

(11) *Número de Publicação:* PT 88348 B

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 5)

A61K049/02 A

C07F013/00 B

A61K043/00 B

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) <i>Data de depósito:</i> 1988.08.26	(73) <i>Titular(es):</i> HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT BRUNINGSTRASSE, 64 D-6230 FRANKFURT/MAIN 80 DE
(30) <i>Prioridade:</i> 1987.08.27 DE 3728600	
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1989.06.30	(72) <i>Inventor(es):</i> MICHAEL MAGERSTADT DE LUDWIG KUHLMANN DE ALEXANDER SCHWARZ DE AXEL STEINSTRASSER DE KARL-HEINZ BREMER DE
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 09/94 1994.09.09	
(74) <i>Mandatário(s):</i> JOÃO DE ARANTES E OLIVEIRA RUA DO PATROCÍNIO 94 1350 LISBOA PT	
(54) <i>Epígrafe:</i> PROCESSO PARA A MARCAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM ISÓTOPOS DE TECNÉCIO OU DE RÉNIO	
(57) <i>Resumo:</i>	

[Fig.]

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 88 348

REQUERENTE: HOECHST AKTIELGESELLSCHAFT, alemã, industrial e comercial, com sede em D-6230 Frankfurt am Main 80, República Federal Alemã.

EPÍGRAFE: " PROCESSO PARA A MARCAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM ISÓTOPOS DE TECNÉCIO OU DE RÊNIO "

INVENTORES: Dr. Karl-Heinz Bremer, Dr. Ludwing Kuhlmann, Dr. Michael Magerstädt, Dr. Alexander Schwarz e Dr. Alex Steinsträsser.

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883.

República Federal Alemã em 27 de Agosto de 1987, sob o nº. P 37 28 600.5.

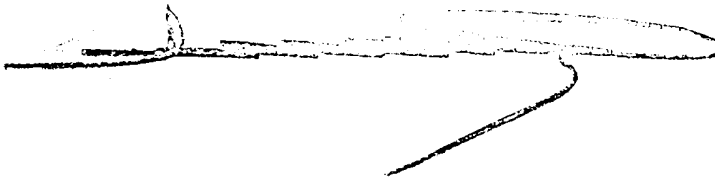
Memória descritiva referente à patente de invenção de HOECHST AKTIELGESELLSCHAFT, alemã, industrial e comercial, com sede em D-6230 Frankfurt am Main 80, República Federal Alemã, (inventores: Dr. Karl-Heinz Bremer, Dr. Ludwig Kuhlmann, Dr. Michael Magerstädt, Dr. Alexander Schwarz e Dr. Axel Steins-trässer, residentes na Alemanha Ocidental), para "PROCESSO PARA A MARCAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM ISÓTOPOS DE TECNÉCIO OU DE RÉNIO".

MEMÓRIA DESCRITIVA

O objecto da presente invenção é um processo para a preparação de substâncias com isotopos de tecnécio ou de rénio - especialmente radioactivos - com o auxílio de formadores de complexos, assim como a utilização destas substâncias marcadas.

As possibilidades de utilização de radionuclídeos na técnica são muitas. Elas abrangem por exemplo o ensaio de uma mistura, a determinação analítica de diluição de quantidades ou de volumes, a medição da velocidade de passagem e a determinação do tempo de permanência em instalações de produção que trabalham continuamente.

Na maior parte das vezes, no entanto, não é suficiente a mera mistura de um nuclídeo radioactivo mas



sim por exemplo na "perseguição" dum determinado componente do sistema é necessário acoplar o nuclídeo radioactivo fisicamente ou melhor ainda quimicamente a pelo menos um composto do componente a ensaiar e isso sem influenciar as propriedades físicas e químicas do correspondente composto segundo as possibilidades

Nos anos transactos, procurou-se marcar compostos químicos com nuclídeos radioactivos. Sobretudo no domínio do diagnóstico medicinal, em que estados patológicos podem ser indicados por meio de substâncias, que existem no organismo apenas em concentrações da ordem de ppm ou mesmo ainda menores, hoje em dia não se pode renunciar às substâncias radioactivamente marcadas.

Em especial, o tecnécio -99m é um radionuclídeo dos mais importantes no diagnóstico por medicina nuclear por causa das suas propriedades físicas favoráveis (ausência de radiação corpuscular, energia gama de 140 keV e período de semi-transformação de 6 horas) e por causa da pequena carga de radiação com esse facto ligada.

O tecnécio-99m que se pode obter em geradores de nuclídeos existe principalmente sob a forma de pertecnetato que é apropriado sob esta forma por exemplo para a cintilografia da glândula tiróide e do cérebro. A cintilografia doutros órgãos por meio do tecnécio-99m dá bons resultados com o auxílio de determinadas "substâncias de transporte" que, por um lado, estão em posição de ligar tecnécio e, por outro lado, enriquecer o radionuclídeo no órgão pretendido com elevada selectividade. Para a marcação da "substância de transporte" específica dos órgãos com tecnécio-99m deve em primeiro lugar transformar-se o anião pertecnetato diluído do gerador de nuclídeos em um derivado com um número de oxidação mais pequeno. Nesta forma reduzida, o tecnécio forma compostos mais ou menos estáveis com a substância específica do órgão. Para a cintilografia dos ossos empregam-se por exemplo derivados de ácidos fosfóricos de Tc-99m, sobretudo, ácidos fosfónicos orgânicos. Assim, na Patente Europeia Número 2485 é descrita a unidade de marcação do sal de sódio do ácido 3,3-difosfono-1,2-propanodicarboxílico como "substância de transporte" específica do órgão. Na Patente Europeia Nº. 108 253 descrevem-se compostos de ácido

trifosfónico e de ácido tetrafosfónico de Tc-99m para a representação cintilográfica do RES, em especial, do fígado. O complexo de Tc-99m com o ácido dietileno-triamino-pentacético (DTPA) é utilizado para o diagnóstico de doenças dos rins ou processos patológicos do cérebro.

Para a marcação de determinadas substâncias com tecnécio-99m e para a preparação dos estojos de ensaio apropriados para as necessidades clínicas de rotina desenvolveram-se e descreveram-se processos especiais. Para a preparação de estojos de marcação para macromoléculas biologicamente interessantes, especialmente, porfirinas, dextranos, citocromos e mioglobina, é conhecido um método (G.D. Zanelli, D. Ellison, M.P. Barrowcliffe, Nucl. Med. Commun. 8, 199-206, 1987), em que a substância a marcar é liofilizada em conjunto com ácido p-aminobenzóico e uma solução contendo ácido clorídrico de SnCl_2 . Para a reconstituição e a marcação com a utilização deste estojo, adiciona-se eluído dum gerador de Tc-99m que foi previamente diluído com suficiente solução tampão, por exemplo, tampão de citrato-cloreto de sódio de pH 9,5. No entanto, este método não é apropriado para substâncias sensíveis a ácidos.

Num outro processo (E.K.J. Pauwels, R.I.J. Feitsma, Pedido de Patente da Organização Mundial da Propriedade Industrial Nº. WO 86/03010), reduz-se em primeiro lugar o pertecnetato de Tc-99m por aquecimento durante 4 horas em solução clorídrica concentrada e liga-se depois a um composto que contém um grupo amino, por exemplo, dimetil-formamida. O produto intermediário reactivo marcado com Tc-99m que precipita sob a forma de uma substância cristalina dificilmente solúvel é feito reagir numa solução de tampão, por exemplo, solução de carbonato de sódio por incubação durante 1 hora à temperatura ambiente com o composto a marcar. O método realiza-se na verdade com isenção de estanho mas é dificilmente apropriado para utilização de rotina por causa das fases dispendiosas do processo.

Para a marcação de proteínas, em especial, de anticorpos, conhecem-se duas vias diferentes. No método directo liga-se o tecnécio-99m reduzido por meio de grupos doadores (amino, amida, tiol, etc.) da proteína.



Esses processos são descritos na Patente Europeia Número 5638 e na Patente Norte-Americana Nº. 4 478 815. Neles utilizam-se sais de estanho-II em excesso para a simultânea eliminação por redução de pontos de dissulfureto e redução do pertecnolato de Tc-99m adicionado. Em geral, para a eliminação da ligação -S-S- são necessários tempos de incubação maiores (24 horas), em que se rompem fragmentos $F(ab')_2$ parcialmente com a obtenção de fragmentos $F(ab)$. Indicações mais recentes da literatura (por exemplo, Journal of Nuclear Medicine 27 (1986), páginas 865-893 e 1315-1320 assim como International Journal of Nuclear Medicine Biology 12 (1985) páginas 3 - 8) mostram que o comportamento dos dois fragmentos depende da "reação de estanhagem" e que a proporção dos dois componentes depois da marcação com Tc-99m não se modifica de maneira digna de nota, em que o componente principal marcado com Tc-99m é $F(ab')$. Em todos os casos, o fragmento $F(ab')$ marcado tem de ser posteriormente purificado porque, apesar de pelo menos um tempo de reação de 30 minutos, não se atingiu a reação quantitativa do pertecnetato.

