

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 986 191**

51 Int. Cl.:

A61K 51/10 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.09.2018 PCT/JP2018/035786**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.04.2019 WO19065774**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2018 E 18861877 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2024 EP 3689892**

54 Título: **Fármaco radiactivo**

30 Prioridad:

26.09.2017 JP 2017185484

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

08.11.2024

73 Titular/es:

**NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION CHIBA
UNIVERSITY (100.0%)
1-33, Yayoi-cho, Inage-ku
Chiba-shi, Chiba 267-8522, JP**

72 Inventor/es:

**ARANO, YASUSHI;
UEHARA, TOMOYA y
SUZUKI, HIROYUKI**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 986 191 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

Fármaco radiactivo

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un compuesto nuevo, un fármaco radiactivo que contiene el compuesto nuevo, un fármaco para preparar el fármaco radiactivo y similares.

Antecedentes de la técnica

10 Un fármaco radiactivo tal como un anticuerpo marcado con isótopo radiactivo (RI) puede permitir que el RI se acumule de una manera selectiva de tumores en virtud de la alta especificidad y afinidad del anticuerpo. Por esta razón, dicho fármaco radiactivo se usa para terapia de radiación tal como terapia isotópica, y para diagnóstico por imagenología (Bibliografía no de Patente 1). Sin embargo, cuando se administra un fármaco radiactivo a un cuerpo vivo, se observa acumulación no específica del fármaco radiactivo en el riñón además de acumulación específica en un tejido diana. La acumulación de radiactividad en el riñón (en lo sucesivo, también denominada "acumulación en el riñón") se debe al hecho de que un péptido de bajo peso molecular marcado con RI se introduce en el riñón, y después se transporta a un lisosoma, y después de que el péptido de bajo peso molecular marcado con RI se metabolice, el metabolito radiactivo así formado permanece en el riñón.

15 A este respecto, en la Bibliografía de Patente 1, como un fármaco radiomarcado capaz de reducir la acumulación del mismo en el riñón desde una etapa temprana de administración, se han reportado un compuesto que tiene un sitio polipeptídico unido a un reactivo quelante tal como NOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético) y un fármaco radiactivo que usa el compuesto.

20 El documento JP 2015-086213 A se refiere a un agente para el diagnóstico o la terapia de enfermedades pancreáticas o tumores neuroendocrinos gastrointestinales, que tiene un compuesto quelante bifuncional de octreotida y también un compuesto complejo con un metal radiactivo estable para unirse a un receptor de somatostatina como ingrediente activo, que se obtiene introduciendo un derivado de ácido p-bencilcarboxílico en un carbono del esqueleto de EDTA, DTPA, ciclohexil DTPA, DOTA y NOTA, de manera que se introduce un ácido carboxílico independiente de una parte complejante con un metal en un derivado de octreotida mediante síntesis en fase sólida.

Lista de citas

Bibliografía de patente

Bibliografía de patente 1: WO 2017/150549 A

Bibliografía no de patente

30 Bibliografía no de patente 1: Molecular Oncology 8: 799-812, 2014

Sumario de la invención

35 Según el fármaco radiactivo de la Bibliografía de Patente 1, se puede usar un isótopo radiactivo tal como galio-67 o tecnecio-99m. Sin embargo, hasta ahora no se ha desarrollado ningún fármaco marcador que pueda aplicarse a lutecio-177 e itrio-90 que se usan generalmente como isótopos radiactivos para fines terapéuticos, y a una variedad de átomos que incluyen un átomo que tiene un radio atómico relativamente grande tal como indio-111, que es un fármaco complementario del lutecio-177 e itrio-90.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un compuesto y similares que pueden proporcionar un fármaco radiactivo capaz de marcarse con una variedad de átomos, incluyendo un átomo que tiene un radio atómico relativamente grande y capaz de reducir la acumulación del mismo en el riñón.

40 La presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

Según la presente invención, se puede proporcionar un compuesto y similares que pueden dar un fármaco radiactivo capaz de marcarse con una variedad de átomos, incluyendo un átomo que tiene un radio atómico relativamente grande y capaz de reducir la acumulación del mismo en el riñón.

Breve descripción de los dibujos

45 La Fig. 1 muestra los resultados experimentales de la incubación de ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK(Boc) con BBMV.

La Fig. 2 muestra los resultados experimentales de la incubación de una solución de ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK(Boc) con BBMV.

La Fig. 3 muestra los resultados experimentales de la incubación de $^{111}\text{In-DO3A-Bn-SCN-MVK(Bzo)}$ con BBMV .

La Fig. 4 muestra los resultados experimentales de la incubación de $^{111}\text{In-DO3A-Bn-CO-FGK(Boc)}$ con BBMV .

La Fig. 5 muestra los resultados experimentales de la incubación de $^{111}\text{In-CDO3AiBu-FGK(Boc)}$ con BBMV .

5 La Fig. 6 muestra comparaciones entre los resultados de $^{111}\text{In-CDO3AET-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo) y $^{111}\text{In-DO3A-EDA-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo).

La Fig. 7 muestra comparaciones entre los resultados de $^{111}\text{In-CDO3AiBu-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit), $^{111}\text{In-DOTA-Bn-SCN-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit), y $^{111}\text{In-CDO3AET-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit).

10 La Fig. 8 muestra los resultados del análisis de la forma química con la radiactividad en la orina excretada en el tiempo después del lapso de 24 horas desde la administración de $^{111}\text{In-CDO3AET-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo) a un ratón.

La Fig. 9 muestra los resultados del análisis de la forma química con la radiactividad en la orina excretada en el tiempo después del lapso de 6 horas desde la administración de $^{111}\text{In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit) a un ratón.

15 La Fig. 10 muestra los resultados del análisis de la forma química con la radiactividad en la orina excretada en el tiempo después del lapso de 24 horas desde la administración de $^{111}\text{In-CDO3AET-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo) a un ratón.

La Fig. 11 muestra los resultados del análisis de la forma química con la radiactividad en la orina excretada en el tiempo después del lapso de 24 horas desde la administración de $^{111}\text{In-CDO3AiBu-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo) a un ratón.

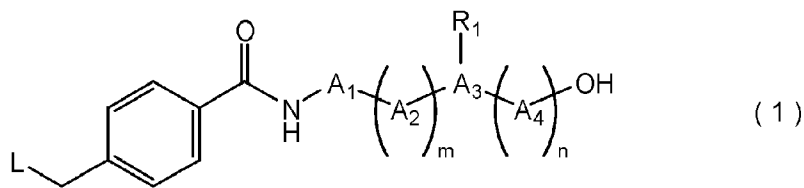
20 La Fig. 12 muestra imágenes de tomografía computarizada de emisión de fotón único/tomografía computarizada (SPECT/CT) después del lapso de 2,5 horas desde la administración de una solución de $^{111}\text{In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit) y una solución de $^{111}\text{In-CDO3AET-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit) a ratones modelo de tumor subcutáneo SY, respectivamente.

Descripción de las realizaciones

25 Compuesto y similares

<Compuesto (1) o similares>

El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la presente invención (en lo sucesivo, también denominado simplemente "compuesto (1) o similar") se representa mediante la siguiente fórmula (1):



30 en donde

A_1 y A_2 representan cada uno independientemente un residuo de aminoácido seleccionado de fenilalanina, metionina, valina, leucina, isoleucina, prolina, tirosina, glicina, alanina y triptófano,

m es un número entero de 0 a 3,

35 A_3 representa un residuo de aminoácido que tiene un grupo amino o un grupo carboxi en una cadena lateral del mismo,

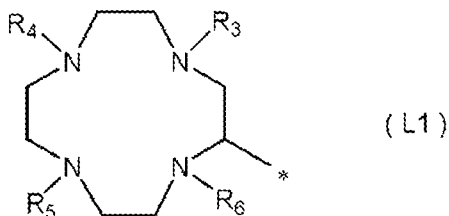
A_4 representa un residuo de aminoácido,

n es un número entero de 0 a 3,

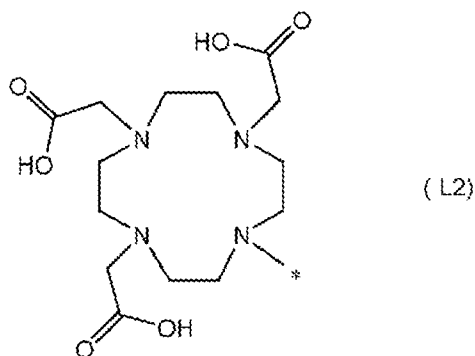
40 R_1 representa un grupo que se une al grupo amino o al grupo carboxi en la cadena lateral de A_3 y que tiene un grupo funcional capaz de unirse a un elemento de reconocimiento de la molécula diana que es un polipéptido o un grupo de unión del mismo, que es al menos un tipo de grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en un grupo carboxi o un éster activo del mismo, seleccionándose el éster activo de un grupo cloroacetilo, un grupo bromoacetilo y un grupo yodoacetilo; un grupo que tiene un enlace $\text{C}=\text{C}$ seleccionado de un grupo maleimida y un grupo acrilóilo; un grupo carbamoílo, un grupo isotiocianato y un grupo amino, o un átomo de hidrógeno del grupo amino o el grupo

carboxi en la cadena lateral de A₃, siempre que R₁ pueda formar un grupo heterocíclico que tiene de 3 a 10 átomos de carbono que incluye un átomo de nitrógeno del grupo amino en la cadena lateral de A₃ como átomo que constituye el anillo, y

L representa un grupo representado por la fórmula (L1):



en donde R₃, R₄, R₅, y R₆ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo -CH₂COOR₁₀ o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, R₁₀ representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, y el símbolo * representa un sitio de unión, siempre que al menos tres de R₃, R₄, R₅, y R₆ representen cada uno un grupo -CH₂COOH, o la fórmula (L2):



en donde el símbolo * representa un sitio de unión.

Según la presente invención, se puede proporcionar un compuesto y similares que pueden dar un fármaco radiactivo capaz de marcarse con indio-111 y capaz de reducir la acumulación del mismo en el riñón. Además, dado que el fármaco radiactivo según la presente invención tiene un elemento de reconocimiento de molécula diana, el fármaco radiactivo puede unirse específicamente al sitio diana y, por lo tanto, acumularse eficazmente en el sitio diana. Debido a que tiene tal naturaleza, el fármaco radiactivo según la presente invención se acumula específicamente en un sitio tumoral en la terapia de radiación, y puede mejorar el diagnóstico por imagenología radiológica en sensibilidad y precisión.

La razón por la que se pueden obtener los efectos de la presente invención no está clara, pero se considera como sigue.

Si un fármaco radiactivo administrado se libera eficazmente como metabolitos radiactivos que pueden excretarse en la orina cuando el fármaco se introduce en las células renales, se puede considerar que se puede reducir la acumulación de radiactividad en el riñón. Por esta razón, se introduce una secuencia de sustrato de una enzima de membrana de borde en cepillo renal entre un polipéptido y un sitio de ligando de quelato de modo que el sitio de ligando de quelato que incluye el elemento de radiomarcaje puede liberarse eficazmente cuando se introduce un fármaco radiactivo en células renales. Al hacerlo, antes de ser tomados en las células renales, el polipéptido y el sitio del ligando quelante se liberan uno de otro y, por lo tanto, se supone que se evita que una sustancia radiactiva se tome en el riñón, y la acumulación de la sustancia radiactiva en el riñón puede reducirse desde una etapa temprana de la administración.

Con el fin de permitir el marcaje con indio-111, se ha examinado la introducción de un grupo representado por la fórmula (L1) o (L2) como un sitio de ligando de quelato. En este caso, por ejemplo, como en el compuesto descrito en la Bibliografía de Patente 1, también se ha considerado la introducción de una estructura de tiourea como una estructura que conecta un sitio de agente químico quelante y un sitio de polipéptido. Sin embargo, en un caso en el que se usa un compuesto que tiene un grupo representado por la fórmula (L1) o (L2) como agente químico quelante, se ha hecho evidente a partir de los experimentos de los inventores que cuando se introduce un grupo de unión que tiene la estructura de tiourea, la degradación por una enzima de membrana de borde en cepillo renal no procede. Por otra parte, se ha hecho evidente que introduciendo un grupo de unión que tiene una estructura específica como en el compuesto representado por la fórmula (1), procede la degradación por una enzima de membrana de borde en cepillo renal, y puede reducirse la acumulación de radiactividad en el riñón.

En cuanto al compuesto (1) o similar según la presente invención, en la fórmula (1), desde el punto de vista de reducir la acumulación en el riñón desde una etapa temprana de la administración, una secuencia de aminoácidos de A₁ a A₄ (con una secuencia de aminoácidos de A₁ a A₃ en el caso de n = 0) es preferiblemente la misma como parte de una secuencia de sustrato de una enzima de membrana de borde de cepillo renal.

5 Desde el punto de vista de reducir la acumulación en el riñón desde una etapa temprana de la administración, A₁ es un residuo de fenilalanina, metionina, valina, leucina, isoleucina, prolina, tirosina, glicina, alanina o triptófano, y preferiblemente un residuo de fenilalanina, glicina, alanina o metionina, y desde el punto de vista de hacer más notable el efecto de reducir la acumulación en el riñón desde una etapa temprana de la administración, A₁ es además preferiblemente un residuo de fenilalanina.

10 Desde el punto de vista de reducir la acumulación en el riñón desde una etapa temprana de la administración, A₂ es un residuo de glicina, fenilalanina, metionina, valina, leucina, isoleucina, prolina, tirosina, alanina o triptófano, y preferiblemente un residuo de glicina, fenilalanina, alanina, valina o isoleucina, y desde el punto de vista de hacer más notable el efecto de reducir la acumulación en el riñón desde una etapa temprana de la administración, A₂ es además preferiblemente un residuo de glicina.

15 A este respecto, m es un número entero de 0 a 3, y preferiblemente 1.

Desde el punto de vista de introducir un grupo funcional capaz de unirse a un polipéptido o un grupo de unión del mismo a una cadena lateral de una secuencia de aminoácidos, A₃ es un residuo de aminoácido que tiene un grupo amino o un grupo carboxi en la cadena lateral, preferiblemente un residuo de lisina, ornitina, arginina, ácido aspártico o ácido glutámico, más preferiblemente un residuo de lisina, ornitina o arginina, y además preferiblemente un residuo de lisina.

20 A este respecto, como A₄, se puede incluir otro residuo de aminoácido. Como A₄, se usa cualquier aminoácido.

n es un número entero de 0 a 3, y preferiblemente 0.

R₁ es un grupo que tiene un grupo funcional capaz de unirse a un elemento de reconocimiento de la molécula diana o un grupo de unión del mismo, o es un átomo de hidrógeno de un grupo amino o un grupo carboxi en una cadena lateral de A₂ y se une a un grupo amino o un grupo carboxi en una cadena lateral de A₃. Mientras tanto, R₁ puede formar un grupo heterocíclico que tiene de 3 a 10 átomos de carbono que incluye un átomo de nitrógeno del grupo amino en la cadena lateral de A₃ como un átomo que constituye el anillo.

R₁ funciona como un espaciador, y puede unir un elemento de reconocimiento de la molécula diana, que es un polipéptido, al compuesto de la presente invención a través de un grupo funcional. Mediante la unión al grupo amino o al grupo carboxi en la cadena lateral de A₃, R₁ puede unir el compuesto de la presente invención a un polipéptido sin modificar químicamente el extremo de la secuencia de aminoácidos.

R₁ puede unirse al átomo de nitrógeno del grupo amino en la cadena lateral, o puede formar un enlace éster al grupo carboxi en la cadena lateral.

El grupo funcional de R₁, que es capaz de unirse a un elemento de reconocimiento de la molécula diana o un grupo de unión del mismo, es un grupo funcional (en lo sucesivo, también denominado "grupo funcional a") seleccionado de un grupo carboxi o un éster activo del mismo; un grupo que tiene un enlace C=C seleccionado de un grupo maleimida y un grupo acrilóilo; y al menos un tipo de grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en un grupo carbamoilo, un grupo isotiocianato y un grupo amino. El éster activo de un grupo carboxi se selecciona de un grupo cloroacetilo, un grupo bromoacetilo y un grupo yodoacetilo. Entre ellos, como grupo funcional a, se prefiere un grupo que tenga un enlace C=C o un grupo carbamoilo.

El número total de átomos de carbono de R₁ no está particularmente limitado, y es, por ejemplo, preferiblemente 1 o más, más preferiblemente 2 o más, y además preferiblemente 3 o más, y, además, es preferiblemente 20 o menos, más preferiblemente 10 o menos, y además preferiblemente 8 o menos.

Los ejemplos del R₁ incluyen un grupo acilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional a, un grupo alquilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional a, un grupo alquilcarbamoilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional a, y un grupo alquiltiocarbamoilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional a.

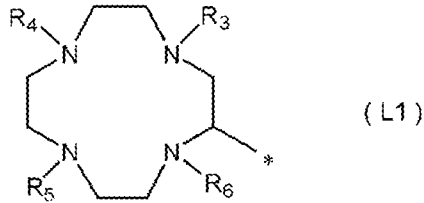
En un caso en el que R₁ forma un grupo heterocíclico, el grupo heterocíclico es preferiblemente un grupo maleimida.

En un caso en el que R₁ forma un grupo heterocíclico, el número de átomos de carbono del grupo heterocíclico es preferiblemente de 3 a 10, más preferiblemente de 3 a 5, y además preferiblemente 4 o 5.

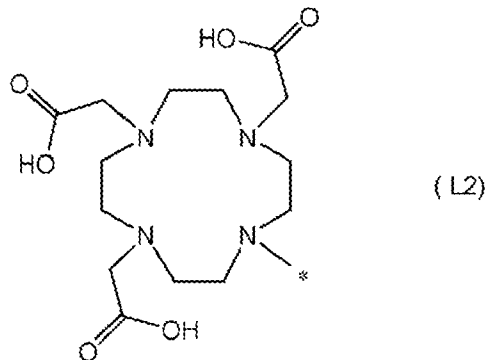
R₁ puede ser también un átomo de hidrógeno del grupo amino o del grupo carboxi en la cadena lateral de A₃. Es decir, el grupo amino o el grupo carboxi de A₃ puede ser un grupo que no está modificado.

En particular, R₁ es preferiblemente un grupo heterocíclico que tiene de 3 a 10 átomos de carbono que incluye un átomo de nitrógeno del grupo amino en la cadena lateral de A₃ como un átomo que constituye el anillo, y más preferiblemente un grupo maleimida que incluye un átomo de nitrógeno del grupo amino en la cadena lateral de A₃ como un átomo que constituye el anillo.

5 L representa un grupo representado por la fórmula (L1):



o un grupo representado por la fórmula (L2):



10 Con respecto al grupo representado por la fórmula (L1), preferiblemente tres o más y cuatro o menos de R₃, R₄, R₅, y R₆ representan cada uno un grupo -CH₂COOH, y más preferiblemente tres de R₃, R₄, R₅, y R₆ representan cada uno un grupo -CH₂COOH.

Como el grupo -CH₂COOR₁₀, R₁₀ representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono.

15 Entre R₃, R₄, R₅, y R₆, un grupo distinto del grupo -CH₂COOH es preferiblemente un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, y más preferiblemente un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

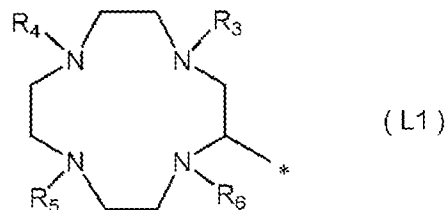
Desde el punto de vista de reducir la acumulación en el riñón, al menos un grupo de R₃, R₄, R₅, y R₆ es preferiblemente un grupo hidrocarbonado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono, y más preferiblemente un grupo hidrocarbonado que tiene de 4 a 6 átomos de carbono.

20 El grupo hidrocarbonado es preferiblemente un grupo hidrocarbonado alifático, y más preferiblemente un grupo hidrocarbonado alifático ramificado.

Los ejemplos del grupo hidrocarbonado incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo sec-butilo y un grupo isobutilo.

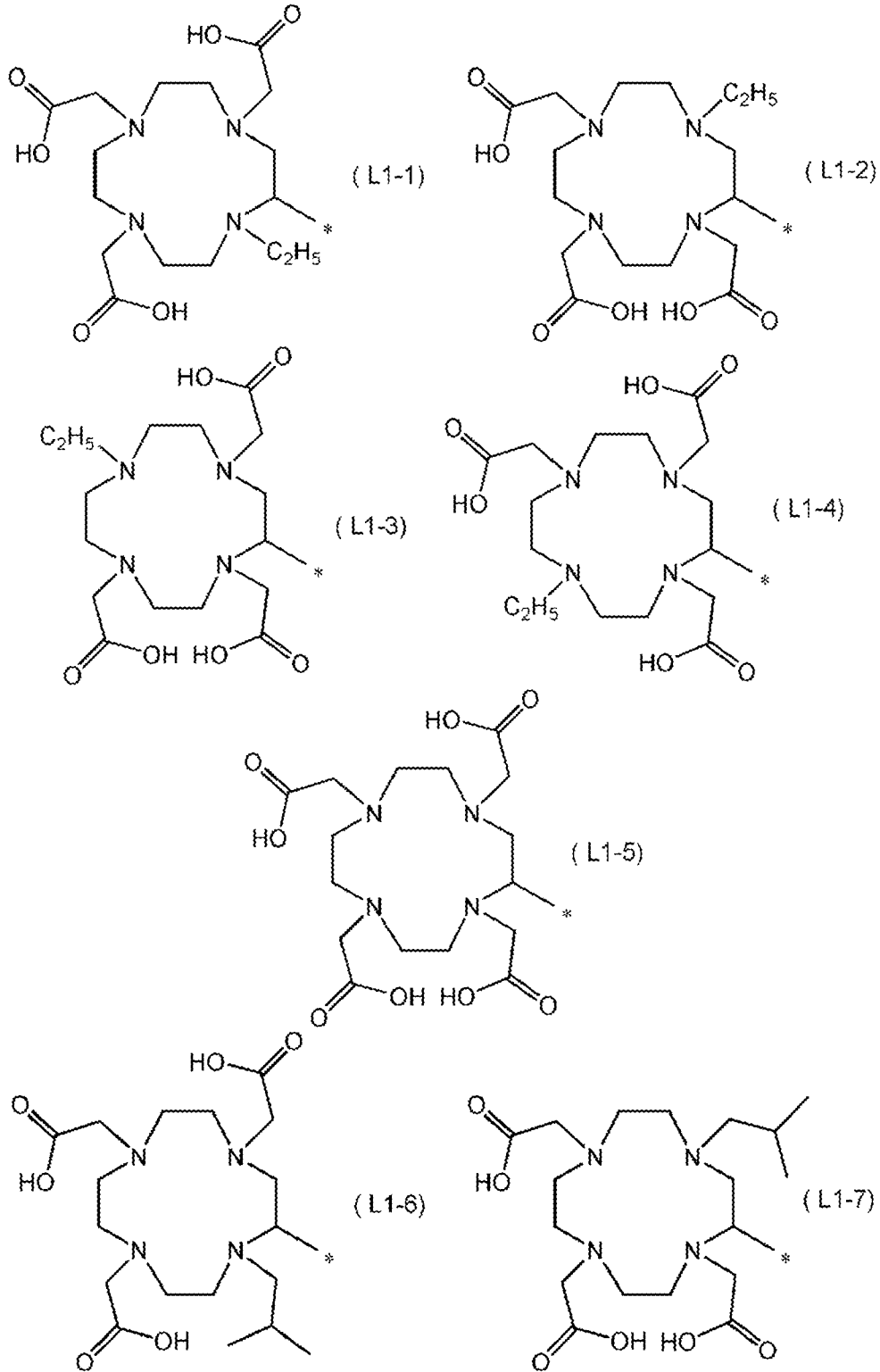
25 Entre ellos, desde el punto de vista de reducir la acumulación en el riñón, como el grupo hidrocarbonado, se prefiere un grupo etilo, un grupo n-butilo, un grupo sec-butilo o un grupo isobutilo, se prefiere más un grupo n-butilo, un grupo sec-butilo o un grupo isobutilo y se prefiere además un grupo isobutilo.

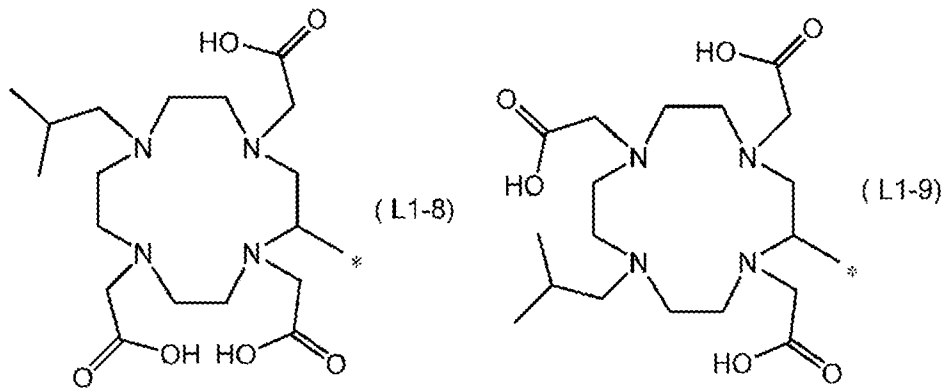
Entre ellos, L es preferiblemente un grupo representado por la fórmula (L1):



en donde R₃, R₄, R₅, y R₆ representan cada uno independientemente un grupo -CH₂COOH, o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, y el símbolo * representa un sitio de unión, siempre que tres de R₃, R₄, R₅, y R₆ representen cada uno un grupo -CH₂COOH).

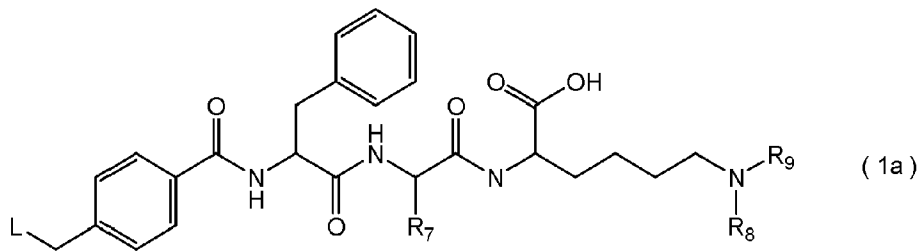
5 Como L, se prefiere al menos uno seleccionado del grupo que consiste en las fórmulas (L1-1), (L1-2), (L1-3), (L1-4), (L1-5), (L1-6), (L1-7), (L1-8), (L1-9) y (L2).





En cada una de las fórmulas anteriores, el símbolo * representa un sitio de unión.

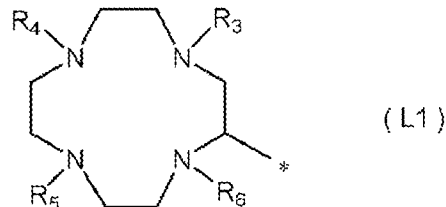
Entre los compuestos (1) descritos anteriormente de la presente invención, se prefiere un compuesto representado por la siguiente fórmula (1a).



5

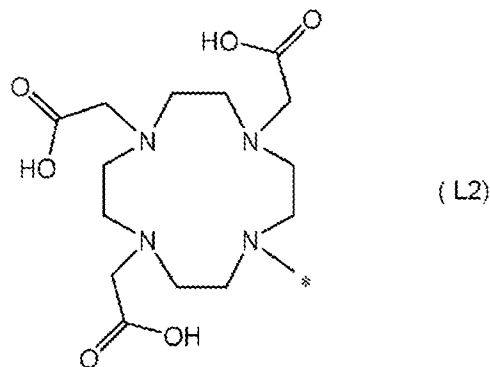
En la fórmula,

L representa un grupo representado por la fórmula (L1):



10

en donde R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo $-CH_2COOR_{10}$ o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, R_{10} representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, y el símbolo * representa un sitio de unión, siempre que al menos tres de R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representen cada uno un grupo $-CH_2COOH$, o un grupo representado por la fórmula (L2):

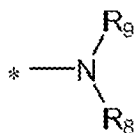


15

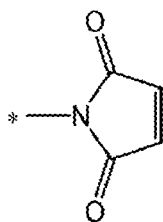
en donde el símbolo * representa un sitio de unión.

R_7 representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,

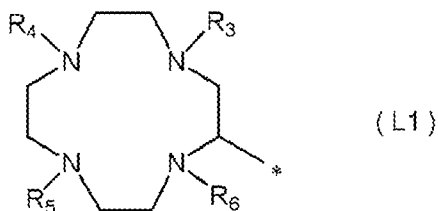
- 5 R_8 y R_9 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo acilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional \underline{a} , un grupo alquilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional \underline{a} , un grupo alquilcarbamoilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional \underline{a} , o un grupo alquiltiocarbamoilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional \underline{a} , siempre que R_8 y R_9 puedan formar un anillo heterocíclico que incluye un átomo de nitrógeno adyacente, y en este caso, un grupo representado por la fórmula:



es un grupo representado por la fórmula:

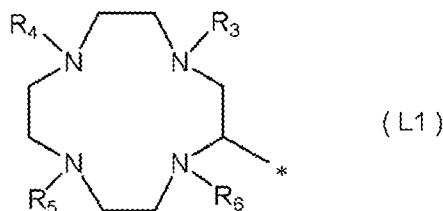


- 10 R_8 y R_9 representan cada uno preferiblemente un grupo acilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional \underline{a} , y más preferiblemente un grupo acilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono en total que tiene un grupo carbamoilo. Como grupo acilo que tiene de 3 a 6 átomos de carbono en total que tiene un grupo carbamoilo, por ejemplo, puede mencionarse un grupo representado por la fórmula: $-\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_a(=\text{O})\text{NH}_2$ en donde a es un número entero de 1 a 4.
- 15 En el compuesto representado por la fórmula (1a) anterior, preferiblemente, L en la fórmula representa un grupo representado por la fórmula (L1):



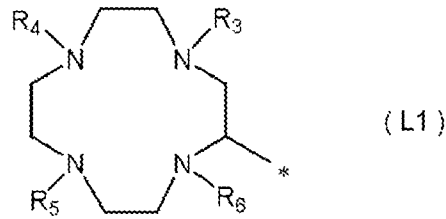
- 20 en donde R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representan cada uno independientemente un grupo $-\text{CH}_2\text{COOH}$, o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, y el símbolo $*$ representa un sitio de unión, siempre que tres de R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representen cada uno un grupo $-\text{CH}_2\text{COOH}$, y uno de R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 represente un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono,

más preferiblemente, L en la fórmula representa un grupo representado por la fórmula (L1):



- 25 en donde R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representan cada uno independientemente un grupo $-\text{CH}_2\text{COOH}$, un grupo etilo, o un grupo butilo, y el símbolo $*$ representa un sitio de unión, siempre que tres de R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representen cada uno un grupo $-\text{CH}_2\text{COOH}$, y uno de R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 represente un grupo etilo, o un grupo butilo, y

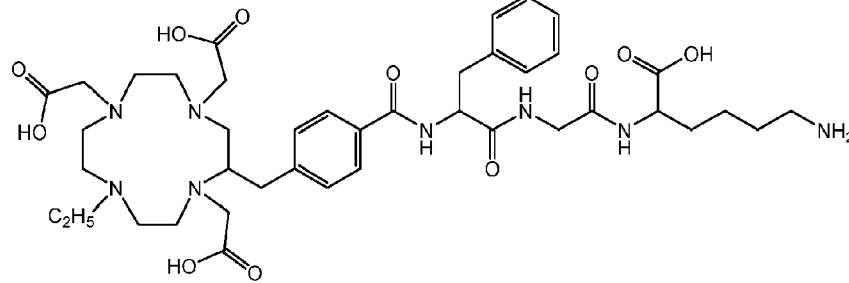
además, preferiblemente, L en la fórmula representa un grupo representado por la fórmula (L1):



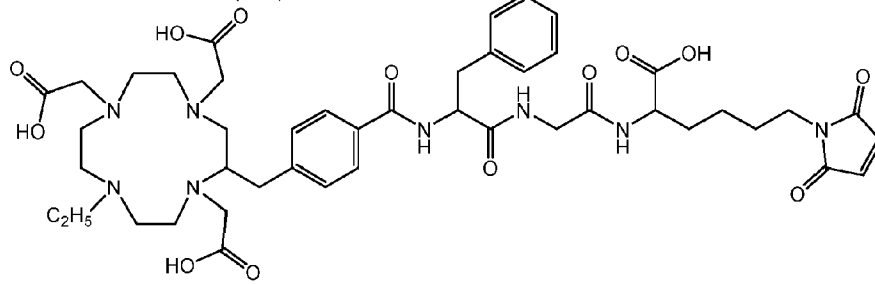
5 en donde R₃, R₄, R₅, y R₆ representan cada uno independientemente un grupo -CH₂COOH, o un grupo isobutilo, y el símbolo * representa un sitio de unión, siempre que tres de R₃, R₄, R₅, y R₆ representen cada uno un grupo -CH₂COOH, y uno de R₃, R₄, R₅, y R₆ representa un grupo isobutilo.

