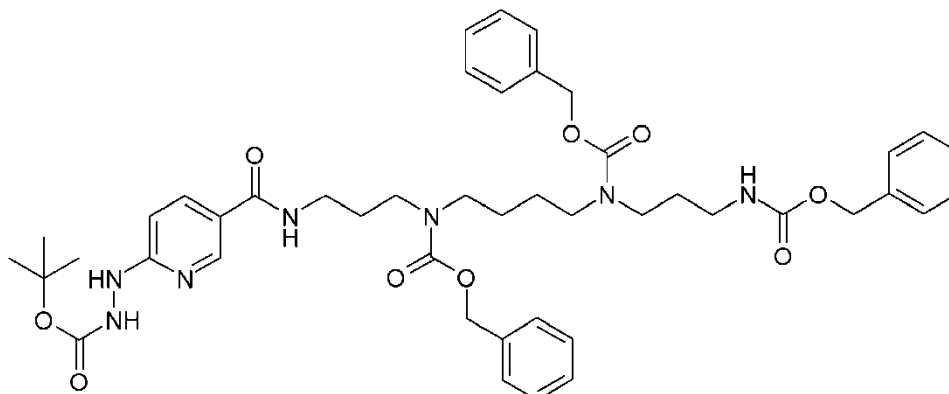
**Ejemplo 16: Preparación del éster bencílico del ácido (3-benciloxicarbonilamino-propil)-[4-(benciloxicarbonil-{3-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico**



A 1,6 g del éster bencílico del ácido (3-benciloxicarbonilamino-propil)-[4-(benciloxicarbonil-{3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico se añaden 20 ml de hidrato de hidrazina. La mezcla obtenida se lleva a reflujo durante aproximadamente 2 horas. Después de la hidrólisis en 300 ml de agua, el medio se extrae con acetato de etilo (3x100 ml). Las fases orgánicas se lavan con una solución saturada en NaCl, y después se secan sobre sulfato de sodio anhidro. Después de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida para dar 1,8 g de residuo oleoso. (Rendimiento: cuantitativo).

CCM SiO<sub>2</sub>: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol/NH<sub>4</sub>OH (90/9/1). R<sub>f</sub>: 0,40.  
C<sub>40</sub>H<sub>49</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub>: 739,879 - Masa (ESI + 400°C): 740,5 (M+H)

**Ejemplo 17: Preparación del éster *terc*-butilíco del ácido N'-{5-[3-(benciloxicarbonil-{4-[benciloxicarbonil-(3-benciloxicarbonilamino-propil)-amino]-butil]-amino)-propil]-carbamoyl]-piridin-2-il}-hidrazinacarboxílico**



A 1,6 g del éster bencilíco del ácido (3-benciloxicarbonilamino-propil)-[4-(benciloxicarbonil-{3-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil]-amino)-butil]-carbámico en solución en 30 ml de THF en presencia de 2 ml de trietilamina se añade, a temperatura ambiente y gota a gota, una solución de 2 g de di-*terc*-butilcarbonato en 10 ml de THF. Al final de la adición, el medio de reacción se deja durante 2 horas bajo agitación. Después de la hidrólisis en 300 ml de agua, el medio se extrae con acetato de etilo (3x100 ml). Las fases orgánicas se lavan con una solución saturada en NaCl, y después se secan sobre sulfato de sodio anhidro. Después de la filtración, el disolvente se evapora bajo presión reducida para dar residuo oleoso que se purifica por cromatografía ultrarrápida SiO<sub>2</sub> con un gradiente que va del 100% heptano al 100% acetato de etilo para obtener 1,15 g de aceite incoloro. (Rendimiento: 63%).

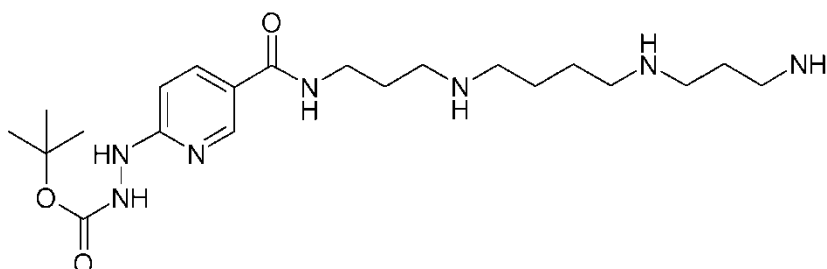
C<sub>45</sub>H<sub>57</sub>ClN<sub>7</sub>O<sub>9</sub>: 839,997

Análisis HPLC sobre columna Waters X-Brigde C18, 5 µ, 4,6x250 mm

Elución: Acetonitrilo/Tampón KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6,8 g/l pH 4 (60/40), caudal 1 ml/minuto.

γ: 220 nm. Tiempo de retención: 9,33 min.

**Ejemplo 18: Preparación del éster *terc*-butilíco del ácido N'-{5-[3-[4-(3-amino-propilamino)-butilamino]-propil]-carbamoyl]-piridin-2-il}-hidrazinacarboxílico, compuesto de fórmula (I) (R1 = BOC, R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = e = 1).**



Se agita 0,2 g del éster bencilíco del ácido (3-benciloxicarbonilamino-propil)-[4-(benciloxicarbonil-{3-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-amino]-propil]-amino)-butil]-carbámico en solución en 10 ml de metanol en presencia de Pd/10% vigorosamente bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 2 horas. El catalizador se filtra al vacío y se aclara con metanol. El filtrado se evapora bajo presión reducida sin calentar para obtener 110 mg de sólido. (Rendimiento: cuantitativo).

