

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 10.12.97.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 11.06.99 Bulletin 99/23.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : GUERBET SA Societe anonyme —
FR.

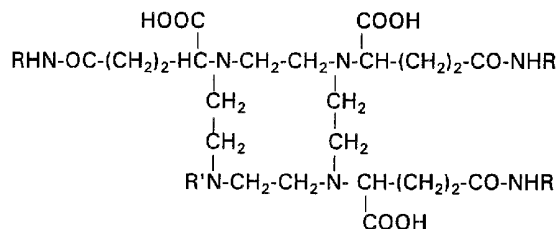
⑦② Inventeur(s) : MEYER DOMINIQUE, PORT MARC,
ROUSSEAU OLIVIER et SIMONOT CHRISTIAN.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET LAVOIX.

⑤④ CHELATES METALLIQUES DE MACROCYCLES POLYAMINOCARBOXYLIQUES ET LEUR APPLICATION A
L'IMAGERIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE.

⑤⑦ Chélates des composés de formule



dans laquelle R est un groupe comportant 3 ou 4 noyaux
phényles successifs
avec des ions paramagnétiques, pour une utilisation en
imagerie diagnostique.



La présente invention concerne des chelates formés par des acides polyaminocarboxyliques macrocycliques avec des cations métalliques paramagnétiques et leur utilisation en imagerie diagnostique, notamment par résonance magnétique (IRM).

5 Les relaxivités r_1 et r_2 et particulièrement la première donnent la mesure de l'efficacité magnétique d'un tel chelate et permettent d'apprécier son utilité comme produit de contraste. Pour les produits commercialisés actuellement, r_1 ne dépasse pas $6 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (à 20 MHz et 37°C), que les chelates soient linéaires (gadopentetate et gadoversetamide) ou macrocycliques (gadoterate, gadoteridol).
10 En outre, ces composés, administrés par voie intraveineuse, diffusent rapidement hors du domaine vasculaire vers le compartiment interstitiel extracellulaire et il n'y a pas encore sur le marché de produit qui reste suffisamment localisé dans les vaisseaux pour permettre une bonne évaluation de la perfusion tissulaire, de la perméabilité capillaire ou du volume sanguin.

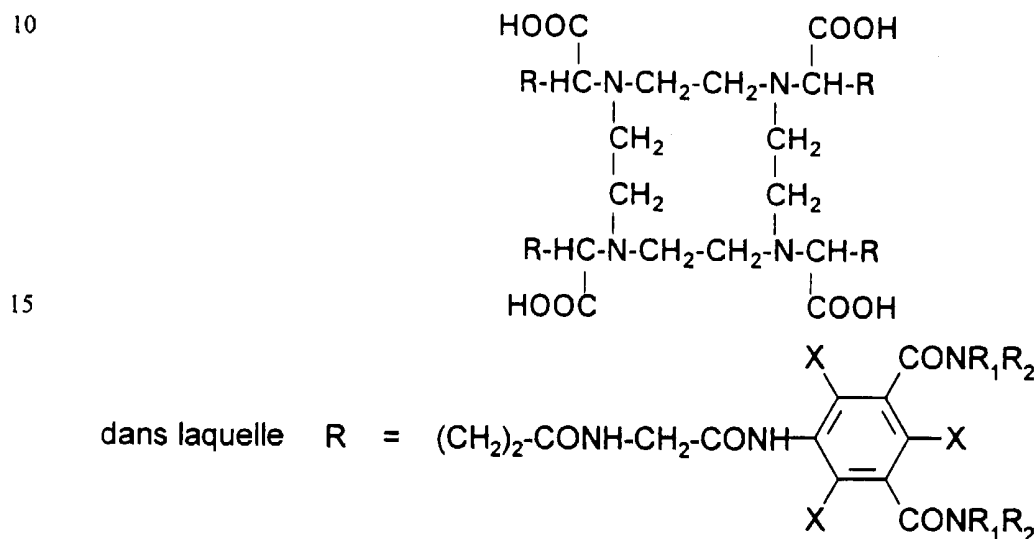
15 Des dérivés macromoléculaires de chelates résultant du greffage d'un chelate classique sur un polymère biocompatible comme celui obtenu par fixation du gadopentetate sur le polyéthylène glycol ou la polylysine, ou du gadopentetate et du gadoterate sur un polysaccharide, décrits depuis plus de 10 ans et qui ont été testés chez l'animal ne sont toujours pas développés chez l'homme.

20 On a depuis proposé le greffage de chelates classiques sur des polymères ramifiés, dits en cascade ou dendrimères, constitués d'unités répétitives variées, comme par exemple dans EP-A-430863 ou EP-A-607222. Il est mentionné que les relaxivités de ces produits sont élevées et qu'ils présentent une certaine rémanence vasculaire mais ces résultats restent limités puisque, par
25 exemple, les polyamines portant 24 ou 48 molécules de gadopentetate décrites dans EP-A-430863 n'ont, malgré leur taille, qu'une relaxivité r_1 de l'ordre de $13 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$, pour $4,8 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ pour le gadopentetate; en outre, il paraît difficile d'isoler lors de la synthèse un composé unique, à savoir d'obtenir la substitution de tous les groupes terminaux d'une polyamine, dont tous les éléments
30 comportent le même nombre d'unités répétitives, ce qui éviterait la dispersité des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des composants d'une dose,

- 2 -

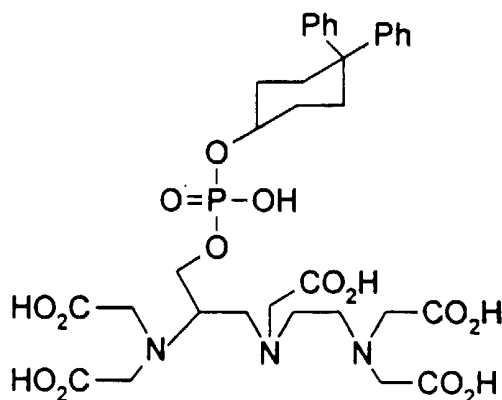
inconvenient connu des dérivés de polymères classiques.

Dans les travaux les plus récents visant à l'obtention de molécules à forte relaxivité, de masse moléculaire définie et ne comportant qu'un seul groupement chelateur, on peut citer EP-A-661279 et WO 97/01359 qui soulignent l'intérêt de l'introduction, dans les structures moléculaires connues, d'au moins 3 bras latéraux hydrophiles de masse supérieure à 200 sur les substituants des atomes d'azote donneurs qui portent les autres groupes de coordination, qu'ils soient des groupes acides ou amides; notamment, il est indiqué que les complexes de gadolinium des composés dérivés du gadoterate de formule



ont une relaxivité $r_1 > 20 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz et 37°C.

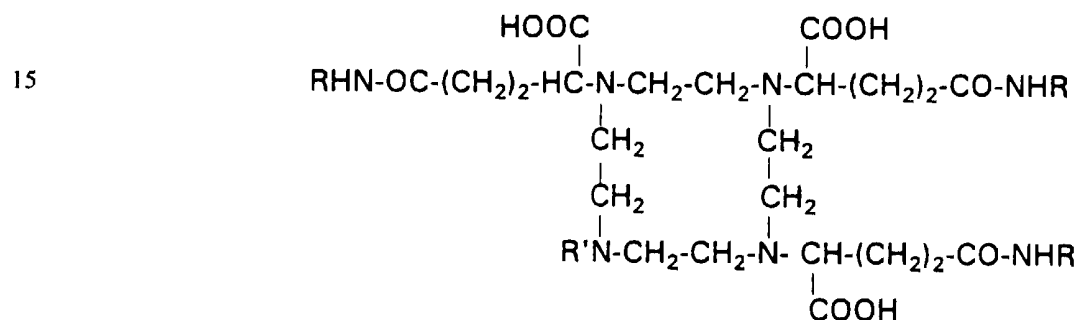
Comme composés à forte relaxivité et présentant une certaine rémanence vasculaire, il faut aussi citer ceux décrits dans WO 96/23526, de structure sensiblement différente des précédents, dont l'un des représentants, MS325, complexe de gadolinium du composé de formule



se fixe réversiblement sur l'albumine du plasma de telle sorte que sa relaxivité r_1 dans ce milieu est pratiquement 10 fois celle du gadopentetate dont il dérive, pour une demi-vie multipliée par 4 et un volume de distribution divisé par 2,5 chez le lapin d'après Acad. Radiol. S356-S358 (1996).

5 Contrairement au MS325 et ses homologues, les complexes métalliques paramagnétiques de la présente invention ont des relaxivités élevées, même dans l'eau, puisque r_1 est supérieure à $30 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (20 MHz, 37°C); en outre, alors qu'ils ne se fixent pratiquement pas sur l'albumine plasmatique, ils présentent cependant une nette localisation vasculaire de telle sorte qu'ils seront
10 avantageusement utilisés en IRM comme produits de contraste, révélateurs du système circulatoire.

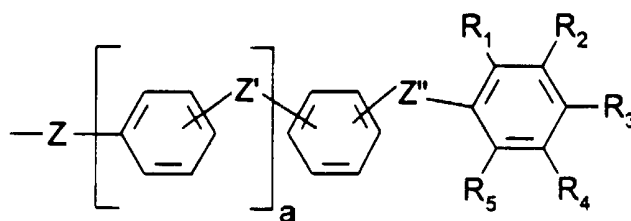
Selon un premier aspect, l'invention concerne les chelates d'ions métalliques paramagnétiques des macrocycles polyaminocarboxyliques de formule



20 dans laquelle

R' est H, un groupe $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alkyl, éventuellement hydroxylé, un groupe $\text{CH}_2\text{-COOH}$, $\text{CH}_2\text{-CONZ}_1\text{Z}_2$, Z_1 et Z_2 étant indépendants l'un de l'autre, H, ou un groupe $(\text{C}_1\text{-C}_4)$ alkyl, éventuellement hydroxylé,
ou R' est un groupe $\text{HOOC-CH-(CH}_2\text{)}_2\text{-CONHR}$,

25 R est un groupe



dans lequel a est 1 ou 2

- 4 -

Z est une liaison, CH_2 , $\text{CH}_2\text{-CO-NH}$ ou $(\text{CH}_2)_2\text{-NHCO}$

Z' est une liaison, O, S, NQ, CH_2 , CO, CO-NQ, NQ-CO, NQ-CO-NQ, CO-NQ- CH_2 -CONQ

Z'' est CO-NQ, NQ-CO ou CO-NQ- CH_2 -CO-NQ, NQ-CO- CH_2 -NQ-CO

5 avec Q est H ou un groupe ($\text{C}_1\text{-C}_4$) alkyl, éventuellement hydroxylé

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , indépendamment l'un de l'autre, sont choisis parmi H, Br, Cl, I, CO-NQ $_1$ Q $_2$ ou N(Q $_1$)-CO-Q $_2$ et Q $_1$ et Q $_2$, identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes ($\text{C}_2\text{-C}_6$) alkyl éventuellement hydroxylés et éventuellement interrompus par l'atome d'oxygène, de telle sorte que Q $_1$ et Q $_2$ comportent à eux
10 deux de 4 à 10 groupes OH,

étant entendu qu'au moins 1, et au plus 2, groupes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 sont des groupes amides.

Les cations métalliques complexés dans les chélates de l'invention sont choisis parmi les cations paramagnétiques, généralement utilisés en IRM,
15 spécialement les cations trivalents dont Fe^{3+} , Cr^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Tb^{3+} , et particulièrement Gd^{3+} .

Les bases minérales qui peuvent donner un sel physiologiquement acceptable avec l'éventuelle fonction acide du complexe métallique du composé de formule I sont préférentiellement choisies parmi les hydroxydes et les carbonates
20 des métaux alcalins (K^+ , Na^+) ou alcalino terreux (Ca^{++} , Mg^{++}).

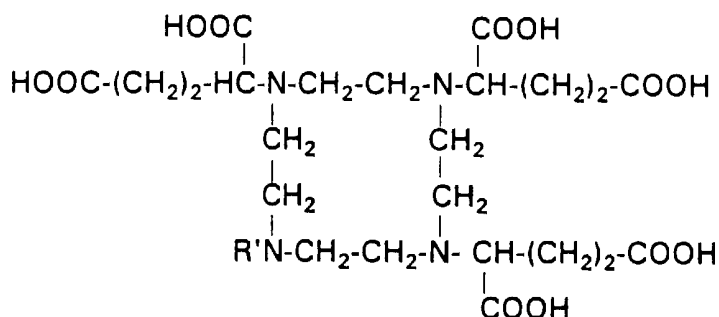
Les bases organiques sont choisies parmi les amines telles qu'aminoéthanol, throméthamine ou N-méthylglucamine, ou parmi les amino-acides tels que la lysine, la glycine ou l'arginine.

