

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 991 736**

51 Int. Cl.:

C07D 257/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.07.2021** **PCT/EP2021/070801**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.02.2022** **WO22023240**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.07.2021** **E 21752511 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.07.2024** **EP 4188912**

54 Título: **Fabricación de agentes de contraste diméricos**

30 Prioridad:

27.07.2020 EP 20187948

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

04.12.2024

73 Titular/es:

BRACCO IMAGING SPA (100.0%)
Via Egidio Folli, 50
20134 Milano, IT

72 Inventor/es:

BARALE, ANDREA;
BOI, VALERIA;
FERRIGATO, AURELIA;
GAZZETTO, SONIA;
GIARDINA-PAPA, DANIELA;
MORTILLARO, ARMANDO;
ORIO, LAURA y
VERANI, MASSIMO

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 991 736 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

Fabricación de agentes de contraste diméricos

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la preparación de agentes de contraste para su uso en formación de imágenes por resonancia magnética (MRI). En particular, la invención se refiere a un nuevo proceso para la preparación de agentes de contraste diméricos, especialmente completo de $[\mu\text{-}[1\text{-bis}[2\text{-}(\text{hidroxi-}\kappa\text{O})\text{-}3\text{-}[4,7,10\text{-tris}[(\text{carboxi-}\kappa\text{O})\text{metil}]\text{-}1,4,7,10\text{-tetraazaciclododec-1-il-}\kappa\text{N}^I,\kappa\text{N}^H,\kappa\text{N}^F,\kappa\text{N}^{I0}]\text{propil}]\text{amino}]\text{-}1\text{-desoxi-D-glucitolato}(6\text{-})]\text{di-gadolinio}$.

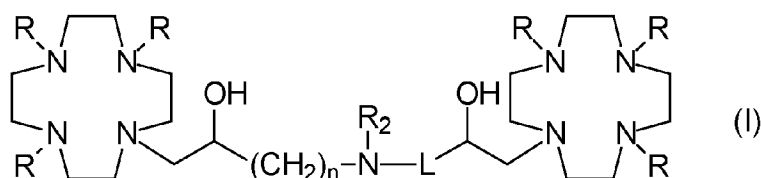
ESTADO DE LA TÉCNICA

La formación de imágenes por resonancia magnética (MRI) es una técnica de formación de imágenes de diagnóstico renombrada usada cada vez más en diagnósticos clínicos para un número creciente de indicaciones.

La fuerte expansión de la MRI médica se ha beneficiado adicionalmente del desarrollo de una clase de compuestos, los agentes de contraste de MRI, que actúan provocando una variación drástica de las tasas de relajación de protones de agua cercana en los tejidos/órganos/fluidos en los que se distribuyen, añadiendo así información fisiológica relevante a la impresionante resolución anatómica obtenida comúnmente en las imágenes de MRI sin contraste.

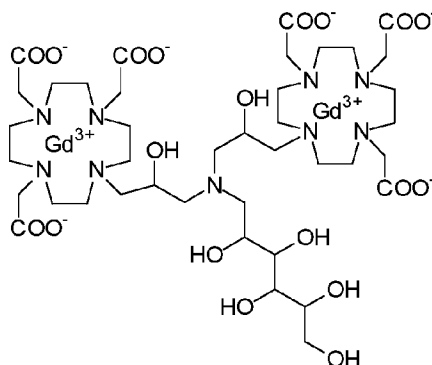
Los agentes de contraste para su uso en la técnica de formación de imágenes MRI incluyen normalmente un ion de metal paramagnético que está complejoado con un ligando quelante cíclico o acíclico, más normalmente un agente de quelación poliaminopolicarboxílico. La clase más importante de agentes de contraste de MRI está representada por los agentes de quelación de Gd(III), que se usan actualmente en aproximadamente 1/3 de las pruebas clínicas. De hecho, Gd(III) es altamente paramagnético con siete electrones desapareados y un tiempo de relajación electrónica largo, convirtiéndolo en un candidato excelente como agente de relajación.

El documento WO2017098044 (mismo solicitante que la presente solicitud) da a conocer complejos paramagnéticos diméricos útiles como agentes de contraste, específicamente en la formación de imágenes por resonancia magnética (MRI), de fórmula



y una ruta de síntesis para su preparación.

Entre un número de compuestos específicos, la solicitud da a conocer el complejo de di-gadolinio del ligando de 1-[bis[2-hidroxi-3-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododec-1-il]propil]amino]-1-desoxi-D-glucitol de fórmula



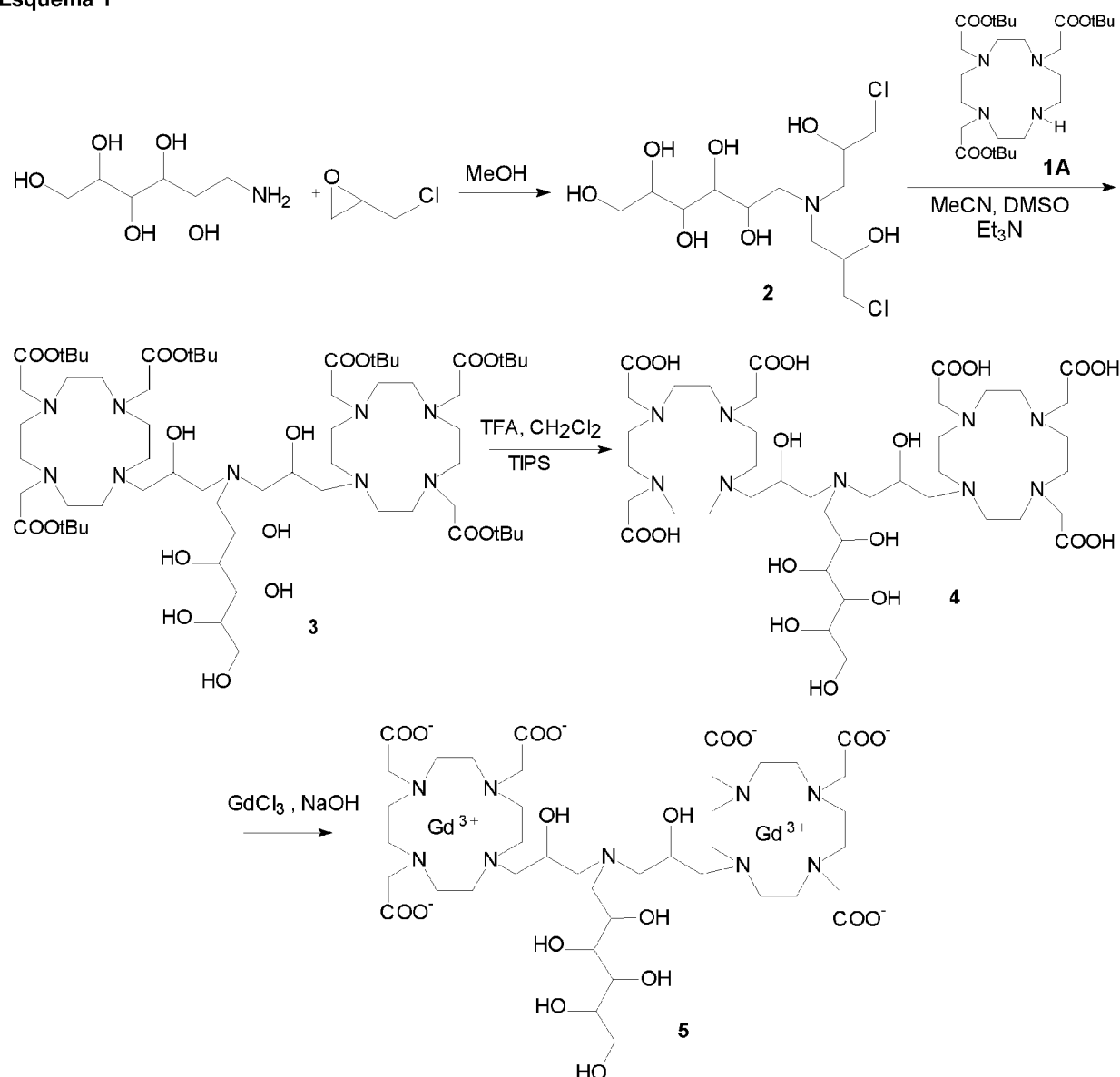
identificado a continuación en el presente documento de otro modo como "compuesto complejo dimérico 5" o de manera más simple como "compuesto 5".

Este compuesto complejo muestra propiedades interesantes, especialmente en términos de capacidad de relajación y tolerabilidad, lo que lo convierte en adecuado para su uso en la formación de imágenes de diagnóstico *in vivo*

llevada a cabo con dosis del complejo paramagnético menores que las requeridas por los agentes de contraste del mercado.

Además se da a conocer un proceso de preparación en la solicitud internacional anterior, esquematizado en el siguiente esquema general 1:

Esquema 1



Las etapas principales del proceso de síntesis dado a conocer comprenden:

- la preparación y el aislamiento de éster tri-terc-butílico de DO3A (compuesto 1A) llevados a cabo sustancialmente tal como se da a conocer en *Org. Synth.* 2008, 85, 10;
- la preparación del producto intermedio 2 mediante la alquilación de D-glucamina con epiclorhidrina (relación molar 1:4,95) en MeOH a 50°C durante 26 h, y el aislamiento del producto de condensación mediante la evaporación de la reacción bruta;
- la alquilación de éster tri-terc-butílico de DO3A con el producto intermedio 2 en DMSO y Et₃N, la evaporación y la purificación del residuo bruto en Amberlite XAD@1600 conduciendo a dar el ligando protegido 3;

d) la desprotección del ligando 3 con ácido TFA y TIPS en diclorometano, la evaporación de la reacción bruta y la purificación del residuo en Amberlite XE 750;

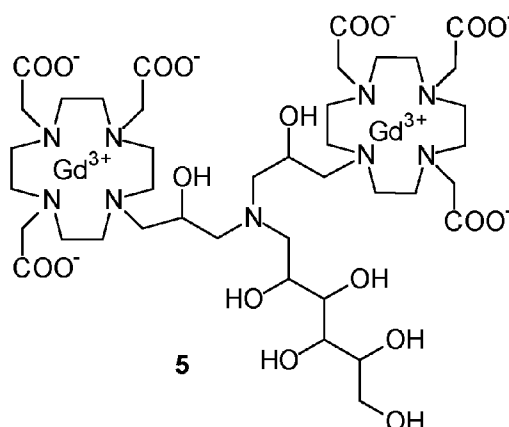
e) la complejación del ligando 4 en agua con cloruro de gadolinio hexahidratado y la purificación en resina Amberchrome CG161M del producto bruto obtenido mediante la filtración y la evaporación de la disolución.

Este proceso requiere la síntesis y el aislamiento de cada uno de los productos intermedios individuales, que se lleva a cabo generalmente mediante la evaporación hasta residuo del disolvente. Tales etapas de aislamiento, además de ser inadecuadas para una producción a gran escala, dan como resultado de manera inevitable una reducción en el rendimiento global y la eficiencia del proceso. Además, el proceso de la técnica anterior no es particularmente adecuado para trabajar a grandes escalas, por ejemplo, en procesos industriales, porque abarca el uso de materiales abrasivos que son difíciles de manipular, tal como TFA, TIPS y DCM, que podrían provocar, entre otros, corrosión y por tanto desgastar los aparatos de la síntesis y/o podrían no ser seguros para la salud de los trabajadores.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

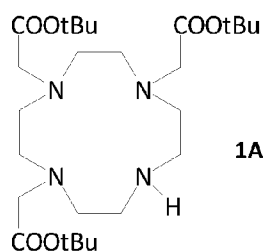
La presente invención se refiere en general a un proceso optimizado para la fabricación del compuesto complejo dimérico 5 que incluye etapas de preparación llevadas a cabo en un recipiente y sin aislamiento de los productos intermedios resultantes, lo que permite tanto un ahorro de tiempo como un rendimiento global y una eficiencia mejorados.

Más particularmente, la invención se refiere a un proceso para la fabricación del compuesto complejo dimérico 5



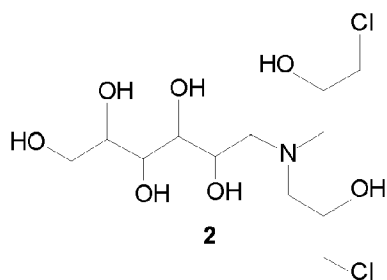
que comprende, como etapas principales:

1) preparar una disolución de éster tri-terc-butílico de DO3A de fórmula 1A



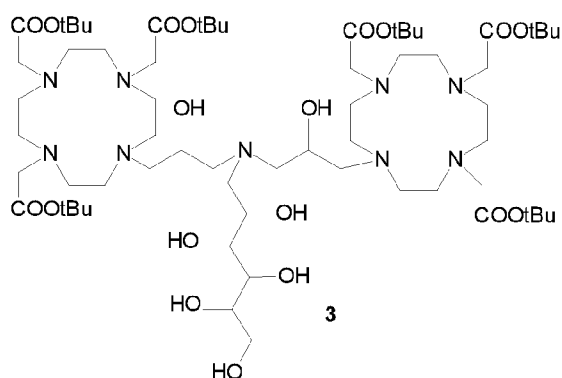
por ejemplo, en un disolvente orgánico;

2) preparar una disolución del producto intermedio de fórmula 2

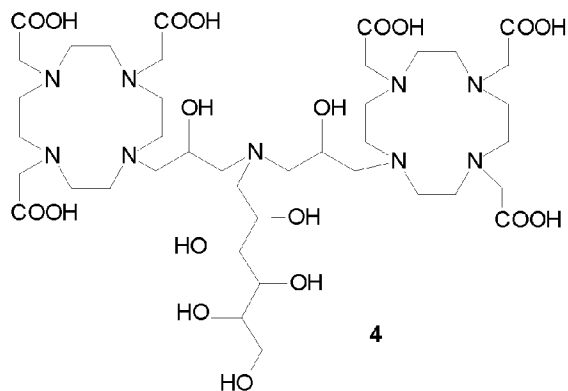


por ejemplo, en un disolvente orgánico;

- 5 3) mezclar las disoluciones preparadas según las etapas 1) y 2) para obtener una disolución del ligando protegido de fórmula 3



- 10 4) sin aislar el ligando protegido de la disolución de la etapa 3), eliminar los grupos protectores terc-butílicos del ligando protegido para obtener una disolución de un respectivo ligando libre de fórmula 4



- 15 5) sin aislar el ligando libre de fórmula 4 de la disolución obtenida, añadir iones de metal gadolinio a la disolución de la etapa 4) para obtener una disolución del respectivo complejo dimérico de fórmula 5; y
- 6) aislar el complejo dimérico.

