

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 950 118**

51 Int. Cl.:

C07D 471/08 (2006.01)

A61K 49/08 (2006.01)

A61K 49/10 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.01.2020** **E 21190088 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.04.2023** **EP 3943493**

54 Título: **Complejo de gadolinio y un ligando quelatante derivado de pcta diastereoisoméricamente enriquecido y método de preparación y de purificación**

30 Prioridad:

17.01.2019 FR 1900432

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

05.10.2023

73 Titular/es:

**GUERBET (100.0%)
15, rue des Vanesses
93420 Villepinte, FR**

72 Inventor/es:

**LE GRENEUR, SOIZIC;
CHÉNEDÉ, ALAIN;
CERF, MARTINE;
PETTA, MYRIAM;
MARAIS, EMMANUELLE;
FRANÇOIS, BRUNO;
ROBIC, CAROLINE y
LOUGUET, STÉPHANIE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 950 118 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

Complejo de gadolinio y un ligando quelatante derivado de pcta diastereoisoméricamente enriquecido y método de preparación y de purificación

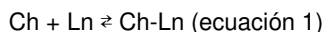
5 La presente invención se refiere a un compuesto que comprende un complejo de gadolinio y un ligando quelante derivado de PCTA diastereoisoméricamente enriquecido en estereoisómeros de dicho complejo que tienen propiedades fisicoquímicas que son particularmente interesantes para aplicaciones como agente de contraste en el campo de las imágenes médicas, en particular para imágenes por resonancia magnética.

10 Se conocen numerosos agentes de contraste basados en quelatos de lantánidos (metal paramagnético), en particular gadolinio (Gd), descritos por ejemplo en la Patente de los Estados Unidos Núm. 4.647.447. Estos productos a menudo se agrupan bajo el término GBCA (Agente de contraste a base de gadolinio, productos de contraste a base de gadolinio). Se comercializan diversos productos, entre los que se encuentran los quelatos macrocíclicos, como el gadoterato de meglumina basado en DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N, N', N'', N'''-tetraacético), el gadobutrol basado en DO3A-butrol, el gadoteridol basado en HPDO3A, así como quelatos lineales, en particular basados en DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético) o DTPA-BMA (ligando de gadodiamida).

15 Otros productos, algunos de los cuales están en desarrollo, representan una nueva generación de GBCA. Son esencialmente complejos quelatos macrocíclicos, tales como el ácido biciclopoliazamacrociclocarboxílico (EP 0 438 206) o derivados de PCTA (es decir, que comprenden al menos la estructura química del ácido 3,6,9,15-tetraazabicyclo[9,3,1]pentadeca-1(15),11,13-trieno-3,6,9-triacético), como se describe en el documento EP 1 931 673.

20 Los complejos de ligandos quelantes derivados de PCTA descritos en el documento EP 1 931 673 tienen en particular la ventaja de ser relativamente fáciles de sintetizar químicamente, y, además, de exhibir una mayor capacidad de relajación que los otros GBCA (capacidad de relajación r_1 que puede aumentar hasta 11-12 mM⁻¹.s⁻¹ en agua) actualmente en el mercado, esta capacidad de relajación corresponde a la efectividad de estos productos y, por lo tanto, a su poder de contraste.

25 En el organismo, los quelatos (o complejos) de lantánidos (y en particular de gadolinio) se encuentran en un estado de equilibrio químico (caracterizado por su constante termodinámica K_{term}), que puede conducir a una liberación no deseada de dicho lantánido (véase la ecuación 1 abajo):



Equilibrio químico de complejación entre el quelato o ligando (Ch) y el lantánido (Ln) para conducir al complejo Ch-Ln.

30 Desde 2006, una patología llamada NSF (fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis nefrogénica sistémica o dermatopatía fibrogénica) se ha relacionado, al menos en parte, con la liberación de gadolinio libre en el cuerpo. Esta enfermedad ha llevado a una alerta por parte de las autoridades de salud con respecto a los agentes de contraste basados en gadolinio comercializados para ciertas categorías de pacientes.