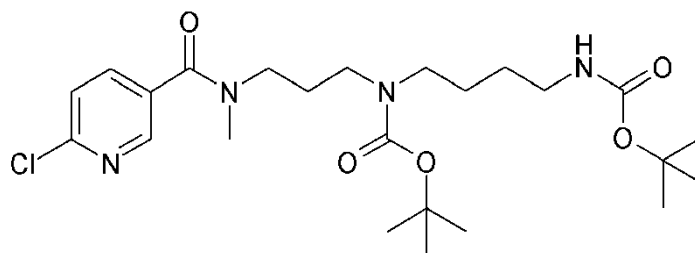
C<sub>21</sub>H<sub>39</sub>N<sub>7</sub>O<sub>3</sub>: 437,590 - Masa (ESI + 400°C): 438,3 (M+H).

Análisis HPLC sobre columna Waters X-bridge C18, 5µ, 4,6x250 mm

Elución: Acetonitrilo/tampón KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6,4 g/l 90/10 pH 4, caudal 1 ml/minuto γ: 220 nm. Tiempo de retención: 7,56 min.

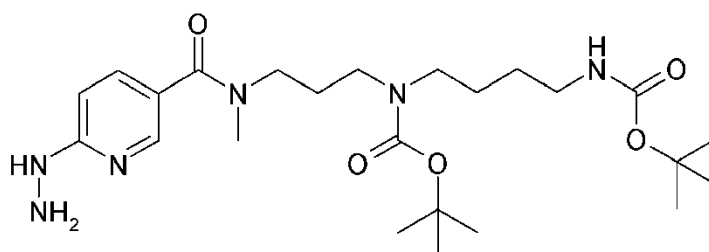
RMN <sup>1</sup>H (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 8,64 (1H, s, H-2 Ar), 8,16(1H, d, j = 8,8 Hz, H-4 Ar), 6,94 (1H, d, j = 8,8 Hz, H-5 Ar), 3,34 (2H, m, CH<sub>2</sub>NHCO), 2,93 (8H, m, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 1,98 (4H, m, CH<sub>2</sub>), 1,88 (4H, m, H<sub>2</sub>C-CH<sub>2</sub>), 1,42 (9H, *terc*-butilo).

**Ejemplo 19: Preparación del éster *terc*-butilico del ácido [4-(*terc*-butoxicarbonil-{3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-metil-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico**



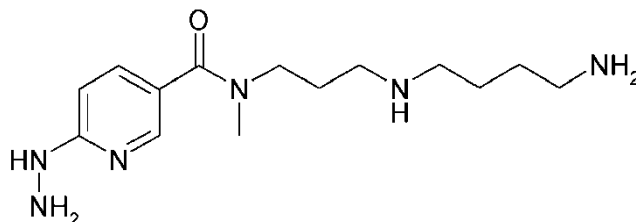
5 Síntesis realizada según el protocolo de síntesis del éster bencílico del ácido [4-(benciloxycarbonil-{3-[(6-cloro-piridin-3-carbonil)-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico pero utilizando la amina siguiente: éster *terc*-butilico del ácido [4-(*terc*-butoxicarbonil-(3-metilamino-propil)-amino)-butil]-carbámico (J. Med. Chem. 1999, 42, 277-290).

10 **Ejemplo 20: Preparación del éster *terc*-butilico del ácido [4-(*terc*-butoxicarbonil-{3-[(6-hidrazino-piridin-3-carbonil)-metil-amino]-propil}-amino)-butil]-carbámico**



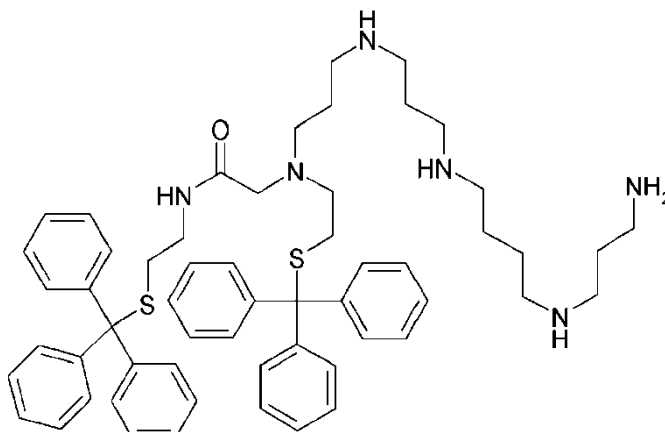
15 Reacción con la hidrazina según los protocolos descritos anteriormente.

**Ejemplo 21: Preparación de N-[3-(4-Amino-butilamino)-propil]-6-hidrazino-N-metil-nicotinamida, compuesto de fórmula (I) (R1 = H, R2 = CH<sub>3</sub>, b = 3, c = 4, d = 0, e = 1).**



20 Desprotección con una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano según los protocolos descritos anteriormente.

