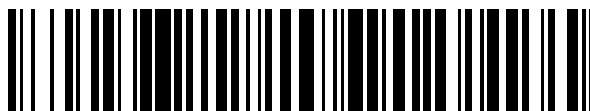


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 881**

51 Int. Cl.:

**C07D 521/00** (2006.01)

**A61K 51/06** (2006.01)

**C12P 13/00** (2006.01)

**A61K 31/00** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2009 E 16172324 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018 EP 3098225**

54 Título: **Conjugados macrocíclicos que contienen nitrógeno como radiofármacos**

30 Prioridad:

**02.12.2008 AU 2008906239**

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

**16.05.2019**

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF MELBOURNE (100.0%)  
Grattan Street  
Parkville, Victoria 3010, AU**

72 Inventor/es:

**DONNELLY, PAUL STEPHEN;  
MA, MICHELLE THERESE y  
SCANLON, DENIS BERNARD**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 712 881 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 macrocíclicos que contienen nitrógeno como radiofármacos

## 5 Campo

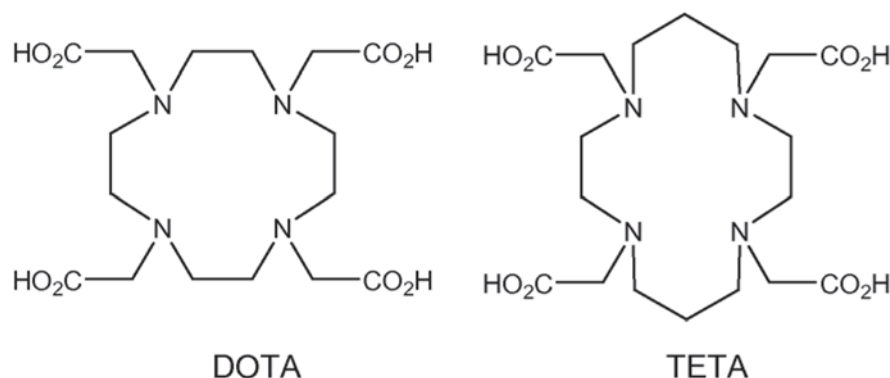
La presente invención se refiere a compuestos que son útiles como ligandos metálicos y que contienen una fracción de reconocimiento molecular o que pueden unirse a una fracción de reconocimiento molecular, y a métodos de fabricación de estos compuestos. Una vez que los compuestos que contienen una fracción de reconocimiento molecular se coordinan con un radionúclido metálico adecuado, los compuestos coordinados son útiles como radiofármacos en los campos de la radioterapia y del diagnóstico mediante generación de imágenes. Por lo tanto, la invención también se refiere a compuestos relevantes para su uso en métodos de diagnóstico y terapia que utilizan los compuestos radiomarcados de la invención.

## 15 Antecedentes

Los compuestos radiomarcados se pueden usar como radiofármacos en una serie de aplicaciones, tales como en radioterapia o diagnóstico por generación de imágenes. Para que un compuesto radiomarcado se emplee como un radiofármaco, hay una serie de propiedades deseables que el compuesto debería poseer idealmente, tales como una estabilidad aceptable y, cuando sea posible, un grado de selectividad o capacidad de dirección.

El trabajo inicial en los campos de los radiofármacos se centró en ligandos metálicos simples que, en general, eran muy accesibles y, por lo tanto, fáciles de producir. Una dificultad con muchos de estos compuestos radiomarcados es que el complejo formado entre el ligando y el ion metálico no era lo suficientemente fuerte y, por lo tanto, se produjo la disociación del ion metálico del ligando en el entorno fisiológico. Esto no era deseado, ya que, con el uso de ligandos de este tipo, no había capacidad para administrar el radiofármaco en la zona diana deseada del organismo, ya que el intercambio del metal con los iones metálicos en el entorno fisiológico significaba que cuando el compuesto radiofarmacéutico llegaba al sitio de acción deseado, el nivel de ión metálico radiomarcado coordinado con el compuesto se reducía significativamente. Además, cuando se observa este tipo de intercambio, los efectos secundarios experimentados por el sujeto de la radioterapia o la generación de imágenes radiológicas aumentan a medida que el material radiactivo se envía a un tejido sano del organismo en lugar de a su lugar de acción.

Para resolver el problema de la disociación de los metales en el entorno fisiológico, se han desarrollado y estudiado una serie de ligandos más complicados a lo largo del tiempo. Por lo tanto, por ejemplo, se ha investigado una amplia selección de tetra-azamacrociclos basados en el armazón de ciclam y ciclen. Los ejemplos de ligandos de este tipo incluyen DOTA y TETA.



Desafortunadamente, incluso con estos ligandos, todavía se produce una disociación del metal con ciertos derivados. Por ejemplo, algunos derivados sufren la disociación del Cu del quelato como consecuencia de la quelación *trans* a ligandos biológicos tales como proteínas de transporte de cobre, ya sea como  $\text{Cu}^{2+}$  o, tras la reducción *in vivo*, a  $\text{Cu}^+$ .

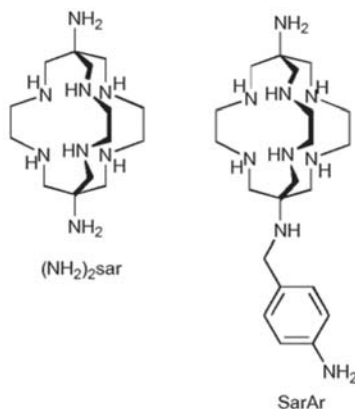
Para aumentar la estabilidad de los compuestos radiomarcados, se han desarrollado ligandos de amina de jaula hexaminomicrobíclicos, conocidos por el nombre común de sarcofaginas. Estos ligandos de jaula forman complejos notablemente estables con metales tales como el  $\text{Cu}^{2+}$  y tienen una cinética de complejación rápida incluso a bajas concentraciones de metal a temperaturas ambiente. Por lo tanto, estas características hacen que los ligandos de este tipo sean especialmente adecuados para aplicaciones radiofarmacéuticas, en especial, para aquellas que incluyen el cobre.

Una vez resuelto el problema de la estabilidad del complejo entre el ligando y el metal, se centró la atención en desarrollar formas en las que el ligando pudiera funcionalizarse para incorporar moléculas de dirección dentro del ligando sin comprometer la estabilidad del complejo de ligando y metal o la actividad biológica definitiva de la molécula

de dirección. En la técnica, se conocen varias moléculas de dirección diferentes, y la cuestión pasó a ser cuál era la mejor manera de unir las a las moléculas de ligando.

En general, la molécula de dirección (o la fracción de reconocimiento molecular como a veces se la conoce) se une al ligando para proporcionar un compuesto final que contiene un ligando y una fracción de reconocimiento molecular. Aunque estos compuestos pueden contener una única fracción de reconocimiento molecular, también pueden ser construcciones multiméricas en las que el ligando está unido a dos (o más) fracciones de reconocimiento molecular. Esto normalmente es deseable, ya que una construcción multimérica puede poseer una afinidad más alta por un receptor diana que su equivalente monomérica. Esto se debe, en parte, a un aumento en la concentración local del grupo diana, lo que le permite competir de manera más eficaz con ligandos endógenos. Además, en circunstancias en las que hay suficiente longitud entre dos o más grupos de dirección dentro de una construcción multimérica, entonces es posible la unión cooperativa, y dos o más grupos de dirección se unirán a dos o más sitios receptores al mismo tiempo. De hecho, se ha observado que *in vivo*, una construcción multimérica suele demostrar una mayor acumulación de tejido diana que su equivalente monomérica. Sin desear estar limitado por la teoría, se piensa que esto se debe a la mayor afinidad de la construcción multimérica por el receptor diana que la de la construcción monomérica. Además, la construcción multimérica tiene un peso molecular más alto que la construcción monomérica y, por lo tanto, una biodisponibilidad prolongada (ya que es más resistente a la degradación en el entorno fisiológico). Esto puede producir un aumento de la acumulación y retención en el tejido diana.

El trabajo inicial en el campo de los ligandos de jaula analizó las reacciones de acoplamiento directo de las aminas primarias de la amina de la jaula "diaminosarcófagina", 1,8-diamino-3,6,10,13,16,19-hexaaza-biciclo[6.6.6] icosano ((NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>sar), con péptidos que usan procedimientos de acoplamiento convencionales. Desafortunadamente, por una variedad de razones, esto ha demostrado ser relativamente ineficaz, y el trabajo en este campo cesó. Luego, los trabajadores se centraron en la incorporación de una amina aromática para producir SarAr. La amina aromática colgante se puede usar en reacciones de conjugación con los restos de carboxilato de péptidos o anticuerpos, y se ha demostrado que SarAr podría conjugarse con un anticuerpo monoclonal anti-GD2 (14.G2a) y su derivado químico (ch14.8), y el conjugado ha sido radiomarcado con <sup>64</sup>Cu.



Una dificultad con este enfoque es que, en la reacción de la amina aromática en la etapa de conjugación, hay otros 8 átomos de nitrógeno en la molécula SarAr que están disponibles para reacciones competitivas que conducen al potencial para la creación de un gran número de impurezas que no es deseable en un sentido farmacéutico. Si bien esto podría resolverse mediante el uso de una química sustancial de grupos protectores, como es evidente, esto no se desea desde un punto de vista sintético y se puede ampliar a escala comercial.

Un enfoque alternativo ha sido elaborar el ligando para incorporar grupos funcionales carboxilato e incorporar péptidos o anticuerpos a través de sus restos de aminas N-terminales, y este enfoque es de particular importancia cuando el extremo C es crucial para la actividad biológica. Los estudios han demostrado que (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>sar, se puede funcionalizar con hasta cuatro sustituyentes carboximetilo mediante reacciones de alquilación con ácido cloroacético y los brazos de carboximetilo introducidos se pueden usar como un punto de funcionalización adicional, y se pueden usar reacciones de acoplamiento de EDC para introducir los aminoácidos.

Desafortunadamente, una desventaja potencial de estos sistemas es que aún pueden producirse reacciones de ciclación intramolecular en las que el brazo de carboximetilo reacciona con una amina secundaria del armazón de la jaula para formar anillos de lactama que dan lugar a ligandos cuadridentados en lugar de sexadentados. Por consiguiente, aunque es posible seguir este enfoque, el potencial de reacciones secundarias no deseadas es claramente indeseable desde una perspectiva comercial.

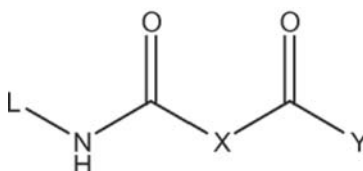
Por consiguiente, todavía existe la necesidad de desarrollar compuestos que puedan ser radiomarcados y que contengan o puedan unirse a una fracción de reconocimiento molecular que pueda usarse en aplicaciones radiofarmacéuticas. Además, sería deseable que los compuestos tuvieran la flexibilidad para proporcionar la

posibilidad de utilizar construcciones multiméricas, ya que en ciertas circunstancias estas construcciones demuestran una mayor actividad biológica, como se ha analizado anteriormente.

#### Sumario

- 5 En un aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (II) como se expone en las reivindicaciones adjuntas.
- En un aspecto adicional, se proporciona una composición como se expone en las reivindicaciones adjuntas.
- 10 En un aspecto adicional, se proporciona un compuesto para su uso en un método para tratar o prevenir una afección en un sujeto como se expone en las reivindicaciones adjuntas.
- En un aspecto adicional, se proporciona un compuesto para su uso en un método de generación de imágenes radiológicas de un sujeto como se expone en las reivindicaciones adjuntas.
- 15 En un aspecto adicional, se proporciona un método de producción de un compuesto de Fórmula (II) como se expone en las reivindicaciones adjuntas.
- 20 Las características de los aspectos mencionados anteriormente se detallan en las reivindicaciones dependientes adjuntas y en la siguiente descripción.

Los compuestos de Fórmula (I) se pueden usar para producir compuestos de Fórmula (II) de la invención, como se ilustra en el presente documento, pudiendo definirse los compuestos de Fórmula (I), en general, por:



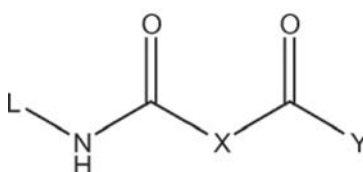
Fórmula (I)

en la que:

- 30 L es un ligando macrocíclico de metales que contiene nitrógeno;
- X es una fracción de enlace;
- 35 Y se selecciona del grupo que consiste en OR, SR<sup>1</sup> y N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>;
- R se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, un grupo protector de oxígeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido;
- 40 R<sup>1</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, un grupo protector de azufre, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido;
- 45 cada R<sup>2</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, un grupo protector de nitrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus complejos.

50 Los compuestos de fórmula (II), cuyo alcance está claramente definido por las reivindicaciones adjuntas, pueden representarse en general de la siguiente manera (para facilitar la comparación con los compuestos de fórmula (I)):



Fórmula (II)

en la que:

L es un ligando macrocíclico de metales que contiene nitrógeno;

5 X es una fracción de enlace;

Y es una fracción de reconocimiento molecular;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus complejos.

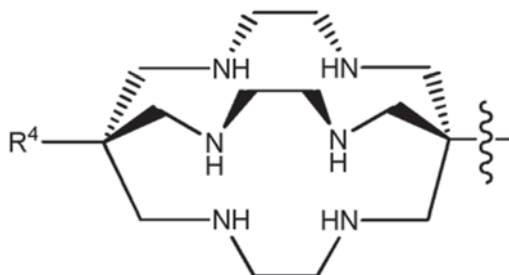
10 En los compuestos de fórmula (II), la fracción X sirve como una fracción de enlace que sirve para actuar como un espaciador entre las dos fracciones carbonilo que separan el ligando que puede unirse al radionúclido y el punto de unión de una fracción de reconocimiento molecular o la fracción de reconocimiento molecular en sí. Como tal, aunque es deseable que haya un cierto grado de separación entre las dos para garantizar que las dos entidades no interfieran entre sí en su actividad, también es importante que las dos no estén tan alejadas de manera que el radionúclido no se administre de manera eficaz a su sitio de operación.

De acuerdo con la invención, X es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-.

20 De acuerdo con la invención, L es un ligando de metal de jaula que contiene nitrógeno. Los ligandos de jaula de este tipo normalmente son útiles, ya que se unen fuertemente a los iones metálicos, lo que conduce a la formación de un complejo estable.

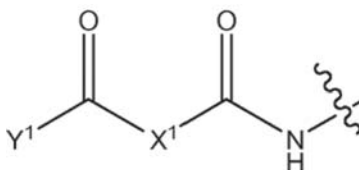
De acuerdo con la invención, L es un ligando metálico de jaula que contiene nitrógeno de fórmula:

25



en la que R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, OH, halógeno, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, arilo C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> opcionalmente sustituido, ciano, CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>, NHR<sup>5</sup>, N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> y un grupo de fórmula:

30



en la que:

35 X<sup>1</sup> en una fracción de enlace;

Y<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en OR<sup>6</sup>, SR<sup>7</sup>, N(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub> y una fracción de reconocimiento molecular;

en la que R<sup>5</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>.

40

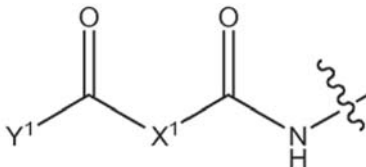
R<sup>6</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, un grupo protector de oxígeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido;

45 R<sup>7</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, un grupo protector de azufre, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido; cada R<sup>8</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, un grupo protector de nitrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido.

50 De acuerdo con la invención, el ligando está funcionalizado o sustituido con un grupo R<sup>4</sup>. Esto permite la formación de ligandos bifuncionales, ya que existe la posibilidad de que el grupo R<sup>4</sup> complemente la funcionalidad existente del ligando o proporcione funcionalidad adicional si es necesario. Además, cuando uno está tratando de crear una

construcción multimérica, el grupo  $R^4$  normalmente es el grupo usado para introducir la segunda fracción de dirección o fracción de reconocimiento molecular.

En algunas realizaciones,  $R^4$  se selecciona del grupo que consiste en  $NH_2$ ,  $CH_3$  y un grupo de fórmula:



$X^1$  en una fracción de enlace;

$Y^1$  se selecciona del grupo que consiste en  $OR^6$ ,  $SR^7$ ,  $N(R^8)_2$  y una fracción de reconocimiento molecular;

$R^6$  se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, un grupo protector de oxígeno, alquilo  $C_1-C_{12}$  opcionalmente sustituido, alqueno  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido, alquino  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido y heteroalquilo  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido;

$R^7$  se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, un grupo protector de azufre, alquilo  $C_1-C_{12}$  opcionalmente sustituido, alqueno  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido, alquino  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido y heteroalquilo  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido;

cada  $R^8$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, un grupo protector de nitrógeno, alquilo  $C_1-C_{12}$  opcionalmente sustituido, alqueno  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido, alquino  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido y heteroalquilo  $C_2-C_{12}$  opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones,  $X^1$  es una fracción de enlace que tiene de 1 a 20 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  es una fracción de enlace que tiene de 1 a 15 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  es una fracción de enlace que tiene de 1 a 12 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  es una fracción de enlace que tiene de 1 a 10 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  tiene 8 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  tiene 7 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  tiene 6 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  tiene 5 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  tiene 3 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  tiene 2 átomos en la cadena normal. En algunas realizaciones,  $X^1$  tiene 1 átomo en la cadena normal.

Se puede usar una amplia selección de posibles fracciones para crear una fracción de enlace de este tipo. Los ejemplos de fracciones adecuadas que pueden usarse en la creación de  $X^1$  incluyen alquilo  $C_1-C_{12}$  opcionalmente sustituido, Heteroalquilo  $C_2-C_{12}$  sustituido, cicloalquilo  $C_3-C_{12}$  opcionalmente sustituido, arilo  $C_6-C_{18}$  opcionalmente sustituido y heteroarilo  $C_1-C_{18}$  opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones,  $X^1$  es un grupo de fórmula:



en la que cada AA es independientemente un grupo de aminoácidos;

t es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8;

u es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8;

v es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

En algunas realizaciones, t es 1. En algunas realizaciones, t es 2. En algunas realizaciones, t es 3. En algunas realizaciones, t es 4. En algunas realizaciones, t es 5. En algunas realizaciones, t es 6. En algunas realizaciones, t es 7. En algunas realizaciones, t es 8.

En algunas realizaciones, u es 0. En algunas realizaciones, u es 1. En algunas realizaciones, u es 2. En algunas realizaciones, u es 3. En algunas realizaciones, u es 4. En algunas realizaciones, u es 5. En algunas realizaciones, u es 6. En algunas realizaciones, u es 7. En algunas realizaciones, u es 8.

En algunas realizaciones, v es 0. En algunas realizaciones, v es 1. En algunas realizaciones, v es 2. En algunas realizaciones, v es 3. En algunas realizaciones, v es 4. En algunas realizaciones, v es 5. En algunas realizaciones, v es 6. En algunas realizaciones, v es 7. En algunas realizaciones, v es 8.

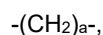
En algunas realizaciones, el aminoácido es un aminoácido natural. En algunas realizaciones, el aminoácido es un aminoácido no natural. En algunas realizaciones, el aminoácido se selecciona del grupo que consiste en fenilalanina, tirosina, ácido aminohexanoico y cisteína.

5 En algunas realizaciones, t es 3, u es o y v es 5. En estas realizaciones, X<sup>1</sup> es un grupo de fórmula:



En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es un grupo de fórmula

10



en la que, opcionalmente, uno o más de los grupos CH<sub>2</sub> puede estar reemplazado independientemente por un grupo heteroatómico seleccionado de S, O, P y NR<sup>9</sup>, en el que R<sup>9</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, arilo C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> opcionalmente sustituido y heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> opcionalmente sustituido; a es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1,2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.

15

En algunas realizaciones, a se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5. En algunas realizaciones, a es 4. En algunas realizaciones, n es 3. En algunas realizaciones, a es 2. En algunas realizaciones, a es 1.

20

En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en -CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- y -CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-.

25

En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>-. En algunas realizaciones, X<sup>1</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>-.

30

En algunas realizaciones, Y<sup>1</sup> es OH o una fracción de reconocimiento molecular. En algunas realizaciones, Y<sup>1</sup> es OH. En algunas realizaciones, Y<sup>1</sup> es una fracción de reconocimiento molecular.

En los compuestos de fórmula (II), Y es una fracción de reconocimiento molecular. En algunas realizaciones de los compuestos de fórmula (II), Y<sup>1</sup> es una fracción de reconocimiento molecular.

