(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 685 289**

(51) Int. CI.:

A61K 51/04 (2006.01)
A61K 51/08 (2006.01)
C07B 59/00 (2006.01)
A61K 101/02 (2006.01)
C07D 249/06 (2006.01)
C07D 273/01 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.11.2011 PCT/EP2011/070808**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2012 WO12069535**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.11.2011 E 11785705 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2643023**

(54) Título: **Método de radioyodación**

(30) Prioridad:

23.11.2010 US 416361 P
23.11.2010 GB 201019824

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.10.2018

(73) Titular/es:

GE HEALTHCARE LIMITED (100.0%)
Amersham Place
Little Chalfont, Buckinghamshire HP7 9NA, GB

(72) Inventor/es:

AVORY, MICHELLE;
WADSWORTH, HARRY, JOHN y
NAIRNE, ROBERT JAMES DOMETT

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

Método de radioyodación

Campo de la invención

La presente invención proporciona un nuevo método para marcar moléculas dirigibles biológicamente (BTM, por sus siglas en inglés) de interés con radioyodo. También se proporcionan BTM funcionalizadas útiles en el método, así como métodos para preparar estas BTM funcionalizadas bajo condiciones suaves.

Antecedentes de la invención

Se conocen métodos para incorporar radiohalógenos en moléculas orgánicas [Bolton, J.Lab.Comp.Radiopharm., 45, 485-528 (2002)]. Para el caso de agentes radiofarmacéuticos marcados con ^{123}I, Eersels et al [J.Lab.Comp.Radiopharm., 48, 241-257 (2005)] han comparado las 4 rutas sintéticas principales:

(i) radioyodación oxidativa;

(ii) intercambio isotópico nucleófilo;

(iii) intercambio no isotópico nucleófilo;

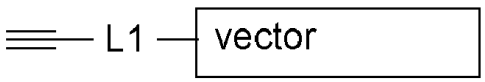
(iv) marcaje electrófilo.

La ruta (iv) implica típicamente el uso de un precursor organometálico, tal como trialquilestaño, trialquilsililo o un derivado de organomercurio u organotalio. De estas, se sabe que la ruta de la radioyododestanilación se ha convertido en el método de marcaje electrófilo preferido, debido a la posibilidad de radioyodación regioespecífica a temperatura ambiente. Sin embargo, Eersels *et al* concluyeron que no existía un método de radioyodación preferido global, puesto que la elección depende de la naturaleza del compuesto que se vaya a radioyodar.

El uso de productos intermedios de organoestaño en la síntesis radiofarmacéutica ha sido revisado por Ali *et al* [Synthesis, 423-445 (1996)]. Kabalka *et al* han publicado ampliamente sobre el uso de precursores de organoborano para permitir el marcaje de radioisótopos y radiohalógenos [véanse, p. ej., p, ej. J.Lab.Comp.Radiopharm., 50, 446-447 y 888-894 (2007)].

Las aplicaciones de "química clic" en la investigación biomédica, incluyendo la radioquímica, han sido revisadas por Nwe *et al* [Cancer Biother.Radiopharm., 24(3), 289-302 (2009)]. Según se apunta allí, el principal interés se ha puesto en el radioisótopo de PET ^{18}F (y en un menor grado ^{11}C), más enfoques de "clic para quelar" para radiometales adecuados para la obtención de imágenes por SPECT tales como ^{99m}Tc o ^{111}In. El marcaje "clic" con ^{18}F de péptidos direccionables, que da productos que incorporan un triazol sustituido con ^{18}F-fluoroalquilo, ha sido presentado por Li *et al* [Bioconj.Chem., 18(6), 1987-1994 (2007)] y Hausner et al [J.Med.Chem., 51(19), 5901-5904 (2008)].

El documento WO 2006/067376 divulga un método para marcar un vector que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (I) con un compuesto de fórmula (II):

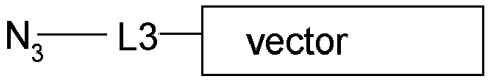


(I)

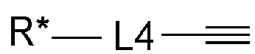
R^*-L2-N_3 (II)

o

un compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV)



(III)

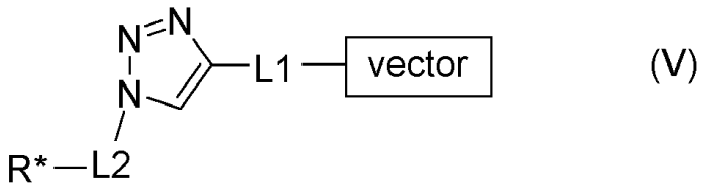


(IV)

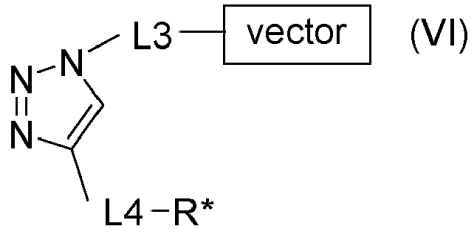
en presencia de un catalizador de Cu(I), en donde:

L1, L2, L3 y L4 son cada uno grupos conectores;

R* es un resto indicador que comprende un radionúclido; para dar un conjugado de fórmula (V) o (VI), respectivamente:



(V)

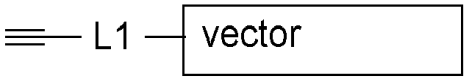


(VI)

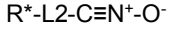
en donde L1, L2, L3, L4 y R* son como se definen anteriormente.

R* del documento WO 2006/067376 es un resto indicador que comprende un radionúclido, por ejemplo un radionúclido emisor de positrones. Se dice que los radionúclidos emisores de positrones para este propósito incluyen ^{11}C, ^{18}F, ^{75}Br, ^{76}Br, ^{124}I, ^{82}Rb, ^{68}Ga, ^{64}Cu y ^{62}Cu, de los cuales se prefieren ^{11}C y ^{18}F. Se indica que otros radionúclidos útiles incluyen ^{123}I, ^{125}I, ^{131}I, ^{211}At, ^{99m}Tc y ^{111}In.

El documento WO 2007/148089 divulga un método para radiomarcar un vector que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (I) con un compuesto de fórmula (II):

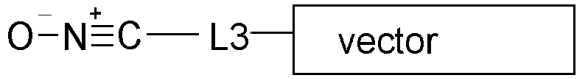


(I)



(II)

o un compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV):



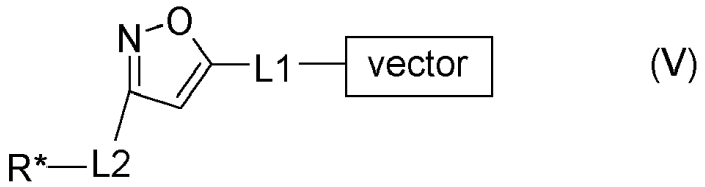
(III)

(IV)

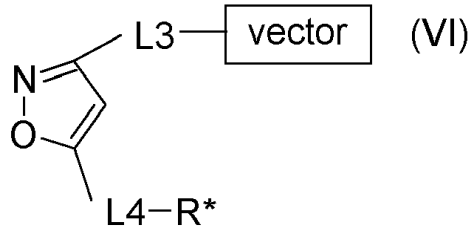
en presencia de un catalizador de Cu(I), en donde:

L1, L2, L3 y L4 son cada uno grupos conectores;

R* es un resto indicador que comprende un radionúclido; para dar un conjugado de fórmula (V) o (VI), respectivamente:



(V)



(VI)

Tanto en el documento WO 2006/067376 como en el documento WO 2007/148089, se indica que radionúclidos metálicos son incorporados adecuadamente a un agente quelante, por ejemplo mediante incorporación directa mediante métodos conocidos por el experto en la técnica.

El documento WO 2006/116629 (Siemens Medical Solutions USA, Inc.) divulga un método de preparación de un ligando o sustrato radiomarcado que tiene afinidad para una biomacromolécula elegida, comprendiendo el método:

(a) hacer reaccionar un primer compuesto que comprende

(i) una primera estructura molecular;

(ii) un grupo de salida;

(iii) un primer grupo funcional capaz de participar en una reacción de química "clic"; y opcionalmente,

(iv) un conector entre el primer grupo funcional y la estructura molecular, con un reactivo radiactivo bajo condiciones suficientes para desplazar el grupo de salida con un componente radiactivo del reactivo radiactivo para formar un primer compuesto radiactivo;

(b) proporcionar un segundo compuesto que comprende

(i) una segunda estructura molecular;

(ii) un segundo grupo funcional complementario capaz de participar en una reacción de química "clic" con el primer grupo funcional, en donde el segundo compuesto comprende opcionalmente un conector entre el segundo compuesto y el segundo grupo funcional;

(c) hacer reaccionar el primer grupo funcional del primer compuesto radiactivo con el grupo funcional complementario del segundo compuesto a través de una reacción de química "clic" para formar el ligando o sustrato radiactivo; y

(d) aislar el ligando o sustrato radiactivo.

El documento WO 2006/116629 enseña que el método del mismo es adecuado para el uso con los radioisótopos: ^{124}I, ^{18}F, ^{11}C, ^{13}N y ^{15}O, siendo radioisótopos preferidos: ^{18}F, ^{11}C, ^{123}I, ^{124}I, ^{127}I, ^{131}I, ^{76}Br, ^{64}Cu, ^{99m}Tc, ^{90}Y, ^{67}Ga, ^{51}Cr, ^{192}Ir, ^{99}Mo, ^{153}Sm y ^{201}Tl. El documento WO 2006/116629 enseña que otros radioisótopos que se pueden emplear incluyen: ^{72}As, ^{74}As, ^{75}Br, ^{55}Co, ^{61}Cu, ^{67}Cu, ^{68}Ga, ^{68}Ge, ^{125}I, ^{132}I, ^{111}In, ^{52}Mn, ^{203}Pb y ^{97}Ru. Sin embargo, el documento WO 2006/116629 no proporciona ninguna enseñanza específica de cómo aplicar el método a la radioyodación de moléculas biológicas.