- 20 En un aspecto preferido de la invención, el disolvente de reacción en todas las etapas tras la preparación del compuesto de fórmula 3 es un disolvente acuoso o una mezcla de disolventes acuosos. El disolvente acuoso o la mezcla de disolventes acuosos ventajosamente no comprende materiales abrasivos tales como TFA, TIPS y/o DCM.

- 25 La etapa 1) del proceso comprende generalmente la preparación de una disolución de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A. En una realización, la disolución se prepara en un disolvente orgánico, por ejemplo, solubilizando en el disolvente un éster tri-terc-butílico de DO3A comercial o un éster tri-terc-butílico de DO3A preparado usando un procedimiento de síntesis conocido.

En una realización preferida, la disolución de 1A se prepara justo antes de su uso, convirtiendo una sal del éster tri-terc-butílico de DO3A, tal como una sal de bromhidrato, en la respectiva base libre 1A. La conversión, que comprende normalmente la neutralización del bromhidrato, se lleva a cabo preferiblemente en un disolvente orgánico y en presencia de una base o una sal básica (una sal que es el producto de la neutralización de una base fuerte y un ácido débil, que se hidroliza formando una disolución básica). Entonces, la eliminación de las sales formadas y la concentración opcional de la disolución filtrada permite conseguir una disolución del éster tri-terc-butílico de DO3A 1A en el disolvente orgánico que es adecuada para su uso tal cual en la etapa posterior del proceso, sin requerir ninguna purificación o ni aislamiento del éster.

Los disolventes orgánicos adecuados incluyen preferiblemente MeCN, carbonato de propileno, etanol, t-butanol, hexano y similares. Más preferiblemente, el disolvente orgánico es MeCN.

Las bases o sales básicas adecuadas para la neutralización del bromhidrato de partida incluyen, por ejemplo, bases fuertes y resinas de intercambio aniónico tales como, por ejemplo, Diaion PA308, Amberlite IRA 400, KOH, tBuOK, Na₂CO₃ y K₂CO₃, prefiriéndose los últimos dos. Más preferiblemente, la neutralización del bromhidrato de éster tri-terc-butílico de DO3A se lleva a cabo en presencia de K₂CO₃.

La etapa 2) del proceso comprende la preparación del compuesto de fórmula 2, que puede obtenerse mediante la alquilación de D-glucamina con epiclorhidrina. La alquilación se lleva a cabo en un disolvente orgánico, tal como un disolvente orgánico dipolar o en una mezcla acuosa del mismo. Los disolventes orgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, DMAC, DMF, alcoholes tal como MeOH, y sus mezclas. Más preferiblemente, el disolvente orgánico es DMAC. La destilación de cualquier exceso de disolvente acuoso y/o epiclorhidrina desde la mezcla conduce entonces a conseguir una disolución del compuesto de fórmula 2 en el disolvente orgánico que es adecuada para su uso tal cual en la siguiente etapa del proceso, sin aislamiento y/o purificación adicional del producto de alquilación.

La etapa 3) del proceso comprende esencialmente la condensación (o el acoplamiento, tal como se usan en el presente documento de manera intercambiable) del compuesto intermedio de fórmula 2 con el éster tri-terc-butílico de DO3A 1A con formación del ligando protegido de fórmula 3. La reacción de condensación se lleva a cabo preferiblemente en presencia de una base, por ejemplo, actuando como aceptor del HCl formado. Las bases adecuadas incluyen, por ejemplo, resinas de intercambio aniónico tales como Amberlite GC 400, NMM, tBuOK, Et₃N y DIPEA, prefiriéndose Et₃N y DIPEA y prefiriéndose particularmente DIPEA.

En una realización, la reacción de condensación se lleva a cabo mediante la adición de la base y la disolución orgánica de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A recogida directamente de la etapa 1) a la disolución del compuesto 2 recogida de la etapa 2), para dar una disolución bruta orgánica que comprende el producto de condensación de fórmula 3 en una mezcla de disolventes orgánicos. Entonces, una purificación del producto bruto orgánico conduce a obtener el producto purificado en una mezcla de agua/disolvente orgánico, y la destilación final opcional de cualquier disolvente orgánico permite conseguir el ligando protegido de fórmula 3 en un disolvente acuoso o una mezcla de disolventes acuosos que puede usarse tal cual en la siguiente etapa del proceso, sin aislamiento y/o purificación adicional del propio ligando protegido.

La etapa 4) del proceso comprende sustancialmente la eliminación de los grupos protectores de carboxilo del ligando protegido de fórmula 3 para dar una disolución acuosa o una mezcla acuosa del respectivo ligando libre de fórmula 4. La desprotección mediante la hidrólisis de grupos protectores terc-butilo puede llevarse a cabo en condiciones tanto ácidas como básicas, usando reactantes y condiciones conocidos por los expertos en la técnica relevante. En una realización, la desprotección se lleva a cabo mediante la acidificación de la disolución acuosa o mezcla acuosa del ligando protegido recogida directamente de la etapa 3) del proceso, para conseguir una disolución ácida del ligando libre de fórmula 4. La acidificación se lleva a cabo preferiblemente mediante la adición de un ácido, por ejemplo, seleccionado de HCl, H₂SO₄ y H₃PO₄. En una realización preferida, la desprotección se realiza usando HCl. Entonces, la neutralización de la disolución ácida, la purificación posterior y la concentración parcial de la mezcla resultante conducen a recoger una disolución acuosa o mezcla acuosa del ligando 4, que se usa tal cual en la etapa de complejación, sin aislamiento.

La etapa 5) comprende la complejación del ligando con iones de metal gadolinio para dar el complejo dimérico deseado 5. La reacción de complejación puede llevarse a cabo convenientemente según procedimientos conocidos, por ejemplo, mediante la adición estequiométrica de un derivado de Gd(III) adecuado, particularmente un óxido tal como Gd₂O₃ o de una sal de gadolinio a la disolución del ligando. En una realización, la reacción de complejación se lleva a cabo mediante la adición de GdCl₃ a la disolución del ligando recogida directamente de la etapa 4) del proceso. La mezcla resultante se ajusta a un valor de pH de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 7 y se mantiene con agitación para dar una disolución acuosa o mezcla acuosa del complejo de gadolinio 5 que entonces se purifica y se concentra para conseguir una disolución del complejo dimérico deseado 5 que tiene la pureza deseada.

La etapa 6) comprende el aislamiento final del complejo de gadolinio deseado 5. Esta etapa puede llevarse a cabo convenientemente según procedimientos conocidos. En una realización, la disolución del complejo purificado

recogida de la etapa 5) se seca por pulverización para dar el producto deseado como un sólido blanco que satisface las especificaciones de pureza requeridas.

De manera interesante, el proceso anterior evita o reduce enormemente el uso de reactivos abrasivos, tal como ácido trifluoroacético (TFA), y disolventes molestos, tal como diclorometano, que se requieren en el proceso de la técnica anterior y son difíciles de manipular cuando se trabaja a escalas mayores, por ejemplo, en procesos industriales.

Además, comprende etapas que se llevan a cabo en un recipiente, que son adecuadas para una implementación a gran escala y que no requieren el aislamiento de ninguno de los productos intermedios o del precursor preparado (tal como 1A) o. Como resultado, además de promover una reducción en los tiempos de proceso y de implementarse fácilmente a escalas mayores tal como se afirmó anteriormente, el proceso permite ventajosamente un aumento significativo en el rendimiento de proceso global, del 10% (obtenido con el proceso dado a conocer en el documento WO2017098044) hasta un rendimiento global de al menos el 20%, preferiblemente del 25%, normalmente de aproximadamente el 28%, ventajosamente de más del 30%.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En la presente descripción, y a menos que se proporcione de otro modo, el término "producto intermedio" (por ejemplo, usado con referencia al compuesto de fórmula 2 que se deriva de la reacción de alquilación de la D-glucamina con epíclorhidrina, o el ligando protegido de fórmula 3), comprende dentro de su significado una molécula producida en el transcurso de una etapa de preparación o de síntesis química del proceso que no es en sí misma el producto final, sino que requiere una (o más) reacciones adicionales, por ejemplo, reacción/reacciones de alquilación/desprotección/complejación para dar el producto final del proceso, concretamente el compuesto complejo dimérico 5.

A menos que se proporcione de otro modo, el término "precursor" (por ejemplo, usado con referencia al compuesto 1A) comprende dentro del significado una molécula que participa en una reacción química que promueve su transformación a otra molécula, que incluye o se deriva de dicho precursor.

En la presente descripción, el término "disolvente acuoso" comprende dentro del significado agua y soluciones salinas acuosas, que incluyen posiblemente pequeñas cantidades de disolventes orgánicos miscibles con agua, tal como un porcentaje en volumen del 10% o menor de disolventes orgánicos miscibles con agua, preferiblemente del 8% o menor, y más preferiblemente del 5% o menor, por ejemplo, porque el proceso de la invención se lleva a cabo sin aislar la mayor parte de los productos intermedios, de ese modo pequeñas cantidades de disolventes orgánicos pueden portarse a través de las etapas aguas arriba y primeras del proceso. Preferiblemente, el disolvente acuoso es agua.

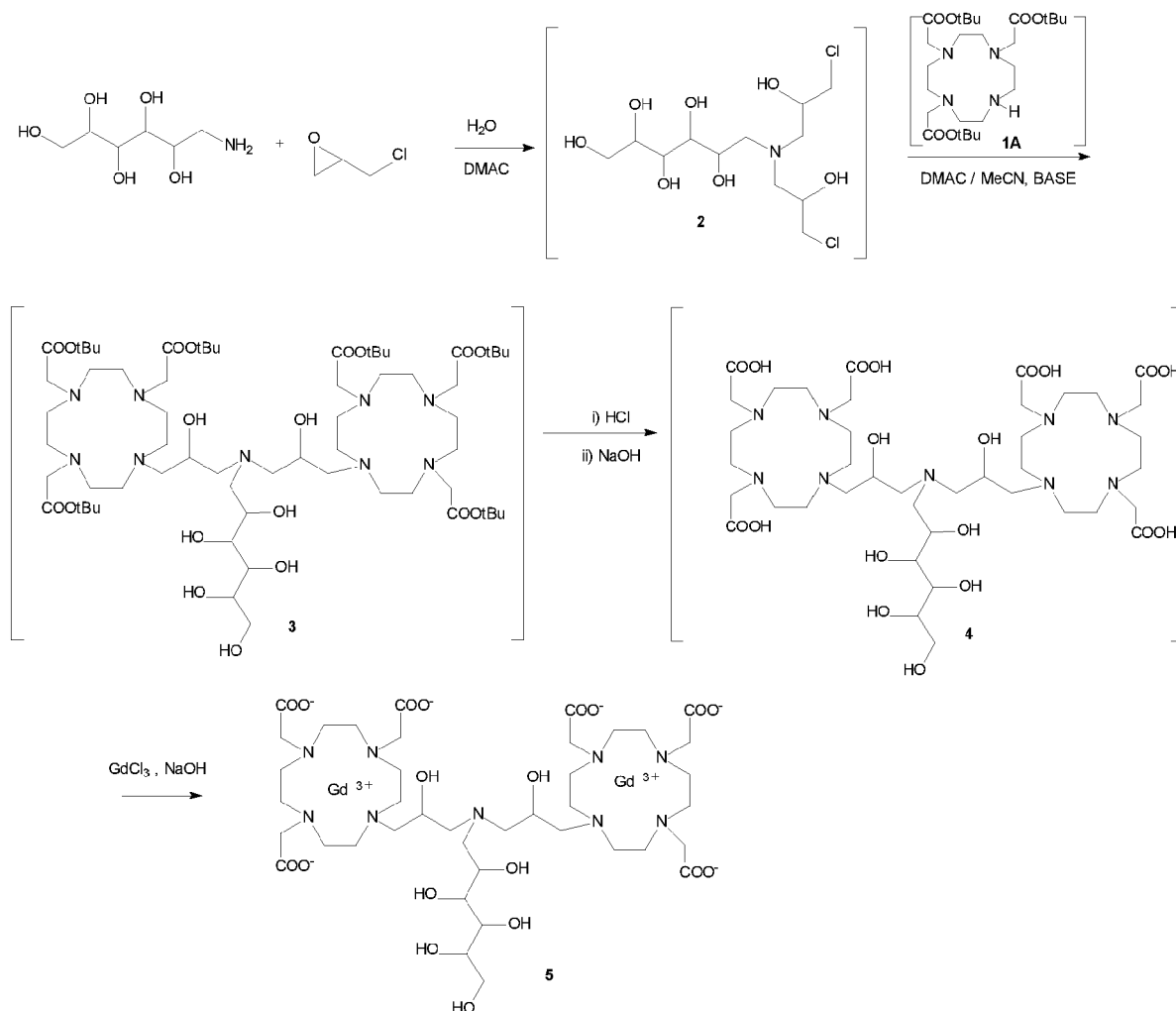
La expresión "agua/mezcla de disolventes acuosos" o, de manera más simple, "mezcla de disolventes acuosos" tal como se usa en el presente documento de manera intercambiable, comprende dentro del significado una mezcla de dos o más disolventes que comprende un disolvente acuoso, tal como una mezcla de agua y uno o más disolventes orgánicos todos miscibles entre sí, para dar una mezcla de disolventes homogénea, siendo el porcentaje en volumen del uno o más disolventes orgánicos mayor del 10%, preferiblemente mayor del 15%, más preferiblemente mayor del 20%. Los ejemplos adecuados incluyen mezclas de agua y acetonitrilo (o agua/MeCN) usados como eluyentes en las purificaciones cromatográficas, por ejemplo, del compuesto de fórmula 3, o la mezcla de agua/MeCN/DMAC, por ejemplo, que resulta tras la dilución con agua de la mezcla bruta que resulta de la reacción de condensación de la etapa 3). Según un aspecto preferido de la presente invención, el uno o más disolventes orgánicos dentro de la mezcla de disolventes acuosos (así como dentro del disolvente acuoso, cuando esté presente) no es un disolvente o material abrasivo; de hecho, la mezcla de disolventes acuosos preferiblemente no comprende disolventes ni materiales abrasivos tales como TFA, TIPS y/o DCM.