On préfère les composés dans lesquels a est 1, R' n'est pas H ou alkyl,
25 Z est une liaison, CH_2 ou CH_2CONH et
Z' est CONH, NHCO, $\text{CONHCH}_2\text{CONH}$ ou NHCONH ,
Z'' est CONH ou $\text{CONHCH}_2\text{CONH}$ avec $\text{R}_3 = \text{CONQ}_1\text{Q}_2$ et R_1 , R_2 , R_4 , R_5 sont indépendamment H, Br, Cl ou I, ou $\text{R}_2 = \text{R}_4 = \text{CONQ}_1\text{Q}_2$, auquel cas R_1 , R_3 , R_5 sont indépendamment H, Br, Cl ou I
30 ou Z'' est NHCO avec $\text{R}_3 = \text{N}(\text{Q}_1)\text{COQ}_2$ et R_1 , R_2 , R_4 , R_5 sont indépendamment H, Br, Cl ou I, ou $\text{R}_2 = \text{R}_4 = \text{N}(\text{Q}_1)\text{COQ}_2$, auquel cas R_1 , R_3 , R_5 sont indépendamment H, Br, Cl ou I.

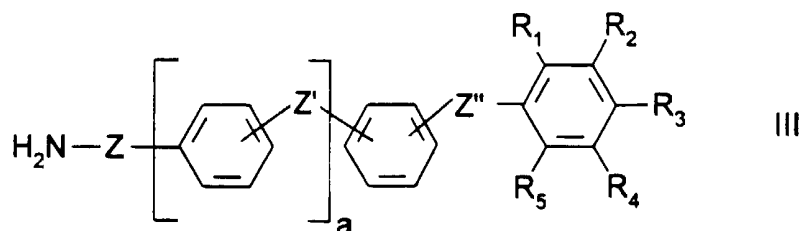
- 5 -

Parmi ceux-ci on préfère les composés dans lesquels Z' est CONH, CONHCH₂CONH ou NHCONH, R₁ R₃, R₅ sont tous les trois Br ou I et R₂ = R₄ = CONQ₁Q₂ avec Q₁ et Q₂ sont des groupes (C₂-C₆) alkyl hydroxylés comportant à eux deux 6 à 10 groupes OH ou si Q₁ et/ou Q₂ est interrompu par un atome d'oxygène, de 4 à 8 groupes OH.

Selon un second aspect, l'invention concerne un procédé de préparation des chelates métalliques des composés de formule I qui consiste à faire réagir sur le chelate II du composé de formule



avec un cation métallique M³⁺, une amine de formule



dans laquelle les lettres ont la même signification que dans la formule I en présence d'un agent de couplage, notamment ceux utilisés en synthèse peptidique, adapté au milieu réactionnel, aqueux ou organique, dans lequel les composés de formule II et III sont mis en solution, au moins partiellement. Dans ces conditions, les groupes acides carboxyliques situés sur les carbones en alpha des atomes d'azote du composé II ne réagissent pas.

Selon un autre aspect, l'invention concerne les produits de contraste pour imagerie par résonance magnétique chez l'homme ou l'animal, qui comportent une quantité efficace d'un chelate d'un composé de formule I, avec un ion paramagnétique, éventuellement sous forme de sel, dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable associé à des excipients compatibles, et

éventuellement à des stabilisants du pH, des antioxydants ou des agents osmotiques.

Selon un dernier aspect, l'invention concerne les méthodes d'imagerie du corps humain ou animal qui consistent à administrer à un sujet une dose unitaire efficace d'une composition de l'invention éventuellement radiomarquée et à soumettre le tissu ou la zone à étudier à un champ magnétique convenable pour observer la résonance magnétique du proton, ou à une scintigraphie.

Les chelates des composés de formule I qui comportent 4 substituants identiques sur les atomes d'azote du macrocycle central, le 1,4,7,10-tétraazacyclododécane, ou cyclen, sont préparés avec un nombre d'étapes inférieur à celui des cas dans lesquels R' représente H, CH₂COOH, CH₂CONZ₁Z₂, ou un groupe alkyl ou hydroxyalkyl en C₁-C₄, tel que CH₃, CH₂CH₂OH ou CH₂-CHOH-CH₂OH, puisqu'on doit bloquer sélectivement l'un des 4 atomes d'azote du cyclen par un groupe labile ou effectuer préalablement une monosubstitution du macrocycle par le groupe R'.

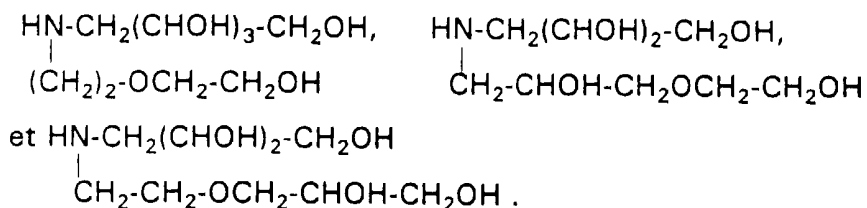
Les groupes R des composés de l'invention comportent 3 ou 4 noyaux phényles, dont celui le plus éloigné du macrocycle est substitué par un ou des groupes hydrophiles, qui interviennent dans la solubilité et la biocompatibilité du chelate. Parmi ces groupes hydrophiles, on préfère les groupes amides tertiaires, dont les substituants sont des groupes (C₂-C₆) alkyl hydroxylés éventuellement interrompus par un atome d'oxygène et particulièrement ceux dérivés des aminoalcools linéaires HNQ₁Q₂ dans lesquels Q₁ et Q₂, indépendamment l'un de l'autre, sont CH₂(CHOH)_n(CH₂OCH₂)_r(CHOH)_pCH₂OH, et,

. si dans Q₁ et Q₂ r = 0, alors p = 0 et n peut être 0 à 4 et Q₁ et Q₂ comportent ensemble de 5 à 10 groupes OH, ce qui correspond notamment pour HNQ₁Q₂ à H-N[CH₂(CHOH)₄CH₂OH]₂ et HN-CH₂(CHOH)₄-CH₂OH

$$\begin{array}{c} | \\ \text{CH}_2\text{-CHOH-CH}_2\text{OH} \end{array}$$

. si r = 1 dans Q₁ et/ou Q₂, n et p sont, indépendamment l'un de l'autre, 0 ou 1 et Q₁ et Q₂ comportent ensemble de 4 à 8 groupes OH, ce qui correspond notamment pour HNQ₁Q₂ à

- 7 -



5 Ces aminoalcools précurseurs sont commerciaux ou sont préparés à partir de l'aminoalcool primaire convenable, par exemple par action d'un sucre et réduction comme décrit dans EP-A-675105 lorsque $n = 4$ et $p = r = 0$, ou pour ceux dans lesquels $n = 3$ et $p = r = 0$, comme décrit dans EP-A-558395.

10 Lorsque Q_1 et/ou Q_2 comportent un atome d'oxygène dans la chaîne, les aminoalcools sont, lorsque $n = p = 0$, préparés à partir du 2-aminoéthoxyéthanol sur lequel on peut faire réagir un époxyde ou un halogénure d'alkyl hydroxylé convenable ou encore un aldéhyde aliphatique hydroxylé tel qu'un monosaccharide pour former une imine, ensuite réduite par voie catalytique ou chimique.

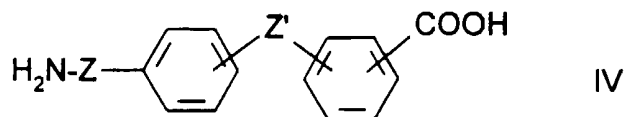
15 Lorsque n est 1 on peut préparer les aminoalcools par action de l'époxyde $\text{CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-(CHOH)}_p\text{-CH}_2\text{OH}$ sur l'aminoalcool primaire convenable, les

dits époxydes étant obtenus par oxydation des dérivés éthyléniques correspondants, par un peracide ou un acide peroxyimidique, comme décrit dans J. Org. Chem. 26 659-663 (1961) et 48 888-890 (1983).

20 La présence d'atomes d'halogène à côté des groupes amides sur le noyau phényle est avantageuse et on préfère les groupes R dans lesquels $R_1 = R_3 = R_5 = \text{Br}$ ou I et $R_2 = R_4 = \text{CO-NQ}_1\text{Q}_2$, notamment pour leur stabilité.

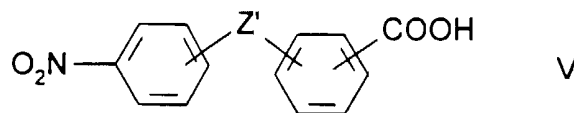
On peut former le pont Z'' entre les 2 noyaux phényles avant ou après les ponts Z' .

25 Par exemple, le composé



peut être préparé quand Z est une liaison à partir des dérivés diphényles V ou leurs esters

- 8 -



dans lesquels Z' a la même signification que dans la formule I.

Le composé V dans lequel Z' est O est décrit dans Makromolekulare Chemie 130 103-144 (1969); celui dans lequel Z' est NH est décrit dans Indian J. Chem. 13 35-37 (1975), celui dans lequel Z' est CH₂ ou CO, dans J. Pharm. Sci. 55(3) 295-302 (1966), celui dans lequel Z' est une liaison, dans Synth. Comm. 24(22) 3307-3313 (1994), et celui dans lequel Z' est S est décrit dans Il Farmaco, 44(7-8) 683-684 (1989).

D'autres composés V peuvent être préparés par des procédés d'analogie; par exemple, lorsque Z' est HNCONH, par action de O₂NC₆H₄NCO sur H₂NC₆H₄COOH en milieu anhydre, ou lorsque Z' est NHCO ou CONH, par réaction du chlorure d'acide aromatique sur l'aniline convenable en solution dans un solvant aprotique tel que CH₂Cl₂, C₆H₅CH₃, CH₃CON(CH₃)₂, ou de l'acide aromatique sur l'aniline en présence d'un chlorure d'acide sulfonique, de triéthylamine et de diméthylaminopyridine comme décrit dans Synth. Communications 25(18) 2877-2881 (1995).

La réduction du groupe NO₂ en NH₂ peut être effectuée, de manière connue, par l'hydrogène en présence de catalyseur, ou par voie chimique.

Lorsque Z dans la formule IV est CH₂-CONH, on fait réagir la glycine activée dans laquelle le groupe NH₂ est protégé, sur le composé IV dans lequel Z est une liaison ou sur une aniline portant un groupe précurseur de Z', éventuellement protégé. La glycine est protégée par exemple sous forme de carbamate, en particulier t-butylcarbamate (Synthesis, 48, 1986) et benzylcarbamate (Chem., Ber., 65, 1192 (1932)), sous forme de phthalimide (Tetrahedron Letters 25, 20, 2093-2096 (1984)), avec un benzyl (Bull. Soc. Chim. Fr., 1012-1015, (1954)), un N-allyl (Tetrahedron Letters 22, 16, 1483-1486 (1981)). (Voir aussi Protective groups in organic synthesis 315-349, T.W. Greene (John Wiley & Sons Inc.).)

L'élimination des groupes protecteurs du NH₂ n'est, en général, effectuée qu'au stade du composé III. De façon classique, un groupe phthalimido

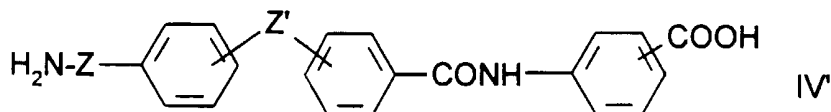
- 9 -

est éliminé par action de l'hydrazine, alors qu'un groupe benzyloxycarbonyle ou benzyle l'est par hydrogénation catalytique.

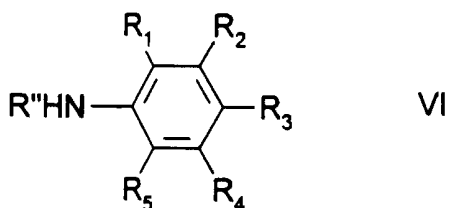
Lorsque $Z = \text{CH}_2$ dans le composé IV et $Z' = \text{CONH}$ ou $\text{CONHCH}_2\text{CONH}$, on peut faire réagir l'acide 4-aminométhylbenzoïque dans lequel le groupe NH_2 est protégé sous forme de carbamate ou d'imide comme décrit dans J. Org. Chem. 43, 2320-2325 (1978) ou dans Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 79, 688 (1960) sur l'acide benzoïque protégé convenablement substitué.

Lorsque Z est $(\text{CH}_2)_2\text{NHCO}$, on peut préparer le composé III par action d'un excès d'éthylènediamine sur un ester benzoïque convenable, soit portant l'enchaînement $(Z'\text{-phényle})_a\text{-Z''-phényle}$ substitué, soit portant seulement un groupe précurseur de Z' éventuellement protégé.

