

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 015 456**

51 Int. Cl.:

C07D 471/08 (2006.01)

A61K 49/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2019** **E 22205189 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.01.2025** **EP 4151637**

54 Título: **Agentes de contraste basados en PCTA que comprenden gadolinio**

30 Prioridad:

06.08.2018 EP 18187422

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.05.2025

73 Titular/es:

BRACCO IMAGING SPA (100.00%)
Via Egidio Folli 50
20134 Milan, IT

72 Inventor/es:

NAPOLITANO, ROBERTA;
LATTUADA, LUCIANO;
BARANYAI, ZSOLT;
GUIDOLIN, NICOLE y
MARAZZI, GIUSEPPE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 3 015 456 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

Agentes de contraste basados en PCTA que comprenden gadolinio

Campo de la invención

La presente invención se refiere en general al campo de la formación de imágenes por resonancia magnética (MRI). Más en particular, se refiere a isómeros de agentes de contraste basados en PCTA, y a agentes de contraste de MRI enriquecidos con estos isómeros.

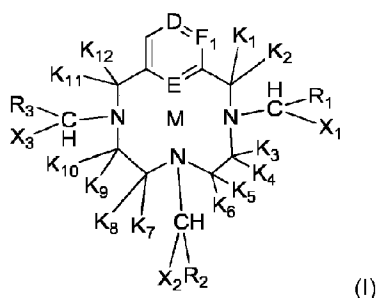
Antecedentes de la invención

Los agentes de contraste de MRI usados en la práctica diagnóstica diaria incluyen típicamente compuestos de complejo de gadolinio caracterizados por constantes elevadas de estabilidad que garantizan contra la liberación in vivo del ion metálico libre (que se sabe que es extremadamente tóxico para los organismos vivos).

Otro parámetro clave en la definición de la tolerabilidad de un agente de contraste a base de gadolinio es la inercia cinética (o estabilidad cinética) del complejo de Gd(III), que se estima a través de la vida media ($t_{1/2}$) de la disociación (es decir, descomplejación) del complejo.

Una alta inercia se vuelve crucial en particular para aquellos compuestos complejos que tienen una estabilidad termodinámica más baja y/o un tiempo de retención más largo antes de la excreción, con el fin de evitar o minimizar posibles reacciones de descomplejación o transmetalación.

El documento EP1931673 (Guerbet) describe derivados de PCTA de fórmula



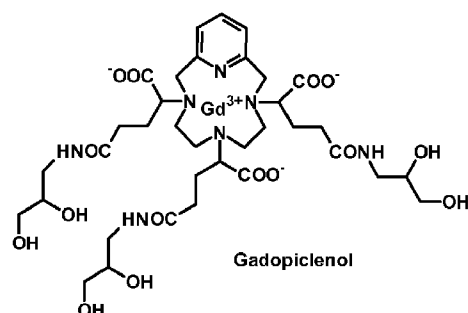
(I)

y una ruta sintética para su preparación.

El documento EP 2988756 (el mismo Solicitante) describe una composición farmacéutica que comprende los derivados anteriores junto con un complejo de calcio del ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético. Según el documento EP 2988756, el complejo de calcio compensa la estabilidad termodinámica débil observada para los complejos de gadolinio basados en PCTA, al formar, a través de la transmetalación, un complejo fuerte con el ion lantánido libre, aumentando así la tolerabilidad del agente de contraste.

Tanto el documento EP1931673 como EP 2988756 se refieren además a enantiómeros o diastereoisómeros de los compuestos reivindicados, o mezclas de los mismos, escogidos preferentemente de los diastereoisómeros RRS, RSR y RSS.

Ambas patentes anteriores describen, entre los derivados específicos, ($\alpha 3, \alpha 6, \alpha 9$)-tris(3-((2,3-dihidroxipropil)amino)-3-oxopropil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo(9.3.1)pentadeca-1(15),11,13-triene-3,6,9-triacetato(3-)-($\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9$)gadolinio, identificado más recientemente como quelato de gadolinio de ácido 2,2',2''-(3,6,9-triaza-1(2,6)-piridinaciclodecafano-3,6,9-triil)tris(5-((2,3-dihidroxipropil)amino)-5-oxopentanoico), (número de Registro CAS: 933983-75-6), que tiene la siguiente fórmula

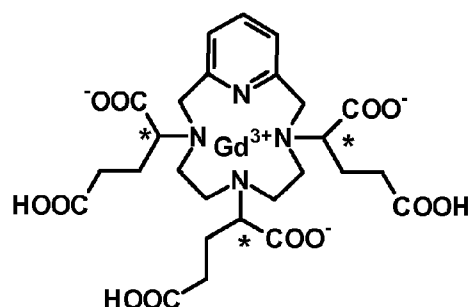


identificado de otro modo como P03277 o Gadopichlenol.

- 5 Para Gadopichlenol, el documento EP1931673 da a conocer una relaxividad de $11 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Gd}^{-1}$ (en agua, a 0,5 T, 37°C), mientras el documento EP 2988756 da a conocer una constante de equilibrio termodinámica de $10^{-14,9}$ ($\log K^{\text{term}} = 14,9$).

Además, para este mismo compuesto, se ha dado a conocer por el titular un valor de relaxividad de $12,8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ en suero humano (37°C , 1,41 T), una estabilidad ($\log K^{\text{term}}$) de 18,7, y una vida media de disociación (a pH 1,2; 37°C) de alrededor de 20 días (Investigative Radiology 2019, Vol 54, (8), 475-484).

- 10 El precursor para la preparación de los derivados de PCTA descrito por el documento EP1931673 (incluyendo Gadopichlenol) es el complejo de Gd del 3,6,9,15-tetraazabicyclo-[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-tri(α-ácido glutárico) que tiene la siguiente fórmula



- 15 Gd(PCTA-tris-ácido glutárico)
- identificado aquí como "Gd(PCTA-tris-ácido glutárico)". En particular, el Gadopichlenol se obtiene por amidación del compuesto anterior con isoserinol.

- 20 Según lo observado por el Solicitante, Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) tiene tres estereocentros en los restos glutáricos (identificados con un asterisco (*) en la estructura anterior) que conducen a un $2^3 = 8$ posibles estereoisómeros. Más particularmente, la estructura anterior puede generar cuatro pares de enantiómeros, esquematizados en la siguiente Tabla 1

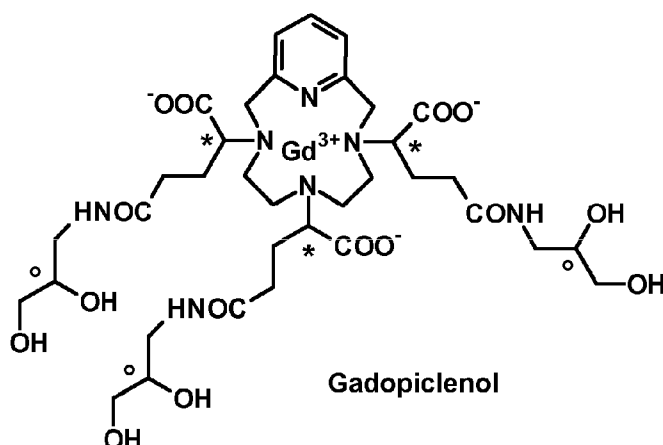
Tabla 1

RRR	SSS
RSR	SRS
RRS	SSR
RSS	SRR

El isómero RRR es la imagen especular del isómero SSS, y esa es la razón por la que se denominan enantiómeros (o pares de enantiómeros). Como se sabe, los enantiómeros muestran las mismas propiedades fisicoquímicas y solo se pueden distinguir utilizando metodologías quirales, tales como la cromatografía quiral o la luz polarizada.

- 5 Por otro lado, el isómero RRR no es igual ni es la imagen especular de ninguno de los otros seis isómeros anteriores; estos otros isómeros se identifican así como diastereoisómeros del isómero RRR (o SSS). Los diastereoisómeros pueden mostrar diferentes propiedades fisicoquímicas (por ejemplo, punto de fusión, solubilidad en agua, relaxividad, etc.).

- 10 Con respecto al Gadopíclenol, su estructura química contiene un total de seis estereocentros, tres en los restos glutáricos del precursor como se discutió anteriormente y uno en cada uno de los tres restos isoserinol unidos al mismo, identificados en la siguiente estructura con un asterisco (*) y con un círculo vacío (°), respectivamente:



Esto conduce a un número teórico total de $2^6 = 64$ estereoisómeros para este compuesto.

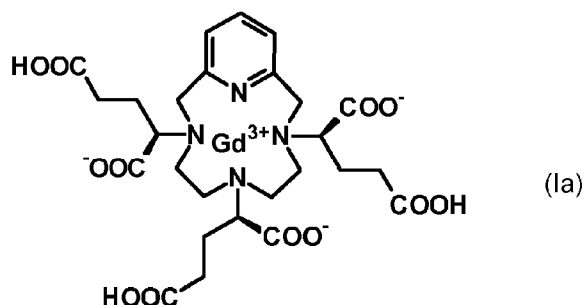
- 15 Sin embargo, ni el documento EP1931673 ni el documento EP 2988756 describen la composición exacta de la mezcla isomérica obtenida siguiendo la ruta sintética dada a conocer, ni ninguno de ellos proporciona ninguna enseñanza para la separación y caracterización de ninguno de estos isómeros, ni describen ninguna síntesis estereoespecífica de Gadopíclenol.

Sumario de la invención

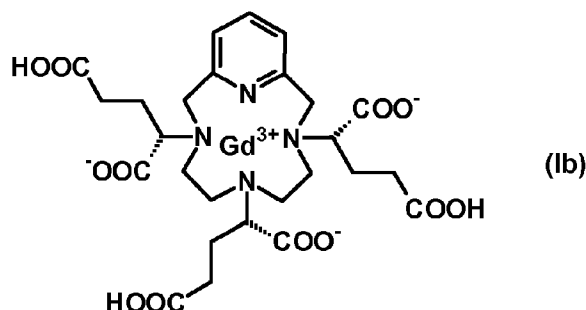
- 20 El solicitante ha descubierto ahora que los isómeros específicos del precursor anterior Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) y de sus derivados (en particular Gadopíclenol) poseen propiedades físico-químicas mejoradas, entre otras en términos de relaxividad e inercia cinética.

Una realización de la invención se refiere a un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

- 25 el enantiómero $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})\text{-}3,6,9,15\text{-tetraazabicyclo}[9.3.1]\text{pentadeca-}1(15), 11, 13\text{-trien-}3,6,9\text{-triacetato}(3\text{-})-\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ (enantiómero RRR) que tiene la fórmula (Ia):



el enantiómero $[(\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})\text{-}3,6,9,15\text{-tetraazabicyclo[}9.3.1\text{]pentadeca-}1(15),11,13\text{-trien-}3,6,9\text{-triacetato}(3\text{-})\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ (enantiómero SSS) que tiene la fórmula (Ib):



5

las mezclas de tales enantiómeros RRR y SSS, y una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Otra realización de la invención se refiere a una mezcla isomérica de $Gd(\text{PCTA-tris-ácido glutárico})$ que comprende al menos 50% del isómero RRR $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})\text{-}3,6,9,15\text{-tetraazabicyclo[}9.3.1\text{]pentadeca-}1(15),11,13\text{-trien-}3,6,9\text{-triacetato}(3\text{-})\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$, de fórmula (Ia), o del isómero SSS $[(\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})\text{-}3,6,9,15\text{-tetraazabicyclo[}9.3.1\text{]pentadeca-}1(15),11,13\text{-trien-}3,6,9\text{-triacetato}(3\text{-})\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ de fórmula (Ib), o de una mezcla de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

10

Otro aspecto de la invención se refiere a las amidas obtenidas por conjugación de uno de los compuestos anteriores o mezcla isomérica con un grupo amino, por ejemplo, preferiblemente, serinol o isoserinol.

15 Una realización de la invención se refiere a un derivado de amida de fórmula (II A)

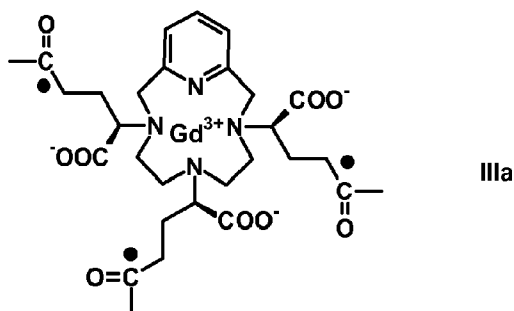


en la que:

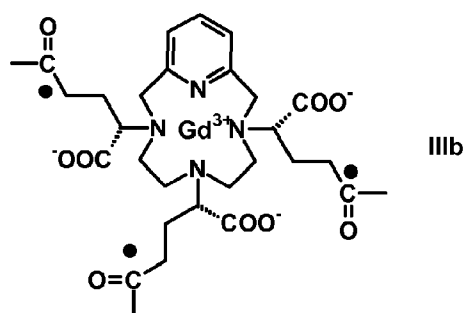
F es:

un resto de enantiómero RRR de fórmula IIIa

20



un resto de enantiómero SSS de fórmula IIIb



o una mezcla de tales restos de enantiómeros RRR y SSS;

y cada uno de los tres grupos $-NR_1R_2$ está unido a un enlace abierto de un resto carboxilo respectivo de F, identificado con un círculo en negro (●) en las estructuras anteriores;

R_1 es H o alquilo de C_1 - C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo;

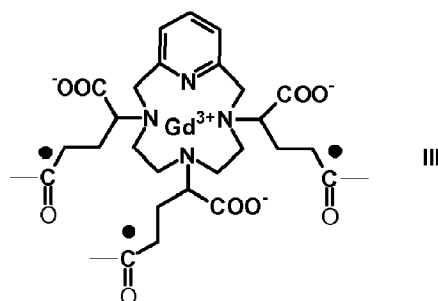
R_2 es un alquilo de C_1 - C_6 opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo, y preferiblemente un alquilo de C_1 - C_3 sustituido con uno o dos grupos hidroxilo.

Otra realización de la invención se refiere a una mezcla isomérica de un derivado de amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) que tiene la fórmula (II B)



en la que:

F' es una mezcla isomérica de un resto de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) de fórmula (III)



comprendiendo dicha mezcla isomérica del resto de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) al menos 50% de un resto enantiomérico de la fórmula anterior (IIIa), del resto enantiomérico de la fórmula anterior (IIIb), o de una mezcla de los mismos; y

cada uno de los grupos $-NR_1R_2$ está unido a un enlace abierto de un resto carboxilo respectivo de F' , identificado con un círculo en negro (●) en la estructura anterior, y es como se definió anteriormente para los compuestos de fórmula (II A).

Un aspecto adicional de la invención se refiere a una sal farmacéuticamente aceptable de los enantiómeros RRR o SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) o, preferiblemente, de una mezcla RRR/SSS de los mismos, o de una mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) que comprende al menos 50% de cualquiera de estos enantiómeros o mezclas de enantiómeros RRR/SSS, o un derivado de amida del mismo de la fórmula anterior (II A) o (II B), para uso como agente de contraste de MRI, en particular para la formación de imágenes de diagnóstico de un órgano o tejido corporal humano o animal mediante el uso de la técnica de MRI.

Un aspecto adicional se refiere a una composición farmacéuticamente aceptable que comprende al menos un compuesto o mezcla isomérica según la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable o derivado de amida del mismo como se definió anteriormente, en mezcla con uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente aceptables.

En otro aspecto, la invención se refiere a una síntesis estereoselectiva del isómero RRR o SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), o de una sal del mismo.

Una realización de la invención se refiere a un procedimiento para la preparación sintética de un derivado de amida de fórmula (II A)



en la que F, R₁ y R₂ son como se afirman anteriormente, que comprende:

a) obtener el isómero RRR o el SSS del complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), o una mezcla de los mismos; y

b) convertir el isómero o la mezcla de isómeros obtenidos en la etapa a) en el derivado de amida del mismo;

10 así como a un procedimiento para la preparación de una mezcla isomérica de un derivado de amida de la fórmula anterior (II B), que comprende:

a') obtener una mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) que comprende al menos 50% del enantiómero RRR, o SSS, o de una mezcla de los mismos;

15 b') convertir la mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) obtenida en la etapa a') en la correspondiente mezcla isomérica del respectivo derivado de amida.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra el cromatograma de HPLC del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) recogido como una mezcla isomérica del Ejemplo 1, realizado siguiendo el procedimiento de síntesis descrito por la técnica anterior ([GdL] = 0,2 mM, 25°C).

20 La Figura 2 muestra un cromatograma de HPLC del par C de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) obtenido en el Ejemplo 3.

La Figura 3 muestra el espectro de MS del pico principal de la figura 2. Relación m/z Gd(H₄L)⁺:752,14 m/z.

25 La Figura 4 muestra los cromatogramas de HPLC de: a) mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) del Ejemplo 1; b) par de enantiómeros C (Compuesto VI del Ejemplo 3); c) enantiómero RRR (Compuesto XII del Ejemplo 5), y d) enantiómero SSS (Compuesto XVII del Ejemplo 6).

La Figura 5 muestra los cromatogramas de HPLC quiral de: a) par de enantiómeros C (Compuesto VI del Ejemplo 3), b) enantiómero RRR (Compuesto XII del Ejemplo 5), y c) enantiómero SSS (Compuesto XVII del Ejemplo 6) del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico).

30 La Figura 6 muestra los cromatogramas de HPLC de los derivados de amida obtenidos por reacción de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con isoserinol. a): derivado de amida obtenido como una mezcla isomérica del Ejemplo 2, en el que los 4 picos principales se identifican, por conveniencia, como A', B', C' y D'; b): derivado de amida obtenido por reacción de RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con R-isoserinol; c): derivado de amida obtenido por reacción de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con S-isoserinol; y d): derivado de amida obtenido por reacción de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con isoserinol racémico.

35 La Figura 7 se refiere al ensayo del Ejemplo 7, y muestra los valores del área de HPLC de los picos A (◇), B (□), C (Δ) y D (O) en función del tiempo ([GdL]=0,2 mM, [HCl]=1,0 M, 25°C).

40 La Figura 8 se refiere al ensayo del Ejemplo 8, y muestra los valores del área de HPLC en función del tiempo: área total de la mezcla isomérica (◇); RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) + R isoserinol (□); RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) + S isoserinol (Δ); RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) + isoserinol racémico (O). ([GdL]=0,2 mM, [HCl]=1,0 M, 25°C).

La Figura 9 muestra la estructura de rayos X de un monocristal del complejo ternario Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) - oxalato con contraión de guanidina de fórmula {(C(NH₂)₃)₂[Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)(C₂O₄)]}·1H₂O que muestra la quiralidad RRR de los átomos de carbono quirales (identificados) de los colgantes de ácido glutámico.

La Figura 10 muestra la celda unitaria del cristal de la figura 9, que contiene complejos 2RRR+2SSS.

45 La Figura 11 muestra la estructura de rayos X de un monocristal obtenido a partir de un complejo ternario formado entre el anión carbonato y el compuesto de amida D' obtenido por reacción de acoplamiento de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con isoserinol racémico, y análisis estadístico de los cristales recogidos.

Descripción detallada de la invención

El procedimiento sintético descrito por la técnica anterior, (véase el documento US6.440.956 citado por el documento EP1931673) permite obtener Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) como una mezcla de isómeros (de otro modo identificada aquí como "mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)"), apreciable como varios picos en HPLC.

Se ha solicitado un método de HPLC preparativa, que permite separar cuatro picos de la mezcla, que tienen la misma relación m/z (Gd(H₄L)+:752,14 m/z).

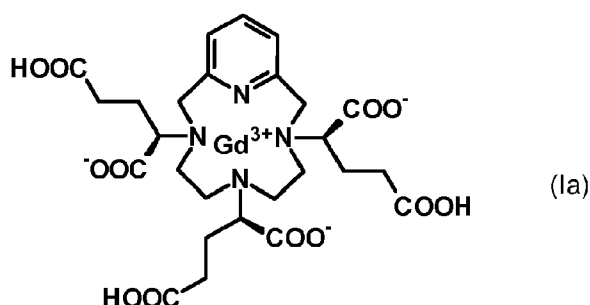
En la Figura 1 se muestra un cromatograma representativo de la mezcla isomérica resuelta, en la que cada pico, por conveniencia identificado por una letra, A, B, C y D respectivamente, es razonablemente atribuible a uno de los pares de enantiómeros identificados anteriormente. Más precisamente, cada pico está relacionado con un par de enantiómeros, caracterizados por la misma relación m/z en los espectros de MS que no se pueden discriminar más con HPLC de fase inversa normal.

Ahora hemos descubierto inesperadamente que el par de enantiómeros relacionado con el pico C del cromatograma de HPLC (o el par de enantiómeros C, como se usa de aquí en adelante indistintamente) muestra propiedades óptimas, especialmente en términos de inercia cinética y tendencia reducida a liberar Gd.

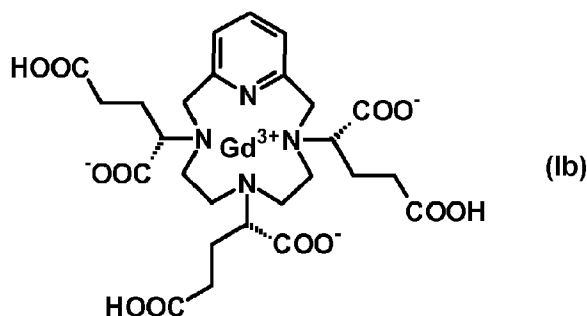
Por ejemplo, encontramos que el par de enantiómeros C tiene una vida media de disociación (en HCl 1 M) algunas decenas de veces mayor con respecto al par de enantiómeros asociado con el pico B, y más de diez veces mayor que la vida media promedio de la mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico).

