



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO  
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

# UIBM

<b>DOMANDA NUMERO</b>	<b>101993900338316</b>
<b>Data Deposito</b>	<b>21/12/1993</b>
<b>Data Pubblicazione</b>	<b>21/06/1995</b>

<b>Sezione</b>	<b>Classe</b>	<b>Sottoclasse</b>	<b>Gruppo</b>	<b>Sottogruppo</b>
C	07	C		

Titolo

PEPTIDI MODIFICATI CON GRUPPO FOSFINICO PER LA MARCATURA CON 99M-TC E 186-188-RE O AGENTI PARAMAGNETICI.
--

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:

"Peptidi modificati con gruppo fosfinico per la marcatura con  $^{99m}\text{Tc}$  e  $^{186-188}\text{Re}$  o agenti paramagnetici"

Di: SORIN BIOMEDICA S.p.A., nazionalità italiana,  
Strada per Crescentino, 13040 Saluggia (Vercelli)

Inventori designati: Ulderico MAZZI, Fabio LUNGI

Depositata il: 21 Dicembre 1993

TO 93A000974

\*\*\*

La presente invenzione si riferisce all'impiego di molecole contenenti gruppi fosfinici nella marcatura con  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{186-188}\text{Re}$  o agenti paramagnetici.

La marcatura di molecole proteiche o peptidiche con  $^{99m}\text{Tc}$  e  $^{186-188}\text{Re}$  è la sfida futura nel campo dei radiofarmaci, sia per la diagnosi, sia per la radioterapia.

Già parecchi risultati sono riportati in letteratura riguardanti l'aggancio a molecole proteiche di cosiddetti "chelanti" che consentono al radionuclide di restare stabilmente legato ad esse.

Negli ultimi anni inoltre sono stati studiati chelanti, i quali contengono dei piccoli peptidi (ad esempio  $\text{MAG}_3$ ), ovvero, è stato definito che nel set coordinativo (chelante) intorno al tecnezio od al renio possono contribuire alla stabilizzazione del complesso metallo-chelante anche gruppi ammidici o

altri gruppi propri di amminoacidi, quali ad esempio -SH, -COOH, -NH<sub>2</sub>, OH, ecc..

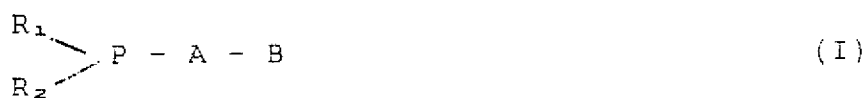
Parimenti, sta avendo primario interesse lo studio di nuovi traccianti per Risonanza Magnetica. Il principio per la progettazione di queste nuove molecole è sempre quello di possedere un tropismo biologico utile. La differenza sta nel tracciante che per la Risonanza Magnetica deve essere un elemento altamente paramagnetico. La scoperta di tali molecole consentirebbe di fare un salto di qualità a questa tecnica da topologica a diagnostico-funzionale.

A seguito della presente invenzione, è stato riscontrato che l'inserimento del gruppo fosfinico in peptidi consente di ottenere molecole utili come chelanti del <sup>99m</sup>Tc, <sup>186</sup>-<sup>188</sup>Re o agenti paramagnetici, le quali molecole utilizzano come set coordinativo il gruppo fosfinico e gruppi funzionali vicini propri del peptide in questione.

Costituiscono quindi oggetto dell'invenzione molecole di peptidi modificati con gruppo fosfinico, quali definiti dalle formule di struttura che seguono ed il loro impiego come agenti chelanti del tecnezio, renio ed agenti paramagnetici.

In particolare, le molecole oggetto dell'inven-

zione rispondono alla formula di struttura generale che segue:

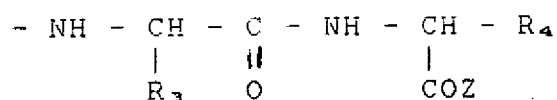


in cui  $R_1$  e  $R_2$  sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro dal gruppo che consiste di:

H,  $C_1-C_5$  alchile lineare o ramificato,  $C_1-C_5$  alchile lineare o ramificato sostituito, OH,  $C_1-C_5$  alcossi, fenossi, fenil sostituito,

ed in cui A è alchilencarbonile o alchilenammino in cui alchilene ha da 1 a 4 atomi di carbonio e può essere lineare o ramificato,

ed in cui quando A è alchilencarbonile B è:



in cui  $R_3$  è un gruppo scelto tra i radicali costituenti la catena laterale di un amminoacido naturale;

$R_4$  è scelto dal gruppo che consiste di:

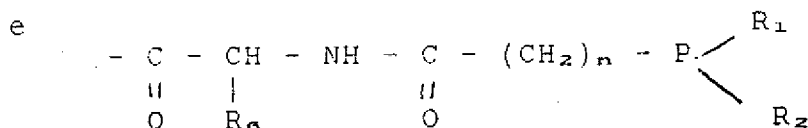
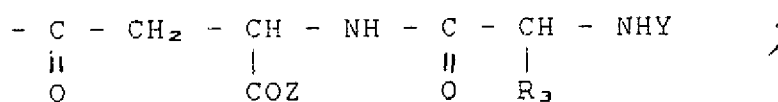
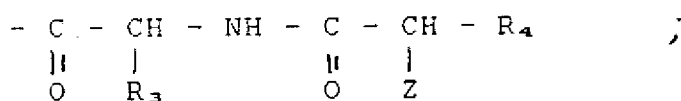
H,  $C_1-C_4$  alchile lineare o ramificato (preferibilmente metile, etile, isopropile e 2-metil-propile),  $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $-(\text{CH}_2)_r\text{NH}_2$  dove r è un intero da 1 a 4,  $-(\text{CH}_2)_p\text{CONH}_2$  dove p è un intero da 1 a 3,  $-(\text{CH}_2)_n\text{XR}_5$  dove n è 1 o 2 e X è scelto tra  $-\text{O}^-$ ,  $-\text{S}^-$ ,  $-\text{COO}^-$  e  $\text{R}_5$

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

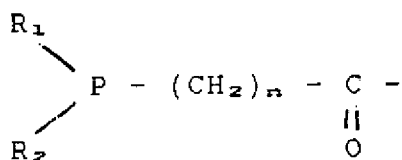
è H oppure un gruppo protettore;

Z è OH, OMe, NH<sub>2</sub> oppure è uguale a R<sub>4</sub>, oppure Z è un peptide con proprietà biologiche utili per la diagnosi, radioterapia e Risonanza Magnetica legato all'atomo di carbonio che precede tramite il suo gruppo N-terminale;

ed in cui quando A è alchilenammino B è scelto dal gruppo che consiste di:



dove R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, n e Z hanno il significato precedentemente riportato e R<sub>6</sub> ha lo stesso significato di R<sub>3</sub> sopra riportato, oppure ha il significato di Z sopra riportato e Y è H oppure



dove R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e n hanno il significato precedentemente riportato.

Quando R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> nella formula (I) sono alchil so-



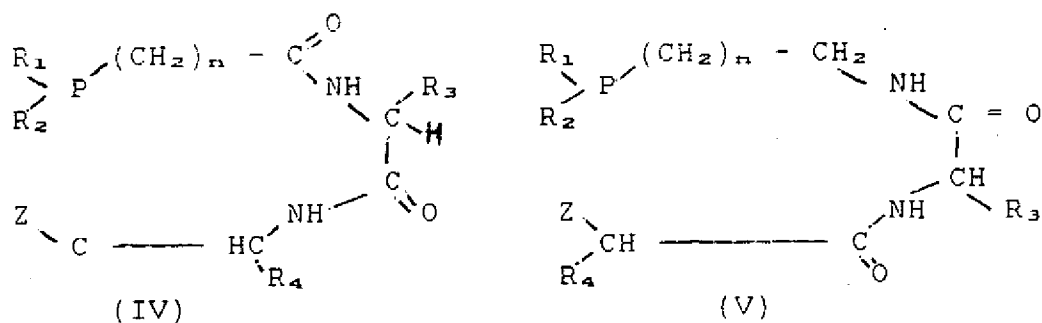
stituito, i sostituenti sono preferibilmente gruppi idrossilici, eterici (preferibilmente C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alcoli), esterei (preferibilmente C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>COO-), ammidici (preferibilmente CO-NH<sub>2</sub>), chetonici (preferibilmente -CO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) alchile), aldeidici (preferibilmente -COH) o nitrilici. Quando R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> nella formula (I) sono fenile sostituito, i sostituenti sono preferibilmente scelti tra gruppi idrossilici, chetonici, nitrilici, eterici (-O-C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>), esterei o ammidici, come sopra definiti.

I gruppi protettori R<sub>5</sub> a X, quando X è -S<sup>-</sup>, sono preferibilmente scelti tra C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchili, fenili, benzoini sostituiti, quali ad esempio *tert*-butile, metossimetile, 2-tetraidropiraniolo, benzile, 3,4-dimetilbenzile, *p*-metossibenzoile, *p*-idrossi-*o*-acetossibenzoile, benziltiometile, *p*-nitrobenzile, difenilmetile, bis(4-metossifenil)metile, fenile, 2,4-dinitrofenile, acetilbenzoile, tiobenzoile, butossicarbonile, benzilossicarbonile, *N*-metossimetile; quando X è COO<sup>-</sup> R<sub>5</sub> è preferibilmente C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchile lineare o ramificato o alchil sostituito con gruppi C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchilestere o arilestere; quando X è O<sup>-</sup>, R<sub>5</sub> è preferibilmente un gruppo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchilico, arilico, oppure un gruppo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchilcarbonile o arilcarbonile, quali ad esempio acetile,



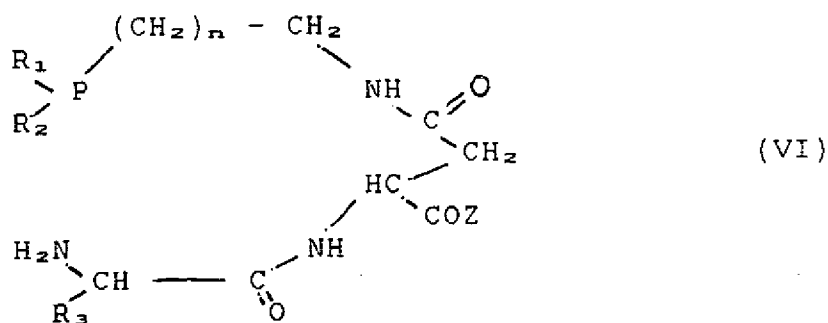
(II) e (III) sono considerate dal punto di vista della coordinazione attorno al metallo come contenenti il set coordinativo  $PN_2X$  e sono costituite da un gruppo fosfinico ed un dipeptide condensati attraverso un legame peptidico od ammidico.