Par ailleurs, lorsque a est égal à 2, on peut faire réagir le composé IV dont le groupe amine est éventuellement protégé sur un acide aminobenzoïque dont la fonction acide est éventuellement protégée, pour obtenir les composés IV' dans lesquels le second Z' est CONH de formule



On fait ensuite réagir les composés IV ou IV' sur le noyau phényle terminal convenablement substitué de formule



dans lequel R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 sont H, halogène, $\text{CO-NQ}_1\text{Q}_2$ comme dans la formule I et R'' représente $\text{CO-CH}_2\text{-NH}_2$ ou H, en solution organique ou aqueuse, soit sous forme de chlorure d'acide soit en présence d'un agent de couplage, tel que ceux utilisés en synthèse peptidique et par exemple un chloroformiate, un sulfochlorure, ou un carbodiimide aliphatique, éventuellement porteur d'un groupe amine ou ammonium quaternaire solubilisant.

Le composé de formule VI dans lequel $R'' = \text{H}$ est préparé par des méthodes connues de l'homme du métier à partir de l'acide aminé aromatique

- 10 -

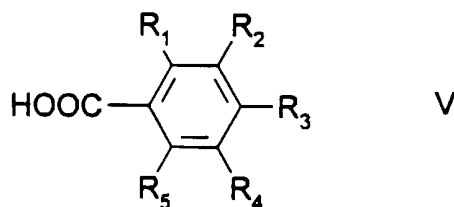
convenable, éventuellement halogéné, dans lequel le groupe carboxylique est activé sous forme de chlorure d'acide ou d'anhydride mixte, ou à partir de l'acide aromatique nitré que l'on amidifie avant de réduire le groupe NO_2 .

Les composés VI dans lesquels $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{R}_5 = \text{Br}$ ou I , et R_2 et $\text{R}_4 = \text{CO-NQ}_1\text{Q}_2$ avec $\text{Q}_1 = \text{CH}_2(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}$ et $\text{Q}_2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ou $\text{CH}_2(\text{CHOH})_{1,3}\text{-CH}_2\text{OH}$ et $\text{R}'' = \text{CO-CH}_2\text{-NH}_2$ sont décrits dans WO 97/01359. Les autres dérivés, halogénés ou non, et notamment ceux dans lesquels les chaînes Q_1 et Q_2 sont interrompues par un atome d'oxygène peuvent être préparés de manière analogue à partir des aminoalcools convenables.

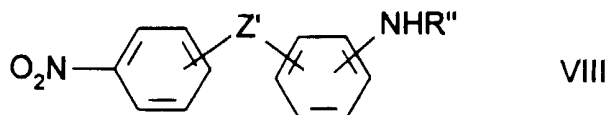
Lorsque Z est une liaison on préfère faire réagir le composé nitré V sur l'amine VI avant d'effectuer la réduction.

On peut aussi éventuellement, faire réagir les composés IV ou IV' sur un composé précurseur de VI, comportant le groupe COOH , éventuellement protégé sous forme d'ester, à la place du groupe $\text{CO-NQ}_1\text{Q}_2$, pour ne faire qu'ensuite le mono ou diamide.

Pour préparer un composé III dans lequel R_3 ou R_2 et R_4 représentent $\text{N}(\text{Q}_1)\text{CO-Q}_2$ et $\text{Z}'' = \text{NH-CO}$ ou $\text{NH-CO-CH}_2\text{-NH-CO}$, on peut faire réagir l'acide benzoïque de formule



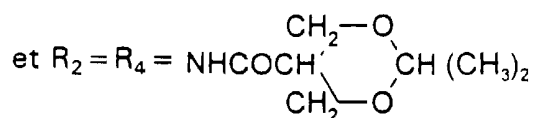
dans lequel les hydroxyles du groupe $\text{N}(\text{Q}_1)\text{COQ}_2$ sont éventuellement protégés sur une amine



dans laquelle R'' est H ou $\text{COCH}_2\text{-NH}_2$, avant de réduire le groupe nitro pour obtenir un composé III dans lequel Z est une liaison.

Parmi les composés de formule VII, on peut citer ceux préparés à partir de $\text{CH}_2(\text{OCOCH}_3)\text{CH}(\text{OCOCH}_3)_4\text{COCl}$, décrit dans Org. Synth. 41, 79-82 (1961), et des acides aminobenzoïques convenables, ou celui dans lequel $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{R}_5 = \text{I}$

- 11 -



décrit dans EP 357467.

5 Dans les groupes amides Z' et Z'' , Q peut être introduit de façon classique par action de l'halogénure correspondant en présence d'une base sur le composé dans lequel $Q = H$, de préférence aux stades des intermédiaires.

La réaction des composés de formule III sur les sels des composés de formule II a lieu, de préférence en milieu aqueux, en présence d'un carbodiimide soluble, tel que ceux porteurs de groupe amine décrits dans J. Org. Chem. 21, 439-441 (1956) et 26, 2525-2528, (1961) ou US 3,135,748, ou de groupe ammonium quaternaire dans Org. Synth. V, 555-558, qui concerne un dérivé du 1-éthyl-3-(3-diméthylamino)propyl carbodiimide (EDCI). Elle peut aussi être effectuée en présence de N-hydroxy-sulfosuccinimide comme décrit dans Bioconjugate Chem. 5, 565-576 (1994) ou de 2-succinimido 1,1,3,3-tétraméthyluronium tétrafluoroborate et analogues décrits dans Tetrahedron Letters 30, 1927-1930 (1989).

Un autre procédé consiste à former un ester activé intermédiaire en faisant réagir par exemple le N-hydroxysulfosuccinimide (NHS) ou l'hydroxybenzotriazole (HOBT) en présence de carbodiimide sur le composé II en solution dans un solvant aprotique polaire dans lequel on introduit un équivalent stoechiométrique du composé III, le composé II pouvant être solubilisé à l'aide d'un cation, par exemple un ammonium.

En présence de 2-éthoxy 1-éthoxycarbonyl 1,2-dihydroquinoléine (EEDQ), on peut effectuer la réaction en milieu hydroalcoolique.

25 Le composé de formule II dans lequel les 4 substituants des atomes d'azote sont identiques et M^{3+} est Gd^{3+} est un composé connu, décrit notamment dans EP-A-661279.

Les composés II dans lesquels M^{3+} représente un autre cation métallique seront préparés de façon analogue par action d'un sel métallique, particulièrement le chlorure, ou de l'oxyde métallique sur une solution aqueuse d'un sel du ligand,

comme décrit dans US 5,554,748 et les références qui y sont citées, ou dans Helv. Chim. Acta 69, 2067-2074 (1986), ou par échange de cation.

Les composés II dans lesquels R' est H, alkyl éventuellement hydroxylé, CH₂COOH et CH₂CONZ₁Z₂, peuvent être préparés à partir du cyclen monosubstitué par R' ou un groupe protecteur éliminable. Parmi les procédés de monosubstitution on peut citer la réaction de monoalkylation favorisée par le choix du solvant, décrite dans J. Org. Chem. 58, 3869-3876 (1993), celle avec complexation de 3 des atomes d'azote par des dérivés du bore ou du phosphore, décrite respectivement dans Tetrahedron Letters 32(5) 639-641 (1991) et Angew Chem. Int. Ed. 30(5) 560-561 (1991), ou celle avec formation d'un intermédiaire orthoamide décrite dans US 5,410,043.

Ce procédé est préférable à celui consistant en la trialkylation du cyclen par un dérivé réactif de ROOC-CH-(CH₂)₂COOR, les dérivés dialkylés et tetraalkylés formés simultanément ne pouvant être éliminés par des opérations simples.

Lorsque le sel du composé de formule I n'est pas celui obtenu lors du couplage précédent, on peut échanger le cation par contact avec une résine échangeuse d'ions qui portera le cation désiré dans le produit final.

Ces chelates de l'invention sont caractérisés par la présence sur le noyau central chelateur de bras latéraux comportant 3 ou 4 noyaux phényles successifs, réunis entre eux par des ponts de faible longueur, le dernier noyau phényle portant au moins un groupe hydrophile; malgré leur masse moléculaire élevée, et la présence de plusieurs noyaux phényles hydrophobes, ces composés sont solubles dans l'eau et biocompatibles et peuvent être administrés par voie intraveineuse chez l'homme.

En outre, et c'est une propriété très importante, ils franchissent peu les parois vasculaires contrairement aux composés commercialisés, ce qui permet d'obtenir lors de l'imagerie par résonance magnétique, un fort contraste entre les vaisseaux et les tissus avoisinants; cette propriété, associée à leur forte relaxivité, permet soit d'injecter au patient des doses de gadolinium complexé inférieures, soit de détecter des états pathologiques que l'on ne pouvait jusque là mettre clairement en évidence.

Les chelates paramagnétiques de l'invention peuvent être formulés pour une administration parentérale ou entérale, associés aux véhicules pharmaceutiques et excipients classiques dans ce domaine.

5 Les solutions injectables stériles comporteront de 0,001 à 0,5 mole/litre d'un chélate paramagnétique ou d'un de ses sels en solution aqueuse, associé éventuellement à un tampon, à des ions, à un alcool ou un sucre, notamment pour modifier l'osmolalité, ou à d'autres agents complexants, comme l'EDTA.

Pour éliminer les endotoxines qui peuvent contaminer le produit fini, par suite notamment de purification par chromatographie, on effectue de préférence 10 une ultrafiltration, éventuellement tangentielle, sur des membranes dont la nature et le seuil de coupure sont fonction de la masse moléculaire du chelate et de la viscosité de sa solution. Cette purification peut être réalisée aussi à certaines étapes intermédiaires, par microfiltration ou ultrafiltration; on peut aussi envisager un traitement par un absorbant spécifique des endotoxines. Pour une 15 administration intravaginale les solutions aqueuses comportent de préférence un agent viscosifiant, telle qu'une gomme naturelle, un polysaccharide ou un dérivé de cellulose. Pour une administration rectale, le chelate sera formulé sous forme de suppositoire ou de solution visqueuse. Enfin, pour une administration orale, il pourra être présenté sous forme de gélules, de comprimés ou de sirop, préparés 20 avec les excipients habituels. Des exemples de formulations peuvent être trouvés dans Remington's for Pharmaceutical Science, 18e Edition (1990), Mack. Pub. Cy.

La dose unitaire et sa concentration sont fonction de la taille du patient, du type d'imagerie effectuée, mais aussi de la solubilité, de l'efficacité magnétique, de la perméabilité capillaire et de la pharmacocinétique du composé. 25 Ils seront utilisés en imagerie par résonance magnétique en appliquant des techniques rapides ou non, pour étudier la perfusion, en particulier myocardique, cérébrale, rénale ou hépatique, pour des angiographies ou pour visualiser ou caractériser des anomalies de perméabilité, en particulier tumorale, inflammatoire et ischémique.

30 Ces produits pourront aussi être utilisés en médecine nucléaire après introduction d'un atome radioactif, par exemple par échange isotopique des

halogènes; une scintigraphie des zones à imager sera effectuée après administration des chélates de l'invention, ou leurs ligands radiomarqués.

Dans ce qui suit, des exemples de composés de l'invention sont décrits ainsi qu'un procédé de préparation des chélates de gadolinium des composés de formule II dans laquelle $R' = \text{HOOC-CH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$, $R' = \text{H}$ ou $R' = \text{CH}_2\text{COOH}$, et des composés VI.

Les produits isolés sont, selon les cas, caractérisés par leurs distances de rétention en chromatographie sur couches minces ou leurs temps de rétention (t_r) en chromatographie liquide haute performance (HPLC) ou en chromatographie d'exclusion stérique (CES). Leurs masses moléculaires ont été déterminées par spectrométrie de masse (electrospray).

A. Chélate de gadolinium de l'acide [1,4,7,10-tétraazacyclododécane]1,4,7,10-tétra(2-glutarique) (sel de sodium):

1. Dans une solution de 25 g de 1,4,7,10-tétraazacyclododécane dans 280 ml d'acétonitrile, on introduit 30 g de carbonate de sodium puis 78 g de 2-bromoglutarate d'éthyle, préparé par exemple comme décrit dans Acta Chim. Acad. Sci. Hung 41(3) 331-6 (1964); le milieu est porté à sa température de reflux une journée au cours de laquelle on rajoute par 2 fois 78 g du dérivé bromé avec 30 g de carbonate de sodium. On filtre le précipité après refroidissement et on lave la phase organique avec de l'eau avant de l'extraire par une solution aqueuse diluée d'acide chlorhydrique. On extrait ensuite de la phase aqueuse amenée vers pH 3-4 avec du toluène.

Le produit cherché est purifié par chromatographie sur silice en éluant avec du chlorure de méthylène, éventuellement en mélange avec de l'acétone.

2. Hydrolyse des fonctions ester:

On introduit 46 g de l'octaester en solution dans 52 ml d'éthanol dans 350 ml d'eau dans lesquels on a ajouté 50 g de NaOH, en perles.

Après deux jours sous agitation à 80° C, on introduit dans la solution refroidie 500 ml de résine échangeuse cationique sous forme acide faible pour neutraliser puis après séparation de la phase solide, 500 ml de résine

échangeuse anionique sous forme de base forte. La résine est séparée et introduite dans 500 ml de solution aqueuse d'acide acétique 6N; le produit final, passé en solution, est isolé sous forme d'une poudre par évaporation sous vide du solvant.