Igualmente, las expresiones "disolución acuosa" y "mezcla acuosa" incluyen en su significado, respectivamente, una disolución o una mezcla que contiene agua. Los ejemplos adecuados incluyen, respectivamente, una disolución de uno o más compuestos, por ejemplo, un reactivo, un ácido, una base o un producto de reacción en agua (más en general, en una mezcla acuosa) o en una mezcla de disolventes acuosos, y una mezcla, tal como la mezcla de agua/orgánica que resulta de la adición de agua o una disolución acuosa a una mezcla de reacción en un disolvente orgánico o una mezcla de disolventes.

En la presente descripción, el término "grupo protector" (por ejemplo, usado con referencia al compuesto de fórmula 3) designa un grupo protector adaptado para conservar la función del grupo al que está unido. Específicamente, los grupos protectores se usan para conservar las funciones carboxilo. Más específicamente, el término designa grupos terc-butilo que conservan la función de quelación de los grupos carboxilo del ligando mediante la formación de ésteres terc-butílicos [véase, para una referencia general sobre grupos protectores y condiciones de desprotección, T. W. Green y P. G. M. Wuts; *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, N.Y. 1999, tercera edición].

Una realización de la invención se refiere a un proceso para la fabricación del compuesto dimérico 5 esencialmente tal como se esquematiza en el siguiente esquema de síntesis general 2

Esquema 2



5

que comprende, como etapas principales:

- 1) neutralizar una sal de bromhidrato del éster tri-terc-butilico de DO3A en un disolvente orgánico, para dar una disolución de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A en el disolvente orgánico;
- 2) hacer reaccionar D-glucamina con epiclorhidrina para obtener una disolución del compuesto de fórmula 2 en un disolvente orgánico tal como DMAC; y, sin aislamiento del producto
- 3) hacer reaccionar el compuesto de fórmula 2 de la etapa 2) con éster tri-terc-butilico de DO3A 1A de la etapa 1) en presencia de una base y concentrar opcionalmente la disolución para dar un producto bruto orgánico, diluir el producto bruto orgánico con agua, una mezcla de agua/disolvente acuoso y/o una disolución acuosa opcional para obtener un agua/producto bruto orgánico, purificar el agua/producto bruto orgánico y eliminar opcionalmente cualquier disolvente orgánico para dar una disolución acuosa o una mezcla acuosa del ligando protegido de fórmula 3; y, sin aislamiento del producto
- 4) acidificar la disolución del ligando protegido de fórmula 3 de la etapa 3) para dar una disolución acuosa o mezcla acuosa ácida del respectivo ligando desprotegido 4, neutralizar la disolución ácida y purificar la disolución neutra resultante para dar una disolución acuosa o mezcla acuosa del ligando desprotegido 4, y, sin aislamiento de esta última,
- 5) añadir iones de metal gadolinio a la disolución del ligando 4 para obtener una disolución del compuesto complejo correspondiente 5; y

6) aislar el complejo.

Etapa 1

5 La primera etapa del proceso comprende preparar una disolución del éster tri-terc-butilico de DO3A 1A en un disolvente orgánico, tal como MeCN, convirtiendo una sal de bromhidrato del éster tri-terc-butilico de DO3A en la respectiva base libre directamente en el disolvente orgánico, en presencia de una base o una sal básica.

En una realización preferida, la etapa 1) del proceso comprende:

- 10 i) suspender una sal de bromhidrato del éster tri-terc-butilico de DO3A junto con una base o una sal básica tal como K_2CO_3 en un disolvente orgánico tal como MeCN para obtener una suspensión que comprende sales formadas;
- 15 ii) filtrar la suspensión; y
- iii) recoger y opcionalmente concentrar la suspensión filtrada, para obtener una disolución del éster tri-terc-butilico de DO3A 1A en el disolvente orgánico que es adecuada para su uso tal cual en la reacción de condensación posterior, sin requerir ninguna purificación ni aislamiento de éster.

20 El bromhidrato de éster y el K_2CO_3 se suspenden preferiblemente en el disolvente orgánico a temperatura ambiente para dar una mezcla que se mantiene entonces con agitación a una temperatura de desde 20 hasta 30°C, preferiblemente de aproximadamente 25°C durante un tiempo de desde 16 hasta 30 h, preferiblemente durante 18-20 h. La mezcla se trata entonces para eliminar las sales formadas, preferiblemente mediante filtración.

25 En una realización preferida, la disolución que resulta mediante filtración se somete a una concentración térmica, por ejemplo, mediante la destilación parcial del disolvente, para dar una disolución del éster tri-terc-butilico 1A en MeCN con una concentración final de desde el 55 hasta el 65% y preferiblemente de aproximadamente el 60% (p/p) que es adecuada para su uso tal cual en la etapa de condensación posterior del proceso.

Etapa 2

La etapa comprende preparar una disolución del compuesto intermedio de fórmula 2 haciendo reaccionar D-glucamina con epiclorhidrina. En una realización, la reacción se lleva a cabo en una mezcla de disolventes, preferiblemente en agua/DMAC, usando un ligero exceso de epiclorhidrina con respecto a la cantidad estequiométrica, por ejemplo, de desde 2 hasta 3 y más preferiblemente de aproximadamente 2,2 moles de epiclorhidrina por mol de D-glucamina. Preferiblemente, tal reacción de la etapa 2) se lleva a cabo usando un ligero exceso de epiclorhidrina con respecto a la cantidad estequiométrica, por ejemplo, de desde 2 hasta 3 moles, más preferiblemente de desde 2,05 hasta 2,5 moles e incluso más preferiblemente de aproximadamente 2,2 moles de epiclorhidrina por mol de D-glucamina.

En una realización preferida, la etapa 2) del proceso comprende:

- 45 i) añadir una disolución acuosa de D-glucamina a una disolución de epiclorhidrina en DMAC para dar el compuesto intermedio de fórmula 2 en una mezcla de agua/disolvente DMAC; y
- ii) eliminar el agua de la mezcla de disolventes, para obtener una disolución del compuesto de fórmula 2 en el disolvente orgánico.

50 La adición de D-glucamina a la disolución de epiclorhidrina se lleva a cabo preferiblemente a temperatura ambiente, en un tiempo de aproximadamente 2 h, para dar una mezcla que se mantiene con agitación a una temperatura de desde 15 hasta 30°C, preferiblemente desde 15 hasta 25°C y más preferiblemente desde 20 hasta 25°C, durante un tiempo de desde 16 hasta 24 h, preferiblemente desde 16 hasta 20 h y más preferiblemente de aproximadamente 17 h.

55 La mezcla se destila entonces, para eliminar el agua y cualquier residuo de epiclorhidrina opcional. La destilación se lleva a cabo preferiblemente a presión reducida y una temperatura preferiblemente de 40-65°C, conduciendo a conseguir una disolución del compuesto intermedio deseado de fórmula 2 en DMAC con un contenido de agua residual preferiblemente < 2% p/p. La disolución conseguida se usa entonces tal cual en la reacción de condensación posterior, sin requerir ningún aislamiento ni purificación del producto.

Etapa 3

65 La etapa comprende esencialmente la condensación del éster tri-terc-butilico de DO3A 1A con el producto intermedio 2, en presencia de una base tal como Et₃N o, más preferiblemente, DIPEA. La condensación se lleva a cabo preferiblemente mezclando la base y las disoluciones del éster 1A en MeCN de la etapa 1) con la disolución del

producto intermedio 2 en DMAC recogida directamente de la etapa 2) para dar una disolución sin procesar (o bruta) que comprende el ligando protegido de fórmula 3 en la mezcla de los disolventes orgánicos MeCN/DMAC que se purifica entonces.

5 En una realización, la disolución bruta orgánica que resulta de la reacción de condensación se diluye con agua o se concentra parcialmente y entonces se diluye con agua o una mezcla de disolventes acuosos, preferiblemente agua/MeCN, para obtener un agua/producto bruto orgánico, o producto bruto acuoso, tal como se usa de manera intercambiable en el presente documento.

10 En una realización preferida, al agua/producto bruto orgánico así obtenido o, preferiblemente, al producto bruto orgánico que resulta de la reacción de condensación se le añade una disolución acuosa que promueve la precipitación de sales de reacción, incluyendo clorhidrato de éster tri-terc-butílico de DO3A, que se eliminan entonces mediante filtración, para proporcionar un agua/disolución filtrada orgánica. El agua/producto bruto orgánico o el agua/disolución filtrada orgánica se purifican entonces, preferiblemente mediante cromatografía.

15 En una realización, la disolución acuosa usada para promover la precipitación de las sales de clorhidrato es amoníaco acuoso.

Más particularmente, la etapa 3) del proceso comprende preferiblemente:

- 20 i) la condensación del compuesto intermedio de fórmula 2 de la etapa 2) con éster tri-terc-butílico de DO3A 1A de la etapa 1) en presencia de a base, preferiblemente DIPEA, para dar una disolución bruta orgánica que comprende el producto de condensación de fórmula 3 y sales de reacción en la mezcla de disolventes orgánicos, y la concentración opcional del producto bruto orgánico;
- 25 ii) la dilución del producto bruto orgánico de la etapa i) con agua o una mezcla de agua/disolvente acuoso, preferiblemente agua/MeCN, para dar un agua/producto bruto orgánico;
- 30 iii) la adición opcional al agua/producto bruto orgánico de una disolución acuosa que promueve la precipitación de sales de reacción que se eliminan mediante filtración para dar un agua/disolución filtrada orgánica; o
- iv) la dilución del producto bruto orgánico de la etapa i) con la disolución acuosa que promueve la precipitación de sales de reacción que se eliminan mediante filtración, para dar un agua/disolución filtrada orgánica;
- 35 v) la purificación del agua/producto bruto orgánico de la etapa ii), o del agua/disolución filtrada orgánica de etapas iii) o iv) para dar una disolución del ligando protegido de fórmula 3 en una mezcla de agua/disolvente acuoso que puede usarse en la siguiente etapa de desprotección del proceso sin requerir ningún aislamiento ni purificación adicional del producto protegido; y
- 40 vi) la eliminación opcional de cualquier disolvente orgánico de la mezcla, para obtener una disolución del ligando protegido de fórmula 3 en agua que se usa en la siguiente etapa de desprotección del proceso sin requerir ningún aislamiento ni purificación adicional del producto protegido.

45 La reacción de condensación se lleva a cabo preferiblemente mediante la adición de la base y una disolución del éster 1A en MeCN recogida de la etapa 1) del proceso a la disolución del compuesto intermedio de fórmula 2 en DMAC recogida de la etapa 2).

50 Las cantidades adecuadas de base y éster 1A se determinan convenientemente con respecto a la cantidad de D-glucamina sometida a la reacción. En una realización, la reacción de condensación se lleva a cabo usando desde 1,6 hasta 2,4 moles y de manera preferible aproximadamente 1,8 moles de éster 1A, y desde 2 hasta 4 moles, de manera preferible aproximadamente 2,3 moles de DIPEA por mol de D-glucamina de partida sometida a la reacción.

55 La adición se realiza preferiblemente a una temperatura de 40-50°C. La reacción de condensación se lleva a cabo entonces a una temperatura de desde 50 hasta 80°C, preferiblemente desde 65 hasta 75°C durante un tiempo, por ejemplo, de 60-80 h, preferiblemente de 70-75 h, para dar una disolución sin procesar que comprende el producto de condensación deseado de fórmula 3 y sales de clorhidrato en una mezcla de disolventes MeCN/DMAC.

60 En una realización, la disolución sin procesar se diluye entonces con agua para dar un agua/producto bruto orgánico que tiene, preferiblemente, una concentración de aproximadamente el 25-30%, más preferiblemente de aproximadamente el 25% (p/p). En una realización preferida, el producto bruto acuoso comprende una cantidad de agua que en peso es al menos igual a la cantidad del disolvente orgánico, específicamente MeCN, en la mezcla; más preferiblemente el producto bruto tiene una relación de agua:MeCN de aproximadamente 60:40.

65 El agua/producto bruto orgánico se purifica entonces, preferiblemente mediante cromatografía, más preferiblemente sobre resinas, incluso más preferiblemente sobre resinas adsorbentes, tales como Amberlite XAD® 1600. En una realización preferida, el producto bruto acuoso se purifica sobre una resina adsorbente, tal como Amberlite XAD®

1600, usando una mezcla de agua/MeCN como eluyente, permitiendo conseguir tanto el éster tri-terc-butilico de DO3A sin reaccionar 1A como el producto de condensación puro como fracciones separadas en una mezcla de agua/disolvente MeCN.

En otra realización, la disolución sin procesar que resulta de la reacción de condensación se concentra en primer lugar eliminando al menos una parte del MeCN, por ejemplo, mediante destilación. La disolución concentrada se diluye entonces con agua o con una mezcla de agua:MeCN permitiendo obtener un agua/producto bruto orgánico que tiene la relación de agua:MeCN anterior, que se purifica entonces mediante cromatografía, tal como se dijo anteriormente.