Los ejemplos específicos preferidos del compuesto (1) descrito anteriormente de la presente invención incluyen los siguientes compuestos 1-1 a 1-6.

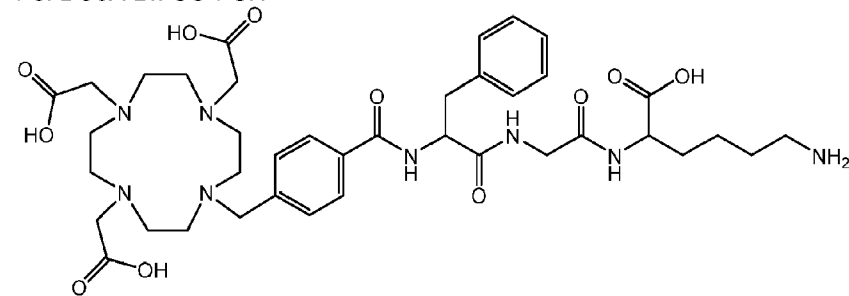
1-1: CDO3AEt-FGK



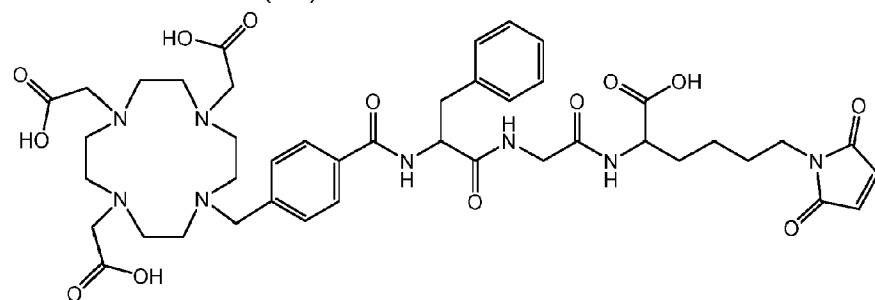
1-2: CDO3AEt-FGK(Mal)



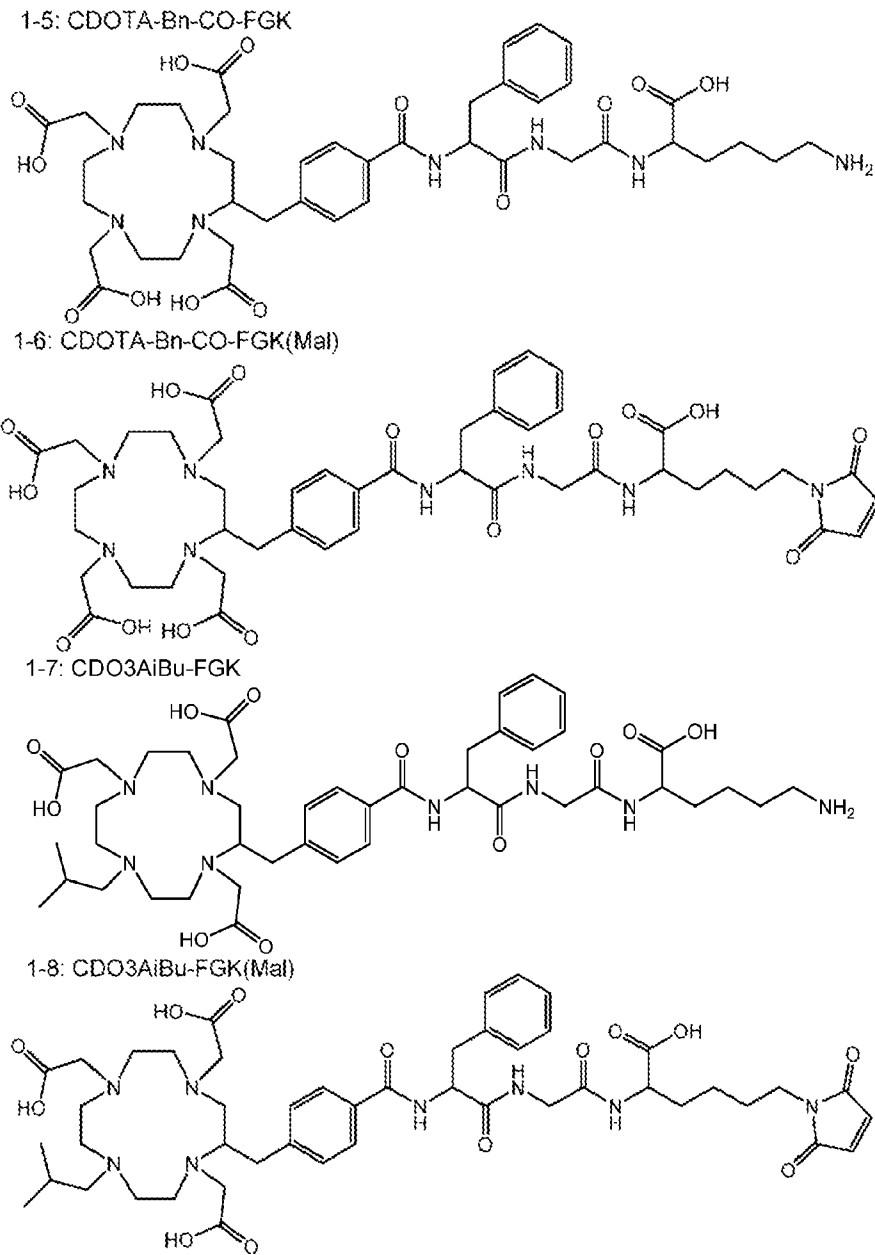
1-3: DO3A-Bn-CO-FGK



1-4: DO3A-Bn-CO-FGK(Mal)



10



- 5 El compuesto (1) o similar según la presente invención también puede ser una sal farmacológicamente aceptable de cada uno de los compuestos anteriores.

Los ejemplos de la sal farmacológicamente aceptable incluyen una sal de adición de ácido y una sal de adición de base.

Como sal de adición de ácido, puede adoptarse cualquiera de una sal de ácido inorgánico y una sal de ácido orgánico.

- 10 Los ejemplos de la sal de ácido inorgánico incluyen un hidrocloreuro, un hidrobromuro, un sulfato, un hidroyoduro, un nitrato y un fosfato.

Los ejemplos de la sal de ácido orgánico incluyen un citrato, un oxalato, un acetato, un formiato, un propionato, un benzoato, un trifluoroacetato, un maleato, un tartrato, un metanosulfonato, un bencenosulfonato y un p-toluenosulfonato.

- 15 Como la sal de adición de base, puede adoptarse cualquiera de una sal de base inorgánica y una sal de base orgánica.

Los ejemplos de la sal de base inorgánica incluyen una sal de sodio, una sal de potasio, una sal de calcio, una sal de magnesio y una sal de amonio.

Los ejemplos de la sal de base orgánica incluyen una sal de trietilamonio, una sal de trietanolamonio, una sal de piridinio y una sal de diisopropilamonio.

<Compuesto (2) o similares>

5 El compuesto (2) o similares según la presente invención es un compuesto que tiene un elemento de reconocimiento de la molécula diana unido a un compuesto (1) o una sal farmacológicamente aceptable del compuesto (1), o una sal farmacológicamente aceptable del mismo. El elemento de reconocimiento de moléculas diana puede estar unido al compuesto (1) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo a través de un grupo de unión, o puede estar unido directamente al compuesto (1) o una sal farmacológicamente aceptable del mismo. Como grupo de unión, se pueden mencionar iminotiol derivado de 2-iminotiolano.

10 **Elemento de reconocimiento de la molécula diana**

El término "elemento de reconocimiento de la molécula diana" se refiere como una molécula, un sustituyente, un grupo funcional o un grupo atómico, que es capaz de reconocer una molécula diana, por ejemplo, que se une a una molécula diana en un cuerpo vivo.

El elemento de reconocimiento de la molécula diana es un polipéptido.

15 El polipéptido es habitualmente un polipéptido que se une a una molécula diana, y preferiblemente un polipéptido que se une específicamente a una molécula diana. La expresión "que se une específicamente a una molécula diana" significa que un polipéptido se une a una molécula diana, pero no se une o solo se une débilmente a las otras moléculas distintas de la molécula diana.

20 El término "molécula diana" se refiere a una molécula presente en un sitio diana tal como un tejido o una célula que va a diagnosticarse por un fármaco radiactivo, y preferiblemente se refiere a una molécula que se expresa específicamente en el mismo. La expresión "que se expresa específicamente" significa que una molécula se expresa en un sitio diana, pero no se expresa o se expresa sólo poco en los otros sitios distintos del sitio diana.

25 Los ejemplos del elemento de reconocimiento de la molécula diana incluyen un ligando que se une a una proteína que se expresa altamente en la construcción de tejido asociada con inflamación, invasión de células tumorales o similares, o que se une a una proteína que se expresa específicamente en una célula tumoral; un anticuerpo; y un fragmento de dominio de unión a antígeno de un anticuerpo.

Como anticuerpo, por ejemplo, se puede mencionar un anticuerpo monoclonal tal como un anticuerpo anti-CD25, o un anticuerpo anti-CD20.

30 Los ejemplos del fragmento de dominio de unión a antígeno de un anticuerpo incluyen un fragmento Fab (en lo sucesivo, también denominado simplemente "Fab"), un fragmento F(ab')₂, un fragmento F(ab)₂ y un fragmento de región variable (en lo sucesivo, también denominado "fragmento Fv").

El término "fragmento Fab" significa un producto en el lado N-terminal de un anticuerpo, que se genera mediante digestión con papaína, y un fragmento que tiene una estructura de dominio similar a la del producto.

35 El término "fragmento F(ab')₂" significa un fragmento obtenido reduciendo un enlace disulfuro en una región bisagra de F(ab')₂ de un anticuerpo, y un fragmento que tiene una estructura de dominio similar a la del fragmento anterior.

El término "fragmento F(ab)₂" significa un dímero obtenido uniendo dos moléculas de fragmentos Fab entre sí por un enlace disulfuro.

El término "fragmento Fv" significa un fragmento mínimo de un anticuerpo, que tiene una actividad de unión a un antígeno.

40 Los ejemplos del fragmento de dominio de unión a antígeno de un anticuerpo incluyen, más específicamente, un anticuerpo contra una proteína que se expresa específicamente en una célula cancerosa específica, y un fragmento Fab o fragmento Fv del anticuerpo.

45 Como otro elemento de reconocimiento de la molécula diana, se puede mencionar un pentapéptido cíclico que tiene una afinidad por integrina altamente expresada en un vaso sanguíneo recién producido de un cáncer, por ejemplo, ciclo-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys (en lo sucesivo, también denominado "c(RGDfK)"). Además, se pueden mencionar ácido bisfosfónico, ácido oligo-aspártico y ácido oligo-glutámico que tienen cada uno una afinidad por la hidroxiapatita presente en una gran cantidad en un cáncer osteoblástico (metástasis ósea), fMet-Leu-Phe (fMLP) que es un péptido que tiene una afinidad por un receptor por un factor de exploración presente en una superficie de un macrófago, unión de ácido fólico a un receptor de folato que se expresa en una célula cancerosa y un derivado del mismo, y similares.

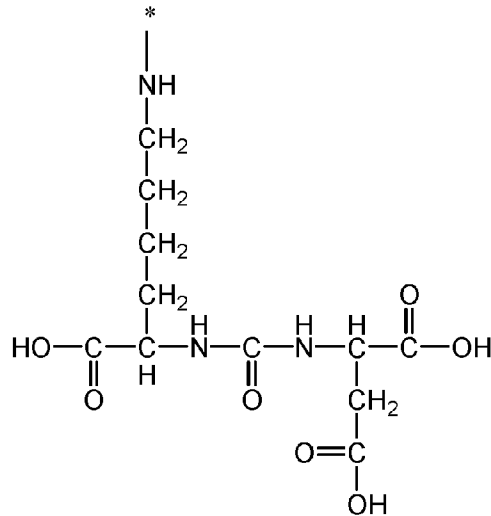
50

A este respecto, el elemento de reconocimiento de la molécula diana no se limita a estos polipéptidos descritos anteriormente, y también se puede usar cualquier polipéptido siempre que se una a una molécula diana.

5 La unión del elemento de reconocimiento de la molécula diana puede realizarse introduciendo un grupo de unión capaz de reaccionar con un grupo funcional de un compuesto usando, por ejemplo, un reactivo de tiolación tal como 2-iminothiolano. Con respecto a la introducción del grupo de unión a un fragmento Fab, la reacción del reactivo de tiolación descrito anteriormente en la condición de pH 7 a 9 puede llevarse a cabo para añadir un grupo sulfhidrilo a un grupo amino del fragmento Fab.

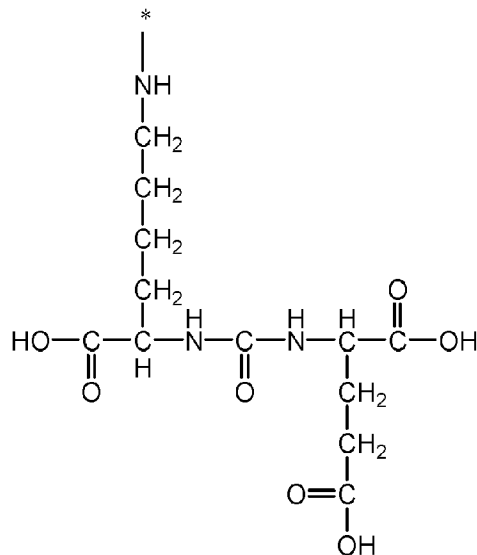
10 Como elemento de reconocimiento de la molécula diana, se puede usar un ligando que tiene un sitio Asn-urea-Lys o un sitio Glu-urea-Lys. El ligando se une selectivamente a un receptor para un antígeno de membrana específico de la próstata cuya expresión aumenta significativamente en el cáncer de próstata.

El sitio Asn-urea-Lys es un sitio representado por la fórmula:



en donde el símbolo * representa un sitio de unión.

El sitio Glu-urea-Lys es un sitio representado por la fórmula:



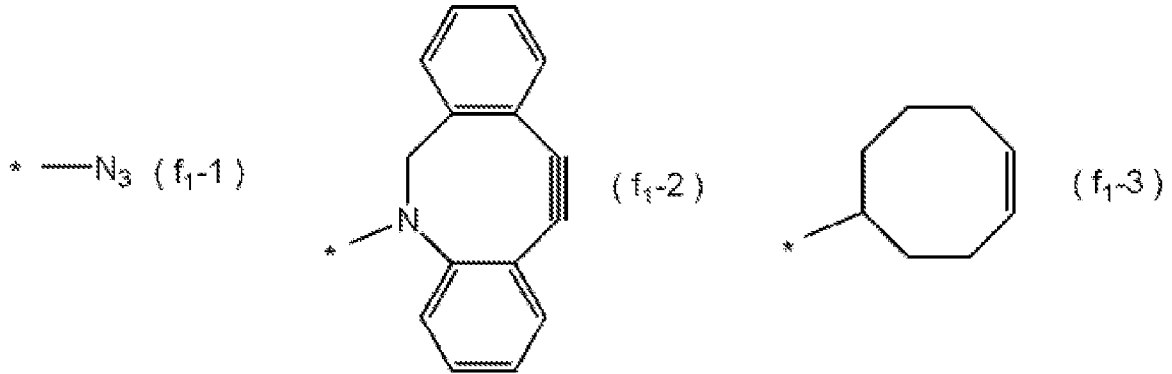
15

en donde el símbolo * representa un sitio de unión.

20 Además de lo anterior, por ejemplo, se puede mencionar un método para reconocer una molécula diana en el que el polipéptido descrito anteriormente u otro ligando que se une a una molécula diana, en el que se ha introducido un grupo funcional específico f₁, se le permite unirse a una molécula diana, por ejemplo, una proteína que se expresa altamente en la construcción tisular asociada con inflamación, invasión de células tumorales o similares, o una proteína que se expresa específicamente en una célula tumoral, y un compuesto (2) o similar que tiene un grupo funcional f₂ que reacciona con el grupo funcional f₁ para formar la unión se administra como un elemento de reconocimiento de la

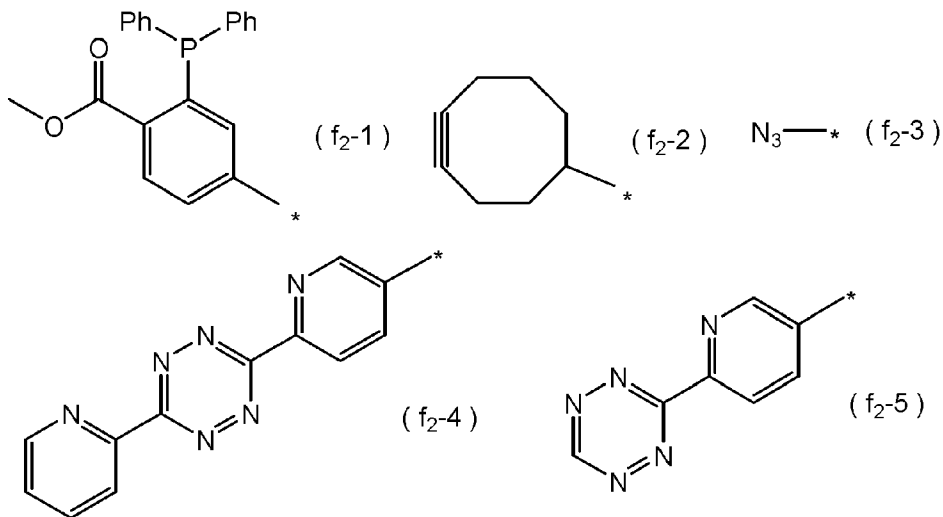
molécula diana (Chemical Society Reviews 45: 6409-6658, 2016 y Chemical Society Reviews 42: 5131-5142, 2013).

Como grupo funcional f_1 , por ejemplo, puede mencionarse un grupo representado por la siguiente fórmula (f_1-1), (f_1-2), o (f_1-3).



5 en donde el símbolo * representa un sitio de unión.

Como grupo funcional f_2 , por ejemplo, puede mencionarse un grupo representado por la siguiente fórmula (f_2-1), (f_2-2), (f_2-3), (f_2-4), o (f_2-5).

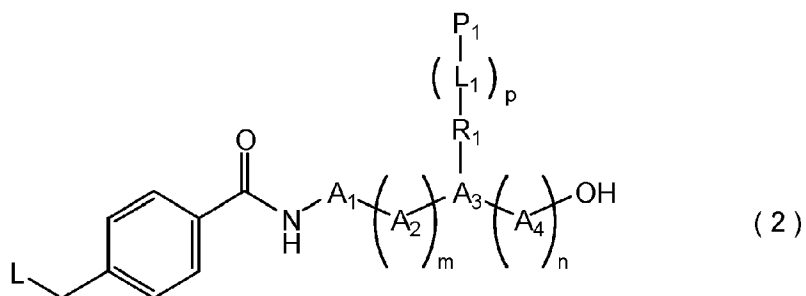


10 en donde el símbolo * representa un sitio de unión.

El compuesto (2) o similar según la presente invención se puede usar para proporcionar un fármaco para preparar un fármaco radiactivo que contiene el compuesto.

El fármaco para preparar un fármaco radiactivo puede contener un regulador del pH tal como una solución tampón acuosa, un estabilizante tal como ácido ascórbico o ácido p-aminobenzoico y similares, además del compuesto.

15 Como compuesto (2) o similar según la presente invención, por ejemplo, puede mencionarse un compuesto representado por la siguiente fórmula (2), o una sal farmacológicamente aceptable del mismo.



en donde A₁, A₂, m, A₃, A₄, n, R₁ y L son iguales a los de la fórmula (1),

L₁ representa un grupo de unión que une R₁ y P₁,

p es 0 o 1,

P₁ representa un elemento de reconocimiento de la molécula diana.

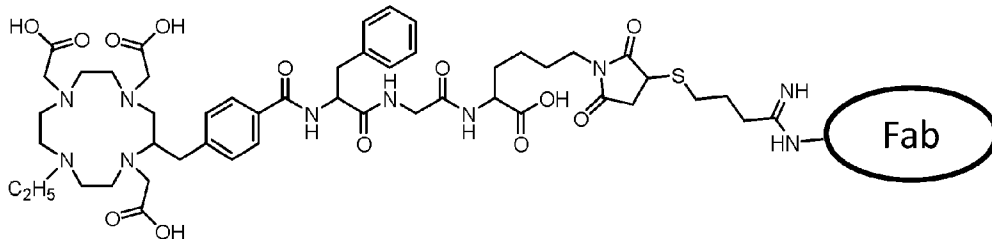
- 5 L₁ forma la unión con un grupo funcional capaz de unirse a un grupo de unión de R₁ y también forma la unión con un elemento de reconocimiento de la molécula diana. L₁ es preferiblemente iminotiol derivado de 2-iminotiolano, o similares.

p es preferiblemente 1.

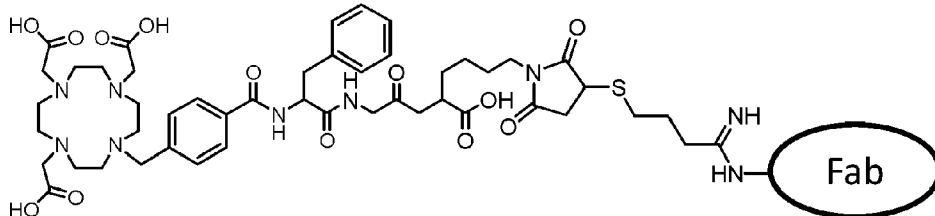
- 10 P₁ representa, por ejemplo, el elemento de reconocimiento de la molécula diana, descrito anteriormente, y es preferiblemente un ligando que se une a un polipéptido, u otras moléculas diana o un grupo funcional f₂ representado por la fórmula (f₂-1), (f₂-2), (f₂-3), (f₂-4), o (f₂-5).

Los ejemplos específicos preferidos del compuesto (2) descrito anteriormente según la presente invención, incluyen los siguientes compuestos 2-1 a 2-4. A este respecto, el Fab en cada una de las siguientes fórmulas significa un sitio de fragmento Fab.

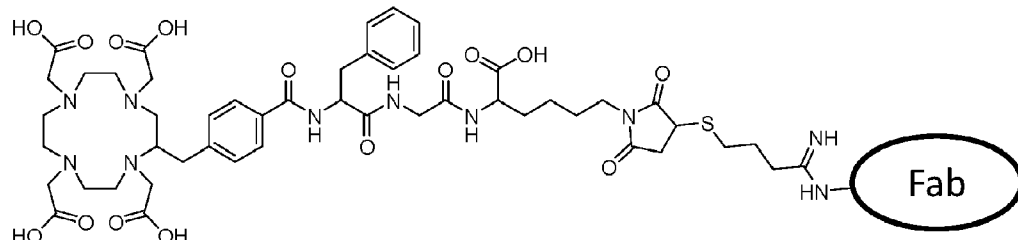
2-1: CDO3AEt-FGK-Fab



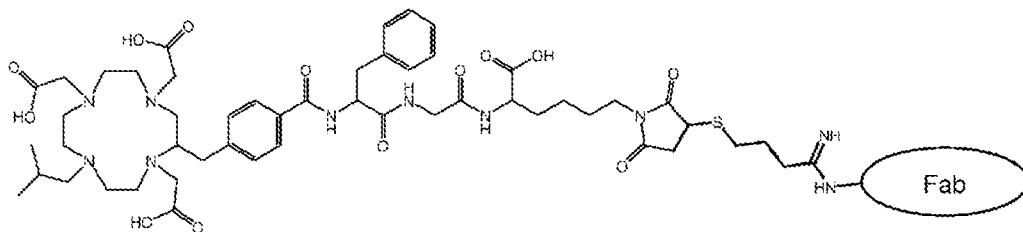
2-2: DO3A-Bn-CO-FGK-Fab



2-3: CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab



2-4: CDO3AiBu-FGK-Fab



<Compuesto de complejo metálico (3) o similares>

El compuesto de complejo metálico o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la presente invención (en lo sucesivo, también denominado "compuesto de complejo metálico (3) o similar") comprende un metal seleccionado del grupo que consiste en un metal radiactivo y un metal marcado con átomo radiactivo, y un compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo de la presente invención coordinado al metal.

- 5 El fármaco radiactivo que contiene el compuesto de complejo metálico (3) o similares según la presente invención puede contener un material sin reaccionar o impureza además del compuesto de complejo metálico (3) o similares, o puede contener un compuesto de complejo metálico (3) o similares que se ha purificado por un método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) o similar después de la producción.

10 El término "complejo" significa una sustancia en la que un ligando está coordinado con un átomo o ion de un metal o elemento similar a un metal como centro, y también se denomina compuesto de coordinación. La coordinación significa que un ligando forma un enlace de coordinación con el metal como centro y está dispuesto alrededor del metal central. El complejo está formado por un enlace de coordinación entre un ligando y un metal. La formación de un complejo entre un ligando y un metal puede denominarse formación de complejo. El enlace de coordinación significa un enlace en el que dos electrones de valencia que participan en un enlace se proporcionan desde un solo átomo.

15 Metal

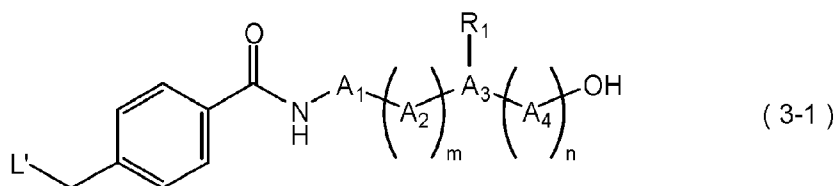
Los ejemplos del metal incluyen ^{111}In , ^{223}Ra , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{44}Sc , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{212}Pb , ^{227}Th , ^{64}Cu , y ^{67}Cu .

El metal es preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en ^{111}In , ^{223}Ra , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{212}Pb , y ^{227}Th , más preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en ^{111}In , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{213}Bi , y ^{212}Pb , y más preferiblemente ^{111}In , ^{90}Y , ^{177}Lu y ^{225}Ac .

20 El metal no se limita a estos ejemplos específicos, y se puede usar cualquier metal siempre que tenga un rayo radiactivo, una dosis de radiación y un período de vida media, que son adecuados para el propósito de, por ejemplo, el diagnóstico usando un fármaco radiomarcado. Desde el punto de vista de reducir el efecto sobre tejidos y células normales en el diagnóstico por imagenología radiológica, se usa preferiblemente un isótopo radiactivo de vida media corta de un metal.

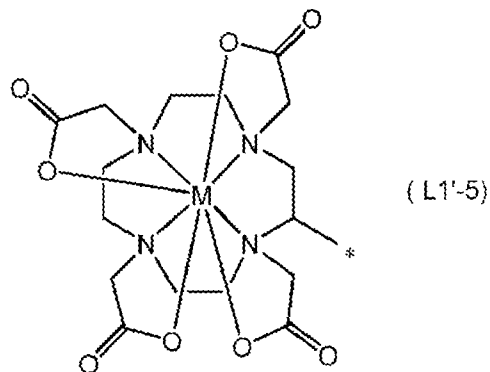
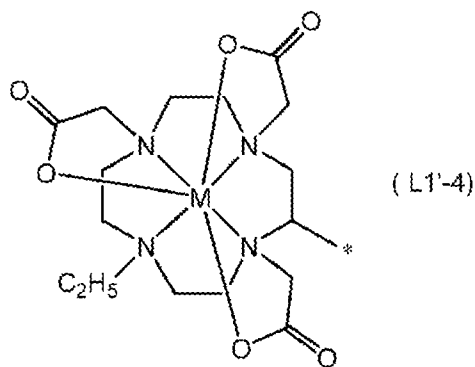
25 La producción del compuesto de complejo metálico (3) o similar se puede realizar mediante la formación de complejos *in vitro* con un isótopo radiactivo de un metal usando el compuesto anterior unido a un elemento de reconocimiento de la molécula diana como ligando. La formación del complejo puede realizarse mediante una simple operación utilizando una reacción de formación del complejo conocida convencionalmente.

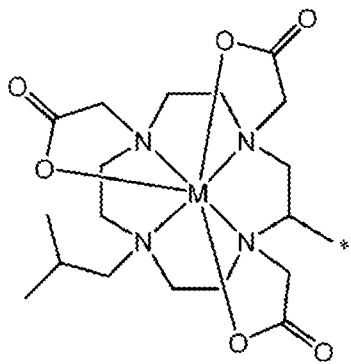
30 El compuesto de complejo metálico (3) según la presente invención puede incluir, por ejemplo, un compuesto de complejo metálico representado por la siguiente fórmula (3-1) en el caso en el que L de un compuesto (1) es un grupo representado por la fórmula (L1-4), (L1-5), (L1-9) o (L2).



