



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 334 242**

51 Int. Cl.:  
**A61K 49/00** (2006.01)  
**A61K 49/06** (2006.01)  
**A61K 49/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05746947 .0**  
96 Fecha de presentación : **31.03.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1729818**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **13.12.2006**

54 Título: **Agentes de contraste para la obtención de imágenes por resonancia magnética.**

30 Prioridad: **31.03.2004 FR 04 03389**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.03.2010**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.03.2010**

73 Titular/es: **Centre National de la Recherche  
Scientifique (CNRS)  
3, rue Michel-Ange  
75016 Paris, FR  
ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE LYON**

72 Inventor/es: **Hasserodt, Jens**

74 Agente: **Urizar Anasagasti, Jesús María**

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

Agentes de contraste para la obtención de imágenes por resonancia magnética.

La presente invención se refiere a agentes de contraste para la obtención de imágenes por resonancia magnética.

La obtención de imágenes por resonancia magnética (IRM) es una técnica ampliamente usada en el campo médico, especialmente para fines de diagnóstico. La IRM se basa principalmente en la observación de la magnetización de los espines de los núcleos de los átomos de hidrógeno en las moléculas de agua. Consiste en medir la relajación mediante dos modos (T1 y T2) de las moléculas de agua con respecto a una distribución en el equilibrio, para formar una imagen. La relajación se produce tras un estado en el que todos los espines han estado completamente alineados bajo el efecto de un campo magnético externo mediante el uso de un impulso de radiofrecuencia. La IRM permite distinguir entre las zonas de alta concentración y las zonas de baja concentración de un agente de contraste. En el campo biológico, la imagen obtenida pone en evidencia los tejidos ricos en agente de contraste, esencialmente aquellos que son de naturaleza hidrófila.

Los agentes de contraste de primera generación son agentes denominados “pasivos” que se reparten a través de la muestra sometida a la IRM, esencialmente en función de gradientes de lipofilidad y de enlaces no específicos.

Se han realizado trabajos para definir agentes activos, es decir agentes que pueden revelar la presencia de una actividad química o bioquímica, las condiciones de pH o una concentración de un ión particular. Estos agentes están constituidos por un ión fuertemente paramagnético complejoado por un ligando, siendo el ión generalmente Gd(III). Los agentes de contraste que contienen un ión fuertemente paramagnético de este tipo constituyen en consecuencia un imán molecular permanente, que ejerce siempre una influencia, más o menos importante, sobre la relajación de las moléculas de agua del entorno. El medio para hacer que estos complejos de tipo imán molecular permanente sean sensibles a compuestos químicos específicos de su entorno se basaba esencialmente en la modificación de la accesibilidad del entorno inmediato del metal paramagnético para las moléculas de agua. Tales marcadores, para los cuales la relajación por una actividad enzimática se mejora por el hecho de que actúan como catalizadores para el intercambio rápido de moléculas de agua, se describen en diversos documentos.

El documento US-5.707.605 describe un agente de IRM que es un complejo de un ión de metal paramagnético y de un ligando, comprendiendo dicho ligando un grupo quelante y un sustituyente que está unido mediante enlace covalente al quelante. En ausencia de sustancia diana, el sustituyente está asociado o unido al ión metálico del complejo, y ocupa o bloquea al menos un sitio de coordinación del ión metálico. Todos los sitios de coordinación del ión metálico están entonces saturados por el quelante y el sustituyente. En presencia de la sustancia diana, el sustituyente reacciona con dicha sustancia y deja de bloquear o de ocupar al menos un sitio de coordinación del ión metálico, de manera que puede realizarse en el sitio un intercambio rápido de agua, lo que proporciona una mejora de la imagen de RM. Un derivado del ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA) en el que uno de los sustituyentes acetato se sustituye por un sustituyente hidroxietil- $\beta$ -galactosa es un ejemplo de un complejo de este tipo. En este complejo, el grupo terminal sensible a la enzima sólo tiene un efecto protector débil del centro metálico frente a la coordinación por el agua: el número medio de moléculas de agua que están coordinadas en todo momento en el 9.º sitio de coordinación del gadolinio es de 0,65 en lugar de 1,02 para la forma “escindida” de un compuesto similar que contiene un ligando que puede ocupar solamente 8 sitios de coordinación. (Véase Meade, T. J. *et al.* “*In vivo* visualization of gene expression using magnetic resonance imaging. *Nature Biotechnology* 18, 321-325 (2000)”). Este débil acceso complementario de las moléculas de agua durante la bioactivación del agente de contraste no proporciona una modificación satisfactoria de la relajación.

Además, el solicitante ha señalado otro inconveniente relacionado con este agente de contraste, a saber, que no reacciona con una velocidad suficiente con la sustancia diana, a saber la enzima beta-galactosidasa. En efecto, el solicitante ha realizado experimentos que han demostrado que una inyección conjunta de este mismo agente de contraste con la enzima en un organismo vivo de prueba, a saber embriones de pez cebra, no conduce a ninguna modificación del contraste, ni tras 24 horas, ni tras 48 horas. Este resultado se ha obtenido en comparación con un experimento idéntico en el que el agente inyectado conjuntamente era un agente cromogénico comercial que dio lugar a una coloración intensa del embrión relacionada con su transformación enzimática.

El documento WO 99/21592 describe la aplicación de la técnica del documento US-5.707.605 a una sustancia diana del tipo agente terapéutico. No obstante, la mejora de la tasa de contraste que puede obtenerse con ayuda de los marcadores del tipo de los descritos en los dos documentos mencionados anteriormente es limitada.

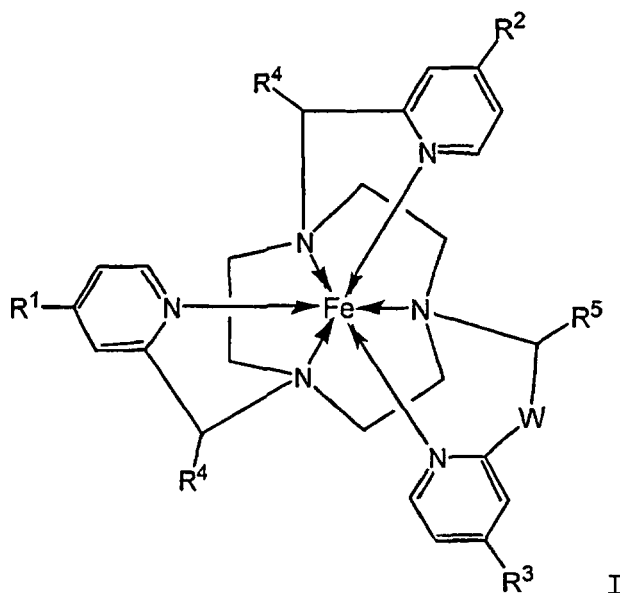
Se conocen complejos formados por un ión de metal de transición y por un ligando que pueden existir en una forma de alto espín y una forma de bajo espín según la naturaleza del ligando. En el estado de alto espín, la casi totalidad de los electrones son electrones desapareados, no hay compensación interna de sus espines, lo que produce un aumento sustancial del momento magnético. En el estado de bajo espín, los complejos tienen un momento magnético débil, incluso nulo, según el número de electrones desapareados (en general 0 ó 1). Un ejemplo de compuesto de Fe(II) complejoado por un ligando macrocíclico hexadentado de espín débil lo facilita Wieghardt *et al.* (*Inorg. Chem.* 1986, 25, 4877) y un ejemplo de compuesto de Fe(II) complejoado por un ligando macrocíclico pentadentado similar de espín elevado lo facilita Spiccia *et al.* (*Inorg. Chim. Acta*, 1998, 279, 192).

## ES 2 334 242 T3

El objetivo de la invención es proporcionar un agente de contraste que pueda detectar una sustancia diana o la actividad química asociada a esta sustancia diana en una célula, o un tejido sometido a la IRM, durante la fase de adquisición y de construcción de la imagen.

Un agente de contraste para IRM según la presente invención es un complejo que comprende un ligando quelante y un ión de metal de transición, llevando dicho ligando un sustituyente que puede reaccionar por vía química o bioquímica con una sustancia diana provocando un cambio del estado de espín y que tiene:

a) o bien la fórmula (I)



en la que:

-  $R^4$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, lineal o ramificado, o un radical arilo;

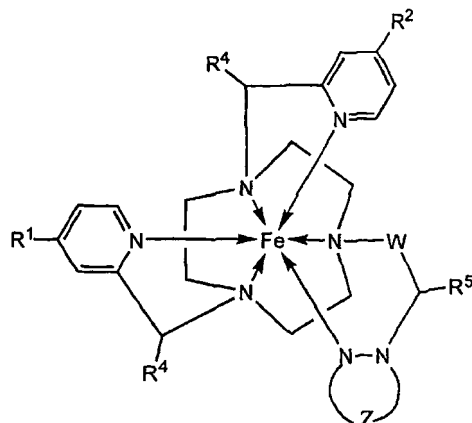
- W representa un grupo  $-(CH_2)_m-$ , siendo m igual a 0 o a 1;

-  $R^5$  representa un grupo que puede reaccionar con la sustancia diana para provocar una rotura entre el átomo de N del macrociclo y el carbono que lleva dicho grupo  $R^5$ , o representa un átomo de hidrógeno, entendiéndose que:

i) cuando  $R^5$  representa un grupo que puede reaccionar con la sustancia diana para provocar una rotura entre el átomo de N del macrociclo y el carbono que lleva dicho grupo  $R^5$  (complejos Ia), de  $R^1$  a  $R^3$ , designados por  $R^1$ , representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno o un grupo elegido para ajustar las propiedades de solubilidad, de dispersibilidad en los medios biológicos y de momento magnético del complejo, pudiendo uno de los  $R^1$  representar incluso un grupo que puede experimentar una modificación electrónica del grupo piridilo vecino mediante reacción con la sustancia diana;

ii) cuando  $R^5$  representa un átomo de hidrógeno (complejos Ib), uno de los grupos  $R^1$  representa un grupo que puede experimentar una modificación electrónica del grupo piridilo vecino mediante reacción con la sustancia diana, pudiendo representar los grupos  $R^1$  restantes, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno o elegirse para ajustar las propiedades de solubilidad, de dispersibilidad en los medios biológicos y de momento magnético del complejo;

b) o bien la fórmula (II)

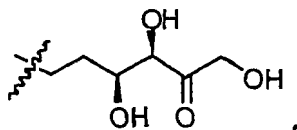


en la que:

-  $R^1$  y  $R^2$ , designados por  $R^i$ , representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno o un grupo elegido para ajustar las propiedades de solubilidad, de dispersibilidad en los medios biológicos y de momento magnético del complejo;

-  $R^4$  y W son tal como se definieron anteriormente;

-  $R^5$  representa un grupo ( $-C_6X_4-Y-R^5$ ) en el que X es un grupo electroattractor, Y es un heteroátomo elegido de un átomo de oxígeno, un átomo de nitrógeno o un átomo de azufre, y  $R^6$  representa un grupo  $\beta$ -galactosilo o un grupo  $\beta$ -glucuronilo susceptible de experimentar una escisión por una glicosidasa, o un grupo aminoacilo (por ejemplo L-proli-  
lo o L-leucilo) susceptible de experimentar una escisión por una aminopeptidasa, o un grupo acilo, tal como  $-COC_5H_{11}$ , susceptible de experimentar una escisión por una esterasa o una lipasa, o un grupo susceptible de experimentar una transformación retroaldólica por una aldolasa natural, por ejemplo un grupo de tipo  $\alpha,\beta$ -dihidroxicetona



o un grupo fosforilo susceptible de experimentar una transformación por una fosfatasa;

- Z es un grupo divalente que forma con los dos átomos de nitrógeno que lo llevan un ciclo aromático de benzo-  
triazol, triazol, tetrazol, pirazol, pudiendo llevar dicho ciclo aromático un sustituyente  $NO_2$ .

En un compuesto (II), los grupos X pueden representar, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un átomo de flúor, o un grupo  $NO_2$ .

Los grupos  $R^4$  se eligen para aumentar la rigidez del ligando, y, en consecuencia, para aumentar la estabilidad del complejo metálico inicial y del complejo final tras la transformación por la sustancia diana.

La elección del grupo W se realiza para afinar la velocidad de autodesprendimiento.

El cambio del estado de espín se obtiene mediante la eliminación o mediante la modificación electrónica de un sustituyente.

Cuando se trata de la eliminación de un sustituyente, el cambio de espín es un paso de un bajo espín (complejo diamagnético e inactivo en RM) a un espín elevado (complejo paramagnético y activo en RM).

Cuando se trata de la modificación electrónica de un sustituyente, el cambio de espín es generalmente un paso de un bajo espín a un alto espín. No obstante, también puede obtenerse un cambio en el sentido contrario mediante la elección de un ligando apropiado.

El metal de transición del compuesto de fórmula (I) o (II) es hierro, para el cual es preferible un cambio de estado de oxidación de II a III. En efecto, el hierro (III) de alto espín se reconoce por su elevado poder con respecto al hierro (II) de alto espín para modificar la relajación de los protones vecinos, gracias a su tiempo de relajación electrónica  $\tau_s$  más elevado:  $10^{-9}$ - $10^{-11}$  s (Fe(III) de alto espín);  $10^{-12}$ - $10^{-13}$  s (Fe(II) de alto espín) (véanse las publicaciones de I. Bertini, C. Luchinat, G. Parigi: "Solution NMR of Paramagnetic Molecules", Current Methods in Inorganic Chemistry Vol. 2, Elsevier, Ámsterdam 2001; y R. B. Lauffer, Chem. Rev. 1987, 87, 901). Los compuestos a base de Fe(II) de alto espín a menudo tienen tendencia a oxidarse para alcanzar el estado electrónico  $d^5$  del hierro (III) que constituye un estado muy estable gracias a una capa electrónica  $d$  semiocupada. Por el contrario, un hierro (III) rodeado por un ligando multidentado que proporciona un campo fuerte, como es el caso en esta invención, conduce a una situación del conjunto de sus 6 electrones en estado apareado en orbitales  $d$  de baja energía (3 orbitales degenerados de tipo  $t_{2g}$ ), lo que estabiliza este estado de oxidación, ya que no hay posibilidad de extraer un electrón de alta energía durante la oxidación, como es el caso para el hierro (II) de alto espín. Por tanto una ventaja considerable de esta invención es partir de un indicador estable a la oxidación y sin espín electrónico, para llegar, tras una iniciación enzimática, a un complejo de espín elevado que presenta un tiempo de relajación electrónica favorable para la obtención de imágenes por RMN. El espín electrónico del hierro (III) de alto espín "se comunica bien" con el espín nuclear de un protón.