35

En aquellas realizaciones en las que Y o Y<sup>1</sup> son una fracción de reconocimiento molecular, puede ser cualquier fracción que tenga la capacidad de reconocer una fracción diana en un entorno fisiológico. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular incluye una parte de reconocimiento molecular que está unida directamente al resto de la molécula. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular incluye una parte espaciadora y una parte de reconocimiento molecular, en la que la parte espaciadora une la parte de reconocimiento molecular con el resto de la molécula. El espaciador puede ser cualquier construcción adecuada y normalmente se escoge de modo que proporcione una distancia o un "espacio" adecuado entre la fracción de ligando de la molécula y la parte de reconocimiento molecular de la molécula. La longitud exacta (si se requiere) variará dependiendo del receptor diana específico, de la naturaleza del ligando y de la naturaleza de la parte de reconocimiento molecular. En algunos casos, el espaciador puede ser deseable, ya que permite una síntesis más fácil de los compuestos de la invención en función de la naturaleza de la parte de reconocimiento molecular.

40

45

En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo, una proteína, un péptido, un hidrato de carbono, un ácido nucleico, un oligonucleótido, un oligosacárido y un liposoma, o un fragmento o derivado de los mismos.

50

En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es un anticuerpo, o un fragmento o derivado del mismo. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular es una proteína, o un fragmento o derivado de la misma. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es un péptido, o un fragmento o derivado del mismo. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es un hidrato de carbono, o un fragmento o derivado del mismo. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es un ácido nucleico, o un fragmento o derivado del mismo. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es un oligonucleótido, o un fragmento o derivado del mismo. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es un oligosacárido, o un fragmento o derivado del mismo. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es un ácido fólico, o un fragmento o derivado del mismo. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es una vitamina B12, o un fragmento o derivado de la misma. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular es un liposoma, o un fragmento o derivado del mismo.

55

60

65

5 En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular se selecciona del grupo que consiste en un octreotato, octreotida, [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato, [Tyr<sup>1</sup>]-octreotato, bombesina, bombesina(7-14), péptido de liberación de gastrina, aminoácidos sencillos, penetratina, anexina V, TAT, RGD cíclico, glucosa, glucosamina (e hidratos de carbono extendidos), ácido fólico, neurotensina, neuropéptido Y, análogos de colecistoquinina (CCK), péptido intestinal vasoactivo (VIP), sustancia P y hormona estimulante de melanocitos alfa (MSH).

10 En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular o la parte de reconocimiento molecular se selecciona del grupo que consiste en [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato y bombesina. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular es [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular es Lys<sup>3</sup>-bombesina. En algunas realizaciones, la fracción de reconocimiento molecular es RGD cíclico.

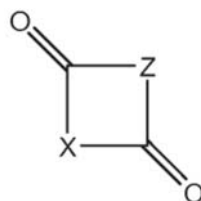
15 En algunas realizaciones de los compuestos de fórmula (I) o fórmula (II), el ligando macrocíclico de metales que contiene nitrógeno está complejado con un ion metálico. El ligando se puede complejar con cualquier ion metálico adecuado y se puede usar para administrar una selección de iones metálicos. En algunas realizaciones, el ion metálico se selecciona del grupo que consiste en Cu, Tc, Gd, Ga, In, Co, Re, Fe, Au, Ag, Rh, Pt, Bi, Cr, W, Ni, V, Ir, Pt, Zn, Cd, Mn, Ru, Pd, Hg y Ti.

20 En algunas realizaciones, el ion metálico es un radionúclido seleccionado del grupo que consiste en Cu, Tc, Ga, Co, In, Fe y Ti. Se ha encontrado que los presentes compuestos son particularmente aplicables de utilidad en la unión de iones de cobre. En algunas realizaciones, el ion metálico es un radionúclido seleccionado del grupo que consiste en <sup>60</sup>Cu, <sup>62</sup>Cu, <sup>64</sup>Cu y <sup>67</sup>Cu. En algunas realizaciones, el ión metálico es <sup>60</sup>Cu. En algunas realizaciones, el ión metálico es <sup>62</sup>Cu. En algunas realizaciones, el ión metálico es <sup>64</sup>Cu. En algunas realizaciones, el ión metálico es <sup>67</sup>Cu.

25 La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de la invención como se ha descrito anteriormente y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En relación con los métodos de producción de un compuesto de fórmula (II):

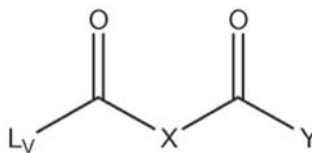
30 El compuesto de dicarbonilo activado usado en los métodos sintéticos de la presente invención puede ser cualquier compuesto de dicarbonilo adecuado. En algunas realizaciones, el compuesto de dicarbonilo activado es un compuesto de la fórmula (III):



35 **Fórmula (III)**

en la que X es como se ha definido anteriormente, y Z es O, S o NR<sup>2</sup>.

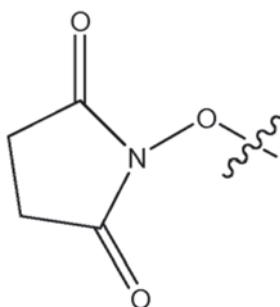
40 En algunas realizaciones, el compuesto de dicarbonilo activado es un compuesto de la fórmula (IV):



45 **Fórmula (IV)**  
en la que X e Y son como se han definido anteriormente y Lv es un grupo saliente.

50 El grupo saliente puede ser cualquier grupo adecuado que pueda ser desplazado por la fracción química de entrada deseada, y hay una serie de grupos salientes adecuados que son bien conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el grupo saliente se selecciona del grupo que consiste en Cl, Br, CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>3</sub>, y un grupo de la fórmula:





Los compuestos pueden reaccionar bajo una amplia variedad de condiciones de reacción adecuadas para facilitar la reacción. En algunas realizaciones, el ligando quelante de metal sustituido con amino y el compuesto de dicarbonilo activado se hacen reaccionar en presencia de una base. Se pueden usar varias bases adecuadas. En algunas realizaciones, la base es diisopropiletilamina.

#### Descripción detallada

En la presente memoria descriptiva, se usa una serie de términos que son bien conocidos por un destinatario experto. No obstante, a efectos de claridad, se definirán una serie de términos.

Como se usa en el presente documento, la expresión "no sustituido/a" significa que no hay sustituyente o que los únicos sustituyentes son hidrógeno.

La expresión "opcionalmente sustituido/a", como se usa a lo largo de la memoria descriptiva, indica que el grupo puede o no estar más sustituido o fusionado (para formar un sistema policíclico condensado), con uno o más grupos sustituyentes que no son hidrógeno. En ciertas realizaciones, los grupos sustituyentes son uno o más grupos seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, =O, =S, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, alquilo, alquenilo, alquinilo, haloalquilo, haloalquenilo, haloalquinilo, heteroalquilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilalquilo, arilalquilo, cicloalquilalquenilo, heterocicloalquilalquenilo, arilalquenilo, heteroarilalquenilo, cicloalquilheteroalquilo, heterocicloalquilheteroalquilo, arilheteroalquilo, heteroarilheteroalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alquiloxi, alquiloalquilo, alquiloxicicloalquilo, alquiloxiheterocicloalquilo, alquiloxiarilo, alquiloxiheteroarilo, alquiloxicarbonilo, alquilaminocarbonilo, alqueniloxi, alquiniloxi, cicloalquiloxi, cicloalqueniloxi, heterocicloalquiloxi, heterocicloalqueniloxi, ariloxi, feniloxi, benciloxi, heteroariloxi, arilalquiloxi, amino, alquilamino, acilamino, aminoalquilo, arilamino, sulfonilamino, sulfinilamino, sulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, aminosulfonilo, sulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, aminosulfinilaminoalquilo, -C(=O)OH, -C(=O)R<sup>a</sup>, -C(=O)OR<sup>a</sup>, C(=O)NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, C(=NOH)R<sup>a</sup>, C(=NR<sup>a</sup>)NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, NR<sup>a</sup>C(=O)R<sup>b</sup>, NR<sup>a</sup>C(=O)OR<sup>b</sup>, NR<sup>a</sup>C(=O)NR<sup>b</sup>R<sup>c</sup>, NR<sup>a</sup>C(=NR<sup>b</sup>)NR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>, NR<sup>a</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>b</sup>, -SR<sup>a</sup>, SO<sub>2</sub>NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -OR<sup>a</sup>, OC(=O)NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, OC(=O)R<sup>a</sup> y acilo, en la que R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup>, R<sup>c</sup> y R<sup>d</sup> cada uno se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>, cicloalquenilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>, heterocicloalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, heterocicloalquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, arilo C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>, heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> y acilo, o dos cualquiera o más de R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup>, R<sup>c</sup> y R<sup>d</sup>, cuando se toman junto con los átomos a los que están unidos forman un sistema de anillo heterocíclico con de 3 a 12 átomos en el anillo.

En algunas realizaciones, cada sustituyente opcional se selecciona independientemente del grupo que consiste en: halógeno, =O, =S, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, alquilo, alquenilo, alquinilo, haloalquilo, haloalquenilo, haloalquinilo, heteroalquilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, arilo, heteroarilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alquiloxi, alquiloalquilo, alquiloxiarilo, alquiloxiheteroarilo, alqueniloxi, alquiniloxi, cicloalquiloxi, cicloalqueniloxi, heterocicloalquiloxi, heterocicloalqueniloxi, ariloxi, heteroariloxi, arilalquilo, heteroarilalquilo, arilalquiloxi, amino, alquilamino, acilamino, aminoalquilo, arilamino, sulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, aminosulfonilo, aminoalquilo, -COOH, -SH y acilo.

Los ejemplos de sustituyentes opcionales particularmente adecuados incluyen F, Cl, Br, I, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, OH, OCH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, OCF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, y CN.

Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" se refiere a una molécula que contiene una función amina y una función carboxilo. El aminoácido puede ser un aminoácido natural o no natural.

"Alquenilo" como grupo o parte de un grupo denota un grupo hidrocarburo alifático que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado, que tiene preferentemente de 2 a 12 átomos de carbono, más preferentemente, de 2 a 10 átomos de carbono, lo más preferentemente, de 2 a 6 átomos de carbono, en la cadena normal. El grupo puede contener una pluralidad de dobles enlaces en la cadena normal, y la orientación alrededor de cada uno es independientemente E o Z. Los grupos alquenilo ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo y nonenilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo puente.

"Alquilo" como grupo o parte de un grupo se refiere a un grupo hidrocarburo alifático lineal o ramificado, preferentemente un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, más preferentemente un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, lo más preferentemente C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, a menos que se indique otra cosa. Los ejemplos de sustituyentes alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineales y ramificados incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, 2-propilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *t*-butilo, hexilo, y similares. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo puente.

"Alquiniilo", como grupo o parte de un grupo, significa un grupo hidrocarburo alifático que contiene un triple enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado, preferentemente de 2 a 12 átomos de carbono, más preferentemente, de 2 a 10 átomos de carbono, más preferentemente de 2 a 6 átomos de carbono en la cadena normal. Las estructuras ilustrativas incluyen, aunque no de forma limitativa, etinilo y propinilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo puente.

"Ariilo", como grupo o parte de un grupo, denota (i) un carbociclo aromático, monocíclico o policíclico fusionado (estructura del anillo que tiene todos los átomos de carbono), preferentemente de 5 a 12 átomos por anillo. Los ejemplos de grupos ariilo incluyen fenilo, naftilo y similares; (ii) una fracción carbocíclica aromática bicíclica parcialmente saturada opcionalmente sustituida, en la que un fenilo y un grupo cicloalquilo C<sub>5-7</sub> o grupo cicloalqueno C<sub>5-7</sub> se fusionan entre sí para formar una estructura cíclica, tal como tetrahidronaftilo, indenilo o indanilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo puente. Normalmente, un grupo ariilo es un grupo ariilo C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>.

"Cicloalquilo" se refiere a un carbociclo monocíclico saturado, o policíclico condensado o espiro, que contiene preferentemente de 3 a 9 átomos de carbono por anillo, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares, a menos que se especifique lo contrario. Incluye sistemas monocíclicos tales como ciclopropilo y ciclohexilo, sistemas bicíclicos tales como la decalina y sistemas policíclicos tales como adamantano. Un grupo cicloalquilo normalmente es un grupo cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo puente.

"Halógeno" representa cloro, flúor, bromo o yodo.

"Heteroalquilo" se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene preferentemente de 2 a 12 átomos de carbono, más preferentemente, de 2 a 6 átomos de carbono en la cadena, en el que uno o más de los átomos de carbono (y cualquier átomo de hidrógeno asociado) están cada uno reemplazado independientemente por un grupo heteroatómico seleccionado de S, O, P y NR', en el que R' se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, ariilo C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> opcionalmente sustituido y heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> opcionalmente sustituido. Los heteroalquilos ilustrativos incluyen alquiléteres, alquilaminas secundarias y terciarias, amidas, sulfuros de alquilo y similares. Los ejemplos de heteroalquilo también incluyen hidroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, aminoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y di(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo puente.

"Heteroarilo", bien solo o como parte de un grupo, se refiere a grupos que contienen un anillo aromático (preferentemente, un anillo aromático de 5 o 6 elementos) que tiene uno o más heteroátomos como átomos del anillo en el anillo aromático, y el resto de los átomos del anillo son átomos de carbono. Los heteroátomos adecuados incluyen nitrógeno, oxígeno y azufre. Los ejemplos de heteroarilo incluyen tiofeno, benzotiofeno, benzofurano, benzoimidazol, benzoxazol, benzotiazol, benzoisotiazol, nafto[2,3-*b*]tiofeno, furano, isoindolizina, xantoleno, fenoxatina, pirrol, imidazol, pirazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, tetrazol, indol, isoindol, 1*H*-indazol, purina, quinolina, isoquinolina, ftalazina, naftiridina, quinoxalina, cinolina, carbazol, fenantridina, acridina, fenazina, tiazol, isotiazol, fenotiazina, oxazol, isooxazol, furazano, fenoxazina, 2-, 3- o 4-piridilo, 2-, 3-, 4-, 5- o 8-quinolilo, 1-, 3-, 4- o 5-isoquinolinilo, 1-, 2- o 3-indolilo, y 2- o 3-tienilo. Un grupo heteroarilo normalmente es un grupo heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo puente.

Un "grupo saliente" es un grupo químico que es desplazado fácilmente por una fracción químico entrante deseada. Por consiguiente, en cualquier situación, la elección del grupo saliente dependerá de la capacidad del grupo químico en particular para ser desplazado por la fracción química entrante. Los grupos salientes adecuados son bien conocidos en la técnica, véase, por ejemplo, "Advanced Organic Chemistry" Jerry March 4ª edición, pág. 351-357, Oak Wick and Sons NY (1997). Los ejemplos de grupos salientes adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, halógeno, alcoxi (tal como etoxi, metoxi), sulfonilo, arilsulfonilo opcionalmente sustituido. Los ejemplos específicos incluyen cloro, yodo, bromo, flúor, etoxi, metoxi, metanosulfonilo, triflato y similares.

La expresión "cadena normal" se refiere a la cadena directa que une los dos extremos de una fracción de enlace.

La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la actividad biológica deseada de los compuestos identificados anteriormente, e incluyen sales de adición de ácido y sales de adición de base farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de Fórmula (I) se pueden preparar a partir de un ácido inorgánico o a partir de un ácido orgánico. Los ejemplos de dichos ácidos inorgánicos son el ácido clorhídrico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos orgánicos apropiados pueden seleccionarse de alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, heterocíclicos carboxílicos y sulfónicos de ácidos orgánicos, cuyos ejemplos son fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, fumárico, maleico, alquilsulfónico, arilsulfónico. Otra información adicional sobre sales farmacéuticamente

aceptables puede encontrarse en Remington's Pharmaceutical Sciences, 19.<sup>a</sup> edición, Mack Publishing Co., Easton, PA 1995. En el caso de agentes que son sólidos, los expertos en la materia entenderán que los compuestos, agentes y sales de la invención pueden existir en diferentes formas cristalinas o polimórficas, estando todas ellas destinadas a estar dentro del alcance de la presente invención y fórmulas especificadas.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" es una cantidad suficiente para efectuar resultados clínicos beneficiosos o deseados. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones. Una cantidad eficaz suele ser suficiente para paliar, recuperar, estabilizar, revertir, retardar o retrasar la progresión del estado patológico. Una cantidad eficaz para la generación de imágenes radiológicas suele ser suficiente para identificar el radionúclido en el sujeto.

La expresión "fragmento de reconocimiento molecular" se refiere a una entidad capaz de unirse a una determinada entidad molecular, normalmente, una ubicación del receptor en el entorno fisiológico. La expresión incluye anticuerpos, proteínas, péptidos, hidratos de carbono, ácidos nucleicos, oligonucleótidos, oligosacáridos y liposomas.

La expresión "grupo protector de oxígeno" significa un grupo que puede evitar que la fracción de oxígeno reaccione durante la posterior derivatización del compuesto protegido y que puede eliminarse fácilmente cuando se desee. En una realización, el grupo protector se puede retirar en el estado fisiológico mediante procesos metabólicos naturales. Los ejemplos de grupos protectores de oxígeno incluyen grupos acilo (tales como acetilo), éteres (tales como metoximetiléter (MOM),  $\beta$ -metoxietoximetiléter (MEM), p-metoxibenciléter (PMB), metiltiometiléter, pivaloilo (Piv), tetrahidropirano (THP)) y sililéteres (tales como trimetilsililo (TMS), *terc*-butildimetilsililo (TBDMS) y triisopropilsililo (TIPS)).

La expresión "grupo protector de nitrógeno" significa un grupo que puede evitar que la fracción de nitrógeno reaccione durante la posterior derivatización del compuesto protegido y que puede eliminarse fácilmente cuando se desee. En una realización, el grupo protector se puede retirar en el estado fisiológico mediante procesos metabólicos naturales y, en esencia, el compuesto protegido actúa como un profármaco para las especies activas desprotegidas. Los ejemplos de grupos protectores de nitrógeno adecuados que pueden usarse incluyen formilo, tritilo, ftalimido, acetilo, tricloroacetilo, cloroacetilo, bromoacetilo, yodoacetilo; grupos de bloqueo de tipo uretano tales como benciloxycarbonilo ('CBz'), 4-fenilbenciloxycarbonilo, 2-metilbenciloxycarbonilo, 4-metoxibenciloxycarbonilo, 4-fluorobenciloxycarbonilo, 4-clorobenciloxycarbonilo, 3-clorobenciloxycarbonilo, 2-clorobenciloxycarbonilo, 2,4-diclorobenciloxycarbonilo, 4-bromobenciloxycarbonilo, 3-bromobenciloxycarbonilo, 4-nitrobenciloxycarbonilo, 4-cianobenciloxycarbonilo, *t*-butoxicarbonilo ('tBoc'), 2-(4-xenil)-isopropoxycarbonilo, 1,1-difenilet-1-iloxycarbonilo, 1,1-difenilprop-1-iloxycarbonilo, 2-fenilprop-2-iloxycarbonilo, 2-(*p*-toluil)-prop-2-iloxi-carbonilo, ciclo-pentaniloxi-carbonilo, 1-metilciclopentaniloxicarbonilo, ciclohexaniloxicarbonilo, 1-metilciclohexaniloxicarbonilo, 2-metilciclohexaniloxicarbonilo, 2-(4-toluilsulfono)-etoxycarbonilo, 2-(metilsulfono)etoxycarbonilo, 2-(trifenilfosfino)-etoxycarbonilo, fluorenilmetoxycarbonilo ("FMOc"), 2-(trimetilsilil)etoxycarbonilo, aliloxycarbonilo, 1-(trimetilsililmetil)prop-1-eniloxycarbonilo, 5-benzoisoxalimetoxi carbonilo, 4-acetoxibenciloxycarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxycarbonilo, 2-etinil-2-propoxycarbonilo, ciclopropilmetoxycarbonilo, 4-(decicloxi)benciloxycarbonilo, isoborniloxicarbonilo, 1-piperidiloxicarbonilo y similares; grupo benzoilmetilsulfono, 2-nitrofenilsulfenilo, óxido de difenilfosfina y similares. El grupo protector de nitrógeno real empleado no es fundamental, siempre que el grupo de nitrógeno derivado sea estable a la condición de la/s reacción/es posterior/es, y se pueda retirar de forma selectiva según sea necesario sin interrumpir sustancialmente el resto de la molécula, incluyendo cualquier otro grupo de protección de nitrógeno. Otros ejemplos de estos grupos se encuentran en: Greene, T. W. y Wuts, P. G. M., "Protective Groups in Organic Synthesis", segunda edición; Wiley-Interscience: 1991; Capítulo 7; McOmie, J. F. W. (ed.), "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, 1973; y Kocienski, P. J., "Protecting Groups", segunda edición, Theime Medical Pub., 2000.

Los compuestos de la invención descritos anteriormente pueden incluir una amplia variedad de ligandos metálicos macrocíclicos que contienen nitrógeno.