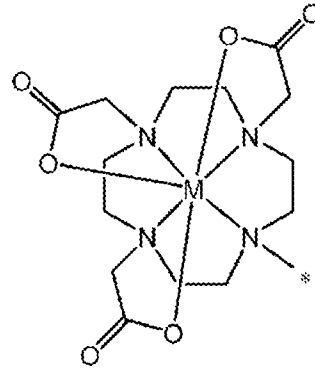
en donde A_1 , A_2 , m , A_3 , A_4 , n , y R_1 son iguales que en la fórmula (1), y

L' es un grupo representado por la fórmula (L1'-4), (L1'-5), (L1'-9) o (L2'):





(L1'-9)

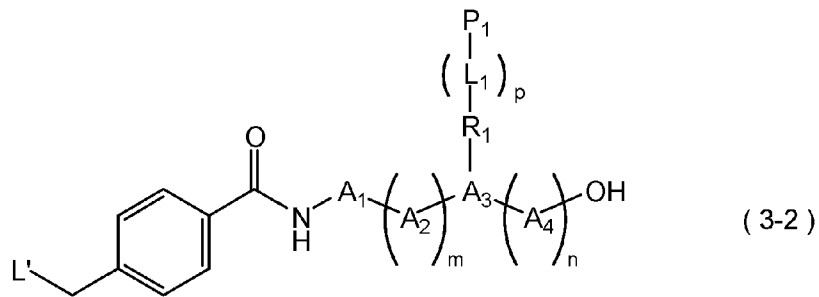


(L2')

en donde M es ^{111}In , ^{223}Ra , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{44}Sc , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{212}Pb , ^{227}Th , ^{64}Cu , o ^{67}Cu .

El compuesto de complejo metálico (3) según la presente invención puede incluir, por ejemplo, un compuesto de complejo metálico representado por la siguiente fórmula (3-2) en el caso en el que L de un compuesto (2) es un grupo representado por la fórmula (L1-4), (L1-5), (L1-9) o (L2).

5

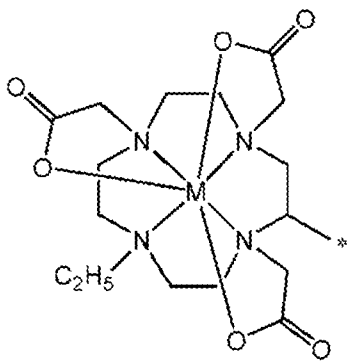


(3-2)

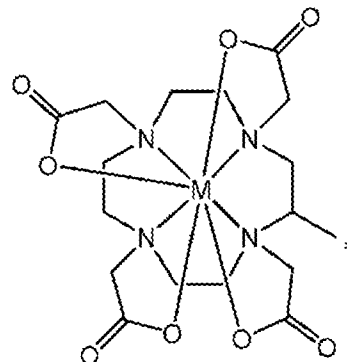
en donde A_1 , A_2 , m , A_3 , A_4 , n , y R_1 son iguales que en la fórmula (1),

L_1 , p , y P_1 son iguales que en la fórmula (2) y

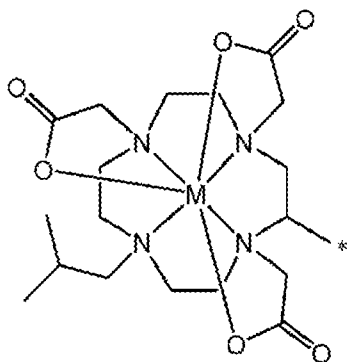
L' es un grupo representado por la fórmula (L1'-4), (L1'-5), (L1'-9) o (L2'):



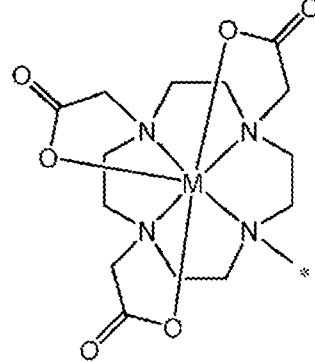
(L1'-4)



(L1'-5)



(L1'-9)



(L2')

en donde M es ^{111}In , ^{223}Ra , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{44}Sc , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{212}Pb , ^{227}Th , ^{64}Cu , o ^{67}Cu .

10

El fármaco radiactivo según la presente invención se puede preparar como una composición farmacéutica que contiene el polipéptido radiomarcado descrito anteriormente como un componente activo, y que contiene además un tipo o dos o más tipos de vehículos farmacéuticamente aceptables (vehículos farmacéuticos) según sea necesario. Los ejemplos del vehículo farmacéutico incluyen un regulador del pH tal como una solución tampón acuosa, un ácido o una base, un estabilizante tal como ácido ascórbico o ácido p-aminobenzoico, un excipiente tal como D-manitol, un agente isotonzante y un conservante. Además, en el fármaco radiactivo, se puede añadir un compuesto tal como ácido cítrico, ácido tartárico, ácido malónico, gluconato de sodio o glucoheptonato de sodio, que es útil para mejorar la pureza radioquímica. El fármaco radiactivo según la presente invención se puede proporcionar en cualquier forma de una solución acuosa, una solución congelada y un producto liofilizado.

5 El kit de la presente invención incluye el compuesto anterior, y un reactivo que contiene el metal anterior, como unidades de envasado separadas.

Los ejemplos del kit de la presente invención incluyen un kit que incluye un compuesto (1) o similar, un reactivo que contiene un elemento de reconocimiento de la molécula diana y un reactivo que contiene un metal seleccionado del grupo que consiste en un metal radiactivo y un metal marcado con átomo radiactivo, como unidades de envasado separadas; y un kit que incluye un compuesto (2) o similar que tiene un elemento de reconocimiento de la molécula diana unido a un compuesto (1) o similar, y un reactivo que contiene un metal seleccionado del grupo que consiste en un metal radiactivo y un metal marcado con átomo radiactivo, como unidades de envasado separadas.

En cada uno de los compuestos y reactivos incluidos en los kits, puede estar contenido un tipo o dos o más tipos de vehículos farmacéuticamente aceptables (vehículos farmacéuticos) como se ha descrito anteriormente. según sea necesario.

20

Método de producción

Un compuesto (1) o similar según la presente invención, y un compuesto (2) o similar que tiene un elemento de reconocimiento de la molécula diana unido al compuesto (1) o similar se pueden sintetizar usando un método conocido, y se pueden producir, por ejemplo, mediante un método descrito en los Ejemplos de la presente memoria descriptiva.

25 Un compuesto de complejo metálico (3) o similar según la presente invención se puede producir formando un complejo *in vitro* con un metal radioactivo o un metal marcado con un átomo radioactivo utilizando un compuesto (2) o similar como ligando. La formación del complejo puede realizarse mediante un método conocido.

Uso y dosificación

30 El compuesto de complejo metálico o similar según la presente invención se usa como, por ejemplo, un fármaco radiactivo que se usa para terapia de radiación o diagnóstico por imagenología radiológica.

El compuesto de complejo metálico o similar según la presente invención se puede usar para terapia de radiación para suprimir un cáncer administrando una cantidad eficaz del mismo a un mamífero, incluyendo un ser humano. En un caso en el que el compuesto de complejo metálico o similar se usa como agente anticanceroso, la terapia de radiación tiene el significado más amplio, incluyendo tanto, por ejemplo, una acción profiláctica para prevenir el desarrollo, metástasis e implantación, como recurrencia de un cáncer, y una acción terapéutica para suprimir el crecimiento de células cancerosas, para bloquear el progreso de un cáncer al encoger el cáncer, y para mejorar los síntomas, y no debe interpretarse como limitada en ningún caso.

35

Los ejemplos de un metal seleccionado del grupo que consiste en un metal radiactivo y un metal marcado con átomo radiactivo, usado como agente radioterapéutico incluyen un nucleido emisor de rayos alfa, un nucleido emisor de rayos beta, un nucleido emisor de rayos gamma y un nucleido emisor de positrones. Entre ellos, para su uso en terapia de radiación, se prefiere un nucleido emisor de rayos beta (es decir, un nucleido que emite rayos β).

40

Los ejemplos del diagnóstico por imagenología radiológica incluyen tomografía computarizada de emisión de fotón único (en lo sucesivo también denominada simplemente "SPECT") y tomografía de emisión de positrones (en lo sucesivo también denominada simplemente "PET").

45 El diagnóstico no está particularmente limitado, y se usa como diagnóstico por imagenología radiológica o similar para diversos tipos de enfermedades tales como un tumor, inflamación, infecciones, una enfermedad cardiovascular y una enfermedad cerebral y del sistema nervioso central, y para órganos y tejidos, y se usa preferiblemente como diagnóstico por imagenología radiológica para un cáncer.

50 Seleccionando un elemento de reconocimiento de la molécula diana según las características de una diana que va a diagnosticarse, puede realizarse el diagnóstico y el tratamiento de una amplia variedad de dianas, y el fármaco radiactivo según la presente invención puede usarse ampliamente como un agente de imagenología de diagnóstico radiactivo en el campo del diagnóstico.

Como la vía de administración del fármaco radiactivo según la presente invención, por ejemplo, se puede mencionar la administración parenteral, tal como la administración intravenosa o la administración intraarterial, o la administración oral, y se prefiere la administración intravenosa.

5 La vía de administración no se limita a las vías descritas anteriormente, y puede usarse cualquier vía siempre que sea una vía capaz de expresar la acción eficazmente después de la administración del fármaco radiactivo.

La intensidad de la radiactividad del fármaco radiactivo según la presente invención se selecciona arbitrariamente siempre que sea una intensidad a la que se pueda lograr el propósito administrando el fármaco radiactivo, y corresponde además a una dosis clínica a la que la exposición a radiación para el sujeto se puede hacer lo más baja posible.

10 La intensidad radiactiva se puede determinar con referencia a la intensidad de la radiactividad usada en los métodos diagnósticos y terapéuticos generales usando un fármaco radiactivo. En cuanto a la dosis, la radiactividad y la dosis que se consideran para permitir una imagenología se determinan teniendo en cuenta diversas condiciones tales como la edad y el peso de un paciente, un dispositivo de imagenología por radiación apropiado, la afección de una enfermedad que va a tomarse como diana, y similares.

15 En un caso en el que la diana es un ser humano, la cantidad de radiactividad en el fármaco radiactivo es la siguiente.

En general, suponiendo que se espera que el fármaco radiactivo se use para terapia de radiación, la dosis del fármaco de diagnóstico no está particularmente limitada, sino que es, por ejemplo, de 1,0 MBq/kg a 3,0 MBq/kg como una cantidad de radiactividad de un metal radiactivo (por ejemplo, ¹¹¹In).

20 Como se ha descrito anteriormente, según la presente invención, se puede proporcionar un compuesto que puede dar un fármaco radiactivo capaz de reducir la acumulación del mismo en el riñón desde una etapa temprana de la administración.

Ejemplos

25 Los Ejemplos de la presente invención descritos a continuación son únicamente con fines ilustrativos, y no limitan el alcance técnico de la presente invención. Además, se realizaron los siguientes experimentos después de la aprobación por el Comité de Ética Animal de la Universidad de Chiba.

En los siguientes Ejemplos y Ejemplos Comparativos, se usaron las siguientes abreviaturas para sustituyentes, compuestos y disolventes orgánicos, respectivamente.

Fmoc: grupo fluorenilmetoxicarbonilo

Boc: grupo terc-butoxicarbonilo

30 THF: tetrahidrofurano

NMM: N-metilmorfilina

DMF: dimetilformamida

Tfa: grupo trifluoroacetato

DCC: N,N'-díciclohexilcarbodiimida

35 Trt (2-Cl): grupo 2-clorotritilo

Resina Cl-Trt (2-Cl): resina de cloruro de 2-clorotritilo

Fmoc-Lys (Dde)-OH: N-α-(9-fluorenilmetoxicarbonil)-N-ε-[1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)etil]-L-lisina

TFA: ácido trifluoroacético

MeCN: acetonitrilo

40 DIPEA: N,N-diisopropiletilamina

DIC: N,N'-diisopropilcarbodiimida

HOBt: 1-hidroxibenzotriazol

NMCM: N-metoxicarbonilmaleimida

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

DPS: disulfuro de 2,2'-dipiridilo

EtOH: etanol

FBS: suero bovino fetal

D-PBS: solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco

5 EGTA: ácido glicol éter diaminotetraacético

Método de medición y animal experimental

En los siguientes Ejemplos y Ejemplos Comparativos, se midieron varios tipos de propiedades y similares de las siguientes maneras.

RMN (resonancia magnética nuclear)

10 Para el análisis mediante ¹H-RMN, se usó un espectrómetro JEOL ECS-400 (disponible en JEOL Ltd.).

ESI-MS (espectrometría de masas de ionización por electropulverización)

Para el análisis por ESI-MS, se usó un espectrómetro de masas LC/MS cuadrupolo serie 6130 HPLC 1200 (disponible en Agilent Technologies, Inc.).

Cromatografía en capa fina (TLC)

15 Para el análisis por cromatografía en capa fina (TLC), se usó una placa de sílice (láminas de aluminio de TLC de Gel de sílice 60 RP-18 F₂₅₄S, disponible en Merck KGaA). La placa de sílice en la que se había desarrollado un disolvente de revelado de una solución acuosa de acetato de amonio 0,1 M : metanol = 1 : 1 en 10 cm se cortó en fracciones que tenían cada una un tamaño de 5 mm, y la radiactividad de cada una de las fracciones se midió mediante un sistema automático gamma de pocillos (WIZARD3, disponible en PerkinElmer, Inc).

20 Electroforesis en acetato de celulosa (CAE)

En la electroforesis en acetato de celulosa (en lo sucesivo también denominada "CAE"), se cortó una membrana de acetato de celulosa (ADVANTEC SELECA-V, disponible en Toyo Roshi Kaisha, Ltd.) en fracciones que tenían cada una un tamaño de 11 cm x 1 cm, y usando cada una de las fracciones como membrana de electroforesis, y un tampón veronal (pH 8,6, I = 0,06) o un disolvente 2 (P.B. 20 mM (pH 6,0)) como solución tampón, la electroforesis se realizó a una corriente constante (1 mA/cm). La membrana de acetato de celulosa después de la electroforesis se cortó en fracciones que tenían cada una un tamaño de 5 mm, y la radiactividad de cada una de las fracciones se midió mediante un sistema automático gamma de pocillos.

Cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (RP-HPLC) y cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño (SE-HPLC)

30 Análisis

Para el análisis por cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (en lo sucesivo también denominada "RP-HPLC"), se usaron L-7405 (disponible en Hitachi, Ltd.) como detector de UV, L-7100 (disponible en Hitachi, Ltd.) como bomba de alimentación de líquido, y columna Cosmosil 5C₁₈-AR-300 (4,6 x 150 mm, disponible en NACALAI TESQUE, INC.) como columna para el análisis.

35 Mediante un método de gradiente lineal en el que se usaron TFA al 0,1 % (v/v)/H₂O (fase A) y TFA al 0,1 % (v/v)/MeCN (fase B) como fases móviles, y las fases se cambiaron de fase A al 95 % (v/v) y fase B al 5 % (v/v) a fase A al 70 % (v/v) y fase B al 30 % (v/v) en el periodo de 0 a 20 minutos, y se cambiaron de fase A al 70 % (v/v) y fase B al 30 % (v/v) a fase A al 0 % (v/v) y fase B al 100 % (v/v) en el periodo de 20 a 40 minutos, la elución se realizó a un caudal de 1,0 ml/min.

40 Fraccionamiento

Para el fraccionamiento por RP-HPLC, se usó la columna Cadenza 5CD-C18 (20 x 150 mm, disponible en Imtakt Corporation) conectada a una columna de protección, columna de protección Cadenza 5CD-C18 (10 x 8 mm, disponible en Imtakt Corporation).

45 Mediante un método de gradiente lineal en el que se usaron TFA al 0,1 % (v/v)/H₂O (fase A) y TFA al 0,1 % (v/v)/MeCN (fase B) como fases móviles, y las fases se cambiaron de fase A al 90 % (v/v) y fase B al 10 % (v/v) a fase A al 20 % (v/v) y fase B al 80 % (v/v) en el periodo de 0 a 30 minutos, y se cambiaron de fase A al 20 % (v/v) y fase B al 80 % (v/v) a fase A al 0 % (v/v) y fase B al 100 % (v/v) en el periodo de 30 a 40 minutos, la elución se realizó a un caudal de 5,0 ml/min.

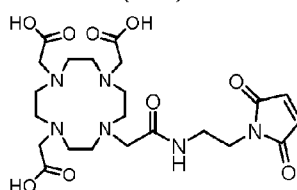
Para el análisis por HPLC de exclusión por tamaño (en lo sucesivo, también denominado "SE-HPLC"), conectando una columna de protección Cosmosil 5 Diol-300II (7,5 x 50 mm, disponible en NACALAI TESQUE, INC.) a Cosmosil 5 Diol-300II (7,5 x 600 mm, disponible en NACALAI TESQUE, INC.) y usando una solución tampón fosfato 0,1 M (pH 6,8) como fase móvil, la elución se realizó a un caudal de 1,0 ml/min.

- 5 El eluato se midió para determinar la absorbancia a 254 nm mediante RP-HPLC y a 280 nm mediante SE-HPLC, y para el análisis de un compuesto marcado con ^{67}Ga , un detector de rayos γ , Gabi star (disponible en Raytest GmbH) se conectó en línea, o el eluato se fraccionó a intervalos de 0,5 minutos por un colector de fracciones (Frac-920, disponible en GE Healthcare Japón), y luego la radiactividad se midió por un sistema automático gamma de pocillos para realizar el análisis.

10 Reactivo

Como "DO3A-EDA (Mal)" en el siguiente Ejemplo de Síntesis, que es un compuesto representado por la siguiente fórmula, se usó el nombre comercial "B-272" fabricado por Macrocylics, Inc.

DO3A-EDA(Mal)

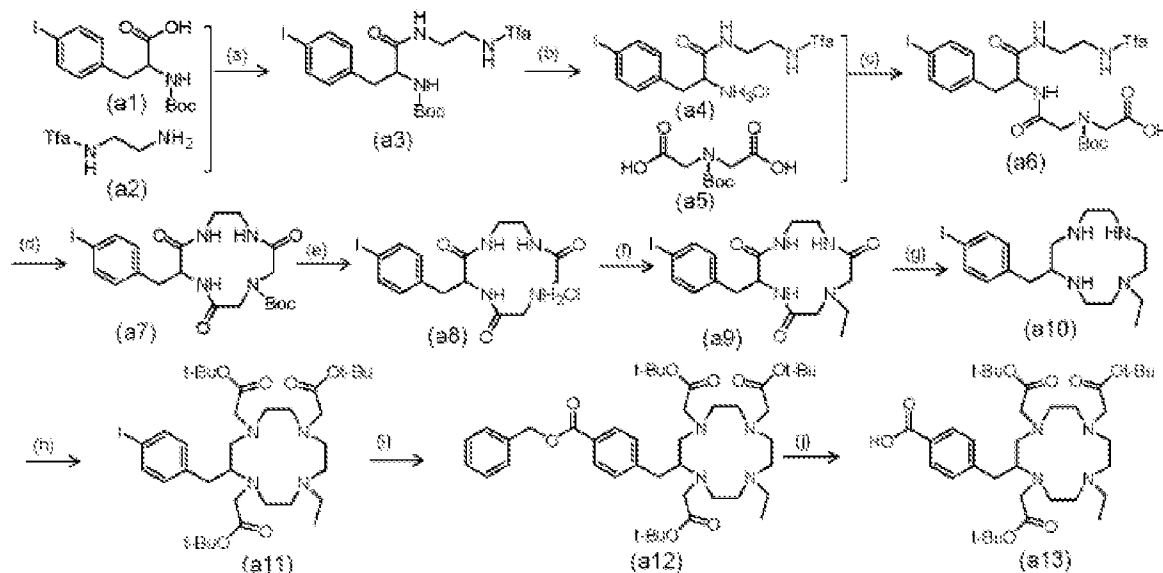


Animal experimental

- 15 En el experimento con animales, se usaron un ratón SPF macho de la cepa ddY de 6 semanas de edad y un ratón BALB/c-nu/nu macho (disponible en Japan SLC, Inc.).

Síntesis de CDO3AEt-FGK, CDO3AEt-FGK(Mal) y CDO3AEt-FGK(Boc)

Ejemplo de síntesis L1: síntesis del compuesto (a13)



- 20 (a) Cloroformiato de isobutilo, *N*-metilmorfolina. THF, DMF; 98 % (b) HCl 4N/AcOEt; 99,8 % (c) DCC, Et₃N, THF, AcOEt; 91,2 % (d) i. NH₃ac al 25 %, ii. HATU, HOAt, DIEA 54,2 %; (e) HCl 4N/AcOEt 98,4 %; (f) Yodoetano, K₂CO₃, MeCN; (g) i. BH₃ 0,95M/THF, ii. HCl conc; (h) bromoacetato de terc-butilo, K₂CO₃, MeCN, DMF; (i) Pd(OAc)₂, 1,2-bis(difenilfosfino)etano, Et₃N, CO, BnOH, DMF; (j) Pd/C al 10 %, MeOH

Ejemplo de Síntesis L1 (a): síntesis del compuesto (a3)

- 25 Se disolvió un compuesto (a1) (7,97 g, 20,4 mmoles) en 40 ml de THF, la mezcla obtenida se enfrió hasta -15 °C y, a continuación, en la mezcla enfriada, se añadieron *N*-metilmorfolina (NMM, 3,36 ml, 30,5 mmoles) y cloroformiato de isobutilo (4,01 ml, 30,5 mmoles) en este orden en una atmósfera de argón. La mezcla obtenida se agitó durante 5 minutos, y después en la mezcla resultante, se añadieron gota a gota 24 ml de una solución en DMF de un compuesto

(a2) (5,87 g, 30,5 mmoles) y NMM (3,36 ml, 30,5 mmoles), y la mezcla obtenida se agitó durante 30 minutos con enfriamiento y durante una hora a temperatura ambiente. El disolvente se retiró por destilación a presión reducida, y después el residuo se disolvió en 100 ml de acetato de etilo y 100 ml de una solución acuosa de hidrógenocarbonato sódico al 5 % en masa, y la mezcla obtenida se lavó con una solución acuosa de hidrógenocarbonato sódico al 5 % en masa (50 ml x 3) y una solución acuosa de ácido cítrico al 5 % en masa (50 ml x 3). La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de magnesio anhidro, y después los cristales obtenidos mediante la eliminación del disolvente se secaron a presión reducida para obtener un compuesto (a3) (10,6 g, 20,0 mmoles, rendimiento: 98,0 %) como cristales de color amarillo pálido.

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 1,42 [9H, s, Boc], 2,96-3,03 [2H, m, CHCH₂], 3,39-3,51 [4H, CH₂CH₂], 4,22-4,24 [1H, dd, NHCH], 4,85, 6,42, 7,74 [3H, t, NH], 6,93-6,95 [2H, d, CCH], 7,62-7,66 [2H, d, ICCH].

ESI-MS (M+Na)⁺: m/z 552,07 encontrado 552,09.

Ejemplo de Síntesis L1 (b): compuesto (a4)

Se disolvió un compuesto (a3) (10,6 g, 20,0 mmoles) en 50 ml de ácido clorhídrico 4 N/acetato de etilo, la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante tres horas. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y el residuo se secó a presión reducida para obtener un compuesto (a4) (8,08 g, 20,0 mmoles, rendimiento: 99,8 %) como cristales de color amarillo pálido.

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 3,42-3,55 [6H, solapado, CH₂], 3,86-3,88 [1H, dd, CH₂CH], 7,04-7,06 [2H, d, CCH], 7,62-7,64 [2H, d, ICCH].

ESI-MS (M+Na)⁺: m/z 452,02, encontrado 452,03.

Ejemplo de Síntesis L1 (c): compuesto (a6)

Se disolvió un compuesto (a5) (4,45 g, 19,1 mmoles) en 70 ml de THF, la mezcla obtenida se enfrió con hielo y, a continuación, en la mezcla enfriada con hielo, se añadieron gota a gota 20 ml de una solución en THF de DCC (4,30 g, 20,8 mmoles) en una atmósfera de argón. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante una hora, la mezcla de reacción se filtró para eliminar diciclohexil urea (en lo sucesivo, también denominada "DC-urea"), y el filtrado se usó en la reacción posterior como una solución de anhídrido del compuesto (a5). Se suspendió un compuesto (a4) (8,08 g, 17,4 mmoles) en 80 ml de acetato de etilo, en la suspensión obtenida, se añadió Et₃N (3,63 ml, 26,0 mmoles), y la mezcla obtenida se enfrió y se agitó durante 10 minutos, y después en la mezcla resultante, se añadió gota a gota la solución de anhídrido del compuesto (a5) preparada previamente en una atmósfera de argón. Después de completar la adición gota a gota, la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante una hora, y la mezcla de reacción se lavó con una solución acuosa al 5 % en masa de ácido cítrico (50 ml x 3). La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de magnesio anhidro, y después el residuo obtenido mediante la separación por destilación del disolvente a presión reducida se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando acetato de etilo como disolvente de elución para obtener un compuesto (a6) (10,2 g, 15,8 mmoles, rendimiento: 91,2 %) como cristales de color amarillo pálido.

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 1,37 [9H, s, Boc], 3,00-3,19 [2H, m, CHCH₂], 3,42-3,52 [5H, solapado, NCH₂, NHCH₂], 3,77-4,03 [2H, m, COCH₂], 4,11-4,16 [1H, dd, NCH₂], 4,60-4,62 [1H, t, CH₂CH], 6,96-7,01 [2H, d, CCH], 7,58-7,60 [2H, d, ICCH].

ESI-MS (M+Na)⁺: m/z 667,09, encontrado 667,02.

Ejemplo de Síntesis L1 (d): compuesto (a7)

Se disolvió un compuesto (a6) (3,52 g, 5,46 mmoles) en 50 ml de agua amoniacal al 25 % en masa y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante tres horas. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y después un aceite obtenido secando el residuo a presión reducida y disuelto en 90 ml de DMF se recogió como un líquido A.

Se tomó hexafluorofosfato de O-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU, 3,12 g, 8,21 mmoles) disuelto en 90 ml de DMF como un líquido B. Se disolvieron DIEA (3,81 ml, 21,9 mmoles) y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (1,12 g, 8,22 mmoles) en 1.600 ml de DMF, y en la mezcla obtenida, se añadieron simultáneamente el líquido A y el líquido B gota a gota a una velocidad baja de 1,2 ml/h usando una bomba de jeringa, y después de completar la adición gota a gota, la mezcla resultante se agitó durante 24 horas. El residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se lavó con acetato de etilo y hexano para obtener un compuesto (a7) (1,57 g, 2,96 mmoles, rendimiento: 54,2 %) como cristales blancos.

$^1\text{H RMN (CD}_3\text{DO)}$: δ 1,46 [9H, s, Boc], 2,82-2,89 [1H, m, CH₂], 2,91-2,96 [2H, m, CH₂], 3,03-3,14 [1H, m, CH₂], 3,56-3,64 [2H, m, CH₂], 3,82-4,02 [3H, m, CH₂], 4,10-4,18 [1H, m, CH₂], 4,46-4,50 [1H, dd, CH], 7,02-7,04 [2H, d, CH], 7,60-7,62 [2H, d, CH].

ESI-MS (M+Na)⁺: m/z 553,09, encontrado 553,10.

Ejemplo de Síntesis L1 (e): compuesto (a8)

Se suspendió un compuesto (a7) (1,57 g, 2,96 mmoles) en 40 ml de ácido clorhídrico 4 N/acetato de etilo, y la suspensión obtenida se agitó a temperatura ambiente durante cuatro horas. Los cristales obtenidos mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se lavaron con hexano y se secaron a presión reducida para obtener un compuesto (a8) (1,36 g, 2,92 mmoles, rendimiento: 98,4 %) como cristales blancos.

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 2,83-2,89 [1H, m, CH_2], 2,96 [1H, s, CH_2], 3,12-3,19 [1H, m, CH_2], 3,40-3,52 [2H, m, CH_2], 3,62-3,59 [2H, m, CH_2], 4,07-4,13 [1H, m, CH_2], 4,19-4,42 [1H, m, CH_2], 4,60-4,62 [1H, dd, CH], 6,11 [1H, s, NH], 6,54 [1H, s, NH], 6,96-7,01 [2H, d, CH], 7,58-7,60 [2H, d, CH].

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 431,06, encontrado 431,03.

10 Ejemplo de Síntesis L1 (f): compuesto (a9)

Se suspendió un compuesto (a8) (880 mg, 2,04 mmoles) en 13,5 ml de DMF, y en la suspensión obtenida, se añadió adicionalmente carbonato potásico (424 mg, 3,06 mmoles) y se suspendió. La suspensión obtenida se enfrió con hielo, y en la suspensión enfriada con hielo, se añadió yodoetano (327 μl , 4,08 mmoles) gota a gota en una atmósfera de argón. Después de la finalización de la adición gota a gota, la mezcla obtenida se agitó a 80 °C durante cuatro días. El residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se suspendió en acetato de etilo, y la suspensión obtenida se filtró. El filtrado se lavó con una solución acuosa de hidrógenocarbonato de sodio al 5 % en masa. La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de sodio, y después el residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se purificó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida usando cloroformo y metanol para obtener un compuesto (a9) (340 mg, 0,742 mmoles, rendimiento: 36,3 %) como cristales blancos.

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 1,10 [3H, t, CH_3], 2,76-2,84 [2H, q, CH_2], 2,85-2,89 [1H, m, CH_2], 3,08-3,25 [6H, m, CH_2], 3,37-3,43 [1H, m, CH_2], 3,53-3,57 [1H, m, CH_2], 3,69-3,75 [1H, m, CH_2], 4,61-4,66 [1H, dd, CH], 6,59 [1H, s, NH], 6,84 [1H, s, NH], 6,97-6,99 [2H, d, CH], 7,16 [1H, s, NH], 7,58-7,60 [2H, d, CH].

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 459,09, encontrado 459,17.

25 Ejemplo de Síntesis L1 (g): compuesto (a10)

Se suspendió un compuesto (a9) (340 mg, 0,742 mmoles) en 1,4 ml de THF, la suspensión obtenida se enfrió con hielo y después en la suspensión enfriada con hielo, se añadieron lentamente 13,5 ml de solución de complejo borano-THF 0,95 M/THF en una atmósfera de argón, la mezcla obtenida se agitó durante una hora y después la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 24 horas. La mezcla obtenida se enfrió con hielo, y en la mezcla enfriada con hielo, se añadieron 13,5 ml de metanol, y después la mezcla obtenida se agitó durante una hora, y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. Después de eso, se añadieron 13,5 ml de metanol de nuevo al residuo, y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. En el residuo, se añadieron 13,5 ml de ácido clorhídrico concentrado, la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas y después la mezcla resultante se calentó a reflujo durante una hora. La mezcla obtenida se enfrió con hielo, y en la mezcla enfriada con hielo, se añadió una solución acuosa de hidróxido sódico 12,5 N para hacer que la mezcla fuera básica, y después la extracción se realizó con cloroformo. La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de sodio, y después el residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se purificó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida usando una solución de cloroformo : metanol : agua amoniacal al 25 % en masa (10:1:0,1) como disolvente de elución para obtener un compuesto (a10) (163 mg, 0,391 mmoles, rendimiento: 52,7 %) como un aceite amarillo.