En el marco de la presente invención

- un átomo de halógeno significa un átomo de cloro, de flúor, de bromo o de yodo. De una manera general, se prefiere el átomo de cloro y de flúor;

- un "ciclo aromático de 5 ó 6 miembros" significa un grupo eventualmente heterocíclico elegido de un grupo fenilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, indazolilo, furilo y tienilo y sus derivados que llevan diferentes sustituyentes elegidos de los grupos metilo, cloro, fluoro, nitro, metoxilo, carboxilo y acetamido;

- un "ciclo alifático de 5 ó 6 miembros" significa un grupo ciclohexilo o un grupo ciclopentilo;

- un grupo "alquilo" significa una cadena alifática lineal o ramificada de 1 a 4 átomos de carbono;

- un "radical arilo" significa un grupo que comprende uno o varios núcleos aromáticos condensados o no.

Según un primer modo de realización de los complejos de fórmula I, el sustituyente  $R^5$  es un grupo que puede reaccionar con la sustancia diana para provocar una rotura entre el átomo de N del macrociclo y el carbono que lleva dicho grupo  $R^5$ . Estos complejos se designan por Ia.

En los complejos Ia, los grupos  $R^1$  representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un grupo electroatractor elegido del grupo  $-\text{COOR}^7$ , el grupo  $-\text{NO}_2$  y un átomo de halógeno con el fin de controlar el estado de espín del metal, o un grupo que lleva cargas negativas tales como el grupo  $-\text{CH}_2-\text{COO}^-$  para compensar las dos cargas positivas del hierro (II) y por tanto hacer que el agente sea globalmente neutro.

Uno de los tres grupos  $R^1$  puede representar además un grupo  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{COOH})\text{NH}_2$ , siendo entonces los  $R^1$  restantes tal como se definieron anteriormente.

$R^7$  puede representar un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. Un grupo  $R^7$  de este tipo puede ser útil para reducir la polaridad del agente entero.

Según una primera variante de los complejos Ia, designada a continuación por Ia-1,  $R^5$  puede representarse mediante la fórmula  $-\text{E}-\text{R}^6$  en la que  $R^6$  es tal como se definió anteriormente y E es un grupo espaciador que puede autodesprenderse en caso de rotura del enlace  $\text{E}-\text{R}^6$ .  $R^6$  puede reaccionar con un compuesto químico o un compuesto bioquímico desencadenando una sucesión de roturas que provocan la eliminación de la piridina-2-carbaldehído, según el mecanismo expuesto en la descripción a continuación.

E puede ser un grupo  $-\text{O}-\text{CO}-(\text{CR}'_2)_n-\text{Y}-$  en el que:

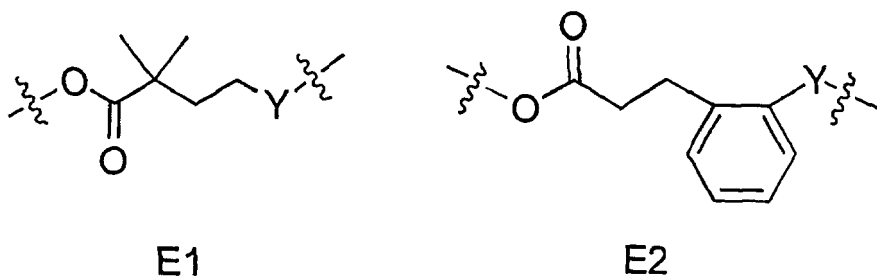
- los grupos  $R'$  representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, o un grupo elegido para organizar previamente el espaciador con el fin de acelerar su autodesprendimiento tras la escisión de  $R^6$ . Más particularmente, los grupos  $R'$  pueden representar un grupo metilo, o dos  $R'$  llevados por dos átomos de carbono vecinos forman juntos un ciclo alifático o aromático de 5 ó 6 miembros llevado por los dos átomos de carbono vecinos (véase por ejemplo: L. A. Carpino., J. Org. Chem. 1989, 54, 3303);

- n es un número entero igual a 3 ó 4,

- Y es un heteroátomo elegido de un átomo de oxígeno, un átomo de nitrógeno o un átomo de azufre.

El ciclo aromático de 5 ó 6 miembros formado por dos grupos  $R'$  puede elegirse de los grupos fenilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, indazolilo, furilo y tienilo, pudiendo llevar dichos grupos diferentes sustituyentes elegidos de los grupos metilo, cloro, fluoro, nitro, metoxilo, carboxilo y acetamido. El ciclo alifático de 5 ó 6 miembros formado por dos grupos  $R'$  puede ser un grupo ciclohexilo o un grupo ciclopentilo.

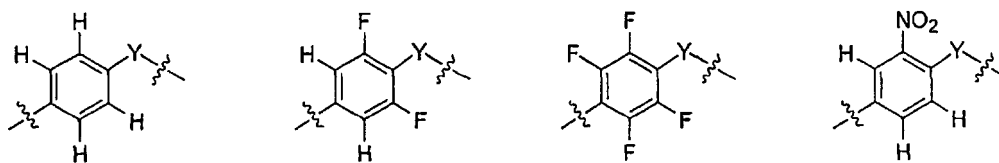
Como ejemplo de grupo E en un compuesto Ia-I, pueden citarse los grupos siguientes:



En un compuesto Ia-I, la eliminación de la piridina-2-carbaldehído forma un complejo que tiene un ligando pentadentado, lo que cambia el estado de espín del complejo y al mismo tiempo permite la fijación de una molécula de agua a un sitio de coordinación del hierro. Según una segunda variante de los complejos Ia, designada a continuación por Ia-2,  $R^5$  puede representarse por un grupo  $C_6X_4-Y-R^6$  en el que  $(C_6X_4-Y)$  es un grupo espaciador que puede autodesprenderse en caso de rotura del enlace  $(C_6X_4-y)-R^6$  y  $R^6$  es un grupo que reacciona con un compuesto químico o un compuesto bioquímico desencadenando una sucesión de roturas que provocan la eliminación de un quinona-metanuro, según el mecanismo expuesto en la descripción a continuación.

Más particularmente, X, Y y  $R^6$  tienen el significado dado anteriormente.

En un complejo Ia-2, el grupo  $(C_6X_4-Y)$  puede tomar uno de los significados siguientes:



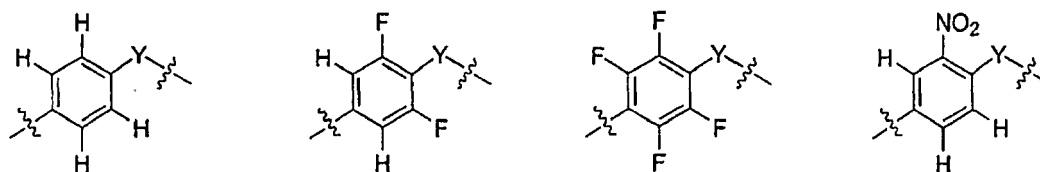
La eliminación del quinona-metanuro forma un complejo que tiene un ligando pentadentado, lo que cambia el estado de espín del complejo y al mismo tiempo permite la fijación de una molécula de agua a un sitio de coordinación del hierro.

Según un segundo modo de realización de los complejos de fórmula I, el sustituyente  $R^5$  representa un átomo de hidrógeno. Estos complejos se designan a continuación mediante Ib.

En los complejos Ib, uno de los grupos  $R^1$  representa un grupo que puede experimentar una modificación electrónica del grupo piridilo vecino mediante reacción con la sustancia diana, por ejemplo un grupo  $-CH(OH)CH(COOH)NH_2$ , y los grupos  $R^1$  restantes pueden representar, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, o un grupo elegido de los grupos  $-COOR^7$  en los que  $R^7$  puede representar un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, el grupo  $-NO_2$ , el grupo  $-CHO$ .

Un complejo de tipo (Ib) cambia de estado de bajo espín bajo el efecto de una modificación de uno de los sustituyentes  $R^1$ . Por ejemplo, un sustituyente  $R^1$  del tipo  $-CH(OH)CH(COOH)NH_2$  se reorganiza bajo la acción de la L-treonina aldolasa, produciendo un cambio del estado de espín. No se ofrece ningún acceso a una molécula de agua en la primera esfera de coordinación durante su transformación en  $-CHO$ , según el mecanismo expuesto a continuación. Sólo las moléculas de agua de la segunda esfera de coordinación se ven influidas.

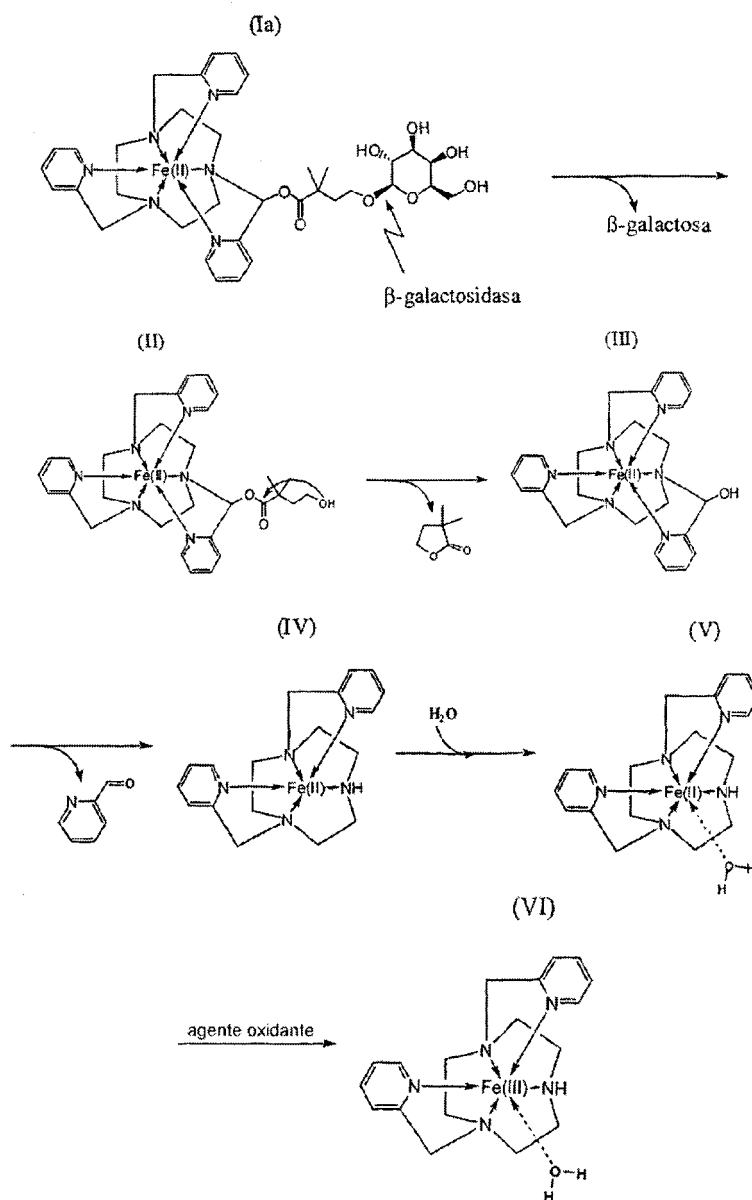
Según un modo de realización de los complejos de fórmula general II, los grupos X pueden representar, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un átomo de flúor, o un grupo  $NO_2$ , y el grupo  $(C_6X_4-Y)$  puede tomar uno de los significados siguientes:



Un complejo según la invención puede usarse como marcador en IRM, para detectar una sustancia diana tal como por ejemplo una enzima.

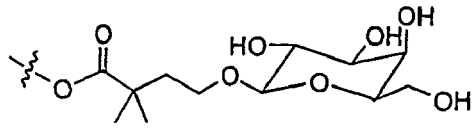
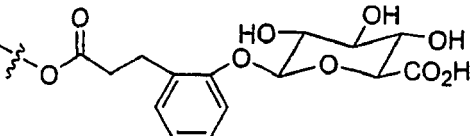
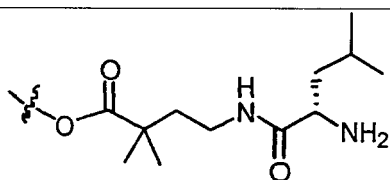
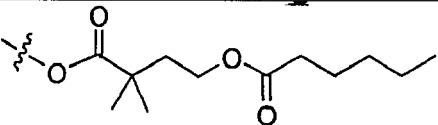
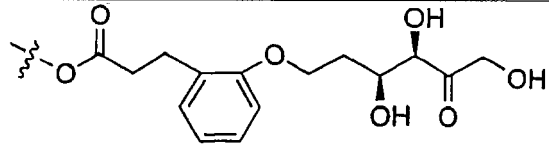
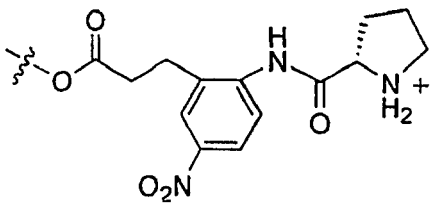
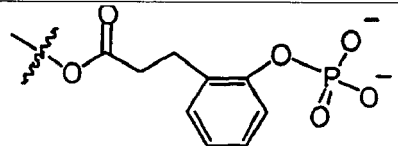
La acción de un complejo del tipo (Ia-I) se ilustra mediante el esquema de reacción (esquema 1) a continuación, para un complejo en el que  $R^5$  es un grupo  $-E-R^6$ , E es un grupo espaciador  $-O-CO-C(CH_3)_2-(CH_2)_2-O-$ ,  $R^6$  es un grupo  $\beta$ -galactosilo, los grupos  $R^4$  representan átomos de hidrógeno y W es un enlace sencillo (dicho de otro modo  $m = 0$ ). Este tipo de complejo permite la detección de  $\beta$ -galactosidasa. Cuando el complejo (Ia-1) se pone en presencia de  $\beta$ -galactosidasa, se produce una rotura del grupo  $\beta$ -galactosilo con la formación de  $\beta$ -galactosa, después una rotura espontánea del grupo espaciador con la formación de la lactona 4,4-dimetil-dihidro-furan-2-ona, después una rotura espontánea entre el átomo de carbono que llevaba el sustituyente  $R^5$  y el átomo de nitrógeno del macrociclo, con la formación de piridina-2-carbaldehído. Entonces una molécula de agua puede fijarse al sitio de coordinación liberado, y el centro de hierro (II) adopta el estado de alto espín. Este compuesto se oxida espontáneamente hacia el estado de oxidación III para convertirse en un agente de contraste en IRM de alta eficacia.