35 Por lo tanto, se han implementado estrategias para resolver el complejo problema de tolerancia en el paciente de una manera completamente segura y para limitar, incluso eliminar, el riesgo de liberación de lantánidos no deseados después de la administración. Este problema es aún más difícil de resolver, ya que la administración de agentes de contraste a menudo se repite, ya sea durante los exámenes de diagnóstico o para ajustar las dosis y controlar la efectividad de un tratamiento terapéutico.

40 Además, desde 2014, se ha mencionado un posible depósito cerebral de gadolinio después de administraciones repetidas de productos de gadolinio, más particularmente de quelatos de gadolinio lineales, no habiendo sido dicho depósito, o solo ligeramente, reportado con quelatos de gadolinio macrocíclicos, como Dotarem®. En consecuencia, diferentes países han decidido retirar la mayoría de los quelatos lineales del mercado o limitar drásticamente sus indicaciones de uso, dada su estabilidad, que se considera insuficiente.

45 Una primera estrategia para limitar el riesgo de liberación de lantánidos en el cuerpo consiste, pues, en optar por complejos que se distingan por la mayor estabilidad termodinámica y/o cinética posible. De hecho, cuanto más estable sea el complejo, mayor será la cantidad de lantánidos liberados con el tiempo.

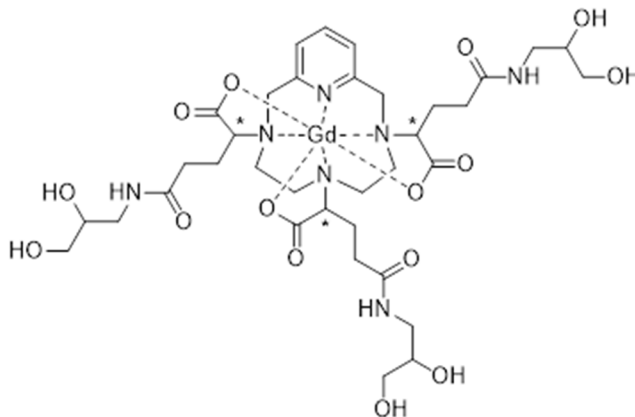
50 En la técnica anterior se describen otras áreas para mejorar la tolerancia de los quelatos de lantánidos (especialmente el gadolinio). El documento US 5.876.695, que se remonta a más de treinta años, informa, por ejemplo, formulaciones que comprenden, además del quelato de lantánido, un agente complejante adicional, destinado a prevenir una liberación no deseada in vivo del lantánido, formando complejo lantánido (ion Gd³⁺ metálico) liberado. El agente quelante adicional se puede introducir en la formulación en forma libre o en forma de un complejo débil, típicamente de calcio, sodio, zinc o magnesio. Si bien puede ser distinto del ligando que constituye el complejo activo, es importante que el complejo que se forma con el lantánido liberado sea menos estable que el complejo activo, para evitar una reacción de transligación entre el complejo activo y el quelato adicional, que en particular tendría el efecto de consumir

completamente dicho ligando adicional, que por lo tanto ya no podría atrapar el lantánido liberado. Este riesgo de consumo del agente quelante adicional por transligación es, por ejemplo, más pronunciado cuando se agrega en forma libre que en forma de un complejo de calcio.

Por lo tanto, en las dos estrategias descritas anteriormente, es importante que el complejo activo sea lo más estable posible.

Ahora, los complejos de ligandos quelantes derivados de PCTA que comprenden una estructura de tipo picleno descrita en el documento EP 1 931 673, aunque tienen buena estabilidad cinética, tienen, en general, una constante termodinámica menor que la de los complejos de otros macrociclos derivados del cicleno.

Este es particularmente el caso del complejo de fórmula (II) representado a continuación:



(II)

De hecho, como se describe en particular en el documento WO 2014/174120, la constante de equilibrio termodinámico correspondiente a la reacción para la formación del complejo de fórmula (II), también llamada constante de estabilidad, es $10^{14.9}$ (es decir, $\log(K_{\text{term}}) = 14.9$). A modo de comparación, la constante de estabilidad del complejo de gadolinio del ácido 1,4,7,10-tetra-azaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA-Gd), es de $10^{25.6}$ (es decir, $\log(K_{\text{term}}) = 25.6$).

