

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 689 147**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/64** (2007.01)  
**A61K 47/54** (2007.01)  
**A61K 49/14** (2006.01)  
**A61K 51/08** (2006.01)  
**A61K 49/08** (2006.01)  
**A61K 103/00** (2006.01)  
**A61K 103/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.07.2010 PCT/EP2010/004198**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.01.2011 WO11009539**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.07.2010 E 10730731 (6)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.06.2018 EP 2456467**

54 Título: **Conjugados de épsilon-polilisina y uso de los mismos**

30 Prioridad:

**20.07.2009 EP 09009393**

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

**08.11.2018**

73 Titular/es:

**MERCK PATENT GMBH (100.0%)  
Frankfurter Strasse 250  
64293 Darmstadt, DE**

72 Inventor/es:

**KUEBELBECK, ARMIN;  
LARBIG, GREGOR;  
MIER, WALTER;  
BEIJER, BARBRO y  
HABERKORN, UWE**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 689 147 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

Conjugados de  $\epsilon$ -polilisina y uso de los mismos

5 La presente invención se refiere a conjugados de  $\epsilon$ (épsilon)-polilisina, en particular conjugados de  $\epsilon$ -polilisina con compuestos que llevan grupos carboxilo, y a la preparación y uso de los mismos para actuar selectivamente en el riñón.

El riñón es un órgano que es de importancia, en particular, para el transporte y la excreción de diversas sustancias y en la producción de hormonas.

10 Una función de los riñones es la excreción de los productos finales del metabolismo, las llamadas sustancias urofánicas y las toxinas del cuerpo a través de la formación de la orina, que finalmente se excreta del cuerpo a través del tracto urinario. El riñón regula el equilibrio hídrico y, por lo tanto, sirve para la regulación a largo plazo de la presión arterial. Regula el equilibrio electrolítico y el equilibrio ácido-base mediante el control de la composición de la orina. Además, el riñón es un órgano importante para el metabolismo intermediario en el cuerpo (produce gluconeogénesis). El riñón produce hormonas, como, por ejemplo, la eritropoyetina, para la formación de sangre y es el sitio de degradación de las hormonas peptídicas. Sin embargo, muchas funciones del riñón también están controladas por hormonas.

15 El riñón es, por lo tanto, un órgano importante para la vida, para el cual ya se han desarrollado muchos métodos diagnósticos y terapéuticos. Por ejemplo, se emplean inmunosupresores, citostáticos, agentes inmunoterapéuticos, antiflogísticos, antibióticos, virostáticos, antihipertensivos, uricosúricos o diuréticos para el tratamiento del riñón o para influir en la función renal. En este caso es en particular importante que los medicamentos lleguen al riñón de la mejor manera posible.

20 Del mismo modo, la representación del riñón en los métodos de formación de imágenes también es de gran importancia.

25 Con la ayuda de métodos nucleares y médicos y radiológicos establecidos, como SPECT, TEP, ultrasonidos y MRT, procesos enzimáticos, procesos metabólicos, puede representarse la expresión de ciertos genes y reacciones moleculares, además de las estructuras morfológicas, mediante las llamadas imágenes moleculares. Las modalidades de imagen mencionadas anteriormente, si es necesario, pueden complementarse con métodos tomográficos y de imágenes ópticas por ordenador (imágenes de infrarrojo cercano, tomografía de fluorescencia). El enfoque de las "imágenes moleculares" se encuentra actualmente en el diagnóstico de las enfermedades del cáncer, las cuestiones neurológicas y la monitorización de las terapias génicas, pero en el futuro se extenderá a todas las áreas en las que deben descubrirse cambios celulares lo antes posible.

35 Como fuente de señal para los métodos de formación de imágenes, una "molécula señal" generalmente se acopla a una "molécula portadora". La "molécula portadora" asegura un direccionamiento altamente específico, por ejemplo, uniéndose específicamente a las células diana o quedando atrapado en ellas. Por ejemplo, la molécula portadora puede ser el ligando de un receptor o el sustrato de una enzima. La "molécula señal" puede hacerse visible por medio de una o más técnicas de imágenes. Los ejemplos de moléculas señal son, por ejemplo, agentes complejantes o agentes quelantes cuyos iones metálicos pueden detectarse mediante técnicas de formación de imágenes.

El compuesto o conjugado que comprende la molécula señal y la molécula portadora se denomina "agente de diagnóstico". A continuación se discutirán en detalle diversas técnicas de formación de imágenes.

#### 40 Tomografía computarizada (TC)

45 En la radiografía clásica, la atenuación específica del tejido de los rayos X se representa en una película de rayos X. Los "tejidos duros", por ejemplo los huesos, absorben una gran cantidad de radiación en este caso, en contraste con el tejido "blando", como la grasa y el músculo. Los agentes de contraste de rayos X utilizados son sustancias que contienen elementos que tienen un alto número atómico, por ejemplo, moléculas que contienen yodo para la angiografía. Como desarrollo adicional, la radiografía suministra imágenes transversales. En TC, las radiografías se graban desde varias direcciones mediante sensores (detectores) y se reproducen por ordenador como radiografía tridimensional. Debido a la amplia aplicabilidad de la TC, este método se conoce como el "caballo de batalla de la radiología clásica". Sin embargo, la baja sensibilidad del método limita su uso como método para la formación de imágenes moleculares.

#### 50 Tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT)

La gammagrafía utiliza la radiación gamma de sustancias marcadas radiactivamente (radiotrazadores) emitidas por

radionucleidos de corta duración. Estos se acumulan específicamente en el tejido diana en el cuerpo. Con la ayuda de una cámara gamma, la radiación emitida se registra y se convierte en una imagen. La tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) es la variante tridimensional de la gammagrafía. En SPECT, la radiación se registra desde varios ángulos como en la TC, y se obtiene una imagen tridimensional en el ordenador. En la SPECT estática, se mide la concentración del radiotrazador en un cierto punto en el tiempo. En SPECT dinámica, la medición se repite en ciertos intervalos de tiempo. De esta manera, se puede investigar el cambio en la acumulación.

#### Tomografía por emisión de positrones (TEP)

En la aplicación clínica, la TEP complementa los métodos de formación de imágenes estructuralmente más orientados de la radiología de diagnóstico. La tomografía por emisión de positrones (TEP) es un método moderno de imagen funcional. Con la ayuda de átomos que emiten positrones, permite una excelente resolución en la detección de radioisótopos (se logra una resolución de 2-3 mm en los instrumentos TEP modernos, incluso en el caso de tomografías de cuerpo completo). Si estos radioisótopos, por ejemplo <sup>68</sup>Ga, se emplean para el marcaje de biomoléculas, se pueden obtener imágenes de los procesos bioquímicos en órganos individuales del organismo. Una ventaja esencial de los métodos médicos nucleares es su alta sensibilidad, por lo que los trazadores solo pueden emplearse en pequeñas cantidades (cantidades de nanogramos). Hoy día, la cámara TEP está integrada con un instrumento de TC (esto ofrece una alta resolución local de aproximadamente <1 mm). La tecnología TEP/TC ha introducido resultados revolucionarios en el diagnóstico en los últimos años. Así se pueden obtener en una sola representación imágenes funcionales de TEP y la información morfológica de la TC en las mismas estructuras anatómicas.

Un órgano que se investiga de manera muy frecuente e intensa en el diagnóstico médico es el riñón. El método de investigación más frecuente en el presente documento es la gammagrafía renal.

#### **Gammagrafía renal**

La gammagrafía renal es un método de investigación médica nuclear que permite la evaluación de la función renal desde puntos de vista estáticos y dinámicos. En el presente documento se evalúan el suministro de sangre, la función y la excreción de cada riñón individual. Es un método establecido para el reconocimiento de cicatrices parenquimatosas, en particular en niños, y además sirve para la evaluación de la función renal regional y lateralmente separada. Se hace una distinción entre dos formas de gammagrafía renal:

#### **Gammagrafía renal estática**

En la gammagrafía renal estática, el tejido funcional del riñón se representa utilizando el radionúclido <sup>99m</sup>Tc. El tecnecio en este caso está ligado en forma compleja a, por ejemplo, ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA). La gammagrafía renal estática es, por lo tanto, adecuada principalmente para la representación de riñones con anomalías (distrofia, riñón en herradura, etc.) o estado después de inflamación.

#### **Gammagrafía renal dinámica**

Por el contrario, la gammagrafía renal dinámica investiga la función renal. Por lo tanto, la tasa de filtración glomerular, el flujo sanguíneo renal (RBF) y la secreción tubular se pueden investigar con la cuestión de la función renal y su aclaramiento.

Los radiofármacos que se utilizan actualmente son las siguientes sustancias:

- <sup>99m</sup>Tc-MAG3      mercaptoacetiltriglicina
- <sup>99m</sup>Tc-DMSA      ácido 2,3-dimercaptosuccínico
- <sup>99m</sup>Tc-DTPA      ácido dietilentriaminopentaacético
- <sup>123</sup>I-OIH          hippuran (ácido orto-yodohipúrico)

La Figura 3 muestra la estructura química de MAG3, DMSA y DTPA.

La gammagrafía de la función renal (= gammagrafía renal dinámica) se emplea en las siguientes indicaciones:

- para el aclaramiento de la función renal separada lateralmente en enfermedades renales, como, por ejemplo, cálculos renales (nefrolitiasis), tumores renales, riñones distróficos (ubicados incorrectamente) o riñones

displásicos (malformados)

- para la investigación de la función parcial en el caso de los riñones dobles
  - para la investigación de trastornos del flujo urinario
  - para el aclaramiento del reflujo vesicorenal (una anomalía del tracto urinario)
- 5
- si se sospecha de hipertensión renovascular
  - para evaluar la función renal antes de una donación de riñón vivo
  - para el control del progreso de constricciones u obstrucciones vasculares reparadas quirúrgicamente
  - para la evaluación de los riñones trasplantados
  - en el diagnóstico de emergencia si se sospecha una lesión renal (traumatismo renal)
- 10
- en el caso de una excreción urinaria súbitamente reducida (anuria) para excluir una embolia renal o una obstrucción urinaria aguda
  - para determinar el aclaramiento total
  - para detectar o excluir fugas de orina

15 Hasta la fecha, la gammagrafía de función renal generalmente se ha llevado a cabo mediante SPECT, ya que los trazadores aprobados MAG3 y DMSA solo pueden marcarse con el nucleido SPECT <sup>99m</sup>Tc. Por consiguiente, hasta la fecha no ha sido posible utilizar las posibilidades considerablemente mejores debido a TEP y TEP/TC para el diagnóstico de la función renal.

20 Sería deseable, también con fines terapéuticos, si se pudiera mejorar el direccionamiento al riñón. En la actualidad, alrededor de 280 millones de personas padecen enfermedades renales crónicas. El uso o dosificación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades renales está frecuentemente restringido por los efectos secundarios de los medicamentos. Si fuera posible desarrollar un concepto de direccionamiento farmacológico, por medio del cual los medicamentos conocidos o también nuevos lleguen al riñón de manera específica, el tratamiento terapéutico de las enfermedades renales se mejoraría enormemente.

25 El documento WO 03/086293 describe un intento de mejorar el sabor de los medicamentos formando un complejo con polilisina o poliarginina. El complejo en este caso consiste en una sal orgánica, es decir, no hay un enlace covalente, sino un enlace iónico entre la polilisina/poliarginina y el medicamento. No se revela nada con respecto a la posibilidad del uso de conjugados de polilisina en el direccionamiento del fármaco al riñón.

El documento WO 90/13256 A1 desvela un conjugado que consiste en polilisina y DTPA como molécula portadora para un agente terapéutico o agente de diagnóstico, en particular para la terapia o diagnóstico de tumores.

30 Ing-Lung Shih et al., *Bioresource Technology* 97 (2006) 1148-1159, describen el uso de  $\epsilon$ -polilisina en el direccionamiento farmacológico. Se propone que la  $\epsilon$ -polilisina se una covalentemente a compuestos activos. El objetivo del enfoque descrito en este documento es un aumento en la tasa de absorción en las células. No se busca ni se logra especificidad para tejido específico.

35 El objeto de la presente invención era, por lo tanto, proporcionar un transportador o molécula portadora para un agente terapéutico o agente de diagnóstico que tenga la afinidad y selectividad más altas posibles para el riñón.

40 Sorprendentemente, se ha encontrado que los conjugados de derivados de  $\epsilon$ -polilisina o  $\epsilon$ -polilisina con compuestos que llevan grupos carboxilo tienen una selectividad extremadamente alta para el riñón. Esto significa que estos conjugados son absorbidos virtualmente de forma exclusiva por el tejido renal. Estos conjugados, acoplados a moléculas señal, tales como, por ejemplo, radioisótopos y/o compuestos activos, pueden emplearse para el tratamiento diagnóstico y/o terapéutico del riñón.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un conjugado que comprende al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo y un oligómero que consta de unidades monoméricas de lisina unidas peptídicamente, como se define en la reivindicación 1. Se hace uso de compuestos que llevan grupos carboxilo en los que la proporción de

grupos carboxilo en la masa molar del compuesto que lleva los grupos carboxilo es superior al 30 %, en particular preferiblemente superior al 40 %.

En una realización preferida, en particular para aplicaciones terapéuticas, el conjugado comprende adicionalmente al menos un compuesto activo, preferiblemente unido covalentemente.

5 De acuerdo con la invención, el oligómero tiene una longitud de cadena de 10 a 50 unidades monoméricas.

De acuerdo con la invención, el oligómero consiste únicamente en unidades monoméricas de  $\epsilon$ -lisina, en particular solo de unidades  $\epsilon$ -lisina.

10 Al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo está unido en este caso a través del grupo amino de una unidad monomérica de  $\epsilon$ -lisina, es decir, una o más unidades monoméricas de  $\epsilon$ -lisina llevan, en su grupo amino, un compuesto que lleva grupos carboxilo que está conjugado directamente o mediante un espaciador.

En una realización, que es en particular preferida para aplicaciones de diagnóstico, el compuesto que lleva grupos carboxilo es un agente complejante, en particular preferiblemente DOTA (= ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético) o DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético).

15 La presente invención también se refiere a un proceso para la preparación de los compuestos de acuerdo con la invención que comprende al menos las siguientes etapas de proceso:

a) provisión de un oligómero de acuerdo con la invención que contiene al menos un grupo reactivo,

b) conjugación de al menos un compuesto activado opcionalmente que lleva grupos carboxilo al oligómero de la etapa a)

20 En una realización del proceso de acuerdo con la invención, si el conjugado comprende un agente complejante, el compuesto obtenido en la etapa b) se pone en contacto con sales metálicas en una etapa c) adicional, de modo que los iones metálicos se complejen con los agentes complejantes.