Esquema 1



## ES 2 334 242 T3

Esta técnica permite detectar, además de la  $\beta$ -galactosidasa, la presencia de sustancias diana muy variadas. A continuación se notifican ejemplos de grupos E-R<sup>6</sup> útiles para detectar la presencia de ciertas sustancias diana particulares, o cualquier otra enzima que forme parte de las clases a las que pertenecen las sustancias diana siguientes, especialmente las glicosidasas, las aminopeptidasas, las lipasas y las fosfatasa:

| E-R <sup>6</sup>                                                                    | Sustancia diana                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | $\beta$ -galactosidasa<br>(EC 3.2.1.23)                                                                     |
|    | $\beta$ -glucuronidasa<br>(EC 3.2.1.31)                                                                     |
|    | Leucil aminopeptidasa<br>(EC 3.4.11.1)                                                                      |
|   | lipasas (EC 3.1.1.3)                                                                                        |
|  | transaldolasas<br>(EC 2.2.1.2) (véase por ejemplo E. Gonzalez-Garcia et al. Chem. Eur. J. 2003, 9, 893-899) |
|  | prolil aminopeptidasa<br>(EC 3.4.11.5)                                                                      |
|  | fosfatasa alcalina<br>(EC 3.1.3.1)                                                                          |

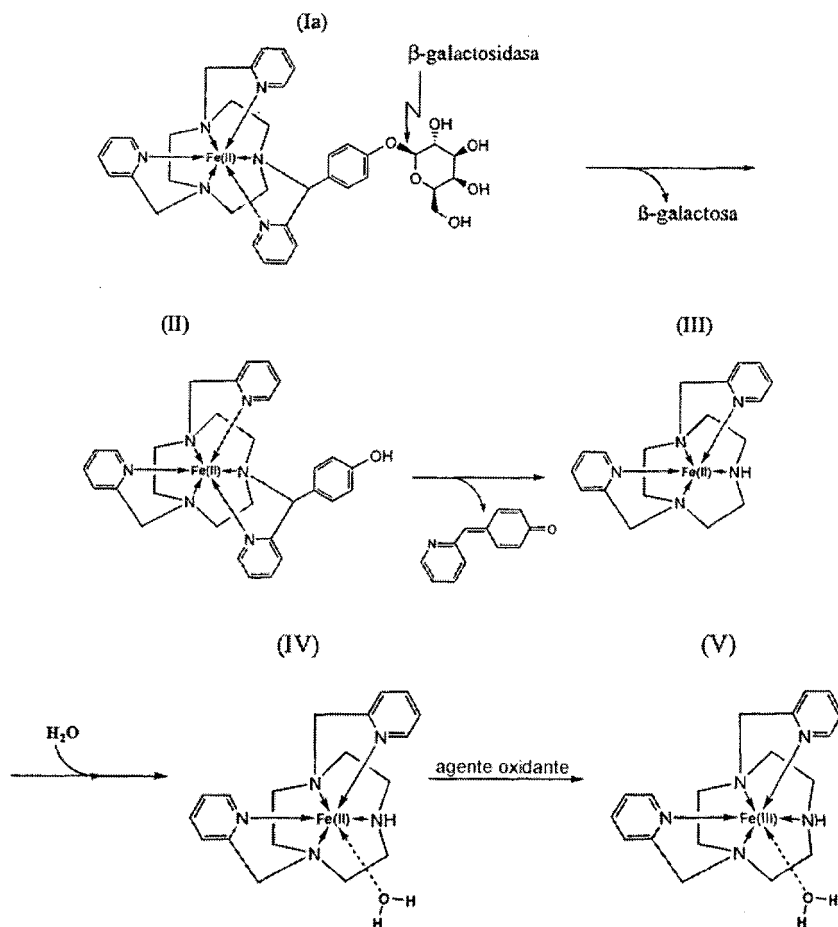
El código EC es el usado por la "International Union of Biochemistry and Molecular Biology IUBMB" ("Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular").

Pueden encontrarse los significados de los ejemplos anteriores en bases de datos tales como las catalogadas en <http://www.brenda.uni-koeln.de> o <http://au.expasy.org/enzyme/>.

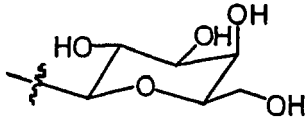
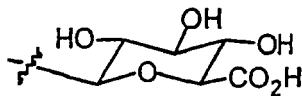
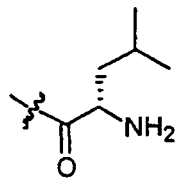
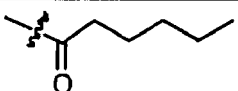
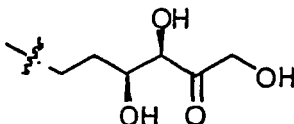
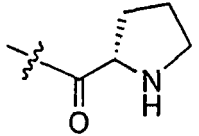
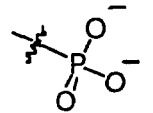
Asimismo, la acción de un complejo de tipo (Ia-2) en el que E es un grupo espaciador ( $-C_6X_4-Y-$ ) tal como se definió anteriormente, y  $R^6$  es un grupo  $\beta$ -galactosilo, se ilustra mediante el esquema de reacción 2 a continuación.

Cuando el complejo (Ia-2) se pone en presencia de  $\beta$ -galactosidasa, se produce una rotura del grupo  $\beta$ -galactosilo con la formación de  $\beta$ -galactosa, después una rotura espontánea entre el átomo de carbono que llevaba el sustituyente  $R^5$  y el átomo de nitrógeno del macrociclo, con la formación de quinona-metanuro. Entonces una molécula de agua puede fijarse al sitio de coordinación liberado, después la acción de un agente oxidante permite transformar el complejo de hierro (II) en complejo de hierro (III).

Esquema 2

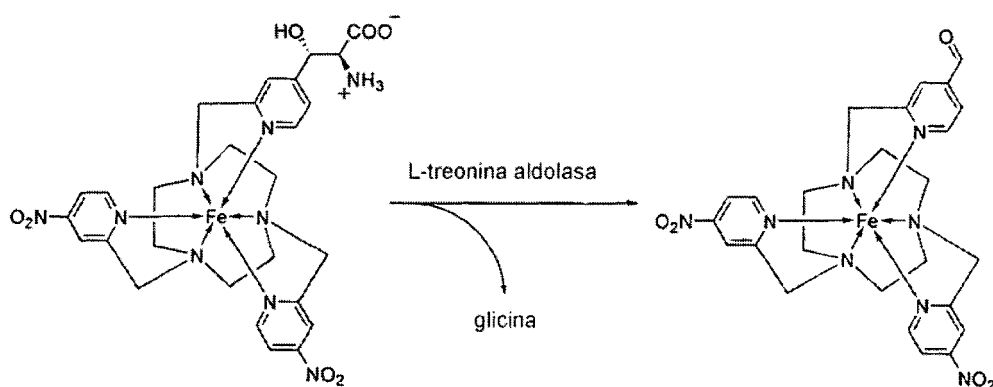


También es posible en este caso detectar, además de la  $\beta$ -galactosidasa, la presencia de sustancias diana muy variadas. A continuación se notifican ejemplos de grupos  $R^6$  útiles para detectar la presencia de ciertas sustancias diana particulares, o cualquier otra enzima que forme parte de las clases a las que pertenecen las sustancias diana siguientes, especialmente las glicosidasas, las aminopeptidasas, las lipasas y las fosfatasas:

| $R^6$                                                                               | Sustancia diana                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | $\beta$ -galactosidasa (EC 3.2.1.23)                                                                              |
|    | $\beta$ -glucuronidasa (EC 3.2.1.31)                                                                              |
|    | Leucil aminopeptidasa<br>(EC 3.4.11.1)                                                                            |
|    | lipasas (EC 3.1.1.3)                                                                                              |
|   | transaldolasas (EC 2.2.1.2)<br>(véase por ejemplo E.<br>Gonzalez-Garcia et al. Chem.<br>Eur. J. 2003, 9, 893-899) |
|  | prolil aminopeptidasa<br>(EC 3.4.11.5)                                                                            |
|  | fosfatasa alcalina<br>(EC 3.1.3.1)                                                                                |

La acción de un complejo (Ib) que comprende un ión Fe y un ligando de tipo hexadentado que lleva un sustituyente  $R^i$  que puede experimentar una modificación electrónica se ilustra mediante el esquema de reacción a continuación (esquema 3), para un complejo en el que uno de los sustituyentes  $R^i$  es un grupo  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{COOH})\text{NH}_2$  y los demás sustituyentes  $R^i$  son grupos  $-\text{NO}_2$ . Un sustituyente de este tipo se reorganiza bajo la acción de la L-treonina aldolasa liberando glicina, lo que provoca un cambio de estado de espín. En consecuencia permite detectar la L-treonina aldolasa.

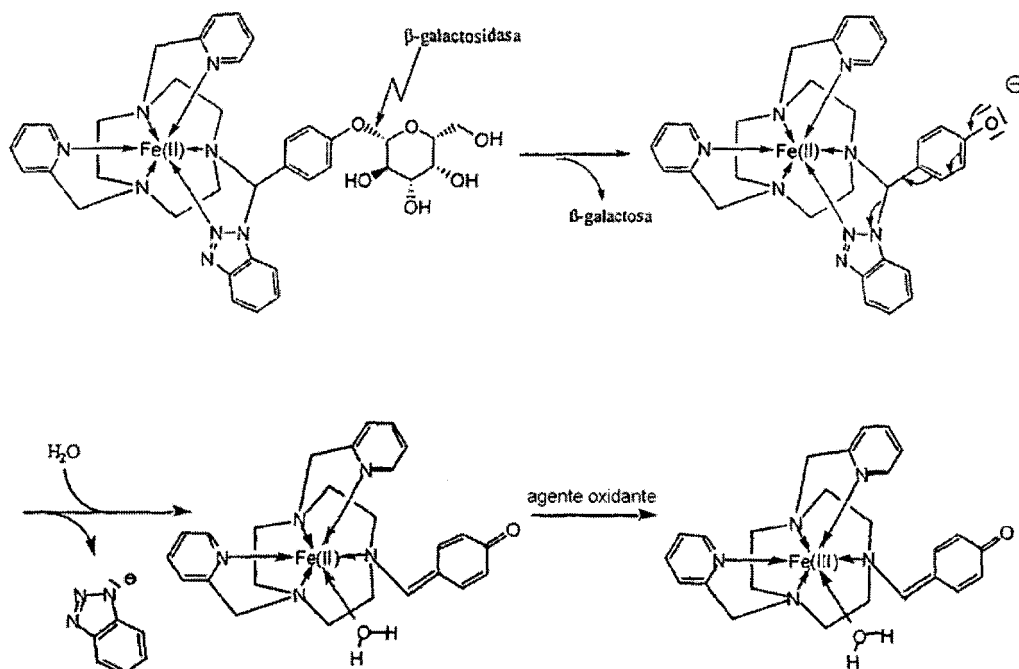
Esquema 3



Asimismo, la acción de un complejo de tipo (II), en el que E es un grupo espaciador ( $-C_6X_4-Y-$ ) tal como se definió anteriormente, W no es un grupo particular ( $m = 0$ ) y  $R^6$  es un grupo  $\beta$ -galactosilo, se ilustra mediante el esquema de reacción 4 a continuación.

Cuando el complejo (II) se pone en presencia de  $\beta$ -galactosidasa, se produce una rotura del grupo  $\beta$ -galactosilo con la formación de  $\beta$ -galactosa, después una transposición del grupo espaciador de manera que se forma un quinona-metanuro, lo que conlleva la eliminación del grupo benzotriazol. Entonces una molécula de agua puede fijarse al sitio de coordinación liberado, después la acción de un agente oxidante permite transformar el complejo de hierro (II) en complejo de hierro (III).

Esquema 4

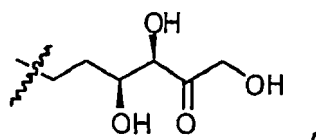


La invención también tiene por objeto una composición farmacéutica que comprende un agente de contraste según la invención.

También se refiere al uso de un agente de contraste según la invención para la preparación de una composición farmacéutica destinada al diagnóstico mediante obtención de imágenes por resonancia magnética, así como al método de obtención de imágenes por resonancia magnética de una célula o de un tejido al que se ha administrado un agente de contraste según la invención.

Además, la invención tiene por objeto una composición farmacéutica destinada a la determinación de la distribución tisular de  $\beta$ -galactosidasa o de  $\beta$ -glucuronidasa, en la que el agente de contraste responde a la fórmula (Ia), en la que  $R^5$  representa un grupo  $-E-R^6$ , o un grupo  $(C_6X_4-Y)-R^6$ , representando  $R^6$  respectivamente un grupo  $\beta$ -galactosilo o un grupo  $\beta$ -glucuronilo, y los grupos E,  $(C_6X_4-Y)$ ,  $R^1$  y  $R^4$  son tal como se definieron anteriormente.

La invención también tiene por objeto una composición farmacéutica destinada a la determinación de la distribución tisular de aminopeptidasas, de lipasas, de transaldolasas y de fosfatasas, en la que el agente de contraste responde a la fórmula (Ia), en la que  $R^5$  representa un grupo  $-E-R^6$ , o un grupo  $(C_6X_4-Y)-R^6$ , representando  $R^6$  un grupo *L*-leucilo, un grupo  $-COC_5H_{11}$ , un grupo de tipo  $\alpha,\beta$ -dihidroxiacetona



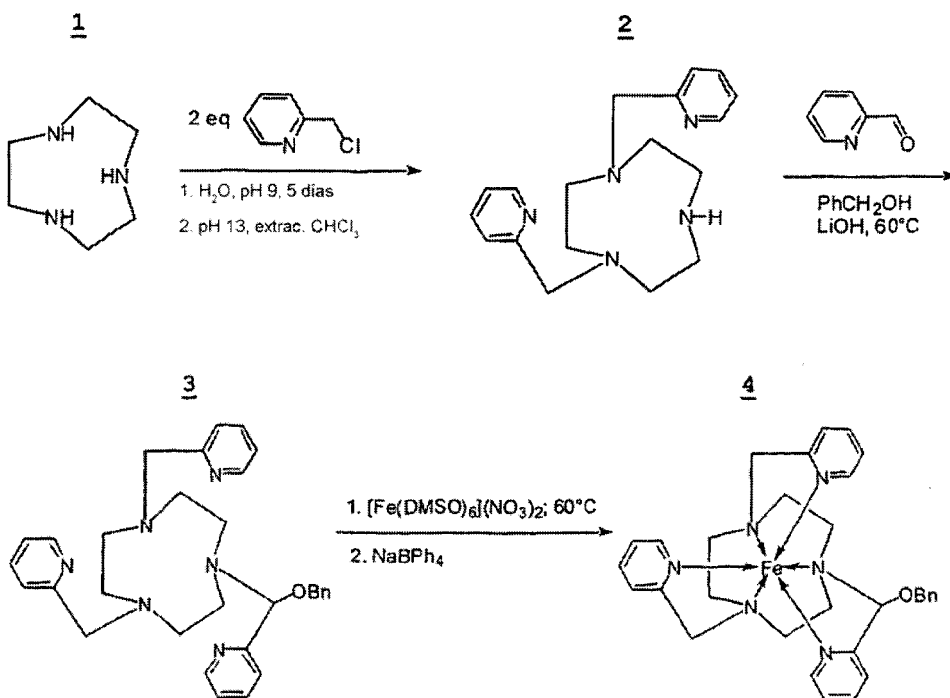
un grupo prolilo o un grupo fosforilo, y los grupos E,  $(C_6X_4-Y)$ ,  $R^1$  y  $R^4$  son tal como se definieron anteriormente.