Num método químico rápido para a marcação de proteínas de plasma humano com Tc-99m (D.W. Wong, F. Mishkin, T. Lee, J. Nucl. Med. 20, 967 - 72, 1979) em primeiro lugar reduz-se o pertecnetato de uma solução ácida por meio de iões de estanho-II e, em seguida, faz-se reagir o tecnécio reduzido com a proteína.

Com a utilização auxiliar de agentes complexantes bifuncionais consegue-se uma marcação estável de substâncias com radio-isótopos.

Na Patente Norte-Americana Nº. 4 479 930, refere-se a utilização de anidridos cíclicos de DTPA e de EDTA como agentes quelantes não só para In-111 e Ga-67 mas também para Tc-99m. Na patente Europeia Nº. 35765, menciona-se a utilização de Deferoxamin como reagente complexante para o tecnécio-99m. No Pedido de Patente da Organização Mundial da Propriedade Industrial WO Número 85/3063 refere-se um processo em que se fazem reagir pontes de dissulfureto parcialmente reduzidas dos anticorpos com sal de sódio do tetracloronitritotecnato que se preparou previamente por reação do per-

tecnotato com azida de sódio. No processo descrito no Pedido de Patente Europeia Nº. 194853, utilizam-se igualmente grupos de tiol livres produzidos nos fragmentos de anticorpos para ligação de ácido $\angle$ -(7-maleimido-heptil)-imino-bis-(etilenonitrilo)-tetracético como complexo de quelato. O acoplamento do complexo aos anticorpos realiza-se por meio da reacção dos grupos SH com a ligação dupla do agrupamento de Maleinimida do composto complexo enquanto o metal radioactivo é complexado por intermédio dos radicais de ácido nitrilodiacético.

Metalotioneína, uma proteína ligada a metal com um peso molecular de 6000 e uma elevada proporção de cisteína na molécula, foi empregada como agente complexante em anticorpos (G.L. Tolman, R.J. Hadjian, M.M. Morelock et al., J. Nucl. Med. 25, 20, 1984). Por permuta com glucoheptonato de Tc-99m foi possível marcar o conjugado do anticorpo-metalotioneína com tecnécio. No entanto, a permuta foi incompleta de modo que foi necessário realizar uma purificação posterior. Descreveram-se vários ligandos de bis-tiossemicarbazona igualmente como formadores de quelatos bifuncionais (Y. Arano, A. Yokoyama, H. Magat et al., Int. J. Nucl. Med. Biol. 12, 425 - 30, 1986).

Conjugou-se p-carboxietil-fenil-glio-xal-di(N-metiltiossemi-carbazona) com albumina de soro humano. O complexo 1:1 marcado com Tc-99m demonstrou uma determinada instabilidade enquanto o complexo com uma proporção maior do que 1:1 demonstrou uma possibilidade de armazenagem multiplicada no fígado.

O acoplamento de um ligando de diamida-dimercaptido- N_2S_2 a proteínas (A.R. Fritzberg, S. Kasina, J.M. Reno et al. J. Nucl. Med. 27, 957 - 958, 1986) realiza-se por intermédio de um grupo funcional adicional. Assim, por exemplo, fez-se reagir 4,5-di-(S-etilcarbonil-mercapto-acetamida)-pentanoil-N-hidroxi-succinimida com um anticorpo de anti-melanoma. Incubou-se o conjugado assim obtido a pH 8 e 50°C com solução de taratarato de Tc-99m. Depois de uma hora, tinha-se transferido 78% de tecnécio do tartarato para o anticorpo.

Para se poder utilizar tecnécio-99m como diagnóstico em mais largas proporções, é necessário



transportar selectivamente este nuclídeo para o órgão a ensaiar. De outros órgãos ou organismos, o tecnécio-99m tem de ser rapidamente eliminado ou principalmente não inserido para evitar cargas de radiação desnecessárias para os pacientes. Para essa finalidade, empregam-se as substâncias até agora mais importantes que são marcáveis com tecnécio-99m e possuem uma elevada especificidade dos órgãos. Além disso, há no entanto uma série de substâncias que, na realidade, possuem uma elevada especificidade pelos órgãos mas que não são marcáveis directamente. Elas podem ser proteínas (fibrinogénio, albumina de soro humano), enzimas (estreptoquinase, lactato-desidrogenase), açúcares (dextrano, glucose) ou também ser polímeros. A elas pertencem igualmente substâncias de baixo peso molecular como ácidos gordos que existem em maiores proporções no tecido de miocárdio pelo elevado consumo de energia do coração. Para poder marcar essas substâncias, elas são acopladas a agentes complexantes que, por sua vez, se podem ligar firmemente com tecnécio-99m.

Como agentes complexantes apropriados para a complexação de isótopos de tecnécio e de rénio são conhecidas aminas macrocíclicas entre outras também ciclamas. O rendimento de complexação em condições apropriadas é de 99% para o complexo de tecnécio-ciclana. Mencionam-se pormenores sobre os complexos de amina-tecnécio em D.E. Troutner, J. Simon, A.R. Ketring, W.A. Volkert, R.A. Holmes, J. Nucl. Med. 21 (1980), 443 ou S.A. Zuckman, G.M. Freeman, D.E. Troutner, W.A. Volkert, R.A. Holmes, D.G. van der Keer, E.K. Barefield, Inorg. Ch. 20 (1981), 3386 ou J. Simon, D. Troutner, W.A. Volkert, R.A. Holmes, Radiochem. Radional. Lett. 47 (1981), 111. São também conhecidos ciclamas substituídas tanto no átomo de azoto 1 como também no átomo de carbono 6 (A.R. Ketring, D.E. Troutner et al., Int. J. Nucl. Med. Biol. 11 (1984) ou M. Struden, T.A. Kaden, Helv. Chim. Acta 69 (1986), 2081 ou E. Kimura, R. Machida, M. Kodama J. Am. Chem. Soc. 106 (1984), 5497.

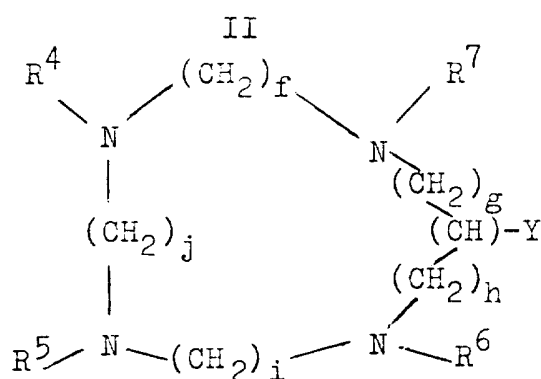
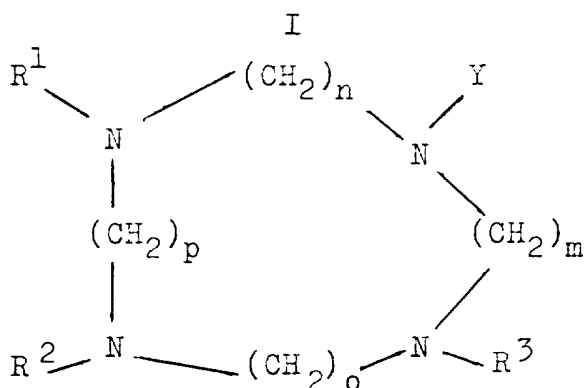
Todos os ensaios até agora realizados para conjugar amina e também outros ligandos com proteínas (veja-se s. Fritzberg et al., J. Nucl. Med. 27 (1986) 957 ou Arano et al., J. Nucl. Med. 25 (1984), 20 ou Arano et al., Int. J. Nucl. Med. Biol. 12 (1986) 245) originaram produtos que

in vivo não satisfizeram as condições de estabilidade necessárias ou apenas o fizeram parcialmente.

A Requerente descobriu agora um processo que permite marcar substâncias com o auxílio de aminas macrocíclicas substituídas, em especial ciclanos, com isótopos de tecnécio ou de ruténio.

Como "substâncias" que são marcáveis com o auxílio do processo de acordo com a presente invenção, entendem-se em primeiro lugar os compostos que podem ser utilizados no diagnóstico médico como "substâncias de transporte", ou seja, a maior parte dos compostos que apresentam uma elevada especificidade dos órgãos tais como anticorpos, fragmentos de anticorpos como por exemplo fragmentos $F(ab')_2$ ou $F(ab')$, proteínas como fibrinogénio, albumina de soro humano, esteróides, lípidos, enzimas como por exemplo estreptoquinase lactato-dehidrogenase, açúcares como dextrano, glucose ou também polímeros. Por outro lado, podem-se também geralmente marcar substâncias com o auxílio do processo de acordo com a presente invenção que reagem com o grupo funcional presente na cadeia lateral das aminas macrocíclicas com formação de uma ligação química. Pensa-se, neste caso, na "fiscalização" das substâncias químicas em instalações de produção, na determinação das suas concentrações, das velocidades de fluxo, do tempo de permanência, etc.