Además, el valor de relaxividad asociado con el par de enantiómeros relacionado con el pico C es significativamente mayor que el dado a conocer en el documento 1931673 B1 para la mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), ensayada en las mismas condiciones.

Este par de enantiómeros C demostró comprender: [(α R, α' R, α'' R)- α,α',α'' -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- κ N3, κ N6, κ N9, κ N15, κ O3, κ O6, κ O9]-gadolinio, a saber, el isómero RRR del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de fórmula (Ia)



y el respectivo isómero especular [(α S, α' S, α'' S)- α,α',α'' -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- κ N3, κ N6, κ N9, κ N15, κ O3, κ O6, κ O9]-gadolinio, es decir, el isómero SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de fórmula (Ib)



Sorprendentemente, las propiedades mejoradas mostradas por los enantiómeros individuales (RRR y SSS) y el par de enantiómeros RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) (o RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), como se

usa en lo sucesivo indistintamente) se mantienen sustancialmente de forma inesperada incluso después de su conjugación, por ejemplo conduciendo a conseguir derivados de amida de los mismos.

Por ejemplo, la reacción de acoplamiento de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) e, igualmente, de cada enantiómero RRR o SSS individual del mismo con isoserinol, conduce a un derivado de amida final que tiene la misma fórmula molecular de Gadopíclenol. Al respecto, es interesante señalar que, independientemente del tipo de isoserinol usado, ya sea el isómero R o S, o el isoserinol racémico, su conjugación con los enantiómeros RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) conduce a los respectivos derivados de amida que tienen el mismo tiempo de retención y son, por lo tanto, indistinguibles por HPLC de fase inversa normal.

De este modo, la forma isomérica diferente del isoserinol adjunto (o, más generalmente, del derivado de amina), no afecta las propiedades principales del compuesto conjugado final que están determinadas esencialmente por la esteoquímica del precursor de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico).

De hecho, las propiedades mejoradas mostradas por el par de enantiómeros relacionados con el pico C con respecto a la mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) se mantienen sustancialmente después de la conjugación del mismo con isoserinol, independientemente de la configuración del isoserinol acoplado.

En particular, independientemente de la configuración del isoserinol, su acoplamiento con el par de enantiómeros RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) conduce a un compuesto amídico que tiene mayor inercia cinética y relaxividad en comparación con Gadopíclenol obtenido como una mezcla isomérica con el procedimiento sintético de la técnica anterior.

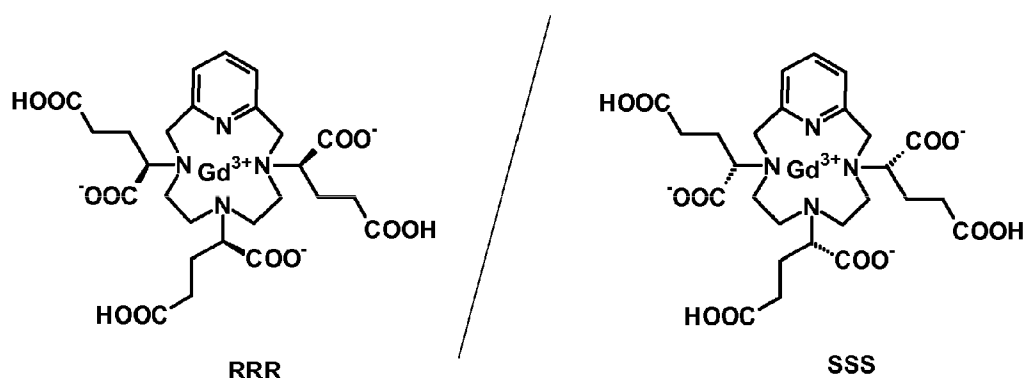
En la presente descripción, y salvo que se indique lo contrario, la expresión “mezcla isomérica” (referida a un compuesto específico) incluye dentro de su significado una mezcla que comprende al menos dos estereoisómeros de este compuesto. En particular, cuando se usa con referencia a Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), la expresión “mezcla isomérica” se refiere a una mezcla no separada de al menos dos de los 8 diastereómeros (o diastereoisómeros, como se usa aquí indistintamente) y, más precisamente, 4 pares de enantiómeros generados por los tres estereocentros contenidos en la molécula, e identificados en la Tabla 1. Por otro lado, cuando se usa con referencia a un derivado de amida del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), tal como, por ejemplo, Gadopíclenol, la expresión “mezcla isomérica” se refiere a una mezcla no definida y no separada del derivado de amida respectivo de los al menos dos (de los cuatro posibles) pares de enantiómeros anteriores del resto de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico).

En este sentido, dado que cada uno de los grupos amina del derivado de amida puede contener a su vez uno o más estereocentros, el número total de posibles estereoisómeros del derivado de amida puede aumentar correspondientemente. Por ejemplo, la conjugación de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con tres moléculas de isoserinol, cada una con un estereocentro respectivo, eleva a 64 el número de estereoisómeros posibles (32 pares de enantiómeros) del derivado de amida correspondiente, generados por la presencia de los respectivos seis estereocentros en total en la molécula.

En la presente descripción y reivindicaciones, las expresiones “mezcla isomérica de un derivado de amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)” o “derivado de amida de una mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)” se usan indistintamente.

La expresión “enantiómeros C” se refiere al par de enantiómeros relacionados con el pico C, según la figura 1. Dichos enantiómeros C corresponden al par de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico).

La expresión “par de enantiómeros RRR/SSS” (o enantiómeros RRR/SSS) generalmente se refiere a una mezcla del enantiómero RRR y el respectivo isómero especular SSS de un compuesto pretendido, incluyendo una mezcla racémica de los mismos. En la presente descripción, esta expresión se usa típicamente con referencia al Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), y se refiere a una mezcla de los enantiómeros RRR y SSS de este compuesto (o mezcla RRR/SSS del mismo). Más particularmente, la expresión “par de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)” (o “RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)” como se usa aquí indistintamente) se refiere a una mezcla de $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)-\alpha, \alpha', \alpha'']$ -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- $\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9$ -gadolinio (enantiómero RRR) y $[(\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S)-\alpha, \alpha', \alpha'']$ -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- $\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9$ -gadolinio (enantiómero SSS), por ejemplo esquematizado a continuación



La expresión "compuesto D" se refiere al derivado de amida obtenido por la reacción de acoplamiento de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con isoserinol.

- 5 La expresión "síntesis estereoselectiva" (o "síntesis asimétrica" usada aquí indistintamente) comprende en su significado una reacción química (o secuencia de reacción) en la que se forman uno o más elementos nuevos de quiralidad en una molécula de sustrato, y que produce los productos estereoisoméricos (enantioméricos o diastereoisoméricos) en cantidades desiguales. En la presente descripción, la expresión "síntesis estereoselectiva" se utiliza en particular con referencia al RRR y el respectivo isómero especular SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), y
- 10 se refiere a una síntesis que permite obtener un complejo que contiene al menos 55%, preferiblemente 65%, más preferiblemente 75%, y lo más preferible al menos 85% de cualquiera de los dos enantiómeros.

- La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa aquí, se refiere a derivados de los compuestos de la invención en los que el compuesto original se modifica de manera adecuada convirtiendo cualquiera de los grupos ácidos o básicos libres, si están presentes, en la sal de adición correspondiente con cualquier base o ácido
- 15 convencionalmente destinado a ser farmacéuticamente aceptable.

Los cationes preferidos de bases inorgánicas que se pueden usar de manera adecuada para preparar una sal de la invención comprenden, por ejemplo, iones de metales alcalinos o alcalino-térreos tales como potasio, sodio, calcio o magnesio.

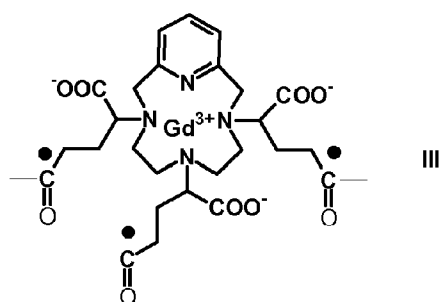
- Los cationes preferidos de bases orgánicas comprenden, por ejemplo, los de aminas primarias, secundarias y terciarias tales como, por ejemplo, etanolamina, dietanolamina, morfolina, glucamina, N-metilglucamina, N,N-dimetilglucamina.
- 20

Los cationes y aniones preferidos de aminoácidos comprenden, por ejemplo, los de taurina, glicina, lisina, arginina, ornitina, o de ácidos aspártico y glutámico.

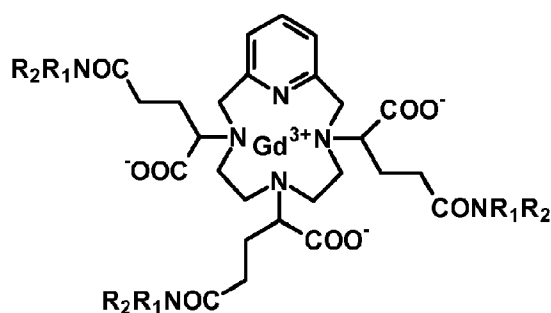
- Además, los términos "resto" o "restos", "residuo" o "residuos" están destinados aquí a definir la porción residual de una molécula dada una vez unida o conjugada correctamente, ya sea directamente o mediante cualquier enlazador adecuado, al resto de la molécula.
- 25

- Por ejemplo, cuando se usa con referencia a derivados de amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) (ya sea en forma de una mezcla isomérica o del isómero RRR o SSS, o una mezcla de enantiómeros RRR/SSS o par de enantiómeros del mismo), el término "resto" se refiere a la porción de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) que se une a los grupos amina para dar el derivado de amida correspondiente.
- 30

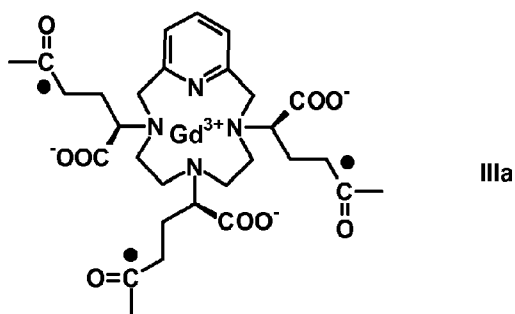
En particular, la expresión "resto de la mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)" se refiere a un compuesto que tiene la siguiente fórmula (III)



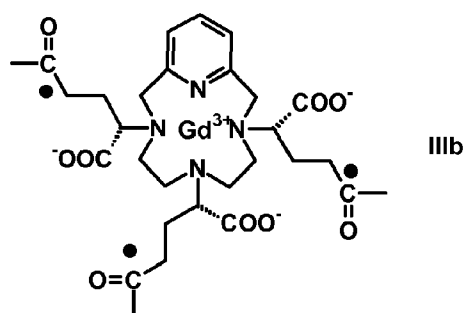
Este resto puede conjugarse, por ejemplo, con restos amino de fórmula $-NR_1R_2$ a través de los enlaces abiertos de los restos carboxilo identificados con un círculo en negro (•) en la estructura anterior, para dar el derivado de amida correspondiente de fórmula



De manera similar, la expresión “resto de los enantiómeros RRR y SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)” se refiere a compuestos que tienen, respectivamente, la siguiente fórmula (IIIa)



y (IIIb)



El término “resto” se aplica de forma similar a los restos correspondientes del par de enantiómeros RRR/SSS, o, en general, de mezclas de enantiómeros.

- 5 Se ha impulsado un método de HPLC preparativa, que permite separar cuatro picos del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) obtenido siguiendo la síntesis no estereoselectiva descrita por la técnica anterior, identificados por conveniencia como A, B, C y D, respectivamente, que tienen la misma relación m/z (Gd(H4L)+:752,14 m/z). Teniendo en cuenta los tres estereocentros presentes en la molécula (identificados como asteriscos en la estructura molecular anterior), las cuatro
- 10 señales en los cromatogramas de HPLC del complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) se han asignado a los cuatro pares de enantiómeros respectivos formados con los diferentes isómeros ópticos del resto de ácido glutárico, anteriormente identificados en la Tabla 1.

Para investigar la inercia cinética de la mezcla racémica del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) y, en particular, de sus cuatro pares de enantiómeros separados por HPLC, investigamos sus reacciones de disociación que tienen lugar en condiciones ácidas. Un gran exceso de H⁺ ([HCl] = 1,0 M) se aprovechó en particular para garantizar las condiciones

15 cinéticas de pseudo primer orden.



en la que L es el PCTA-tris-ácido glutárico protonado (ligando libre), e y es el número de protones unidos al ligando.

Se preparó una disolución de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) (mezcla isomérica) en HCl 1 M y se analizó durante el tiempo como se explica en el Ejemplo 7.

- 20 En particular, el valor del área para cada uno de los picos A, B, C y D se evaluó a lo largo del tiempo mediante HPLC.

Debido a la disociación catalizada por ácido del complejo, verificamos que, como se esperaba, las áreas integrales de los picos A, B, C y D disminuyeron, mientras que se formaron y crecieron nuevas señales, correspondientes a ligandos libres (m/z: 597,24). Curiosamente, sin embargo, descubrimos que la velocidad de disminución de las áreas de las señales A, B, C y D no eran iguales entre sí; por ejemplo, la disminución de las áreas de los picos A y B fue

25 significativamente más rápida que la de los picos C y D.

La disminución de los valores del área integral de las señales de A, B, C y D se evaluó y representó así como una función del tiempo. Los resultados obtenidos se muestran gráficamente en la Figura 7, que resalta las diferencias observadas existentes entre los comportamientos de los cuatro picos.

- 30 Las constantes de velocidad de pseudo primer orden k_x (en las que k_x es = k_A , k_B , k_C y k_D respectivamente), que caracterizan la velocidad de disociación de los diferentes pares de enantiómeros del complejo Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), y las vidas medias ($t_{1/2} = \ln 2 / k_x$) se calcularon entonces ajustando los pares de datos de área - tiempo, como se explica con detalle en el Ejemplo 7. También se obtuvo el valor de vida media promedio para la mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), considerando la composición porcentual de la mezcla. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 2, y se comparan con los valores correspondientes referidos en la bibliografía para algunos
- 35 agentes de contraste de referencia, por ejemplo Gd-DOTA (Dotarem™) y Eu(PCTA) (complejo de europio del ácido 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9,-triacético).

Estos resultados confirman que las velocidades de disociación de los cuatro pares de enantiómeros difieren considerablemente entre sí.

- 40 En particular, el par de enantiómeros relacionado con el pico C tiene, inesperadamente, la mayor inercia cinética y la menor tendencia a liberar Gd entre todos los demás isómeros posibles.

De hecho, el valor $t_{1/2}$ medido para este par de enantiómeros C es, por ejemplo, alrededor de 68 veces mayor que el valor, por ejemplo, de B. Además, el valor $t_{1/2}$ del par de enantiómeros relacionado con el pico C es significativamente más alto que el medido para Eu(PCTA), que tiene igualmente $q=2$, (véase, por ejemplo, Tircso, G. et al. Inorg Chem

2006, 45 (23), 9269-80) y es totalmente comparable con el valor $t_{1/2}$ dado a conocer en la bibliografía, por ejemplo para Gd-DOTA (DotaremTM), que son los agentes de contraste comercializados que tienen la mejor estabilidad e inercia.

Las fracciones enriquecidas con este compuesto se recogieron entonces mediante cromatografía ultrarrápida, por ejemplo como se explica con detalle en el Ejemplo 3, lo que lleva a lograr el par de enantiómeros relacionado con el pico C con un grado de pureza de al menos alrededor de 90% (como % de área de HPLC, véase la Figura 2).

Sorprendentemente, un valor de relaxividad $r_1 = 9,3 \pm 0,1 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ se obtuvo para el par de enantiómeros recogidos, que es significativamente mayor que el valor $r_1 = 7,2$ registrado (en las mismas condiciones) para la mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) en el documento EP1931673B1.

La mayor relaxividad y mayor inercia combinadas inesperadas (que da como resultado una mayor tolerabilidad) mostradas por este par de enantiómeros son de particular interés.

De este modo, se han realizado esfuerzos para identificar el par de enantiómeros relacionados con el pico C.

En particular, se ha establecido una síntesis estereoselectiva de los isómeros RRR y SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), descrita en el Ejemplo 5 y 6 respectivamente, que conduce a lograr un bruto con un compuesto principal que tiene el mismo tiempo de retención t_r de HPLC del pico C con HPLC de fase inversa normal. Utilizando el isómero relacionado ácido (R)-(-)-5-oxotetrahidrofuran-2-carboxílico como intermedio clave, también se obtuvo el correspondiente isómero SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), que tiene el mismo tiempo de retención de HPLC (Figura 4).

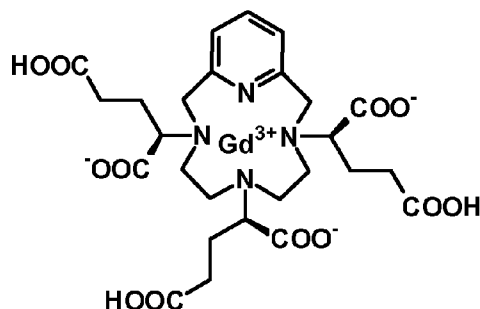
En cambio, la síntesis de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) llevada a cabo utilizando (2S)-bromoglutarato de metilo permite lograr el complejo como una mezcla isomérica sustancialmente indistinguible de la recogida con bromoglutarato de metilo racémico, como se describe en la técnica anterior.

El par de enantiómeros relacionado con el pico C se analizó entonces con un método de HPLC quiral específico (que permite separar los enantiómeros individuales del par) en comparación con los isómeros SSS y RRR sintetizados del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico). Los cromatogramas obtenidos, ilustrados en la Figura 5, confirman que los dos enantiómeros relacionados con el pico C tienen los mismos tiempos de retención de los isómeros RRR y SSS sintetizados del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico).

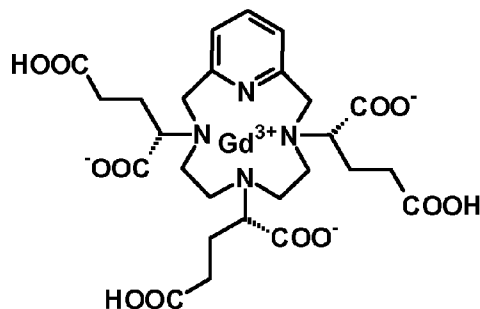
Además, se formaron cristales a partir del par de enantiómeros C con oxalato de guanidinio como se describe con detalle en el Ejemplo 10. Un estudio de difracción de rayos X de monocristales permitió establecer la configuración RRR de los centros quirales de los brazos glutámicos de la molécula, apreciable en la Figura 9, y la presencia de una relación equimolar de isómeros RRR y SSS en cada celda unitaria del cristal y, por tanto, la naturaleza racémica RRR/SSS del par (Figura 10).

Todos estos resultados coinciden en establecer que el compuesto asociado con el pico C consiste de hecho en el par enantiomérico RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), o RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) como se usa aquí indistintamente.

Más particularmente, los resultados anteriores permitieron definir que el compuesto correspondiente al pico C identificado por la presente invención comprende una mezcla de $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)\text{-}\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})\text{-}3,6,9,15\text{-tetraazabicyclo}[9.3.1]\text{pentadeca-}1(15),11,13\text{-trien-}3,6,9\text{-triacetato}(3\text{-})\text{-}\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$, o RRR-Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), de fórmula

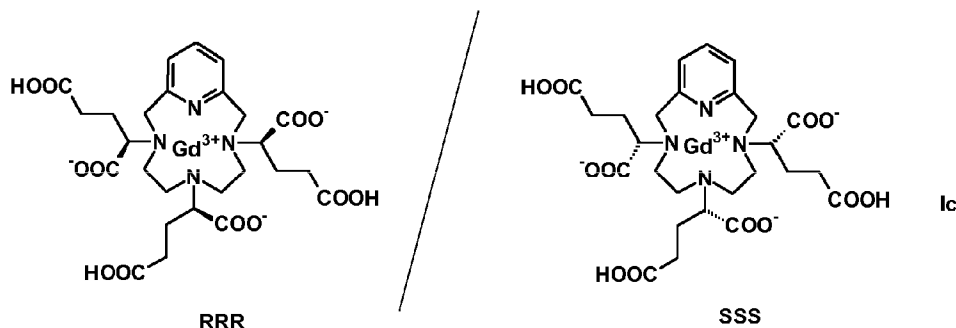


y el respectivo isómero especular $[(\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S)\text{-}\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})\text{-}3,6,9,15\text{-tetraazabicyclo}[9.3.1]\text{pentadeca-}1(15),11,13\text{-trien-}3,6,9\text{-triacetato}(3\text{-})\text{-}\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$, o SSS-Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), de fórmula



en la que dicha mezcla está representada de otra manera por la siguiente fórmula Ic

5



De este modo, un aspecto de la invención es el par de enantiómeros RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), los enantiómeros individuales del par, sus mezclas, las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, sus derivados amídicos, y composiciones que los comprenden.

10

En particular, una realización de la invención se refiere a un compuesto que se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en: el enantiómero individual $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})\text{-}3,6,9,15\text{-tetraazabicyclo}[9.3.1]\text{pentadeca-}1(15),11,13\text{-trien-}3,6,9\text{-triacetato}(3\text{-})\text{-}\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ (enantiómero RRR); su respectivo isómero especular, a saber, el enantiómero individual $[(\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})\text{-}3,6,9,15\text{-tetraazabicyclo}[9.3.1]\text{pentadeca-}1(15),11,13\text{-trien-}3,6,9\text{-triacetato}(3\text{-})\text{-}\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ (enantiómero SSS); el par de enantiómeros RRR/SSS de los mismos; y una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

15

Según una realización preferida, la invención se refiere al par de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), de otro modo aquí identificado más simplemente como "RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico)", que comprende una mezcla de los dos enantiómeros individuales RRR y SSS del complejo, por ejemplo según una realización de la invención, una mezcla racémica de los mismos, o una sal de los mismos.