Sono altresì compresi nell'ambito dell'invenzione composti di formula generale (IV) e (V):



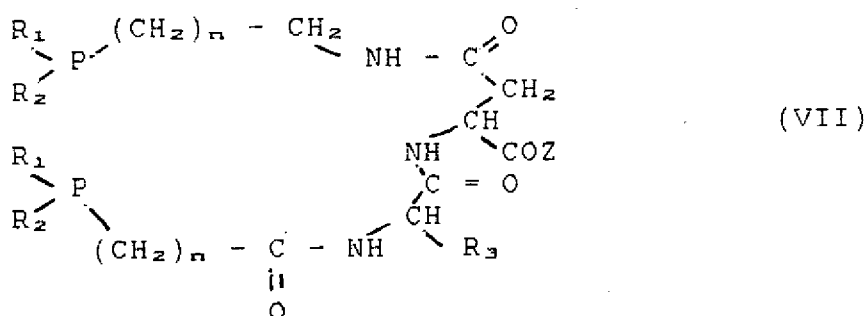
in cui Z è ammino o un peptide utile per diagnosi o radioterapia o NMR collegato mediante il suo gruppo N-terminale (NH-peptide) e in cui il set coordinativo è  $PN_3$ .

Un'altra formula generale nell'ambito dell'invenzione è quella in cui il gruppo fosfinico è legato al gruppo carbossilico dell'acido aspartico (VI):

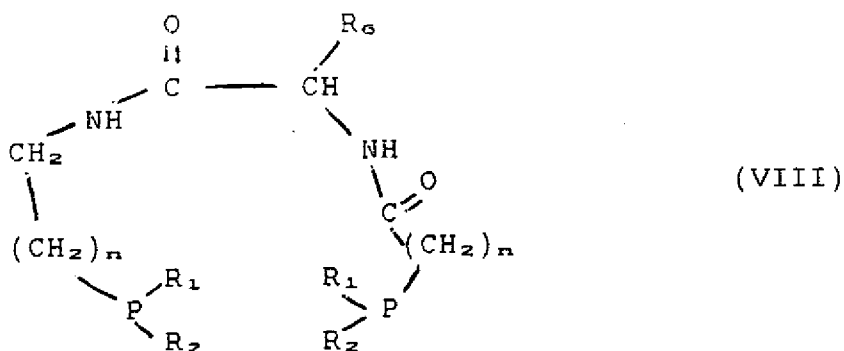


in cui Z è NH<sub>2</sub> o NH-peptide.

La (VI) può essere utilizzata per legare al gruppo -NH<sub>2</sub> terminale un secondo gruppo fosfinico -PR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> e formare così il set coordinativo P<sub>2</sub>N<sub>3</sub> (formula di struttura generale VII):



Sono inoltre comprese molecole che utilizzano il set coordinativo P<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, ottenute legando due gruppi fosfinici ad un solo amminoacido, aventi formula generale (VIII):

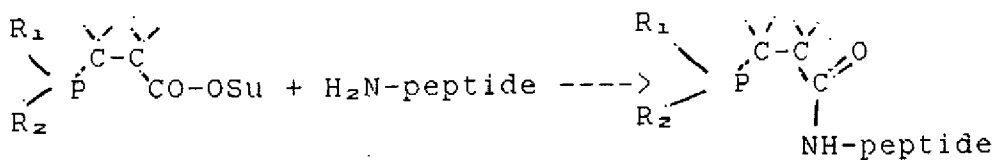


La modificazione dei peptidi con un gruppo fosfinico può essere eseguita utilizzando la normale reazione di "coupling" (vedasi in letteratura M. Bodansky, A. Bodansky; "The Practice of Peptide Synthe-

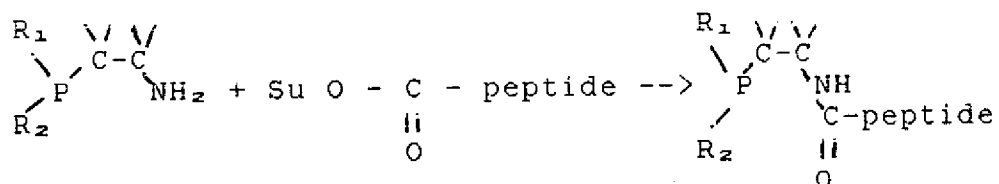
CASARETO CASERTA & PIZZALI



sis", Springer-Verlag, New York, 1984 - riferimento bibliografico (1)), ad esempio mediante reazioni che possono essere schematizzate come segue:

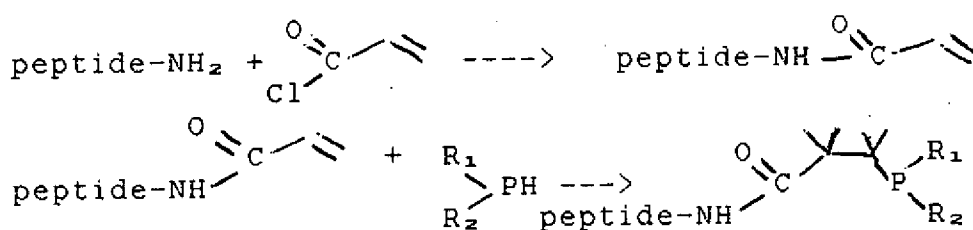


oppure



in cui Su è il radicale di succinimide. Per le condizioni di reazione vedasi il riferimento bibliografico (1).

La modificazione può anche essere ottenuta con altre reazioni, quali:



Queste molecole sono sintetizzate allo scopo di marcare con metalli radioattivi o paramagnetici sostanze proteiche o peptidiche e poter così seguire il loro comportamento in vivo e definire attraverso

di esso una diagnosi clinica od eseguire una radioterapia.

In particolare, le molecole secondo l'invenzione sono utili per legare il  $^{99m}\text{Tc}$  ed il  $^{186-188}\text{Re}$  con stato di ossidazione preferibilmente +5. Solo in alcuni casi si può arrivare a stati di ossidazione più bassi.

Agenti paramagnetici che possono essere legati, comprendono preferibilmente gadolinio o ferro.

Si intende che rientrano nell'ambito dell'invenzione i complessi comprendenti Re, Tc o i suddetti agenti paramagnetici così come l'impiego di tali complessi per le applicazioni di diagnosi, di radioterapia e Risonanza Magnetica.

#### Esempio 1

Sintesi di  $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{CONH-gly-cys}(\text{Bzl})\text{COOMe}$ .

La BOC-gly, la Hcys(Bzl)COOMe.HCl e la  $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$  sono state ottenute dal commercio.

A. Preparazione della BOC-gly-OSu (rif.bibl.(1)):

1,72 g (10 mmoli) di BOC-gly sono stati disciolti in 170 ml di metilene cloruro; ad essi si sono aggiunti 1,28 g (12 mmoli) di N-idrossisuccinimide. Dopo cinque minuti sotto agitazione in bagno a 0°C si sono aggiunti 2,5 g (12 mmoli) di dicicloesilcarbodiimide. La miscela di reazione fu lasciata per dodici

ci ore a 4°C sotto agitazione. Il precipitato di di-  
cicloesilurea venne filtrato e la soluzione è stata  
portata a secchezza su rotavapor. Il prodotto puro  
si è ottenuto per ricristallizzazione da isopropano-  
lo (resa 75%).

B. Sintesi di Hgly.cys(Bzl)COOMe (rif.bibl.(1)):

3,7 g (14 mmoli) di Hcys(Bzl)COOMe.HCl sono stati  
posti in metilene cloruro anidro (50 ml) con Et<sub>3</sub>N  
(2,1 ml, 15 mmoli) e lasciati sotto agitazione per  
dieci minuti. A questa miscela venne quindi aggiunta  
una soluzione di BOCglyCOOSu (3,9 g, 14 mm) in 100  
ml di metilene cloruro anidro. Si è seguita la rea-  
zione con TLC. A reazione completata (qualche ora)  
si eliminarono le impurezze mediante successive e-  
strazioni con 1) HCl 10<sup>-4</sup> M, 2) NaHCO<sub>3</sub> 5%, 3) H<sub>2</sub>O.  
Per evaporazione si ottiene un olio giallino (resa  
94%). La deprotezione del BOC si esegue con acido  
trifluoroacetico. Il prodotto si recupera per evapo-  
razione dell'acido su rotavapor e poi con pompa ad  
olio. Il prodotto oleoso viene trasformato nel clo-  
ridrato mediante soluzione alcolica satura in HCl e  
precipitato con etere etilico (resa 93%).

C. Sintesi di Ph<sub>2</sub>P(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COOSu:

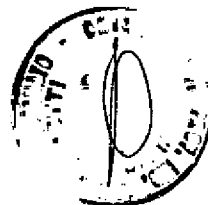
L'attivazione del gruppo carbossilico della fosfina  
con un estere attivato si esegue in condizioni di

atmosfera inerte (argon) per evitare l'ossidazione del gruppo fosfinico a fosfinossido.

2,58 g (10 mmoli) di  $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$  sono posti in 100 ml di diossano anidro e degasato con argon. Ad essi si aggiungono 1,38 g (12 mmoli) di N-idrossisuccinimide. Dopo alcuni minuti sotto agitazione alla miscela si aggiunsero 2,5 g (12 mmoli) di dicicloesilcarbodiimide (DCC). Il precipitato bianco di dicicloesilurea venne filtrato e la soluzione fu portata a piccolo volume con rotavapor. Si ottenne una polvere bianca che può essere lavata con piccole quantità di metanolo anidro e sotto argon (resa 65%).