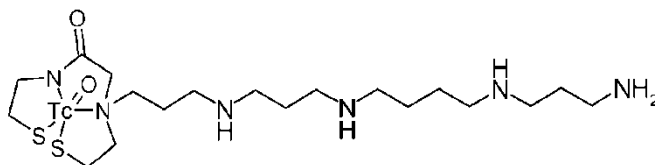
25 **Ejemplo 22: Derivado de tipo AADT sintetizado**



A una mezcla de 0,5 g (1 eq., 0,66 mmol) de N-[[[2-[(Trifenilmetil)tio]etil]amino]carbonil]-metil]-N-(3'-cloropropil)-S-(trifenilmetil)-2-aminoetanotiol (descrito en J. Med. Chem. 1997, 40, 1835-1844) y de 1,34 g de espermina (10 eq., 6,6 mmoles) en solución en 100 ml de mezcla 1/1 de diclorometano y de metanol se añaden 50 mg de bromuro de tetrabutilamonio. Esta mezcla obtenida se evapora bajo presión reducida para obtener un residuo oleoso que se calienta a 110°C durante 9 horas. Después del enfriamiento, se añaden 50 ml de sosa 1 N y se efectúa una extracción con diclorometano (4x100 ml). Las fases orgánicas de extracción se reúnen, se secan sobre sulfato de sodio anhidro, se filtran y se evaporan bajo presión reducida para obtener un residuo oleoso que se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice con un gradiente que va del 100% de diclorometano a diclorometano/metanol/amoniaco al 37% (70/20/10) para obtener 0,27 g (rendimiento: 37%) en forma de un aceite naranja. Una purificación complementaria por HPLC preparativa se realiza sobre columna C18-Xbridge de Waters 30x250 mm, 10 m, caudal 40 ml/min., l: 220 nm, fase móvil: gradiente 100% acetonitrilo a acetonitrilo/solución acuosa HCl 5 mmolar (50/50).

Las fracciones en cuestión por el producto se evaporan para eliminar el acetonitrilo, y después se liofilizan para obtener el producto en forma de sólido crema y en su forma clorhidrato. Rendimiento: 12%. CCM: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol/amoniaco 4/4/2: Rf: 0,5

### Ejemplo 23: Complejación del compuesto del ejemplo 22 con el Tecnecio 99m



En un matraz de 100 ml equipado de una agitación magnética, se añade al compuesto del ejemplo 22 (5 mg) de anisol (0,2 ml; 1,8 mmol) después ácido trifluoroacético 99% (10 ml; 134 mmoles) que da una coloración amarilla a la solución. El medio de reacción se agita después durante 5 min a 5°C. La mezcla se titula después, gota a gota con trietilsilano (Et<sub>3</sub>Si) (0,07 ml; 0,43 mmol) hasta la desaparición del color amarillo. La solución se evapora bajo presión reducida a temperatura ambiente. El compuesto obtenido (1 mg) se disuelve en NaCl al 0,9% (1 ml) y después se añade, en un matraz al vacío, a una mezcla de fluoruro de estaño (SnF<sub>2</sub>) (80 µg; 0,51 µmol) y de ácido ascórbico (0,5 mg; 2,8 µmol). Se deja después incubar durante 3 minutos a temperatura ambiente, antes de añadir el pertecnetato de sodio (500 µl; 185 MBq). Éste, reducido extemporáneamente del grado de oxidación +VII al grado +III, se compleja entonces en forma de pentadentato. Después de la incubación de 30 minutos, el volumen se ajusta a 4 ml con NaCl al 0,9%.

### Ejemplo 24: Estudios *in vivo* con el complejo de el ejemplo 23

Fijación tumoral: Se inyectaron unas células de cáncer de mama MX1 (5·10<sup>6</sup> células) en subcutáneo a nivel del costado de ratón hembra Swiss desnudos. 22 días después del injerto, la sonda radiomarcada 15 MBq5) se inyectó a estos ratones. Se realizaron después unas escintigrafías del cuerpo entero 30 min, 1 h y 5 h después de la inyección. Para ello, los ratones, anestesiados por vía gaseosa con el isoflurano, se mostraron en imágenes en decúbito ventral sobre una cámara gamma (γ Imager, BIOSPACE Mesures) con el programa y Acquisition (BIOSPACE Mesures) con los parámetros siguientes:

- Ventana espectral: 124-160 KeV
- Tiempo de adquisición: 5 min
- Matriz 256x256

Para el conjunto de las imágenes, se ha trazado una región de interés alrededor del tumor y se ha definido otra de mismo tamaño sobre el músculo de una pata trasera con el fin de determinar la relación tumor/músculo.

Los resultados indican que no hay fijación tumoral, el trazador se concentra rápidamente en el hígado. Así, este trazador no es reconocido por el sistema de transporte de las poliaminas.

### Ejemplo 25: Quelación directa del Tecnecio 99m sobre las aminas de la espermina después de la reducción del TcO<sub>4</sub>

La espermina (10 mg) se disuelve en agua ppi (1 ml). Se añaden 100 µl de la solución obtenida, en un matraz al vacío, a fluoruro de estaño (80 µg; 0,51 µmol). Se añade después el pertecnetato de sodio (370 MBq). Éste, reducido extemporáneamente del grado de oxidación +VII al grado +III, se compleja entonces en forma de monodentato. Después, se añade ácido ascórbico (0,5 mg; 2,8 µmoles). Después de la incubación de 15 minutos a temperatura ambiente, se ajusta el pH a aproximadamente 6,3-6,7.