La presente invención se refiere adicionalmente a un conjugado de acuerdo con la invención como medicamento, tal como, en particular, una composición terapéutica o una composición mejoradora de imágenes.

25 La presente invención también se refiere a un medicamento o composición farmacéutica, en particular una composición terapéutica o mejoradora de imágenes, que comprende al menos un conjugado de acuerdo con la invención.

30 La presente invención también se refiere a un kit para la preparación de un medicamento o composición farmacéutica, en particular una composición terapéutica o mejoradora de imágenes, que comprende al menos un conjugado de acuerdo con la invención. Este conjugado puede reaccionar entonces, dependiendo de la aplicación, por ejemplo, con un compuesto activo adecuado para la preparación de una composición terapéutica o, si está presente un agente complejante, con iones metálicos que tienen una acción mejoradora de la imagen y/o terapéutica.

35 La presente invención también se refiere al uso del conjugado de acuerdo con la invención para la preparación de conjugados de macromolécula, donde dos o más conjugados de acuerdo con la invención están unidos a una macromolécula, y un conjugado de macromolécula compuesto de al menos dos o más conjugados de acuerdo con la invención que están unidos covalentemente a una macromolécula.

40 La presente invención también se refiere a un conjugado de acuerdo con la invención para su uso para actuar selectivamente en el riñón. El direccionamiento al riñón en este caso sirve preferiblemente para enriquecer medicamentos para aplicaciones farmacéuticas o de diagnóstico en el riñón, es decir, generar un aumento de la captación en el riñón en relación con el resto del cuerpo.

La Figura 1 muestra una representación esquemática del compuesto de acuerdo con la invención obtenido en el Ejemplo de Síntesis 1.

La Figura 2 muestra la distribución de órganos de  $\epsilon$ -polilisina-DOTA cargada con  $^{111}\text{In}$ . Se proporcionan más detalles en el Ejemplo de uso 1.

45 La Figura 3 muestra la estructura química de MAG3, DMSA y DTPA.

La Figura 4 muestra los derivados de enalapril correspondientes al Ejemplo 7.

Las sustancias que mejoran la representación del órgano diana en ciertos métodos de diagnóstico actúan como una composición mejoradora de la imagen o un medio de contraste o potenciador de la imagen, generalmente aumentando el contraste con el entorno o la señal del órgano diana en relación con el entorno.

5 De acuerdo con la presente invención, un compuesto que lleva grupos carboxilo es un compuesto químico que contiene al menos un grupo carboxilo (-COOH) y al menos un grupo o funcionalidad para su unión al oligómero del conjugado según la invención. La proporción de grupos carboxilo en el peso molecular del compuesto que lleva grupos carboxilo es superior al 30 %. La unión al oligómero puede tener lugar de cualquier manera conocida que dé como resultado un enlace covalente del oligómero y el compuesto que lleva los grupos carboxilo. Ejemplos de grupos funcionales a través de los cuales puede tener lugar la unión son -NH<sub>2</sub>, -SH, -OH, -Hal (por ejemplo -Cl, -Br, -I), -alquino, -NCS, -NCO, -SO<sub>2</sub>Cl, -azida, -carbonato, -aldehído, -epóxido, -COOH, -COOR, donde R en este caso es preferiblemente un halógeno o preferiblemente un activador, es decir, un buen grupo saliente, tal como, por ejemplo, N-hidroxisuccinimida, pentafluorofenilo o para-nitrofenilo. Se encuentra una descripción general de los posibles tipos de acoplamiento covalente, por ejemplo, en "Bioconjugate Techniques", Greg T. Hermanson, Academic Press, 1996, en las páginas 137 a 165.

El compuesto que lleva grupos carboxilo preferiblemente contiene dos o más grupos carboxilo. Al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo que está conjugado con el oligómero contiene dos o más grupos carboxilo libres. Ejemplos de compuestos que llevan grupos carboxilo que son adecuados de acuerdo con la invención son: ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido tartárico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido sebáico, los correspondientes ácidos grasos ramificados, ácido maleico, ácido fumárico, ácido ciclohexanodicarboxílico y los correspondientes isómeros de posición y ácidos dibásicos alifáticos similares; ácido tetrahidroftálico, ácido 5-norborneno-2,3-dicarboxílico y ácidos dibásicos alicíclicos similares; ácido tricarbálico, ácido aconítico, ácido trimésico y ácidos tribásicos similares; ácido adamantinetetracarboxílico, ácido butanotetracarboxílico, ácido ciclopentanotetracarboxílico, ácido tetrahydrofuranotetracarboxílico y ácidos tetrabásicos similares; ácidos de azúcares, en particular ácidos aldáricos, tales como, por ejemplo, ácido glucárico, ácido galactárico; ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico e hidroxiaácidos grasos similares; ácido trimelítico, ácido piromelítico, ácido bifeniltetracarboxílico, ácido benzofenonetetracarboxílico, ácido difenilsulfonotetracarboxílico y ácidos policarboxílicos aromáticos similares.

30 De acuerdo con la invención, los compuestos que llevan grupos carboxilo también pueden ser agentes complejantes que contienen al menos un grupo carboxilo, preferiblemente dos o más grupos carboxilo, y al menos un grupo o funcionalidad para unirse al oligómero del conjugado de acuerdo con la invención. Ejemplos de los mismos son NOTA, TETA, EDTA o preferiblemente DOTA o DTPA. En este caso, los compuestos que llevan grupos carboxilo simultáneamente también cumplen la función de agente complejante, lo que es en particular ventajoso para aplicaciones de diagnóstico.

Los compuestos preferidos que llevan grupos carboxilo son aquellos que contienen dos o más grupos carboxilo libres después de la conjugación con el oligómero.

Se ha comprobado que la especificidad lograda en el direccionamiento al riñón es en particular alta si los grupos carboxilo del compuesto que lleva los grupos carboxilo constituyen una gran proporción de la masa molar del compuesto que lleva los grupos carboxilo. Por lo tanto, se hace uso de compuestos que llevan grupos carboxilo en los cuales la proporción de grupos carboxilo en la masa molar es superior al 30 %, preferiblemente superior al 40 %. Por ejemplo, la masa molar de DOTA es 404 g/mol. Sus 4 grupos carboxilo constituyen una proporción de 180 g/mol (4 x COOH = 4 x 45 g/mol). Esto da una proporción de grupos carboxilo en la masa molar de DOTA de aproximadamente el 44 %.

45 El ácido cítrico tiene una masa molar de 192 g/mol. Los grupos carboxilo (3 x 45 g/mol) constituyen 135 g/mol de los mismos. Esto da una proporción de grupos carboxilo en la masa molar de ácido cítrico de aproximadamente 70 %.

Los compuestos que llevan grupos carboxilo que son en particular preferidos de acuerdo con la invención son por lo tanto aquellos que contienen dos o más grupos carboxilo libres después de la conjugación al oligómero y en los que la proporción de grupos carboxilo en la masa molar es superior al 30 %, preferiblemente superior al 40 %, como, por ejemplo, DOTA, DTPA y ácido cítrico.

El conjugado de acuerdo con la invención contiene al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo que está conjugado con el oligómero y contiene dos o más grupos carboxilo libres.

Un espaciador, a menudo también llamado un enlazador, efectúa un enlace covalente entre dos partes de una molécula, en el presente caso, por ejemplo, entre el oligómero según la invención y un compuesto que lleva grupos

carboxilo o un compuesto activo. Generalmente, se introducirá un espaciador si la conexión entre dos restos no tiene lugar solo a través de un enlace químico directo, sino que se generará una cierta separación entre dos restos. Igualmente, un espaciador puede proporcionar las funcionalidades químicas que son necesarias para conectar dos partes de una molécula que de otro modo no reaccionarían entre sí. La conjugación de un espaciador con el oligómero, el compuesto que lleva grupos carboxilo o un compuesto activo, preferiblemente tiene lugar a través de un enlace de amida o éster. Los espaciadores pueden ser, por ejemplo, hidrocarburos alifáticos, poliéteres (tales como polietilenglicoles), oligopéptidos o elementos similares que tienen una estructura de cadena. El espaciador puede ser estable, es decir, no puede escindirse en condiciones fisiológicas o solo puede escindirse en una pequeña extensión, o puede ser inestable, es decir, puede escindirse, al menos en ciertas condiciones fisiológicas.

Los compuestos activos, péptidos, agentes complejantes u otras funcionalidades se pueden unir al oligómero directamente o por medio de un espaciador.

Ejemplos de grupos funcionales a través de los cuales puede tener lugar la unión directa son -NH<sub>2</sub>, -SH, -OH, -Hal (por ejemplo -Cl, -Br, -I), -alquino, -NCS, -NCO, -SO<sub>2</sub>Cl, -azida, -carbonato, -aldehído, -epóxido, -COOH, -COOR, donde R en este caso es preferiblemente un halógeno o preferiblemente un activador, es decir, un buen grupo saliente, tal como, por ejemplo, N-hidroxisuccinimida, pentafluorofenilo o para-nitrofenilo. Se encuentra una visión general de posibles tipos de acoplamiento covalente, por ejemplo, en "Bioconjugate Techniques", Greg T. Hermanson, Academic Press, 1996, en las páginas 137 a 165.

Por ejemplo, los compuestos activos se pueden unir al conjugado según la invención a través de un enlazador escindible. Este enlazador se escinde in vivo bajo ciertas condiciones, por ejemplo por escisión enzimática o química, y libera el compuesto activo. Son adecuados para este fin los enlazadores que contienen enlaces carboxilato y disulfuro, en los que los primeros grupos se hidrolizan enzimática o químicamente y los últimos se separan por intercambio de disulfuros, por ejemplo en presencia de glutatión.

Un ejemplo de un espaciador escindible es también un oligopéptido que puede escindirse específicamente con la ayuda de enzimas específicas, endógenas o exógenas. Así, por ejemplo, la secuencia peptídica DEVD (Asp-Glu-Val-Asp) se escinde después de la inducción de apoptosis por Caspasa-3. Así, por ejemplo, un compuesto activo o un compuesto que lleva grupos carboxilo que está unido a través de un espaciador de este tipo puede eliminarse del riñón después de un cierto tiempo de residencia en el mismo, o alternativamente también se puede controlar una funcionalidad correspondiente (presencia o ausencia de cierta enzima) del riñón. Otros ejemplos son las secuencias peptídicas CPENJFFWGGGG o PENFF, que pueden escindirse mediante la metaloproteasa-13 de la matriz. Una realización simple de un espaciador escindible es la formación de un carboxilato, que puede escindirse fácilmente mediante esterasas.

Alternativamente, el espaciador puede contener una estructura lábil a los ácidos, por ejemplo una hidrazona, una imina, una carboxihidrazona, un acetal o cetal (véase, por ejemplo, Haag-R, Kratz-F, Angewandte Chemie, página 1218 (2006)).

De acuerdo con la invención, los aminoácidos son compuestos que llevan al menos un grupo amino y al menos un grupo carboxilo. Los ejemplos son aminoácidos proteínicos naturales o aminoácidos no proteínogenos que se producen en el organismo o se preparan sintéticamente.

Un péptido es un compuesto que se forma a partir del enlace de dos o más aminoácidos. Los aminoácidos individuales en este caso están conectados en una secuencia definida para formar una cadena, generalmente no ramificada. Los aminoácidos en los péptidos y en las proteínas más grandes están conectados entre sí a través de enlaces amida.

De acuerdo con la invención, una fase sólida es un material compuesto orgánico, inorgánico u orgánico/inorgánico que puede emplearse como resina o soporte en síntesis en fase sólida. Además, las superficies de los cuerpos moldeados, tales como, por ejemplo, placas de microtitulación o materiales particulados, tales como, por ejemplo, nanopartículas orgánicas o inorgánicas, partículas metálicas o similares, también se consideran como fase sólida de acuerdo con la invención.

De acuerdo con la invención, los compuestos activos o moléculas de compuesto activo de acuerdo con la Ley alemana de medicamentos son sustancias que están destinadas a usarse como constituyentes farmacéuticamente activos en la preparación de medicamentos o para convertirse en constituyentes farmacéuticamente activos en el uso en la preparación de medicamentos. (Ley alemana de medicamentos § 4 (19)). Los compuestos activos generalmente causan un efecto específico en un organismo. Un compuesto activo de acuerdo con la invención normalmente es una molécula o medicamento farmacéuticamente activo, tal como, por ejemplo, **inmunosupresores**, por ejemplo azatioprina, micofenolato-mofetilo, ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, fingolimod o triptolida, **citostáticos**, por ejemplo, bleomicina, dactinomicina, mitomicina, daunorrubicina, doxorubicina, epicubicina, idarrubicina, mitoxantrón, doxofluridina, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, satraplatino, camptotecina,

5 toptecán, irinotecán, amsacrina, etopósido, tenipósido, ciclofosfamida, trofosfamida, melfalán, clorambucilo, estramustina, busulfán, clorambucilo, clormetina, treosulfán, carmustina, lomustina, nimustina, procarbazona, estreptozocina, dacarbazina, ifosfamida, temozolomida, tiotepa, vinorelbina, vincristina, vinblastina, vindesina, paclitaxel, docetaxel, metotrexato, pemetrexed, raltitrexed, fluorouracilo, capecitabina, arabinósido de citosina, gemcitabina, tioguanina, pentostatina, mercaptopurina, fludarabina, caldribina, hidroxycarbamida, mitotano, azacitidina, citarabina, nelarabina, bortezomib, anagrelida, en particular los inhibidores de proteína quinasa, tales como, por ejemplo, imatinib, erlotinib, sunitinib, sorafenib, dasatinib, lapatinib o nilotinib, **agentes inmunoterapéuticos**, por ejemplo cetuximab, alemtuzumab y bevacizumab, **antiflogísticos**, por ejemplo, naproxeno, ibuprofeno, indometacina, prednisolona, prednisona, hidrocortisona o budesonida, **antibióticos**, en particular las penicilinas, como, por ejemplo, bencilpenicilina, meticilina o amoxicilina, las cefalosporinas, como, por ejemplo, cefuroxim, cefotaxima, cefadroxilo o cefixim, los inhibidores de p-lactamasa, tales como, por ejemplo, ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam, los carbapenémicos, tales como, por ejemplo, imipenem o meropenem, los monobactamas, tales como, por ejemplo, aztreonam, las tetraciclinas, como, por ejemplo, tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, minociclina o tigeciclina, los antibióticos macrólidos, como, por ejemplo, la eritromicina A, los antibióticos glicopeptídicos, tales como, por ejemplo, vancomicina, las enedinas, tales como, por ejemplo, caliceacina, **virostáticos**, por ejemplo, aciclovir, valaciclovir, ganciclovir, valganciclovir, penciclovir, famciclovir, brivudina, cidofovir, foscarnet, idoxuridina o tromantadina, **antihipertensivos**, en particular los **inhibidores de la ECA**, como, por ejemplo, benazepril, captopril, cilazapril, enalapril, fosinopril, lisinopril, perindopril, quinapril, ramipril,trandolapril o zofenopril, los **sartanos**, tales como, por ejemplo, losartán, balsartán, irbesartán, candesartán, eprosartán, olmesartán o telmisartán, los **inhibidores de renina**, como por ejemplo, aliskiren, y los **betabloqueantes**, como, por ejemplo, propranolol, pindolol, sotalol, bopindolol, atenolol, bisoprolol, celiprolol, esmolol, metoprolol, nebivolol, oxprenolol, carvedilol o labetalol, **uricosúricos**, por ejemplo probenecid o benzbromarona, o **diuréticos**, por ejemplo acetazolamida, furosemida, torasemida, bumetanida, piretanida, azosemida, ácido etacilínico, etozolina, hidroclorotiazida, benzotiazida, clorotiazida, clortalidona, indapamida, mefrusida, metolazona, clopamida, xipamida, hidroflumetiazida, meticlotiazida, politiazida, amilorida, triametereno, espironolactona, canrenona, eplerenona o espironolactona.