5 HPLC: colonne 25 cm x 4,6 mm de silica gel Nucleosil® C18 100-5.

Eluant No. 1: H_2SO_4 aqueux (0,1%) pendant 10 minutes puis avec 0 à 10% (V/V) de CH_3CN en 10 minutes: $d = 1 \text{ ml/min}$; $T = 25^\circ \text{C}$;

$t_r = 5,4$; 8,7; 10,2; 14 min (isomères) (CH_3COOH - $t_r = 4,5 \text{ min}$).

3. Complexation:

10 . Par l'oxyde de gadolinium: dans 30 ml d'une solution à pH 5,5 de 2 g de l'octaacide précédent, on introduit 0,47 g d'oxyde de gadolinium et on maintient le mélange à 80°C pendant 3 heures, au cours desquelles on ajuste le pH à 5,5 si nécessaire. Après refroidissement, à pH = 6,5 on introduit 2 g de résine Chelex® 100 commercialisée par Sigma; après
15 quelques heures de contact, on sépare la résine et on verse la solution sur 10 volumes d'éthanol pour précipiter le chelate.

. Par le chlorure de gadolinium: on amène à pH 6,5 par addition de NaOH aqueux (1N), le mélange de 6,5 g de l'octaacide et 3,5 g de $\text{Gd Cl}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ dans 130 ml d'eau, et on le porte à 60°C durant 2 heures au
20 cours desquelles le pH est maintenu à 6,5 par addition au total de 21 ml de NaOH aqueux (1N). Après quelques heures à température ambiante, on concentre jusqu'à 25 ml et on précipite le produit final dans 10 volumes de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$.

B. Chelate de gadolinium de l'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane
25 1,4,7-tri-(2-glutarique) (formule II: $\text{R} = \text{HOOC}-\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$, $\text{R}' = \text{H}$, $\text{M} = \text{Gd}$):

1. 10-benzyl 1,4,7,10-tétraazacyclododécane:

30,5 g de chlorure de benzyle sont introduits goutte à goutte dans une solution de 50 g de 1,4,7,10-tétraazacyclododécane dans 500 ml de chloroforme. Après 24 heures d'agitation à température ambiante, le milieu
30 réactionnel est filtré; le filtrat est concentré à sec. Le résidu est repris dans 350 ml d'eau et 75 ml de toluène puis après décantation de la phase toluénique,

- 16 -

la phase aqueuse est extraite par 2 fois 200 ml de dichlorométhane. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis concentrée à sec. On obtient 21 g du produit sous forme huileuse.

2. 10-benzyl 1,4,7,10-tétraazacyclododécane 1,4,7-tri-(2-glutarate de méthyle):

Une solution de 56,3 g de 2-bromoglutarate de méthyle dans 50 ml d'acétonitrile est introduite goutte à goutte dans une suspension de 18,7 g du produit précédent avec 24,7 g de carbonate de sodium dans 300 ml d'acétonitrile. Le milieu réactionnel est porté à sa température de reflux qui est maintenue durant 36 heures; après filtration à température ambiante le solvant est éliminé par évaporation et le résidu dissous dans le minimum d'acétate d'éthyle et purifié par chromatographie sur une colonne de silice en éluant par un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole (40/60 à 70/30 V/V). On obtient ainsi 20,7 g du produit sous forme d'huile.

3. Acide 10-benzyl [1,4,7,10-tétraazacyclododécane] 1,4,7-tri-(2-glutarique):

16,7 g de l'huile obtenue ci-dessus en solution dans 40 ml de méthanol sont introduits dans 125 ml d'eau dans lesquels 25 g de NaOH ont été dissous; le mélange est maintenu sous agitation à 70° C pendant 48 heures. On élimine ensuite le méthanol sous pression réduite avant d'introduire 400 ml de résine échangeuse de cations sous forme d'acide faible (Amberlite® - IRC 50 commercialisée par Rohm et Haas) puis, après séparation, d'anions sous forme de base forte (Amberlite® - IRA 458), le produit cherché s'étant fixé sur la résine anionique, il est isolé par élution avec 2 l d'une solution aqueuse d'acide acétique 3N puis 2 l de solution 6N.

Après élimination des solvants on obtient 13,5 g de cristaux blancs, mélange d'isomères.

HPLC: colonne No. 1: 25 cm x 4 mm Lichrospher® 100-RP18 - 5 µm (Merck, DE); Eluant No. 1.

t_r = 28, 30 min (2 massifs d'isomères 75/25 en surface).

4. Acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane 1,4,7-tri-(2-glutarique):

- 17 -

13 g du composé précédent en solution dans 210 ml d'eau et 90 ml de méthanol sont hydrogénés durant 3 heures à température ambiante sous une pression de 28×10^4 Pa en présence de palladium à 10% sur charbon humide à 50%. Après élimination du catalyseur et des solvants par évaporation, on obtient 11 g de poudre blanche.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 1.

$t_r = 8, 9$ min (2 massifs d'isomères 75/25 en surface).

5. Complexation:

A 60°C , une solution de 1,6 g du composé précédent et 1 g de $\text{GdCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ dans 30 ml d'eau est maintenue à pH 5 par addition de NaOH aqueux 3N, durant 4 heures. On concentre jusqu'à obtenir un volume de 10 ml et on précipite le résidu dans 100 ml d'éthanol. On isole par filtration 1,6 g du complexe de gadolinium cherché.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 1; $t_r = 24, 26$ min.

C. Chelate de gadolinium de l'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane 1,4,7-tri-(2-glutarique) 10-acétique:

1. 1 g de l'acide obtenu à l'étape 4 de la préparation B sont mis en solution dans 8 ml d'eau, avec 270 mg d'acide bromoacétique et le mélange est maintenu 3 heures à 70°C et pH 10 contrôlé par addition de NaOH aqueux (1N). On ajoute ensuite à température ambiante 100 ml d'eau et 10 ml de résine Amberlite® IRC 50; après 1 heure de contact la résine est séparée et on introduit dans le milieu 50 ml de résine Amberlite® IRA 458. Après 12 heures, la résine est séparée et introduite dans une colonne. Le produit cherché en est extrait par élution avec 500 ml d'une solution aqueuse d'acide acétique (1N). On obtient ainsi 0,8 g de cristaux blancs.

HPLC: colonne No. 2: 25 cm x 4 mm Symetry® - RP 18 - $5 \mu\text{m}$ (Waters); Eluant No. 1; $t_r = 4$ min.

2. Complexation:

On introduit dans 13 ml d'eau, 0,45 g de $\text{GdCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ et 0,75 g du composé précédent; le pH est amené à 6 par addition d'une solution aqueuse de NaOH(1N); le milieu réactionnel est alors maintenu à 60°C durant 5 heures au

cours desquelles on ajuste plusieurs fois le pH par addition de la solution de NaOH. Après refroidissement, le milieu est introduit dans 130 ml d'éthanol et le précipité est isolé pour donner 0,75 g de chélate.

D. N,N'-(2,3,4,5-tétrahydroxypentyl) N,N'-[2-(hydroxyéthoxy)éthyl]

5 2,4,6-triiodo 5-(glycylamino)isophtalamide:

1. 5-[2-(hydroxyéthoxy)éthylamino]pentane 1,2,3,4-tétraol:

On dissout 84 g de 2-aminoéthoxyéthanol et 150 g de D-xylose dans 2,5 l de méthanol; le mélange est hydrogéné à température ambiante sous une pression de 6×10^5 Pa, en présence de 50 g de palladium sur charbon à 10%. Le catalyseur est éliminé par filtration et le solvant distillé. Le résidu, dissous dans le minimum d'eau, est chromatographié sur 100 ml de résine Amberlite® IRN 77 (H^+) en éluant avec une solution aqueuse de NH_4OH puis sur 1 kg de gel de silice Geduran® SI60 pour donner 170 g d'aminoalcool sous forme d'huile brune.

15 CCM: CH_3OH/NH_4OH à 25% - (7/3 - V/V) - $R_f = 0,3$.

RMN ^{13}C : (DMSO- d_6 - 50,3 MHz); δ (ppm): 51,4; 48,9 (2 x CH_2NH); 62,9; 60,5 (2 x CH_2OH); 71,9; 71,2; 70,6 (3 x $CHOH$); 72,3; 69,7 (CH_2OCH_2).

On peut préparer de la même manière le dérivé de l'arabinose ou du ribose.

2. N,N'-(2,3,4,5-tétrahydroxypentyl) N,N'-[2-(hydroxyéthoxy)éthyl]

20 2, 4,6-triiodo 5-(phtalamidoacétamido)isophtalamide:

On dissout 30 g de l'aminoalcool précédemment préparé dans 100 ml de diméthylacétamide, à 45° C, puis on introduit 22 g de dichlorure d'acide isophtalique et 12 g de triéthylamine et on laisse le milieu sous agitation à cette température durant 24 heures. On isole le précipité formé à température ambiante et on élimine le solvant par distillation sous vide.

25 Le résidu en solution dans 50 ml d'eau est élué sur 100 ml de résine Amberlite® IMAC HP 1110 (H^+); après concentration de la solution jusqu'à 10 ml, on la verse dans 1500 ml d'alcool isopropylique et on isole le précipité formé après 24 heures.

30 3. Libération de l'amine:

- 19 -

On introduit à 80° C dans une solution de 40 ml d'eau et 2,7 ml d'hydrate d'hydrazine, 42 g du produit préparé ci-dessus en solution dans 60 ml d'eau. Après 5 heures d'agitation à cette température, on filtre puis acidifie le milieu jusqu'à pH 1 par addition d'acide chlorhydrique concentré. Le précipité
5 formé est séparé et le filtrat concentré. Le résidu en solution dans 30 ml d'eau est chromatographié sur 30 ml de résine Amberlite® IMAC HP 111E (H⁺) puis sur 55 ml de résine Amberlite® IRA 67 (OH⁻). L'éluat concentré est fixé sur 350 ml de résine Amberlite® 252 Na (H⁺), d'où il est élué par une solution aqueuse de NH₄OH (2N).

10 p = 20 g.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2: H₂O/CF₃COOH (pH 3,4) avec gradient d'acétonitrile 95/5 à 50/50 V/V en 50 minutes;

t_r = 10 - 20 min (mélange d'isomères).

15 E. N,N'-[bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)] 2,4,6-tribromo 5-(glycyl amino)isophtalimide:

1. Acide 5-amino 2,4,6-tribromo isophtalique:

On introduit lentement 156 g de brome dans 300 ml d'une solution aqueuse de 50 g d'acide 5-aminoisophtalique et 55 ml d'acide chlorhydrique à 37%. Après 1 nuit d'agitation on neutralise l'excès de brome par addition d'une
20 solution aqueuse de bisulfite de sodium avant d'isoler le précipité. Rendement: 90%.

2. Acide 5-(phtalimidoacétamido) 2,4,6-tribromo isophtalique:

On introduit lentement 27 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 69 g de N-phtaloylglycine, dans 200 ml de diméthylacétamide à 10°
25 C, puis après 2 heures d'agitation on introduit vers 15-20° C, 100 g de l'acide obtenu précédemment. Après 1 nuit à température ambiante, le mélange est versé dans 800 ml d'eau chaude. On isole ainsi 140 g de produit final.

3. Chlorure du diacide précédent:

30 On introduit lentement à 18° C dans une solution de 100 g du diacide dans 300 ml de dioxanne et 50 ml de diméthylformamide, 70 ml de chlorure de thionyle. Le précipité jaune formé après 3 journées d'agitation à

- 20 -

température ambiante est filtré et lavé avec de l'oxyde de méthyle et de t-butyle. On obtient ainsi 70 g de solide beige.

4. N,N'[-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)] 2,4,6-tribromo 5-(phtalimidoacétamido)isophtalamide:

5 On dissout 150 g de disorbitylamine dans 600 ml de N-méthylpyrrolidone à 80° C et on introduit dans le milieu à 60° C, 16 g de carbonate de sodium sec, puis 96 g du chlorure d'acide précédent. Après 1 heure d'agitation à cette température et 16 heures à température ambiante, on élimine le précipité et on verse la solution dans 1,6 l d'isopropanol. Le précipité
10 isolé pèse 200 g.

5. Hydrazinolyse:

200 g du produit précédent et 17 ml d'hydrate d'hydrazine sont introduits dans 400 ml d'eau à 70° C. Après 3 heures d'agitation on acidifie jusqu'à pH 4 par addition d'acide chlorhydrique 6N à température ambiante. On
15 élimine alors le précipité formé et on neutralise le filtrat par addition d'une solution aqueuse de NaOH (1N). L'hydrazine en excès est éliminée par osmose inverse. La solution résiduelle est traitée par 10 ml de résine cationique forte puis 65 ml de résine anionique faible.

Le produit final est alors extrait de la solution par fixation sur une
20 résine cationique forte sous forme H⁺, d'où elle est éluée par une solution aqueuse diluée de NaCl (0,1 M). p = 80 g.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 7 min environ.

