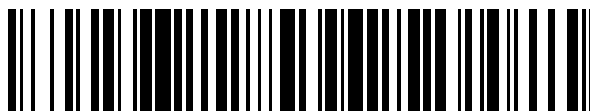


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 782 504**

51 Int. Cl.:

A61K 49/06 (2006.01)
A61K 31/425 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)
C07D 277/06 (2006.01)
C07D 277/04 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.03.2013** **PCT/US2013/033919**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.10.2013** **WO13148710**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2013** **E 13767943 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2020** **EP 2830666**

54 Título: **Síntesis eficiente de conjugados de etilendicisteína-azúcar para la obtención de imágenes y terapia**

30 Prioridad:

26.03.2012 US 201261615684 P

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

15.09.2020

73 Titular/es:

**BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF
TEXAS SYSTEM (100.0%)
201 West 7th Street
Austin Texas 78701, US**

72 Inventor/es:

**YANG, DAVID, J. y
YU, DONG-FANG**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 782 504 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

Síntesis eficiente de conjugados de etilendicisteína-azúcar para la obtención de imágenes y terapia

5 ANTECEDENTES DE LAS INVENCIONES

1. Campo de la invención

La presente invención se refiere generalmente a los campos de síntesis química, imágenes, radioterapia, etiquetado, quimioterapia, terapia médica, tratamiento de enfermedades cardiovasculares y tratamiento del cáncer. Más particularmente, la invención se refiere a procedimientos novedosos de síntesis de conjugados para la obtención de imágenes moleculares y terapia.

2. Descripción de la técnica relacionada

Con respecto a las preparaciones sintéticas de agentes moleculares para el etiquetado de metales, cuando dichos agentes se preparan en condiciones acuosas (húmedas), la purificación de los agentes a veces puede presentar un problema. La purificación en condiciones acuosas se puede lograr usando, por ejemplo, cromatografía de exclusión por tamaño o diálisis con membranas de cortes de peso molecular particulares; por ejemplo, la diálisis es típicamente más efectiva cuando se separan especies de pesos moleculares de 1000 g/mol o más. Sin embargo, este procedimiento de purificación a menudo aísla no solo el agente deseado, sino también cualquier otra especie que pueda pasar a través de la membrana. La introducción de impurezas en agentes de imágenes puede ser problemática en aplicaciones futuras de los agentes de imágenes, especialmente con respecto a la obtención de imágenes y/o usos terapéuticos. Por ejemplo, si se cree que un agente de imágenes que incorpora un radionucleido (el agente de imágenes "verdadero") es puro, pero en realidad contiene impurezas que también incorporan un radionucleido, la medición o detección adecuada del agente de imágenes "verdadero" puede oscurecerse o hacerse falsa debido a la presencia de la impureza.

Los procedimientos para sintetizar compuestos orgánicos en solventes orgánicos y el uso de grupos protectores, típicamente ofrecen mejoras en la purificación de compuestos sobre purificaciones acuosas. La instalación de grupos protectores permite proteger varios grupos funcionales de intermedios durante la síntesis, y facilita la purificación de esos intermedios. Varios medios de purificación usando solventes orgánicos permiten la separación y el aislamiento de los compuestos deseados, tales como agentes de imágenes, con muy pocas impurezas. Además, las especies de pesos moleculares por debajo de 1000 g/mol a menudo se pueden purificar fácilmente usando procedimientos de purificación de química orgánica. En vista de los beneficios ofrecidos por la síntesis y purificación orgánica sobre la purificación acuosa, es probable que los procedimientos de sintetización orgánica y purificación de agentes de imágenes produzcan agentes de mayor pureza que los obtenidos mediante purificación acuosa. Sin embargo, el agregado y la eliminación de grupos protectores puede suponer costes adicionales y reducir la eficiencia y la purificación los productos finales.

Por consiguiente, existe la necesidad de la preparación de estos y otros agentes usando técnicas sintéticas para permitir que los agentes de puridades superiores se obtengan de una manera más eficiente.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Los aspectos de la invención proporcionan procedimientos novedosos para preparar un conjugado de tiazolidina-azúcar y un conjugado de etilendicisteína-azúcar. Para preparar un conjugado de tiazolidina-azúcar, el procedimiento puede comprender mezclar un amino azúcar con un ácido tiazolidina-carboxílico, produciendo así el conjugado de tiazolidina-azúcar. Para preparar un conjugado de etilendicisteína-azúcar, el procedimiento puede comprender además reducir el conjugado de tiazolidina-azúcar con un agente reductor que comprende un metal alcalino y una fuente de electrones.

Por ejemplo, el amino azúcar es una aminohexosa o una aminopentosa. Los ejemplos no limitantes de la aminohexosa incluyen un derivado amino de glucosa, galactosa, manosa, idosa, talosa, altrosa, alosa, gulosa o fructosa. Un ejemplo particular de la aminohexosa es la glucosamina. Los ejemplos no limitantes de la aminopentosa incluyen un derivado amino de ribosa, xilosa, arabinosa o lixosa. El amino azúcar es un azúcar que tiene un grupo amino ubicado en la posición 2', 3', 4' o 5' del azúcar. En un aspecto particular, el amino azúcar tiene un grupo amino posicionado en la posición 2' en el anillo de azúcar.

El procedimiento de mezcla puede llevarse a cabo en un solvente orgánico, tal como dimetilformamida, dimetilsulfóxido, dioxano, metanol, etanol, hexano, cloruro de metileno, acetonitrilo, tetrahidrofurano o una mezcla de los mismos. En otros aspectos, el procedimiento de mezcla puede llevarse a cabo en un solvente acuoso.

Uno, dos, tres, cuatro, cinco o todos los grupos hidroxilo del amino azúcar pueden protegerse, por ejemplo, mediante un grupo acetilo o benzoilo, o desprotegidos. En un ejemplo particular, el amino azúcar es glucosamina protegida por grupos acetilo, tal como clorhidrato de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino- α -D-glucopiranos. Los grupos protectores se

usan generalmente en síntesis orgánica y no en síntesis acuosa.

Los procedimientos de la presente invención pueden comprender además al menos una etapa de purificación. Cualquier compuesto de la presente invención puede purificarse mediante cualquier procedimiento conocido por los expertos en la materia. Los expertos en la materia están familiarizados con dichos procedimientos y cuando se pueden emplear dichos procedimientos. Por ejemplo, en una síntesis de múltiples etapas que tiene como objetivo llegar a un compuesto particular, se puede realizar una etapa de purificación después de cada etapa sintética, después de algunas pocas etapas, en varios puntos durante la síntesis y/o al final de la síntesis. En algunos procedimientos, una o más etapas de purificación comprenden una técnica seleccionada de entre el grupo que consiste en cromatografía en columna de gel de sílice, una HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento) y una LC (cromatografía líquida). En ciertas realizaciones, los procedimientos de purificación excluyen específicamente la cromatografía y/o la diálisis de exclusión por tamaño. A continuación, se describen con más detalle los procedimientos de purificación. En un aspecto particular, el procedimiento puede comprender la purificación del conjugado de tiazolidina-azúcar antes de la reducción.

Para preparar un conjugado de etilendicisteína-azúcar, el conjugado de tiazolidina-azúcar se puede reducir mediante un metal alcalino y una fuente de electrones. El metal alcalino puede ser litio, sodio o potasio. La fuente de electrones puede ser amoniaco líquido, metilamina, etilamina o etilendiamina. En un aspecto particular, la reducción puede ser una reducción de abedul.

Para generar un conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico, el procedimiento puede comprender además quelar un ion metálico al conjugado de etilendicisteína-azúcar. Por ejemplo, el ion metálico se selecciona de entre el grupo de iones metálicos que consiste en un ion tecnecio, un ion estañoso, un ion cobre, un ion indio, un ion talio, un ion galio, un ion arsénico, un ion renio, un ion holmio, un ion itrio, un ion samario, un ion selenio, un ion estroncio, un ion gadolinio, un ion bismuto, un ion hierro, un ion manganeso, un ion lutecio, un ion cobalto, un ion platino, un ion calcio y un ion rodio. En algunos aspectos, el ion metálico es un radionucleido y cualquier radionucleido conocido por los expertos en la técnica. Los ejemplos no limitantes de radionucleidos incluyen ^{99m}Tc , ^{117m}Sn , ^{177}Lu , ^{188}Re , ^{186}Re , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{89}Sr , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{111}In , ^{183}Gd , ^{59}Fe , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{211}At , ^{45}Ti , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{67}Cu , ^{64}Cu y ^{62}Cu . En otros aspectos, el ion metálico es un metal no radioactivo, tal como ^{187}Re .

Otras realizaciones de la invención se refieren a procedimientos para obtener imágenes de un sitio o una composición que comprende un conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico y neomicina para su uso en el diagnóstico o el tratamiento de una enfermedad en un sujeto que la padece. El procedimiento puede comprender obtener un conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico, preparado como se describe en esta invención, y administrarle al sujeto una cantidad farmacéuticamente efectiva o efectiva en términos de diagnóstico de un conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico, donde se forman imágenes del sitio y se diagnostica o se trata la enfermedad.

El sitio del que se obtendrá la imagen puede ser un tumor. La composición puede usarse para tratar a un sujeto con cáncer. En aspectos particulares, el cáncer es cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer cerebral, cáncer de hígado, cáncer cervical, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de piel, cáncer de cabeza y cuello, cáncer óseo, un cáncer de esófago, cáncer de vejiga, cáncer uterino, cáncer linfático, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer testicular, linfoma o leucemia.

En aspectos adicionales, el procedimiento puede definirse adicionalmente como un procedimiento para obtener imágenes de un sitio dentro de un sujeto, que comprende detectar una señal del conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico que se localiza en el sitio. La señal se puede detectar usando una técnica seleccionada de entre el grupo que consiste en PET, PET/TC, TC, SPECT, SPECT/TC, IRM, PET/IRM, SPECT/IRM, imágenes ópticas y ultrasonido.

El sitio del que se obtendrá la imagen puede ser un tumor o un corazón. El procedimiento se puede definir adicionalmente como un procedimiento para obtener imágenes de un sujeto con una enfermedad cardiovascular. La composición puede ser para usar para diagnosticar o tratar a un sujeto con una enfermedad cardiovascular. La enfermedad cardiovascular puede ser un infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, miocardiopatía, enfermedad cardíaca valvular, arritmia, enfermedad cardíaca congénita, angina de pecho, congestión circulatoria no cardíaca, insuficiencia cardíaca sistólica, insuficiencia cardíaca con función sistólica normal o insuficiencia cardíaca del lado derecho.

En una realización adicional, se proporciona una composición o kit conjugado que comprende un conjugado de etilendicisteína-azúcar, según las realizaciones, y neomicina. En algunos aspectos, la composición comprende alrededor de 0,1 mg a aproximadamente 1,0 mg de neomicina por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar (por ejemplo, alrededor de 0,2 mg a 0,8 mg, de 0,3 mg a 0,7 mg, de 0,4 mg a 0,6 mg o alrededor de 0,5 mg por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar). En aun aspectos adicionales, la composición puede comprender además antioxidantes, agentes estabilizantes, conservantes o sales. Por ejemplo, una composición puede comprender adicionalmente ácido ascórbico, cisteína y/o cloruro de estaño (II). En algunos aspectos específicos, una composición comprende (a) alrededor de 0,5 mg a 2,0 mg de ácido ascórbico por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar; (b)

alrededor de 0,1 mg a 1,0 mg de cisteína por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar; y/o (c) alrededor de 0,05 mg a 0,5 mg de cloruro de estaño (II) por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar. En algunos aspectos, la composición es una solución acuosa o una solución que se ha congelado y/o liofilizado.

- 5 En una realización relacionada se proporciona un procedimiento para elaborar una composición conjugada que comprende (a) disolver un conjugado de etilendicisteína-azúcar y neomicina en una solución acuosa (por ejemplo, una solución de cloruro de estaño (II)); y (b) liofilizar o congelar la solución para proporcionar una composición del conjugado de etilendicisteína-azúcar. Asimismo, se proporciona un procedimiento para elaborar un quelato metálico de un conjugado de etilendicisteína-azúcar que comprende mezclar una solución que comprende el conjugado de etilendicisteína-azúcar y neomicina con un ion metálico (por ejemplo, un ion metálico radioactivo) en condiciones adecuadas para formar un quelato.

- En incluso otra realización adicional, se proporciona un procedimiento para obtener imágenes de un sitio o una composición que comprende un conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico y neomicina, para su uso en el diagnóstico de una enfermedad o tratar una enfermedad dentro de un sujeto, lo que comprende administrar un conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico junto con neomicina a un paciente. Por ejemplo, el procedimiento puede comprender (a) obtener una composición que comprende el conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico y neomicina; y (b) administrarle al sujeto una cantidad de la composición farmacéuticamente efectiva o efectiva en términos de diagnóstico, donde se forman imágenes del sitio, se diagnostica la enfermedad o se trata la misma.

- En incluso otra realización adicional, se proporciona una composición que comprende un conjugado de etilendicisteína-azúcar etiquetado con un ion metálico y neomicina (por ejemplo, alrededor de 0,1 mg a aproximadamente 1,0 mg de neomicina por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar. Por ejemplo, en algunos aspectos, la composición se usa para obtener imágenes de un sitio, diagnosticar una enfermedad o tratar una enfermedad dentro de un sujeto.

- Las realizaciones analizadas en el contexto de los procedimientos y/o las composiciones de la invención se pueden emplear con respecto a cualquier otro procedimiento o composición descrita en esta invención. Por consiguiente, también se puede aplicar una realización correspondiente a un procedimiento o composición a otros procedimientos y composiciones de la invención.

- Tal como se usa en esta memoria descriptiva, "un(a)" puede significar uno(a) o más. Tal como se usa en esta memoria, en la reivindicación o las reivindicaciones, cuando se usa junto con el término "que comprende", la palabra "un(a)" pueden significar uno(a) o más de uno(a).

- El uso del término "o" en las reivindicaciones se usa para designar "y/o", a menos que se indique expresamente para referirse solo a alternativas o que las alternativas sean mutuamente excluyentes, aunque la descripción admita una definición que se refiera solo a alternativas y a "y/o". Tal como se usa en esta invención, "otro" puede significar al menos un(a) segundo(a) o más.

- A lo largo de esta solicitud, el término "alrededor de" se usa para indicar que un valor incluye la variación inherente de error para el dispositivo, el procedimiento que se emplea para determinar el valor o la variación que existe entre los sujetos del estudio.

- Otros objetos, características y ventajas de la presente invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Debe entenderse, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican realizaciones preferidas de la invención, se dan a modo de ilustración solamente.

50 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

- Las siguientes figuras forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar adicionalmente ciertos aspectos de la invención. La invención se puede comprender mejor haciendo referencia a uno o más de estos dibujos en combinación con la descripción detallada de las realizaciones específicas presentadas en esta invención.

- 55 **FIG. 1.** Síntesis eficiente de ECG.

- FIG. 2.** Análisis de TLC de ⁶⁸Ga-ECG usando solución salina como un eluyente. El análisis de radio-TLC de la pureza de ⁶⁸Ga-ECG fue > 96%.

- 60 **FIG. 3.** Análisis HPLC de ^{68/69}Ga-ECG y ECG (Fase móvil: H₂O/acetonitrilo, 9:1 V/V, velocidad de flujo: 0,5 ml/min, columna: Extend C18 (Agilent), UV ABS 210 nm). El análisis de HPLC de la pureza de ⁶⁸Ga-ECG fue > 96%.

- 65 **FIG. 4.** Análisis ITLC (parte superior a, en solución salina) y HPLC (parte inferior b, detector de NaI) de ^{99m}Tc-ECG (fase móvil: H₂O/acetonitrilo, 9:1 V/V, velocidad de flujo: 0,5 ml/min, columna: Extend C18 (Agilent), UV ABS: 210 nm). El análisis de radio-TLC y HPLC de la pureza de ^{99m}Tc- ECG fue > 96%.

FIG. 5. Obtención de imágenes de ^{18}F -FDG y ^{68}Ga -ECG PET en ratas portadoras de mesotelioma (400 μCi /rata, iv, adquiridas a los 45 minutos). Las regiones de interés definidas por ordenador (ROI) (conteos por píxel) para el tumor y el músculo en el intervalo de tiempo correspondiente se usaron para generar un gráfico dinámico. El gráfico dinámico fue de 0 a 45 minutos.