20

Otro aspecto de la invención se refiere a Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) enriquecido en cualquiera de los enantiómeros anteriores, o mezclas de los mismos.

El término "enriquecido", usado con referencia a un isómero, o enantiómero, o par de enantiómeros según la invención, (particularmente cuando se refiere a Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) o derivados de amida del mismo), incluye dentro de su significado una mezcla de isómeros en la que dicho isómero, enantiómero, o par de enantiómeros está presente en una cantidad mayor con respecto a la cantidad típicamente contenida en una mezcla obtenida según un procedimiento de síntesis no estereoselectiva de la técnica anterior.

25

Tal enriquecimiento (referido a un isómero o par de enantiómeros de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico)) corresponde, por ejemplo, a una cantidad de al menos 50% de dicho isómero o par de enantiómeros en la mezcla, preferiblemente al menos 60%, más preferiblemente al menos 70%, e incluso más preferiblemente al menos 80%, por ejemplo de al menos 90%.

30

En particular, otro aspecto de la invención se refiere a una mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) que comprende al menos 50% (con respecto a la composición isomérica del mismo, es decir, a la suma de los isómeros

individuales que constituyen la mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico)) de cualquiera de los isómeros anteriores, es decir, en la que al menos 50% de la mezcla isomérica del complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) consiste en el isómero RRR [(αR,α'R,α''R)-α,α',α''-tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)-κN3,κN6,κN9,κN15,κO3,κO6,κO9]-gadolinio; o el isómero SSS [(αS,α'S,α''S)-α,α',α''-tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)-κN3,κN6,κN9,κN15,κO3,κO6,κO9]-gadolinio; o una mezcla de los mismos; o una sal de los mismos (estando representada la cantidad restante del complejo por una mezcla indiscriminada de cualesquiera otros posibles isómeros de los mismos).

De este modo, una realización de la invención se refiere a Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), o una sal del mismo, en el que el respectivo enantiómero RRR, o enantiómero SSS, o mezcla RRR/SSS de estos enantiómeros representa al menos 50% (por ejemplo en moles) de la mezcla isomérica que constituye dicho ácido o sal.

Preferiblemente, el enriquecimiento del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) (en uno de los enantiómeros anteriores o mezclas de los mismos) es de al menos 60%, más preferiblemente de al menos 70%, lo más preferible de al menos 80%, por ejemplo de al menos 90%.

Más preferiblemente, el enriquecimiento está en el par enantiomérico RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico).

En una realización preferida, la invención se refiere al par de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), o a una mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) que comprende al menos 50% de su par de enantiómeros RRR/SSS, es decir, en otras palabras, un Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) en el que al menos 50% del complejo consiste en el par de enantiómeros RRR/SSS del mismo.

El isómero RRR [(αR,α'R,α''R)-α,α',α''-tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)-κN3,κN6,κN9,κN15,κO3,κO6,κO9]-gadolinio, o un Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) enriquecido en este isómero se puede preparar, por ejemplo, mediante el uso de una síntesis estereoselectiva que comprende alquilar 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trieno, o "picleno" como se usa aquí de manera intercambiable, con éster dimetilico del ácido (2S)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico, como se describe con mayor detalle en el Ejemplo 5.

Asimismo, el uso alternativo del éster dimetilico del ácido (2R)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico (por ejemplo, descrito en el Ejemplo 6) permite lograr el respectivo isómero SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), o un Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) adecuadamente enriquecido del mismo.

Las síntesis estereoselectivas de los isómeros RRR y SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) son nuevas, y constituyen una realización adicional de la presente invención.

En otra realización, la invención se refiere a los anteriores enantiómeros, par de enantiómeros, o Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) enriquecido, en forma de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para uso como agentes de contraste particularmente adecuados para el análisis de formación de imágenes mediante resonancia magnética (MRI).

Más particularmente, una realización adicional de la invención se refiere a una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto seleccionado de un enantiómero individual RRR, o un enantiómero individual SSS, o par de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), o Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) enriquecido al menos 50% en uno de estos enantiómeros individuales, o, preferiblemente, mezclas de enantiómeros RRR/SSS, para uso como agente de contraste, particularmente adecuado para análisis de formación de imágenes mediante resonancia magnética (MRI).

Ejemplos adecuados de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, las sales con un catión de una base inorgánica seleccionada de un metal alcalino o alcalino-térreo tal como potasio, sodio, calcio o magnesio, o de una base orgánica seleccionada de etanolamina, dietanolamina, morfina, glucamina, N-metilglucamina, N,N-dimetilglucamina, o de un aminoácido seleccionado de lisina, arginina y ornitina.

Según otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de uno de los compuestos o mezclas isoméricas anteriores, preferiblemente con una amina de fórmula NHR_1R_2 .

Una realización de la invención se refiere a un derivado de amida del enantiómero RRR, enantiómero SSS, o una mezcla de estos dos enantiómeros de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), de fórmula (II A)



Otra realización de la invención se refiere a una mezcla isomérica de un derivado de amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) que comprende al menos 50% del enantiómero individual RRR, o enantiómero SSS, o de una mezcla de estos enantiómeros, de fórmula (II B)



En las fórmulas (II A) y (II B) mencionadas anteriormente, los significados de F, F', R₁ y R₂ son como se definieron anteriormente.

- 5 Los ejemplos preferidos incluyen derivados de amida de la fórmula anterior (II A) en la que F es una mezcla de restos de enantiómeros RRR y SSS (o par de restos de enantiómeros RRR/SSS) de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), o de la fórmula anterior (II B) en la que F' es una mezcla isomérica de resto de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) que comprende al menos 50% de una mezcla de restos de enantiómeros RRR y SSS.

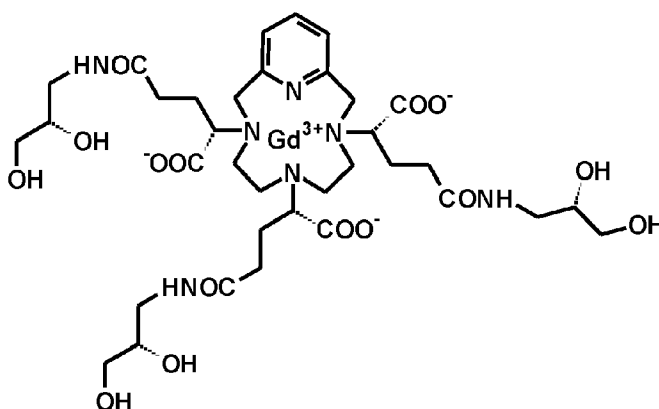
En una realización preferida, la invención se refiere a un derivado de amida de la fórmula anterior (II B), en la que F' es una mezcla isomérica de un resto de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) de la fórmula III anterior que comprende al menos 50% de una mezcla de restos de enantiómeros RRR y SSS, respectivamente de fórmula (IIIA) y (IIIB).

- 10 Preferiblemente, en estos derivados de amida, F' está enriquecido al menos 60% (es decir, comprende al menos 60% de), más preferiblemente al menos 70%, lo más preferible al menos 80%, por ejemplo particularmente de forma preferible enriquecido al menos 90% en la mezcla de restos de enantiómeros RRR y SSS. Los ejemplos adecuados incluyen derivados de amida de la fórmula anterior (II B) en la que R₁ es H y R₂ es un alquilo de C₁-C₃ sustituido con uno o más, preferiblemente uno o dos, y más preferiblemente dos grupos hidroxilo.

- 15 En una realización preferida, la invención se refiere a una mezcla isomérica de derivados de amida de la fórmula anterior (II B) en la que F' es un resto de la fórmula (III) como se definió anteriormente, R₁ es H, y R₂ es alquilo de C₁-C₃ sustituido con uno o dos grupos hidroxilo. Más preferiblemente, R₂ es un resto de serinol o, incluso más preferiblemente, un resto de isoserinol, por ejemplo seleccionado de R isoserinol, S isoserinol, o isoserinol racémico. Lo más preferible, el compuesto de amida es con isoserinol racémico.

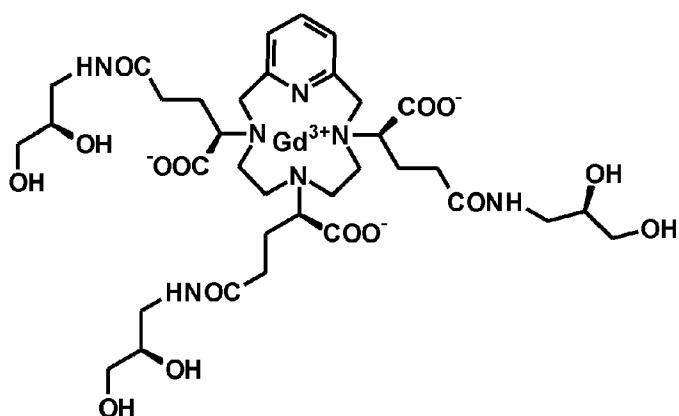
- 20 Los ejemplos representativos no limitativos de los compuestos anteriores incluyen, por ejemplo:

- [(αS,α'S,α"S)-α,α',α"-tris[3-[(2(S),3-dihidroxipropil)amino]-3-oxopropil]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)-κN3,κN6,κN9,κN15,κO3,κO6,κO9]-gadolinio, (o isómero SSS-SSS), de fórmula;



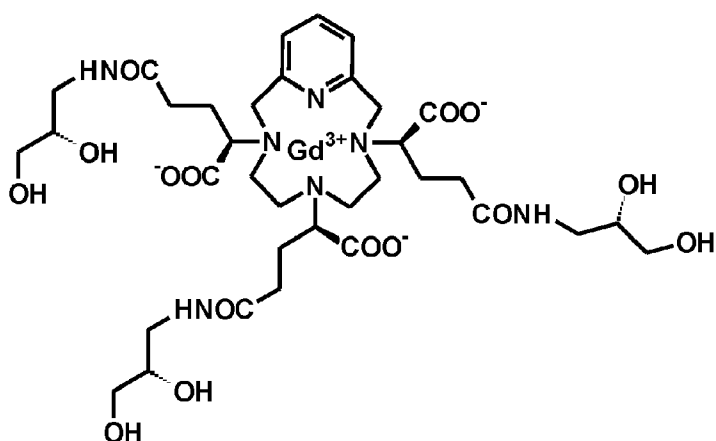
- 25
- [(αR,α'R,α"R)-α,α',α"-tris[3-[(2(R),3-dihidroxipropil)amino]-3-oxopropil]-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)-κN3,κN6,κN9,κN15,κO3,κO6,κO9]-gadolinio (o isómero RRR-RRR) de fórmula

30



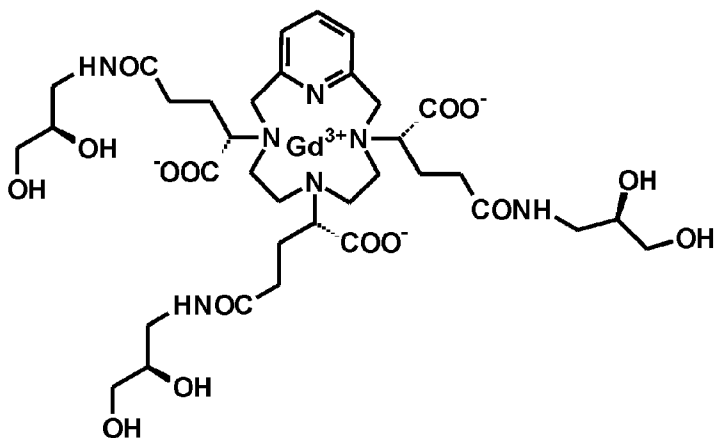
5

- $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}[3-[(2S, 3\text{-dihidroxi} \text{propil})\text{amino}]\text{-3-oxopropil}]\text{-3,6,9,15-tetraazabicyclo}[9.3.1]\text{pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)}-\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ (o isómero RRR-SSS) de fórmula



10

- $[(\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}[3-[(2R, 3\text{-dihidroxi} \text{propil})\text{amino}]\text{-3-oxopropil}]\text{-3,6,9,15-tetraazabicyclo}[9.3.1]\text{pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)}-\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ (o isómero SSS-RRR) de fórmula



o isómeros respectivos, en los que los restos de isoserinol están en las configuraciones RSR, SSR, SRS, RSS o RRS.

Las amidas de fórmula (II B) con isoserinol tienen la misma fórmula molecular de Gadopíclenol pero comprenden un resto central F' enriquecido al menos 50% en el isómero RRR, o el resto del isómero SSS o, más preferiblemente, en la mezcla de restos de enantiómeros RRR y SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico).

En particular, independientemente del tipo de isoserinol usado (es decir, si es un isómero R o S, o isoserinol racémico), su conjugación con el par de enantiómeros RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) conduce a conjugados que, como se muestra en la Figura 6, tienen el mismo tiempo de retención y son, por lo tanto, indistinguibles por HPLC. La Figura 6 muestra además que este tiempo de retención es el mismo del pico D' separado por HPLC del Gadopíclenol obtenido como una mezcla isomérica en el Ejemplo 2.

Sorprendentemente, las propiedades mejoradas del RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) se mantienen sustancialmente después de su conjugación con isoserinol, independientemente de la configuración del isoserinol acoplado.

En particular, la conjugación de isoserinol con RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) conduce a un derivado de amida que tiene la misma fórmula molecular pero mayor inercia cinética y relaxividad del Gadopíclenol obtenido como mezcla isomérica con el procedimiento sintético de la técnica anterior.

De hecho, el mismo ensayo realizado para evaluar la inercia cinética de los cuatro pares de enantiómeros diferentes separados de la mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) se repitió usando Gadopíclenol (mezcla isomérica) como se obtuvo en el Ejemplo 2 y los derivados de amida obtenidos por conjugación de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con i) R-isoserinol; ii) S-isoserinol; y iii) isoserinol racémico, respectivamente.

La vida media promedio de los compuestos conjugados obtenidos y de Gadopíclenol (mezcla isomérica) se calculó considerando la disminución del área total de HPLC a lo largo del tiempo como se describe con detalle en el Ejemplo 8. Para derivados de amida obtenidos por reacción de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con i) R-isoserinol; ii) S-isoserinol; y iii) isoserinol racémico, las constantes de velocidad de pseudo primer orden k_x y las vidas medias ($t_{1/2} = \ln 2 / k_x$) también se calcularon ajustando los pares de datos de área - tiempo como se llevó a cabo para RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) en el Ejemplo 7.

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3, y se comparan con los valores correspondientes referidos en la bibliografía para algunos agentes de contraste de referencia, por ejemplo Gd-DOTA (Dotarem™) y Eu(PCTA).

Los datos de la Tabla 3 de un lado muestran el muy buen acuerdo existente entre valores de $t_{1/2}$ de complejos obtenidos acoplando RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con R-, S- e isoserinol racémico estimados a partir de los valores de área y calculados mediante el ajuste de los datos cinéticos de área-tiempo.

Por otro lado, los datos de la Tabla 3 resaltan que todos los valores $t_{1/2}$ de los compuestos de amida obtenidos por reacción de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con i) R-isoserinol; ii) S-isoserinol; y iii) isoserinol racémico son alrededor de 8 veces mayores que el del Gadopíclenol (mezcla isomérica), confirmando de ese modo que la mayor inercia cinética mostrada por RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) se mantiene sustancialmente incluso después de su acoplamiento con isoserinol.

La consistencia total de los valores de vida media, obtenidos para los diferentes compuestos complejos resultantes de la conjugación de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con R-, S- o isoserinol racémico, indica también que la quiralidad del colgante de isoserinol no tiene influencia para la inercia cinética del complejo final. La relaxividad r_1 también se midió para los compuestos obtenidos por conjugación de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con R-, S- e isoserinol racémico, en las mismas condiciones usadas en la bibliografía para Gadopíclenol.

Los resultados obtenidos se comparan en la Tabla 5. De nuevo, independientemente de la configuración del isoserinol adjunto, la relaxividad r_1 medida tanto en agua como en HSA para compuestos conjugados obtenidos a partir de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) es mayor que la dada a conocer en la técnica relevante para Gadopíclenol.

Se obtiene así un derivado de amida por conjugación del RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de la presente invención con isoserinol que, a pesar de tener la misma estructura que el compuesto de Gadopíclenol, se caracteriza por una inercia cinética mejorada y una mayor relaxividad.

A continuación, se obtuvieron cristales del derivado de amida resultante de la conjugación de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con isoserinol racémico como se describe con detalle en el Ejemplo 10. Un estudio de difracción de rayos X de un monocristal obtenido de un complejo ternario formado entre el anión carbonato y el derivado de amida confirmó la configuración RRR/SSS de los brazos glutámicos de la molécula central C.

La estructura de rayos X y un análisis estadístico de todos los cristales recolectados se proporcionan en la Figura 11.

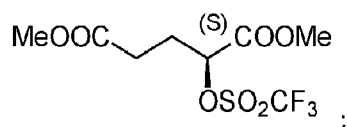
Los resultados de la síntesis estereoselectiva del isómero RRR o SSS individual y las estructuras (cristalinas) registradas tanto del par de enantiómeros C como del conjugado del mismo con isoserinol son así todos ellos

consistentes entre sí, y permiten establecer que el compuesto atribuido al pico C en la HPLC de la Figura 1 corresponde de hecho al par de enantiómeros RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico).

La síntesis de los isómeros RRR y SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) representa una realización adicional de la invención.

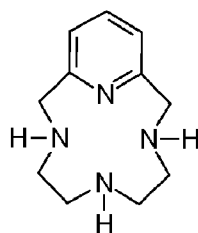
- 5 En particular, otra realización de la invención se refiere a un procedimiento estereoselectivo para la preparación de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) enriquecido en el isómero $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)-}\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ (isómero RRR), que comprende

a) obtener éster dimetílico del ácido (2S)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico, de fórmula



y

b) alquilar 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trieno de fórmula



con el éster dimetílico del ácido (2S)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico recogido.

- 20 En una realización, el procedimiento permite obtener Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) enriquecido al menos 55%, preferiblemente al menos 60%, más preferiblemente al menos 70%, y lo más preferible al menos 80%, por ejemplo enriquecido alrededor de 85% en el isómero RRR deseado del complejo.

De manera similar, el uso alternativo del éster dimetílico del ácido (2R)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico en la etapa a) del procedimiento permite lograr el respectivo isómero SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), o un Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) adecuadamente enriquecido en este isómero.

- 25 En aún otra realización, la invención se refiere al par de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) o un Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) enriquecido al menos 50% con este mismo par enantiomérico para uso como intermedio en la preparación de un derivado del mismo tal como, preferiblemente, un derivado de amida.

Aún otra realización de la invención se refiere a un procedimiento para la preparación sintética de un derivado de amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de fórmula (II A)



en la que F, R₁ y R₂ son como se explican anteriormente, que comprende:

- a) obtener el isómero RRR, o el SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), o una mezcla de los mismos; y
b) convertir el isómero, o mezcla de isómeros, obtenido en la etapa a) en el derivado de amida deseado.

- 35 La etapa a) de este procedimiento, que conduce a lograr el isómero RRR, o el SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) se lleva a cabo, por ejemplo, como se afirma anteriormente y como se proporciona con detalle, por ejemplo, en los Ejemplos 5 y 6.

Por otro lado, la etapa b) del procedimiento se puede llevar a cabo según procedimientos convencionales, por ejemplo descritos en la técnica anterior citada anteriormente.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a un procedimiento para la preparación sintética de una mezcla isomérica de derivados de una amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de la fórmula anterior (II B)

5
$$F'(NR_1R_2)_3 \quad (II\ B)$$

en la que F', R₁ y R₂ son como se explican anteriormente, que comprende:

a') obtener una mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) que comprende al menos 50% del respectivo enantiómero RRR, o SSS, o, preferiblemente, de una mezcla de los mismos; y

10 b') convertir la mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) obtenida en la etapa a') en la correspondiente mezcla isomérica del derivado de amida de interés.

La etapa a') de este procedimiento, por ejemplo que conduce a lograr la mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) que comprende al menos 50% del par de enantiómeros RRR/SSS del mismo, puede obtenerse por ejemplo mediante cromatografía, incluyendo HPLC preparativa o cromatografía ultrarrápida, partiendo del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) obtenido como una mezcla isomérica con procedimientos conocidos, por ejemplo como se describe en el Ejemplo 3.

Por otro lado, la etapa b') del procedimiento, que consiste en acoplar la mezcla isomérica enriquecida de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) recolectada de la etapa a') con la amina de interés, se puede realizar según procedimientos convencionales, por ejemplo dados a conocer en la técnica anterior citada anteriormente.

20 Por ejemplo, el producto recuperado de la etapa a') se puede hacer reaccionar con isoserinol, por ejemplo utilizando el procedimiento sintético proporcionado con detalle en el Ejemplo 4.

Una realización adicional de la invención se refiere a una amida de fórmula (II A) o (II B) anterior para uso como agentes de contraste, particularmente adecuada para análisis de imágenes por resonancia magnética (MRI).

25 En particular, en otra realización la invención se refiere a un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: los enantiómeros individuales RRR o SSS, una mezcla de dichos enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), una mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) enriquecido al menos 50% en uno de dichos enantiómeros individuales RRR o SSS o en una mezcla de los mismos, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, un derivado de amida del mismo de fórmula (II A) o (II B), para la preparación de una formulación farmacéutica para uso en el diagnóstico por imagen, ya sea *in vivo* o *in vitro*, *ex vivo*, de un órgano, tejido o región del cuerpo humano o animal o de una muestra biológica, que incluye células, fluidos biológicos y tejidos biológicos que se originan en un paciente mamífero vivo, y preferiblemente, un paciente humano, mediante el uso de la técnica de MRI.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica para uso diagnóstico, que comprende al menos uno de los compuestos isoméricos o mezcla isomérica anteriores según la invención, o una sal o derivado de amida farmacéuticamente aceptable del mismo como se afirma anteriormente, en mezcla con uno o más excipientes, diluyentes o disolventes fisiológicamente aceptables.