Opcionalmente, al agua/producto bruto orgánico obtenido tal como se dijo anteriormente se le añade una disolución acuosa tal como amoníaco acuoso que promueve, mediante el enfriamiento de la mezcla, la precipitación del éster tri-terc-butilico de DO3A sin reaccionar como clorhidrato, que se elimina entonces mediante filtración y opcionalmente se recicla. La disolución filtrada que carece de la mayor parte de las sales de cloruro se purifica entonces mediante cromatografía sobre una resina adsorbente, tal como resina Amberlite XAD® 1600 tal como se dijo anteriormente, para dar el éster tri-terc-butilico de DO3A residual 1A y el producto de condensación puro como fracciones separadas en un agua/producto orgánico, tal como una mezcla de agua/disolvente MeCN.

En una realización preferida, la disolución acuosa, por ejemplo, que incluye amoníaco acuoso se añade directamente a la disolución sin procesar orgánica que resulta de la reacción de condensación promoviendo, mediante el enfriamiento de la mezcla, la precipitación del éster tri-terc-butilico de DO3A sin reaccionar como clorhidrato que se elimina entonces mediante filtración y opcionalmente se recicla. El filtrado que carece de la mayor parte de las sales de cloruro se purifica entonces mediante cromatografía sobre una resina adsorbente, tal como resina Amberlite XAD® 1600 tal como se dijo anteriormente, para dar el éster tri-terc-butilico de DO3A residual 1A y el producto de condensación puro como fracciones separadas en un agua/producto orgánico, tal como una mezcla de agua/disolvente MeCN.

La destilación final opcional del disolvente orgánico, por ejemplo, a presión reducida, a partir de fracciones puras conduce entonces a conseguir el producto de condensación de fórmula 3 en una disolución acuosa con una concentración final del 5-15% (p/p), preferiblemente de aproximadamente el 10% (p/p), que es adecuada para su uso en la etapa de desprotección posterior tal cual, sin requerir ningún aislamiento ni purificación adicional del producto intermedio.

De manera interesante, las etapas de procedimiento anteriores permiten obtener el producto de condensación protegido 3 en un disolvente acuoso o mezclas de disolventes acuosos, haciendo así posible llevar a cabo su desprotección y complejación para dar el complejo final 5 usando agua, y más en general disolventes acuosos o mezclas de disolventes acuosos, como el único o uno de los disolventes de reacción principales. El producto de condensación protegido 3 en un disolvente acuoso puede obtenerse según diversos métodos conocidos por el experto en la técnica. Por ejemplo, como se afirmó anteriormente, la disolución bruta orgánica de compuesto de fórmula 3, por ejemplo, obtenida haciendo reaccionar el compuesto de fórmula 2 de la etapa 2) con éster tri-terc-butilico de DO3A 1A de la etapa 1), puede diluirse con agua, una mezcla de agua/disolvente acuoso, o una disolución acuosa, obteniendo así un agua/producto bruto orgánico. Antes de la eliminación del disolvente orgánico, el agua/producto bruto orgánico puede purificarse por medio de cromatografía, preferiblemente por medio de una resina, y más preferiblemente por medio de una resina adsorbente, tal como Amberlite XAD® 1600. Entonces, el disolvente orgánico puede eliminarse para obtener la disolución acuosa del compuesto de fórmula 3, por ejemplo, mediante destilación, por ejemplo, a presión reducida. Además, el producto de condensación protegido 3 en una mezcla de disolventes acuosos puede conseguirse según diversos métodos conocidos por el experto en la técnica. Por ejemplo, la disolución bruta orgánica de compuesto de fórmula 3, por ejemplo, obtenida haciendo reaccionar el compuesto de fórmula 2 de la etapa 2) con éster tri-terc-butilico de DO3A 1A de la etapa 1), puede diluirse con agua, una mezcla de agua/disolvente acuoso o una disolución acuosa, obteniendo así un agua/disolución orgánica para su uso en las etapas posteriores sin aislamiento del producto 3.

Por tanto, según un aspecto preferido de la presente invención, la presente invención comprende la etapa adicional de convertir la disolución de un compuesto de fórmula 3 en una disolución acuosa de, o en una mezcla acuosa de, un compuesto de fórmula 3. Preferiblemente, esta etapa adicional se lleva a cabo: (i) diluyendo la disolución de un compuesto de fórmula 3 con agua, una mezcla de agua/disolvente acuoso o una disolución acuosa, obteniendo así una mezcla acuosa (o un agua/disolución orgánica), y (ii) eliminando opcionalmente el disolvente orgánico, por ejemplo, mediante destilación, obteniendo así una disolución acuosa.

Etapas 4

Esta etapa comprende la desprotección del ligando protegido de fórmula 3 eliminando grupos protectores de carboxilo conduciendo a conseguir una disolución acuosa o mezcla acuosa del respectivo ligando libre 4. La reacción se lleva a cabo preferiblemente mediante la acidificación de la disolución o mezcla acuosa de ligando protegido de fórmula 3 recogida directamente de la etapa 3) del proceso.

En una realización, la etapa 4) del proceso comprende:

- i) la adición de un ácido a la disolución acuosa o mezcla acuosa del compuesto de fórmula 3 recogida de la etapa 3) para conseguir una disolución ácida del ligando libre 4;
- ii) la adición de una base a la disolución ácida, para conseguir una disolución sustancialmente neutralizada del ligando 4;
- iii) la purificación de la disolución neutralizada y la concentración opcional posterior, para dar una disolución acuosa o mezcla acuosa del ligando libre 4 que es adecuada para su uso tal cual en la siguiente reacción de complejación, sin requerir ningún aislamiento del ligando.

En una realización, la disolución del compuesto protegido de fórmula 3 se acidifica mediante la adición de un ácido, tal como HCl acuoso al 34%. La acidificación se realiza usando un gran exceso de HCl, por ejemplo, de desde 30 hasta 100, preferiblemente desde 30 hasta 80 y, más preferiblemente, de 40-50 veces la cantidad molar del compuesto protegido 3.

La adición del ácido se lleva a cabo a una temperatura de 20-35°C, preferiblemente de 30-35°C. La disolución resultante se mantiene entonces con agitación a 30-40°C durante un tiempo de desde 10 hasta 36 h, preferiblemente durante 25-30 h, siguiendo la desprotección del ligando, por ejemplo, mediante cromatografía.

La disolución ácida se enfría entonces, por ejemplo, a 25°C, y entonces se neutraliza mediante la adición de una base, preferiblemente NaOH, para conseguir una disolución sin procesar con un pH final de desde 6,5 hasta 7,5 que se purifica entonces.

Las etapas de purificación incluyen preferiblemente: i) la destilación de la disolución neutralizada, para eliminar el t-butanol formado, ii) la desalinización del residuo de destilación, y iii) la purificación cromatográfica de la disolución desalinizada.

En particular, en una realización, la disolución que resulta de la adición de una base se destila en primer lugar, preferiblemente a una temperatura de desde 40 hasta 60°C para eliminar el t-butanol formado. El residuo de destilación se desaliniza entonces, preferiblemente mediante nanofiltración, y la disolución recogida se purifica.

En una realización, la disolución obtenida mediante nanofiltración se concentra en primer lugar, por ejemplo, a vacío a una temperatura, por ejemplo, de 40 a 60°C, preferiblemente de aproximadamente 50°C, hasta una concentración preferiblemente del 23-27% (p/p) y entonces se purifica mediante elución sobre resinas, más preferiblemente sobre Amberlite XAD® 1600. El eluato se trata opcionalmente con Carbonpuron® y se concentra a vacío a aproximadamente 50°C para conseguir una disolución acuosa o mezcla acuosa del ligando de fórmula 4 con una concentración final que oscila preferiblemente entre el 8-25%, que se usa tal cual en la siguiente reacción de complejación, sin ningún aislamiento del ligando.

Ventajosamente, el procedimiento anterior comprende usar agua como el único o uno de los disolventes de reacción principales, evitando o reducido así el uso de disolventes orgánicos, y en particular de disolventes abrasivos, tal como DCM, y de reactante abrasivo, tal como TFA y TIPS, que se requieren en el proceso de la técnica anterior mencionada anteriormente. Estos materiales abrasivos son difíciles de manipular y por tanto son inadecuados para su uso en producciones a gran escala. Además, esta etapa conduce a conseguir el ligando deseado en una disolución acuosa o mezcla acuosa lista para su uso en la reacción de complejación, sin requerir su aislamiento.

Etapa 5

La etapa comprende la complejación del ligando dimérico de fórmula 4 con iones gadolinio para conseguir una disolución acuosa o mezcla acuosa del complejo quelado deseado 5.

Más particularmente, la etapa comprende preferiblemente:

- i) la adición de una sal de gadolinio, tal como $GdCl_3$, a la disolución del ligando recogida de la etapa 4) para obtener una mezcla que comprende el complejo quelado dimérico 5;
- ii) la adición de una base para dar una mezcla con un valor de pH de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 7;
- iii) la purificación de la mezcla, para dar una disolución del complejo dimérico de fórmula 5; y
- iv) la concentración de la disolución recogida.

La reacción se lleva a cabo preferiblemente mediante la adición de GdCl_3 directamente a la disolución del ligando recogida de la etapa previa del proceso. La adición se realiza preferiblemente a una temperatura de 25-45°C. La cantidad requerida de GdCl_3 que conduce a conseguir la complejación exhaustiva del ligando se determina mediante valoración de la disolución de ligando, por ejemplo, usando sulfato de cobre como agente de valoración, según procedimientos conocidos.

En una realización, la relación entre el ligando de fórmula 4 y el GdCl_3 añadido es de desde 1:1,98 hasta 1:2,02 (mol/mol); más preferiblemente es de 1:2,00 para garantizar el consumo exhaustivo del ion lantánido añadido.

Tras la adición, el pH de la mezcla resultante se ajusta a un valor que oscila entre aproximadamente 5 y aproximadamente 7,5 mediante la adición de una base, preferiblemente NaOH.

Por ejemplo, en una realización se añade GdCl_3 a la disolución de ligando, por ejemplo, a una temperatura de 20-25°C. La mezcla resultante se ajusta a un valor de pH de 7-7,5, tal como aproximadamente 7 mediante la adición de NaOH, y entonces se mantiene con agitación a 20-25°C durante aproximadamente 25 h, consiguiendo así una complejación exhaustiva del ligando.

En una realización alternativa, GdCl_3 y la cantidad necesaria de NaOH que mantiene el pH al valor neutro deseado pueden añadirse simultáneamente, y la mezcla conseguida se mantiene entonces con agitación durante aproximadamente 25 h, tal como se dijo anteriormente.

En una realización preferida, la mezcla que resulta de la adición de GdCl_3 se ajusta a un valor de pH de desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 6, preferiblemente desde 5 hasta 5,6, más preferiblemente de aproximadamente 5,3, y entonces se mantiene con agitación a aproximadamente 40°C durante 1-4 h, por ejemplo, aproximadamente 2 h. La presencia opcional de especies libres residuales tales como Gd^{3+} libre, ligando o ligando parcialmente complejoado se evalúa entonces, por ejemplo, mediante valoración y/o métodos de HPLC, y se compensa mediante la adición de cantidades calculadas de ligando o GdCl_3 para dar una disolución acuosa o mezcla acuosa del complejo dimérico de fórmula 5 que se purifica entonces.

La purificación se lleva a cabo preferiblemente mediante cromatografía, preferiblemente sobre resinas.

En una realización, la purificación comprende la elución de la mezcla que resulta de la reacción de complejación sobre una resina polimérica, preferiblemente una resinas Amberlite XAD® 1600.

En otra realización, la purificación comprende una primera elución de la mezcla que resulta de la reacción de complejación sobre una resina quelante, por ejemplo, seleccionada de Hi Trap IMAC FF, Lewatit MonoPlus TP 260, Lewatit TP 208, IRC748I, DIAION CR11, SiliaMets AMPA y SiliaMets DOTA, y preferiblemente de Diaion CR11 y Amberlite IRC748, permitiendo minimizar cualquier contenido de gadolinio libre opcional, y la purificación adicional del eluato recogido sobre una resina polimérica, tal como una resina Amberlite XAD® 1600.

Según una implementación práctica, una mezcla ajustada a un valor de pH aproximadamente neutro se purifica de manera apropiada mediante elución sobre resina Amberlite XAD®1600.

La mezclas que resultan de la regulación del pH de la disolución a valores menores, tal como 5-5,6, se eluyen preferiblemente de otro modo en primer lugar sobre una resina quelante tal como la resina Amberlite IRC748 o la Diaion CR11. Los eluatos recogidos vuelven a ajustarse entonces preferiblemente a un valor de pH de aproximadamente 5,5-6 y se concentran, preferiblemente a vacío a 50°C, para obtener una disolución acuosa o mezcla acuosa del complejo dimérico con una concentración preferiblemente de aproximadamente el 25% (p/p) que se purifica entonces sobre resina Amberlite XAD® 1600.

Las fracciones recogidas se tratan entonces opcionalmente con carbón y se filtran. La disolución filtrada resultante se concentra entonces preferiblemente, por ejemplo, mediante destilación a vacío a 45-55°C para dar una disolución del complejo dimérico 5 con una concentración final de aproximadamente el 25% (p/p).

Etapas 6

El complejo dimérico de fórmula 5 se aísla entonces. El complejo puede aislarse de la disolución acuosa o mezcla acuosa de la etapa 5), por ejemplo, mediante liofilización o mediante secado por pulverización. En una realización preferida, el complejo dimérico deseado se obtiene como un sólido blanco secando por pulverización la disolución recogida directamente de la etapa 5 del proceso.

El rendimiento global del proceso, determinado a partir del reactante limitativo como éster tri-terc-butilico de DO3A libre de base 1A, es de al menos el 20%, preferiblemente del 25%, más preferiblemente de aproximadamente el 28-30% o incluso >30%.

De manera interesante, el proceso anterior comprende etapas que se llevan a cabo en un recipiente, que son adecuadas para una implementación a gran escala y que no requieren el aislamiento de ninguno de los productos intermedios de reacción o del precursor preparado (tal como el compuesto de fórmula 1A). Como resultado, el objeto de enfoque de síntesis de la presente invención permite conseguir el producto final con un rendimiento global aumentado de al menos aproximadamente el 18% con respecto al proceso dado a conocer en el documento WO2017098044.