FIG. 6. Imágenes de PET de ^{68}Ga -ECG en ratas portadoras de mesotelioma (400 μCi /rata, por vía intravenosa, parte inferior del cuerpo) antes y después del tratamiento a los 45 minutos. Superior: situación inicial en un tamaño del tumor de 1,5 cm, inferior: tratado con paclitaxel (20 mg/kg, por vía intravenosa, dosis única el día 7). T: tumor.

FIG. 7. Cintigrafía plana de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC (izquierda) y $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG (300 μCi /rata, por vía intravenosa, adquisición de un recuento de 500.000) (mitad y lado derecho) en ratas portadoras de mesotelioma. Los números son relaciones de densidad de recuento de tumor-músculo a 1 hora (panel superior) y 2 horas (panel inferior). T: tumor.

FIG. 8. RMN ^1H de G-Ac-T

FIG. 9. RMN ^{13}C de T-G-(Ac) $_4$

FIG. 10. MS de T-G-(Ac) $_4$

FIG. 11. RMN ^1H de EC-G

FIG. 12. RMN ^{13}C de EC-G

FIG. 13. Espectro de masas de EC-G

FIG. 14. HPLC de EC-G

FIG. 15. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G (ITLC, usando solución salina como eluyente)

FIG. 16. Análisis cromatográfico de capa fina instantánea de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G usando una solución salina como fase móvil. Papel: Waterman No. 1; Cat No.: 3030614. El panel izquierdo es el producto elaborado usando el kit descrito en esta invención; el panel derecho es un $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G estándar.

FIG. 17. Análisis de HPLC de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G elaborado usando el kit descrito en esta invención, usando $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ (9:1) como un eluyente a la velocidad de flujo de 0,50 ml/min. Columna: Extend C18; SN: USFK004129, Agilent).

FIG. 18. Análisis de HPLC de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G estándar usando $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ (9:1) como un eluyente a la velocidad de flujo de 0,50 ml/min. Columna: Extend C18; SN: USFK004129, Agilent).

FIG. 19. Absorción de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC-G estándar y elaborado en kits en células tumorales mamarias de rata 13762. Las columnas de la izquierda son del producto en kit y las columnas de la derecha son del producto estándar.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

La presente invención se refiere a procedimientos sintéticos novedosos para la preparación de un conjugado de tiazolidina-azúcar como precursores para preparar un conjugado de etilendicisteína-azúcar. La presente invención proporciona además procedimientos sintéticos de un conjugado de etilendicisteína-azúcar. En algunos aspectos, estos procedimientos sintéticos pueden obviar la necesidad de agregar grupos protectores a la etilendicisteína(EC), aumentar la eficiencia del procedimiento y purificar los productos finales, en comparación con otros procedimientos como se describe en la Publicación de patente de los EE.UU. No. 20100055035.

En determinados aspectos, al menos una parte de los procedimientos de la presente invención tienen lugar en un solvente orgánico. Las elecciones de solventes para los procedimientos de la presente invención serán conocidas para un experto en la materia. Las opciones de disolvente pueden depender, por ejemplo, de cuál(es) facilitará(n) la solubilización de todos los reactivos o, por ejemplo, cuál(es) facilitará(n) mejor la reacción deseada (particularmente si se conoce el mecanismo de la reacción). Los solventes pueden incluir, por ejemplo, solventes polares y/o solventes no polares. Un solvente puede ser un solvente aprótico polar, tal como dimetilsulfóxido. Las opciones de solventes incluyen, entre otras, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, dioxano, metanol, etanol, hexano, cloruro de metileno, tetrahidrofurano y/o acetonitrilo. En algunas realizaciones, los solventes incluyen etanol, dimetilformamida y/o dioxano. Se puede elegir más de un solvente para cualquier reacción o procedimiento de purificación particular. El agua también se puede mezclar en cualquier elección de disolvente; esto se puede hacer para mejorar la solubilidad de uno o más reactivos, por ejemplo. También se proporcionan procedimientos basados en la química húmeda (acuosa).

Tal como se describe en esta invención, algunos aspectos de la invención implican el uso de grupos de protección para proteger el amino azúcar en su reacción con tiazolidina o sus derivados. Sin embargo, los aspectos de la

invención pueden obviar la necesidad de agregar grupos de protección a la etilendicisteína(EC) como en la Publicación de patente de los EE.UU. No. 20100055035.

5 Cuando una reacción química debe llevarse a cabo selectivamente en un sitio reactivo de un compuesto multifuncional, otros sitios reactivos deben bloquearse temporalmente. Un "grupo protector" o "grupo nucleofílico protegido" tal como se usa en esta invención, se define como un grupo usado para el propósito de este bloqueo temporal. Durante la síntesis de las macromoléculas de la presente invención, varios grupos funcionales deben protegerse usando grupos protectores (o agentes protectores) en varias etapas de la síntesis. Hay una cantidad de procedimientos bien conocidos por los expertos en la materia para llevar a cabo dicha etapa. Para los agentes protectores, su reactividad, instalación y uso, véase, por ejemplo, Greene y Wuts (1999). La función de un grupo protector es proteger una o más funcionalidades (por ejemplo, -NH₂, -SH, -COOH) durante reacciones posteriores que no procederían bien, ya sea porque el grupo funcional libre (en otras palabras, no protegido) reaccionaría y se funcionalizaría de una manera que es inconsistente con su necesidad de estar libre para reacciones posteriores, o el grupo funcional libre interferiría en la reacción. El mismo grupo protector puede usarse para proteger uno o más de los mismos o diferentes grupos 15 funcionales. Además, se pueden usar diferentes grupos protectores para proteger el mismo tipo de grupo funcional dentro de una macromolécula de la presente invención en múltiples etapas.

En aspectos particulares, los grupos hidroxilo del amino azúcar como material de partida pueden protegerse. Los grupos protectores de hidroxilo (o alcohol) son bien conocidos por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, 20 Greene y Wuts (1999), capítulo 2. Estos grupos protectores se pueden instalar a través de agentes protectores bien conocidos por los expertos en la materia. La eliminación de estos grupos también es bien conocida por los expertos en la materia.

Un grupo protector hidroxilado adecuado puede seleccionarse de entre el grupo que consiste en ésteres o éteres. Los 25 ésteres tales como grupos acetato, benzoilo, terc-butilcarbonilo y trifluoroacetilo pueden eliminarse mediante condiciones ácidas o básicas. Éteres tales como metoxi, etoxi y tribencilmetilo pueden eliminarse mediante condiciones ácidas o básicas más fuertes. Un grupo protector preferido es un éster de acetato.

La presente invención contempla procedimientos para mezclar un amino azúcar con un ácido tiazolidina carboxílico. 30 La condición para la mezcla puede incluir cualquier condición adecuada para obtener un enlace peptídico entre el amino azúcar y el ácido tiazolidina carboxílico, tal como uno o más agentes de acoplamiento o catalizadores. Los agentes de acoplamiento, tal como se usan en esta invención, son reactivos usados para facilitar el acoplamiento de un grupo amino y un grupo carboxílico, a fin de formar un enlace peptídico. Dichos agentes son bien conocidos por los expertos en la materia y pueden emplearse en ciertas realizaciones de procedimientos de la presente invención. 35 Los ejemplos de agentes de acoplamiento incluyen, entre otros, Sulfo-N-hidroxisuccinimida (sulfo-NHS), dimetilaminopiridina (DMAP), diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC) y dclclohexilcarbodiimida (DCC). Otras carbodiimidias también se contemplan como agentes de acoplamiento. Los agentes de acoplamiento se analizan, por ejemplo, en Bodansky, 1993 y Grant, 1992. Estos agentes de acoplamiento pueden usarse solos o en combinación entre sí o con otros agentes para facilitar la conjugación. El 40 producto conjugado, a continuación, se puede purificar, por ejemplo, mediante cromatografía en columna de gel de sílice o HPLC.

En algunos aspectos de la invención, no hay necesidad de una reacción de desprotección separada. La reacción de reducción puede eliminar grupos de protección mientras convierte el conjugado de tiazolidina-azúcar en un conjugado 45 de etilendicisteína-azúcar. La reacción de reducción comprende el uso de un agente reductor que comprende un metal alcalino y una fuente de electrones, por ejemplo, una base de Lewis. El metal alcalino puede ser litio, sodio o potasio. La fuente de electrones puede ser una base de Lewis, tal como amoníaco líquido, metilamina, etilamina o etilendiamina. En un aspecto particular, la reducción puede ser una reducción de abedul. Por ejemplo, el agente reductor para la reducción de abedul comprende un metal de litio o sodio y amoníaco líquido. En realizaciones alternativas, el agente reductor comprende un metal de litio, sódico, potásico o cálcico y metilamina o etilamina. La 50 mezcla de reacción de reducción de abedul puede incluir una mezcla solvente. Esta mezcla solvente puede comprender alcohol isopropílico (IPA), alcohol t-butílico, tetrahidrofurano (THF), amoníaco o combinaciones de los mismos. Dependiendo de los reactivos usados, la reducción de abedul puede ocurrir a una temperatura entre alrededor de -80 °C y aproximadamente 55 °C. Cuando se usa amoníaco líquido como reactivo, la reducción puede tener lugar a una temperatura entre alrededor de -80 °C y aproximadamente -35 °C. Cuando se usa metilamina o etilamina como 55 reactivo, la reducción puede tener lugar a una temperatura entre alrededor de -10 °C y aproximadamente 10 °C. La mezcla de reacción de reducción de abedul se mantiene a las temperaturas anteriores durante un tiempo entre alrededor de 10 minutos y aproximadamente 4 horas.

60 Como se mencionó anteriormente, los expertos en la materia estarán familiarizados con los procedimientos de purificación de compuestos de la presente invención. Como se usa en esta invención, "purificación" se refiere a cualquier aumento medible de pureza con respecto a la pureza del material antes de la purificación. La purificación de cada compuesto de la presente invención es generalmente posible, incluyendo la purificación de intermedios, así como también la purificación de los productos finales. La etapa de purificación no siempre se incluye en las metodologías 65 generales que se explican a continuación, pero un experto en la materia entenderá que los compuestos generalmente se pueden purificar en cualquier etapa. Ejemplos de procedimientos de purificación incluyen filtración en gel,

- cromatografía de exclusión por tamaño (también llamada cromatografía de filtración en gel, cromatografía de permeación en gel o exclusión molecular), diálisis, destilación, recristalización, sublimación, derivatización, electroforesis, cromatografía en columna de gel de sílice y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), incluyendo la I-TPLC de fase normal y la HPLC de fase inversa. En ciertas realizaciones, la cromatografía y/o la diálisis
- 5 de exclusión por tamaño se excluyen específicamente como formas de purificación de compuestos de la presente invención. La purificación de compuestos mediante cromatografía en columna de gel de sílice o HPLC, por ejemplo, ofrece el beneficio de proporcionar compuestos deseados con una pureza muy alta, a menudo mayor que cuando los compuestos se purifican mediante otros procedimientos. También se puede determinar la pureza radioquímica de los compuestos de la presente invención. Los procedimientos para determinar la pureza radioquímica son bien conocidos
- 10 en la técnica e incluyen procedimientos cromatográficos junto con procedimientos de detección de radioactividad (véanse los análisis autorradiográficos). A continuación, se proporcionan ejemplos de comparaciones de pureza de compuestos elaborados mediante metodologías orgánicas y húmedas y purificados mediante procedimientos variables.
- 15 Los procedimientos para determinar la pureza de los compuestos son bien conocidos por los expertos en la materia e incluyen, en ejemplos no limitantes, autorradiografía, espectroscopia de masas, determinación del punto de fusión, análisis ultravioleta, análisis calorimétrico (HPLC), cromatografía de capa fina y análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) (que incluye, de modo no limitante, la RMN ^1H y la ^{13}C). En algunas realizaciones, se podría usar un procedimiento calorimétrico para valorar la pureza de los intermedios o productos finales. En una realización, la pureza
- 20 de un compuesto desconocido puede determinarse comparándolo con un compuesto de pureza conocida: la comparación de sedimentos puede ser en forma de una relación cuya medición describe la pureza de lo desconocido. El software disponible en varios instrumentos (por ejemplo, espectrofotómetros, HPLC, RMN), así como también otros medios conocidos por los expertos en la materia, puede ayudar al experto en la materia a realizar estas determinaciones.
- 25 La presente invención contempla además procedimientos para la quelación (también llamada coordinación) de uno o más iones metálicos al conjugado de etilendicisteína-azúcar a fin de generar un conjugado de ion metálico etiquetado con el conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar. Las etapas de quelación Stteh pueden tener lugar en un solvente orgánico. En otras realizaciones, la quelación tiene lugar en medios acuosos. En ciertas realizaciones, el quelante EC
- 30 y el azúcar pueden contribuir cada uno a la quelación del ion metálico, en realizaciones preferidas, el ion metálico se quela solo al EC quelante. El ion metálico quelado puede unirse mediante, por ejemplo, un enlace iónico, un enlace covalente o un enlace covalente de coordenadas (también llamado enlace dativo). Los sitios de reconocimiento de proteasa son bien conocidos para los expertos en la técnica. En una realización, la coordinación puede ocurrir mediante la mezcla de un ion metálico en una solución que contiene el conjugado de etilendicisteína-azúcar. En otra
- 35 realización, la coordinación puede ocurrir mediante la mezcla de un ion metálico en una solución que contiene un conjugado de EC-azúcar,
- En algunos ejemplos no limitantes, el ion metálico puede ser tecnecio, indio, renio, galio, cobre, holmio, platino, gadolinio, lutecio, itrio, cobalto, calcio, arsénico o cualquier isótopo de estos. Cualquier ion metálico descrito en esta
- 40 invención puede quelarse a un compuesto de la presente invención.
- Determinados aspectos de la presente invención pertenecen a composiciones donde una fracción terapéutica se conjuga con un conjugado quelante de la presente invención, tal como un conjugado de etilendicisteína-azúcar. En ciertas realizaciones, la composición de la presente invención puede ser útil en la obtención de imágenes y la terapia
- 45 dual. En ciertas realizaciones particulares, la fracción terapéutica es una fracción que es un agente conocido o sospechoso de ser beneficioso en el tratamiento o prevención de la enfermedad hiperproliferativa en un sujeto. El sujeto puede ser un animal, tal como un mamífero. En ciertas realizaciones particulares, el sujeto es un humano.
- En otras realizaciones de la presente invención, la fracción terapéutica es un ion metálico terapéutico (por ejemplo,
- 50 Re-188, Re-187, Re-186, Ho-166, Y-90, Sr-89 y Sm-153), y el conjugado de etilendicisteína-azúcar quelado de metal es un agente terapéutico (en lugar de un agente de imágenes) que se puede aplicar en el tratamiento o prevención de una enfermedad hiperproliferativa.
- Una enfermedad hiperproliferativa se define en esta invención como cualquier enfermedad asociada a un crecimiento
- 55 celular anormal o recambio celular anormal. Por ejemplo, la enfermedad hiperproliferativa puede ser un cáncer. El término "cáncer", tal como se usa en esta invención, se define como un crecimiento no controlado y progresivo de células en un tejido. Un experto en la materia es consciente de que existen otros términos sinónimos, tales como neoplasia o neoplasia maligna, o tumor. Se contempla cualquier tipo de cáncer para su tratamiento mediante las composiciones para el uso de la presente invención. Por ejemplo, el cáncer puede ser cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer cerebral, cáncer de hígado, cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer renal,
- 60 cáncer de piel, cáncer de cabeza y cuello, cáncer óseo, cáncer de esófago, cáncer de vejiga, cáncer uterino, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer testicular, linfoma o leucemia. En otras realizaciones de la presente invención, el cáncer es un cáncer metastásico.
- 65 En ciertas realizaciones de la presente invención, las composiciones de la presente invención son adecuadas para la quimioterapia dual y la radioterapia (radioquimioterapia). Por ejemplo, el conjugado de EC-azúcar quelante, tal como

se establece en esta invención, puede quelarse a un ion metálico que es un ion metálico terapéutico, así como también una fracción terapéutica (tal como una fracción anticancerosa). Como otro ejemplo, un ion metálico terapéutico puede quelarse tanto a la EC como a la fracción de azúcar en el conjugado de EC-azúcar.