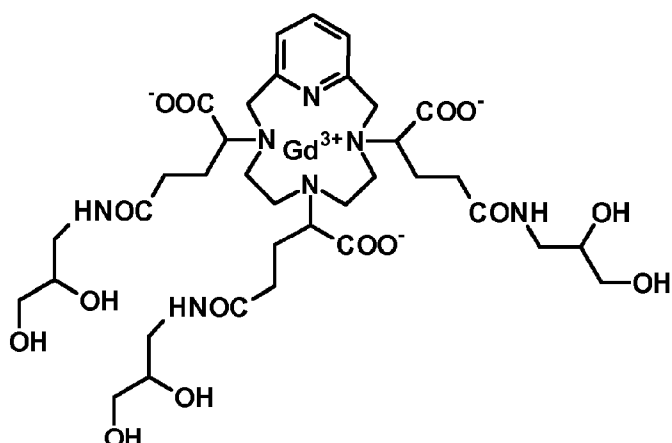
35 Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende un derivado de amida de la fórmula (II A) anterior, en la que, en dicha fórmula (II A):

F es el resto del par de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico);

40 o, más preferiblemente, una mezcla isomérica de un derivado de amida de la fórmula (II B) anterior, en la que, en la fórmula (II B), F' es una mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) enriquecido al menos 50% con dicho par de enantiómeros RRR/SSS, y -NR₁R₂ es el resto de isoserinol.

En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende un compuesto de amida según la fórmula (II B) en la que F' es el resto de un Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) enriquecido al menos 60%, preferiblemente al menos 70%, más preferiblemente al menos 80%, por ejemplo lo más preferible enriquecido al menos 90% en el par de enantiómeros RRR/SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), conjugado con isoserinol de fórmula

45



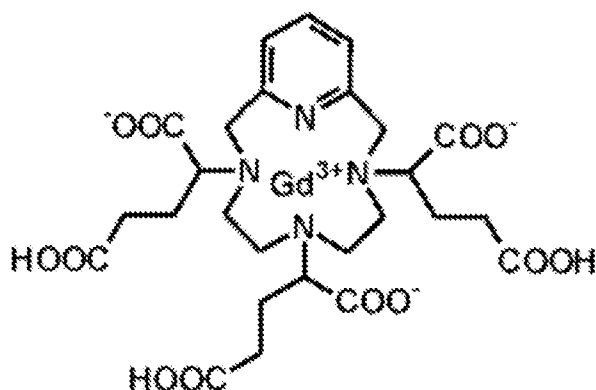
En un aspecto adicional, la invención se refiere a un medio de contraste de MRI que comprende una cantidad eficaz de al menos un compuesto isomérico o mezcla isomérica según la invención, como se afirma anteriormente, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un derivado de amida del mismo, en combinación con uno o más excipientes, diluyentes o disolventes farmacéuticamente aceptables.

En este sentido, y a menos que se indique lo contrario, la expresión "cantidad eficaz" o "dosis eficaz", como se usa aquí, se refiere a cualquier cantidad de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) según la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o derivado de amida del mismo de fórmula (II A) o (II B) o composición farmacéutica del mismo, que sea suficiente para cumplir su fin o fines de diagnóstico pretendidos: es decir, por ejemplo, para visualizar *ex vivo* un elemento biológico que incluye células, fluidos biológicos y tejidos biológicos, o la formación de imágenes de diagnóstico *in vivo* de órganos, tejidos o regiones corporales de un paciente.

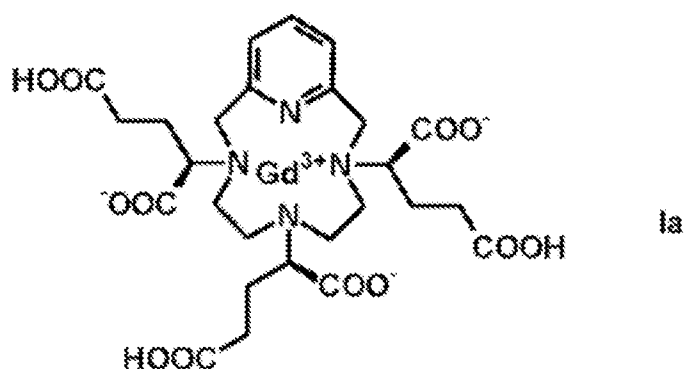
A menos que se indique lo contrario, la expresión "paciente individual" o "paciente", como se usa aquí, se refiere a un paciente humano o animal vivo, y preferiblemente un ser humano que se somete a evaluación de diagnóstico por MR.

Los detalles relacionados con las dosis, formas de dosificación, modos de administración, vehículos, excipientes, diluyentes, adyuvantes, y similares farmacéuticamente aceptables se conocen en la técnica.

Según una realización adicional, la invención se refiere a un complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) de fórmula

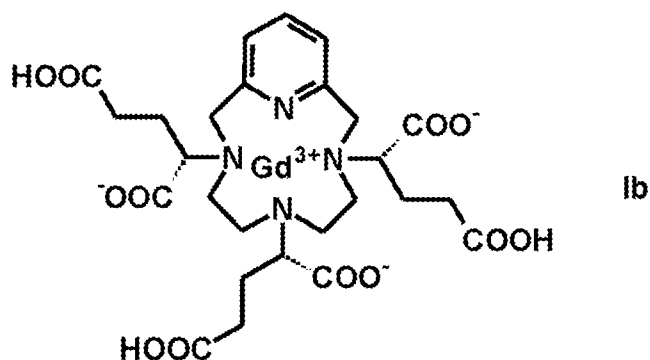


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que al menos 50%, preferiblemente al menos 60%, más preferiblemente al menos 80%, e incluso más preferiblemente al menos 90%, del complejo consiste en el enantiómero $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)-}\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]\text{-gadolinio}$ que tiene la fórmula Ia (enantiómero RRR)



el enantiómero $[(\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S)-\alpha, \alpha', \alpha'']$ -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- $\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9$ -gadolinio que tiene la fórmula Ib (enantiómero SSS)

5



o una mezcla de tales enantiómeros RRR y SSS.

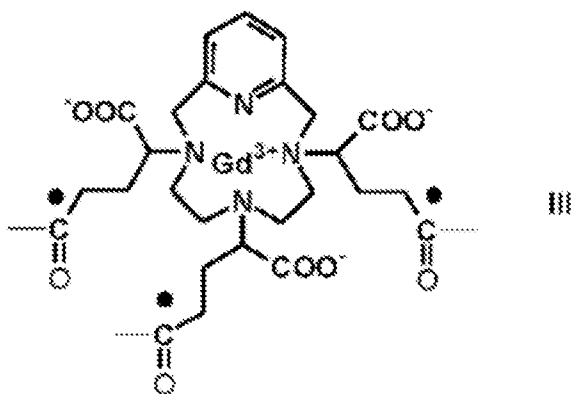
Según otra realización, la invención se refiere a un derivado de amida del complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) mencionado en el párrafo anterior, teniendo dicho derivado de amida la fórmula (II B)

10



en la que:

F' es un residuo del complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de fórmula III,



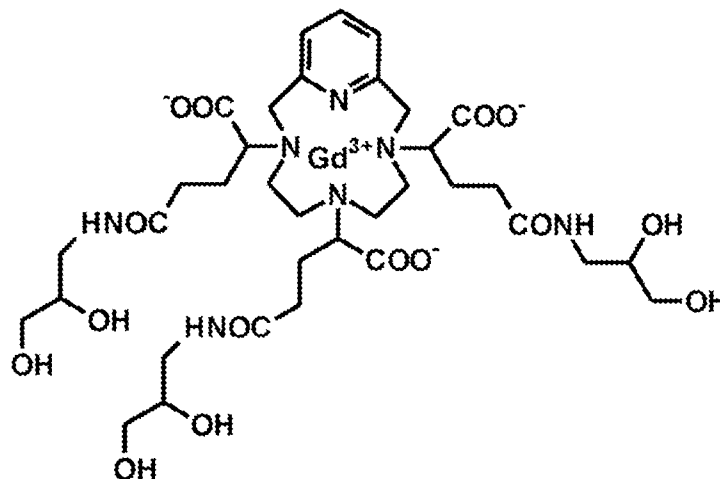
15

cada uno de los tres grupos $-NR_1R_2$ está unido a un enlace abierto de un respectivo resto carboxilo ($\bullet$) de F' ;

R_1 es H o un alquilo de C_1-C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo; y

R_2 es un alquilo de C_1-C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo.

- 5 Preferiblemente, R_1 es H y R_2 es alquilo de C_1-C_3 sustituido con uno o dos grupos hidroxilo; y más preferiblemente R_1 es H y R_2 es $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$. Según una realización del derivado de amida de fórmula (II B), al menos 90% del complejo de $\text{Gd}(\text{PCTA-tris-ácido glutárico})$ consiste en una mezcla de los respectivos enantiómeros RRR y SSS; preferiblemente, el derivado de amida es de fórmula

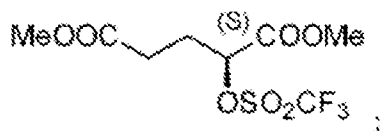


10

Según una realización adicional, el derivado de amida de fórmula (II B) es para uso como agente de contraste de MRI. También, una realización específica es un medio de contraste de MRI que comprende una cantidad eficaz del derivado de amida de fórmula (II B) en combinación con uno o más excipientes, diluyentes o solventes farmacéuticamente aceptables.

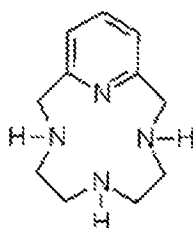
- 15 Un proceso para la preparación de $\text{Gd}(\text{PCTA-tris-ácido glutárico})$ enriquecido con el isómero $[(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)-\alpha, \alpha', \alpha''\text{-tris}(2\text{-carboxietil})-3, 6, 9, 15\text{-tetraazabicyclo}[9.3.1]\text{pentadeca-1}(15), 11, 13\text{-trien-3, 6, 9-triacetato}(3\text{-})-\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9]$ -gadolinio que comprende:

a) obtener éster dimetílico del ácido (2S)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico, de fórmula



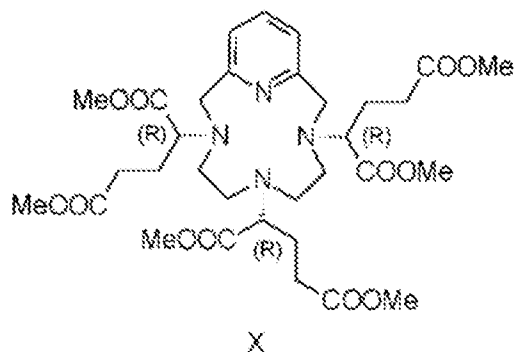
20

b) alquilar 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trieno de fórmula



25

con el éster dimetílico del ácido (2S)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico recogido de la etapa a) para obtener el compuesto de fórmula X



5

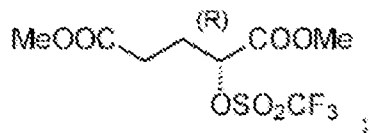
y

c) convertir el compuesto de fórmula X en el correspondiente complejo de gadolinio, es una realización adicional de la invención.

10

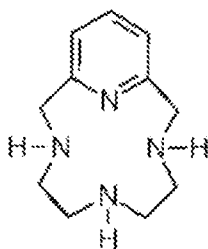
Un proceso para la preparación de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) enriquecido con el isómero [(αS,α'S,α''S)-α,α',α''-tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)-κN3,κN6,κN9,κN15,κO3,κO6,κO9]-gadolinio que comprende:

a') obtener éster dimetílico del ácido (2R)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico, de fórmula



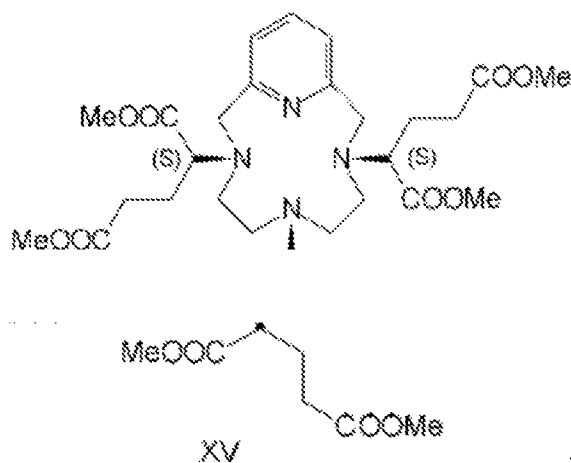
15

b') alquilar 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trieno de fórmula



20

con el éster dimetílico del ácido (2R)-2-[(trifluorometilsulfonyl)oxi]pentanodioico recogido de la etapa a') para obtener el compuesto de fórmula XV



5 y

c') convertir el compuesto de fórmula XV en el correspondiente complejo de gadolinio, es también una realización de la invención.

Los ejemplos no limitativos de los compuestos preferidos de la divulgación, el procedimiento que consiente sus preparaciones, y su caracterización se describen en la siguiente sección, con el objetivo de ilustrar la invención con mayor detalle sin limitar su alcance.

PARTE EXPERIMENTAL

Caracterización por HPLC de los compuestos obtenidos.

Procedimientos generales

15 Procedimiento 1: Caracterización por HPLC de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) (mezcla isomérica e isómeros individuales/enriquecidos).

La caracterización por HPLC del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) obtenido como mezcla isomérica del Ejemplo 1 se realizó con el sistema Agilent 1260 Infinity II. El montaje experimental de las medidas de HPLC se resume a continuación.

Condiciones analíticas

20

Sistema de HPLC HPLC equipada con bomba cuaternaria, desgasificador, automuesteador, detector de PDA (sistema Agilent 1260 Infinity II)

Fase estacionaria: Phenomenex Gemini® 5µm C18 110Å

Fase móvil: H₂O/HCOOH 0,1% : Metanol

Elución: Gradiente	Tiempo (min)	H ₂ O/HCOOH 0,1%	Metanol
	0	95	5
	5	95	5
	30	50	50
	35	50	50
	40	95	5
Caudal	0,6 ml/min		
Temperatura	25°C		

Detección	Longitud de onda del barrido de PDA 190-800nm
Volumen de inyección	50 μ l
Conc. de la muestra	Complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) 0,2 mM
Tiempo de parada	40 min
Tiempo de retención	GdL $\cong$ 18-21 min.

El cromatograma de HPLC obtenido se muestra en la Figura 1

El cromatograma de HPLC del par de enantiómeros enriquecido C se muestra en la Figura 2.

Procedimiento 2: Caracterización por HPLC de Gadopíclenol (mezcla isomérica) y compuestos obtenidos por acoplamiento del par de enantiómeros C con R-, S-, o isoserinol racémico.

- 5 La caracterización por HPLC de Gadopíclenol ya sea como mezcla isomérica obtenida del Ejemplo 2, o como el compuesto obtenido por conjugación del par de enantiómeros C del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con R-, S-, o isoserinol racémico, se realizó con el sistema Thermo Finnigan LCQ DECA XPPlus. El montaje experimental de las medidas de HPLC se resume a continuación.

Condiciones analíticas

Sistema de HPLC	HPLC equipada con bomba cuaternaria, desgasificador, automuestreador, detector de PDA y de MS (LCQ Deca XP-Plus - Thermo Finnigan)
Fase estacionaria:	Phenomenex Gemini 5u C18 110A
Fase móvil:	H ₂ O/TFA 0,1% : Acetonitrilo/0,1% de TFA

Elución: Gradiente	Tiempo (min)	H ₂ O/TFA 0,1%	Acetonitrilo/0,1% de TFA
	0	100	0
	5	100	0
	22	90	10
	26	90	10

Caudal	0,5 ml/min
Temperatura	25°C
Detección	Longitud de onda del barrido de PDA 190-800nm
	MS modo positivo – Intervalo de masas 100-2000
Volumen de inyección	50 μ l
Conc. de la muestra	Complejo de Gd 0,2 mM
Tiempo de parada	26 min
Tiempo de retención	GdL $\cong$ 20-22min.

Los cromatogramas de HPLC obtenidos se muestran en la Figura 6.

10

Procedimiento 3: Método de HPLC quiral para la separación de enantiómeros del compuesto C

Se estableció un método de HPLC quiral específico para separar los enantiómeros RRR y SSS del par de enantiómeros C (Compuesto VI), preparado como se describe en el Ejemplo 3. La separación y caracterización de los

enantiómeros se realizaron con el sistema Agilent 1200 o el sistema Waters Alliance 2695. El montaje experimental de las medidas de HPLC se resume a continuación.

Condiciones analíticas

Sistema de HPLC	HPLC equipada con bomba cuaternaria, desgasificador, automuestreador, detector de PDA
Fase estacionaria	SUPELCO Astec CHUIROBIOTIC 5 μm 4,6x250mm
Fase móvil	H ₂ O/HCOOH 0,025%: Acetonitrilo
Elución:	Acetonitrilo al 2% isocrático durante 30 minutos
Caudal	1 ml/min
Temperatura de la columna	40°C
Detección	210-270 nm.

El cromatograma de HPLC obtenido se muestra en la Figura 5a) en comparación con los cromatogramas del enantiómero RRR puro (Compuesto XII del Ejemplo 5, Tr. 7,5 min.) y el enantiómero SSS puro (Compuesto XVII del Ejemplo 6, Tr. 8,0 min), mostrados en la figura 5b) y 5c), respectivamente.

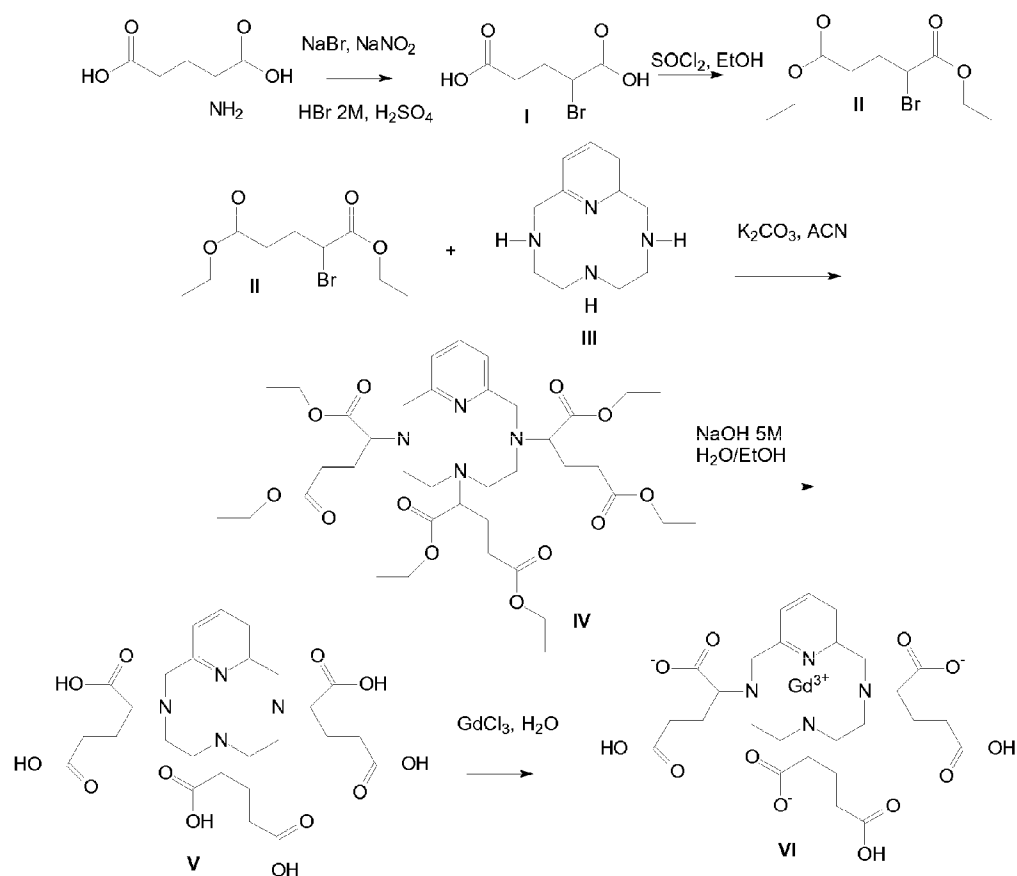
5

Ejemplo 1: Síntesis de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) (mezcla isomérica)

Se ha preparado Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) como una mezcla indiscriminada de estereoisómeros utilizando el procedimiento dado a conocer en la técnica anterior mencionada anteriormente, según el siguiente Esquema sintético 1:

10

Esquema 1



5 a) Preparación del Compuesto II

Se suspendieron ácido glutámico racémico (33,0 g, 0,224 moles) y bromuro de sodio (79,7 g, 0,782 moles) en HBr 2M (225 ml). La suspensión se enfrió hasta -5°C , y se añadió lentamente NaNO_2 (28,0 g, 0,403 moles) en pequeñas porciones durante 2,5 horas, manteniendo la temperatura interna por debajo de 0°C . La mezcla amarilla se agitó durante 20 minutos más a una temperatura de -5°C ; después se añadió gota a gota ácido sulfúrico concentrado (29 ml) en la mezcla. La mezcla de color marrón oscuro obtenida se calentó hasta RT, y después se extrajo con éter dietílico (4 x 150 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , y se concentraron hasta un aceite pardo (21,2 g), usado en la siguiente etapa sin purificación adicional. El aceite se disolvió en etanol (240 ml), la disolución resultante se enfrió en hielo, y se añadió lentamente cloruro de tionilo (14,5 ml, 0,199 moles). La disolución ligeramente amarilla se agitó a RT durante 2 días. Después, el disolvente se eliminó a vacío, y el aceite bruto se disolvió en diclorometano (200 ml) y se lavó con NaHCO_3 ac. al 5% (4x50 ml), agua (1x50 ml) y salmuera (1x50 ml). La fase orgánica se concentró y se purificó sobre sílice eluyendo con éter de petróleo-acetato de etilo 3:1, obteniéndose 19,5 g de producto puro. (Rendimiento 33%).