Además, la ausencia de aislamiento de productos intermedios permite una reducción de los tiempos de proceso globales.

Además, el proceso propuesto comprende el uso de agua, o más en general de disolvente acuoso o mezcla de disolventes acuosos, como disolvente de reacción en todas las etapas tras la preparación del producto de acoplamiento 3. En particular, cuando el compuesto de fórmula 3 se prepara en la etapa 3) en un disolvente orgánico, por ejemplo, cuando se prepara haciendo reaccionar el compuesto de fórmula 2 de la etapa 2) con éster tri-terc-butilico de DO3A 1A de la etapa 1), el disolvente orgánico puede reemplazarse por uno acuoso o por una mezcla acuosa mediante métodos conocidos por el experto en la técnica, por ejemplo, diluyendo en primer lugar con agua, una mezcla de agua/disolvente acuoso o una disolución acuosa la disolución orgánica del compuesto de fórmula 3, y entonces opcionalmente eliminando el disolvente orgánico para obtener una disolución acuosa del compuesto de fórmula 3. El uso de disolventes acuosos o mezclas de disolventes acuosos como disolvente de reacción en todas las etapas tras la preparación del acoplamiento es muy ventajoso, particularmente desde el punto de vista de los costes, del impacto medioambiental y de la facilidad de implementación a escala industrial. De hecho, el proceso dado a conocer en el documento WO2017098044 usa un disolvente tal como DCM y materiales tales como TFA y TIPS que además de ser caros, son también difíciles de manipular, particularmente cuando se escala el proceso a una escala industrial, y además también podrían no ser seguros desde un punto de la salud de los trabajadores. Como el proceso de la invención evita o reduce enormemente el uso de disolventes orgánicos usando disolventes acuosos o mezclas de disolventes acuosos en todas las etapas tras la preparación del compuesto de fórmula 3, el problema del proceso de la técnica anterior se soluciona mediante la presente invención porque esta última es adecuada y puede implementarse fácilmente, para trabajar a escalas mayores, por ejemplo, para trabajar en procesos industriales. Además, el proceso de la invención proporciona sorprendentemente rendimientos muy altos del complejo dimérico aislado, en particular rendimientos que son mayores que los del proceso de la técnica anterior, aunque comprenda solo usar disolventes acuosos o mezclas de disolventes acuosos tras la preparación del compuesto de fórmula 3.

Todos los disolventes y materiales de partida, incluyendo reactantes tales como epiclorhidrina, D-glucamina y la sal de bromhidrato de éster tri-terc-butilico de DO3A, están disponibles comercialmente o pueden obtenerse según procedimientos conocidos.

En una realización preferida, la sal de bromhidrato del éster tri-terc-butilico de DO3A usada como material de partida para la preparación de una disolución del respectivo éster 1A se prepara usando el proceso de fabricación descrito en la solicitud de patente EP19215900.2 en tramitación junto con la presente (mismo solicitante que la presente solicitud) y se ejemplifica a continuación, en la sección experimental de la descripción, y se almacena hasta el uso.

Ejemplos no limitativos de realizaciones preferidas del proceso de la invención se notifican en la siguiente sección, que pretenden ilustrar la invención en mayor detalle sin limitar su alcance.

PARTE EXPERIMENTAL

Abreviaturas y definición de términos

Éster tri-terc-butilico de DO3A:	1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacetateo de tri-terc-butilo
Éster tri-terc-butilico de DO3A-HBr:	sal de bromhidrato de 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacetato de tri-terc-butilo
TAZA:	1,4,7,10-tetraazaciclododecano
tBuOK	terc-butoxido de potasio
DMAC	N,N-dimetilacetamida
DMC	diclorometano
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
HCl	ácido clorhídrico

MeCN	acetonitrilo
NaOH	hidróxido de sodio
NH ₃	amoníaco
MRI	formación de imágenes por resonancia magnética
MeCN	acetonitrilo
NMM	N-metilmorfolina
K ₂ CO ₃	carbonato de potasio
TFA	ácido trifluoroacético
TIPS	triisopropilsilano
FLD	detector de fluorescencia
UV/Vis	ultravioleta/visible

Caracterización mediante HPLC de los compuestos obtenidos.

Procedimientos generales

5 **Procedimiento 1: Caracterización mediante HPLC y determinación del ensayo del éster tri-terc-butílico de DO3A**

Condiciones cromatográficas

10 Sistema de HPLC Cromatógrafo de líquidos (por ejemplo, Agilent 1100), equipado con sistema de suministro de disolvente, automuestreador, termostato de columna, desgasificador y detector de matriz de diodos o detector de longitud de onda variable (o equivalente).

Fase estacionaria: Zorbax Eclipse XDB-C8, 5 µm, 150x4,6 mm

Temperatura de la columna 45°C

Fase móvil: A: K₂HPO₄ 0,01 M, H₃PO₄ 0,017 M
B: acetonitrilo

Elución: gradiente	Tiempo (min)	% de B
	0	5
	30	80
	35	80
	38	5
	45	5

Flujo 1 ml/min

Temperatura 45°C

Detección UV, 210 nm, Bw=8 nm; referencia 360 nm, Bw=100 nm

Volumen de inyección 10 µl

Tiempo de parada 35 min

Pico de referencia DO3A 3tBu

Tiempo de retención DO3A 3tBu ≅ 14-15 min.

Procedimiento 2: Método de HPLC para monitorizar la formación de producto intermedio 2

15 Este método se emplea para monitorizar la mezcla al final de la alquilación de la D-glucamina y tras la destilación del agua.

Condiciones cromatográficas

Sistema de HPLC:	Cromatógrafo de líquidos (por ejemplo, Agilent 1100), equipado con sistema de suministro de disolvente, automuestreador, termostato de columna, desgasificador y detector de matriz de diodos o detector de longitud de onda variable (o equivalente)	
Fase estacionaria:	SeQuant ZIC-cHilic 3 µm, 150x2,1 mm (Merck P.N. 1.50658.0001)	
Temperatura de la columna:	40°C	
Fase móvil:	elución por gradiente eluyente A = acetato de amonio 5 mM eluyente B = ACN/MeOH, 75/25	
Elución: gradiente	Tiempo (min)	% de B
	0	97
	5	97
	30	20
	40	20
	45	97
	60	97
Tasa de flujo:	0,25 ml/min	
Detección:	UV, 210-240 nm	
Volumen de inyección:	10 µl	
Tiempo de ejecución:	60 min	
Disolución en dilución	ACN/MeOH, 75/25	
Preparación de la muestra:	añadir 200 µl de disolución de acetato de amonio 5 mM a 75 µl de mezcla y diluir hasta 5 ml con dilución disolución.	

Procedimiento 3: Método de HPLC para monitorizar la formación y la purificación de producto intermedio 3

5

Procedimiento general

El método se usa para monitorizar la formación de producto intermedio 3 y la etapa de purificación.

10 Condiciones analíticas

Sistema de HPLC	Cromatógrafo de líquidos Agilent 1100	
Fase estacionaria:	Gemini, 5 µm, 250x4,6 mm (Phenomenex, elemento 00G-4435-EO)	
Temperatura de la columna	40°C	
Fase móvil:	A: fase móvil A B: MeCN	
Elución: gradiente	Tiempo (min)	% de B
	0	40
	5	40
	30	90
	35	90
	36	40
	45	40
Flujo	0,7 ml/min	
Detección	UV/210 nm	
Volumen de inyección	10 µl	
Tiempo de parada	45 min	
INT 2 R _t	21 min	

Fase móvil A**Preparación de la disolución**

- 5 En un matraz volumétrico de 1000 ml pesar de manera exacta 2,0 g de acetato de amonio y entonces diluir hasta el volumen con agua. En un matraz volumétrico de 1000 ml transferir 600 ml de disolución de acetato de amonio y 300 ml de metanol. Sonicar durante media hora.

Procedimiento 4: Método de HPLC para monitorizar la formación y purificación del ligando quelante 4.

10

Procedimiento general

La monitorización de la formación y purificación del ligando dimérico 4 se realizó mediante HPLC de fase inversa con detección UV a 210 nm.

15

Condiciones analíticas

Sistema de HPLC	Cromatógrafo de líquidos Agilent 1260 Infinity	
Fase estacionaria:	Synergi Polar-RP, 4 µm, 150x4,6 mm (Phenomenex, elemento 00F-4336-EO)	
Temperatura de la columna	40°C	
Fase móvil:	A: KH ₂ PO ₄ 10 mM B: metanol	
Elución: gradiente	Tiempo (min)	% de B
	0	0
	5	0
	35	60
	40	60
	41	80
	46	80
	47	0
	60	0
Flujo	0,8 ml/min	
Detección	UV/210 nm	
Volumen de inyección	10 µl	
Tiempo de parada	60 min	
Compuesto 4 R _t	2,4 min	

Ejemplo 1: Síntesis de sal de bromhidrato de éster tri-terc-butilico de DO3A

20

La síntesis de la sal de bromhidrato de éster tri-terc-butilico de DO3A de partida se realizó usando el procedimiento que constituye el objeto de la solicitud de patente EP19215900.2 en tramitación junto con la presente (mismo solicitante que la presente solicitud). En particular:

25

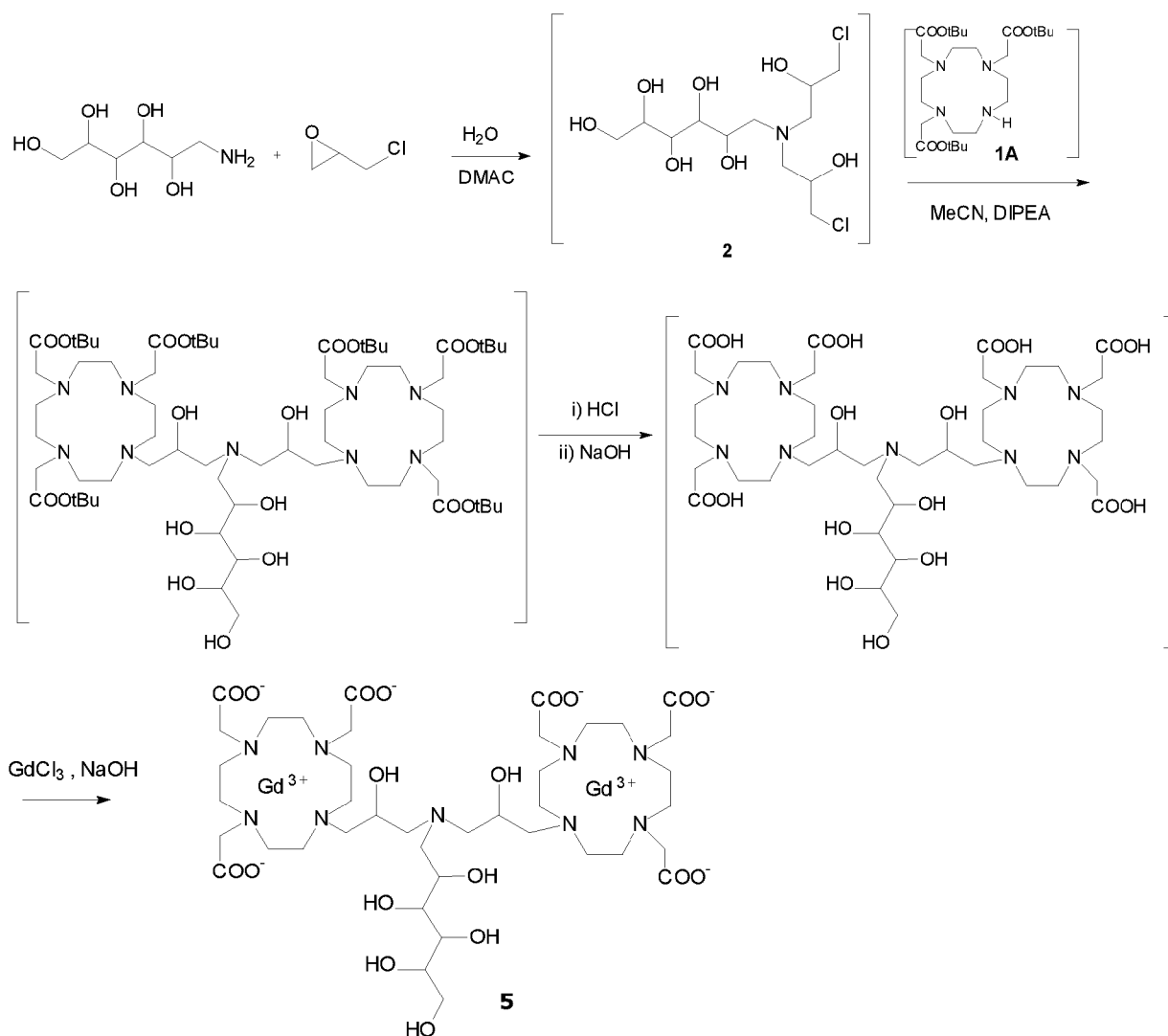
A una suspensión de TAZA disponible comercialmente (14,39 kg; 83,53 mol) y acetato de sodio (21,58 kg; 263,12 mol) en DMAC (98,07 kg; 104,33 l) se le añadió una disolución de bromoacetato de terc-butilo (51,32 kg; 263,12 mol) en DMAC (50,72 kg; 53,96 l) a 10°C durante 2,5 h. Entonces se elevó la temperatura hasta 25°C y se agitó la mezcla durante 24 h a esta temperatura. Entonces se añadió agua (57,56 kg) en 0,5 h y tras 2 h se centrifugó la mezcla y se lavó con agua (2x57 kg). El sólido húmedo se secó a vacío obteniendo 36,62 kg; 61,48 mol de bromhidrato de éster tri-terc-butilico de DO3A (rendimiento del 73,6%). El ensayo determinado mediante HPLC (frente a patrón) del producto es del 100% p/p; el ensayo determinado mediante RMN (frente a patrón) es del 99,86% p/p.