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el complejo de fórmula (II) corresponde a varios estereoisómeros, en particular debido a la presencia de los tres átomos de carbono asimétricos ubicados en la posición α en las cadenas laterales del complejo, con respecto a los átomos de nitrógeno del macrociclo en el que se injertan dichas cadenas laterales. Estos tres carbonos asimétricos están marcados con un asterisco (*) en la fórmula (II) que se muestra arriba.

Así, la síntesis del complejo de fórmula (II) como se describe en el documento EP 1 931 673 da como resultado la obtención de una mezcla de estereoisómeros.

Los grupos aminopropanodiol de las cadenas laterales del complejo de fórmula (II) también contienen un carbono asimétrico. Así, el complejo de fórmula (II) comprende un total de 6 carbonos asimétricos, y por lo tanto existe en forma de 64 estereoisómeros de configuración. Sin embargo, en la siguiente descripción, la única fuente de estereoisomerismo considerada para una cadena lateral dada será, en aras de la simplificación, la correspondiente al carbono asimétrico que lleva el grupo carboxilato, marcado con un asterisco (*) en la fórmula (II) que se muestra arriba.

En la medida en que cada uno de estos 3 carbonos asimétricos puede tener una configuración absoluta R o S, el complejo de fórmula (II) existe en forma de 8 familias de estereoisómeros, en lo sucesivo denominadas II-RRR, II-SSS, II-RRS, II-SSR, II-RSS, II-SRR, II-RSR e II-SRS. Más precisamente, de acuerdo con la nomenclatura estereoquímica habitual, el complejo de fórmula (II) existe en forma de 8 familias de diastereoisómeros.

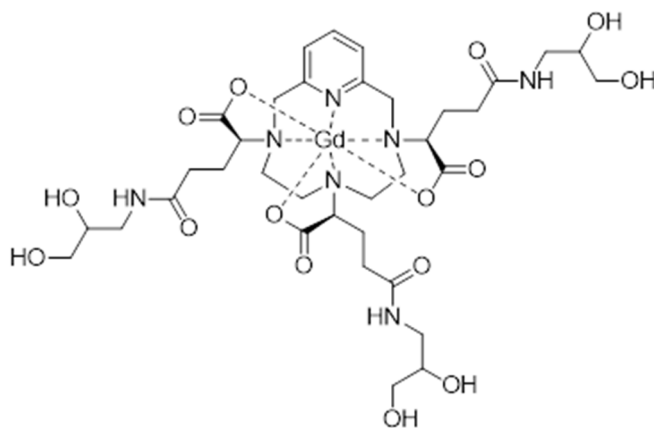
El uso del término "familia" se justifica porque cada una de estas familias incluye varios estereoisómeros, en particular debido a la presencia de un carbono asimétrico dentro del grupo aminopropanodiol, como se mencionó anteriormente.

Sin embargo, en la medida en que, en la siguiente descripción, no se considerará el estereoisomerismo vinculado al carbono asimétrico de un grupo de aminopropanodiol dado, se hablará indiferentemente de isómeros, estereoisómeros o diastereoisómeros II-RRR, II-SSS, II-RRS, II-SSR, II-RSS, II-SRR, II-RSR e II-SRS, sin especificar que cada uno corresponde a una familia de estereoisómeros.

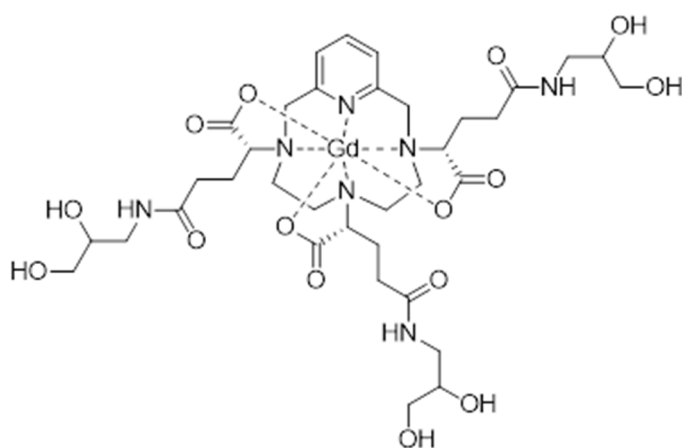
Los inventores lograron separar e identificar por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, más comúnmente conocida por el acrónimo inglés HPLC) y por cromatografía líquida de ultraalto rendimiento (UHPLC, más comúnmente conocida por el acrónimo inglés UHPLC) 4 grupos o grupos de isómeros del complejo de fórmula (II) obtenidos según el proceso de la técnica anterior, correspondientes a 4 picos de elución diferentes caracterizados por su tiempo de