El ligando puede ser un ligando de metal monocíclico que contiene nitrógeno basado en armazones de ciclam o ciclen. El ligando de este tipo y sus derivados pueden sintetizarse usando la metodología disponible en la técnica, tal como en Bernhardt (*J. Chem. Soc., Dalton Transactions*, 1996, páginas 4319-4324), Bernhardt *et al.* (*J. Chem. Soc., Dalton Transactions*, 1996, páginas 4325-4330), y Bernhardt y Sharpe (*Inorg Chem*, 2000, 39, páginas 2020-2025). Se pueden crear otros diversos ligandos de este tipo general mediante la variación de los procedimientos descritos en estos artículos.

El ligando también puede ser ligando de criptando de tipo jaula como se describe, por ejemplo, en Geue (*Chemical Communications*, 1994, página 667). Los ligandos de criptando de este tipo se describen en la Patente de Estados Unidos n.º 4.497.737 a nombre de Sargeson *et al.*, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia.

La síntesis implica una reacción con molde de iones metálicos, e implica la condensación de un complejo de tris-(diamina) e ión metálico (véase la columna 3 líneas 30 a 35) con formaldehído y un nucleófilo apropiado en presencia de base. La identidad del nucleófilo determinará la identidad de los sustituyentes en el ligando de jaula, y un

destinatario experto puede acceder a una amplia variedad de patrones de sustitución alrededor del ligando de jaula mediante la elección juiciosa de la amina apropiada usada en la condensación, así como de la identidad del nucleófilo.

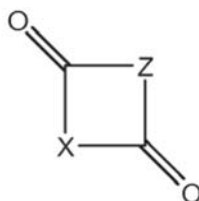
5 Para producir los compuestos de fórmula (I), que pueden usarse para formar compuestos de fórmula (II) de la invención, el ligando de amino sustituido o una forma de complejo metálico del mismo se hace reaccionar con un compuesto de dicarbonilo apropiado en condiciones de reacción adecuadas para la obtención del producto final.

10 Mientras que la reacción se puede realizar en el ligando libre, todavía hay una posibilidad de que la reacción se vea comprometida por la presencia del/de los nitrógeno/s del anillo. Como tal, es deseable realizar la reacción usando un complejo metálico del mismo, ya que el metal sirve para actuar como un grupo protector para los átomos de nitrógeno secundarios en el anillo.

15 La reacción puede llevarse a cabo en cualquier disolvente adecuado que sea inerte a los dos reactantes, estando la identidad del disolvente determinada por las solubilidades relativas del anhídrido y del ligando de metal sustituido con amina. Los ejemplos de disolventes que pueden usarse incluyen hidrocarburos alifáticos, aromáticos o halogenados, tales como benceno, tolueno, xilenos; clorobenceno, cloroformo, cloruro de metileno, cloruro de etileno; éteres y compuestos etéreos tales como dialquiléter, mono o-dialquiléter de etilenglicol, THF, dioxano; nitrilos tales como acetonitrilo o 2-metoxipropionitrilo; amidas *N,N*-dialquiladas tales como dimetilformamida; y dimetilacetamida, dimetilsulfóxido, tetrametilurea; así como mezclas de estos disolventes entre sí.

20 La reacción puede llevarse a cabo a cualquiera de una serie de temperaturas adecuadas, pudiéndose determinar la temperatura de reacción fácilmente en función de cada caso. Sin embargo, la temperatura de reacción se lleva a cabo normalmente de 0 a 100 °C, more normalmente, de 50 a 80 °C.

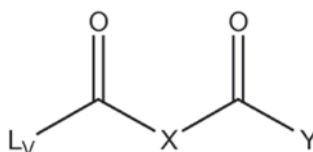
25 La reacción se puede llevar a cabo usando una amplia variedad de compuestos de dicarbonilo activados. En algunas realizaciones, el compuesto de dicarbonilo activado es un anhídrido de fórmula:



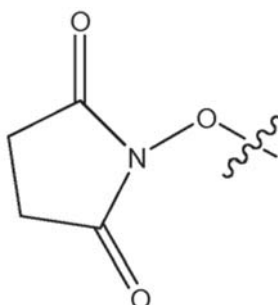
30 en la que X es como se ha definido anteriormente, y Z es O, S o NR<sup>2</sup>.

En general, los compuestos de anhídrido de este tipo se pueden obtener fácilmente para ciertos valores de X y, por lo tanto, estos compuestos se pueden usar fácilmente para valores de X para los que se pueden obtener. Es deseable utilizarlos cuando sea posible, ya que se reduce algo el potencial de reacciones secundarias con estos compuestos.

35 En algunas realizaciones, el compuesto de dicarbonilo activado es un compuesto de fórmula:



40 en la que X e Y son como se han definido anteriormente y Lv es un grupo saliente. El grupo Lv de los compuestos de este tipo puede ser cualquier grupo saliente adecuado, pero, normalmente, se selecciona del grupo que consiste en Cl, Br, CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>3</sub>, y un grupo de la fórmula:



45

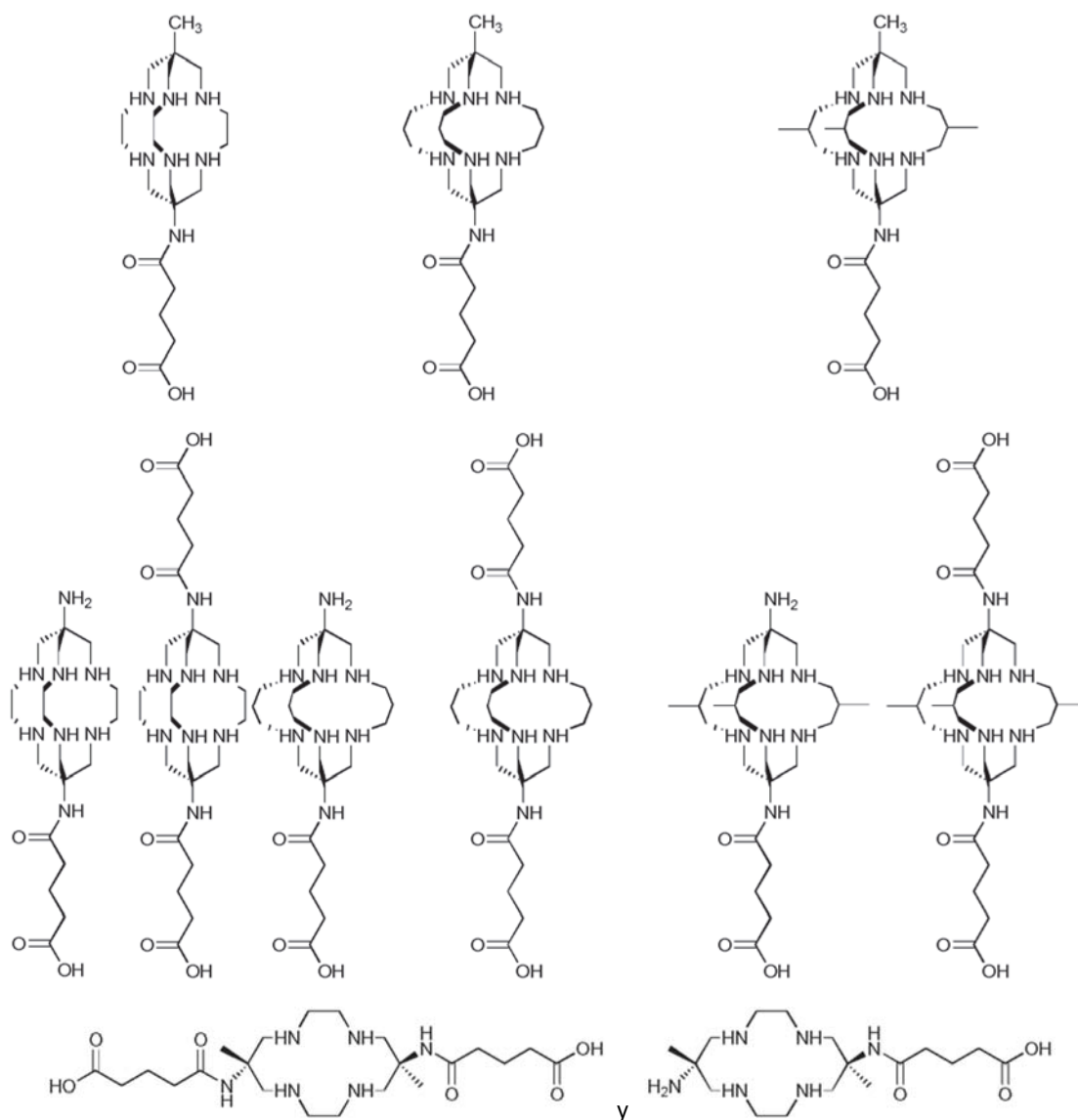
En la elección de un grupo saliente adecuado para reacciones de este tipo, el experto en la materia tendrá en cuenta la funcionalidad del resto de la molécula y la facilidad de producción del compuesto de dicarbonilo activado en cada caso.

5 La reacción también se lleva a cabo normalmente en presencia de una base, pues se encuentra que facilita la reacción. Los ejemplos de bases adecuadas incluyen aminas terciarias impedidas con trialkilaminas tales como trimetilamina, trietiloamina, diisopropiletilamina como ejemplos de bases adecuadas para su uso en la reacción. La cantidad de base usada es aquella que está en un exceso molar significativo para garantizar que la reacción no se vea afectada por la acidificación a medida que va progresando.

10 El compuesto exacto producido dependerá de la estequiometría de la reacción y de los materiales de partida, siendo un destinatario experto capaz de ajustar cualquiera de estas variables para producir el producto final deseado.

15 Además, es deseable extender el enlazador X hasta ser significativamente más largo que los compuestos que se pueden obtener fácilmente mediante la vía detallada anteriormente y es posible crear el grupo carboxi (por ejemplo, mediante técnicas de química de péptidos convencionales) para introducir grupos de aminoácidos adicionales en la cadena. Los métodos para realizar reacciones de este tipo son competencia de un experto en la materia.

20 Los ejemplos de compuestos de fórmula (I) que pueden producirse usando la metodología descrita anteriormente incluyen:

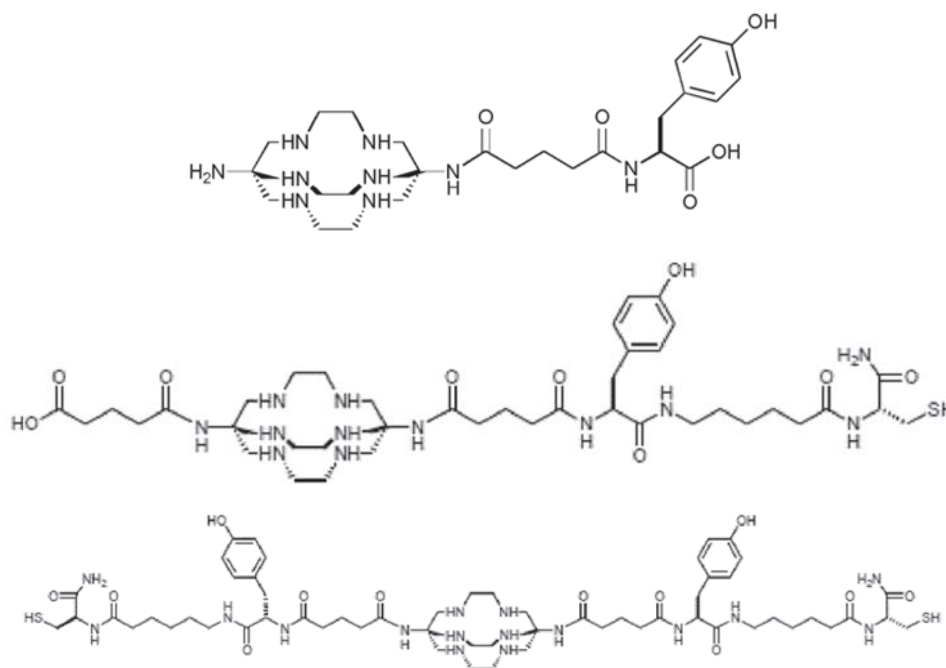


25 o un complejo metálico de los mismos.

30

Estos compuestos se pueden elaborar después para producir compuestos de fórmula (II) que contengan una fracción de reconocimiento molecular mediante la reacción del extremo carboxilo (o una forma activada del mismo) con un elemento reactivo adecuado en un fragmento de reconocimiento molecular en condiciones de acoplamiento adecuados. Un ejemplo de dicha reacción sería aquella en la que se realice un acoplamiento entre la parte carboxilo del compuesto de fórmula (I) con los extremos N de un péptido o de una proteína (tales como el extremo N de un péptido biológicamente activo) para formar un enlace peptídico de modo que se una el ligando metálico (a través del enlazador) a la unidad de reconocimiento molecular.

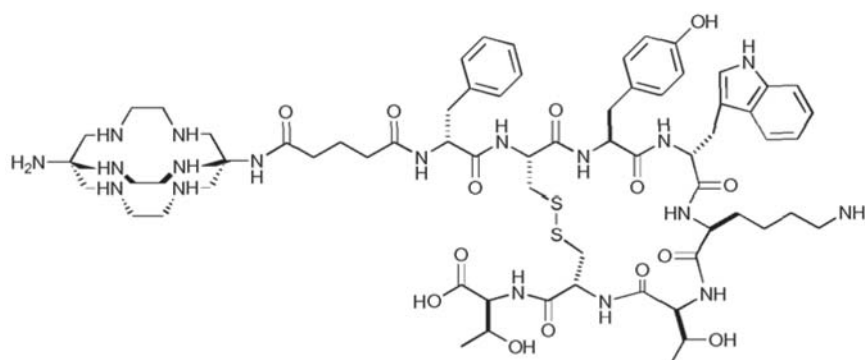
Como alternativa, las moléculas de fórmula (I) puede hacerse reaccionar con moléculas para introducir una "fracción espaciadora" antes de la adición de la parte de reconocimiento molecular de la fracción de reconocimiento molecular. Así pues, por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) pueden funcionalizarse, por ejemplo, a través de la fracción carboxilo para formar uno o más enlaces peptídicos para producir, como compuesto intermedio sintético, un compuesto de fórmula (I) con una fracción espaciadora unida (fracción espaciadora que forma parte de la fracción de reconocimiento molecular del compuesto final). Los ejemplos de compuestos de este tipo incluyen:

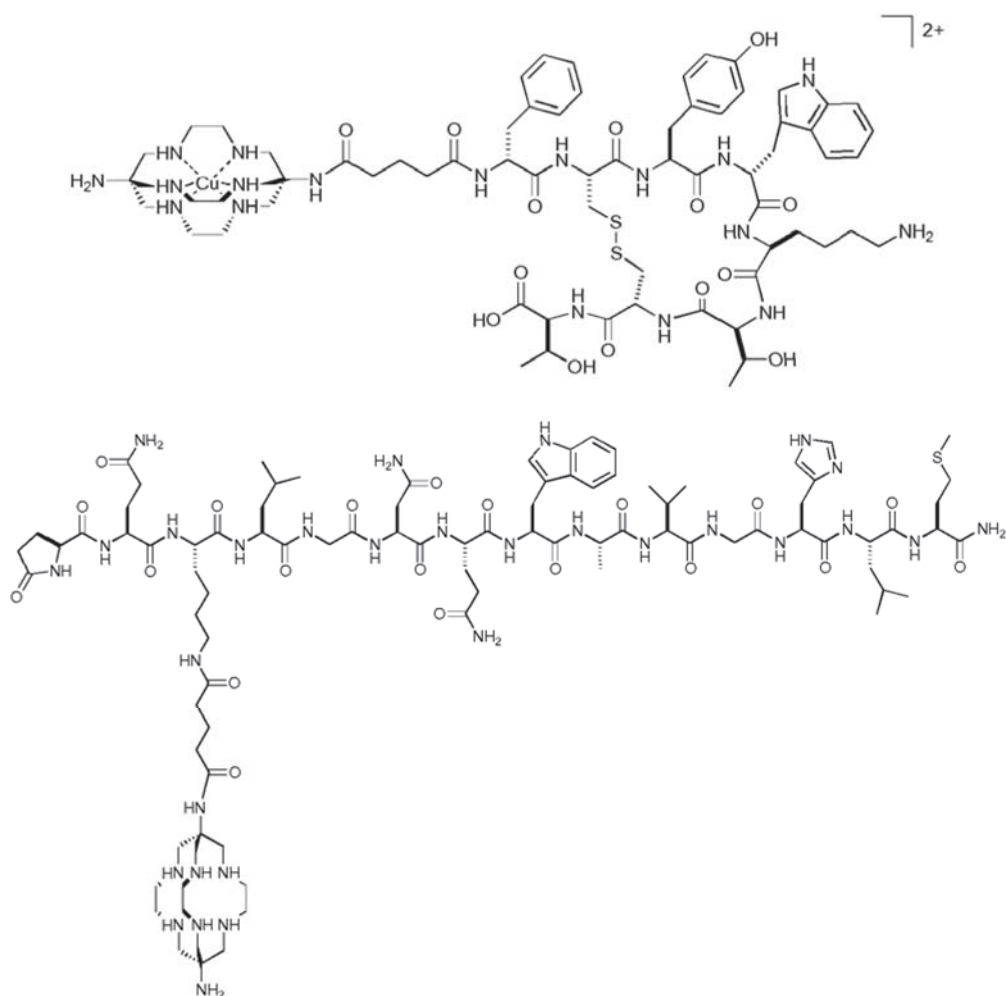


Como se puede ver en cada uno de estos compuestos, el compuesto de fórmula (I) se ha elaborado mediante la adición de una "fracción espaciadora". En el primer compuesto, se ha añadido una fracción de tirosina a un lado de la molécula. En el segundo compuesto, se ha añadido el péptido Tyr-aHX-Cys-NH<sub>2</sub> a un lado de la molécula y, en el tercer compuesto, el péptido Tyr-aHX-Cys-NH<sub>2</sub> se ha añadido a ambos lados de la molécula.

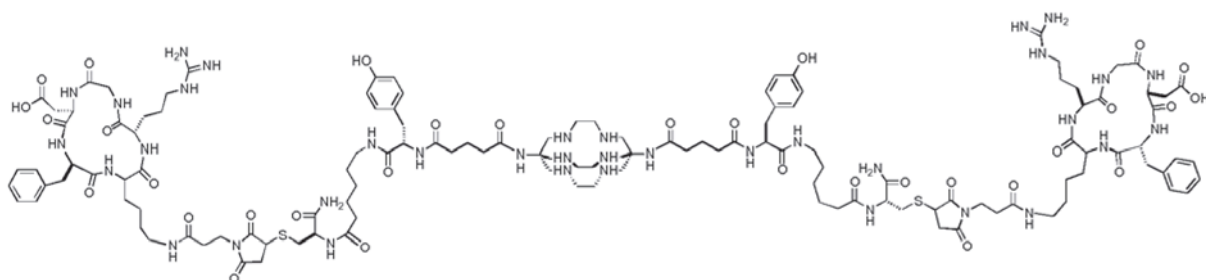
Como se ha indicado anteriormente, el compuesto de fórmula (I) o los compuestos intermedios como los descritos anteriormente se pueden elaborar adicionalmente mediante la adición de una fracción de reconocimiento molecular (o parte de reconocimiento molecular) como puede ser el caso de la formación de los compuestos de fórmula (II).

Los ejemplos de compuestos de fórmula (II) incluyen:





5 y



10 En principio, en la presente solicitud, se puede emplear cualquiera de un amplio intervalo de unidades de reconocimiento molecular biológicamente activas, con la única limitación de que la fracción de reconocimiento molecular usada debe contener una funcionalidad capaz de unirse (ya sea directamente o a través de un espaciador) al compuesto de fórmula (I). Si bien se pueden contemplar varios grupos funcionales diferentes (tales como el grupo propionato de maleimido en RGDfK anterior al que se acopla con una fracción tiol), la fracción de reconocimiento molecular tiene preferentemente un extremo N para el acoplamiento a través del resto carboxilo del compuesto de la invención como se ha descrito anteriormente. Las reacciones de acoplamiento pueden llevarse a cabo de maneras bien conocidas en la técnica y empleándose técnicas de síntesis de péptidos bien conocidas en la materia que pueden implicar técnicas de síntesis de péptidos en fase sólida o en fase líquida. En algunos casos, los átomos de nitrógeno del ligando pueden protegerse antes del acoplamiento peptídico usando grupos protectores de nitrógeno convencionales para facilitar un buen acoplamiento. Si se hace esto, se puede usar cualquier grupo protector de nitrógeno adecuado, siendo el grupo *N*-*tert*-butoxicarbonilo (*t*-*boc*) particularmente útil. Una vez completados, los grupos protectores pueden eliminarse usando técnicas bien conocidas en la materia.

15  
20

La formación de los complejos metálicos de los compuestos sintetizados de esta manera se lleva a cabo usando técnicas bien conocidas en la materia.