F. N,N'[-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)] 2,4,6-triiodo 5-(glycyl-amino)isophtalimide:

25 1. Chlorure de l'acide 5-(phtalamidoacétamido) 2,4,6-triiodo-isophtalique:

On introduit 149 ml de SOCl₂ dans une solution de 335 g de N-phtaloylglycine dans 1 l de N-méthylpyrrolidone à 10° C puis après 3 heures 700 g de dichlorure d'acide 2,4,6-triiodo 5-aminoisophtalique. Après 3 jours
30 d'agitation à température ambiante, le milieu est versé sur 4,5 l d'éthanol aqueux

- 21 -

2/1 V/V). On amène le pH à 5 par addition de triéthylamine avant d'isoler le précipité formé, qui peut être purifié par lavage à l'isopropanol.

p = 850 g.

2. Amidification par la disorbitylamine $\text{H-N}[\text{CH}_2(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}]_2$:

5 En opérant comme pour le composé analogue tribromé, on obtient le produit avec 85% de rendement.

3. Hydrazinolyse:

420 g du phthalimide triiodé précédent en solution dans 1 l d'eau et 300 ml d'hydrate d'hydrazine sont maintenus plusieurs heures à 80° C. Après
10 acidification du milieu à pH 3,6 on élimine l'excès d'hydrazine par chromatographie sur une résine échangeuse de cations (H^+) telle que IMAC® HP111E commercialisée par Rohm et Haas, puis les chlorures avec une résine échangeuse d'anions (OH^-).

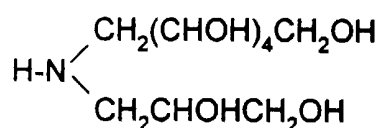
Le produit final peut être purifié par chromatographie sur résine
15 échangeuse de cations (H^+ forte) et précipité à partir de sa solution aqueuse dans l'éthanol. Rendement 50%.

HPLC: colonne No. 1;

Eluant No. 4: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{P.I.C.}^\circ \text{ B8}$ (0,05 M) (Waters) 15/85; débit 1 ml/min.

$t_r = 3$ min.

20 G. 1-deoxy 1-[(2,3-dihydroxypropyl)amino] D-galactitol



On maintient 27 g de 3-aminopropane 1,2-diol et 50 g de D-galactose dans 140 ml de méthanol sous agitation à 40°C pendant 16 heures. On ajoute alors 60 ml d'eau et on effectue, en présence de 7 g de palladium sur charbon (à
25 10%) l'hydrogénation de l'imine durant 7 heures à 60°C sous une pression de 20×10^5 Pa d'hydrogène.

Le catalyseur est alors séparé par filtration sur Célite®. Après élimination du solvant sous pression réduite, le résidu, dissous dans le minimum d'eau (50 ml), est introduit lentement dans 600 ml d'isopropanol. Le précipité
30 formé est isolé. F = 132°C, rendement 90%.

- 22 -

On peut aussi avant la précipitation dans l'isopropanol, chromatographier le produit brut, en solution dans 200 ml d'eau sur 500 ml d'une résine échangeuse d'ions sous forme acide sulfonique en éluant par une solution aqueuse de NH_4OH dilué.

5 Dans ces conditions, l'aminoalcool est un mélange pratiquement 50/50 des deux diastéréoisomères.

Par recristallisation, précipitation fractionnée ou mise en suspension, on peut enrichir le mélange en l'un ou l'autre des isomères.

10 Ainsi, par traitement au méthanol à sa température de reflux (25 g de l'aminoalcool dans 500 ml du solvant) on obtient un mélange qui contient un excès de l'un des isomères: 65% de l'isomère ayant le plus grand temps de rétention d'après les surfaces mesurées sur les chromatogrammes obtenus dans les conditions suivantes:

15 Chromatographie en phase gazeuse (dérivé totalement trifluoroacétylé par action de l'anhydride trifluoroacétique à 60°C);

Appareil: Varian Star 3400;

Colonne: DB 1701 de J & W ($0,25\ \mu\text{m}$ - 30 m x 0,25 mm);

Gaz vecteur He - T injecteur (split 1/40^e) = 290°C ;

T colonne = 150°C à 280°C ($5^\circ\text{C}/\text{mn}$) - Volume: 1 μl ;

20 t_r : 14,5 et 14,9 minutes (5,6 mn pour l'aminopropanediol de départ).

RMN ^{13}C (200 MHz - $\text{DMSO}-d_6$ - Réf DMSO - T = 30°C)

δ (ppm): 71,7; 71,6; 70,5; 70,1; 69,5; 68,5; 68,2 - (CHOH) 64,6; 63,2; (CH₂OH) - 53,4; 53; 52,9 (NCH₂).

25 On peut aussi obtenir chaque diastéréoisomère en condensant le D-galactose sur l'énantiomère pur de l'aminopropanediol ou par action des énantiomères du glycidol sur la N-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)benzylamide comme suit:

a) N-benzyl N-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)amine:

30 On dissout dans 230 ml de méthanol 29 g de D-galactose, 17 ml de benzylamine et on maintient le mélange à 50°C pendant 7 heures sous une

- 23 -

pression d'hydrogène de 8×10^5 Pa, après addition de 5 g de charbon palladié à 5%.

Après l'hydrogénation, on introduit à 40°C, une solution aqueuse d'acide chlorhydrique jusqu'à pH acide dans le milieu réactionnel.

5 On filtre le mélange sur Célite® à température ambiante pour éliminer le catalyseur, et après concentration partielle, on introduit une solution aqueuse de NaOH 5N jusqu'à pH basique. Le précipité formé est isolé et recristallisé dans l'éthanol.

RMN ^{13}C (200 MHz - DMSO d6 - Réf DMSO - T = 30°C)

10 δ (ppm): 140,8 (C CH₂N) - 128,8; 128,4; 126,9 (phényl) - 72; 70,6; 69,9; 68,8; (CHOH) - 63,2 (CH₂OH) - 53,1; 52,4 (CH₂NH).

b) N-benzyl N-(2,3-dihydroxypropyl)(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)amine

On dissout 6,5 g de l'amine secondaire obtenue dans l'étape précédente dans 200 ml de méthanol à 60°C, puis on introduit dans la solution à 15 cette température 2,5 g de glycidol (racémique ou énantiomère pur) et on maintient le mélange sous agitation 24 heures. On élimine ensuite le solvant par distillation sous pression réduite, et on chromatographie le résidu après dissolution dans 200 ml d'eau sur une colonne de résine Amberlite® IMAC 110 sous forme H⁺ en éluant avec une solution aqueuse de NH₄OH diluée (0,1%).
20 On obtient ainsi 5,5 g de l'amine.

c) N-(2,3-dihydroxypropyl) N-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)amine:

2 g de l'amine tertiaire obtenue dans l'étape précédente en solution dans 30 ml d'eau sont hydrogénés à 45°C sous pression d'hydrogène de 10×10^5 Pa pendant 5 heures en présence de 0,6 g de charbon palladié à 10%. La 25 solution est ensuite filtrée sur Célite® pour éliminer le catalyseur et concentrée sous pression réduite. Le résidu peut être recristallisé dans l'éthanol.

Lorsque l'on condense le (S)-glycidol on obtient l'aminoalcool diastéréoisomère dont le temps de rétention dans les conditions de la chromatographie en phase gazeuse précédente est le plus long.

30 A partir du D-glucose et du D-mannose, on obtiendra en appliquant ces procédés des diastéréoisomères de ces aminoalcools, alors que d'autres

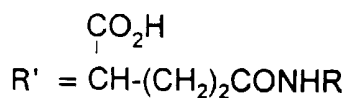
- 24 -

aminoalcools pourront être obtenus à partir d'aminoalcools primaires ou de sucres différents.

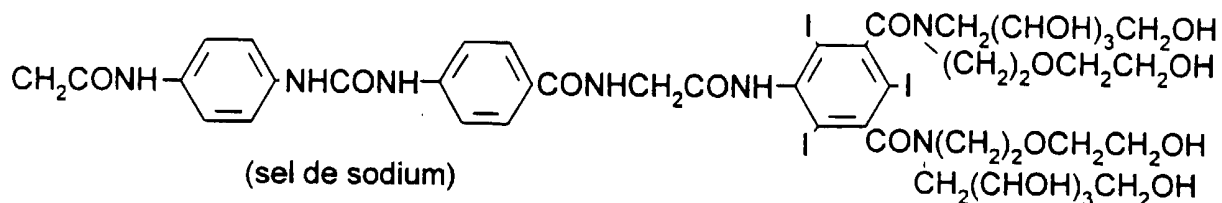
Exemple 1.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

5



R =



1. Acide 4-[N'-(4-nitrophényl)uréido]benzoïque:

10

A 10° C, on introduit sous agitation dans 80 ml de tétrahydrofurane 24,6 g de 4-nitrophénylisocyanate, puis lentement 20,5 g d'acide 4-aminobenzoïque en solution dans 70 ml de tétrahydrofurane. On laisse revenir le mélange à température ambiante et on poursuit l'agitation 1 heure avant d'isoler le précipité formé. p = 45 g.

15

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2: H₂O/CF₃COOH; pH = 3,4 avec gradient d'acétonitrile (95/5 à 50/50 - V/V en 50 min); débit 1 ml/min; t_r = 44 min.

2. Acide 4-[N'-(4-aminophényl)uréido]benzoïque:

20

22 g du produit ci-dessus et 37 ml de solution aqueuse de NaOH (1N) sont introduits dans 280 ml d'eau avec 3 g de palladium sur charbon (5%). On maintient le milieu sous une pression d'hydrogène de 0,6 MPa pendant 6 heures à 65° C. Après retour à température ambiante, on amène le pH à 10 et on filtre le catalyseur sur Celite® avant d'acidifier jusqu'à pH 5,3 par addition d'une solution aqueuse de HCl (6N); le précipité obtenu est lavé à l'acétone.

25

p = 13,2 g.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 33 min.

3. Acide 4-[N'[4-(phthalimidoacétamido)phényl]uréido]benzoïque:

On dissout 5,8 g d'acide phthalimidoacétique dans 26 ml de diméthyl-

- 25 -

acétamide à 10° C et on introduit, en maintenant la température, 2 ml de chlorure de thionyle, puis, après 2 heures d'agitation, 7 g du composé obtenu à l'étape précédente.

Après 12 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est versé
5 dans 250 ml d'eau et le précipité formé lavé jusqu'à neutralité avec de l'eau à 25° C puis 95° C.

p = 10,4 g.

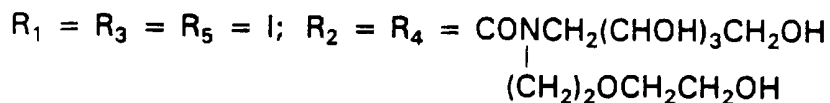
HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 40 min.

4. N,N'-(2,3,4,5-tétrahydroxypentyl)N,N'-[2-(hydroxyéthoxy)éthyl]
10 2,4,6-triiodo 5-[4-[N'-(4-phthalimidoacetamidophényl)ureido]benzoyl
glycylamino]iso-phthalamide:

On dissout dans 40 ml de diméthylacétamide 4 g du composé obtenu ci-dessus avec 1,7 g d'HOBT, H₂O et 9,3 g de N,N'-bis-(2,3,4,5-tétrahydroxypentyl)N,N'-bis(hydroxyéthoxyéthyl) 2,4,6-triiodo 5-(glycylamino)
15 isophthalamide puis 2,4 g d'EDCI, HCl à 0° C. Après 1 nuit d'agitation à température ambiante le milieu est versé dans 300 ml de dichlorométhane. Le précipité isolé est lavé à l'éther diéthylique.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 30-33 min (mélange d'isomères).

5. Elimination du groupe phthalimido:
20 produit de formule III dans laquelle Z = CH₂CONH; Z' = NHCONH;
Z'' = CONHCH₂CONH;



Dans 45 ml d'eau, on introduit à 80° C, 11,5 g du composé précédent
25 puis 1,12 ml d'hydrate d'hydrazine (0,023 mol). Après 2 h 45 à 80° C, on refroidit à 0° C et acidifie jusqu'à pH 1 par addition de HCl aqueux (12N). Le mélange est ensuite filtré sur Celite® à température ambiante puis filtré sur 16 ml de résine cationique (H⁺) IMAC® HP111E et 80 ml de résine anionique faible (OH⁻) IMAC® HP661, commercialisées par Rohm et Haas.

30 Après une dernière purification par filtration sur silice silanisée, on obtient 4,6 g du produit final.

- 26 -

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 24-27 min (mélange d'isomères).

6. Condensation des produits A et III

On introduit à 40° C dans 20 ml d'une solution à pH 6, 4,5 g de l'amine ci-dessus et 0,63 g du chelate A, 0,057 g de NHS (sel de sodium) et 0,76 g d'EDCI, HCl. Après 15 minutes le mélange est versé dans l'eau et le précipité isolé. Après élimination des produits de départ on obtient le composé de formule I.

