

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 992 988**

51 Int. Cl.:

A61K 51/04 (2006.01)

A61M 36/14 (2006.01)

A61K 51/10 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2018** **PCT/US2018/025488**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2018** **WO18183906**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2018** **E 18775715 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2024** **EP 3600452**

54 Título: **Complejos macrocíclicos de radionucleidos emisores alfa y su uso en la radioterapia dirigida del cáncer**

30 Prioridad:

30.03.2017 US 201762478945 P

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

20.12.2024

73 Titular/es:

CORNELL UNIVERSITY (100.0%)
CTL395 Pine Tree Road Suite 310
Ithaca, NY 14850, US

72 Inventor/es:

WILSON, JUSTIN y
THIELE, NIKKI

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 992 988 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Complejos macrocíclicos de radionucleidos emisores alfa y su uso en la radioterapia dirigida del cáncer

5 **DERECHOS DE LICENCIA DEL GOBIERNO DE EE. UU.**

[0001] Esta invención se realizó con el apoyo del gobierno bajo la subvención número UL1TR00457 otorgada por los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

10 **CAMPO**

[0002] La tecnología actual hace referencia generalmente a complejos macrocíclicos de radionucleidos emisores alfa.

15 **RESUMEN**

[0003] La invención se establece en el conjunto adjunto de reivindicaciones.

20 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

[0004]

25 Las figuras 1A y 1B muestran estructuras cristalinas de rayos X de $[\text{La}(\text{Hmacropa})(\text{H}_2\text{O})] \cdot (\text{ClO}_4)_2$ (figura 1A, vista lateral; figura 2B, vista superior). Las figuras 1C y 1D muestran estructuras cristalinas de rayos X de $[\text{Lu}(\text{macropa})] \cdot \text{ClO}_4 \cdot \text{DMF}$ (figura 1C, vista lateral; figura 1D, vista superior). Los elipsoides están dibujados con un nivel de probabilidad del 50 %. Se omiten los contraaniones y los átomos de hidrógeno unidos a los carbonos para mayor claridad.

30 Las figuras 2A-C muestran la biodistribución de $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ (figura 2A), $^{225}\text{Ac}(\text{macropa})^+$ (figura 2B) y $^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})^-$ (figura 2C) para órganos seleccionados después de la inyección intravenosa en ratones. Se sacrificaron ratones adultos C57BL/6 15 min, 1 h o 5 h después de la inyección. Los valores para cada punto temporal se expresan como % medio de $\text{DI/g} \pm 1 \text{ DE}$.

35 **DESCRIPCIÓN DETALLADA**

[0005] Los siguientes términos se utilizan en todo el documento tal y como se define a continuación.

40 [0006] Como se utiliza en este documento y en las reivindicaciones adjuntas, los artículos singulares, como "un" y "una" y "el" o "la" y referentes similares en el contexto de la descripción de los elementos (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) deben interpretarse como que cubren tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente. La mención de rangos de valores en este documento tiene como único fin servir como un método abreviado para hacer referencia individualmente a cada valor separado que se encuentre dentro del rango, a menos que se indique lo contrario en este documento, y cada valor separado se incorpora a la especificación como si se mencionara individualmente aquí. Todos los métodos descritos en este documento se pueden realizar en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario aquí o que el contexto lo contradiga claramente. El uso de todos y cada uno de los ejemplos o el lenguaje ejemplar (por ejemplo, "como") proporcionados en este documento tiene como único fin ilustrar mejor las formas de realización y no supone ninguna limitación del alcance de las reivindicaciones, a menos que se indique lo contrario. Ningún lenguaje en la especificación debería interpretarse como una indicación de que algún elemento no reivindicado es esencial.

50 [0007] Como se utiliza en este documento, "aproximadamente" será entendido por personas con conocimientos ordinarios en la técnica y variará en cierta medida dependiendo del contexto en el que se utilice. Si existen usos del término que no están claros para las personas con conocimientos ordinarios en la materia, dado el contexto en el que se usa, "aproximadamente" significará hasta más o menos el 10 % del término en particular.

60 [0008] Generalmente, la referencia a un elemento determinado, como hidrógeno o H, pretende incluir todos los isótopos de ese elemento. Por ejemplo, si se define que un grupo R incluye hidrógeno o H, también incluye deuterio y tritio. Los compuestos que comprenden radioisótopos, como tritio, C^{14} , P^{32} y S^{35} , se encuentran dentro del alcance de la tecnología actual. Los procedimientos para insertar dichas etiquetas en los compuestos de la tecnología actual serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica basándose en la divulgación aquí contenida.

65 [0009] En general, "sustituido" se refiere a un grupo orgánico, tal y como se define a continuación (por ejemplo, un grupo alquilo) en el que uno o más enlaces a un átomo de hidrógeno contenido(s) en el mismo se reemplaza(n) por un enlace a átomos que no son de hidrógeno o carbono. Los grupos sustituidos también

incluyen grupos en los que uno o más enlaces a un átomo de carbono(s) o hidrógeno(s) se reemplazan por uno o más enlaces, incluidos enlaces dobles o triples, a un heteroátomo. Por lo tanto, un grupo sustituido se sustituye con uno o más sustituyentes, a menos que se especifique lo contrario. En algunas formas de realización, un grupo sustituido se sustituye con 1, 2, 3, 4, 5 o 6 sustituyentes. Los ejemplos de grupos sustituyentes incluyen: halógenos (es decir, F, Cl, Br e I); hidroxilos; grupos alcoxi, alquenoxi, ariloxi, aralquiloxi, heterociclilo, heterociclilalquilo, heterociclioxi y heterociclialcoksi; carbonilos (oxo); carboxilatos; ésteres; uretanos; oximas; hidroxilaminas; alcoxiaminas; aralcoxiaminas; tioles; sulfuros; sulfóxidos; sulfonas; sulfonilos; pentafluorosulfanilo (es decir, SF₅), sulfonamidas; aminas; n-óxidos; hidrazinas; hidrazidas; hidrazonas; azidas; amidas; ureas; amidinas; guanidinas; enaminas; imidas; isocianatos; isotiocianatos; cianatos; tiocianatos; iminas; grupos nitro; nitrilos (es decir, CN); y similares.

[0010] Los grupos de anillos sustituidos, como los grupos cicloalquilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo sustituidos también incluyen anillos y sistemas de anillos en los que un enlace a un átomo de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de carbono. Por lo tanto, los grupos cicloalquilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo sustituidos también se pueden sustituir por grupos alquilo, alquenilo y alquinilo sustituidos o no sustituidos, como se define a continuación.

[0011] Como se utiliza en este documento, C_m-C_n, como C₁-C₁₂, C₁-C₈ o C₁-C₆, cuando se usa antes de un grupo, se refiere a ese grupo que contiene de m a n átomos de carbono.

[0012] Los grupos alquilo incluyen grupos alquilo de cadena lineal y cadena ramificada que tienen de 1 a 12 átomos de carbono, y normalmente de 1 a 10 carbonos o, en algunas formas de realización, de 1 a 8, de 1 a 6, o de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo de cadena lineal incluyen grupos, tales como grupos metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexil, n-heptilo y n-octilo. Los ejemplos de grupos alquilo ramificados incluyen, pero de forma no limitativa, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, neopentilo, isopentilo y 2,2-dimetilpropilo. Los grupos alquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos alquilo sustituidos representativos se pueden sustituir una o más veces con sustituyentes, tales como los enumerados anteriormente, e incluyen, sin limitación, haloalquilo (por ejemplo, trifluorometilo), hidroxialquilo, tioalquilo, aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, alcoxialquilo, carboxialquilo y similares.

[0013] Los grupos cicloalquilo incluyen grupos alquilo mono-, bi- o tricíclicos que tienen de 3 a 12 átomos de carbono en el/los anillo(s), o, en algunas formas de realización, de 3 a 10, de 3 a 8, o de 3 a 4, 5, o 6 átomos de carbono. Los grupos cicloalquilo monocíclicos ejemplares incluyen, pero de forma no limitada, grupos ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. En algunas formas de realización, el grupo cicloalquilo tiene de 3 a 8 miembros de anillos, mientras que en otras formas de realización el número de átomos de carbono de anillos oscila entre 3 y 5, entre 3 y 6 o entre 3 y 7. Los sistemas de anillos bicíclicos y tricíclicos incluyen tanto grupos cicloalquilo puenteados como anillos fusionados, tales como, pero de forma no limitada, biciclo[2,1,1]hexano, adamantilo, decalinilo y similares. Los grupos cicloalquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos cicloalquilo sustituidos pueden ser monosustituidos o sustituidos más veces por grupos que no sean hidrógeno ni carbono, tal y como se ha definido anteriormente. Sin embargo, los grupos cicloalquilo sustituidos también incluyen anillos que se sustituyen con grupos alquilo de cadena lineal o ramificada, tal y como se ha definido anteriormente. Los grupos cicloalquilo sustituidos representativos pueden sustituirse una vez o más de una vez, como, pero de forma no limitada, grupos ciclohexilo 2,2-, 2,3-, 2,4-, 2,5- o 2,6-bisustituidos, que se pueden sustituir con sustituyentes, tales como los enumerados anteriormente.

[0014] Los grupos cicloalquilalquilo son grupos alquilo, tal y como se ha definido anteriormente, en los que un enlace de hidrógeno o carbono de un grupo alquilo se reemplaza por un enlace a un grupo cicloalquilo, tal y como se ha definido anteriormente. En algunas formas de realización, los grupos cicloalquilalquilo tienen de 4 a 16 átomos de carbono, de 4 a 12 átomos de carbono y normalmente de 4 a 10 átomos de carbono. Los grupos cicloalquilalquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos cicloalquilalquilo sustituidos pueden sustituirse en la porción alquilo, cicloalquilo o ambas porciones alquilo y cicloalquilo del grupo. Los grupos cicloalquilalquilo sustituidos representativos pueden ser monosustituidos o sustituirse más de una vez, como, pero de forma no limitada, mono-, bi- o tri-sustituidos con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0015] Los grupos alquenilo incluyen grupos alquilo de cadena recta y ramificada, tal y como se ha definido anteriormente, excepto que exista al menos un enlace doble entre dos átomos de carbono. Los grupos alquenilo tienen de 2 a 12 átomos de carbono y normalmente de 2 a 10 carbonos o, en algunas formas de realización, de 2 a 8, de 2 a 6, o de 2 a 4 átomos de carbono. En algunas formas de realización, el grupo alquenilo tiene uno, dos, o tres enlaces doble carbono-carbono. Los ejemplos incluyen, pero de forma no limitativa, vinilo, alilo, -CH=CH(CH₃), -CH=C(CH₃)₂, -C(CH₃)=CH₂, -C(CH₃)=CH(CH₃), -C(CH₂CH₃)=CH₂, entre otros. Los grupos alquenilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos alquenilo sustituidos representativos pueden ser monosustituidos o sustituidos más de una vez, como, pero de forma no limitada, mono-, bi- o trisustituidos con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0016] Los grupos cicloalquenilo incluyen grupos cicloalquilo, tal y como se ha definido anteriormente, que tienen al menos un enlace doble entre dos átomos de carbono. Los grupos cicloalquenilo pueden ser sustituidos o no

sustituídos. En algunas formas de realización, el grupo cicloalqueno puede tener uno, dos o tres enlaces dobles, pero no incluye compuestos aromáticos. Los grupos cicloalqueno tienen de 4 a 14 átomos de carbono o, en algunas formas de realización, de 5 a 14 átomos de carbono, de 5 a 10 átomos de carbono, o incluso 5, 6, 7, o 8 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos cicloalqueno incluyen ciclohexeno, ciclopenteno, ciclohexadieno, ciclobutadieno y ciclopentadieno.

[0017] Los grupos cicloalquenalquilo son grupos alquilo, tal y como se ha definido anteriormente, en los que un enlace de hidrógeno o carbono del grupo alquilo es reemplazado por un enlace a un grupo cicloalqueno, tal y como se ha definido anteriormente. Los grupos cicloalquenalquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos cicloalquenalquilo sustituidos pueden sustituirse en la porción alquilo, cicloalqueno o en ambas porciones alquilo y cicloalqueno del grupo. Los grupos cicloalquenalquilo sustituidos representativos pueden sustituirse una o más veces con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0018] Los grupos alquino incluyen grupos alquilo de cadena recta y ramificada, tal y como se ha definido anteriormente, excepto que exista al menos un enlace triple entre dos átomos de carbono. Los grupos alquino tienen de 2 a 12 átomos de carbono, y normalmente de 2 a 10 carbonos o, en algunas formas de realización, de 2 a 8, de 2 a 6 o de 2 a 4 átomos de carbono. En algunas formas de realización, el grupo alquino tiene uno, dos o tres enlaces triples carbono-carbono. Los ejemplos incluyen, pero de forma no limitativa - $C\equiv CH$, - $C\equiv CCH_3$, - $CH_2C\equiv CCH_3$, - $C\equiv CCH_2CH(CH_2CH_3)_2$, entre otros. Los grupos alquino pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos alquino sustituidos representativos pueden ser monosustituidos o sustituidos más de una vez, como, pero de forma no limitada, mono-, bi- o trisustituidos con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0019] Los grupos arilo son hidrocarburos aromáticos cíclicos que no contienen heteroátomos. Los grupos arilo en este documento incluyen sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos. Por lo tanto, los grupos arilo incluyen, pero de forma no limitativa, grupos fenilo, azuleno, heptaleno, bifenilo, fluoreno, fenantreno, antraceno, indeno, indano, pentaleno y naftilo. En algunas formas de realización, los grupos arilo contienen 6-14 carbonos, y en otras de 6 a 12 o incluso 6-10 átomos de carbono en las porciones de anillos de los grupos. En algunas formas de realización, los grupos arilo son fenilo o naftilo. Los grupos arilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los términos "grupos arilo" incluyen grupos que contienen anillos fusionados, como sistemas de anillos aromáticos-alifáticos fusionados (por ejemplo, indano, tetrahidronaftilo y similares). Los grupos arilo sustituidos representativos pueden ser monosustituidos o sustituidos más de una vez. Por ejemplo, los grupos arilo monosustituidos incluyen, pero de forma no limitativa, grupos fenilo o naftilo sustituidos en 2, 3, 4, 5 o 6, que pueden sustituirse con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0020] Los grupos aralquilo son grupos alquilo, tal y como se ha definido anteriormente, en los que un enlace de hidrógeno o carbono de un grupo alquilo se reemplaza por un enlace a un grupo arilo, tal y como se ha definido anteriormente. En algunas formas de realización, los grupos aralquilo contienen de 7 a 16 átomos de carbono, de 7 a 14 átomos de carbono o de 7 a 10 átomos de carbono. Los grupos aralquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos aralquilo sustituidos pueden ser sustituidos en las porciones alquilo, arilo o ambas porciones alquilo y arilo del grupo. Los grupos aralquilo representativos incluyen, pero de forma no limitativa, grupos bencilo y fenilo y grupos (cicloalquilalquilo) fusionados, como 4-indanilo. Los grupos aralquilo sustituidos representativos pueden sustituirse una o más veces con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0021] Los grupos heterociclilo incluyen compuestos de anillos aromáticos (también denominados heteroarilo) y no aromáticos que contienen 3 o más miembros de anillos, de los cuales uno o más es un heteroátomo, como, pero sin limitarse a, N, O y S. En algunas formas de realización, el grupo heterociclilo contiene 1, 2, 3 o 4 heteroátomos. En algunas formas de realización, los grupos heterociclilo incluyen anillos mono-, bi- y tricíclicos que tienen de 3 a 16 miembros de anillos, mientras que otros grupos de este tipo tienen de 3 a 6, de 3 a 10, de 3 a 12 o de 3 a 14 miembros de anillos. Los grupos heterociclilo abarcan sistemas de anillos aromáticos, parcialmente insaturados y saturados, tales como, por ejemplo, grupos imidazolilo, imidazolinilo e imidazolidinilo. Los términos "grupo heterociclilo" incluyen especies de anillos fusionados que incluyen aquellas que comprenden grupos aromáticos y no aromáticos fusionados, tales como, por ejemplo, benzotriazolilo, 2,3-dihidrobenzo[1,4]dioxinilo y benzo[1,3]dioxolilo. Los términos también incluyen sistemas de anillos policíclicos puenteados que contienen un heteroátomo, como, pero sin limitarse a, quinudililo. Los grupos heterociclilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos heterociclilo incluyen, pero de forma no limitativa, grupos aziridinilo, azetidínilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, tiazolidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrofuranilo, dioxolilo, furanilo, tiofenilo, pirrolilo, pirrolinilo, imidazolilo, imidazolinilo, pirazolilo, pirazolinilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiazolinilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, oxatiano, dioxilo, ditianilo, piranilo, piridilo, pirimidinilo, piridazinilo, pirazinilo, triazinilo, dihidropiridilo, dihidroditiinilo, dihidroditiinilo, homopiperazinilo, quinudililo, indolilo, indolinilo, isoindolilo, azaindolilo (pirolopiridilo), indazolilo, indolizínilo, benzotriazolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, benzotiazolilo, benzoxadiazolilo, benzoxazinilo, benzoditiinilo, benzoxatiinilo, benzotiazinilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzo[1,3]dioxolilo, pirazolopiridilo, imidazopiridilo (azabencimidazolilo), triazolopiridilo, isoxazolopiridilo, purinilo, xantínilo, adenínilo, guanínilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinolizínilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, naftiridinilo, pteridinilo, tianaftilo,