Como se ha descrito anteriormente, los compuestos de la invención son útiles, ya que bien se han modificado o se pueden modificar para contener un fragmento de reconocimiento molecular. Los compuestos de fórmula (II) que contienen un radionúclido complejo con el ligando pueden usarse bien en radioterapia o en aplicaciones de diagnóstico mediante generación de imágenes. En cada caso, tanto la terapia como el diagnóstico mediante generación de imágenes dependerán de que la fracción de reconocimiento molecular participe en facilitar la localización del complejo que contiene el radionúclido en los tejidos u órganos deseados del sujeto que se está tratando/del que se están generando imágenes.

Así pues, por ejemplo, en relación con el uso de los compuestos radiomarcados de fórmula (II), se anticipa que éstos se usarán mediante la administración de una cantidad eficaz de compuesto radiomarcado a un sujeto, seguida del control del sujeto tras un período de tiempo adecuado para determinar si el compuesto radiomarcado se ha localizado en una determinada ubicación del organismo o si el compuesto está ampliamente distribuido de manera uniforme por el organismo. Como regla general, cuando el compuesto radiomarcado se localiza en un tejido o en un órgano del cuerpo, esto es indicativo de la presencia en ese tejido u órgano de algo que es reconocido por la fracción de reconocimiento molecular usada en particular.

Por consiguiente, la selección juiciosa de una fracción de reconocimiento molecular o parte de reconocimiento molecular es importante para determinar la eficacia de cualquiera de los compuestos radiomarcados de la invención en aplicaciones de diagnóstico mediante generación de imágenes. En este sentido, en la técnica, se conoce una amplia selección de fracciones de reconocimiento molecular o partes de reconocimiento molecular que están bien caracterizadas y que se sabe que se dirigen selectivamente a ciertos receptores del organismo. En particular, se conocen varias fracciones de reconocimiento molecular o partes de reconocimiento molecular que se dirigen a tejidos u órganos cuando el paciente padece ciertas afecciones médicas. Los ejemplos de fracciones de reconocimiento molecular o partes de reconocimiento molecular que se conocen y se pueden usar en la presente invención incluyen Octreotato, octreotida, [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato, [Tyr<sup>1</sup>]-octreotato, bombesina, bombesina(7-14), péptido de liberación de gastrina, aminoácidos sencillos, penetratina, anexina V, TAT, RGD cíclico, glucosa, glucosamina (e hidratos de carbono extendidos), ácido fólico, neurotensina, neuropéptido Y, análogos de colecistoquinina (CCK), péptido intestinal vasoactivo (VIP), sustancia P, hormona estimulante de melanocitos alfa (MSH). Por ejemplo, se sabe que ciertos cánceres expresan en exceso los receptores de la somatostatina y, por lo tanto, la fracción de reconocimiento molecular puede ser una que se dirija a estos receptores. Un ejemplo de fracciones de reconocimiento molecular o partes de reconocimiento molecular de este tipo es [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato. Otro ejemplo de fracciones de reconocimiento molecular o partes de reconocimiento molecular es el RGD cíclico, que es un péptido cíclico de dirección a la integrina. En otros ejemplos, unas fracciones de reconocimiento molecular adecuadas o partes de reconocimiento molecular es la bombesina, que se sabe que se dirige a los cánceres de mama y de páncreas.

El control del sujeto para la ubicación del material radiomarcado normalmente proporcionará al analista información con respecto a la ubicación del material radiomarcado y, por lo tanto, la ubicación de cualquier material al que se dirija la fracción de reconocimiento molecular (tal como el tejido canceroso). Una cantidad eficaz de los compuestos de la invención dependerá de una serie de factores y necesariamente implicará un equilibrio entre la cantidad de radiactividad necesaria para lograr el efecto de generación de imágenes radiológicas deseado y el interés general en no exponer al sujeto (o sus tejidos u órganos) a cualquier nivel innecesario de radiación que pueda ser dañino.

Los métodos de tratamiento de la presente invención implican la administración de un compuesto de fórmula (II) complejo con un radionúclido. Los compuestos de fórmula (II) contienen una fracción de reconocimiento molecular para suministrar el radionúclido en la ubicación deseada del organismo en la que se desea su modo de acción. Como se ha descrito anteriormente, los ejemplos de dichas fracciones de reconocimiento molecular son conocidos en la técnica, y un experto en la materia puede seleccionar la fracción de reconocimiento molecular apropiada para dirigirse al tejido deseado del organismo que se va a tratar.

Una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser determinada fácilmente por un profesional clínico mediante el uso de técnicas convencionales y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. Para determinar la cantidad terapéuticamente eficaz, se debe considerar una serie de factores, entre los que se incluyen, pero sin limitación, la especie del animal, su tamaño, edad y estado general de salud, la afección específica implicada, la gravedad de la afección, la respuesta del paciente al tratamiento, el compuesto radiomarcado administrado en particular, el modo de administración, la biodisponibilidad del preparado administrado, la pauta de dosificación seleccionada, el uso de otros medicamentos y otras circunstancias relevantes.

Además, la pauta del tratamiento normalmente implicará una serie de ciclos de tratamiento de radiación, continuando los ciclos hasta que la afección se haya mejorado. Una vez más, el número óptimo de ciclos y la separación entre cada ciclo de tratamiento dependerán de varios factores, tales como la gravedad de la afección que se está tratando, la salud (o la falta de la misma) del sujeto que se está tratando y su reacción a la radioterapia. En general, la cantidad de dosificación óptima y la pauta de tratamiento óptima pueden ser fácilmente determinadas por un experto en la materia usando técnicas bien conocidas.

En el uso de los compuestos de la invención, se pueden administrar de cualquier forma o modo que haga al compuesto disponible para la aplicación deseada (terapia de generación de imágenes o radioterapia). Un experto en la materia



de preparación de formulaciones de este tipo puede seleccionar fácilmente la forma y el modo de administración apropiados dependiendo de las características particulares del compuesto seleccionado, la afección que se va a tratar, la etapa de la afección que se va a tratar y otras circunstancias relevantes. Véase "Remingtons Pharmaceutical Sciences", 19.<sup>a</sup> edición, Mack Publishing Co. (1995) para más información.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar solos o en forma de una composición farmacéutica en combinación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los compuestos de la invención, aunque son eficaces por sí mismos, normalmente se formulan y se administran en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, ya que estas formas son normalmente más estables, se cristalizan más fácilmente y tienen mayor solubilidad.

Los compuestos, sin embargo, normalmente se usan en forma de composiciones farmacéuticas que se formulan en función del modo de administración deseado. Las composiciones se preparan de maneras bien conocidas en la técnica.

La invención, en otras realizaciones, proporciona un paquete o kit farmacéutico que comprende uno o más recipientes llenos con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas de la invención. En dicho paquete o kit, se puede encontrar al menos un recipiente que tenga una dosis unitaria del/de los agente/s. De manera conveniente, en los kits, pueden proporcionarse monodosis en viales estériles de modo que el médico pueda emplear los viales directamente, en los que los viales tendrán la cantidad y concentración deseadas de compuesto y radionucleótido que se pueden mezclar antes de su uso. Asociados con dicho/s recipiente/s, puede haber varios materiales escritos, tales como instrucciones de uso o un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regule la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, agentes de generación de imágenes o productos biológicos, cuyo aviso refleja la aprobación por la agencia de fabricación, uso o venta para administración humana.

Los compuestos de la invención se pueden usar o administrar en combinación con uno o más fármaco/s que son fármacos contra el cáncer y/o procedimientos (por ejemplo, cirugía, radioterapia) para el tratamiento de la enfermedad/enfermedades mencionadas. Los componentes se pueden administrar en la misma formulación o en formulaciones separadas. Si se administran en formulaciones separadas, los compuestos de la invención pueden administrarse secuencial o simultáneamente con el/los otro/s fármaco/s.

Además de poder administrarse en combinación con uno o más fármacos adicionales que incluyen fármacos antineoplásicos, los compuestos de la invención se pueden usar en una terapia de combinación. Cuando se hace esto, los compuestos se administran normalmente combinados entre sí. Por lo tanto, uno o más de los compuestos de la invención pueden administrarse simultáneamente (como un preparado combinado) o secuencialmente para lograr un efecto deseado. Esto es especialmente deseable cuando el perfil terapéutico de cada compuesto es diferente, de modo que el efecto combinado de los dos fármacos proporciona un resultado terapéutico mejorado.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención para inyección parenteral comprenden soluciones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables, dispersiones, suspensiones o emulsiones, así como polvos estériles para la reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso. Los ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva), y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos puede asegurarse por la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol de ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos tales como azúcares, cloruro de sodio y similares. La absorción prolongada de la forma inyectable del fármaco se puede llevar a cabo mediante la inclusión de agentes que retrasen la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

Si se desea, y para una distribución más eficaz, los compuestos se pueden incorporar en sistemas de liberación lenta o de administración dirigida, tales como matrices poliméricas, liposomas y microesferas.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril justo antes de su uso.

Las formas farmacéuticas sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) cargas o diluyentes tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábica, c) humectantes tales como

glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonita e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica puede comprender agentes tamponantes.

También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas rellenas de gelatina blanda y dura usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Las formas sólidas de dosificación de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libera el principio o los principios activos única o preferentemente, en una determinada parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones incluidas que pueden utilizarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

Si se desea, y para una distribución más eficaz, los compuestos se pueden incorporar en sistemas de liberación lenta o de administración dirigida, tales como matrices poliméricas, liposomas y microesferas.

Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes mencionados anteriormente.

Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceite de algodón, de cacahuete, maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano y mezclas de los mismos.

Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y goma de tragacanto, y mezclas de los mismos.

Como se ha analizado anteriormente, los compuestos de las realizaciones pueden ser útiles para el tratamiento y/o la detección de enfermedades proliferativas. Los ejemplos de dichas enfermedades o afecciones de proliferación celular incluyen cáncer (incluyendo cualquier metástasis), psoriasis y trastornos proliferativos de las células del músculo liso, tales como la reestenosis. Los compuestos de la presente invención pueden ser particularmente útiles para tratar y/o detectar tumores tales como cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de ovarios, cáncer de próstata, cáncer de cabeza y/o cuello, o renal, gástrico, pancreático y cerebral, así como neoplasias malignas hematológicas tales como linfoma y leucemia. Además, los compuestos de la presente invención pueden ser útiles para tratar y/o detectar una enfermedad proliferativa que sea refractaria al tratamiento y/o realizar la detección con otros fármacos antineoplásicos; y para tratar y/o detectar afecciones hiperproliferativas tales como leucemias, psoriasis y reestenosis. En otras realizaciones, los compuestos de la presente invención se pueden usar para tratar y/o detectar afecciones o hiperplasia precancerosas que incluyen poliposis adenomatosa familiar, pólipos adenomatosos colónicos, displasia mioide, displasia endometrial, hiperplasia endometrial con atipia, displasia cervical, neoplasia intraepitelial vaginal, hiperplasia benigna de próstata, papilomas de la laringe, queratosis actínica y solar, queratosis seborreica y queratoacantoma.

#### SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

Los agentes de las diversas realizaciones pueden prepararse usando las vías de reacción y los esquemas de síntesis que se describen a continuación, empleando las técnicas disponibles en la materia usando materiales de partida que se pueden obtener fácilmente. La preparación de compuestos particulares de las realizaciones se describe en detalle en los siguientes ejemplos, pero el experto reconocerá que las reacciones químicas descritas pueden adaptarse fácilmente para preparar una serie de otros agentes de las diversas realizaciones. Por ejemplo, puede realizarse satisfactoriamente la síntesis de compuestos no ilustrados mediante modificaciones evidentes para los expertos en la materia, por ejemplo, protegiendo de manera adecuada los grupos implicados, cambiando a otros reactivos adecuados conocidos en la técnica o realizando modificaciones rutinarias en las condiciones de reacción. Se puede encontrar una lista de grupos protectores adecuados en síntesis orgánica en T. W. "Greene's Protective Groups in Organic

Synthesis", 3ª Edición, John Wiley & Sons, 1991. Como alternativa, se reconocerá que tienen aplicabilidad para la preparación de otros compuestos de diversas realizaciones, otras reacciones desveladas en el presente documento o conocidas en la técnica.

- 5 Los reactivos útiles para sintetizar compuestos pueden obtenerse o prepararse de acuerdo con técnicas conocidas en la materia.

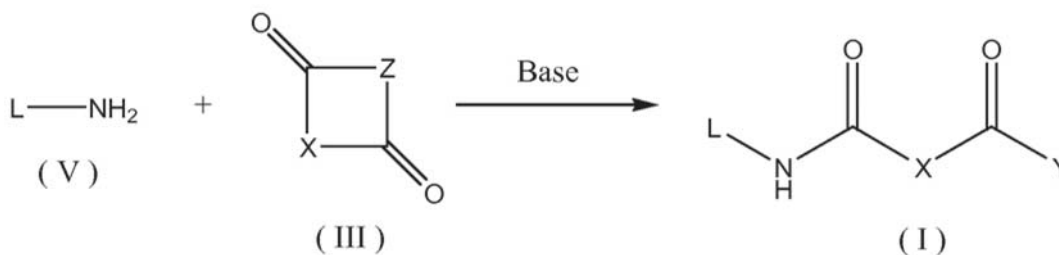
### ESQUEMAS SINTÉTICOS GENERALES

- 10 El esquema 1 es un esquema general de síntesis que describe los procedimientos para la fabricación de compuestos de la invención de fórmula general (I). Este procedimiento general puede modificarse para producir otros compuestos de la invención con diferentes fracciones de enlace X del dicarbonilo cíclico (III) mediante la modificación apropiada de los materiales de partida y los reactivos usados. Un destinatario calificado podría fácilmente realizar estos cambios.

- 15 Como puede verse en el esquema 1, se hace reaccionar un ligando macrocíclico que contiene nitrógeno apropiadamente (V) (que puede o no puede complejarse con un metal) con un dicarbonilo cíclico adecuado (III) que contiene una fracción de enlace X deseada en condiciones básicas para proporcionar el agente quelante del metal dicarbonilo (I). El agente quelante de metales de dicarbonilo (I) tiene un grupo funcional Y para una conjugación adicional con una fracción de reconocimiento molecular adecuada.

20

Esquema 1

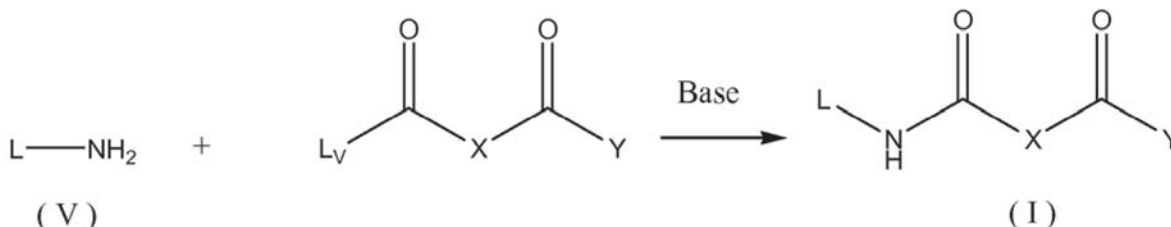


- 25 Este esquema describe una síntesis en la que Z es un átomo de oxígeno o azufre, o un grupo de fórmula  $NR^2$ . Cuando Z es un átomo de oxígeno, se forma un asa terminal de ácido carboxílico para su posterior elaboración. Como alternativa, cuando Z es un átomo de azufre, se forma un tiol carboxílico terminal para una elaboración adicional mediante métodos bien conocidos en la técnica. Cuando Z es  $NR^2$ , se forma la amida terminal. El esquema puede modificarse para producir compuestos dentro del alcance de la presente divulgación, en los que el dicarbonilo cíclico (III) también puede actuar como una base en la reacción mostrada anteriormente. Otras variaciones para la obtención del producto final deseado son competencia de los expertos en la materia.

- 35 El esquema 2 demuestra una síntesis alternativa de los compuestos de la invención. Como se muestra en el esquema 2, una síntesis alternativa implica la provisión de un compuesto de dicarbonilo lineal adecuadamente activado, en el que una de las fracciones carbonilo se ha activado proporcionando al carbonilo un grupo saliente adecuado. Esto se hace reaccionar con un compuesto de etilamina en condiciones de reacción adecuadas que conducen al desplazamiento del grupo saliente y a la formación del producto final deseado.

Esquema 2

40



- 45 El ligando quelante de metales macrocíclico que contiene nitrógeno L para su uso en las síntesis descritas anteriormente puede ser cualquiera de una amplia selección de ligandos metálicos macrocíclicos conocidos en la técnica como se ha descrito anteriormente. En los esquemas anteriores, el ligando metálico puede reaccionar con el anhídrido en forma libre o unirse a un ion metálico desactivando así la nucleofilidad de los heteroátomos en el macrociclo antes de la reacción. Un ejemplo de dicho quelante de metales es 1,8-( $NH_2$ )<sub>2</sub>sar. 1,8-( $NH_2$ )<sub>2</sub>sar puede coordinarse con un ión metálico para desactivar sustancialmente las seis aminas secundarias en el macrociclo y, por lo tanto, permitir que las dos aminas primarias "libres" reaccionen selectivamente.

50

Los compuestos de fórmula (II) pueden producirse a partir de los compuestos de fórmula uno usando técnicas de acoplamiento de péptidos convencionales, en las que se hace reaccionar el extremo carboxi de los compuestos de fórmula (I) con el extremo amino de una fracción de reconocimiento molecular en condiciones convencionales para producir el producto acoplado.

Los procedimientos sintéticos para la síntesis de los compuestos seleccionados de fórmula (I) se detallan a continuación.

### Ejemplos

En los ejemplos descritos a continuación, salvo que se indique lo contrario, todas las temperaturas en la siguiente descripción están en grados centígrados, y todas las partes y los porcentajes están en peso, a menos que se indique lo contrario.

Diversos materiales de partida y otros reactivos se adquirieron de proveedores comerciales, tales como Aldrich Chemical Company o Lancaster Synthesis Ltd., y se usaron sin purificación adicional, a menos que se indique otra cosa. El tetrahidrofurano (THF) y la *N,N*-dimetilformamida (DMF) se adquirieron de Aldrich en botes SureSeal y se usaron tal como se recibieron. Todos los disolventes se purificaron usando métodos convencionales en la técnica, a menos que se indique otra cosa. La resina de intercambio catiónico de malla SP Sephadex C25 y DOWEX 50wx2 200-400 se adquirió en Aldrich. Fmoc-L-aminoácidos, HATU, HCTU y la resina de 2-clorotritilo se adquirieron en GL Biochem Ltd (Shanghai, China). Fmoc-Lys(iv-Dde)-OH y Fmoc-D-aminoácidos se adquirieron en Bachem AG (Suiza). La resina Fmoc-Pal-PEG-PS se adquirió en Applied Biosystems (Foster City, California). La resina de amida Nova PEG Rink se adquirió en NovaBiochem, Darmstadt, Alemania.  $[\text{Co}((\text{NO}_2)_2\text{sar})\text{Cl}_3]$ ,  $[\text{Co}((\text{NH}_2)_2\text{sar})\text{Cl}_3]$ ,  $(\text{NH}_2)_2\text{sar}$ ,  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_2\text{sar}](\text{CF}_3\text{SO}_3)_4$  se prepararon de acuerdo con procedimientos establecidos. (1) Geue, R. J.; Hambley, T. W.; Harrowfield, J. M.; Sargeson, A. M.; Snow, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106, 5478-5488. (2) Bottomley, G. A.; Clark, I. J.; Creaser, I. I.; Engelhardt, L. M.; Geue, R. J.; Hagen, K. S.; Harrowfield, J. M.; Lawrance, G. A.; Lay, P. A.; Sargeson, A. M.; Véanse, A. J.; Skelton, B. W.; White, A. H.; Wilner, F. R. *Aust. J. Chem.* 1994, 47, 143-179 y (3) Bernhardt, P. V.; Bramley, R.; Engelhardt, L. M.; Harrowfield, J. M.; Hockless, D. C. R.; Korybut-Daszkiwicz, B. R.; Krausz, E. R.; Morgan, T.; Sargeson, A. M.; Skelton, B. W.; White, A. H. *Inorg. Chem.* 1995, 34, 3589-3599.

Las reacciones expuestas a continuación se llevaron a cabo bajo una presión positiva de nitrógeno, argón o con un tubo de secado, a temperatura ambiente (a menos que se indique otra cosa), en disolventes anhidros, y los matraces de reacción están dotados de septos de caucho para la introducción de sustratos y reactivos a través de una jeringa. El material de vidrio se secó al horno y/o se secó por calor.