retención en el cromatograma, que se denominarán iso1, iso2, iso3 e iso4 en lo que sigue de la descripción. Al implementar el proceso descrito en el documento EP 1 931 673, los contenidos respectivos de los grupos iso1, iso2, iso3 e iso4 en la mezcla obtenida son los siguientes: 20%, 20%, 40% y 20%.

- 5 Luego se ha descubierto que estos diferentes grupos de isómeros tenían propiedades fisicoquímicas distintas, y se determinó que el grupo de isómeros llamado iso4, que comprende una mezcla de los isómeros II-RRR e II-SSS (II-RRR) y (II-SSS) de fórmulas que se muestran a continuación, resultan ser los más interesantes como agente de contraste para imágenes médicas.



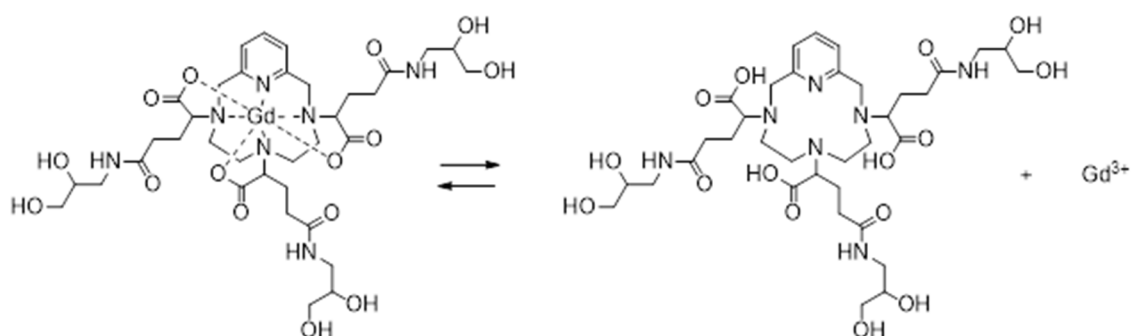
(II-SSS)



(II-RRR)

Así, iso4 se distingue, sorprendentemente, por una estabilidad termodinámica notablemente superior a la de la mezcla de diastereoisómeros en la forma en que se obtiene el complejo de fórmula (II) implementando el proceso descrito en el documento EP 1 931 673. De hecho, su constante de equilibrio termodinámico $K_{\text{term iso4}}$ es igual a $10^{18.7}$ (es decir, $\log(K_{\text{term iso4}}) = 18.7$), habiéndose determinado este valor implementando el método en Pierrard et al. Contrast Media Mol. Imaging, 2008, 3, 243-252 y Moreau et al., Dalton Trans., 2007, 1611-1620.

Además, iso4 es el grupo de isómeros que tiene la mejor inercia cinética (también llamada estabilidad cinética) entre los cuatro grupos aislados por los inventores. De hecho, los inventores evaluaron la inercia cinética de los cuatro grupos de isómeros al estudiar su cinética de descomplejamiento en solución acuosa ácida (pH = 1.2), a 37°C. Los valores de los tiempos de vida media ($T_{1/2}$) que se han determinado para cada uno de los grupos de isómeros se indican en la tabla 1 a continuación, correspondiendo el tiempo de vida media al tiempo después del cual 50% de la cantidad de complejo inicialmente presente se ha disociado, de acuerdo con la siguiente reacción de descomplejamiento (ecuación 2):