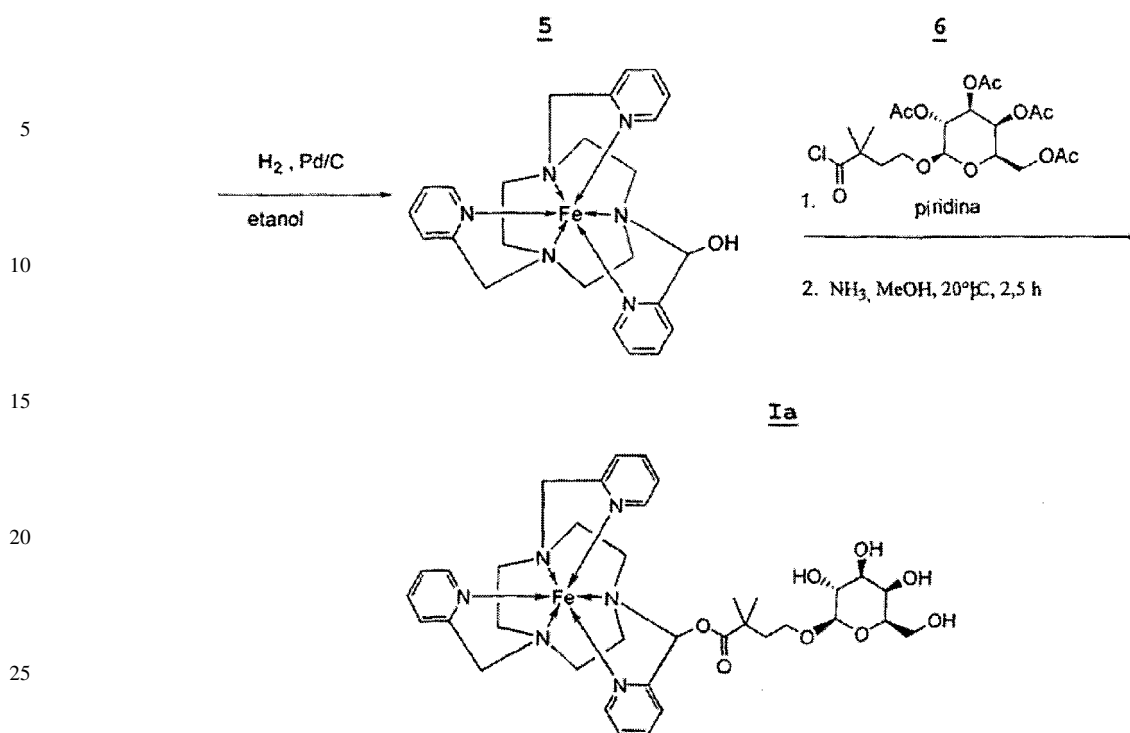
Asimismo, la invención tiene por objeto una composición farmacéutica destinada a la determinación de la distribución tisular de *L*-treonina aldolasa, en la que el agente de contraste responde a la fórmula (Ib).

*Preparación de un complejo de tipo (Ia) en el que  $R^5$  es un grupo  $-O-CO-C(CH_3)_2-(CH_2)_2-OR^6$*

La preparación de un complejo (Ia-1) en el que  $R^6$  es un grupo  $\beta$ -galactosilo y los demás sustituyentes  $R^1$  y  $R^4$  son átomos de hidrógeno puede realizarse tal como se ilustra mediante el esquema 5.

Esquema 5





El compuesto (2) se prepara haciendo reaccionar el 1,4,7-triazaciclononano 1 disponible comercialmente con dos equivalentes de clorometilpiridina en medio acuoso a pH 9 durante 3 días; en este punto se reduce el pH a 7. Vuelve a ajustarse el pH a 9 y se agita durante 3 días más antes de extraer el compuesto (2), según el modo de operación descrito por Spiccia, *et al.*, Inorg. Chem. 1994, 33, 4663.

A continuación se transforma el compuesto (2) en el N/O-acetal bencilado (3) mediante reacción con piridina-2-carbaldehído en alcohol bencílico, en presencia de LiOH a 60°C, según un procedimiento publicado para un producto análogo por Ugalde-Saldivar *et al.* (J. Chem. Soc. Dalton Trans. 2001, 3099-3107).

A continuación, se transforma el compuesto (3) en el complejo de hierro (4) mediante reacción con  $[\text{Fe}(\text{DMSO})_6](\text{NO}_3)_2$  a 60°C en metanol durante 30 minutos, después se añade  $\text{NaBPh}_4$  antes de enfriar a 5°C para precipitar el complejo y aislarlo.

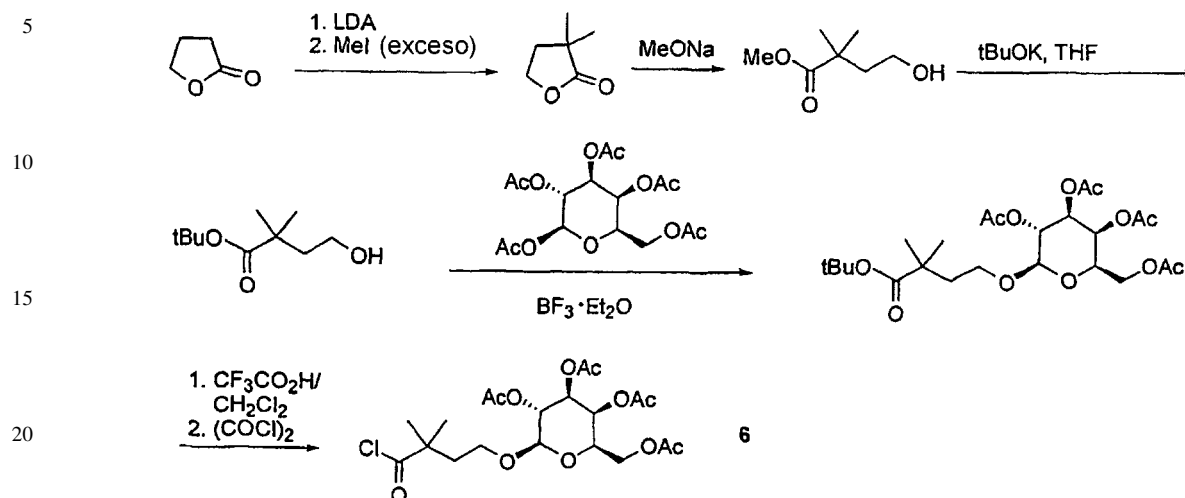
Tras la eliminación del grupo bencilo por el hidrógeno en presencia de paladio sobre carbono en etanol, se obtiene el compuesto (5) que se hace reaccionar con el cloruro de acilo (6) (véase su síntesis a continuación) en piridina y se obtiene un complejo en el que el grupo galactosilo está en forma protegida. La desprotección se realiza mediante la acción de amoníaco acuoso en metanol a 20°C durante 2,5 horas y se obtiene el complejo de fórmula (1a) deseado.

La presente invención se refiere también al compuesto (4), útil como producto intermedio de síntesis.

Para sintetizar el cloruro de acilo (6) puede procederse según el esquema 6 siguiente:

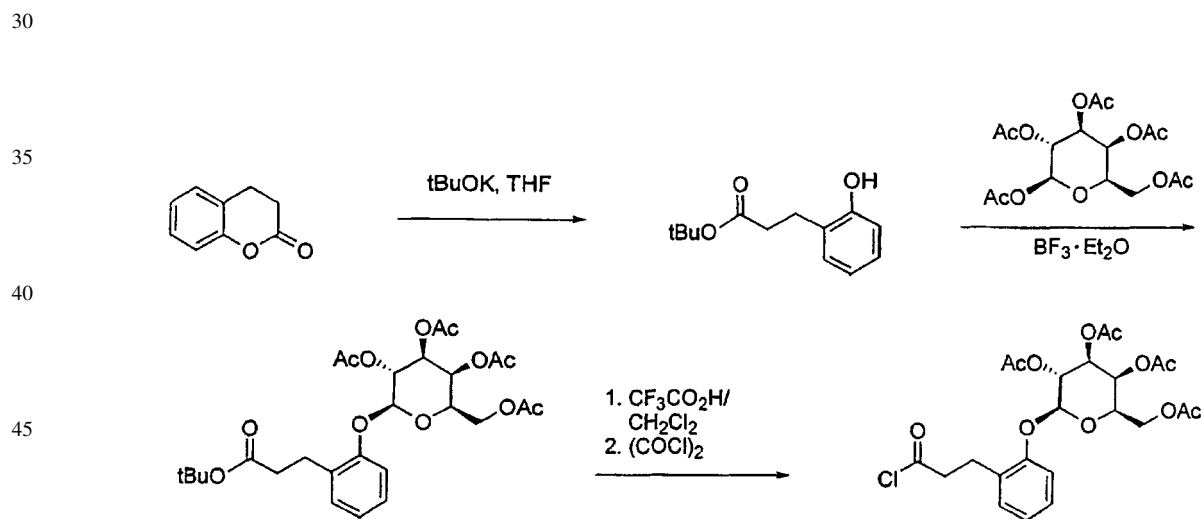
# ES 2 334 242 T3

Esquema 6



Para obtener un complejo de fórmula (Ia), en la que el espaciador es de tipo (E2), el análogo precursor del cloruro de acilo (6) puede sintetizarse según el esquema 7 siguiente:

Esquema 7

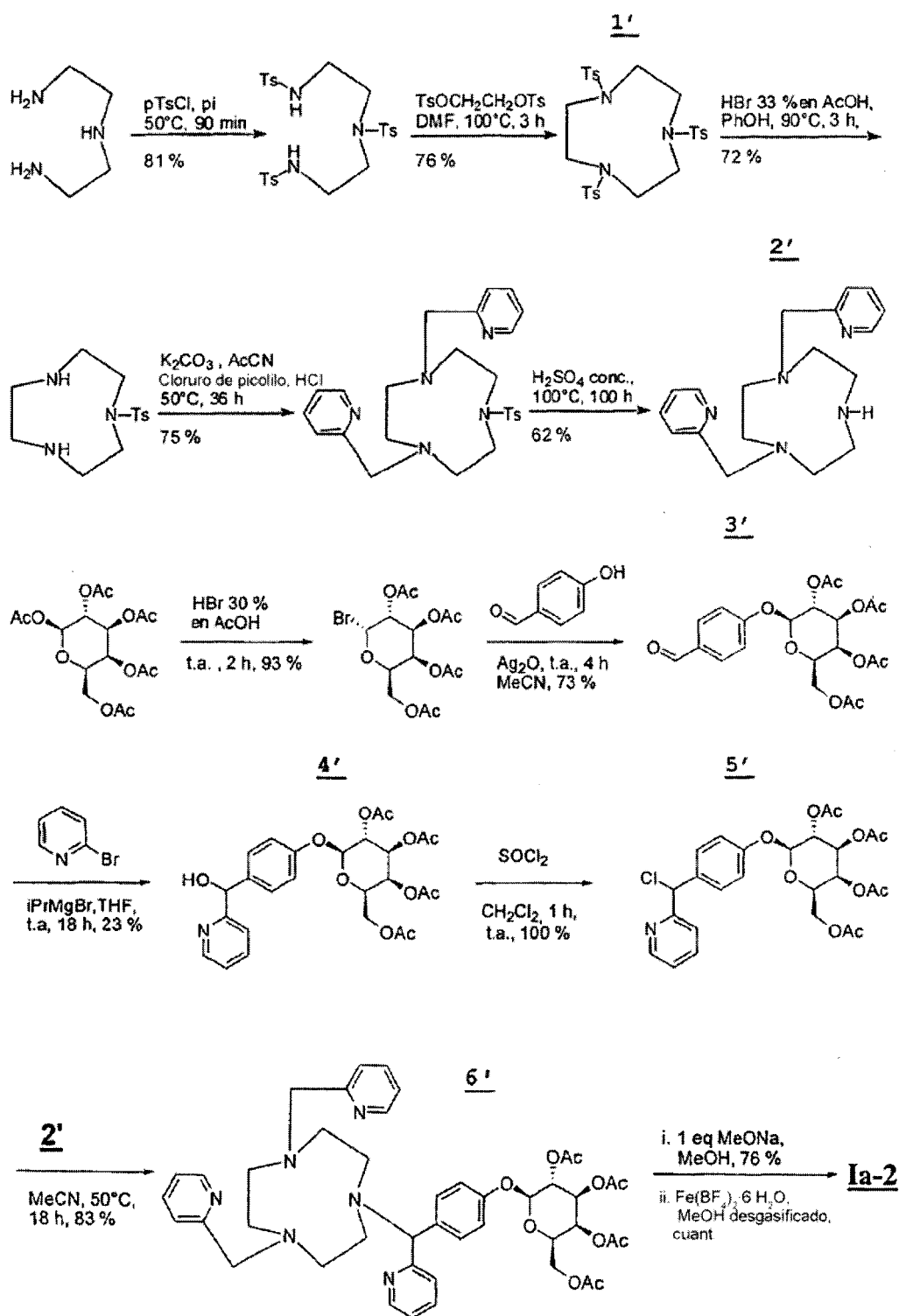


Para obtener complejos de fórmula (Ia), en la que los sustituyentes  $R^i$  no son átomos de hidrógeno, puede procederse de la misma manera utilizando clorometilpiridina sustituida con los grupos  $R^i$  deseados. Por ejemplo, puede remitirse al esquema 8 para la preparación de clorometilpiridina para-nitrosustituida como producto de partida en la primera etapa del esquema 5.

Para obtener complejos de fórmula (Ia), en la que E- $R^6$  tiene una definición más general  $-O-CO-(CR'_2)_n-YR^6$  con  $R'$ ,  $n$ ,  $Y$  y  $R^6$  tal como se definieron anteriormente, se procede como en el esquema 5 mediante acoplamiento de un compuesto (4) previamente hidrogenado, con un cloruro de acilo de fórmula  $Cl-CO-(CR'_2)_n-Y-R^6$  en presencia de una base. Se obtiene entonces un complejo de fórmula (Ia) eventualmente protegido, que puede desprotegerse a continuación según las técnicas clásicas del experto en la técnica.