Los tratamientos se realizaron normalmente duplicando el volumen de reacción con el disolvente de reacción o el disolvente de extracción, y luego lavando con las soluciones acuosas indicadas usando un 25 % en volumen del volumen de extracción (a menos que se indique lo contrario). Las soluciones del producto se secaron sobre sulfato de sodio anhidro antes de la filtración, y la evaporación de los disolventes se realizó a presión reducida en un evaporador rotatorio y se anotó como los disolventes eliminados al vacío. Se realizó la cromatografía en columna ultrarrápida [Still *et al.*, *J. Org. Chem.*, 43, 2923 (1978)] usando gel de sílice ultrarrápido de grado E Merck (47-61 mm) y una proporción de gel de sílice:material en bruto de aproximadamente 20:1 a 50:1, a menos que se indique otra cosa. La hidrogenólisis se realizó a la presión indicada o a presión ambiente.

Los espectros de masas se registraron en el modo de ión positivo en un espectrómetro de masas Q-TOF LC/MS Agilent 6510 acoplado a un sistema LC Agilent 1100 (Agilent, Palo Alto, CA). Los datos se adquirieron y la masa de referencia se corrigió a través de una fuente de ionización de electronebulización de pulverización doble, usando el procedimiento de calibración definido de fábrica. Cada barrido o punto de datos en el cromatograma de iones totales es una media de 9.652 transitorios, produciendo 1,02 barridos  $\text{s}^{-1}$ . Los espectros se crearon promediando los barridos en cada pico. Condiciones del espectrómetro de masas: fragmentador: 200 - 300 V; flujo del gas de secado: 7 l/min; nebulizador: 0,21 MPa (30 psi); Temp. del gas de secado: 325 °C;  $V_{\text{tapón}}$ : 4.000 V; sumergidor: 65 V; OCT RfV: 750 V; intervalo de barrido adquirido: 150-3.000 *m/z*.

Los rastros de HPLC-MS se registraron usando una columna Eclipse Plus C18 de Agilent (5  $\mu\text{m}$ , 2,1 x 150 mm) acoplada a un espectrómetro de masas Q-TOF LC/MS 6510 de Agilent descrito anteriormente. Se inyectaron alícuotas de 1  $\mu\text{l}$  de cada muestra en la columna usando el sistema de LC 1100 de Agilent, con un caudal de 0,5 ml/min. Los parámetros de adquisición de datos son los mismos que los descritos anteriormente para los espectros de masas, a excepción del fragmentador (voltaje del fragmentador: 100 V).

Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro FT-RMN 500 de Varian funcionando a 500 MHz para RMN de  $^1\text{H}$  y 125,7 MHz para RMN de  $^{13}\text{C}$ . Los espectros de RMN se obtuvieron como soluciones de  $\text{D}_2\text{O}$  (indicados en ppm), usando acetona como patrón de referencia (2,22 ppm y 30,89 ppm respectivamente). Otros disolventes de RMN se usaron según las necesidades. Cuando se indican multiplicidades de pico, se usan las siguientes abreviaturas: s = singlete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, a = ancho, dd = doblete de dobletes, dt = doblete de tripletes. Las constantes de acoplamiento, cuando se proporcionan, se indican en Hertzios.

Se realizaron purificaciones mediante HPLC semipreparativa usando un sistema de HPLC Agilent Serie 1200 con un caudal de 5 ml/min. Los gradientes de disolvente y las especificaciones de columna se describen en los ejemplos. Un recolector automático de fracciones Agilent 1200 recogió fracciones de 1 a 3 ml y la recogida de fracciones se basó en la detección UV-Vis a 214 o 220 nm, con un límite de umbral inferior entre 100 y 400 mAU. Cada fracción se analizó usando MS y HPLC analítica.

Las trazas analíticas de HPLC se adquirieron usando un sistema de HPLC Serie 1200 de Agilent y una columna Zorbax Eclipse XDB-C18 de Agilent (4,6 x 150 mm, 5 µm) con un caudal de 1 ml/min y detección espectroscópica UV a 214 nm, 220 nm y 270 nm.

Los espectros UV-Vis se adquirieron en un espectrofotómetro UV-Vis 300 Bio de Cary, de 800 a 200 nm a intervalos de datos de 0,500 nm con una velocidad de barrido de 300.00 nm/min.

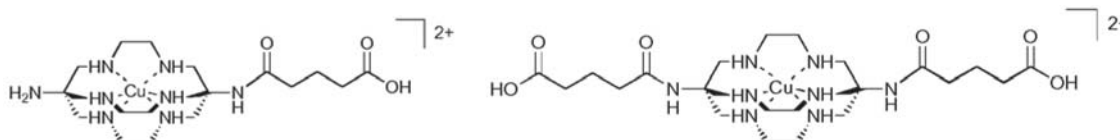
Se realizaron experimentos voltamétricos con una estación de trabajo electroquímica controlada por ordenador (Eco Chemie, Utrecht, Países bajos). Se usó una disposición convencional de tres electrodos con un disco de carbono vítreo (d, 3 mm) como electrodo de trabajo, un cable de Pt como electrodo auxiliar y un electrodo de referencia de Ag/AgCl (cable de plata en H<sub>2</sub>O (KCl (0,1 M) AgNO<sub>3</sub> (0,01 M)). Velocidad de barrido: 100 mV/s, intervalo de muestra: 1,06 mV, sensibilidad: 1 x 10<sup>-4</sup> A.

Se adquirieron trazas de HPLC de péptidos radiomarcados usando una columna Waters Comosil C18 (4,6 x 150 mm) acoplada a un Shimadzu LC-20AT con un detector de centelleo de yoduro de sodio y un detector de UV-Vis. Se inyectaron alícuotas de 100 µl de cada muestra radiomarcada en la columna, usando un caudal de 1 ml/min.

Los siguientes ejemplos pretenden facilitar una mejor comprensión de la presente invención y no deben interpretarse como limitaciones de la misma. Los compuestos adicionales, distintos de los descritos a continuación, pueden prepararse usando el siguiente esquema de reacción descrito, o variaciones o modificaciones apropiadas del mismo.

#### Ejemplo 1

[Cu((1-NH<sub>3</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar)](NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (también denominado [CuL<sup>1</sup>](NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) y [Cu(1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)Cl (también denominado [CuL<sup>2</sup>](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)Cl):



Se calentó una solución de [Cu(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Sar](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (1,5 g, 1,53 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida anhidra (12 ml) en una atmósfera de nitrógeno hasta 70 °C. Se añadieron anhídrido glutárico (0,19 g, 1,64 mmol) y diisopropiletamina (600 µl), y la solución se calentó a 70 °C durante dos horas. La solución se enfrió y se añadió agua (20 ml). La solución se aplicó a una columna de intercambio catiónico SP Sephadex C-25 (forma de Na<sup>+</sup>, 30 x 5 cm). La columna se eluyó con una solución de citrato de sodio 0,05 M para separar tres componentes. (Rendimiento cromatográfico: Fracción 1 ~ 40 %, fracción 2 ~ 40 %, fracción 3 ~ 20 %.) Se aplicó cada fracción por separado a una columna de intercambio catiónico DOWEX 50W x 2 (forma H<sup>+</sup>, 10 x 5 cm). La columna se lavó con agua (500 ml) y solución de HCl 1 M (500 ml), y luego eluyendo con HCl 4 M (350 ml), y se evaporó el eluyente a sequedad a presión reducida a 40 °C. Fracción 1: [Cu(1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar]Cl<sub>2</sub>xHCl (1,00 g) MS: [CuC<sub>24</sub>H<sub>45</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup> m/z = 604,2732 (experimental), 604,2764 (calculada). Fracción 2: [Cu(1-NH<sub>4</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar]Cl<sub>3</sub>xHCl (0,82 g) MS: [CuC<sub>19</sub>H<sub>39</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> m/z = 490,2439 (experimental), 490,2447 (calculada). Se disolvió el residuo azul oscuro de la fracción 2 en agua destilada (30 ml). Se añadió ácido nítrico concentrado (2 ml) y se concentró la solución por evaporación rotatoria hasta que comenzó la cristalización. La mezcla se enfrió a 5 °C durante 30 min antes de recoger los cristales de color azul claro por filtración. [Cu(1-NH<sub>4</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar](NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>: 0,13 g, rendimiento del 13% aislado.

Los cristales adecuados para la difracción de rayos X se cultivaron a partir de la evaporación de una solución de [Cu(1-NH<sub>3</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar]Cl<sub>3</sub>xHCl (20 mg) en HNO<sub>3</sub> ~1 M (2 ml) a temperatura ambiente.

Los cristales de [Cu(1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)Cl fueron adecuados para los estudios de difracción de rayos X y se formaron de la siguiente manera: se disolvió [Cu(1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar]Cl<sub>2</sub>xHCl (0,45 g) en agua (2 ml) y se añadió una solución de triflato de plata (0,33 g en 2 ml de agua). Esta solución se filtró dos veces (filtro de jeringa MilliQ, 0,45 µm) y se evaporó a sequedad a presión reducida, cuando un residuo morado azulado oscuro. El residuo se disolvió de nuevo en agua (8 ml) y en el transcurso de 10 min, precipitaron cristales azules de esta solución. Estos se recogieron y se secaron por filtración. Cu(1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)Cl: 0,13 g. Cristales adecuados para la difracción de rayos X crecieron a partir de la evaporación de una solución de Cu(1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)Cl (30 mg) en agua (6 ml) a temperatura ambiente. Datos de los cristales: [CuL<sup>1</sup>](NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> C<sub>25</sub>H<sub>41</sub>N<sub>11</sub>O<sub>12</sub>Cu, M = 679,17, T = 130,0(2) K, λ<sub>0</sub> = 0,71069, grupo espacial, monocíclico, P2<sub>1</sub>/c a = 8,345(5) b = 12,231(5), c = 26,941(5) Å, β = 93,658(5)°, V = 2.744(2) Å<sup>3</sup>, Z = 4, D<sub>c</sub> = 1,644 mg M<sup>-3</sup> µ(Mo-Kα) 0,879 mm<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>, F(000) = 1.428, tamaño de los cristales 0,35 x 0,3 x 0,01 mm. 17.656 reflexiones medidas, 6.107 reflexiones independientes ( $R_{\text{int}} = 0,17$ ), la R final fue de 0,067 [ $I > 2\sigma(I)$ ] y  $wR(F^2)$  fue de 0,1524.  $[\text{CuL}^2](\text{CF}_3\text{SO}_3)\text{Cl}$   $\text{C}_{19}\text{H}_{46}\text{ClCuF}_3\text{N}_8\text{O}_9\text{S}$ ,  $M = 790,75$ ,  $T = 130,0(2)$  K,  $\lambda_{\text{Cu}} = 0,71069$ , ortorromboédrico, grupo espacial  $C222_1$ ,  $a = 12,4608(13)$   $b = 20,445(2)$ ,  $c = 13,2263(14)$  Å,  $V = 3369,6(6)$  Å<sup>3</sup>,  $Z = 4$ ,  $D_c = 1,559$  mg M<sup>-3</sup>  $\mu(\text{Mo-K}\alpha)$  0,879 mm<sup>-1</sup>,  $F(000) = 1652$ , tamaño de los cristales 0,40 x 0,30 x 0,20 mm. 8848 reflexiones medidas, 2.973 reflexiones independientes ( $R_{\text{int}} = 0,0334$ ), la R final fue de 0,0542 [ $I > 2\sigma(I)$ ] y  $wR(F^2)$  fue de 0,1471. Estructuras obtenidas y resueltas mediante el Profesor Asociado Jonathan M. White.

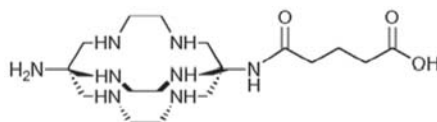
Microanálisis:  $[\text{CuL}^1](\text{NO}_3)_3$ :  $\text{CuC}_{19}\text{H}_{41}\text{N}_{11}\text{O}_{12}$  - C 34,86 %, H 6,40 %, N 24,76 % (experimental); -C 33,60 %, H 6,08 %, N 22,69 % (calculado);  $[\text{CuL}^2](\text{CF}_3\text{SO}_3)\text{Cl}$ :  $\text{CuC}_{25}\text{H}_{46}\text{N}_8\text{O}_9\text{SClF}_3$  - C 38,06 %, H 5,92 %, N 14,20 %, S 3,88 % (experimental); -C 37,97 %, H 5,86 %, N 14,17 %, S 4,06 % (calculado).

UV-vis:  $[\text{Cu}(1\text{-NH}_4)(8\text{-NHCO}(\text{CH}_2)_3\text{COOH})\text{Sar}](\text{NO}_3)_3$  en agua, pH 4,  $\lambda_{\text{máx}} = 658$  nm,  $\epsilon = 140$  M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>;  $[\text{Cu}(1,8\text{-NHCO}(\text{CH}_2)_3\text{COOH})_2\text{Sar}](\text{CF}_3\text{SO}_3)\text{Cl}$  en agua, pH = 4,  $\lambda_{\text{máx}} = 655$  nm,  $\epsilon = 146$  M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>

Electroquímica:  $[\text{Cu}(1\text{-NH}_4)(8\text{-NHCO}(\text{CH}_2)_3\text{COOH})\text{Sar}](\text{NO}_3)_3$  (1 mM) en una solución acuosa de  $\text{NaBF}_4$  (100 mM), pH 3,5,  $E_{\text{rojo}} = -1,086$  (frente a  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ,  $E^\circ = 0$ ).

### Ejemplo 2

(1-NH<sub>3</sub>Cl))(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar: (También denominado L<sup>1</sup>·HCl)



Se desoxigenó una solución de  $[\text{Cu}(1\text{-NH}_3)(8\text{-NHCO}(\text{CH}_2)_3\text{COOH})\text{Sar}]\text{Cl}_3 \cdot x\text{HCl}$  (0,44 g, ~0,73 mmol basado en  $x = 0$ ) en agua (4 ml) purgando con gas  $\text{N}_2$  durante 20 min. Se añadió sulfuro de sodio (0,6 g) y la solución se agitó durante la noche a temperatura ambiente (bajo una atmósfera de nitrógeno gaseoso). Después de la adición de sulfuro de sodio, la solución se volvió de color verde oscuro. Después de ~16 horas, estaba presente un precipitado de color negro pardo, y la solución tenía un color verde amarillento claro. Esta mezcla se filtró (papel de filtro Whatman 1) y el filtrado se diluyó con HCl 1 M (250 ml), dando lugar a la formación de un precipitado blanco turbio. La mezcla se filtró (filtro de jeringa MilliQ (0,45  $\mu\text{m}$ )) y se aplicó a una columna de intercambio catiónico DOWEX 50W x 2 (forma H<sup>+</sup>, 10 x 5 cm). La columna se lavó con solución de HCl 1 M (750 ml) (para retirar el  $\text{Na}_2\text{S}$ ) y luego se eluyó con solución de HCl 4 M (400 ml). El eluyente se evaporó a sequedad a presión reducida, dando un residuo claro con un ligero tinte azul. Debido a que este residuo todavía era ligeramente azul, se repitió el proceso anterior. La solución final se evaporó a sequedad, dando un residuo transparente e incoloro. (1-NH<sub>3</sub>Cl)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar·xHCl: 0,30 g, 89 % MS:  $[\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{N}_8\text{O}_3]^+$  429,3372 (experimental), 429,3296 (calculada). RMN de <sup>1</sup>H:  $\delta$  1,852, m, 2H,  $\beta\text{CH}_2$  (con respecto a COOH); 2,358, t, <sup>3</sup>J = 7,54, 2H, glutarato CH<sub>2</sub>; 2,417, t, <sup>3</sup>J = 7,18, 2H glutarato CH<sub>2</sub>; 3,181, s ancho, 6H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,315, s ancho, 12H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,694, s ancho, 6H, CH<sub>2</sub> de jaula. RMN de <sup>13</sup>C:  $\delta$  20,36; 33,46; 35,54 (glutarato CH<sub>2</sub>); 46,46; 48,39; 50,66; 51,18; 55,23; 56,54 (jaula); 177,937; 178,516 (CO).

### Ejemplo 3

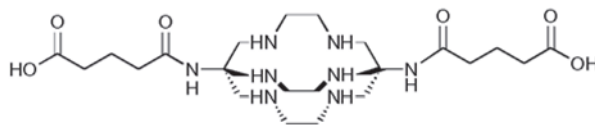
(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)(x-NCO<sub>2</sub>-t-Bu)<sub>4.5</sub>Sar: (También denominado L<sup>1</sup>-(t-BOC)<sub>3.5</sub>)

(1-NH<sub>3</sub>Cl)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar·xHCl se convirtió en una sal de trifluorometanosulfonato para aumentar su solubilidad en *N,N*-dimetilacetamida. En resumen, Se disolvió (1-NH<sub>4</sub>Cl)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar·xHCl (0,20 g, 0,43 mmol) en agua (5 ml) y se añadió triflato de plata (0,11 g, 0,43 mmol), precipitando cloruro de plata. La solución se filtró (filtro de jeringa de 0,45  $\mu\text{m}$  MilliQ) y se evaporó a sequedad a presión reducida, dando un residuo hidrosκόpio transparente, incoloro. (1-NH<sub>4</sub>CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar·xH<sub>2</sub>O: 0,31 g.

Se disolvió (1-NH<sub>3</sub>CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar·xH<sub>2</sub>O (80 mg, 0,138 mmol basado en  $x = 0$ ) en una solución de *N,N*-dimetilacetamida:agua (4:1) (10 ml). Se añadieron di-*tert*-butildicarbonato (0,25 g, 1,15 mmol) y diisopropil-etilamina (100  $\mu\text{l}$ ) y la solución se agitó en una atmósfera de gas de nitrógeno durante 30 min. Tras este tiempo, se retiró el disolvente a alto vacío a ~40 °C. Se disolvió el residuo en acetonitrilo (15 ml), se filtró (filtro de jeringa de 0,45  $\mu\text{m}$  MilliQ) y se liofilizó retirando las trazas de *N,N*-dimetilacetamida. Una vez seco el compuesto en bruto, se disolvió en una solución de A:B (70:30) (A = agua milliQ que contenía ácido trifluoroacético al 0,1 %, B = acetonitrilo que contenía ácido trifluoroacético al 0,1 %) (5 ml), se filtró (filtro de jeringa de 0,45  $\mu\text{m}$  MilliQ), y se aplicó un cartucho C18 (Alltech Maxi-Clean C18 900 mg). El cartucho se lavó secuencialmente con 5 ml de A, 5 ml de B al 10 % en A y 5 ml de B al 20 % en A. Se eluyó luego con 5 ml de B al 80 % en A, y se recogieron fracciones de 1 ml. La mayoría del compuesto deseado (> 95 %) se recogió en las dos primeras fracciones. Se liofilizaron estas, produciendo una mezcla de isómeros protegidos con t-BOC, y el grado de protección varió de 3 a 5 grupos t-BOC por molécula del compuesto de jaula. (8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)(x-NCOO-t-Bu)<sub>4.5</sub>Sar: 30 mg, 25 % de rendimiento. MS:  $[\text{C}_{19}\text{H}_{41}\text{N}_8\text{O}_3(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2)_3]^+$  729,4879 (experimental), 729,4869 (calculada);  $[\text{C}_{19}\text{H}_{41}\text{N}_8\text{O}_3(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2)_3]^+$  829,5414 (experimental), 829,5414 (calculada);  $[\text{C}_{19}\text{H}_{41}\text{N}_8\text{O}_3(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2)_3]^+$  929,5942 (experimental), 929,5918 (calculada).

## Ejemplo 4

(1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar: (También denominado L<sup>2</sup>)



5

Se desoxigenó una solución de [Cu(1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar]Cl<sub>2</sub>.xHCl (1,0 g, ~1,48 mmol basada en x = 0) en agua (20 ml) purgando con gas N<sub>2</sub> durante 20 min. Se añadió sulfuro de sodio (1,3 g) y la solución se agitó durante la noche a temperatura ambiente (bajo una atmósfera de nitrógeno gaseoso). Después de ~16 horas, la solución resultó ser verde con un precipitado marrón ennegrecido. Se añadió otra parte de sulfuro de sodio (1,4 g) y la solución se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la solución apareció de color amarillo claro. Esta mezcla se filtró (papel de filtro Whatman 1) y el filtrado se diluyó con HCl 1 M (250 ml), dando lugar a la formación de un precipitado blanco turbio. La mezcla se filtró (filtros de jeringa MilliQ (0,45 µm)) y se aplicó a una columna de intercambio catiónico DOWEX 50W x 2 (forma H<sup>+</sup>, 10 x 5 cm). La columna se lavó con solución de HCl 1 M (750 ml) (para retirar el Na<sub>2</sub>S) y luego se eluyó con solución de HCl 4 M (400 ml). El eluyente se evaporó a sequedad a presión reducida, dando un residuo claro incoloro. (1,8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub>Sar.xHCl: 0,255 g, 32 % MS: [C<sub>24</sub>H<sub>47</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup> 543,3686 (experimental), 534,3619 (calculada). RMN de <sup>1</sup>H: δ 1,856, m, 4H, βCH<sub>2</sub> (con respecto a COOH); 2,336, t, <sup>3</sup>J=7,47, 4H, glutarato CH<sub>2</sub>; 2,411, t, <sup>3</sup>J=7,19, 4H glutarato CH<sub>2</sub>; 3,210, s ancho, 12H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,439, s ancho, 12H, CH<sub>2</sub> de jaula; RMN de <sup>13</sup>C: δ 20,65; 33,43; 35,46 (glutarato CH<sub>2</sub>); 47,40; 51,44; 56,23 (jaula); 177,80; 178,44 (CO).