Agentes antitumorales adicionales, por ejemplo agentes que son eficaces contra células en proliferación, están de acuerdo con la invención también compuestos activos. Los agentes antitumorales ilustrativos incluyen citoquinas, tales como, por ejemplo, interleucina-2 (IL-2), factor de necrosis tumoral o similares, promotores de la reacción de inflamación de lectina (selectinas), tales como, por ejemplo, L-selectina, E-selectina, P-selectina o similar, y moléculas similares.

De acuerdo con la invención, una o más moléculas de compuesto activo idénticas o diferentes se pueden unir por conjugado de acuerdo con la invención.

Igualmente, en particular en el caso de macromoléculas, tales como, por ejemplo, moléculas de compuesto activo relativamente grandes, por ejemplo proteínas, por el contrario es posible para dos o más, preferiblemente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, conjugados de acuerdo con la invención que estén unidos a una molécula de compuesto activo para permitir la acumulación específica del riñón del compuesto activo. La unión covalente de los conjugados de acuerdo con la invención a la macromolécula normalmente también tiene lugar en este caso. De acuerdo con la invención, se considera que las macromoléculas no son solo moléculas grandes, tales como proteínas, sino también cualquier forma de partículas (por ejemplo, nanopartículas), liposomas u otros sistemas por medio de los cuales pueden transportarse compuestos activos o a los cuales pueden unirse compuestos activos.

Además de las moléculas de compuesto activo, o en lugar de las moléculas de compuesto activo, otras funcionalidades, tales como, por ejemplo, funcionalidades para métodos de diagnóstico o de formación de imágenes, también se pueden unir al conjugado de acuerdo con la invención.

Igualmente, las cadenas laterales que contienen flúor se pueden incorporar como funcionalidad a través de espaciadores opcionales. La acumulación de las moléculas correspondientes en los riñones se puede representar con la ayuda de la tomografía de resonancia nuclear <sup>19</sup>F. Los átomos de flúor dispuestos muy simétricamente, que tienen una frecuencia de resonancia uniforme, son en particular ventajosos en este caso. Para mejorar la señal de <sup>19</sup>F, se puede usar un agente de contraste que es habitual en la tomografía de espín nuclear, tal como, por ejemplo, gadobutrol (Magnevist®).

Si el conjugado de acuerdo con la invención comprende agentes complejantes, es en particular ventajoso integrar gadolinio o manganeso u otro ion metálico fuertemente paramagnético que sea conocido por los expertos en la materia con la ayuda de un agente complejante localizado en el conjugado de acuerdo con la invención. Los agentes complejantes adecuados en este caso son, por ejemplo, DOTA y DTPA.

Además, los agentes complejantes que no pertenecen al grupo de compuestos que llevan grupos carboxilo pueden conjugarse, también opcionalmente mediante espaciadores. Los ejemplos son radicales hidroxiquinolona, tiourea, guanidina, ditiocarbamato, ácido hidroxámico, amida oxima, ácido aminofosfórico, poliamino (cíclico), mercapto, 1,3-dicarbonilo y éter corona con diversos metales que en algunos casos tienen actividades muy específicas con

respecto a los iones.

Las funcionalidades para el direccionamiento específico de células, tales como, por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos o aptámeros, también se pueden unir al conjugado de acuerdo con la invención. También se pueden unir colorantes fluorescentes o interleucinas, tales como IL-2.

- 5 "Peptídicamente unido" de acuerdo con la invención significa que existe un enlace -NH-CO- entre dos unidades monoméricas, como también está presente en péptidos o proteínas entre dos aminoácidos como unidades monoméricas. Esto significa que dos unidades monoméricas están unidas de tal manera que un grupo -NH del monómero se une a un grupo -C=O del otro monómero. Por lo tanto, surge la siguiente estructura de enlace:

M-NH-CO-M-NH-CO-M-NH-CO-M, donde M es la parte del monómero que no está involucrada en la unión.

- 10 El conjugado de la presente invención consiste al menos en dos partes unidas covalentemente, un compuesto que lleva grupos carboxilo y un oligómero. En una realización preferida, el conjugado comprende un oligómero, uno o más compuestos que llevan grupos carboxilo y una o más moléculas de compuesto activo. En una realización en particular preferida, el conjugado de acuerdo con la invención comprende una pluralidad de, es decir, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, compuestos idénticos o diferentes que llevan grupos carboxilo y una pluralidad de, es decir, 15 por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, moléculas de compuesto activo idénticas o diferentes.

Se ha comprobado que los conjugados de acuerdo con la invención se acumulan en particular específicamente en el riñón si un compuesto que lleva grupos carboxilo está unido covalentemente del 10 al 80 % de las unidades monoméricas.

- 20 De acuerdo con la invención, un agente complejante es cualquier estructura molecular que es capaz de formar un complejo de iones metálicos, es decir, de formar un complejo de quelato de metal con los iones metálicos. Los agentes complejantes también se conocen con frecuencia como agentes quelantes. Los ejemplos de agentes complejantes que son adecuados de acuerdo con la invención son EDTA, NOTA, TETA, ácido iminodiacético, DOTA o DTPA. Se da preferencia particular de acuerdo con la invención a agentes complejantes que se unen a iones metálicos que pueden detectarse en mediciones de SPECT, TEP, TC o MRT. Los agentes complejantes preferidos 25 son DOTA o DTPA o derivados de los mismos. De acuerdo con la invención, los agentes complejantes son moléculas a las que los iones metálicos ya están unidos y también moléculas a las que los iones metálicos pueden unirse, pero no están unidos en la etapa actual.

- 30 Los iones metálicos que son adecuados según la invención para unirse a agentes complejantes son, por ejemplo,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Gd}^{3+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Dy}^{3+}$ ,  $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Yb}^{3+}$  y/o  $\text{Mn}^{2+}$  o también los iones de radionucleidos, tales como emisores gamma, emisores de positrones, emisores de electrones Auger, emisores alfa y emisores de fluorescencia, por ejemplo  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{140}\text{La}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{88}\text{Y}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{159}\text{Gd}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{72}\text{As}$ ,  $^{72}\text{Se}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{101\text{m}}\text{Rh}$ ,  $^{119}\text{Sb}$ ,  $^{128}\text{Ba}$ ,  $^{197}\text{Hg}$ ,  $^{211}\text{At}$ ,  $^{169}\text{Eu}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Pb}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{198}\text{Au}$  y/o  $^{199}\text{Ag}$ .

Ejemplos de iones metálicos adecuados y su uso respectivo son:

- 35
- $^{111}\text{In}$  para SPECT
  - $^{68}\text{Ga}$  para TEP
  - $^{90}\text{Y}$  para terapia
  - Gd, Eu, Mn para MRT
  - tántalo, wolframio u otros elementos que tengan un número atómico alto para tomografía computarizada

- 40 De acuerdo con la invención, el término oligómero se aplica a la parte del conjugado que consiste en un oligómero que consta de unidades monoméricas unidas peptídicamente.

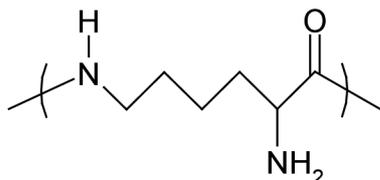
De acuerdo con la invención, el oligómero consiste en  $\epsilon$ -pollisina que tiene entre 10 y 50 unidades monoméricas.

- 45 De acuerdo con la invención, el término unidad monomérica se aplica a cualquier parte del oligómero que esté peptídicamente unida a al menos una parte más del oligómero. Las unidades monoméricas terminales en este caso generalmente están ligadas peptídicamente a una unidad monomérica adicional. Las unidades monoméricas en el medio del oligómero están peptídicamente unidas a otras dos unidades monoméricas. Las unidades monoméricas que están peptídicamente unidas a otros tres monómeros están ubicadas en puntos de ramificación. En el caso de

unidades monoméricas en el medio del oligómero, la unidad monomérica normalmente proporciona, por un lado, la parte -NH del enlace peptídico y, por otro lado, la parte -CO.

- 5 De acuerdo con la invención, una unidad monomérica de  $\epsilon$ -lisina es una unidad de  $\epsilon$ -lisina, una unidad de ornitina, una unidad de ácido 2,3-diaminopropiónico o una unidad de ácido 2,4-diaminobutírico. La unidad monomérica de  $\epsilon$ -lisina consiste preferiblemente en una unidad de lisina. El término unidad en este caso está destinado en cada caso a mostrar que es una unidad o monómero en un oligómero unido peptídicamente y no en el aminoácido libre.

Una unidad de  $\epsilon$ -lisina tiene la siguiente estructura química:



Las unidades monoméricas de  $\epsilon$ -lisina pueden estar en forma D o L en el oligómero según la invención.

- 10 Otras unidades monoméricas típicas que el oligómero según la invención puede comprender además de las unidades monoméricas de  $\epsilon$ -lisina son aminoácidos naturales o sintéticos, tales como, en particular, alanina,  $\beta$ -alanina, glicina, ácido glutámico, ácido aspártico o arginina.

Otras unidades monoméricas típicas son unidades monoméricas que tienen una función espaciadora de la fórmula

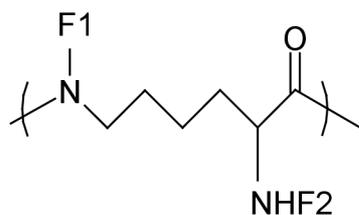
-NH-SP-CO- I

- 15 donde SP puede ser un grupo alquileo, alquilenilo o alquilileno de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, en el que uno o más grupos metileno no adyacentes pueden ser reemplazados por -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>O-, -C(O)-, -C(O)O-, -CH<sub>2</sub>-, -CHR'-, -CR'<sub>2</sub>-, -CR'=CH-, -CH-CR'-, -CH=CH-, -CR'=CR'-, -C≡C-, -N<sup>+</sup>R'<sub>2</sub>-, -P(O)R'O-, -C(O)NR'-, -SO<sub>2</sub>NR'-, -OP(O)R'O-, -P(O)(NR'<sub>2</sub>)NR'-, -PR'<sub>2</sub>=N- o -P(O)R'- donde R' = alquilo C<sub>1</sub> a C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub> a C<sub>7</sub>, fenilo no sustituido o sustituido.

- 20 SP significa preferiblemente cadenas de alquilo C<sub>3</sub> a C<sub>10</sub> lineales, cadenas C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub> lineales que tienen uno o más grupos alquileo, cadenas de etilenglicol que tienen de dos a diez unidades de etilenglicol o cadenas de oligopéptidos.

- 25 Otras unidades monoméricas típicas son aquellas que contienen funcionalidades para el enlace de espaciadores, compuestos activos, agentes complejantes, péptidos, colorantes, solubilizantes, grupos protectores, una fase sólida o componentes similares o a cuyos componentes tales como compuestos activos, agentes complejantes, péptidos, solubilizadores, grupos protectores, una fase sólida o colorantes ya están unidos directamente o mediante un espaciador. Las unidades monoméricas de este tipo preferiblemente tienen al menos uno de los siguientes grupos funcionales -NH<sub>2</sub>, -SH, -OH, -Hal (por ejemplo -Cl, -Br, -I), -alquino, -NCS, -NCO, -SO<sub>2</sub>Cl, -azida, -carbonato, -aldehído, -epóxido, -COOH, -COOR, donde R en este caso es preferiblemente un halógeno o preferiblemente un activador, es decir, un buen grupo saliente, tal como, por ejemplo, N-hidroxisuccinimida, pentafluorofenilo o para-
- 30 nitrofenilo, o están unidos a compuestos activos, agentes complejantes, péptidos, colorantes o componentes similares a través de un grupo funcional de este tipo.

- Además, el oligómero de acuerdo con la invención puede comprender unidades monoméricas de  $\epsilon$ -lisina que se derivatizan. Estas son unidades monoméricas en las que funcionalidades adicionales (F1/F2) están unidas correspondientemente al grupo NH y/o al grupo amino. F1 y F2 en este caso pueden ser, independientemente entre sí, un grupo acetilo o también compuestos activos, agentes complejantes, péptidos, colorantes, solubilizantes, grupos protectores, una fase sólida o componentes similares unidos directamente o mediante un espaciador. Una
- 35 unidad de  $\epsilon$ -lisina correspondiente en la que se ha introducido una derivatización con los grupos F1 y/o F2 se representa en la fórmula II.



II

Es evidente para el experto en la materia que las fórmulas representadas anteriormente representan unidades monoméricas en el medio de la cadena de oligómeros y que las unidades monoméricas terminales, dependiendo de si están ubicadas en el extremo C o N, en cada caso llevar un grupo COOH o COOR en lugar de -CO- o llevar un grupo NH<sub>2</sub>, NF1H, NF1R, NHR o NR<sub>2</sub> en lugar de -NH- o -NF1-, donde R normalmente es H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, una función espaciadora para la unión de compuestos activos, agentes complejantes, péptidos, colorantes, solubilizantes, grupos protectores, una fase sólida o componentes similares, o un compuesto activo, agente complejante, péptido, colorante, solubilizante, grupo protector, una fase sólida o componente similar unido directamente o mediante un espaciador.

De acuerdo con esto, los derivados de ε-polilisina son oligómeros según la invención que no se forman completamente a partir de unidades de ε-lisina, sino que en su lugar se producen otras unidades monoméricas de ε-lisina, tales como, por ejemplo, unidades de ornitina, y/o en las que, de acuerdo con las especificaciones de acuerdo con la invención, se acumulan algunas de las unidades monoméricas, por ejemplo, a partir de otros aminoácidos distintos de ε-lisina, ornitina, ácido 2,3-diaminopropiónico o ácido 2,4-diaminobutírico y/o a partir de compuestos de la fórmula I.