dihidrobenzotiazinilo, dihidrobenzofuranilo, dihidroindolilo, dihidrobenzodioxinilo, tetrahydroindolilo, tetrahydroindazolilo, tetrahydrobenzimidazolilo, tetrahydrobenzotriazolilo, tetrahidropirrolpiridilo, tetrahidropirazolpiridilo, tetrahydroimidazopiridilo, tetrahydrotriazolpiridilo y tetrahydroquinolinilo. Los grupos heterocíclico sustituidos representativos pueden ser monosustituidos o sustituidos más de una vez, como, pero sin limitarse a, grupos piridilo o morfolinilo, que son 2-, 3-, 4-, 5- o 6-sustituidos, o bisustituidos con varios sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0022] Los grupos heteroarilo son compuestos de anillos aromáticos que contienen 5 o más miembros de anillos, de los cuales, uno o más es un heteroátomo, como, pero sin limitarse a, N, O y S. Los grupos heteroarilo incluyen, pero de forma no limitativa, grupos, tales como grupos pirrolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, tiofenilo, benzotiofenil, furanilo, benzofuranilo, indolilo, azaindolilo (pirrolpiridinilo), indazolilo, bencimidazolilo, imidazopiridinilo (azabencimidazolilo), pirazolopiridinilo, triazolopiridinilo, benzotriazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, imidazopiridinil, isoxazolopiridinilo, tianafilo, purinilo, xantinilo, adeninilo, guaninilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, quinoxalinilo y quinazolinilo. Los grupos heteroarilo incluyen compuestos de anillos fusionados en los que todos los anillos son aromáticos, como los grupos indolilo e incluyen compuestos de anillos fusionados en los que solo uno de los anillos es aromático, como los grupos 2,3-dihidro indolilo. Los grupos heteroarilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Por lo tanto, los términos "grupos heteroarilo" incluyen compuestos de anillos fusionados, así como también grupos heteroarilo que tienen otros grupos unidos a uno de los miembros de anillos, como los grupos alquilo. Los grupos heteroarilo sustituidos representativos pueden sustituirse una o más veces con varios sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0023] Los grupos heterociclilalquilo son grupos alquilo, tal y como se ha definido anteriormente, en los que un enlace de hidrógeno o carbono de un grupo alquilo se reemplaza por un enlace a un grupo heterocíclico, tal y como se ha definido anteriormente. Los grupos heterociclilalquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos heterociclilalquilo sustituidos pueden sustituirse en las porciones alquilo, heterocíclico o en ambas porciones alquilo y heterocíclico del grupo. Los grupos heterociclilalquilo representativos incluyen, pero de forma no limitativa, morfolin-4-il-etilo, furan-2-il-metilo, imidazol-4-il-metilo, piridin-3-il-metilo, tetrahydrofuran-2-il-etilo e indol-2-il-propilo. Los grupos heterociclilalquilo sustituidos representativos pueden sustituirse una o más veces con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0024] Los grupos heteroaralquilo son grupos alquilo, tal y como se ha definido anteriormente, en los que un enlace de hidrógeno o carbono de un grupo alquilo es reemplazado por un enlace a un grupo heteroarilo, tal y como se ha definido anteriormente. Los grupos heteroaralquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos heteroaralquilo sustituidos pueden sustituirse en las porciones alquilo, heteroarilo o en ambas porciones alquilo y heteroarilo del grupo. Los grupos heteroaralquilo sustituidos representativos pueden sustituirse una o más veces con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0025] Los grupos descritos en este documento que tienen dos o más puntos de unión (es decir, bivalentes, trivalentes o polivalentes) dentro del compuesto de la tecnología actual se designan mediante el uso del sufijo, "eno." Por ejemplo, los grupos alquilo bivalentes son grupos alquileno, los grupos arilo bivalentes son grupos arileno, los grupos heteroarilo bivalentes son grupos heteroarileno bivalentes, etcétera. Los grupos sustituidos que tienen un punto único de unión al compuesto de la tecnología actual no se mencionan mediante el uso de la designación "eno". Por lo tanto, por ejemplo, en el presente documento no se hace referencia al cloroetileno como cloroetileno. Dichos grupos también puede ser sustituidos o no sustituidos.

[0026] Los grupos alcoxi son grupos hidroxilo (-OH) en los que el enlace al átomo de hidrógeno se reemplaza por un enlace a un átomo de carbono de un grupo alquilo sustituido o no sustituido, tal y como se ha definido anteriormente. Los ejemplos de grupos alcoxi lineales incluyen, pero de forma no limitativa, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, pentoxi, hexoxi y similares. Los ejemplos de grupos alcoxi ramificados incluyen, pero de forma no limitativa, isopropoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, isopentoxi, isohexoxi y similares. Los ejemplos de grupos cicloalcoxi incluyen, pero de forma no limitativa, ciclopropiloxi, ciclobutiloxi, ciclopentiloxi, ciclohexiloxi y similares. Los grupos alcoxi pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos alcoxi sustituidos representativos pueden sustituirse una o más veces con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0027] Los términos "alcanoil" y "alcanoiloxi", como se utilizan en este documento, pueden referirse, respectivamente, a grupos -C(O)-alquilo y -O-C(O)-alquilo, donde en algunas formas de realización los grupos alcanoilo o alcanoiloxi contienen cada uno de 2 a 5 átomos de carbono. De forma similar, los términos "arililo" y "arililoxi" se refieren respectivamente a grupos -C(O)-arilo y -O-C(O)-arilo.

[0028] Los términos "ariloxi" y "arilalcoxi" se refieren, respectivamente, a un grupo arilo sustituido o no sustituido unido a un átomo de oxígeno y un grupo sustituido o no sustituido de aralquilo unido al átomo de oxígeno en el alquilo. Los ejemplos incluyen, pero de forma no limitativa, fenoxi, naftiloxi y benziloxi. Los grupos ariloxi y arilalcoxi sustituidos representativos pueden sustituirse una o más veces con sustituyentes, como los enumerados anteriormente.

[0029] El término "ácido carboxílico", como se utiliza en este documento, se refiere a un compuesto con un grupo $-C(O)OH$. El término "carboxilato", como se utiliza en este documento, se refiere a un grupo $-C(O)O-$. Un "carboxilato protegido" se refiere a un $-C(O)O-G$, donde G es un grupo protector de carboxilato. Los grupos protectores de carboxilato son bien conocidos por un experto en la técnica. Se puede encontrar una lista extensa de grupos protectores para la funcionalidad del grupo carboxilato en Protective Groups in Organic Synthesis, Greene, T.W.; Wuts, P. G. M., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, (3.^a edición, 1999), que se pueden añadir o eliminar utilizando los procedimientos que se establecen en el mismo.

[0030] El término "éster", como se utiliza en este documento, se refiere a grupos $-COOR^{70}$. R^{70} Es un grupo alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, aralquilo, heterociclilalquilo o heterociclilo sustituido o no sustituido, tal y como se define en este documento.

[0031] El término "amida" (o "amido") incluye grupos C- y N-amida, es decir, grupos $-C(O)NR^{71}R^{72}$ y $-NR^{71}C(O)R^{72}$, respectivamente. R^{71} Y R^{72} son independientemente hidrógeno, o un grupo alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilalquilo o heterociclilo sustituido o no sustituido, tal y como se define en el presente documento. Por lo tanto, los grupos amido incluyen, pero de forma no limitativa, grupos carbamoilo ($-C(O)NH_2$) y grupos formamida ($-NHC(O)H$). En algunas formas de realización, la amida es $-NR^{71}C(O)-(alquilo C_{1-5})$ y el grupo se denomina "carbonilamino" y, en otras, la amida es $-NHC(O)-alquilo$ y el grupo se denomina "alcanoilamino".

[0032] El término "nitrilo" o "ciano", como se utiliza en este documento, se refiere al grupo $-CN$.

[0033] Los grupos uretano incluyen grupos N- y O-uretano, es decir, grupos $-NR^{73}C(O)OR^{74}$ y $-OC(O)NR^{73}R^{74}$, respectivamente. R^{73} Y R^{74} son independientemente un grupo alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilalquilo o heterociclilo sustituido o no sustituido, tal y como se define en este documento. R^{73} también puede ser H.

[0034] El término "amina" (o "amino"), como se usa en este documento, se refiere a grupos $-NR^{75}R^{76}$, donde R^{75} y R^{76} son independientemente hidrógeno, o un grupo alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilalquilo o heterociclilo sustituido o no sustituido, tal y como se define en el presente documento. En algunas formas de realización, la amina es alquilamino, dialquilamino, arilamino o alquilarilamino. En otras formas de realización, la amina es NH_2 , metilamino, dimetilamino, etilamino, dietilamino, propilamino, isopropilamino, fenilamino o benzilamino.

[0035] El término "sulfonamida" incluye grupos S- y N-sulfonamida, es decir, grupos $-SO_2NR^{78}R^{79}$ y $-NR^{78}SO_2R^{79}$, respectivamente. R^{78} Y R^{79} son independientemente hidrógeno, o un grupo alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilalquilo o heterociclilo sustituido o no sustituido, tal y como se define en este documento. Por lo tanto, los grupos sulfonamida incluyen, pero de forma no limitativa, grupos sulfamoilo ($-SO_2NH_2$). En algunas formas de realización del presente documento, la sulfonamida es $-NHSO_2-alquilo$ y se le denomina grupo "alquilsulfonilamino".

[0036] El término "tiol" se refiere a grupos $-SH$, mientras que los sulfuros incluyen grupos $-SR^{80}$, los sulfóxidos incluyen grupos $-S(O)R^{81}$, las sulfonas incluyen grupos $-SO_2R^{82}$ y los sulfonilos incluyen $-SO_2OR^{83}$. R^{80} , R^{81} , R^{82} y R^{83} son cada uno independientemente un grupo alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, aralquilo, heterociclilo o heterociclilalquilo sustituido o no sustituido, como se define en este documento. En algunas formas de realización, el sulfuro es un grupo alquiltio, $-S-alquilo$.

[0037] El término "urea" se refiere a grupos $-NR^{84}-C(O)-NR^{85}R^{86}$. Los grupos R^{84} , R^{85} y R^{86} son independientemente hidrógeno o un grupo alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo o heterociclilalquilo sustituido o no sustituido, como se define en este documento.

[0038] El término "amidina" se refiere a $-C(NR^{87})NR^{88}R^{89}$ y $-NR^{87}C(NR^{88})R^{89}$, donde R^{87} , R^{88} y R^{89} son cada uno independientemente hidrógeno, o un grupo alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, aralquilo, heterociclilo o heterociclilalquilo sustituido o no sustituido, como se define en este documento.

[0039] El término "guanidina" se refiere a $-NR^{90}C(NR^{91})NR^{92}R^{93}$, donde R^{90} , R^{91} , R^{92} y R^{93} son cada uno independientemente hidrógeno, o un grupo alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, aralquilo, heterociclilo o heterociclilalquilo sustituido o no sustituido, como se define en este documento.

[0040] El término "enamina" se refiere a $-C(R^{94})=C(R^{95})NR^{96}R^{97}$ y $-NR^{94}C(R^{95})=C(R^{96})R^{97}$, donde R^{94} , R^{95} , R^{96} y R^{97} son cada uno independientemente hidrógeno, un grupo alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, arilo, aralquilo, heterociclilo o heterociclilalquilo sustituido o no sustituido, como se define en este documento.

[0041] El término "halógeno" o "halo", como se utiliza en este documento, se refiere a bromo, cloro, flúor o yodo. En algunas formas de realización, el halógeno es flúor. En otras formas de realización, el halógeno es cloro o bromo.

[0042] El término "hidroxilo", como se utiliza en este documento, puede referirse a -OH o su forma ionizada, -O-.

[0043] El término "imida" se refiere a $-C(O)NR^{98}C(O)R^{99}$, donde R^{98} y R^{99} son cada uno independientemente hidrógeno, o un grupo alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, heterociclilo o heterociclilalquilo sustituido o no sustituido, como se define en este documento.

[0044] El término "imina" se refiere a grupos- $CR^{100}(NR^{101})$ y $-N(CR^{100}R^{101})$, donde R^{100} y R^{101} son cada uno independientemente hidrógeno o un grupo alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, heterociclilo o heterociclilalquilo sustituido o no sustituido, como se define en este documento, con la condición de que R^{100} y R^{101} no sean ambos simultáneamente hidrógeno.

[0045] El término "nitro", como se utiliza en este documento, se refiere a un grupo $-NO_2$.

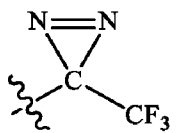
[0046] El término "trifluorometilo", como se utiliza en este documento, se refiere a $-CF_3$.

[0047] El término "trifluorometoxi", como se utiliza en este documento, se refiere a $-OCF_3$.

[0048] El término "azido" se refiere a $-N_3$.

[0049] El término "trialquil amonio" se refiere a un grupo $-N(\text{alquil})_3$. Un grupo trialquilamonio está cargado positivamente y, por lo tanto, tiene normalmente un anión asociado, como un anión halógeno.

[0050] El término "trifluorometildiazirido" se refiere a



[0051] El término "isociano" se refiere a $-NC$.

[0052] El término "isotiociano" se refiere a $-NCS$.

[0053] El término "pentafluorosulfanilo" se refiere a $-SF_5$.

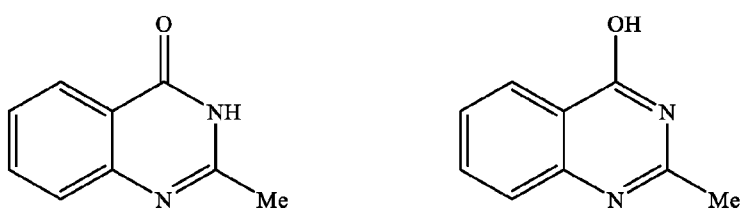
[0054] Como entenderá un experto en la técnica, para cualquier propósito, particularmente en términos de proporcionar una descripción escrita, todos los rangos divulgados en este documento también abarcan todos y cada uno de los subrangos posibles y combinaciones de subrangos de los mismos. Cualquier rango enumerado puede reconocerse fácilmente como suficientemente descriptivo y que permite que el mismo rango se descomponga en al menos mitades, tercios, cuartos, quintos, décimos, etc. iguales. Como ejemplo no limitativo, cada rango analizado en el presente documento se puede desglosar fácilmente en un tercio inferior, un tercio medio y un tercio superior, etc. Como también entenderá un experto en la técnica, todos los términos, como "hasta", "al menos", "mayor que", "menor que" y similares, incluyen el número mencionado y se refieren a rangos que pueden desglosarse posteriormente en subrangos, como se ha explicado anteriormente. Finalmente, como entenderá un experto en la técnica, un rango incluye cada miembro individual. Por lo tanto, por ejemplo, un grupo que tiene 1-3 átomos se refiere a grupos que tienen 1, 2 o 3 átomos. De forma similar, un grupo con 1-5 átomos se refiere a grupos que tienen 1, 2, 3, 4 o 5 átomos, y así sucesivamente.

[0055] Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en este documento se encuentran dentro del alcance de la tecnología actual e incluyen sales de ácidos o bases que conservan la actividad farmacológica deseada y no son biológicamente indeseables (por ejemplo, la sal no es excesivamente tóxica, alergénica o irritante y es biodisponible). Cuando el compuesto de la tecnología actual tiene un grupo básico, como, por ejemplo, un grupo amino, se pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos (como ácido clorhídrico, ácido hidrobórico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico), ácidos orgánicos (por ejemplo, alginato, ácido fórmico, ácido acético, ácido benzoico, ácido glucónico, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftalenosulfónico y ácido p-toluenosulfónico) o aminoácidos (tales como ácido aspártico y ácido glutámico). Cuando el compuesto de la tecnología actual tiene un grupo ácido, como, por ejemplo, un grupo ácido carboxílico, puede formar sales con metales, como metales alcalinos y alcalinotérreos (por ejemplo, Na^+ , Li^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}), amoníaco o aminas orgánicas (por ejemplo, diciclohexilamina, trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina) o aminoácidos básicos (por ejemplo, arginina, lisina y omitina). Dichas sales se puede preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación de los compuestos o haciendo reaccionar por separado el compuesto

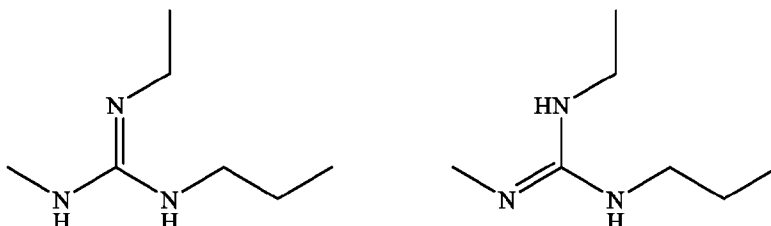
purificado en su forma de base libre o ácido libre con un ácido o base adecuados, respectivamente, y aislando la sal formada de esta manera.

[0056] Los expertos en la técnica apreciarán que los compuestos de la tecnología actual pueden presentar los fenómenos de tautomería, isomería conformacional, isomería geométrica y/o estereoisomería. Como los dibujos de fórmulas dentro de la especificación y las reivindicaciones pueden representar solo una de las posibles formas tautoméricas, isoméricas conformacionales, estereoquímicas o isoméricas geométricas, debe entenderse que la tecnología actual abarca cualquier forma tautomérica, isomérica conformacional, estereoquímica y/o isomérica geométrica de los compuestos que tienen una o más de las utilidades descritas en este documento, así como mezclas de estas diversas formas diferentes.

[0057] "Tautómeros" se refiere a formas isoméricas de un compuesto que están en equilibrio entre sí. La presencia y las concentraciones de las formas isoméricas dependerán del entorno en el que se encuentre el compuesto y pueden ser diferentes dependiendo, por ejemplo, de si el compuesto es un sólido o se encuentra en una solución orgánica o acuosa. Por ejemplo, en solución acuosa, las quinazolinonas pueden presentar las siguientes formas isoméricas, que se denominan tautómeros entre sí:



Como otro ejemplo, las guanidinas pueden presentar las siguientes formas isoméricas en solución orgánica prótica, también denominadas tautómeros entre sí:



[0058] Debido a los límites de la representación de compuestos mediante fórmulas estructurales, se debe entender que todas las fórmulas químicas de los compuestos descritas en este documento representan todas las formas tautoméricas de compuestos y están dentro del alcance de la tecnología actual.

[0059] Los estereoisómeros de compuestos (también conocidos como isómeros ópticos) incluyen todas las formas quirales, diastereoméricas y racémicas de una estructura, a menos que se indique expresamente la estereoquímica específica. Por lo tanto, los compuestos usados en la tecnología actual incluyen isómeros ópticos enriquecidos o resueltos en cualquiera o todos los átomos asimétricos, como se desprende de las representaciones. Tanto las mezclas racémicas como las diastereoméricas, así como los isómeros ópticos individuales, se pueden aislar o sintetizar para que estén sustancialmente libres de sus parejas enantioméricas o diastereoméricas, y todos estos estereoisómeros están dentro del alcance de la tecnología actual.