A invenção refere-se portanto a um processo para a marcação de substâncias com isótopos de tecnécio ou de rénio que se caracteriza pelo facto de
a) se fazer reagir a substância a marcar com um derivado N-substituído ou C-substituído duma amina macrocíclica de fórmula I e/ou II



nas quais

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6$ e R^7 são iguais ou diferentes e significam hidrogénio, alquilo em C_1-C_4 ou arilo ou aril-alquilo em C_1-C_4 e

m, n, o, p, f, h, i e j, são iguais ou diferentes e significam 1, 2, 3 ou 4 e g significa 0, 1, 2, 3 ou 4 e

Y significa um grupo das fórmulas $-X-NH_2$, $-X-NCS$, $-X-COOH$, $-X-OH$, $-X-N_2^+$ ou um grupo da fórmula $-X-Z$ em que Z significa flúor, cloro, bromo ou iodo e X significa um grupo alquileno com 1 até 40 átomos de C ou X significa um grupo ortofenilo, metafenilmetilo ou parafenilmetilo, e se marcar o composto assim obtido com tecnécio-99m ou rénio-186 ou rénio-188, para o que se mistura pertecnetato-99m ou per-renato-186 ou per-renato-188 com um agente de redução para o pertecnotato-29m ou per-renato-186 ou per-renato-188, ou

b) em primeiro lugar, se preparar o complexo de tecnécio-99m e/ou de rénio-186 ou de rénio-188 por acção de um composto de fórmula I e/ou II com pertecnetato-99m e/ou per-renato-186 ou per-renato-188 e um agente redutor para o pertecnetato-99m e/ou per-renato-186 ou per-renato-188 e, em seguida, se fazer reagir este complexo de tecnécio-99m e/ou de rénio-186 ou de rénio-188 com a substância a marcar.

Em especial, a invenção refere-se a um processo para marcação de substâncias com isótopos de tecnécio ou de rénio, em que se utilizam aminas macrocíclicas da fórmula I e/ou II, em que $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6$ e R^7 são iguais ou diferentes e significam hidrogénio ou alquilo em C_1-C_4 e m, n, o, p, s, i e j são iguais ou diferentes e significam dois ou três e g significa 0, 1 ou 2 e h significa 1 ou 2 e Y significa um grupo da fórmula $-X-NH_2$, $-X-NCS$, $-X-COOH$, $-X-OH$, $-X-N_2^+$ ou $-X-COCl$ ou um grupo da fórmula $-X-Z$, em que Z significa, flúor, cloro, bromo ou iodo e X significa um grupo alquileno com um a 20 átomos de C.

Prefere-se de maneira muito especial um processo para a marcação de substâncias com isótopos de tecnécio ou de rénio, em que se utilizam aminas macrocíclicas da fórmula I e/ou II, em que $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6$ e R^7 significam hidrogénio e m, p e j significam 3 e n, o, f e i signifi-

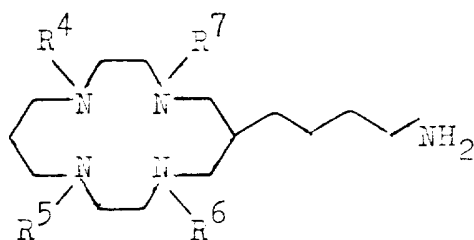
cam 2 e g e h significam l e Y significa um grupo da fórmula $-X-NH_2$, em que o símbolo X significa um grupo alquilenos com l até 15 átomos de C.

A invenção refere-se ainda à utilização das substâncias marcadas, especialmente, no diagnóstico médico.

Por arilo entende-se fenilo e naftilo em especial, fenilo. Os grupos alquilo com mais de 2 átomos de C podem tanto ser de cadeia linear como também de cadeia ramificada. No caso do grupo alquilenos X, trata-se de preferência de alquilenos de cadeia linear com até 40 átomos de C, mais preferivelmente, com até 20 átomos de C e, de maneira especialmente preferida, com até 15 átomos de C.

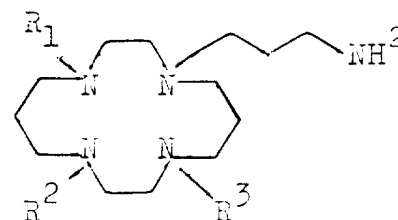
No processo de acordo com a presente invenção liga-se à substância a marcar um derivado de amina macrocíclica ou N-substituído ou C-substituído que na extremidade do substituinte possui um grupo funcional, com o auxílio desse grupo funcional. Eventualmente depois da correspondente purificação do conjugado (por exemplo, por ultrafiltração ou por diálise no caso das proteínas ou dos polímeros, por cromatografia em coluna no caso de substâncias de baixo peso molecular como esteróides ou lípidos), faz-se reagir tecnécio-99m sob a forma de pertecnetato ou rênio-186 ou rênio-188 sob a forma de per-renato com um agente redutor apropriado para a redução do pertecnetato ou per-renato com obtenção do número de oxidação necessário para a complexação, numa sequência qualquer ou conjuntamente. O substrato marcado é eventualmente purificado mais uma vez.

Como variante, pode também em primeiro lugar produzir-se o complexo de tecnécio ou de rênio da amina cíclica e, em seguida, fazer-se reagir este com a substância para obtenção do conjugado. Neste caso, a complexação e a redução decorrem como se mencionou acima. De preferência, a reação de complexação realiza-se a um pH básico (7 a 14). De preferência, empregam-se como complexantes aminas macrocíclicas da fórmula III ou IV.



III

ou



IV

A preparação das amins macrocíclicas de acordo com a fórmula I ou II efectua-se da maneira mais simples por reacção de bis(ω -alquilamino)-aminas que são primeiramente tritosiladas e, em seguida, transformadas no sal do dissódio, com α , ω -di-hidroxi-alquilamina tosilada três vezes seguida de uma destosilação. Um método de síntese correspondente é descrito por J. Richman e T. Atkins in J. Am. Chem. Soc., 96 (1974) 2268. Os radicais R^1 até R^7 podem ser inseridos de acordo com processos conhecidos na literatura, por exemplo, por alquilação com halogenetos de alquilo.

O acoplamento da cadeia lateral exocíclica com grupos reactivos terminais ao grupo NH prevê-se que se faça por exemplo por reacção das amins macrocíclicas com halogenetos de ácidos ω -nitroalquilcarboxílicos, de preferência, com cloretos, e subsequente hidrogenação, em que o grupo carbonilo e o grupo nitro são reduzidos com obtenção de um grupo CH_2 ou NH_2 . Uma reacção análoga com brometos é, por exemplo, descrita em A.R. Ketring, D.E. Troutner et al., Int. J. Nucl. Med. Biol. 11 (1984) 113.

Para a preparação das amins macrocíclicas C-substituídas pode, por exemplo, proceder-se da seguinte forma: Transforma-se uma N,N'-(aminoalquil)- α , ω -alquil-diamina com cloreto de tosilo e alcoolato de sódio num derivado de dissódio de tetratosilo, que se faz reagir com (de preferência) tosilaminoalquilttil- α , ω -alquil-tosilato de modo a obter-se tetra-azocicloalcano substituído por C-aminoalquilo.

Todas estas variantes da síntese de amins macrocíclicas se baseiam mais ou menos no processo de J. Richman e T. Atkins (ver loc. cit). Por simples alteração des-

te processo, podem-se preparar as mais diferentes aminas macrocíclicas - por exemplo, aquelas que têm cadeias de alquilenos de comprimentos diferentes ou também aquelas que têm cadeias laterais exocíclicas C-substituídas.

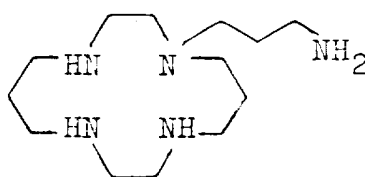
A maior parte dos compostos de partida acima descritos, por exemplo, muitas N_3N' -aminoalquil- α,ω -alquil-diaminas e muitos α,ω -alquil-dióis "Y"-substituídos, são vendidos no comércio ou podem-se preparar de maneira simples.

A redução do pertecnetato ou do per-renato pode realizar-se de acordo com processos conhecidos da literatura, de preferência, com um composto de estanho-II. De maneira especialmente preferida, a redução realiza-se com um sal de estanho-II estabilizado por complexação de acordo com um "processo de marcação" como se descreve no Pedido de Patente Alemã publicado DE-A 3728599. Nesse caso, em primeiro lugar, mistura-se o composto de estanho-II com um agente complexante de preferência com um composto de fósforo como um fosfonato ou um pirofosfato, que permite que o composto de estanho se mantenha em solução sobretudo no intervalo de pH fisiológico. Essa solução de sal de estanho-II estabilizada por complexação pode em seguida ser adicionado à substância a marcar, para o que se realiza a adição de solução de pertecnetato ou de per-renato mas também se pode usar uma mistura da substância a marcar e da solução de pertecnetato ou de per-renato.

Em seguida, esclarece-se a invenção com base em exemplos e define-se nas reivindicações da patente.

Exemplo 1

Preparação da ciclama N-substituída 1-(3-aminopropil)-1,4,8,11-tetraza-ciclo-tetradecano



- a) Dissolvem-se 5 g de ácido 3-nitropropiónico em cerca de

40 ml de SOCl_2 e aquece-se a refluxo durante duas horas.