- 5 Por ejemplo, el ion metálico puede ser un emisor beta. Tal como se define en esta invención, un emisor beta es cualquier agente que emite energía beta de cualquier intervalo. Los ejemplos de emisores beta incluyen Re-188, Re-187, Re-186, Ho-166, Y-90 y Sn-153. Un experto en la materia estaría familiarizado con estos agentes para su uso en el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas, tales como el cáncer.
- 10 Un experto en la materia estaría familiarizado con el diseño de protocolos de quimioterapia y protocolos de radioterapia que se pueden aplicar en la administración de los compuestos de la presente invención. Tal como se establece a continuación, estos agentes se pueden usar en combinación con otras modalidades terapéuticas dirigidas al tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa, tal como un cáncer. Además, un experto en la materia estaría familiarizado con la selección de una dosis adecuada para la administración al sujeto. El protocolo puede implicar una
- 15 dosis única o múltiples dosis. El paciente sería monitorizado para evaluar la toxicidad y la respuesta al tratamiento usando protocolos familiares para los expertos en la materia.

- Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad terapéutica o efectiva, en términos de diagnóstico, de una composición de la presente invención. Las frases "farmacéutica o farmacológicamente
- 20 aceptable" o "terapéuticamente efectiva" o "efectiva, en términos de diagnóstico" se refieren a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción adversa cuando se administran a un animal, tal como, por ejemplo, un ser humano, según corresponda. La preparación de composiciones terapéuticamente efectivas o efectivas en términos de diagnóstico que resulta conocida para los expertos en la materia a la luz de la presente descripción, como lo ejemplificó Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^{va} ed. Mack Printing Company,
- 25 1990. Además, para la administración a animales (por ejemplo, a humanos), las preparaciones deben cumplir con los estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza requeridos por la Oficina de Estándares Biológicos de la Administración de Drogas y Alimentos (FDA).

- Tal como se usa en esta invención, "una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva" o "una
- 30 composición que comprende una cantidad efectiva en términos de diagnóstico" incluye todos y cada uno de los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensoactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, geles, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, colorantes, tales como materiales similares y combinaciones de estos,
- 35 como lo sabría un experto en la materia. Excepto en el caso de que cualquier vehículo sea incompatible con el ingrediente activo, su uso en las composiciones terapéuticas está contemplado.

- Las composiciones de la presente invención pueden comprender diferentes tipos de vehículos dependiendo de si debe administrarse en forma sólida, líquida o de aerosol, y si necesita ser estéril para tales vías de administración, tales
- 40 como una inyección. Las composiciones de la presente invención se pueden administrar por vía intravenosa, intradérmica, intraarterial, intraperitoneal, intralesional, intracraneal, intraarticular, intraprostática, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravítrea, intravaginal, intrarrectal, tópica, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, subconjuntival, intravesicular, por mucosa, intrapericárdica, intraumbilical, intraocular, oral, tópica, local, inyección, infusión, infusión continua, perfusión localizada bañando las células diana directamente, a través de un
- 45 catéter, a través de un lavado, en composiciones lipídicas (por ejemplo, liposomas) o mediante otro procedimiento o cualquier combinación de los anteriores, como sabría un experto en la materia.

- La cantidad real requerida de una composición de la presente invención administrada a un paciente puede determinarse mediante factores físicos y fisiológicos tales como peso corporal, gravedad de la afección, el tejido del
- 50 que se obtendrán las imágenes, el tipo de enfermedad que se está tratando, imágenes previas o concurrentes o intervenciones terapéuticas, idiopatía del paciente y la vía de administración. El médico responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la concentración de ingrediente(s) activo(s) en una composición y dosis adecuadas para el sujeto individual.

- 55 En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, al menos alrededor del 0,1% del quelato de quelante-ion metálico. En otras realizaciones, un compuesto activo puede comprender entre alrededor del 2 y aproximadamente el 75% del peso del conjunto, o entre alrededor del 25 y aproximadamente el 60%, por ejemplo, y cualquier intervalo derivable del mismo. En otros ejemplos no limitantes, una dosis también puede comprender de alrededor de 0,1 mg/kg/peso a aproximadamente 1000 mg/kg/peso corporal o cualquier cantidad
- 60 dentro de este intervalo, o cualquier cantidad mayor que 1000 mg/kg/peso corporal por administración.

- En cualquier caso, la composición puede comprender varios antioxidantes para retardar la oxidación de uno o más componentes. Adicionalmente, el impedimento de la acción de microorganismos se puede lograr mediante
- 65 conservantes tales como varios agentes antibacterianos y antifúngicos, que incluyen, entre otros, parabenos (por ejemplo, metilparabenos, propilparabenos), clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal o combinaciones de los mismos.

Las composiciones de la presente invención pueden formularse en una forma de base libre, neutra o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales formadas con los grupos carboxilo libres derivados de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férricos; o tales bases orgánicas como isopropilamina, trimetilamina, histidina o procaína.

En realizaciones donde la composición está en forma líquida, un vehículo puede ser un solvente o medio de dispersión que comprende, entre otros, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, *etc.*), lípidos (por ejemplo, triglicéridos, aceites vegetales, liposomas) y combinaciones de estos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina; mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido a través de la dispersión en vehículo tales como, por ejemplo, poliol líquido o lípidos; usando tensoactivos tales como, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa; o combinaciones de tales procedimientos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, tampones o cloruro sódico.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar usando técnicas tales como la esterilización filtrada. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los varios ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y/o los otros ingredientes. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, suspensiones o emulsión, los procedimientos preferidos de preparación son técnicas de secado al vacío o liofilización que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de un medio líquido previamente filtrado estéril del mismo. El medio líquido debe amortiguarse adecuadamente si es necesario y el diluyente líquido primero se vuelve isotónico antes de la inyección con suficiente solución salina o glucosa. También se contempla la preparación de composiciones altamente concentradas para su inyección directa, donde se prevé que el uso de DMSO (dimetilsulfóxido) como solvente dé como resultado una penetración extremadamente rápida, proporcionando altas concentraciones de los agentes activos a un área pequeña.

La composición debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. Se apreciará que la contaminación por endotoxinas debe mantenerse mínimamente a un nivel seguro, por ejemplo, menos de 0,5 ng/mg de proteína.

En realizaciones particulares, la absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede provocar mediante el uso en las composiciones de agentes que retarden la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio, gelatina o combinaciones de los mismos.

Las composiciones de la presente invención pueden usarse en una variedad de técnicas de medicina nuclear para obtener imágenes que resultan conocidas para los expertos en la materia. Por ejemplo, la obtención de imágenes de cámara gamma se contempla como un procedimiento de imágenes que se puede utilizar para medir una señal derivada del ion metálico quelado al conjugado de EC-azúcar. Un experto en la materia estaría familiarizado con las técnicas para la aplicación de la obtención de imágenes con cámaras gamma (véase, por ejemplo, Kundra y col., 2002).

Las modalidades de imágenes por radionúclidos (tomografía por emisión de positrones (PET); tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT)) son técnicas de diagnóstico por imágenes transversales que mapean la ubicación y concentración de radiotrazadores etiquetados con radionúclidos. Aunque la TC y la RMN proporcionan información anatómica considerable sobre la ubicación y la extensión de los tumores, estas modalidades de imágenes no pueden diferenciar adecuadamente las lesiones invasivas del edema, la necrosis por radiación, la clasificación o la gliosis. La PET y la SPECT se pueden usar para localizar y caracterizar tumores mediante la medición de la actividad metabólica.

La PET y la SPECT proporcionan información relativa a la información a nivel celular, como la viabilidad celular. En la PET, un paciente ingiere o recibe una inyección de una sustancia ligeramente radioactiva que emite positrones, que se puede controlar a medida que la sustancia se mueve por el cuerpo. En una aplicación común, por ejemplo, a los pacientes se les administra glucosa con emisores de positrones conectados, y sus cerebros son monitorizados mientras realizan varias tareas. Dado que el cerebro usa glucosa mientras funciona, una imagen PET muestra dónde la actividad cerebral es alta.

Estrechamente relacionada con la PET está la tomografía computarizada por emisión de fotón único, o SPECT. La principal diferencia entre ambas es que en lugar de una sustancia emisora de positrones, la SPECT usa un trazador radioactivo que emite fotones de baja energía. La SPECT es valiosa para el diagnóstico de la enfermedad arterial coronaria, y ya se realizan alrededor de 2,5 millones de estudios cardíacos con SPECT en los Estados Unidos cada año.

Los radiofármacos de PET para la obtención de imágenes se etiquetan comúnmente con emisores de positrones tales como ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{82}Rb , ^{62}Cu y ^{68}Ga . Los radiofármacos SPECT se etiquetan comúnmente con emisores de positrones tales como $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{201}Tl y ^{67}Ga . En cuanto a las imágenes cerebrales, los radiofármacos de la PET y la SPECT se clasifican según la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BBB), la perfusión cerebral y la unión al receptor del metabolismo, y la unión al antígeno-anticuerpo (Saha y col., 1994). Los agentes de SPECT de barrera

cerebral sanguínea, tales como $^{99m}\text{TcO}_4\text{-DTPA}$, ^{201}Tl y el citrato de ^{67}Ga son excluidos por las células cerebrales normales, pero entran en las células tumorales debido a la alteración de la barrera antes mencionada. Los agentes de perfusión de SPECT tales como ^{123}I IMP, ^{99m}Tc HMPAO, ^{99m}Tc ECD son agentes lipofílicos y, por lo tanto, se esparcen en el cerebro normal. Los radiofármacos de SPECT de unión al receptor importantes incluyen ^{123}I QNE, ^{123}I IBZM y ^{123}I iomacénilo. Estos trazadores se unen a receptores específicos y son importantes en la evaluación de enfermedades relacionadas con los receptores.

La tomografía computarizada (TC) se contempla como una modalidad de imágenes en el contexto de la presente invención. Tomando una serie de rayos X, a veces más de mil, desde varios ángulos, y combinándolos, a continuación, con un ordenador, la TC hizo posible construir una imagen tridimensional de cualquier parte del cuerpo. Un ordenador está programado para mostrar cortes bidimensionales desde cualquier ángulo y a cualquier profundidad.

En la TC, la inyección intravenosa de un agente de contraste radiopaco puede ayudar en la identificación y delineación de masas de tejido blando cuando las TC iniciales no son diagnósticas. Del mismo modo, los agentes de contraste ayudan a evaluar la vascularidad de una lesión ósea o de tejido blando. Por ejemplo, el uso de agentes de contraste puede ayudar a delinear la relación de un tumor y estructuras vasculares adyacentes.

Los agentes de contraste de TC incluyen, por ejemplo, medios de contraste yodado. Los ejemplos de estos agentes incluyen iohalamato, yohexol, diatrizoato, iopamidol, etiodol y iopanoato. También se ha informado que los agentes de gadolinio son útiles como un agente de contraste de TC (véase, por ejemplo, Henson y col., 2004). Por ejemplo, los agentes gadopentato se han usado como un agente de contraste de TC (analizados en Strunk y Schild, 2004).

La resonancia magnética (RM) es una modalidad de imagen más reciente que la TC que usa un imán de alta resistencia y señales de radiofrecuencia para producir imágenes. La especie molecular más abundante en los tejidos biológicos es el agua. Es el "giro" mecánico cuántico de los núcleos de protones de agua, lo que finalmente da lugar a la señal en los experimentos de imágenes. En la RM, la muestra a ser tomada se coloca en un campo magnético estático fuerte (1 a 12 Tesla) y los giros se excitan con un pulso de radiación de radiofrecuencia (RF) para producir una magnetización neta en la muestra. Varios gradientes de campo magnético y otros pulsos de RF actúan sobre los giros para codificar la información espacial en las señales registradas. Al recolectar y analizar estas señales, es posible calcular una imagen tridimensional que, al igual que una imagen de TC, se muestra normalmente en cortes bidimensionales.

Los agentes de contraste usados en las imágenes por RM difieren de los usados en otras técnicas de imagen. Su propósito es ayudar a distinguir entre componentes de tejido con características de señal idénticas y acortar los tiempos de relajación (lo que producirá una señal más fuerte en las imágenes de RM espín eco ponderadas en T1 y una señal menos intensa en las imágenes ponderadas en T2). Los ejemplos de agentes de contraste de RMN incluyen quelatos de gadolinio, quelatos de manganeso, quelatos de cromo y partículas de hierro.

Tanto la tomografía computarizada como la resonancia magnética proporcionan información anatómica que ayuda a distinguir los límites del tejido y la estructura vascular. En comparación con la TC, las desventajas de la RM incluyen menor tolerancia del paciente, contraindicaciones en marcapasos y ciertos otros dispositivos metálicos implantados, y artefactos relacionados con múltiples causas, entre las cuales resulta no menos importante el movimiento (Alberico y col., 2004). La TC, por otro lado, es rápida, bien tolerada y fácilmente disponible, pero tiene una resolución de contraste más baja que la RM y requiere contraste yodado y radiación ionizante (Alberico y col., 2004). Una desventaja tanto de la tomografía computarizada como de la resonancia magnética es que ninguna de las dos modalidades de imágenes proporciona información funcional a nivel celular. Por ejemplo, ninguna de las dos modalidades proporciona información sobre la viabilidad celular.

La imagen óptica es otra modalidad de imagen que ha ganado aceptación generalizada en áreas particulares de la medicina. Los ejemplos incluyen el etiquetado óptico de componentes celulares y angiografía, tal como angiografía con fluoresceína y la angiografía verde indocianina. Los ejemplos de agentes ópticos de imágenes incluyen, por ejemplo, fluoresceína, un derivado de la fluoresceína, verde indocianina, verde Oregon, un derivado del verde Oregon, verde rodamina, un derivado del verde rodamina, una eosina, una eritrosina, rojo Texas, un derivado del rojo Texas, verde malaquita, éster sulfosuccinimidilo nanooro, azul cascada, un derivado del cumarín, un naftaleno, un derivado del piridiloxazol, colorante amarillo cascada o colorante dapoxilo.

Otra modalidad de imágenes biomédicas que ha ganado aceptación generalizada es el ultrasonido. Las imágenes por ultrasonido se han usado de forma no invasiva para proporcionar imágenes transversales e incluso tridimensionales en tiempo real de estructuras de tejidos blandos e información de flujo sanguíneo en el cuerpo. Ondas sonoras de alta frecuencia y un ordenador para crear imágenes de vasos sanguíneos, tejidos y órganos.

Las imágenes ecográficas del flujo sanguíneo pueden estar limitadas por una serie de factores tales como el tamaño y la profundidad del vaso sanguíneo. Los agentes de contraste ultrasónicos, un desarrollo relativamente reciente, incluyen perfluorina y análogos de perfluorina, que están diseñados para superar estas limitaciones, ayudando a mejorar las imágenes en escala de grises y las señales Doppler.

Ciertas realizaciones de la presente invención se refieren a procedimientos para obtener imágenes de un sitio dentro de un sujeto, usando dos modalidades de imágenes que implican medir una primera señal y una segunda señal del complejo de fracción de imagen-quelante-ion metálico. La primera señal deriva del ion metálico y la segunda señal deriva de la fracción de imagen. Tal como se estableció anteriormente, cualquier modalidad de imágenes conocida por los expertos en la materia se puede aplicar en estas realizaciones de los presentes procedimientos de imagen.

Las modalidades de imágenes se realizan en cualquier momento durante o después de la administración de la composición que comprende la cantidad efectiva, en términos de diagnóstico, de la composición de la presente invención. Por ejemplo, los estudios de imágenes se pueden realizar durante la administración de la composición de imágenes dual de la presente invención, o en cualquier momento posterior. En algunas realizaciones, la primera modalidad de imágenes se lleva a cabo comenzando simultáneamente con la administración del agente de imágenes dual, o alrededor de 1 segundo, 1 hora, 1 día o cualquier período de tiempo más largo después de la administración del agente de imágenes dual, o en cualquier momento entre cualquiera de estos tiempos indicados.

La segunda modalidad de imágenes se puede realizar simultáneamente con la primera modalidad de imágenes, o en cualquier momento después de la primera modalidad de imágenes. Por ejemplo, la segunda modalidad de imágenes puede llevarse a cabo alrededor de 1 segundo, alrededor de 1 hora, alrededor de 1 día, o cualquier período de tiempo más largo después de la finalización de la primera modalidad de imágenes, o en cualquier momento entre cualquiera de estos tiempos indicados. En ciertas realizaciones de la presente invención, la primera y segunda modalidades de imágenes se realizan simultáneamente, de modo que comienzan al mismo tiempo, después de la administración del agente. Un experto en la materia estaría familiarizado con la realización de las varias modalidades de imágenes contempladas por la presente invención.

En algunas realizaciones de los presentes procedimientos de imagen dual, se usa el mismo dispositivo de imágenes para realizar una primera y una segunda modalidad de imágenes. En otras realizaciones, se usa un dispositivo de imágenes diferente para realizar la segunda modalidad de imágenes. Un experto en la materia estaría familiarizado con los dispositivos de imagen que están disponibles para la realización de tanto una primera como una segunda modalidad de imágenes, y el experto en la materia estaría familiarizado con el uso de estos dispositivos para generar imágenes. Se pueden encontrar más detalles de los procedimientos terapéuticos y de diagnóstico en el documento de los EE.UU. 2008/0107198.