[0060] Los compuestos de la tecnología actual pueden existir como solvatos, especialmente hidratos. Los hidratos pueden formarse durante la fabricación de los compuestos o las composiciones que comprenden los compuestos, o los hidratos pueden formarse a lo largo del tiempo debido a la naturaleza higroscópica de los compuestos. Los compuestos de la tecnología actual también pueden existir como solvatos orgánicos, incluidos solvatos de DMF, éter y alcohol, entre otros. La identificación y preparación de cualquier solvato en particular está dentro de las habilidades del artesano común de la química sintética orgánica o medicinal.

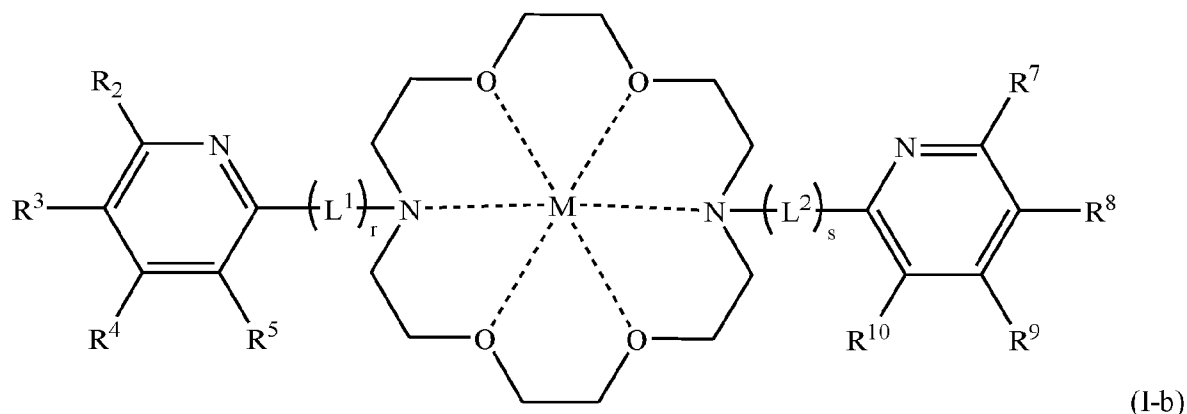
La tecnología actual

[0061] Aunque la radioterapia dirigida se ha practicado durante algún tiempo utilizando complejos macrocíclicos de radionucleidos, los macrociclos actualmente en uso (por ejemplo, DOTA) forman generalmente complejos de estabilidad insuficiente con los radionucleidos, particularmente para radionucleidos de tamaño mayor, como isótopos de actinio, radio, bismuto y plomo. Dicha inestabilidad da como resultado la disociación del radionucleido del macrociclo, lo que da como resultado una falta de selectividad para el tejido diana, lo que también produce toxicidad para el tejido no diana. Jensen *et al.* (DOI: 10.1021/ic500244p) divulgan complejos

acuosos para la separación basada en el tamaño de americio del curio. Wilson *et al.* (DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2014.12.007) divulgan ligandos macrocíclicos ricos en nitrógeno para la quelación de radioisótopos terapéuticos de bismuto. Deal *et al.* (DOI: 10.1021/JM990141F) describen complejos macrocíclicos de actinio-225. Wilbur (DOI: 10.2174/1874471011104030214) divulga consideraciones químicas y radioquímicas en el radiomarcado de radionucleidos emisores [alfa]. Price *et al.* (DOI: 10.1039/C3CS60304K) describe quelantes y radiometales para radiofármacos.

[0062] La tecnología actual proporciona nuevos complejos macrocíclicos que son sustancialmente más estables que los de la técnica convencional. Por lo tanto, estos nuevos complejos pueden dirigirse ventajosamente a las células cancerosas de manera más efectiva, con una toxicidad sustancialmente menor para el tejido no diana que los complejos de la técnica. Además, los nuevos complejos se pueden producir ventajosamente a temperatura ambiente, en contraste con los complejos de tipo DOTA, que en general requieren temperaturas elevadas (por ejemplo, al menos 80 °C) para la formación de complejos con el radionucleido. La tecnología actual también emplea específicamente radionucleidos emisores alfa en vez de radionucleidos beta. Los radionucleidos emisores alfa tienen una energía mucho mayor y, por lo tanto, son sustancialmente más potentes que los radionucleidos emisores beta.

[0063] Por lo tanto, en un aspecto, se proporciona una composición de fórmula I-b:



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, donde

M es un radionucleido emisor alfa seleccionado preferiblemente de entre actinio-225 ($^{225}\text{Ac}^{3+}$), radio-223 ($^{223}\text{Ra}^{2+}$), bismuto-213 ($^{213}\text{Bi}^{3+}$), plomo-212 ($^{212}\text{Pb}^{2+}$ y/o $^{212}\text{Pb}^{4+}$), terbio-149 ($^{149}\text{Tb}^{3+}$), fermio-255 ($^{255}\text{Fm}^{3+}$), torio-227 ($^{227}\text{Th}^{4+}$), torio-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), astato-211 ($^{211}\text{At}^{+}$), astato-217 ($^{217}\text{At}^{+}$) y uranio-230;

R^2 y R^7 son $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$;

R^9 es NCS o NH_2 ;

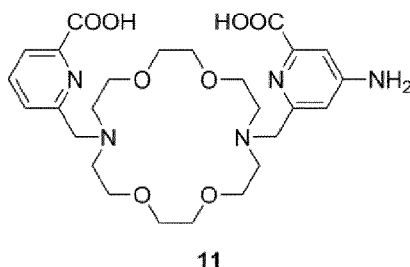
R^3 , R^4 , R^5 , R^8 y R^{10} son cada uno H;

L^1 y L^2 son cada uno $-(\text{CH}_2)_p-$, donde p es un valor de 1;

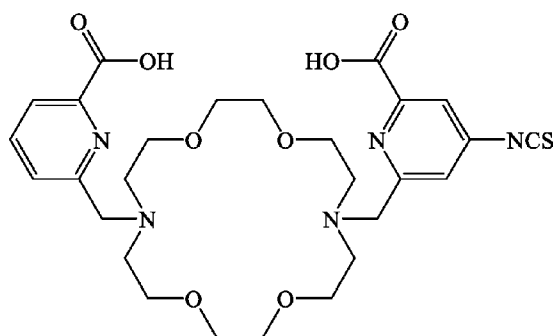
r es 1; y

s es 1.

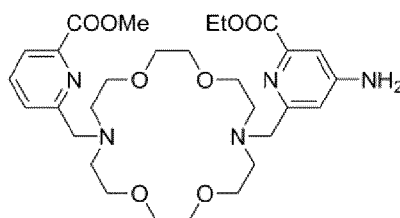
También se proporciona un compuesto que tiene la fórmula 11:



También se proporciona un compuesto que tiene la fórmula macropa-NCS:

**macropa-NCS**

También se proporciona un compuesto que tiene la fórmula 10:

**10**

[0064] Los ejemplos que se incluyen en el presente documento se proporcionan para ilustrar las ventajas de la tecnología actual y para ayudar a una persona con conocimiento en la técnica a preparar o utilizar los compuestos de la tecnología actual o sales, composiciones farmacéuticas, derivados, profármacos o formas tautoméricas de los mismos. Los ejemplos que se incluyen en el presente documento también se presentan con el fin de ilustrar de forma más completa los aspectos preferidos de la tecnología actual. Los ejemplos no deberían interpretarse de ninguna manera como limitantes del alcance de la tecnología actual, tal y como se define por las reivindicaciones adjuntas. Los ejemplos pueden incluir o incorporar cualquiera de las variaciones, los aspectos o las formas de realización de la tecnología actual anteriormente descrita. Las variaciones, los aspectos o las formas de realización anteriormente descritos también pueden incluir o incorporar las variaciones de cualquiera o todas las demás variaciones, los aspectos o las formas de realización de la tecnología actual.

EJEMPLOS

Procedimientos sintéticos ejemplares y caracterización

[0065] **Materiales e instrumentación.** Todos los solventes y reactivos, a menos que se indique lo contrario, se adquirieron de fuentes comerciales y se utilizaron como se recibieron sin purificación adicional. Los solventes marcados como "secos" se obtuvieron después del almacenamiento sobre tamices moleculares de 3 Å. Las sales metálicas se adquirieron en Strem Chemicals (Newburyport, MA) y eran de la mayor pureza disponible; $\text{Lu}(\text{ClO}_4)_3$ se proporcionó como una solución acuosa que contenía 15,1 % en peso de Lu. El ligando bifuncional *p*-SCN-Bn-DOTA se adquirió de Macrocyclics (Plano, TX). El NMe_4OH se adquirió como una solución al 25 % en peso en H_2O (base de metales traza, Beantown Chemical, Hudson, NH). El ácido clorhídrico (BDH Aristar Plus, VWR, Radnor, PA) y el ácido nítrico (Optima, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) eran de grado de metales traza. Tanto el Chelex 100 (forma sódica, malla 50-100) como el suero humano usados para los ensayos de provocación con complejo de ^{225}Ac se adquirieron en Sigma Aldrich (St. Louis, MO). El agua desionizada ($\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) se preparó *in situ* usando cualquier sistema de purificación de agua Millipore Direct-Q® 3UV o Elga Purelab Flex 2.

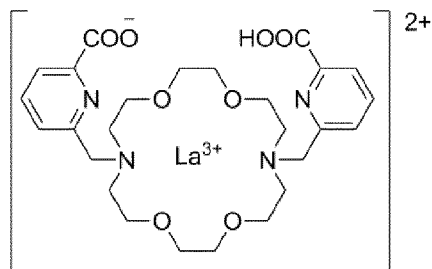
[0066] Las reacciones se controlaron mediante cromatografía de capa fina (TLC, gel de sílice con respaldo de aluminio Whatman UV254). El sistema HPLC usado para el análisis y la purificación de los compuestos consistió en un módulo de bus de comunicaciones CBM-20A, una bomba LC-20AP (preparativa) o LC-20AT (analítica) y un detector de UV/Vis SPD-20AV que controla a 270 nm (Shimadzu, Japón). La cromatografía analítica se llevó a cabo usando una columna Ultra Aqueous C18, 100 Å, 5 μm , 250 mm $\times$ 4,6 mm (Restek, Bellefonte, PA) a un caudal de 1,0 ml/min, a menos que se indique lo contrario. La purificación se realizó con una columna preparatoria Epic Polar, 120 Å, 10 μm , 25 cm $\times$ 20 mm (ES Industries, West Berlin, NJ) a un caudal de 14 ml/min, a menos que se indique lo contrario. Se emplearon métodos de HPLC de gradiente utilizando una fase móvil binaria que contenía H_2O (A) y MeOH (B) o ACN (C). Método A de HPLC: 10 % B (0-5 min), 10-100 % B (5-25

min). Método B: 10 % C (0-5 min), 10-100 % C (5-25 min). Método C: 10 % C (0-5 min), 10-100 % C (5-40 min). Método D: 10 % C (0-5 min), 10-100 % C (5-20 min). Los sistemas de solventes contenían ácido trifluoroacético (TFA) al 0,1 %, excepto en el método C, en el que se utilizó TFA al 0,2 %. Los espectros de RMN se registraron a temperatura ambiente en espectrómetros Varian Inova de 300 MHz, 400 MHz, 500 MHz o 600 MHz, o en un espectrómetro Bruker AV III HD de 500 MHz equipado con una criosonda Prodigy de banda ancha. Los desplazamientos químicos se constatan en ppm. Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se referenciaron al estándar interno de TMS (0 ppm), al pico de solvente residual o a un estándar interno de acetonitrilo (2,06 ppm en espectros de D_2O). Los espectros de RMN de ^{19}F se referenciaron a un estándar interno de monofluorobenceno (-113,15 ppm). La división de las resonancias de protones en los espectros de ^1H constatados se define como: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuarteto, m = multiplete, dt = doblete de tripletes, td = triplete de dobletes y br = ancho. La espectroscopia IR se realizó en un pellet de muestra de KBr utilizando un Nicolet Avatar 370 DTGS (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA). Los espectros de masas de alta resolución (HRMS, por sus siglas en inglés) se registraron en un espectrómetro de masas Exactive Orbitrap en modo ESI positivo (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA). Los espectros UV/visibles se registraron en un Cary 8454 UV-Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) utilizando cubetas de cuarzo de 1 cm, a menos que se indique lo contrario. El análisis elemental (EA) fue realizado por Atlantic Microlab, Inc. (Norcross, GA).

[0067] **Síntesis y caracterización de complejos de macropa, macropa-NCS y macropa-NHC(S)NHCH₃.** El *N,N'*-bis[(6-carboxi-2-piridil)metil]-4,13-diaza-18-corona-6 ($\text{H}_2\text{macropa} \cdot 2\text{HCl} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)^[102,103] se preparó utilizando 1,7,10,16-tetraoxa-4,13-diazaciclooctadecano (7) que se adquirió a EMD Millipore (Darmstadt, Alemania) o se sintetizó a través de protocolos de la bibliografía.^[104] El ácido quelidámico monohidrato (1) se adquirió a TCI America (Portland, OR). Se prepararon 4-cloropiridina-2,6-dicarboxilato de dimetilo (2),^[105] 4-azidopiridina-2,6-dicarboxilato de dimetilo (3),^[106] y éster metílico del ácido 6-clorometilpiridina-2-carboxílico (8),^[102] mediante los protocolos indicados en la bibliografía.

Preparación de $[\text{La}(\text{macropa})]^{2+}$ (compuesto de referencia).

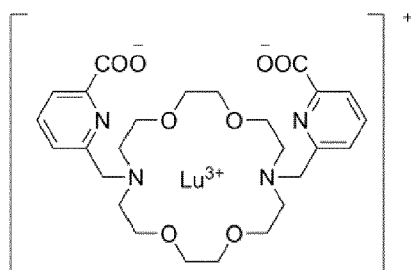
[0068]



A una suspensión de $\text{H}_2\text{macropa} \cdot 2\text{HCl} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,0233 g, 0,034 mmol) en 2-propanol (0,6 ml) se le añadió trietilamina (20 μl , 0,143 mmol). La solución de color dorado claro se calentó a reflujo durante 25 min antes de añadir gota a gota una solución de $\text{La}(\text{ClO}_4)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,0209 g, 0,038 mmol) en 2-propanol (0,5 ml). Inmediatamente se formó un precipitado. La suspensión en crema se agitó a reflujo durante 1,5 h más antes de enfriarla y centrifugarla. Se eliminó el sobrenadante y el pellet se lavó con 2-propanol ($2 \times 1 \text{ ml}$) y luego se secó al aire sobre papel de filtro para proporcionar el complejo de título como un sólido de color tostado claro (0,0177 g) que contenía 0,64 equiv de 2-propanol. RMN de ^1H (500 MHz, D_2O , pD 9) δ = 7,87 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 7,54 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,39 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 5,21 (d, J = 15,7 Hz, 2H), 4,44 (t, J = 11,6 Hz, 2H), 4,09 (t, J = 11,2 Hz, 4H), 4,01 (t, J = 10,4 Hz, 2H), 3,74 (d, J = 9,9 Hz, 2H), 3,65-3,60 (m, 4H), 3,58-3,47 (m, 4H), 3,44 (d, J = 10,8 Hz, 2H), 2,75 (td, J = 13,1, 2,7 Hz, 2H), 2,56 (d, J = 13,9 Hz, 2H), 2,38 (d, J = 14,0 Hz, 2H). RMN APT de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (126 MHz, D_2O , pD $\approx$ 9) δ = 172,62, 158,70, 150,19, 140,94, 126,89, 122,32, 71,88, 70,12, 69,20, 68,05, 60,14, 8, 54,01. AE encontrado: C, 35,16; H, 4,73; N, 5,91. Cálculo para $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{LaN}_4\text{O}_8 \cdot 2\text{ClO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 0,64\text{iPrOH}$: C, 35,53; H, 4,71; N, 5,94. IR (cm^{-1}): 3443, 2913, 1630, 1596, 1461, 1370, 1265, 1083, 948, 839, 770, 678, 617, 513. t_R de HPLC = 18,104 min (método A). HRMS (m/z): 669,14289, 335,07519; Cálculo para $[\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{LaN}_4\text{O}_8]^+$ y $[\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{LaN}_4\text{O}_8]^{2+}$, respectivamente: 669,14346, 335,07537.

Preparación de $[\text{Lu}(\text{macropa})]^+$ (compuesto de referencia).

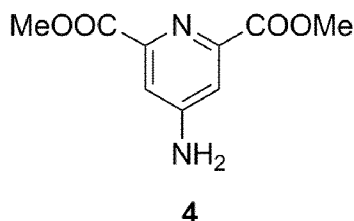
[0069]



A una suspensión de H₂macropa-2HCl-4H₂O (0,0730 g, 0,108 mmol) en 2-propanol (2 ml) se le añadió trietilamina (61,5 µl, 0,441 mmol). La solución de color dorado claro se calentó a reflujo durante 25 min antes de añadir gota a gota una solución acuosa de Lu(ClO₄)₃ (0,1372 g, 0,118 mmol de Lu) en 2-propanol (1,8 ml). Inmediatamente se formó un precipitado. Después de agitar a reflujo o durante 1 h más, la suspensión en crema se trituró a TA durante 20 h y luego se centrifugó. Se eliminó el sobrenadante y el pellet se lavó con 2-propanol (2 × 2 ml) y luego se secó al aire sobre papel de filtro para proporcionar el complejo del título como un sólido de color tostado claro (0,0605 g) que contenía 2-propanol residual y sal de trietilamina. RMN de ¹H (600 MHz, D₂O, pD ≈ 7-8) δ = 7,85 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 7,52 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,37 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 4,68 (d, J = 16,3 Hz, 2H), 4,56 (td, J = 11,2, 1,7 Hz, 2H), 4,42-4,38 (m, 2H), 4,23-4,19 (m, 6H), 4,07 (d, J = 16,3 Hz, 2H), 3,96-3,87 (m, 2H), 3,71-3,63 (m, 4H), 3,38 (td, J = 10,0, 4,7 Hz, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,93 (d, J = 13,1 Hz, 2H), 2,52 (dt, J = 14,8, 4,5 Hz, 2H). RMN APT de ¹³C{¹H} (126 MHz, D₂O, pD ≈ 7-8) δ = 172,13, 158,67, 148,98, 141,81, 127,38, 122,83, 75,33, 73,12, 71,97, 71,70, 64,65, 57,37, 55,08. IR (cm⁻¹): 3400, 1639, 1396, 1274, 1091, 913, 770, 678, 622. t_R de HPLC = no estable (método A). HRMS (m/z): 705,17772; cálc. para [C₂₆H₃₄LuN₄O₈]⁺: 705,17788.