20

Ejemplo 5 L<sup>2</sup>-(*t*-Boc)<sub>4</sub>: Se disolvió L<sup>2</sup>.xHCl (0,17 g, 0.31 mmol basado en x = 0) en agua (3 ml).

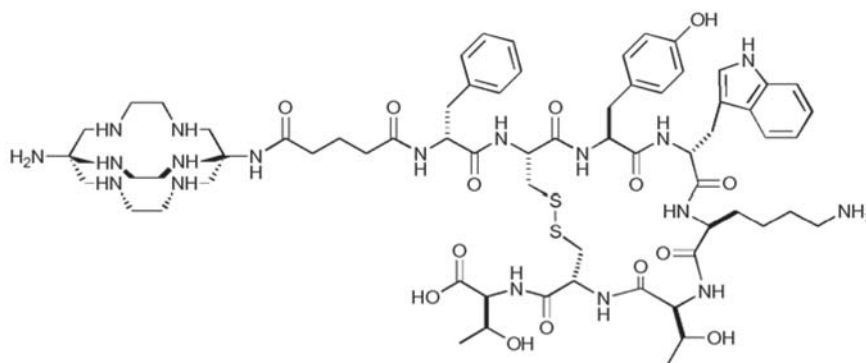
25

Se añadieron di-*tert*-butildicarbonato (1 g, ~20 equivalentes) en acetonitrilo (7 ml) y trietilamina (0,5 ml). La fase de acetonitrilo no era miscible con la fase acuosa, pero la reacción se agitó vigorosamente en una atmósfera inerte de nitrógeno gaseoso durante 2 horas. Después de este tiempo, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo restante se secó a alto vacío a 45 °C durante 2 horas. Se volvió a disolver el residuo seco en una solución de A:B (90:10), se filtró (filtro de jeringa MilliQ de 0,45 µm) y se aplicó a un cartucho C18 (Maxi-Clean C18 de Alltech de 900 mg). El cartucho se lavó secuencialmente con 5 ml de A y 5 ml de B al 20 % en A. Luego se eluyó con 5 ml de B al 50 % en A. Esta fracción se liofilizó para producir principalmente L<sup>2</sup>-(*t*-Boc)<sub>4</sub>.L<sup>1</sup>-(*t*-BOC)<sub>3-5</sub>: 30 mg, rendimiento del 10 %. MS: [C<sub>44</sub>H<sub>79</sub>N<sub>8</sub>O<sub>14</sub>]<sup>+</sup> 943,68 (experimental), 943,57 (calculado);

30

## Ejemplo 6

35 Sar-octreotato (L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-Octreotato):



40

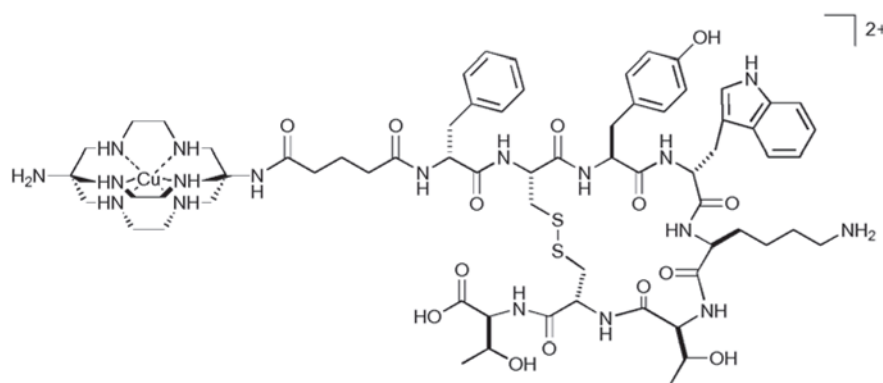
45

Se sintetizó péptido [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato (OCT lineal) (dPhe-Cys-Tyr-dTrp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH (SEQ ID NO:1) sobre resina de 2-clorotritilo usando procedimientos de síntesis de péptidos en fase sólida con Fmoc. Se hinchó un exceso de resina (0,06 g, -0,8 mmol/g) en *N,N*-dimetilformamida (DMF). Se añadieron L<sup>1</sup>-(*t*-Boc)<sub>3-5</sub> (25 mg, 0,03 mmol), HCTU (20 mg, 0,05 mmol) y diisopropiltilamina (20 µl) en DMF (1 ml) a la resina, y la mezcla se agitó y se dejó reaccionar durante una noche. Luego, se drenó el sobrenadante de la reacción, y la resina se lavó con DMF (3 x 5 ml) y diclorometano (DCM) (3 x 5 ml). La resina se transfirió a un tubo de halcón, y se añadieron ácido trifluoroacético (5 ml), agua desionizada (0,15 ml) y trisopropilsilano (0,15 ml). Se dispuso el tubo de halcón en un agitador durante 40 min. El material peptídico se precipitó de la solución usando dietiléter (15 ml) y la mezcla se centrifugó (3 min, 3.000 rpm). Se desechó el sobrenadante y el precipitado se disolvió en A:B (70:30). Esta solución se filtró (filtro de jeringa MilliQ de 0,45 µm) y se liofilizó.

50

Se purificó el material peptídico en bruto mediante HPLC semipreparativa de fase inversa (columna Eclipse XDB-C18 5  $\mu\text{m}$  9,5 x 250 mm) usando un gradiente lineal de A al 1 %  $\rightarrow$  B/min. L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato lineal eluyó a los 30 min (determinado mediante ESI-MS), y se liofilizaron las fracciones que contenían L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato lineal. Entonces, se volvieron a disolver las fracciones secas en acetato amónico (25 mM, pH 6,5, 8 ml), y se añadió un exceso de 2,2-ditiodipiridina (12 mg). La solución se aplicó luego a una columna de HPLC semipreparativa de fase inversa, y se purificó usando un gradiente lineal de A al 1 %  $\rightarrow$  B/min. L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato cíclico eluyó a los 30 min, y se liofilizaron las fracciones que contenían L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato cíclico. L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato: 1-2 mg; Tiempo de retención del HPLC: 12,99 min (gradiente lineal, 0  $\rightarrow$  B al 60 % en A durante 25 min); MS: [C<sub>68</sub>H<sub>105</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> 487,25 (experimental), 487,25 (calculado); [C<sub>68</sub>H<sub>104</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 730,37 (calculado), 730,37 (experimental).

## Ejemplo 7

CuSar-octreotato (Cu L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-Octreotato)

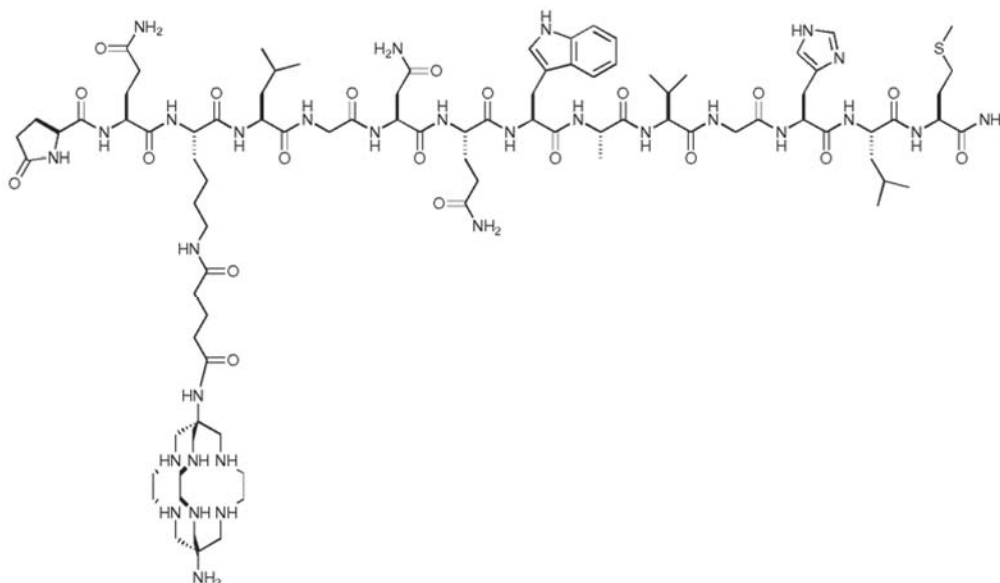
[Cu(1-NH<sub>4</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar]Cl<sub>3</sub>.xHCl se convirtió en una sal de trifluorometanosulfonato para aumentar su solubilidad en *N,N*-dimetilacetamida. En resumen, se disolvió [Cu(1-NH<sub>3</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar]Cl<sub>3</sub>.xHCl (0,14 g, 0,23 mmol) en agua (5 ml), y se añadió triflato de plata (0,18 g, 0,70 mmol), precipitando cloruro de plata. Se filtró la solución (filtro de jeringa de 0,45  $\mu\text{m}$  MilliQ) y se evaporó a sequedad a presión reducida, dando un residuo hidróscopico azul, pegajoso. [Cu(l-NH<sub>3</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.xH<sub>2</sub>O: 0,21 g.

Se hinchó péptido de octreotato lineal sobre resina (0,10 g, -0,8 mmol/g) en dimetilformamida. Se añadieron Cu(1-NH<sub>4</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (30 mg, 0,03 mmol), HCTU (40 mg, 0,1 mmol) y diisopropiletilamina (40  $\mu\text{l}$ ) en DMF (1 ml) a la resina, y la mezcla se agitó y se dejó reaccionar durante 3 h. Luego, se drenó el sobrenadante de la reacción, y la resina se lavó con dimetilformamida (3 x 5 ml). Se realizó un segundo acoplamiento. Cu(1-NH<sub>4</sub>)(8-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>COOH)Sar](CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (10 mg, 0,01 mmol), se añadieron HCTU (20 mg, 0,05 mmol) y diisopropiletilamina (20  $\mu\text{l}$ ) en DMF (1 ml) a la resina, y la mezcla se agitó y se dejó reaccionar durante 40 min. Luego, se drenó el sobrenadante de la reacción y se lavó la resina con dimetilformamida (3 x 5 ml) y diclorometano (3 x 5 ml). La resina se transfirió a un tubo de halcón, y se añadieron ácido trifluoroacético (5 ml), agua destilada (0,15 ml) y triisopropilsilano (0,15 ml). Se dispuso el tubo de halcón en un agitador durante 40 min. El material peptídico se precipitó de la solución usando dietiléter (15 ml) y la mezcla se centrifugó (3 min, 3.000 rpm). Se desechó el sobrenadante y el precipitado se disolvió en A:B (70:30). Esta solución se filtró (filtro de jeringa MilliQ de 0,45  $\mu\text{m}$ ) y se liofilizó, dando un material azul pálido.

Se purificó el material peptídico en bruto mediante HPLC semipreparativa de fase inversa (columna Eclipse XDB-C18 5  $\mu\text{m}$  9,5 x 250 mm) usando un gradiente lineal de A al 1 %  $\rightarrow$  B/min. CuSar-octreotato lineal eluyó a los 30 min (determinado mediante MS), y se liofilizaron las fracciones que contenían CuSar-octreotato lineal. Las fracciones secas se volvieron a disolver luego en acetato de amonio 25 mM (8 ml) y se añadió un exceso de 2,2-ditiodipiridina (12 mg) para formar un enlace disulfuro intramolecular, ciclando el octreotato. Se aplicó luego esta solución a una columna de HPLC semipreparativa de fase inversa, y se purificó usando un gradiente lineal de A al 1 %  $\rightarrow$  B/min. El CuSar-octreotato cíclico se eluyó a los 31,5 min y las fracciones que contenían el CuSar-octreotato cíclico se liofilizaron, dando microgránulos de color azul claro. CuSar-NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CO-octreotato: 4 mg; Tiempo de retención del HPLC: 12,049 min (gradiente lineal, B al 0  $\rightarrow$  60 % en A durante 25 min). MS: [CuC<sub>68</sub>H<sub>102</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>: 760,8296 (experimental), 760,8280 (calculado); [CuC<sub>68</sub>H<sub>101</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>: 1520,6513 (experimental), 1520,6482 (calculada).



## Ejemplo 8

Sar-Lys<sub>3</sub>-BBN: (También denominado L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-BBN)

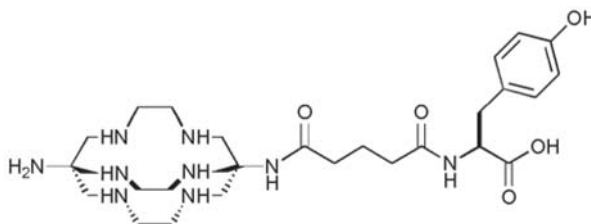
5

El péptido bombesina (BBN) (1-14) (Pir-Gln-Lys-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:2)) se sintetizó sobre resina de Fmoc-PAL-PEG-PS usando procedimientos de síntesis de péptidos en fase sólida con Fmoc convencionales. La cadena lateral del residuo de Lys<sup>3</sup> se protegió con un grupo iv-Dde (*N*ε-1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)etilo). Esto se desprotegió selectivamente con hidracina al 5 % en DMF (3 x 5 ml) durante una hora. La resina (0,05 g, -0,2 mmol/g) se hinchó en DMF. Se añadieron L<sup>1</sup>-(*t*-Boc)-<sub>3.5</sub> (10 mg, 0,012 mmol), HATU (10 mg, 0,026 mmol) y diisopropiletilamina (20 μl) en DMF (1 ml) a la resina, y la mezcla se agitó y se dejó reaccionar durante 3 h. Luego, se drenó el sobrenadante de la reacción y se lavó la resina con DMF (3 x 5 ml) y DCM (3 x 5 ml). La resina se transfirió a un tubo de halcón, y se añadieron ácido trifluoroacético (2 ml), agua desionizada (70 μl) y triisopropilsilano (70 μl). Se dispuso esta solución en un agitador durante 40 min. El disolvente se evaporó bajo una corriente de gas de N<sub>2</sub> y el residuo se disolvió en A:B (70:30). Esta solución se filtró (filtro de jeringa MilliQ de 0,45 μm) y se liofilizó.

El material de péptido en bruto se purificó mediante HPLC semipreparativa de fase inversa (Phenomenex Synergi 4u Hydro-RP 80A 50 x 21,20 mm), usando un gradiente lineal "lento" (A al 0,5 % → B/min). L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina eluyó con B al 25 % en A, y se liofilizaron las fracciones que contenían L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina. El péptido no era puro, por lo que se volvieron a disolver las fracciones secas en agua milliQ y se aplicaron a la misma columna de HPLC semipreparativa de fase inversa, y se purificaron usando un gradiente de A al 0,25 % → B/min lineal muy lento. L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina eluyó con B al ~26,5 % en A. Una impureza con una masa molecular más baja (~780) aún persistía en estas fracciones, por lo que el péptido se purificó mediante HPLC inversa semipreparativa (columna Eclipse XDB-C18 5 μm 9,5 x 250 mm) usando un gradiente lineal "lento" (A al 0,5 % → B/min). L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina eluyó con B al 26 % en A, y se liofilizaron las fracciones que contenían L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina. La HPLC analítica de fase inversa indicó que las fracciones finales contenían L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina al 95 %. L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina: 1 - 50 μg; Tiempo de retención del HPLC: 13,59 min (gradiente lineal, B al 0 → 60 % en A durante 25 min); MS: [C<sub>90</sub>H<sub>152</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S<sub>2</sub>]<sup>4+</sup>: 501,54 (experimental), 501,54 (calculado); [C<sub>90</sub>H<sub>151</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S<sub>2</sub>]<sup>3+</sup>: 668,39 (experimental), 668,38 (calculado); [C<sub>90</sub>H<sub>150</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>: 1002,07 (experimental), 1002,07 (calculada).

Ejemplo 9 L<sup>1</sup>-Tyr: Se acopló Fmoc-Tyr(*t*Bu)-OH a la resina de 2-clorotritilo (-1,3 mmol/g) usando procedimientos de acoplamiento convencionales.

35

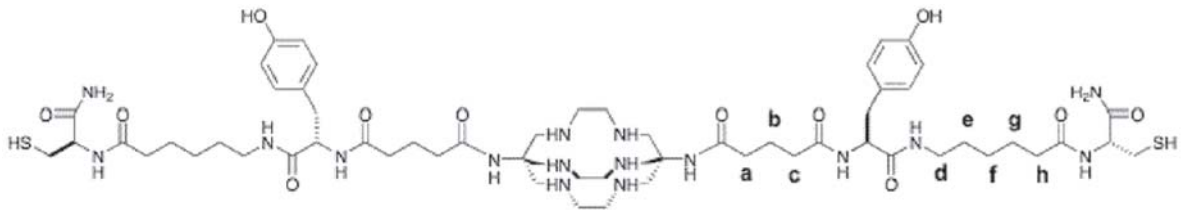


Se retiró el grupo protector Fmoc usando piperidina al 50 % en DMF, y la resina se lavó con DMF (3 x 5 ml). La resina Tyr (0,08 g) se hinchó en DMF (0,5 ml). Se añadieron L<sup>1</sup>-(*t*-Boc)-<sub>3.5</sub> (12 mg, 0,014 mmol), HATU (10 mg, 0,026 mmol)

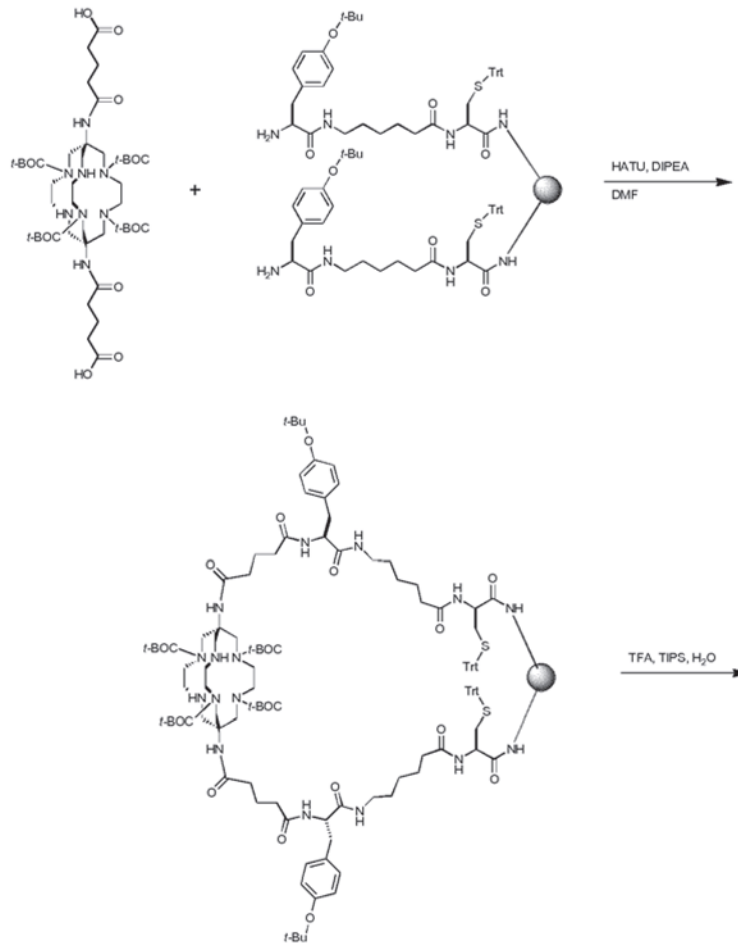
y diisopropiletilamina (10  $\mu$ l) en DMF (1 ml) a la resina, y la mezcla se agitó y se dejó reaccionar durante 2 h. Luego, se drenó el sobrenadante de la reacción y se lavó la resina con DMF (3 x 5 ml) y DCM (3 x 5 ml). La resina se transfirió a un tubo de halcón, y se añadieron ácido trifluoroacético (2 ml), agua desionizada (70  $\mu$ l) y triisopropilsilano (70  $\mu$ l). Se dispuso esta solución en un agitador durante 40 min. Se evaporó el disolvente bajo una corriente de gas de N<sub>2</sub> y el residuo se disolvió en A:B (70:30). Esta solución se filtró (filtro de jeringa Milliq de 0,45  $\mu$ m) y se liofilizó.