Por lo tanto, todavía existe una necesidad de métodos de radioyodación alternativos.

La presente invención

La presente invención proporciona una metodología para la radioyodación de moléculas dirigibles biológicamente (BTM). El método tiene la ventaja de que se puede llevar a cabo bajo condiciones suaves, y de ahí es compatible con una gama de moléculas biológicas. El método usa BTM funcionalizadas, en las que se introduce un grupo funcional reactivo (Q en las Fórmulas Ia y Ib), de modo que se consiga una radioyodación zonalmente específica, con una radioyodación inespecífica mínima de la BTM.

El método usa precursores y BTM funcionalizadas que no son radiactivos, de modo que el radioyodo se introduce en la fase más tardía posible. Esto tiene la ventaja de que los productos químicos no radiactivos se pueden purificar fácilmente hasta un alto grado de pureza, sin la complicación de la dosis de radiación. Se minimiza así el número de etapas que implican radioactividad, con las consiguientes ventajas de minimizar la dosis de radiación al operario, minimizando el riesgo de contaminación y minimizando la pérdida de rendimiento radiactivo debida a la desintegración radiactiva durante la química preparativa. La radioquímica implica una sola etapa directa de alto rendimiento.

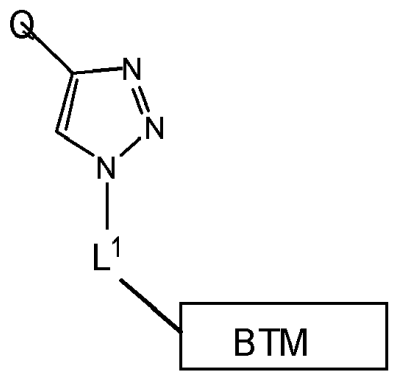
El método proporciona productos en los que el radioyodo se une directamente a un anillo heteroarílico de triazol o isoxazol. Se espera así que los productos radioyodados exhiban buena estabilidad con respecto a la desyodación metabólica *in vivo*, con la consiguiente absorción estomacal y/o tiroidea no deseada de radioyodo. Por lo tanto, los productos son adecuados para el uso como productos radiofarmacéuticos para la obtención de imágenes *in vivo* , lo que es una ventaja importante.

La metodología de radioyodación es fácilmente adaptable al uso con un aparato sintetizador automático.

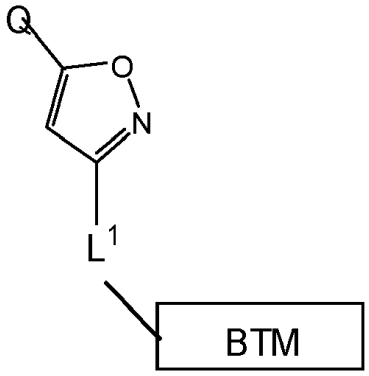
Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un método de radioyodación de un resto dirigible biológicamente, comprendiendo dicho método:

(i) la provisión de una BTM funcionalizada de Fórmula (Ia) o (Ib):

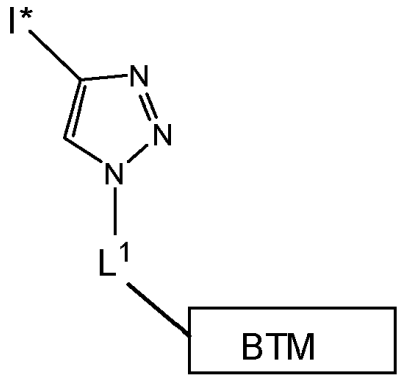


(Ia)

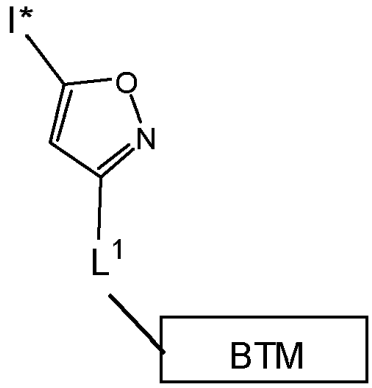


(Ib)

(ii) la reacción de la BTM funcionalizada de la Fórmula bien (Ia) o bien (Ib) con ion yodo radiactivo en presencia de un agente oxidante, para dar el producto radioyodado deseado como un conjugado de Fórmula (IIa) o (IIb), respectivamente;



(IIa)



(IIb)

en donde:

BTM es el resto dirigible biológicamente;

L^1 es un grupo conector que puede estar presente o ausente;

Q es $R^a{}_3Sn$- o KF_3B-, donde cada R^a es independientemente alquilo C_{1-4};

I* es un radioisótopo de yodo.

El término "radioyodación" tiene su significado convencional, es decir, un procedimiento de radiomarcaje en el que el radioisótopo usado para el radiomarcaje es un radioisótopo de yodo.

Cuando el grupo conector está ausente, eso significa que los anillos de triazol de la Fórmula (Ia) o (IIIa), o los anillos de isoxazol de las Fórmulas (IIa) o (IVa), respectivamente, están unidos directamente a la BTM.

Por el término "resto dirigible biológicamente" (BTM) se entiende un compuesto que, después de la administración, se recoge selectivamente o se localiza en una zona particular del cuerpo del mamífero *in vivo*. Por ejemplo, estas zonas pueden estar implicadas en un estado patológico particular o ser indicativas de cómo está funcionando un órgano o proceso metabólico.

El término radioisótopo de yodo tiene su significado convencional, es decir un isótopo del elemento yodo que es radiactivo. Estos radioisótopos adecuados incluyen: ^{123}I, ^{124}I, ^{125}I y ^{131}I. Cuando el BTM está marcado con ^{131}I, el producto puede ser útil como un producto radiofarmacéutico para aplicaciones terapéuticas *in vivo*, tales como radioinmunoterapia cuando el BTM es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo.

Cuando Q es KF_3B-, eso corresponde a un derivado de trifluoroborato potásico según se describe posteriormente.

Por el término "agente oxidante" se entiende un oxidante capaz de oxidar ion yodo para formar la especie electrófila (HOI, H_2OI), en donde el agente de yodación es I^+. Agentes oxidantes adecuados son descritos por Bolton [J.Lab.Comp.Radiopharm., 45, 485-528 (2002)] y Eersels et al [J.Lab.Comp.Radiopharm., 48, 241-257 (2005)] e incluyen ácido peracético y compuestos clorados en *N*, tales como cloramina-T, yodógeno, tubos de yodógeno y succinimidas. Agentes oxidantes preferidos son ácido peracético (que está disponible comercialmente) a pH alrededor de 4 y peróxido de hidrógeno/HCl acuoso a pH alrededor de 1. Los tubos de yodógeno están disponibles comercialmente de Thermo Scientific Pierce Protein Research Products.

Si el BTM o cualesquiera residuos del mismo son potencialmente sensibles a la oxidación, es posible minimizar el riesgo de oxidación del BTM al controlar el orden y la cantidad de los reactivos añadidos a la mezcla de reacción de radioyodación. Así, al usar la cantidad mínima de oxidante y solamente añadir el derivado del Compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) cuando todo el yodo ya se ha oxidado en I^+, se minimizará la oxidación no deseada del BTM. Cuando Q es $R^a{}_3Sn$-, la cinética de la reacción entre I^+ y el derivado de arilestannano es particularmente rápida, de modo que es probable que la oxidación no deseada del BTM sea un problema menor. Una solución alternativa es usar tubos de yodógeno de modo que el BTM no entre en contacto con la especie oxidante.

Aspectos preferidos.

Un precursor preferido para el uso en el método del primer aspecto es el triazol de Fórmula (Ia), y de ahí que un producto preferido sea el triazol de Fórmula (IIa). Una razón es que los óxidos de isonitrilo típicamente son menos estables que las azidas. Por consiguiente, mientras que la azida de Fórmula (Ia) se puede aislar y purificar, el óxido de isonitrilo de Fórmula (Ib) típicamente necesitará generarse *in situ.*

En el primer aspecto, Q es preferiblemente $R^a{}_3Sn$. Grupos $R^a{}_3Sn$- preferidos son Bu_3Sn- o Me_3Sn-, preferiblemente Me_3Sn-.

Radioisótopos de yodo preferidos para el uso en la presente invención son los adecuados para la obtención médica de imágenes *in vivo* usando PET o SPECT, preferiblemente ^{123}I, ^{124}I o ^{131}I, más preferiblemente ^{123}I (para SPECT) o ^{124}I (para PET), lo más preferiblemente ^{123}I.

El BTM puede ser de origen sintético o natural, pero preferiblemente es sintético. El término "sintético" tiene su significado convencional, es decir artificial en oposición a aislado de fuentes naturales, p. ej. del cuerpo de un mamífero. Estos compuestos tienen la ventaja de que su fabricación y perfil de impurezas se pueden controlar totalmente. Por lo tanto, los anticuerpos monoclonales y los fragmentos de los mismos de origen natural están fuera del alcance del término 'sintético' según se usa en la presente memoria. El peso molecular del BTM es preferiblemente hasta 30.000 daltons. Más preferiblemente, el peso molecular está en el intervalo de 200 a 20.000 daltons, lo más preferiblemente de 300 a 18.000 daltons, prefiriéndose especialmente de 400 a 16.000 daltons. Cuando el BTM es un no péptido, el peso molecular del BTM es preferiblemente de hasta 3.000 daltons, más preferiblemente de 200 a 2.500 daltons, lo más preferiblemente de 300 a 2.000 daltons, prefiriéndose especialmente de 400 a 1.500 daltons.