La presente invención se basa en el sorprendente efecto de que los conjugados de derivados de ε-polilisina y ε-polilisina con compuestos que llevan grupos carboxilo se acumulan virtualmente de forma exclusiva en el riñón, por ejemplo después de la inyección en el torrente sanguíneo o después de la inyección subcutánea. Correspondientemente, los conjugados de acuerdo con la invención son adecuados para su uso en métodos terapéuticos para el tratamiento del riñón, en métodos de formación de imágenes para la representación del riñón y para el direccionamiento a los riñones.

Los compuestos de acuerdo con la invención se preparan preferiblemente a partir de ε-polilisina conjugando los compuestos correspondientes que llevan grupos carboxilo y preferiblemente una o más moléculas de compuesto activo o funcionalidades adicionales, opcionalmente después de la activación correspondiente.

La ε-polilisina es un homopolímero del aminoácido L-lisina. La ε-polilisina es producida por la bacteria *Streptomyces albulus* en un proceso aeróbico. Esta ε-polilisina producida naturalmente comprende aproximadamente 30 unidades de L-lisina. La ε-polilisina está aprobada en Japón como conservante antimicrobiano para alimentos. En contraste con la α-polilisina, la ε-polilisina no se degrada enzimáticamente por las proteasas.

Se puede emplear cualquier tipo de ε-polilisina de acuerdo con la invención, es decir, por ejemplo, ε-polilisina producida de forma natural, producida por ingeniería genética o producida sintéticamente. La síntesis química de ε-polilisina se lleva a cabo, de manera correspondiente a la síntesis de péptidos convencional, utilizando L-lisina correspondientemente protegida, de forma que el enlace peptídico tiene lugar a través del grupo ε-amino de la cadena lateral.

Para la preparación de los compuestos de acuerdo con la invención, se puede emplear ε-polilisina que tiene una cierta longitud de cadena (por ejemplo, ε-polilisina producida sintéticamente o ε-polilisina natural purificada) o también una mezcla de ε-polilisina de varias longitudes de cadena, tal como se obtiene, por ejemplo, naturalmente a partir de *Streptomyces albulus*. De acuerdo con la invención, tanto la ε-polilisina que tiene una cierta longitud de cadena como también mezclas de ε-polilisina de diversas longitudes de cadena o mezclas que comprenden diversos derivados de ε-polilisina caen bajo el término ε-polilisina y derivados de ε-polilisina.

Se ha comprobado además que no solo los conjugados de ε-polilisina, sino también los conjugados de derivados de ε-polilisina, exhiben una excelente acumulación en el riñón.

Los conjugados típicos que son adecuados de acuerdo con la invención también se pueden representar mediante la fórmula III

A-(Lys)<sub>n</sub>-E III

en la que

n es un número entre 10 y 50,

A es

5 - uno o más grupos terminales cargados o sin carga unidos directamente o a través de un espaciador o una funcionalidad dendrítica, por ejemplo hidrógeno, -CN, -OR', -NR'<sub>2</sub>, -P(O)R'<sub>2</sub>, -P(O)(OR')<sub>2</sub>, -P(O)(NR'<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)OH, -C(O)NR'<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NR'<sub>2</sub>, -C(O)Hal, SO<sub>2</sub>OH, -SO<sub>2</sub>Hal, -NO<sub>2</sub>, -Hal o

10 - uno o más grupos unidos directamente o mediante un espaciador o una funcionalidad dendrítica, tal como, por ejemplo, compuestos que llevan grupos carboxilo, moléculas de compuesto activo, agentes complejantes, colorantes, uno o más aminoácidos idénticos o diferentes, péptidos, proteínas, solubilizantes, grupos protectores o una fase sólida

E es

- uno o más grupos terminales cargados o no, unidos directamente o mediante un espaciador o una funcionalidad dendrítica, por ejemplo hidrógeno, -CN, -OR', -NH<sub>2</sub>, NHR', -NR'<sub>2</sub>, -P(O)R'<sub>2</sub>, -P(O)(OR')<sub>2</sub>, -P(O)(NR'<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)OH, -C(O)NR'<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NR'<sub>2</sub>, -C(O)Hal, SO<sub>2</sub>OH, -SO<sub>2</sub>Hal, -NO<sub>2</sub>, -Hal o

15 - uno o más grupos unidos directamente o a través de un espaciador o una funcionalidad dendrítica, tal como, por ejemplo, compuestos que llevan grupos carboxilo, moléculas de compuestos activos, agentes complejantes, colorantes, uno o más compuestos idénticos o

Lys es, independientemente entre sí,

- una unidad monomérica de ε-lisina correspondiente a la definición ya dada

20 - una unidad monomérica que se ajusta a la fórmula I o II

- un grupo que se ajusta a la fórmula IV

(NH-M-CO) IV

donde M puede denotar, independientemente entre sí,

25 -, -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>O-, -C(O)-, -C(O)O-, -CH<sub>2</sub>-, -CHR'-, -CR'<sub>2</sub>-, -CR'=CH-, -CH-CR'-, -CH=CH-, -CR'=CR'-, -C≡C-, -N<sup>+</sup>R'<sub>2</sub>-, -P(O)R'O-, -C(O)NR'-, -SO<sub>2</sub>NR'-, -OP(O)R'O-, -P(O)(NR'<sub>2</sub>)NR'-, -PR'<sub>2</sub>=N- o -P(O)R'- o

- alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 20 átomos de C,

- alqueno de cadena lineal o ramificada que tiene de 2-20 átomos C y uno o más dobles enlaces,

- alquino de cadena lineal o ramificada que tiene de 2-20 átomos de C y uno o más triples enlaces,

30 - cicloalquilo saturado, parcial o totalmente insaturado que tiene de 3-7 átomos de C, que puede estar sustituido con grupos alquilo que tienen de 1-6 átomos de C,

donde uno o más grupos metileno no adyacentes pueden ser reemplazados por -O- o -S- y los grupos metileno adyacentes pueden ser reemplazados por grupos alqueno o alquino,

35 donde uno o más grupos metileno pueden ser reemplazados, independientemente entre sí, por -O-, -S-, -S(O)-, -SO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>O-, -C(O)-, -C(O)O-, -CH<sub>2</sub>-, -CHR'-, -CR'<sub>2</sub>-, -CR'=CH-, -CH-CR'-, -CH=CH-, -CR'=CR'-, -C≡C-, -N<sup>+</sup>R'<sub>2</sub>-, -P(O)R'O-, -C(O)NR'-, -SO<sub>2</sub>NR'-, -OP(O)R'O-, -P(O)(NR'<sub>2</sub>)NR'-, -PR'<sub>2</sub>=N- o -P(O)R'-

y uno o más grupos metileno presentes en M pueden estar mono- o sustituidos, independientemente entre sí, por R", donde

R' es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> lineal o ramificado, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, fenilo no sustituido o sustituido y

R" es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> lineal o ramificado, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, fenilo no sustituido o sustituido

o -CN, -OR', -NH<sub>2</sub>, NHR', -NR'<sub>2</sub>, -P(O)R'<sub>2</sub>, -P(O)(OR')<sub>2</sub>, -P(O)(NR'<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)OH, -C(O)NR'<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NR'<sub>2</sub>, -C(O)Hal, SO<sub>2</sub>OH, -SO<sub>2</sub>Hal, -NO<sub>2</sub>, -Hal y

Hal = -F, -Cl, -Br o -I,

5 donde los compuestos que llevan grupos carboxilo, compuestos activos, agentes complejantes, péptidos, solubilizantes, grupos protectores, una fase sólida, colorantes o componentes similares se pueden unir, directamente o a través de un espaciador, a todos los grupos funcionales que son adecuados para la conjugación (para ejemplo NH, NH<sub>2</sub>, COOH, OH, -SH, -Hal (por ejemplo -Cl, -Br, -I), -alquino, -azida, -aldehído) de las unidades monoméricas Lys, independientemente entre sí, con la condición de que el compuesto de acuerdo con la invención contenga al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo y se define adicionalmente como en la reivindicación 1.

10 En una realización preferida del compuesto de acuerdo con la invención, A es -C(O)OR', -C(O)OH, -C(O)NR'<sub>2</sub> o -C(O)Hal o uno o más componentes unidos directamente o a través de un espaciador o una funcionalidad dendrítica, como compuestos que llevan grupos carboxilo, compuestos activos, agentes complejantes, péptidos, solubilizantes, grupos protectores, una fase sólida o colorantes.

A es en particular preferible -OH, -OCH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

15 o una o más moléculas de compuesto activo unidas directamente o a través de un espaciador

o una funcionalidad dendrítica.

En una realización preferida, E es -H, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

o

20 uno o más componentes unidos directamente o mediante un espaciador o una funcionalidad dendrítica, tales como compuestos que llevan grupos carboxilo, compuestos activos, agentes complejantes, péptidos, solubilizantes, grupos protectores, una fase sólida o colorantes.

E es en particular preferiblemente una o más moléculas de compuesto activo unidas directamente o a través de un espaciador o una funcionalidad dendrítica.

25 Si el compuesto de acuerdo con la invención contiene uno o más grupos Lys que contienen un grupo NH<sub>2</sub> o COOH, se pueden unir unidades monoméricas adicionales a través de ellos mediante un enlace peptídico, y surgen compuestos de ramificación única o múltiple. Los compuestos de acuerdo con la invención son preferiblemente no ramificados.

n es un número entre 10 y 50.

30 Los conjugados de acuerdo con la invención preferiblemente comprenden no solo uno, sino una pluralidad de compuestos que llevan grupos carboxilo. Estos se pueden unir directamente o mediante un espaciador al extremo carboxilo y/o amino del oligómero y/o al grupo funcional de las unidades monoméricas que es adecuado para la conjugación (por ejemplo NH, -NH<sub>2</sub>, -COOH, -OH, -SH, -Hal (por ejemplo -Cl, -Br, -I), -alquino, -azida, -aldehído).

En una realización preferida, la unión de los compuestos que llevan grupos carboxilo tiene lugar a través de grupos amino de las unidades monoméricas, por ejemplo, el grupo amino libre de la ε-lisina.

35 De acuerdo con la invención, el conjugado de acuerdo con la invención debe contener entre 3 y 6 compuestos que llevan grupos carboxilo por 10 unidades monoméricas. Sin embargo, igualmente también es posible que un compuesto que lleva grupos carboxilo esté unido a más de 9 de 10 unidades monoméricas o a todas las unidades monoméricas. El número óptimo de compuestos que llevan grupos carboxilo por 10 unidades monoméricas depende del tipo de compuesto que lleva los grupos carboxilo y del tipo de unidades monoméricas. El número preferido  
40 mencionado anteriormente de compuestos que llevan grupos carboxilo por unidad monomérica se aplica, en particular, a oligómeros que se forman completamente a partir de unidades monoméricas de ε-lisina. La distribución de los compuestos que llevan grupos carboxilo en el conjugado según la invención puede ser aleatoria, lo que significa que, por ejemplo, las primeras unidades monoméricas contienen -NH<sub>2</sub>, seguido de una unidad monomérica con un compuesto que lleva grupos carboxilo, y a continuación una que contiene -NH<sub>2</sub>, a continuación dos veces una  
45 unidad monomérica que lleva un compuesto que lleva grupos carboxilo, a continuación otra vez dos que contienen -NH<sub>2</sub>, etc.

Igualmente, la distribución de los agentes complejantes en el compuesto de acuerdo con la invención también se

puede ordenar de tal manera que, por ejemplo, cada segunda unidad monomérica tenga un compuesto que lleva grupos carboxilo unidos a la misma. El ordenamiento también puede tener lugar de tal manera que todas las unidades monoméricas en un extremo del conjugado de acuerdo con la invención tengan un compuesto conjugado que lleva grupos carboxilo, mientras que el resto de los monómeros contiene funciones NH<sub>2</sub> libres.

- 5 Los compuestos que llevan grupos carboxilo preferiblemente se distribuyen aleatoriamente en los conjugados de acuerdo con la invención.

Los conjugados de acuerdo con la invención pueden prepararse, en particular, mediante diversos procesos conocidos por las personas expertas en la técnica en el área de la síntesis de péptidos.

### 1. Síntesis a partir de ε-polilisina

- 10 En este caso, la ε-polilisina sintética o natural de longitud de cadena uniforme o diversa normalmente se hace reaccionar con los compuestos correspondientes que llevan grupos carboxilo en solución. Para este fin, por ejemplo, en primer lugar, pueden activarse los compuestos que llevan grupos carboxilo. Esto puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante la activación de uno o más de sus grupos carboxilo convirtiéndolos en el éster o cloruro de ácido activo. Esto va seguido por la reacción con ε-polilisina, donde la conjugación preferiblemente tiene lugar en los grupos amino libres. Alternativamente, por ejemplo, uno o más grupos carboxilo del compuesto que lleva grupos carboxilo pueden activarse usando un reactivo de acoplamiento, tal como dicitclohexilcarbodiimida o HATU, y hacerse reaccionar con la ε-polilisina, donde la conjugación preferiblemente tiene lugar en los grupos amino libres. Las condiciones de reacción para reacciones de este tipo son conocidas por los expertos en la materia. Los disolventes adecuados son, por ejemplo, agua, acetonitrilo, DMSO, DMF, dioxano, THF, metanol o mezclas de dos o más de dichos disolventes.

### 2. Síntesis en fase sólida

- En particular, si el conjugado debe comprender una o más unidades monoméricas que no están constituidas por ε-lisina o que consisten en unidades monoméricas de ε-lisina derivatizadas, puede ser ventajosa una síntesis en fase sólida para la preparación de los conjugados según la invención. Esta síntesis en fase sólida se lleva a cabo de manera correspondiente a una síntesis de péptidos convencional (por ejemplo, síntesis de péptidos Fmoc o síntesis de péptidos Boc). Las síntesis en fase sólida de este tipo son conocidas por los expertos en la materia. Los libros de texto adecuados para la síntesis de péptidos son Solid-Phase Peptide Synthesis: 289 (Methods in Enzymology) de Sidney P. Colowick (autor), Gregg B. Fields (editor), Melvin I. Simon (editor) Academic Press Inc (noviembre de 1997) o Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach de W. Chan (autor), W.C. Chan (editor), Peter D. White (editor) Oxford Univ Pr" (2 de marzo de 2000). Los monómeros empleados en cada caso se seleccionan de tal manera que se forma un oligómero o conjugado correspondiente a la presente invención. Dependiendo del tipo de unidad monomérica, la síntesis puede llevarse a cabo usando una unidad monomérica derivatizada directamente o una unidad monomérica que está protegida en primer lugar en el sitio destinado a la derivación. Cuando se completa la síntesis del oligómero, la derivación final con los compuestos que llevan grupos carboxilo, compuestos activos, etc., puede llevarse a cabo ya sea en la fase sólida o después de la escisión de la fase sólida en solución.