*Preparación de complejos de tipo (Ia) en los que  $R^5$  es un grupo  $C_6H_4-OR^6$*

La preparación de un complejo (Ia-2) en el que  $R^6$  es un grupo  $\beta$ -galactosilo y los demás sustituyentes  $R^i$  y  $R^4$  son átomos de hidrógeno, puede efectuarse tal como se ilustra mediante el esquema 8.



El compuesto (2') se prepara haciendo reaccionar dietilentriamina (disponible comercialmente) con cloruro de tosilo. El compuesto resultante se trata en una primera etapa con MeONa y a continuación en una etapa independiente mediante el bis-tosilato de etilenglicol para proporcionar el producto (1'). Pueden desprotegerse selectivamente dos átomos de nitrógeno de (1') mediante la acción de ácido bromhídrico en ácido acético glacial. Un tratamiento mediante clorhidrato de cloruro de picolilo introduce las dos ramas de picolilo en el macrociclo nitrogenado, y el último grupo tosilo se elimina mediante un tratamiento en ácido sulfúrico concentrado a 100°C para proporcionar el compuesto (2').

El compuesto (3') se obtiene haciendo reaccionar, en presencia de óxido de plata, 4-hidroxibenzaldehído (disponible comercialmente) con 1-bromo-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosas, obteniéndose ésta mediante un tratamiento de penta-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosas (disponible comercialmente) mediante ácido bromhídrico en ácido acético glacial.

A continuación, se trata el compuesto (3') mediante una mezcla de un equivalente de 2-bromopiridina y de un equivalente del bromomagnesiano de isopropilo para obtener el alcohol (4'). Éste puede transformarse en el cloruro (5') mediante reacción con cloruro de tionilo. El compuesto (5') sirve para alquilar el compuesto (2') con ayuda de carbonato de potasio para obtener el compuesto (6'). Éste se trata con MeONa en metanol para eliminar los cuatro grupos protectores acetilo en la unidad de galactosilo. La síntesis multietapa del complejo Ia-2 se termina con el tratamiento mediante  $\text{Fe}(\text{BF}_4)_2$  en metanol para complejar el ligando con un átomo de hierro (II).

La preparación de diferentes compuestos formados en el transcurso de esta síntesis se ilustra mediante los ejemplos 1 a 14.

Para obtener complejos de fórmula (Ia-2), en la que los sustituyentes  $\text{R}^i$  no son átomos de hidrógeno, puede procederse de la misma manera utilizando clorometilpiridina sustituida con los grupos  $\text{R}^i$  y/o  $\text{R}^4$  deseados. Por ejemplo, puede remitirse al esquema 9 para la preparación de clorometilpiridina para-nitrosustituida como producto de partida en la primera etapa del esquema 8.

Para obtener complejos de fórmula (Ia-2), en la que E- $\text{R}^6$  tiene una definición más general  $-\text{C}_6\text{X}_4-\text{Y}-\text{R}^6$  con X, Y y  $\text{R}^6$  tal como se definieron anteriormente, se procede como en el esquema 8 sustituyendo el reactivo penta-O-acetil- $\beta$ -D-galactopiranosas por un cloruro de acilo para las unidades  $\text{R}^6$  que responden a una actividad esterasa/lipasa, y por un aminoácido protegido y activado para una respuesta a la actividad de las proteasas. Cuando la unidad  $\text{R}^6$  representa una  $\alpha,\beta$ -dihidroxiketona, puede aplicarse la estrategia descrita en la publicación de E. Gonzalez-Garcia *et al.* Chem. Eur. J. 2003, 9, 893-899.

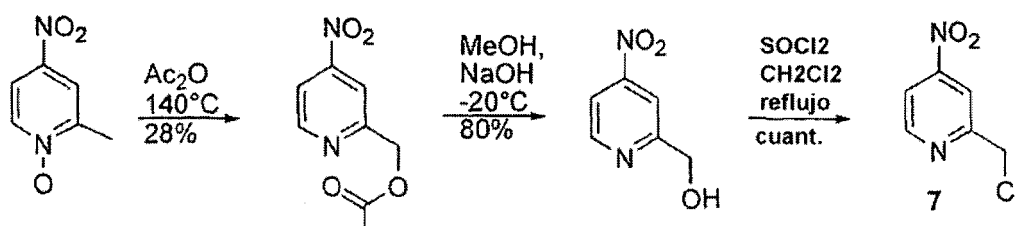
Para obtener complejos de fórmula (Ia-2), en la que  $\text{R}^4$  representa un grupo metilo, es necesario sintetizar un derivado correspondiente del cloruro de picolilo introducido en la primera etapa del esquema 8.

*Preparación de complejos de tipo (Ib) en los que  $\text{R}^5$  es un átomo de hidrógeno y uno de los sustituyentes  $\text{R}^i$  es un grupo  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{COOH})\text{NH}_2$*

Puede obtenerse un complejo (Ib) en el que  $\text{R}^5$  es un átomo de hidrógeno, uno de los sustituyentes  $\text{R}^i$  es un grupo  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{COOH})\text{NH}_2$  y los sustituyentes  $\text{R}^i$  restantes son grupos  $-\text{NO}_2$ , a partir del ciclono (1) citado previamente, y reactivos preparados de antemano.

Puede prepararse un reactivo (7) según el esquema de reacción siguiente (esquema 9). La última etapa se efectúa a reflujo en diclorometano.

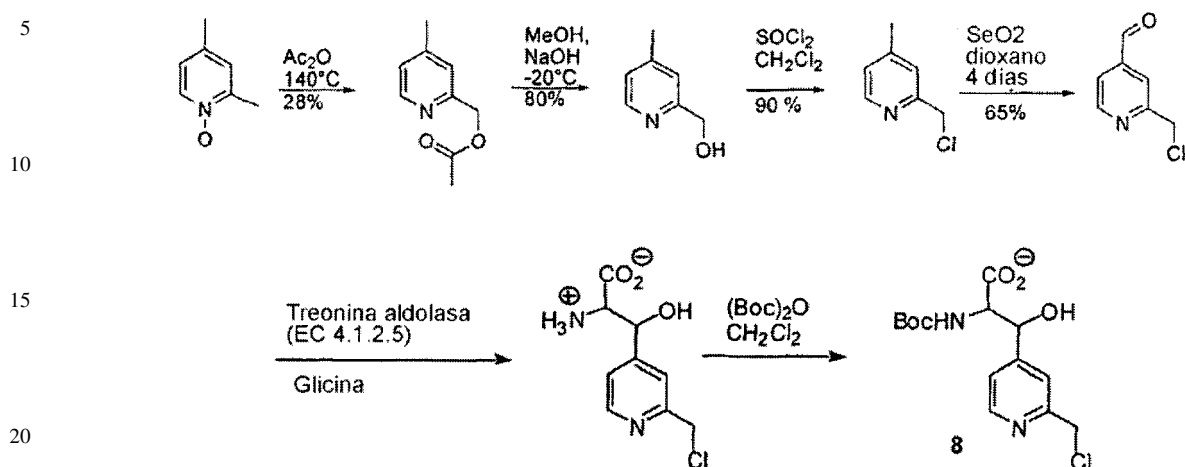
Esquema 9



Puede prepararse un reactivo (8) según el esquema de reacción siguiente (esquema 10). La cuarta etapa se efectúa calentando el producto de partida con dióxido de selenio en dioxano durante 4 días (Bishop *et al.* Tetrahedron 2000, 4629-4638).

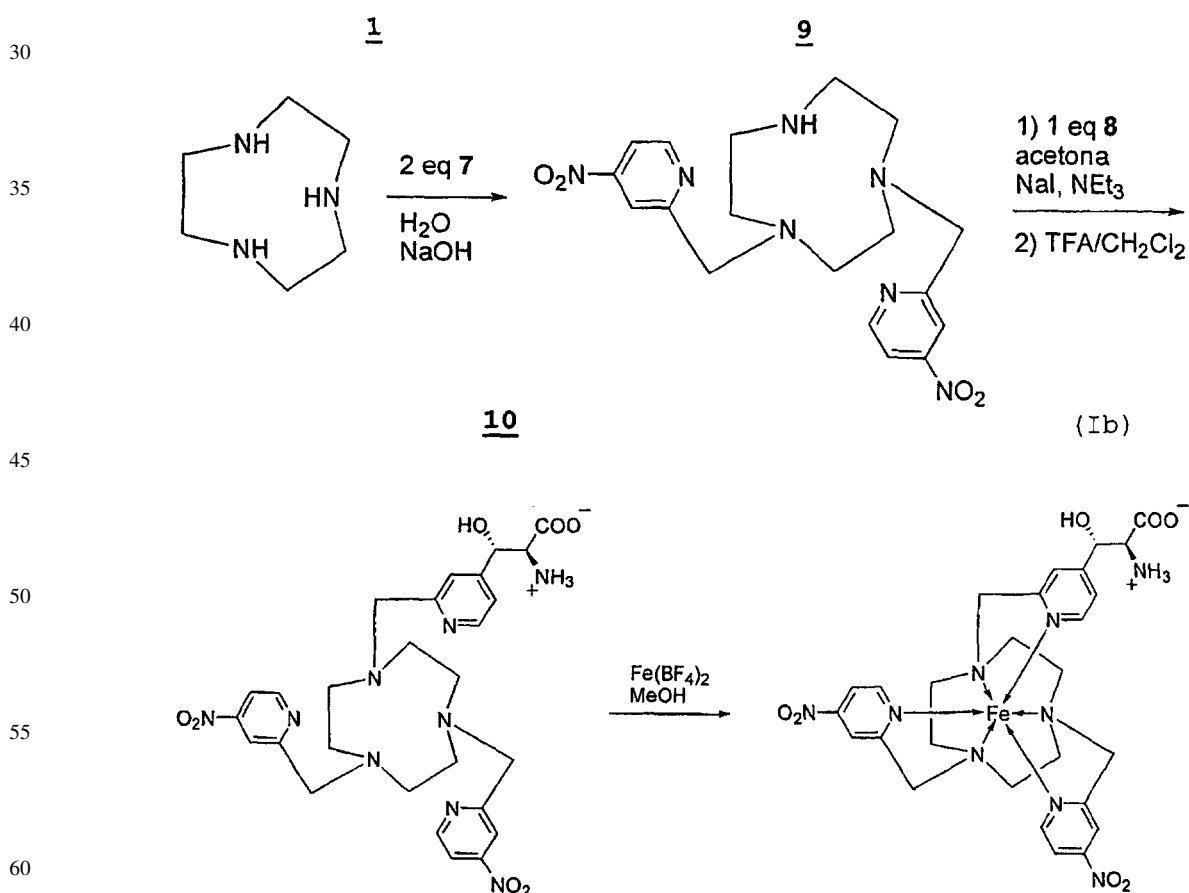
# ES 2 334 242 T3

Esquema 10



La preparación del complejo puede efectuarse según el modo de operación siguiente, ilustrado mediante el esquema 11:

Esquema 11



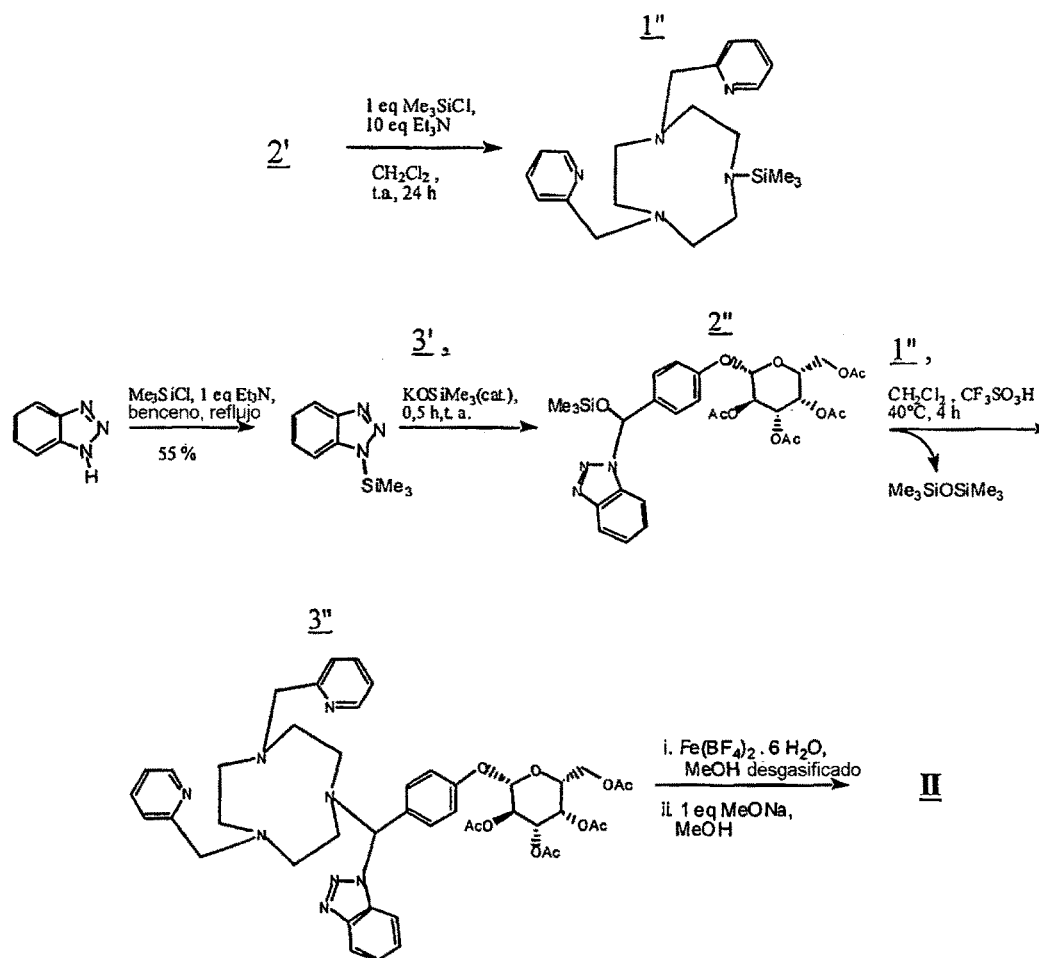
Se procede según el mismo modo de operación que el descrito en el esquema 5 para obtener el compuesto de fórmula (9). A continuación, se hace reaccionar el compuesto (9) con un equivalente de compuesto (8) en presencia de NaI y NEt<sub>3</sub> en acetona. La desprotección del grupo amina primaria mediante ácido trifluoroacético en diclorometano conduce al compuesto (10). El compuesto (10) se transforma en el complejo de hierro mediante la acción de Fe(BF<sub>4</sub>)<sub>2</sub> en metanol, y se obtiene el complejo de fórmula (Ib).

La presente invención se refiere también al compuesto (9), útil como producto intermedio de la síntesis.