El resto dirigible biológicamente comprende preferiblemente: un péptido, análogo peptídico, peptoide o mimético peptídico 3-100-mero que puede ser un péptido lineal o cíclico o una combinación de los mismos; un aminoácido individual; un sustrato enzimático, un antagonista enzimático, un agonista (incluyendo un agonista parcial) enzimático o un inhibidor enzimático; un compuesto que se une a un receptor (incluyendo un sustrato de receptor, un antagonista, un agonista o un sustrato); oligonucleótidos, o fragmentos de oligo-ADN u oligo-ARN. La enzima y/o el receptor es preferiblemente endógeno al sujeto mamífero.

Por el término "péptido" se entiende un compuesto que comprende dos o más aminoácidos, según se define posteriormente, conectados por un enlace peptídico (es decir, un enlace amida que conecta la amina de un aminoácido al carboxilo de otro). El término "mimético peptídico" o "mimético" se refiere a compuestos biológicamente activos que imitan la actividad biológica de un péptido o una proteína pero que ya no son de naturaleza química peptídica, esto es, ya no contienen enlaces peptídicos (esto es, enlaces amida entre aminoácidos). En la presente memoria, el término mimético peptídico se usa en un sentido más amplio para incluir moléculas que ya no son de naturaleza completamente peptídica, tales como pseudopéptidos, semipéptidos y peptoides. El término "análogo peptídico" se refiere a péptidos que comprenden uno o más análogos de aminoácido, según se describe posteriormente. Véase también *Synthesis of Peptides and Peptidomimetics*, M. Goodman *et al*, Houben-Weyl E22c, Thieme.

Por el término "aminoácido" se entiende un aminoácido *L* o *D*, un análogo de aminoácido (p. ej. naftilalanina) o un mimético de aminoácido que puede estar presente en la naturaleza o ser de origen puramente sintético, y puede ser ópticamente puro, es decir un solo enantiómero y de ahí quiral, o una mezcla de enantiómeros. Se usan en la presente para los aminoácidos las abreviaturas convencionales de 3 letras o una sola letra. Preferiblemente, los aminoácidos de la presente invención son ópticamente puros. Por el término "mimético de aminoácido" se entiende análogos sintéticos de aminoácidos presentes en la naturaleza que son isósteros, es decir se han diseñado para imitar la estructura estérica y electrónica del compuesto natural. Estos isósteros son conocidos por los expertos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, depsipéptidos, péptidos retro-inversos, tioamidas, cicloalcanos o tetrazoles

1,5-disustituidos [véase M. Goodman, Biopolymers, 24, 137, (1985)]. Se sabe que aminoácidos radiomarcados tales como tirosina, histidina o prolina son agentes de obtención de imágenes *in vivo* útiles.

Cuando el BTM es un sustrato enzimático, un antagonista enzimático, un agonista enzimático, un inhibidor enzimático o un compuesto que se une a un receptor, preferiblemente es un no péptido, y más preferiblemente es sintético. Por el término "no péptido" se entiende un compuesto que no comprende enlaces peptídicos, es decir un enlace amida entre dos residuos de aminoácido. Sustratos, antagonistas, agonistas o inhibidores enzimáticos adecuados incluyen glucosa y análogos de glucosa; ácidos grasos, o elastasa, angiotensina II o inhibidores de metaloproteinasa. La enzima del sustrato, antagonista, agonista o inhibidor enzimático es preferiblemente endógena al sujeto mamífero. Compuestos que se unen a un receptor sintético adecuados incluyen estradiol, estrógeno, progestina, progesterona y otras hormonas esteroideas; ligandos para el receptor de dopamina D-1 o D-2, o un transportador de dopamina tal como tropanos; y ligandos para el receptor de serotonina. El receptor del compuesto que se une al receptor es preferiblemente endógeno al sujeto mamífero.

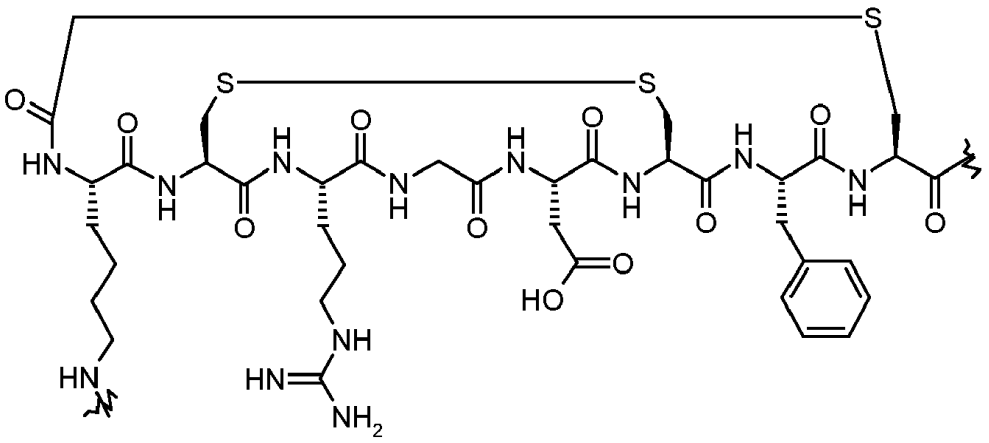
Lo más preferiblemente, el BTM es un péptido o análogo peptídico 3-100-mero. Cuando el BTM es un péptido, preferiblemente es un péptido 4-30-mero, y lo más preferiblemente un péptido 5 a 28-mero.

Cuando el BTM es un sustrato enzimático, un antagonista enzimático, un agonista enzimático o un inhibidor enzimático, estas moléculas dirigibles biológicamente preferidas de la presente invención son moléculas pequeñas sintéticas similares a fármacos, es decir moléculas farmacéuticas. Ligandos transportadores de dopamina preferidos tales como tropanos; ácidos grasos; ligandos del receptor de dopamina D-2; benzamidas; anfetaminas; bencilguanidinas, iomazenilo, benzofurano (IBF) o ácido hipúrico. Derivados de tropano preferidos son ^{123}I-CIT (Dopascan™), ^{123}I-CIT-FP (DaTSCAN™) y el isómero E de ^{123}I-2β-carbometoxi-3 β-(4-fluorofenil)-N-(1-yodoprop-1-en-3 -il)nortropano (Altropane™). Se prefieren especialmente Dopascan™ y DaTSCAN™. Estos y otros agentes de tropano son descritos por Morgan y Nowotnik [Drug News Perspect., 12(3), 137-145 (1999). Ácidos grasos preferidos son ^{123}I-BMIPP y ^{123}I-IPPA. Derivados de anfetamina preferidos son ^{123}I-IMP. Una bencilguanidina preferida es la *meta*-yodobencilguanidina (MIBG), es decir ^{123}I-MIBG.

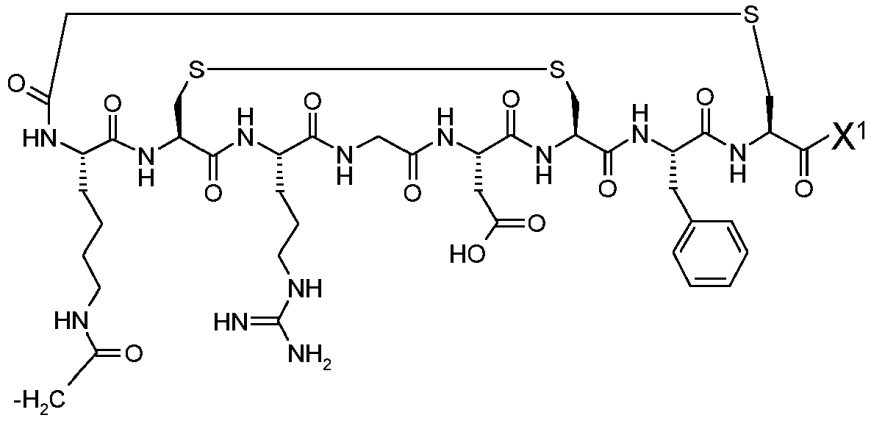
Cuando el BTM es un péptido, estos péptidos preferidos incluyen:

- somatostatina, octreótido y análogos,
- péptidos que se unen al receptor de ST, donde ST refiere a la toxina termoestable producida por *E.coli* y otros microorganismos;
- bombesina;
- péptido intestinal vasoactivo;
- neurotensina;
- fragmentos de laminina, p. ej. YIGSR, PDSGR, IKVAV, LRE y KCQAGTFALRGDPQG,
- péptidos quimiotácticos N-formilados dirigibles a zonas de acumulación de leucocitos,
- factor plaquetario 4 (PF4) y fragmentos del mismo,
- péptidos que contienen RGD (Arg-Gly-Asp), que, p. ej., pueden dirigirse a la angiogénesis [R.Pasqualini et al., Nat Biotechnol. jun 1997;15(6):542-6]; [E. Ruoslahti, Kidney Int. mayo de 1997;51(5):1413-7].
- fragmentos peptídicos de α_2-antiplasmina, fibronectina o beta-caseína, fibrinógeno o trombospondina. Las secuencias de aminoácidos de α_2-antiplasmina, fibronectina, beta-caseína, fibrinógeno y trombospondina se pueden encontrar en las siguientes referencias: precursor de α_2-antiplasmina [M.Tone et al., J.Biochem, 102, 1033, (1987)]; beta-caseína [L.Hansson et al, Gene, 139, 193, (1994)]; fibronectina [A.Gutman et al, FEBS Lett., 207, 145, (1996)]; precursor de trombospondina-1 [V.Dixit et al, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 83, 5449, (1986)]; R.F.Doolittle, Ann. Rev. Biochem., 53, 195, (1984);
- péptidos que son sustratos o inhibidores de angiotensina, tales como: angiotensina II Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe (E. C. Jorgensen et al, J. Med. Chem., 1979, Vol 22, 9, 1038-1044) [Sar, Ile] angiotensina II: Sar-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Ile (R.K. Turker et al., Science, 1972, 177, 1203).
- Angiotensina I: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu.