b) Preparación del Compuesto IV

Se añadió una disolución del Compuesto II (17,2 g, 0,0645 moles) en acetonitrilo (40 ml) a una suspensión de 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trieno (picleno) Compuesto (III) (3,80 g, 0,018 moles) y K_2CO_3 (11,2 g, 0,0808 moles) en acetonitrilo (150 ml). La suspensión amarilla se calentó a 65°C durante 24 h, después se filtraron las sales, y se concentró la disolución orgánica. El aceite naranja se disolvió en diclorometano, y el producto se extrajo con HCl 1M (4 x 50 ml). Las fases acuosas se combinaron, se enfriaron en hielo y se llevaron a pH 7-8 con NaOH ac. al 30%. Después, el producto se extrajo con diclorometano (4 x 50 ml) y se concentró para dar un aceite marrón (10,1 g, rendimiento 73%). El compuesto se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

c) Preparación del Compuesto V

El Compuesto IV (9,99 g, 0,013 moles) se disolvió en etanol (40 ml) y NaOH 5M (40 ml). La disolución marrón se calentó a 80°C durante 23 h. El etanol se concentró; la disolución se enfrió en hielo y se llevó a pH 2 con HCl concentrado. El ligando se purificó sobre resina Amberlite XAD 1600, eluyendo con mezcla de agua-acetonitrilo, obteniendo después de liofilizar 5,7 g como un sólido blanco (rendimiento 73%). El producto se caracterizó en HPLC por varios picos.

d) Preparación del Compuesto VI

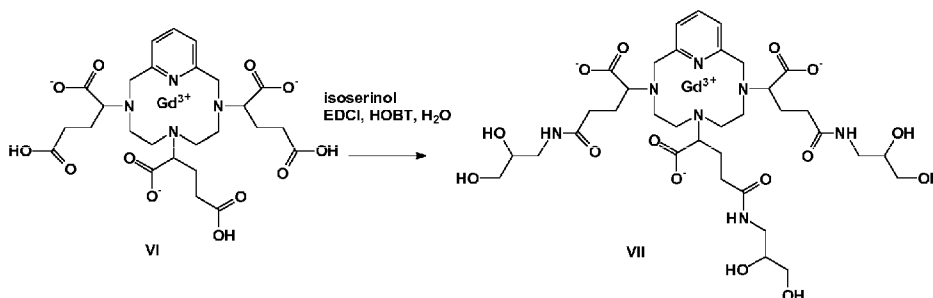
El Compuesto V (5,25 g, 0,0088 moles) se disolvió en agua desionizada (100 ml), y la disolución se llevó a pH 7 con NaOH 2M (20 ml). Se añadió lentamente una disolución de $GdCl_3$ (0,0087 moles) a RT, ajustando el pH a 7 con NaOH 2M y comprobando la complejación con naranja de xilenol. Una vez completada la complejación, la disolución se concentró y se purificó sobre resina Amberlite XAD 1600 eluyendo con gradiente de agua-acetonitrilo, con el fin de eliminar sales e impurezas. Después de liofilizar, se obtuvo el compuesto puro como un sólido blanco (6,79 g, rendimiento 94%). El producto se caracterizó por HPLC; el cromatograma de HPLC obtenido, caracterizado por varios picos, se muestra en la Figura 1.

Se obtiene un compuesto totalmente equivalente al Compuesto VI, que consiste en una mezcla isomérica con un cromatograma de HPLC sustancialmente superponible al de la Figura 1, incluso usando (S)- α -bromoglutarato de metilo obtenido a partir de ácido L-glutámico.

Ejemplo 2: Síntesis de Gadopiclenol (mezcla isomérica)

Se ha preparado Gadopiclenol como una mezcla indiscriminada de estereoisómeros como se describe en el documento EP11931673 B1 acoplando la mezcla isomérica de $Gd(PCTA\text{-}tris\text{-}\text{ácido glutámico})$ obtenida del Ejemplo 1 con isoserinol racémico según el siguiente Esquema sintético 2:

Esquema 2



Preparación del Compuesto VII

El Compuesto VI (0,90 g, 0,0011 moles), obtenido en el Ejemplo 1, se añadió a una disolución de isoserinol racémico (0,40 g, 0,0044 moles) en agua ajustada a pH 6 con HCl conc. Después, se añadieron hidrócloruro de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI-HCl) (1,0 g, 0,0055 moles) e hidroxibenzotriazol (HOBT) (0,12 g, 0,00088 moles), y la disolución resultante se agitó a pH 6 y RT durante 24 h. A continuación, el producto se purificó mediante HPLC preparativa sobre sílice C18, eluyendo con un gradiente de agua/acetonitrilo. Las fracciones que contenían el compuesto puro se concentraron y se liofilizaron, obteniendo un sólido blanco (0,83 g, rendimiento 78%). El producto se caracterizó por HPLC; el cromatograma de HPLC obtenido se muestra en la Figura 4a.

Ejemplo 3: Aislamiento del par de enantiómeros relacionado con el pico C.

El Compuesto VI obtenido como se describe en el Ejemplo 1 (etapa d) (1,0 g, 0,0013 moles) se disolvió en agua (4 ml), y la disolución se acidificó a pH 2-3 con HCl conc. La disolución obtenida se cargó en una columna preempaquetada de sílice C18 (Biotage® SNAP ULTRA C18 120 g, HP-sphere C18 25 μ m) y se purificó con un sistema automatizado de cromatografía ultrarrápida eluyendo con agua desionizada (4 CV) y después gradiente muy lento de acetonitrilo. Las fracciones enriquecidas del par de enantiómeros relacionado con el pico C se combinaron, se concentraron y se liofilizaron, obteniendo un sólido blanco (200 mg).

El cromatograma de HPLC del par C de enantiómeros enriquecidos obtenido se muestra en la Figura 2.

El espectro de MS correspondiente ($Gd(H_4L)^+$: 752,14 m/z) se muestra en la Figura 3

Ejemplo 4: Acoplamiento del par de enantiómeros C con isoserinol.

a) Acoplamiento del par de enantiómeros C con R-isoserinol.

El par C de enantiómeros enriquecido recogido por ejemplo como en el Ejemplo 3 (34 mg, título 90%, 0,040 mmoles) se disolvió en agua desionizada (5 ml), y se añadió R-isoserinol (16 mg, 0,17 mmoles) ajustando el pH a 6 con HCl 1M. Después, se añadieron EDCI-HCl (39 mg, 0,20 mmoles) y HOBT (3 mg, 0,02 mmoles), y la disolución se agitó a RT a pH 6 durante 48 h. La disolución se concentró y se cargó en una columna de sílice C18 preempaquetada (Biotage® SNAP ULTRA C18 12 g, HP-sphere C18 25 µm), eluyendo con gradiente de agua/acetonitrilo usando un sistema de cromatografía ultrarrápida automatizado. Las fracciones que contenían el producto puro, o que mostraban un pico principal en la HPLC con un área mayor que 90%, se combinaron, se concentraron y se liofilizaron dando un sólido blanco (21 mg, rendimiento 54%).

10 El cromatograma de HPLC del producto obtenido se muestra en la Figura 6b.

b) Acoplamiento del par de enantiómeros C con S-isoserinol

El par C de enantiómeros enriquecido recogido por ejemplo como en el Ejemplo 3 (55 mg, título 90%, 0,066 mmoles) se disolvió en agua desionizada (5 ml), y se añadió S-isoserinol (34 mg, 0,29 mmoles) ajustando el pH a 6 con HCl 1M. Después, se añadieron EDCI-HCl (64 mg, 0,33 mmoles) y HOBT (4,5 mg, 0,033 mmoles), y la disolución se agitó a RT a pH 6 durante 48 h. La disolución se concentró y se cargó en una columna de sílice C18 preempaquetada (Biotage® SNAP ULTRA C18 12 g, HP-sphere C18 25 µm), eluyendo con gradiente de agua/acetonitrilo usando un sistema de cromatografía ultrarrápida automatizado. Las fracciones que contenían el producto puro, o que mostraban un pico mayoritario en la HPLC con un área mayor que 90%, se combinaron, se concentraron y se liofilizaron dando un sólido blanco (52 mg, rendimiento 81%).

20 El cromatograma de HPLC del producto obtenido se muestra en la Figura 6c.

c) Acoplamiento del par de enantiómeros C con isoserinol racémico.

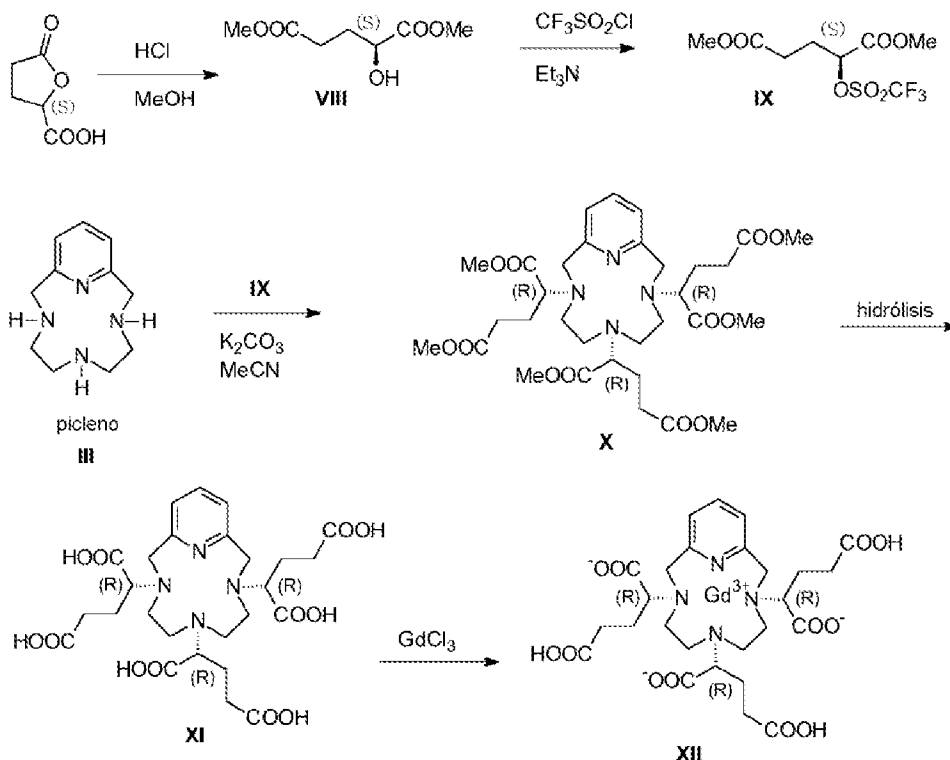
El par C de enantiómeros enriquecido recogido por ejemplo como en el Ejemplo 3 (54 mg, título 90%, 0,065 mmoles) se disolvió en agua desionizada (5 ml), y se añadió isoserinol racémico (27 mg, 0,29 mmoles) ajustando el pH a 6 con HCl 1M. Después, se añadieron EDCI-HCl (62 mg, 0,32 mmoles) y HOBT (4,3 mg, 0,032 mmoles), y la disolución se agitó a RT a pH 6 durante 24 h. La disolución se concentró y se cargó en una columna de sílice C18 preempaquetada (Biotage® SNAP ULTRA C18 12 g, HP-sphere C18 25 µm), eluyendo con gradiente de agua/acetonitrilo usando un sistema de cromatografía ultrarrápida automatizado. Las fracciones que contenían el producto puro, o que mostraban un pico principal en la HPLC con un área mayor que 90%, se combinaron, se concentraron y se liofilizaron dando un sólido blanco (60 mg, rendimiento 95%).

30 El cromatograma de HPLC del producto obtenido se muestra en la Figura 6d.

Ejemplo 5: Síntesis estereoselectiva del RRR de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) (Compuesto XII).

El Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) enriquecido en RRR se ha preparado siguiendo el Esquema sintético 3 siguiente

Esquema 3



que comprende:

a) Preparación del Compuesto VIII

- 5 La preparación se llevó a cabo como se da a conocer en Tetrahedron 2009, 65, 4671-4680.

En particular: se añadió HCl ac. al 37% (50 μl) a una disolución de ácido (S)-(+)-5-oxotetrahidrofuran-2-carboxílico (2,48 g, 0,019 moles) (comercialmente disponible) en metanol anhidro (20 ml). La disolución se calentó a reflujo bajo atmósfera de N_2 durante 24 h. Después de enfriar en hielo, se añadió NaHCO_3 , la suspensión se filtró, se concentró y se purificó sobre gel de sílice con hexanos/acetato de etilo 1:1. Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron, dando un aceite incoloro (2,97 g, rendimiento 89%).

b) Preparación de los Compuestos IX y X

El Compuesto VIII (445 mg, 2,52 mmoles) obtenido en la etapa a) se disolvió en diclorometano anhidro (6 ml), y se añadió trietilamina (0,87 ml, 6,31 mmoles). La disolución se enfrió a -40°C , y después se añadió lentamente anhídrido trifluorometanosulfónico (tríflico) (0,49 ml, 2,91 mmoles). La disolución oscura se agitó a -40°C durante 1 h, después se añadieron una disolución del Compuesto III (104 mg, 0,506 mmoles) en diclorometano anhidro (3 ml) y trietilamina (1 ml, 7,56 mmoles), y la disolución se llevó lentamente hasta RT y se agitó a RT durante la noche. Después, la disolución orgánica se lavó con HCl 2M (4 x 10 ml), la fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano (3 x 10 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se concentraron a vacío, obteniendo 400 mg de un aceite marrón que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

c) Preparación del Compuesto XI

El Compuesto X (400 mg, 0,59 mmoles) se disolvió en metanol (2,5 ml) y NaOH 5M (2,5 ml). La disolución marrón se calentó a 80°C durante 22 h para asegurar la hidrólisis completa. El metanol se concentró, la disolución se llevó a pH 1 con HCl concentrado y se purificó mediante un sistema automatizado de cromatografía ultrarrápida con una columna preempaquetada de sílice C18 (Biotage® SNAP ULTRA C18 12 g, HP-sphere C18 25 μm), eluyendo con gradiente de agua desionizada/acetonitrilo. Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron, se concentraron y se liofilizaron (64 mg, rendimiento 18%). La HPLC mostró un pico principal.

d) Compuesto XII

El Compuesto XI (32 mg, 0,054 mmoles) se disolvió en agua desionizada (4 ml), y el pH se ajustó a 7 con NaOH 1M. Se añadió $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mg, 0,054 mmoles), y el pH se ajustó a 7 con NaOH 0,1M. La disolución transparente se

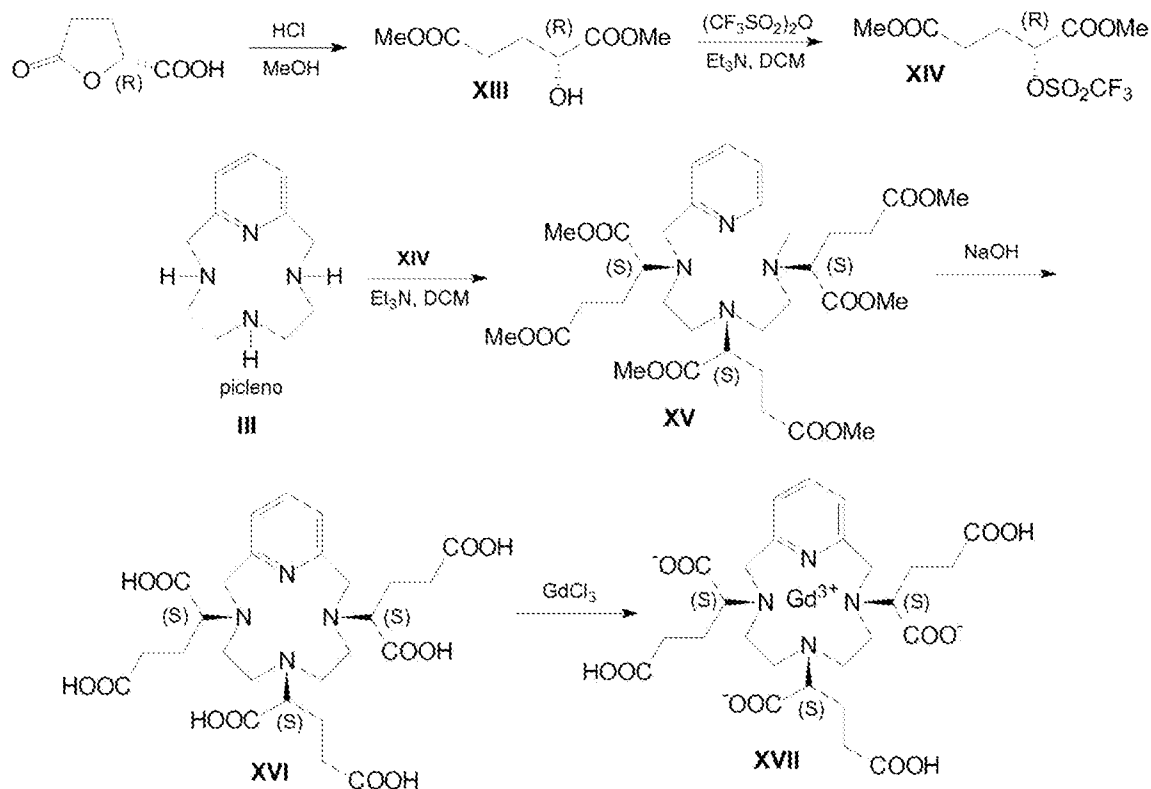
- 5 agitó a RT durante la noche, y el final de la complejación se comprobó mediante naranja de xilenol y HPLC. La HPLC del bruto mostró el isómero RRR deseado como pico principal: alrededor de 80% en % de área. La mezcla se llevó a pH 2 con HCl concentrado y se purificó a través de un sistema automatizado de cromatografía ultrarrápida con una columna preempaquetada de sílice C18 (Biotage® SNAP ULTRA C18 12 g, HP-sphere C18 25 µm), eluyendo con gradiente de agua desionizada/acetonitrilo. Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron, se concentraron y se liofilizaron (36 mg, rendimiento 90%).

Por reacción del compuesto recogido con isoserinol, por ejemplo utilizando el procedimiento del Ejemplo 2, puede obtenerse entonces el correspondiente derivado de amida RRR.

Ejemplo 6: Síntesis estereoselectiva de SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) (Compuesto XVII).

- 10 El Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) enriquecido en SSS se ha preparado de manera similar siguiendo el Esquema sintético 4 siguiente

Esquema 4



5 que comprende:

a) Preparación del Compuesto XIII

Se añadió HCl ac. al 37% (100 μl) a una disolución de ácido (R)-(-)-5-oxotetrahidrofuran-2-carboxílico (5,0 g, 0,038 moles) (comercialmente disponible) en metanol anhidro (45 ml). La disolución se calentó a reflujo bajo atmósfera de N_2 durante 24 h. Después de enfriar en hielo, se añadió NaHCO_3 , la suspensión se filtró, se concentró y se purificó sobre gel de sílice con hexanos/acetato de etilo 1:1. Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron y se concentraron, dando un aceite incoloro (6,7 g, rendimiento 99%).

b) Preparación de los Compuestos XIV y XV

Se disolvió el Compuesto XIII (470 mg, 2,67 mmoles) en diclorometano anhidro (6 ml), y se añadió trimetilamina (0,93 ml, 6,67 mmoles). La disolución se enfrió a -40°C , y después se añadió gota a gota lentamente anhídrido trifluorometanosulfónico (0,50 ml, 3,07 mmoles). La disolución oscura se agitó a -40°C durante 1 h, después se añadieron el Compuesto III (140 mg, 0,679 mmoles) y trimetilamina (0,93 ml, 6,67 mmoles), y la disolución se llevó lentamente a RT durante la noche. Después, la disolución orgánica se lavó con agua (3 x 5 ml) y HCl 2M (4 x 5 ml). La fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano (3 x 10 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se concentraron a vacío, obteniendo 350 mg de un aceite marrón que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

c) Preparación del Compuesto XVI

El Compuesto XV (350 mg, 0,514 mmoles) se disolvió en metanol (4,5 ml) y NaOH 5M (4,5 ml). La disolución marrón obtenida se calentó a 80°C durante 16 h para asegurar la hidrólisis completa. El metanol se concentró, la disolución se llevó a pH 2 con HCl concentrado y se purificó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida automatizado con una columna preempaquetada de sílice C18 (Biotage® SNAP ULTRA C18 12 g, HP-SPHERE C18 25 μm), eluyendo con un gradiente de agua/acetonitrilo. Las fracciones que contenían el producto puro se combinaron, se concentraron y se liofilizaron (52 mg, rendimiento 17%). La HPLC mostró un pico principal.

d) Preparación del Compuesto XVII

El Compuesto XVI (34 mg, 0,057 mmoles) se disolvió en agua desionizada (5 ml), y el pH se ajustó a 7 con HCl 1M. Se añadió $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mg, 0,0538 mmoles), y el pH se ajustó a 7 con NaOH 0,1M. La disolución se agitó a RT durante la noche, y el final de la complejación se comprobó mediante naranja de xilenol y HPLC. La HPLC del bruto mostró el isómero SSS deseado como pico principal: alrededor de 85% en % de área. La disolución se llevó a pH 2,5 con HCl concentrado y se purificó mediante un sistema de cromatografía ultrarrápida automatizado con una columna preempaquetada de sílice C18 (Biotage® SNAP ULTRA C18 12 g, HP-SPHERE C18 25 μm), eluyendo con un gradiente de agua/acetonitrilo. Las fracciones que contenían el producto SSS puro se combinaron, se concentraron y se liofilizaron (39 mg, rendimiento 87%).