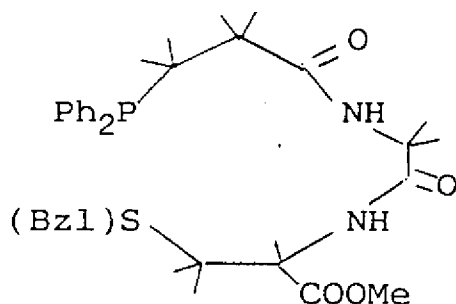
D. Sintesi di  $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{CONH-gly-cys}(\text{Bzl})\text{COOMe}$  (L): reazione di coupling tra  $\text{Hgly-cys}(\text{Bzl})\text{COOMe}$  e  $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{COOSu}$ .

$\text{Hgly-cys}(\text{Bzl})\text{COOMe.HCl}$  (1,9 g, 6 mmoli) è stato sciolto in diossano anidro e degasato con argon. Alla miscela si sono aggiunti 0,91 ml (6,5 mmoli) di  $\text{Et}_3\text{N}$ . Il cloridrato di trietilammina bianco venne eliminato per filtrazione. Alla soluzione degasata si aggiunsero 2,14 g di  $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_2\text{COOSu}$  pari a 6 mmoli e si lasciò la miscela sotto agitazione. Si controlla la reazione attraverso TLC. A reazione ultimata si elimina il solvente per evaporazione.



L'olio ottenuto venne sciolto in etile acetato e, per estrazione con acqua degasata con argon, si eliminarono le impurezze. Dopo anidrifcazione si eliminò il diossano per evaporazione. Il prodotto si ricristallizza con etile acetato-etero di petrolio (resa 76%). Attraverso lo spettro  $^{31}\text{P}$  NMR si constatò la presenza di circa il 5% di fosfinossido.

Formola del prodotto ottenuto:



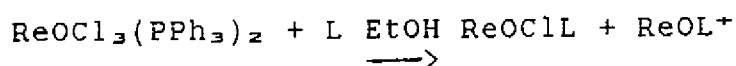
Il set coordinativo è in questo caso  $\text{PN}_2\text{S}$ .

#### Esempio di applicazione

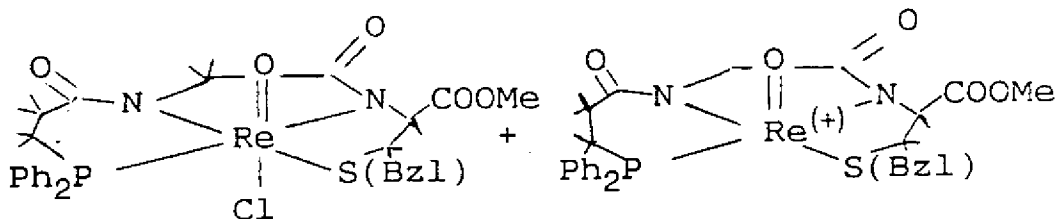
Su questo legante sono state fatte prove per la coordinazione e prove per la marcatura con  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

Le prove di coordinazione eseguite con renio hanno portato all'identificazione di due specie contenenti il legante intatto e che sono ipotizzate contenere la molecola sul piano equatoriale rispetto al gruppo  $\text{ReO}^{3+}$ .

Reazione:



Struttura:



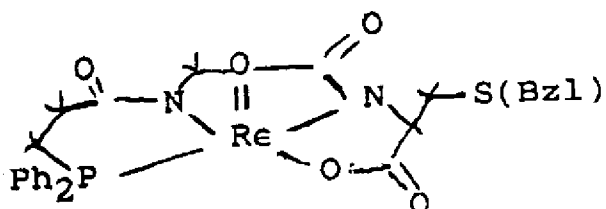
Neutro

cationico

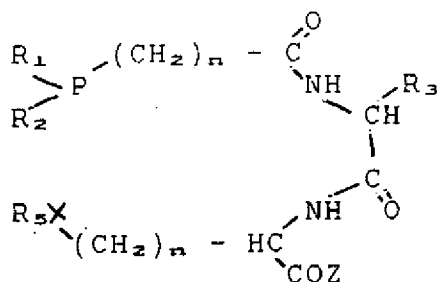
Ciò dimostra che anche il gruppo tioetereo consente la coordinazione. Il gruppo tiolico può essere deprotetto con una conseguente variazione della capacità coordinante del legante.

I primi risultati degli studi di marcatura con  $^{99m}\text{Tc}$  della stessa molecola hanno portato ad una resa fino all'85% utilizzando la coppia di riducenti  $\text{Sn}(\text{tartrato})$  e  $\text{NaBH}_4$ . Queste condizioni indicano che  $\text{NaBH}_4$  può deproteggere il gruppo tiolico della cisteina e portare ad una buona marcatura. La resa in marcatura migliorerà se si userà un gruppo protettore al tiolo cisteinico adatto alla deprotezione nelle condizioni di marcatura. Altri risultati indicano che si possono avere rese in marcatura molto alte anche in condizioni blande (solo  $\text{SnCl}_2$  come riducente); ciò sta ad indicare che si può formare un complesso di tecnezio stabile anche se il legante contiene zolfo di tipo etero, ovvero non c'è deprotezione del tiolo cisteinico.