Ejemplo de Síntesis L1 (h): compuesto (a11)

Se disolvió un compuesto (a10) (197 mg, 0,401 mmoles) en una mezcla de 2,75 ml de acetonitrilo y 0,55 ml de DMF, y en la mezcla obtenida, se añadió adicionalmente carbonato potásico (229 mg, 1,65 mmoles) y se suspendió. La suspensión obtenida se enfrió con hielo, y en la suspensión enfriada con hielo, se añadió bromoacetato de terc-butilo (229 μl , 1,40 mmoles) gota a gota en una atmósfera de argón. Después de la finalización de la adición gota a gota, la suspensión obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, la suspensión se filtró y después el disolvente se eliminó por destilación del filtrado a presión reducida. El residuo se disolvió en una pequeña cantidad de cloroformo, la solución obtenida se aplicó a TLC para fraccionamiento que tenía un espesor de 1 mm y se purificó usando una solución de cloroformo : metanol = 8:1 como disolvente de desarrollo para obtener un compuesto (a11) (306 mg, 0,403 mmoles, 100 %) como un aceite de color pardo rojizo.

$^1\text{H RMN (CDCl}_3\text{)}$: δ 0,98-1,03 [3H, t, CH_3], 1,41-1,48 [27H, m, tBu], 1,90-4,90 [27H, m, CH_2 , DOTA], 6,89-7,07 [2H, m, CH], 7,50-7,61 [2H, m, CH].

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 759,36, encontrado 759,24.

Ejemplo de síntesis L1 (i): compuesto (a12)

Se suspendió un compuesto (a11) (306 mg, 0,403 mmoles) en 2,8 ml de DMF y en la suspensión obtenida, se añadieron Pd(OAc)₂ (9,1 mg, 0,0403 mmoles), 1,2-bis(difenilfosfino)etano (24,12 mg, 0,0604 mmoles), Et₃N (168 µl, 1,21 mmoles) y alcohol bencílico (840 µl, 8,06 mmoles) y la mezcla obtenida se calentó a reflujo durante 24 horas en una atmósfera de monóxido de carbono. Después de la reacción, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, el residuo se disolvió en acetato de etilo, y después la mezcla obtenida se filtró, y el filtrado se lavó con una solución acuosa al 5 % en masa de hidrógenocarbonato sódico. La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de sodio, y después el residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se purificó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida usando cloroformo y metanol para obtener un compuesto (a12) (113 mg, 0,166 mmoles, rendimiento: 41,4 %) como un aceite de color amarillo.

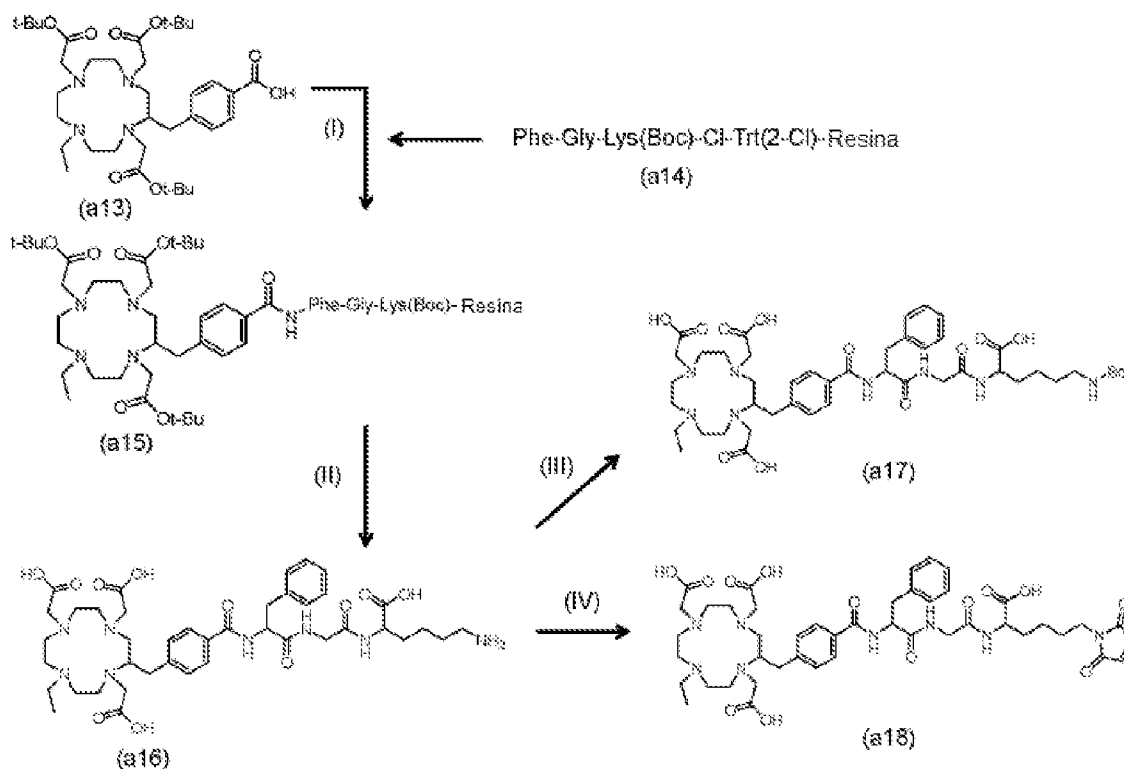
ESI-MS (M+H)⁺: m/z 767,50, encontrado 767,60.

Ejemplo de Síntesis L1 (j): compuesto (a13)

Se disolvió un compuesto (a12) (46 mg, 0,0600 mmoles) en 1 ml de metanol, y luego en la mezcla obtenida, se añadieron 100 mg de Pd/C al 10 % en masa, y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un compuesto (a13) (25,5 mg, 0,0377 mmoles, rendimiento: 62,8 %) como un aceite de color amarillo.

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 677,45, encontrado 677,62.

Ejemplo de Síntesis L2: síntesis de CDO3AEt-FGK (compuesto (a16)), igual que el compuesto 1-1 descrito anteriormente), CDO3AEt-FGK-Boc (compuesto (a17)), y CDO3AEt-FGK(Mal) (compuesto (a18)), igual que el compuesto 1-2 descrito anteriormente)



(I) DIC, HOAt, DMF; TFA : TIS : MQ = 95 : 2,5 : 2,5, 2h, (II) (Boc)₂O, dioxano, NaHCO₃ sat; (III) NaHCO₃ sat ac, (Boc)₂O, dioxano, 2h (IV) N-metoxicarbonilmaleimida, NaHCO₃ sat ac

25 Ejemplos de Síntesis L2 (I) y L2 (II): compuesto (a16)

Se disolvieron resina extendida con péptido (a14) (22 µmoles) obtenida usando un método de síntesis en fase sólida de Fmoc, 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (15,1 mg, 110 µmoles), un compuesto (a13) (15 mg, 22 µmoles) en DMF, en la mezcla obtenida, se añadió N,N'-diisopropilcarbodiimida (17,2 µl, 110 µmoles), y la mezcla resultante se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de la finalización de la reacción, la resina se lavó con DMF y CH₂Cl₂.

La resina obtenida (a15) se suspendió en una solución con una composición de ácido trifluoroacético : triisopropilsilano : agua = 95: 2,5: 2,5, y la suspensión obtenida se agitó suavemente durante 2 horas. Después de la finalización de la reacción, la resina se retiró por filtración y el filtrado se retiró por destilación a presión reducida para obtener cristales blancos. Además, mediante un método de gradiente lineal en el que se usó HPLC usando Imtakt Cadenza 5CD-C18 150 x 20 mm, se usaron TFA al 0,1 %/MilliQ para la fase A y TFA al 0,1 %/MeCN para la fase B como fases móviles, y las fases se cambiaron de fase A al 95 % y fase B al 5 % a fase A al 70 % y fase B al 30 % en el periodo de 0 a 35 minutos, y se cambiaron de fase A al 70 % y fase B al 30 % a fase A al 0 % y fase B al 100 % en el periodo de 35 a 40 minutos, la purificación se realizó a un caudal de 5 ml/min, y se obtuvo un compuesto deseado (a16) (en lo sucesivo, también denominado "CDO3AEt-FGK", 5,7 mg, 6,78 μ moles, rendimiento: 30,8 %).

5 ESI-MS (M-H): m/z 839,4, encontrado: 839,3

Ejemplo de Síntesis L2 (III): compuesto (a17)

Se disolvió un compuesto (a16) en 100 μ l de solución acuosa saturada de hidrógenocarbonato de sodio, en la mezcla obtenida, se añadieron 100 μ l de dioxano en el que se habían disuelto 1,5 equivalentes de (Boc)₂O, y la mezcla resultante se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. El dioxano se eliminó por destilación a presión reducida, y después la capa acuosa se lavó con cloroformo. Además, para la capa de agua, mediante un método de gradiente lineal en el que se usó HPLC usando Imtakt Cadenza 5CD-C18 150 x 20 mm, se usaron TFA al 0,1 %/MilliQ para la fase A y TFA al 0,1 %/MeCN para la fase B como fases móviles, la fase A se mantuvo al 100 % en el periodo de hasta 2 minutos, y después las fases se cambiaron de la fase A al 100 % y fase B al 0 % a fase A al 95 % y fase B al 5 % en el periodo de 2 a 5 minutos, se cambiaron de fase A al 95 % y fase B al 5 % a fase A al 70 % y fase B al 30 % en el periodo de 5 a 40 minutos, y se cambiaron de fase A al 70 % y fase B al 30 % a fase A al 0 % y fase B al 100 % en el periodo de 40 a 45 minutos, la purificación se realizó a un caudal de 5 ml/min, y se obtuvo un compuesto deseado (a17) (en lo sucesivo, también denominado "CDO3AEt-FGK-Boc").

15

20

ESI-MS (M-H): m/z 939,5, encontrado: 940,49

Ejemplo de Síntesis L2 (IV): compuesto (a18) CDO3AEt-FGK (Mal)

Se disolvió un compuesto (a16) (2,2 mg, 2,6 μ moles) en 200 μ l de solución acuosa saturada de hidrógenocarbonato de sodio, en la mezcla obtenida, se añadió N-metoxicarbonilmaleimida (0,8 mg, 5,2 μ moles) con enfriamiento con hielo, y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas con enfriamiento con hielo. Después de la finalización de la reacción, la mezcla obtenida se ajustó para que fuera ácida con una solución acuosa de ácido cítrico al 10 % en masa. Además, mediante un método de gradiente lineal en el que se usó HPLC usando Imtakt Cadenza 5CD-C18 150 x 20 mm, se usaron TFA al 0,1 %/MilliQ para la fase A y TFA al 0,1 %/MeCN para la fase B como fases móviles, la fase A se mantuvo al 100 % en el periodo de hasta 5 minutos, y después las fases se cambiaron de la fase A al 100 % y la fase B al 0 % a la fase A al 55 % y la fase B al 45 % en el periodo de 5 a 35 minutos, y se cambiaron de la fase A al 55 % y la fase B al 45 % a la fase A al 0 % y la fase B al 100 % en el periodo de 35 a 50 minutos, la purificación se realizó a un caudal de 5 ml/min, y se obtuvo un compuesto deseado (a18) (en lo sucesivo, también denominado "CDO3AEt-FGK (Mal)", 0,8 mg, 0,870 μ moles, rendimiento: 33,4 %).

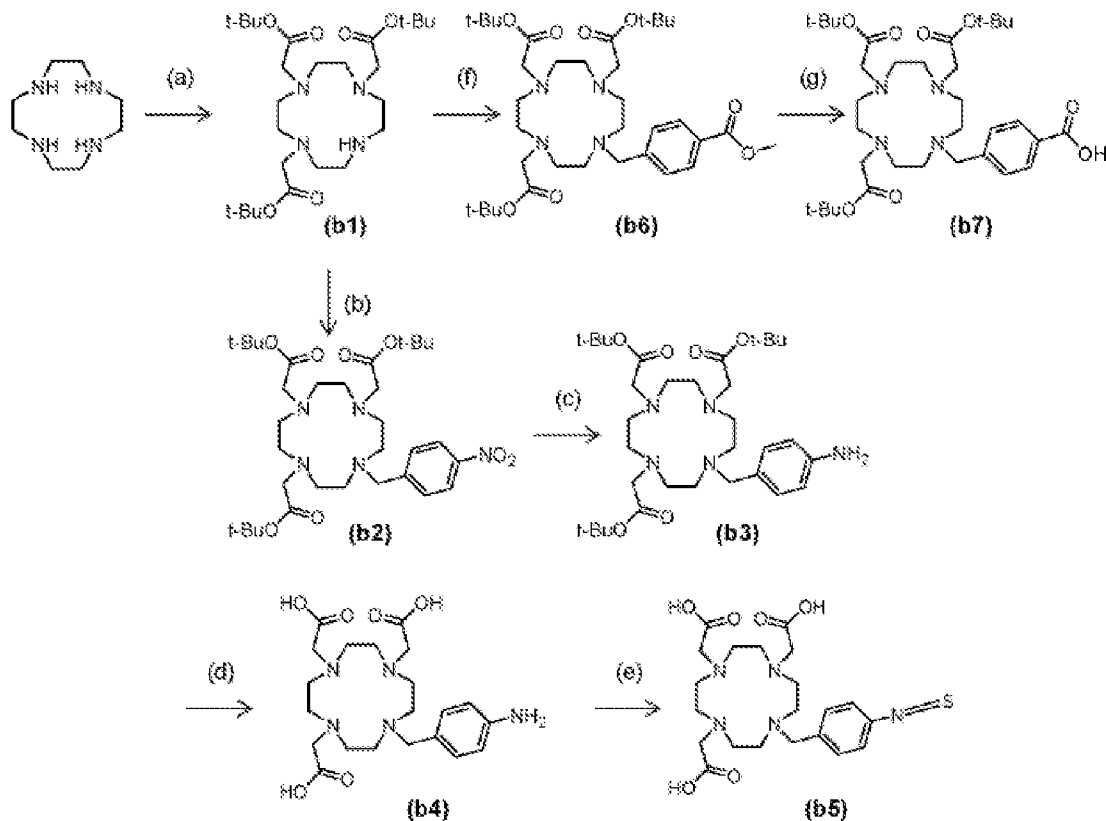
30

35

ESI-MS (M-H): m/z 919,42, encontrado: 919,45.

Síntesis de DO3A-Bn-SCN-MVK (Bzo) y DO3A-Bn-SCN-Met-OH, y DO3A-Bn-SCN-MVK (Mal)

Ejemplo de Síntesis L3: síntesis del compuesto (b5) y el compuesto (b7)



(a) bromoacetato de terc-butilo, NaHCO_3 , acetonitrilo, 43,1 %; (b) bromuro de 4-nitrobencilo, Na_2CO_3 , acetonitrilo, 98,0 %; (c) Pd/C al 10 %, metanol, NaOH 1 N, 87,2 %; (d) anisol al 10 %/TFA, 64,9 %; (e) tiofosgeno 1 M/cloroformo, 74,9 %

5 Ejemplo de Síntesis L3 (a): síntesis del compuesto (b1)

Se disolvió Cyclen (523,6 mg, 3,04 mmoles) en acetonitrilo (25 ml) y en la mezcla obtenida, se añadió NaHCO_3 (893,6 mg, 10,6 mmoles), la mezcla resultante se enfrió con hielo en una atmósfera de Ar y, a continuación, en la mezcla enfriada con hielo, se añadió gota a gota bromoacetato de terc-butilo (1,39 ml, 3,34 mmoles) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, y después la mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se retiró por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por recristalización usando tolueno para obtener un compuesto (b1) (672,4 mg, rendimiento: 43,1 %) como cristales blancos.

^1H RMN (CDCl_3): δ 1,44 (27H, s, tBu), 2,86-3,35 (22H, solapado, CH₂).

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 515,3, encontrado: 515,3.

Ejemplo de Síntesis L3 (b): síntesis del compuesto (b2)

Se disolvió un compuesto (b1) (212,9 mg, 413,6 μmoles) en acetonitrilo (4,0 ml) y en la mezcla obtenida, se añadió Na_2CO_3 (87,7 mg, 827,4 μmoles), la mezcla resultante se enfrió con hielo en una atmósfera de Ar y, a continuación, en la mezcla enfriada con hielo, se añadió gota a gota bromuro de 4-nitrobencilo (134,1 mg, 620,7 μmoles) disuelto en acetonitrilo (1,0 ml). La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 18 horas, y después la mezcla de reacción se filtró, y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando una solución de cloroformo : metanol = 10 : 1 como disolvente de elución para obtener un compuesto (b2) (263,4 mg, rendimiento: 98,0 %) como una sustancia oleosa de color amarillo.

^1H RMN (CDCl_3): δ 1,36 (27H, s, tBu), 2,06-3,58 (24H, solapado, CH₂), 7,61-7,63 (2H, d, aromático), 8,07-8,09 (2H, d, aromático).

ESI-MS (M+Na)⁺: m/z 672,4, encontrado: 672,3.

Ejemplo de Síntesis L3 (c): síntesis del compuesto (b3)

5 Se disolvió un compuesto (b2) (150 mg, 231 μ moles) en metanol (3,5 ml) y, a continuación, en la mezcla, se añadieron NaOH 1 N (0,5 ml) y Pd/C al 10 % (15,4 mg). La mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla resultante se filtró, y después el metanol se eliminó por destilación del filtrado a presión reducida, y la extracción se realizó con cloroformo (5 ml x 3). La capa orgánica se secó con la adición de Na₂SO₄ y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un compuesto (b3) (124,6 mg, rendimiento: 87,2 %) como una sustancia oleosa de color amarillo.

¹H RMN (CDCl₃): δ 1,43 (27H, s, ¹Bu), 2,85-3,35 (24H, solapado, CH₂), 6,59-6,61 (2H, d, aromático), 6,93-6,95 (2H, d, aromático).

10 ESI-MS (M+H)⁺: m/z 620,4, encontrado: 620,5.

Ejemplo de Síntesis L3 (d): síntesis del compuesto (b4)

15 Se disolvió un compuesto (b3) (124,6 mg, 201 μ moles) en anisol al 10 %/ácido trifluoroacético (TFA) (2 ml) y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y el residuo se cristalizó con la adición de éter dietílico (5 ml). Los cristales se recogieron por filtración, se lavaron con éter dietílico y después se secaron a presión reducida para obtener una sal de TFA (118,4 mg, rendimiento: 64,9 %) de un compuesto (b4) como cristales de color pardo rojizo.

¹H RMN (D₂O): δ 2,50-3,50 (24H, solapado, CH₂), 6,78-6,81 (2H, d, aromático), 7,36-7,38 (2H, d, aromático).

Ejemplo de Síntesis L3 (e): síntesis del compuesto (b5)

20 Se disolvió un compuesto (b4) (82,5 mg, 80,8 μ moles) en agua MilliQ (1 ml) y, en la mezcla, se añadió tiosfogeno 1 M/cloroformo (1 ml). La mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, y después la mezcla resultante se lavó con cloroformo (5 ml x 4). La capa acuosa se liofilizó para obtener un compuesto (b5) (57,4 mg, rendimiento: 74,9 %) como cristales de color amarillo pálido.

¹H RMN (D₂O): δ 2,50-3,65 (24H, solapado, CH₂), 7,18-7,22 (2H, d, aromático), 7,38-7,41 (2H, d, aromático).

Ejemplo de Síntesis L3 (f): síntesis del compuesto (b6)

25 Se disolvió un compuesto (b1) (100,0 mg, 194,4 μ moles) en acetonitrilo (2,0 ml) y en la mezcla obtenida, se añadió Na₂CO₃ (26,5 mg, 252,9 μ moles), la mezcla resultante se enfrió con hielo en una atmósfera de Ar y, a continuación, en la mezcla enfriada con hielo, se añadió gota a gota 4-(bromometil)benzoato de metilo (58,0 mg, 253,0 μ moles) disuelto en acetonitrilo (0,5 ml). La mezcla obtenida se agitó a 60 °C durante 18 horas, y después la mezcla resultante se filtró, y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando una solución de cloroformo : metanol = 10 : 1 como disolvente de elución para obtener un compuesto (b6) (106,1 mg, rendimiento: 82,6 %) como una sustancia oleosa de color amarillo.

¹H RMN (CDCl₃): δ 1,46 (27H, s, ¹Bu), 2,01-3,58 (24H, solapado, CH₂), 3,88 (3H, s, OCH₃), 7,53-7,55 (2H, d, aromático), 7,95-7,97 (2H, d, aromático).

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 663,4, encontrado: 663,4

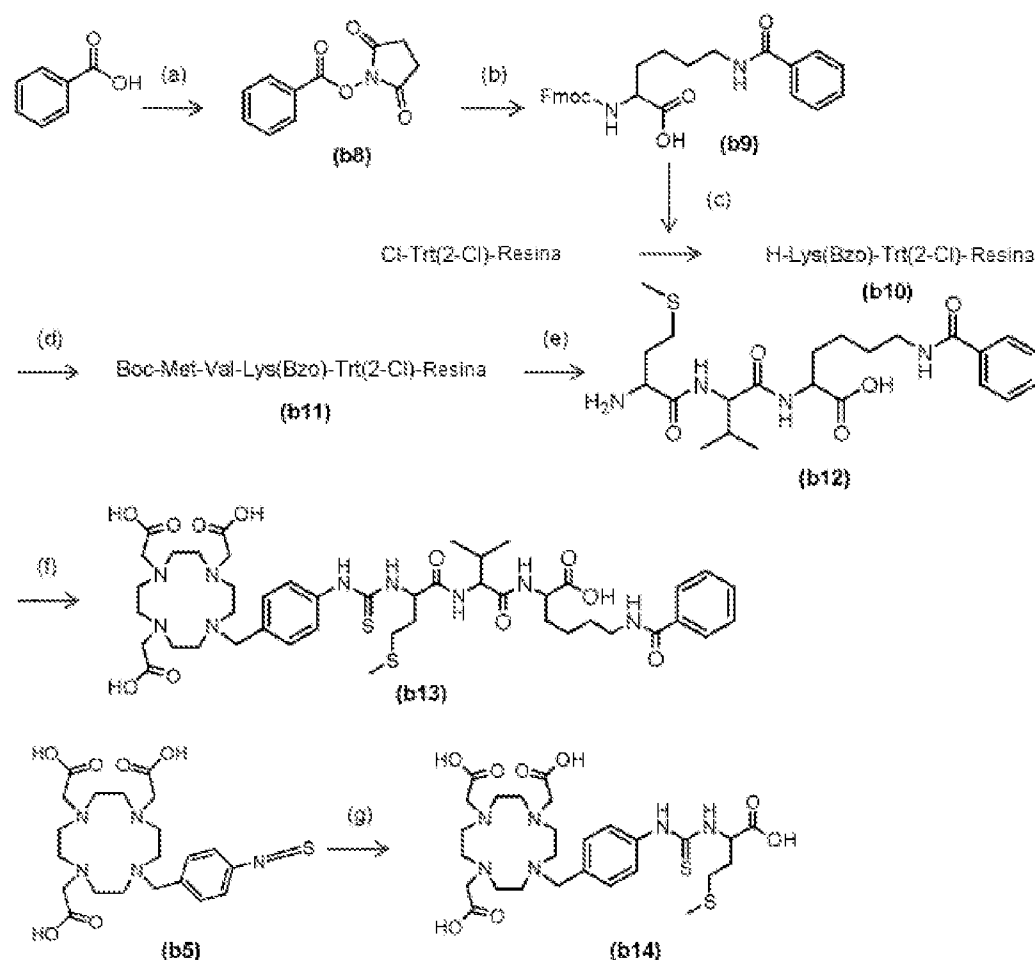
35 Ejemplo de Síntesis L3 (g): síntesis del compuesto (b7)

40 Se disolvió un compuesto (b6) (106,1 mg, 160,0 μ moles) en metanol (1 ml) y, a continuación, en la mezcla obtenida, se añadió NaOH 1 N (1 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El metanol se eliminó por destilación de la mezcla a presión reducida, y luego la extracción se realizó con cloroformo (5 ml x 3). La capa orgánica se secó con la adición de Na₂SO₄ y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un compuesto (b7) (50,5 mg, rendimiento del 48,6 %) como una sustancia oleosa de color amarillo.

¹H RMN (CDCl₃): δ 1,44 (27H, s, ¹Bu), 2,13-3,58 (24H, solapado, CH₂), 7,31-7,33 (2H, d, aromático), 8,09-8,11 (2H, d, aromático).

ESI-MS (M+Na)⁺: m/z 671,4, encontrado: 671,5

Ejemplo de Síntesis L4: síntesis de DO3A-Bn-SCN-MVK (Bzo) (compuesto (b13)) y DO3A-Bn-SCN-Met-OH (compuesto (b14))



- 5 (a) N-hidroxisuccinimida, DCC, diclorometano, 74,7 %; (b) Fmoc-Lys-OH, DIPEA, DMF, 82,0 %; (c) i. DIPEA, diclorometano; ii. metanol, DIPEA; iii. piperidina al 20 %/DMF; (d) elongación en fase sólida de Fmoc; (e) TFA:TIS:H₂O=95:2,5:2,5, 69,0 %; (f) p-SCN-Bn-DO3A, tampón borato 0,16 M pH 11,0, NaOH 0,1 N, 53,3 %; (g) metionina, tampón borato 0,16 M pH 11,0, NaOH 0,1 N, 36,2 %

Ejemplo de Síntesis L4 (a): síntesis del compuesto (b8)

- 10 Se disolvieron ácido benzoico (560 mg, 4,59 mmoles) y N-hidroxisuccinimida (NHS, 581 mg, 5,05 mmoles) en CH₂Cl₂ (15 ml), la mezcla obtenida se enfrió con hielo y luego en la mezcla enfriada con hielo, se añadió gota a gota N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 1,05 g, 5,05 mmoles) disuelta en CH₂Cl₂ (8 ml). La mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, y después la mezcla resultante se filtró, y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (10 ml) y la mezcla obtenida se lavó con NaHCO₃ saturado (10 mL x 3). La capa orgánica se secó con la adición de MgSO₄ y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un compuesto (b8) (749,7 mg, rendimiento: 74,7 %) como cristales blancos.

¹H RMN (CDCl₃): δ 2,89 (4H, s, succinimida), 7,47-7,51 (2H, m, aromático), 7,64-7,68 (1H, m, aromáticos), 8,11-8,13 (2H, m, aromático).

Ejemplo de Síntesis L4 (b): síntesis del compuesto (b9)

- 20 Se disolvió Fmoc-Lys-OH (86,7 mg, 100 μmoles) en DMF (1,5 ml), y en la mezcla obtenida, se añadió N,N-diisopropiletilamina (DIPEA, 40 μl, 246 μmoles), la mezcla resultante se enfrió con hielo en una atmósfera de Ar, y después en la mezcla enfriada con hielo, se añadió gota a gota un compuesto (b8) disuelto en DMF (0,5 ml). La mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (5 ml) y la solución obtenida se lavó con ácido cítrico al 10 % en masa (5 ml x 3). La capa orgánica se secó con la adición de Na₂SO₄ y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y el residuo se purificó por fraccionamiento por TLC usando una solución de cloroformo : metanol

= 5 : 1 como disolvente de desarrollo para obtener un compuesto (b9) (82,0 mg, rendimiento: 82,0 %) como cristales blancos.

ESI-MS (M+Na)⁺: m/z 473,2, encontrado: 473,2

Ejemplo de Síntesis L4 (c): síntesis del compuesto (b10)

- 5 Usando resina Cl-Trt (2-Cl) (62,5 mg, 100 μmoles, disponible en WATANABE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) como material de partida, se hicieron reaccionar Fmoc-Lys(Bzo)-OH (47,2 mg, 100 μmoles) y DIPEA (65 μl, 400 μmoles) en diclorometano (1,5 ml) durante 1,5 horas. En la mezcla de reacción, se añadieron metanol (1,5 ml) y DIPEA (65 μl) para terminar la reacción. La resina se lavó con DMF, y después con diclorometano. La resina obtenida se secó, y luego midiendo la absorbancia a A301 de N-(9-fluorenilmetil)piperidina formada durante el tratamiento con piperidina, se cuantificó la cantidad de Fmoc-Lys(Bzo)-OH introducida en la resina (0,96 mmoles/g). En la mezcla, se añadió piperidina al 20 %/DMF (ml), y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos para preparar un compuesto (b10). Se recogió parte de la resina, y se sometió a un ensayo de Kaiser para confirmar la desprotección del grupo Nα-Fmoc.

Ejemplo de Síntesis L4 (d): síntesis del compuesto (b11)

- 15 Usando un compuesto (b10) (22,9 mg, 22,0 μmoles) como material de partida, se agitaron 2,5 equivalentes de Fmoc-Met-OH (55,0 μmoles) mediante un método de síntesis en fase sólida de Fmoc, N,N'-diisopropilcarbodiimida (DIC, 8,5 μl, 55,0 μmoles) y monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt, 8,43 mg, 55,0 μmoles) en DMF a temperatura ambiente durante 2 horas. Se recogió parte de la resina, y se sometió a un ensayo de Kaiser para confirmar la finalización de la reacción de condensación, y luego en la mezcla obtenida, se añadió piperidina al 20 %/DMF (2 ml), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se recogió parte de la resina y se sometió a un ensayo de Kaiser para confirmar la desprotección del grupo Nα-Fmoc. Además, se realizó una operación similar usando un aminoácido protegido Boc-Met-OH, y se preparó un compuesto (b11).

Ejemplo de Síntesis L4 (e): síntesis del compuesto (b12)

- 25 Un compuesto (b11) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas en una mezcla de TFA : triisopropilsilano (TIS) : H₂O = 95 : 2,5 : 2,5 (1 ml). La resina se retiró por filtración, y después en el residuo obtenido retirando por destilación el filtrado a presión reducida, se añadió éter dietílico para la recristalización. Los cristales se recogieron por filtración, se lavaron con éter dietílico y después se secaron a presión reducida para obtener una sal de TFA (9,7 mg, rendimiento: 69,0 %) de un compuesto (b12) como cristales blancos.

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 481,2, encontrado: 481,2.

- 30 Ejemplo de Síntesis L4 (f): síntesis del compuesto (b13)

- 35 Se disolvieron un compuesto (b5) (1,0 mg, 1,05 μmoles) y un compuesto (b12) (1,58 μmoles) en una solución tampón de borato 0,16 M a pH 11,0 (100 μl), y luego la mezcla obtenida se ajustó para que tuviera un pH 9,0 con NaOH 1 N. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, y después la mezcla se purificó por RP-HPLC para fraccionamiento para obtener una sal de TFA (0,8 mg, rendimiento del 53,3 %) de un compuesto (b13) (en lo sucesivo, también denominado "DO3A-Bn-SCN-MVK (Bzo)") como cristales blancos.