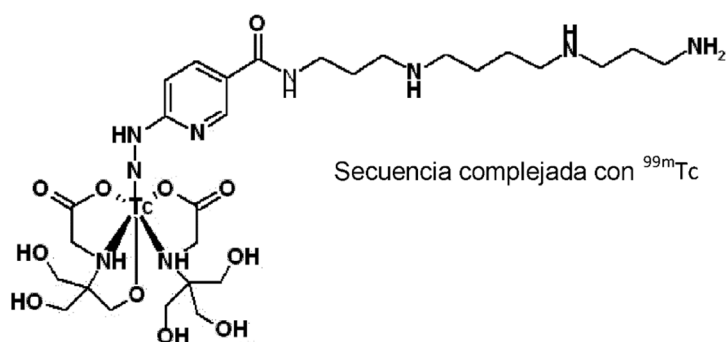
**Ejemplo 26: Estudios *in vivo* con el compuesto del ejemplo 25**

Fijación tumoral: Se han inyectado unas células de melanoma murino B16/F10 ( $2,5 \cdot 10^5$  células) por vía subcutánea en la pata derecha trasera de ratones machos C57BL/6. 10 días después del injerto, la sonda radiomarcada se inyectó a los ratones. La formación de imágenes se ha realizado según el protocolo descrito en el ejemplo 24 anterior.

Los resultados indican que no hay fijación tumoral, una parte del trazador se elimina rápidamente por vía urinaria y existe una fuerte fijación hepática. Así, el complejo del ejemplo 25 no es reconocido por el sistema de transporte de las poliaminas.

**Ejemplo 27: Complejación de los compuestos de fórmula (I) con el Tecnecio  $^{99m}\text{Tc}$** 

Un ejemplo de marcado se da con el N-(3-{3-[4-(3-amino-propilamino)-butilamino]-propilamino}-propil)-6-hidrazino-nicotinamida, compuesto de fórmula (I) ( $R_1 = R_2 = \text{H}$ ,  $a = 3$ ,  $b = 4$ ,  $c = 3$ ,  $d = e = 1$ ), que permite dar el complejo siguiente:



El compuesto de fórmula (I) (1,5 mg) y tricina (24 mg; 89  $\mu\text{moles}$ ) se disuelven en NaCl 0,9% (1,5 ml) después 1 ml de la solución obtenida se coloca en un matraz al vacío. Se añaden fluoruro de estaño (80  $\mu\text{g}$ ; 0,51  $\mu\text{mol}$ ) y ácido ascórbico (0,5 mg; 2,8  $\mu\text{moles}$ ) como agentes reductores. Se deja después incubar durante 3 minutos a temperatura ambiente, antes de añadir el pertechnetato de sodio (500  $\mu\text{l}$ ; 370 MBq). Éste, reducido extemporáneamente del grado de oxidación +VII al grado +III, se compleja entonces en forma de monodentato. Después de la incubación de 30 minutos, se añade PBS 10x (0,5 ml), y después se ajusta el volumen con NaCl 0,9%.

**Ejemplo 28: Control del marcado**

Se ha realizado una radiografía HPLC en fase inversa sobre una columna XBridge C8 4,6\*250 mm 5  $\mu$  (Waters, USA) con una fase móvil (caudal de 1 ml/min a temperatura ambiente) compuesta por agua (55%), por acetonitrilo (45%) y por TFA (0,1%). No se ha realizado ninguna etapa de purificación antes de la inyección.

Unas radiografías HPLC en fase inversa realizadas entre 30 min y 5 h después del marcado de los compuestos han mostrado que el marcado es estable.

Los resultados obtenidos a 30 min después del marcado se presentan en la tabla siguiente.

| Compuesto de fórmula (II) |   |   |   |   |   | Tiempo de retención | Pureza radioquímica (%) |
|---------------------------|---|---|---|---|---|---------------------|-------------------------|
| R2                        | a | b | c | d | e |                     |                         |
| H <sup>(1)</sup>          | 3 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3 min. 20           | 99                      |
| H                         | 4 | / | / | 1 | 0 | 2 min. 57           | 99                      |
| H                         | 3 | 4 | 3 | 2 | 1 | 2 min. 46           | 98                      |
| H                         | / | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 min. 52           | 98                      |
| H <sup>(2)</sup>          | 3 | 4 | 3 | 1 | 1 | 2 min. 33           | 99                      |
| 99mTc                     |   |   |   |   |   | 4 min. 41           | /                       |

<sup>(1)</sup> Complejo de fórmula (II) obtenido a partir de un compuesto de fórmula (I) para la cual  $R_1 = \text{H}$ .

<sup>(2)</sup> Complejo de fórmula (II) obtenido a partir de un compuesto de fórmula (I) para la cual  $R_1 = \text{CF}_3\text{CO}$ .

**Ejemplo 29: Estudio *in vitro* - Incorporación en diferentes tipos celulares del complejo de fórmula (II) obtenido a partir de un compuesto de fórmula (I) para la cual  $R_1 = R_2 = \text{H}$ ,  $a = 3$ ,  $b = 4$ ,  $c = 3$ ,  $d = e = 1$** 

Se cultivaron unas células A549 y B16 en placas de 24 pocillos ( $2 \cdot 10^5$  células/pocillo). Después de 24h, las

células se incubaron durante 30 minutos con el complejo de fórmula (II) a diferentes concentraciones o con 0,2  $\mu\text{M}$  de complejo de fórmula (II) en presencia o no de una concentración creciente de espermina utilizada para evaluar la competición con la sonda. Después de la incubación, las placas se colocaron sobre hielo y las células se aclararon con NaCl al 0,9% frío adicionado de 1 mM de espermidina. Las células han recibido un tratamiento con tripsina. Se pusieron en suspensión en PBS. Se midió la actividad de cada pocillo con la ayuda de un contador gamma.

La espermina bloquea en parte la incorporación del complejo de fórmula (II) en las células B16 y A549 (resultados presentados en la Figura 1), lo que indica que la sonda utiliza los transportadores de poliaminas para entrar en las células.