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar las realizaciones preferidas de la invención. Los expertos en la técnica deben apreciar que las técnicas descritas en los ejemplos a continuación representan técnicas descubiertas por los inventores que funcionan bien en la práctica de la invención y, por consiguiente, es posible considerar que constituyen los modos preferidos para su práctica.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Síntesis de N,N-etilendicisteína-glucosamina (EC-G). Véase la FIG. 1.

General

Todos los productos químicos y solventes se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). La resonancia magnética nuclear (RMN) se realizó en el espectrómetro Bruker 300MHz, y los espectros de masas se realizaron en el espectrómetro de masas Waters Q-TOF Ultima (Milford, MA) en la instalación central del MD Anderson Cancer Center de la Universidad de Texas (UTMDACC; Houston, TX). Los cambios químicos se informaron en δ (ppm) y los valores J en Hertz. El FDG se obtuvo del Departamento de Medicina Nuclear de UTMDACC.

Síntesis de ECG

Etapas 1. Síntesis de T-G-(Ac)₄

A una solución de ácido tiazolidina-4-carboxílico (T) (2,6 g, 0,02 mol) en DMF (20 ml) y 5,0 ml de trimetilamina, se agregó hidrato de 1-hidroxibenzotriazol 2,7 g (0,02 mol). Después de 30 min, se agregó clorhidrato de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino- α -D-glucopiranos (G-(Ac)₄) (7,7 g, 0,02 mol), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC; 4,2 g, 0,02 mol) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP; 1,2 g, 0,01 mol) a la mezcla y esta última se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La solución se evaporó a sequedad a un alto vacío. Se agregó diclorometano (CH₂Cl₂) (50 ml) al residuo, la mezcla se mantuvo a 4 °C durante la noche y, a continuación, se procedió a la filtración. El producto se purificó con gel de sílice eluyendo con CH₂Cl₂/MeOH(95/5, V/V) para proporcionar el producto blanco T-G-(Ac)₄ 4,08 g (44,2%). Para confirmar la estructura de T-G-(Ac)₄, se usó tanto una RMN como una espectrometría de masas.

Etapas 2. Reacción de reducción

Se agregó sodio pieza por pieza a una solución de T-G-(Ac)₄ (4,08 g, 8,8 mmol) en amoníaco líquido (170 g). El color de la solución se cambió lentamente a azul oscuro. Después de 30 minutos, se agregó una pequeña cantidad de cloruro de amonio. El amoníaco líquido se eliminó a presión reducida. El sólido residual se trituró con metanol (100 ml).

A continuación, se filtró el sólido y se lavó con metanol adicional (50 ml) para proporcionar 4,16 g de producto bruto. Para obtener un ECG puro analítico, se disolvió el producto bruto (0,1 g) en 1,0 ml de HCl (0,1 N) y se purificó con una columna Sephadex eluyendo con H₂O. Las fracciones acuosas se combinaron y se liofilizaron para proporcionar ECG 0,029 g (46,7%). Para confirmar la estructura del ECG, se usó una RMN, una espectrometría de masas y una HPLC.

5

Resultados

El esquema sintético se muestra en la **FIG. 1**. El ECG se sintetizó mediante reacciones de dos etapas. En la primera etapa, se hizo reaccionar ácido tiazolidina-4-carboxílico (T) con clorhidrato de 1,3,4,6-tetra- O-acetil-2-amino- α -D-glucopiranososa (G-(Ac)₄) en presencia de hidrato de 1-hidroxibenzotriazol, DCC y DMAP. Después de la purificación, el rendimiento del producto T-G- (Ac)₄ fue del 44.2%. RMN ¹H (D₂O, δ): 1,97-2,14 (m, 12H), 3,88 (t, 1H), 3,93 (s, 2H), 4,05-4,10 (m, 6H) 4,22-4,30 (m, 2H), 5,09 (t, 1H), 5,34 (t, 1H), 5,80 (d, 1H), 6,93 (d, 1H). RMN ¹³C (D₂O, δ): 171,19, 171,00, 170,65, 169,35, 166,35, 141,76, 92,05, 82,45, 72,79, 72,02, 68,02, 61,73, 60,39, 53,21, 42,32, 20,84, 20,68, 20,58, 20,55. FAB MS m/z: 462.5.

15

En la segunda etapa, T-G-(Ac)₄ se redujo en sodio en amoníaco líquido (reducción de abedul). El producto bruto se purificó con una columna Sephadex para proporcionar una ECG (46.7%). La HPLC muestra una pureza superior al 82%. RMN ¹H (D₂O, δ): 3,15-3,20 (m, 4H), 3,78-4,05 (m, 6H), 4,08-4,15 (m, 8H), 4,2-4,3 (d, 2H), 4,68-4,73 (d, 2H), 5,19-5,21(d, 2H). RMN ¹³C (D₂O, δ): 174,81, 174,56, 94,95, 90,87, 90,84, 75,96, 73,91,73,85, 71,59, 70,71, 70,66, 70,10, 69,88, 60,72, 60,62, 56,72, 54,11, 23,33, 22,23, 21,96. FAB MS m/z: 591.

20

Ejemplo 2: Síntesis de Ga-ECG frío

Se agregó ⁶⁹GaCl₃ (20 mg, 0,11 mmol) en 0,2 ml de H₂O a una solución de ECG (60 mg, 0,1 mmol) en 0,5 ml de H₂O. El valor de pH se ajustó a 4-5 con NaOH 0,1 N (50 μ l). La solución se calentó durante 30 min a 60 °C. El producto se purificó mediante una columna Sephadex eluyendo con H₂O para proporcionar Ga-ECG. Después de la liofilización, se obtuvo un Ga-ECG como un sólido blanco (52 mg, 78,1%). Para confirmar la estructura de ⁶⁹Ga-ECG, se usó una RMN, una espectrometría de masas y una HPLC.

25

La RMN de ⁶⁹Ga-ECG frío fue RMN ¹H (D₂O, δ): 2,94-3,38 (m, 8H), 3,43-3,65 (m, 4H), 3,50-3,80 (m, 10H), 3,92-4,02 (t, 2H), 4,23-4,34 (d, 2H), 5,15-5,34 (d, 2H), RMN ¹³C (D₂O, δ): 175,51, 175,16, 95,55, 90,85, 90,67, 75,76, 74,90, 73,55, 71,59, 70,71, 70,66, 70,10, 69,88, 60,72, 60,62, 56,72, 54,11, 23,53, 22,83, 22,16. El análisis por radio-TLC y HPLC de la pureza de ⁶⁸Ga-ECG y ^{99m}Tc-ECG fue > 96% (**FIG. 2 a 4**). Se usó una HPLC de ⁶⁹Ga-ECG frío para confirmar la estructura de ⁶⁸Ga-ECG (**FIG. 3**).

30

35

Ejemplo 3: Radiosíntesis de ⁶⁸Ga-ECG y ^{99m}Tc-ECG

El ⁶⁸GaCl₃ se obtuvo de un generador de ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga (Eckert Ziegler, Valencia, CA) eluido con HCl 0,1 N. Se agregó ⁶⁸GaCl₃ (120 μ l, 300 μ Ci) a la solución de ECG (1,2 mg) en 0,1 ml de H₂O y se ajustó el valor de pH a 4-5 con NaHCO₃ (40 μ l, 0,1 N). La solución se calentó a 60 °C durante 15 min. Se obtuvo pertechnetato de sodio (Na^{99m}TcO₄) del generador de ⁹⁹Mo/^{99m}Tc de Covidien (Houston, TX). La radiosíntesis de ^{99m}Tc-ECG se logró mediante el agregado de ^{99m}Tc-pertechnetato (40 a 50 mCi) en el residuo liofilizado de ECG (5 mg) y cloruro de estaño (II) (SnCl₂, 100 μ g). La formación de complejos de ECG con ^{99m}Tc se llevó a cabo a un pH de 6,5. La pureza radioquímica se determinó mediante una TLC (Waterman No. 1, Aldrich-Sigma, St. Louis, MO) eluida con solución salina. Se realizó una cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), equipada con un detector de NaI y un detector UV (210 nm), en una columna de fase inversa C-18 (Extend C18, Agilent, Santa Clara, CA) eluida con acetonitrilo/agua (1:9, V/V) a una velocidad de flujo de 0,5 ml/min. Se usó una HPLC de ⁶⁹Ga-ECG frío para confirmar la estructura de ⁶⁸Ga-ECG.

40

45

Ejemplo 4: Biodistribución de radiofármacos en ratas portadoras de mesotelioma

50

Se inocularon 344 ratas Fischer hembras (150 $\pm$ 25 g) (Harlan Sprague-Dawley, Indianápolis, IN) (n=3 ratas/punto de tiempo) con células de mesotelioma pleural maligno derivadas de la línea celular IL-45. Se inyectaron células tumorales (10⁶ células/rata) (por vía intramuscular) en las patas traseras. Los estudios se realizaron de 14 a 17 días después de la inoculación, cuando los tumores tenían aproximadamente 1 cm de diámetro. En estudios de distribución tisular, a cada animal se le inyectó (por vía intravenosa, 10 μ Ci/rata, 10 μ g/rata) ^{99m}Tc-ECG, ⁶⁸Ga-ECG y ¹⁸F-FDG. Las ratas se sacrificaron a las 0,5-4 horas. Los tejidos seleccionados se extirparon, se pesaron y se contaron en términos de radioactividad mediante el uso de un contador gamma (Packard Instruments, Downers Grove, IL). La biodistribución del trazador en cada muestra se calculó como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de peso húmedo tisular (%ID/g).

60

La captación tumoral y tisular (%ID/g) de ⁶⁸Ga-ECG, ^{99m}Tc-ECG y ¹⁸F-FDG se muestran en las Tablas 1 a 3. La absorción tumoral más alta de ^{99m}Tc-ECG es de 0,47 a los 30 minutos después de la inyección y disminuyó a 0,08 a los 240 minutos después de la inyección. Las relaciones de absorción tumoral (%ID/g), tumor/pulmón, tumor/sangre y recuento tumoral/muscular para ^{99m}Tc-ECG (30-240 min) fueron de 0,47 $\pm$ 0,06 a 0,08 $\pm$ 0,01; 0,71 $\pm$ 0,07 a 0,85 $\pm$ 0,04; 0,47 $\pm$ 0,03 a 0,51 $\pm$ 0,01 y 3,49 $\pm$ 0,24 a 5,06 $\pm$ 0,25; para ⁶⁸Ga-ECG (15-60 min) fueron de 0,70 $\pm$ 0,06 a 0,92 $\pm$ 0,08; 0,64 $\pm$ 0,05 a 1,15 $\pm$ 0,08; 0,42 $\pm$ 0,03 a 0,67 $\pm$ 0,07 y 3,84 $\pm$ 0,52 a 7,00 $\pm$ 1,42; para FDG (30-180 min) fueron de 1,86 $\pm$ 0,22

65

a $1,38 \pm 0,35$; $3,18 \pm 0,44$ a $2,92 \pm 0,34$, $4,19 \pm 0,44$ a $19,41 \pm 2,05$ y $5,75 \pm 2,55$ a $3,33 \pm 0,65$, respectivamente. Se observó una mayor captación renal tanto para el grupo de ^{68}Ga -ECG como el de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG, presumiblemente porque EC y los conjugados de EC pueden interactuar con túbulos renales en el riñón (Yang y col., 2003).

5 Ejemplo 5: Estudios de imágenes cintigráficas

- Se usaron 344 ratas Fischer hembras (150 ± 25 g) portadoras de un mesotelioma pleural maligno (en las patas traseras) derivado de la línea celular IL-45 usada para estudios de imágenes. Los estudios se realizaron de 14 a 17 días después de la inoculación, cuando los tumores tenían aproximadamente 1 cm de diámetro. Las imágenes cintigráficas se
- 10 obtuvieron de un micro-PET (Inveon) integrado en la adquisición de datos PET/TC de coordenadas de pórtricos, o de una cámara M-gamma (Siemens Medical Systems, Inc., Hoffman Estates, IL) equipada con un colimador de agujeros paralelos de baja energía. A cada animal se le administró $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG ($300 \mu\text{Ci/rata}$, por vía intravenosa), ^{68}Ga -ECG y ^{18}F -FDG ($400 \mu\text{Ci/rata}$, por vía intravenosa), y las imágenes se obtuvieron al cabo de 0,5 a 4 horas. Para demostrar que el ^{68}Ga -ECG se podía usar para la terapia guiada por imágenes, se trataron las mismas ratas portadoras de
- 15 mesotelioma ($n=3$) con un volumen tumoral de 1,5 cm con paclitaxel (20 mg/kg , por vía intravenosa, y con una única inyección). Antes del tratamiento y después del tratamiento con paclitaxel el día 7, se tomaron imágenes de las ratas portadoras de tumores con ^{68}Ga -ECG. Las regiones de interés descritas por ordenador (ROI) (conteos por píxel) se usaron para determinar las relaciones de densidad de conteo tumor-fondo para $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG. Las regiones de interés definidas por ordenador (ROI) (conteos por píxel) para el tumor y el músculo en el intervalo de tiempo correspondiente
- 20 se usaron para generar un gráfico dinámico para ^{68}Ga -ECG y ^{18}F -FDG. El gráfico dinámico fue de 0 a 45 minutos. Se seleccionó paclitaxel porque produjo efectos antiproliferativos por inhibición de transportadores de glucosa (Glut-1) en estudios de líneas celulares (Rastogi y col., 2007). Además, se ha informado que el mesotelioma responde al tratamiento con paclitaxel en el modelo animal (Schulz y col., 2011).
- 25 Las imágenes cintigráficas de ratas a las que se les administró ^{68}Ga -ECG, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG y ^{18}F -FDG mostraron que los tumores se podían visualizar claramente a las 0,5 a 4 horas (**FIG. 5 a 7**). El gráfico dinámico de captación tumoral con ^{68}Ga -ECG y ^{18}F -FDG mostró un patrón de transporte similar (**FIG. 5**). El ^{68}Ga -ECG pudo monitorizar la respuesta al tratamiento con paclitaxel en las mismas ratas portadoras de mesotelioma (**FIG. 6**). Se seleccionaron aleatoriamente dos ratas que recibieron $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG (medio y lado derecho) para compararlas con la rata que recibió $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC (lado
- 30 izquierdo) bajo el mismo panel de imágenes. El tumor en el grupo de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG mostró una absorción mucho mayor que el grupo de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EC (control) al cabo de 1 y 2 horas (**FIG. 7**).

En resumen, se logró una síntesis eficiente de ECG con alto rendimiento. Tanto el ^{68}Ga -ECG como el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG se prepararon con altas purzas radioquímicas. Los estudios de biodistribución e imagen plana demostraron la

35 distribución farmacocinética y la viabilidad de usar ^{68}Ga -ECG y $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG para obtener la imagen del mesotelioma. Tanto ^{68}Ga -ECG como $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG mostraron una mayor absorción en el mesotelioma en el modelo probado, lo que indica que es factible que puedan evaluar el volumen tumoral. El ^{68}Ga -ECG y el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG pueden ser útiles para la detección, el diagnóstico, la estadificación y la evaluación de la eficacia del tratamiento con respecto a todos los tipos de cáncer.

40

Ejemplo 6: Fabricación del kit de ECG

- Se fabricó un ECG de kit único disolviendo 1,0 mg de ECG en 0,1 ml de agua. A esto, se agregaron 1 mg de ácido L-ascórbico en 0,1 ml de agua, 0,5 mg de neomicina en 0,1 ml, 0,5 mg de L-cisteína y 0,1 ml de 1 mg/ml de solución de
- 45 cloruro de estaño (II). El producto se liofilizó para un único kit de frío. El $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG efectuado usando el kit se analizó mediante cromatografía de capa fina instantánea usando solución salina como fase móvil. Los resultados indicaron la misma retención tanto para el producto del kit como para un producto de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ECG estándar (**FIG. 16**). El producto del kit y el producto estándar también se analizaron mediante HPLC usando $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ (9:1) como eluyente, a una velocidad de flujo de 0,50 ml/min (**FIG. 17 y 18**). La absorción del producto del kit y el producto estándar se analizaron
- 50 para determinar la absorción en células tumorales mamarias de ratas 13762. Se descubrió que el producto del kit tenía una absorción 5 veces mejor que el producto estándar (**FIG. 19**).