Preparación de 4-aminopiridina-2,6-dicarboxilato de dimetilo (4).

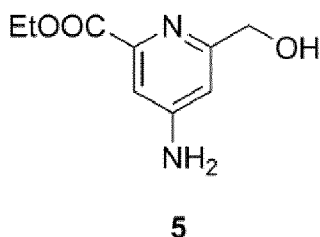
[0070]



Se combinaron 4-azidopiridina-2,6-dicarboxilato de dimetilo (**3**, 0,9445 g, 4,0 mmol), Pd/C al 10 % (0,1419 g) y DCM:MeOH (1:1, 18 ml) en un matraz de fondo redondo. Después de purgar el matraz con un balón de H₂, la reacción se agitó enérgicamente a temperatura ambiente bajo una atmósfera de H₂ durante 46 h. La mezcla gris se diluyó con DMF (450 ml) y se filtró a través de un lecho de Celite. Tras una filtración posterior a través de una membrana de nailon de 0,22 µm, el filtrado se concentró a 60 °C a presión reducida y se secó al vacío para obtener **4** en forma de un sólido de color tostado claro (0,824 g, rendimiento del 98 %). RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,36 (s, 2 H), 6,72 (s, 2 H), 3,84 (s, 6 H). RMN APT de ¹³C{¹H} (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 165,51, 156,24, 148,05, 111,99, 52,29. IR (cm⁻¹): 3409, 3339, 3230, 1726, 1639, 1591, 1443, 1265, 996, 939, 787, 630, 543. t_R de HPLC = 9,369 min (método B). HRMS (m/z): 211,07213 [M + H]⁺; Cálculo: 211,07133.

Preparación de 4-amino-6-(hidroximetil)picolinato de etilo (5).

[0071]

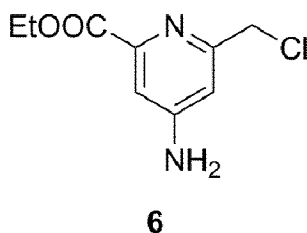


A una suspensión a reflujo de **4** (0,677 g, 3,22 mmol) en EtOH absoluto (27 ml) se le añadió NaBH₄ (0,1745 g, 4,61 mmol) en porciones durante 1 h para proporcionar una suspensión de color amarillo claro. La reacción se enfrió luego con acetona (32 ml) y se concentró a 60 °C bajo presión reducida hasta obtener un sólido de color

tostado. El producto bruto se disolvió en H₂O (60 ml) y se lavó con acetato de etilo (4 × 150 ml). Los orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a 40 °C a presión reducida. Un secado posterior al vacío produjo **5** como un sólido de color amarillo claro (0,310 g, rendimiento del 49 %). RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,07 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,78 (m, 1H), 6,32 (s, 2H), 5,30 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 4,39 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), 4,26 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,28 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H). RMN APT de ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 165,57, 162,38, 155,68, 147,25, 108,50, 107,01, 63,95, 60,61, 14,24. IR (cm⁻¹): 3439, 3217, 2974, 2917, 1717, 1643, 1600, 1465, 1396, 1378, 1239, 1135, 1022, 974, 865, 783. t_R de HPLC = 8,461 min (método B). HRMS (*m/z*): 197,09288 [M + H]⁺; Cál.: 197,09207.

Preparación de 4-amino-6-(clorometil)picolinato de etilo (**6**).

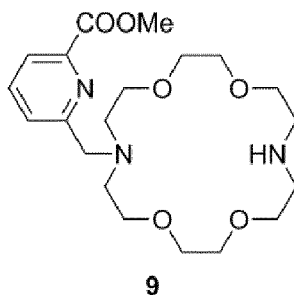
[0072]



Una mezcla de cloruro de tionilo (2,5 ml) y **5** (0,301 g, 1,53 mmol) se agitó en un baño de hielo durante 1 h y, a continuación, a TA durante 30 min. La emulsión de color amarillo anaranjado se concentró a 40 °C a presión reducida hasta obtener un residuo oleoso. El residuo se neutralizó con NaHCO₃ acuoso saturado (12 ml) y luego se extrajo con acetato de etilo (75 ml). El extracto orgánico se lavó con H₂O (2 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a 40 °C a presión reducida. Un secado posterior al vacío proporcionó **6** como una cera ámbar (0,287 g, rendimiento del 80 %, corregido para acetato de etilo residual). RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7,18 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,78 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 6,62 (br s, 2H), 4,62 (s, 2H), 4,29 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,30 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H). RMN APT de ¹³C{¹H} (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 164,75, 156,42, 156,19, 147,17, 109,79, 109,50, 60,97, 46,47, 14,15. IR (cm⁻¹): 3452, 3322, 3209, 2978, 2922, 1726, 1639, 1604, 1513, 1465, 1378, 1248, 1126, 1026, 983, 861, 783, 752, 700. t_R de HPLC = 12,364 min (método B). HRMS (*m/z*): 215,05903 [M + H]⁺; Cál.: 215,05818.

Preparación de 6-((1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil)picolinato de metilo (9·2TFA·1H₂O).

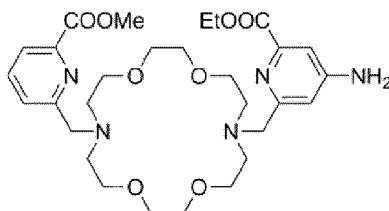
[0073]



A una solución transparente e incolora de 1,7,10,16-tetraoxa-4,13-diazaciclooctadecano (**7**, 1,9688 g, 7,5 mmol) y diisopropiletilamina (0,8354 g, 6,5 mmol) en ACN seco (1,075 l) a 75 °C se añadió gota a gota una solución de **6** (0,9255 g, 5,0 mmol) en ACN seco (125 ml) durante 2 h 40 min. A continuación, el matraz se equipó con un condensador y un tubo de secado y la solución ligeramente amarilla se calentó en reflujo durante 42 h. Posteriormente, la solución de color dorado oscuro que contenía un precipitado blanco fino se concentró a 60 °C a presión reducida hasta obtener un aceite ámbar. Al aceite crudo se le añadió MeOH/H₂O al 10 % que contenía TFA al 0,1 % (10 ml). La suspensión ligera se filtró y el filtrado se purificó mediante HPLC preparativa (método A). Las fracciones puras se combinaron, se concentraron a 60 °C a presión reducida y luego se liofilizaron para proporcionar **9** (1,6350 g, rendimiento del 50 %) como un sólido de color naranja claro. RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8,75 (br s, 2H), 8,17-8,06 (m, 2H), 7,83 (dd, *J* = 7,4, 1,5 Hz, 1H), 4,68 (br s, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,85 (br t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,69 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 3,59 (br s, 8H), 3,50 (br s, 4H), 3,23 (br t, *J* = 5,1 Hz, 4H). RMN APT de ¹³C{¹H} (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 164,68, 158,78-157,98 (q, TFA), 151,44, 147,13, 139,01, 128,63, 124,87, 120,08-113,01 (q, TFA), 69,33, 69,00, 65,31, 64,60, 56,43, 53,29, 52,67, 46,32. RMN de ¹⁹F (470 MHz, DMSO-*d*₆) δ = -73,84. AE encontrado: C, 43,88; H, 5,29; N, 6,28. Cál.: para C₂₀H₃₃N₃O₆·2CF₃COOH·1H₂O: C, 43,84; H, 5,67; N, 6,39. t_R de HPLC = 12,372 min (método B). HRMS (*m/z*): 412,24568 [M + H]⁺; Cál.: 412,24421.

Preparación de 4-amino-6-((16-((6-(metoxycarbonil)piridin-2-il)metil)-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil)picolinato de etilo (10).

[0074]

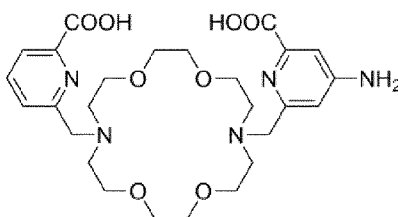


10

En un matraz de fondo redondo equipado con un condensador y un tubo de secado se añadieron 9 (0,4210 g, 0,64 mmol), Na_2CO_3 (0,3400 g, 3,2 mmol) y ACN seco (10 ml). La suspensión de color amarillo claro se calentó a reflujo durante 15 min, después de lo cual se añadió 6 (0,1508 g, 0,70 mmol, corregido para acetato de etilo residual) como una ligera suspensión en ACN seco (3,5 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 44 h y luego se filtró. El filtrado naranja se concentró a 60 °C a presión reducida hasta obtener un aceite de color marrón anaranjado (0,612 g), que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. HRMS (m/z): 590,32021 [$M + H$]⁺; Cál.: 590,31844.

Preparación de ácido 4-amino-6-((16-((6-carboxipiridin-2-il)metil)-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil)picolínico (11·4TFA).

[0075]

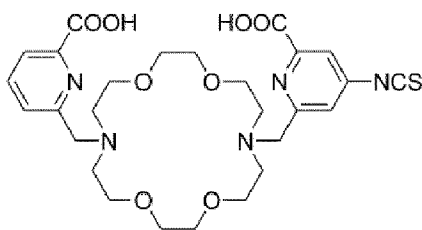


11

El compuesto 10 (0,612 g) se disolvió en HCl 6 M (7 ml) y se calentó a 90 °C durante 17 h. La solución de color marrón anaranjado que contenía un ligero precipitado se concentró a 60 °C a presión reducida hasta obtener un sólido de color tostado claro. A este sólido se le añadió MeOH/ H_2O al 10 % que contenía TFA al 0,1% (3 ml). La suspensión ligera se filtró y el filtrado se purificó mediante HPLC preparativa usando el método A. Las fracciones puras se combinaron, se concentraron a 60 °C a presión reducida y luego se liofilizaron para proporcionar 11 como un sólido blanquecino (0,2974 g, rendimiento del 46 % en 2 pasos). RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 8,13-8,08 (m, 2H), 7,80 (dd, J = 7,3, 1,6 Hz, 1H), 7,64 (br s), 7,24 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 4,74 (s, 2H), 4,15 (s, 2H), 3,85 (t, J = 5,0 Hz, 4H), 3,63 (t, J = 5,1 Hz, 4H), 3,57-3,50 (m, 12H), 3,09 (br t, J = 5,2 Hz, 4H). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 165,96, 163,37, 159,47, 158,78-157,98 (q, TFA), 151,93, 151,64, 148,25, 144,68, 139,59, 128,43, 124,96, 120,79-113,68 (q, TFA), 109,40, 108,96, 70,03, 69,89, 67,09, 65,16, 57,28, 55,85, 54,47, 53,81. RMN de ^{19}F (470 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = -74,03. AE encontrado: C, 40,60; H, 4,29; N, 7,04. Cál. para $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_8 \cdot 4\text{CF}_3\text{COOH}$: C, 40,69; H, 4,12; N, 6,98. IR (cm^{-1}): 3387, 3161, 1735, 1670, 1204, 1130, 791, 722. t_R de HPLC = 11,974 min (método B); 11,546 min (método D). HRMS (m/z): 548,26883 [$M + H$]⁺; Cál.: 548,27149.

Preparación de ácido 6-((16-((6-carboxipiridin-2-il)metil)-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil)-4-isotiocianatopicolínico (12, macroa-NCS).

[0076]

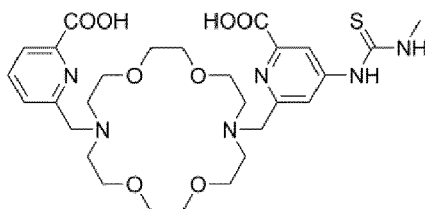


12
macropa-NCS

Una suspensión blanca de **11** (0,1598 g, 0,16 mmol) y Na_2CO_3 (0,2540 g, 2,4 mmol) se calentó a reflujo en acetona (10 ml) durante 30 min antes de la adición lenta de CSCl_2 (305 μl de CSCl_2 , 85 %, Acros Organics). La suspensión naranja resultante se calentó a reflujo durante 3 h y luego se concentró a 30 °C a presión reducida hasta obtener un sólido de color naranja claro. El sólido se disolvió en porciones en ACN/ H_2O al 10 % que contenía TFA al 0,2 % (8 ml en total), se filtró y se purificó inmediatamente mediante HPLC preparativa usando el método C.^[108] Las fracciones puras se combinaron, se concentraron a TA a presión reducida para eliminar el solvente orgánico y luego se liofilizaron. Las fracciones que no se pudieron concentrar inmediatamente se congelaron a -80 °C. El isotiocianato **12** se obtuvo como una mezcla de un sólido de color blanco y amarillo claro (0,0547 g) y se almacenó a -80 °C en un frasco de Drierite. Los cálculos de los espectros de RMN de ^1H y RMN de ^{19}F de una muestra de **12** enriquecida con una concentración conocida de fluorobenceno estimaron que **12** se aisló como una sal tetra-TFA. RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 8,17-8,06 (m, 2H), 8,00 (s con desdoblamiento fino, 1H), 7,84 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,81-7,75 (d con desdoblamiento fino, J = 7,16 Hz, 1H), 4,71 (s, 2H), 4,64 (s, 2H), 3,89-3,79 (m, 8H), 3,62-3,46 (m, 16H). RMN de ^{19}F (470 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = -74,17. IR (cm^{-1}): ~3500-2800, 2083, 2026, 1735, 1670, 1591, 1448, 1183, 1130, 796, 717. t_R de HPLC = 15,053 min (método B); 13,885 min (método D). HRMS (m/z): 590,22600 [$M + H$]⁺; Cál.: 590,22791.

Preparación de ácido 6-((16-((6-carboxipiridin-2-il)metil)-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil)-4-(3-metiltioureido)picolínico (13, macropa-NHC(S)NHCH₃).

[0077]



13
macropa-NHC(S)NHCH₃

El compuesto **12** se preparó como se ha descrito anteriormente usando 0,0873 g (0,087 mmol) de **11**, excepto que se omitió el paso de purificación. En cambio, directamente al sólido crudo se le añadió metilamina 2 M en THF (4 ml). La suspensión de color naranja tostado se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y luego se concentró a TA a presión reducida hasta obtener un sólido de color melocotón claro. El sólido se disolvió en ACN/ H_2O al 10 % que contenía TFA al 0,2 % (2 ml), se filtró y se purificó mediante HPLC preparativa usando el método C. Las fracciones puras se combinaron, se concentraron a 50 °C a presión reducida para eliminar el solvente orgánico y luego se liofilizaron. El sólido ligeramente pegajoso de color dorado oscuro se recrystalizó a partir de ACN con Et_2O . La suspensión se centrifugó y el pellet se lavó con Et_2O (2 $\times$ 1,5 ml) y se secó al vacío para proporcionar **13** como un polvo de color bronceado (0,0166 g, rendimiento del 22 % no optimizado de **11**). RMN de ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 10,56 (s, 1H), 8,64 (br s, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,13-8,02 (m, 2H), 7,81-7,73 (d, J = 7,40 Hz, 1H), 4,74-4,48 (m, 4H), 3,82 (br s, 8H), 3,57 (br s, 8H), 3,54-3,25 (m, 8 H), 2,97 (d, J = 4,4 Hz, 4H). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 180,71, 165,44, 165,39, 158,77-157,95 (q, TFA), 151,04, 150,96, 149,79, 147,95, 147,71, 139,22, 127,76, 124,55, 119,68-112,66 (q, TFA), 116,45, 114,85, 69,36, 64,52, 64,50, 57,00, 56,75, 53,42, 53,37, 31,02. RMN de ^{19}F (470 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = -74,49. AE encontrado: C, 44,66; H, 5,36; N, 9,83. Cál. para $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}_2\text{CF}_3\text{COOH}, 1\text{H}_2\text{O}$: C, 44,34; H, 5,12; N, 9,70. t_R de HPLC = 14,067 min (método B). HRMS (m/z): 621,26799 [$M + H$]⁺; Cál.: 621,27011.

[0078] **Estudios de difracción de rayos X.** Se cultivaron monocristales de $\text{H}_2\text{macropa} \cdot 2\text{HCl} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ adecuados para difracción de rayos X a partir de una solución saturada de H_2O :acetona (1:5) tras dejarlos reposar a temperatura ambiente. Se cultivaron monocristales de $[\text{La}(\text{Hmacropa})(\text{H}_2\text{O})] \cdot (\text{ClO}_4)_2$ mediante difusión de vapor

de THF en una solución acuosa que se volvió ácida (pH ~2) tras la adición del complejo. Los monocristales de $[\text{Lu}(\text{macropa})]\cdot\text{ClO}_4\cdot\text{DMF}$ se cultivaron mediante difusión de vapor de Et_2O en una solución de DMF del complejo.

[0079] Los datos de difracción de rayos X para $\text{H}_2\text{macropa}\cdot 2\text{HCl}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $[\text{La}(\text{Hmacropa})(\text{H}_2\text{O})]\cdot(\text{ClO}_4)_2$ y $[\text{Lu}(\text{macropa})]\cdot\text{ClO}_4\cdot\text{DMF}$ se recogieron en un difractómetro Bruker APEX 2 CCD Kappa (Mo K α , $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) a 223 K. Las estructuras se resolvieron mediante la fase intrínseca utilizando SBELXT^[109] y se refinaron contra F2 en todos los datos mediante mínimos cuadrados de matriz completa con SHELXL^[110] siguiendo las estrategias de refinamiento establecidas.^[111] Todos los átomos que no eran de hidrógeno se refinaron anisotrópicamente. Los átomos de hidrógeno se incluyeron en el modelo en posiciones geométricamente calculadas y se refinaron usando un modelo de conducción. Los átomos de hidrógeno unidos a nitrógeno y oxígeno se localizaron en la síntesis diferencial de Fourier y posteriormente se refinaron de forma semilibre con la ayuda de restricciones de distancia. Los parámetros de desplazamiento isotrópico de todos los átomos de hidrógeno se fijaron en 1,2 veces el valor U de los átomos a los que están unidos (1,5 veces para los grupos metilo). En el caso de $[\text{La}(\text{Hmacropa})(\text{H}_2\text{O})]\cdot(\text{ClO}_4)_2$, se incluyó una molécula de solvente de agua parcialmente ocupada en la célula unitaria, pero no se pudo modelar de manera satisfactoria. Por lo tanto, ese solvente se trató como una contribución difusa a la dispersión general sin utilizar posiciones de átomos específicos mediante la función de enmascaramiento de solvente en Olex2.^[112]

[0080] **Titulaciones de La^{3+} y Lu^{3+} con macropa.** El pH de un tampón ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS) 10 mM se ajustó a 7,4 usando NMe_4OH acuoso. La fuerza iónica se estableció en 100 mM usando NMe_4Cl . Se prepararon soluciones madre de $\text{LaCl}_3\cdot 6,8\text{H}_2\text{O}$ (40 mM) y $\text{LuCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (21 mM) en HCl 1 mM. Se preparó una solución madre de $\text{H}_2\text{macropa}\cdot 2\text{HCl}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (8,8 mM) en tampón MOPS. A partir de estas soluciones madre, se prepararon soluciones de titulación que contenían macropa (100 μM) y LaCl_3 o LuCl_3 en MOPS. Cada titulación de iones metálicos se llevó a cabo a temperatura ambiente añadiendo partes alícuotas de 5-10 μl de titulante a una cubeta que contenía 3000 μl de macropa (100 μM) en MOPS. Se dejó que cada muestra se equilibrara durante 5 min después de cada adición antes de adquirir un espectro. La formación de complejos del ion metálico se controló mediante la disminución de la absorbancia a 268 nm, la λ_{max} de macropa. Se añadió titulante hasta que no se detectaron más cambios espectrales.