**Ejemplo 30: Estudios *in vivo* con el complejo de fórmula (II) obtenido a partir de un compuesto de fórmula (I) para la cual  $R1 = R2 = H$ ,  $a = 3$ ,  $b = 4$ ,  $c = 3$ ,  $d = e = 1$**

1) Fijación tumoral: Se han inyectado unas células de melanoma murino B16/F10 ( $2,5 \cdot 10^5$  células) por vía subcutánea a nivel de la pata trasera derecha de ratones machos C57BL/6. 10 días después del injerto, el complejo de fórmula (II) (14,8MBq) se inyectó a 18 ratones, inyectándose previamente 400  $\mu\text{g}$  de espermina a 8 de estos ratones. Se realizan después unas escintigrafías del cuerpo entero 30 min y 2 h después de la inyección. Para ello, los ratones, anestesiados por vía gaseosa con isoflurano, se siguieron en imágenes en decúbito ventral sobre una cámara gamma (y Imager, BIOSPACE Mesures) con el programa IRIS (Ariès Nucléaire, Francia) con los parámetros siguientes:

- ventana espectral: 121 - 164 KeV
- tiempo de adquisición: 3 min
- matriz: 256\*256

Para el conjunto de las imágenes, se ha trazado una región de interés alrededor del tumor y se ha definido otra de mismo tamaño sobre el músculo de la pata contralateral con el fin de determinar la relación tumor sobre músculo. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla siguiente.

| Tiempo después de la inyección del complejo de fórmula (II)              | 30 min        |               | 2 h           |               |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                                                                          | Sin espermina | Con espermina | Sin espermina | Con espermina |
| Relación tumor/músculo (media ± desviación estándar)                     | 3,97 ± 1,01*  | 2,31 ± 0,50   | 5,26 ± 1,40*  | 2,93 ± 1,12   |
| Inhibición (%)                                                           | 45,0          |               | 47,7          |               |
| *Diferencia significativa (P<0.001) entre los lotes con o sin competidor |               |               |               |               |

Se han seguido también por imágenes unos ratones en TEMP (nanoSPECT/CT, Bioscan, USA), presentándose una imagen en la Figura 2.

La competición puesta en evidencia en este estudio entre la espermina y el complejo de fórmula (II) indica que la sonda utiliza el sistema de transporte de las poliaminas. Esta sonda es por lo tanto un biomarcador de la incorporación de espermina por las células.

2) Estabilidad plasmática: 14,8MBq de complejo de fórmula (II) se han inyectado por vía intravenosa a unos ratones machos C57BL/6 sanos. 30 minutos, 1h, 2h, 3h y 5h después de la inyección, se han realizado unas extracciones de sangre sobre heparina en el seno retro-orbital. Estas muestras se centrifugaron después durante 5 minutos con el fin de recuperar por lo menos 100  $\mu\text{l}$  de suero. 50  $\mu\text{l}$  han permitido la realización de una radiografía HPLC de exclusión-difusión sobre columna TSK SW2000 + pre-columna 7,8\*300 mm 5  $\mu$  (Tosoh bioscience) con una fase móvil (caudal de 1 ml/min a temperatura ambiente) compuesta por NaCl al 0,9% (100%). Se utilizó albúmina de macaco marcada con  $^{99m}\text{Tc}$  para controlar el tiempo de retención de la albúmina.

Los 50  $\mu\text{l}$  de suero restantes han permitido realizar una radiografía HPLC en fase inversa, después de la desnaturalización de las proteínas con acetonitrilo, sobre una columna XBridge C8 4,6\*250 mm 5  $\mu$  (Waters, USA) con una fase móvil (caudal de 1 ml/min a temperatura ambiente) compuesta por agua (55%), por acetonitrilo (45%) y por TFA (0,1%). Una gran parte del complejo de fórmula (II) inyectado se elimina rápidamente (38% a 30 minutos). Una parte del Tecnecio se ha transquelatado en la albúmina plasmática a partir de 30 minutos después de la inyección por vía intravenosa. La radiografía HPLC en fase inversa indica una buena estabilidad del complejo.

3) Biodistribución en el ratón sano: Este estudio se ha realizado sobre 32 ratones C57BL/6 (16 machos y 16 hembras) de 6-7 semanas de edad. 2,96 MBq de complejo de fórmula (II) se inyectaron por vía intravenosa en un volumen de 60  $\mu\text{l}$ . Después, los animales se sacrificaron a 30 min, 2h, 5h y 24h después de la inyección (4 ratones/tiempo) y se extrajeron diversos órganos, se pesaron y se determinó su actividad con un contador gamma. La cantidad de complejo de fórmula (II) presente en cada órgano se calculó en porcentaje de la dosis

inyectada por gramo de tejido (% ID)/g.

El complejo de fórmula (II) se distribuye de manera casi homogénea en el conjunto de los órganos y su fijación persiste sólo en el hígado y en los riñones. La fijación renal se debe al sistema megalina/cubilina que está implicado en un proceso de recuperación y de ahorro de moléculas útiles para el organismo. Cuanto más pequeñas y aminadas sean las moléculas, más se recuperan en la orina primaria a nivel del túbulo proximal en el que son reabsorbidas. Los porcentajes de fijación observados a nivel del hígado y de los riñones sugieren que en el ratón no existe el riesgo de toxicidad renal ni efectos secundarios debidos a la dosimetría.

#### Ejemplo 31: Estudio *in vivo* con otros complejos de fórmula (II)

Se ha realizado el estudio según el protocolo descrito en el ejemplo 30, 1) anterior con otros complejos de fórmula (II).