30

Ejemplo 2: Preparación del compuesto dimérico 5

35

El compuesto complejo dimérico 5 se obtiene usando el procedimiento de síntesis esquematizado a continuación



que comprende:

5 a) Neutralización del bromhidrato para dar éster tri-terc-butílico de DO3A 1A

Éster tri-terc-butílico de DO3A-HBr obtenido tal como se describe en el ejemplo 1 (36,62 kg; 61,5 mol) y carbonato de potasio (16,99 kg; 122,9 mol) se suspendieron en MeCN (72,29 kg; 91,50 l) a temperatura ambiente y la mezcla se mantuvo con agitación durante 20 h a 24°C. Las sales resultantes se eliminaron entonces mediante filtración y el filtrado se destiló parcialmente a 50°C a vacío para dar una disolución de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A (30,68 kg; 59,6 mol) en MeCN con una concentración final de aproximadamente el 62% p/p que se usó en la siguiente etapa sin aislamiento adicional. El ensayo de 1A en disolución se determinó mediante un método de HPLC-UV.

15 b) Síntesis del producto intermedio 2

D-glucamina (6 kg; 33,1 mol) en agua (15 kg) se introdujo gota a gota en una disolución de epichlorhidrina (6,74 kg; 72,8 mol) en DMAC (6 kg; 6,38 l) a temperatura ambiente en 2 h. La mezcla se mantuvo con agitación durante 17 h. Entonces se diluyó la mezcla con DMAC (12 kg; 12,77 l) y el agua se destiló a 45-50°C a vacío para conseguir una disolución del producto intermedio 2 en DMAC con un contenido de agua residual < 2,0% que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

c) Alquilación del producto intermedio 2 con éster tri-terc-butílico de DO3A 1A para dar el ligando protegido 3

25 Se añadieron DIPEA (9,79 kg; 75,8 mol) y la disolución de sustrato 1A recogida de la etapa a) a la disolución de producto intermedio 2 calentada a 50°C y la mezcla obtenida se agitó entonces a 70°C durante 72 h monitorizando la conversión mediante un método de HPLC-UV. La mezcla se enfrió entonces hasta 20-25°C, se diluyó con disolución

acuosa de amoníaco al 16% p/p (36 l). La mezcla resultante se mantuvo con agitación a 25°C durante 15 h obteniendo la precipitación de sales que se eliminaron mediante filtración. El filtrado se purificó entonces mediante cromatografía sobre Amberlite XAD® 1600 (450 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Entonces se recogieron las fracciones puras (% de área de HPLC $\geq$ 90), se destiló el disolvente orgánico y se concentró el residuo acuoso a aproximadamente 50°C a vacío para dar una disolución del ligando protegido 3 en agua (conc. de aproximadamente el 10% p/p) adecuada para su uso tal cual en la siguiente etapa sin ningún aislamiento adicional.

d) Desprotección

Se añadió disolución acuosa de ácido clorhídrico al 34% (64,72 kg; 603,5 mol) a la disolución del ligando protegido 3 recogida de la etapa c) manteniendo la temperatura a aproximadamente 30°C. Al final de la adición, la mezcla se calentó hasta 35-40°C y se mantuvo con agitación durante 30 h. La disolución se enfrió hasta 20-25°C y se neutralizó (pH final de aproximadamente 7) mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%, el t-butanol formado como subproducto de reacción se eliminó mediante destilación y la mezcla se desalinizó mediante nanofiltración. La mezcla desalinizada se concentró entonces parcialmente a 50°C a vacío hasta una concentración final del 25% (p/p) y se purificó mediante cromatografía sobre Amberlite XAD®1600 (150 l; eluyente agua). Las fracciones puras (% de área de HPLC $\geq$ 90) se trataron con carbón y se concentraron a 45-55°C a vacío para obtener una disolución en agua al 10% (p/p) del ligando deseado 4 (11,4 mol), que se cuantificó mediante valoración potenciométrica usando una disolución de sulfato de cobre como agente de valoración.

e) Complejación

La disolución de ligando 4 se calentó hasta 40°C y se le añadió una disolución acuosa de cloruro de gadolinio (21,35 kg de disolución; 6,01 kg de cloruro de gadolinio; 22,8 mol) manteniendo la temperatura alrededor de 40°C. Tras la adición, el pH de la disolución se ajustó a 5,3 mediante la adición de hidróxido de sodio al 10% en agua y la mezcla se mantuvo a 40°C durante 2 h con formación del respectivo complejo paramagnético 5. La presencia de cualquier especie libre se evaluó, por ejemplo, mediante valoración. Por tanto, se obtiene una disolución final del complejo dimérico que se purificó sobre Diaion CR11 (6 l) reduciendo cualquier contenido de gadolinio libre. Tras la carga, la resina se lavó con agua; la disolución recogida se ajustó a un pH de 5,5 y entonces se concentró a vacío a 50°C para dar una disolución en agua al 25% p/p que se cargó entonces a pH 6,2 sobre Amberlite XAD®1600 (500 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones seleccionadas se trataron con carbón y entonces se destilaron a 50°C a vacío para obtener una mezcla con una concentración final de aproximadamente el 25% (p/p) a partir de la que se aisló el complejo de gadolinio mediante secado por pulverización como un polvo blanco (11,74 kg; 10,80 kg sobre base anhidra; 8,3 mol) con un ensayo de valoración final del 99%, (% p/p; sobre base anhidra).

Rendimiento global determinado a partir de éster tri-terc-butilico de DO3A 1A: 28%.

Ejemplo 3: Preparación de compuesto 5

a) Neutralización de DO3A 3tBu-HBr

Éster tri-terc-butilico de DO3A-HBr (241,6 g; 0,406 mol) y carbonato de potasio (112,1 g; 0,811 mol) se suspendieron en MeCN (477,2 g; 0,604 l) y la mezcla se mantuvo con agitación durante 20 h a 25°C. Las sales formadas se eliminaron entonces mediante filtración, el filtrado se destiló parcialmente a 50°C a vacío para dar una disolución de éster tri-terc-butilico de DO3A 1A (204,5 g; 0,397 mol) en MeCN con una concentración final del 61% p/p que se usó en la siguiente etapa sin aislamiento adicional. El ensayo de 1A en disolución se determinó mediante un método de HPLC-UV.

b) Síntesis de producto intermedio 2

D-glucamina (40,0 g; 0,221 mol) en agua (99,3 g) se introdujo gota a gota en una disolución de epíclorhidrina (44,9 g; 0,486 mol) en DMAC (40,0 g; 0,043 l) a 24°C en 2 h. La mezcla se mantuvo con agitación durante 17 h, entonces se añadió DMAC (80,0 g; 0,085 l) y el agua se destiló a 50°C a vacío para conseguir una disolución del producto intermedio 2 en DMAC con un contenido de agua residual < 2,0% p/p.

c) Alquilación de compuesto 1A con producto intermedio 2

Se añadieron DIPEA (65,3 g; 0,505 mol) y la disolución de 1A a la disolución del producto intermedio 2 recogida de la etapa b) a 50°C. La mezcla se agitó adicionalmente a 70°C durante 72 h monitorizando la conversión mediante un método de HPLC-UV, entonces, tras enfriar hasta 25°C, se diluyó con disolución acuosa de amoníaco al 16% p/p (0,240 l). La mezcla resultante se mantuvo con agitación a 20°C durante 15 h obteniendo la precipitación de sales que se eliminaron mediante filtración. El filtrado se purificó entonces mediante cromatografía sobre Amberlite XAD® 1600 (3 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones puras (% de área de HPLC $\geq$ 90) se recogieron y se destilaron para eliminar el disolvente orgánico. El residuo resultante se concentró entonces a 50°C a vacío para dar

una disolución del ligando protegido 3 en agua con una concentración final de aproximadamente el 10% p/p que se usó tal cual en la siguiente etapa del proceso.

d) Desprotección de producto intermedio 3

Se añadió disolución acuosa de ácido clorhídrico al 34% (431,5 g; 4,023 mol) a la disolución de producto intermedio 3 de la etapa c) manteniendo la temperatura a 30÷35°C. Al final de la adición, la mezcla se calentó hasta 37°C y se mantuvo con agitación durante 36 h. Entonces se enfrió la disolución hasta 25°C y se neutralizó mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%, el t-butanol formado como subproducto se eliminó mediante destilación y la mezcla se desalinizó mediante nanofiltración. La mezcla se concentró entonces parcialmente a 50°C a vacío hasta una concentración del 24% p/p y se purificó mediante cromatografía sobre Amberlite XAD®1600 (IL; eluyente agua). Las fracciones seleccionadas mediante evaluación en HPLC-UV se trataron con carbón y se concentraron a 50°C a vacío para obtener una disolución en agua al 10% p/p del ligando deseado 4 (0,075 mol), que se cuantificó mediante valoración potenciométrica usando una disolución de sulfato de cobre como agente de valoración.

e) Complejación

La disolución del ligando desprotegido 4 se calentó hasta 37°C, entonces se añadió disolución acuosa de cloruro de gadolinio (140,5 g de disolución; 39,5 g de cloruro de gadolinio; 0,150 mol) manteniendo la temperatura en el intervalo de 37÷43°C. Al final de la adición, el pH se ajustó a 5,3 mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 10%. La mezcla se mantuvo a 40°C durante 2 h con formación del respectivo complejo paramagnético 5. La presencia de cualquier especie libre se evaluó, por ejemplo, mediante valoración. La disolución se purificó entonces sobre resina quelante Diaion CR11 (0,16 l) reduciendo cualquier contenido de gadolinio libre. Tras la carga, la resina se lavó con agua, el pH se ajustó a 5,5 y la disolución se concentró a vacío a 50°C para obtener una disolución en agua al 25% p/p. Esta disolución se cargó a pH 6 sobre Amberlite XAD®1600 (3,3 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones seleccionadas mediante evaluación sobre HPLC-FLD y UV se trataron con carbón y la disolución resultante se destiló a 50°C a vacío. La disolución final (25% p/p) se secó por pulverización para aislar el complejo de gadolinio como un polvo blanco (82,0 g que corresponden a 74,6 g, como producto anhidro; ensayo de valoración: 99% p/p %, base anhidra).

Rendimiento global a partir de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A: 29%.

Ejemplo 4: Preparación de compuesto 5

a) Neutralización de DO3A 3tBu-HBr

DO3A 3tBu-HBr (241,6 g; 0,406 mol) y carbonato de potasio (112,1 g; 0,811 mol) se suspendieron en MeCN (480,0 g; 0,608 l) y la mezcla se mantuvo con agitación durante 18 h a 27°C. Las sales formadas se eliminaron entonces mediante filtración, el filtrado se destiló parcialmente a 50°C a vacío para dar una disolución de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A (205,0 g; 0,398 mol) en MeCN con una concentración final del 58% p/p que se usó en la siguiente etapa sin aislamiento adicional. El ensayo de 1A en disolución se determinó mediante un método de HPLC-UV.

b) Síntesis de producto intermedio 2

D-glucamina (40,0 g; 0,221 mol) en agua (100,0 g) se introdujo gota a gota en una disolución de epiclorhidrina (44,9 g; 0,486 mol) en DMAC (40,0 g; 0,043 l) a 25°C en 2 h. La mezcla se mantuvo con agitación durante 16 h, entonces se añadió DMAC (80,0 g; 0,085 l) y el agua se destiló a 50°C a vacío para conseguir una disolución del producto intermedio 2 en DMAC con un contenido de agua residual < 2,0% p/p.

c) Alquilación de compuesto 1A con producto intermedio 2

Se añadieron DIPEA (65,3 g; 0,505 mol) y la disolución de 1A a la disolución del producto intermedio 2 recogida de la etapa b) a 50°C. La mezcla se agitó adicionalmente a 75°C durante 70 h monitorizando la conversión mediante un método de HPLC-UV, entonces se concentró parcialmente a 60°C a vacío. Tras enfriar hasta 23°C, se añadieron una mezcla de agua (80,0 g) y MeCN (126,4 g; 0,160 l), preparada previamente, y después disolución acuosa de amoniaco al 25% p/p (144,5 g; 0,160 l). La mezcla resultante se mantuvo con agitación a 22°C durante 14 h. La mezcla se filtró y se purificó mediante cromatografía sobre Amberlite XAD® 1600 (3 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Tras la elución se recogieron las fracciones con una pureza adecuada (% de área de HPLC ≥ 90), se destiló el disolvente orgánico y se concentró la disolución resultante a 50°C a vacío para dar el ligando protegido 3 en disolución en agua (concentración: 13% p/p) que se usa tal cual en la siguiente etapa.

d) Desprotección de producto intermedio 3

Se añadió disolución acuosa de ácido clorhídrico al 34% (435,0 g; 4,057 mol) a la disolución de producto intermedio 3 de la etapa c) manteniendo la temperatura a 30÷35°C. Al final de la adición, la mezcla se mantuvo a 35°C con agitación durante 32 h. Después, la disolución se enfrió hasta 23°C y se neutralizó mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%, el t-butanol formado como subproducto se eliminó mediante destilación y la mezcla se desalinizó mediante nanofiltración. La mezcla se concentró entonces parcialmente a 50°C a vacío hasta una concentración del 22% p/p y se purificó mediante cromatografía sobre Amberlite XAD@1600 (1 l; eluyente agua). Las fracciones seleccionadas mediante evaluación con HPLC-UV se trataron con carbón y se concentraron a 50°C a vacío para obtener una disolución en agua al 25% p/p del ligando deseado 4 (0,076 mol), que se cuantificó mediante valoración potenciométrica usando una disolución de sulfato de cobre como agente de valoración.

e) Complejación

A la disolución de ligando desprotegido 4 a 25°C se le añadió una disolución acuosa de cloruro de gadolinio (142,4 g de disolución; 40,1 g de cloruro de gadolinio; 0,152 mol) manteniendo la temperatura en el intervalo de 23÷27°C ajustando el pH a 7,0÷7,5 mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%. La mezcla se mantuvo a 25°C durante 24 h con formación del respectivo complejo paramagnético 5. La presencia de cualquier especie libre se evaluó, por ejemplo, mediante valoración. La disolución resultante se purificó sobre Amberlite XAD@1600 (3,3 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones seleccionadas mediante evaluación sobre HPLC-FLD y UV se trataron con carbón y la disolución resultante se destiló a 50°C a vacío. La disolución final (25% p/p) se secó por pulverización para aislar el complejo de gadolinio como un polvo blanco (73,5 g que corresponden a 66,9 g, como producto anhidro; ensayo de valoración: 99% p/p %, base anhidra).