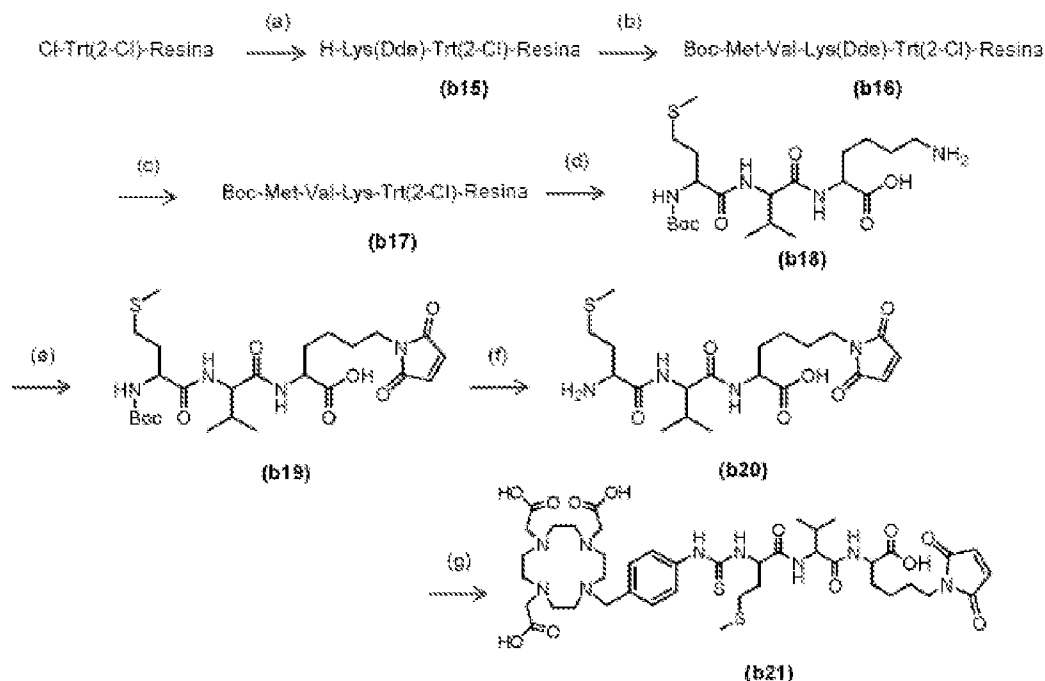
ESI-MS (M+H)⁺: m/z 974,4, encontrado: 974,4.

Ejemplo de Síntesis L4 (g): síntesis del compuesto (b14)

- 40 Usando un compuesto (b5) (5,5 mg, 5,78 μmoles) y metionina (1,29 mg, 8,67 μmoles) como materiales de partida, se realizó una operación similar a la del Ejemplo de Síntesis L4 (f), y se obtuvo una sal de TFA (2,3 mg, rendimiento: 36,2 %) de un compuesto (b14) (en lo sucesivo, también denominado "DO3A-Bn-SCN-Met-OH") como cristales blancos.

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 643,2, encontrado: 643,2

Ejemplo de Síntesis L5: síntesis de DO3A-Bn-SCN-MVK (Mal) (compuesto (b21))



- (a) i. Fmoc-Lys(Dde)-OH, DIPEA, diclorometano; ii. metanol, DIPEA; iii. piperidina al 20 %/DMF; (b) elongación en fase sólida de Fmoc; (c) hidrazina al 2 %/DMF; (d) ácido acético:TFE:CH₂Cl₂=3:1:6, 93,9 %; (e) NMCM, NaHCO₃ sat., 94,1 %; (f) HCl 4 M/AcOEt, 92,4 %; (g) p-SCN-Bn-DO3A, TEA, DMF, 33,2 %

Ejemplo de Síntesis L5 (a): síntesis del compuesto (b15)

Usando resina Cl-Trt(2-Cl) (104,4 mg, 114,8 μmoles, disponible en WATANABE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) como material de partida, se hicieron reaccionar Fmoc-Lys(Dde)-OH (61,2 mg, 114,8 μmoles) y DIPEA (81 μl, 459,2 μmoles) en diclorometano (2 ml) durante 1,5 horas. En la mezcla de reacción, se añadieron metanol y DIPEA para terminar la reacción. La resina se lavó con DMF, y después con diclorometano. De manera similar al Ejemplo de Síntesis L4 (c), se cuantificó la cantidad de Fmoc-Lys(Bzo)-OH introducida en la resina (0,769 mmoles/g). En la mezcla, se añadió piperidina al 20 %/DMF (2 ml), y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos para preparar un compuesto (b15). Se recogió parte de la resina, y se sometió a un ensayo de Kaiser para confirmar la desprotección del grupo N α -Fmoc.

Ejemplo de Síntesis L5 (b): síntesis del compuesto (b16)

Usando un compuesto (b15) (153,4 mg, 114,8 μmoles) como material de partida, se realizó una operación similar a la del Ejemplo de Síntesis L4 (d) cambiando el aminoácido protegido por Fmoc-Val-OH y por Boc-Met-OH en orden, y se obtuvo un compuesto (b16).

Ejemplo de Síntesis L5 (c): síntesis del compuesto (b17)

- Un compuesto (b16) (117,9 μmoles) se agitó a temperatura ambiente durante una hora en hidrazina al 2 %/DMF (2 ml), y después se recogió parte de la resina, y se sometió a un ensayo de Kaiser para confirmar la finalización de la reacción. La resina se lavó con DMF y después con diclorometano, y posteriormente se secó a presión reducida para obtener un compuesto (b17).

Ejemplo de Síntesis L5 (d): síntesis del compuesto (b18)

- Un compuesto (b17) se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas en una mezcla de ácido acético : 2,2,2-trifluoroetanol (TFE) : diclorometano = 3 : 1 : 6 (2 ml). La resina se retiró por filtración, y después el residuo obtenido retirando por destilación el filtrado a presión reducida se cristalizó con la adición de éter dietílico. Los cristales se recogieron por filtración, se lavaron con éter dietílico y después se secaron a presión reducida para obtener un acetato (51,4 mg, rendimiento: 93,9 %) de un compuesto (b18) como cristales blancos.

- ESI-MS (M+H)⁺: m/z 477,2, encontrado: 477,2.

Ejemplo de Síntesis L5 (e): síntesis del compuesto (b19)

5 Se disolvió un compuesto (b18) (6,60 mg, 13,9 μ moles) en NaHCO_3 sat. (100 μ l) mediante enfriamiento con hielo, y en la mezcla obtenida, se añadió N-metoxicarbonilmaleimida (NMCM, 3,22 mg, 20,8 μ moles). La mezcla obtenida se agitó durante 2 horas con enfriamiento con hielo, y después la mezcla resultante se neutralizó con la adición de ácido cítrico al 5 % en masa, y la extracción se realizó con cloroformo (5 ml x 3). El extracto se secó con la adición de Na_2SO_4 y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un compuesto (b19) (7,26 mg, rendimiento: 94,1 %) como cristales blancos.

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 557,2, encontrado: 557,2.

Ejemplo de Síntesis L5 (f): síntesis del compuesto (b20)

10 Se disolvió un compuesto (b19) (7,26 mg, 13,1 μ moles) en HCl 4 M/acetato de etilo (1 ml), la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante una hora. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y el residuo se sometió a destilación azeotrópica con hexano para obtener un hidrocloreto (5,92 mg, rendimiento: 92,4 %) de un compuesto (b20) como cristales blancos.

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 457,2, encontrado: 457,2.

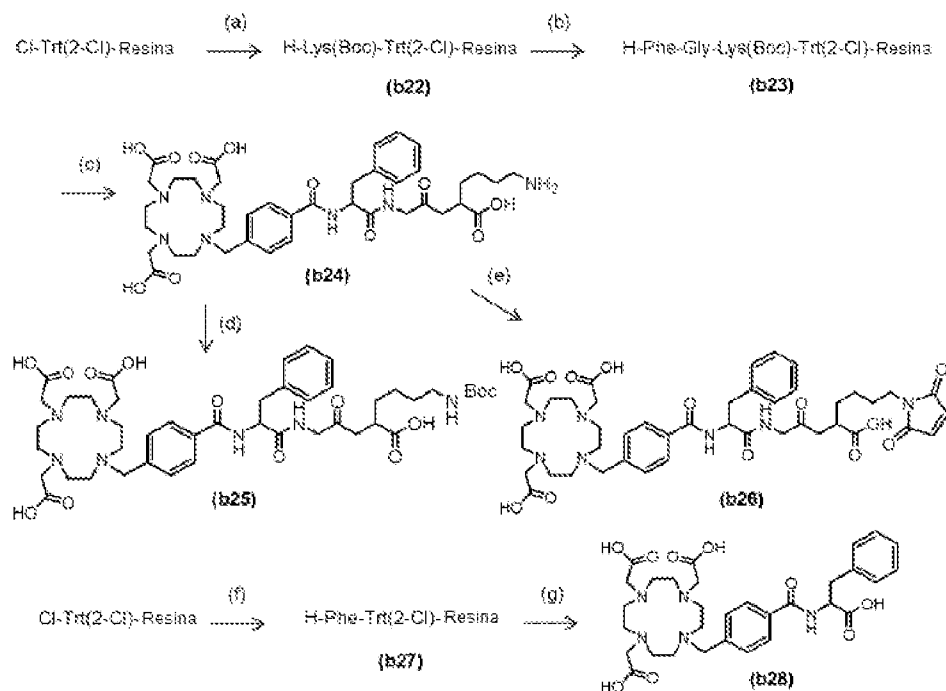
15 Ejemplo de Síntesis L5 (g): síntesis del compuesto (b21)

20 Se disolvió un hidrocloreto (3,38 mg, 4,74 μ moles) de un compuesto (b20) en DMF (100 μ l), y en la mezcla obtenida, se añadió trietilamina (TEA, 6 μ l, 43,3 μ moles). A la mezcla, se le añadió un compuesto (b5) (3,0 mg, 3,16 μ moles), y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, y después la mezcla resultante se diluyó 10 veces con H_2O , y la mezcla diluida se purificó por RP-HPLC para fraccionamiento para obtener una sal de TFA (1,5 mg, rendimiento: 33,2 %) de un compuesto (b21) (en lo sucesivo, también denominado "DO3A-Bn-SCN-MVK (Mal)") como cristales blancos.

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 972,5, encontrado: 972,5.

Síntesis de DO3A-Bn-CO-FGK, DO3A-Bn-CO-FGK (Boc), DO3A-Bn-CO-FGK (Mal) y DO3A-Bn-CO-Phe-OH

25 Ejemplo de Síntesis L6: síntesis de DO3A-Bn-CO-FGK (compuesto (b24), igual que el compuesto 1-3 descrito anteriormente), DO3A-Bn-CO-FGK (Boc) (compuesto (b25)), DO3A-Bn-CO-FGK (Mal) (compuesto (b26), igual que el compuesto 1-4 descrito anteriormente) y DO3A-Bn-CO-Phe-OH (compuesto (b28))



30 (a) i. Fmoc-Lys(Boc)-OH, DIPEA, diclorometano; ii. metanol, DIPEA; iii. piperidina al 20 %/DMF; (b) elongación en fase sólida de Fmoc; (c) i. p-COOH-Bn-DO3A, DIC, HOAt, DMF; ii. TFA:TIS:H₂O=95:2,5:2,5, 53,7 %; (d) (Boc)₂O, NaHCO_3 sat., 26,9 %; (e) NMCM, NaHCO_3 sat., 44,4 %; (f) i. Fmoc-Phe-OH, DIPEA, diclorometano; ii. metanol, DIPEA; iii. piperidina al 20 %/DMF; (g) i. p-COOH-Bn-DO3A, DIC, HOAt, DMF; ii. TFA:TIS:H₂O=95:2,5:2,5, 59,1 %

Ejemplo de Síntesis L6 (a): síntesis del compuesto (b22)

5 Usando resina de Cl-Trt(2-Cl) (22,1 mg, 24,3 μ moles, disponible en WATANABE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) como material de partida, se hicieron reaccionar Fmoc-Lys(Boc)-OH (17,1 mg, 36,5 μ moles) y DIPEA (16,5 μ l, 97,2 μ moles) en diclorometano (1 ml) durante 1,5 horas. En la mezcla de reacción, se añadieron metanol y DIPEA para terminar la reacción. La resina se lavó con DMF, y después con diclorometano. De manera similar al Ejemplo de Síntesis L4 (c), se cuantificó la cantidad de Fmoc-Lys(Boc)-OH introducida en la resina (0,884 mmoles/g). En la mezcla, se añadió piperidina al 20 %/DMF (2 ml), y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos para preparar un compuesto (b22). Se recogió parte de la resina, y se sometió a un ensayo de Kaiser para confirmar la desprotección del grupo N α -Fmoc.

10 Ejemplo de Síntesis L6 (b): síntesis del compuesto (b23)

Usando un compuesto (b22) (12,1 μ moles) como material de partida, se realizó una operación similar a la del Ejemplo de Síntesis L4 (d) cambiando el aminoácido protegido por Fmoc-Gly-OH y por Fmoc-Phe-OH en orden, y se obtuvo un compuesto (b23).

Ejemplo de Síntesis L6 (c): síntesis del compuesto (b24)

15 En un compuesto (b23) (12,1 μ moles), se añadieron un compuesto (b7) (15,7 mg, 24,2 μ moles), DIC (3,7 μ l, 24,2 μ moles) y HOAt (3,29 mg, 24,2 μ moles) y se agitaron en DMF a temperatura ambiente durante la noche. Se recogió parte de la resina, y se sometió a un ensayo de Kaiser para confirmar la finalización de la reacción de condensación, y después la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas en una mezcla de TFA : TIS : H₂O = 95 : 2,5 : 2,5 (1 ml). La resina se retiró por filtración, y después el residuo obtenido retirando por destilación el filtrado a presión reducida se cristalizó con la adición de éter dietílico. Los cristales se recogieron por filtración, se lavaron con éter dietílico y después se secaron a presión reducida para obtener una sal de TFA (9,0 mg, rendimiento: 53,7 %) de un compuesto (b24) (en lo sucesivo, también denominado "DO3A-Bn-CO-FGK") como cristales blancos.

20

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 813,4, encontrado: 813,4.

Ejemplo de Síntesis L6 (d): síntesis del compuesto (b25)

25 Se disolvió un compuesto (b24) (2,17 μ moles) en NaHCO₃ sat. (100 μ l), y luego en la mezcla obtenida, se añadió (Boc)₂O (7,1 mg, 3,26 μ moles) disuelto en dioxano (100 μ l), y la mezcla resultante se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. El dioxano se eliminó por destilación a presión reducida, y luego el residuo se lavó con cloroformo (3 ml x 3). La capa acuosa se purificó por RP-HPLC para fraccionamiento para obtener una sal de TFA (0,8 mg, rendimiento: 26,9 %) de un compuesto (b25) (en lo sucesivo, también denominado "DO3A-Bn-CO-FGK (Boc)") como cristales blancos.

30

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 913,5, encontrado: 913,5.

Ejemplo de Síntesis L6 (e): síntesis del compuesto (b26)

35 Se disolvió un compuesto (b24) (2,17 μ moles) en NaHCO₃ sat. (100 μ l), y luego la mezcla obtenida se enfrió con hielo, y en la mezcla enfriada con hielo, se añadió NMCM (0,5 mg, 3,26 μ moles). La mezcla obtenida se agitó durante 2 horas enfriando con hielo, y después la mezcla resultante se purificó por RP-HPLC para fraccionamiento para obtener una sal de TFA (1,3 mg, rendimiento: 44,4 %) de un compuesto (b26) (en lo sucesivo, también denominado "DO3A-Bn-CO-FGK (mal)") como cristales blancos.

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 893,4, encontrado: 893,4.

Ejemplo de Síntesis L6 (f): síntesis del compuesto (b27)

40 Usando resina Cl-Trt(2-Cl) (5 mg, 5,50 μ moles, disponible en WATANABE CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) como material de partida, se hicieron reaccionar Fmoc-Phe-OH (6,01 μ moles) y DIPEA (3,73 μ l, 21,9 μ moles) en diclorometano (0,5 ml) durante 1,5 horas. En la mezcla de reacción, se añadieron metanol y DIPEA para terminar la reacción. La resina se lavó con DMF, y después con diclorometano. De manera similar al Ejemplo de Síntesis L4 (c), se cuantificó la cantidad de Fmoc-A.A.-OH introducida en la resina (0,917 mmoles/g). En la mezcla, se añadió piperidina al 20 %/DMF (2 ml), y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos para preparar un compuesto (b27). Se recogió parte de la resina, y se sometió a un ensayo de Kaiser para confirmar la desprotección del grupo N α -Fmoc.

45

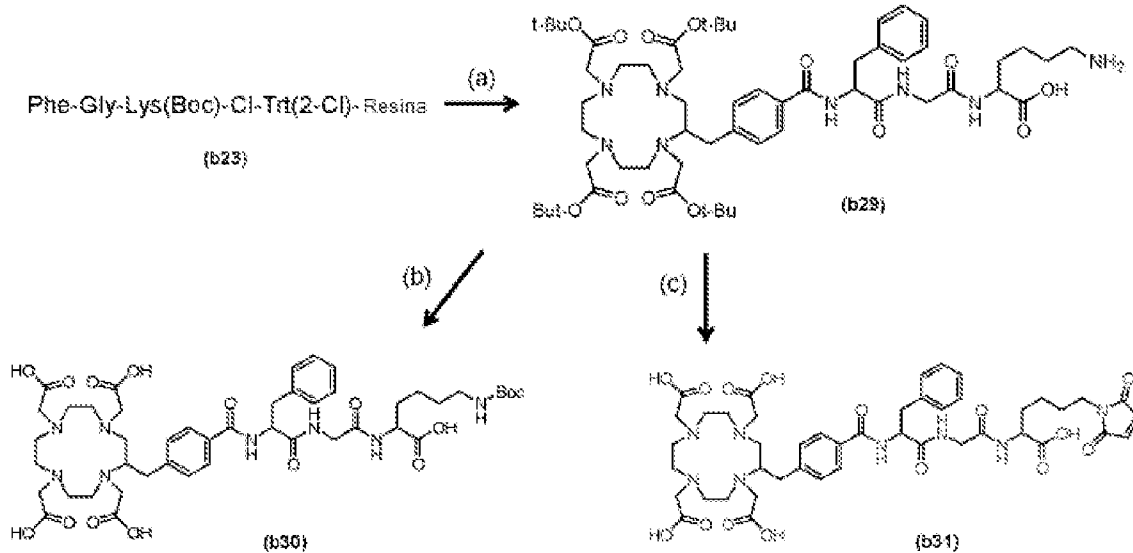
Ejemplo de Síntesis L6 (g): síntesis del compuesto (b28)

50 Usando un compuesto (b27) (5,5 μ moles) como material de partida, se realizó una operación similar a la del Ejemplo de Síntesis L6 (c), y se obtuvo una sal de TFA (4,5 mg, rendimiento: 59,1 %) de un compuesto (b28) (en lo sucesivo, también denominado "DO3A-Bn-CO-Phe-OH") como cristales blancos.

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 628,3, encontrado: 628,3.

Síntesis de CDOTA-Bn-CO-FGK, CDOTA-Bn-CO-FGK (Boc) y CDOTA-Bn-CO-FGK (Mal)

Ejemplo de Síntesis L7: síntesis de CDOTA-Bn-CO-FGK (compuesto (b29)), CDOTA-Bn-CO-FGK (Boc) (compuesto (b30)) y CDOTA-Bn-CO-FGK (Mal) (compuesto (b31))



- 5 (a) i. p-COOH-Bn-DOTA(tBu)₄, DIC, HOAt, DMF; ii. TFA:TIS:H₂O=95:2,5:2,5, 1,3 %; (d) (Boc)₂O, NaHCO₃ sat., %; (e) NMCM, NaHCO₃ sat., 61,4 %

Ejemplo de Síntesis L7 (a): síntesis del compuesto (b29)

- 10 Usando p-COOH-Bn-DOTA(tBu)₄ (52,4 μmoles) como material de partida, se realizó una operación similar a la del Ejemplo de Síntesis L6 (c), y se obtuvo una sal de TFA (2,4 mg, rendimiento: 1,3 %) de un compuesto (b29) (en lo sucesivo, también denominado "CDOTA-Bn-CO-FGK") como cristales blancos.

ESI-MS ([M+K]-H)⁻: m/z 907,36, encontrado: 907,31.

Ejemplo de Síntesis L7 (b): síntesis del compuesto (b30)

- 15 Usando un compuesto (b29) (5,75 μmoles) como material de partida, se realizó una operación similar a la del Ejemplo de Síntesis L6 (d), y se obtuvo una sal de TFA (0,4 mg, rendimiento: 71,8 %) de un compuesto (b30) (en lo sucesivo, también denominado "CDOTA-Bn-CO-FGK (Boc)") como cristales blancos.

ESI-MS ([M+K]-H)⁻: m/z 1.007,41, encontrado: 1.007,31.

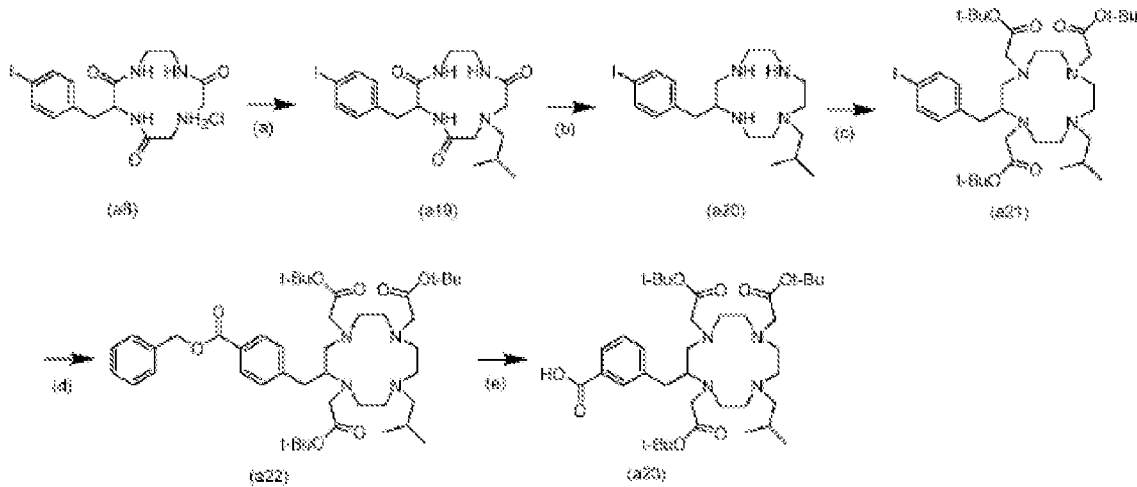
Ejemplo de Síntesis L7 (c): síntesis del compuesto (b31)

- 20 Usando un compuesto (b29) (0,694 μmoles) como material de partida, se realizó una operación similar a la del Ejemplo de Síntesis L6 (e), y se obtuvo una sal de TFA (0,6 mg, rendimiento: 61,4 %) de un compuesto (b31) (en lo sucesivo, también denominado "CDOTA-Bn-CO-FGK (mal)") como cristales blancos.

ESI-MS (M-H)⁻: m/z 949,39, encontrado: 949,43.

Síntesis de CDO3AiBu-FGK (Boc), CDO3AiBu-FGK (mal) y CDO3AiBu-Phe

Ejemplo de Síntesis L8: síntesis del compuesto (a23)



- 5 (a) isobutilaldehído, triacetoxiborohidruro de sodio, THF, 42,4 %; (b) $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ 1M, THF 74,7 %; (c) bromoacetato de *tert*-butilo, Na_2CO_3 , acetonitrilo, 58,8 %; (d) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 1,2-bis(difenilfosfino)etano, Et_3N , CO, BnOH, DMF, 25,5 %; (j) Pd/C al 10 %, MeOH, 48,8 %.

Ejemplo de Síntesis L8 (a): síntesis del compuesto (a19)

Se disolvió un compuesto (a8) (913 mg, 1,96 mmoles) en THF (20 ml) y en la mezcla obtenida, se añadieron isobutilaldehído (357 μl , 3,91 mmoles) y triacetoxiborohidruro de sodio (498 mg, 2,35 mmoles) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche en una atmósfera de Ar. En la mezcla, se añadieron isobutilaldehído (179 μl , 1,96 mmoles) y triacetoxiborohidruro de sodio (249 mg, 1,18 mmoles) y después la mezcla obtenida se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió con hielo, se añadió agua, y después la extracción se realizó con cloroformo tres veces a partir de la solución acuosa obtenida eliminando por destilación el THF a presión reducida. La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de sodio, y después el residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se formó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida usando cloroformo y metanol para obtener un compuesto (a19) (403 mg, 829 μmoles , 42,4 %) como cristales blancos.

20 ^1H RMN (CDCl_3): δ 0,92-0,95 (6H, m, CH_3), 1,68-1,71 (1H, m, CH), 2,40-2,44 (2H, m, CH_2), 2,82-3,30 (8H, solapado, CH_2), 3,61-3,74 (2H, m, CH_2), 4,58-4,62 (1H, m, CH), 6,48 (1H, s, NH), 6,66 (1H, s, NH), 6,96-6,98 (2H, d, CH_2), 7,56-7,58 (2H, d, CH_2), 8,00 (1H, s, NH).

ESI-MS ($\text{M}+\text{H}^+$): m/z 487,12, encontrado: 487,18.

Ejemplo de Síntesis L8 (b): síntesis del compuesto (a20)

Se suspendió un compuesto (a19) (403 mg, 829 μmoles) en 2 ml de THF, la suspensión obtenida se enfrió con hielo y, a continuación, en la suspensión enfriada con hielo, se añadieron lentamente 13 ml de solución de complejo borano-THF 0,95 M/THF en una atmósfera de argón, la mezcla obtenida se agitó durante una hora y, a continuación, la mezcla se calentó a reflujo durante 22 horas. La mezcla resultante se enfrió con hielo, y en la mezcla enfriada con hielo, se añadieron 13 ml de metanol, y después la mezcla se agitó durante una hora, y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. Después de eso, se añadieron 13 ml de metanol de nuevo al residuo, y el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. Al residuo, se le añadieron 13 ml de ácido clorhídrico concentrado, la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas y después la mezcla se calentó a reflujo durante una hora. La mezcla resultante se enfrió con hielo, y en la mezcla enfriada con hielo, se añadió una solución acuosa de hidróxido sódico 12,5 N para hacer que la mezcla fuera básica, y después la extracción se realizó con cloroformo. La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de sodio, y después el residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se purificó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida usando una solución de cloroformo : metanol : agua amoniacal al 25 % en masa (10:1:0,1) como disolvente de elución para obtener un compuesto (a20) (275 mg, 619 μmoles , rendimiento: 74,7 %) como un aceite amarillo.

35 ^1H RMN (CDCl_3): δ 0,89-0,92 (6H, m, CH_3), 1,80-1,84 (1H, m, CH), 2,06-2,89 (19H, solapado, CH , CH_2), 6,92-6,94 (2H, d, CH_2), 7,58-7,60 (2H, d, CH_2).

Ejemplo de Síntesis L8 (c): síntesis del compuesto (a21)

5 Se suspendió un compuesto (a20) (275 mg, 619 μ moles) en 2 ml de acetonitrilo, y en la mezcla obtenida, se añadió carbonato de sodio (428 mg, 3,10 mmoles). La mezcla obtenida se enfrió con hielo, y en la mezcla enfriada con hielo, se añadió bromoacetato de terc-butilo (272 μ l, 1,86 mmoles) gota a gota en una atmósfera de argón. Después de la finalización de la adición gota a gota, la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, la suspensión se filtró y después el disolvente se eliminó por destilación del filtrado a presión reducida. El residuo se formó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida usando cloroformo y metanol para obtener un compuesto (a21) (286 mg, 364 μ moles, 58,8 %) como un aceite amarillo.

10 ^1H RMN (CDCl_3): δ 0,86-0,89 (6H, m, CH_3), 1,41-1,50 (27H, m, tBu), 1,86-3,90 (26H, solapado, CH , CH_2), 6,99-7,01 (2H, d, CH_2), 7,59-7,61 (2H, d, CH_2). ESI-MS ($\text{M}+\text{H}^+$): m/z 787,39, encontrado: 787,45.

Ejemplo de Síntesis L8 (d): síntesis del compuesto (a22)

15 Se suspendió un compuesto (a21) (286 mg, 364 μ moles) en 3,0 ml de DMF y en la suspensión obtenida, se añadieron $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (16,3 mg, 0,0728 mmoles), 1,2-bis(difenilfosfino)etano (58,0 mg, 0,146 mmoles), Et_3N (156 μ l, 1,12 mmoles) y alcohol bencílico (753 μ l, 7,28 mmoles) y la mezcla obtenida se calentó a reflujo durante una noche en una atmósfera de monóxido de carbono. Después de la reacción, el residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida se purificó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida usando cloroformo y metanol para obtener un compuesto (a22) (73,8 mg, 92,8 μ moles, rendimiento: 25,5 %) como un aceite amarillo.

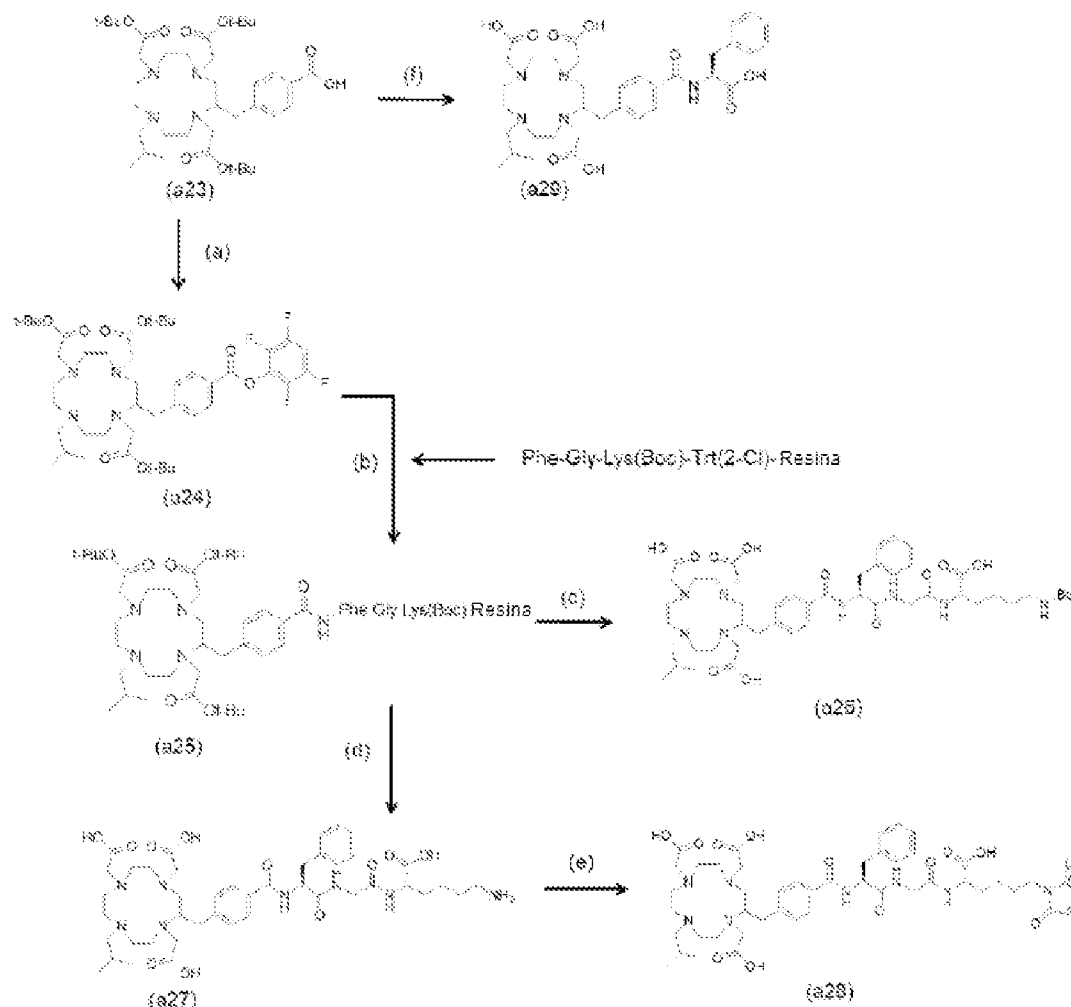
ESI-MS ($\text{M}+\text{H}^+$): m/z 795,53, encontrado: 795,40.