Los resultados son presentados en la tabla siguiente:

| Complejo de fórmula (II) |   |   |   |   |   | Relación tumor sobre músculo | Observaciones    |
|--------------------------|---|---|---|---|---|------------------------------|------------------|
| R2                       | a | b | c | d | e |                              |                  |
| H <sup>(1)</sup>         | 3 | 4 | 3 | 1 | 1 | 5,3 ± 0,8                    | Fijación tumoral |
| H                        | 4 | / | / | 1 | 0 | 2,6 ± 1,5                    | Fijación tumoral |
| H                        | 3 | 4 | 3 | 2 | 1 | 3,2 ± 0,9                    | Fijación tumoral |
| H                        | / | 3 | 4 | 0 | 1 | 2,1 ± 0,4                    | Fijación tumoral |
| H <sup>(2)</sup>         | 3 | 4 | 3 | 1 | 1 | 4,6 ± 0,9                    | Fijación tumoral |

<sup>(1)</sup> Complejo de fórmula (II) obtenido a partir de un compuesto de fórmula (I) para la cual R1 = H.

<sup>(2)</sup> Complejo de fórmula (II) obtenido a partir de un compuesto de fórmula (I) para la cual R1 = CF<sub>3</sub>CO.

Se siguieron también por imágenes unos ratones en TEMP (nanoSPECT/CT, Bioscan, USA), representándose dos imágenes en las figuras 3a y 3b, obtenidas con un compuesto de fórmula (II) para la cual R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = e = 1, obteniéndose este compuesto de fórmula (II) a partir de un compuesto de fórmula (I) para la cual R1 = H o CF<sub>3</sub>CO respectivamente.

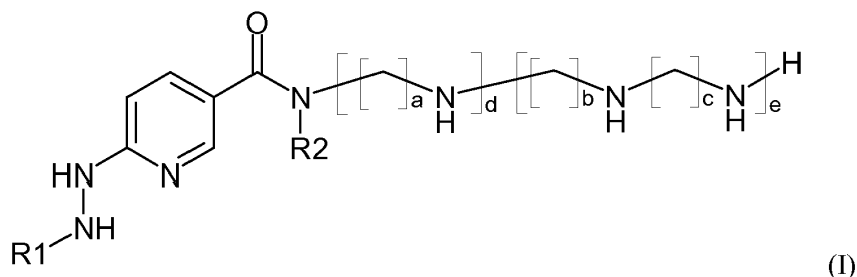
Se puede así constatar que el conjunto de las sondas se fija sobre el tumor. Sin embargo, en el caso de los compuestos de los ejemplos 3 y 6 (que comprenden menos de tres átomos básicos en la unidad poliamina), la relación tumor sobre músculo es menor que con los otros compuestos, lo cual permite un peor diagnóstico del tumor.

Abreviaturas utilizadas en la parte experimental:

|      |                                           |
|------|-------------------------------------------|
| APCI | Ionización química a presión atmosférica  |
| BOC  | <i>tert</i> -butiloxycarbonilo            |
| CCM  | Cromatografía sobre capa delgada          |
| DMF  | Dimetilformamida                          |
| DMSO | Dimetilsulfóxido                          |
| ESI  | Ionización por electropulverización       |
| HPLC | Cromatografía líquida de alto rendimiento |
| PBS  | Tampón fosfato salino                     |
| P.f. | Punto de fusión                           |
| Ppi  | Para preparación inyectable               |
| Rdt  | Rendimiento                               |
| Rf   | Relación frontal                          |
| RMN  | Resonancia magnética nuclear              |
| TEMP | Tomografía de emisión monofotónica        |
| TFA  | Ácido trifluoroacético                    |
| THF  | Tetrahidrofurano                          |
| Z    | Benciloxycarbonilo                        |

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I) siguiente:



en la que:

- R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo N-protector seleccionado de entre el formilo, el acetilo, el trifluoroacetilo, el benzoilo, el pivaloilo, el fenilsulfonilo, el bencilo (Bn), el t-butiloxycarbonilo (BOC), el benciloxycarbonilo (Z), el p-metoxibenciloxycarbonilo, el p-nitrobenciloxycarbonilo, el tricloroetoxycarbonilo (TROC), el aliloxycarbonilo (Alloc), el 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc), el trifluoroacetilo, y los carbamatos de bencilo,
- R2 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de C<sub>1-6</sub> eventualmente fluorado o perfluorado, o un grupo amino-alquilo de C<sub>1-6</sub>,
- a, b y c representan, independientemente unos de otros, un número entero de 2 a 5, y
- d y e representan, independientemente el uno del otro, 1 o 2,

o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de C<sub>1-6</sub> tal como metilo.

3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado por que a, b y c representan, independientemente unos de otros, 3 o 4.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que e representa 1 y d representa 1 o 2.

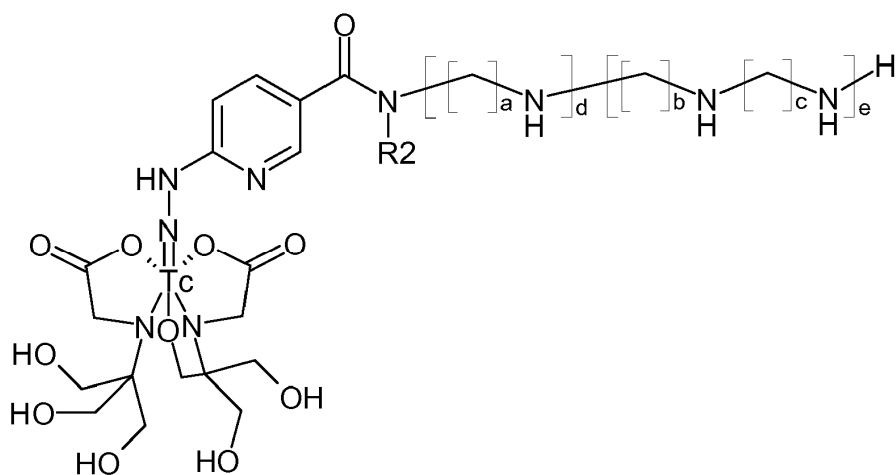
5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo N-protector seleccionado de entre los grupos *tert*-butiloxycarbonilo (tBuOCO) y trifluoroacetilo.