Rendimiento global a partir de éster tri-terc-butilico de DO3A 1A: 26%.

Ejemplo 5: Preparación de compuesto 5

a) Neutralización de DO3A 3tBu-HBr

DO3A 3tBu-HBr (724,9 g; 1,217 mol) y carbonato de potasio (336,4 g; 2,434 mol) se suspendieron en MeCN (1431,7 g; 1,812 l) y la mezcla se mantuvo con agitación durante 18 h a 25°C. Las sales formadas se eliminaron entonces mediante filtración, la disolución se destiló parcialmente a 50°C a vacío para dar una disolución de éster tri-terc-butilico de DO3A 1A (613,9 g; 1,193 mol) en MeCN con una concentración final del 56% p/p que se usó en la siguiente etapa sin aislamiento adicional. El ensayo de 1A en disolución se determinó mediante un método de HPLC-UV.

b) Síntesis de producto intermedio 2

D-glucamina (120,0 g; 0,662 mol) en agua (298,0 g) se introdujo gota a gota en una disolución de epiclorhidrina (134,8 g; 1,457 mol) en DMAC (120,0 g; 0,128 l) a 24°C en 2 h. La mezcla se mantuvo con agitación durante 18 h, entonces se añadió DMAC (240,0 g; 0,255 l) y el agua se destiló a 50°C a vacío para conseguir una disolución del producto intermedio 2 en DMAC con un contenido de agua residual < 2,0% p/p.

c) Alquilación de compuesto 1A con producto intermedio 2

Se añadieron DIPEA (195,9 g; 1,516 mol) y la disolución de sustrato 1A a la disolución del producto intermedio 2 a 45°C. La mezcla se mantuvo entonces con agitación a 70°C durante 75 h, monitorizando la conversión mediante un método de HPLC-UV. La mezcla se concentró entonces parcialmente a 60°C a vacío. El residuo se enfrió hasta 25°C, se diluyó con una mezcla de agua (720,0 g) y MeCN (379,2 g; 0,480 l) preparada previamente. La disolución resultante se purificó entonces mediante cromatografía sobre Amberlite XAD@ 1600 (9 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones con una pureza adecuada (% de área de HPLC ≥ 90) se recogieron y la disolución obtenida se destiló para eliminar el disolvente orgánico. Se obtiene así un residuo acuoso que se concentra a 50°C a vacío para dar una disolución del ligando protegido 3 en agua con una concentración final del 15% p/p, que se usa para la siguiente etapa.

d) Desprotección de producto intermedio 3

Se añadió disolución acuosa de ácido clorhídrico al 34% (1294,4 g; 12,070 mol) a la disolución de producto intermedio recogida 3, manteniendo la temperatura a 30÷35°C. Al final de la adición, la mezcla se calentó hasta aproximadamente 40°C y se mantuvo con agitación a esta temperatura durante 28 h. Entonces la disolución se enfrió hasta 25°C y se neutralizó mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%. El t-butanol formado se eliminó mediante destilación y la mezcla residual se desalinizó en primer lugar mediante nanofiltración y entonces se concentró parcialmente a 50°C a vacío hasta una concentración del 26% p/p. La disolución concentrada se purificó entonces mediante cromatografía sobre Amberlite XAD@1600 (3 l; eluyente agua). Las fracciones puras se recogieron, se trataron con carbón y se concentraron a 50°C a vacío para obtener una disolución en agua al 12%

p/p del ligando desprotegido 4 (0,228 mol), que se cuantificó mediante valoración potenciométrica usando una disolución de sulfato de cobre como agente de valoración.

e) Complejación

La disolución de ligando desprotegido 4 se calentó hasta 37°C, entonces se añadió disolución acuosa de cloruro de gadolinio (427,1 g de disolución; 120,2 g de cloruro de gadolinio; 0,456 mol) manteniendo la temperatura en el intervalo de 37÷43°C. Al final de la adición, el pH se ajustó a 5,5 mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 10% y la mezcla obtenida se mantuvo a 42°C durante 2 h con formación del respectivo complejo paramagnético 5. La presencia de cualquier especie libre se evaluó, por ejemplo, mediante valoración. La disolución se purificó a 25°C sobre resina quelante Diaion CR11 (0,48 l) reduciendo cualquier contenido de gadolinio libre. Tras la carga, la resina se lavó con agua, el pH se ajustó a 5,8 y la disolución se concentró a vacío a 50°C para obtener una disolución en agua al 26% p/p. Esta disolución se cargó a pH 6,2 sobre Amberlite XAD®1600 (10 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones seleccionadas mediante evaluación sobre HPLC-FLD y UV se trataron con carbón y la disolución resultante se destiló a 50°C a vacío. La disolución final (22% p/p) se secó por pulverización para aislar el complejo de gadolinio como un polvo blanco (226,5 g que corresponden a 208,3 g, como producto anhidro; ensayo de valoración: 99% p/p %, base anhidra).

Rendimiento global a partir de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A: 27%.

Ejemplo 6: Preparación de compuesto 5

a) Neutralización de DO3A 3tBu-HBr

DO3A 3tBu-HBr (724,9 g; 1,217 mol) y carbonato de potasio (336,4 g; 2,434 mol) se suspendieron en MeCN (1435,5 g; 1,817 l) y la mezcla se mantuvo con agitación durante 18 h a 25°C. Las sales formadas se eliminaron entonces mediante filtración, la disolución se destiló parcialmente a 50°C a vacío para dar una disolución de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A (607,9 g; 1,181 mol) en MeCN con una concentración final del 62% p/p que se usó en la siguiente etapa sin aislamiento adicional. El ensayo de 1A en disolución se determinó mediante un método de HPLC-UV.

b) Síntesis de producto intermedio 2

D-glucamina (120,0 g; 0,662 mol) en agua (300,0 g) se introdujo gota a gota en una disolución de epiclorhidrina (134,8 g; 1,457 mol) en DMAC (120,0 g; 0,128 l) a 25°C en 2 h. La mezcla se mantuvo con agitación durante 18 h, entonces se añadió DMAC (240,0 g; 0,255 l) y el agua se destiló a 50°C a vacío para conseguir una disolución del producto intermedio 2 en DMAC con un contenido de agua residual < 2,0% p/p.

c) Alquilación de compuesto 1A con producto intermedio 2

Se añadieron DIPEA (196,1 g; 1,517 mol) y la disolución de sustrato 1A a la disolución de 2 a 50°C. La mezcla se mantuvo entonces con agitación a 70°C durante 70 h, monitorizando la conversión mediante un método de HPLC-UV, entonces, tras enfriar hasta 25°C, se diluyó con agua (720,0 g). La mezcla resultante se purificó entonces mediante cromatografía sobre Amberlite XAD® 1600 (9 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Tras la elución se recogieron las fracciones con una pureza adecuada (% de área de HPLC ≥ 90), se destiló el disolvente orgánico y se concentró la disolución resultante a 50°C a vacío para dar una disolución del ligando protegido 3 en agua con una concentración final del 14% p/p, que se usa para la siguiente etapa.

d) Desprotección de producto intermedio 3

Se añadió disolución acuosa de ácido clorhídrico al 34% (1290,0 g; 12,030 mol) a una disolución de producto intermedio 3, manteniendo la temperatura a 30÷35°C. Al final de la adición, la mezcla se calentó hasta 38°C y se mantuvo con agitación durante 30 h. Entonces la disolución se enfrió hasta 25°C y se neutralizó mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%. El t-butanol formado se eliminó mediante destilación y la mezcla residual se desalinizó en primer lugar mediante nanofiltración y entonces se concentró parcialmente a 50°C a vacío hasta una concentración del 22% p/p. La disolución concentrada se purificó entonces mediante cromatografía sobre Amberlite XAD®1600 (3 l; eluyente agua). Las fracciones seleccionadas mediante evaluación sobre HPLC-UV se trataron con carbón y se concentraron a 50°C a vacío para obtener una disolución en agua al 23% p/p del ligando deseado 4 (0,226 mol), que se cuantificó mediante valoración potenciométrica usando una disolución de sulfato de cobre como agente de valoración.

d) Complejación

A la disolución del ligando desprotegido 4 a 25°C se le añadió una disolución acuosa de cloruro de gadolinio (423,3 g de disolución; 119,2 g de cloruro de gadolinio; 0,452 mol) manteniendo la temperatura en el intervalo de 23÷27°C

ajustando el pH a 7,0÷7,5 mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%. La mezcla se mantuvo a 25°C durante 24 h. La disolución resultante se purificó sobre Amberlite XAD®1600 (10 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones seleccionadas mediante evaluación sobre HPLC-FLD y UV se trataron con carbón y la disolución resultante se destiló a 50°C a vacío. La disolución final (25% p/p) se secó por pulverización para aislar el complejo de gadolinio como un polvo blanco (201,3 g que corresponden a 185,2 g, como producto anhidro; ensayo de valoración: 99% p/p %, base anhidra).

Rendimiento global a partir de éster tri-terc-butilico de DO3A 1A: 24%.

Ejemplo 7: Preparación de compuesto 5

a) Neutralización de compuesto 1.

DO3A 3tBu-HBr 1 (724,9 g; 1,217 mol) y carbonato de potasio (336,4 g; 2,434 mol) se suspendieron entonces suspendidos en MeCN (1431,7 g; 1,812 l) y la mezcla se mantuvo con agitación durante 18 h a 25°C. Las sales se eliminaron entonces mediante filtración, la disolución se destiló parcialmente a 50°C a vacío y el compuesto 1A (613,6 g; 1,192 mol, conversión del 98%) se mantuvo en disolución de MeCN (concentración final: 56% p/p) hasta la siguiente etapa sin aislamiento adicional.

b) Síntesis de producto intermedio 2.

D-glucamina (120,0 g; 0,662 mol) en agua (298,0 g) se introdujo gota a gota en una disolución de epíclorhidrina (134,8 g; 1,457 mol) en DMAC (120,0 g; 0,128 l) a 24°C en 2 h. La mezcla se mantuvo con agitación durante 18 h, entonces se añadió DMAC (240,0 g; 0,255 l) y el agua se destiló a 50°C a vacío para conseguir una disolución del producto intermedio 2 en DMAC con un contenido de agua residual < 2,0% p/p.

c) Alquilación de compuesto 1A con producto intermedio 2

Se añadieron DIPEA (195,9 g; 1,516 mol) y la disolución de sustrato 1A a la disolución del producto intermedio 2 a 50°C. La mezcla se mantuvo entonces con agitación a 70°C durante 75 h, monitorizando la conversión mediante un método de HPLC-UV (% de área de HPLC: 75). La mezcla se concentró entonces parcialmente a 60°C a vacío. El residuo se enfrió hasta 25°C, se diluyó con una mezcla de agua (240,0 g) y MeCN (379,2 g; 0,480 l) preparada previamente, y entonces con disolución acuosa de amoníaco al 25% (433,4 g; 0,480 l) para dar una mezcla que se mantuvo con agitación durante 16 h, obteniendo la precipitación de sales de clorhidrato que se filtraron. El filtrado se recogió entonces y se purificó mediante cromatografía sobre Amberlite XAD® 1600 (9 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones con una pureza adecuada (% de A de HPLC ≥ 90) se recogieron y la disolución obtenida se destiló para eliminar el disolvente orgánico. Se obtiene así un residuo acuoso que se concentra a 50°C a vacío para dar una disolución del ligando protegido 3 en agua con una concentración final del 14% p/p, que se usa para la siguiente etapa.

d) Desprotección de producto intermedio 3.

Se añadió disolución acuosa de ácido clorhídrico al 34% (1294,4 g; 12,070 mol) a la disolución de producto intermedio recogida 3, manteniendo la temperatura a 30÷35°C. Al final de la adición, la mezcla se calentó hasta aproximadamente 40°C y se mantuvo con agitación a esta temperatura durante 30 h. Entonces la disolución se enfrió hasta 25°C y se neutralizó mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%. El t-butanol formado se eliminó mediante destilación y la mezcla residual se desalinizó en primer lugar mediante nanofiltración y entonces se concentró parcialmente a 50°C a vacío hasta una concentración del 26% p/p. La disolución concentrada se purificó entonces mediante cromatografía sobre Amberlite XAD®1600 (3 l; eluyente agua). Las fracciones puras se recogieron, se trataron con carbón y se concentraron a 50°C a vacío para obtener una disolución en agua al 25% p/p del ligando desprotegido 4, que se cuantificó mediante valoración potenciométrica usando una disolución de sulfato de cobre como agente de valoración.

e) Complejación

La disolución de ligando desprotegido 4 se calentó hasta 37°C, entonces se añadió disolución acuosa de cloruro de gadolinio (427,1 g; 120,2 g de cloruro de gadolinio; 0,456 mol) manteniendo la temperatura en el intervalo de 37÷43°C. Al final de la adición, el pH se ajustó a 5,5 mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 10% y la mezcla obtenida se mantuvo a 42°C durante 2 h. La disolución se purificó a 25°C sobre resina quelante Diaion CR11 (0,48 l) reduciendo cualquier contenido de gadolinio libre. Tras la elución, la resina se lavó con agua, el pH se ajustó a 5,8 y la disolución se concentró a vacío a 50°C para obtener una disolución en agua al 26% p/p. Esta disolución se cargó a pH 6,2 sobre Amberlite XAD®1600 (10 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones seleccionadas mediante evaluación sobre HPLC-FLD y UV se trataron con carbón y la disolución resultante se destiló a 50°C a vacío. La disolución final (22% p/p) se secó por pulverización para aislar el complejo de gadolinio

como un polvo blanco (251,6 g que corresponden a 231,5 g, como producto anhidro; ensayo de valoración: 99% p/p%, base anhidra).