BIBLIOGRAFÍA

- 55 U.S. Publ. 2008/0107198

Alberico *et al.*, *Surg. Oncol. Clin. N Am.*, 13(1): 13-35, 2004.

Bodansky, In: *Peptide Chemistry*, 2nd Ed., Springer-Verlag, New York, 1993.

60

Grant, In: *Synthetic Peptides*, Freeman & Co., New York, 1992.

Green and Wuts, *Protective Groups in organic Synthesis*, 3rd Ed. Wiley, NY, 1999.

- 65 Henson *et al.*, *Am. J. Neuroradiol.*, 25(6):969-972, 2004.

Kundra *et al.*, *J. Nucl. Med.*, 43(3):406-412, 2002.

Rastogi *et al.*, *Cancer Lett.*, 257(2):244-251, 2007.

5 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1289-1329, 1990 Saha *et al.*, *Semin. Nucl. Med.*, 24(4):324-349, 1994.

Schulz *et al.*, *Ann. Thorac. Surg.*, 92(6):2007-2013, 2011.

10 Strunk and Schild, *Eur. Radiol.*, 14(6): 1055-1062, 2004.

Yang *et al.*, *Radiology*, 226:465-473, 2003.

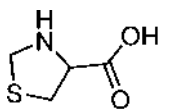
European Patent Application 13767943.7 27 June 2019

15 Applicant: Board of Regents, The University of Texas System

Our Ref: PAH-021 EP

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para preparar un conjugado de tiazolidina-azúcar que comprende mezclar un amino azúcar con un ácido tiazolidina-carboxílico, produciendo así el conjugado de tiazolidina-azúcar.
- 5 2. El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende además reducir el conjugado de tiazolidina-azúcar con un agente reductor que comprende un metal alcalino y una fuente de electrones para proporcionar así un conjugado de etilendicisteína-azúcar.
- 10 3. El procedimiento de la reivindicación 1, donde el amino azúcar es glucosamina o clorhidrato de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino- α -D-glucopiranososa.
4. El procedimiento de la reivindicación 2, que comprende además quelar un ion metálico al conjugado de etilendicisteína-azúcar para generar un conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico.
- 15 5. El procedimiento de la reivindicación 4, donde el ion metálico se selecciona de entre el grupo de iones metálicos que consiste en un ion tecnecio, un ion estañoso, un ion cobre, un ion indio, un ion talio, un ion galio, un ion arsénico, un ion renio, un ion holmio, un ion itrio, un ion samario, un ion selenio, un ion estroncio, un ion gadolinio, un ion bismuto, un ion hierro, un ion manganeso, un ion lutecio, un ion cobalto, un ion platino, un ion calcio y un ion rodio.
- 20 6. El procedimiento de la reivindicación 4, donde el ion metálico es un radionucleido seleccionado de entre el grupo que consiste en ^{99m}Tc , ^{117m}Sn , ^{177}Lu , ^{188}Re , ^{186}Re , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{89}Sr , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{111}In , ^{183}Gd , ^{59}Fe , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{211}At , ^{45}Ti , ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{67}Cu , ^{64}Cu y ^{62}Cu o un metal no radioactivo seleccionado de ^{187}Re .
- 25 7. Una composición que comprende un conjugado de etilendicisteína-azúcar o un conjugado de etilendicisteína-azúcar etiquetado con un ion metálico y neomicina.
8. La composición de la reivindicación 7, que comprende de alrededor de 0,1 mg a aproximadamente 1,0 mg de neomicina por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar.
- 30 9. La composición de la reivindicación 7, que comprende además un antioxidante.
10. Una composición que comprende el conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico y neomicina para su uso en el diagnóstico de una enfermedad o el tratamiento de una enfermedad dentro de un sujeto.
- 35 11. Un procedimiento para la obtención de imágenes de un sitio de un sujeto al que se le ha administrado un conjugado de etilendicisteína(EC)-azúcar etiquetado con un ion metálico y neomicina, donde el procedimiento comprende obtener imágenes del sitio.
- 40 12. El procedimiento de la reivindicación 1, donde el ácido tiazolidina-carboxílico es:



- 45 13. El procedimiento según la reivindicación 1, que comprende además las etapas de:
14. La composición de la reivindicación 7, donde la composición comprende además ácido ascórbico, cisteína o cloruro de estaño (II).
- 50 15. La composición de la reivindicación 14, donde la composición comprende:
(a) alrededor de 0,5 mg a 2,0 mg de ácido ascórbico por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar;
(b) alrededor de 0,1 mg a 1,0 mg de cisteína por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar; o
(c) alrededor de 0,05 mg a 0,5 mg de cloruro de estaño (II) por 1 mg de conjugado de etilendicisteína-azúcar.
- 55 16. La composición de la reivindicación 7, donde la composición se liofiliza.