### Preparación de complejos de tipo II

Puede efectuarse la preparación de un complejo de tipo II en el que  $R^5$  es un grupo  $-C_6H_4-O-\beta$ -galactosilo, los dos átomos de nitrógeno y el grupo Z constituyen juntos una unidad de benzotriazol, W no representa nada ( $m=0$ ), y  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^4$  representan átomos de hidrógeno, tal como se ilustra mediante el esquema 12.

Esquema 12



El compuesto (1'') se obtiene haciendo reaccionar el producto (2'), descrito en el esquema 8, con clorotrimetilsilano en presencia de un gran exceso de trietilamina, según un modo de operación publicado para otra amina secundaria (P.B. Rasmussen *et al.*, Bull. Soc. Chem. Fr. 1985, II, 62-64). Tras filtración, evaporación de todos los productos volátiles, redisolución en diclorometano y filtración de los productos sólidos residuales, se introduce el compuesto (1'') directamente en la reacción con el producto (2''). Éste se sintetiza en primer lugar fabricando el 1-trimetilsilil-benzotriazol según un modo de operación descrito en la bibliografía (Inorg. Chem. 1989, 28, 4022-4026), y haciendo reaccionar este último con el compuesto (3') descrito en el esquema 8 según un modo de operación publicado (A. Bourry *et al.*, J. Heterocyclic Chem. 2002, 39, 109-118).

Los compuestos (1'') y (2'') se transforman en el compuesto (3'') según un modo de operación descrito en la misma publicación (A. Bourry *et al.*, J. Heterocyclic Chem. 2002, 39, 109-118). La última etapa consiste en tratar el compuesto (3'') mediante  $Fe(BF_4)_2$  en metanol, después mediante MeONa en metanol para eliminar los 4 grupos protectores acetilo en la unidad de galactosilo. El complejo II resultante se purifica por evaporación de la mezcla de reacción, redisolución en agua y paso a través de una columna comercial rellena con sílice de fase inversa (C18).

La invención se describe más en detalle mediante los siguientes ejemplos, a los que sin embargo no se limita.

Los ejemplos 1 a 14 describen la preparación de los diferentes compuestos que intervienen en la síntesis de los complejos de tipo Ia-2, según el esquema 8.

## ES 2 334 242 T3

### Ejemplo 1

#### *Preparación de bis(p-toluenosulfonil)etilenglicol*

- 5 Se disuelven 19,8 g (0,3 mol) de etilenglicol en 150 ml de piridina destilada, después se enfría la disolución con un baño de hielo. Se añade lentamente, con agitación mecánica, cloruro del ácido p-toluenosulfónico (123 g; 0,65 mol). La temperatura debe permanecer inferior a 20°C durante la adición. Cuando se han añadido aproximadamente 90 g, la agitación se vuelve difícil y se efectúa una dilución con ayuda de 200 ml de piridina. Se deja la mezcla de reacción con agitación durante 2 h 30. Se añade una disolución acuosa de HCl (HCl 12 N - 170 ml - en hielo - 500 ml). Se filtra  
10 el sólido formado en el transcurso de esta adición. Se disuelve este sólido en metanol en ebullición (250 ml), después se filtra la nueva forma precipitada tras volver a la temperatura ambiente. Finalmente, se seca a vacío el sólido blando obtenido y se obtiene el producto puro (92,4 g; rendimiento del 83%).

15 *Características:* <sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,71 (d, 2H); 7,31 (d, 2H); 4,16 (s, 2H); 2,43 (s, 3H).

### Ejemplo 2

#### *Preparación de tris-(p-toluenosulfonil)dietilentriamina*

- 20 Se disuelven 115 g (0,6 mol) de cloruro del ácido p-toluenosulfónico en 250 ml de piridina a temperatura ambiente. Se añade gota a gota una disolución de dietilentriamina (21,5 ml, 0,2 mol) en piridina (30 ml). Se agita la mezcla de reacción a 50°C durante 90 minutos, después se transfiere en caliente a un Erlenmeyer. Tras volver a la temperatura ambiente, se añaden 200 ml de agua. Se deja la mezcla con agitación durante la noche a temperatura ambiente después  
25 se pone en un baño de hielo durante 2 horas. Se filtra el sólido naranja que se forme entonces, se lava con etanol al 95% frío (0°C). Tras secado a vacío a 40°C (rotavapor), se obtiene el producto deseado en forma de un sólido amarillo claro (92 g; rendimiento del 81%).

### Ejemplo 3

#### *Preparación de la sal disódica de tris-(p-toluenosulfonil)dietilentriamina*

- 35 Se prepara una disolución de etanolato de sodio mediante la adición lenta de fragmentos de sodio (7,5 g; 0,32 mol) en etanol absoluto (220 ml). Se disuelve tris-(p-toluenosulfonil)dietilentriamina (92,0 g; 0,16 mol) en etanol absoluto (220 ml) y se lleva la mezcla a reflujo. Se detiene el calentamiento y se añade de una vez la disolución de etanolato de sodio. Se eliminan las impurezas insolubles por decantación. Se deja cristalizar la disolución durante la noche. Se filtran los cristales obtenidos bajo argón, se lavan con etanol absoluto, después se secan a vacío a 100°C. Se obtiene la sal disódica en forma de cristales blancos (98,0 g; rendimiento del 98%).  
40

### Ejemplo 4

#### *Preparación de 1,4,7-tris(p-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano (compuesto 1')*

- 45 Se añade gota a gota, en una duración de 3 horas, una disolución de bis(p-toluenosulfonil)etilenglicol (59,5 g; 0,16 mol) en DMF (300 ml) a una disolución de la sal disódica de tris-(p-toluenosulfonil)dietilentriamina (98 g; 0,16 mol) en DMF (950 ml) a 100°C. Se detiene el calentamiento y se añade agua destilada (575 ml). Se forma inmediatamente un precipitado. Tras filtración y secado a vacío, se obtiene el compuesto macrocíclico en forma de un sólido blanco  
50 (71,8 g; rendimiento del 76%).

*Características:* <sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,67 (d, 6H); 7,29 (d, 6H); 3,39 (s, 12H); 2,41 (s, 9H).

### Ejemplo 5

#### *Preparación de 1-(p-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano*

- 60 Se disuelven 1,4,7-tris(p-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano (17,56 g; 29,7 mmol) y fenol (21 g, 223,0 mmol) en 240 ml de una disolución de HBr (33%) en ácido acético glacial. Se calienta la disolución a 90°C durante 30 h. Aparece un sólido tras 3 h. Tras volver a temperatura ambiente, se filtra la mezcla y se lava el sólido con éter dietílico (2x80 ml). Se disuelve la sal de bromhidrato en una disolución de sosa 1 M hasta que el pH sea del orden de 12 unidades. Se extrae la disolución acuosa con ayuda de cloroformo (8x50 ml). Se secan las fases orgánicas reunidas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evapora el disolvente a vacío. Se obtiene finalmente un sólido blanco (7,36 g, rendimiento del 88%).  
65

## ES 2 334 242 T3

### Ejemplo 6

#### *Preparación de 1-(p-toluenosulfonil)-4,7-(piridinilmetil)-1,4,7-triazaciclononano*

5 A una suspensión de 1-(p-toluenosulfonil)-1,4,7-triazaciclononano (3,37 g; 11,91 mmol) y de  $K_2CO_3$  (12 g; 86,83 mmol) en 60 ml de acetonitrilo destilado, se añade clorhidrato de cloropicolina (4,30 g; 26,20 mmol). Se deja la mezcla con agitación durante 36 h a 50°C bajo argón. Se filtra la sal obtenida, después se lava mediante acetonitrilo 2x10 ml. Se evapora el disolvente a vacío, después se purifica el producto mediante cromatografía sobre gel de sílice (gradiente de  $CH_2Cl_2/MeOH$  de 15/1 a 5/1) para obtener el producto puro en forma de un aceite amarillo (2,98 g; rendimiento del 75%).

*Características:*  $^1H$ -RMN (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8,49 (d, 2H); 7,63 (m, 4H); 7,47 (d, 2H); 7,26 (t, 2H); 7,13 (t, 2H); 3,90 (s, 4H); 3,19 (dd, 8H); 2,80 (s, 4H); 2,40 (s, 3H);

15  $^{13}C$ -RMN (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  159,83; 148,81; 142,82; 136,23; 135,81; 129,44; 126,93; 123,06; 121,77; 63,65; 55,65; 50,73; 21,29.

### Ejemplo 7

#### *Preparación de 1,4-dipiridinilmetil-1,4,7-triazaciclononano (compuesto 2')*

20 Se disuelve 1-(p-toluenosulfonil)-4,7-(piridinilmetil)-1,4,7-triazaciclononano (502 mg; 1,08 mmol) en 5 ml de  $H_2SO_4$  concentrado bajo argón. Se deja la mezcla con agitación durante 32 h a 100°C. Tras volver a la temperatura ambiente, se enfría la disolución con ayuda de un baño de hielo, después se añade lentamente una disolución de NaOH al 50% hasta que el pH sea próximo a 12. Se extrae la fase acuosa mediante 3x150 ml de cloroformo. Se seca la fase orgánica sobre  $Na_2SO_4$  y se evapora a vacío para obtener un aceite amarillo (255 mg; rendimiento del 76%).

30 *Características:*  $^1H$ -RMN (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8,57 (d, 2H); 7,53 (t, 2H); 7,15 (dd, 4H); 3,85 (s, 4H); 3,15 (t, 4H); 2,95 (t, 4H); 2,65 (s, 4H);

$^{13}C$ -RMN (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  157,2; 149,29; 136,72; 122,76; 122,45; 60,81; 52,65; 49,39; 45,20.

### Ejemplo 8

#### *Preparación de tetraacetil- $\alpha$ -bromogalactosa*

40 Se disuelve  $\beta$ -pentaacetil-galactosa (10 g; 25,5 mmol) en 25 ml de una disolución de HBr (33%) en ácido acético y 5 ml de anhídrido acético. Se deja la disolución con agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añaden 200 ml de  $CH_2Cl_2$ , después se vierte la disolución sobre 150 g de hielo. Se separa la fase orgánica y se extrae la fase acuosa mediante 2x100 ml de  $CH_2Cl_2$ . Se lavan las fases orgánicas reunidas con una disolución saturada de  $K_2CO_3$ , después con agua destilada. Se seca sobre  $Na_2SO_4$  y se evapora el disolvente a vacío. Se disuelve el aceite obtenido en una cantidad mínima de éter dietílico y se añade pentano para hacer que precipite el producto. Se filtra directamente el producto puro cristalino (9,76 g; rendimiento del 93%).

*Características:*  $^1H$ -RMN (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  6,69 (d, J = 3,9 Hz, 1H); 5,51 (dd, J = 3,2 Hz, J = 1 Hz 1H); 5,40 (dd, J = 10,6 Hz, J = 3,2 Hz, 1H); 5,04 (dd, J = 10,6 Hz, J = 3,9 Hz, 1H); 4,48 (t, J = 6,5 Hz, 1H); 4,17 (m, 2H); 2,15 (s, 3H); 2,11 (s, 3H); 2,09 (s, 3H); 2,01 (s, 3H);

50  $T_{fus} = 85,3^\circ C$ ;  $[\alpha]_{289\text{ nm}}^{20^\circ C} = 219^\circ$  (c = 1;  $CHCl_3$ ).

### Ejemplo 9

#### *Preparación de tetraacetil-(p-formilfenoxi)- $\beta$ -galactosa (compuesto 3')*

60 Se disuelve tetraacetil- $\alpha$ -bromogalactosa (4,112 g; 10 mmol) en 100 ml de acetonitrilo destilado. Se añaden  $Ag_2O$  (10,0 g; 43 mmol) y p-hidroxibenzaldehído (1,222 g; 10 mmol). Se deja la mezcla con agitación durante 4 h, se evapora el disolvente a vacío y se filtra la suspensión metálica resultante sobre una capa de sílice utilizando acetato de etilo como eluyente. Se evapora el disolvente a vacío y se purifica el aceite amarillo obtenido mediante columna de cromatografía sobre gel de sílice ( $Et_2O$ ). El producto puro cristaliza mediante la evaporación lenta del disolvente en las fracciones que lo contienen. Se obtienen entonces 3,04 g (rendimiento del 67%) de cristales.

65 *Características:*  $^1H$ -RMN (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  9,93 (s, 1H); 7,85 (d, J = 8,7 Hz, 2H); 7,11 (d, J = 8,7 Hz, 2H); 5,47 (m, 2H); 5,17 (m, 2H); 4,17 (m, 3H); 2,19 (s, 3H); 2,06 (s, 6H); 2,02 (s, 3H);

## ES 2 334 242 T3

$^{13}\text{C}$ -RMN (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  190,60; 170,22; 170,07; 169,97; 169,21; 161,22; 131,73; 116,68; 98,53; 71,27; 70,60; 68,35; 66,71; 61,29; 20,56; 20,48;

$T_{\text{fus}} = 116,4^\circ\text{C}$ .

### Ejemplo 10

#### Preparación de tetraacetil-p-(piridinil-hidroximetil)fenoxi)- $\beta$ -galactosa (compuesto 4')

Se disuelve 2-bromopiridina (726 mg; 440  $\mu\text{l}$ , 4,6 mmol) en 5 ml de THF a temperatura ambiente. Se añade gota a gota cloruro de isopropilmagnesio (2,3 ml; 4,6 mmol; 2 M en THF) bajo argón y se deja la mezcla con agitación durante 2 horas. Se añade esta disolución a una disolución de tetraacetil-(p-formilfenoxi)- $\beta$ -galactosa (2,07 g; 4,6 mmol) en 3 ml de THF a temperatura ambiente. Se deja con agitación la mezcla durante 18 h, después se añade lentamente una disolución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Se extrae la disolución acuosa resultante con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evapora la misma a vacío. Se purifica el crudo de reacción mediante cromatografía sobre gel de sílice (éter/pentano 2/1 éter puro). Se obtiene entonces un sólido amarillo (600 mg, rendimiento del 25%).

*Características:*  $^1\text{H}$ -RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,57 (d, J = 4,7 Hz, 1H); 7,63 (td, J = 7,6 Hz, J = 1,4 Hz, 1H); 7,30 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 7,21 (t, J = 4,7 Hz, 1H); 7,13 (d, J = 7,6 Hz, 1H); 6,97 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 5,72 (d, J = 4,2 Hz, 1H); 5,43-5,47 (m, 2H); 5,19 (d, J = 4,2 Hz, 1H); 5,08 (dd, J = 7,9 Hz, J = 4,2 Hz, 1H); 5,01 (d, J = 7,9 Hz, 1H); 3,97 - 4,22 (m, 3H); 2,17 (s, 3H); 2,05 (s, 3H); 2,03 (s, 3H); 2,00 (s, 3H).