Elimina-se o SOCl_2 e seca-se o produto em vácuo.

b) À temperatura de 0°C , colocam-se 6,6 g de ciclama (1,4,8,11-tetraza-ciclo-tetradecano) e 0,18 g de Na_2CO_3 em 100 ml de CHCl_3 . Adiciona-se gota a gota 0,45 g de cloreto de ácido 3-nitropropiónico. Depois de se agitar durante 24 horas, aquece-se a refluxo durante 8 horas; depois concentra-se a solução até à secura e seca-se. Retoma-se o resíduo em HCl aquoso (pH 1,5) e extrai-se duas vezes com 100 ml de éter dietílico de cada vez. Concentra-se de novo até à secura. Retoma-se o resíduo em 100 ml de NaOH a 40%, tritura-se e extrai-se a mistura duas vezes com 50 ml de $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ de cada vez. Rejeita-se a fase etérea. A extração da base com 100 ml de acetato de etilo por duas vezes origina, depois da separação a secagem da fase orgânica, um resíduo amarelado do qual se sublima o excesso de ciclama a $100^\circ/0,1$ mm de mercúrio. Depois da recristalização em H_2O obtêm-se a (3-nitropropilo)-amida-ciclama sob a forma de sólido amarelado microscópico (decomposição a 175°C), caracterizado pela análise de C, H, N pelo espectro de massas e de ressonância magnética nuclear protónica assim como de infravermelho.

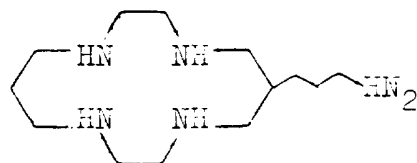
Rendimento: 0,22 g (25%).

A uma solução aquosa saturada com H_2 com um catalisador contendo 10% de Pt sobre carvão activo, adiciona-se uma solução aquosa de 0,2 g de (3-nitropropil)-amido-ciclama e amónia (pH 10) a 0°C . A mistura é colocada sob uma atmosfera de N_2 . A reacção termina quando não se consome mais H_2 . Filtra-se a solução através de terra de diatomáceas e liofiliza-se. Recupera-se o 1-(3-aminopropilo)-1,4,8,11-tetraza-ciclo-tetradecano sob a forma de um sólido amarelado e caracteriza-se pelas análises de C, H, N, e dos espectros de massa e de ressonância magnética nuclear protónica.

Rendimento: 100 mg ($\approx$ 58% da teoria).

Exemplo 2

- Preparação de 6-(4-aminobutil)-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano



a) Síntese de TsHN-(CH₂)₂-NTs-(CH₂)₃-NTs-(CH₂)₂-NHTs

Dissolvem-se 2 g de N,N'-(diaminoetil)-1,3-propanodiamina juntamente com 2 g de NaOH em 250 ml de água e à temperatura ambiente e sob intensa agitação adicionam-se gota a gota durante 30 minutos 9,4 g de cloreto de p-tolueno-sulfonilo dissolvidos em 80 ml de éter dietílico. Depois de uma hora, evapora-se lentamente o éter por introdução duma corrente de N₂ precipitando o produto tetratosilado. Separa-se a solução por filtração lava-se cuidadosamente com muita água e seca-se em vácuo. O produto sólido incolor pode ser identificado pelo espectro de ressonância magnética nuclear protónica em CDCl₃.

Rendimento: 6,5 g (67% em teoria).

b) Síntese de NaTsN-(CH₂)₂-NTs-(CH₂)₃-NTs-(CH₂)₂-NHTs

Introduz-se o tetratosilato (6,5 g) em cerca de 200 ml de C₂H₅OH e adiciona-se gota a gota uma solução de 0,4 g de Na em 40 ml de C₂H₅OH. Depois de se aquecer a refluxo durante uma hora, concentra-se a solução em evaporador de rotação e seca-se em vácuo o sal de sódio do tetratosilato. Rendimento 6,8 g; sublimação/decomposição a 110°C.

c) Síntese de 2-(butilnitril)-malonato de dietilo

Lavam-se 5,2 g de NaN três vezes com éter de petróleo e depois retomam-se em 300 ml de THF. A 0°C adiciona-se gota a gota lentamente malonato de dietilo (16 g) sob atmosfera de azoto; depois, aquece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente, aquece-se a refluxo durante duas horas e depois arrefece-se de novo a 0°C, seguindo-se a adição gota a gota de 4-bromo-butironitrilo (8,2 ml) em cerca de 20 ml de tetra-hidrofurano. Depois de se agitar à temperatura ambiente durante 15 horas, aquece-se a refluxo durante uma hora, arrefece-se, separa-se por filtração o NaBr formado e concentra-se

de modo a obter-se um óleo. Depois de se adicionar cerca de 50 ml de CH_2Cl_2 extrai-se duas vezes com 100 ml de H_2O de cada vez e, em seguida, separa-se a fase orgânica, seca-se sobre MgSO_4 e concentra-se destila-se o resíduo oleoso em vácuo e aproveita-se a fração que passa entre 105 e $112^\circ\text{C}/0,1 - 0,5$ mm de Hg. O espectro de ressonância magnética nuclear protônica em CDCl_3 mostra que se trata do produto indicado em epígrafe. Rendimento 6,02 g (32% em teoria).

d) Síntese de 2-(aminobutil)-propano-1,3-diol

Sob atmosfera de N_2 , adicionam-se gota a gota 6 g de 2-(butilnitril)malonato de dietrilo a -10°C a uma suspensão de 3 g de LiAlH_4 em 100 ml éter dietílico anidro. Aquece-se a mistura reaccional lentamente até à temperatura ambiente e, em seguida, aquece-se a refluxo durante 3 horas. Depois de se arrefecer novamente a -10°C destrói-se o excesso de hidreto com água. Separa-se o precipitado por filtração através de uma placa filtrante e lava-se várias vezes com éter ditílico. Seca-se a solução etérea sobre MgSO_4 , filtra-se e evapora-se em evaporador de rotação. Rendimento 0,66 g do 2-(aminobutil)-propano-1,3-diol como mostra o espectro de ressonância magnética nuclear protônica e a análise de C, H. Sólido vítreo; Ponto de fusão: 126°C (a partir de 60°C com aspecto de mel)

e) Transformação de 2-(aminobutil)-propano-1,3-diol no O,O,N-tritosilato

Introduz-se o 2-(aminobutil)-propano-1,3-diol (0,6 g) em 50 ml de CH_2Cl_2 ; depois, adicionam-se 1,22 ml de piridina e a esta solução adicionam-se gota a gota a 20°C durante 30 minutos 2,35 g de TsCl em 20 ml de CH_2Cl_2 . Depois de se agitar durante 20 horas, lava-se várias vezes com HCl 2 normal, separa-se a fase orgânica, seca-se sobre MgSO_4 e evapora-se em evaporador de rotação. O produto 2-(aminobutil)-propano-1,3-diol tosilado - pode purificar-se por cromatografia em coluna com metanol/gel de sílica. Confirmação por análise de C, H e N, e por espectro de ressonância magnética nuclear protônica.

Rendimento: 2,36 gramas (95%).

f) Ciclização

Introduzem-se 1,74 g do sal de dissódio obtido de acordo com o modo operatorio do Exemplo 2b) em 5 ml de dimetil-formamida, aquece-se a 100°C e adiciona-se gota a gota o ditosilado de diol do Exemplo 2c), dissolvido em 10 ml de DMF, a 100°C. Depois de se agitar a 100°C durante 4 horas, arrefece-se a solução até à temperatura ambiente e depois agita-se durante mais 15 horas. Depois de se adicionarem cerca de 10 - 15 ml de H₂O, precipita o 6-(4-aminobutilo)-1,4,8,11-tetraza-ciclotetradecano tosilado que se lava várias vezes com água e se seca. Rendimento 1,43 g (66% da teoria). A caracterização realiza-se por meio do espectro de ressonância magnética nuclear protónica em CDCl₃. Decomposição a partir de 132°C, decomposição completa a 236°C.

g) Destosilação

Adiciona-se o pentatosilato proveniente do Exemplo 2f) (1,4 g) a 20 ml de H₂SO₄ concentrado e mistura-se a 95°C. Assim que uma amostra se dissolve na água, arrefece-se a -10°C e precipita-se o produto com 20 ml de éter dietílico. Depois da filtração, introduz-se o sólido cinzento seco em solução de NaOH a 40% (40 ml) e, em seguida, extrai-se várias vezes com éter dietílico. A partir da solução etérea, obtém-se o 6-(4-aminobutilo)-1,4,8,11-tetraza-ciclotetradecano que se pode purificar por cromatografia.

Rendimento: 0,3 g (85%). Caracterização por análise de C, H e N e por meio dos espectros de massas e de ressonância magnética nuclear protónica.