[0081] **Inercia cinética de los complejos de La^{3+} y Lu^{3+} de macropa: provocación de transquelación.** Se preparó una solución madre de ácido etilendiaminetetraacético (EDTA, 100 mM) en tampón MOPS (preparado como se ha descrito anteriormente) ajustando el pH de la suspensión inicial a 6,6 usando NMe_4OH acuoso. Se preparó una solución madre de ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA, 125 mM) en H_2O ajustando el pH a 7,4, como se describe para EDTA. Esta solución se diluyó en serie con H_2O para producir soluciones de DTPA 12,5 mM y 1,25 mM.

[0082] Los complejos de La^{3+} y Lu^{3+} preformados de macropa se sometieron a pruebas de provocación con EDTA. Las pruebas de provocación se iniciaron añadiendo una parte alícuota de solución que contenía EDTA (98,7 mM) y macropa (100 μM) en tampón MOPS a cada solución del complejo. Las relaciones finales de M:macropa:EDTA fueron aproximadamente 1:1:20 (La) y 1:1:10 (Lu). Las soluciones se analizaron repetidamente mediante espectroscopia UV durante el transcurso de 21 días para detectar cualquier cambio espectral. El pH final de cada solución estuvo comprendido entre 7,18 y 7,25.

[0083] El complejo formado *in situ* entre La^{3+} y macropa se sometió a pruebas de provocación más rigurosamente con un exceso de DTPA. Se dejó equilibrar durante 5 min una solución que contenía 500 μM de complejo, preparada usando las soluciones madre de LaCl_3 y macropa anteriormente descritas. Posteriormente, se dividió en cubetas y se diluyó con DTPA 125 mM, DTPA 12,5 mM, DTPA 1,25 mM o MOPS para obtener soluciones que contenían 1000, 100, 10 o 0 veces más DTPA y una concentración de 100 μM de macropa. Estas soluciones se analizaron repetidamente mediante espectroscopia UV durante el transcurso de 21 días para detectar cualquier cambio espectral. El pH final de cada solución estuvo comprendido entre 7,11 y 7,42.

Radiomarcado de macropa y DOTA con ^{225}Ac .

[0084] **General.** El ^{225}Ac y el ^{225}Ra se produjeron mediante la espalación de carburo de uranio, se separaron de otros radionucleidos mediante un separador de masas utilizando la instalación de separación de isótopos en línea (ISOL, por sus siglas en inglés) del separador y acelerador de isótopos (ISAC, por sus siglas en inglés) en TRIUMF (Vancouver, BC, Canadá) y se recolectaron mediante protocolos de la bibliografía.^[103,104] A continuación, el ^{225}Ac se separó del ^{225}Ra mediante una columna DGA^[105,106] (ramificada, 50-100 μm , Eichrom Technologies LLC) y se obtuvo en HNO_3 0,05 M para su uso en experimentos de radiomarcado. Se utilizaron placas de TLC con respaldo de aluminio (gel de sílice 60, F254, EMD Millipore, Darmstadt, Alemania) para analizar el progreso de la reacción de radiomarcado con ^{225}Ac . Se utilizó papel de cromatografía de capa fina instantánea impregnado con gel de sílice (iTLC-SG, Agilent Technologies, Mississauga, ON, Canadá) en los desafíos de estabilidad del suero y La^{3+} . Las placas de TLC se revelaron y luego se contaron en un escáner de imágenes BioScan System 200 equipado con un BioScan Autochanger 1000 y un software WinScan al menos 8 h más tarde para dar tiempo a que los isótopos hijos se desintegraran por completo, lo que garantiza que la señal radiactiva medida fuera generada por el ^{225}Ac progenitor. Las mediciones de radiactividad cuantitativa de ^{225}Ac , ^{221}Fr y ^{213}Bi se

determinaron mediante espectroscopia gamma usando un detector de germanio de alta pureza (HPGe) (Canberra GR1520, Meriden, CT) calibrado utilizando una fuente mixta de ^{133}Ba y ^{152}Eu trazable al NIST. El tiempo muerto del detector se mantuvo por debajo del 10 % en todas las mediciones. Los datos se analizaron utilizando el *software* Genie 2000 (v3.4, Canberra, Meriden, CT).

[0085] **Dependencia de la concentración.** Se radiomarcaron varias concentraciones de macropa y DOTA con $^{225}\text{Ac}^{3+}$ para determinar la concentración más baja en la que todavía se producía un radiomarcado de > 95 %. Se prepararon soluciones madre de $\text{H}_2\text{macropa} \cdot 2\text{HCl} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (10^{-3} - 10^{-8} M) y H_4DOTA (10^{-3} , 10^{-5} y 10^{-7} M) en H_2O . Para cada reacción de radiomarcado, se añadieron secuencialmente ligando (10 μl) y ^{225}Ac (10-26 kBq, 10-30 μl) para tampón NH_4OAc (pH 6, 0,15 M, 150 μl) para obtener concentraciones finales de ligando de $5,3 \times 10^{-5}$ - $5,9 \times 10^{-10}$ M para macropa y $5,9 \times 10^{-5}$ - $5,9 \times 10^{-9}$ M para DOTA. Las soluciones de reacción se mantuvieron a temperatura ambiente o a 80 °C. El progreso de la reacción se controló a los 5 y 30 min colocando 3-5 μl de la solución de reacción en placas de TLC. Las placas se revelaron con una fase móvil de citrato de sodio 0,4 M (pH 4) que contenía MeOH al 10 % y luego se contaron. En estas condiciones, $^{225}\text{Ac}(\text{macropa})^+$ y $^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})^-$ permanecieron en la línea base ($R_F=0$) y cualquier ^{225}Ac no quelado (^{225}Ac -citrato) migró con el frente del solvente ($R_F=1$). Los rendimientos radioquímicos (RCY, por sus siglas en inglés) se calcularon integrando el área bajo los picos en el radiocromatograma y dividiendo los recuentos asociados con el complejo de ^{225}Ac ($R_F=0$) por los recuentos totales integrados a lo largo de la placa de TLC.

20 Inercia cinética de los complejos de ^{225}Ac de macropa y DOTA.

[0086] **General.** Se prepararon soluciones madre de $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ (0,001 M o 0,1 M) en H_2O . A las muestras radiomarcadas que contenían macropa (10 μl de solución madre 10^{-5} M; $1,0 \times 10^{-10}$ moles) o DOTA (10 μl de solución madre 10^{-3} M; $1,0 \times 10^{-8}$ moles) y ^{225}Ac (10 μl , 26 kBq) en tampón NH_4OAc (pH 6, 0,15 M, 150 μl), se les añadió un exceso de 50 veces en moles de La^{3+} (se añadieron 5 μl de solución madre 0,001 M o 0,1 M a las soluciones que contenían macropa y DOTA, respectivamente). Las soluciones se mantuvieron a temperatura ambiente y se analizaron mediante iTLC en varios puntos temporales a lo largo de 8 días. Las placas de iTLC se revelaron utilizando ácido cítrico (0,05 M, pH 5) como eluyente. En estas condiciones, $^{225}\text{Ac}(\text{macropa})^+$ y $^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})^-$ permanecieron en la línea base ($R_F=0$) y cualquier ^{225}Ac no quelado (^{225}Ac -citrato) migró con el frente del solvente ($R_F=1$). El porcentaje de complejo que permaneció intacto se calculó integrando el área bajo los picos en el radiocromatograma y dividiendo los recuentos asociados con el complejo de ^{225}Ac ($R_F=0$) por los recuentos totales integrados a lo largo de la longitud de la placa de iTLC.

[0087] **Transmetalación mediante La^{3+} .** $^{225}\text{Ac}(\text{macropa})^+$ y $^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})^-$ se prepararon usando soluciones madre 10^{-5} M y 10^{-3} M (10 μl) de macropa y DOTA, respectivamente, para obtener concentraciones finales de ligando de $5,9 \times 10^{-7}$ M (macropa) y $5,9 \times 10^{-5}$ M (DOTA). Después de confirmar un rendimiento radioquímico de > 90 % usando TLC citrato de sodio 0,4 M (pH 4) que contenía MeOH al 10 % como fase móvil, se añadieron 160 μl de suero humano (un volumen igual basado en el volumen de la reacción de marcaje) a cada solución radiomarcada. También se preparó una solución de control en la que se sustituyó el ligando por el agua. Las soluciones se controlaron durante el transcurso de 8 días mediante iTLC. Las placas se revelaron con EDTA (50 mM, pH 5) como eluyente. En estas condiciones, los complejos $^{225}\text{Ac}(\text{macropa})^+$ y $^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})^-$ permanecieron en la línea base ($R_F=0$) y cualquier ^{225}Ac (^{225}Ac -EDTA) que había sido transquelado por el suero migró con el frente del solvente ($R_F=1$). Se calculó el porcentaje del complejo que permaneció intacto.

[0088] **Biodistribución *in vivo* de complejos de ^{225}Ac de Macropa y DOTA.** Todos los experimentos fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado de Animales (IACC, por sus siglas en inglés) de la Universidad de Columbia Británica y se realizaron de acuerdo con las pautas del Consejo Canadiense del Cuidado de Animales. Se utilizaron un total de 9 ratones hembra C57BL/6 (6-8 semanas de edad, 20-25 g) para el estudio de biodistribución de cada complejo radiometálico, $n = 3$ para cada punto temporal.

[0089] Macropa (100 μl de una solución de 1mg/ml en NH_4OAc) se diluyó con 387 μl de NH_4OAc (1 M, pH 7) y luego se añadió una parte alícuota (203 μl) de $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ (-157 kBq); el pH de esta solución se ajustó a 6,5-7 mediante la adición de NaOH 1 M (210 μl , grado de metal traza). Después de 5 min a temperatura ambiente, la solución de reacción se analizó mediante TLC (citrato de sodio pH 4 0,4 M como eluyente), lo que confirmó un rendimiento radioquímico > 95 %. Se dejó que la reacción continuara durante la noche y, a la mañana siguiente, se confirmó nuevamente que el rendimiento radioquímico era > 95 %. En ese momento, los ratones fueron anestesiados con isoflurano al 2 % y se les inyectaron aproximadamente 100 μl (10-15 kBq) del complejo $^{225}\text{Ac}(\text{macropa})^+$ en la vena de la cola de cada ratón. Después de la inyección, se permitió que los ratones se recuperaran y deambularan libremente en sus jaulas, y fueron sacrificados mediante inhalación de CO_2 a los 15 min, 1 h o 5 h ($n = 3$ en cada punto temporal) posteriores a la inyección. Se extrajo sangre mediante punción cardíaca y se colocó en un tubo de ensayo adecuado para realizar el recuento por centelleo. Los tejidos recogidos incluyeron corazón, hígado, riñones, pulmones, intestino delgado, intestino grueso, cerebro, vejiga, bazo, estómago, páncreas, hueso, tiroides, cola, orina y heces. Los tejidos se pesaron y luego se contaron con un contador gamma calibrado (Packard, Cobra II modelo 5002) utilizando tres ventanas de energía: 60-120 keV (ventana A), 180-260 keV (ventana B) y 400-480 keV (ventana C). El recuento se realizó inmediatamente después del sacrificio y a los 7 días; los recuentos se corrigieron por descomposición a partir del momento de la

inyección y luego se convirtieron al porcentaje de dosis inyectada (% de DI) por gramo de tejido (% de DI/g). No se observaron diferencias entre los datos; por lo tanto, las biodistribuciones se constatan usando los datos adquiridos inmediatamente usando la ventana A.

[0090] Los estudios de biodistribución de $[^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$ y $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ se llevaron a cabo como se describió anteriormente para $[^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$, con las siguientes modificaciones. $[^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$ se preparó añadiendo $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ (338 μl , 1,1 MBq) a una solución de DOTA (100 μg , 20 mg/ml en H_2O) en NH_4OAc (467 μl , 0,15 M, pH 7). El pH de la solución se ajustó a 7 usando NH_4OAc (150 μl , 1 M, pH 7) y la solución se calentó a 85 °C durante 45 min. Se confirmó un RCY > 99% mediante TLC, como se describió anteriormente. Se diluyó $[^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$ con solución salina hasta obtener una concentración final de 0,05 MBq/100 μl y se inyectaron 100 μl en cada ratón. $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ (~58 μl , 0,4 MBq) se diluyó e inyectó de la misma manera que $[^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$. Un ratón que debía ser sacrificado en el punto temporal de 5 h en el estudio $[^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$ murió poco después de la inyección. De la misma manera, un ratón que debía ser sacrificado en el punto temporal de 1 h en el estudio $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ murió.

[0091] **Hidrólisis de macropa-NCS y p-SCN-Bn-DOTA.** A viales con tapa de rosca que contenían aproximadamente 1 mg de macropa-NCS (compuesto 12, n = 4) o p-SCN-Bn-DOTA (n = 5) se les añadió 1 ml de solución tampón NaHCO_3 0,1 M pH 9,1 que contenía NaCl 0,154 M, que se había pasado a través de una columna de Chelex preequilibrada. Después de agitar durante 1 min, cada solución se filtró a través de una membrana de PES o PTFE de 0,2 μm . Se extrajeron partes alícuotas de cinco μl de los viales en varios puntos temporales durante el transcurso de 46-72 h y se analizaron mediante HPLC. Se empleó el método B para p-SCN-Bn-DOTA utilizando una columna Epic Polar C18, 120 Å, 10 μm , 25 cm $\times$ 4,6 mm (ES Industries, West Berlin, NJ) a una velocidad de flujo de 1 ml/min. Entre las muestras, los viales se almacenaron a temperatura ambiente (23 ± 1 °C) protegidos de la luz. La hidrólisis se consideró completa cuando el pico a los 13,8 min (que corresponde a 12) o 18,417 min (que corresponde a p-SCN-Bn-DOTA) desapareció o tuvo una integración insignificante. Una regresión lineal realizada en los gráficos del área del pico ln en función del tiempo proporcionó la constante de velocidad de pseudoprimer orden (k_{obs}) como pendiente negativa. La vida media ($t_{1/2}$) se calculó utilizando la ecuación $t_{1/2} = 0,693/k_{\text{obs}}$. La vida media de cada compuesto se expresa como la media $\pm$ 1 desviación estándar.

[0092] **Titulación del conjugado macropa-NHC(S)NHCH₃ con La³⁺.** La titulación del conjugado macropa-NHC(S)NHCH₃ (13) con La^{3+} se llevó a cabo a pH 7,4 para macropa, excepto que la solución madre de 13 (0,760 mM) se preparó en ACN en vez de MOPS. La cantidad de ACN en la muestra no superó el 3,3 % en volumen. Se descubrió que un tiempo de espera de 3 min después de la adición de cada parte alícuota era suficiente para que la muestra alcanzara el equilibrio antes de la adquisición espectral. La formación de complejos del ion metálico se controló usando el aumento de la absorbancia a 300 nm. El pH de la solución al final de la titulación fue de 7,43.

[0093] **Inercia cinética de La-macropa-NHC(S)NHCH₃: provocación de transquelación.** Se prepararon soluciones de ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA; 125 mM y 12,5 mM) en tampón MOPS (pH 7,4). Se preparó una solución MOPS que contenía macropa-NHC(S)NHCH₃ (126,7 μM , ACN al 16,7 % por volumen) y LaCl_3 (126,2 μM) utilizando las soluciones madre descritas anteriormente y se dejó equilibrar durante 10 min. Posteriormente, se dividió en cubetas y se diluyó con DTPA 125 mM, DTPA 12,5 mM o MOPS para obtener soluciones que contenían DTPA en exceso de 1000, 100 o 0 veces. La concentración final de macropa-NHC(S)NHCH₃ en cada cubeta fue de 25,3 μM . Estas soluciones se analizaron repetidamente mediante espectrofotometría UV durante el transcurso de 21 días para detectar cualquier cambio espectral. El pH final de cada solución estuvo comprendido entre 7,42 y 7,49. El experimento se realizó por triplicado.

Conjugación de macropa-NCS y p-SCN-Bn DOTA a trastuzumab.

[0094] **General.** Todo el material de vidrio se lavó durante toda la noche en HCl 1M. La solución salina (NaCl 0,154 M) y todas las soluciones tampón se pasaron a través de una columna de Chelex-100 preequilibrada con el tampón adecuado. Trastuzumab (Tmab; Genentech) se purificó usando una columna de desalinización por centrifugación Zeba (2 ml o 5 ml, 40 MWCO, Thermo Scientific, Waltham, MA) de acuerdo con el protocolo del fabricante, con solución salina como fase móvil. La concentración de Tmab purificada se calculó mediante la ley de Beer-Lambert utilizando A_{280} y un ϵ_{280} de 1,446 ml mg^{-1} cm^{-1} .^[107] El Tmab purificado y los conjugados de Tmab se almacenaron a 4 °C.