Chromatographie d'exclusion stérique: (CES).

Conditions No. 1: effectuée sur une succession de 4 colonnes (30 cm x 8 mm) commercialisées par Shodex (JP) sous les références OH Pak SB-HQ, contenant du gel de polyhydroxymétacrylate, dont les limites d'exclusion, déterminées avec du pullulan, sont successivement 10⁶ Kdaltons (SB-804); 10⁵ Kdaltons (SB-803); 10⁴ Kdaltons (SB-802-5); 10⁴ Kdaltons (SB-802-5).

Eluant: NaCl aqueux (0,16 M)/acétonitrile (70/30-V/V); débit 0,8 ml/min.

T = 30° C; t_r : 38 minutes (50-53 min pour l'amine de départ).

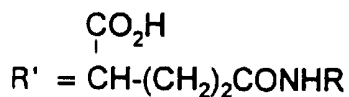
HPLC: colonne No. 3, 25 cm x 4,6 mm Platinum EPS C18 100 Å; 5 µM (Alltech);

Eluant No. 3: eau/CH₃CN de 98/2 à 60/40 - V/V en 50 min; débit: 1 ml/min;

T = 25° C; t_r = 26 min.

Exemple 2.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle



1. Acide 4-[4-(phthalimidométhyl)benzamido]benzoïque:

On introduit dans une solution préparée avec 25 g d'acide 4-aminométhylbenzoïque, 18 g de Na₂CO₃ et 165 ml d'eau, 37 g de N-carbethoxyphthalimide. Le précipité formé est isolé puis mis en suspension dans 60 ml de diméthylacétamide dans lequel on introduit lentement à 10° C,

- 27 -

4,7 ml de chlorure de thionyle. Après 3 heures à cette température, on introduit 9 g d'acide 4-aminobenzoïque et on maintient le milieu 12 heures à température ambiante, avant de le verser dans 600 ml d'eau. Le précipité formé est isolé.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 48 min.

5 2. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-triiodo 5-[4-(4-amino méthylbenzamido)benzoylglycylamino]isophtalamide:

a) On agite jusqu'à dissolution 160 ml de diméthylacetamide avec 39 g de 5-glycylamino N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-triiodo isophtalamide, 4,6 ml de triéthylamine, 5,7 g d'HOBt, H₂O et 12 g du produit
10 obtenu ci-dessus, avant de refroidir à 0° C et d'ajouter 8 g d'EDCI, HCl. En fin de réaction le milieu est versé sur 1000 ml de dichlorométhane. Le précipité isolé est purifié par précipitation dans le méthanol à partir de sa solution aqueuse.
p = 43 g.

b) Hydrazinolyse:

15 25 g de phthalimide précédemment obtenus sont dissous dans 50 ml d'eau à 80° C avant d'ajouter 2,2 ml d'hydrate d'hydrazine. Après 3 heures d'agitation, le milieu est refroidi et acidifié jusqu'à pH 1 par addition d'HCl 12N. Le milieu est alors filtré sur Célite® puis purifié par chromatographie sur résine cationique faible (H⁺) puis sur résine anionique faible (OH⁻).

20 On isole ainsi 15 g du produit cherché.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 19 min.

c) Condensation sur le chélate de gadolinium A:

15 15 g de l'amine ainsi obtenue et 1,9 g du chélate A (sel de sodium) sont dissous dans 40 ml d'eau. Après acidification jusqu'à pH 6 par addition de HCl aqueux (1N), on introduit à 40° C 2,3 g d'EDCI, HCl. Après 2 heures
25 d'agitation, le milieu est introduit dans 400 ml d'éthanol; le précipité formé, mis en solution aqueuse, est filtré sur noir de carbone Norit.

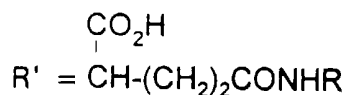
On obtient ainsi 8,5 g de produit pur.

CES: conditions No. 1; t_r = 36 min.

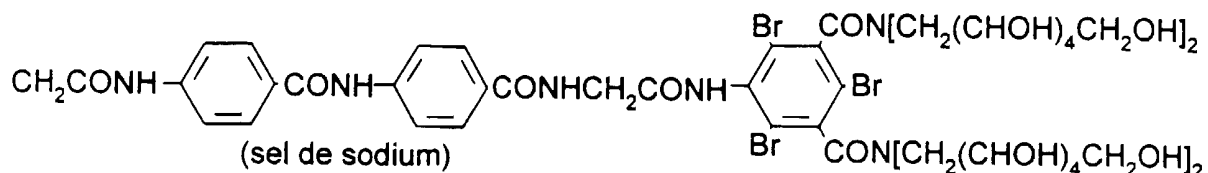
30 HPLC: colonne et éluant No. 3; t_r = 23 min.

Exemple 3.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle



5 R =



a) Acide 4-[4-nitrobenzamido]benzoïque:

Peu à peu, on introduit 100 g de chlorure d'acide 4-nitrobenzoïque dans 74 g d'acide 4-aminobenzoïque et 360 ml de diméthylacétamide, en maintenant la température à moins de 25° C. Après 24 heures d'agitation, on ajoute à 10° C, 500 ml de chlorure de méthylène, pour précipiter le produit cherché. Après lavage à l'eau et séchage, on isole 145 g de produit.

b) Acide 4-(4-aminobenzamido)benzoïque:

On soumet une suspension de 136 g d'acide précédent dans 1,8 l d'eau dans laquelle on a ajouté 240 ml de solution aqueuse de NaOH (1N) et 14 g de palladium sur charbon (10%) à une pression d'hydrogène de 0,6 MPa pendant 4 heures.

Le pH de la suspension finale est alors amené vers 10 avant filtration sur Celite® pour éliminer le catalyseur. Le précipité formé lors de l'acidification du filtrat jusqu'à pH 5,3 est isolé et séché.

p = 106 g; F > 260° C.

c) Acide 4-[4-(phtalimidoacétamido)benzamido]benzoïque:

On introduit dans une solution de 90 g d'acide phtalimidoacétique dans 400 ml de diméthylacétamide à 10° C, 32 ml de chlorure de thionyle goutte à goutte puis, après 3 heures d'agitation, 105 g de l'acide précédemment obtenu à une température inférieure à 20° C.

Après 12 heures d'agitation, le milieu est versé dans 4 litres d'eau et le précipité isolé, lavé à l'eau chaude. Poids après séchage: 176 g. F > 260° C.

- 29 -

d) Chlorure de l'acide précédent:

On introduit 2,5 ml de chlorure de thionyle dans 10 g de l'acide en suspension dans 50 ml de dioxane, et 1 ml de diméthylformamide et on maintient le mélange sous agitation à 50° C pendant 5 heures.

5 Après addition d'un volume d'éther diisopropylique, on isole 10 g de précipité.

e) N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-(4-[4-(phtalimidoacetamido)benzamido]benzoyl)glycylamino)isophtalamide:

10 Une solution de 2,25 g de chlorure d'acide avec 5 g de N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-(glycylamino)isophtalamide et 0,7 ml de triéthylamine dans 25 ml de diméthylacétamide est maintenue 12 heures sous agitation puis versée dans 60 ml d'éthanol. On isole ainsi 6,2 g de précipité.

HPLC: colonne No. 1; éluant No. 2; t_r = 27-35 min. (mélange d'isomères).

15 f) Hydrazinolyse:

On introduit une solution de 0,6 ml d'hydrate d'hydrazine dans 10 ml d'eau dans une solution de 10 g du phtalimide précédent dans 40 ml de diméthylacétamide à 80° C. Après 3 heures d'agitation à cette température, le mélange refroidi est versé dans 125 ml d'éthanol. On isole 9 g de précipité qui est purifié par traitement de sa solution aqueuse par une résine anionique forte (OH⁻) puis cationique faible (H⁺).

20

p = 8 g.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2 mais 90/10 V/V sans gradient;

t_r = 28-35 min.

25 g) Couplage sur le chelate A pour obtenir le composé de formule I:

On dissout dans 135 ml d'eau 5 g du composé obtenu à l'étape (f) avec 0,65 g du chelate A (sel de sodium); le pH du milieu est abaissé jusqu'à 6 par addition d'HCl aqueux (1N) avant d'introduire à 40° C 0,8 g d'EDCI, HCl dans le milieu. Après 2 heures d'agitation et retour à température ambiante, le milieu est versé dans 135 ml d'éthanol.

30

- 30 -

Le précipité formé est purifié par traitement avec 5 ml de résine échangeuse d'ions Chelex 100 (Na^+) commercialisée par Sigma, puis par dialultrafiltration sur membrane de seuil de coupure 5 KD, à pH 7.

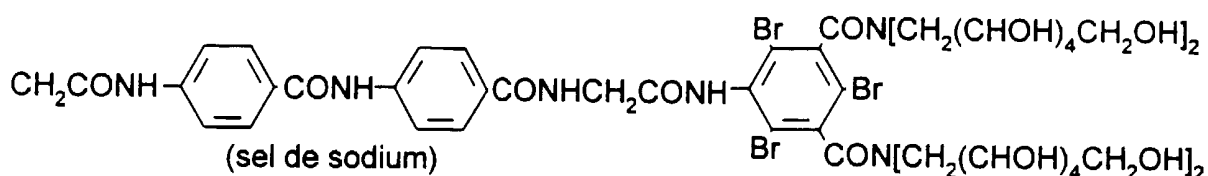
$p = 4$ g.

5 CES: Conditions No. 1; $t_r = 34$ min.

HPLC: colonne et éluant No. 3; $t_r = 23$ min.

Exemple 4.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle $R' = \text{H}$ et $R =$



10 On maintient 5 heures à 40°C , sous agitation, 0,3 g du complexe de gadolinium de l'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane 1,4,7-triglutarique préparé selon (B), 2 g de l'amine préparée à l'exemple 3 (f) et 0,3 g d'EDCI, HCl dans 5 ml d'eau, en maintenant le pH à 7 par addition d'une solution aqueuse de HCl (1N). Le milieu est versé dans 50 ml d'éthanol et le précipité formé est

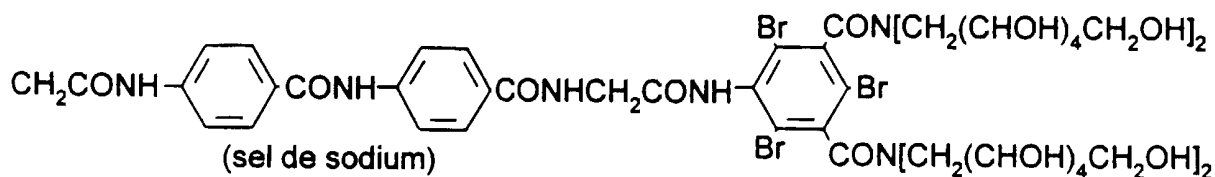
15 isolé. Il est purifié en solution dans 120 ml d'eau par ultrafiltration sur une membrane de 3 KD de seuil de coupure pour éliminer les produits de départ n'ayant pas réagi. Après agitation sur noir de carbone et filtration, la solution est amenée à sec pour donner 1 g de solide blanc.

CES: Condition No. 1; $t_r = 36,8$ min.

20 HPLC: colonne et éluant No. 3; $t_r = 31$ min.

Exemple 5.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle $R' = \text{CH}_2\text{COOH}$ et $R =$



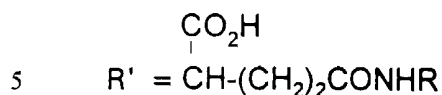
25 En appliquant le même mode opératoire que pour l'exemple 4, on obtient 0,8 g de produit final à partir de 0,3 g de chelate de départ C et 2 g de l'amine préparée à l'exemple 3(f).

CES: Conditions No. 1; $t_r = 35,7$ min.

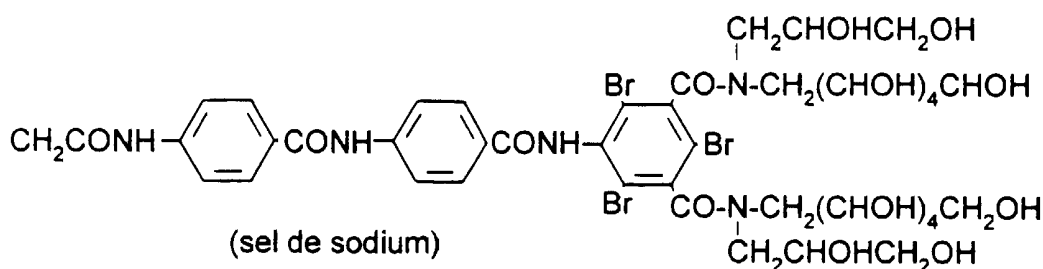
- 31 -

HPLC: colonne et éluant No. 3; t_r = 22 min.Exemple 6.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle



R =



1. Acide 5-[4-(4-aminobenzamido)benzamido] 2,4,6-tribromo isophtalique:

10 (a) Chlorure de l'acide 4-(4-nitrobenzamido)benzoïque:

On maintient 8 heures à la température de reflux dans 250 ml de chlorure de thionyle et 0,1 ml de diméthylformamide, 70 g de l'acide. L'excès de chlorure de thionyle est distillé sous pression réduite et le résidu est versé sous agitation sur 1,5 l d'acétate d'éthyle et 500 g de glace pilée.