Exemplo 3

Síntese de 6-(11-hidroxi-undecil)-1,4,8,11-tetraza-ciclotetradecano

a) Síntese de 11-(Bromo-undecanoato de metilo)

Num balão de três tubuladuras com refrigerante, contador de bolhas, termómetro e funil de carga,
• introduzem-se 26,5 g (0,10 mole) de ácido 11-bromodicanóico e,
• sob arrefecimento em banho de gelo, adicionam-se gota a gota



17,8 g (0,15 mole) de cloreto de tionilo de modo que a temperatura não ultrapasse 20°C. Em seguida, aquece-se em banho maria a 70°C e agita-se até terminar a libertação de gases (HCl, SO₂). Evapora-se o cloreto de tionilo que não se consumiu em vácuo produzido por trompa de água e condensa-se com uma trapa de arrefecimento.

Ao cloreto de ácido 11-bromo-undecanóico impuro adicionam-se 3,52 g (0,11 mole) de metanol isento de água e agita-se em banho maria a 40°C até terminar a libertação de cloreto de hidrogénio. Destila-se o produto bruto assim obtido numa coluna de Vigreux (ponto de ebulição: 105 a 108°C/0,1 mbar). Rendimento: 26,19 g (93,8%); caracterização por meio dos espectros de ressonância magnética nuclear protónica e de massas e por análise de C,H.

b) Síntese de 12,12-diciano-dodecanoato de etilo

Num balão de três tubuladuras dotado com agitador, refrigerante de refluxo e funil de carga, introduzem-se 100 ml de tetra-hidrofurano isento de água e, sob agitação, suspendem-se 11,22 g (0,10 mole) de terc.-butilato de potássio. A esta suspensão adicionam-se gota a gota 6,61 g (0,10 mole) de 1,1-dicianometano, dissolvidos em 20 ml de tetra-hidrofurano isento de água, sob arrefecimento com gelo de modo que a temperatura não ultrapasse 10°C. Em seguida, adicionam-se 28,0 g (0,10 mole) de 11-bromo-undecanoato de metilo e aquece-se à ebulição durante 15 horas. Depois de se arrefecer, filtra-se o brometo de potássio que precipitou, concentra-se o filtrado em evaporador de rotação até à secura, retoma-se o resíduo em 100 ml de éter dietílico e lava-se por três vezes com 50 ml de água de cada vez. Seca-se a fase etérea sobre sulfato de sódio, concentra-se em evaporador de rotação até à secura e destila-se o produto bruto assim obtido com um curto refrigerante de destilação (ponto de ebulição: 150 a 160°C/0,6 mbar).

Rendimento: 25,56 g (96%).

Ponto de fusão: 36°C. Caracterização por meio do espectro de ressonância magnética nuclear protónica e por espectro de massas e análise de C, H e N.

c) Redução de 12,12-diciano-dodecanoato de metilo para obten-

ção de dicloridrato de 12-aminometil-13-amino-tridecanol

Num balão de duas tubuladuras com funil de carga, refrigerante de refluxo e contador de bolhas dissolvem-se 5 g de 12,12-dicloro-tridecanoato de metilo (19 milimoles) em 200 ml de tetra-hidrofurano e arrefece-se a 0°C. Adicionam-se gota a gota 200 ml de solução do complexo de BH_3 -THF 1 molar em tetra-hidrofurano. Em seguida, aquece-se a refluxo durante 3 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente, agita-se durante 1 a 2 horas, arrefece-se de novo a 0°C e adiciona-se cuidadosamente metanol anidro (cerca de 100 a 150 ml) para destruir o excesso de borano. Elimina-se o dissolvente por evaporação em evaporador rotativo e depois retoma-se o resíduo com a forma de cola em cerca de 100 ml de metanol. Evapora-se de novo o metanol em evaporador de retoção e retoma-se mais uma vez o resíduo em 100 ml de metanol e evapora-se o dissolvente em evaporador rotativo. Ao resíduo adiciona-se etanol anidro até se obter precisamente uma solução límpida. Arrefece-se esta a -10°C e trata-se durante uma hora com HCl gasoso. Em seguida, aquece-se a mistura a refluxo durante 5 horas. Arrefece-se mais uma vez a -10°C e satura-se a solução com HCl gasoso. Depois de se arrefecer a -18°C em balão bem fechado, o produto precipita durante a noite sob a forma dum precipitado cristalino branco. Pode obter-se mais produto bruto por evaporação da solução à secura em evaporador rotativo. Purifica-se o produto bruto por lavagem com um pequeno volume de etanol frio e, em seguida, seca-se em vácuo.

Rendimento: 5,1 g (79%).

Caracterização por meio do espectro de ressonância magnética nuclear protónica, por meio do espectro de infravermelhos e por análise de C, H e N.

d) Síntese de N,N-bis-(p-toluil-sulfonil)-12-aminometil-13-aminotridecanol

Dissolve-se 0,9 milimoles da substância do Exemplo 3c) em cerca de 5 ml de piridina e, sob agitação, adiciona-se cloreto de tosilo a 20°C. Depois de 20 horas de agitação a 20°C, evapora-se o dissolvente e retoma-se o resíduo em HCl 2N. Extrai-se a solução ácida por duas vezes com éter die

tílico; a fase etérea origina 250 mg de sólido ligeiramente amarelado (50%). Caracterização por meio do espectro de ressonância magnética nuclear protônica.

e) Síntese de 1,2-bis-dissódio-1,2-bis-(p-toluil-sulfonilamino)-tridecano-13-ol

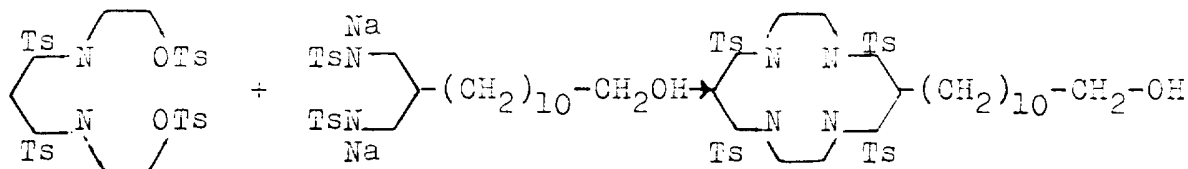
Dissolvem-se 14 mg de Na em 5 ml de etanol e adiciona-se uma solução de 200 mg da substância do Exemplo 3d) em 10 ml de etanol. Depois de se agitar durante 2 horas à temperatura ambiente, aquece-se a refluxo durante 2 horas. Evapora-se o dissolvente da solução em evaporador de rotação e seca-se o resíduo em vácuo. Caracterização do produto (226 mg, 97% da teoria) por ressonância magnética nuclear protônica (sólido incolor).

f) Preparação de N,N'-bis-(p-toluil-sulfonil)-N,N'-bis-2-(toluil-sulfoniloxy)-etil7-propano-1,3-diamina a partir de bis-N,N'-(hidroxietil)-propano-diamina-(1,3)

Dissolvem-se 4 g de bis-N,N'-(hidroxietil)-propanodiamina-(1,3) em 100 ml de CH_2Cl_2 e a 20°C mistura-se com 7,8 g de piridina. Em seguida, adicionam-se 18,8 g de cloreto de tosilo dissolvidos em 70 ml de CH_2Cl_2 . Depois de 50 horas a 20°C, mistura-se a solução com HCl 2 normal (100 ml) e extrai-se por três vezes com 50 ml de CH_2Cl_2 de cada vez. Retoma-se em 50 ml de HCl 2 normal o resíduo sólido obtido a partir da fase orgânica depois de se secar sobre Na_2SO_4 , se filtrar e se evaporar em evaporador rotativa, e extrai-se por três vezes com 50 ml de éter dietílico de cada vez e depois por duas vezes com 50 ml de acetato de etilo de cada vez. A fracção do acetato de etilo origina, depois de secagem sobre Na_2SO_4 , filtração e evaporação do dissolvente em evaporador rotativo, 5,7 g (30% da teoria) de um sólido amarelado que se caracteriza por meio do espectro de ressonância magnética nuclear protônica e por cromatografia em camada fina.

g) Ciclização de 1,2-bis-dissódio-1,2-bis-(p-toluil-sulfonilamino)-tridecano-13-ol com N,N'-bis-(p-toluil-sulfonil)-N,N'-bis-2-(p-toluil-sulfoniloxy)etil7-propano-1,3-diamina com a obtenção de 6-(11-hidroxi-undecil)-1,4,8,11-tetra-(p-to-

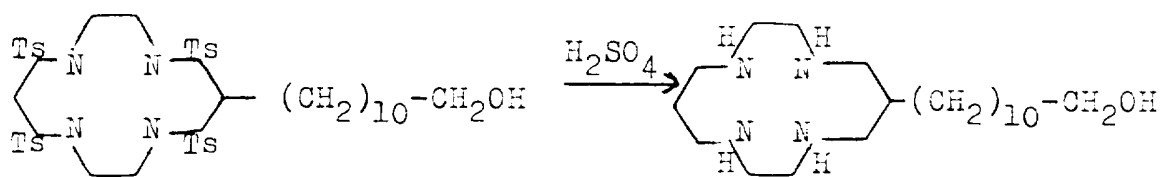
1,11-bis(p-toluenesulfonilamino)-ciclotetradecano



A 100°C adiciona-se gota a gota uma solução de 220 mg da substância do Exemplo 3e) em 10 ml de dimetil-formamida a uma solução de 288 mg da substância do Exemplo 3f) em 10 ml de dimetil-formamida. Depois de se agitar a 100°C durante 4 horas, arrefece-se até à temperatura ambiente e precipita-se o produto bruto com água.