### Ejemplo 11

#### Preparación de tetraacetil-p-(piridinilclorometil)fenoxi)- $\beta$ -galactosa (compuesto 5')

Se disuelve tetraacetil-p-(piridinilhidroximetil)-fenoxi)- $\beta$ -galactosa (600 mg; 1,1 mmol) en 15 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Se añade gota a gota  $\text{SOCl}_2$  (143 mg, 88  $\mu\text{l}$ ; 1,2 mmol) y se deja la disolución con agitación durante 1 hora. Se evapora el disolvente a vacío. Se obtiene el producto puro y cuantitativamente.

*Características:*  $^1\text{H}$ -RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,64 (d, J = 5,2 Hz, 1H); 8,42 (t, J = 7,8 Hz, 1H); 8,19 (d, J = 7,8 Hz, 1H); 7,81 (t, J = 6,4 Hz, 1H); 7,67 (dd, J = 8,6 Hz, J = 3,3, 2H); 7,11 (d, J = 2,1 Hz, 1H); 7,01 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 5,44 - 5,51 (m, 2H); 5,12 (d, J = 2,9 Hz, 1H); 5,04 (d, J = 7,9 Hz, 1H); 4,01 - 4,20 (m, 3H); 2,17 (s, 3H); 2,06 (s, 3H); 2,03 (s, 3H); 2,00 (s, 3H).

### Ejemplo 12

#### Preparación de 1,4-dipiridinilmetil-7-(piridinil(p-tetraacetil- $\beta$ -galactofenil)metil)-1,4,7-triazaciclononano (compuesto 6')

Se mezclan 1,4-dipiridinilmetil-1,4,7-triazaciclononano (168 mg; 0,5 mmol), tetraacetil-p-(piridinil-clorometil)fenoxi)- $\beta$ -galactosa (356 mg; 0,6 mmol) y  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (aproximadamente 1,5 g; 11 mmol) en 10 ml de acetonitrilo. Se deja la suspensión resultante con agitación una noche a  $50^\circ\text{C}$  bajo argón. Tras volver a la temperatura ambiente, se filtra y se lava el precipitado mediante 2x5 ml de acetonitrilo. Se evapora el disolvente del filtrado y se obtiene un aceite amarillo que se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  10/1 a  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  4/1/0,1) de modo que se obtiene el producto puro (327 mg, rendimiento del 74%).

*Características:*  $^1\text{H}$ -RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,48 (t, J = 4,4 Hz, 3H); 7,63 (td, J = 7,6 Hz, J = 1,6 Hz, 3H); 7,36 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 7,13 (m, 3H); 6,89 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 5,42 (m, 2H); 5,06 (dd, J = 7,9 Hz, J = 4,2 Hz, 1H); 4,98 (d, J = 7,9 Hz, 1H); 4,78 (s, 1H); 3,97 - 4,22 (m, 3H); 3,79 (s, 4H); 2,96 (s, 4H); 2,84 (d, J = 8,6 Hz, 4H); 2,16 (s, 3H); 2,03 (s, 3H); 2,02 (s, 3H); 2,00 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$ -RMN (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  179,29 (C); 179,21 (C); 170,09 (C); 169,33 (C); 162,98 (C); 160,40 (C); 155,82 (C); 148,88 (CH); 137,19 (C); 136,42 (CH); 136,24 (CH); 129,79 (CH); 123,16 (CH); 122,64 (CH); 121,80 (CH); 116,73 (CH); 99,50 (CH); 70,84 (CH); 68,61 (CH); 66,82 (CH); 64,63 ( $\text{CH}_2$ ); 61,26 ( $\text{CH}_2$ ); 55,78 ( $\text{CH}_2$ ); 55,52 ( $\text{CH}_2$ ); 53,99 ( $\text{CH}_2$ ); 20,62 ( $\text{CH}_3$ ).

### Ejemplo 13

#### Preparación de 1,4-dipiridinilmetil-7-(piridinil(p- $\beta$ -galactofenil)metil)-1,4,7-triazaciclononano

Se disuelve 1,4-dipiridinilmetil-7-(piridinil(p-tetraacetil- $\beta$ -galactofenil)metil)-1,4,7-triazaciclononano (124 mg; 0,15 mmol) en 2 ml de metanol. Se añade metanolato de sodio (9 mg; 0,15 mmol). Se deja la mezcla de reacción con agitación durante 4 h bajo argón, y tras ese periodo el sustrato se ha consumido por completo según CL-EM. Se

## ES 2 334 242 T3

evapora el disolvente a vacío, después se añade  $\text{CHCl}_3$  (2 ml) y aparece un precipitado. Se filtra la disolución y se lava el sólido con ayuda de cloroformo. Se evapora el disolvente a vacío y se obtiene el producto en forma de un aceite amarillo (78 mg, rendimiento del 79%).

5

### Ejemplo 14

*Preparación de  $[\text{Fe}(1,4\text{-dipiridinilmetil-7-(piridinil}(p\text{-}\beta\text{-galactofenil)metil)-1,4,7\text{-triazaciclonoanano})]^{2+} (\text{BF}_4)^-$*

10 Se añade una disolución de bis(tetrafluoroborato) de hierro (II) ( $6 \text{ H}_2\text{O}$ ) (68 mg; 0,18 mmol) en metanol desgasificado (1 ml) a través de una cánula a una disolución de 1,4-dipiridinilmetil-7-(piridinil( $p\text{-}\beta\text{-galactofenil}$ )metil)-1,4,7-triazaciclonoanano (139 mg; 0,21 mmol) en 0,5 ml de metanol desgasificado bajo argón. Aparece instantáneamente un color marrón oscuro. Se deja la mezcla con agitación durante 10 minutos a temperatura ambiente, después se evapora el disolvente a vacío. Se purifica el crudo de reacción mediante dos filtraciones sucesivas en la columna de sílice de fase inversa  $\text{C}^{18}$  utilizando la agua como eluyente, para obtener el complejo puro en forma de un sólido amarillo tras liofilización (103 mg, rendimiento del 65%).

15

20

25

30

35

40

45

50

55

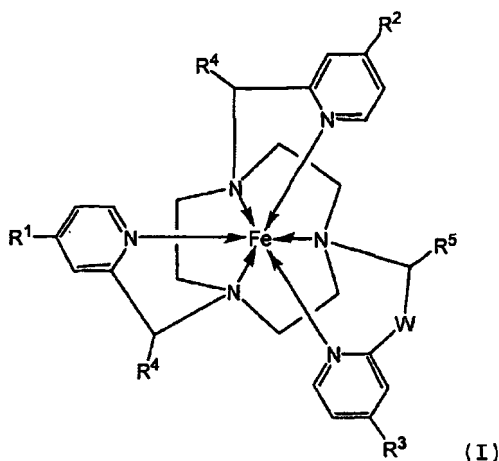
60

65

## REIVINDICACIONES

1. Agente de contraste para la obtención de imágenes por resonancia magnética que comprende un ligando quelante y un ión de metal de transición, llevando dicho ligando un sustituyente que puede reaccionar por vía química o bioquímica con una sustancia diana provocando un cambio del estado de espín, **caracterizado** porque presenta:

a) o bien la fórmula (I)



en la que:

-  $R^4$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, lineal o ramificado, o un radical arilo;

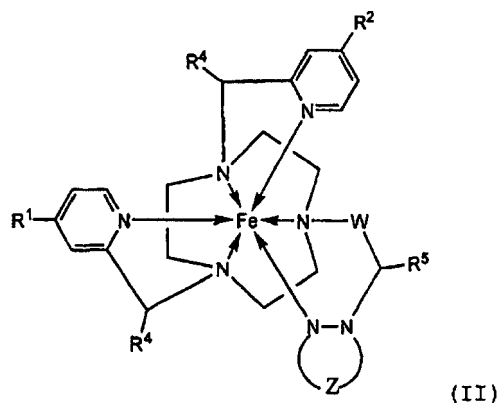
- W representa un grupo  $-(CH_2)_m-$ , siendo m igual a 0 o a 1;

-  $R^5$  representa un grupo que puede reaccionar con la sustancia diana para provocar una rotura entre el átomo de N del macrociclo y el carbono que lleva dicho grupo  $R^5$ , o representa un átomo de hidrógeno, entendiéndose que:

i) cuando  $R^5$  representa un grupo que puede reaccionar con la sustancia diana para provocar una rotura entre el átomo de N del macrociclo y el carbono que lleva dicho grupo  $R^5$  (complejos Ia), los sustituyentes  $R^1$  a  $R^3$ , designados por  $R^i$ , representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno o un grupo elegido para ajustar las propiedades de solubilidad, de dispersibilidad en los medios biológicos y de momento magnético del complejo, pudiendo uno de los  $R^i$  representar también un grupo que puede experimentar una modificación electrónica del grupo piridilo vecino mediante reacción con la sustancia diana;

ii) cuando  $R^5$  representa un átomo de hidrógeno (complejos Ib), uno de los grupos  $R^i$  representa un grupo que puede experimentar una modificación electrónica del grupo piridilo vecino mediante reacción con la sustancia diana, pudiendo representar los grupos  $R^i$  restantes, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno o elegirse para ajustar las propiedades de solubilidad, de dispersibilidad en los medios biológicos y de momento magnético del complejo;

b) o bien la fórmula (II)



en la que:

-  $R^1$  y  $R^2$ , designados por  $R^i$ , representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno o un grupo elegido para ajustar las propiedades de solubilidad, de dispersibilidad en los medios biológicos y de momento magnético del complejo;

-  $R^4$  y W son tal como se definieron anteriormente;

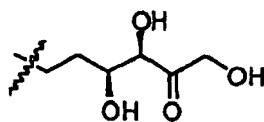
-  $R^5$  representa un grupo  $(-C_6X_4-Y-R^6)$ , en el que X es un grupo electroattractor, Y es un heteroátomo elegido de un átomo de oxígeno, un átomo de nitrógeno o un átomo de azufre, y  $R^6$  representa un grupo susceptible de experimentar una escisión por una glicosidasa, o un grupo aminoacilo susceptible de experimentar una escisión por una aminopeptidasa, o un grupo acilo susceptible de experimentar una escisión por una esterasa o una lipasa, o un grupo susceptible de experimentar una transformación retroaldólica por una aldolasa natural,

o un grupo susceptible de experimentar una transformación por una fosfatasa;

- Z es un grupo divalente que forma con los dos átomos de nitrógeno que lo llevan un ciclo aromático de benzo-triazol, triazol, tetrazol, pirazol, pudiendo llevar dicho ciclo aromático un sustituyente  $NO_2$ .

2. Agente de contraste de fórmula (II) según la reivindicación 1, **caracterizado** porque:

-  $R^6$  representa un grupo  $\beta$ -galactosilo, un grupo  $\beta$ -glucuronilo, un grupo L-prolilo, un grupo L-leucilo, un grupo  $-COC_5H_{11}$ , un grupo de tipo  $\alpha,\beta$ -dihidroxicetona



o un grupo fosforilo;

- los grupos X representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un átomo de flúor o un grupo  $NO_2$ .

3. Agente de contraste según la reivindicación 1, que responde a la fórmula (Ia), **caracterizado** porque los grupos  $R^i$  representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un grupo electroattractor elegido de los grupos  $-COOR^7$  en los que  $R^7$  representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, el grupo  $-NO_2$ , un átomo de halógeno y el grupo  $-CH_2-COO^-$ , o bien uno de los tres grupos  $R^i$  representa un grupo  $-CH(OH)CH(COOH)NH_2$ , siendo entonces los  $R^i$  restantes tal como se definieron anteriormente.

4. Agente de contraste según la reivindicación 3, que responde a la fórmula Ia, **caracterizado** porque  $R^5$  responde a la fórmula  $-E-R^6$ , en la que E es un grupo espaciador que puede autodesprenderse en caso de rotura del enlace  $E-R^6$  y  $R^6$  es un grupo que puede reaccionar con un compuesto químico o un compuesto bioquímico desencadenando una sucesión de roturas que provocan la eliminación de piridina-2-carbaldehído.

5. Agente de contraste según la reivindicación 4, **caracterizado** porque:

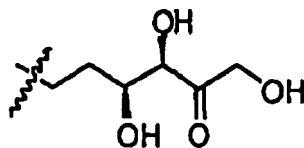
-  $R^6$  representa un grupo susceptible de experimentar una escisión por una glicosidasa o un grupo aminoacilo susceptible de experimentar una escisión por una aminopeptidasa o un grupo acilo susceptible de experimentar una escisión por una esterasa o una lipasa, o un grupo susceptible de experimentar una transformación retroaldólica por una aldolasa natural, o un grupo susceptible de experimentar una transformación por una fosfatasa, por ejemplo un grupo fosforilo;

- E es un grupo  $-O-CO-(CR'_2)_n-Y-$  en el que los grupos  $R'$  representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o dos  $R'$  llevados por dos átomos de carbono vecinos forman juntos un ciclo alifático o aromático de 5 ó 6 miembros llevado por los dos átomos de carbono vecinos;

- n es un número entero igual a 3 ó 4;

- Y es un heteroátomo elegido de un átomo de oxígeno, un átomo de nitrógeno o un átomo de azufre.

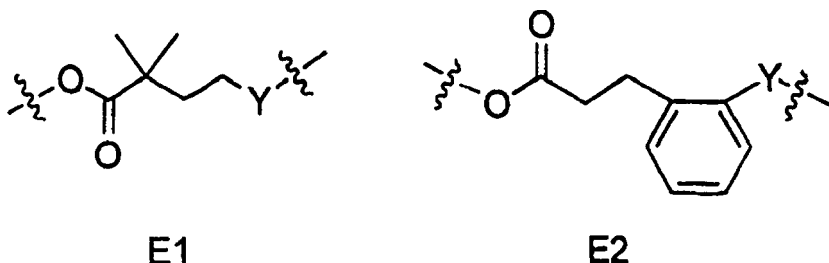
6. Agente de contraste según la reivindicación 5, **caracterizado** porque  $R^6$  representa un grupo  $\beta$ -galactosilo, un grupo  $\beta$ -glucuronilo, un grupo L-prolilo, un grupo L-leucilo, un grupo  $-COC_5H_{11}$ , un grupo de tipo  $\alpha,\beta$ -dihidroxiketona



o un grupo fosforilo.

7. Agente de contraste según la reivindicación 5 ó 6, **caracterizado** porque el ciclo aromático de 5 ó 6 miembros se elige de los grupos fenilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, indazolilo, furilo y tienilo, pudiendo dichos grupos llevar diferentes sustituyentes elegidos de los grupos metilo, cloro, fluoro, nitro, metoxilo, carboxilo y acetamido, y el ciclo alifático de 5 ó 6 miembros es un grupo ciclohexilo o un grupo ciclopentilo.