15 Le produit final est extrait dans la phase organique, celle-ci est lavée avec de l'eau, une solution aqueuse de bicarbonate de sodium puis séchée et concentrée.

p = 64 g.

20 (b) Acide 5-[4-(4-nitrobenzamido)benzamido] 2,4,6-tribromo isophtalique:

On maintient 18 heures à la température de reflux une solution de 64 g du chlorure d'acide avec 67 g d'acide 5-amino 2,4,6-tribromo isophtalique dans 170 ml de dioxane. Le solvant est évaporé et le résidu, après lavage par 300 ml d'acétate d'éthyle chaud, est dissous dans 600 ml d'eau avec une

25 quantité suffisante de NaOH 5N pour obtenir un pH 7; après lavage à l'acétate d'éthyle et acidification, on isole le produit cherché, précipité.

p = 73 g.

- 32 -

(c) Réduction:

19 g du produit précédent en solution aqueuse à pH 6 sont maintenus 7 heures sous une pression d'hydrogène de 0,5 MPa en présence de 2 g de platine sur charbon type 156 (Johnson Matthey). Après filtration, la solution est évaporée.

p = 15 g.

2. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-[4-(4-glycylaminobenzamido)benzamido] isophtalimide:

(a) On introduit 13 g du dérivé précédent, à 10° C, dans 10 ml d'une solution du chlorure de l'acide phtalimidoacétique préparé, avec 4,7 g d'acide phtaloylglycine, 1,7 ml de SOCl₂. Après 2 heures d'agitation à 20° C, la solution est versée dans 150 ml d'eau à 80° C et le précipité est isolé.

p = 10,6 g.

(b) Chlorure d'acide:

On introduit 16 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 12,4 g du dérivé précédent dans 60 ml de dioxanne et 10 ml de diméthylformamide, en maintenant la température à moins de 10° C. Après 30 minutes d'agitation, la solution est versée dans 200 ml d'eau et le précipité isolé est lavé avec 100 ml d'acétate d'éthyle.

p = 12 g.

(c) Condensation sur l'aminoalcool:

A 60° C, on introduit 11,6 g du dichlorure d'acide dans 120 ml de N-méthylpyrrolidone contenant 13,5 g de 1-déoxy 1-(2,3-dihydroxypropylamino)D-galactitol préparé suivant G. Après 4 heures d'agitation, le mélange est introduit dans 1200 ml de dichlorométhane et le précipité isolé.

p = 35 g.

(d) Elimination du groupe protecteur phtalimide:

14 g du dérivé précédent sont introduits dans 30 ml d'eau à 80° C, contenant 1,2 g d'hydrate d'hydrazine. Après 3 heures à cette température, la solution est acidifiée jusqu'à pH 1 par addition d'une solution aqueuse de HCl

- 33 -

(5N). Le précipité formé après plusieurs heures est séparé et le filtrat traité successivement par les résines IMAC® HP 1110 Na et HP 661 (Rohm et Haas).

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2;

t_r = 25-28 min (produit de départ 32-36 min).

5 3. Réaction avec le chelate A:

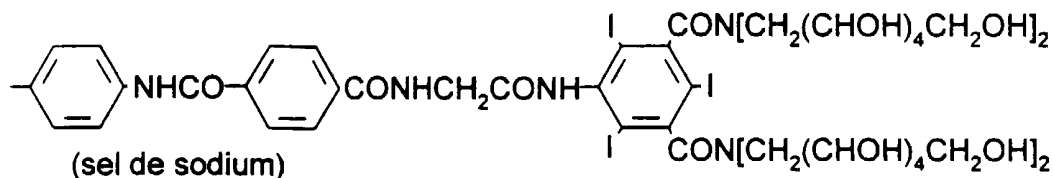
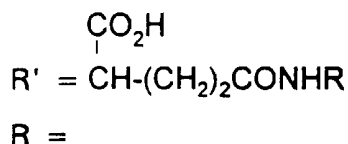
On introduit dans 15 ml d'eau, 0,6 g du chelate de gadolinium A (sel de Na), 0,7 g d'EDCI, HCl et 4 g de l'amine précédente; le pH est amené à 6 par addition d'une solution aqueuse de HCl (1N) et le mélange maintenu 2 heures à 40° C, avant d'être introduit dans 200 ml d'éthanol. Le précipité formé est isolé et sa solution dans 100 ml d'eau soumise à une ultrafiltration sur une membrane de polyéthersulfone de seuil de coupure 5 KDa.

HPLC: colonne et Eluant No. 3; t_r = 26 min.

CES: Conditions No. 1; t_r = 36 min.

Exemple 7.

15 Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle



20 1. Acide 4-(4-aminophénylcarbamoyle)benzoïque:

(a) 4-(4-nitrophénylcarbamoyle)benzoate de méthyle:

Vers 10° C, on introduit peu à peu 10 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 25 g de monoester méthylique de l'acide téréphtalique dans 125 ml de diméthylacétamide; après 1 heure 30 d'agitation à 15° C, le mélange est introduit lentement dans une solution de 19 g de 4-nitroaniline dans 125 ml du même solvant. Après 2 heures à 50° C, le précipité formé est isolé.

Rendement: 97%.

- 34 -

(b) Réduction:

10 g du dérivé nitré précédent sont mis en suspension dans 100 ml de diméthylacétamide en présence de 2,5 g de Palladium sur charbon à 10% (humidité 50%) et maintenus sous une pression d'hydrogène de 0,5 Mpa pendant 7 heures. Le catalyseur est éliminé par filtration du milieu sur Clarcel® et le filtrat introduit dans 500 ml d'eau. Le précipité formé est isolé. Rendement: 97%.

(c) Hydrolyse du groupe ester:

9 g du composé précédent, 50 ml de NaOH aqueux (2N) et 25 ml de méthanol sont maintenus à 60° C pendant 2 heures. La solution est acidifiée à 20° C jusqu'à pH 4,5 par addition d'une solution d'acide chlorhydrique concentrée (37%) et 7 g du précipité formé sont isolés. HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 29 min.

2. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 5-[4-(4-aminophényl carbamoyl)benzoylglycylamino] 2,4,6-triiodo isophtalamide:

On agite 2 heures à température ambiante, 25 g de l'acétamido isophtalamide iodée préparée en F avec 3 ml de triéthylamine, 5,8 g du produit précédent, 4,3 g de HOBT et 6 g d'EDCI, HCl, puis on le verse sur 700 ml de dichlorométhane. Le précipité formé est isolé et purifié par chromatographie sur une colonne de silice silanisée RP-2 (Merck), en éluant avec de l'eau. On isole 16 g du produit cherché.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 14 min.

3. Couplage avec le chelate de gadolinium A:

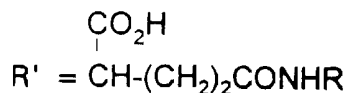
On maintient quelques jours sous agitation, à 40° C, 0,125 g du chelate (sel de Na), 1,8 g du composé précédent, 0,15 g d'EDCI, HCl et 100 mg de NHS sulfonique en maintenant le pH vers 7, par addition d'une solution aqueuse de HCl (1N). Le précipité formé par introduction de 50 ml d'éthanol est isolé et purifié par ultrafiltration sur membrane de 5 kDa pour donner 1 g du produit attendu.

CES: Conditions No. 1; t_r = 30 min.

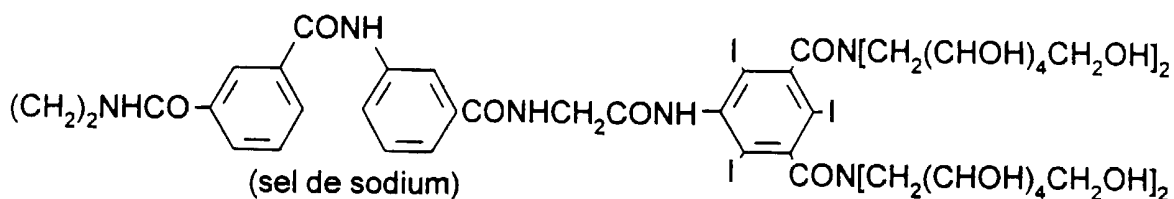
HPLC: Colonne No. 3; Eluant No. 3; t_r = 20 min.

Exemple 8.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle



5 R =



1. Acide 3-[3-(phtalimidoéthylcarbamoyl)benzamido] benzoïque:

(a) Acide 3-(aminoéthylcarbamoyl)benzoïque:

Une solution de 9 g de mono ester méthylique d'acide isophtalique et 1,5 ml d'éthylènediamine dans 90 ml de méthanol est agitée pendant 18 heures avant concentration à sec. Le résidu est lavé avec du méthanol glacé.

Rendement: 91%.

(b) Protection du NH₂ sous forme de phtalimide:

On introduit 9 g d'amine et 14 g de N-carbéthoxyphtalimide dans une solution de 6,9 g de carbonate de sodium dans 180 ml d'eau. Après 1 heure 30 d'agitation, le solide est isolé et le filtrat acidifié jusqu'à pH 2. Le phtalimide précipite sous forme de cristaux blancs.

Rendement: 80%.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 32 min.

(c) On ajoute à 10° C goutte à goutte, 2,6 ml de chlorure de thionyle à une solution de 12 g du phtalimide précédent dans 45 ml de diméthylacétamide. Après 2 heures à 15° C, la solution orangée est ajoutée lentement à une solution de 5 g d'acide 3-aminobenzoïque dans 45 ml de diméthylacétamide. Le milieu réactionnel est maintenu 3 heures à 55° C puis versé dans 900 ml d'eau. Le précipité formé est isolé.

Rendement: 96%.

2. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 5-[3-[3-(aminoéthylcarbamoyl)benzamido]benzamidoacétamido] 2,4,6-triiodoisophtalamide:

- 36 -

(a) 20 g de l'aminocétamidoisophtalamide iodée préparé selon F, 2,5 ml de triéthylamine, 8,3 g du composé précédent, 3,4 g d'HOBT et 4,9 g d'EDCI, HCl dans 100 ml de diméthylacétamide sont maintenus 1 heure 30 sous agitation. Le milieu réactionnel est alors versé dans 700 ml de dichlorométhane et 26 g de précipité formé sont isolés.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 26$ min.

(b) Hydrazinolyse:

On introduit 3,5 ml d'hydrate d'hydrazine dans une solution de 25 g du produit précédent dans 55 ml d'eau à 80°C. Après 8 heures à cette température, le milieu est acidifié jusqu'à pH 1 et le précipité formé est isolé. Il est purifié par chromatographie sur une résine cationique (H^+) puis anionique (OH^-). Rendement 70%.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 23$ min.

3. Couplage avec le chelate de gadolinium A:

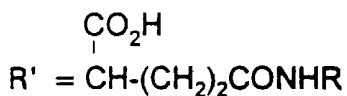
On maintient à pH 7 pendant 1 heure à 40° C sous agitation 2 g du chelate A (sel de Na), 2,3 g d'EDCI, HCl et 16 g du composé précédent dans 50 ml d'eau, avant d'ajouter 200 mg de NHS sulfonique et de poursuivre l'agitation à 40° C pendant 3 heures. Le milieu est alors versé dans 500 ml d'éthanol et le précipité isolé est purifié par ultrafiltration pour donner 10 g du sel de sodium du produit cherché.

CES: Conditions No. 1; $t_r = 36$ min.

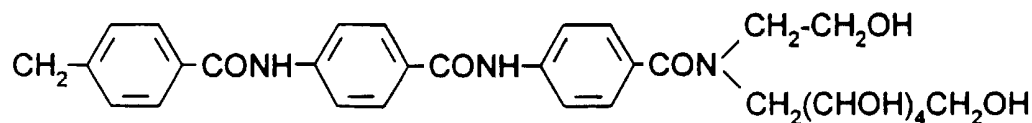
HPLC: Colonne No. 3; Eluant No. 3; $t_r = 21$ min.

Exemple 9.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle



R =



(sel de sodium)

1. Acide 4-[4-(4-[phtalimidométhyl]benzamido)benzamido]benzoïque:

A 15° C, on introduit 3,5 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 19,3 g d'acide 4-[4-[phtalimidométhyl]benzamido]benzoïque, puis après 2 heures 45 d'agitation, 8 g d'acide 4-aminobenzoïque. Après 12 heures à 20° C, le milieu est versé dans 500 ml d'eau. Le précipité formé est lavé au dioxanne.

p = 11,5 g.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 53 min.