[0095] **Conjugación de macropa-NCS con Tmab.** Se preparó una solución madre que contenía 4,4 mg/ml de macropa-NCS (12) en un tampón NaHCO_3 0,1 M pH 9,1 que contenía NaCl 0,154 M y se almacenó a -80 °C. La estabilidad de 12 durante el almacenamiento se verificó mediante HPLC analítica. A una porción de Tmab en solución salina (74 μl) se le añadió 12 (52 μl) y tampón NaHCO_3 (266 μl), de modo que las concentraciones finales de Tmab y 12 fueron 5,1 mg/ml y 0,59 mg/ml, respectivamente. Se estimó que macropa-NCS tenía un exceso molar de 16 veces con respecto a Tmab basándose en un peso molecular de 1045,76 g/mol para 12 (sal tetra-TFA). El pH de esta solución estuvo comprendido entre 8 y 9 según el papel tornasol. La solución se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 17,5 h y luego se purificó usando una columna de centrifugación.

[0096] **Conjugación de *p*-NCS-Bn-DOTA con Tmab.** Se preparó una solución madre que contenía 3,05 mg/ml de *p*-NCS-Bn-DOTA en H₂O y se almacenó a -80 °C. A una porción de Tmab en solución salina (66 µl) se le añadió *p*-NCS-Bn-DOTA (49 µl) y tampón NaHCO₃ (274,5 µl), de modo que las concentraciones finales de Tmab y *p*-NCS-Bn-DOTA fueron 5,1 mg/ml y 0,38 mg/ml (exceso molar de 16 veces de I), respectivamente. El pH de esta solución estuvo comprendido entre 8 y 9 según el papel tornasol. La solución se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 17,5 h y luego se purificó usando una columna de centrifugación.

[0097] **Determinación de la concentración de proteína conjugada mediante el ensayo BCA.** La concentración de proteína en los conjugados macropa-Tmab y DOTA-Tmab se determinó utilizando el kit de ensayo de proteínas Pierce™ BCA (Thermo Scientific, Waltham, MA, protocolo de microplaca). Se empleó Tmab como proteína estándar. Se diluyó una solución madre de Tmab purificado con solución salina y se determinó la concentración de esta solución (1,83 mg/ml) usando un espectrofotómetro NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, Waltham, MA). La curva estándar fue lineal ($r^2 = 0,9966$) en el rango de concentración medido (0-1828 µg/ml). La concentración de proteína de cada conjugado se calculó a partir de dos diluciones independientes, cada una medida por triplicado, y los resultados se calcularon según el promedio para proporcionar una concentración de proteína de 4,557 mg/ml para macropa-Tmab y 2,839 mg/ml para DOTA-Tmab.

[0098] **Análisis de la relación ligando-proteína mediante MALDI-ToF.** El número promedio de ligandos de macropa o DOTA conjugados con Tmab se determinó mediante MALDI-ToF MS/MS en un Bruker Autoflex Speed en la *Alberta Proteomics and Mass Spectrometry Facility* (Instalación de Proteómica y Espectrometría de Masas de Alberta) (Universidad de Alberta, Canadá) utilizando un procedimiento descrito en otra parte.^[108] El Tmab purificado y los conjugados se analizaron por duplicado y se promediaron las señales de masa $[M+H]^+$ de los cromatogramas para cada compuesto. La relación ligando-proteína (L:P) para cada conjugado se obtuvo restando el peso molecular de Tmab del peso molecular del conjugado y, posteriormente, dividiendo entre la masa del ligando bifuncional.

Radiomarcado de conjugados de Tmab con ²²⁵Ac y estabilidad sérica de los complejos.

[0099] **General.** Se utilizó papel de cromatografía instantánea en capa fina impregnado con gel de sílice (iTLC-SG, Agilent Technologies, Mississauga, ON, Canadá) para controlar el progreso de las reacciones de radiomarcado con ²²⁵Ac y para determinar la estabilidad del suero. Las placas de TLC se desarrollaron como se describe a continuación y luego se contaron en un escáner de formación de imágenes BioScan System 200 equipado con un BioScan Autochanger 1000 y un *software* WinScan al menos 8 h más tarde para dar tiempo a que los isótopos hijos se desintegren por completo, lo que asegura que la señal radiactiva medida fuera generada por el ²²⁵Ac progenitor.

[0100] **Estudios de radiomarcado con ²²⁵Ac.** En un volumen total de reacción de 200 µl preparado con tampón NH₄OAc (pH 6, 0,15 M), se mezcló ²²⁵Ac (10 o 20 kBq, 7-10 µl) con 25-100 µg de macropa-Tmab (5,5-22 µl) o DOTA-Tmab (8,81-35,2 µl), y el pH se ajustó a ~5 con NaOH. También se preparó una solución de control en la que se sustituyó el conjugado por Tmab sin modificar (25 µg). Las soluciones de reacción se mantuvieron a temperatura ambiente y se analizaron a los 5 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h y 4 h colocando 8 µl por triplicado en tiras de iTLC. Las tiras se revelaron con una fase móvil de ácido cítrico 0,05 M (pH 5). En estas condiciones, ²²⁵Ac-macropa-Tmab y ²²⁵Ac-DOTA-Tmab permanecieron en la línea base de la placa ($R_F=0$) y cualquier ²²⁵Ac no quelado (²²⁵Ac-citrato) migró con el frente del solvente ($R_F=1$). Los rendimientos radioquímicos (RCY) se calcularon integrando el área bajo los picos en el radiocromatograma y dividiendo los recuentos asociados con el complejo de ²²⁵Ac ($R_F=0$) entre los recuentos totales integrados a lo largo de la longitud de la placa de TLC.

[0101] **Estabilidad de ²²⁵Ac-macropa-Tmab en suero humano.** Se preparó una solución de ²²⁵Ac-macropa-Tmab usando 100 µg de proteína. Después de confirmar mediante TLC que se había alcanzado un RCY de > 95 %, el suero humano se descongeló a temperatura ambiente y se añadió al inmunoc conjugado radiomarcado para proporcionar una solución que contenía suero al 90 % en volumen. La muestra se incubó a 37 °C. En varios puntos temporales durante el transcurso de 7 días, se extrajeron partes alícuotas (15-30 µl) de la muestra y se colocaron por triplicado en tiras de iTLC. Las tiras se desarrollaron usando una fase móvil de EDTA (50 mM, pH 5,2) y se contaron. En estas condiciones, el ²²⁵Ac-macropa-Tmab permaneció en la línea base ($R_F=0$) y cualquier ²²⁵Ac (²²⁵Ac-EDTA) que había sido transquelado por el suero migró con el frente del solvente ($R_F=1$). Se calculó el porcentaje del complejo que permaneció intacto.

[0102] Como prueba de provocación adicional, también se extrajeron partes alícuotas separadas (39 µl) de la muestra de suero los días 1 y 7 y se mezclaron con DTPA 50 mM (pH 7, 13 µl) para eliminar cualquier ²²⁵Ac que estuviera unido débilmente por el radioinmunoc conjugado. Después de la incubación de esta solución a 37 °C durante 15 minutos, se colocó una parte alícuota (30 µl) por triplicado en placas de iTLC y se reveló usando una fase móvil de EDTA (50 mM, pH 5,2). Se calculó el porcentaje del complejo que permaneció intacto.

Estudios de biodistribución *in vivo* de [²²⁵Ac(macropa)]⁺, [²²⁵Ac(DOTA)]⁻ y ²²⁵Ac(NO₃)₃.

[0103]

Tabla 1. Distribución orgánica de los complejos de ^{225}Ac tras la inyección intravenosa en ratones. Se inyectó $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$, $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$ o $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ a ratones adultos C57BL/6 y fueron sacrificados después de 15 min, 1 h o 5 h. Los valores para cada punto temporal se proporcionan como % de DI/g (n=3) utilizando la ventana de energía A (60-120 keV).

Órgano	15 min	DE	1 h	DE	5h	DE
$[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$						
sangre	5,11	2,82	0,40	0,38	0,01	0,01
orina	1378,82	971,53	489,11	26,75	12,78	6,10
heces	0,91	1,18	0,28	0,14	3,46	1,06
corazón	2,19	0,60	0,31	0,24	0,10	0,11
hígado	2,28	0,41	0,75	0,18	0,39	0,03
riñones	27,55	7,51	13,36	17,13	0,74	0,06
pulmones	5,98	1,81	0,51	0,36	0,01	0,04
intestino delgado	2,64	1,08	1,10	0,47	0,29	0,20
intestino grueso	2,40	0,52	0,36	0,10	0,49	0,22
cerebro	0,26	0,09	0,12	0,07	0,02	0,02
vejiga	46,74	24,65	6,23	7,44	4,25	5,27
bazo	2,52	1,08	0,51	0,19	0,11	0,03
estómago	2,97	0,72	0,41	0,08	0,01	0,06
páncreas	1,46	0,64	0,19	0,16	0,10	0,06
hueso (fémur + articulación)	2,52	0,34	0,31	0,16	0,05	0,10
tiroides	28,23	17,90	3,18	2,21	0,10	7,95
cola	8,84	1,56	1,82	1,11	0,14	0,09
$[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$						
sangre	5,2881	2,9807	0,1144	0,0203	0,0140	0,0024
orina	1467,9186	1073,9229	158,6102	141,1945	1,1612	0,3653
heces	6,2730	8,7284	0,2035	0,2433	5,5318	1,7685
corazón	2,3335	0,7337	0,1012	0,0853	0,0664	0,0091
hígado	2,2520	0,5051	0,2715	0,1973	0,1010	0,0063
riñones	27,6566	6,8974	1,4020	0,2124	0,6172	0,0168
pulmones	5,7556	1,7234	0,1555	0,0800	0,0390	0,0135
intestino delgado	2,6370	1,3350	1,7207	2,1165	0,0967	0,0232
intestino grueso	2,3348	0,7436	0,1229	0,0551	0,2026	0,1073
cerebro	0,2655	0,0598	0,0224	0,0123	0,0213	0,0021
vejiga	48,2703	26,4988	4,7351	4,9621	0,3551	0,0335
bazo	2,5905	1,3909	0,0938	0,0322	0,1380	0,0733
estómago	2,7440	0,8312	0,1367	0,1078	0,0852	0,0100
páncreas	1,5090	0,6828	0,0743	0,0752	0,0677	0,0090
hueso (fémur + articulación)	2,6298	0,6802	0,4487	0,0586	0,2063	0,0231
tiroides	-5,7725	27,0550	2,3564	2,7015	3,6425	1,8897
cola	8,8606	1,1879	0,8091	0,1272	0,3057	0,0766
$^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$						
sangre	40,966	6,455	20,8234	0,8102	1,9886	0,5457
orina	5,527	3,460	4,5194	0,4803	4,8267	3,6549
heces	0,240	0,070	0,2189	0,1167	0,9445	0,7998

corazón	8,557	2,698	4,4261	1,2771	1,3450	0,2326
hígado	22,899	1,788	39,8269	4,5062	59,8156	10,4928
riñones	10,468	1,897	7,2170	1,5026	4,6910	2,3005
pulmones	12,757	2,883	8,2412	1,9189	4,1871	3,8011
intestino delgado	2,002	0,094	1,5594	0,3191	1,3704	0,4345
intestino grueso	1,116	0,145	0,6035	0,4502	0,6479	0,2782
cerebro	0,614	0,283	0,2995	0,0893	0,0452	0,0343
vejiga	1,477	0,689	0,9047	0,0759	1,4947	2,4402
bazo	22,733	4,962	34,8831	1,6768	62,9614	12,7041
estómago	2,348	0,250	1,6211	0,0147	2,6131	1,4450
páncreas	2,366	0,922	2,1771	0,8907	0,4874	0,4300
hueso (fémur + articulación)	2,764	0,757	2,4707	0,1198	3,5460	0,6374
tiroides	4,391	1,511	2,5988	4,9499	-2,7052	2,9758
cola	7,459	5,674	5,7939	1,8506	23,4055	19,5704

Tabla 2. Distribución de los complejos de ^{225}Ac en los órganos tras la inyección intravenosa en ratones.

Se inyectó $^{225}\text{Ac}(\text{macropa})^+$, $^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})^-$ o $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ a ratones adultos C57BL/6 y fueron sacrificados después de 15 min, 1 h o 5 h. Los valores para cada punto temporal se proporcionan como % de DI/g (n=3) utilizando la ventana de energía B (180-260 keV).

5

Órgano	15 min	DE	1 h	DE	5 h	DE
$^{225}\text{Ac}(\text{macropa})^+$						
sangre	5,23	2,93	0,39	0,38	0,00	0,01
orina	1541,60	1105,98	517,19	11,65	13,51	6,04
heces	1,04	0,92	0,27	0,21	3,49	1,18
corazón	2,39	0,80	0,20	0,31	-0,04	0,12
hígado	2,17	0,40	0,70	0,16	0,36	0,01
riñones	27,86	7,39	12,97	17,16	0,78	0,14
pulmones	5,83	1,81	0,54	0,25	-0,05	0,14
intestino delgado	2,59	1,19	0,94	0,46	0,29	0,21
intestino grueso	2,53	0,57	0,22	0,18	0,45	0,27
cerebro	0,23	0,06	0,12	0,11	-0,01	0,04
vejiga	47,64	25,00	5,92	8,15	3,69	6,69
bazo	2,55	1,54	0,23	0,26	0,09	0,06
estómago	3,29	1,03	0,33	0,26	0,04	0,14
páncreas	1,63	0,73	0,12	0,22	-0,12	0,16
hueso (fémur + articulación)	2,69	0,63	0,17	0,11	0,02	0,01
tiroides	-2,22	12,06	0,10	5,33	-6,94	8,77
cola	9,39	1,59	1,82	1,04	0,13	0,05
$^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})^-$						
sangre	5,6357	3,2852	0,1127	0,0403	0,0292	0,0172
orina	1635,4394	1233,7980	159,1628	143,0187	3,6967	3,3377
heces	1,0222	0,9859	0,2349	0,2923	3,3534	1,0198
corazón	2,7276	0,7955	0,1378	0,1197	0,0879	0,0591
hígado	2,1817	0,4921	0,2672	0,1890	0,2712	0,2370
riñones	28,0858	6,9019	1,2560	0,1319	0,6718	0,1380
pulmones	6,0147	1,8416	0,1946	0,1077	0,1289	0,0320

intestino delgado	2,5009	1,2567	1,8809	2,3424	0,2065	0,1617
intestino grueso	2,5365	0,7142	0,0813	0,0554	0,2527	0,1980
cerebro	0,2735	0,1473	0,0248	0,0120	0,0513	0,0110
vejiga	54,4696	32,7034	4,7141	5,1077	0,7521	0,0884
bazo	2,9076	1,5773	0,0825	0,0965	0,0834	0,2219
estómago	2,7311	0,9322	0,1379	0,1390	0,1789	0,0565
páncreas	1,4929	1,2189	0,0746	0,0806	0,1266	0,0354
hueso (fémur + articulación)	3,0357	0,7199	0,4126	0,0368	0,1478	0,1689
tiroides	1,6601	7,1867	2,6514	6,1376	16,2357	11,0860
cola	9,4746	1,5429	0,8973	0,0672	0,1634	0,0768
$^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$						
sangre	41,5628	6,0720	21,4460	1,0862	2,0018	0,5989
orina	5,0951	2,4036	7,0564	2,0984	3,3142	2,6426
heces	0,3857	0,1799	0,3300	0,1741	1,0201	0,9002
corazón	8,3605	2,5149	4,5832	1,4669	1,3948	0,3318
hígado	23,6091	2,1849	41,0995	5,1387	62,0765	10,0091
riñones	9,6424	1,6131	6,8770	1,0099	3,8752	1,6179
pulmones	12,9714	2,7540	8,4426	1,9117	4,3379	3,9596
intestino delgado	1,9641	0,1853	1,5192	0,2815	1,2201	0,3708
intestino grueso	1,1570	0,1960	0,5629	0,3460	0,6744	0,2893
cerebro	0,6536	0,2639	0,3247	0,0633	0,0290	0,0219
vejiga	1,6996	0,7289	0,8092	0,2576	1,5234	2,6761
bazo	24,0497	5,3531	37,1540	0,1801	65,9117	13,1934
estómago	2,3704	0,3085	1,5867	0,2853	2,5322	1,4903
páncreas	2,2821	0,9761	2,1579	0,8408	0,4455	0,3936
hueso (fémur + articulación)	2,7487	0,6608	2,7705	0,0730	3,8533	0,7991
tiroides	9,6295	8,0396	5,7426	3,0938	-4,6044	2,5708
cola	8,0722	6,2766	6,4201	2,1693	25,4744	20,7518

Tabla 3. Distribución de los complejos de ^{225}Ac en los órganos tras la inyección intravenosa en ratones.

Se inyectó [$^{225}\text{Ac}(\text{macropa})$] $^{+}$, [$^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})$] $^{-}$ o $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ a ratones adultos C57BL/6 y fueron sacrificados después de 15 min, 1 h o 5 h. Los valores para cada punto temporal se proporcionan como % de DI/g (n=3) utilizando la ventana de energía C (400-480 keV).