Dai risultati ottenuti, non si può escludere inoltre la possibilità di coordinazione del gruppo carbossilico al posto del gruppo tiolico; in questo caso, il complesso diventa:



Seguendo il metodo di sintesi illustrato nell'esempio 1, possono essere preparate le molecole riportate a titolo di esempio in tabella 1, rispondente alla formula generale:



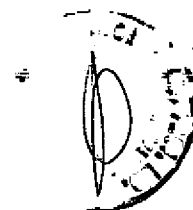
in cui  $n$  è 1 o 2 e  $Z$  è  $\text{COOH}$ ,  $\text{COOMe}$  oppure un peptide avente utili proprietà biologiche come precedentemente definito e in cui  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_5$  hanno il significato riportato in tabella 1.

Tabella 1

Es	X	$R_1$	$R_2$	$R_5$	$R_3$
2	$\text{S}^-$	$\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$	H
3	$\text{S}^-$	$\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{C}_6\text{H}_5$	$\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$	H

4	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
5	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
5	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	H
6	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	H
7	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
8	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
9	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
10	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
11	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
12	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
13	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
14	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
15	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
16	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
17	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
18	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
19	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>
20	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>
21	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
22	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
23	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>
24	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>
25	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>
26	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>
27	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH

CANTIERI CASSETTA & PIANO  
S.p.A.



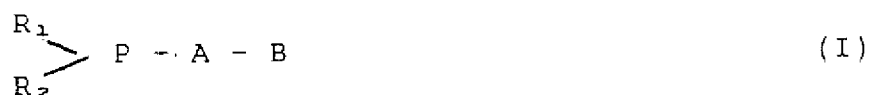
28	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH
29	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>
30	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>
31	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH
32	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH
33	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
34	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
35	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
36	S <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
37	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
38	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
39	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
40	S <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>
41	O <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	H
42	O <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	CH <sub>3</sub>
43	O <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	H
44	O <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	CH <sub>3</sub>
45	O <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
46	O <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
47	O <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
48	O <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
49	O <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
50	O <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>
51	O <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
52	O <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>

53	O <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>
54	O <sup>-</sup>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H	CH <sub>2</sub> OH
55	O <sup>-</sup>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>

LIBRARY OF THE  
 NATIONAL BUREAU OF STANDARDS  
 GAITHERSBURG, MARYLAND

## RIVENDICAZIONI

1. Composti chelanti aventi la formula di struttura generale che segue:

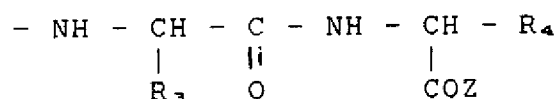


in cui  $R_1$  e  $R_2$  sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro dal gruppo che consiste di:

H,  $C_1-C_5$  alchile lineare o ramificato,  $C_1-C_5$  alchile lineare o ramificato sostituito, OH,  $C_1-C_5$  alcossi, fenossi, fenil sostituito,

ed in cui A è alchilencarbonile o alchilenammino in cui alchilene ha da 1 a 4 atomi di carbonio e può essere lineare o ramificato,

ed in cui quando A è alchilencarbonile B è:



in cui  $R_3$  è un gruppo scelto tra i radicali costituenti la catena laterale di un amminoacido naturale;

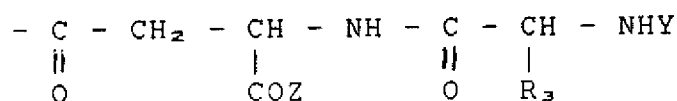
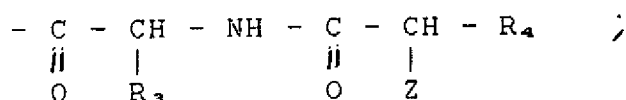
$R_4$  è scelto dal gruppo che consiste di:

H,  $C_1-C_4$  alchile lineare o ramificato (preferibilmente metile, etile, isopropile e 2-metil-propile),  $-CH_2-C_6H_5$ ,  $-(CH_2)_rNH_2$  dove r è un intero da 1 a 4,  $-(CH_2)_pCONH_2$  dove p è un intero da 1 a 3,  $-(CH_2)_nXR_5$

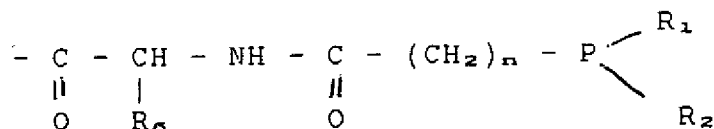
dove n è 1 o 2 e X è scelto tra -O<sup>-</sup>, -S<sup>-</sup>, -COO<sup>-</sup> e R<sub>5</sub> è H oppure un gruppo protettore;

Z è OH, OMe, NH<sub>2</sub> oppure è uguale a R<sub>4</sub>, oppure Z è un peptide con proprietà biologiche utili per la diagnosi, radioterapia o Risonanza Magnetica legato all'atomo di carbonio che precede tramite il suo gruppo N-terminale;