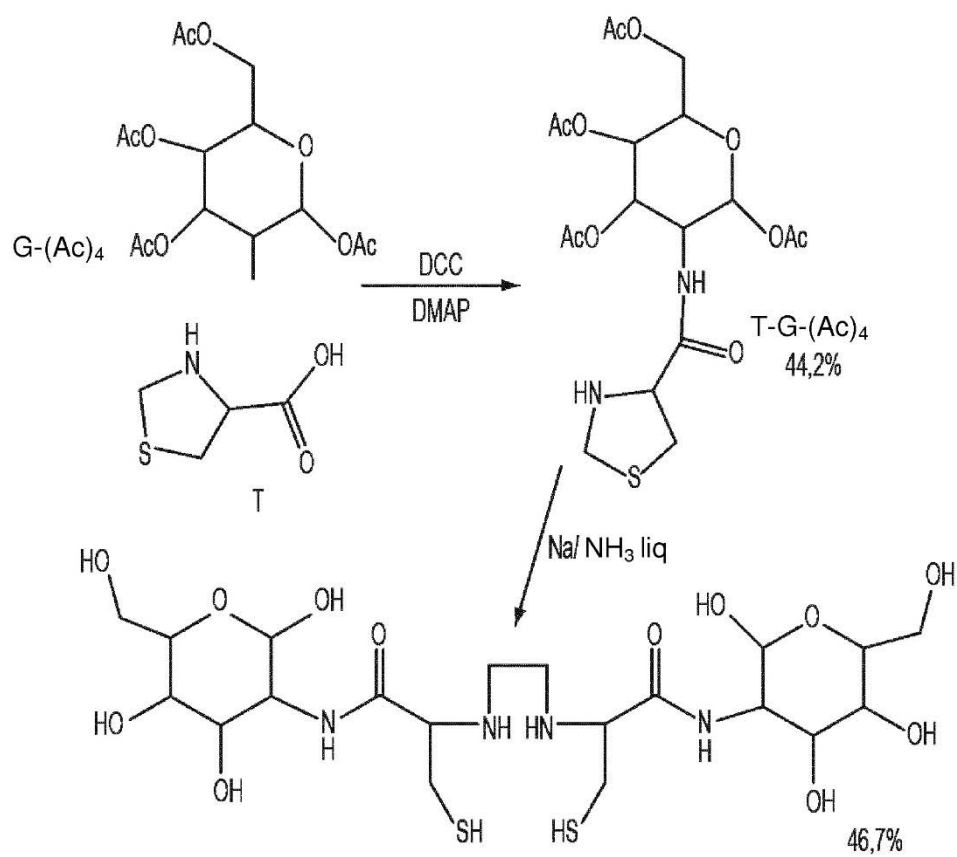


FIG. 1

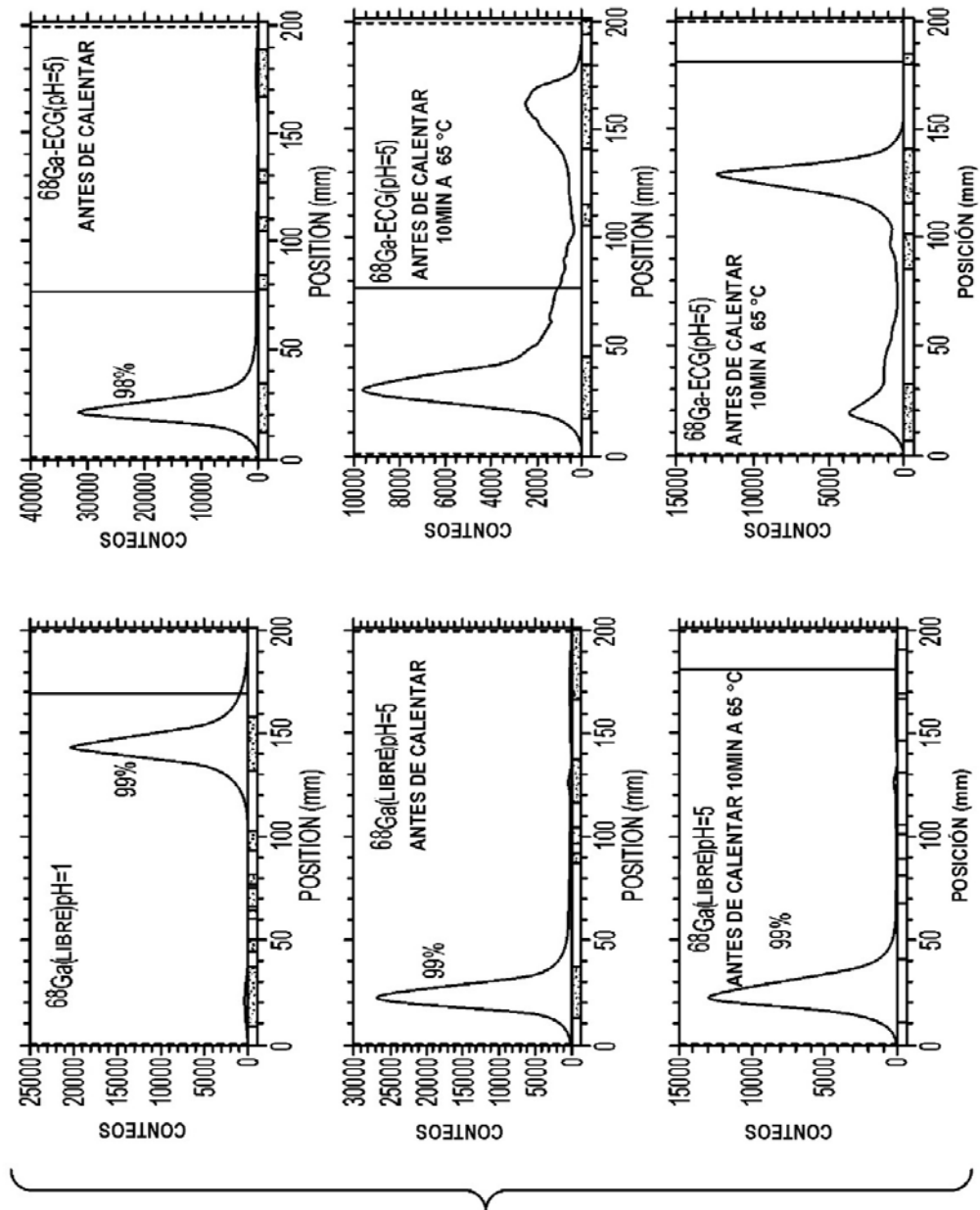


FIG. 2

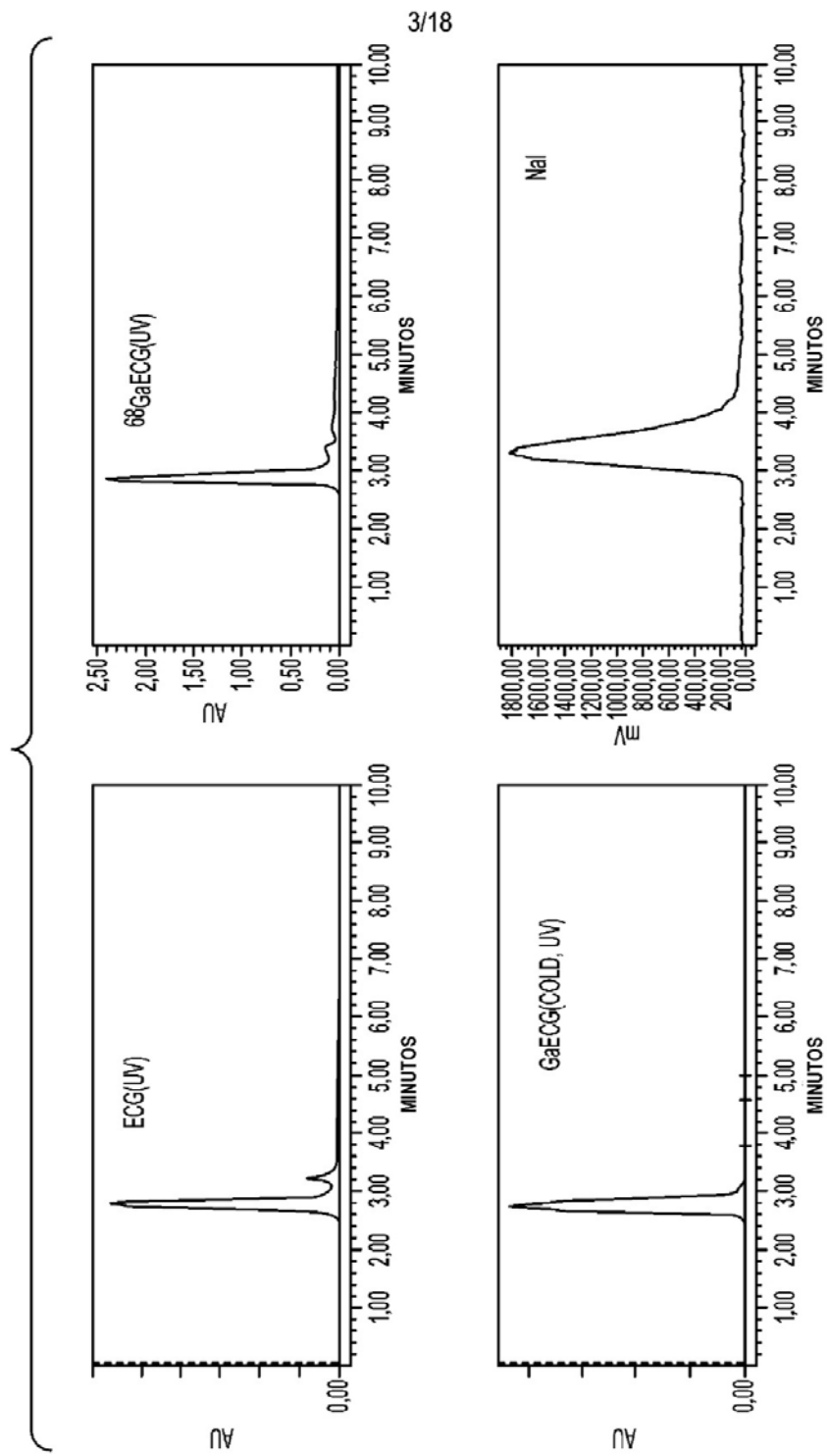


FIG. 3

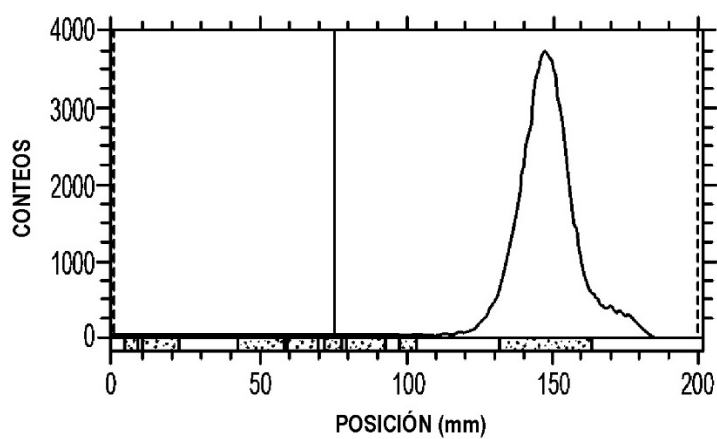


FIG. 4A

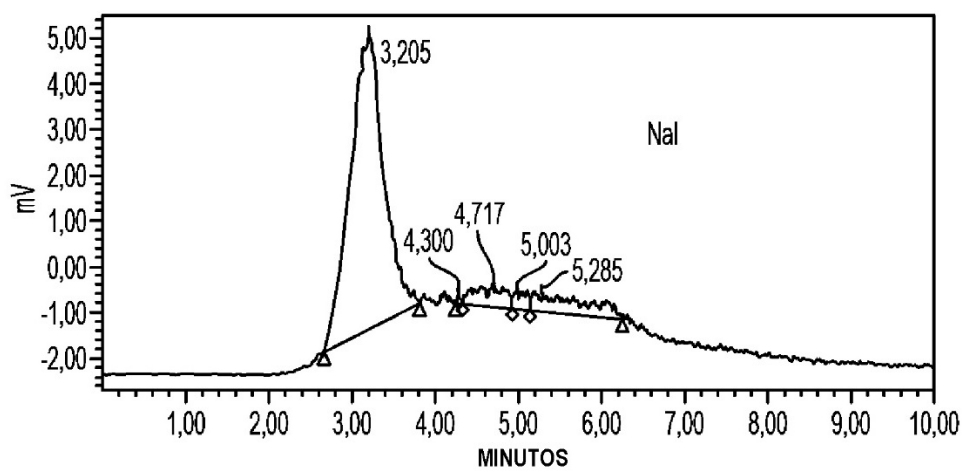


FIG. 4B

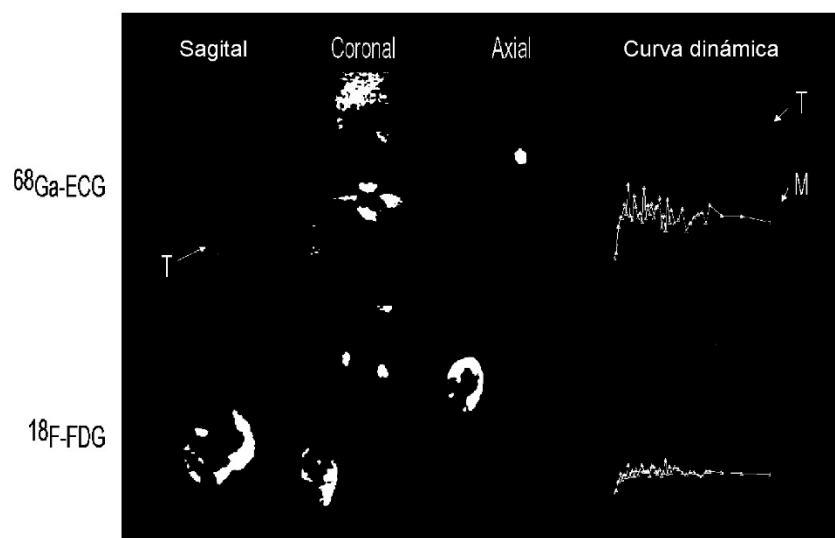


FIG. 5

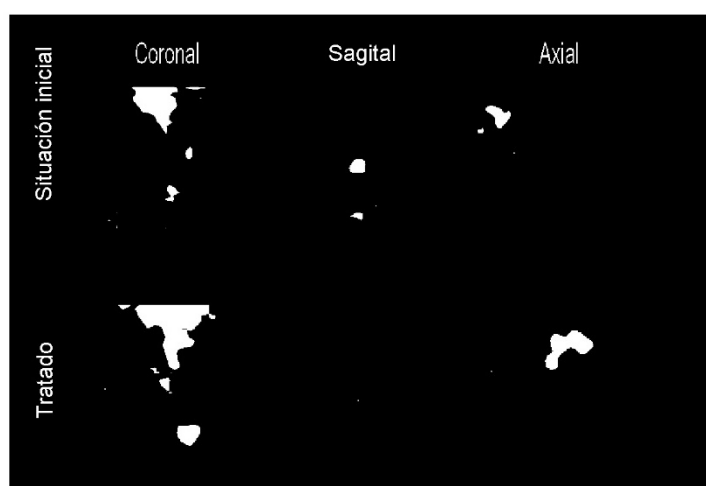


FIG. 6

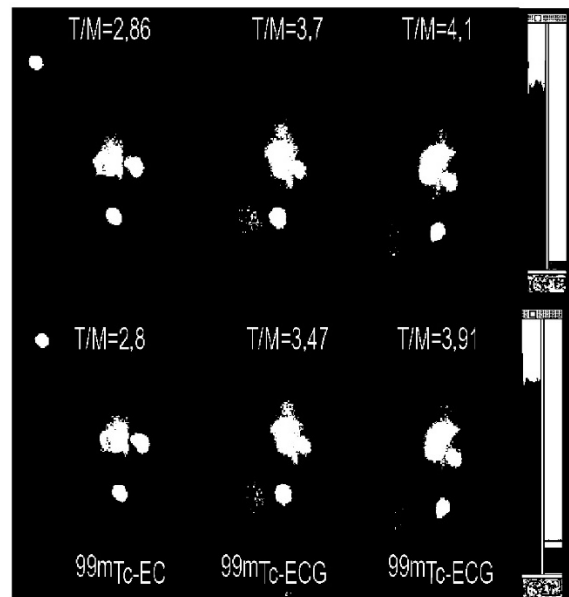
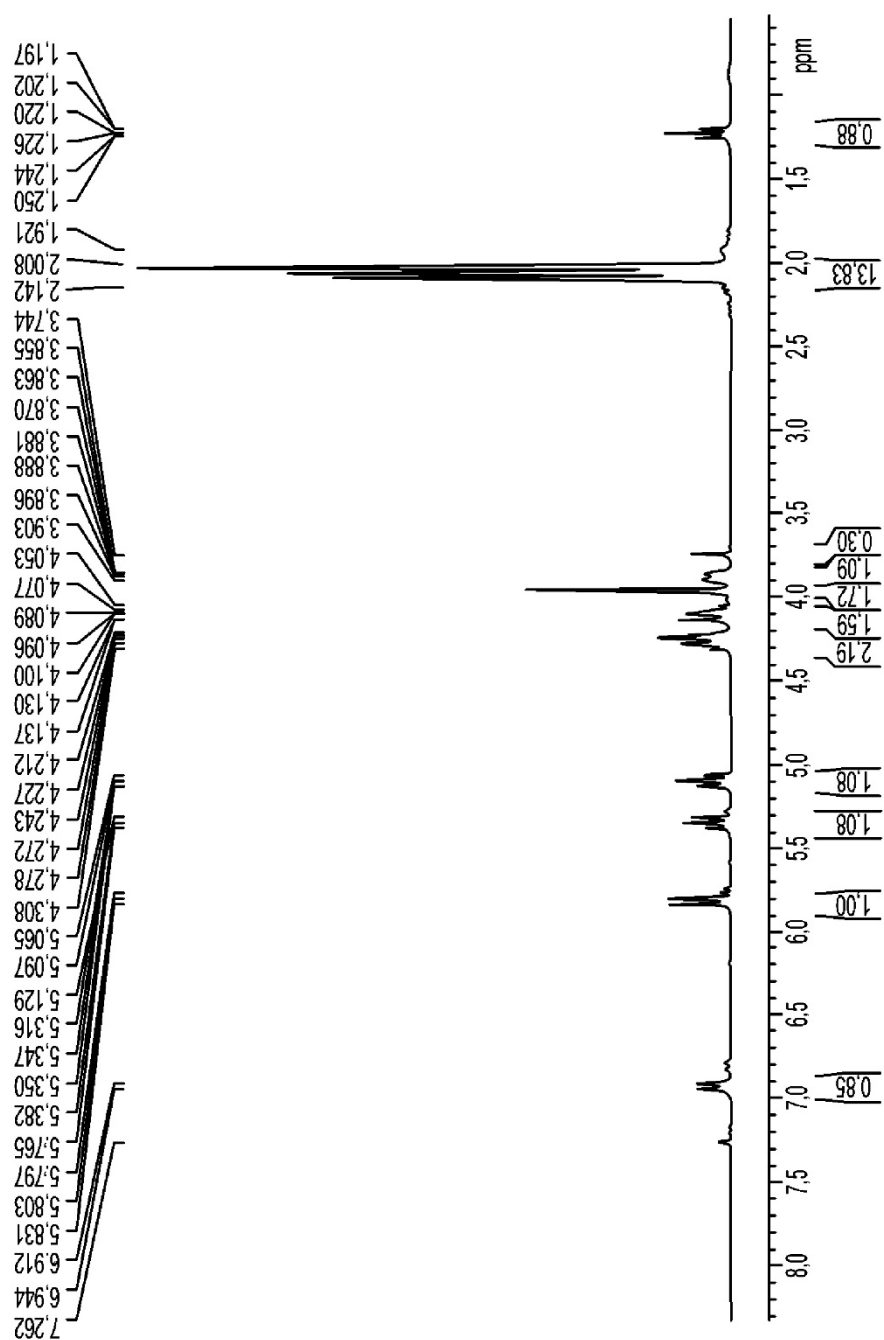
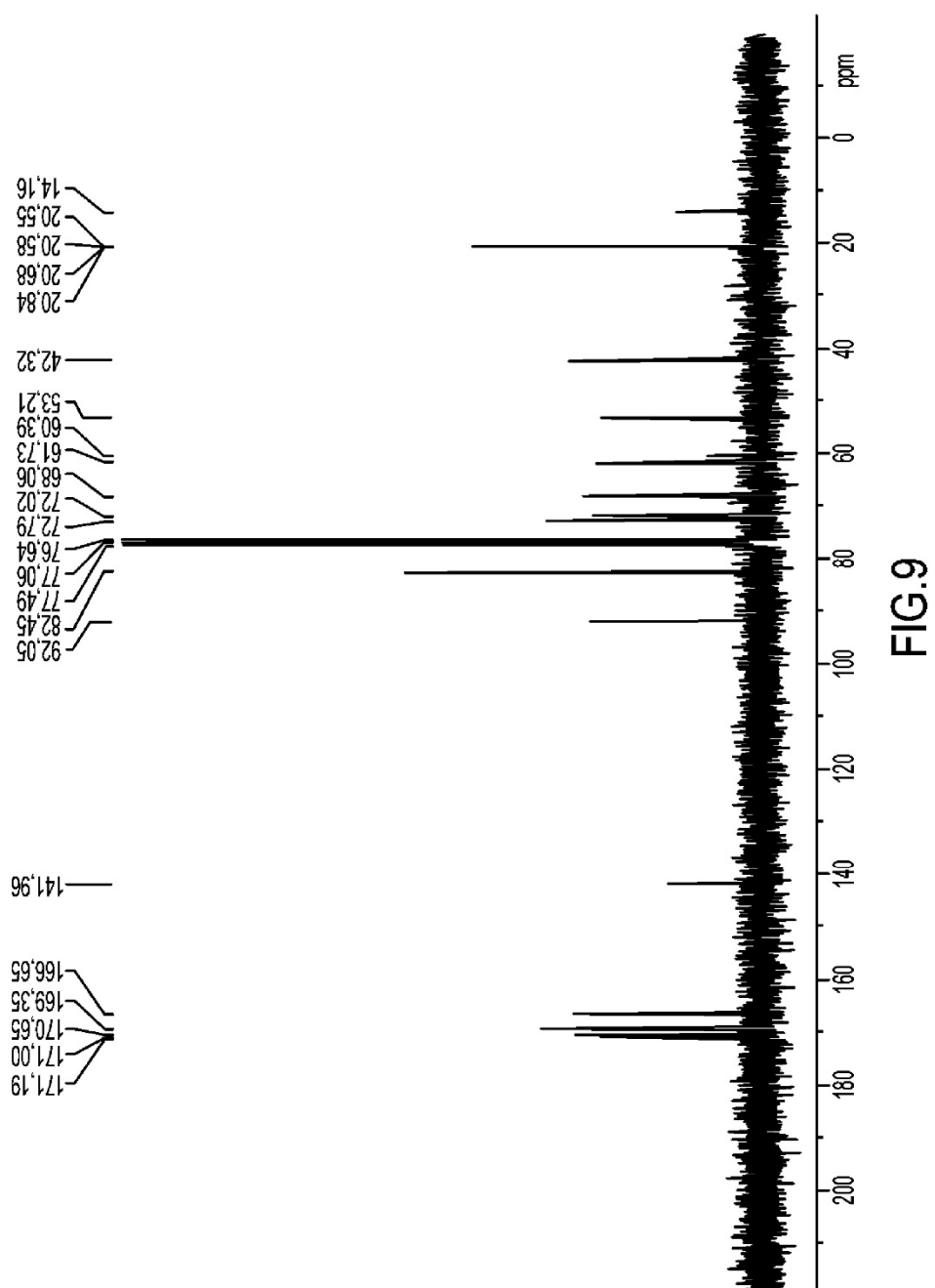