Órgano	15 min	DE	1 h	DE	5 h	DE
[$^{225}\text{Ac}(\text{macropa})$]$^{+}$						
sangre	6,49	4,64	0,54	0,55	0,04	0,03
orina	2387,66	1987,77	641,63	49,58	22,27	8,14
heces	1,26	2,00	0,69	0,50	5,27	2,17
corazón	2,87	1,51	0,23	0,97	0,28	0,84
hígado	2,72	0,61	1,08	0,45	0,55	0,08
riñones	33,46	5,62	17,38	21,12	1,07	0,37
pulmones	7,55	3,24	0,84	0,62	0,15	0,14
intestino delgado	3,46	2,44	1,62	0,76	0,42	0,28
intestino grueso	3,02	1,11	0,79	0,51	0,68	0,17
cerebro	0,17	0,10	0,23	0,13	-0,01	0,08

vejiga	64,68	45,85	9,00	3,35	8,52	10,72
bazo	3,79	2,96	0,48	1,92	0,43	0,14
estómago	3,45	1,29	0,17	0,77	0,13	0,23
páncreas	3,00	2,21	0,43	1,01	0,13	0,29
hueso (fémur + articulación)	3,74	1,27	0,70	0,36	0,08	0,16
tiroides	-6,46	66,56	8,34	11,63	19,89	30,96
cola	11,75	0,66	2,57	1,39	0,28	0,10
[²²⁵Ac(DOTA)]⁻						
sangre	7,2941	4,1461	0,1102	0,0707	-	-
orina	2691,0615	1906,4694	177,6788	168,4716	-	-
heces	1,5693	1,8307	0,4091	0,4652	-	-
corazón	2,5579	2,0110	0,2857	0,2702	-	-
hígado	2,9046	0,8757	0,2841	0,2157	-	-
riñones	40,4489	10,8186	1,4787	0,7053	-	-
pulmones	7,3872	1,9528	0,2551	0,1695	-	-
intestino delgado	3,8916	2,4605	2,0201	2,4443	-	-
intestino grueso	3,8419	1,8882	0,1381	0,2122	-	-
cerebro	0,1588	0,0692	0,0380	0,0968	-	-
vejiga	76,0987	42,8592	6,9149	4,5152	-	-
bazo	1,5598	1,6847	0,2228	0,4642	-	-
estómago	3,2425	2,1465	0,1720	0,2911	-	-
páncreas	1,0290	1,1339	0,1730	0,1437	-	-
hueso (fémur + articulación)	4,4224	1,8431	0,5654	0,2432	-	-
tiroides	-109,5394	150,5455	3,5247	36,1530	-	-
cola	13,4731	3,2236	1,0280	0,3206	-	-
²²⁵Ac(NO₃)₃						
sangre	42,3521	6,5376	11,3736	15,9719	2,1769	0,7500
orina	19,8282	14,9210	104,9103	130,5319	5,8548	8,2799
heces	0,4896	0,2884	0,1122	0,1587	0,8535	0,2061
corazón	9,0992	3,1686	3,3464	4,3204	1,2018	0,1929
hígado	24,1147	1,8809	23,6180	33,2545	54,1727	4,7696
riñones	14,2266	4,1528	6,2070	7,2061	4,2061	1,5123
pulmones	14,4797	2,7960	5,2078	7,2810	5,4923	4,6341
intestino delgado	2,0956	0,0803	3,5548	1,8035	1,2922	0,6032
intestino grueso	1,5716	0,8096	0,4366	-	1,0259	0,5032
cerebro	0,6755	0,2338	0,4402	0,1057	0,0430	0,0773
vejiga	1,9351	2,1420	2,2929	1,3941	3,4975	5,8177
bazo	25,4263	6,0011	38,1082	-	62,2357	17,5694
estómago	2,4232	0,3667	2,3350	-	2,0358	1,6514
páncreas	2,4405	0,5887	1,8508	-	0,4643	0,3109
hueso (fémur + articulación)	3,4560	0,9882	2,7213	-	3,5851	1,4683
tiroides	3,5934	1,5023	0,0000	-	-0,4455	3,5100
cola	9,1381	7,4041	9,0877	-	28,4443	30,7841

Estudios *in vivo* de ²²⁵Ac-macropa-Tmab.

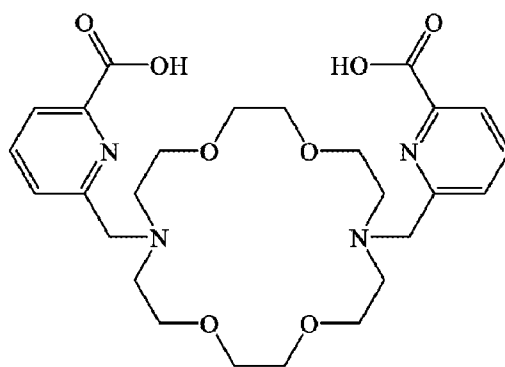
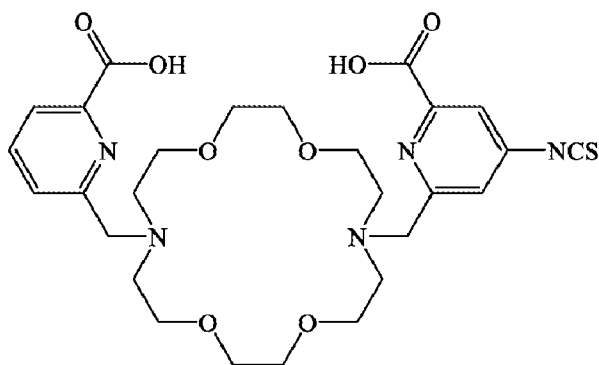
[0104] En los puntos temporales indicados en la siguiente tabla 4, se extrajo una parte alícuota del complejo en suero y se analizó directamente mediante radio-TLC o primero se mezcló con exceso de DTPA para retirar cualquier ^{225}Ac débilmente unido. Los valores corregidos por desintegración mostrados representan el % de la actividad asociada con el complejo en $R_f=0$ sobre la placa de TLC después de la exposición a una fase móvil de EDTA. Las incertidumbres expresadas (± 1 DE) se derivaron de la detección de placas de TLC por triplicado en cada punto temporal. El porcentaje de complejo intacto restante no fue significativamente diferente para las muestras sometidas a la prueba de DTPA en comparación con las que no la sufrieron ($p > 0,05$, prueba t de 2 colas). Los resultados demuestran que ^{225}Ac permanece fuertemente unido a macropa-Tmab en el suero humano a lo largo de un período de 7 días.

Tabla 4. Estabilidad del complejo (% de complejo intacto restante) de ^{225}Ac -macropa-Tmab en el suero humano a 37 °C.

	1 h	1 día	3 días	7 días
Sin provocación con DTPA	96,4 $\pm$ 0,9	99,0 $\pm$ 0,5	98,7 $\pm$ 0,6	99,2 $\pm$ 0,4
Con provocación con DTPA	-	91,5 $\pm$ 12	-	97,1 $\pm$ 1,6

Caracterización de ligandos macrocíclicos de dieciocho miembros para la quelación iónica

[0105] El radio-223 (^{223}Ra) es el primer radionucleido emisor alfa (α) terapéutico aprobado para uso clínico en pacientes con cáncer, y es eficaz para erradicar las metástasis óseas. Para aprovechar el potencial terapéutico de las partículas α en las metástasis de tejidos blandos, ha surgido la estrategia de la terapia alfa dirigida (TAT, por sus siglas en inglés), mediante la cual se conjugan radionucleidos emisores α letales con vectores dirigidos a tumores utilizando quelantes bifuncionales para administrar selectivamente radiación alfa citotóxica a las células cancerosas. Se examinó el uso de actinio-225 (^{225}Ac) en TAT debido a su larga vida media de 10 días que es compatible con vectores de focalización basados en anticuerpos y 4 emisiones α de alta energía que son extremadamente letales para las células. El macrociclo tetraaza de 12 miembros H_4DOTA es actualmente el estado de la técnica para la quelación del ion $^{225}\text{Ac}^{3+}$; sin embargo, las estabilidades termodinámicas de los complejos de H_4DOTA disminuyen a medida que aumenta el radio iónico del ion metálico, lo que indica que este ligando no es óptimo para la quelación del ion Ac^{3+} (el ion +3 más grande en la tabla periódica). Los complejos macrocíclicos de la tecnología actual proporcionan una mejora significativa e inesperada sobre los complejos conocidos, donde los presentes ejemplos ($\text{H}_2\text{macropa}$ y $\text{H}_2\text{macropa-NCS}$; **esquema 1**) ilustran los quelantes bifuncionales ^{225}Ac mejorados según la tecnología actual.

Esquema 1. Estructuras de H₂macropa (compuesto de referencia) y H₂macropa-NCS.**H₂macropa****macropa-NCS**

[0106] Estudios previos han demostrado que macropa, cuya afinidad termodinámica por toda la serie de los lantánidos se evaluó, es selectiva para los iones metálicos más grandes La³⁺, Pb²⁺ y Am³⁺ sobre los iones más pequeños Lu³⁺, Ca²⁺ y Cm³⁺.^[24-26] Sin querer limitarnos a la teoría, se creía que macropa podría quelar eficazmente el ion grande Ac³⁺. Antes de evaluar sus propiedades de quelación con Ac, se evaluó la formación de complejos *in situ* entre macropa y los iones fríos La³⁺ y Lu³⁺. En estos estudios, La³⁺ se usó como sustituto no radiactivo del ²²⁵Ac³⁺ porque es químicamente similar, aunque ligeramente más pequeño (1,03 Å, CN 6). Se investigó la formación de complejos del ion más pequeño Lu³⁺ (0,861 Å, CN 6) por macropa para evaluar su selectividad por tamaño. Las titulaciones de La³⁺ y Lu³⁺ confirmaron la alta afinidad de estos iones metálicos por macropa a pH 7,4, en consonancia con las constantes de estabilidad medidas previamente (log K_{LaL} = 14,99, log K_{LuL} = 8,25).^[24] Se investigó la inercia cinética de estos complejos formados *in situ* al someterlos a prueba de provocación con un exceso de quelantes de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), que tienen una mayor afinidad termodinámica que macropa por los iones Lu³⁺ y La³⁺.^[27] El ion Lu³⁺ se transqueló en 1 minuto tras la adición de solo 10 equivalentes de EDTA, mientras que el complejo de La³⁺ permaneció intacto hasta 21 días en presencia de 1000 equivalentes de DTPA. Estos resultados demuestran que, a pesar de una fuerte preferencia termodinámica por el DTPA para transquelar La³⁺, el alto nivel de inercia cinética del complejo de macropa inhibe este proceso en una escala de tiempo detectable.

[0107] Se aislaron los complejos de La³⁺ y Lu³⁺ de macropa y se dilucidaron sus estructuras en estado sólido mediante cristalografía de rayos X (**figuras 1A-1D**). Los iones La³⁺ y Lu³⁺ residen por encima del macrociclo de 18 miembros, y los dos brazos de picolinato están situados en el mismo lado del macrociclo. La esfera de coordinación del ion Lu³⁺ se satisface con los diez donantes de macropa con ambos brazos de picolinato desprotonados; por el contrario, el ion más grande La³⁺ forma un complejo de 11 coordinadas mediante la incorporación de una molécula de agua de esfera interna que penetra en el macrociclo. La capacidad de macropa para formar complejos estables de 11 coordinadas es de particular importancia porque estudios de EXAFS recientes han demostrado que Ac³⁺ prefiere un número de coordinación de 11 en soluciones acuosas.^[29,30]

[0108] Se examinó macropa para la quelación del ion radiactivo más grande ²²⁵Ac³⁺ y se comparó con DOTA. Ambos ligandos (59 μM) se incubaron con ²²⁵Ac (26 kBq) en tampón NH₄OAc 0,15 M a pH 5,5-6, y la reacción de formación de complejos se controló mediante radio-TLC después de 5 min. Sorprendentemente, macropa formó

complejos con todo el ^{225}Ac después de tan solo 5 min a TA, mientras que la DOTA solo formó complejos con el 10 % en estas condiciones. A una concentración 100 veces menor (0,59 μM) de macropa, una relación L:M de solo 1800, se completó el radiomarcado a temperatura ambiente en 5 min. A esta concentración, DOTA no logró formar un complejo con ^{225}Ac . En conjunto, estos estudios revelan que macropa presenta una excelente cinética de radiomarcado a temperatura ambiente y a una concentración de ligando submicromolar, condiciones en las que el DOTA falla.

[0109] La vida media larga de ^{225}Ac necesita su retención estable del complejo *in vivo* para evitar daños fuera del objetivo a los tejidos normales que surgen de la liberación de $^{225}\text{Ac}^{3+}$ libre. Además, la estabilidad de los complejos de ^{225}Ac frente a la transmetalación y la transquelación debe ser alta. Para determinar la inercia cinética, se sometió a prueba de provocación $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$ con La^{3+} debido a la alta afinidad establecida de macropa por este ion metálico. Se añadió un exceso de 50 veces de La^{3+} con respecto a la concentración de ligando a soluciones de macropa marcadas con radioactividad con ^{225}Ac (0,59 μM) a TA. Durante 7 días, el 98 % del complejo de ^{225}Ac permaneció intacto mediante radio-TLC, lo que significa que un gran equivalente molar de La^{3+} no puede desplazar $^{225}\text{Ac}^{3+}$. También se evaluó la estabilidad de $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$ en suero humano mediante radio-TLC y se reveló que $^{225}\text{Ac}^{3+}$ permanece en complejo con macropa durante al menos 8 días.

Evaluación de la biodistribución de complejos $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$

[0110] Se examinó la estabilidad *in vivo* de $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$ comparando su biodistribución con las de $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ y $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$. Se inyectaron a ratones C57BL/6 en la vena de la cola entre 10 y 50 kBq de cada complejo radiometálico y fueron sacrificados después de 15 min, 1 h o 5 h. La cantidad de ^{225}Ac retenida en cada órgano se cuantificó mediante recuento gamma y se constató como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido (% de DI/g). Los resultados de estos estudios se compilan en las tablas 1-3. La estabilidad inadecuada de un complejo de ^{225}Ac que conduce a la pérdida del radioisótopo *in vivo* se manifiesta por la acumulación de ^{225}Ac en el hígado, el bazo y el hueso de los ratones.^[11,12,32] La **figura 2A** demuestra una depuración y excreción sanguínea lentas, acopladas a una gran acumulación en el hígado y el bazo del $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$ no complejoado. El perfil de biodistribución de $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$ (figura 3B) difiere notablemente del de $^{225}\text{Ac}(\text{NO}_3)_3$. $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$ se eliminó rápidamente de los ratones, con muy poca actividad medida en sangre 1 h después de la inyección. La mayor parte de la dosis inyectada se excretó por vía renal y posteriormente se detectó en la orina, lo que demuestra la moderada captación renal y vesical de $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$ observada en ratones a los 15 min y 1 h después de la inyección. Cabe destacar que $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$ no se acumuló en ningún órgano a lo largo del tiempo del estudio, lo que indica que el complejo no libera $^{225}\text{Ac}^{3+}$ libre *in vivo*. Su perfil de biodistribución fue similar al de $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{DOTA})]^-$ (figura 3C), que previamente había demostrado retener $^{225}\text{Ac}^{3+}$ *in vivo*.^[7]

Síntesis y caracterización de complejos $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$ TAT

[0111] Debido a la estabilidad inherente de los complejos $[\text{}^{225}\text{Ac}(\text{macropa})]^+$, se incorporó macropa en construcciones dirigidas a tumores. Para facilitar su conjugación, se instaló un grupo funcional isotiocianato reactivo en uno de los brazos de picolinato de macropa para proporcionar el nuevo ligando bifuncional macropa-NCS (**esquema 1**). Como se ilustró anteriormente, macropa-NCS se sintetizó en 8 pasos y se caracterizó mediante técnicas convencionales. Para un constructo dirigido al tumor, se conjugó macropa-NCS con trastuzumab (Tmab), un anticuerpo monoclonal aprobado por la FDA que se dirige al receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) en el cáncer de mama y otros tipos de cáncer.^[33] Con una vida media biológica de varias semanas,^[34,35] Tmab es un vector ideal para transportar el radionucleido ^{225}Ac de larga duración a las células tumorales. ^{225}Ac -macropa-Tmab mostró una excelente estabilidad en suero humano a 37 °C; después de 7 días, > 99 % del complejo permaneció intacto (tabla 4). En conjunto, estos resultados destacan la eficacia de macropa como quelante para ^{225}Ac en construcciones de anticuerpos, así como en otras construcciones dirigidas al cáncer.

REFERENCIAS:

[0112]

1. M. R. McDevitt, D. Ma, L. T. Lai, J. Simon, P. Borchardt, R. K. Frank, K. Wu, V. Pellegrini, M. J. Curcio, M. Miederer, *et al.*, Science 2001, 294, 1537.

11. I. A. Davis, K. A. Glowienka, R. A. Boll, K. A. Deal, M. W. Brechbiel, M. Stabin, P. N. Bochsler, S. Mirzadeh, S. J. Kennel, Nucl. Med. Biol. 1999, 26, 581.

12. K. A. Deal, I. A. Davis, S. Mirzadeh, S. J. Kennel, M. W. Brechbiel, J. Med. Chem. 1999, 42, 2988.

24. A. Roca-Sabio, M. Mato-Iglesias, D. Esteban-Gómez, É. Tóth, A. de Blas, C. Platas-Iglesias, T. Rodríguez-Blas, J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 3331.