La unión de los compuestos que llevan grupos carboxilo en este caso preferiblemente tiene lugar en el oligómero acabado, es decir, todavía en la fase sólida cuando la síntesis en fase sólida del oligómero está completa o después de que este último se haya escindido en solución.

- Si el compuesto que lleva grupos carboxilo o un compuesto activo o componentes similares (el proceso se describe a continuación a modo de ejemplo para un agente complejante) se va a unir, por ejemplo, al extremo N-terminal del oligómero, los oligómeros normalmente se generan con un grupo protector amino terminal, como, por ejemplo, Fmoc. Si el agente complejante es capaz de resistir las condiciones usadas para escindir el oligómero de la resina de síntesis y para desproteger las cadenas laterales, el Fmoc puede escindir del extremo N-terminal del polipéptido completo unido a resina, permitiendo que el agente complejante se una a la amina N-terminal libre. En tales casos, el agente complejante normalmente se activa por procesos que generalmente son conocidos en la técnica para producir un éster activo o un grupo carbonato activo que es eficaz para formar un enlace amida o carbamato con el grupo amino oligomérico. Naturalmente, también es posible usar una química de enlace diferente.

- Para ayudar a minimizar las reacciones secundarias en este caso, los grupos guanidino y amidino pueden bloquearse usando grupos protectores convencionales, tales como, por ejemplo, grupos carbobenciloxi (CBZ), di-t-BOC, PMC, Pbf, N-NO<sub>2</sub> y similares.

Las reacciones de acoplamiento se llevan a cabo mediante procesos de acoplamiento conocidos en disolventes, tales como, por ejemplo, N,N-dimetilformamida (DMF), N-metilpirrolidona, diclorometano y/o agua. Los reactivos de acoplamiento ilustrativos incluyen hexafluorofosfato de O-benzotriazoliloxitetrametiluronio (HATU), dicitclohexilcarbodiimida, bromuro de bromo-tris(pirrolidino)fosfonio (PyBroP), etc. Pueden estar presentes otros

reactivos, tales como, por ejemplo, N,N-dimetilaminopiridina (DMAP), 4-pirrolidinopiridina, N-hidroxisuccinimida o N-hidroxibenzotriazol.

5 De forma correspondiente, también puede tener lugar la unión de compuestos que llevan grupos carboxilo, compuestos activos, agentes complejantes o componentes similares a los grupos amino de las unidades monoméricas de  $\epsilon$ -lisina no terminales.

Si la molécula contiene agentes complejantes, los iones metálicos pueden complejarse mediante métodos conocidos.

10 La presente invención se refiere adicionalmente al uso de los conjugados según la invención para la preparación de una composición farmacéutica o un medicamento, en particular una composición terapéutica, y/o una composición mejoradora de imágenes (por ejemplo, un agente de contraste) y/o un trazador radiomarcado para imágenes médicas nucleares.

15 La presente invención se refiere adicionalmente a los conjugados de acuerdo con la invención a los que uno o más compuestos activos preferiblemente están unidos covalentemente, y/o sales y estereoisómeros farmacéuticamente utilizables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas las proporciones, y opcionalmente excipientes y/o adyuvantes

- como medicamento

- para su uso como medicamento

- como compuesto activo o componente activo en un medicamento

- como agente de diagnóstico

20 - para su uso como agente de diagnóstico

- para su uso en el direccionamiento al riñón

- y, en particular, como medicamento para el tratamiento de enfermedades del riñón.

25 Una composición terapéutica generalmente consiste al menos en el compuesto activo, en este caso el conjugado de acuerdo con la invención con un compuesto activo preferiblemente unido covalentemente, y uno o más solventes y/o excipientes adecuados que permiten la aplicación de la composición terapéutica.

30 Una composición de diagnóstico o agente de diagnóstico sirve como composición de mejora de imagen o de formación de imágenes en métodos de diagnóstico. Un agente de diagnóstico generalmente consiste al menos en la fuente de señal, es decir, el componente de mejora de imagen y/o de formación de imágenes, en este caso el conjugado según la invención, donde en este caso al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo en el conjugado es preferiblemente un agente complejante - y uno o más disolventes y/o excipientes adecuados que permiten la aplicación de la composición de diagnóstico.

35 Para aplicaciones de diagnóstico, el conjugado de acuerdo con la invención preferiblemente sirve como fuente de señal en un medio de contraste que mejora la imagen, permitiendo que este último sea detectado por medio de métodos médicos nucleares y/o radiológicos, tales como SPECT, TEP, ultrasonidos y/o también mediante tomografía de resonancia magnética, métodos de tomografía computarizada y óptica (imágenes de infrarrojo cercano). Los métodos de detección y las aplicaciones de medios de contraste que mejoran la imagen son conocidos por los expertos en la materia. Ejemplos de aplicaciones adecuadas son el diagnóstico de enfermedades del cáncer, cuestiones neurológicas, comprobación de la respuesta a una terapia, comprobación del grado de daño de un riñón en el caso de, por ejemplo, enfermedades autoinmunes y monitorización de terapias génicas, pero también el reconocimiento de cambios celulares.

40 La invención se refiere además a medicamentos o composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un conjugado de acuerdo con la invención y/o sales y estereoisómeros farmacéuticamente utilizables de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas las proporciones, y opcionalmente excipientes y/o adyuvantes.

45 Las composiciones farmacéuticas o medicamentos pueden adaptarse para la administración a través de cualquier método adecuado deseado, por ejemplo, mediante métodos por vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Dichas formulaciones se pueden preparar usando todos los procesos

conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo, combinando el ingrediente activo con el excipiente o excipientes o adyuvante o adyuvantes.

5 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración oral se pueden administrar como unidades separadas, tales como, por ejemplo, cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o alimentos de espuma; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

10 Así, por ejemplo, en el caso de la administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente del ingrediente activo puede combinarse con un excipiente inerte oral, no tóxico y farmacéuticamente aceptable, tal como, por ejemplo, etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se preparan triturando el compuesto a un tamaño fino adecuado y mezclándolo con un excipiente farmacéutico triturado de manera similar, tal como, por ejemplo, un hidrato de carbono comestible, tal como, por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes un sabor, un conservante, un dispersante y un colorante.

15 Las cápsulas se producen preparando una mezcla de polvo como se ha descrito anteriormente y llenando con ella cubiertas de gelatina conformadas. A la mezcla de polvo se le pueden añadir deslizantes y lubricantes, tales como, por ejemplo, ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol en forma sólida, antes de la operación de llenado. También se puede añadir un disgregante o solubilizante, tal como, por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento después de que se haya tomado la cápsula.

20 Además, si se desea o es necesario, también se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, lubricantes y desintegrantes adecuados, así como colorantes. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como, por ejemplo, glucosa o  $\beta$ -lactosa, edulcorantes hechos de maíz, caucho natural y sintético, tales como, por ejemplo, goma arábica, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla en polvo, granulando o prensando en seco la mezcla, añadiendo un lubricante y un disgregante y prensando toda la mezcla para dar comprimidos. Se prepara una mezcla en polvo mezclando el compuesto triturado de forma adecuada con un diluyente o una base, como se ha descrito anteriormente, y opcionalmente con un aglutinante, tal como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de la disolución, tal como, por ejemplo, parafina, un acelerador de absorción, tal como, por ejemplo, una sal cuaternaria, y/o un absorbente, tal como, por ejemplo, bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla en polvo se puede granular humedeciéndola con un aglutinante, tal como, por ejemplo, jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de celulosa o materiales poliméricos y presionándola a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, la mezcla de polvo se puede pasar a través de una máquina de fabricación de comprimidos, dando trozos de forma no uniforme, que se rompen para formar gránulos. Los gránulos se pueden lubricar mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral con el fin de evitar que se pegue a los moldes de moldeo de comprimidos. La mezcla lubricada se prensa para dar comprimidos. Los compuestos de acuerdo con la invención también se pueden combinar con un excipiente inerte de flujo libre y a continuación se pueden prensar directamente para dar comprimidos sin llevar a cabo las etapas de granulación o de secado en seco. Puede estar presente una capa protectora transparente u opaca que consiste en una capa de sellado de goma laca, una capa de azúcar o material polimérico y una capa brillante de cera. Se pueden añadir colorantes a estos recubrimientos para poder diferenciarlos entre diferentes unidades de dosificación.

45 Los líquidos orales, tales como, por ejemplo, solución, jarabes y elixires, se pueden preparar en forma de unidades de dosificación de manera que una cantidad dada comprenda una cantidad previamente especificada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el compuesto en una solución acuosa con un sabor adecuado, mientras que los elixires se preparan usando un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones se pueden formular por dispersión del compuesto en un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes, tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados y polioxietilen sorbitol éteres, conservantes, aditivos de sabor, tales como, por ejemplo, aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina, u otros edulcorantes artificiales y similares.

Las formulaciones de la unidad de dosificación para administración oral pueden, si se desea, encapsularse en microcápsulas. La formulación también se puede preparar de tal manera que la liberación se extienda o se retrase, tal como, por ejemplo, mediante revestimiento o incrustación de material particulado en polímeros, cera y similares.

55 Los conjugados de acuerdo con la invención también pueden administrarse en forma de sistemas de administración de liposomas, tales como, por ejemplo, vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas se pueden formar a partir de diversos fosfolípidos, tales como, por ejemplo, colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

5 Los conjugados de acuerdo con la invención también pueden administrarse usando anticuerpos monoclonales como vehículos individuales a los que se conjugan los conjugados. Los conjugados también se pueden acoplar a polímeros solubles como vehículos de medicamento dirigidos. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidofenol, polihidroxietilaspirtamidofenol o poli (óxido de etileno) polilisina, sustituidos con radicales de palmitoilo. Los compuestos además pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables que son adecuados para lograr la liberación controlada de un medicamento, por ejemplo ácido poliláctico, poli-ε-caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidroxipiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloques reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica se pueden administrar como parches independientes para un contacto prolongado y estrecho con la epidermis del receptor. De este modo, por ejemplo, el ingrediente activo puede liberarse del esparadrupo mediante iontoforesis, como se describe en términos generales en Pharmaceutical Research, 3 (6), 318 (1986).

Los compuestos farmacéuticos adaptados para administración tópica se pueden formular como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, aerosoles o aceites.

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración rectal se pueden administrar en forma de supositorios o enemas.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal en las que la sustancia portadora es un sólido comprenden un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20-500 micrómetros, que se administra de la manera en que se toma el tabaco, es decir, mediante inhalación rápida a través de los conductos nasales cerca de la nariz de un recipiente que contiene el polvo que se encuentra. Las formulaciones adecuadas para la administración como pulverización nasal o gotas nasales con un líquido como sustancia portadora comprenden soluciones de ingrediente activo en agua o aceite.

25 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración por inhalación abarcan polvos o nieblas finamente particulados, que pueden generarse mediante diversos tipos de dispensadores presurizados con aerosoles, nebulizadores o insufladores.

30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que comprenden antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos, por medio de los cuales la formulación se vuelve isotónica con la sangre del receptor a tratar; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas, que pueden comprender medios de suspensión y espesantes. Las formulaciones se pueden administrar en recipientes de una sola dosis o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y se almacenan en estado criodesecado (liofilizado), de modo que solo es necesaria la adición del líquido estéril portador, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de usar. Las soluciones y suspensiones de inyección preparadas de acuerdo con la receta se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

Los conjugados de acuerdo con la invención se administran preferiblemente por vía parenteral.

35 Ni que decir tiene que, además de los constituyentes mencionados anteriormente, las formulaciones también pueden comprender otros agentes habituales en la técnica con respecto al tipo particular de formulación; así, por ejemplo, las formulaciones que son adecuadas para la administración oral pueden comprender aromas.

40 Una cantidad terapéuticamente eficaz del conjugado de acuerdo con la invención depende de una serie de factores, que incluyen el tipo de compuesto activo acoplado, la edad y el peso del paciente, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la naturaleza de la formulación y el método de administración.

45 La presente invención también se refiere a un kit para la preparación de una composición farmacéutica, en particular una composición mejoradora de imágenes o terapéutica, que comprende al menos un conjugado de acuerdo con la invención. Si este conjugado contiene un agente complejante, este preferiblemente aún no ha complejado ningún ion metálico que tenga una acción terapéutica o mejoradora de la imagen. El conjugado de acuerdo con la invención puede estar en forma disuelta en el kit en un disolvente (por ejemplo, un tampón acuoso) o preferentemente en forma de liofilizado.

50 Dado que los iones metálicos que forman complejos con el agente complejante del conjugado de acuerdo con la invención son radiactivos para muchas aplicaciones, las composiciones farmacéuticas que comprenden el conjugado no pueden prepararse con tanta anticipación como se desee. Además, debido a la radiactividad, deben seguirse ciertos procesos relativos a la seguridad en el trabajo durante la preparación. Por esta razón, de acuerdo con la invención se prefiere proporcionar un kit que comprenda el conjugado según la invención, donde el agente complejante aún no ha complejado los iones metálicos necesarios para la aplicación final.

Se ha comprobado que los conjugados de acuerdo con la invención ya se han acumulado específicamente, es decir, de forma exclusiva o virtualmente exclusiva, en el riñón poco tiempo después de la aplicación. En el caso de la administración intravenosa preferida de los conjugados según la invención, se observa acumulación en el riñón después de solo 5 minutos. Después de una hora, más del 30 %, preferiblemente más del 50 %, en particular preferiblemente más del 70 %, muy en particular preferiblemente más del 80 % de la dosis inyectada se localiza en el riñón (% de datos basados en la medición de la radioactividad).

En estudios de distribución de órganos con conjugados radiomarcados según la invención (por ejemplo, mediciones de TEP o imágenes no invasivas), los conjugados de acuerdo con la invención normalmente muestran un enriquecimiento de al menos el doble, preferiblemente de al menos cinco veces, en particular preferiblemente un enriquecimiento de al menos diez veces en el riñón en relación con el resto del cuerpo (sangre, corazón, pulmón, bazo, hígado, músculo, cerebro) una hora después de la aplicación. Esto significa que la señal, que se correlaciona directamente con la cantidad de compuesto radiomarcado en el riñón es al menos dos veces más fuerte que la suma conjunta de las señales obtenidas de sangre, corazón, pulmón, bazo, hígado, músculo y cerebro.