Lava-se o sólido amarelo, viscoso como cola com água (várias vezes) e depois precipita-se em acetona/água. O sólido seco (140 mg, 38%) pode purificar-se posteriormente por cromatografia em coluna com gel de sílica 60 usando éter como agente eluente ($R_f = 0,72$).

h) Destosilação de 6-(11-hidroxi-undecil)-1,4,8,11-tetra-(p-toluenesulfonilamino)-ciclo-tetradecano com H_2SO_4 para obtenção de 6-(11-hidroxi-undecil)-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano



Suspendem-se 140 mg da substância do Exemplo 3g) em cerca de 5 ml de H_2SO_4 concentrado e agita-se a 100°C durante várias horas. A reacção termina quando uma amostra da solução é solúvel em água. Em seguida, arrefece-se até 4°C e precipita-se o sal de polissulfato por adição de éter dietílico e separa-se por filtração sob atmosfera de N_2 . Adiciona-se o produto a NaOH 40% e, em seguida, extrai-se 6-(11-hidroxi-undecil)-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano como

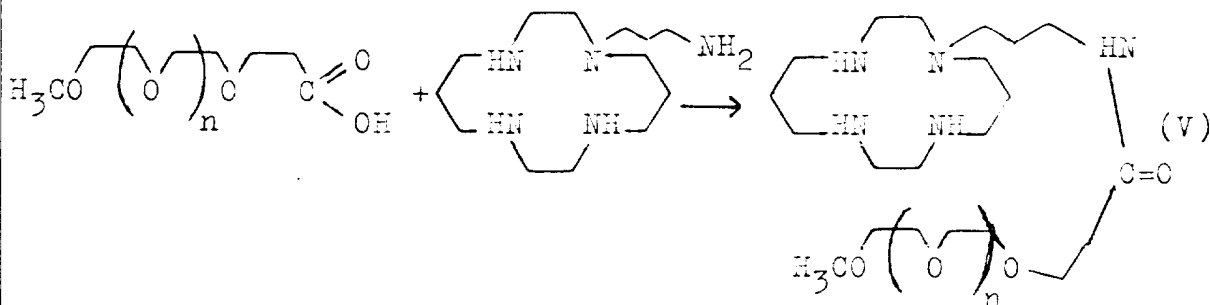
benzeno. Caracteriza-se o produto por meio do espectro de ressonância magnética nuclear protônica, espectro de massa, análise de C, H e N e espectro de infravermelho, depois de se eliminar o dissolvente e se secar em vácuo o resíduo.

Rendimento: 45 mg (87%).

Exemplo 4

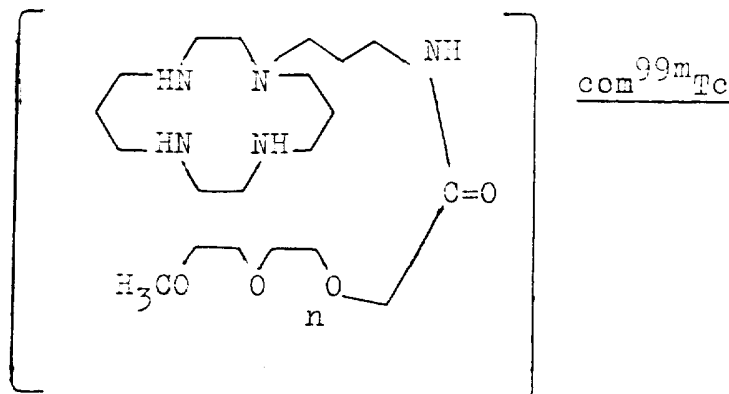
Marcação de um polímero que contém grupos COOH com tecnécio-99m com o auxílio do ciclamato bifuncional do Exemplo 1

a) Reacção de monometoxi-poli(etilenoglicol)-monocarboxilato com 1-(3-amipropil)-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano



Dissolvem-se 368 g do polímero (massa molecular = 5000) preparado de acordo com K. Geckeler, E. Bayer Polymer Bull. 3 (1980), 347 com 7 mg de $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$, 17,6 mg derivado de ciclamato do Exemplo 1, 15,2 mg de díciclo-metil-carbo-diimida e 8,4 mg de 1-hidroxibenzotriazol em 5 ml de acetato de etilo, 5 ml de N,N-dimetil-formamida e 10 gotas de água. Depois de 16 horas de agitação, ultrafiltra-se o resíduo várias vezes em solução aquosa. A partir do concentrado, podem isolar-se 345 mg de produto (V) (90%). (Não existe ponto de fusão bem definido do polímero).

b) Marcação de (V)



~~CONFIDENTIAL~~

Dissolvem-se 8 mg do conjugado polimérico do Exemplo 3a) em 0,5 ml de solução de NaCl a 0,9%, regula-se o pH de maneira a ser igual a 11 com NaOH 0,1 normal, adiciona-se 1 ml dum componente de PTP-Sn descrito no Exemplo 7 do Pedido da Patente Alemã DE-A 3728599 (= Patente Europeia 0271806 e Pedido de Patente Norte-Americana com o Nº. de Série 130183 e depois adiciona-se 0,3 ml de solução de $^{99m}\text{TcO}_4$ (cerca de 59 MBq de ^{99m}Tc). Depois de 5 minutos à temperatura ambiente o valor de pH fica igual a cerca de 7. A cromatografia em camada fina, a comparação com ciclamato não substituído, pertecnetato livre, polímero de partida, assim como componentes PTP, respectivamente 5 minutos sob as mesmas condições depois da cromatografia após a adição de pertecnetato deu os seguintes resultados: cerca de 10% do ^{99m}Tc empregado então como conjugado de polímero. Os dados de cromatografia que serviram de base a esse resultado estão reunidos na Tabela I.

Sistemas de cromatografia ITLC SG/Metil-etil-cetona

ITLC SG/2 m Na_2CO_3

Celulose sobre $\text{Al}/\text{NH}_4\text{COCCH}_3$

10%: CH_3OH 1:1

Papel Whatman/0,9% de NaCl

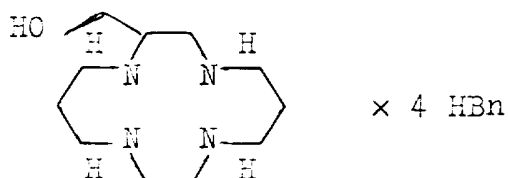
ITLC SG/0,5 $\text{NH}_4\text{COCCH}_3$

Tabela 1

Sistema de ITLC SG		ITLC SG	Celulose/Al	Whatman/	ITLC SG
cromatogra- Metil-		2M Na ₂ CO ₃	10% NH ₄ OAc:MeOH	0,9% NaCl	0,5M NH ₄ OAc
Substância fia -etil-cetona			1:1		
99 ^m Tc-PEG	Rf=0 43,2%	Rf=0,6-1 100%	Rf=0,1 97,1%	Rf=0,1 98,3%	Rf=0,1 11,4%
	Rf=1 56,8%		Rf=0,7 2,9%	Rf=0,8 1,4%	Rf=0,2 18,1%
					Rf=1 70,5%
99 ^m Tc-PEG	Rf=0	Rf=0	Rf=1 Rf=1	Rf=1	Rf=0-0,3
	Rf=0 67,2%	Rf=0,6-1 100%	Rf=0,1 98,0%	Rf=0,1 96,8%	Rf=0,1 23,7%
	Rf= 32,8%		Rf=0,7 2,0%	Rf=0,8 3,2%	Rf=0,2 37,6%
-COOH	Rf=0	Rf=0	Rf=1	Rf=1	Rf=1 48,7%
					Rf=0-0,2
99 ^m Tc-PEG	Rf=0 78,6%	Rf=0 9,5%	Rf=0,1 45,6%	Rf=0,1 40,2%	Rf=0,1 35,1%
	-NH ₂ Propil-	Rf=1 21,4%	Rf=0,2-0,9 90,5%	Rf=0,7-0,9 54,4%	Rf=0,2 37,6%
	ciclano				Rf=1 27,3%
99 ^m Tc-	Rf=0	Rf=0	Rf=0,7-1	Rf=0,8-1	Rf=0-0,1
	Rf=0,1-0,2 100%	Rf=0 1,5%	Rf= 0,9 100%	Rf=0,1 1,2%	Rf=0-0,3 15,6%
	-Ciclamato	Rf=0,7-6 98,5%		Rf=0,4 98,8%	Rf=0,3-0,9 84,4%
99 ^m Tc-	Rf=0-0,2	Rf=1	Rf=0,9	não coravel	Rf=0,3 Rf=0,3
	Rf=0 98,9%	Rf=0 4,6%	Rf=0 100%	Rf=0,1 100%	Rf=0,1 29,2%
	PTP	Rf=1 1,1%	Rf=1 95,4%		Rf=0,1-0,8 41,3%
99 ^m TcO ₄ -	Rf=0 2,9%	Rf=1 100%	Rf=0,7 100%	Rf=1 100%	Rf=0,8-1 10,0%
	Rf=1 97,1%				Rf=1 100%