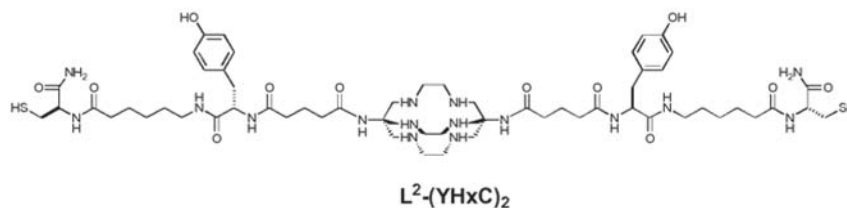
Se purificó el material peptídico en bruto mediante HPLC semipreparativa de fase inversa (columna Eclipse XDB-C18 5  $\mu$ m 9,5 x 250 mm) usando un gradiente lineal de A al 1%  $\rightarrow$  B/min. L<sup>1</sup>-Tyr eluyó con B al 13% en A (determinado mediante ESI-MS), y se liofilizaron las fracciones que contenían L<sup>1</sup>-Tyr. L<sup>1</sup>-Tyr: ~ 1 mg. MS: [C<sub>28</sub>H<sub>51</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>]<sup>2+</sup> 296,72 (experimental), 296,70 (calculada); [C<sub>28</sub>H<sub>50</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup> 592,40 (experimental), 592,39 (calculada). HPLC: 7,360 min (gradiente lineal, B al 0  $\rightarrow$  60% en A durante 25 min). RMN de <sup>1</sup>H:  $\delta$  1,76, m, 2H, glutarato CH<sub>2</sub>; 2,13, m, 2H, glutarato CH<sub>2</sub>; 2,24, t, 2H glutarato CH<sub>2</sub>; 2,92, m, 1H, tirosina  $\beta$  CH<sub>2</sub>; 3,20 - 3,35, tirosina  $\beta$  CH<sub>2</sub> oscureció por las señales de la jaula; 3,20, s ancho, 6H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,26, s ancho, 6H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,35, s ancho, 6H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,53, s ancho, 6H CH<sub>2</sub> de jaula; 4,61, m, 1H, tirosina  $\alpha$  CH; 6,88, d, 2H, tirosina aromática CH; 7,12, d, 2H, tirosina aromática CH.

Ejemplo 10 L<sup>2</sup>-(YaHxC)<sub>2</sub>



La síntesis de esta molécula es como se muestra a continuación:

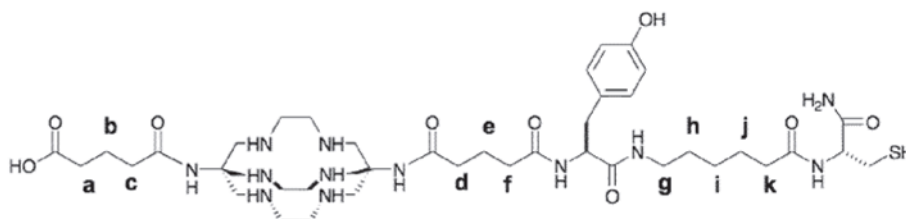




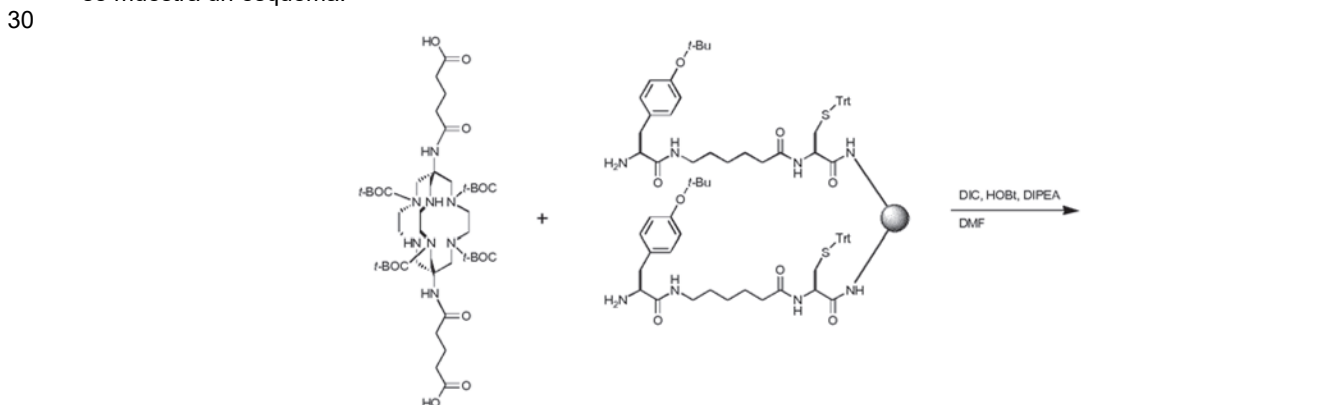
Se sintetizó Tyr(tBu)-aHx-Cys(Trt)-NH<sub>2</sub> en resina de amida Nova Peg Rink con una carga de 0,67 mmol g<sup>-1</sup>. Se añadió HATU (8,9 mg, 0,02 mmol, 2 equivalentes) en DMF (0,5 ml) y DIPEA (7 μl) a una solución de L<sup>2</sup>-(t-Boc)<sub>4</sub> (10 mg, 0,01 mmol) en DMF (0,5 ml). Se añadió esta solución a Tyr(tBu)-aHx-Cys(Trt)-NH<sub>2</sub> sobre resina (0,05 g, ~0,22 mmol g<sup>-1</sup>, ~0,01 mmol) y se dejó reaccionar la mezcla durante una noche. Luego, se drenó el sobrenadante de la reacción, y la resina se lavó con DMF (3 x 5 ml) y DCM (3 x 5 ml). La resina se transfirió a un tubo de halcón, y se añadieron ácido trifluoroacético (3 ml), agua desionizada (80 μl) y triisopropilsilano (80 ml). Se dispuso el tubo de halcón en un agitador durante 90 min. Después de este tiempo, el disolvente se evaporó bajo una corriente de gas de nitrógeno y el residuo se volvió a disolver en A:B (50:50). Esta solución se filtró (filtro de jeringa MilliQ de 0,45 μm) y se liofilizó.

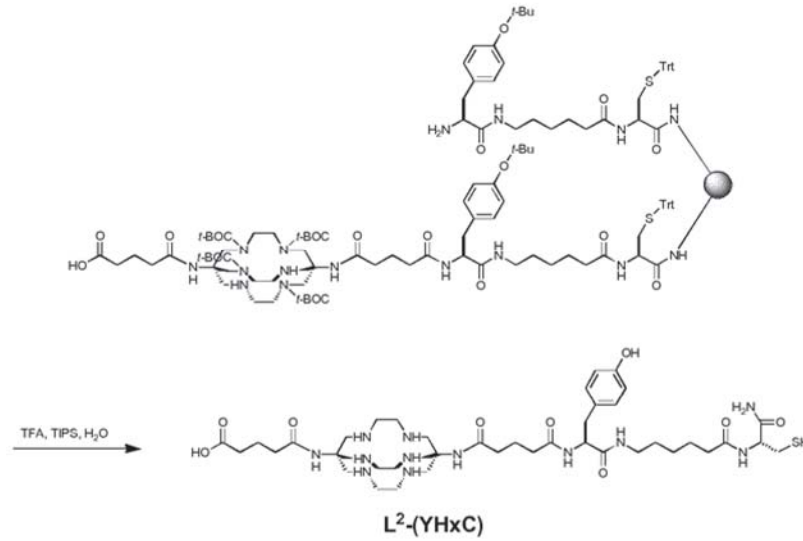
Se purificó el material peptídico en bruto mediante HPLC semipreparativa de fase inversa (columna Eclipse XDB-C18 5 μm 9,5 x 250 mm) usando un gradiente lineal de A al 1 % → B/min. L<sup>2</sup>-(YHxC)<sub>2</sub> eluyó a los 27 min (determinado mediante ESI-MS). Se liofilizaron las fracciones que contenían L<sup>2</sup>-(YHxC)<sub>2</sub>. Se sometió esta muestra a una segunda purificación por HPLC en la que se eluyó a los 44 min usando un gradiente lineal de A al 0,5 % → B/min. L<sup>2</sup>-(YHxC)<sub>2</sub>: ~1 mg; Tiempo de retención del HPLC: 10,52 min (gradiente lineal, B al 0 → 60 % en A durante 25 min) MS: [C<sub>60</sub>H<sub>100</sub>N<sub>16</sub>O<sub>12</sub>S]<sup>2+</sup> 650,36 (calculada), 650,36 (experimental); [C<sub>60</sub>H<sub>99</sub>N<sub>16</sub>O<sub>12</sub>S]<sup>+</sup> 1299,71 (calculada), 1.299,71 (experimental) RMN de <sup>1</sup>H: δ 1,16, m, 4H, CH<sub>2</sub>(f); 1,38, m, 4H, CH<sub>2</sub>(e); 1,59, m, 4H, CH<sub>2</sub>(g); 1,79, m, 4H, CH<sub>2</sub>(b); 2,13, m, 4H, CH<sub>2</sub>(a); 2,29, t, 4H, CH<sub>2</sub>(c); 2,34, t, 4H, CH<sub>2</sub>(h); 2,29 - 3,08, m, 8H, βCH<sub>2</sub> Tyr y Cys; 3,05, m, 2H, CH(d); 3,17, m, 2H, CH(d); 3,17, s, 12H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,38, s, 12H, CH<sub>2</sub> de jaula; 4,44 - 4,55, m, 4H, αCH Tyr y Cys; 6,89, d, 4H, Tyr ar; 7,18, d, 4H, Tyr ar;

Ejemplo 11 L<sup>2</sup>-(YaHxC):



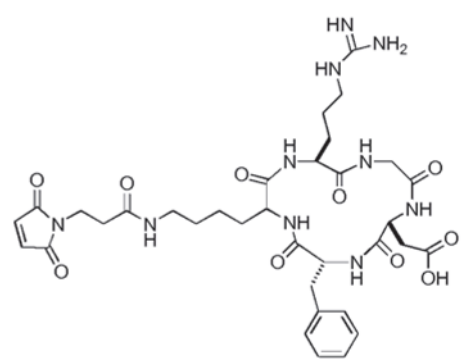
L<sup>2</sup>-(YaHxC) se sintetizó de la misma manera y a la misma escala que L<sup>2</sup>-(YHxC)<sub>2</sub>, excepto que, en lugar de HATU, se usaron diisopropilcarbodiimida (7 μl) e hidroxibenzotriazol (3,5 mg) como agentes de acoplamiento. A continuación, se muestra un esquema.



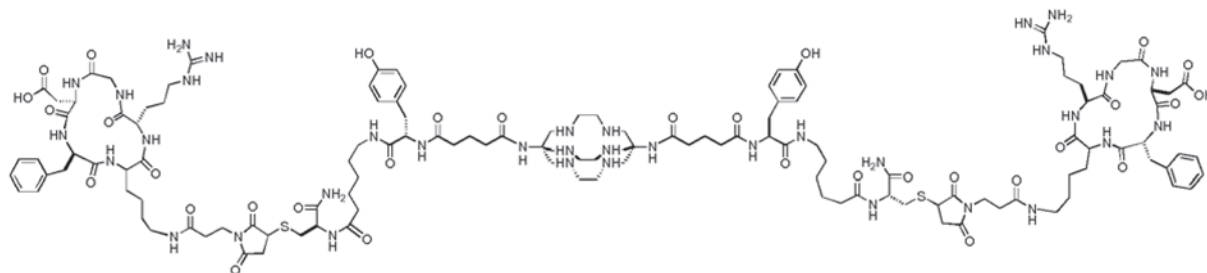


Un espectro de masas del material peptídico en bruto indicó que tanto L<sup>2</sup>-(YaHxC)<sub>2</sub> como L<sup>2</sup>-(YaHxC) estaban presentes. Se purificó el material peptídico en bruto mediante HPLC semipreparativa de fase inversa (columna Eclipse XDB-C18 5 μm 9,5 x 250 mm) usando un gradiente lineal de A al 1 % → B/min. L<sup>2</sup>-(YHxC) eluyó a los 23,5 min y L<sup>2</sup>-(YaHxC)<sub>2</sub> eluyó a los 28,5 min (determinado mediante ESI-MS). Se liofilizaron las fracciones que contenían L<sup>2</sup>-(YHxC). Se sometió esta muestra a una segunda purificación por HPLC en la que se eluyó a los 35,8 min usando un gradiente lineal de A al 0,5 % → B/min. L<sup>2</sup>-(YaHxC): ~0,2-0,6 mg; Tiempo de retención del HPLC: 8,73 min (gradiente lineal, B al 0 → 60 % en A durante 25 min) MS: [C<sub>42</sub>H<sub>74</sub>N<sub>12</sub>O<sub>9</sub>S]<sup>2+</sup> 461,27 (experimental), 461,27 (calculada); [C<sub>42</sub>H<sub>73</sub>N<sub>12</sub>O<sub>9</sub>S]<sup>+</sup> 921,53 (calculada), 921,53 (experimental). RMN de <sup>1</sup>H: δ 1,15, m, 2H, CH<sub>2</sub>(i); 1,37, m, 2H, CH<sub>2</sub>(h); 1,58, m, 2H, CH<sub>2</sub>(j); 1,79, m, 2H, CH<sub>2</sub>(e); 1,89, m, 2H, CH<sub>2</sub>(b); 2,16, m, 2H, CH<sub>2</sub>(d); 2,30, t, 2H, CH<sub>2</sub>(f); 2,34, t, 2H, CH<sub>2</sub>(k); 2,37, t, 4H, CH<sub>2</sub>(a) y CH<sub>2</sub>(c); 2,87 - 3,03, m, 4H, βCH<sub>2</sub> Tyr y Cys; 3,03, m, 1H, CH(g); 3,22, m, 1H, CH(g); 3,23, s, 12H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,42, s, 6H, CH<sub>2</sub> de jaula; 3,50, s, 6H, CH<sub>2</sub> de jaula; 4,44 - 4,55, m, 2H, αCH Tyr y Cys; 6,89, d, 2H, Tyr ar; 7,18, d, 2H, Tyr ar;

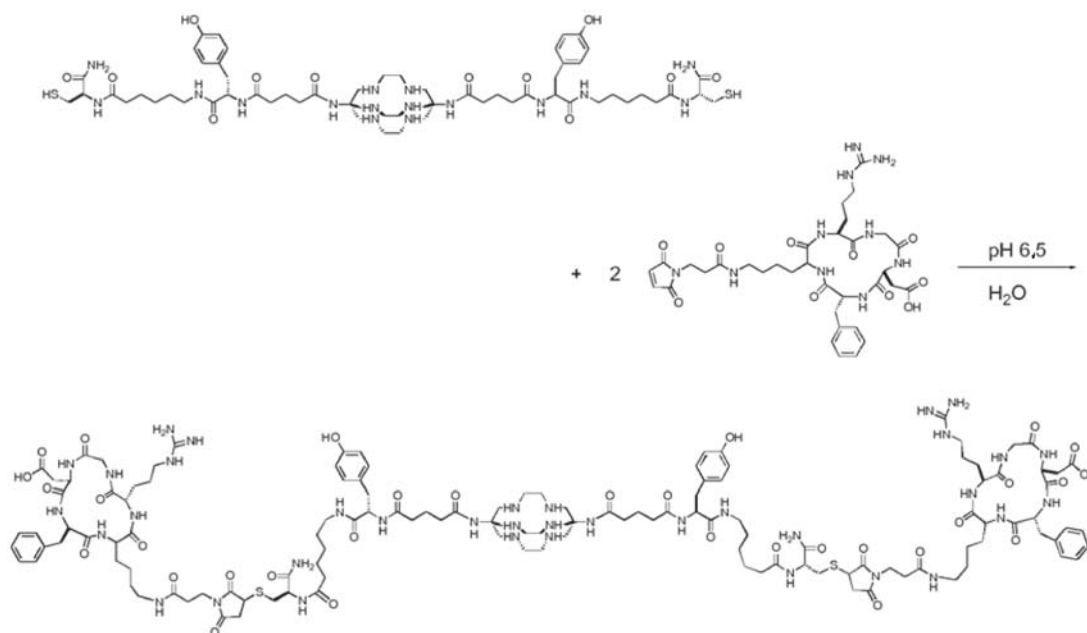
Ejemplo 12 c(RGDfK(maleimidopropionato)):



Se sintetizó D(tBu)fK(ivDde)R(Pbf)G-OH (1 mmol) sobre resina de clorotritilo (1 mmol g<sup>-1</sup>, 1 g). Se protegió el extremo N con cloruro de tritilo, dando Trt-D(tBu)fK(ivDde)R(Pbf)G-OH, seguido de la retirada del grupo protector ivDde de la cadena lateral de Lys usando hidrazina (3 x 5 ml de hidrazina al 5 % en DMF). Luego se acopló ácido maleimidopropiónico a la cadena lateral de Lys, dando Trt-D(tBu)fK(maleimidopropionato)R(Pbf)G-OH. Se desprotegió esta especie simultáneamente en el extremo N y se escindió de la resina usando un TFA al 2 % en DCM con neutralizadores de radicales, dando D(tBu)fK(maleimidopropionato)R(Pbf)G-OH. Se filtró la solución resultante y se eliminó el disolvente a presión reducida, antes de añadir HCTU (1 equivalente) y DIPEA (1 ml) en DCM (5 ml) para ciclar el péptido. La solución se agitó durante 2 horas y, tras este tiempo, el disolvente se retiró a presión reducida. A continuación, se retiraron los grupos protectores restantes con TFA:H<sub>2</sub>O:TIPS (95:2,5:2,5). El TFA se evaporó bajo un chorro de gas de nitrógeno, y se volvió a disolver el material en bruto en A:B (50:50), se filtró y se liofilizó. El material peptídico en bruto se purificó mediante HPLC en fase inversa semipreparativa (columna Eclipse XDB-C18 5 μm 9,5 x 250 mm) usando un gradiente lineal de A al 1 % → B/min. c(RGDfK(maleimidopropionato)) eluyó a los 28,5 min. c(RGDfK(maleimidopropionato)): 1 - 2 mg; Tiempo de retención del HPLC: 15,31 min (gradiente lineal, B al 0 → 60 % en A durante 25 min) MS: [C<sub>34</sub>H<sub>46</sub>N<sub>10</sub>O<sub>10</sub>]<sup>+</sup> 755,35 (experimental), 755,35 (calculada).

Ejemplo 13 L<sup>2</sup>-(RGD)<sub>2</sub>:

5 Esta molécula se sintetiza como se muestra en el esquema adjunto:



10 Se disolvieron L<sup>2</sup>-(YaHzC)<sub>2</sub> (~0,5 mg) y c(RGDfK(maleimidopropionato)) (~1 mg) en solución de acetato amónico (25 mM, pH = 6,5). Tras asentarse a temperatura ambiente durante ~30 min, la solución se purificó mediante HPLC semipreparativa de fase inversa (columna Eclipse XDB-C18 5 µm 9,5 x 250 mm) usando un gradiente lineal de A al 1 % → B/min. El c(RGD-fK(maleimidopropionato)) eluyó a los 26 min y L<sup>2</sup>-(RGD)<sub>2</sub> eluyó a los 29 min. L<sup>2</sup>-(RGD)<sub>2</sub>: ~1 mg; Tiempo de retención del HPLC: 16,54 min (gradiente lineal, B al 0 → 60 % en A durante 25 min) MS: [C<sub>123</sub>H<sub>194</sub>N<sub>36</sub>O<sub>32</sub>S<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> 703,11 (experimental), 703,10 (calculada); [C<sub>128</sub>H<sub>193</sub>N<sub>36</sub>O<sub>32</sub>S<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> 937,14 (experimental), 937,13 (calculada).

## Ejemplo 14 HPLC-MS de Sar-péptidos:

20 Se adquirieron los rastros de HPLC-MS para los Sar-péptidos sintetizados. También se adquirieron los rastros de HPLC-MS para soluciones que contenían Sar-péptido y CuCl<sub>2</sub>, para determinar si el Sar-péptido se unía al ión de Cu<sup>2+</sup> "libre". Se usó una columna de HPLC analítica C18 de fase inversa con un gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 25 min) para determinar los tiempos de retención y las masas moleculares de las especies peptídicas. (En el presente documento, A = agua milliQ con ácido fórmico al 0,1 %; B = acetonitrilo con ácido fórmico al 0,1 %). L<sup>1</sup>-Tyr: Se disolvió L<sup>1</sup>-Tyr (~10 µg) en agua milliQ (50 µl). Esta solución se diluyó más (5 µl de solución de péptido en 10 µl de agua milliQ) para proporcionar una solución de concentración adecuada para la HPLC-MS. Se elaboró una solución que contenía L<sup>1</sup>-Tyr (5 µl de la solución madre de péptido original) y CuCl<sub>2</sub> (10 µl de solución CuCl<sub>2</sub> 1 mM) en agua milliQ (15 µl). LCMS: L<sup>1</sup>-Tyr, Tr: 5,992; [C<sub>28</sub>H<sub>51</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>]<sup>2+</sup> 296,72 (experimental), 296,70 (calculada); [C<sub>28</sub>H<sub>50</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup> 592,40 (experimental), 592,39 (calculado); [Cu(L<sup>1</sup>-Tyr)]<sup>+</sup>, Tr: 6,485; [CuC<sub>28</sub>H<sub>49</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>]<sup>2+</sup> 327,17 (experimental), 327,16 (calculada), [CuC<sub>28</sub>H<sub>48</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup> 653,31 (experimental), 653,31 (calculada).