Ejemplo 7: Estudios cinéticos de las reacciones de disociación de $\text{Gd}(\text{PCTA-tris-ácido glutárico})$ (mezcla isomérica) en una disolución de HCl 1,0M (25°C)

La inercia cinética de un complejo de $\text{Gd}(\text{III})$ se caracteriza por la velocidad de disociación medida en HCl 0,1-1,0M o por la velocidad de la reacción de transmetalación, que se produce en disoluciones con iones $\text{Zn}(\text{II})$ y $\text{Cu}(\text{II})$ o $\text{Eu}(\text{III})$. Sin embargo, la disociación de los complejos de lantánidos(III) formados con ligandos macrocíclicos es muy lenta y generalmente transcurre a través de una ruta asistida por protones sin la participación de iones metálicos endógenos tales como Zn^{2+} y Cu^{2+} .

Caracterizamos la inercia cinética del complejo $\text{Gd}(\text{PCTA-tris-ácido glutárico})$ por las velocidades de las reacciones de disociación que tienen lugar en una disolución de HCl 1,0M. El complejo (mezcla isomérica del Ejemplo 1) (0,3 mg) se disolvió en 2,0 ml de disolución de HCl 1,0M, y se siguió a lo largo del tiempo la evolución de la disolución mantenida a 25°C mediante HPLC. Las medidas de HPLC se realizaron con un sistema Agilent 1260 Infinity II mediante el Procedimiento analítico 1.

La presencia de un gran exceso de H^+ ($[\text{HCl}]=1,0 \text{ M}$), garantiza las condiciones cinéticas de pseudo primer orden.



en la que L es el PCTA-tris-ácido glutárico protonado, ligando libre, e y es el número de protones unidos al ligando.

El cromatograma de HPLC de $\text{Gd}(\text{PCTA-tris-ácido glutárico})$ se caracteriza por la presencia de cuatro señales (A, B, C y D) que tienen la misma relación m/z ($\text{Gd}(\text{H}_4\text{L})^+ : 752,14 \text{ m/z}$) en el espectro de MS. Cada uno de estos picos se puede atribuir razonablemente a uno de los 4 pares de enantiómeros generados por los tres estereocentros en los tres brazos glutáricos de la molécula, anteriormente identificados en la Tabla 1. El cromatograma de HPLC de este complejo en presencia de HCl 1,0M cambia a lo largo del tiempo: en particular, las áreas de los picos A, B, C y D disminuyen, aunque no de la misma manera para los diferentes picos, mientras que se forman y crecen con el tiempo nuevas señales que corresponden a diastereoisómeros no complejados. Las diferencias en la disminución de las áreas integrales de los picos se pueden interpretar por una velocidad de disociación diferente de los pares de enantiómeros asociados a los diferentes picos.

En presencia de un exceso de $[\text{H}^+]$, la reacción de disociación de pares de enantiómeros de $\text{Gd}(\text{PCTA-tris-ácido glutárico})$ se puede tratar como un procedimiento de pseudo primer orden, y la velocidad de las reacciones se puede expresar con la siguiente Ec. 2, en la que k_A , k_B , k_C y k_D son las constantes de velocidad de pseudo primer orden que se calculan ajustando el par de datos área-tiempo, y $[\text{A}]_t$, $[\text{B}]_t$, $[\text{C}]_t$ y $[\text{D}]_t$ son la concentración total de compuestos A, B, C y D en el tiempo t.

$$-\frac{d[\text{A}]}{dt} = k_A[\text{A}]_t; -\frac{d[\text{B}]}{dt} = k_B[\text{B}]_t; -\frac{d[\text{C}]}{dt} = k_C[\text{C}]_t; -\frac{d[\text{D}]}{dt} = k_D[\text{D}]_t \quad (\text{Ec. 2})$$

La disminución de los valores de área de las señales de A, B, C y D se ha evaluado y representado gráficamente a lo largo del tiempo. Los valores de área de las señales A, B, C y D en función del tiempo se muestran en la Figura 7.

El valor de área en el tiempo t se puede expresar mediante la siguiente ecuación:

$$A_t = A_e + (A_0 - A_e)e^{-k_x t} \quad (\text{Ec. 3})$$

en la que A_t , A_0 y A_e son los valores de área en el tiempo t, al principio y al final de las reacciones, respectivamente. Las constantes de velocidad de pseudo primer orden k_x ($k_x = k_A$, k_B , k_C y k_D), que caracterizan la velocidad de

- 5 disociación de los diferentes pares de enantiómeros del complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), se calcularon ajustando los pares de datos de área-tiempo de la Figura 7 a la ecuación 3 anterior. De este modo se obtienen las constantes de velocidad k_x y las vidas medias ($t_{1/2} = \ln 2 / k_x$), así como el promedio del valor de la vida media para la mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico), calculado considerando la composición porcentual de la mezcla. Los valores obtenidos se resumen en la siguiente Tabla 2, y se comparan con los valores correspondientes referidos en la bibliografía para algunos agentes de contraste de referencia. (Gd-DOTA o DOTAREMTM).

Tabla 2. Constantes de velocidad (k_x) y vidas medias ($t_{1/2}=\ln 2/k_x$) que caracterizan la disociación catalizada por ácido de los diferentes estereoisómeros de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico), Dotarem® y Eu (PCTA) en HCl 1,0M (pH 0) (25°C)

	A	B	C	D
k_x (s ⁻¹)	(4,5±0,1) ×10 ⁻⁵	(1,1±0,1)×10 ⁻⁴	(1,6±0,1)×10 ⁻⁶	(1,2±0,1)×10 ⁻⁵
$t_{1/2}$ (hora)	4,28 ± 0,03	1,76 ± 0,02	120 ± 3	15,8 ± 0,5
$t_{1/2}$ (hora) promedio	10,5			
Dotarem ^a				
k_1 (s ⁻¹)	8,0×10 ⁻⁶			
$t_{1/2}$ (hora)	23 horas			
Eu(PCTA) ^b				
k_1 (s ⁻¹)	5,08×10 ⁻⁴			
$t_{1/2}$ (hora)	0,38 horas			

a) Inorg. Chem. 1992, 31, 1095-1099.

b) Tirco, G. et al. Inorg Chem 2006, 45 (23), 9269-80.

- 5 Los resultados de la Tabla 2 muestran claramente que la constante de velocidad k_x que caracteriza la disociación catalizada por ácido del par de enantiómeros asociado al pico C es significativamente menor que la de los estereoisómeros del complejo Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) asociados a los picos A, B y D. La comparación de los valores de vida media ($t_{1/2}$) presentados en la Tabla 2 indica que el valor $t_{1/2}$ del par de enantiómeros asociado al pico C (del Gd(PCTA-tris-ácido glutárico)) es alrededor de 28, 68 y 8 veces mayor que los valores $t_{1/2}$ de los asociados a los picos A, B y D, respectivamente. Además, el valor $t_{1/2}$ del par de enantiómeros C de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) es algo mayor que el valor $t_{1/2}$ de Gd(DOTA) ($t_{1/2} = 23$ h en HCl 1,0M).

Ejemplo 8: Estudios cinéticos de las reacciones de disociación de Gadopíclenol (mezcla isomérica del Ejemplo 2), y de los compuestos complejos obtenidos por acoplamiento del par de enantiómeros C respectivamente con R, S, e isoserinol racémico en disolución de HCl 1,0M (25°C)

- 15 La inercia cinética de todos los complejos se caracterizó por las velocidades de las reacciones de disociación que tienen lugar en una disolución de HCl 1,0M. Para cada lote, el complejo (0,4 mg) se disolvió en 2,0 ml de disolución de HCl 1,0M, y las reacciones de disociación a 25°C se siguieron a lo largo del tiempo mediante HPLC. Las medidas de HPLC se realizaron con un sistema Thermo Finnigan LCQ DECA XPPlus según el Procedimiento analítico 2.

- 20 El cromatograma de HPLC de Gadopíclenol recogido como mezcla isomérica del Ejemplo 2 se caracteriza por la presencia de 4 picos principales (identificados por conveniencia como A', B', C' y D') que tienen los mismos espectros de MS y UV-Vis. Sin embargo, (solo hay una señal en el cromatograma de HPLC de los compuestos complejos obtenidos acoplado el par de enantiómeros C con isoserinol, ya sea R-, S-isoserinol o isoserinol racémico (Figura 6). Dado que, como se observa, la quiralidad del colgante de isoserinol no influye en el tiempo de retención de los diastereoisómeros acoplados, la presencia de 4 señales en los cromatogramas de HPLC de Gadopíclenol (mezcla isomérica) podría interpretarse por la presencia de 4 pares de enantiómeros formados con los estereocentros del resto de ácido glutárico: 1) RRR-SSS (Señal D'), 2) RSR - SRS, 3) RRS - SSR y 4) RSS - SRR.

- Para obtener información sobre la inercia cinética de todos los complejos anteriores, se investigaron sus reacciones de disociación en presencia de un gran exceso de H⁺ ([HCl]=1,0M) para asegurar la aparición de condiciones de pseudo primer orden. El progreso de las reacciones se verificó mediante HPLC a lo largo del tiempo, trazando los valores de área de los picos del complejo en función del tiempo, como se discutió anteriormente en el Ejemplo 7 para los isómeros de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico).

- 35 Como era de esperar, los valores integrales de A', B', C' y D' disminuyen con el tiempo, mientras que el pico del ligando libre aumenta. Dado que los valores de área en los cromatogramas de HPLC son directamente proporcionales a la concentración de Gadopíclenol (mezcla isomérica), la vida media de la reacción de disociación del Gadopíclenol (mezcla isomérica) puede estimarse a partir de la mitad de la suma de los valores de área. Se encontró que la vida media del Gadopíclenol (mezcla isomérica) era de 5,2 horas a 25°C y pH 0 (HCl 1,0M). La vida media de los complejos obtenidos acoplado el par de enantiómeros C con R-, S- e isoserinol racémico también se calculó a partir de la mitad

de los valores de área en los cromatogramas de HPLC. Se encontró que la vida media de los complejos obtenidos acoplando el par de enantiómeros C con R-, S- e isoserinol racémico era 41, 43 y 44 horas a 25°C y pH 0 (HCl 1,0M). La constante de velocidad de pseudo primer orden (k_x) que caracteriza la velocidad de la reacción de disociación de los complejos obtenidos mediante el acoplamiento del par de enantiómeros C con R-, S- e isoserinol racémico también se puede calcular ajustando los datos cinéticos de área-tiempo con la ecuación 3, como se afirmó anteriormente.

$$A_t = A_e + (A_0 - A_e)e^{-k_x t} \quad (\text{Ec. 3})$$

en la que A_t , A_0 y A_e son los valores de área en el tiempo t , al principio y al final de las reacciones, mientras que k_x es la constante de velocidad de pseudo primer orden (vida media: $t_{1/2}$, $t_{1/2} = \ln 2 / k_x$) que caracteriza las reacciones de disociación catalizadas por ácido de complejos obtenidos por acoplamiento del par de enantiómeros C con R-, S- e isoserinol racémico. Los valores k_x y $t_{1/2}$ obtenidos mediante el ajuste de los datos cinéticos se resumen en la siguiente Tabla 3, y se comparan con los valores correspondientes citados en la bibliografía para algunos agentes de contraste de referencia.

La comparación de los valores $t_{1/2}$ de complejos obtenidos por el acoplamiento de los pares de enantiómeros C con R-, S- e isoserinol racémico, estimados a partir de los valores de área y calculados mediante el ajuste de los datos cinéticos de área-tiempo, tienen una concordancia muy buena. Los valores $t_{1/2}$ presentados en la Tabla 3 indican claramente que la vida media de disociación de los isómeros D' obtenidos al acoplar el isómero C del par de enantiómeros con R-, S- e isoserinol racémico son aproximadamente idénticos y 8 veces mayores que el medido para Gadopiclenol (mezcla isomérica), lo que confirma que la mayor inercia cinética del RRR-SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) se mantiene sustancialmente incluso después de su acoplamiento con isoserinol. Además, los valores $t_{1/2}$ de los complejos obtenidos acoplando el par de enantiómeros C con R-, S- e isoserinol racémico también indican que la quiralidad del colgante de isoserinol no tiene influencia sobre la inercia cinética del complejo final.

Tabla 3. Constantes de velocidad (k_x) y vidas medias ($t_{1/2} = \ln 2 / k_x$) que caracterizan la disociación catalizada por ácido de Gadopiclenol (mezcla isomérica), compuestos complejos obtenidos por acoplamiento del par de enantiómeros C con R, S e isoserinol racémico, Dotarem y Eu(PCTA) en HCl 1,0M (25°C)

Gadopiclenol (mezcla isomérica)	
$t_{1/2}$ (hora)*	5,2
Par de enantiómeros C + R-isoserinol	
$t_{1/2}$ (hora)*	41
k_x (s ⁻¹)	$(4,9 \pm 0,4) \times 10^{-6}$ ($t_{1/2} = 39$ horas)**
Par de enantiómeros C + S-isoserinol	
$t_{1/2}$ (hora)*	43
k_x (s ⁻¹)	$(4,6 \pm 0,3) \times 10^{-6}$ ($t_{1/2} = 42$ horas)**
Par de enantiómeros C + isoserinol racémico	
$t_{1/2}$ (hora)*	44
k_x (s ⁻¹)	$(4,5 \pm 0,4) \times 10^{-6}$ ($t_{1/2} = 43$ horas)**
Dotarem	
$t_{1/2}$ (hora)	23 hora
k_x (s ⁻¹)	$8,0 \times 10^{-6}$
Eu(PCTA)	
$t_{1/2}$ (hora)	0,38 hora
k_x (s ⁻¹)	$5,08 \times 10^{-4}$

* calculado a partir de la mitad del área total

** calculado a partir del ajuste de la ecuación

Ejemplo 9: propiedades relaxométricas

Las propiedades relaxométricas de los compuestos complejos basados en PCTA según la invención se han medido a diferentes intensidades de campo magnético, es decir, 0,47 y 1,41 T, a 37°C y en diferentes medios (agua y plasma humano), y se han comparado con los valores de relaxividad medidos, en las mismas condiciones, para el complejo de Gd que tiene una jaula de coordinación análoga.

Materiales

Aparato

La velocidad de relajación longitudinal del protón del agua ($R_1 = 1/T_1$) se midió a 0,47 T con un espectrómetro Minispec MQ-20 (Bruker Biospin, Alemania) que opera a una frecuencia de Larmor de protón de 20 MHz; los experimentos de MR a 1,41 T se realizaron utilizando un espectrómetro Minispec MQ-60 (Bruker Biospin, Alemania) que funciona a una frecuencia de Larmor de protón 60 de MHz.

Métodos

Preparación de la muestra

Todos los artículos de ensayo se usaron tal como se suministraron, y se diluyeron en el medio seleccionado (agua o plasma humano) pesando la cantidad requerida de complejo quelado paramagnético para obtener una disolución de partida de 5 o 10 mM.

Medidas de relaxividad

Se han preparado cinco muestras de concentración diferentes (0,1, 0,25, 0,5, 0,75 y 1 mM) para cada medio mediante una dilución adicional de la disolución inicial de 5 o 10 mM.

Medida de la relajación

Las medidas de relaxividad se llevaron a cabo a 0,47 T y 1,41 T a una temperatura predeterminada de la muestra de 37°C, mantenida constante mediante un baño termostático conectado al portamuestras del espectrómetro. Las cinco disoluciones de muestra se precalentaron previamente a 37°C en un baño termostático externo y después se dejaron 10 minutos dentro del baño interno para asegurar la estabilización de la temperatura. El tiempo de relajación longitudinal T_1 se midió mediante una secuencia de recuperación de inversión estándar, en la que el tiempo de inversión (T_I) se varió de 10 ms a al menos 5 veces T_1 en 15 etapas. El análisis estadístico (ajuste mono-exponencial para la medida de T_1 , ajuste lineal para la evaluación de la relaxividad longitudinal) se llevó a cabo mediante Mathematica® (Wolfram, USA). Los errores en los parámetros estimados se evaluaron mediante el procedimiento de ajuste.

Resultados

La siguiente Tabla 4 muestra el valor de relaxividad r_1 dado a conocer en el documento EP 1931673 B1 para el Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) (mezcla isomérica), y el valor r_1 correspondiente obtenido, en las mismas condiciones, para fracciones purificadas de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)

Tabla 4

Compuesto	r_1 (mM ⁻¹ s ⁻¹) H ₂ O, 0,5T, 37°C
Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) mezcla isomérica	7,2*
RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)	9,3 ± 0,1
* valor dado a conocer en el documento EP 1931673 B1	

La siguiente Tabla 5 resume los valores de relaxividad r_1 medidos, tanto en H₂O como en HSA, a 37°C, para derivados de amida obtenidos por conjugación de RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) con isoserinol, junto con la

estereoquímica del serinol usado para la conjugación, en comparación con los valores correspondientes citados por la técnica anterior para Gadopíclenol (mezcla isomérica).

Tabla 5

Compuesto	r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) H_2O , 0,5T, 37°C	r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) HSA, 1,5T, 37°C
Gadopíclenol (mezcla isomérica)	11*	$12,8 \pm 1,3^{**}$
Par de enantiómeros C + isoserinol racémico	$13,0 \pm 0,1$	$14,0 \pm 0,2$
Par de enantiómeros C + R isoserinol	$12,9 \pm 0,1$	$14,0 \pm 0,3$
Par de enantiómeros C + S isoserinol	$12,9 \pm 0,2$	$13,9 \pm 0,2$
* valor dado a conocer en el documento EP 1931673; se da de otro modo un valor de $11\text{-}12 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ para el mismo compuesto en el documento EP 2988756; ** valor dado a conocer en Invest. Radiol. 2015, 50, 835-842		

Los resultados obtenidos de un lado muestran que la mayor relaxividad medida para RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) con respecto a la correspondiente mezcla isomérica se mantiene sustancialmente para los derivados conjugados respectivos. Por otro lado, estos resultados son consistentes con el hecho de que la esteoquímica del resto de isoserinol no afecta las propiedades principales del compuesto final que están asociadas principalmente con la esteoquímica del brazo glutárico.

Ejemplo 10: difracción de rayos X

Par de enantiómeros C

Preparación de cristales

Los monocristales de fórmula $\{(\text{C}(\text{NH}_2)_3)_2[\text{Gd}(\text{H}_3\text{L})(\text{C}_2\text{O}_4)]\} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (en la que $\text{Gd}(\text{H}_3\text{L})$ es el RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) tris-protonado) adecuados para estudios de difracción de rayos X se hicieron crecer a partir de una disolución acuosa del compuesto C enriquecido en RRR/SSS recogido del Ejemplo 3 mediante evaporación lenta de agua. Para promover la cristalización, las dos moléculas de agua de la esfera interna del complejo de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) se reemplazaron por anión oxalato, y la sal de guanidinio relacionada se cristalizó entonces en agua. La disolución de partida se preparó disolviendo 49,6 mg de $(\text{C}(\text{NH}_2)_3)_2(\text{C}_2\text{O}_4)$ ($2,5,0 \times 10^{-4}$ moles) en una disolución acuosa del compuesto C enriquecido recogido del Ejemplo 3 (1,0 ml; disolución acuosa de GdH_3L 0,0483M $5,0 \times 10^{-5}$ moles). El pH se ajustó a 3,3 mediante la adición escalonada de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ sólido.

Los cristales se aislaron, y los datos de XRD se recogieron de al menos cinco cristales, en la línea de haz de difracción de rayos X (XRD1) del Elettra Synchrotron, Trieste (Italia), con el procedimiento por ejemplo descrito por Lausi A. et al., The European Physical Journal Plus, 2015, 130, 1-8. En particular: los cristales recogidos se sumergieron en aceite de NHV (Jena Bioscience, Jena, Alemania), se congelaron en nitrógeno líquido y se montaron en el cabezal del goniómetro con bucles de kapton (MiTeGen, Ithaca, USA). Cuando estuvieron disponibles diferentes formas de cristal, se ensayaron todas ellas. Se recopilaron conjuntos de datos completos a 100 K (corriente de nitrógeno suministrada a través de un Oxford Cryostream 700 - Oxford Cryosystems Ltd., Oxford, Reino Unido) mediante el método de cristal giratorio. Los datos se adquirieron utilizando una longitud de onda monocromática de 0,700 Å, en un detector de área de píxeles híbridos Pilatus 2M (DECTRIS Ltd., Baden-Daettwil, Suiza).

Resultados

Las estructuras se resolvieron mediante el algoritmo de espacio dual implementado en los métodos directos SHELXT (Sheldrick G.M. (2015). "SHELXT - Integrated space-group and crystal-structure determination", Acta Crystallographica Section A, 71, 3-8). El análisis de Fourier y el refinamiento se llevaron a cabo mediante los métodos de mínimos cuadrados de matriz completa basados en F^2 . El refinamiento por movimiento térmico anisotrópico se ha usado para todos los átomos. Los átomos de hidrógeno se incluyeron en posiciones calculadas con $U_{\text{factores}}^{\text{isotrópico}} = 1,2 \cdot U_{\text{eq}}$ o $U_{\text{factores}} = 1,5 \cdot U_{\text{eq}}$ para grupos hidroxilo (siendo U_{eq} el factor térmico isotrópico equivalente del átomo que no es hidrógeno enlazado). Los átomos de hidrógeno para las moléculas de agua de disolvente no se han incluido en los modelos refinados, ya que no fue posible ubicarlos sin ambigüedades en los picos de densidad electrónica de los mapas de diferencias de Fourier.