8. Agente de contraste según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, **caracterizado** porque E responde a una de las fórmulas siguientes:



E1

E2

9. Agente de contraste según la reivindicación 1 ó 3, que responde a la fórmula Ia, **caracterizado** porque:

-  $R^5$  responde a la fórmula  $-C_6X_4-Y-R^6$  en la que  $(C_6X_4-Y)$  es un grupo espaciador que puede autodesprenderse en caso de rotura del enlace  $-(C_6X_4-Y)-R^6$ , y

-  $R^6$  es un grupo que puede reaccionar con un compuesto químico o un compuesto bioquímico desencadenando una sucesión de roturas que provocan la eliminación de un quinona-metanuro.

10. Agente de contraste según la reivindicación 9, **caracterizado** porque:

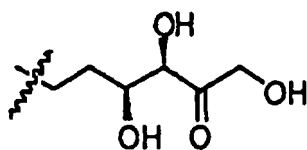
- Y es un heteroátomo elegido de un átomo de oxígeno, un átomo de nitrógeno o un átomo de azufre;

- X es un grupo electroattractor, y

-  $R^6$  representa un grupo susceptible de experimentar una escisión por una glicosidasa, o un grupo aminoacilo susceptible de experimentar una escisión por una aminopeptidasa, o un grupo acilo susceptible de experimentar una escisión por una esterasa o una lipasa, o un grupo susceptible de experimentar una transformación retroaldólica por una aldolasa natural, o un grupo susceptible de experimentar una transformación por una fosfatasa, por ejemplo un grupo fosforilo.

11. Agente de contraste según la reivindicación 10, **caracterizado** porque:

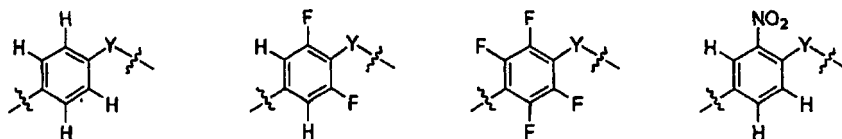
-  $R^6$  representa un grupo  $\beta$ -galactosilo, un grupo  $\beta$ -glucuronilo, un grupo L-prolilo, un grupo L-leucilo, un grupo  $-COC_5H_{11}$ , un grupo de tipo  $\alpha,\beta$ -dihidroxiketona



o un grupo fosforilo;

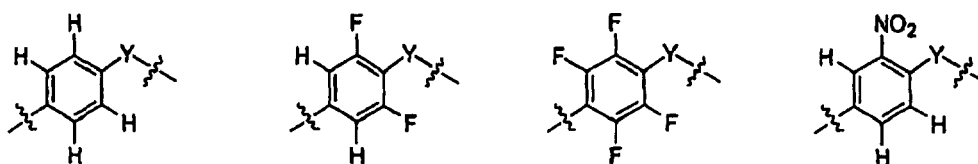
- los grupos X representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un átomo de flúor o un grupo  $NO_2$ .

12. Agente de contraste según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, **caracterizado** porque (C<sub>6</sub>X<sub>4</sub>-Y) responde a una de las fórmulas siguientes:



13. Agente de contraste según la reivindicación 1, que responde a la fórmula Ib, **caracterizado** porque uno de los tres grupos R<sup>i</sup> representa un grupo -CH(OH)CH(COOH)NH<sub>2</sub> y los grupos R<sup>i</sup> restantes representan, independientemente unos de otros, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, o un grupo elegido de los grupos -COOR<sup>7</sup> en los que R<sup>7</sup> puede representar un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, el grupo -NO<sub>2</sub>, el grupo -CHO.

14. Agente de contraste según la reivindicación 1 ó 2, que responde a la fórmula (II), **caracterizado** porque (C<sub>6</sub>X<sub>4</sub>-Y) responde a una de las fórmulas siguientes:

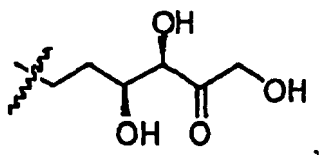


15. Composición farmacéutica **caracterizada** porque comprende un agente de contraste según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

16. Uso de un agente de contraste según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para la preparación de una composición farmacéutica destinada al diagnóstico mediante obtención de imágenes por resonancia magnética.

17. Composición farmacéutica según la reivindicación 15, destinada a la determinación de la distribución tisular de  $\beta$ -galactosidasa o de  $\beta$ -glucuronidasa, **caracterizada** porque el agente de contraste es tal como se definió en una de las reivindicaciones 4 ó 9, representando R<sup>6</sup> respectivamente un grupo  $\beta$ -galactosilo o un grupo  $\beta$ -glucuronilo.

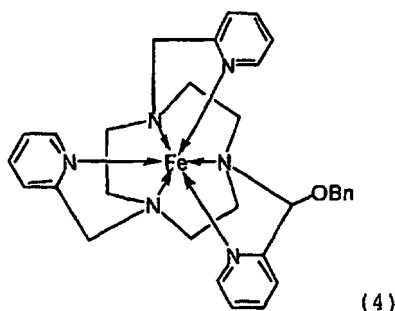
18. Composición farmacéutica según la reivindicación 15, destinada a la determinación de la distribución tisular de aminopeptidasas, de lipasa, de transaldolasas y de fosfatasa, **caracterizada** porque el agente de contraste es tal como se definió en una de las reivindicaciones 4 ó 9, representando R<sup>6</sup> un grupo L-leucilo, un grupo -COC<sub>5</sub>H<sub>11</sub>, un grupo de tipo  $\alpha,\beta$ -dihidroxiacetona



un grupo prolilo o un grupo fosforilo.

19. Composición farmacéutica según la reivindicación 15, destinada a la determinación de la distribución tisular de L-treonina aldolasa, **caracterizada** porque el agente de contraste es tal como se definió en la reivindicación 13.

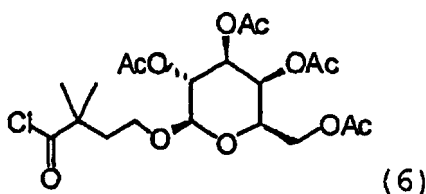
20. Compuesto de fórmula (4),



útil como producto intermedio de síntesis.

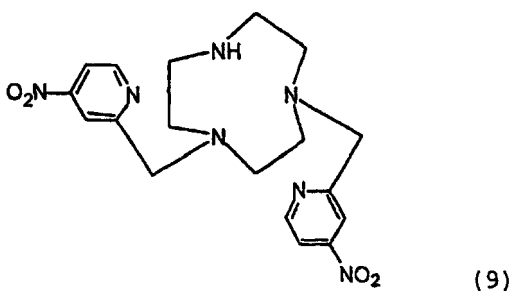
21. Procedimiento de preparación de un complejo de fórmula (Ia), en la que  $R^5$  y  $R^i$  son tal como se definieron en una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, **caracterizado** porque se procede mediante acoplamiento de un compuesto (4) según la reivindicación 20, previamente hidrogenado, con un cloruro de acilo de fórmula  $Cl-CO-(CR'_2)_n-Y-R^6$  en presencia de una base para obtener el compuesto en el que el grupo  $R^6$  está eventualmente en forma protegida, eventualmente seguido por una desprotección para obtener el complejo de fórmula (Ia-1).

22. Procedimiento de preparación de un complejo de fórmula (Ia-1) en la que  $R^5$  es un grupo  $-O-CO-C(CH_3)_2-(CH_2)_2-OR^6$ ,  $R^6$  es un grupo  $\beta$ -galactosilo pentaacetilado y los demás sustituyentes  $R^i$  y  $R^4$  son átomos de hidrógeno, **caracterizado** porque comprende una etapa que consiste en hacer reaccionar un compuesto (4) según la reivindicación 21, previamente hidrogenado, con un compuesto de fórmula (6) a continuación



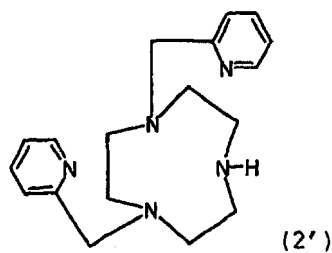
en presencia de una base, para obtener el complejo en el que el grupo galactosilo está en forma protegida, seguido por una desprotección para obtener el complejo de fórmula (Ia-1).

23. Compuesto de fórmula (9)

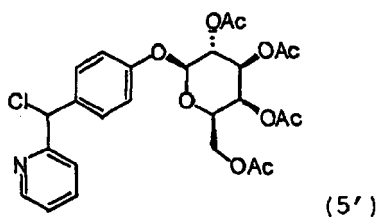


útil como producto intermedio de síntesis.

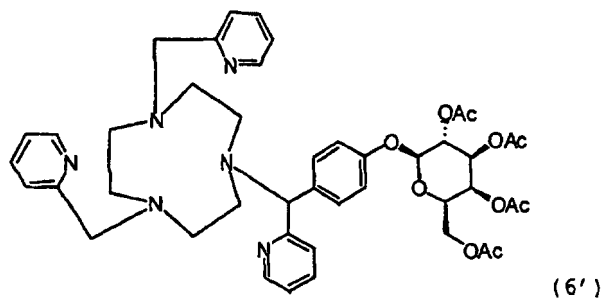
24. Procedimiento de preparación de un complejo de fórmula (Ia-2) en la que  $R^5$  es un grupo  $C_6H_4-O-R^6$ , siendo  $R^6$  un grupo  $\beta$ -galactosilo pentaacetilado y siendo los demás sustituyentes  $R^i$  y  $R^4$  átomos de hidrógeno, **caracterizado** porque comprende una etapa que consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula (2') a continuación



con un compuesto de fórmula (5') a continuación

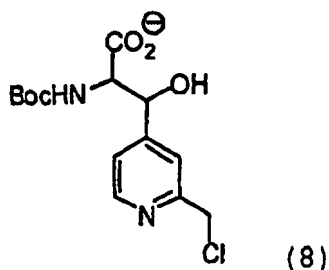


para obtener el compuesto de fórmula (6') a continuación en el que el grupo galactosilo está en forma protegida,



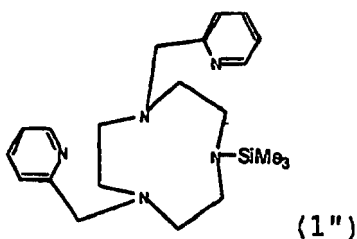
seguido por una etapa de desprotección y por una etapa de tratamiento mediante  $\text{Fe}(\text{BF}_4)_2$  para obtener el complejo de fórmula (Ia-2).

25. Procedimiento de preparación de un complejo de fórmula (Ib) en la que  $\text{R}^5$  es un átomo de hidrógeno y uno de los sustituyentes  $\text{R}^i$  es un grupo  $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{COOH})\text{NH}_2$ , **caracterizado** porque comprende una etapa que consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula (9) según la reivindicación 23, con un compuesto de fórmula (8) a continuación

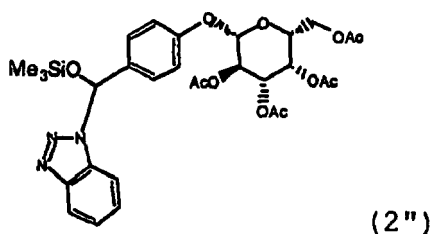


seguido por una etapa de desprotección del grupo amina primaria y por una transformación en un complejo de hierro para obtener el complejo de fórmula (Ib).

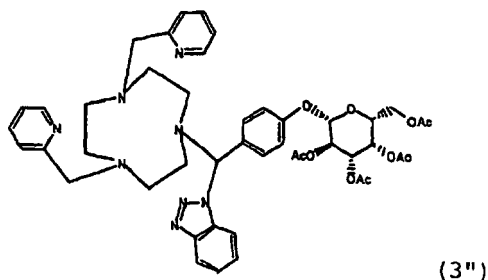
26. Procedimiento de preparación de un complejo de fórmula (II) en la que  $\text{R}^5$  es un grupo  $-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-\beta$ -galactosilo, los dos átomos de nitrógeno y el grupo Z constituyen juntos una unidad de benzotriazol, y  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  y  $\text{R}^4$  representan átomos de hidrógeno, **caracterizado** porque comprende una etapa que consiste en hacer reaccionar un compuesto de fórmula (1'') a continuación



con un compuesto de fórmula (2'') a continuación



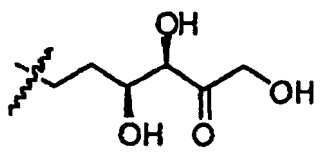
para obtener el compuesto de fórmula (3'') a continuación en el que el grupo galactosilo está en forma protegida,



seguido por una etapa de tratamiento mediante  $\text{Fe}(\text{BF}_4)_2$ , seguido por una etapa de desprotección para obtener el complejo de fórmula (II).

27. Uso según la reivindicación 16, de un agente de contraste que responde a la fórmula (Ia), en la que  $\text{R}^5$  representa un grupo  $-\text{E}-\text{R}^6$  o un grupo  $(\text{C}_6\text{X}_4-\text{Y}-\text{R}^6)$ , representando  $\text{R}^6$  respectivamente un grupo  $\beta$ -galactosilo o un grupo  $\beta$ -glucuronilo, y los grupos E,  $(\text{C}_6\text{X}_4-\text{Y})$ ,  $\text{R}^4$  y  $\text{R}^1$  son tal como se definieron en una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 12, para la preparación de una composición farmacéutica destinada a la determinación de la distribución tisular de  $\beta$ -galactosidasa o de  $\beta$ -glucuronidasa.

28. Uso según la reivindicación 16, de un agente de contraste que responde a la fórmula (Ia), en la que  $\text{R}^5$  representa un grupo  $-\text{E}-\text{R}^6$  o un grupo  $(\text{C}_6\text{X}_4-\text{Y}-\text{R}^6)$ , representando  $\text{R}^6$  un grupo L-leucilo, un grupo  $-\text{COC}_5\text{H}_{11}$ , un grupo de tipo  $\alpha,\beta$ -dihidroxiacetona



un grupo prolilo o un grupo fosforilo, y los grupos E,  $(\text{C}_6\text{X}_4-\text{Y})$ ,  $\text{R}^4$  y  $\text{R}^1$  son tal como se definieron en una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 12, para la preparación de una composición farmacéutica destinada a la determinación de la distribución tisular de aminopeptidasa, de lipasa, de transaldolasa o de fosfatasa.

29. Uso según la reivindicación 16, de un agente de contraste que responde a la fórmula (Ib) según la reivindicación 13 para la preparación de una composición farmacéutica destinada a la determinación de la distribución tisular de L-treonina aldolasa.

30. Método de obtención de imágenes por resonancia magnética de una célula o de un tejido al que se le ha administrado un agente de contraste según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.