Ejemplo de Síntesis L8 (e): síntesis del compuesto (a23)

20 Se disolvió un compuesto (a22) (73,8 mg, 92,8 μ moles) en 1,5 ml de metanol y, a continuación, en la mezcla obtenida, se añadieron 150 mg de Pd/C al 10 % en masa y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un compuesto (a23) (31,9 mg, 45,3 μ moles, rendimiento: 48,8 %) como cristales blancos.

25 ESI-MS ($\text{M}+\text{H}^+$): m/z 705,48, encontrado: 705,40.

Ejemplo de Síntesis L9: síntesis del compuesto (a28)



(a) 2,3,5,6-tetrafluorofenol, EDC, Et₃N, DMF, 68,9 %; (b) Phe-Gly-Lys(Boc)-Trt(2-Cl)-Resina, DIEA, DMF; (c) AcOH : 2,2,2-trifluoroetanol : CH₂Cl₂ = 3 : 1 : 6, 2,1 %; (d) TFA : TIS : agua = 95 : 2,5 : 2,5, 6,4 %; (e) N-metoxicarbonilmaleimida, NaHCO₃, 45,5 %; (f) i) H-Phe-OtBu HCl, COMU, DIEA, DMF, ii) anisol al 10 %/TFA, 2,3 %.

5

Ejemplo de Síntesis L9 (a): síntesis del compuesto (a24)

Se disolvió un compuesto (a23) (23,7 mg, 33,6 μmoles) en 0,9 ml de DMF y, a continuación, en la mezcla obtenida, se añadieron 2,3,5,6-tetrafluorofenol (8,4 mg, 50,6 μmoles) y trietilamina (9,3 μl, 66,9 μmoles). La mezcla resultante se enfrió con hielo, y en la mezcla enfriada con hielo, se añadió EDC (9,6 mg, 50,6 μmoles), y después la mezcla obtenida se devolvió a temperatura ambiente, y se agitó durante 4 horas. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y después el residuo se disolvió en acetato de etilo, y la mezcla obtenida se lavó tres veces con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio. La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de sodio, y después el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida para obtener un compuesto (a24) (18,3 mg, 23,2 μmoles, rendimiento: 68,9 %) como un aceite amarillo.

10

Ejemplos de Síntesis L9 (b) y L9 (c): síntesis del compuesto (a26)

Una resina extendida con péptido (64,0 mg, 57,6 μmoles) obtenida mediante el uso de un método de síntesis en fase sólida Fmoc, N,N-diisopropiletilamina (23,6 μl, 135 μmoles) y un compuesto (a24) (18,3 mg, 23,2 μmoles) se disolvieron en DMF y la mezcla obtenida se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de la finalización de la reacción, la resina se lavó con DMF y CH₂Cl₂.

20

La resina obtenida (a25) se suspendió en una solución con una composición de ácido acético : 2,2,2-trifluoroetanol : diclorometano = 3 : 1 : 6, y la suspensión obtenida se agitó suavemente durante 2 horas. Después de la finalización de la reacción, la resina se retiró por filtración, el filtrado se retiró por destilación a presión reducida y el residuo se azeotropó tres veces con tolueno. Para el residuo, mediante un método de gradiente lineal en el que se usó HPLC usando Imtakt Cadenza 5CD-C18 150 x 20 mm, se usaron TFA al 0,1 %/MilliQ para la fase A y TFA al 0,1 %/MeCN

para la fase B como fases móviles, y las fases se cambiaron de fase A al 95 % y fase B al 5 % a fase A al 50 % y fase B al 50 % en el período de 0 a 35 minutos, y se cambiaron de fase A al 50 % y fase B al 50 % a fase A al 0 % y fase B al 100 % en el período de 35 a 45 minutos, la purificación (tiempo de retención: 34,7 minutos) se realizó a un caudal de 5 ml/min, y se obtuvo un compuesto deseado (a26) (en lo sucesivo, también denominado "CDO3AiBu-FGK (Boc)", 1,0 mg, 0,70 μ moles, rendimiento: 2,1 %).

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 969,53, encontrado: 969,51.

Ejemplo de Síntesis L9 (d): síntesis del compuesto (a27)

Una resina (a25) preparada de una manera similar a la anterior usando una resina extendida con péptido (48,3 mg, 43,4 μ moles) obtenida usando un método de síntesis en fase sólida de Fmoc, N,N-diisopropiletilamina (17,8 μ l, 102 μ moles) y un compuesto (a24) (18,3 mg, 17,5 μ moles) se suspendió en una solución con una composición de ácido trifluoroacético : triisopropilsilano : agua = 95 : 2,5 : 2,5, y la suspensión obtenida se agitó suavemente durante 2 horas. Después de la finalización de la reacción, la resina se retiró por filtración, el filtrado se retiró por destilación a presión reducida y el residuo se azeotropó tres veces con tolueno. Para los cristales blancos obtenidos mediante liofilización de una solución acuosa que se había obtenido disolviendo el residuo en agua y lavando la mezcla obtenida tres veces con éter dietílico, mediante un método de gradiente lineal en el que se usó HPLC usando Imtakt Cadenza 5CD-C18 150 x 20 mm, se usaron TFA al 0,1 %/MilliQ para la fase A y TFA al 0,1 %/MeCN para la fase B como fases móviles, y las fases se cambiaron de la fase A al 95 % y la fase B al 5 % a la fase A al 50 % y la fase B al 50 % en el período de 0 a 35 minutos, y se cambiaron de la fase A al 50 % y la fase B al 50 % a la fase A al 0 % y la fase B al 100 % en el período de 35 a 45 minutos, la purificación (tiempo de retención: 24,8 minutos) se realizó a un caudal de 5 ml/min, y se obtuvo un compuesto deseado (a27) (en lo sucesivo, también denominado "CDO3AiBu-FGK", 1,8 mg, 1,25 μ moles, rendimiento: 6,4 %). ESI-MS (M+H)⁺: m/z 869,48, encontrado: 869,38.

Ejemplo de Síntesis L9 (e): ejemplo de síntesis del compuesto (a28)

Se disolvió un compuesto (a27) (1,8 mg, 2,6 μ moles) en 150 μ l de solución acuosa saturada de hidrógenocarbonato de sodio, en la mezcla obtenida, se añadió N-metoxicarbonilmaleimida (1,0 mg, 6,5 μ moles) con enfriamiento con hielo, y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas con enfriamiento con hielo. Después de la finalización de la reacción, la mezcla se ajustó para que fuera ácida con una solución acuosa de ácido cítrico al 5 % en masa. Además, mediante un método de gradiente lineal en el que se usó HPLC usando Imtakt Cadenza 5CD-C18 150 x 20 mm, se usaron TFA al 0,1 %/MilliQ para la fase A y TFA al 0,1 %/MeCN para la fase B como fases móviles, la fase A se mantuvo al 100 % en el período de hasta 5 minutos, y después las fases se cambiaron de la fase A al 100 % y la fase B al 0 % a la fase A al 40 % y la fase B al 60 % en el período de 5 a 35 minutos, y se cambiaron de la fase A al 40 % y de la fase B al 60 % a la fase A al 0 % y la fase B al 100 % en el período de 35 a 50 minutos, la purificación (tiempo de retención: 30,7 minutos) se realizó a un caudal de 5 ml/min, y se obtuvo un compuesto deseado (a28) (en lo sucesivo, también denominado "CDO3AiBu-FGK (Mal)", 0,8 mg, 0,57 μ moles, rendimiento: 45,5 %).

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 949,47, encontrado: 949,36.

Ejemplo de Síntesis L9 (f): síntesis del compuesto (a29)

Se disolvió un compuesto (a23) (2,7 mg, 3,83 μ moles) en DMF (0,3 ml), y en la mezcla obtenida, se añadieron H-Phe-OtBu-HCl (1,5 mg, 5,75 μ moles), N,N-diisopropiletilamina (2,9 μ l, 17,2 μ moles), y hexafluorofosfato de (1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenaminoxi)dimetilamino-morfolino-carbenio (4,9 mg, 11,5 μ moles), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y después el residuo se volvió a disolver en acetato de etilo, la mezcla obtenida se lavó tres veces con una solución acuosa de hidrógenocarbonato de sodio al 5 % en masa y tres veces más con una solución acuosa de ácido cítrico al 5 % en masa. La capa orgánica se secó con la adición de sulfato de sodio, y después en el residuo obtenido mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida, se añadió una solución de anisol al 10 % en masa/TFA (2,0 ml), y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida, y después el residuo se azeotropó tres veces con tolueno. Para los cristales blancos obtenidos mediante la eliminación por destilación del disolvente a presión reducida a partir de una solución acuosa que se había obtenido disolviendo el residuo en agua y lavando la mezcla obtenida tres veces con éter dietílico, mediante un método de gradiente lineal en el que se usó HPLC usando Imtakt Cadenza 5CD-C18 150 x 20 mm, se usaron TFA al 0,1 %/MilliQ para la fase A y TFA al 0,1 %/MeCN para la fase B como fases móviles, y las fases se cambiaron de fase A al 100 % y fase B al 0 % a fase A al 40 % y fase B al 60 % en el período de 0 a 30 minutos, y se cambiaron de fase A al 40 % y fase B al 60 % a fase A al 0 % y fase B al 100 % en el período de 30 a 35 minutos, la purificación (tiempo de retención: 25,2 minutos) se realizó a un caudal de 5 ml/min, y se obtuvo un compuesto deseado (a29) (en lo sucesivo, también denominado "CDO3AiBu-Phe", 0,1 mg, 8,8 μ moles, rendimiento: 2,3 %).

ESI-MS (M+H)⁺: m/z 684,36, encontrado: 684,27

Preparación de Fab unido a reactivo quelante bifuncional

Ejemplo de Síntesis F1: preparación de Fab (derivado de IgG de suero de conejo) e IT-Fab (derivado de IgG de suero de conejo)

(Preparación de Fab (derivado de IgG de suero de conejo))

5 Se disolvió IgG de suero de conejo (9 mg) en 1,5 ml de solución tampón fosfato 20 mM (pH 7,0) que contenía Na₂EDTA 10 mM y cisteína 20 mM, y en la mezcla obtenida, se añadieron 500 µl de suspensión al 50 % de papaína inmovilizada (disponible en Thermo Fisher Scientific K.K., Yokohama, Japón), y la mezcla resultante se incubó a 37 °C durante 42 horas. Después de la finalización de la reacción, en la mezcla, se añadieron 2 ml de solución tampón de tris-ácido clorhídrico 10 mM (pH 7,5), la mezcla obtenida se filtró mediante un filtro de 0,45 µm y el filtrado se recuperó. El filtrado recuperado se reemplazó con una solución tampón de fosfato 20 mM (pH 7,0) usando una membrana de ultrafiltración de 10 kDa, y la mezcla resultante se concentró hasta 1 ml. Después de eso, la mezcla concentrada se purificó usando una columna de proteína A para obtener Fab. La formación del Fab obtenido se confirmó mediante SE-HPLC eluyendo a un caudal de 1,0 ml/min usando una solución de tampón de fosfato 0,1 M (pH 6,8) como disolvente de elución, y la concentración se calculó midiendo a A280.

15 (Preparación de IT-Fab (derivado de IgG de suero de conejo))

Se preparó una solución de Fab (100 µl, 5 mg/ml) usando una solución de tampón de borato 0,16 M que contenía EDTA 2 mM (pH 8,0) que se había desgasificado suficientemente, y en la solución de Fab preparada, se añadió 2-iminotiolano (2-IT) (5 µl, 2,88 mg/ml) disuelto en la misma solución tampón en porciones de 1 µl mientras se agitaba, y la mezcla obtenida se agitó suavemente a 37 °C durante 30 minutos. Después de la reacción, mediante un método de columna de centrifugación (Analytical Biochemistry, 1984, 142, 68-78) usando Sephadex G-50 Fine equilibrada con una solución de tampón de fosfato 0,1 M que contenía EDTA 2 mM (pH 6,0) que se había desgasificado suficientemente, se retiró el exceso de 2-IT en la mezcla de reacción y se obtuvo una solución de IT-Fab (derivado de IgG de suero de conejo). El número de grupos tiol introducidos por molécula de Fab se midió usando disulfuro de 2,2'-dipiridilo (Archives of Biochemistry and Biophysics, 1967, 119, 41-49).

25 Ejemplo de Síntesis F2: preparación de Fab (derivado de IgG anti-c-kit) e IT-Fab (derivado de IgG anti-c-kit)

De manera similar al Ejemplo de Síntesis F1, excepto que la IgG de suero de conejo (9 mg) se cambió por IgG anti-c-kit (9 mg), se prepararon Fab (derivado de IgG anti-c-kit) e IT-Fab (derivado de IgG anti-c-kit).

Preparación de ligando unido a Fab

30 Ejemplo de Síntesis: preparación de CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), DO3A-EDA-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), DO3A-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) y CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit)

35 En una solución de IT-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) (100 µl), se añadió CDO3AEt-FGK (Mal) disuelto en H₂O (5 µl, 20 equivalentes al grupo tiol) en porciones de 1 µl, y la mezcla obtenida se hizo reaccionar a 37 °C durante 2 horas. A continuación, se preparó una solución de yodoacetamida usando una solución de tampón de fosfato 0,1 M (pH 6,0), se añadieron 500 equivalentes de la solución de yodoacetamida preparada a los grupos tiol remanentes, y después la mezcla se hizo reaccionar a 37 °C durante una hora para alquilar los grupos tiol sin reaccionar. Después de eso, la mezcla resultante se purificó mediante un método de columna de centrifugación usando Sephadex G-50 Fine equilibrada con una solución de tampón de acetato 0,25 M (pH 5,5) para obtener una solución de CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo). El número de unidades derivadas de CDO3AEt-FGK (Mal) introducidas por molécula de Fab se determinó restando el número de tioles previamente determinado del número de tioles medido usando DPS antes de añadir la yodoacetamida (Archives of Biochemistry and Biophysics, 1967, 119, 41-49).

45 De manera similar a lo anterior, excepto que el CDO3AEt-FGK (Mal) se cambió a cada uno de DO3A-EDA (Mal), DO3A-Bn-SCN-MVK (Mal), DO3A-Bn-CO-FGK (Mal) y CDO3AiBu-FGK (Mal), se obtuvieron una solución de DO3A-EDA-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de DO3A-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), y una solución de CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de Ig de suero de conejo), respectivamente.

50 De manera similar a la anterior, excepto que la solución de IT-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) se cambió a una solución de IT-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), se obtuvo una solución de CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit).

De manera similar a lo anterior, excepto que la solución de IT-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) se cambió a una solución de IT-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), y la CDO3AEt-FGK (Mal) se cambió a CDOTA-Bn-CO-FGK (Mal), se obtuvo una solución de CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit).

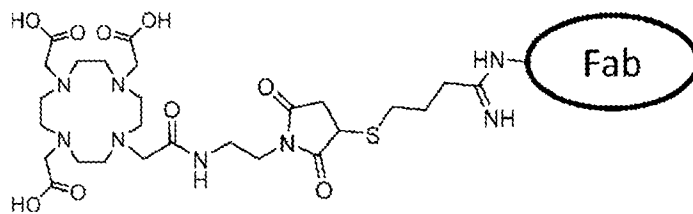
De manera similar a lo anterior, excepto que la solución de IT-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) se cambió a una solución de IT-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), y la CDO3AEt-FGK (Mal) se cambió a CDO3AiBu-FGK (Mal), se obtuvo una solución de CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit).

Ejemplo de Síntesis: preparación de DOTA-Bn-SCN-Fab (derivado de IgG anti-c-kit)

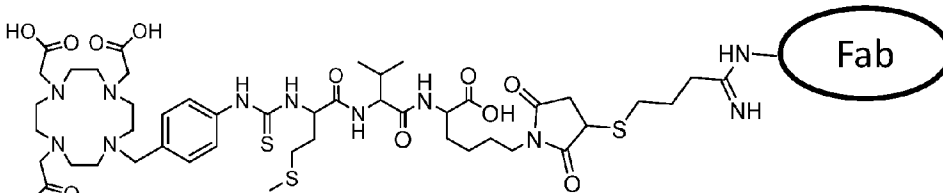
- 5 Se preparó una solución de Fab (100 μ l, 5,0 mg/ml) usando una solución de tampón de borato 0,16 M (pH 8,5), y en la solución de Fab obtenida, se añadió DOTA-Bn-SCN (disponible en Macrocyclics, Inc., EE. UU., 14 μ l, 10 mg/ml) disuelto en la misma solución tampón, y la mezcla obtenida se dejó reposar a 4 °C durante la noche. Después de la reacción, mediante un método de columna de centrifugación usando Sephadex G-50 Fine equilibrada con una solución de tampón de acetato 0,25 M (pH 5,5) que se había desgasificado suficientemente, se retiró el exceso de DOTA-Bn-SCN y se obtuvo DOTA-Bn-SCN-Fab (derivado de IgG anti-c-kit).
- 10

A este respecto, las estructuras químicas de los CDO3AEt-FGK-Fab, DO3A-Bn-CO-FGK-Fab, CDO3AiBu-FGK-Fab descritos anteriormente son como se han descrito anteriormente. Además, las estructuras químicas de DO3A-EDA-Fab, DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab y DOTA-Bn-SCN-Fab son las siguientes.

DO3A-EDA-Fab

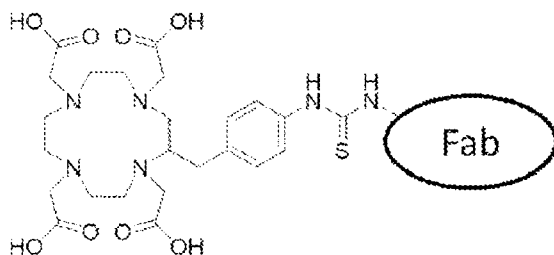


DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab



15

DOTA-Bn-SCN-Fab



Preparación del compuesto de complejo metálico

- 20 Ejemplo de Síntesis: preparación de ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), ^{111}In -DO3A-EDA-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ^{111}In -CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), ^{111}In -DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ^{111}In -DO3A-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ^{111}In -CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ^{111}In -CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), ^{111}In -DOTA-Bn-SCN-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), ^{111}In -CDO3AEt-FGK(Boc), ^{111}In -CDOTA-Bn-CO-FGK(Boc), ^{111}In -DO3A-Bn-SCN-MVK(Bzo), y ^{111}In -DO3A-Bn-CO-FGK(Boc)

- 25 Se mezcló $^{111}\text{InCl}_3$ (45 μ l) en una solución de tampón de acetato 1 M (pH 5,5, 5 μ l), y la mezcla obtenida se dejó reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos. En la mezcla resultante, se mezcló una solución de CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) (30 μ l) y, a continuación, la mezcla obtenida se incubó a 40 °C durante 90 minutos. En la mezcla incubada, se añadió DTPA de manera que tuviera una concentración final de 10 mM, y después la mezcla obtenida se dejó reposar a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla resultante se purificó mediante un método de columna de centrifugación usando Sephadex G-50 Fine equilibrada con D-PBS 0,1 M (pH 7,4) para preparar ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab. De manera similar a lo anterior, excepto que la solución de CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) se cambió por cada uno de una solución de CDO3AEt-FGK-Fab (derivado
- 30

de IgG anti-c-kit), una solución de DO3A-EDA-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), una solución de DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de DO3A-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de DOTA-Bn-SCN-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), una solución de CDO3AEt-FGK(Boc), una solución de CDOTA-Bn-CO-FGK(Boc), una solución de DO3A-Bn-SCN-MVK(Bzo), y una solución de DO3A-Bn-CO-FGK(Boc), se prepararon ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), ¹¹¹In-DO3A-EDA-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), ¹¹¹In-DOTA-Bn-SCN-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK(Boc), ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK(Boc), ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK(Bzo), y ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK(Boc), respectivamente.

Examen de las características

Ensayo de incubación con BBMV

(Vesículas de membrana de borde en cepillo renal)

Se prepararon vesículas de membrana de borde en cepillo renal (BBMV) a partir del riñón de una rata macho de la cepa Wistar (200 a 250 g) de acuerdo con un método de Hori, et al. (Biochemical Pharmacology 45: 1763-1768, 1993). Todas las operaciones se realizaron en hielo. En la corteza, se añadieron una solución de tampón de tris-ácido clorhídrico 12 mM (pH 7,1) que contenía manitol 300 mM y EGTA 5 mM en una cantidad de 4 a 5 veces el peso de la corteza, y la mezcla obtenida se homogeneizó durante 2 minutos mediante un homogeneizador Polytron (PT-3100, disponible en Kinematica GmgH Littau, Suiza), y la mezcla homogeneizada se diluyó con la misma solución de tampón para dar un homogeneizado al 10 %. A continuación, el homogeneizado al 10 % se diluyó dos veces con agua destilada, y después en la mezcla diluida, se añadió una solución acuosa de MgCl₂ ajustada a 1,0 M para tener una concentración final de 10 mM, y la mezcla obtenida se dejó reposar durante 15 minutos. Después de eso, el homogeneizado obtenido se centrifugó a 1.900 g, y el sobrenadante se centrifugó adicionalmente a 24.000 g durante 30 minutos. El precipitado se resuspendió en una solución de tampón de tris-ácido clorhídrico 6 mM (pH 7,1) que contenía manitol 150 mM y EGTA 2,5 mM en una cantidad 20 veces el peso de la corteza, y la suspensión obtenida se homogeneizó mediante un homogeneizador de Teflón (marca registrada) (1.000 rpm, 10 golpes). A continuación, en la suspensión homogeneizada, se añadió una solución acuosa de MgCl₂ 1,0 M para tener una concentración final de 10 mM, y la suspensión obtenida se dejó reposar durante 15 minutos, y después el homogeneizado se centrifugó a 1.900 g, y el sobrenadante se centrifugó adicionalmente a 24.000 g durante 30 minutos. El precipitado obtenido se suspendió en una solución de tampón de fosfato 0,1 M (pH 7,0) en una cantidad 10 veces el peso de la corteza, y la suspensión obtenida se homogeneizó de nuevo mediante un homogeneizador de Teflón (marca registrada) (1.000 rpm, 10 golpes). A continuación, el homogeneizado se centrifugó a 24.000 g durante 30 minutos para obtener BBMV como un precipitado. A continuación, el precipitado de BBMV se resuspendió en una solución de tampón fosfato 0,1 M (pH 7,0), y la suspensión obtenida se pasó a través de una aguja de 0,4 x 19 mm diez veces para que las vesículas tuvieran un tamaño uniforme. En el experimento de incubación, la suspensión resultante se diluyó para tener una concentración de proteína de 10 mg/ml antes de su uso. Para las BBMV preparadas, midiendo una actividad de β-galactosidasa como enzima marcadora lisosomal usando p-nitrofenil-β-D-galacto-piranosido, se evaluó la contaminación de enzimas lisosomales (Plant Physiology 55: 94-98, 1975). Además, se midieron las actividades de γ-glutamyl transferasa y aminopeptidasa utilizando L-γ-glutamyl-p-nitroanilida y L-leucina-p-nitroanilida de acuerdo con los métodos de Glossmann, et al. (FEES Letters 19: 340-344, 1972) y Kramers, et al. (European Journal of Biochemistry 99: 345-351, 1979).

(Ensayo de incubación)

Se realizó un experimento de incubación de BBMV y sustrato modelo de bajo peso molecular arcado con ¹¹¹In mediante el siguiente método. Se preincubaron BBMV (10 μl) preparadas para tener una concentración de proteína de 10 mg/ml a 37 °C durante 10 minutos. Después de eso, en las BBMV preincubadas, se añadió una solución de ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK(Boc) (10 μl) disuelto en PBS después de la eliminación del exceso de ligandos por HPLC de fase inversa, y la mezcla obtenida se incubó a 37 °C durante 2 horas. En la mezcla de BBMV, se añadió etanol para tener una concentración de etanol del 60 %, y la mezcla obtenida se centrifugó a 5.000 rpm durante 10 minutos. Después de la recuperación del sobrenadante, se añadió etanol al 60 % al precipitado, la mezcla obtenida se centrifugó de nuevo de una manera similar a la anterior, y después se recuperó el sobrenadante. El sobrenadante obtenido se sometió a un análisis realizado a un caudal de 1 ml/min mediante un método de gradiente lineal usando HPLC en el que se usó Imtakt Unison US-C18 150 x 4,6 mm, y se usaron TFA al 0,1 %/MilliQ para la fase A y TFA al 0,1 %/MeCN para la fase B como fases móviles, y las fases se cambiaron de fase A al 100 % y fase B al 0 % a fase A al 55 % y fase B al 45 % en el período de 0 a 30 minutos.

La Fig. 1 muestra los resultados experimentales de la incubación de ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK(Boc) con BBMV.

Se realizó un experimento de incubación similar al anterior excepto que la solución de ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK(Boc) se cambió a cada uno de una solución de ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK(Boc), una solución de ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK(Boc), una solución de ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK(Bzo), y una solución de ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK(Boc), y se realizó un

experimento de control sin usar BBMV.

La Fig. 2 muestra los resultados experimentales de la incubación de una solución de ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK(Boc) con BBMV.

La Fig. 3 muestra los resultados experimentales de la incubación de ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK(Bzo) con BBMV.

5 La Fig. 4 muestra los resultados experimentales de la incubación de ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK(Boc) con BBMV.

La Fig. 5 muestra los resultados experimentales de la incubación de ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK(Boc) con BBMV.

10 A partir de los resultados experimentales descritos anteriormente, puede entenderse que en cada uno de ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK(Boc), ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK(Boc), ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK(Boc), y ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK(Boc), que son compuestos que tienen cada uno una estructura de bencilamida, de manera similar al compuesto de la invención de la presente solicitud, como grupo de unión, se libera un sitio de ligando quelante mediante la incubación con BBMV. Por otro lado, en un compuesto ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK(Bzo) que tiene una estructura de tiourea como grupo de unión, no se observa ninguna sustancia liberada.

(Examen de la estabilidad del compuesto de complejo metálico en plasma de ratón)

15 Se añadió ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) (10 µl) disuelto en PBS en plasma de ratón (90 µl), y la mezcla obtenida se incubó a 37 °C. Parte de la mezcla incubada se recogió después del lapso de 1, 3, 6 y 24 horas, y analizando cada una de las mezclas recogidas por RP-TLC usando una solución de metanol : solución acuosa de acetato de amonio al 10 % en masa = 3 : 2 como disolvente de desarrollo, se calculó la proporción de la radiactividad del fármaco inalterado (¹¹¹In-CDO3AEt-FGK-Fab), y los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

	Porcentaje de intacto (%)
1 h	95,5 ± 0,31
3 h	95,5 ± 0,89
6 h	95,6 ± 0,63
24 h	94,8 ± 0,58

20 De manera similar a la anterior, excepto que se cambió ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), se realizó el ensayo de estabilidad en plasma de ratón. Después de incubación durante 2 horas, la proporción de la radiactividad del fármaco inalterado (¹¹¹In-CDO3AEt-FGK-Fab) fue 95,2 ± 0,3 %.

25 De manera similar a la anterior, excepto que se cambió ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), se realizó el ensayo de estabilidad en plasma de ratón. Después de incubación durante 2 horas, la proporción de la radiactividad del fármaco inalterado (¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab) fue 95,2 ± 0,3 %.

30 De manera similar a la anterior, excepto que se cambió ¹¹¹In-CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), se realizó el ensayo de estabilidad en plasma de ratón. Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

	Porcentaje de intacto (%)
1 h	92,0 ± 0,1 %
6 h	93,6 ± 0,3 %
24 h	91,4 ± 1,6 %

(Examen de la biocinética del compuesto de complejo metálico en ratón]

5 Cada uno de los compuestos de complejo metálico preparados en los Ejemplos y Ejemplos Comparativos se diluyó con D-PBS (-) (pH 7,4). Una solución de $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo) ($0,3 \mu\text{Ci}/100 \mu\text{l}/\text{ratón}$) ajustado para tener una concentración de Fab no modificado de $5 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ se administró por vía intravenosa a la cola de cada uno de los ratones macho de la cepa ddY de 6 semanas de edad. Se sacrificaron tres ratones de cada grupo después del lapso de 10 y 30 minutos, y 1, 3, 6 y 24 horas desde la administración, y se recogieron los órganos de interés de cada uno de los ratones y se pesaron, y luego se midió la radiactividad mediante un sistema automático gamma de pocillos. Además, las heces y la orina se recogieron respectivamente después del lapso de 6 y hasta 24 horas, y se midió la radiactividad. De manera similar a lo anterior, con la inyección intravenosa en la cola de cada uno de los ratones macho de la cepa ddY de 6 semanas de edad utilizando una solución de $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit), se midió la radiactividad para los órganos de interés, las heces y la orina. Como compuesto de control, se usó $^{111}\text{In-DO3A-EDA-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo) preparado de una manera similar a la anterior.

10 La Tabla 3 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo).

15 La Tabla 4 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit).

La Tabla 5 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-DO3A-EDA-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo).

20 De manera similar a la anterior, usando cada uno de una solución de $^{111}\text{In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit), una solución de $^{111}\text{In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de $^{111}\text{In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de $^{111}\text{In-CDO3AiBu-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo), una solución de $^{111}\text{In-CDO3AiBu-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit), y una solución de $^{111}\text{In-DOTA-Bn-SCN-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit), con la inyección intravenosa en la cola de cada uno de los ratones macho de la cepa ddY de 6 semanas de edad, se midió la radiactividad para los órganos de interés, las heces y la orina.

25 La Tabla 6 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit).

La Tabla 7 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo).

30 La Tabla 8 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo).

La Tabla 9 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-CDO3AiBu-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo).

35 La Tabla 10 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-CDO3AiBu-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit).

La Tabla 11 muestra los resultados de la medición de la radiactividad en un cuerpo de ratón mediante $^{111}\text{In-DOTA-Bn-SCN-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit).

Las Fig. 6A a 6C muestran comparaciones entre los resultados de $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ y $^{111}\text{In-DO3A-EDA-Fab}$.