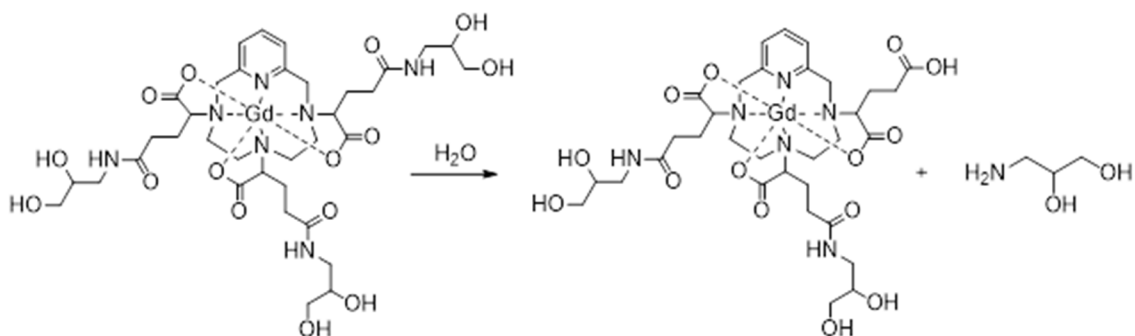
(ecuación 2)

Tabla 1: cinética de descomplejamiento de los grupos de isómeros iso1 a iso4

Grupos de isómeros	T _{1/2} (pH 1,2 – 37°C)
Iso1	18 horas
Iso2	6 horas
Iso3	8 días
Iso4	27 días

- 5 A modo de comparación, el gadobutrol o gadoterato, los complejos macrocíclicos de gadolinio, tienen una inercia cinética de 18 horas y 4 días respectivamente en las mismas condiciones, mientras que los complejos lineales de gadolinio como la gadodiamida o el gadopentetato se disocian instantáneamente.

- 10 Además, el iso4 es más estable desde un punto de vista químico que el iso3 en particular. De hecho, las funciones amida del complejo de fórmula (II) pueden hidrolizarse. La reacción de hidrólisis de una función amida (ecuación 3) da como resultado la formación de una impureza desacoplada, que se acompaña de la liberación de 3-amino-1,2-propanodiol. Los inventores estudiaron la cinética de la reacción de hidrólisis del complejo de fórmula (II) en solución acuosa a pH 13, y observaron que las funciones amida de iso4 son más estables con respecto a la hidrólisis que las de iso3.



(ecuación 3)

En cuanto a la capacidad de relajación de los diversos grupos de isómeros, es decir, su eficacia como agente de contraste, las mediciones realizadas demuestran un poder de contraste relativamente equivalente para los grupos iso1, iso2 e iso4, y menor eficiencia para iso3 (ver Tabla 2).

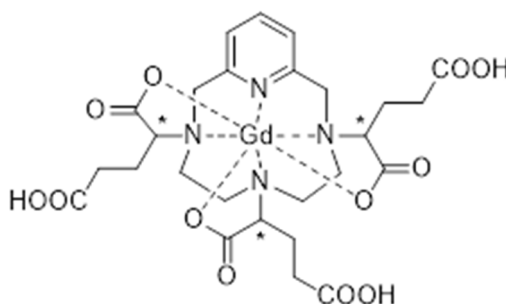
Tabla 2: capacidad de relajación de los grupos de isómeros iso1 a iso4 a 37°C

Grupos de isómeros	r ₁ 20 MHz (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	r ₁ 60 MHz (mM ⁻¹ .s ⁻¹)
Iso1	12.6	12.5
Iso2	13.3	12.9
Iso3	8.0	8.1
Iso4	12.9	13.0

Los inventores han logrado desarrollar un nuevo proceso para la preparación y purificación del complejo de fórmula (II) que permite obtener preferentemente los diastereoisómeros II-RRR e II-SSS de dicho complejo, que tienen propiedades fisicoquímicas particularmente ventajosas. Este procedimiento comprende una etapa de enriquecimiento isomérico, mediante la conversión de los estereoisómeros menos estables en los estereoisómeros más estables, que, sorprendentemente, mientras se lleva a cabo en el complejo de hexaácido intermedio y no en el complejo final, hace posible obtener la mayoría de los isómeros más estables del complejo de fórmula (II).