Péptidos de BTM preferidos son péptidos de RGD. Uno de estos péptidos de RGD más preferidos comprende el fragmento:

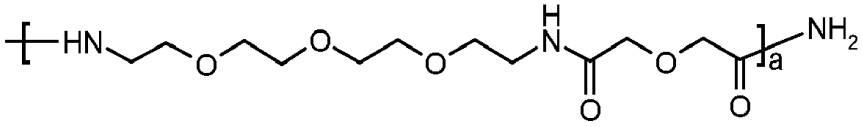


El más preferido de estos péptidos de RGD es cuando el BTM es un péptido de fórmula (A):



(A)

en la que X^1 es bien $-NH_2$ o bien



en donde a es un número entero de 1 a 10.

En la Fórmula A, a es preferiblemente 1.

Cuando el BTM es un péptido, uno o ambos extremos del péptido, preferiblemente ambos, tienen conjugados a los mismos un grupo inhibidor del metabolismo (M^{IG}). Tener ambos extremos peptídicos protegidos de este modo es importante para aplicaciones de obtención de imágenes *in vivo* , ya que de otro modo se esperaría un metabolismo rápido con pérdida consiguiente de afinidad de unión selectiva para el péptido del BTM. Por el término "grupo inhibidor del metabolismo" (M^{IG}) se entiende un grupo biocompatible que inhibe o suprime el metabolismo enzimático, especialmente de una peptidasa tal como carboxipeptidasa, del péptido del BTM bien en el extremo amino o bien en el extremo carboxi. Estos grupos son particularmente importantes para aplicaciones *in vivo*, y son muy conocidos por los expertos en la técnica y se eligen adecuadamente de, para el extremo amínico del péptido:

grupos acilados en N $-NH(C=O)R^G$ donde el grupo acilo $-(C=O)R^G$ tiene R^G elegido de: grupos alquilo C_{1-6}, arilo C_{3-10}, o comprende una unidad estructural de polietilenglicol (PEG). Grupos PEG adecuados se describen para el grupo conector (L^1), posteriormente. Estos grupos PEG preferidos son los biomodificadores de Fórmulas Biol o Bio2 (posteriormente). Estos grupos M^{IG} del extremo amino preferidos son acetilo, benciloxicarbonilo o trifluoroacetilo, lo más preferiblemente acetilo.

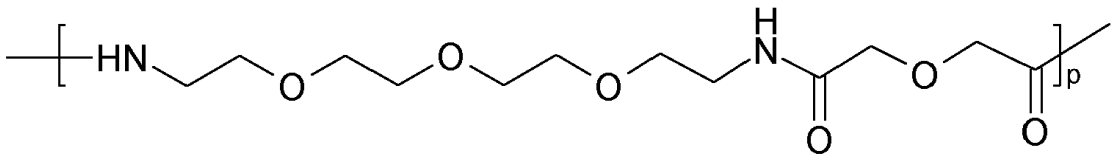
Grupos inhibidores del metabolismo adecuados para el extremo carboxilo del péptido incluyen: carboxamida, éster *terc*-butílico, éster bencílico, éster ciclohexílico, aminoalcohol o una unidad estructural de polietilenglicol (PEG). Un grupo M^{IG} adecuado para el residuo de aminoácido carboxiterminal del péptido de BTM es cuando la amina terminal del residuo de aminoácido está alquilada en N con un grupo alquilo C_{1-4}, preferiblemente un grupo metilo. Estos grupos M^{IG} preferidos son carboxamida o PEG, los grupos más preferidos son carboxamida.

En el método del primer aspecto, preferiblemente está presente un grupo conector (L^1). Los grupos conectores (L^1) preferidos son sintéticos y comprenden un grupo de fórmula $-(A)_m-$ en la que cada A es independientemente $-CR_2-$, -CR=CR-, -C≡C-, $-CR_2CO_2-$, $-CO_2CR_2-$, -NRCO-, -CONR-, -NR(C=O)NR-, -NR(C=S)NR-, $-SO_2NR-$, $-NRSO_2-$, $-CR_2OCR_2-$, $-CR_2SCR_2-$, $-CR_2NRCR_2-$, un grupo cicloheteroalquileno C_{4-8}, un grupo cicloalquileno C_{4-8}, un grupo arileno C_{5-12} o un grupo heteroarileno C_{3-12}, un aminoácido, un azúcar o una unidad estructural de polietilenglicol (PEG) monodispersa;

en donde cada R se elige independientemente de: H, alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4}, alcoxialquilo C_{1-4} o hidrocialquilo C_{1-4};

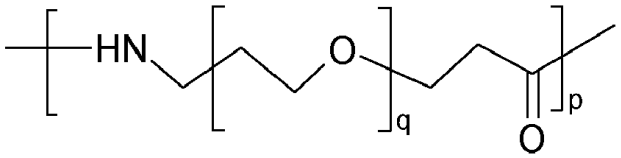
y m es un número entero de un valor de 1 a 20.

Cuando L^1 comprende una cadena peptídica de 1 a 10 residuos de aminoácido, los residuos de aminoácido se eligen preferiblemente de glicina, lisina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico o serina. Cuando L^1 comprende un resto PEG, preferiblemente comprende unidades derivadas de la oligomerización de estructuras similares a PEG monodispersas de Fórmulas Biol o Bio2:



(Bio1)

ácido 17-amino-5-oxo-6-aza-3,9,12,15-tetraoxaheptadecanoico de Fórmula Biol en la que p es un número entero de 1 a 10. Alternativamente, se puede usar una estructura similar a PEG basada en un derivado de ácido propiónico de Fórmula Bio2:



(Bio2)

donde p es como se define para la Fórmula Biol y q es un número entero de 3 a 15.

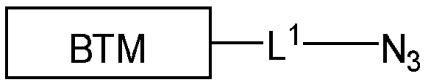
En la Fórmula Bio2, p es preferiblemente 1 o 2 y q es preferiblemente de 5 a 12.

Cuando el grupo conector no comprende PEG o una cadena peptídica, los grupos L^1 preferidos tienen una cadena principal de átomos conectados que constituyen el resto $-(A)_m-$ de 2 a 10 átomos, lo más preferiblemente de 2 a 5 átomos, prefiriéndose especialmente 2 o 3 átomos.

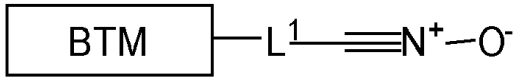
Los péptidos del BTM que no están disponibles comercialmente se pueden sintetizar mediante síntesis de péptidos en fase sólida según se describe en P. Lloyd-Williams, F. Albericio y E. Girald; *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*, CRC Press, 1997.

El método del primer aspecto preferiblemente incluye además preparar el BTM funcionalizado de Fórmula (Ia) o (Ib) mediante:

(i) la provisión de un precursor de Fórmula (IIIa) o (IIIb):

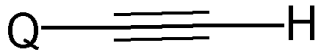


(IIIa)



(IIIb)

(ii) la reacción de dicho precursor de Fórmula (IIIa) o (IIIb) con un compuesto de fórmula (IV):



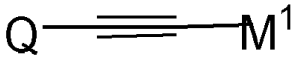
(IV)

en presencia de un catalizador de cicloadición "clic", para dar el BTM funcionalizado de Fórmula (Ia) o (Ib), respectivamente, a través de cicloadición "clic".

El término "cicloadición 'clic'" tiene su significado convencional en el campo de la química "clic", según se describe por Lahann [Click Chemistry for Biotechnology and Materials Science, John Wiley & Sons (2009)].

Por el término "catalizador de cicloadición 'clic'" se entiende un catalizador que se sabe que cataliza la reacción de cicloadición "clic" (alquino más azida) o "clic" (alquino más óxido de isonitrilo). Estos catalizadores adecuados son conocidos en la técnica para el uso en reacciones de cicloadición "clic". Estos catalizadores preferidos incluyen Cu(I) y se describen posteriormente. Detalles adicionales de catalizadores adecuados son descritos por Wu y Fokin [Aldrichim.Acta, 40(1), 7-17 (2007)] y Meldal y Tornoe [Chem. Rev., 108, 2952-3015 (2008)].

En el método del primer aspecto, el compuesto de fórmula (IV) se puede generar opcionalmente *in situ* mediante la desprotección de un compuesto de fórmula (IVa):



(IVa)

en la que M^1 es un grupo protector de alquino. Sin embargo, se prefiere usar el compuesto de fórmula (IV) directamente, puesto que evita la necesidad de etapas de protección y desprotección adicionales y el alquino terminal de Fórmula (IV) es suficientemente estable para ser usado como tal.

Aspectos preferidos de Q en la Fórmula (IVa) son como los descritos para las Fórmulas (Ia) y (Ib).

Por el término "grupo protector" se entiende un grupo que inhibe o suprime reacciones químicas no deseables, pero que está diseñado para ser suficientemente reactivo para que se pueda escindir del grupo funcional en cuestión bajo condiciones suficientemente suaves para que no se modifique el resto de la molécula. Después de la desprotección, se obtiene el producto deseado. Grupos protectores de alquino adecuados se describen en 'Protective Groups in Organic Synthesis', Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts, Capítulo 8, páginas 927-933, 4ª edición (John Wiley & Sons, 2007), e incluyen: un grupo trialquilsililo en el que cada grupo alquilo es independientemente alquilo C_{1-4}; un grupo arildialquilsililo en el que el grupo arilo es preferiblemente bencilo o bifenilo y los grupos alquilo son cada uno independientemente alquilo C_{1-4} ; hidroximetilo o 2-(2-hidroxipropilo). Uno de estos grupos protectores de alquino preferidos es trimetilsililo. Los yodoalquinos protegidos de Fórmula (IVa) permiten que el alquino de Fórmula (IV) deseado se genere de un modo controlado *in situ* de modo que se maximice la eficacia de la reacción con el derivado de azida de Fórmula (IIIa) u óxido de isonitrilo de Fórmula (IIIb).