Los datos esenciales de cristal y refinamiento se muestran en la Tabla siguiente.

Tabla 6. Datos cristalográficos y configuraciones de estereocentros para conjuntos de datos de $\{(C(NH_2)_3)_2[Gd(H_3L)(C_2O_4)]\} \cdot 5H_2O$.

Sistema cristalino Monoclínico

Grupo espacial P 2₁/c

Celda unitaria a = 10,682(2) Å

b = 36,733(7) Å

c = 10,521(2) Å

$\alpha = 90^\circ$

$\beta = 90,80(3)^\circ$

$\gamma = 90^\circ$

Volumen (Å³) 4127,9(14)

Índices R finales [$I > 2\sigma(I)$] R₁ = 0,0281, wR₂ = 0,0700

$R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$, $wR_2 = \{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$

5

Configuraciones de centros quirales.

Átomo	Configuración de centros quirales
C7_2	R
C14_2	R
C21_2	R
Grupo espacial centrosimétrico P 2 ₁ /c	

La estructura de rayos X del complejo $\{(C(NH_2)_3)_2[Gd(H_3L)(C_2O_4)]\} \cdot 5H_2O$ y de la celda unitaria del cristal formado se proporcionan en las Figuras 9 y 10, respectivamente.

- 10 La Figura 10 muestra que cada celda unitaria contiene complejos 2RRR+2SSS, en la que esto significa que cada cristal contiene isómeros SSS y RRR en relaciones equimolares (50 - 50%).

Derivado de amida con isoserinol racémico

- 15 Los monocristales de fórmula $[GdC_{35}H_{54}N_{7}O_{15}][CH_6N_3]_2[CO_3] \cdot 18H_2O$ (GdL) (en la que GdL es RRR/SSS de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) conjugado con isoserinol racémico) adecuados para estudios de difracción de rayos X se hicieron crecer a partir de una disolución acuosa del derivado de amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutárico) con isoserinol racémico recogido del Ejemplo 4 c). Para promover la cristalización, las dos moléculas de agua de la esfera interna del complejo final se reemplazaron por anión carbonato, y la sal de guanidinio relacionada se cristalizó en agua por difusión lenta de etanol y éter dietílico a 4°C. En particular, 1,0 equivalentes molares (97 mg del complejo GdL y 9 mg de carbonato de guanidina $\{C(NH_2)_3\}_2CO_3$) se disolvieron en 1 ml de H₂O, pH = 10,5, con la difusión lenta de la mezcla de EtOH y Et₂O.

- 20 Se aislaron quince monocristales, y se llevaron a cabo recolecciones de datos de XRD de siete cristales, en la línea de haz de difracción de rayos X (XRD1) del Elettra Synchrotron, Trieste (Italia), con el procedimiento por ejemplo descrito por Lausi A. et al., The European Physical Journal Plus, 2015, 130, 1-8. En particular: los cristales recogidos se sumergieron en aceite de NHV (Jena Bioscience, Jena, Alemania), se congelaron en nitrógeno líquido, y se montaron en el cabezal del goniómetro con bucles de kapton (MiTeGen, Ithaca, USA). Cuando estuvieron disponibles diferentes formas de cristal, se ensayaron todas ellas. Se recopilaron conjuntos de datos completos a 100 K (corriente de nitrógeno suministrada a través de un Oxford Cryostream 700 - Oxford Cryosystems Ltd., Oxford, Reino Unido)

25

mediante el método de cristal giratorio. Los datos se adquirieron utilizando una longitud de onda monocromática de 0,700 Å, en un detector de área de píxeles híbridos Pilatus 2M (DECTRIS Ltd., Baden-Daettwil, Suiza).

Las estructuras se resolvieron por métodos directos. El análisis de Fourier y el refinamiento se llevaron a cabo mediante los métodos de mínimos cuadrados de matriz completa basados en F^2 . El refinamiento por movimiento térmico anisotrópico se ha usado para todos los átomos. Los átomos de hidrógeno se incluyeron en posiciones calculadas con $U_{\text{factores isotrópico}} = 1,2 \cdot U_{\text{eq}}$ o $U_{\text{factores}} = 1,5 \cdot U_{\text{eq}}$ para los grupos metilo e hidroxilo (siendo U_{eq} el factor térmico isotrópico equivalente del átomo que no es hidrógeno enlazado). Los átomos de hidrógeno para las moléculas de agua de disolvente no se han incluido en los modelos refinados, ya que no fue posible ubicarlos sin ambigüedades en los picos de densidad electrónica de los mapas de diferencias de Fourier.

Tabla 7. Datos cristalográficos y configuraciones de estereocentros para conjuntos de datos de GdL.

Sistema cristalino Trigonal

Grupo espacial R -3

Celda unitaria $a = 53,395(8)$ Å

$b = 53,395(8)$ Å

$c = 12,959(3)$ Å

$\alpha = 90^\circ$

$\beta = 90^\circ$

$\gamma = 120^\circ$

Volumen (Å³) 31997(11)

Índices R finales [$I > 2\sigma(I)$] $R_1 = 0,0554$, $wR_2 = 0,1496$

Configuraciones de estereocentros en la ASU

C7 R C28A R - 54(1)% de ocupación C28B S - 45(1)% de ocupación

C14 R C31A R - 62(1)% de ocupación C31B S - 38(1)% de ocupación

C21 R C34A R - 50(1)% de ocupación C34B S - 50(1)% de ocupación

$a R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$, $wR_2 = \{ \sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2] \}^{1/2}$

Con respecto a los procedimientos y elaboraciones explotados, véase, por ejemplo: Lausi A., Polentarutti M., Onesti S., Plaisier J. R., Busetto E., Bais G., Barba L., Cassetta A., Campi G., Lamba D., Pifferi A., Mande S. C., Sarma D. D., Sharma S. M., Paolucci G., The European Physical Journal Plus, 2015, 130, 1-8.

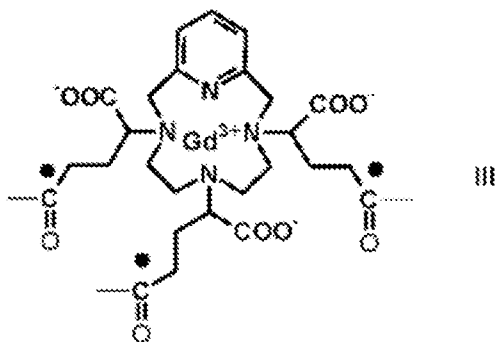
La estructura de rayos X del complejo D'-CO₃²⁻ y el análisis estadístico de los cristales recolectados se proporcionan como Figura 11.

REIVINDICACIONES

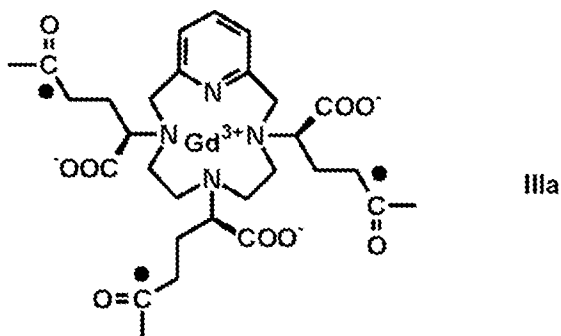
1.- Un proceso para la preparación de una mezcla isomérica de un derivado de amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de fórmula (II B)



5 en la que F' es una mezcla isomérica de residuo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de fórmula (III)

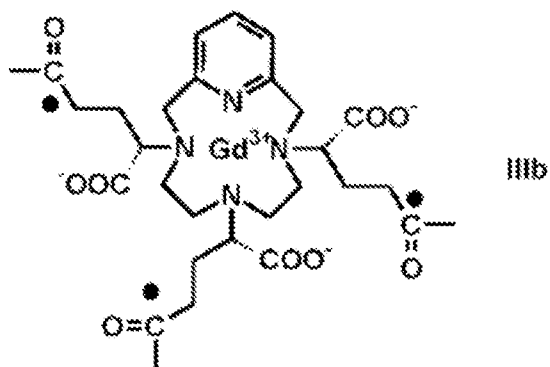


10 comprendiendo dicha mezcla isomérica del residuo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) al menos un 50% de un residuo de enantiómero de fórmula (IIIa)



del residuo de enantiómero de fórmula (IIIb)

15



o de una mezcla de los mismos; y

cada uno de los grupos $-NR_1R_2$ está unido a un enlace abierto de un respectivo resto carboxilo de F', identificado con un círculo en negro (●) en la estructura anterior;

R_1 es H o un alquilo de C_1-C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo;

R_2 es un alquilo de C_1-C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo;

5 comprendiendo dicho proceso:

a') obtener una mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) que comprende al menos un 50% del respectivo [($\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R$)- $\alpha, \alpha', \alpha''$ -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- $\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9$]-gadolinio (enantiómero RRR), o [($\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S$)- $\alpha, \alpha', \alpha''$ -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- $\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9$]-gadolinio (enantiómero SSS), o, preferiblemente de una mezcla de los mismos;

y
b') convertir la mezcla isomérica del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) obtenida de la etapa a') en la correspondiente mezcla isomérica de derivado de amida.

2.- El proceso según la reivindicación 1, en el que R_1 es H, y R_2 es alquilo de C_1-C_3 sustituido con uno o dos grupos hidroxilo.

3.- El proceso según la reivindicación 1 o 2, en el que R_2 es un residuo de serinol o un residuo de isoserinol.

4.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R_2 se selecciona de R-isoserinol, S-isoserinol o isoserinol racémico.

5.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la mezcla isomérica de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de la etapa a') se obtiene mediante cromatografía partiendo del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) obtenido como mezcla isomérica.

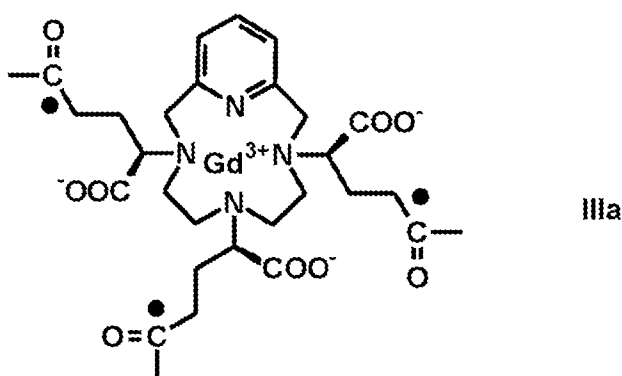
6.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el producto recuperado de la etapa a') se hace reaccionar con isoserinol.

7.- Un proceso para la preparación de un derivado de amida de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de fórmula (II A)

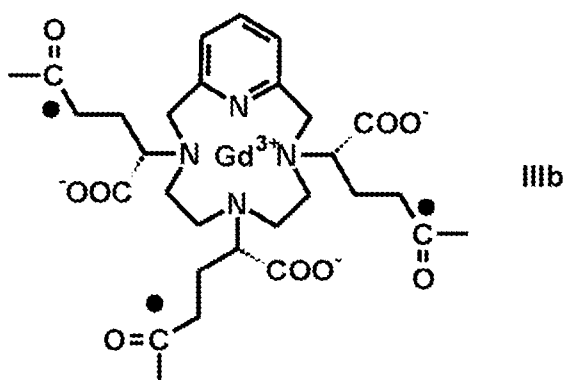


en la que F es:

un residuo de enantiómero RRR de fórmula IIIa



un residuo de enantiómero SSS de fórmula IIIb



o una mezcla de tales residuos de enantiómero RRR y SSS;

y cada uno de los tres grupos $-NR_1R_2$ está unido a un enlace abierto de un respectivo resto carboxilo de F, identificado con un círculo en negro (●) en las estructuras anteriores;

R_1 es H o un alquilo de C_1 - C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo; y

R_2 es un alquilo de C_1 - C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo;

comprendiendo dicho proceso:

a) obtener $(\alpha R, \alpha' R, \alpha'' R)$ - $\alpha, \alpha', \alpha''$ -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- $\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9$ -gadolinio (isómero RRR del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)), o $[(\alpha S, \alpha' S, \alpha'' S)$ - $\alpha, \alpha', \alpha''$ -tris(2-carboxietil)-3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trien-3,6,9-triacetato(3-)- $\kappa N3, \kappa N6, \kappa N9, \kappa N15, \kappa O3, \kappa O6, \kappa O9$ -gadolinio (isómero SSS del Gd(PCTA-tris-ácido glutámico)), o una mezcla de los mismos; y

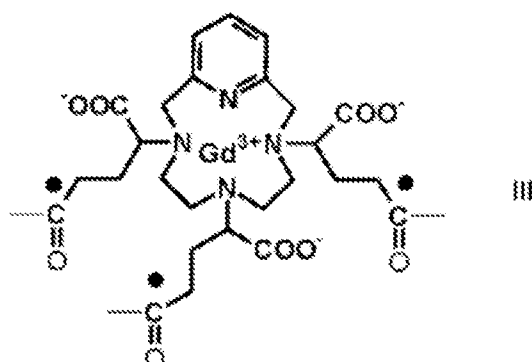
b) convertir el isómero, o mezcla de isómeros, obtenido de la etapa a) en el correspondiente derivado de amida.

8.- El proceso según la reivindicación 7, en el que R_2 es un alquilo de C_1 - C_3 sustituido con uno o dos grupos hidroxilo.

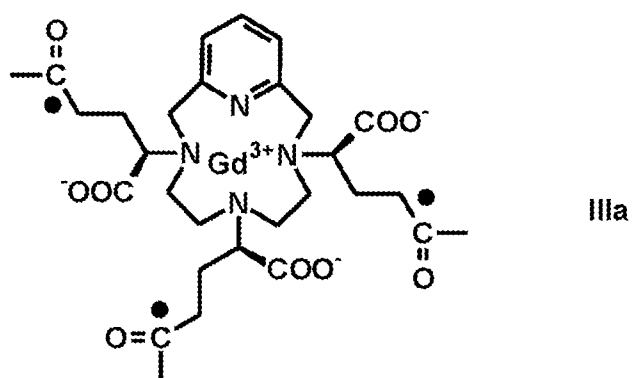
9.- Uso del derivado de amida de fórmula (II B)



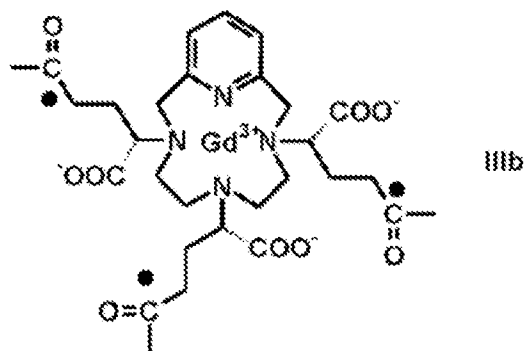
en la que F' es una mezcla isomérica de residuo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) de fórmula (III)



comprendiendo dicha mezcla isomérica del residuo de Gd(PCTA-tris-ácido glutámico) al menos un 50% de un residuo de enantiómero de fórmula (IIIa)



del residuo de enantiómero de fórmula (IIIb)



5

o de una mezcla de los mismos; y

cada uno de los grupos $-NR_1R_2$ es unido a un enlace abierto de un respectivo resto carboxilo de F' , identificado con un círculo en negro (•) en la estructura anterior;

10 R_1 es H o un alquilo de C_1-C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo;

R_2 es un alquilo de C_1-C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo;

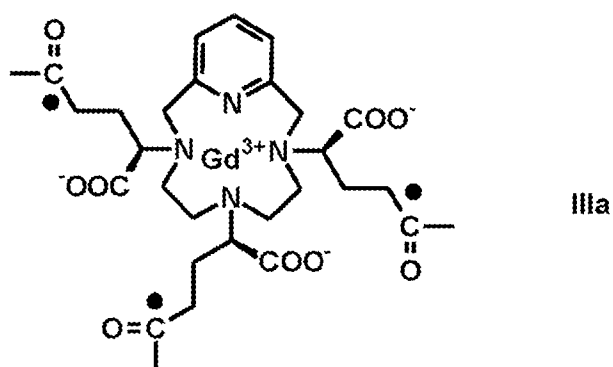
como agente de contraste.

10.- Uso del derivado de amida de fórmula (II A)

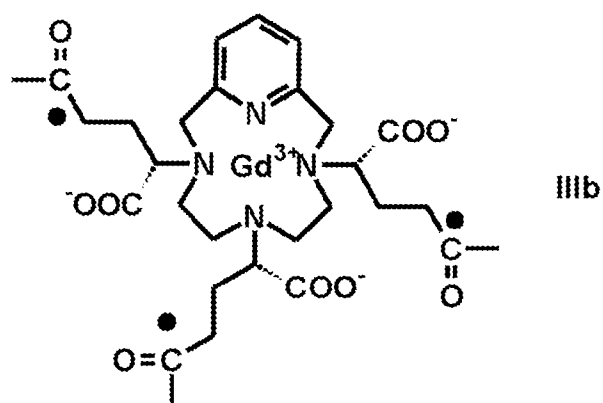


15 en la que F es:

un residuo de enantiómero RRR de fórmula IIIa



un residuo de enantiómero SSS de fórmula IIIb



5

o una mezcla de tales residuos de enantiómero RRR y SSS;

y cada uno de los tres grupos $-NR_1R_2$ está unido a un enlace abierto de un respectivo resto carboxilo de F, identificado con un círculo en negro (•) en las estructuras anteriores;

10 R_1 es H o un alquilo de C_1-C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo;

R_2 es un alquilo de C_1-C_6 , opcionalmente sustituido con 1-4 grupos hidroxilo;

como agente de contraste.

11.- El uso según la reivindicación 9 o 10, en el que el agente de contraste es para análisis de formación de imágenes mediante resonancia magnética (MRI).

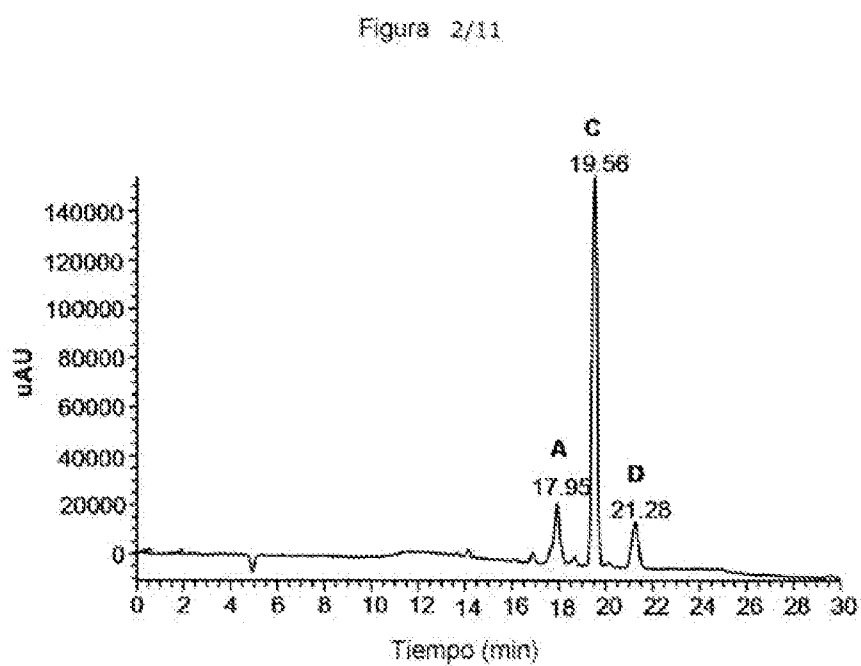
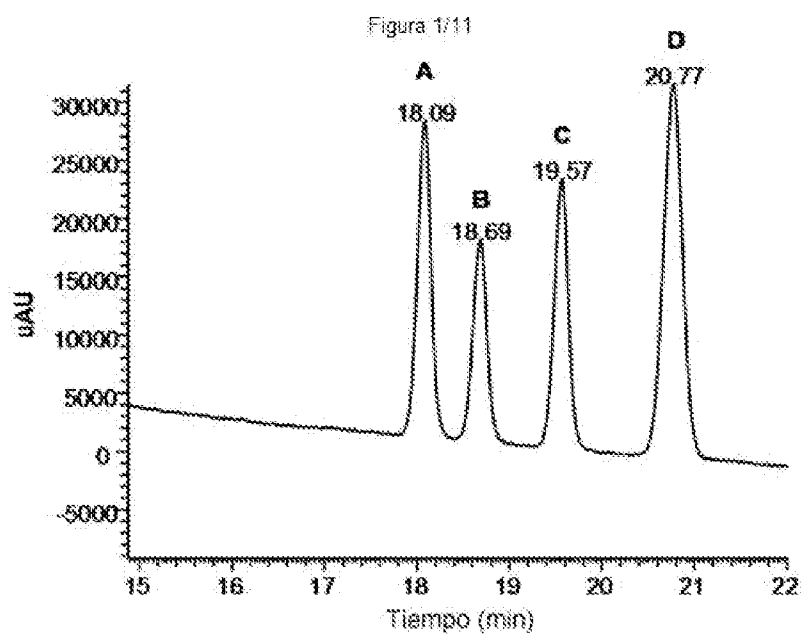