6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que se trata de un compuesto de fórmula (I) para el cual:

- R1 = R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1,
- R1 = R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 2 y e = 1,
- R1 = CF<sub>3</sub>CO, R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1, o
- R1 = tBuOCO, R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1,

o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

7. Complejo de fórmula (II) siguiente:



(II)

en la que el Tecnecio (Tc) está presente en forma de su isótopo  $^{99m}$  y R2, a, b, c, d y e son tales como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

8. Complejo según la reivindicación 7, caracterizado por que se trata de un complejo de fórmula (II) para el cual:

- R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 1 y e = 1, o
- R2 = H, a = 3, b = 4, c = 3, d = 2 y e = 1,

o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

9. Complejo de fórmula (II) según cualquiera de las reivindicaciones 7 y 8 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para su utilización en el diagnóstico *in vivo* de un tumor canceroso que expresa el sistema de transporte de las poliaminas, en particular por formación de imágenes médicas por escintigrafía.

10. Composición que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

11. Composición de diagnóstico que comprende por lo menos un complejo de fórmula (II) según cualquiera de las reivindicaciones 7 y 8 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

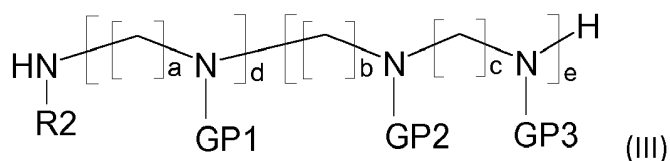
12. Kit que comprende:

- (1) una composición tal como se define en la reivindicación 10,
- (2) tricina, y
- (3) un agente reductor tal como una mezcla de fluoruro de estaño y de ácido ascórbico.

13. Procedimiento de preparación de una composición de diagnóstico según la reivindicación 11 que comprende la mezcla de una composición según la reivindicación 10 con una sal de pertecnetato- $^{99m}$ , por lo menos un agente reductor y tricina.

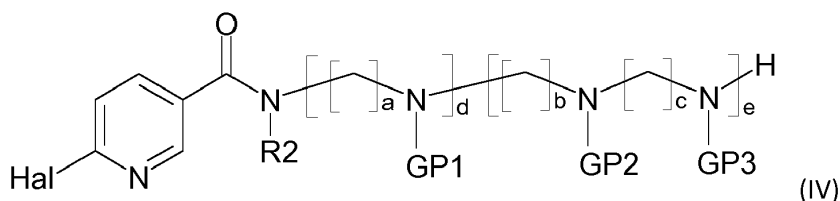
14. Procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste que comprende las etapas sucesivas siguientes:

(a) reacción del ácido 6-halogeno-nicotínico con una poliamina protegida de fórmula (III) siguiente:



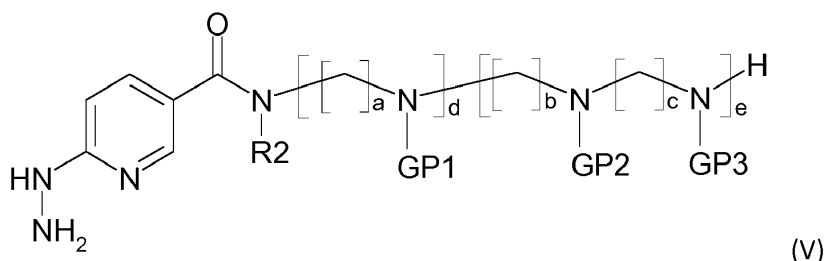
para la cual R2, a, b, c, d y e son tales como se definen en la reivindicación 1 y GP1, GP2 y GP3, idénticos o diferentes, representan cada uno un grupo N-protector,

para dar un compuesto de fórmula (IV) siguiente:



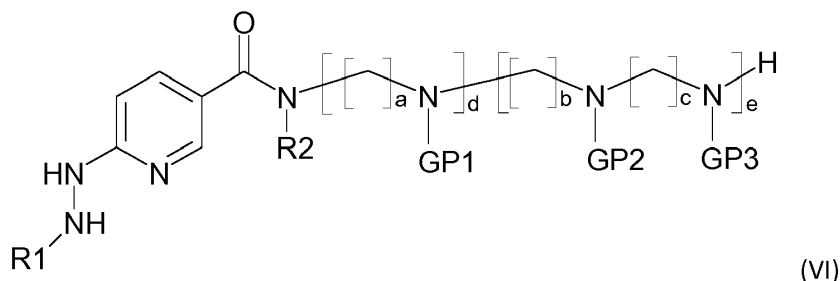
5 para la cual R2, a, b, c, d y e son tales como se definen en la reivindicación 1, GP1, GP2 y GP3 son tales como se han definido anteriormente y Hal representa un átomo de halógeno,

(b) reacción del compuesto de fórmula (IV) obtenido en la etapa (a) anterior con hidrazina para dar un compuesto de fórmula (V) siguiente:



10 para la cual R2, a, b, c, d y e son tales como se definen en la reivindicación 1 y GP1, GP2 y GP3 son tales como se han definido anteriormente,

15 (c) eventualmente, protección mediante un grupo N-protector de la función hidrazina del compuesto de fórmula (V) obtenido en la etapa (b) anterior para dar un compuesto de fórmula (VI) siguiente:



20 para la cual R2, a, b, c, d y e son tales como se definen en la reivindicación 1, GP1, GP2 y GP3 son tales como se han definido anteriormente y R1 representa un grupo N-protector tal como se define en la reivindicación 1,

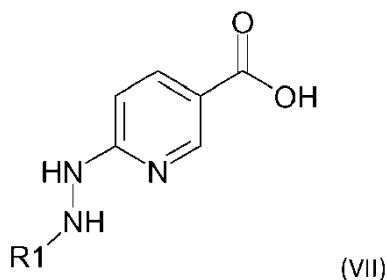
25 (d) desprotección de las funciones aminas protegidas por los grupos GP1, GP2 y GP3 en el compuesto de fórmula (V) o (VI) obtenido en la etapa (b) o (c) anterior para dar un compuesto de fórmula (I),

(e) eventualmente, salificación del compuesto de fórmula (I) obtenido en la etapa (d) anterior para obtener una sal farmacéuticamente aceptable de éste, y

30 (f) separación del compuesto de fórmula (I) o de su sal farmacéuticamente aceptable obtenido en la etapa anterior del medio de reacción.

15. Procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para el cual R1 ≠ H o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste que comprende las etapas sucesivas siguientes:

35 (i) protección de un grupo N-protector de la función hidrazina del ácido 6-hidrazinil-nicotínico para dar un compuesto de fórmula (VII) siguiente:



para la cual R1 representa un grupo N-protector tal como se define en la reivindicación 1,

- 5 (ii) reacción del compuesto de fórmula (VII) obtenido en la etapa (i) anterior con una poliamina protegida de fórmula (III) tal como se ha definido en la reivindicación 14 para dar un compuesto de fórmula (VI) tal como se ha definido en la reivindicación 14,
  - 10 (iii) desprotección de las funciones aminas protegidas por los grupos GP1, GP2 y GP3 en el compuesto de fórmula (VI) obtenido en la etapa (ii) anterior para dar un compuesto de fórmula (I) para el cual R1 ≠ H,
  - (iv) eventualmente salificación del compuesto de fórmula (I) obtenido en la etapa (iii) anterior para obtener una sal farmacéuticamente aceptable de éste, y
  - 15 (v) separación del compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable obtenido en la etapa anterior del medio de reacción.
16. Procedimiento de preparación de un complejo de fórmula (II) según cualquiera de las reivindicaciones 7 y 8 o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste que comprende la mezcla de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste con una sal de pertecnetato-99m, por lo menos un agente reductor y tricina.
- 20

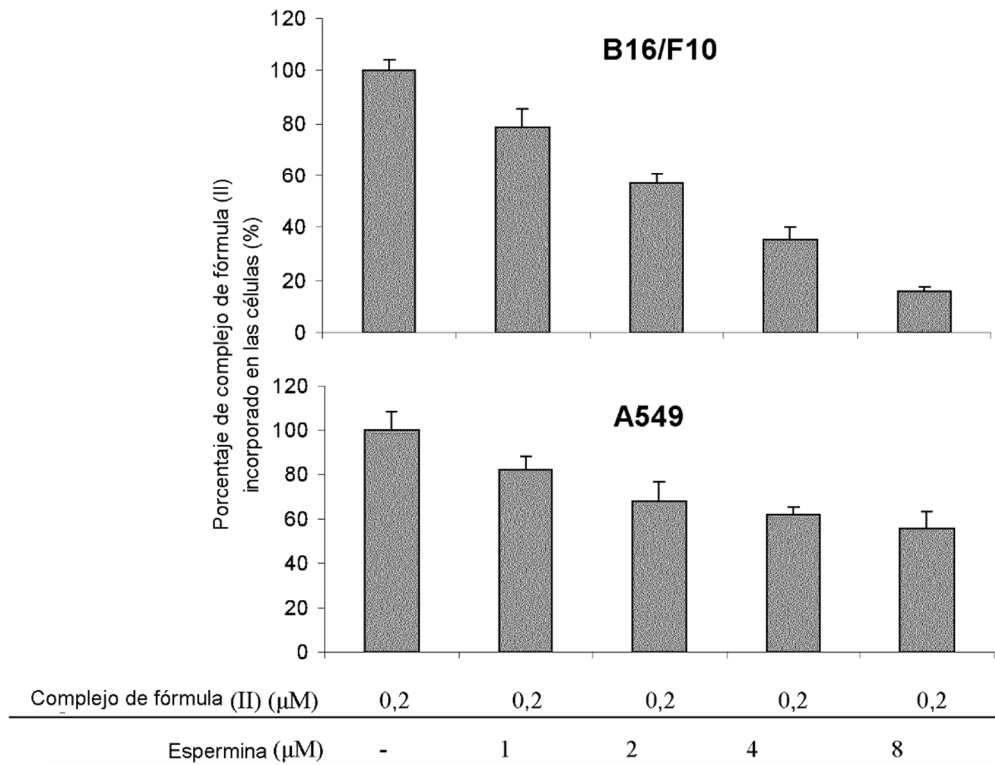


Figura 1



Figura 2



Figura 3a



Figura 3b