El método del primer aspecto se lleva a cabo preferiblemente de un modo aséptico, tal que el producto de Fórmula (IIa) o (IIb) se obtenga como una composición radiofarmacéutica. Así, el método se lleva a cabo bajo condiciones de fabricación asépticas para dar el producto radiofarmacéutico no pirógeno estéril deseado. Por lo tanto, se prefiere que los componentes clave, especialmente cualesquiera partes del aparato que entren en contacto con el producto de Fórmula (IIa) o (IIb) (p. ej. viales y tubos de transferencia), sean estériles. Los componentes y reactivos se pueden esterilizar mediante métodos conocidos en la técnica, incluyendo: filtración estéril, esterilización terminal usando, p. ej., irradiación gamma, tratamiento en autoclave, calor seco o tratamiento químico (p. ej. con óxido de etileno). Se prefiere esterilizar los componentes no radiactivos por adelantado, de modo que se necesite llevar a cabo el número mínimo de manipulaciones necesarias sobre el producto radiofarmacéutico radioyodado. Sin embargo, como precaución, se prefiere incluir al menos una etapa de filtración estéril final.

Los compuestos de Fórmula (Ia) o (Ib), y opcionalmente (IIIa) o (IIIb) y (IV), más el catalizador de cicloadición "clic" y otros de estos reactivos y disolventes, se suministran cada uno en viales o recipientes adecuados que comprenden un envase sellado que permite el mantenimiento de la integridad estéril y/o la seguridad radiactiva, más opcionalmente un gas inerte para el espacio libre (p. ej. nitrógeno o argón), mientras que permite la adición y la retirada de soluciones a través de una jeringa o una cánula. Uno de estos envases preferido es un vial sellado con tabique, en el que el cierre hermético a los gases está engastado con un sello (típicamente de aluminio). El cierre es adecuado para el perforado individual o múltiple con una aguja hipodérmica (p. ej. un cierre sellado con tabique engastado) mientras que mantiene la integridad estéril. Estos envases tienen la ventaja adicional de que el cierre puede soportar vacío si se desea (p, ej. para cambiar el gas del espacio libre o las soluciones desgasificantes) y soportar cambios de presión tales como reducciones en la presión sin permitir la entrada de gases atmosféricos externos, tales como oxígeno o vapor de agua. El recipiente de reacción se elige adecuadamente de estos envases,

y realizaciones preferidas de los mismos. El envase de reacción está hecho preferiblemente de un plástico biocompatible (p, ej. PEEK).

Cuando el producto de BTM radioyodado se usa como una composición farmacéutica, el método del primer aspecto se lleva a cabo preferiblemente usando un aparato sintetizador automático. Por el término "sintetizador automático" se entiende un módulo automático basado en el principio de operaciones unitarias que es descrito por Satyamurthy et al [Clin.Positr.Imag., 2(5), 233-253 (1999)]. El término 'operaciones unitarias' significa que los procedimientos complejos se reducen a una serie de operaciones o reacciones simples, que se pueden aplicar a una gama de materiales. Estos sintetizadores automáticos se prefieren para el método de la presente invención, especialmente cuando se desea un producto radiofarmacéutico. Están disponibles comercialmente de una gama de proveedores [Satyamurthy *et al*, anteriormente], incluyendo: GE Healthcare; CTI Inc; Ion Beam Applications S.A.(Chemin du Cyclotron 3, B-1348 Louvain-La-Neuve, Bélgica); Raytest (Alemania) y Bioscan (EE. UU. de A.).

Los sintetizadores automáticos comerciales también proporcionan envases adecuados para el residuo radiactivo líquido generado como resultado de la preparación radiofarmacéutica. Típicamente, los sintetizadores automáticos no están provistos de un blindaje para la radiación, ya que están diseñados para ser empleados en una cuba de trabajo radiactiva configurada adecuadamente. La cuba de trabajo radiactiva proporciona un blindaje para la radiación adecuado para proteger al operario de una dosis de radiación potencial, así como ventilación para retirar vapores químicos y/o radiactivos. Preferiblemente, el sintetizador automatizado comprende un casete.

Por el término "casete" se entiende una pieza del aparato diseñada para ajustarse de forma retirable e intercambiable a un aparato sintetizador automático (según se define posteriormente), de tal modo que el movimiento mecánico de las partes móviles del sintetizador controle el funcionamiento del casete desde fuera del casete, es decir externamente. Casetes adecuados comprenden una serie lineal de válvulas, cada una conectada a una abertura en la que se pueden unir los reactivos o los viales, bien mediante la perforación con aguja de un vial invertido sellado con tabique, o bien mediante juntas de unión herméticas a los gases. Cada válvula tiene una junta macho-hembra que interconecta con un brazo móvil correspondiente del sintetizador automático. La rotación externa del brazo controla así la apertura o el cierre de la válvula cuando el casete está unido al sintetizador automático. Partes móviles adicionales del sintetizador automático están diseñadas para ajustarse por presión a las puntas de émbolos de jeringas, y así hacer subir o bajar los cuerpos de las jeringas.

El casete es versátil, teniendo típicamente varias posiciones en las que se pueden unir los reactivos, y varias adecuadas para la unión de viales de jeringa de reactivos o cartuchos cromatográficos (p, ej. extracción en fase sólida, SPE). El casete siempre comprende un recipiente de reacción. Estos recipientes de reacción tienen preferiblemente un volumen de 1 a 10 cm^3, lo más preferiblemente de 2 a 5 cm^3, y están configurados de modo que 3 o más aberturas del casete estén conectadas al mismo. Preferiblemente, el casete tiene de 15 a 40 válvulas en una serie lineal, lo más preferiblemente de 20 a 30, prefiriéndose especialmente 25. Preferiblemente, cada una de las válvulas del casete son idénticas y lo más preferiblemente son válvulas de 3 vías. Los casetes de la presente invención están diseñados para ser adecuados para la fabricación de productos radiofarmacéuticos y por lo tanto se fabrican de materiales que son de calidad farmacéutica e idealmente también son resistentes a la radiolisis.

Sintetizadores automáticos preferidos de la presente invención son los que comprenden un casete desechable o de un solo uso que comprende todos los reactivos, envases de reacción y aparatos necesarios para llevar a cabo la preparación de una partida dada de producto farmacéutico radioyodado. El casete significa que el sintetizador automático tiene la flexibilidad para ser capaz de elaborar una variedad de diferentes productos radiofarmacéuticos marcados con radioyodo con un riesgo mínimo de contaminación cruzada, simplemente al cambiar el casete. El enfoque de casetes también tiene las ventajas de: configuración simplificada y de ahí un riesgo reducido de error del operario; cumplimiento mejorado de las GMP (buenas prácticas de fabricación); capacidad multirrastreadora; cambio rápido entre pruebas de producción; comprobación diagnóstica automática antes de la prueba; comprobación cruzada automática por código de barras de los reactivos químicos frente a la síntesis que se va a llevar a cabo; trazabilidad de los reactivos; un solo uso y de ahí ausencia de riesgo de contaminación cruzada, resistencia a la alteración y el abuso.

La reacción de radioyodación de la etapa (ii) del primer aspecto se puede efectuar en un disolvente adecuado, por ejemplo acetonitrilo, un alcohol alquílico C_{1-4} , dimetilformamida, tetrahidrofurano (THF) o dimetilsulfóxido, o mezclas de los mismos, o mezclas acuosas de los mismos, o en agua. También se pueden usar tampones acuosos. El pH dependerá del oxidante usado y típicamente será pH de 0 a 1 cuando, p. ej., se use peróxido de hidrógeno/ácido acuoso, o en el intervalo de pH 6-8 cuando se usen yodógeno o tubos de yodógeno. La temperatura de la reacción de radioyodación es preferiblemente de 10 a 60°C, más preferiblemente a de 15 a 50°C, lo más preferiblemente a temperatura ambiente (típicamente 15-37°C). Disolventes orgánicos tales como acetonitrilo o THF y/o el uso de una temperatura más elevada se pueden usar convenientemente para solubilizar BTMs funcionalizados que son poco solubles en agua.

Cuando el BTM comprende un residuo de tirosina, puede haber alguna radioyodación competitiva en el residuo de tirosina además del grupo Q de Fórmulas (Ia) o (Ib). Sin embargo, se espera que esta sea una reacción menor ya que la cinética de reacción en el grupo Q será rápida.

Cuando Q es R^a_3Sn-, la reacción de radioyodación de la etapa (ii) del primer aspecto se lleva a cabo como se describe por Bolton [J.Lab.Comp.Radiopharm., 45, 485-528 (2002)] y Eersels et al [J.Lab.Comp.Radiopharm., 48, 241-257 (2005)].

Cuando Q es KF_3B-, la reacción de radioyodación de la etapa (ii) del primer aspecto se puede llevar a cabo como se describe por Kabalka et al [J.Lab.Comp.Radiopharm., 48, 359-362 (2005)], que usan ácido peracético como el agente oxidante.

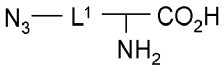
El BTM funcionalizado de Fórmula (Ia) o (Ib) es no radiactivo. Tales BTM funcionalizados se obtienen preferiblemente a través de cicloadición "clic" a partir de precursores de Fórmula (IIIa) o (IIIb), según se describe para la realización preferida (anteriormente).