Los conjugados de acuerdo con la invención por tanto pueden emplearse extremadamente bien para aplicaciones de diagnóstico, tales como gammagrafía renal, TEP renal y MRT renal, pruebas funcionales del riñón en general, para el tratamiento y diagnóstico de cáncer renal y, si se desea, metástasis de cáncer renal, tomografía computarizada del riñón y/o ultrasonidos del riñón.

La aplicación terapéutica es, en particular, en el direccionamiento del fármaco hacia el órgano del riñón. En particular, los conjugados de acuerdo con la invención pueden servir como medicamentos para el tratamiento de enfermedades del riñón o de enfermedades en cuyo tratamiento se emplean medicamentos cuyo sitio de acción es el riñón. Uno o más compuestos activos, tales como antibióticos, inhibidores de inflamación, inhibidores de la ACE, diuréticos, inmunosupresores o agentes quimioterapéuticos, están preferiblemente unidos a los conjugados de acuerdo con la invención, por ejemplo a través de secuencias espaciadoras escindibles. También es posible el uso de los conjugados según la invención para bloquear la resorción de sustancias tóxicas para el riñón.

De acuerdo con la invención, el direccionamiento al riñón significa la obtención de una absorción incrementada de la sustancia aplicada en el riñón en relación con el resto del cuerpo. Durante el direccionamiento al riñón con el conjugado de acuerdo con la invención, preferiblemente se logra un enriquecimiento de al menos dos veces, preferiblemente de al menos cinco veces, en particular preferiblemente un enriquecimiento de al menos diez veces en el riñón en relación con el resto del cuerpo (sangre, corazón, pulmón, bazo, hígado, músculo, cerebro) por administración de un conjugado de acuerdo con la invención. Estos valores se determinan por medio de estudios de distribución de órganos con conjugados radiomarcados de acuerdo con la invención (por ejemplo, mediciones de TEP o imágenes no invasivas). El enriquecimiento en el riñón generalmente tiene lugar después de 30 minutos a 8 horas, dependiendo del tipo de aplicación.

Incluso sin comentarios adicionales, se supone que una persona experta en la materia podrá utilizar la descripción anterior en el alcance más amplio. Por lo tanto, las realizaciones y ejemplos preferidos deberían considerarse meramente como una divulgación descriptiva.

## Ejemplos

### 1. Síntesis de materiales

#### Ejemplo 1 ( $\epsilon$ -L-polilisina-DOTA)

**2,6-difluorofeniléster de DOTA:** A partir de DOTA y 2,6-difluorofenol con DCC (Mier et al., Bioconjugate Chem. 2005, 16, 237)

La  $\epsilon$ -L-polilisina, masa molar promedio de aproximadamente 4000 (que consiste principalmente en 29-34 unidades de lisina), se compra como una solución acuosa al 25 % en Chisso Corp. (Japón) y se liofiliza. La  $\epsilon$ -polilisina (30 mg) se disuelve en agua (200 ml), y se añade una solución de 2,6-difluorofenil éster de DOTA (100 mg) en metanol (1 ml), y se añaden 100  $\mu$ l de N,N-diisopropiletilamina, y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 días. A continuación se añadió 2,6-difluorofenil éster de DOTA (100 mg) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluye entonces con agua y se purifica de forma preparativa por HPLC. Las fracciones limpias se liofilizan juntas. Se obtiene DOTA- $\epsilon$ -polilisina (98 mg) como sustancia sólida incolora. El número de unidades DOTA por molécula de  $\epsilon$ -polilisina se determina cargando con Gd y mediante MS que es de aproximadamente 10 unidades DOTA por molécula de  $\epsilon$ -polilisina; es decir, aproximadamente el 30 % de los grupos amino de la  $\epsilon$ -polilisina han reaccionado.

La Figura 2 muestra una representación diagramática del compuesto obtenido en el Ejemplo 1, donde las modificaciones de DOTA, en contraste con la representación simplificada en la Figura 2, naturalmente están

distribuidas aleatoriamente en la molécula.

### Ejemplo 2 ( $\epsilon$ -L-polilisina-DTPA)

5 Se disuelven 75 mg de  $\epsilon$ -L-polilisina y 310 mg de éster tetra-t-butílico de difluorofenil éster de DTPA en 4 ml de metanol y se agitan a temperatura ambiente durante 20 h. La solución de reacción se evapora y se añaden 4 ml de TFA + 100  $\mu$ l de agua al residuo y se dejan reposar durante 20 horas. El producto se precipita usando dietil éter. La purificación por HPLC y la liofilización da 150 mg en forma de un sólido incoloro.

### Ejemplo 3 (cargando con $^{111}\text{In}$ )

10 Se disuelven 1,5 mg de  $\epsilon$ -L-polilisina-DOTA en 500  $\mu$ l de etanol, 100  $\mu$ l de DMSO y 500  $\mu$ l de tampón de acetato sódico 0,4 M, pH 5. Se diluyen 30  $\mu$ l de esta solución con 30  $\mu$ l de tampón, se añade  $^{111}\text{InCl}_3$  (20 MBq) y la mezcla se calienta a 70 °C durante 8 min. La radio-HPLC muestra complejación completa.

Se disuelven 1,2 mg de  $\epsilon$ -L-polilisina-DTPA en 400  $\mu$ l de tampón de acetato de sodio 0,4 M, pH 5. Se añaden 20 MBq de  $^{111}\text{InCl}_3$  a 80  $\mu$ l de esta solución, y la mezcla se calienta a 70 °C durante 10 minutos. La radio-HPLC muestra complejación completa.

### Ejemplo 4 (cargando con $^{68}\text{Ga}$ )

15 Se añaden 50  $\mu$ l de la solución de  $\epsilon$ -L-polilisina-DOTA del Ejemplo 3 a 100  $\mu$ l de una solución de 50 MBq de  $^{68}\text{GaCl}_3$  (pH 3), y la mezcla se calienta a 95 °C durante 10 minutos. La HPLC muestra complejación completa.

### Ejemplo 5 (cargando con Gd)

20 Se calientan 10 mg de  $\epsilon$ -L-polilisina-DOTA y 50 mg de hexahidrato de  $\text{GdCl}_3$  a 60 °C durante 30 min en 600  $\mu$ l de tampón de acetato sódico 0,4 M, pH 5. La purificación por HPLC y la liofilización dan 10 mg en forma de un sólido incoloro.

### Ejemplo 6 (modificación de EPL-DOTA usando $^{19}\text{F}$ )

25 Se disuelven 50 mg de  $\epsilon$ -L-polilisina-DOTA en 3 ml de metanol, y se añaden 200  $\mu$ l de trietilamina y 200  $\mu$ l de trifluoroacetato de etilo, y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 h. La purificación mediante RP-HPLC usando un gradiente de elución que comprende agua y acetonitrilo y la liofilización da 35 mg en forma de un sólido incoloro.

### Ejemplo 7 (derivado de enalapril de $\epsilon$ -polilisina)

30 **Enalapril:** se aplica maleato de enalapril (Bosche Scientific) a una columna que contiene Dowex 50WX8 y se lava con agua hasta neutralidad. El enalapril a continuación se eluye con el 2 % de piridina en agua, los solventes se evaporan y el residuo se evapora varias veces con acetonitrilo. Se obtiene enalapril en forma de aceite incoloro y se usa a continuación directamente.

**t-butil éster de enalapril:** La síntesis se lleva a cabo a partir de enalapril y N,N'-d ciclohexil-O-t-butilisourea (Chadran, Ravi US 2006241017)

**t-butil éster de enalaprilato:** La síntesis se lleva a cabo a partir del t-butil éster de enalapril usando NaOH (Iwasaki et al., Chem. Pharm. Bull. 37 (2) 280 (1989).

35 **N,N'-diisopropil-O-bencilisourea:** La síntesis se lleva a cabo a partir de alcohol bencílico y N,N'-d ciclohexilcarbodiimida (Mathias, Synthesis 1979, 561).

40 **6-hidroxihexanoato de bencilo:** Se añade una solución de N,N'-diisopropil-O-bencilisourea (2,34 g; 10 mmol) en THF (8 ml) a ácido 6-hidroxihexanoico (ABCR) (1,32 g; 10 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 días. El material sólido se filtra y el filtrado se evapora. El residuo se eluye en gel de sílice con acetato de etilo:hexano 1:2 a 1:1. Rendimiento 90 %.

45 **Bencil hexanoato de 6-O-N,N'-diisopropilisourea:** Se añaden N,N'-diisopropilcarbodiimida (1,14 g, 9 mmol) a 6-hidroxibencil hexanoato de (2,0 g; 9 mmol), CuCl (30 mg) y THF (6 ml) y la mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluye entonces con THF y se filtra a través de óxido de aluminio neutro en una frita y se enjuaga con THF. El filtrado se evapora, el residuo se recoge en éter dietílico, el material sólido se filtra y el filtrado se evapora. El producto se usa sin purificación adicional.

**Derivado de enalapril 1 (correspondiente a la Fig. 4):** Se añade una solución de t-butil éster de enalapril (2,87 g 7,09 mmol) en THF (20 ml) a bencil hexanoato de 6-O-N,N'-diisopropilisourea (2,47 g, 7,09 mmol), se añaden 20 mg de DMAP, y la mezcla se calienta a reflujo durante 7 h, y a continuación se agita durante la noche a 60 °C. La solución de reacción se enfría en hielo y el material sólido se filtra. El filtrado se evapora y el residuo se eluye sobre gel de sílice con acetato de etilo:hexano 1:2 a 2:1. Las fracciones limpias se evaporan juntas. Rendimiento 85 %.

La RMN 13C y 1H confirman la estructura indicada.

**Derivado de enalapril 2 (correspondiente a la Fig. 4):** Se disuelve el derivado de enalapril 1 (400 mg) en metanol (50 ml), se añade el 10 % de Pd/C (70 mg) y la mezcla se hidrogena utilizando hidrógeno a presión atmosférica. Después de 40 min, la HPLC muestra una reacción completa. El catalizador se filtra y el solvente se evapora. El producto se usa sin purificación adicional. La RMN 13C y 1H confirman la estructura indicada.

**Derivado de enalapril 3 (correspondiente a la Fig. 4):** Se disuelve el derivado de enalapril 2 (183 mg; 0,35 mmol) en acetonitrilo (2 ml), y se añade tetrafluoroborato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(N-succimidil) uronio (TSTU) (106 mg, 0,35 mmol) en acetonitrilo (2 ml), y se añade N,N-diisopropiletilamina (63 µl, 0,35 mmol), y la mezcla se agita a temperatura ambiente. La HPLC muestra una reacción completa después de 5 min. El producto se purifica por medio de HPLC preparativa. Después de la liofilización, el producto se obtiene como un compuesto semisólido incoloro. La MS (espectrometría de masas) muestra la masa exacta esperada.

**Derivado de enalapril 4 (correspondiente a la Fig. 4):** El derivado Enalapril 3 (8 mg) se deja reposar a temperatura ambiente disuelto en una mezcla de TFA (200 µl) y triisopropilsilano (5 µl). La HPLC muestra una reacción completa después de 1 hora. Se añade acetonitrilo (1 ml) y la mezcla entonces se evapora. El residuo se disuelve en 1 ml de acetonitrilo:agua 1:1 y se liofiliza. La MS muestra la masa exacta esperada.

#### Derivado ε-polilisina-enalapril:

Solución A: 8 mg de derivado de enalapril 4 en 100 µl de solución de acetonitrilo

Solución B: 100 mg de ε-polilisina en 650 µl de agua y 350 µl de acetonitrilo

Se añaden 5 µl de N,N-diisopropiletilamina a 100 µl de solución B y se mezcla. A continuación se añaden 25 µl de solución A y se mezclan lo más rápido posible. Después de unos pocos minutos, la HPLC muestra un pico de ε-polilisina sin reaccionar y un nuevo pico principal, pero ya no es un pico para el derivado 4 de enalapril. El producto recién formado se aísla por HPLC preparativa y se caracteriza por MS como el mono-enalapril deseado derivado de ε-polilisina.

**Derivado de DOTA-ε-polilisina-enalapril:** Se añade un exceso de 2,6-difluor-fenil éster de DOTA en metanol al derivado de ε-polilisina-enalapril en agua. Se añade N,N-diisopropiletilamina. La purificación por HPLC preparativa proporciona el compuesto deseado.

#### Ejemplo 7: Derivado de rapamicina de la ε-polilisina

**42-hemisuccinato de rapamicina:** Se prepara a partir de rapamicina (LC-Laboratories), anhídrido succínico y resina acrílica de lipasa de *Candida antarctica* (Sigma). (Gu et al., Org. Lett. 2005, 7, 3945-3948).

**42-hemisuccinil-NHS éster de rapamicina:** Se disolvió 42-hemisuccinato de rapamicina (180 mg; 0,177 mmol) en acetonitrilo (1,5 ml) y se añade tetrafluoroborato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(N-succimidil) uronio (TSTU) (56 mg; 0,186 mmol) en acetonitrilo (0,5 ml), y se añade N,N-diisopropiletilamina (36 µl; 0,20 mmol), y la mezcla se agita a temperatura ambiente. La HPLC muestra una reacción completa después de 30 minutos. El producto se purifica por HPLC preparativa. Después de la liofilización, el producto (125 mg) se obtiene como un compuesto sólido incoloro. La MS muestra la masa exacta esperada.

#### Derivado de ε-polilisina-rapamicina:

La ε-polilisina (3 ml de solución acuosa al 25 %; Chisso) se diluye con agua (30 ml) y se ajusta a pH 3 aproximadamente usando TFA y se liofiliza.

Solución A: 30 mg de éster de 42-hemisuccinil-NHS rapamicina en 500 µl de acetonitrilo

Solución B: Se disolvieron 500 mg de ε-polilisina (ácida, véase más arriba) en 5 ml de agua:acetonitrilo (2:1) y se ajustó a pH 7-7,5 por adición de trietil-amina.

La solución A se añade a la solución B con agitación. Se forma una mezcla turbia. La adición de acetonitrilo (1 ml) provoca la formación de una solución clara. La HPLC después de aproximadamente 15 minutos muestra la reacción completa del éster de 42-hemi-succinil-NHS rapamicina y la formación de un nuevo producto además de  $\epsilon$ -polilisina sin reaccionar. El producto recién formado se aísla mediante HPLC preparativa y se caracteriza por MS como el derivado de mono-rapamicina- $\epsilon$ -polilisina deseado.

**Derivado de DOTA- $\epsilon$ -polilisina-rapamicina:** Se añade 2,6-difluorofenil éster de DOTA (20 mg; 40  $\mu$ mol) en acetonitrilo (200  $\mu$ l) al derivado de  $\epsilon$ -polilisina-rapamicina (10 mg, aproximadamente 2  $\mu$ mol) disuelto en agua:acetonitrilo 2:1 (500  $\mu$ l), y la solución de reacción se ajusta a pH 7-7,5 mediante la adición de trietilamina y se hace reaccionar durante la noche a temperatura ambiente. La purificación por HPLC preparativa da, después de la liofilización, el compuesto deseado como sustancia sólida incolora. El número de grupos DOTA por molécula se determina mediante MS. La proporción se encuentra entre 15 y 18 unidades DOTA por molécula.