Exemplo 5

Preparação de tetra-bromidrato de 2-hidroxi-metil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclo-tetradecano



a) e b) A síntese do composto de partida $\text{NaTsN}-(\text{CH}_2)_3\text{-NTs}-(\text{CH}_2)_2\text{-NTs}-(\text{CH}_2)_3\text{-NTsNa}$ realiza-se de maneira análoga à que se descreveu no Exemplo 2a) e b) apenas sendo a N,N'-(diaminoetil)-1,3-propanodiamina substituída por N,N'-(diaminopropil)-1,2-etilenodiamina

c) Síntese de 1-fenoximetil-1,2-etanol

Prepara-se o éter fenil-glicidílico de acordo com a maneira de proceder indicada na literatura por D.M. Dishong, C.J. Diamond, M.I. Cinoman, G. W. Cokel, J. Am. Chem. Soc. 105 (1983), 586-593.

d) Preparação de ditosilato de 1-fenoximetil-1,2-etanol

Introduzem-se 5 g do diol de partida (c) em 25 ml de piridina e adiciona-se 0,5 g de cloreto do ácido p-toluil-sulfônico (reação ligeiramente exotérmica). Depois de cerca de 30 minutos forma-se um precipitado. Agita-se a mistura reaccional durante mais 5 horas à temperatura ambiente, deixa-se repousar durante 20 horas e em seguida elimina-se a piridina em vácuo. Retoma-se o resíduo em HCl 2 normal, extrai-se duas vezes com éter dietílico, secam-se as fases etéreas com Na_2SO_4 , filtra-se e recupera-se o produto por concentração. Rendimento 11,2 g de sólido (83% da teoria). Identificação por meio do espectro de ressonância magnética nuclear protónica (CDCl_3) e por cromatografia em camada fina (gel de sílica CH_2Cl_2 , $R_f = 0,6$).

e) Ciclização com obtenção de 2-fenoximetil-1,4,8,11-tetrato-sil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano

~~CONFIDENTIAL~~

Introduzem-se 8,53 g do sal de 1,12-dissódio do 1,5,8,12-tetratosil-1,5,8,12-tetra-aza-dodecano (como se descreveu em b) em cerca de 40 ml de N,N-dimetil-formamida (DMF), aquece-se a 100°C e, em seguida, adiciona-se gota a gota uma solução de 4,75 g de ditosilato de 1-fenoximetil-1,2-etanodiol em 40 ml de DMF. Agita-se a 100°C durante mais 6 horas, seguidas de 20 horas de agitação a 20°C. Em seguida, adicionam-se gota a gota cerca de 200 ml de H₂O, agita-se fortemente durante 1 hora (precipitado viscoso), adiciona-se NaCl sólido para dessaalgar e separa-se por filtração o precipitado branco assim obtido. Lava-se o bolo de filtração várias vezes com água e depois seca-se em vácuo. A partir da água mãe pode isolar-se mais produto por adição de água. Rendimento 4,7 g de sólido branco que corresponde a 50% da teoria. Caracterização por cromatografia em camada fina (gel de sílica, acetato de etilo, R_f = 0,8) e espectro de ressonância magnética nuclear protonica (CDCl₃).

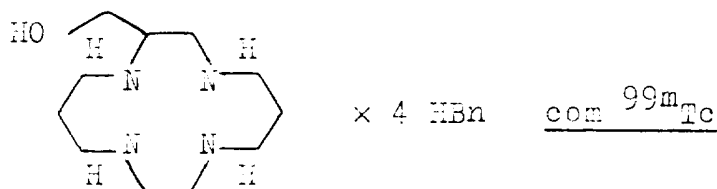
f) Destosilação de 2-fenoximetil-1,4,8,11-tetratosil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano com obtenção de tetrabromidrato de 2-hidroximetil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano

Aquece-se a refluxo um composto de partida tetratosilato (10,8 g) em 80 ml de HBr 48% + 80 ml de ácido acético glacial durante 3 dias e deixa-se repousar à temperatura ambiente durante um dia; depois, retoma-se em CH₂Cl₂/H₂O, lava-se a fase orgânica uma vez com H₂O e depois extrai-se a solução aquosa cinco vezes com 100 ml de CH₂Cl₂ de cada vez (até ao CH₂Cl₂ ser incolor) e concentra-se a fase aquosa. Tritura-se o resíduo (seco em vácuo) 13 vezes com porções de, no total, 800 ml de CH₂Cl₂ em banho de ultrassons até o resíduo pulverulento ficar branco amarelado. A secagem em vácuo origina um produto que corresponde ao tetrabromidrato de 2-hidroximetil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano com um grupo to-silo (ressonância magnética nuclear protónica). Trata-se este composto com 100 ml de ácido acético glacial saturado com HBr gasoso e aquece-se a refluxo durante 4 dias. O produto bruto precipita como sólido cinzento amarelado que se adiciona a uma resina prometedora de aniões fortemente básica (eluição com H₂O) para se eliminar o ácido acético. O espectro de massas

mostra $M^+ = 230$ assim como fragmentos a $M/e = 200$ (ciclamato) com $m/e = 174$ (material de partida) de cadeia aberta). Análise de C,H,N: 21,8% de C; 5,3% de H; 9,9% de N; 58,7% de Br; valores calculados para tetrabromidrato de 2-hidroximetil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano: 23,8% de C, 5,4% de H, 10,1% de N, 57,7% de Br. O espectro de ressonância magnética nuclear protônica mostra também a presença de tetrabromidrato de 2-hidroximetil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano assim como de tetrabromidrato de 2-hidroximetil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano do composto de partida de cadeia aberta (em D_2O) principalmente por um comportamento integral alterado. Uma purificação do produto (900 mg de rendimento = 34%) pode realizar-se por cromatografia em fase líquida sob alta pressão preparativa (coluna RP8, metanol/ H_2O/HCl /pH 2,7 com um gradiente de mistura tempo de eluição 8 - 10 minutos).

Exemplo 6

Marcação de



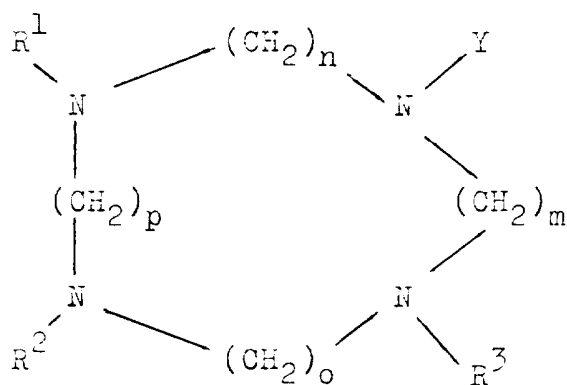
Dissolve-se 1 mg de tetrabromidrato de 2-hidroximetil-1,4,8,11-tetra-aza-ciclotetradecano em 1 ml de NaCl a 0,9%. Adiciona-se 0,1 ml de uma solução de 1 mg de $SnCl_2 \times 5 H_2O$ em 1 ml de HCl 0,1 normal e regula-se o valor de pH com 0,1 ml de NaOH 0,1 N a pH 5-6. Depois de se adicionar 0,15 ml de eluído de ^{99m}Tc determina-se a actividade da solução. Ela é igual a 79,12 MBq/ml. Realiza-se um ensaio de cromatografia. Cromatografam-se simultaneamente duas amostras uma com metil-etil-cetona ($^{99m}TcO_4$ livre segue com a frente), e outra com Na_2CO_3 2 molar ($^{99m}TcO_4$ coloidal permanece no ponto inicial). Em metil-etil-cetona, a radioactividade total aparece a $R_f = 0,43$; em Na_2CO_3 aparece cerca de 90% da radioactividade a $R_f = 1,0$ e o resto aparece entre $R_f = 0,4$ e 1,0. Isto significa que $\geq 90\%$ do tecnécio estão complexados.