La cicloadición "clic" se puede llevar a cabo opcionalmente en presencia de una base orgánica, como se describe por Meldal y Tornoe [Chem. Rev. 108, (2008) 2952, Tabla 1 (2008)].

Un catalizador de cicloadición "clic" preferido comprende Cu(I). El catalizador de Cu(I) está presente en una cantidad suficiente para que la reacción avance, típicamente bien en una cantidad catalítica o bien en exceso, tal como de 0,02 a 1,5 equivalentes molares con relación al compuesto de fórmula (Ia) o (Ib). Catalizadores de Cu(I) adecuados incluyen sales de Cu(I) tales como CuI o $[Cu(NCCH_3)_4][PF_6]$, pero ventajosamente se pueden usar sales de Cu(II) tales como sulfato de cobre (II) en presencia de un agente reductor para generar Cu(I) *in situ.* Agentes reductores adecuados incluyen: ácido ascórbico o una sal del mismo, por ejemplo ascorbato sódico, hidroquinona, cobre metálico, glutationa, cisteína, Fe^{2+} o Co^{2+}. El Cu(I) también está intrínsecamente presente sobre la superficie de partículas de cobre elemental, así, el cobre elemental, por ejemplo en la forma de polvo o gránulos, también se puede usar como catalizador. El cobre elemental, con un tamaño de partícula controlado, es una fuente preferida del catalizador de Cu(I). Uno de estos catalizadores más preferido es cobre elemental como polvo de cobre, que tiene un tamaño de partícula en el intervalo de 0,001 a 1 mm, preferiblemente de 0,1 mm a 0,7 mm, más preferiblemente alrededor de 0,4 mm. Alternativamente, se puede usar alambre de cobre arrollado con un diámetro en el intervalo de 0,01 a 1,0 mm, preferiblemente de 0,05 a 0,5 mm, y más preferiblemente con un diámetro de 0,1 mm. El catalizador de Cu(I) se puede usar opcionalmente en presencia de batofenantrolina, que se usa para estabilizar Cu(I) en la química "clic".

Los compuestos precursores no radiactivos de Fórmula (IIIa) y (IIIb), en los que la BTM es un péptido o una proteína, se pueden preparar mediante métodos estándar de síntesis de péptidos, por ejemplo, síntesis de péptidos en fase sólida, por ejemplo, según se describe en Atherton, E. y Sheppard, R.C.; Solid Phase Synthesis; IRL Press: Oxford, (1989).

La preparación del compuesto de fórmula (IIIa) o (IIIb) se puede conseguir mediante la reacción del extremo *N* o C del péptido o con algún otro grupo funcional contenido dentro de la secuencia peptídica, cuya modificación no afecta a las características de unión del vector. El grupo azida se introduce preferiblemente mediante la formación de un enlace amida estable, por ejemplo formado mediante la reacción de una función amina del péptido con un ácido activado o alternativamente la reacción de una función ácido del péptido con una función amina y se introduce bien durante o bien después de la síntesis del péptido. Métodos para la incorporación de un grupo azida en vectores tales como células, virus, bacterias se pueden encontrar en H.C.Kolb y K.B. Sharpless, Drug Discovery Today, Vol 8 (24), diciembre de 2003 y las referencias de la misma. Productos intermedios bifuncionales adecuados útiles para la incorporación del grupo azida en un compuesto de fórmula (IIIa) incluyen:



N_3-L^1-NH_2 N_3-L^1-CO_2H N_3-L^1-SO_3H N_3-L^1-OH N_3-L^1-SH

donde L^1 y las realizaciones preferidas de los mismos son como se definen anteriormente.

En las fórmulas anteriores, adecuadamente L^1 está presente. Sin embargo, en el aminoácido funcionalizado con azida, el grupo funcional azida puede estar ligado opcionalmente directamente a la cadena lateral del aminoácido sin ningún grupo conector.

Enfoques adicionales para funcionalizar BTM con grupos azida son descritos por Nwe et al [Cancer Biother.Radiopharm., 24(3), 289-302 (2009)]. Li *et al* proporcionan la síntesis de un compuesto del tipo N_3-L^1-CO_2H, donde L^1 es $-(CH_2)_4-$, y su uso para conjugar las BTM que contienen amina [Bioconj.Chem., 18(6), 1987-1994 (2007)]. Hausner *et al* describen una metodología relacionada para N_3-L^1-CO_2H, donde L^1 es $-(CH_2)_2-$ [J.Med.Chem., 51(19), 5901-5904 (2008)]. De Graaf et al [Bioconj.Chem., 20(7), 1281-1295 (2009)] describen aminoácidos no naturales que tienen cadenas laterales de azida y su incorporación zonalmente específica en péptidos o proteínas para la posterior conjugación "clic".

Los óxidos de nitrilo de Fórmula (IIIb) se pueden obtener mediante los métodos descritos por Ku et al [Org.Lett., 3(26), 4185-4187 (2001)] y sus referencias. Así, típicamente se generan *in situ* mediante el tratamiento de una alfa-haloaldoxima con una base orgánica tal como trietilamina. Un método de generación preferido así como condiciones para la ciclación "clic" posterior hasta el isoxazol deseado son descritos por Hansen et al [J.Org.Chem., 70(19),

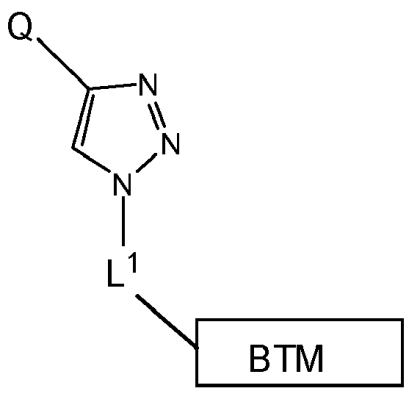
7761-7764 (2005)]. Hansen *et al* generan la alfa-haloaldoxima deseada *in situ* mediante la reacción del aldehído correspondiente con trihidrato de cloramina-T, y a continuación desclorando esto con hidróxido sódico. La aldoxima correspondiente se prepara al hacer reaccionar el aldehído correspondiente con hidrocloruro de hidroxilamina pH 9-10. Véase también K.B.G.Torsell "Nitrile Oxides, Nitrones and Nitronates in Organic Synthesis" [VCH, Nueva York (1988)]. Esta química preparativa de óxidos de nitrilo requiere el uso de un agente oxidante fuerte y una base fuerte, y por lo tanto es menos compatible con BTM sensible a bases y/o sensible a la oxidación.

Los compuestos de Fórmula (IV) en la que Q es $R^a{}_3Sn$- están disponibles comercialmente de Sigma-Aldrich y otros proveedores. Así, los compuestos de trialquilestaño Bu_3Sn-≡-H y Bu_3Sn-≡-$SiMe_3$ están disponibles comercialmente de Sigma-Aldrich. Otros productos intermedios de organoestaño son descritos por Ali et al [Synthesis, 423-445 (1996)]. Los compuestos de Fórmula (IV) en la que Q es KF_3B- se pueden obtener a partir del alquino correspondiente según se describe por Kabalka et al [J.Lab.Comp.Radiopharm., 48, 359-362 (2005) y J.Lab.Comp.Radiopharm., 49, 11-15 (2006)]. Se indica que los precursores de trifluoroborato potásico son sólidos cristalinos, que son estables tanto al aire como al agua.

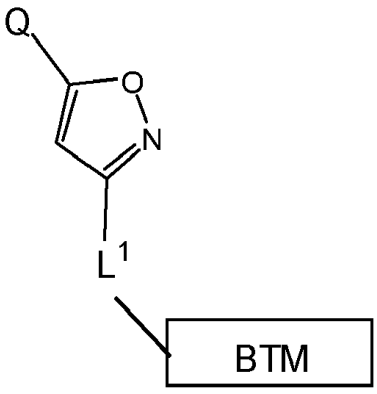
Los compuestos de Fórmula (IVa) se pueden obtener y desproteger según se describe en 'Protective Groups in Organic Synthesis', Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts, Capítulo 8, páginas 927-933, 4ª edición, John Wiley & Sons, (2007).

La presente invención proporciona un enfoque más quimioselectivo para la radioyodación. La reacción de radioyodación se produce en un punto predeterminado en el BTM, con una cinética de radioyodación favorable, de modo que la reacción en el grupo Q esté muy favorecida sobre otros posibles puntos del BTM. Adicionalmente, las funcionalidades tanto alquino como azida son estables bajo la mayoría de las condiciones de reacción y no son reactivas con la mayoría de las funcionalidades de los péptidos - minimizando así las etapas de protección y desprotección requeridas durante la síntesis. Por otra parte, los anillos de triazol e isoxazol no se hidrolizan y son muy estables a la oxidación y la reducción, lo que significa que el BTM marcado tiene alta estabilidad *in vivo* . El anillo de triazol también es comparable a una amida en tamaño y polaridad, de modo que los péptidos o las proteínas marcados son buenos miméticos de sus homólogos naturales - el anillo de triazol en particular es un grupo mimético o bioisóstero de amida conocido. Sin embargo, no se espera que los anillos de triazol e isoxazol de los productos de Fórmula (IIa) y (IIb) de la presente invención sean reconocidos por enzimas tiroideas de desyodación que se sabe que metabolizan la yodotirosina más rápidamente que el yodobenceno, y así se espera que sean suficientemente estables *in vivo* para obtención radiofarmacéutica de imágenes y/o radioterapia.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una molécula dirigible biológicamente funcionalizada de Fórmula (Ia) o (Ib):



(Ia)



(Ib)

donde Q, L^1 y BTM y los aspectos preferidos de los mismos son como se describen para el primer aspecto (anteriormente).