40 A partir de los resultados del $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ que es un compuesto de la presente invención y el $^{111}\text{In-DO3A-EDA-Fab}$ que es un compuesto comparativo, se puede entender que el $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ suprime la acumulación del mismo en el riñón, y tiene una baja relación riñón-sangre, mientras que muestra una concentración en sangre similar a la del $^{111}\text{In-DO3A-EDA-Fab}$.

45 Los resultados experimentales descritos anteriormente muestran que $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo), $^{111}\text{In-CDO3AEt-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit), $^{111}\text{In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab}$ (derivado de IgG anti-c-kit), y $^{111}\text{In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo), que son compuestos de la invención de la presente solicitud y tienen una estructura de bencilamida como grupo de unión suprimen notablemente la radiactividad en el riñón, pero en contraste, $^{111}\text{In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab}$ que tiene una estructura de tiourea como grupo de unión y $^{111}\text{In-DO3A-EDA-Fab}$ (derivado de IgG de suero de conejo) que tiene una estructura de etileno como grupo de unión, que son compuestos comparativos, muestran altos valores de radiactividad en el riñón. A partir de los resultados descritos anteriormente y los resultados de ensayo del ensayo de incubación con BBMV, se considera que el compuesto de la invención de la presente solicitud que tiene una estructura de bencilamida se metaboliza por una enzima, y se liberan sitios metálicos radiactivos del compuesto antes de ser captado en el riñón, y por otro lado, se considera que el compuesto comparativo que tiene una estructura de tiourea no es reconocido por ninguna enzima, pero no da como resultado la liberación de metabolitos.

Las Fig. 7A a 7C muestran comparaciones entre los resultados del ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), el ¹¹¹In-DOTA-Bn-SCN-Fab (derivado de IgG anti-c-kit), y el ¹¹¹In-CDO3AET-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit).

5 A partir de estos resultados, se puede entender que el ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK-Fab suprime adicionalmente la acumulación del mismo en el riñón en comparación con la acumulación del ¹¹¹In-CDO3AET-FGK-Fab, y tiene una relación riñón-sangre más baja.

Tabla 3: ¹¹¹In-CDO3AET-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo)

	10 min	30 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Sangre	20,97 ± 2,89	15,27 ± 0,22	8,21 ± 2,67	4,84 ± 0,39	2,67 ± 0,46	0,47 ± 0,08
Hígado	5,75 ± 0,45	4,56 ± 0,26	4,36 ± 0,21	3,31 ± 0,28	3,44 ± 0,43	1,85 ± 0,14
Bazo de bazo	3,90 ± 0,62	3,12 ± 0,09	2,64 ± 0,59	1,30 ± 0,73	1,63 ± 0,19	0,76 ± 0,16
Riñón	11,87 ± 0,79	16,93 ± 3,34	18,74 ± 3,75	15,13 ± 5,01	12,55 ± 1,03	7,53 ± 2,02
Páncreas	1,26 ± 0,15	1,37 ± 0,10	1,82 ± 0,67	1,38 ± 0,02	1,23 ± 0,22	0,49 ± 0,06
Corazón	4,76 ± 0,76	4,68 ± 0,14	3,75 ± 0,16	1,72 ± 0,21	1,22 ± 0,22	0,49 ± 0,08
Pulmón	8,86 ± 1,66	9,94 ± 2,43	9,21 ± 2,01	4,17 ± 0,31	2,21 ± 0,45	0,57 ± 0,02
Estómago*	0,55 ± 0,04	0,61 ± 0,06	0,89 ± 0,16	0,87 ± 0,26	0,65 ± 0,26	0,21 ± 0,04
Intestino*	2,97 ± 0,21	3,50 ± 0,08	4,04 ± 0,50	4,28 ± 1,51	3,56 ± 2,78	0,91 ± 0,15
Músculo	0,79 ± 0,23	0,92 ± 0,20	0,99 ± 0,40	0,83 ± 0,16	0,53 ± 0,15	0,19 ± 0,05
Hueso	2,47 ± 0,14	2,61 ± 0,17	2,58 ± 0,37	1,60 ± 0,07	0,96 ± 0,15	0,47 ± 0,08
Orina*					45,68 ± 5,70	64,09 ± 3,60
Heces*					0,74 ± 0,52	8,88 ± 3,91

La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".

Tabla 4: ¹¹¹In-CDO3AET-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit)

	10 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Sangre	26,96 ± 1,22	12,96 ± 1,36	4,66 ± 0,34	2,15 ± 0,29	0,14 ± 0,02
Hígado	5,21 ± 0,44	4,95 ± 1,02	3,38 ± 0,38	2,65 ± 0,21	1,66 ± 0,28
Bazo	4,48 ± 0,75	4,42 ± 0,90	3,62 ± 1,54	1,53 ± 0,21	0,70 ± 0,08
Riñón	16,23 ± 1,69	23,73 ± 5,30	24,21 ± 4,25	18,52 ± 5,34	7,92 ± 3,22
Páncreas	1,01 ± 0,02	1,50 ± 0,28	1,35 ± 0,35	1,72 ± 0,19	0,88 ± 0,07
Corazón	5,27 ± 0,20	4,71 ± 0,55	2,87 ± 0,18	2,39 ± 0,15	1,17 ± 0,17

ES 2 986 191 T3

	10 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Pulmón	13,50 ± 2,22	8,26 ± 1,29	3,67 ± 0,70	1,77 ± 0,24	0,42 ± 0,05
Estómago*	0,70 ± 0,30	0,71 ± 0,14	0,59 ± 0,06	0,57 ± 0,06	0,26 ± 0,11
Intestino*	2,39 ± 0,21	4,51 ± 0,72	4,15 ± 0,63	5,27 ± 0,51	2,11 ± 0,72
Músculo	0,70 ± 0,15	1,01 ± 0,19	0,95 ± 0,19	0,83 ± 0,21	0,46 ± 0,11
Hueso	2,55 ± 0,62	2,76 ± 0,41	1,65 ± 0,54	0,96 ± 0,36	0,46 ± 0,11

La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".

Tabla 5: ¹¹¹In-DO3A-EDA-Fab (derivado de IgG de suero de conejo)

	10 min	30 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Sangre	25,50 ± 0,79	15,88 ± 0,15	10,93 ± 0,74	5,30 ± 0,81	2,83 ± 0,19	0,47 ± 0,03
Hígado	4,24 ± 0,30	3,43 ± 0,28	3,25 ± 0,21	3,66 ± 1,00	3,04 ± 0,39	3,62 ± 0,56
Bazo	3,06 ± 0,11	2,26 ± 0,07	1,96 ± 0,15	1,73 ± 0,32	1,85 ± 0,21	1,98 ± 0,25
Riñón	13,92 ± 0,79	20,45 ± 0,86	25,93 ± 1,82	35,49 ± 3,05	43,59 ± 4,03	34,45 ± 3,76
Páncreas	1,03 ± 0,21	1,08 ± 0,21	1,05 ± 0,07	1,06 ± 0,20	1,05 ± 0,05	0,62 ± 0,02
Corazón	4,65 ± 0,20	3,83 ± 0,15	3,18 ± 0,40	1,94 ± 0,28	1,50 ± 0,07	0,87 ± 0,15
Pulmón	10,84 ± 1,78	6,46 ± 1,32	4,64 ± 0,96	2,73 ± 0,71	1,81 ± 0,27	0,69 ± 0,03
Estómago*	0,40 ± 0,01	0,51 ± 0,11	0,51 ± 0,03	0,52 ± 0,12	0,33 ± 0,09	0,24 ± 0,02
Intestino*	2,59 ± 0,47	2,98 ± 0,37	3,00 ± 0,37	2,69 ± 0,27	2,49 ± 0,44	1,57 ± 0,08
Músculo	1,04 ± 0,20	1,32 ± 0,10	1,35 ± 0,20	1,05 ± 0,16	0,92 ± 0,01	0,56 ± 0,18
Hueso	2,24 ± 0,77	1,73 ± 0,18	1,58 ± 0,31	1,07 ± 0,15	0,77 ± 0,03	0,44 ± 0,18
Orina*					33,04 ± 4,57	49,59 ± 0,80
Heces*					0,05 ± 0,02	2,15 ± 1,02

La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".

Tabla 6: ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit)

	10 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Sangre	27,09 ± 2,25	13,36 ± 1,78	5,75 ± 0,85	2,75 ± 0,50	0,22 ± 0,05

ES 2 986 191 T3

	10 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Hígado	6,22 ± 0,23	6,09 ± 0,90	7,06 ± 1,43	6,44 ± 1,23	5,04 ± 1,01
Bazo	4,53 ± 0,50	5,03 ± 0,98	4,56 ± 1,35	3,37 ± 0,47	2,62 ± 0,51
Riñón	13,09 ± 1,89	20,69 ± 2,86	23,19 ± 2,08	25,41 ± 2,83	13,31 ± 3,73
Páncreas	0,88 ± 0,13	1,17 ± 0,15	1,68 ± 0,20	1,58 ± 0,19	1,23 ± 0,20
Corazón	4,32 ± 0,50	4,17 ± 0,90	3,25 ± 0,59	2,46 ± 0,16	1,69 ± 0,25
Pulmón	8,96 ± 1,34	4,87 ± 0,83	3,16 ± 0,42	1,85 ± 0,16	0,75 ± 0,06
Estómago*	0,35 ± 0,04	0,54 ± 0,08	0,65 ± 0,08	0,55 ± 0,07	0,72 ± 0,18
Intestino*	2,16 ± 0,34	3,18 ± 0,69	7,75 ± 1,09	9,26 ± 0,77	5,98 ± 4,94
Músculo	0,82 ± 0,29	1,11 ± 0,17	0,99 ± 0,17	0,72 ± 0,12	0,47 ± 0,06
Hueso	2,97 ± 0,74	2,62 ± 0,64	3,21 ± 0,72	2,49 ± 1,13	2,43 ± 1,15

La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".

Tabla 7: ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo)

	10 min	30 min	1 h	3 h	6 h
Sangre	23,99 ± 0,87	15,39 ± 0,87	9,43 ± 0,42	3,94 ± 0,28	1,93 ± 0,23
Hígado	4,03 ± 0,09	3,02 ± 0,29	2,64 ± 0,10	2,13 ± 0,03	1,79 ± 0,15
Bazo	2,88 ± 0,15	2,05 ± 0,05	1,48 ± 0,12	0,95 ± 0,06	0,68 ± 0,03
Riñón	20,68 ± 3,07	30,16 ± 1,77	33,71 ± 2,35	37,78 ± 5,90	23,32 ± 4,55
Páncreas	1,04 ± 0,22	1,13 ± 0,01	1,11 ± 0,17	0,96 ± 0,09	0,79 ± 0,12
Corazón	4,42 ± 0,32	3,98 ± 0,15	2,89 ± 0,26	1,45 ± 0,14	1,07 ± 0,12
Pulmón	8,60 ± 0,44	6,62 ± 1,41	5,47 ± 2,14	2,23 ± 0,30	1,34 ± 0,20
Estómago*	0,38 ± 0,06	0,53 ± 0,06	0,43 ± 0,05	0,43 ± 0,06	0,27 ± 0,07
Intestino*	2,33 ± 0,31	3,51 ± 0,09	3,20 ± 0,07	3,40 ± 0,54	2,73 ± 0,17
Músculo	0,84 ± 0,06	1,22 ± 0,12	1,13 ± 0,02	0,86 ± 0,09	0,54 ± 0,06
Hueso	2,25 ± 0,14	2,24 ± 0,23	1,64 ± 0,21	0,77 ± 0,05	0,53 ± 0,11
Orina*					46,02 ± 2,04
Heces*					0,13 ± 0,13

ES 2 986 191 T3

	10 min	30 min	1 h	3 h	6 h
La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".					

Tabla 8: ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo)

	10 min	30 min	1 h	3 h	6 h
Sangre	25,57 ± 2,36	15,35 ± 1,62	9,69 ± 0,87	4,23 ± 0,29	2,31 ± 0,07
Hígado	4,08 ± 0,31	2,87 ± 0,20	2,41 ± 0,27	1,63 ± 0,11	1,45 ± 0,14
Bazo	2,76 ± 0,32	1,80 ± 0,32	1,25 ± 0,086	0,82 ± 0,06	0,57 ± 0,04
Riñón	14,59 ± 2,27	21,65 ± 2,41	26,99 ± 3,09	22,77 ± 2,74	15,64 ± 6,81
Páncreas	0,88 ± 0,05	0,99 ± 0,08	1,15 ± 0,12	0,93 ± 0,05	0,95 ± 0,08
Corazón	4,98 ± 0,96	4,53 ± 0,76	3,50 ± 0,33	1,73 ± 0,06	1,23 ± 0,18
Pulmón	9,05 ± 1,74	6,07 ± 1,03	4,46 ± 1,00	2,18 ± 0,38	1,51 ± 0,07
Estómago*	0,40 ± 0,03	0,51 ± 0,10	0,52 ± 0,05	0,43 ± 0,73	0,30 ± 0,04
Intestino*	2,28 ± 0,18	3,25 ± 0,18	3,58 ± 0,14	3,72 ± 0,42	3,88 ± 0,73
Músculo	0,88 ± 0,10	1,17 ± 0,19	1,34 ± 0,08	0,88 ± 0,04	0,71 ± 0,12
Hueso	2,68 ± 0,47	1,78 ± 0,24	1,48 ± 0,20	0,87 ± 0,06	0,71 ± 0,08
Orina*					45,98 ± 6,55
Heces*					0,01 ± 0,02
La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".					

Tabla 9: ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo)

	10 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Sangre	22,97 ± 1,16	11,27 ± 0,73	5,41 ± 0,36	2,80 ± 0,11	0,31 ± 0,03
Hígado	4,58 ± 0,28	2,74 ± 0,21	2,32 ± 0,33	1,70 ± 0,28	0,71 ± 0,10
Bazo	3,08 ± 0,23	1,98 ± 0,23	1,17 ± 0,09	0,60 ± 0,36	0,26 ± 0,04
Riñón	15,18 ± 1,49	12,74 ± 1,49	8,94 ± 2,01	8,76 ± 2,00	1,61 ± 0,48
Páncreas	1,01 ± 0,26	1,09 ± 0,26	1,26 ± 0,09	1,03 ± 0,08	0,35 ± 0,14
Corazón	3,97 ± 0,29	3,44 ± 0,29	1,64 ± 0,05	1,17 ± 0,06	0,24 ± 0,04

ES 2 986 191 T3

	10 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Pulmón	7,44 ± 0,19	4,66 ± 0,19	2,69 ± 0,24	1,82 ± 0,18	0,33 ± 0,10
Estómago*	0,37 ± 0,07	0,59 ± 0,07	0,57 ± 0,09	0,44 ± 0,17	0,43 ± 0,33
Intestino*	2,49 ± 0,34	5,48 ± 0,34	7,13 ± 0,15	6,96 ± 2,87	3,40 ± 1,65
Músculo	0,60 ± 0,11	0,98 ± 0,11	0,78 ± 0,16	0,46 ± 0,08	0,09 ± 0,05
Hueso	2,60 ± 0,24	1,42 ± 0,24	0,87 ± 0,24	0,59 ± 0,12	0,11 ± 0,13
Orina*				55,55 ± 3,54	71,38 ± 6,89
Heces*				0,90 ± 0,71	8,52 ± 3,53

La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".

Tabla 10: ¹¹¹In-CDO3AiBu-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit)

	10 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Sangre	25,29 ± 1,56	11,11 ± 1,29	4,55 ± 0,21	2,23 ± 0,36	0,13 ± 0,04
Hígado	4,72 ± 0,40	3,30 ± 0,35	2,24 ± 0,12	1,87 ± 0,36	0,61 ± 0,06
Bazo	3,79 ± 0,42	2,47 ± 0,12	1,41 ± 0,18	0,89 ± 0,17	0,25 ± 0,08
Riñón	18,34 ± 1,70	16,70 ± 3,59	12,55 ± 2,15	10,21 ± 2,60	2,30 ± 0,57
Páncreas	1,05 ± 0,11	1,17 ± 0,12	1,40 ± 0,10	1,42 ± 0,18	0,44 ± 0,14
Corazón	4,83 ± 0,32	3,65 ± 0,43	2,16 ± 0,23	1,26 ± 0,12	0,27 ± 0,05
Pulmón	9,07 ± 2,88	5,08 ± 0,99	2,56 ± 0,17	1,57 ± 0,27	0,23 ± 0,08
Estómago*	0,38 ± 0,03	0,57 ± 0,12	0,60 ± 0,14	0,45 ± 0,10	0,34 ± 0,22
Intestino*	2,33 ± 0,20	4,30 ± 0,17	7,05 ± 0,66	12,75 ± 3,07	2,16 ± 0,56
Músculo	0,76 ± 0,13	1,08 ± 0,16	0,78 ± 0,20	0,44 ± 0,07	0,10 ± 0,03
Hueso	2,46 ± 0,81	2,08 ± 1,32	0,90 ± 0,13	0,72 ± 0,14	0,24 ± 0,05
Orina*				45,52 ± 5,64	69,43 ± 2,50
Heces*				0,31 ± 0,21	14,34 ± 1,25

La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".

Tabla 11: ^{111}In -DOTA-Bn-SCN-Fab (derivado de IgG anti-c-kit)

	10 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Sangre	25,65 ± 0,95	12,45 ± 0,99	4,14 ± 0,44	1,88 ± 0,20	0,26 ± 0,05
Hígado	4,20 ± 0,35	3,80 ± 0,47	3,32 ± 0,59	3,45 ± 0,33	3,35 ± 0,77
Bazo	4,16 ± 0,57	3,72 ± 0,52	3,95 ± 0,75	3,43 ± 0,53	3,05 ± 0,89
Riñón	18,93 ± 1,77	42,23 ± 5,69	53,17 ± 6,89	51,88 ± 4,68	29,08 ± 3,45
Páncreas	0,79 ± 0,10	1,11 ± 0,12	1,62 ± 0,13	1,90 ± 0,19	1,43 ± 0,51
Corazón	5,34 ± 0,71	4,81 ± 0,66	3,29 ± 0,09	2,91 ± 0,33	2,56 ± 0,70
Pulmón	9,43 ± 2,58	5,79 ± 0,71	3,04 ± 0,38	1,95 ± 0,19	0,97 ± 0,16
Estómago*	0,38 ± 0,03	0,63 ± 0,07	0,60 ± 0,04	0,59 ± 0,07	0,64 ± 0,19
Intestino*	2,43 ± 0,56	4,75 ± 0,49	4,32 ± 0,23	4,50 ± 0,58	6,43 ± 5,02
Músculo	0,72 ± 0,06	1,15 ± 0,09	1,15 ± 0,15	1,00 ± 0,17	0,57 ± 0,16
Hueso	2,79 ± 0,63	1,91 ± 0,30	1,79 ± 0,30	1,69 ± 0,16	1,19 ± 0,63
Orina*				16,36 ± 1,96	38,27 ± 6,80
Heces*				0,05 ± 0,06	1,76 ± 0,43

La unidad es "% de ID/g", siempre que la unidad con el símbolo * sea "% de ID".

(Análisis de la radiactividad en orina)

- 5 El ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) se diluyó con D-PBS (-). Una solución de ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) (4 $\mu\text{Ci}/100 \mu\text{l}$ /ratón) ajustado para tener una concentración de Fab de 5 $\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ se administró por vía intravenosa a un ratón a través de la vena de la cola del mismo, la orina acumulada durante el tiempo después del lapso de 24 horas desde la administración se filtró con un filtro de 0,45 μm , y después se analizó la forma química mediante SE-HPLC. Además, en la orina recuperada, se añadió EtOH en un volumen dos veces el volumen de la orina para precipitar proteínas, y la mezcla obtenida se centrifugó a 15.000 g
- 10 durante 5 minutos, y después se recuperó el sobrenadante. Después de recuperar el sobrenadante, los sedimentos se lavaron con 100 μl de solución de EtOH al 66 %, la mezcla obtenida se centrifugó de nuevo para recuperar el sobrenadante dos veces, y se calculó la tasa de recuperación de la radiactividad en el sobrenadante. Después de eso, el sobrenadante se diluyó con D-PBS (-) para tener una concentración de EtOH del 15 % o menos, y el sobrenadante diluido se analizó por RP-HPLC.
- 15 La Fig. 8 muestra los resultados del análisis de formas químicas de la radiactividad en la orina excretada en el tiempo después del lapso de 24 horas desde la administración de ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a un ratón. Como se ha descrito anteriormente, en el análisis por SE-HPLC mostrado en la Fig. 8A por el análisis de la radiactividad en orina, la mayor parte de la radiactividad se excreta en una fracción molecular baja, y a partir de los resultados de RP-HPLC mostrados en la Fig. 8B, se puede entender que, en el caso del ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab, la radiactividad principal en la fracción molecular baja es de ^{111}In -CDO3AEt-Phe (un compuesto resultante de la escisión del ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab entre la fenilalanina y la glicina).
- 20

De manera similar a la anterior, excepto que se cambió el ^{111}In -CDO3AEt-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a ^{111}In -CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit) y la orina excretada en el tiempo después del lapso de 6 horas desde la administración se acumuló y analizó, se analizó la radiactividad en la orina.

La Fig. 9 muestra los resultados del análisis de formas químicas de la radiactividad en la orina excretada en el tiempo después del lapso de 6 horas desde la administración de ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit) a un ratón. A partir de los resultados de RP-HPLC, puede entenderse que, en el caso de ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab, la radiactividad principal en la fracción molecular baja es de ¹¹¹In-CDOTA-Phe (un compuesto resultante de la escisión del ¹¹¹In-CDOTA-Bn-CO-FGK-Fab entre la fenilalanina y la glicina).

De manera similar a la anterior, excepto que se cambió ¹¹¹In-CDO3A-Et-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), se analizó la radiactividad en orina.

La Fig. 10 muestra los resultados del análisis de formas químicas de la radiactividad en la orina excretada en el tiempo después del lapso de 24 horas desde la administración de ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a un ratón. A partir de los resultados de RP-HPLC, puede entenderse que, en el caso del ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab, la radiactividad principal en la fracción molecular baja es de ¹¹¹In-DO3A-Phe (un compuesto resultante de la escisión del ¹¹¹In-DO3A-Bn-CO-FGK-Fab entre la fenilalanina y la glicina).

De manera similar a la anterior, excepto que se cambió el ¹¹¹In-CDO3A-Et-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a ¹¹¹In-CDO3A-iBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), se analizó la radiactividad en orina.

La Fig. 11 muestra los resultados del análisis de formas químicas de la radiactividad en la orina excretada en el tiempo después del lapso de 24 horas desde la administración de ¹¹¹In-CDO3A-iBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo) a un ratón. Como se ha descrito anteriormente, en el análisis por SE-HPLC mostrado en la Fig. 11A por el análisis de la radiactividad en orina, la mayor parte de la radiactividad se excreta como una fracción molecular baja, y a partir de los resultados de RP-HPLC mostrados en la Fig. 11B, se puede entender que, en el caso del ¹¹¹In-CDO3A-iBu-FGK-Fab (derivado de IgG de suero de conejo), la radiactividad principal en la fracción molecular baja es de ¹¹¹In-CDO3A-iBu-Phe (un compuesto resultante de la escisión del ¹¹¹In-CDO3A-iBu-FGK-Fab entre la fenilalanina y la glicina).

(Imagenología SPECT/CT)

El ¹¹¹In-CDO3A-Et-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit) preparado mediante el método descrito anteriormente se diluyó con D-PBS (-). Una solución de ¹¹¹In-CDO3A-Et-FGK-Fab (45 µCi/10 µl/ratón) ajustada para tener una concentración de Fab de 25 µg/100 µl se administró por vía intravenosa a cada uno de los ratones de modelo de tumor subcutáneo SY descritos anteriormente a través de la vena de la cola de los mismos. Se tomaron imágenes de dos ratones en cada grupo desde el momento después del lapso de 2,5 horas desde la administración usando un dispositivo SPECT/CT (SPECT4CT, disponible en Trifoil Imaging, CA), en las condiciones de recogida de 360 grados de un colimador de 5 poros con un diámetro de abertura de 1 mm, 16 proyecciones y 14 minutos/proyección.

De manera similar a la anterior, excepto que se cambió la solución de ¹¹¹In-CDO3A-Et-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit) (45 µCi/100 µL/ratón) a una solución de ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit) (14 µCi/100 µL/ratón), se administró el ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab a cada uno de los ratones de modelo de tumor subcutáneo SY a través de la vena de la cola de los mismos, y se tomaron imágenes desde el momento después del lapso de 2,5 horas desde la administración.

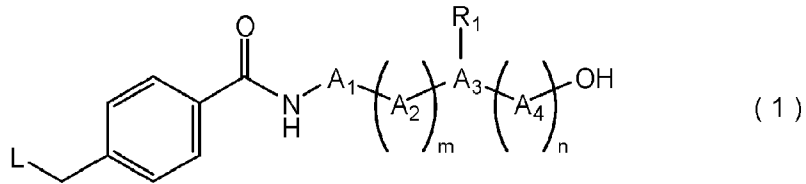
La Fig. 12 muestra imágenes de SPECT/CT después del lapso de 2,5 horas desde la administración de la solución de ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit) o la solución de ¹¹¹In-CDO3A-Et-FGK-Fab (derivado de IgG anti-c-kit) a cada uno de los ratones de modelo de tumor subcutáneo SY.

Después del lapso de 2,5 horas desde la administración, el ¹¹¹In-CDO3A-Et-FGK-Fab mostró una baja acumulación en el riñón, y claramente se obtuvieron imágenes del tumor. Por otra parte, el ¹¹¹In-DO3A-Bn-SCN-MVK-Fab permitió la obtención de imágenes del tumor, sin embargo, mostró la alta radiactividad en el riñón.

Como se ha descrito anteriormente, el fármaco radiomarcado logra una baja acumulación en el riñón, y puede mejorar la sensibilidad y la precisión del diagnóstico por imagenología radiológica.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (1), o una sal farmacológicamente aceptable del mismo:



en donde

5 A₁ y A₂ representan cada uno independientemente un residuo de aminoácido seleccionado de fenilalanina, metionina, valina, leucina, isoleucina, prolina, tirosina, glicina, alanina y triptófano,

m es un número entero de 0 a 3,

A₃ representa un residuo de aminoácido que tiene un grupo amino o un grupo carboxi en una cadena lateral del mismo,

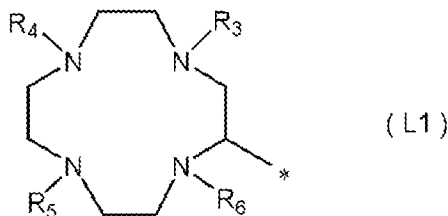
10 A₄ representa un residuo de aminoácido,

n es un número entero de 0 a 3,

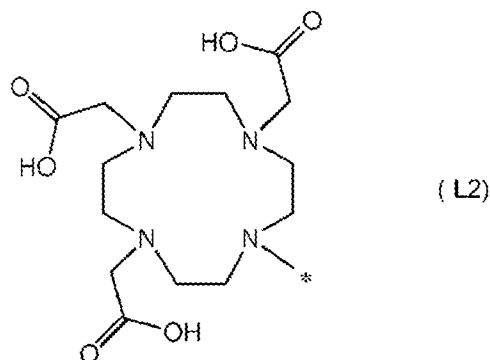
15 R₁ representa un grupo que se une al grupo amino o al grupo carboxi en la cadena lateral de A₃ y que tiene un grupo funcional capaz de unirse a un elemento de reconocimiento de la molécula diana que es un polipéptido o un grupo de unión del mismo, que es al menos un tipo de grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en un grupo carboxi o un éster activo del mismo, seleccionándose el éster activo de un grupo cloroacetilo, un grupo bromoacetilo y un grupo yodoacetilo; un grupo que tiene un enlace C=C seleccionado de un grupo maleimida y un grupo acrilóilo; un grupo carbamoilo, un grupo isotiocianato y un grupo amino, o un átomo de hidrógeno del grupo amino o el grupo carboxi en la cadena lateral de A₃, siempre que R₁ pueda formar un grupo heterocíclico que tiene de 3 a 10 átomos de carbono que incluye un átomo de nitrógeno del grupo amino en la

20 cadena lateral de A₃ como átomo que constituye el anillo, y

L representa un grupo representado por la fórmula (L1):



25 en donde R₃, R₄, R₅, y R₆ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo -CH₂COOR₁₀ o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, R₁₀ representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, y el símbolo * representa un sitio de unión, siempre que al menos tres de R₃, R₄, R₅, y R₆ representen cada uno un grupo -CH₂COOH, o un grupo representado por la fórmula (L2):



en donde el símbolo * representa un sitio de unión.

2. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde A_3 representa un residuo de aminoácido de lisina, ornitina, arginina, ácido aspártico o ácido glutámico.

3. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 1 o 2, en donde tres de R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representan cada uno un grupo $-CH_2COOH$.

5 4. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde

A_3 representa un residuo de lisina, ornitina o arginina.

5. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde

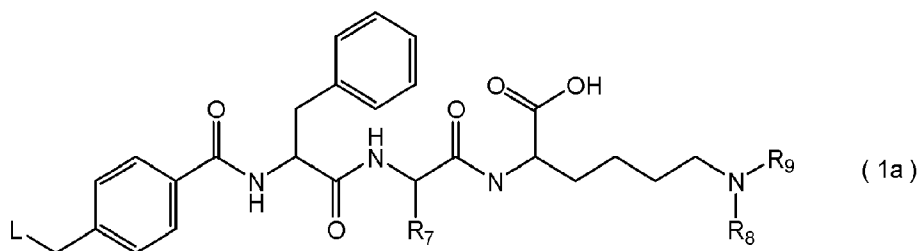
10 m es 1.

6. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde

n es 0.