2. N,N'-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) N,N'-(2-hydroxyéthyl) 4-[4-(aminométhyl)benzamido]benzamido]benzamide:

(a) On maintient à 20° C, une nuit sous agitation, 4,8 g de 1-deoxy 1-(2-hydroxyéthylamino)D-glucitol, 4 g de HOBT, H₂O, 11 g de l'acide précédent et 6,7 g de EDCI, HCl. Le milieu réactionnel est alors versé dans 500 ml de dichlorométhane et le précipité formé est lavé par 300 ml d'éther diéthylique.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 39 min.

(b) Hydrazinolyse:

On introduit le précipité précédent dans 60 ml de diméthylacétamide et à 80° C, 3,2 ml d'hydrate d'hydrazine en solution dans 25 ml d'eau. Après 3 heures le milieu est concentré et le résidu dissous dans de l'eau. La phase aqueuse est amenée à pH 7,5 par addition d'une solution concentrée de HCl, puis chromatographiée sur une résine cationique forte (H⁺) puis anionique faible (OH⁻). Après concrétisation dans l'éthanol, on obtient 3,5 g de précipité.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 27 min.

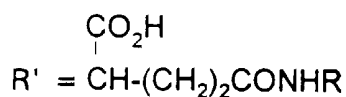
3. Couplage avec le chelate de gadolinium A:

On porte à 40° C 1,5 g du composé précédent avec 0,5 g du chelate A dans 15 ml d'eau et 5 ml de diméthylacétamide et on introduit 0,75 g d'EDCI, HCl et 0,05 g de NHS sulfonique (sel de sodium). Après 2 heures d'agitation à cette température, le milieu réactionnel est versé sur 2 volumes d'éthanol et 1,3 g de précipité sont isolés.

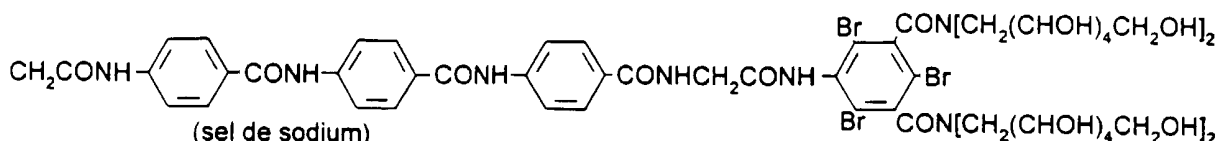
HPLC: Colonne No. 3; Eluant No. 3; t_r = 31 min.

Exemple 10.

Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle



5 R =



1. Acide 4-[4-[4-nitrobenzamido]benzamido] benzoïque:

On introduit dans une solution à 5° C, 35 g d'acide 4-(4-aminobenzamido)benzoïque dans 140 ml de diméthylacétamide, 25,4 g de chlorure d'acide 4-nitrobenzoïque. Après une journée d'agitation à 20° C, le milieu réactionnel est versé sur 500 ml de dichlorométhane.

p = 50 g.

2. Réduction du groupe nitro:

Une suspension de 13 g de l'acide précédent dans 400 ml de diméthylacétamide est hydrogéné sous pression de 0,15 MPa, pendant 4 heures en présence de 3 g de Pd/C à 5% et 50% d'eau. Après filtration et évaporation du solvant, on isole 12 g de produit.

3. Acide 4-[4-[4-(phtalimidoacétamido)benzamido]benzamido] benzoïque:

Une solution de 16,4 g d'acide phtalimidoacétique dans 40 ml de chlorure de thionyle est maintenue 4 heures à sa température de reflux. Après concentration, le milieu réactionnel est introduit dans 100 ml d'éther de diisopropyle. On isole 10 g de précipité de chlorure d'acide. 8,5 g de celui-ci sont introduits dans une solution de 12 g de l'aniline, obtenue à l'étape 2, en solution dans 50 ml de diméthylacétamide à 10° C. Après retour à 20° C, le solvant est éliminé par distillation et le résidu lavé par l'éther diéthylique.

p = 16 g.

4. Condensation sur l'amine préparée en E et hydrazinolyse:

- 39 -

18 g de l'amine E, 10 g de l'acide précédent et 3,5 g d'HOBt sont mis en solution dans 80 ml de diméthylacétamide à 35° C; on introduit ensuite 4,9 g d'EDCI, HCl dans le milieu réactionnel refroidi à 20° C; après une journée, celui-ci est versée sur 600 ml de dichlorométhane et le précipité formé est lavé avec 400 ml d'éthanol. Le précipité est dissous dans 90 ml de diméthylacétamide et 22 ml d'eau à 80° C; 1,85 ml d'hydrate d'hydrazine sont alors introduits et le milieu est agité pendant 3 heures avant d'évaporer les solvants. Le résidu est dissous dans 800 ml d'eau et le pH amené à 1 par addition d'une solution aqueuse de HCl (12N). Après filtration sur Celite® et chromatographie sur une résine anionique et sur une résine cationique, puis filtration de l'éluant sur noir de carbone, on isole 13 g du composé cherché.

5. Réaction des produits de formule II et III:

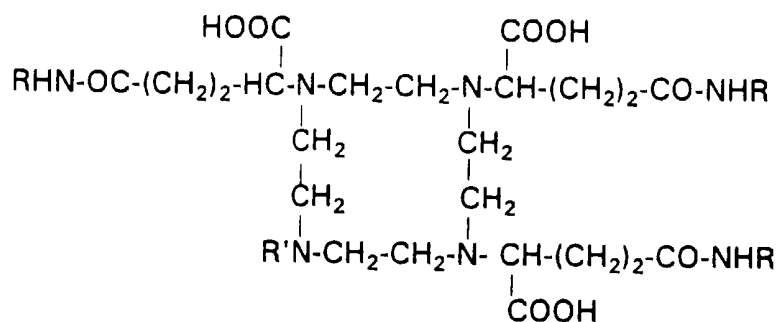
1 g du chélate A et 8 g de l'amine ci-dessus sont dissous dans 40 ml d'eau. Après acidification jusqu'à pH 6 par addition d'une solution aqueuse diluée de HCl, on porte le milieu réactionnel à 40° C et on y introduit 0,09 g de NHS sulfonique et 1,2 g d'EDCI, HCl. Après 2 heures d'agitation à cette température, le milieu est versé dans 400 ml d'éthanol et le précipité isolé.

Après les traitements de purification habituels, on isole 6 g du produit final.

CES: Conditions précédentes; t_r = 38 min.

Revendications

1. Chelate d'un cation d'un métal paramagnétique avec un composé de formule

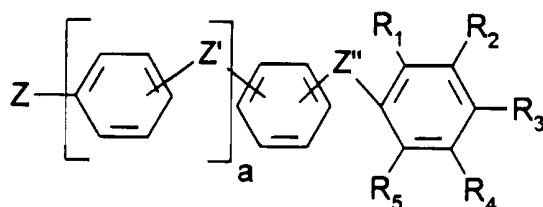


dans laquelle

R' est H, un groupe (C₁-C₄) alkyl ou hydroxyalkyl, un groupe CH₂-COOH ou CH₂-CONZ₁Z₂, Z₁ et Z₂ étant indépendamment l'un de l'autre, H, ou un groupe (C₁-C₄) alkyl, éventuellement hydroxylé,

ou R' est un groupe HOOC-CH-(CH₂)₂-CONHR,

R est un groupe



dans lequel a est 1 ou 2

Z est une liaison, CH₂, CH₂CONH ou (CH₂)₂NHCO

Z' est une liaison, O, S, NQ, CH₂, CO, CO-NQ, NQ-CO, NQ-CO-NQ ou CO-NQ-CH₂-CONQ

Z'' est CO-NQ, NQ-CO ou CO-NQ-CH₂-CO-NQ, NQ-CO-CH₂-NQ-CO

avec Q est H ou un groupe (C₁-C₄) alkyl, éventuellement hydroxylé

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, indépendamment l'un de l'autre, sont choisis parmi H, Br, Cl, I, CO-NQ₁Q₂ ou N(Q₁)-CO-Q₂ et Q₁ et Q₂, identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes (C₂-C₆) alkyl, éventuellement hydroxylés, éventuellement interrompus par un atome d'oxygène, de telle sorte que Q₁ et Q₂ comportent à eux deux de 4 à 10 groupes OH,

étant entendu qu'au moins 1, et au plus 2 groupes R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , sont des groupes amides, et ses sels avec une base minérale, ou une base organique, pharmacologiquement acceptable.

2. Chelate d'un cation d'un métal paramagnétique avec un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

R' est est $\text{HOOC}-\overset{|}{\text{CH}}-(\text{CH}_2)_2\text{CONHR}$, CH_2COOH , ou $\text{CH}_2\text{CONZ}_1\text{Z}_2$,

a est 1,

Z est une liaison, CH_2 , ou CH_2CONH ,

Z' est CONH , NHCO , $\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CONH}$, ou NHCONH ,

Z'' est CONH ou $\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CONH}$, et alors $R_2=R_4 = \text{CONQ}_1\text{Q}_2$ auquel cas R_1, R_3, R_5 sont choisis indépendamment parmi H, Br, Cl et I, ou bien $R_3 = \text{CONQ}_1\text{Q}_2$, auquel cas R_1, R_2, R_4, R_5 sont choisis indépendamment parmi H, Br, Cl et I,

ou Z'' est NHCO , et alors $R_2 = R_4 = \text{N}(\text{Q}_1)\text{COQ}_2$, auquel cas R_1, R_3, R_5 sont choisis indépendamment parmi H, Br, Cl et I, ou bien $R_3 = \text{N}(\text{Q}_1)-\text{COQ}_2$ auquel cas R_1, R_2, R_4, R_5 sont choisis indépendamment parmi H, Br, Cl et I.

3. Chelate d'un métal paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

R' est est $\text{HOOC}-\overset{|}{\text{CH}}-(\text{CH}_2)_2\text{CONHR}$ ou CH_2COOH ,

a est 1,

Z est une liaison, CH_2 ou CH_2CONH ,

Z' est CONH , NHCONH , ou $\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CONH}$,

Z'' est CONH , ou $\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CONH}$,

R_1, R_3 et R_5 sont tous les trois Br ou I,

R_2 et R_4 sont CONQ_1Q_2 avec Q_1 et Q_2 choisis parmi les groupes (C_2-C_6) alkyl hydroxylés comportant à eux deux 6 à 10 groupes OH, ou comportant 4 à 8 groupes OH si Q_1 et/ou Q_2 est interrompu par un atome d'oxygène.

4. Chelate d'un métal paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

R' est est $\text{HOOC}-\overset{|}{\text{CH}}-(\text{CH}_2)_2\text{CONHR}$,

a est 1, Z est CH_2 ou CH_2CONH , Z' est CONH , NHCONH ,

- 42 -

Z" est CONH, ou CONH-CH₂-CONH,

R₁, R₃ et R₅ sont tous les trois Br ou I,

R₂ et R₄ sont CONQ₁Q₂ avec Q₁ et Q₂ choisis parmi les groupes (C₂-C₆) alkyl hydroxylés comportant à eux deux 6 à 10 groupes OH, ou comportant 4 à 8 groupes OH si Q₁ et/ou Q₂ est interrompu par un atome d'oxygène.

5. Chelate d'un métal paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

R' est est CH₂CO₂H, ou HOOC-CH-(CH₂)₂CONHR,

a est 1,

10 Z est CH₂,

Z' et Z" sont CONH ,

R₁, R₃ et R₅ sont tous les trois Br ou I,

R₂ et R₄ sont CONQ₁Q₂ avec Q₁ et Q₂ choisis parmi les groupes (C₂-C₆) alkyl hydroxylés comportant à eux deux 6 à 10 groupes OH, ou comportant 4 à 8 groupes OH si Q₁ et/ou Q₂ est interrompu par un atome d'oxygène.

6. Chelate d'un métal paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

R' est CH₂CO₂H, ou HOOC-CH-(CH₂)₂CONHR,

a est 2,

20 Z est CH₂ ou CH₂CONH,

Z' est CONH, ou NHCO,

Z" est CONH, ou CONH-CH₂-CONH,

et R₁, R₃ et R₅ sont tous les trois Br ou I,

et alors R₂ et R₄ sont tous les deux CONQ₁Q₂,

25 ou R₃ est CONQ₁Q₂ et alors R₁, R₂, R₄ et R₅ sont H, Br, ou I.

7. Chelate selon l'une des revendications 1 à 6 dans lequel le cation métallique est le Gd³⁺.

8. Chelate de gadolinium, et ses sels, du composé de formule I selon la revendication 1 dans laquelle

30 R' = HOOC-CH-(CH₂)₂CONHR

**INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE**

RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 550419
FR 9715642

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
Y D	FR 2 736 051 A (GUERBET SA) 3 janvier 1997 * revendications * & WO 97 01359 A ----	1-10
D,Y	EP 0 661 279 A (GUERBET SA) 5 juillet 1995 * revendications * -----	1-10
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
		C07D A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
8 septembre 1998		Chouly, J
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		