Preferiblemente, el compuesto del segundo aspecto es de Fórmula (Ia). La molécula dirigible biológicamente funcionalizada del segundo aspecto se proporciona preferiblemente en una forma apirógena estéril. Una de estas formas estériles preferida es un sólido liofilizado. La forma estéril es preferiblemente una composición farmacéutica que comprende dicha molécula dirigible biológicamente funcionalizada junto con un medio portador biocompatible.

El "medio portador biocompatible" comprende uno o más adyuvantes, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Preferiblemente, es un fluido, especialmente un líquido, en el que el compuesto de fórmula (Ia) o (Ib) se suspende o disuelve, de modo que la composición sea fisiológicamente tolerable, es decir se pueda administrar al cuerpo del mamífero sin toxicidad o molestias excesivas. El medio portador biocompatible es adecuadamente un líquido portador inyectable tal como agua estéril libre de pirógenos para inyección; una solución acuosa tal como solución salina (que se puede equilibrar ventajosamente de modo que el producto final para inyección sea bien

isotónico o bien no hipotónico); una solución acuosa de una o más sustancias ajustadoras de la tonicidad (p. ej. sales de cationes plasmáticos con iones conjugados biocompatibles), azúcares (p. ej. glucosa o sacarosa), alcoholes sacáricos (p, ej. sorbitol o manitol), glicoles (p. ej. glicerol) u otros materiales poliólicos no iónicos (p. ej. polietilenglicoles, propilenglicoles y similares). El medio portador biocompatible también puede comprender disolventes orgánicos biocompatibles tales como etanol. Estos disolventes orgánicos son útiles para solubilizar compuestos o formulaciones más lipófilos. Preferiblemente, el medio portador biocompatible es agua libre de pirógenos para inyección, solución salina isotónica o una solución acuosa de etanol. El pH del medio portador biocompatible para inyección intravenosa está adecuadamente en el intervalo de 4,0 a 10,5.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona el uso de la molécula dirigible biológicamente funcionalizada del segundo aspecto en la fabricación del resto dirigible biológicamente radioyodado de Fórmula (IIa) o (IIb) según se define en el primer aspecto.

Aspectos preferidos de la molécula dirigible biológicamente funcionalizada y el resto dirigible biológicamente radioyodado del tercer aspecto son como los descritos en los aspectos primero y segundo, respectivamente.

En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona el uso del compuesto de fórmula (IV) según se define en el primer aspecto en la fabricación del resto dirigible biológicamente radioyodado de Fórmula (IIa) o (IIb) según se define en el primer aspecto.

Aspectos preferidos del compuesto de fórmula (IV) y el resto dirigible biológicamente radioyodado del cuarto aspecto son según se describen en el primer aspecto. Preferiblemente, se usa el compuesto de fórmula (IV).

En un quinto aspecto, la presente invención proporciona el uso de un aparato sintetizador automático para llevar a cabo el método del primer aspecto.

El aparato sintetizador automático y realizaciones preferidas del mismo en el quinto aspecto son según se describen en el primer aspecto (anteriormente).

La invención se ilustra mediante los siguientes Ejemplos. El Ejemplo 1 proporciona la preparación de un derivado de tributilestaño funcionalizado con triazol modélico usando la reacción de cicloadición "clic". Los Ejemplos 2 y 3 proporcionan la radioyodación del derivado de tributilestañotriazol usando dos oxidantes diferentes. El Ejemplo 4 proporciona la preparación de un derivado de tributilestaño funcionalizado con isoxazol modélico usando la reacción de cicloadición "clic". Los Ejemplos 5 y 6 proporcionan la radioyodación del derivado de tributilestaño-isoxazol usando dos oxidantes diferentes.

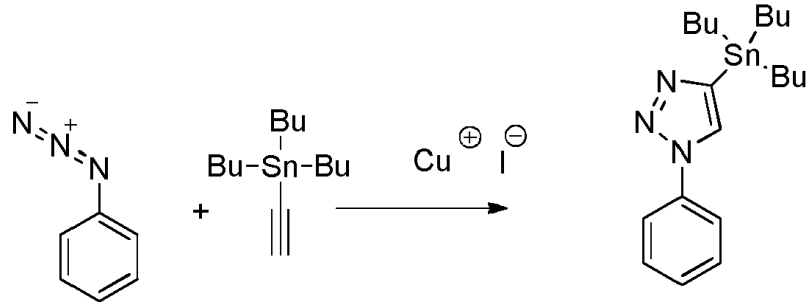
Abreviaturas usadas en los Ejemplos.

HPLC: cromatografía de líquidos de alta resolución,

PAA: ácido peracético,

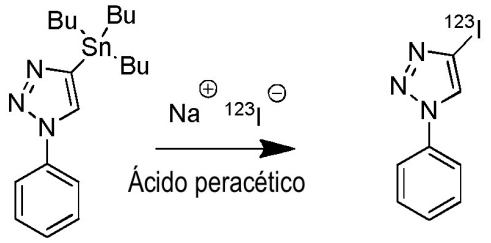
THF: tetrahidrofurano.

Ejemplo 1: Preparación de 1-fenil-4-(tributilestannil)-1H[1,2,3]triazol (Ejemplo profético).



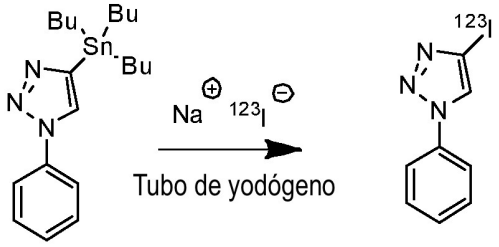
Se puede obtener fenilazida a partir de Pfaltz & Bauer, Inc. o se puede sintetizar mediante el método descrito en J. Biochem., 179, 397-405 (1979). Una solución de tributiletinilestannano (Sigma Aldrich; 400 mg, 1,27 mmol) en THF (4 ml) se trata con fenilazida (169 mg, 1,27 mmol), yoduro de cobre (I) (90 mg, 0,47 mmol) y trietilamina (256 mg, 2,54 mmol) a temperatura ambiente a lo largo de 48 h. A continuación, la reacción se filtra a través de celita para retirar el yoduro de cobre (I) y se cromatografía sobre sílice en un gradiente de 5-20% de acetato de etilo en gasolina. La segunda fracción se recoge y se concentra a vacío para dar el 1-fenil-4-(tributilestannil)-1H[1,2,3]triazol como un aceite incoloro.

Ejemplo 2: Preparación de [^{123}I],-1-fenil-4-yodo-1H[1,2,3]triazol usando ácido peracético como el oxidante (Ejemplo profético).



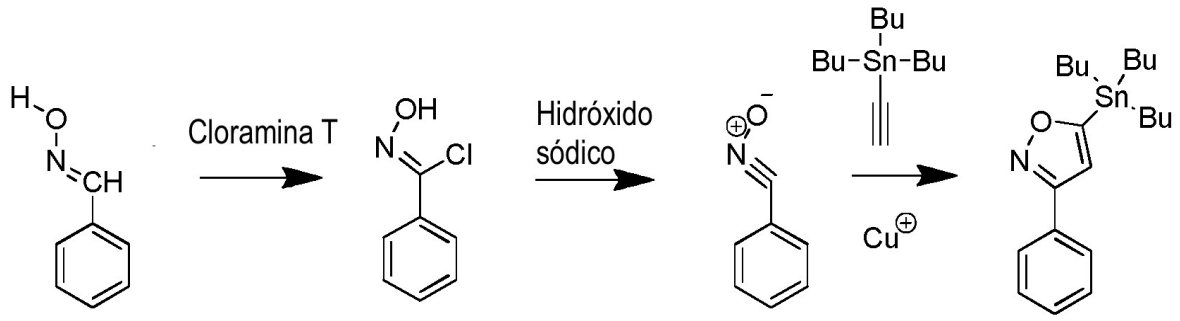
Se añaden tampón de acetato amónico (100 µl pH 4,0, 0,2 M), yoduro [^{127}I] sódico (10 µl de hidróxido sódico de 15 mg/10 ml 0,01 M, 1 x 10^{-8} moles), solución de ácido peracético (PAA) (10 µLl de solución 0,01 M, 1 x 10^{-8} moles) y, finalmente, 1-fenil-4-tributilestannil-1H[1,2,3]triazol (Ejemplo 1; 23 µg, 1 x 10^{-7} moles) a yoduro [^{123}I] sódico recibido en 5-20 µl de hidróxido sódico 0,05 M. La mezcla de reacción se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la purificación mediante HPLC.

Ejemplo 3: Preparación de [^{123}I]-1-fenil-4-yodo-1H[1,2,3]triazol usando tubo de yodógeno como el oxidante (Ejemplo profético).



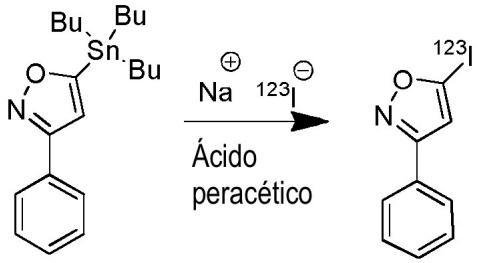
Se añaden tampón de fosfato sódico (100 µl, pH 7,4, 25 mM) y yoduro [^{123}I] sódico recibido en 5-20 µl de hidróxido sódico 0,05 M a un tubo de yodógeno (Thermo Scientific Pierce Protein Research Products), prehumedecido con 1 ml de tampón de fosfato sódico 25 mM pH 7,4 y posteriormente decantado. La reacción se deja reposar a temperatura ambiente durante 6 minutos con agitación antes de la adición de 1-fenil-4-tributilestannil-1H[1,2,3]triazol (Ejemplo 1; 23 µg, 1 x 10^{-7} moles). La mezcla de reacción se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la purificación mediante HPLC.