#### Ejemplo 8: Derivado de sorafenib de $\epsilon$ -polilisina

**4-cloro (2-piridil) N-2-hidroxiethylcarboxamida (S-2):** Se introduce inicialmente clorhidrato de 4-cloropiridin-2-carboxilato de metilo (S-1) (2,08 g, 10 mmol) (Bankston et al., Organic Process Research & Development 2002, 6, 777-781) en metanol (5 ml) y se enfría en hielo. Se añadió etanolamina (3 ml, 50 mmol) en THF (50 ml) gota a gota en el transcurso de 10 minutos, a continuación la mezcla se agitó a 0 °C durante 3 horas más y posteriormente a temperatura ambiente durante la noche. Después de la evaporación, el residuo se recoge en acetato de etilo y se lava con NaHCO<sub>3</sub> al 5 %, y la solución orgánica se seca y se evapora.

El producto, S-2 (1,84 g 91 %), se obtiene como sustancia sólida de color amarillo pálido de alta pureza (HPLC). RMN 13C (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  42,15, 59,98, 122,30, 126,82, 145,01, 150,43, 152,09, 163,20 ppm.

**(4-(4-aminofenoxi) (2-piridil)- N-2-hidroxiethylcarboxamida (S-3):** Se añade terc-butóxido (3,17 g; 28,24 mmol) en porciones a una solución de 4-aminofenol (2,96 g; 27,1 mmol) en DMF (45 ml) bajo argón, y la mezcla se agita entonces a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se añadió una solución de S-2 (5,43 g, 27 mmol) en DMF (10 ml) y se añadió posteriormente K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,0 g). La reacción se calienta a 70 °C en un baño de aceite durante 6 h, a continuación se enfría, y se añaden acetato de etilo (400 ml) y NaCl saturado (400 ml). La fase acuosa se extrae de nuevo con acetato de etilo, y las fases orgánicas combinadas se lavan con 4 x 100 ml de NaCl saturado, se secan y se evaporan. El residuo oscuro se purifica primero en gel de sílice con acetato de etilo/hexano (3:1) - acetato de etilo/metanol (10:1). Las fracciones que contienen producto se evaporan juntas y a continuación se eluyen sobre alúmina con acetato de etilo/hexano (3:1) - acetato de etilo/metanol (10:1). El producto es una sustancia sólida de color amarillo pálido (3,20 g; 43 %) de alta pureza (HPLC) MS: M+Na = 296,100; calculado para C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>3</sub> = 296,1011.

**N-(4-Cloro-3-(trifluorometil) fenil)-((4-(2-(N-hidroxiethyl-carbamoil) (4-piridiloxi) fenil amino) carboxamida (S-4):** Una solución de S-3 (1,50 g, 5,49 mmol) en diclorometano (20 ml) se enfría en hielo, y se añade una solución de isocianato de 4-cloro-3-trifluorometilfenilo (1,26 g; 5,70 mmol) en diclorometano (20 ml). Después de 1 h, la sustancia sólida precipitada se filtra y se enjuaga con diclorometano y se seca. El producto (S-4) (2,34 g, 4,73 mmol, 86 %) se obtiene como sustancia sólida blanca. MS: M+H = 495,1037 calculado para C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>CF<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: 495,1047.

**Derivado de sorafenib S-5:** S-4 (2,30 g, 4,65 mmol) se disuelve en piridina (15 ml) y se añade una solución de anhídrido succínico (581 mg; 5,81 mmol) en piridina (5 ml), se añade N,N-dimetilaminopiridina (284 mg; 2,33 mmol), y la mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se aplicó a una columna que contenía aproximadamente 20 ml de piridinio-Dowex en piridina:metanol:agua (8:1:1) y se eluyó con la misma mezcla. El eluato se evapora, el residuo se evapora varias veces con tolueno, y finalmente con acetonitrilo. El producto (S-5) se obtiene como una espuma blanca (2,65 g; 4,45 mmol; 95 %) MS: M+H = 595,1115; calculado para C<sub>26</sub>H<sub>23</sub>CF<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>: 595,1207.

**Derivado de sorafenib S-6:** S-5 (180 mg, 0,30 mmol) se disolvió en acetonitrilo (3 ml) y una solución de tetrafluoroborato de N,N, N'-tetrametil-O-(N-succimidil) uronio ( TSTU) (99 mg, 0,32 mmol) en acetonitrilo (3 ml) y se añadió N,N-diisopropiletilamina (67  $\mu$ l, 0,37 mmol). La HPLC muestra una reacción completa después de 10 min. Se añade TFA al 0,1 % en agua (2 ml) y la mezcla se purifica de forma preparativa HPLC. S-6 se obtiene como una sustancia sólida "blanquecina" (163 mg, 0,24 mmol, 78 %). MS: M+H = 692,1368; calculada para C<sub>30</sub>H<sub>25</sub>CF<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>: 692,1371.

**Derivado de  $\epsilon$ -polilisina-sorafenib:** Se diluye  $\epsilon$ -polilisina (3 ml de solución acuosa al 25 %; Chisso) con agua (30 ml) y se ajusta a pH 3 aproximadamente usando TFA y se liofiliza.

Solución A: 17 mg de derivado de sorafenib S-6 en 500  $\mu$ l de acetonitrilo

Solución B: Se disuelven 500 mg de  $\epsilon$ -polilisina (ácida, ver más arriba) en 5 ml de agua:acetonitrilo (2:1) y se ajusta

a pH 7-7,5 por adición de trietilamina.

La solución A se añade a la solución B con agitación. Se forma una solución turbia. La adición de acetonitrilo (1 ml) provoca la formación de una solución clara.

- 5 La HPLC después de aproximadamente 15 minutos muestra la reacción completa del derivado de sorafenib S-6 y la formación de un nuevo producto, además de la  $\epsilon$ -polilisina sin reaccionar. El producto recién formado (71 mg) se aisló mediante HPLC preparativa y se caracterizó por MS como el derivado de mono-sorafenib- $\epsilon$ -polilisina deseado.

10 **Derivado de DOTA- $\epsilon$ -polilisina-sorafenib:** Se añadió 2,6-difluorofenil éster de DOTA (197 mg; 360  $\mu$ mol) en acetonitrilo (1,5 ml) al derivado de  $\epsilon$ -polilisina-sorafenib (71 mg, aproximadamente 15  $\mu$ mol) disuelto en agua:acetonitrilo 2:1 (1,5 ml), y la solución de reacción se ajusta a pH 7-7,5 por adición de trietilamina y se hace reaccionar durante la noche a temperatura ambiente. La purificación por HPLC preparativa da, después de la liofilización, el compuesto deseado como sustancia sólida incolora (90 mg). El número de grupos DOTA por molécula se determina por MS como 16-20.

## 2. Ejemplos de uso

### 1. Estudio de distribución de órganos

- 15 Para determinar la farmacocinética, la  $\epsilon$ -polilisina-DOTA se marca con el nucleido radiactivo  $^{111}\text{In}$  de acuerdo con el Ejemplo de síntesis 2/3 y los ratones NMRI se inyectan en grupos de tres animales cada uno a través de la vena de la cola. La cantidad utilizada es de aproximadamente 5  $\mu$ g de  $\epsilon$ -polilisina-DOTA por animal, la dosis es de aproximadamente 1 MBq por animal.

20 Los animales se diseccionan posteriormente, y los órganos aislados (sangre, corazón, pulmón, bazo, hígado, riñón, músculo, cerebro) se investigan con respecto a su radioactividad en un contador gamma. La cantidad de radioactividad en el órgano correspondiente representa directamente la cantidad de  $\epsilon$ -polilisina-DOTA tomada. Los animales son sacrificados después de varias veces. Esto se lleva a cabo, al igual que la realización completa del experimento, de acuerdo con los principios éticos para el comportamiento científico de experimentos con animales. Sorprendentemente, se observa en las mediciones que más del 150 por ciento de la dosis inyectada por gramo de tejido renal se acumula en los riñones de los animales experimentales solo 10 minutos después de la inyección de la  $\epsilon$ -polilisina-DOTA cargada con  $^{111}\text{In}$ . Una pequeña proporción se excreta por la orina.

25 La representación gráfica de la acumulación en los diversos órganos investigados se muestra en la Fig. 2. El eje Y representa la acumulación específica en los órganos particulares, indicada como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido. P1 a P3 representan los resultados para conjugados con varios grados de carga: P1: aproximadamente el 10 % de los monómeros de lisina llevan DOTA, P2: aproximadamente el 30 % de los monómeros de lisina llevan DOTA y P3: aproximadamente el 50 % de los monómeros de lisina llevan DOTA.

### 2. Medición TEP

35 Para las mediciones de la TEP, el marcaje se lleva a cabo con galio 68, de acuerdo con el Ejemplo de Síntesis 4, y la acumulación de riñón se investiga dinámicamente en un escáner de TEP para animales pequeños (Siemens). Se encuentra en este caso que el compuesto ( $\epsilon$ -L-polilisina-DOTA, cargado con  $^{68}\text{Ga}$ ) logra una relación de órgano a fondo extraordinariamente buena y se acumula virtualmente de forma exclusiva en el riñón. Los valores típicos en este caso son una acumulación de 10 veces en el riñón en relación con el resto del cuerpo.

### 3. Experimentos comparativos

40 La captación de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3 y de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA se compara con la captación de ( $\epsilon$ -L-polilisina-DOTA, cargada con  $^{111}\text{In}$ ) en el modelo de rata y ratón en las gammagrafías planas. Ambos trazadores conocidos exhiben una relación de riñón a fondo peor que la sustancia de acuerdo con la invención.

## 3. Conjugación de varios compuestos que llevan grupos carboxilo

45 Con el fin de investigar el efecto de varios compuestos que llevan grupos carboxilo sobre la acumulación en el riñón, la  $\epsilon$ -polilisina se conjuga con una unidad DOTA para facilitar el marcaje con radionucleidos para experimentos con animales. Además de la unidad DOTA, se conjugan una pluralidad de unidades de otro compuesto que lleva grupos carboxilo o de un compuesto que no lleva grupos carboxilo. Los estudios de distribución de órganos de estos conjugados muestran que los conjugados con DO-3AM (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N, -N', -N'', -N''', -triamida, N'''-monoacético, Macrocíclicos), que no contienen grupos carboxilo después de la conjugación, exhiben una acumulación en el riñón que no supera la acumulación ya lograda con un grupo DOTA, mientras que los conjugados con ácido cítrico exhiben una excelente acumulación y los conjugados con ácido succínico exhiben una buena

50

acumulación en el riñón.

5 **Síntesis de una  $\epsilon$ -polilisina con una sola unidad DOTA por molécula (Ref. 1):** Se disuelve  $\epsilon$ -polilisina (780 mg) en agua:metanol 1:1, y se añade 2,6-difluorofenil éster de DOTA (103 mg) en metanol, se añade diisopropiletilamina (100  $\mu$ l) y la mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente. El producto se purifica por HPLC y se liofiliza. La MS muestra una mezcla de  $\epsilon$ -polilisina y  $\epsilon$ -polilisina-1xDOTA en una relación de aproximadamente 2:1. Este compuesto, Ref. 1, se usa para la preparación de todos los derivados subsiguientes.

10 **Derivado de DO-3AM-ácido acético de la Ref. 1:** Se disuelven DO-3AM-ácido acético (42 mg) y TSTU (31 mg) en DMF (2 ml) y se añade diisopropiletilamina (18  $\mu$ l). Después de 1 minuto, esta solución se añade a la Ref. 1 (16 mg) en agua:dioxano 1:1 (400  $\mu$ l) y se deja reaccionar a temperatura ambiente durante la noche. Después de la dilución con agua, el producto se purificó por HPLC y se liofilizó.

15 **Derivado del ácido cítrico de la Ref. 1:** El anhídrido cítrico se prepara a partir de ácido cítrico (2 mmol) y dicitclohexilcarbodiimida (1 mmol) en THF (5 ml). Después de 30 minutos, la dicitclohexilurea formada se filtra y se enjuaga con THF. El filtrado se evapora y se usa directamente a continuación. Se añade anhídrido cítrico (80 mg) en piridina (200  $\mu$ l) a una solución de la Ref. 1 (38 mg) y dimetilaminopiridina (5 mg) en piridina:agua 1:1 (200 g), y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. Después de la dilución con agua, el producto se purificó por HPLC y se liofilizó. El número de unidades de ácido cítrico por molécula de  $\epsilon$ -polilisina-1xDOTA puede determinarse por MS como 4-8.

20 **Derivado de ácido succínico de la Ref. 1:** Se añade anhídrido succínico (100 mg) en piridina:dioxano 1:1 (2000  $\mu$ l) a una solución de la Ref. 1 (38 mg) y dimetilaminopiridina (5 mg) en piridina:agua 1:1 (1000  $\mu$ l), y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. Después de la dilución con agua, el producto se purifica por HPLC y se liofiliza.