FIG. 7





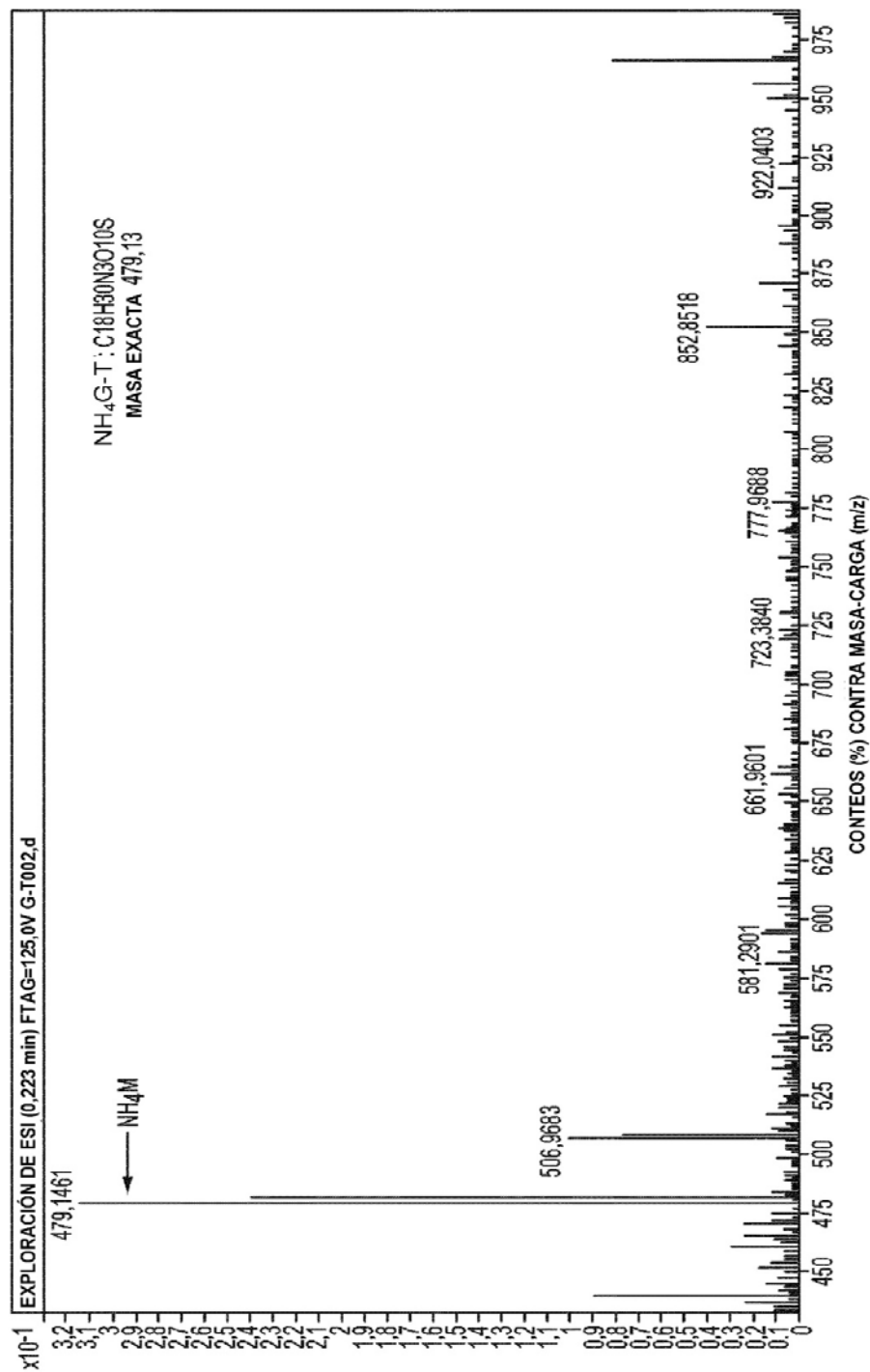
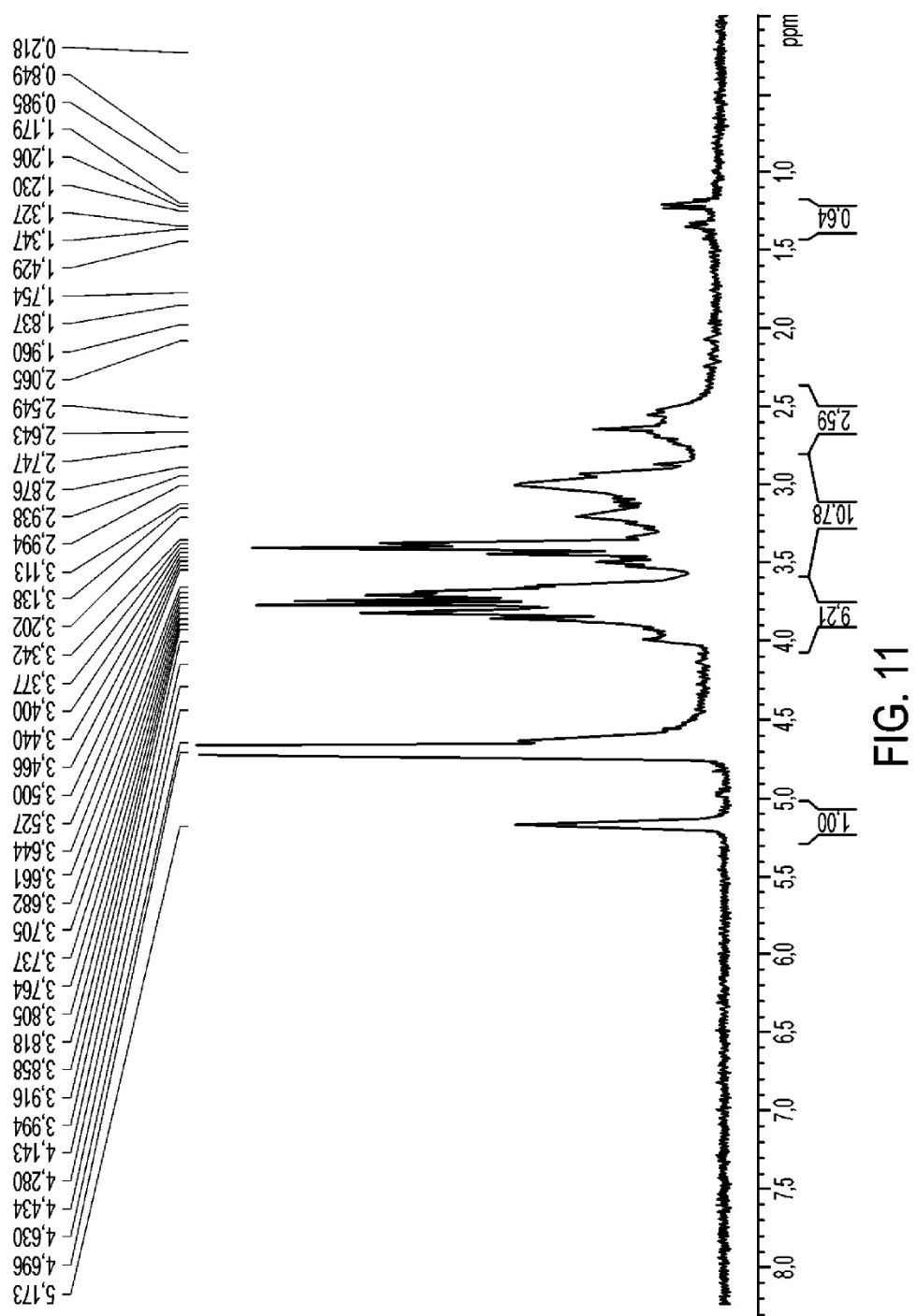
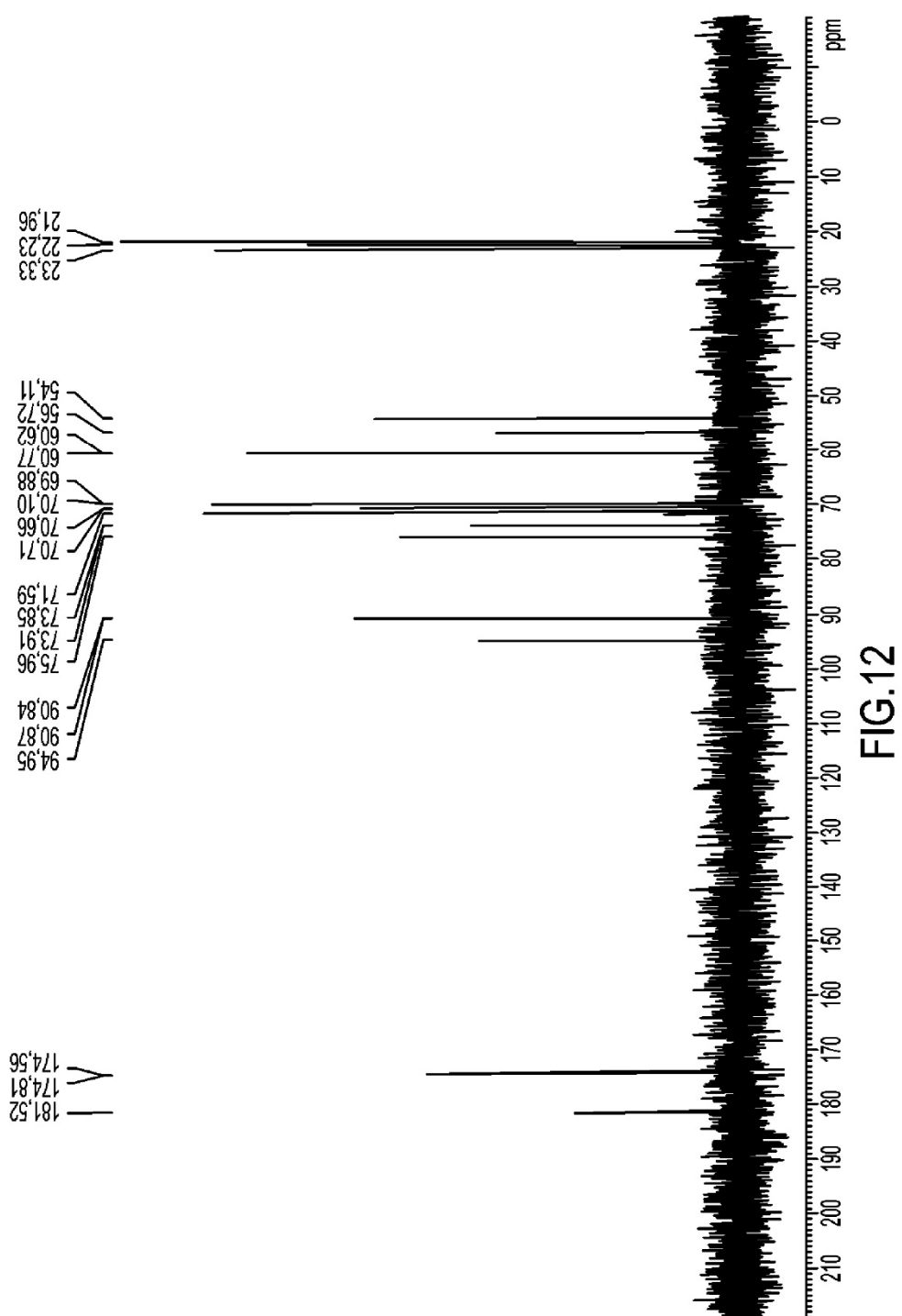


FIG. 10





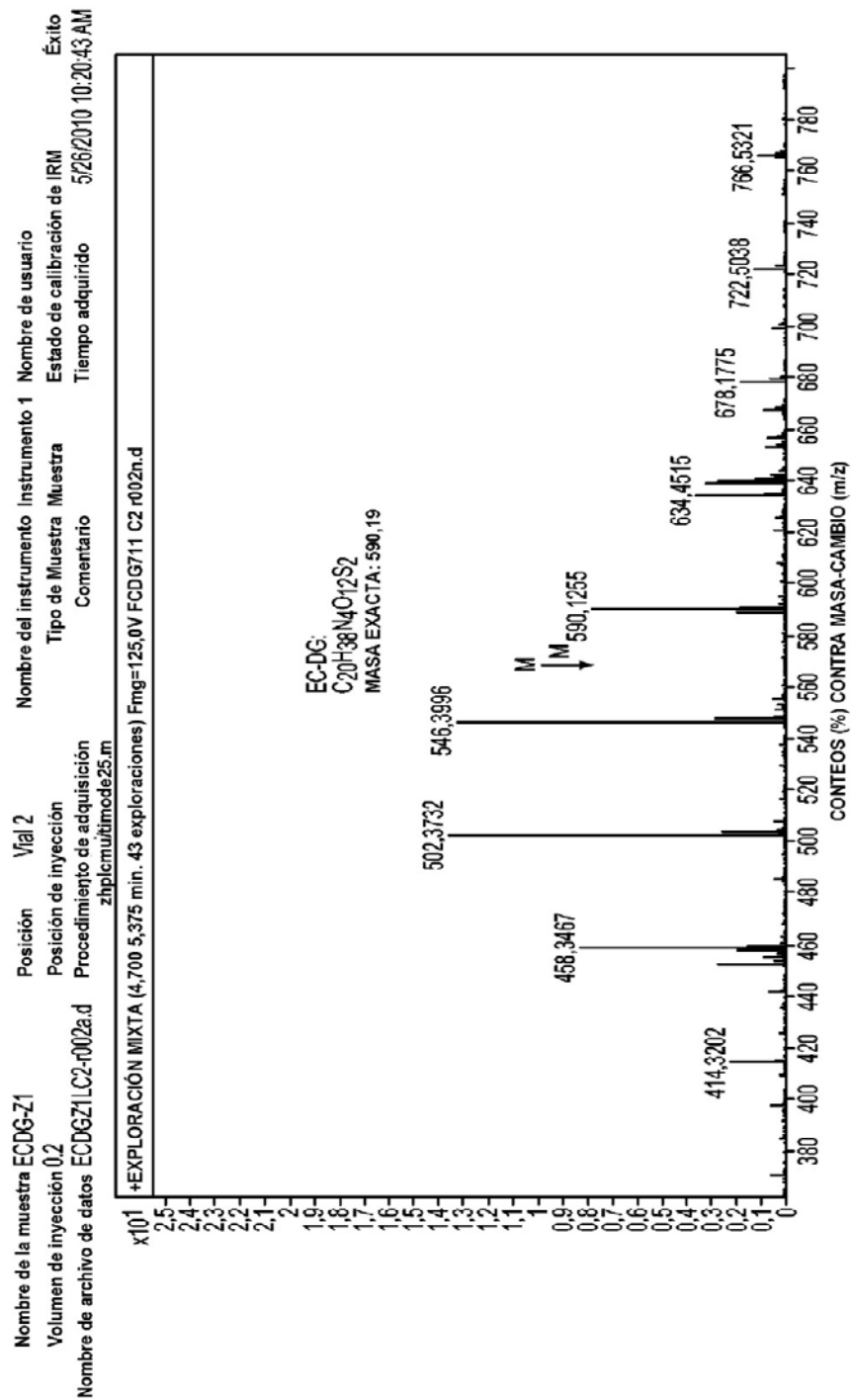


FIG. 13

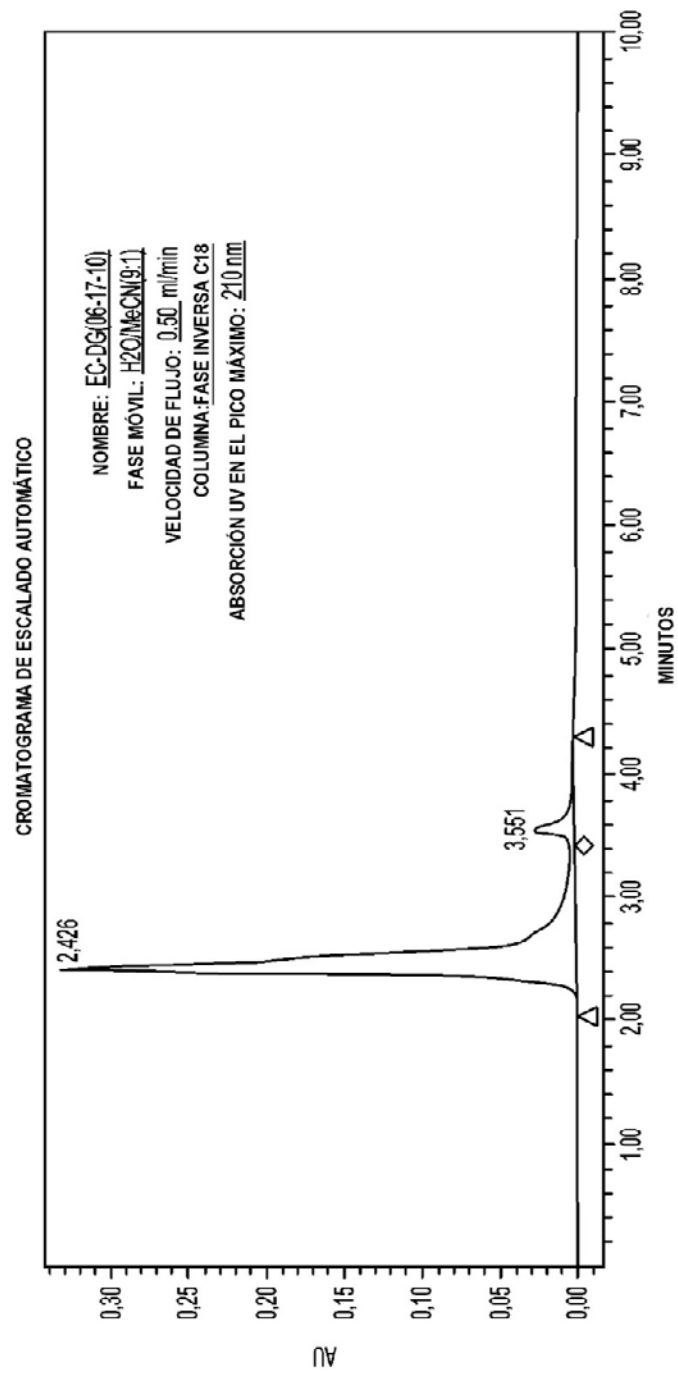


FIG. 14

REG	(mm) INICIO	(mm) DETENCIÓN	(mm) CENTROIDE	RF	CONTEOS DE REGIONES	CPM DE REGIÓN	% DEL TOTAL	% DE ROI
RGN 1	2,0	6,4	4,1	0,021	66,0	22,0	0,04	0,05
RGN 2	25,1	43,8	34,7	0,173	10784,0	3594,7	6,58	8,16
RGN 3	57,1	63,4	59,6	0,298	2033,0	677,7	1,24	1,54
RGN 4	65,1	70,5	67,4	0,337	1555,0	518,3	0,95	1,16
RGN 5	71,4	74,9	72,7	0,364	1026,0	342,0	0,63	0,78
RGN 6	77,6	81,2	78,9	0,395	1032,0	344,0	0,63	0,78
RGN 7	93,6	104,3	98,8	0,494	3858,0	1286,0	2,35	2,92
RGN 8	105,2	108,7	106,5	0,533	1425,0	475,0	0,87	1,08
RGN 9	122,1	149,7	135,2	0,676	110339,0	36779,7	67,28	83,52
9 PICOS					132118,0	44039,3	80,56	100,00

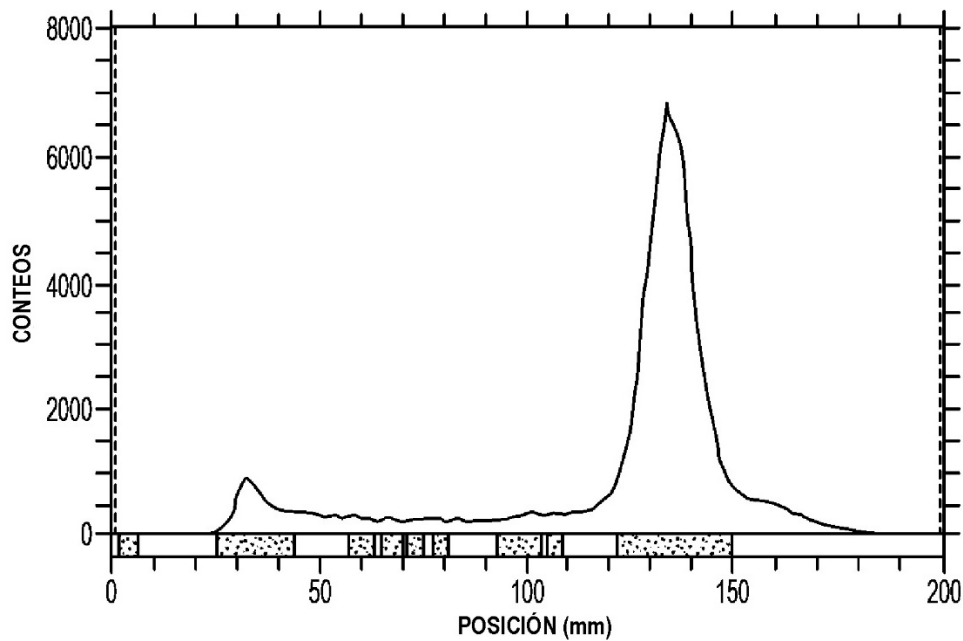


FIG. 15

99mTc-ECG(kit)