REIVINDICAÇÕES

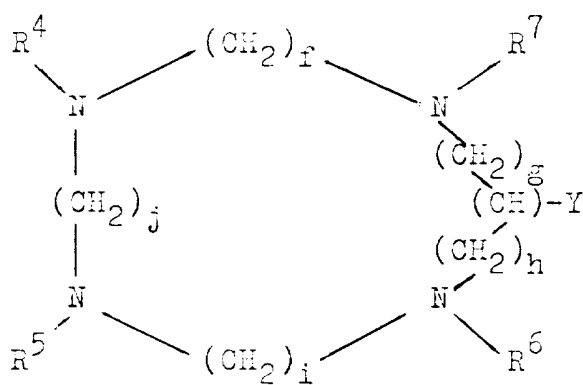
- 1ª -

Processo para a marcação de substâncias com isótopos de tecnécio ou rénio, caracterizado pelo facto de

a) se fazer reagir a substância a marcar com um derivado de amina macrocíclica N-substituído ou C-substituído de fórmula I e/ou de fórmula II



I



II

em que

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 e R^7 são iguais ou diferentes e significam hidrogénio, alquilo em C_1-C_4 ou arilo ou aril-alquilo em C_1-C_4 e

m, n, o, p, f, h, i e j são iguais ou diferentes e significam 1, 2, 3 ou 4 e

g significa 0, 1, 2, 3 ou 4 e

Y significa um grupo de fórmulas $-X-NH_2$, $-X-NCS$, $-X-COOH$,

$-X-OH$, $-X-N_2^+$ ou $-X-COCl$ ou um grupo de fórmula $-X-Z$ em que

Z significa flúor, cloro, bromo ou iodo e X significa um grupo alquileno com 1 a 40 átomos de C ou X significa um grupo orto-fenilo, meta-fenilo ou para-fenilo ou um grupo orto-metilfenilo, meta-metilfenilo ou para-metilfenilo e

se marcar o composto assim obtido com tecnécio-m ou rénio-186

ou 188, para o que se mistura com pertecnetato-99m ou perrenato-186 ou -188 e com um agente redutor do percnatato-99m ou do perrenato-186 ou -188, ou

b) em primeiro lugar se preparar o complexo de tecnécio-99m e/ou de rénio-186 ou -188 e/ou de rénio-186 ou -188 por reacção de um composto de fórmula I e/ou de fórmula II com pertecnetato-99m e/ou perrenato-186 ou -188 e com um agente redutor do pertecnetato-99m e/ou perrenato-186 ou -188 e em seguida se fazer reagir este complexo de tecnécio-99m e/ou de rénio-186 ou -188 com a substância que se pretende marcar.

- 2a -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de se empregarem derivados macrocíclicos de amina de fórmula I e/ou de fórmula II, em que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 e R^7 são iguais ou diferentes e significarem hidrogénio ou alquilo em C_1-C_4 e

m, n, o, p, f, i e j são iguais ou diferentes e significam 2 ou 3 e g significa 0, 1 ou 2 e h significa 1 ou 2 e

Y significa um grupo de fórmula $-X-NH_2$, $-X-NCS$, $-X-COOH$, $-X-OH$, $-X-N_2^+$ ou $-X-CCl$ ou um grupo de fórmula $-X-Z$, em que Z significa flúor, cloro, bromo ou iodo e X significa um grupo alquilenos com 1 a 20 átomos de C.

- 3a -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de se empregarem derivados macrocíclicos de amina de fórmula I e/ou de fórmula II, em que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 e R^7 significam hidrogénio e

m, p e j significam 3, e n, o, f e i significam 2 e g e h significam 1 e

Y significa um grupo de fórmula $-X-NH_2$ ou $-X-OH$, em que X sig-

nifica um grupo alquileno com 1 a 15 átomos de C.

- 4ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de a substância a marcar conter um grupo reactivo que reage com o grupo reactivo que se encontra na cadeia lateral exocíclica da amina macrocíclica, com formação de uma ligação química.

- 5ª -

Processo de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo facto de o grupo reactivo da substância a marcar ser um grupo $-NH_2$, $-COOH$, $-COCl$, $-OH$ ou $-NH-NH_2$.

-6ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de a substância a marcar ser um anticorpo, um fragmento de anticorpo, um anticorpo monoclonal, um fragmento de anticorpo monoclonal (fragmento $F(ab)_2$ ou $F(ab'')$), uma proteína, uma enzima, um açúcar, um ácido gordo, uma hormona ou um polímero.

- 7ª -

Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo facto de o polímero conter pelo menos uma cadeia lateral de fórmula $-B-NH_2$, $-B-COOH$, $-B-NH-NH_2$, $-B-COCl$ ou $-B-OH$, em que B representa um radical orto-arilo, meta-arilo ou para-arilo ou uma cadeia de alquileno com 1 a 40 átomos de C, que no caso de ser uma cadeia de alquileno em


C₂-C₄₀ pode também ser uma unidade -NH-, -NH-CO-, -CO-NH-, -CO-O- ou -O-CO- e em que o polímero possui um peso molecular de 1000 a 200 000 dalton.

- 8ª -

Processo para a preparação de uma composição para diagnóstico de tumores, caracterizado pelo facto de se dissolver uma substância específica do órgão liofilizado, que está quimicamente ligado a uma amina macrocíclica numa solução de pertecnetato de tecnécio-99m e, em seguida, se efectuar a redução e a ligação do tecnécio à amina macrocíclica por adição de um agente redutor.

- 9ª -

Processo para a preparação de uma composição de diagnóstico de tumores, caracterizado pelo facto de, em primeiro lugar, se dissolver na solução do agente redutor a substância específica do órgão liofilizado que está quimicamente ligada a uma amina macrocíclica e, em seguida, se marcar a amina macrocíclica por adição de solução de pertecnetato de tecnécio 99-m e por consequência a substância específica do órgão.

- 10ª -

Processo para a preparação duma composição terapêutica, caracterizado pelo facto de se empregar uma substância específica do órgão que está acoplado quimicamente a uma amina macrocíclica marcada com rénio-186 ou com rénio-188.

A requerente declara que o primeiro pedido desta patente foi apresentado na República Federal Alemã em 27 de Agosto de 1987, sob o nº. P 37 23 600.5.

Lisboa, 26 de Agosto de 1988

• AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

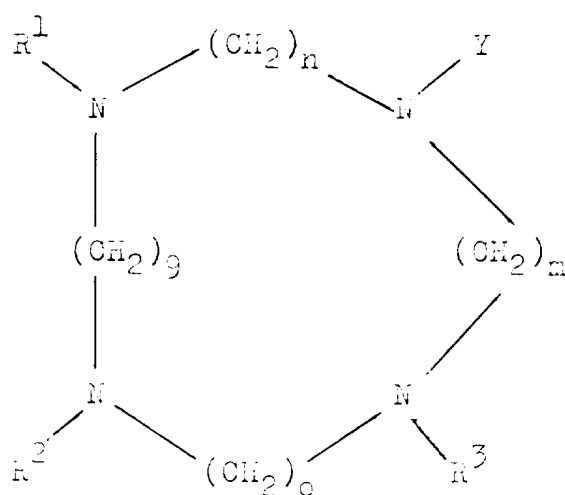
A handwritten signature in black ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke.

R E S U M O

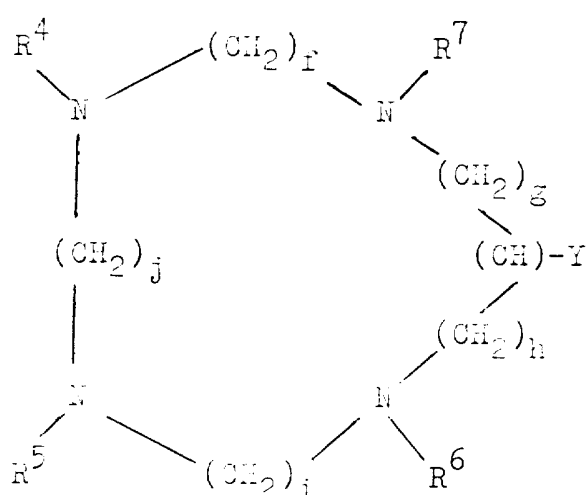
"PROCESSO PARA A MARCAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS COM ISÓTOPOS DE TECNÉCIO OU DE RÉNIO"

A invenção refere-se a um processo para a marcação de substâncias com isótopos de tecnécio ou rénio, que compreende:

- a) fazer-se reagir a substância a marcar com um derivado de amina macrocíclico N-substituído ou C-substituído de fórmula I e/ou de fórmula II



I



II

em que

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 e R^7 são iguais ou diferentes e significam hidrogénio, alquilo em C_1-C_4 ou arilo ou aril-alquilo em C_1-C_4 e

m , n , o , p , f , h , i e j são iguais ou diferentes e significam 1, 2, 3 ou 4 e r significa 0, 1, 2, 3 ou 4 e

Y significa um grupo de fórmulas $-X-NH_2$, $-X-NCS$, $-X-COOH$, $-X-OH$, $-X-N_2^+$ ou $-X-COCl$ ou um grupo de fórmula $-X-Z$ em que Z significa flúor, cloro, bromo ou iodo e X significa um grupo alquilenos com 1 a 40 átomos de C ou X significa um grupo orto-fenilo, meta-fenilo ou para-fenilo ou um grupo orto-



-metilfenilo, meta-metilfenilo ou para-metilfenilo e se marcar o composto assim obtido com tecnécio-m ou rádio-186 ou 188, para o que se mistura com pertecnetato-99m ou perrenato-186 ou -188 e com um agente redutor do pertecnetato-99m ou do perrenato-186 ou -188, ou

b) em primeiro lugar se preparar o complexo de tecnécio-99m e/ou de rádio-186 ou -188 e/ou de rádio-186 ou -188 por reação de um composto de fórmula I e/ou de fórmula II com pertecnetato-99m e/ou perrenato-186 ou -188 e com um agente redutor do pertecnetato-99m e/ou perrenato-186 ou -188 e em seguida se fazer reagir este complexo de tecnécio-99m e/ou de rádio-186 ou -188 com a substância que se pretende marcar.