Ejemplo 4: Preparación de 3-fenil-5-(tributilestannil)isoxazol (Ejemplo profético).



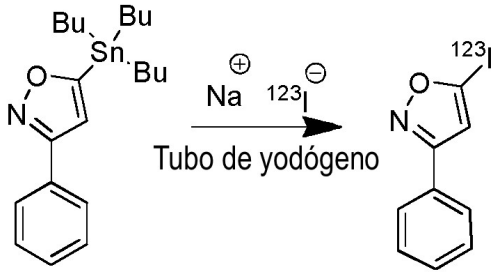
Oxima de (E)-benzaldehído (Sigma Aldrich; 3,3 g, 20 mmol) en *terc*-butanol y agua (1:1) 80 ml se trata con trihidrato de cloramina T (Sigma Aldrich; 5,9 g, 21 mmol) en pequeñas porciones a lo largo de 5 min. A continuación, la reacción se trata con pentahidrato de sulfato de cobre (0,15 g, 0,6 mmol) y ~50 mg de virutas de cobre y tributiletinilestannano (6,3 g, 20 mmol). A continuación, la reacción se ajusta hasta pH 6 con solución de hidróxido sódico y se agita durante 6 h. La mezcla de reacción se trata con solución diluida de hidróxido amónico para retirar todas las sales de cobre. El producto se recoge mediante filtración, se redisuelve en acetato de etilo y se filtra a través de un taco corto de gel de sílice. El filtrado se concentra a vacío para dar 3-fenil-5-(tributilestannil)isoxazol.

Ejemplo 5: Preparación de [^{123}I]-3-fenil-5-yodoisoxazol usando ácido peracético como un oxidante (Ejemplo profético).



Se añaden tampón de acetato amónico (100 µl pH 4,0, 0,2 M), yoduro [^{127}I] sódico (10 µl de hidróxido sódico de 15 mg/10 ml 0,01 M, 1 x 10^{-8} moles), solución de ácido peracético (PAA) (10 µl de solución 0,01 M, 1 x 10^{-8} moles) y, finalmente, [^{123}I]-3-fenil-5-tributilestannil-isoxazol (Ejemplo 4; 23 µg, 1 x 10^{-7} moles) a yoduro [^{123}I] sódico, recibido en 5-20 µl de hidróxido sódico 0,05 M. La mezcla de reacción se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la purificación mediante HPLC.

Ejemplo 6: Preparación de [^{123}I]-3-fenil-5-yodoisoxazol usado tubo de yodógeno como oxidante (Ejemplo profético).

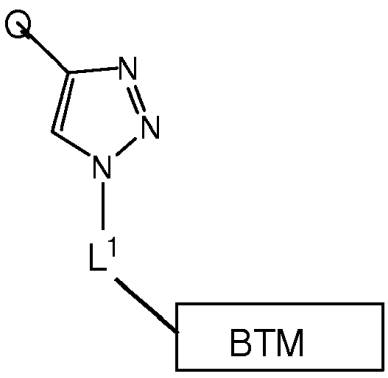


Se añaden tampón de fosfato sódico (100 µl, pH 7,4, 25 mM) y yoduro [^{123}I] sódico recibido en 5-20 µl de hidróxido sódico 0,05 M a un tubo de yodógeno, prehumedecido con 1 ml de tampón de fosfato sódico 25 mM pH 7,4 y posteriormente decantado. La reacción se deja reposar a temperatura ambiente durante 6 minutos con agitación antes de la adición de [^{123}I]-3-fenil-5-tributilestannilisoxazol (Ejemplo 4; 23 µg, 1 x 10^{-7} moles). La mezcla de reacción se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la purificación mediante HPLC.

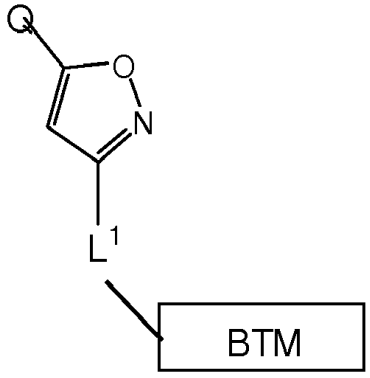
REIVINDICACIONES

1. Un método de radioyodación de un resto dirigible biológicamente, comprendiendo dicho método:

(i) la provisión de un BTM funcionalizado de Fórmula (Ia) o (Ib):

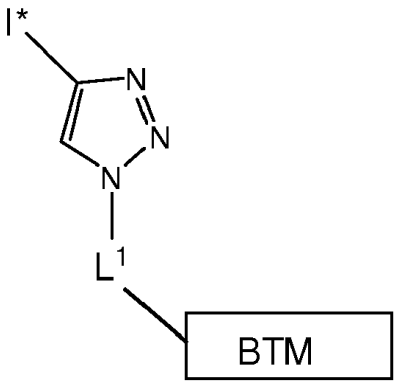


(Ia)

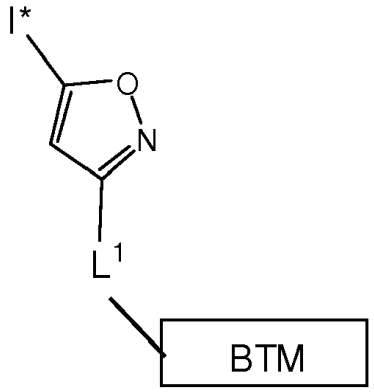


(Ib)

(ii) la reacción del BTM funcionalizado de Fórmula bien (Ia) o bien (Ib) con ion yoduro radiactivo en presencia de un agente oxidante, para dar el producto radioyodado deseado como un conjugado de Fórmula (IIa) o (IIb), respectivamente;



(IIa)



(IIb)

en la que:

BTM es el resto dirigible biológicamente;

L^1 es un grupo conector que puede estar presente o ausente;

Q es $R^a{}_3Sn$- o KF_3B-, donde cada R^a es independientemente alquilo C_{1-4};

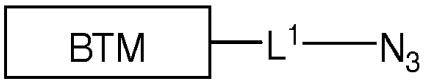
I* es un radioisótopo de yodo.

2. El método según la reivindicación 1, en el que I* se elige de ^{123}I, ^{124}I o ^{131}I.

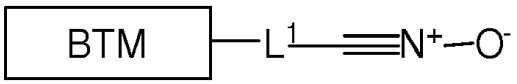
3. El método según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el BTM es un aminoácido individual, un péptido 3-100-mero, un sustrato enzimático, un antagonista enzimático, un agonista enzimático, un inhibidor enzimático o un compuesto que se une a un receptor.

4. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además preparar el BTM funcionalizado de Fórmula (Ia) o (Ib) mediante:

(i) la provisión de un precursor de Fórmula (IIIa) o (IIIb):

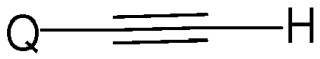


(IIIa)



(IIIb)

(ii) la reacción de dicho precursor con un compuesto de fórmula (IV):



(IV)

en presencia de un catalizador de cicloadición "clic", para dar el BTM funcionalizado de Fórmula (Ia) o (Ib), respectivamente, a través de cicloadición "clic".

5. El método según la reivindicación 4, en el que el catalizador de cicloadición "clic" comprende Cu(I).

6. El método según la reivindicación 5, en el que el catalizador de Cu(I) comprende cobre elemental.

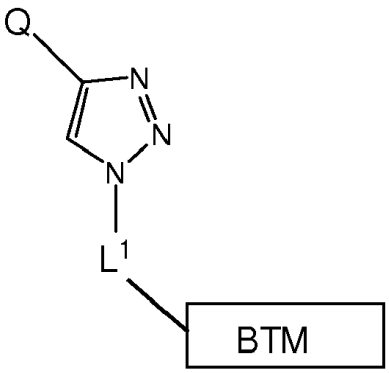
7. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la molécula dirigible biológicamente funcionalizada es de Fórmula (Ia) y el producto radioyodado es el conjugado de Fórmula (IIa).

8. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que se lleva a cabo de un modo aséptico, de modo que el producto de Fórmula (IIa) o (IIb) se obtenga como una composición radiofarmacéutica.

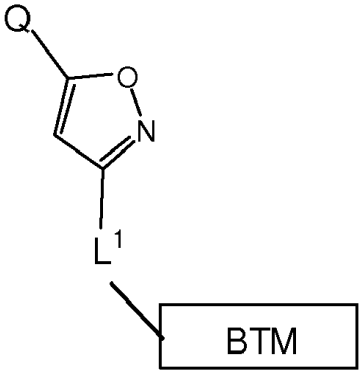
9. El método según la reivindicación 8, que se lleva a cabo usando un aparato sintetizador automático.

10. El método según la reivindicación 9, en el que el aparato sintetizador automático comprende un casete estéril de un solo uso, comprendiendo dicho casete los reactivos no radiactivos necesarios para llevar a cabo el método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en forma apirógena estéril.

11. Una molécula dirigible biológicamente funcionalizada de Fórmula (Ia) o (Ib):



(Ia)



(Ib)

en la que Q y L^1 son como se definen en la reivindicación 1 o la reivindicación 2; y

BTM es un péptido 3-100-mero.

12. Uso de la molécula dirigible biológicamente funcionalizada según la reivindicación 11 en la fabricación del resto dirigible biológicamente radioyodado de Fórmula (IIa) o (IIb) según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el BTM es un péptido 3-100-mero.

13. Uso del compuesto de fórmula (IV) según se define en la reivindicación 4 en la fabricación del resto dirigible biológicamente radioyodado de Fórmula (IIa) o (IIb) según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

14. Uso de un aparato sintetizador automático para llevar a cabo el método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.