Figura 3/11

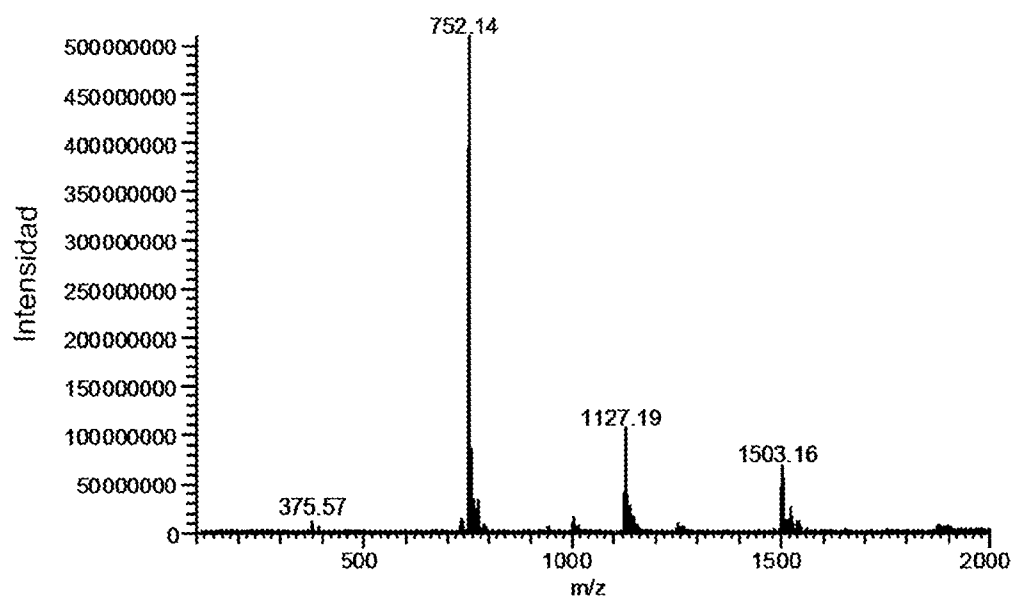


Figura 4/11

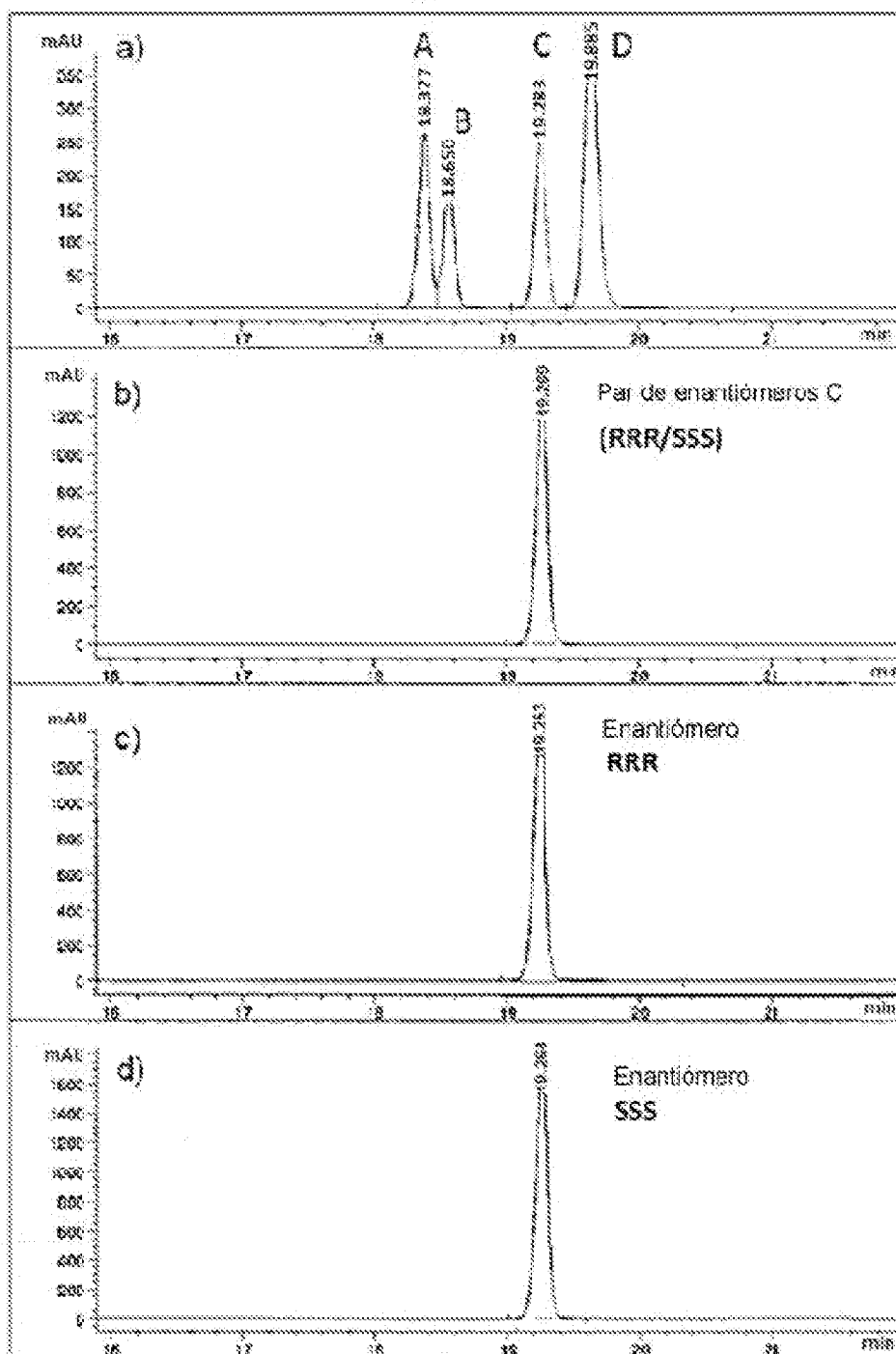


Figura 5/11

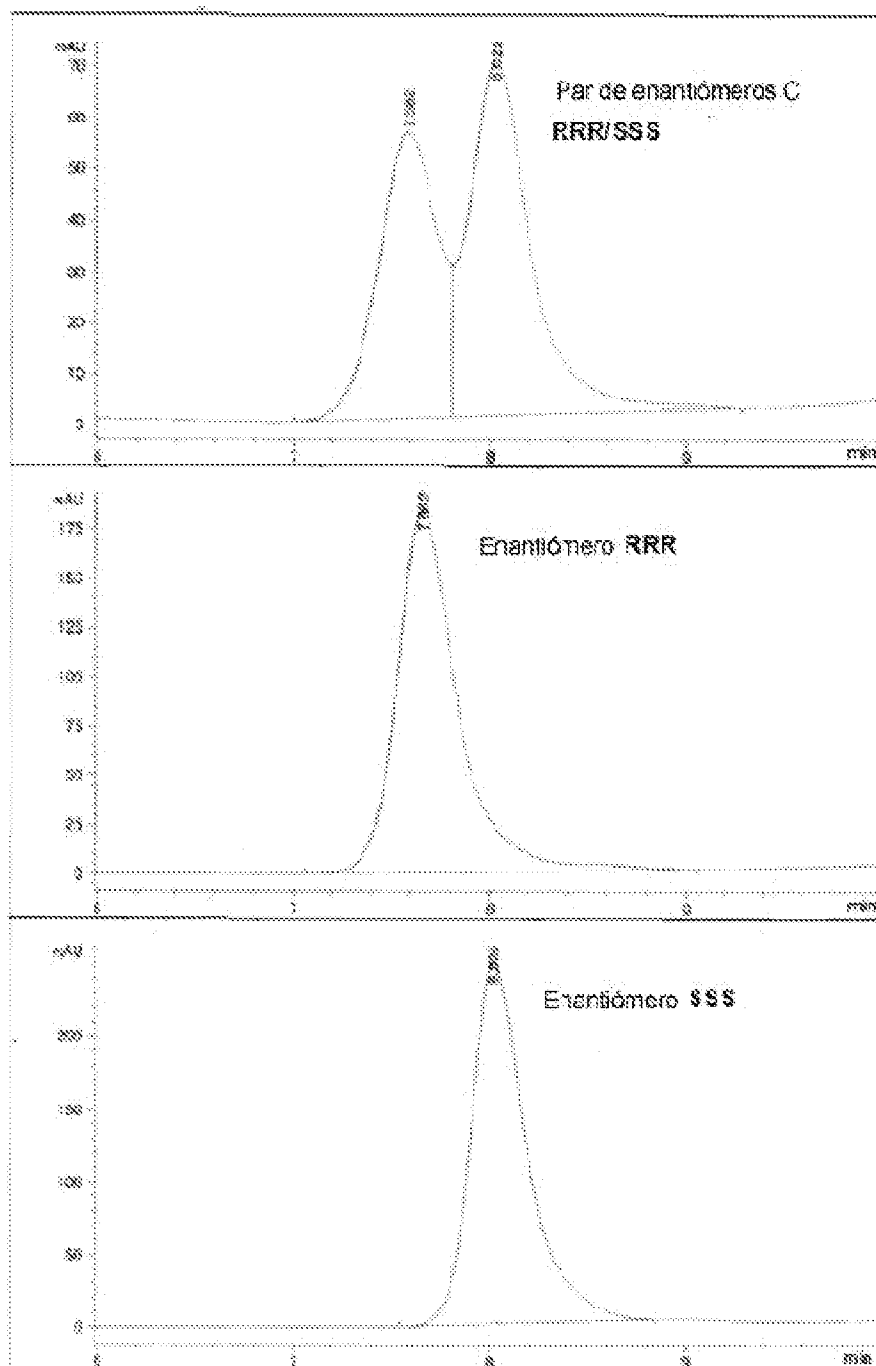


Figura 6/11

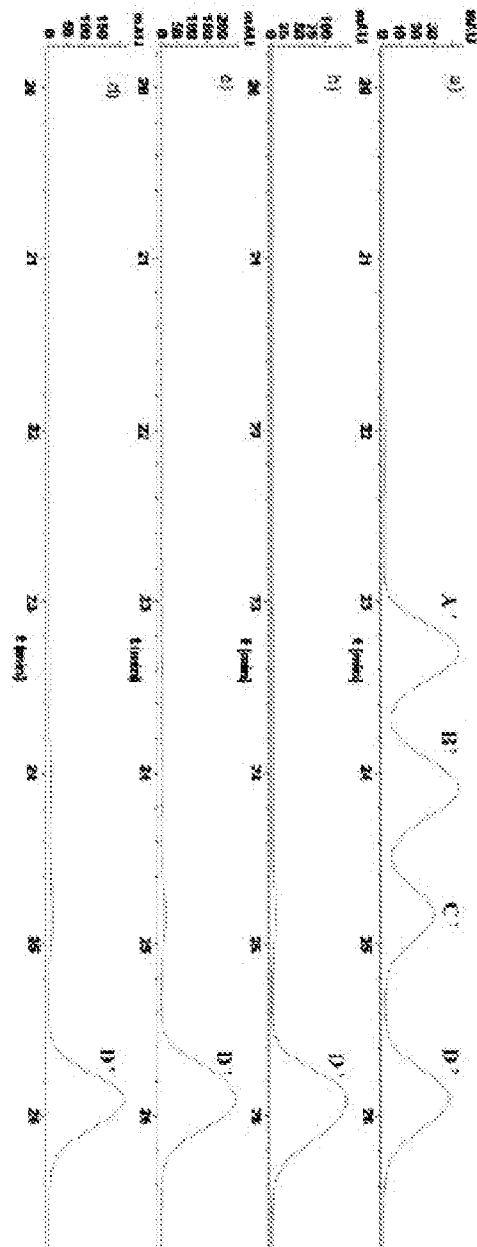
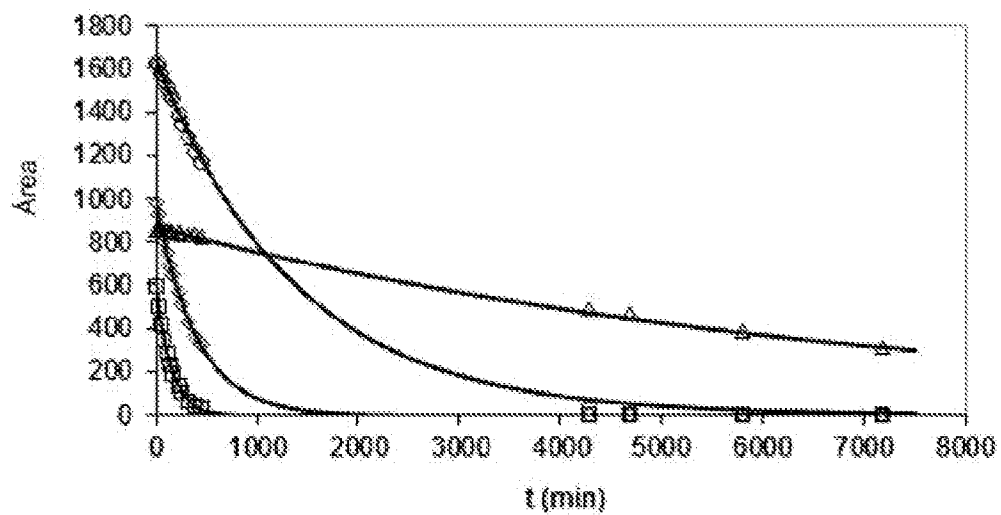
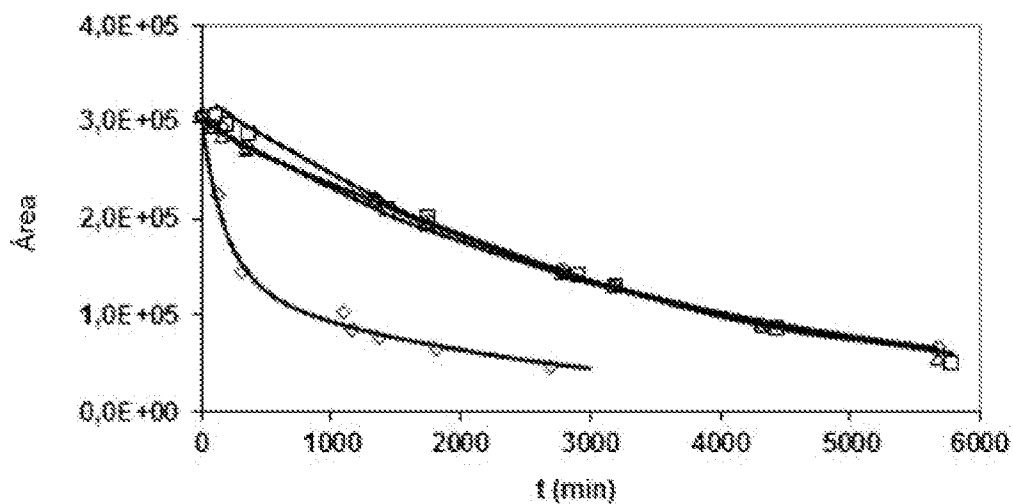


Figura 7/11



ÁREA DE LOS PICOS A (◇), B (□), C (Δ) Y D (○) EN EL CROMATOGRAMA DE HPLC DE Gd(PCTA-tris-ácido glutámico). LOS SÍMBOLOS EN BLANCO Y LAS CURVAS REPRESENTAN LOS VALORES DE ÁREA EXPERIMENTALES Y CALCULADOS, RESPECTIVAMENTE. ([GdL]=0,2 mM, HCl 1,0 M, 25°C)

Figura 8/11



ÁREA TOTAL EN EL CROMATOGRAMA DE HPLC DE P03277 (◇) A LO LARGO DEL TIEMPO. ÁREA EN EL CROMATOGRAMA DE HPLC DEL PAR DE ENANTIÓMEROS C FUNCIONALIZADO CON R ISOSERINOL (□), S ISOSERINOL (Δ) E ISOSERINOL RACÉMICO (○) A LO LARGO DEL TIEMPO. LOS SÍMBOLOS EN BLANCO Y LAS CURVAS REPRESENTAN LOS VALORES DE ÁREA EXPERIMENTALES Y CALCULADOS, RESPECTIVAMENTE. ([GdL]=0,2 mM, HCl 1,0 M, 25°C)

Figura 9/11

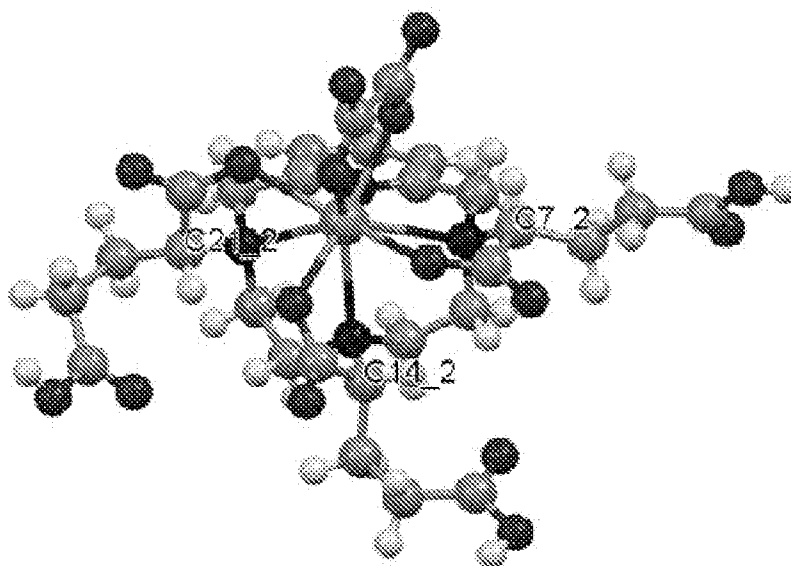


Figura 10/11

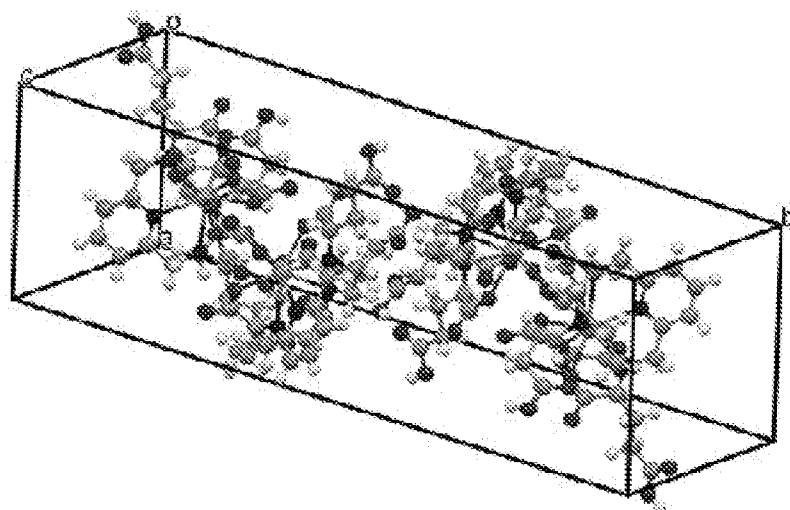
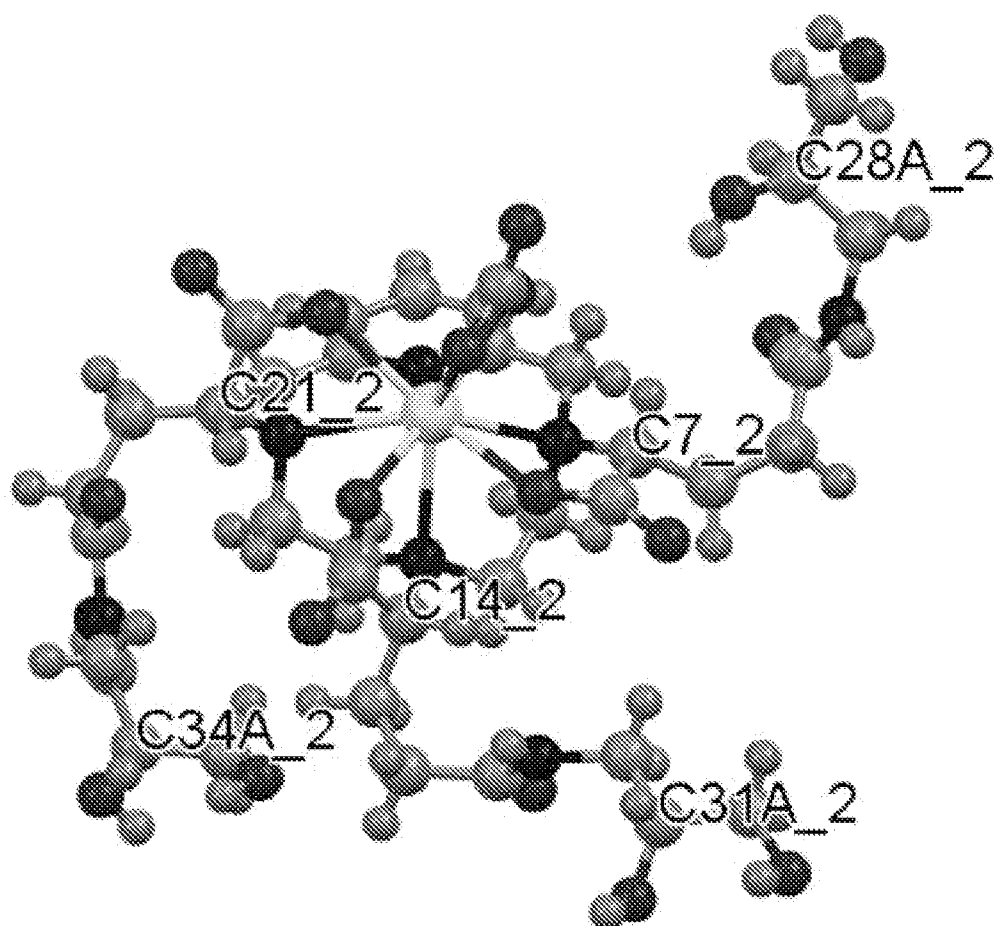


Figura 11/11



	RRR - RRR	RRR - SSS
Abundancia	28 %	22 %
	SSS - RRR	SSS - SSS
Abundancia	22 %	28%