25. R. Ferreirós-Martínez, D. Esteban-Gómez, É. Tóth, A. de Blas, C. Platas-Iglesias, T. Rodríguez-Blas, *Inorg. Chem.* 2011, 50, 3772.
- 5 26. M. P. Jensen, R. Chiarizia, I. A. Shkrob, J. S. Ulicki, B. D. Spindler, D. J. Murphy, M. Hossain, A. Roca-Sabio, C. Platas-Iglesias, A. de Blas, *et al.*, *Inorg. Chem.* 2014, 53, 6003.
27. A. E. Martell, R. M. Smith, *Critical Stability Constants: Vol. 1*, Plenum Press, Nueva York; Londres, 1974.
- 10 29. M. G. Ferrier, E. R. Batista, J. M. Berg, E. R. Birnbaum, J. N. Cross, J. W. Engle, H. S. La Pierre, S. A. Kozimor, J. S. Lezama Pacheco, B. W. Stein, *et al.*, *Nat. Commun.* 2016, 7, 12312.
30. M. G. Ferrier, B. W. Stein, E. R. Batista, J. M. Berg, E. R. Birnbaum, J. W. Engle, K. D. John, S. A. Kozimor, J. S. Lezama Pacheco, L. N. Redman, *ACS Cent. Sci.* 2017, 3, 176.
- 15 32. G. J. Beyer, R. Bergmann, K. Schomäcker, F. Rösch, G. Schäfer, E. V. Kulikov, A. F. Novgorodov, *Isot. Environ. Heal. Stud.* 1990, 26, 111.
33. M. M. Moasser, *Oncogene* 2007, 26, 6469.
- 20 34. B. Leyland-Jones, K. Gelmon, J.-P. Ayoub, A. Arnold, S. Verma, R. Dias, P. Ghahramani, *J. Clin. Oncol.* 2003, 21, 3965.
35. D. Leveque, L. Gigou, J. P. Bergerat, *Curr. Clin. Pharmacol.* 2008, 3, 51.
- 25 37. A. P. Kozikowski, F. Nan, P. Conti, J. Zhang, E. Ramadan, T. Bzdega, B. Wroblewska, J. H. Neale, S. Pshenichkin, J. T. Wroblewski, *J. Med. Chem.* 2001, 44, 298.
38. K. P. Maresca, S. M. Hillier, F. J. Femia, D. Keith, C. Barone, J. L. Joyal, C. N. Zimmerman, A. P. Kozikowski, J. A. Barrett, W. C. Eckelman, *et al.*, *J. Med. Chem.* 2009, 52, 347.
- 30 39. S. M. Hillier, K. P. Maresca, F. J. Femia, J. C. Marquis, C. A. Foss, N. Nguyen, C. N. Zimmerman, J. A. Barrett, W. C. Eckelman, M. G. Pomper, *et al.*, *Cancer Res.* 2009, 69, 6932.
40. J. A. Barrett, R. E. Coleman, S. J. Goldsmith, S. Vallabhajosula, N. A. Petry, S. Cho, T. Armor, J. B. Stubbs, K. P. Maresca, M. G. Stabin, *et al.*, *J. Nucl. Med.* 2013, 54, 380.
- 35 41. J. Kelly, A. Amor-Coarasa, A. Nikolopoulou, D. Kim, C. Williams Jr., S. Ponnala, J. W. Babich, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2017, 44, 647.
- 40 42. A. Ghosh, W. D. W. Heston, *J. Cell. Biochem.* 2004, 91, 528.
43. M. S. Dennis, M. Zhang, Y. Gloria Meng, M. Kadkhodayan, D. Kirchhofer, D. Combs, L. A. Damico, *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 35035.
- 45 44. C. E. Dumelin, S. Trüssel, F. Buller, E. Trachsel, F. Bootz, Y. Zhang, L. Mannocci, S. C. Beck, M. Drumea-Mirancea, M. W. Seeliger, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008, 47, 3196.
- 50 102. M. Mato-Iglesias, A. Roca-Sabio, Z. Pálinkás, D. Esteban-Gómez, C. Platas-Iglesias, É. Tóth, A. de Blas, T. Rodríguez-Blas, *Inorg. Chem.* 2008, 47, 7840-7851.
103. A. Roca-Sabio, M. Mato-Iglesias, D. Esteban-Gómez, É. Tóth, A. de Blas, C. Platas-Iglesias, T. Rodríguez-Blas, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 3331-3341.
- 55 104. V. J. Gatto, G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106, 8240-8244.
105. E. R. Neil, M. A. Fox, R. Pal, L.-O. Palsson, B. A. O'Sullivan, D. Parker, *Dalton Trans.* 2015, 44, 14937-14951.
- 60 106. Z. E. A. Chamas, X. Guo, J.-L. Canet, A. Gautier, D. Boyer, R. Mahiou, *Dalton Trans.* 2010, 39, 7091-7097.
108. D. T. Corson, C. F. Meares, *Bioconjug. Chem.* 2000, 11, 292-299. 109. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* 2015, 71, 3-8.
- 65 110. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* 2008, 64, 112-122.

111. P. Müller, *Crystallogr. Rev.* 2009, 15, 57-83.

112. O. V Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, *J. Appl. Crystallogr.* 2009, 42, 339-341.

113. J. Dilling, R. Krücken, L. Merminga, Eds., *ISAC and ARIEL: The TRIUMF Radioactive Beam Facilities and the Scientific Program*, Springer, Dordrecht, Países Bajos, 2014.

114. J. R. Crawford, P. Kunz, H. Yang, P. Schaffer, T. J. Ruth, *Appl. Radiat. Isot.* 2017, 122, 222-228.

115. B. Zielinska, C. Apostolidis, F. Bruchertseifer, A. Morgenstern, *Solvent Extr. Ion Exch.* 2007, 25, 339-349.

116. V. Radchenko, J. W. Engle, J. J. Wilson, J. R. Maassen, F. M. Nortier, W. A. Taylor, E. R. Birnbaum, L. A. Hudston, K. D. John, M. E. Fassbender, *J. Chromatogr. A* 2015, 1380, 55-63.

117. M. P. Miranda-Hernández, E. R. Valle-González, D. Ferreira-Gómez, N. O. Pérez, L. F. Flores-Ortiz, E. Medina-Rivero, *Anal. Bioanal. Chem.* 2016, 408, 1523-1530.

118. E. W. Price, K. J. Edwards, K. E. Camazza, S. D. Carlin, B. M. Zeglis, M. J. Adam, C. Orvig, J. S. Lewis, *Nucl. Med. Biol.* 2016, 43, 566-576.

119. J. Kelly, A. Amor-Coarasa, A. Nikolopoulou, D. Kim, C. Williams, S. Ponnala, J. W. Babich, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 2017, 44, 647-661.

[0113] Si bien se han ilustrado y descrito ciertas formas de realización, una persona con conocimientos ordinarios en la técnica, después de leer la especificación anterior, puede efectuar cambios, sustituciones de equivalentes y otros tipos de alteraciones a los compuestos de la tecnología actual o sales, composiciones farmacéuticas, tautómeros o mezclas racémicas de los mismos, como se establece en el presente documento. Cada aspecto y forma de realización anteriormente descritos también pueden tener incluidos o incorporados dichos aspectos o dichas variaciones, como se describe con respecto a cualquiera o todos los otros aspectos y las formas de realización.

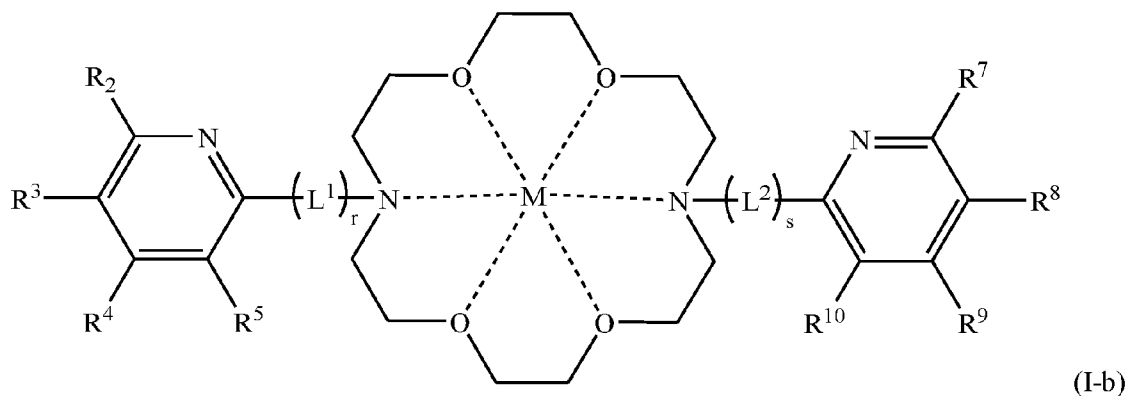
[0114] Las formas de realización, ilustrativamente descritas en este documento, se pueden practicar adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no específicamente descritos en este documento. Por lo tanto, por ejemplo, los términos "que comprende/n", "que incluye/n", "que contiene/n", etc. se deben leer de manera expansiva y sin limitación. Además, los términos y las expresiones empleados en este documento se han usado como términos descriptivos y no limitativos, y no existe intención en el uso de dichos términos y dichas expresiones de excluir ningún equivalente de las características mostradas y descritas o porciones de las mismas, pero se reconoce que son posibles varias modificaciones dentro del alcance de la tecnología reivindicada. Además, se entenderá que la estructura "que consiste/n esencialmente en" incluye aquellos elementos específicamente enumerados y aquellos elementos adicionales que no afectan materialmente a las características básicas y novedosas de la tecnología reivindicada. La estructura "que consiste/n en" excluye cualquier elemento no especificado.

[0115] Además, cuando las características o los aspectos de la divulgación se describen en términos de grupos Markush, los expertos en la técnica reconocerán que la divulgación también se describe en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo Markush. Cada una de las especies más acotadas y los grupos subgenéricos que se encuentran dentro de la descripción genérica también forman parte de la invención. Esto incluye la descripción genérica de la invención con una condición o limitación negativa que elimina cualquier materia del género, independientemente de si el material eliminado se menciona específicamente o no en este documento.

[0116] Como entenderá un experto en la técnica, para cualquier propósito, particularmente en términos de proporcionar una descripción escrita, todos los rangos divulgados en este documento también abarcan todos y cada uno de los subrangos posibles y combinaciones de subrangos de los mismos. Cualquier rango enumerado puede reconocerse fácilmente como suficientemente descriptivo y que permite que el mismo rango se descomponga en al menos mitades, tercios, cuartos, quintos, décimos, etc. iguales. Como ejemplo no limitativo, cada rango analizado en el presente documento se puede desglosar fácilmente en un tercio inferior, un tercio medio y un tercio superior, etc. Como también entenderá un experto en la técnica, todos los términos como "hasta", "al menos", "mayor que", "menor que" y similares, incluyen el número mencionado y se refieren a rangos que pueden desglosarse posteriormente en subrangos, como se explicó anteriormente. Finalmente, como entenderá un experto en la técnica, un rango incluye cada miembro individual.

REIVINDICACIONES

1. Composición de fórmula I-b



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, donde

M es un radionucleido emisor alfa seleccionado preferentemente de entre actinio-225 ($^{225}\text{Ac}^{3+}$), radio-223 ($^{223}\text{Ra}^{2+}$), bismuto-213 ($^{213}\text{Bi}^{3+}$), plomo-212 ($^{212}\text{Pb}^{2+}$ y/o $^{212}\text{Pb}^{4+}$), terbio-149 ($^{149}\text{Tb}^{3+}$), fermio-255 ($^{255}\text{Fm}^{3+}$), torio-227 ($^{227}\text{Th}^{4+}$), torio-226 ($^{226}\text{Th}^{4+}$), astato-211 ($^{211}\text{At}^{+}$), astato-217 ($^{217}\text{At}^{+}$) y uranio-230;

R^2 Y R^7 son $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$;

R^9 es NCS o NH_2 ;

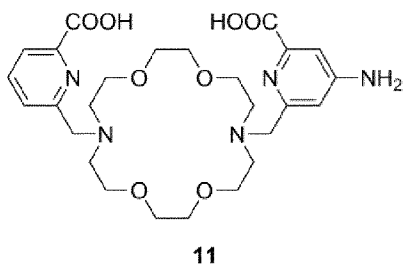
R^3 , R^4 , R^5 , R^8 y R^{10} son cada uno H;

L^1 Y L^2 son cada uno $-(\text{CH}_2)_p$, donde p es un valor de 1;

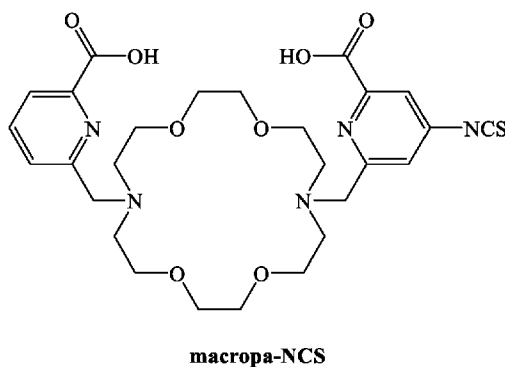
r es 1; y

s es 1.

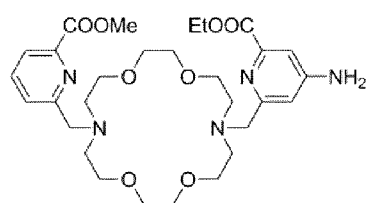
2. Compuesto que tiene la fórmula 11:



3. Compuesto que tiene la fórmula macropa-NCS:



4. Compuesto que tiene la fórmula 10:



10

FIG. 1A

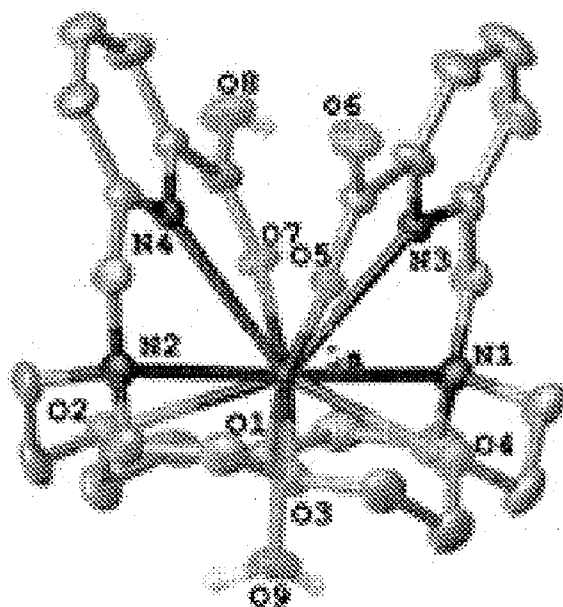


FIG. 1B

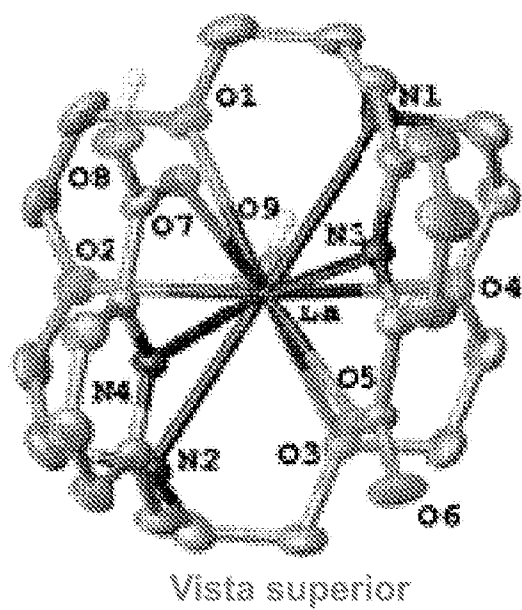


FIG. 1C

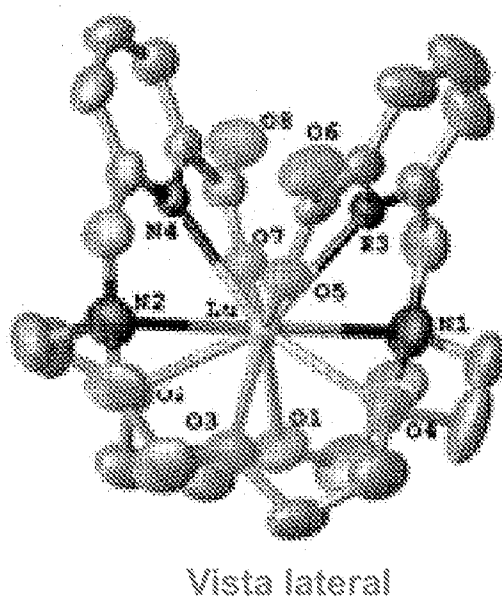


FIG. 1D

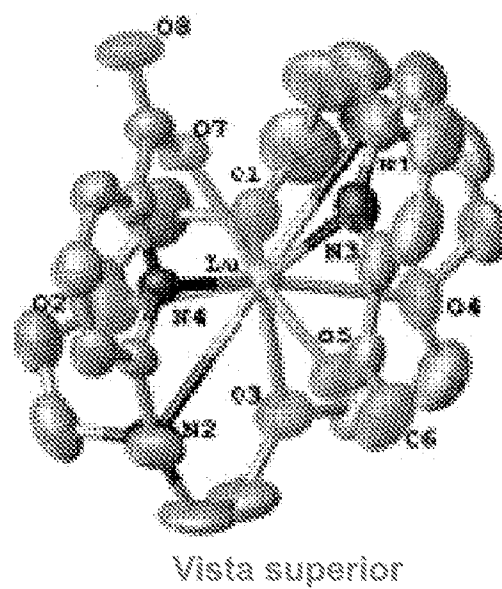


FIG. 2A

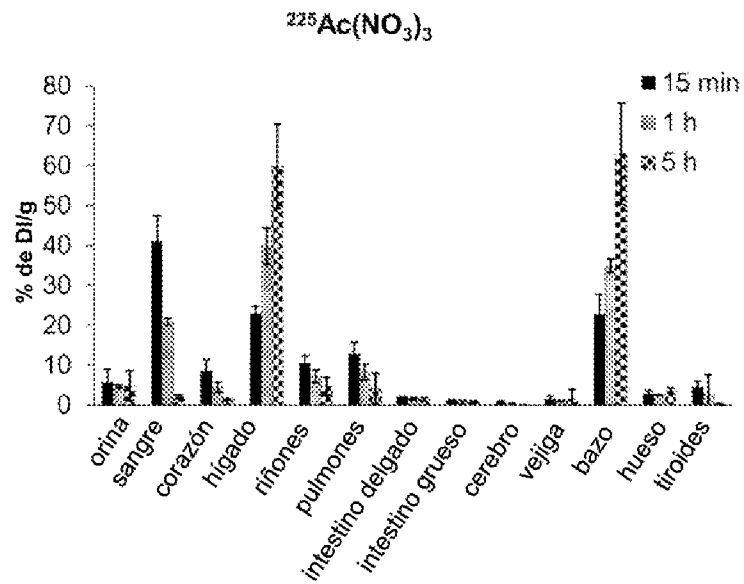


FIG. 2B

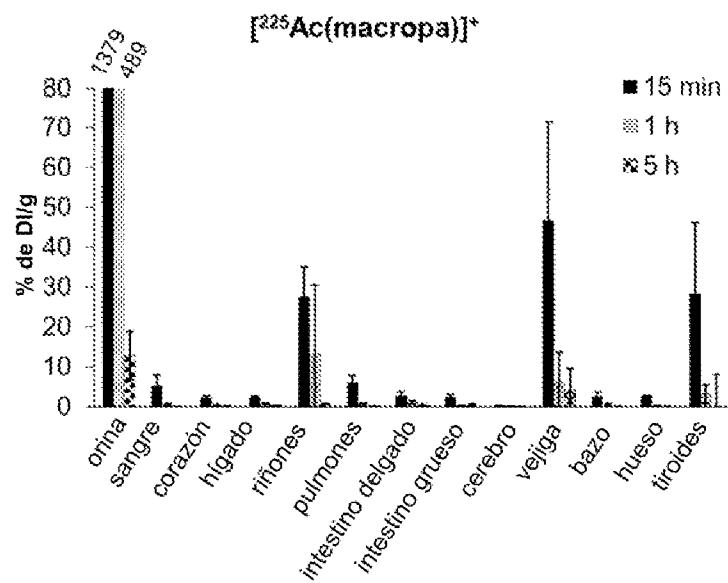


FIG. 2C