Rendimiento global a partir de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A: 30%.

5

Ejemplo 8: Preparación del compuesto dimérico 5

a) Neutralización del bromhidrato para dar éster tri-terc-butílico de DO3A 1A

10 Éster tri-terc-butílico de DO3A-HBr obtenido tal como se describe en el ejemplo 1 (36,60 kg; 61,4 mol) y carbonato de potasio (16,99 kg; 122,9 mol) se suspendieron en MeCN (72,50 kg; 91,77 l) a temperatura ambiente (es decir 25°C) y la mezcla se mantuvo con agitación durante 19 h a 24°C. Las sales resultantes se eliminaron entonces mediante filtración y el filtrado se destiló parcialmente a 50°C a vacío para dar una disolución de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A (31,07 kg; 60,4 mol) en MeCN con una concentración final de aproximadamente el 56% p/p que se usó
15 en la siguiente etapa sin aislamiento adicional. El ensayo de 1A en disolución se determinó mediante un método de HPLC-UV.

b) Síntesis del producto intermedio 2

20 D-glucamina (6 kg; 33,1 mol) en agua (15,1 kg) se introdujo gota a gota en una disolución de epíclorhidrina (6,75 kg; 73,0 mol) en DMAC (6,2 kg; 6,60 l) a temperatura ambiente en 2 h. La mezcla se mantuvo con agitación durante 16 h. Entonces se diluyó la mezcla con DMAC (12,2 kg; 12,98 l) y el agua se destiló a 55-60°C a vacío para conseguir una disolución del producto intermedio 2 en DMAC con un contenido de agua residual < 2,0% que se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

25

c) Alquilación del producto intermedio 2 con éster tri-terc-butílico de DO3A 1A para dar el ligando protegido 3

Se añadieron DIPEA (9,80 kg; 75,8 mol) y la disolución de sustrato 1A recogida de la etapa a) a la disolución de producto intermedio 2 calentada a 50°C y la mezcla obtenida se agitó entonces a 70°C durante 80 h monitorizando la
30 conversión mediante un método de HPLC-UV. La mezcla se concentró entonces parcialmente a 60°C a vacío. El residuo se enfrió hasta 25°C, se diluyó con una mezcla de agua (12,2 kg) y MeCN (19,0 kg; 24,05 l) preparada previamente, y entonces con disolución acuosa de amoníaco al 25% (21,7 kg; 24,03 l) para dar una mezcla que se mantuvo con agitación durante 15 h, obteniendo la precipitación de sales de clorhidrato que se filtraron. El filtrado se recogió entonces y se purificó mediante cromatografía sobre Amberlite XAD® 1600 (450 l; eluyente: gradiente de
35 agua/MeCN). Entonces se recogieron las fracciones puras (% de área de HPLC ≥ 90), se destiló el disolvente orgánico y se concentró el residuo acuoso a aproximadamente 50°C a vacío para dar una disolución del ligando protegido 3 en agua (conc. de aproximadamente el 10% p/p) adecuada para su uso tal cual en la siguiente etapa sin ningún aislamiento adicional.

d) Desprotección

Se añadió disolución acuosa de ácido clorhídrico al 34% (64,75 kg; 603,8 mol) a la disolución del ligando protegido 3 recogida de la etapa c) manteniendo la temperatura a aproximadamente 30°C. Al final de la adición, la mezcla se calentó hasta 35-40°C y se mantuvo con agitación durante 30 h. La disolución se enfrió hasta 20-25°C y se
45 neutralizó (pH final de aproximadamente 7) mediante la adición de disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%, el t-butanol formado como subproducto de reacción se eliminó mediante destilación y la mezcla se desalinizó mediante nanofiltración. La mezcla desalinizada se concentró entonces parcialmente a 50°C a vacío hasta una concentración final del 25% (p/p) y se purificó mediante cromatografía sobre Amberlite XAD®1600 (150 l; eluyente agua). Las fracciones puras (% de área de HPLC ≥ 90) se trataron con carbón y se concentraron a 45-55°C a vacío
50 para obtener una disolución en agua al 12% (p/p) del ligando deseado 4 (15,3 mol), que se cuantificó mediante valoración potenciométrica usando una disolución de sulfato de cobre como agente de valoración.

e) Complejación

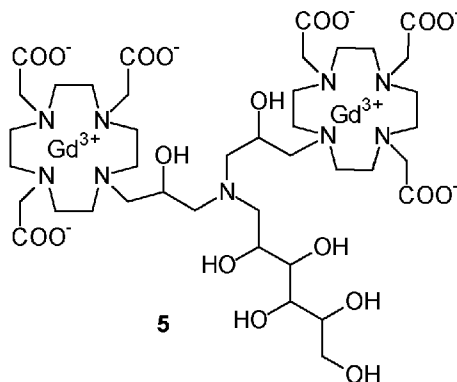
55 La disolución de ligando 4 se calentó hasta 40°C y se le añadió una disolución acuosa de cloruro de gadolinio (27,79 kg de disolución; 8,10 kg de cloruro de gadolinio; 30,7 mol) manteniendo la temperatura alrededor de 40°C. Tras la adición, el pH de la disolución se ajustó a 5,5 mediante la adición de hidróxido de sodio al 10% en agua y la mezcla se mantuvo a 40°C durante 2 h con formación del respectivo complejo paramagnético 5. La presencia de cualquier especie libre se evaluó, por ejemplo, mediante valoración. Se obtiene así una disolución final del complejo
60 dimérico que se purificó sobre Diaion CR11 (6 l) reduciendo cualquier contenido de gadolinio libre. Tras la carga, la resina se lavó con agua; la disolución recogida se ajustó a un pH de 5,5 y entonces se concentró a vacío a 50°C para dar una disolución en agua al 23% p/p que se cargó entonces a pH 5,7 sobre Amberlite XAD®1600 (500 l; eluyente: gradiente de agua/MeCN). Las fracciones seleccionadas se trataron con carbón y entonces se destilaron a 50°C a vacío para obtener una mezcla con una concentración final de aproximadamente el 28% (p/p) a partir de la
65 que se aisló el complejo de gadolinio mediante secado por pulverización como un polvo blanco (13,38 kg; 12,58 kg sobre base anhidra; 9,7 mol) con un ensayo de valoración final del 99% (% p/p; sobre base anhidra).

ES 2 991 736 T3

Rendimiento global determinado a partir de éster tri-terc-butílico de DO3A 1A: 33%.

REIVINDICACIONES

1.- Un proceso para la fabricación del compuesto complejo dimérico 5 de fórmula

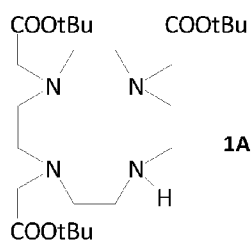


5

que comprende:

1) preparar una disolución de éster tri-terc-butílico de DO3A de fórmula 1A

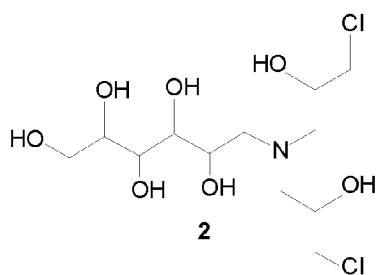
10



en un disolvente orgánico;

2) preparar una disolución de un compuesto de fórmula 2

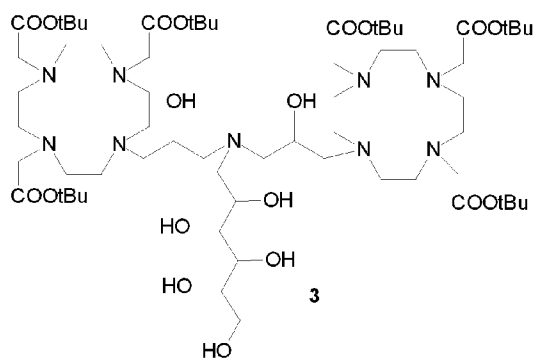
15



en un disolvente orgánico;

3) mezclar las disoluciones preparadas según las etapas 1) y 2) para obtener una disolución de un compuesto de fórmula 3

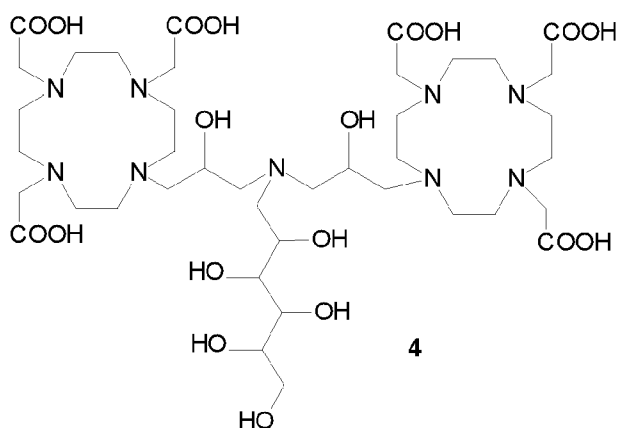
20



;

- 4) sin aislar el compuesto de la disolución de la etapa 3), eliminar los grupos protectores terc-butilo del compuesto de fórmula 3 para obtener una disolución de un respectivo ligando libre de fórmula 4

5



;

- 5) sin aislar el ligando libre de fórmula de fórmula 4, añadir iones de metal gadolinio a la disolución de la etapa 4) para obtener una disolución del respectivo complejo dimérico de fórmula 5; y

10

- 6) aislar el complejo dimérico,

en el que el disolvente de reacción en todas las etapas tras la preparación del compuesto de fórmula 3 es un disolvente acuoso.

15

2.- El proceso según la reivindicación 1, en el que la disolución del éster tri-terc-butilo de DO3A 1A de la etapa 1) se prepara a partir de una sal de bromhidrato del éster tri-terc-butilo de DO3A.

3.- El proceso según las reivindicaciones 1 o 2, en el que la etapa 1) comprende:

20

- i) suspender una sal de bromhidrato del éster tri-terc-butilo de DO3A junto con una base o una sal básica en un disolvente orgánico para obtener una suspensión;
- ii) filtrar la suspensión; y
- iii) recoger y opcionalmente concentrar la suspensión filtrada, para obtener una disolución del éster tri-terc-butilo de DO3A 1A en el disolvente orgánico.

25

4.- El proceso según las reivindicaciones 1-3, en el que la etapa 2) comprende hacer reaccionar D-glucamina con epiclorhidrina, para obtener una disolución del compuesto de fórmula 2 en un disolvente orgánico.

30

5.- El proceso según la reivindicación 4, que comprende:

- i) añadir una disolución acuosa de D-glucamina a una disolución de epiclorhidrina en un disolvente orgánico, para dar el compuesto de fórmula 2 en una mezcla de agua/disolvente acuoso; estando preferiblemente la cantidad de epiclorhidrina en un ligero exceso con respecto a la cantidad estequiométrica; y

35

- ii) eliminar el agua de la mezcla, para obtener una disolución del compuesto de fórmula 2 en el disolvente orgánico.

6.- El proceso según las reivindicaciones 4 o 5, en el que el disolvente orgánico es dimetilacetamida (DMAC).

7.- El proceso según las reivindicaciones 1-6, en el que la etapa 3) comprende

- a. hacer reaccionar el compuesto de fórmula 2 de la etapa 2) con éster tri-terc-butílico de DO3A 1A de la etapa 1) en presencia de una base para dar una disolución bruta orgánica;
- b. diluir la disolución bruta orgánica obtenida con agua, una mezcla de agua/disolvente acuoso o una disolución acuosa para obtener un agua/producto bruto orgánico;
- c. purificar el agua/producto bruto orgánico, para obtener el compuesto de fórmula 3 en una mezcla de agua/disolvente acuoso, y
- d. opcionalmente eliminar el disolvente orgánico de la mezcla para obtener una disolución acuosa del compuesto de fórmula 3.

8.- El proceso según la reivindicación 7, que comprende añadir una disolución acuosa al agua/producto bruto orgánico de la etapa b) que resulta de la dilución de la disolución bruta orgánica con una mezcla de agua/disolvente acuoso.

9.- El proceso según las reivindicaciones 7-8, en el que la purificación del agua/producto bruto orgánico de la etapa c) se realiza mediante cromatografía.

10.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que la etapa 4) comprende:

- i) añadir un ácido a la disolución acuosa del compuesto de fórmula 3 de la etapa 3) para eliminar los grupos terc-butilo protectores y obtener una disolución acuosa ácida del respectivo ligando libre de fórmula 4;
- ii) añadir una base a la disolución ácida para obtener una disolución acuosa sustancialmente neutra del ligando libre;
- iii) purificar y entonces opcionalmente concentrar la disolución neutra obtenida para obtener una disolución acuosa del ligando libre de fórmula 4.

11.- El proceso según la reivindicación 10, en el que la etapa iii) comprende: destilar la disolución neutra para eliminar el t-butanol formado; desalinizar el residuo de destilación; purificar mediante cromatografía la disolución desalinizada para obtener una disolución acuosa del ligando de fórmula 4; y opcionalmente concentrar la disolución acuosa.

12.- El proceso según las reivindicaciones 10-11, en el que la disolución acuosa obtenida del ligando de fórmula 4 tiene una concentración del 8-25% (p/p).

13.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que la etapa 5) comprende:

- i) añadir una sal de gadolinio a la disolución del ligando de fórmula 4 de la etapa 4) para obtener una mezcla que comprende el complejo dimérico de fórmula 5;
- ii) purificar la mezcla, para obtener una disolución del complejo dimérico; y
- iii) concentrar la disolución.

14.- El proceso según la reivindicación 13, en el que la etapa ii) comprende purificar la mezcla mediante cromatografía.

15.- El proceso según las reivindicaciones 1-14, en el que la etapa 6) comprende aislar el complejo dimérico de fórmula 5 como un sólido blanco mediante el secado por pulverización de la disolución recogida directamente de la etapa 5).