## REIVINDICACIONES

1. Conjugado que contiene al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo y un oligómero que consta de unidades monoméricas de lisina unidas peptídicamente, donde las unidades monoméricas de lisina mencionadas anteriormente en el oligómero están unidas en cada caso a través del grupo  $\epsilon$ -amino de la cadena lateral, caracterizado por que, en el caso del compuesto que lleva grupos carboxilo, la proporción de grupos carboxilo en el peso molecular del compuesto que lleva grupos carboxilo es superior al 30 %, por que al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo que está conjugado con el oligómero contiene dos o más grupos carboxilo libres, por que el conjugado contiene entre 3 y 6 o más de 9 compuestos que llevan grupos carboxilo por 10 unidades monoméricas, y por que el oligómero tiene una longitud de cadena de 10 a 50 unidades monoméricas.
2. Conjugado según la reivindicación 1, caracterizado por que además al menos un compuesto activo se une covalentemente al conjugado.
3. Conjugado según la reivindicación 2, caracterizado por que el compuesto activo se selecciona del grupo de los **inmunosupresores**, por ejemplo, azatioprina, micofenolato-mofetilo, ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, fingolimod o triptolida, **citostáticos**, por ejemplo, bleomicina, dactinomicina, mitomicina, daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, idarrubicina, mitoxantrón, amsacrina, doxofluridina, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, satraplatino, camptotecina, toptecán, irinotecán, etopósido, tenipósido, ciclofosfamida, trofosfamida, melfalán, clorambucilo, estramustina, busulfán, clorambucilo, clormetina, treosulfán, carmustina, lomustina, nimustina, procarbazona, estreptozocina, dacarbazina, ifosfamida, temozolomida, tiotepa, vinorelbina, vincristina, vinblastina, vindesina, paclitaxel, docetaxel, metotrexato, pemetrexed, raltitrexed, fluorouracilo, capecitabina, arabinósido de citosina, gemcitabina, tioguanina, pentostatina, mercaptopurina, fludarabina, caldribina, hidroxycarbamida, mitotano, azacitidina, citarabina, nelarabina, bortezomib, anagrelida, en particular los inhibidores de proteína quinasa, tales como, por ejemplo, imatinib, erlotinib, sunitinib, sorafenib, dasatinib, lapatinib o nilotinib, **agentes inmunoterapéuticos**, por ejemplo cetuximab, alemtuzumab y bevacizumab, **antiflogísticos**, por ejemplo, naproxeno, ibuprofeno, indometacina, prednisolona, prednisona, hidrocortisona o budesonida, **antibióticos**, en particular las penicilinas, tales como, por ejemplo, bencilpenicilina, meticilina o amoxicilina, las cefalosporinas, tales como, por ejemplo, cefuroxima, cefotaxima, cefadroxilo o cefixim, los inhibidores de  $\beta$ -lactamasa, tales como, por ejemplo, ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam, los carbapenemos, tales como, por ejemplo, imipenem o meropenem, las monobactamas, tales como, por ejemplo, aztreonam, las tetraciclinas, como, por ejemplo, tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, minociclina o tigeciclina, los antibióticos macrólidos, como, por ejemplo, el eritromicina A, los antibióticos glucopéptidos, tales como, por ejemplo, vancomicina, la enedinas, tales como, por ejemplo, caliqueamicina, **virostáticos**, por ejemplo, aciclovir, valaciclovir, ganciclovir, valganciclovir, penciclovir, famciclovir, brivudina, cidofovir, foscarnet, idoxuridina o tromantadina, **antihipertensivos**, en particular los **inhibidores de la ECA**, como, por ejemplo, benazepril, captopril, cilazapril, enalapril, fosinopril, lisinopril, perindopril, quinapril, ramipril, trandolapril o zofenopril, los **sartanos**, como por ejemplo, losartán, balsartán, irbesartán, candesartán, eprosartán, olmesartán o telmisartán, los **inhibidores de renina**, como por ejemplo, aliskiren y los **betabloqueantes**, como, por ejemplo, proproanolol, pindolol, sotalol, bopindolol, atenolol, bisoprolol, celiprolol, esmolol, metoprolol, nebivolol, oxprenolol, carvedilol o labetalol, **uricosúricos**, por ejemplo probenecid o benzbromarona, o **diuréticos**, por ejemplo, acetazolamida, furosemida, torasemida, bumetanida, piretanida, azosemida, ácido etacrínico, etozolina, hidroclorotiazida, benzotiazida, clorotiazida, clortalidona, indapamida, mefrusida, metolazona, clopamida, xipamida, hidroflumetiazida, meticlotiazida, politiazida, amilorida, triametereno, espirolactona, canrenona, eplerenona o espirolactona.
4. Conjugado según una o más de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que el oligómero consiste en  $\epsilon$ -pollilisina.
5. Conjugado según una o más de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo está unido, directamente o mediante un espaciador, al grupo amino de una unidad monomérica de lisina.
6. Conjugado según una o más de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que al menos un compuesto que lleva grupos carboxilo es un agente complejante.
7. Proceso para la preparación de un conjugado correspondiente a una o más de las reivindicaciones 1 a 6 que comprende al menos las siguientes etapas de proceso:
- a) provisión de un oligómero que consta de unidades monoméricas de lisina unidas peptídicamente, donde las unidades monoméricas de lisina mencionadas anteriormente en el oligómero están unidas en cada caso a través del grupo  $\epsilon$ -amino de la cadena lateral y el oligómero tiene una longitud de cadena de 10 a 50 unidades monoméricas,

b) conjugación de al menos un compuesto activado opcionalmente que lleva grupos carboxilo al oligómero de la etapa a).

8. Conjugado correspondiente a una o más de las reivindicaciones 1 a 6 como medicamento.

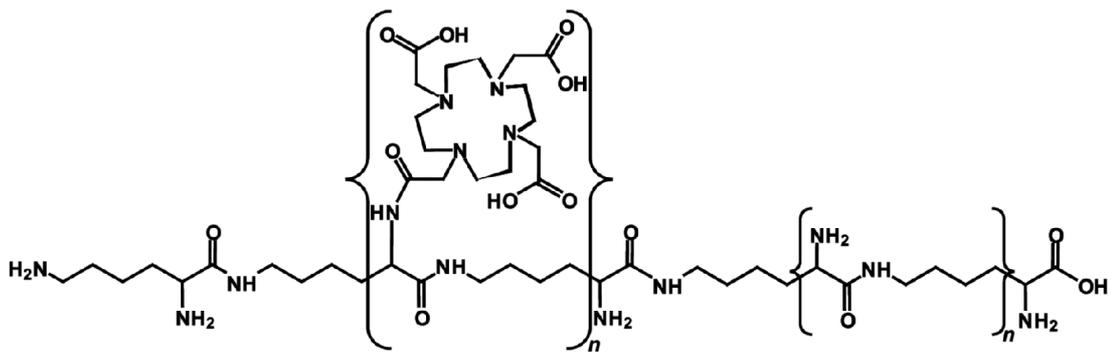
5 9. Conjugado correspondiente a una o más de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso para actuar selectivamente en el riñón.

10. Conjugado de macromolécula compuesto de al menos dos conjugados correspondientes a una o más de las reivindicaciones 1 a 6 que están unidos covalentemente a una macromolécula.

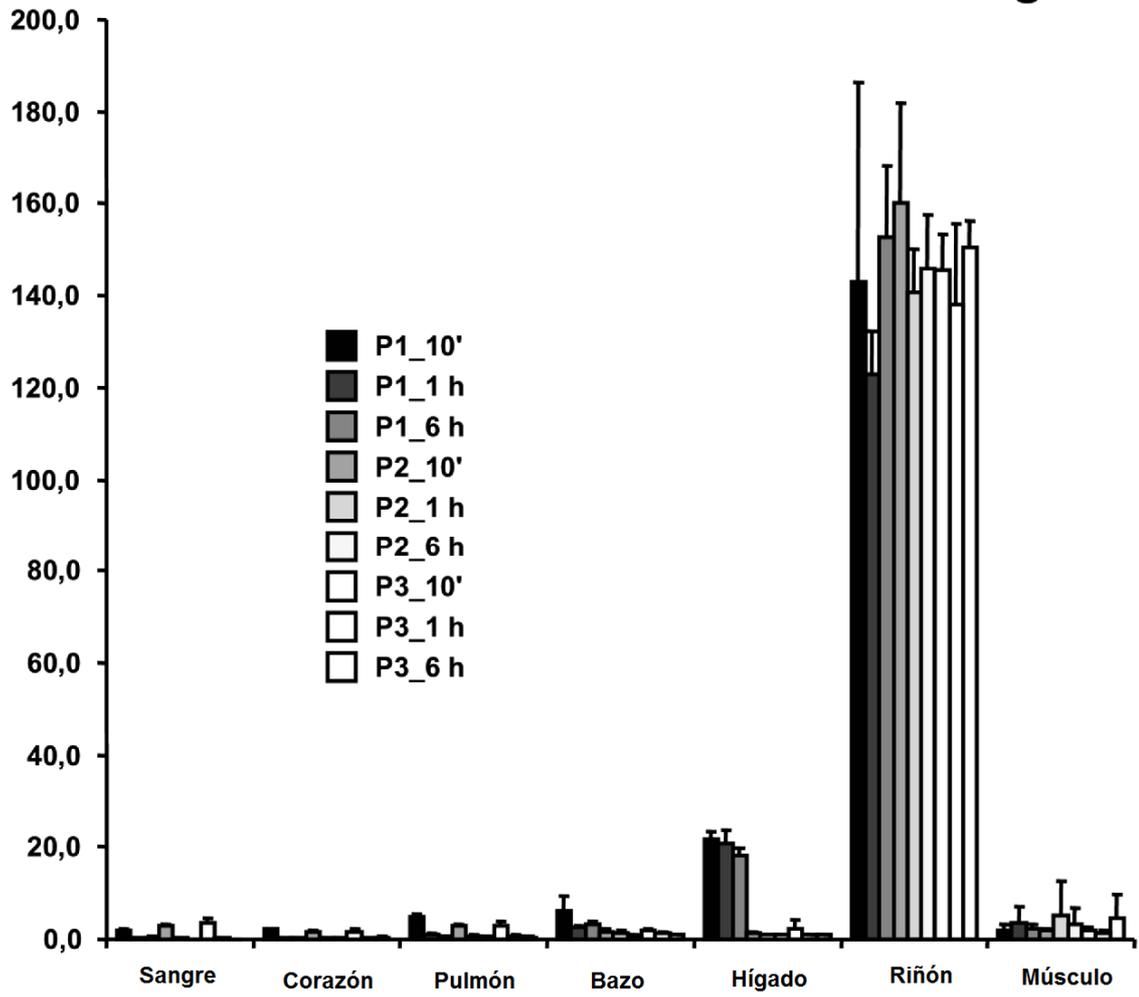
11. Medicamento, en particular una composición terapéutica o mejoradora de imágenes, que comprende al menos un conjugado correspondiente a una o más de las reivindicaciones 1 a 6.

10 12. Kit para la preparación de un medicamento, en particular una composición terapéutica o mejoradora de imágenes, que comprende al menos un conjugado correspondiente a una o más de las reivindicaciones 1 a 6.

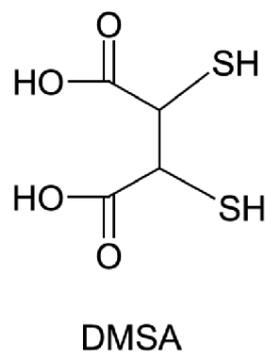
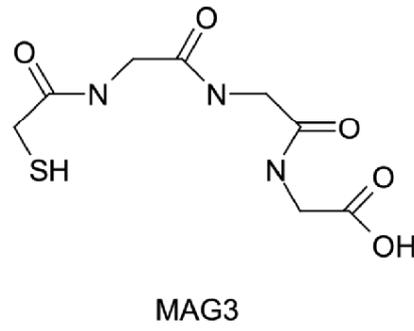
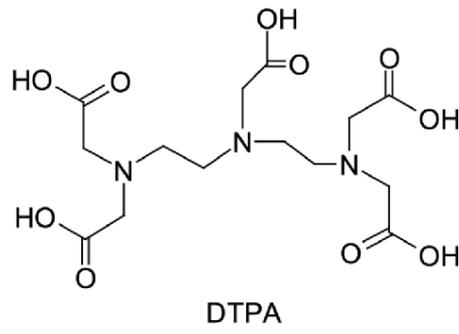
Fig. 1



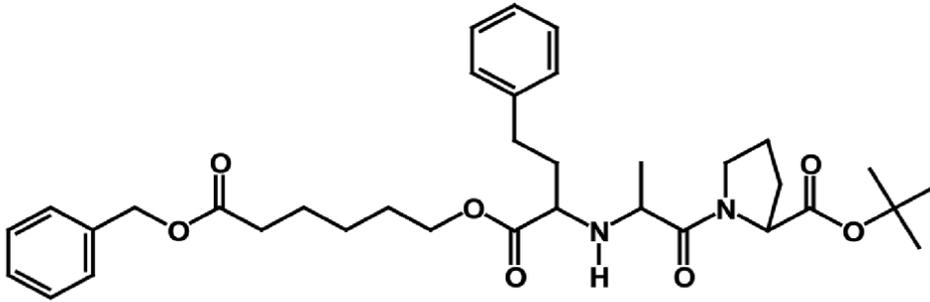
**Fig. 2**



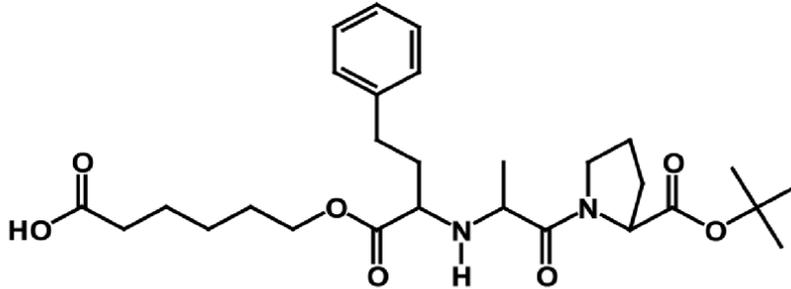
**Fig. 3**



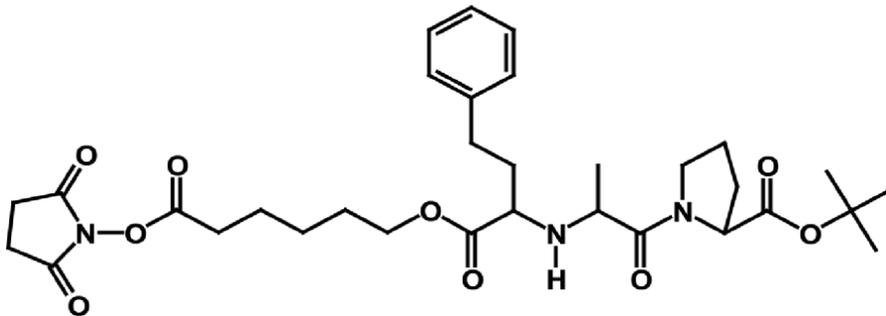
**Fig. 4**



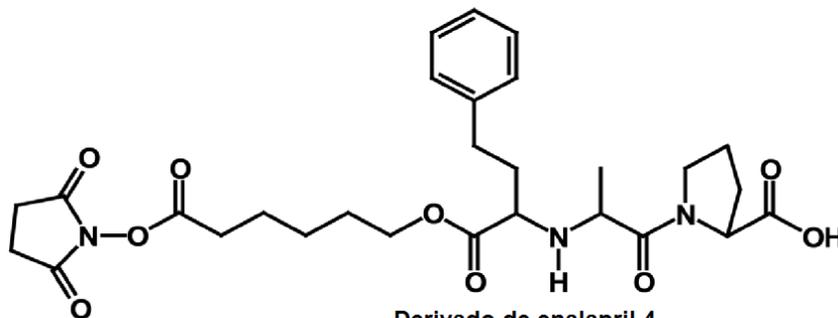
Derivado de enalapril 1



Derivado de enalapril 2



Derivado de enalapril 3



Derivado de enalapril 4