La implementación de un proceso que hace posible obtener predominantemente los diastereoisómeros de interés es indudablemente ventajosa en comparación con la alternativa que consiste en preparar la mezcla de estereoisómeros, para luego tratar de separar los diastereoisómeros de acuerdo con las técnicas usuales y así aislar los isómeros de interés utilizando cualquier técnica de separación bien conocida en el arte. De hecho, además del hecho de que es más fácil implementar un proceso desprovisto de una etapa de separación de diastereoisómeros a escala industrial, la ausencia de separación permite, por un lado, un considerable ahorro de tiempo, y, por otro lado, para mejorar el rendimiento global del proceso, limitando lo más posible la obtención de diastereoisómeros no deseados que finalmente serían eliminados. Además, las técnicas habituales de separación generalmente implican un uso abundante de solventes, lo que, más allá del costo financiero, no es deseable por razones ambientales. Además, se debe evitar la cromatografía sobre sílice en particular, dados los riesgos para la salud inherentes a la exposición ocupacional a la sílice, clasificada como cancerígena para los humanos (grupo 1) por el Centro Internacional de Investigación contra el Cáncer.

Como se indicó anteriormente, el proceso para preparar el complejo de fórmula (II) desarrollado por los inventores se basa en una etapa de enriquecimiento isomérico del complejo de gadolinio de hexaácido intermedio de fórmula (I) representado a continuación:



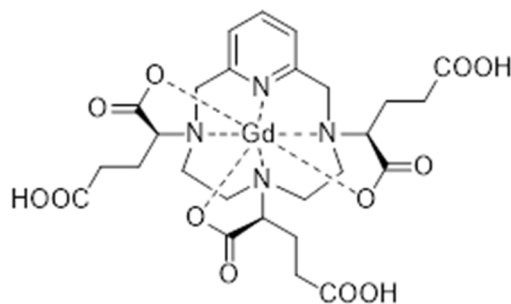
El complejo de fórmula (I) corresponde a varios estereoisómeros, debido a la presencia de los tres átomos de carbono asimétricos ubicados en la posición α en las cadenas laterales del complejo, con respecto a los átomos de nitrógeno del macrociclo en los cuales se injertan dichas cadenas laterales. Estos tres carbonos asimétricos están marcados con un asterisco (*) en la fórmula (I) que se muestra arriba.

En la medida en que cada uno de los 3 carbonos asimétricos que portan una función carboxilato pueda tener una configuración absoluta R o S, el complejo de fórmula (I) existe en forma de 8 estereoisómeros, en lo sucesivo denominados I-RRR, I-SSS, I-RRS, I-SSR, I-RSS, I-SRR, I-RSR e I-SRS. Más precisamente, según la nomenclatura estereoquímica habitual, el complejo de fórmula (I) existe en forma de 4 pares de enantiómeros, diastereoisómeros entre ellos.

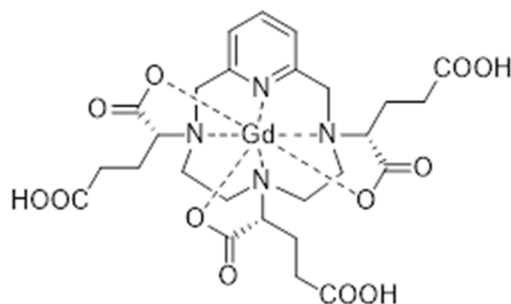
Los inventores lograron separar e identificar por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y por cromatografía líquida de ultra alto rendimiento (UHPLC) 4 grupos o grupos de isómeros del complejo de fórmula (I) obtenidos según

el método descrito en el documento EP 1 931 673, correspondientes a 4 picos de elución diferentes caracterizados por su tiempo de retención en el cromatograma, que serán denominados isoA, isoB, isoC e isoD en lo que sigue de la descripción.

- 5 El isoD cristaliza en agua. Los análisis por difracción de rayos X han permitido a los inventores determinar la estructura cristalina de este grupo de isómeros, y así descubrir que comprende los diastereoisómeros I-RRR e I-SSS del complejo de fórmula (I), de fórmulas (I-RRR) y (I-SSS) que se muestran a continuación.