Procedimiento: QuickStart Archivo:130322-1149.R001

Comentarios

Parámetros de análisis

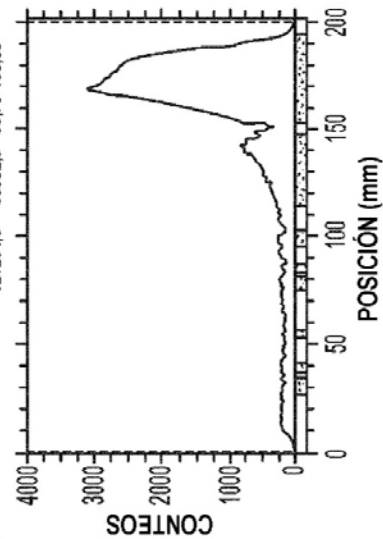
Sustractor de 5 kg: Ninguno
Normalización: 139660,0 89630,0 C PM)
Conteo total: 140137
Conteo de fondo: 140137
Conteo de archivo total: 140137

Análisis de región

Búsqueda de picos
Definición
Pendiente de pico
Ancho min
Porcentaje min

2,0 mm de conteo
2,3 mm
0,0 %

Reg	Inicio (mm)	Fin (mm)	Centroide (mm)	RF	Conteo de regiones	CPM de región	% de total	ROI
Rgn 1	26,2	32,2	29,2	0,143	180,0	730,0	1,10	1,27
Rgn 2	32,2	36,2	34,2	0,173	130,0	530,0	0,77	0,98
Rgn 3	36,2	42,2	39,2	0,199	131,0	535,0	0,84	1,06
Rgn 4	42,2	48,2	45,2	0,227	9,6	454,0	0,65	0,75
Rgn 5	48,2	54,2	51,2	0,257	197,0	969,0	1,42	1,53
Rgn 6	54,2	60,2	57,2	0,282	101,0	507,0	0,73	0,94
Rgn 7	60,2	66,2	63,2	0,307	201,0	1091,0	1,59	1,90
Rgn 8	66,2	72,2	69,2	0,332	201,0	1091,0	1,59	1,90
Rgn 9	72,2	78,2	75,2	0,357	311,0	1556,0	2,21	2,78
9 picos	153,2	196,9	175,0	0,868	121204,0	60602,0	86,79	100,00



-página 1-

99mTc-ECG

Procedimiento: QuickStart Archivo:130322-1217.R001

Comentarios

Parámetros de análisis

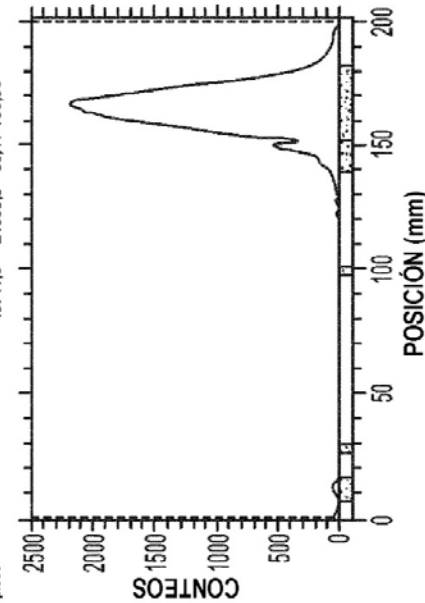
Sustractor de 5 kg: Ninguno
Normalización: 52313,0 (28458,5 CPM)
Conteo total: 52313,0
Conteo de fondo: 527,48
Conteo de archivo total: 527,48

Análisis de región

Búsqueda de picos
Definición
Pendiente de pico
Ancho min
Porcentaje min

2,0 mm de conteo
2,3 mm
0,0 %

Reg	Inicio (mm)	Fin (mm)	Centroide (mm)	RF	Conteo de regiones	CPM de región	% de total	ROI
Rgn 1	8,2	18,0	12,5	0,063	272,0	135,0	0,52	0,56
Rgn 2	36,9	31,3	38,7	0,143	67,0	33,5	0,13	0,14
Rgn 3	96,1	101,6	99,3	0,497	53,0	26,5	0,10	0,11
Rgn 4	139,0	152,3	147,3	0,736	3794,0	1897,0	7,25	7,41
Rgn 5	152,3	182,6	165,3	0,859	44523,0	22252,5	85,11	91,41
5 picos					48711,0	24355,5	93,11	100,00



-página 1-

FIG. 16

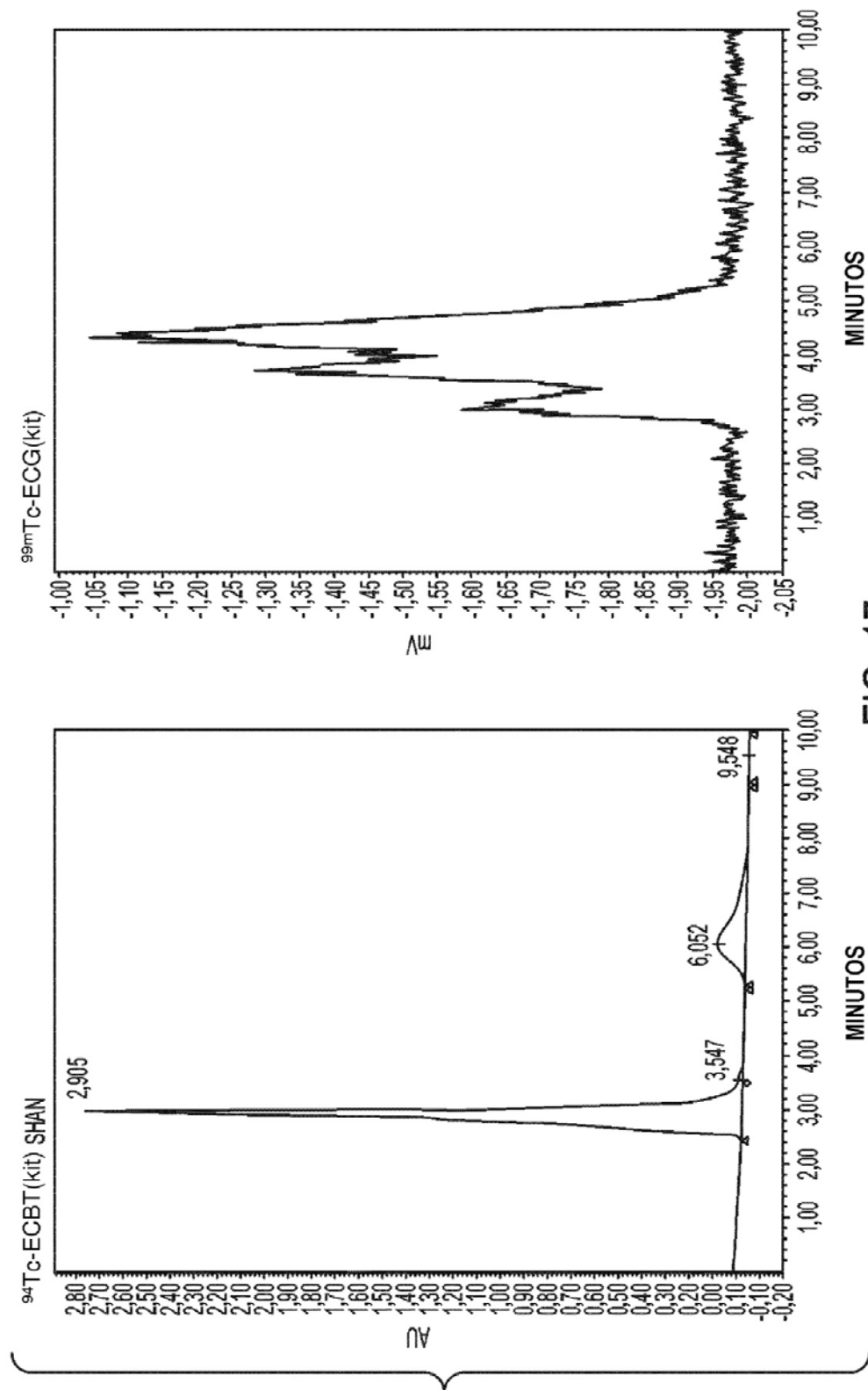


FIG. 17

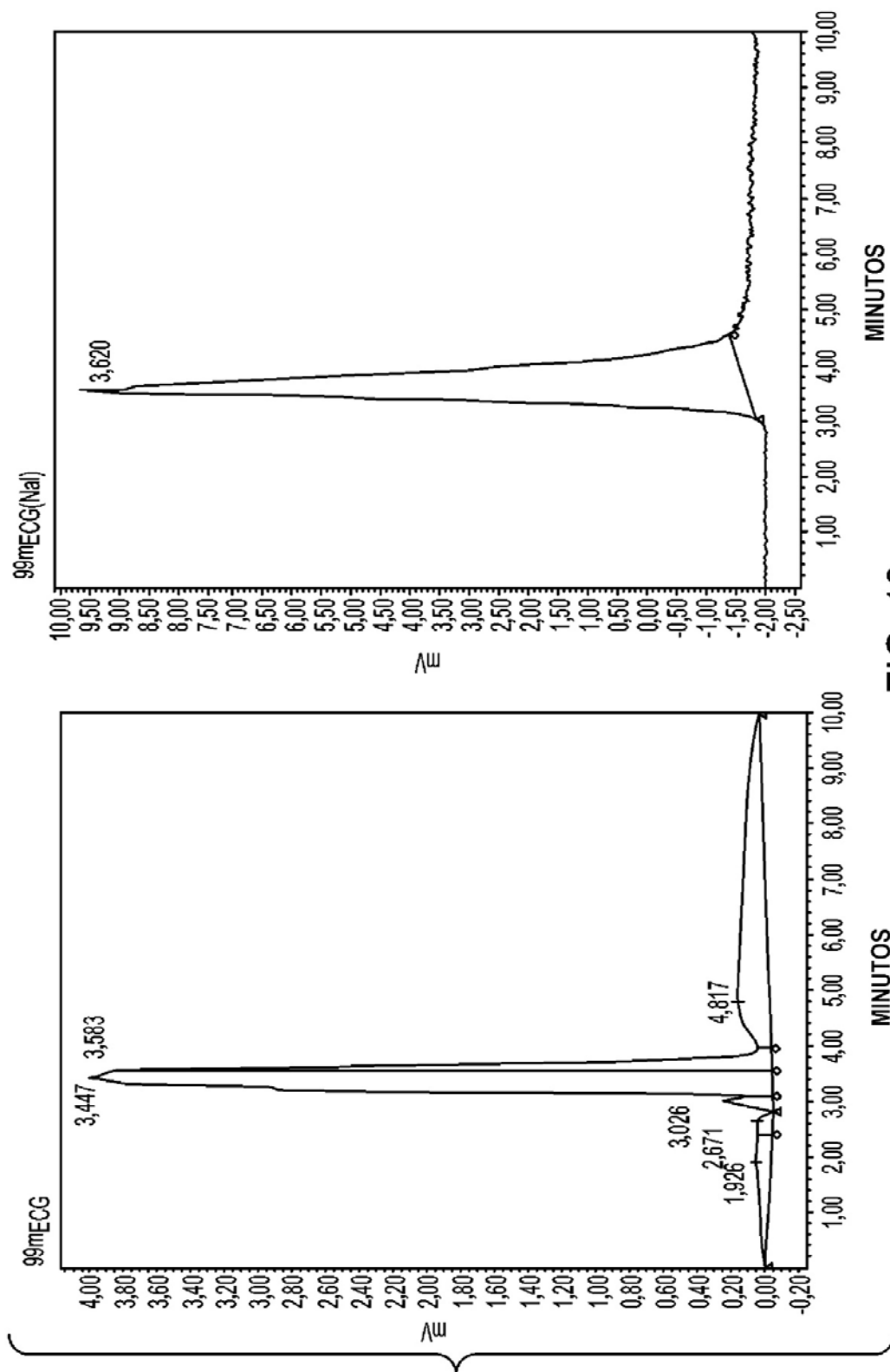


FIG. 18

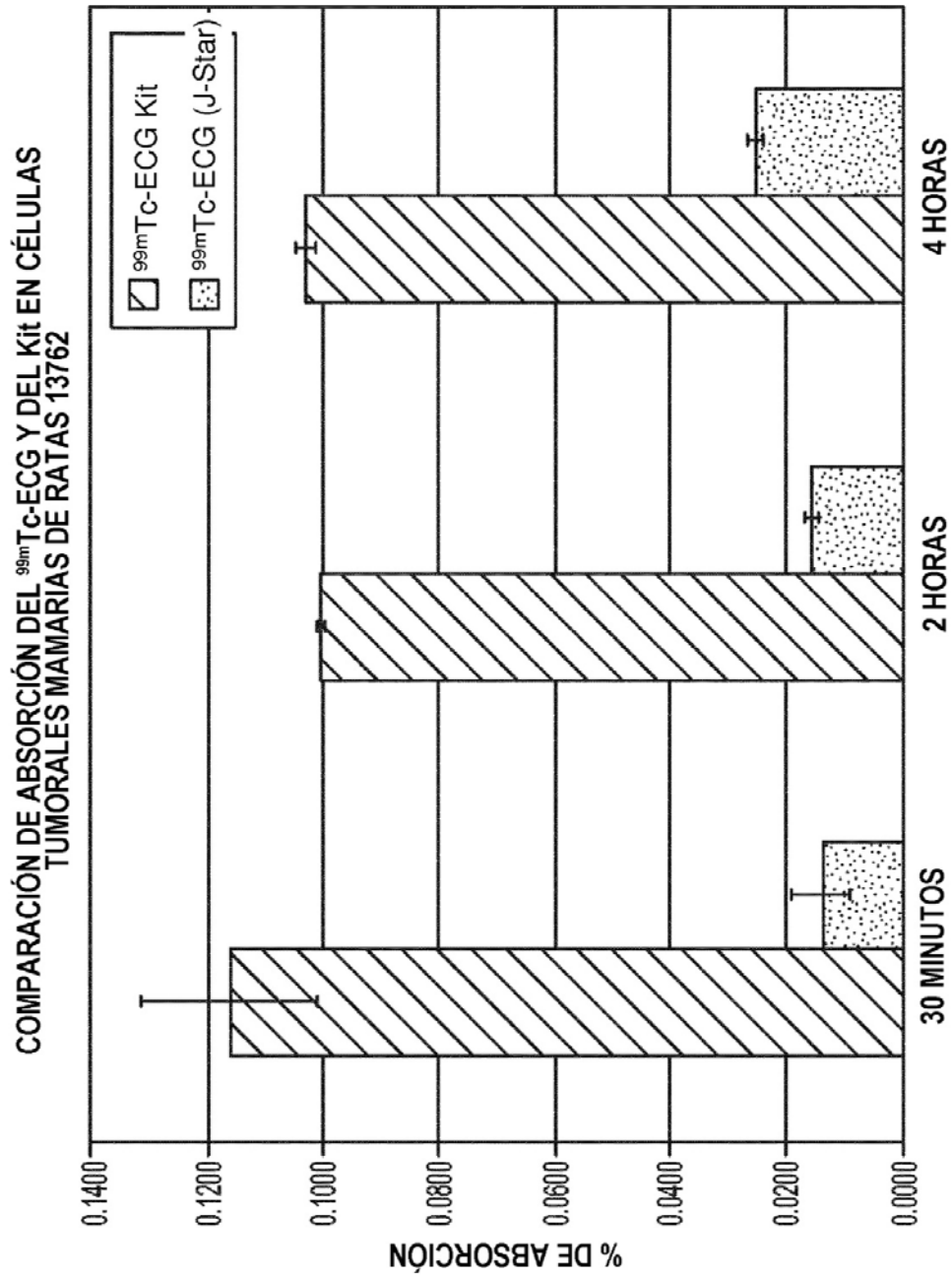


FIG. 19