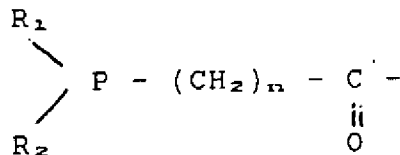
ed in cui quando A è alchilenammino B è scelto dal gruppo che consiste di:



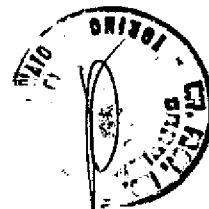
e



dove R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, ne Z hanno il significato precedentemente riportato e R<sub>5</sub> ha lo stesso significato di R<sub>3</sub> sopra riportato, oppure ha il significato di Z sopra riportato e Y è H oppure



dove R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e n hanno il significato precedentemente riportato.



2. Composti secondo la rivendicazione 1, in cui quando  $R_1$  e  $R_2$  nella formula (I) sono alchil sostituito, i sostituenti sono gruppi idrossilici, eteri (preferibilmente  $C_1 - C_5$  alcossi), esteri (preferibilmente  $C_1 - C_5COO-$ ), ammidici, chetonici, aldeidici o nitrilici.

3. Composti secondo la rivendicazione 1, in cui quando  $R_1$  e  $R_2$  nella formula (I) sono fenile sostituito, i sostituenti sono scelti tra gruppi idrossilici, chetonici, nitrilici, eteri ( $-O-C_1-C_5$ ), esteri o ammidici.

4. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 3, in cui i gruppi protettori  $R_5$  a X, quando X è  $-S-$ , sono scelti tra  $C_1-C_5$  alchili, fenili, benzoli sostituiti.

5. Composti secondo la rivendicazione 4, in cui detti gruppi protettori sono scelti dal gruppo che consiste di terbutile, metossimetile, 2-tetraidropirranile, benzile, 3,4-dimetilbenzile, p-metossibenzi-  
le, p-idrossi-o-acetossibenzi-  
le, benziltiomietile, p-nitrobenzile, difenilmietile, bis(4-metossifenil)mietile, fenile, 2,4-dinitrofenile, acetilbenzoile, tiobenzoile, butossicarbonile, benzilossicarbonile, N-metossimetile.

6. Composti secondo una qualsiasi delle rivendica-

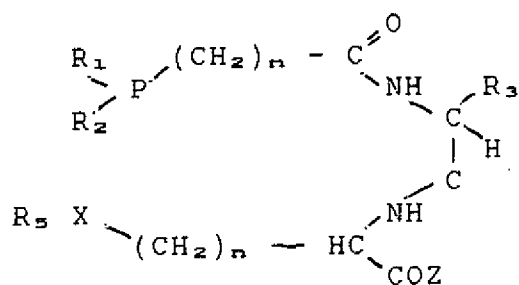
zioni 1 a 3, in cui quando X è COO<sup>-</sup> R<sub>5</sub> è C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchile lineare o ramificato o alchil sostituito con gruppi C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchilestere o arilestere.

7. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 4, in cui quando X è O<sup>-</sup>, R<sub>5</sub> è un gruppo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchilico, arilico, oppure un gruppo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> alchilcarbonile o arilcarbonile.

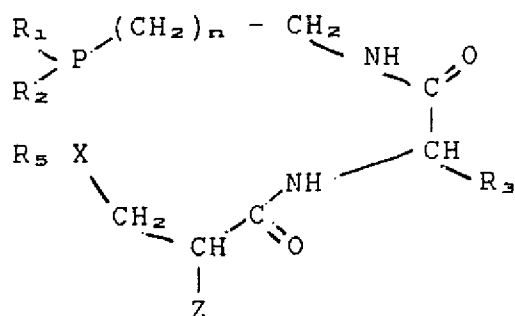
8. Composti secondo la rivendicazione 7, in cui R<sub>5</sub> è scelto tra acetile, fenile, benzile, terbutile, metile, benzilossicarbonile, BOC, l-benzilossicarbonilammino-2,2,2-trifluoroacetile, *o*-trialchilsilile.

9. Composti secondo la rivendicazione 1, in cui quando Z è una molecola con proprietà biologiche utili per diagnosi, radioterapia o Risonanza Magnetica, esso è ad esempio scelto tra avidina, biotina, lipoproteine a bassa densità (LDL), peptidi chemotattici per visualizzazione di siti infiammatori e processi di infezione, peptidi per la visualizzazione di tumore, peptidi per la visualizzazione di trombi e placche aterosclerotiche, agenti citotossici, anticorpi monoclonali e loro frammenti.

10. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 9, aventi set coordinativo PH<sub>2</sub>X secondo le seguenti formule generali:



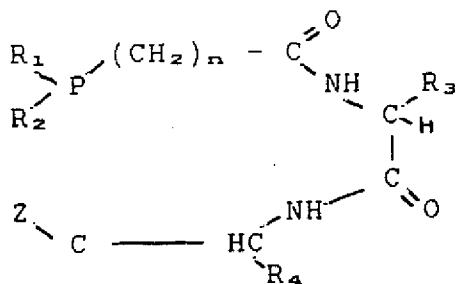
(II)



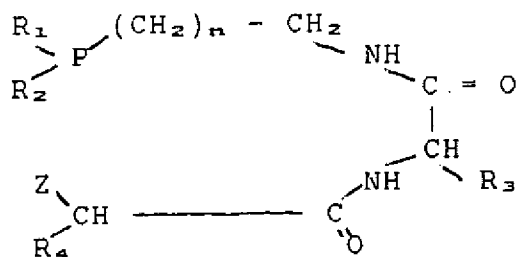
(III)

in cui n è 1 o 2 e gli altri simboli hanno il significato sopra riportato.

11. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 3, aventi set coordinativo  $PN_3$  di formula generale (IV) e (V):



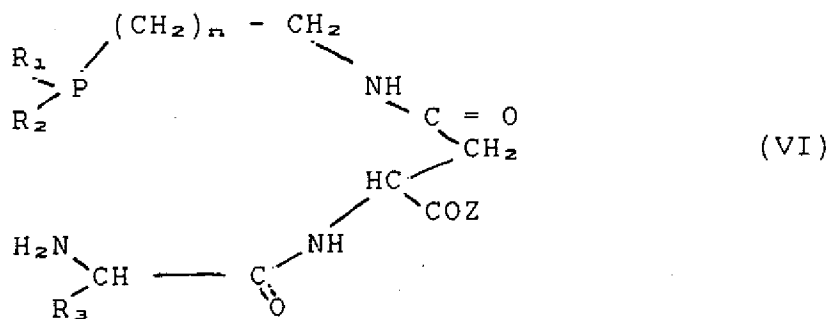
(IV)



(V)

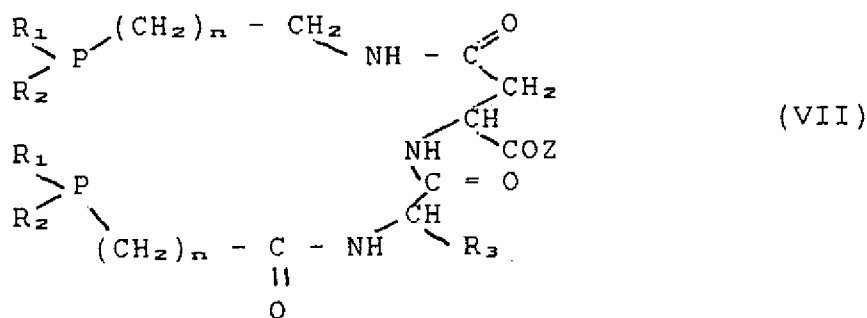
in cui Z è ammino o un peptide utile per diagnosi o radioterapia o NMR collegato mediante il suo gruppo N-terminale (NH-peptide).

12. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 3 in cui il gruppo fosfinico è legato al gruppo carbossilico dell'acido aspartico di formula generale (VI):

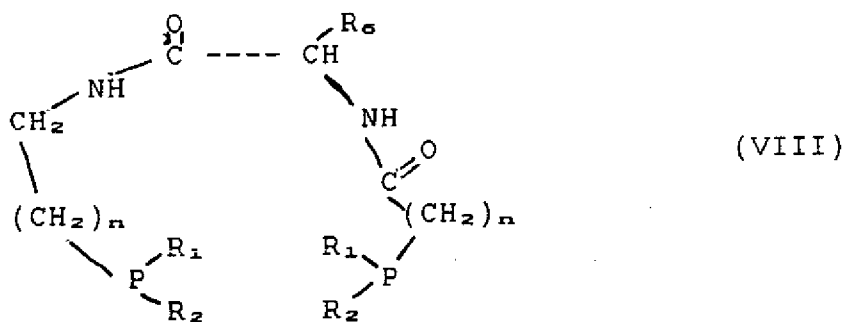


in cui Z è NH<sub>2</sub> o NH-peptide.

13. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 3, aventi setcoordinativo P<sub>2</sub>N<sub>3</sub> con formula di struttura generale VII:



14. Composti secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 3 che utilizzano il set coordinativo P<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, ottenute legando due gruppi fosfinici ad un solo aminoacido, aventi formula generale (VIII):



PUBBLICAZIONE IN TUTTI I PUNTI DI VENDITA

15. Impiego di composti peptidici modificati con fosfina secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 14 come chelante per  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{186-188}\text{Re}$  o agenti paramagnetici.

16. Impiego secondo la rivendicazione 15, in cui l'agente paramagnetico è scelto tra gadolinio e ferro.

17. Complessi di  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{186-188}\text{Re}$  o di un agente paramagnetico con un composto chelante secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 14.

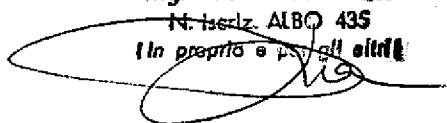
18. Corredo diagnostico, per radioterapia o Risonanza Magnetica includente una quantità efficace di un composto chelante secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 14.

**PER INCARICO**

Ing. Paolo RAMBELLA

N. Iscriz. ALBO 435

(In proprio e per gli altri)



**ACQUAROCCI CASSETTA & PERANI**  
S.p.A.