30 L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato: Se disolvió L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato (~10 µg) en agua milliQ (50 µl). Esta solución se diluyó más (5 µl de solución de péptido en 20 µl de agua milliQ) para proporcionar una solución de concentración adecuada para la HPLC-ESI-MS. También se elaboró una solución que contenía L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato (5 µl de la solución madre de péptido original) y CuCl<sub>2</sub> (5 µl de solución de CuCl<sub>2</sub> 1 mM) en agua milliQ (15 µl). HPLC-ESI-MS: L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato, Tr: 12,984 min; [C<sub>68</sub>H<sub>106</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> 365,69 (experimental), 365,69 (calculado); [C<sub>68</sub>H<sub>105</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> 487,25 (experimental), 487,25 (calculado); [C<sub>68</sub>H<sub>104</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 730,37 (calculado), 730,37 (experimental); [Cu(L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato)]<sup>+</sup>, Tr: 13,199 min;

[CUC<sub>68</sub>H<sub>104</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> 380,92 (experimental), 380,92 (calculado); [CuC<sub>68</sub>H<sub>103</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> 507,56 (experimental), 507,55 (calculado); [CuC<sub>68</sub>H<sub>102</sub>N<sub>18</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 760,83 (calculada), 760,83 (experimental).

(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato: Se disolvió (L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato (~10 µg) en agua milliQ (50 µl). Esta solución se diluyó más (5 µl de solución de péptido en 20 µl de agua milliQ) para proporcionar una solución de concentración adecuada para la HPLC-MS. También se elaboró una solución que contenía (L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato (5 µl de la solución madre de péptido original) y CuCl<sub>2</sub> (5 µl de solución de CuCl<sub>2</sub> 1 mM) en agua milliQ (15 µl). LCMS: (L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato, Tr: 11,213; [C<sub>87</sub>H<sub>145</sub>N<sub>26</sub>O<sub>16</sub>S<sub>2</sub>]<sup>5+</sup> 375,02 (experimental), 375,02 (calculado); [C<sub>87</sub>H<sub>144</sub>N<sub>26</sub>O<sub>16</sub>S<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> 468,52 (experimental), 468,52 (calculado); [C<sub>87</sub>H<sub>143</sub>N<sub>26</sub>O<sub>16</sub>S<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> 624,36 (experimental), 624,36 (calculado); [C<sub>87</sub>H<sub>142</sub>N<sub>26</sub>O<sub>16</sub>S<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> 936,03 (experimental), 936,03 (calculado); [Cu<sub>2</sub>(L<sup>1</sup>)<sub>2</sub>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato]<sup>x+</sup>, Tr: 11,938; [Cu<sub>2</sub>C<sub>87</sub>H<sub>141</sub>N<sub>26</sub>O<sub>16</sub>S<sub>2</sub>]<sup>5+</sup> 399,58 (experimental), 399,58 (calculado); [Cu<sub>2</sub>C<sub>87</sub>H<sub>140</sub>N<sub>26</sub>O<sub>16</sub>S<sub>2</sub>]<sup>4+</sup> 499,23 (experimental), 499,23 (calculado); [Cu<sub>2</sub>C<sub>87</sub>H<sub>139</sub>N<sub>26</sub>O<sub>16</sub>S<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> 665,30 (experimental), 665,29 (calculada).

L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina: Se disolvió L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina (~1-5 µg) en agua milliQ (50 µl). La concentración de esta solución era adecuada para la HPLC-ESI-MS. Se añadió solución de CuCl<sub>2</sub> 1 mM (2,5 µl) a una parte de esta solución (20 µl) para determinar si la L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina se une al ión de Cu<sup>2+</sup> "libre". HPLC-ESI-MS: L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina, Tr: 13,520 min; [C<sub>90</sub>H<sub>152</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S]<sup>4+</sup>: 501,54 (experimental), 501,54 (calculado); [C<sub>90</sub>H<sub>151</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S]<sup>3+</sup>: 668,39 (experimental), 668,38 (calculado); [C<sub>90</sub>H<sub>150</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S]<sup>2+</sup>: 1002,07 (experimental), 1002,07 (calculado); [Cu(L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina)]<sup>x+</sup>, Tr: 13,769 min; [CuC<sub>90</sub>H<sub>150</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S]<sup>4+</sup>: 517,02 (experimental), 517,02 (calculado); [CuC<sub>90</sub>H<sub>149</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S]<sup>3+</sup>: 689,03 (experimental), 689,02 (calculado); [CuC<sub>90</sub>H<sub>148</sub>N<sub>30</sub>O<sub>20</sub>S]<sup>2+</sup>: 1033,03 (experimental), 1033,03 (calculada).

## 20 Ejemplo 15 Radiomarcaje con <sup>64</sup>Cu

Se adquirió <sup>64</sup>CuCl<sub>2</sub> (1,88 GBq/ml, HCl 0,1 M pH 1) en ANSTO radiopharmaceuticals and industrial (ARI), Lucas Heights, NSW, Australia. La pureza radionuclídica en la calibración {(<sup>64</sup>Cu)/(<sup>67</sup>Cu)} era del 100 % y la pureza radioquímica como Cu<sup>2+</sup> era del 100%. La pureza química del cobre, cinc y hierro fueron de 1,1 µg/ml, 0,9 µg/ml y 10 µg/ml respectivamente.

Se usó la HPLC con un detector de centelleo de yoduro de sodio de radiactividad para controlar la ligadura del L<sup>1</sup>-péptido con <sup>64</sup>Cu<sup>2+</sup>. Se empleó una columna de HPLC analítica C18 de fase inversa con un gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min) para determinar los tiempos de retención de [<sup>64</sup>CuL<sup>1</sup>-péptidos]<sup>2+</sup>. Se compararon estos tiempos de retención con los tiempos de retención de [CuL<sup>1</sup>-péptidos]<sup>2+</sup> "fríos" en las mismas condiciones de HPLC con detección espectroscópica UV a 275 nm.

[<sup>64</sup>Cu(L<sup>1</sup>)]<sup>2+</sup>: Rastro 1: Se añadió <sup>64</sup>CuCl<sub>2</sub> (38 MBq, 20 µl, HCl 0,1 M) a una solución acuosa (580 µl) que contenía L<sup>1</sup> (0,015 mg/ml) y acetato de sodio (0,015 M). El pH fue de ~4,5 (medido con tiras de pH). La solución se dejó a temperatura ambiente durante 10 min antes de inyectar una alícuota (100 µl) en una columna de HPLC analítica C18 de fase inversa con un gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 2,33 min, rendimiento radioquímico del ~82 %. Tiempo de retención: 8,36, rendimiento radioquímico del ~18 %. Rastro 2: Se añadió solución de acetato de sodio (100 µl, 0,1 M) al resto de la solución anterior. El pH era de ≥ 5,5. Se inyectó una alícuota de esta solución (100 µl) en una columna de HPLC analítica C18 de fase inversa con un gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 8,334 min, rendimiento radioquímico de >95 %. Rastro 3: Se añadió <sup>64</sup>CuCl<sub>2</sub> (38 GBq/ml, 20 µl, HCl 0,1 M) al resto de la solución anterior para aumentar la relación señal a ruido, así como también para determinar el tiempo requerido para complejar el 100 % de <sup>64</sup>Cu<sup>2+</sup> presente en la solución. Se añadió una alícuota adicional de solución de acetato de sodio (100 µl, 0,1 M). La solución se dejó reposar a temperatura ambiente durante 5 min antes de inyectar una alícuota en una columna de HPLC analítica C18 de fase inversa con un gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 8,334 min, rendimiento radioquímico de >95 %. Se inyectó una muestra acuosa de [Cu(L<sup>1</sup>)](NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> "frío" (~ 1 mg/ml) en la columna de HPLC (volumen de inyección ~ 30 µl) y se eluyó usando el mismo gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 8,573 min.

[<sup>64</sup>Cu(L<sup>1</sup>-Tyr)]<sup>2+</sup>: Se añadió <sup>64</sup>CuCl<sub>2</sub> (19 MBq, 10 µl, HCl 0,1 M) a una solución acuosa (490 µl) que contenía L<sup>1</sup>-Tyr (0,02 mg/ml) y acetato sódico (0,02 M). La solución se dejó a temperatura ambiente durante 10 min antes de inyectar una alícuota (100 µl) en una columna de HPLC analítica C18 de fase inversa con un gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 10,231 min, rendimiento radioquímico de >95 %. Se inyectó una muestra acuosa de [Cu(L<sup>1</sup>-Tyr)]<sup>2+</sup>: "frío" (~ 1 mg/ml) en la columna de HPLC (volumen de inyección ~30 µl) y se eluyó usando el mismo gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 10,403 min

[<sup>64</sup>CuL<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato]<sup>2+</sup>: Se añadió una alícuota de solución de HCl 0,1 M que contenía <sup>64</sup>CuCl<sub>2</sub> (38 MBq, 20 µl, HCl 0,1 M) a una solución acuosa (490 µl) que contenía L<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato (0,02 mg/ml) y acetato sódico (0,02 M). El pH era de ≥ 5,5.

La solución se dejó a temperatura ambiente durante 20 min antes de inyectar una alícuota (100 µl) en una columna de HPLC analítica C18 de fase inversa con un gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 12,730 min, rendimiento radioquímico de >95 %. Se inyectó una muestra acuosa de [CuL<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato]<sup>2+</sup> "frío" (~1 mg/ml) en la columna de HPLC (volumen de inyección ~30 µl) y se eluyó usando el mismo gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 12,937 min.

Se añadió suero AB de varón humano (200 µl) a una solución de [<sup>64</sup>CuL<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotato]<sup>2+</sup> (200 µl). Se incubó esta solución en un baño de agua a 37 °C. En los puntos de tiempo de 1 h, 4 h y 20 h, se retiró una parte alícuota de esta solución de suero (100 µl) para el análisis por radio-HPLC: se añadió acetonitrilo (200 µl) a la parte alícuota de suero

para precipitar las proteínas séricas. Esta mezcla se filtró y el acetonitrilo se evaporó bajo una corriente de gas argón. El volumen final fue <100 µl. La solución se congeló a -70 °C hasta la inyección en la columna de HPLC. 1 h: Tiempo de retención 12,716 min, rendimiento radioquímico de >95 %; 4 h: Tiempo de retención 12,725 min, rendimiento radioquímico de >95 %; 20 h: Tiempo de retención 12,800 min, rendimiento radioquímico de >95 %.

5 [64CuL<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina]<sup>2+</sup>: Se añadió una alícuota de solución de HCl 0,1 M que contenía <sup>64</sup>CuCl<sub>2</sub> (38 MBq, 20 µl, HCl 0,1 M) a una solución acuosa (290 µl) que contenía L<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina (~0,03 mg/ml) y acetato sódico (0,03 M). La solución se dejó a temperatura ambiente durante 10 min antes de inyectar una alícuota (100 µl) en una columna de HPLC analítica C18 de fase inversa con un gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 12,642; rendimiento radioquímico de >95 %. Se inyectó una muestra acuosa de [CuL<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina]<sup>2+</sup> "frío" (~0,5 mg/ml) en la columna de HPLC (volumen de inyección ~60 µl) y se eluyó usando el mismo gradiente lineal (B al 0 → 60 % en A durante 15 min). Tiempo de retención: 13,073 min.

10 Se realizó un estudio de estabilidad en suero de un solo punto temporal para [64CuL<sup>1</sup>-LYS<sub>3</sub>-bombesina]<sup>2+</sup> del mismo modo que los estudios para [64CuL<sup>1</sup>-Tyr<sub>3</sub>-octreotato]<sup>2+</sup>. Se añadió una alícuota de [64CuL<sup>1</sup>-Lys<sub>3</sub>-bombesina]<sup>2+</sup> (200 µl) a suero AB de varón humano, y se incubó a 37 °C. Tras 2 h, la muestra se sometió al mismo tratamiento que el descrito anteriormente y se inyectó en la columna de HPLC. 2 h: Tiempo de retención 12,828 min, rendimiento radioquímico de >95 %.

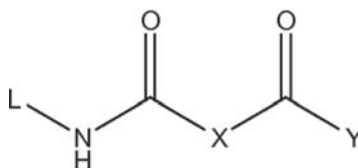
15 Por último, se apreciará que diversas modificaciones y variaciones de los métodos y las composiciones de la invención que se describen en el presente documento serán evidentes para los expertos en la materia sin apartarse del alcance de la invención. Aunque la presente invención se ha descrito en relación con realizaciones preferidas específicas, debe entenderse que la invención según se reivindica no debe considerarse limitada indebidamente a dichas realizaciones específicas. De hecho, se pretende que diversas modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la invención que son evidentes para los expertos en la materia estén dentro del alcance de la presente invención.

20

25

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (II),

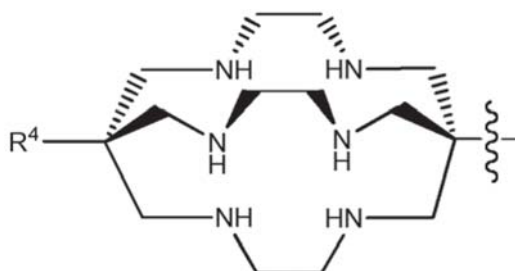


5

Fórmula (II)

en la que:

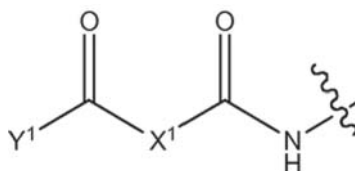
10 L es un ligando macrocíclico de metales que contiene nitrógeno de fórmula:



X es  $-(CH_2)_3-$ ;

15 Y es una fracción de reconocimiento molecular;

R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, OH, halógeno, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, arilo C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> opcionalmente sustituido, ciano, CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>, NHR<sup>5</sup>, N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub> y un grupo de fórmula:



20

en la que

X<sup>1</sup> en una fracción de enlace;

25 Y<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en OR<sup>6</sup>, SR<sup>7</sup>, N(R<sup>8</sup>)<sub>2</sub> y una fracción de reconocimiento molecular; en la que R<sup>5</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>;

R<sup>6</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, un grupo protector de oxígeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido;

30 R<sup>7</sup> se selecciona del grupo que consiste en H, halógeno, un grupo protector de azufre, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido;

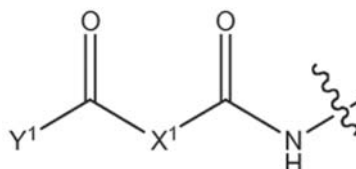
cada R<sup>8</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, un grupo protector de nitrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido y heteroalquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido,

35

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus complejos.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en NH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> y un grupo de fórmula:

40





en la que X<sup>1</sup> e Y<sup>1</sup> son como se definen en la reivindicación 1.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que R<sup>4</sup> es CH<sub>3</sub>.

5 4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que:  
la fracción de reconocimiento molecular, Y, comprende bien:

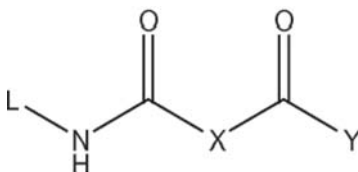
una parte de reconocimiento molecular que está unida directamente al resto de la molécula; o  
una parte espaciadora y una parte de reconocimiento molecular, en la que la parte espaciadora une la parte de  
10 reconocimiento molecular con el resto de la molécula.

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la fracción de reconocimiento molecular o la parte de  
reconocimiento molecular se selecciona del grupo que consiste en un octreotato, octreotida, [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato, [Tyr<sup>1</sup>]-  
15 octreotato, bombesina, bombesina(7-14), péptido de liberación de gastrina, aminoácidos sencillos, penetratina,  
anexina V, TAT, RGD cíclico, glucosa, glucosamina (e hidratos de carbono extendidos), ácido fólico, neurotensina,  
neuropéptido Y, análogos de colecistoquinina (CCK), péptido intestinal vasoactivo (VIP), sustancia P y hormona  
estimulante de melanocitos alfa (MSH).

6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la fracción de reconocimiento molecular o la parte de  
reconocimiento molecular se selecciona del grupo que consiste en [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato y bombesina, adecuadamente  
20 [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato.

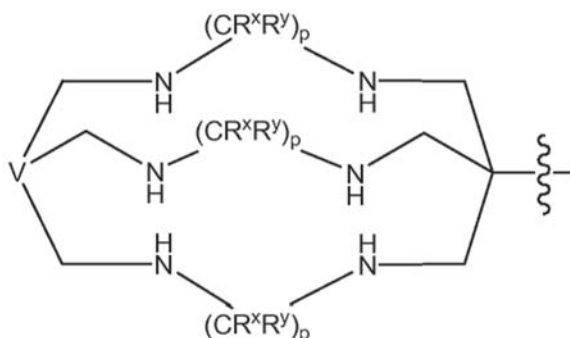
7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 6, en el que R<sup>4</sup> es CH<sub>3</sub> e Y es [Tyr<sup>3</sup>]-octreotato.

25 8. Un compuesto de fórmula (II) de acuerdo con la reivindicación 1,



Fórmula (II)

30 en la que:  
L es un ligando macrocíclico que contiene nitrógeno de fórmula:



35 V es CR<sup>4</sup>;  
R<sup>4</sup> es CH<sub>3</sub>;  
cada R<sup>x</sup> y R<sup>y</sup> son independientemente H;  
p es 2;  
40 X es -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-; y  
Y es Tyr<sup>3</sup>-octreotato,

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o de sus complejos.

45 9. El compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que el ligando macrocíclico de metales que  
contiene nitrógeno se coordina con un ión metálico.

10. Un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que el ion metálico es un radionúclido  
50 seleccionado del grupo que consiste en Cu, Tc, Gd, Ga, In, Co, Re, Fe, Au, Ag, Rh, Pt, Bi, Cr, W, Ni, V, Ir, Zn, Cd, Mn,  
Ru, Pd, Hg y Ti.

11. Un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que el ligando macrocíclico de metales que contiene nitrógeno se coordina con un ión metálico que se selecciona del grupo que consiste en  $^{60}\text{Cu}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$  y  $^{67}\text{Cu}$ .

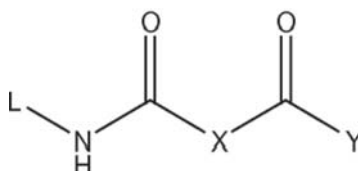
12. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación anterior y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en un método de tratamiento o prevención de una afección en un sujeto.

14. El compuesto para el uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que la afección es cáncer.

15. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en un método de generación de imágenes radiológicas de un sujeto.

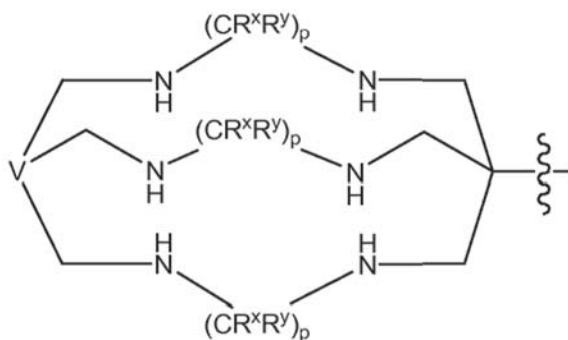
16. Un método de producción de un compuesto de Fórmula (II) de acuerdo con la reivindicación 8,



Fórmula (II)

en la que:

L es un ligando macrocíclico que contiene nitrógeno de fórmula:



V es  $\text{CR}^4$ ;

$\text{R}^4$  es  $\text{CH}_3$ ;

cada  $\text{R}^x$  y  $\text{R}^y$  son independientemente H;

p es 2;

X es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ; y

Y es Tyr<sup>3</sup>-octreotato,

comprendiendo el método:

(a) hacer reaccionar un ligando quelante de metales sustituido con amino o un complejo metálico del mismo de fórmula:



en la que L es un ligando macrocíclico de metales que contiene nitrógeno; con un compuesto de dicarbonilo activado; y

(b) aislar el compuesto de Fórmula (II) o un complejo metálico del mismo.