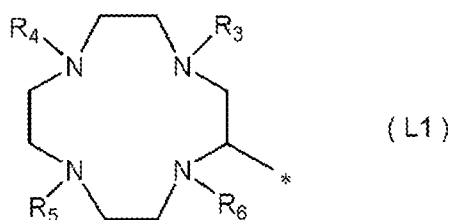
15 7. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde

el compuesto está representado por la fórmula (1a) siguiente:



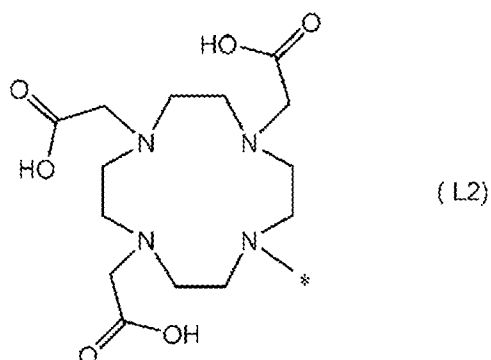
en donde

L representa un grupo representado por la fórmula (L1):



20 en donde R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo $-CH_2COOR_{10}$ o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, R_{10} representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidrocarbonado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono, y el símbolo * representa un sitio de unión, siempre que al menos tres de R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 representen cada uno un grupo $-CH_2COOH$, o un grupo representado por la fórmula (L2):

25

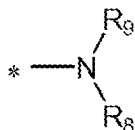


en donde el símbolo * representa un sitio de unión,

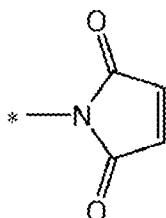
R₇ representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, y

5 R₈ y R₉ representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo acilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional, un grupo alquilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional, un grupo alquilcarbamoilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional, o un grupo alquiltiocarbamoilo que tiene de 2 a 20 átomos de carbono en total que tiene un grupo funcional, en donde el grupo funcional es al menos un tipo de grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en un grupo carboxi o un éster activo del mismo, seleccionándose el éster activo de un grupo
10 cloroacetilo, un grupo bromoacetilo y un grupo yodoacetilo; un grupo que tiene un enlace C=C seleccionado de un grupo maleimida y un grupo acrilóilo; un grupo carbamoilo, un grupo isotiocianato y un grupo amino,

siempre que R₈ y R₉ puedan formar un anillo heterocíclico que incluye el átomo de nitrógeno adyacente, y en este caso, un grupo representado por la fórmula:

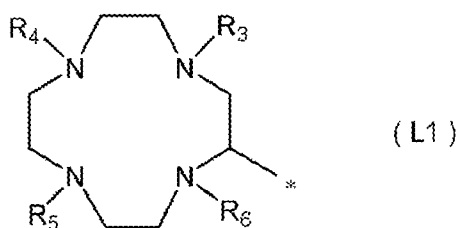


15 es un grupo representado por la fórmula:



8. El compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde

L representa un grupo representado por la fórmula (L1):



20 en donde R₃, R₄, R₅, y R₆ representan cada uno independientemente un grupo -CH₂COOH, o un grupo isobutilo, y el símbolo * representa un sitio de unión, siempre que tres de R₃, R₄, R₅, y R₆ representen cada uno un grupo -CH₂COOH, y uno de R₃, R₄, R₅, y R₆ representa un grupo isobutilo.

25 9. Un compuesto que tiene el elemento de reconocimiento de la molécula diana unido al compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo.

10. Un compuesto de complejo metálico que comprende un metal seleccionado del grupo que consiste en un metal radiactivo y un metal marcado con átomo radiactivo; y el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 coordinado con el metal, o una sal farmacológicamente aceptable del mismo.
- 5 11. El compuesto de complejo metálico o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 10, en donde el metal es ^{111}In , ^{223}Ra , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{44}Sc , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{225}Ac , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{212}Pb , ^{227}Th , ^{64}Cu , o ^{67}Cu .
12. Un fármaco para preparar un fármaco radiactivo, que comprende el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
- 10 13. Uso del compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para producir un fármaco radiactivo.
14. Un fármaco radiactivo, que comprende el compuesto de complejo metálico o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 10 u 11.
15. Un agente radioterapéutico, que comprende el compuesto de complejo metálico o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 10 u 11.
- 15 16. Un agente de imagenología de diagnóstico radiactivo, que comprende el compuesto de complejo metálico o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 10 u 11.
- 20 17. Un método para producir un compuesto de complejo metálico o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 10, comprendiendo el método formar el complejo *in vitro* con el metal radiactivo o un metal marcado con un átomo radiactivo utilizando el compuesto o sal farmacológicamente aceptable del mismo según la reivindicación 9 como ligando.

FIG. 1

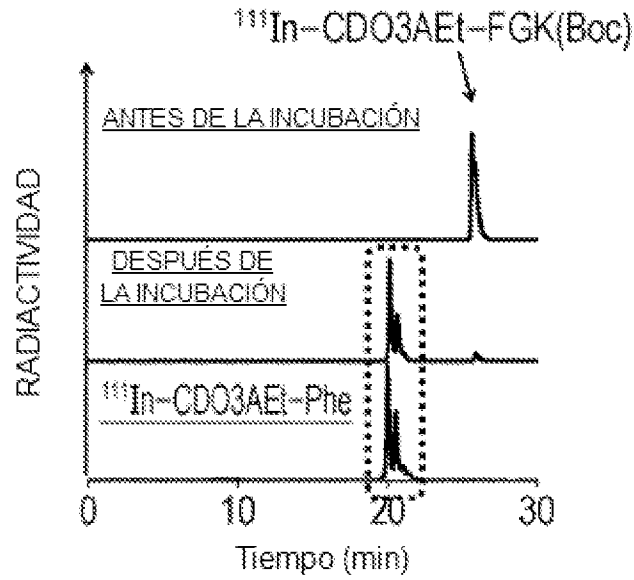


FIG. 2

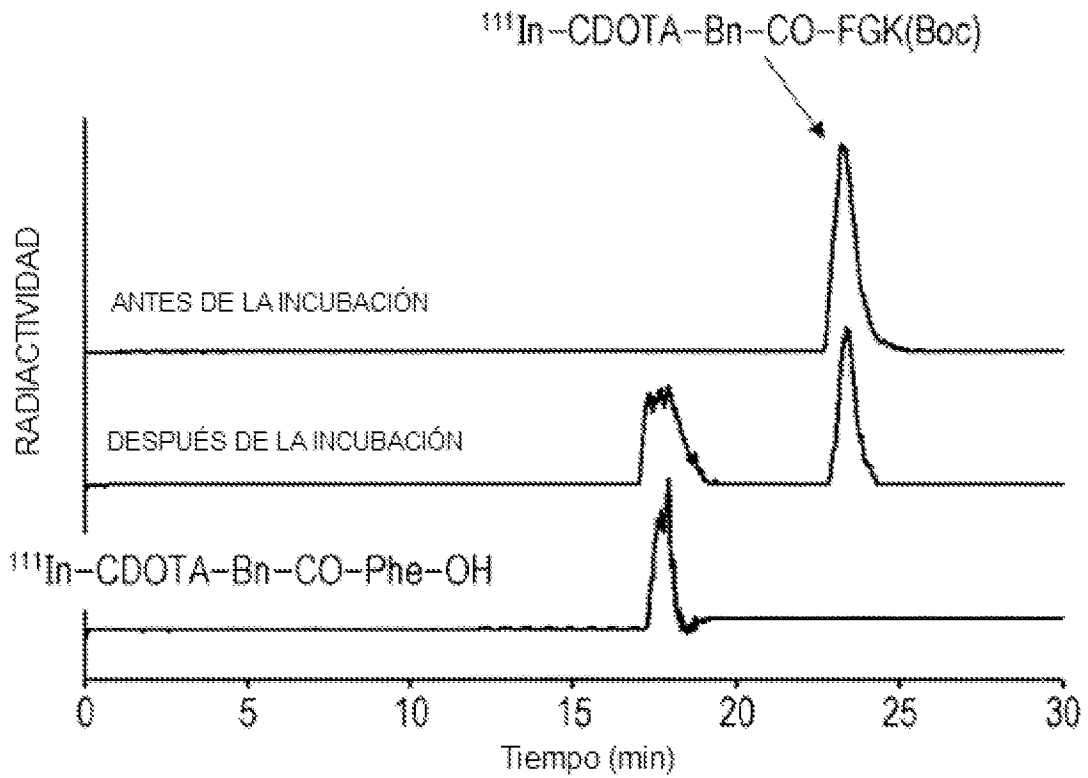


FIG. 3

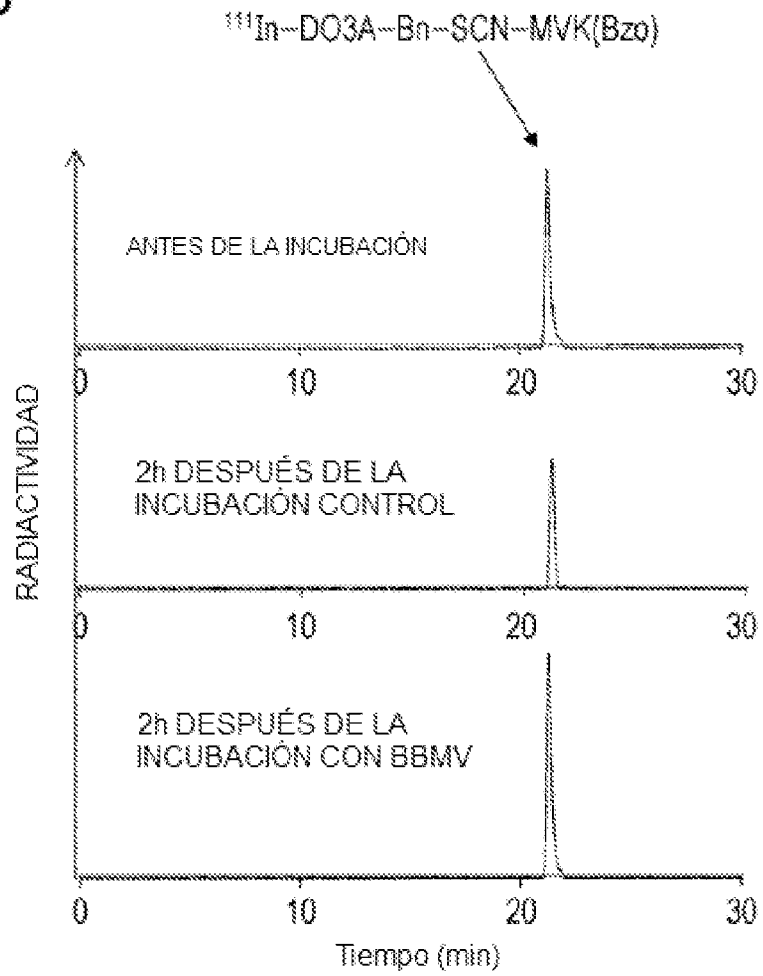


FIG. 4

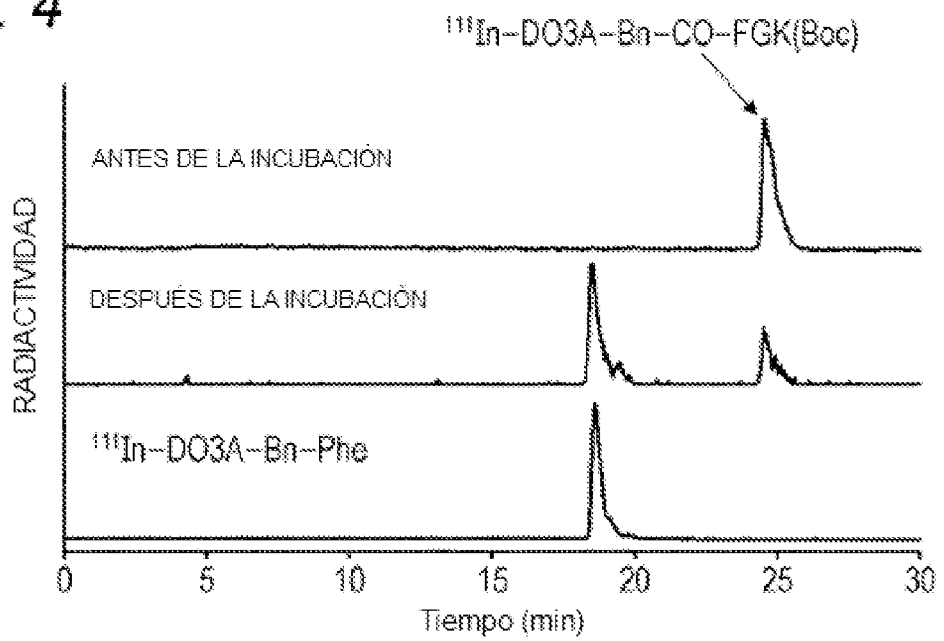


FIG. 5

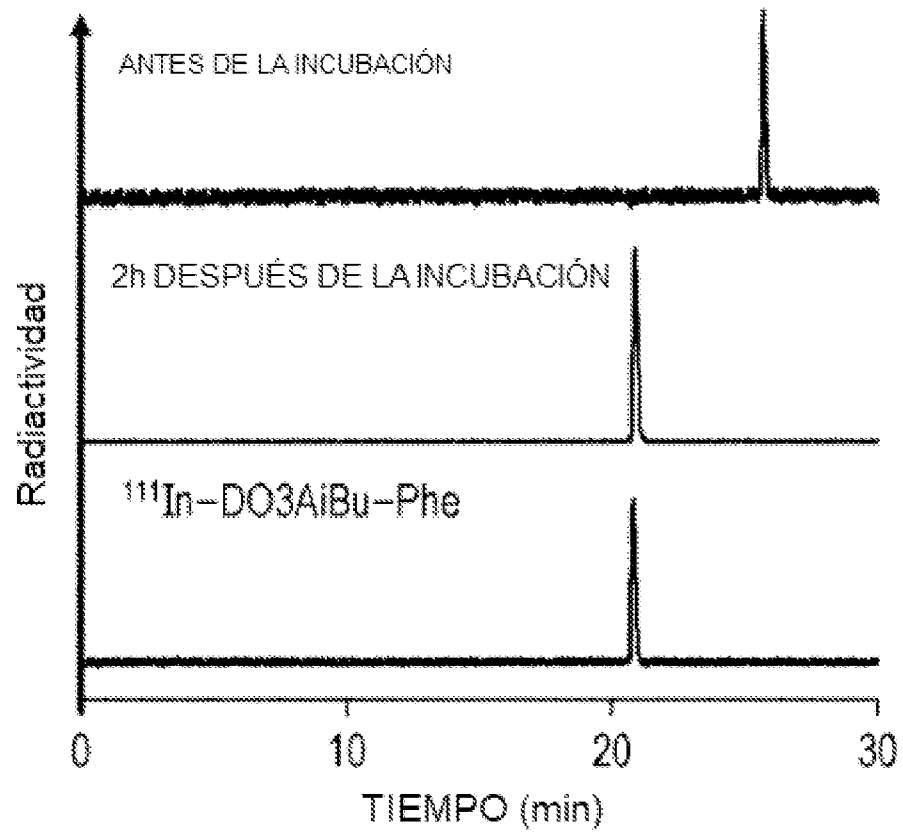


FIG. 6A

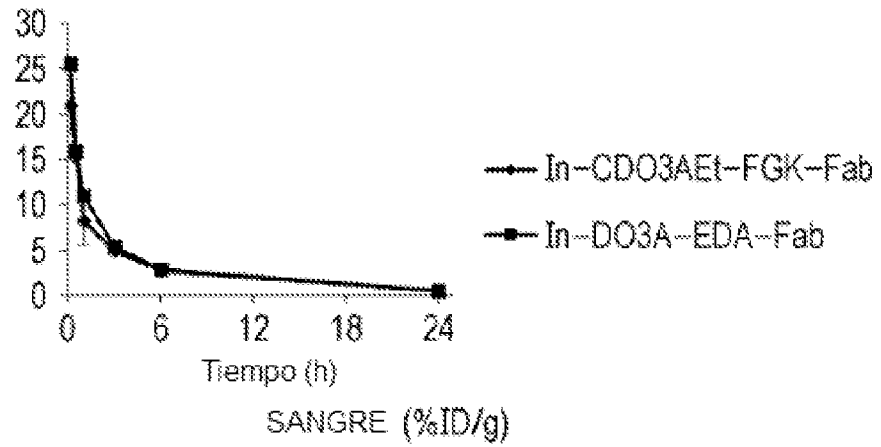


FIG. 6B

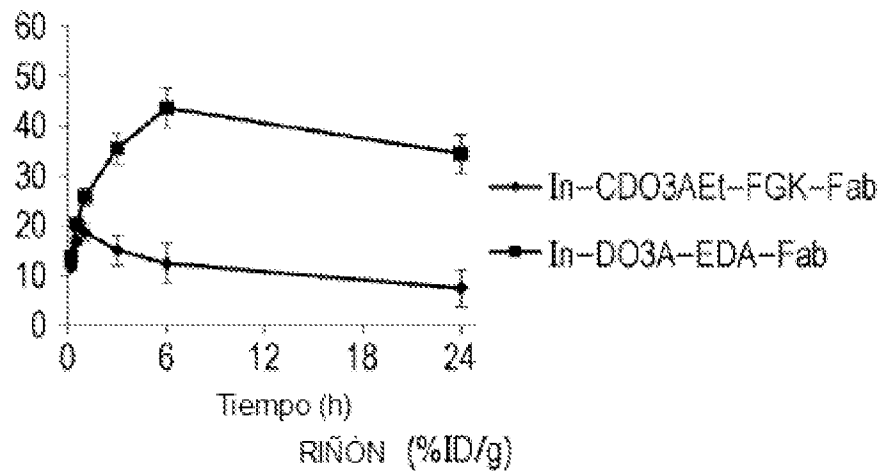


FIG. 6C

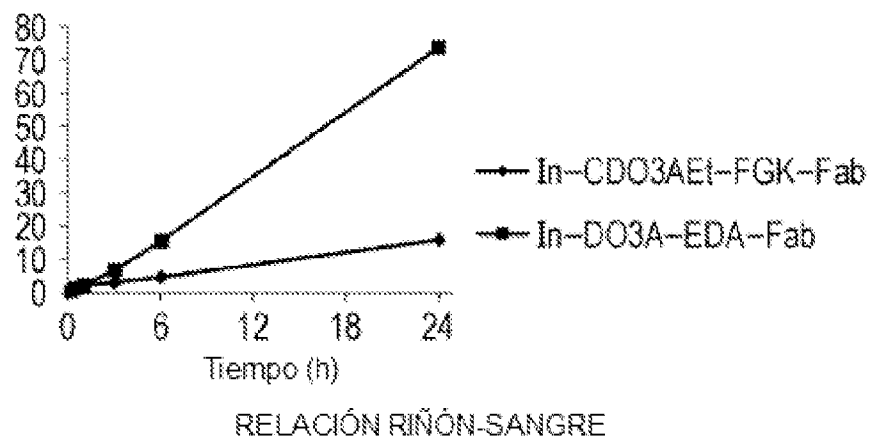
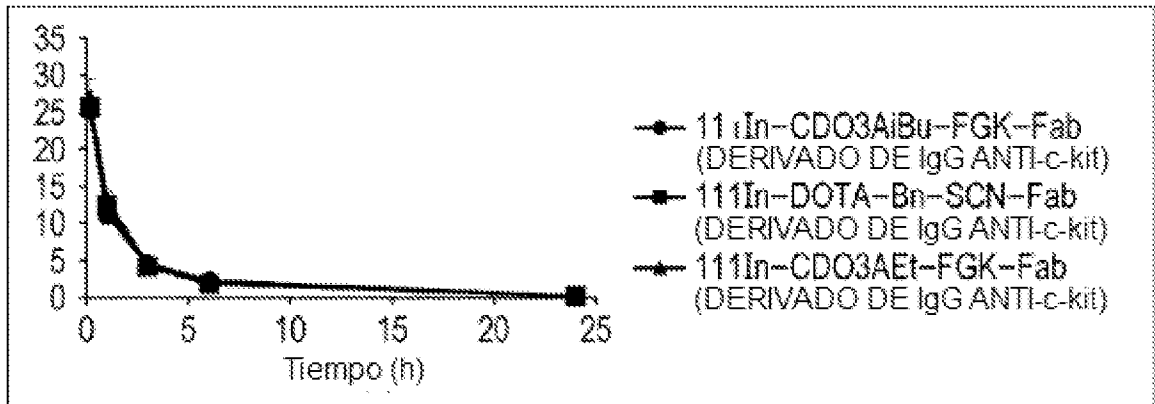
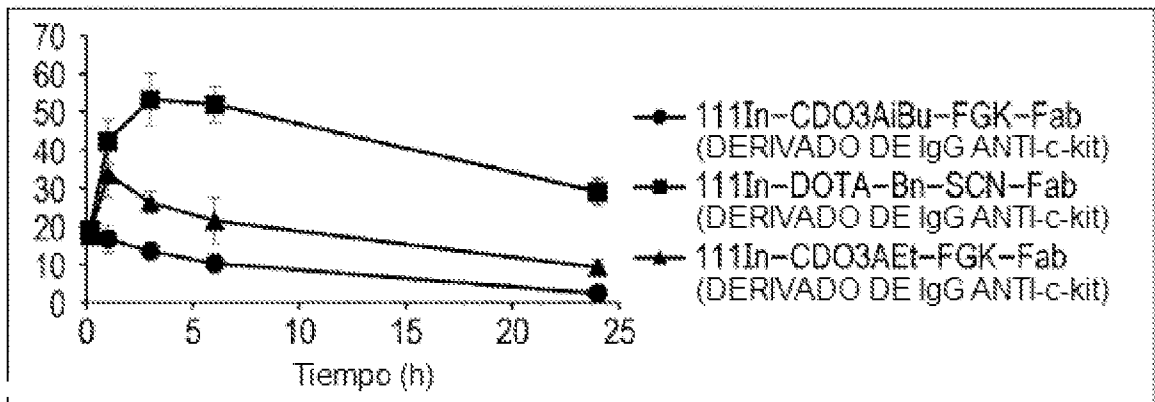


FIG. 7A



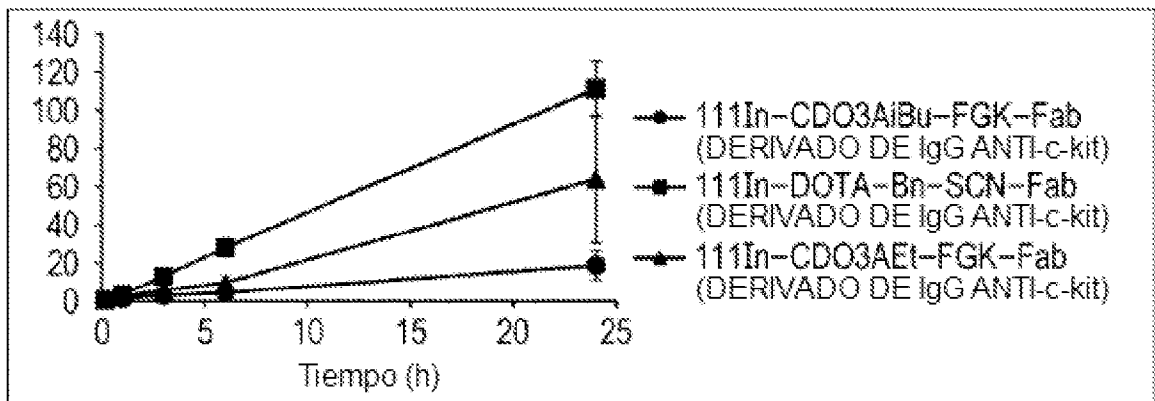
SANGRE (%ID/g)

FIG. 7B



RIÑÓN (%ID/g)

FIG. 7C



RELACIÓN RIÑÓN-SANGRE

FIG. 8A

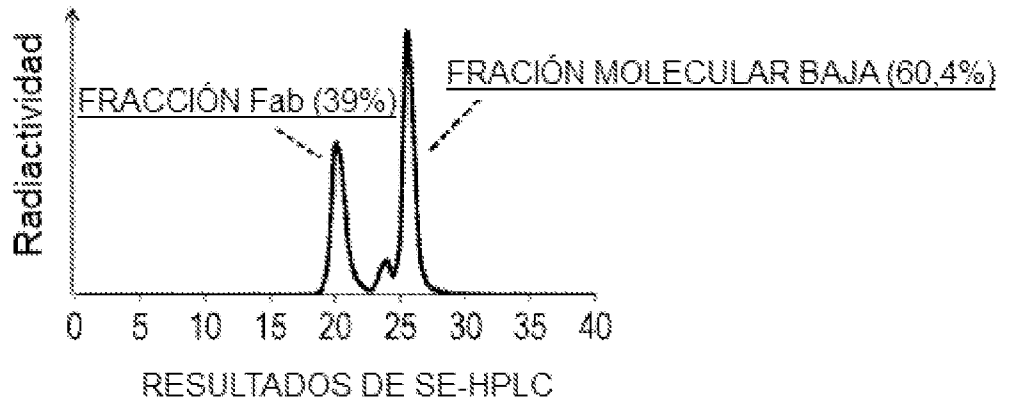


FIG. 8B

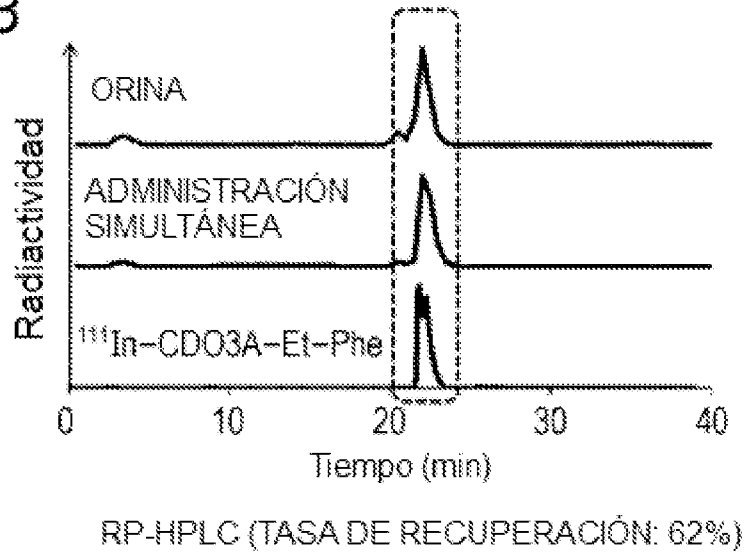


FIG. 9

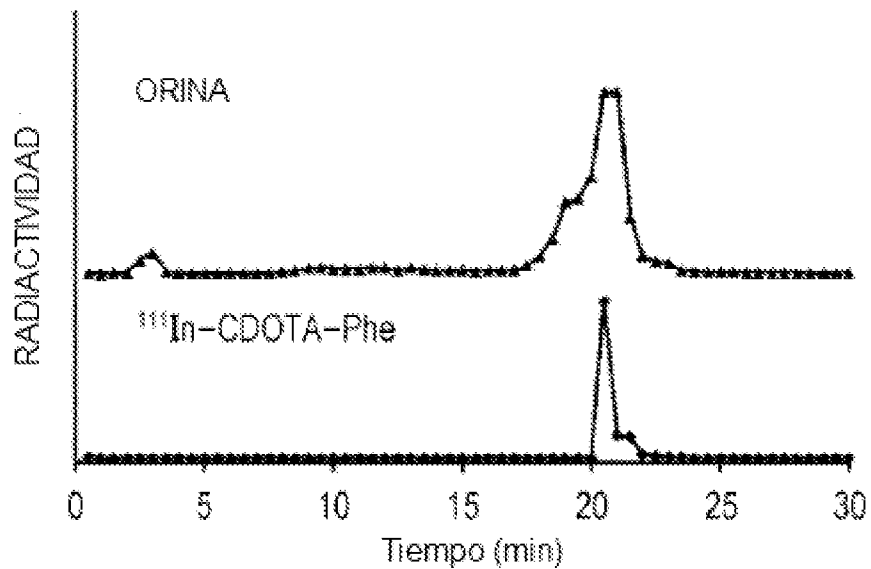


FIG. 10

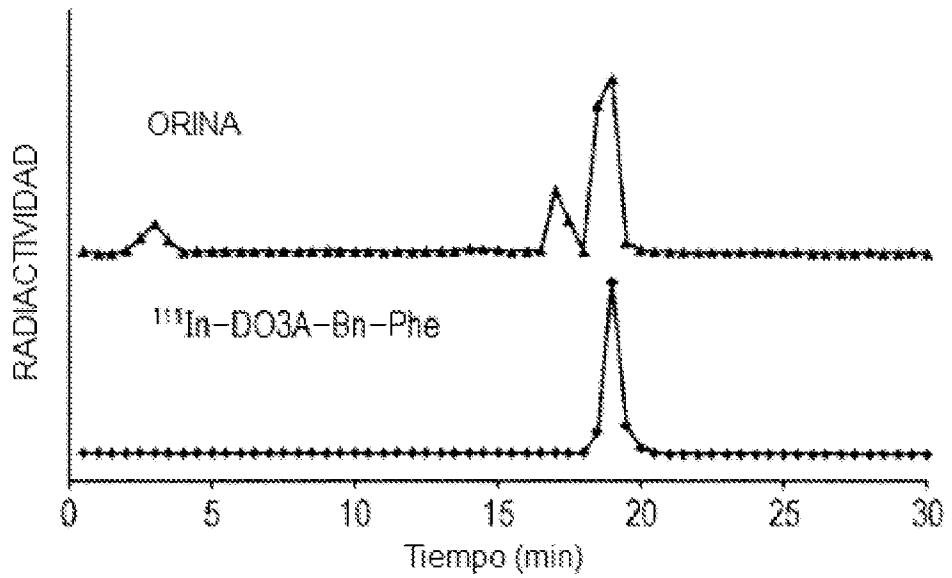


FIG. 11A

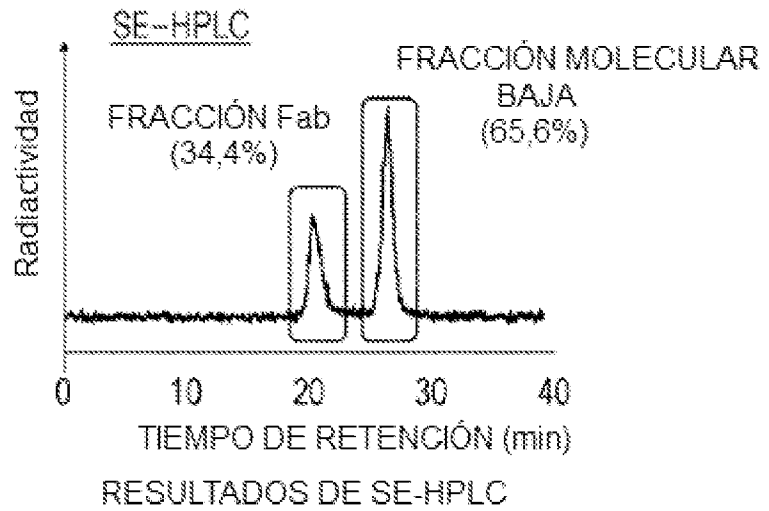


FIG. 11B

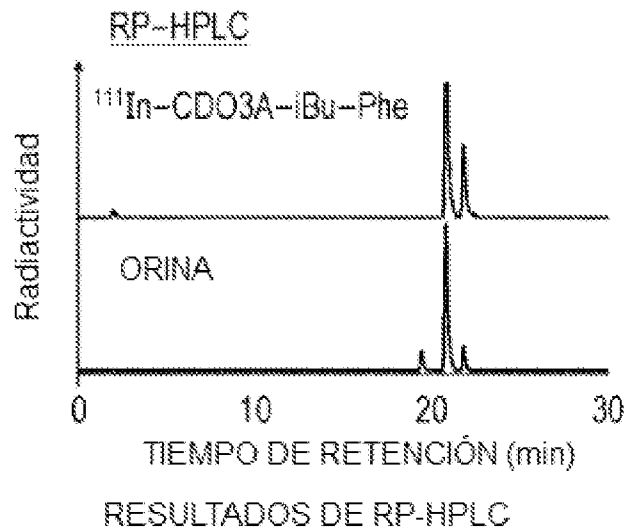


FIG. 12