(I-SSS)



(I-RRR)

Cabe señalar que los diastereoisómeros I-RRR e I-SSS del complejo de fórmula (I) son enantiómeros entre sí.

La etapa de enriquecimiento isomérico del proceso de la invención tiene como objetivo enriquecer el complejo de gadolinio de hexaácido intermedio de fórmula (I) en isoD.

- 15 La síntesis del complejo de fórmula (II) implica notablemente una conversión de las funciones ácido carboxílico del complejo hexaácido intermedio de fórmula (I) en una función amida. Esta reacción de amidación no cambia la configuración absoluta de los tres átomos de carbono asimétricos del complejo de fórmula (I).

Así, cuando la reacción de amidación se lleva a cabo en el complejo hexaácido de fórmula (I) enriquecido en isoD obtenido previamente, hace posible obtener el complejo de fórmula (II) enriquecido en iso4.

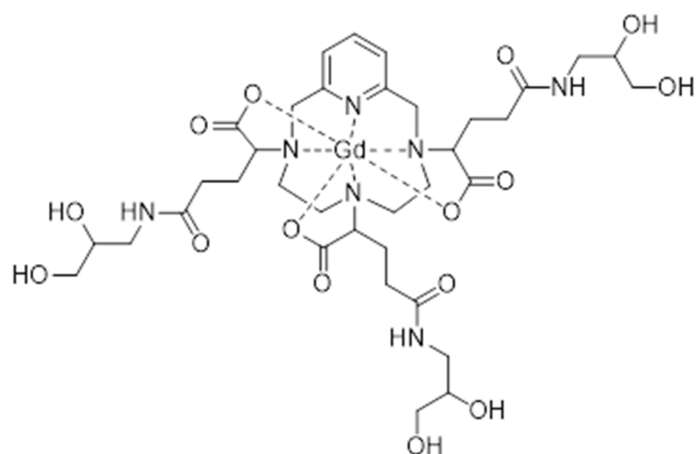
- 20 Además, el proceso de purificación desarrollado por los inventores permite, cuando se implementa siguiendo el proceso para la preparación del complejo de fórmula (II) anterior, obtener el complejo de fórmula (II) con un perfil isomérico optimizado, pero también un perfil de impurezas significativamente mejorado.

- 25 Por lo tanto, este complejo enriquecido y purificado diastereoisoméricamente con estabilidad mejorada puede formularse con un ligando macrocíclico libre, tal como DOTA libre, en lugar de un complejo de calcio de DOTA, cuyo uso se recomendó en el documento WO 2014/174120. El uso de DOTA libre tiene en particular una ventaja desde un punto de vista industrial, ya que permite omitir una etapa del proceso para sintetizar la formulación como se describe en el documento WO 2014/174120, a saber, el adición de CaCl_2 .

Compuesto que comprende el complejo de fórmula (II)

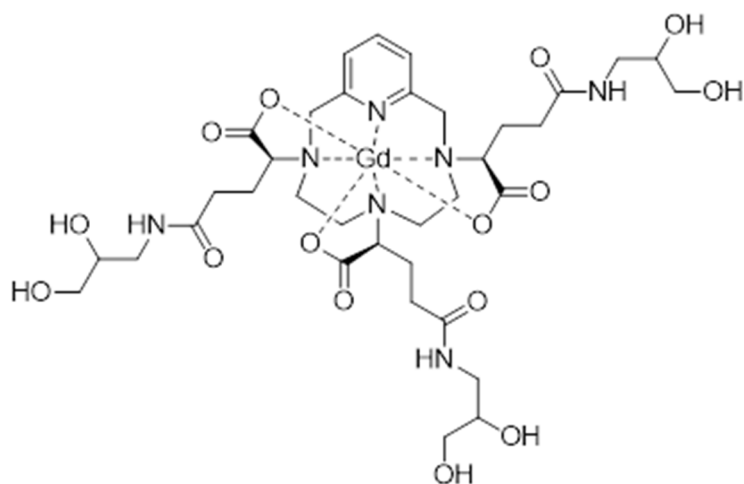
La presente invención se refiere por lo tanto a un compuesto que comprende:

un complejo de fórmula (II):

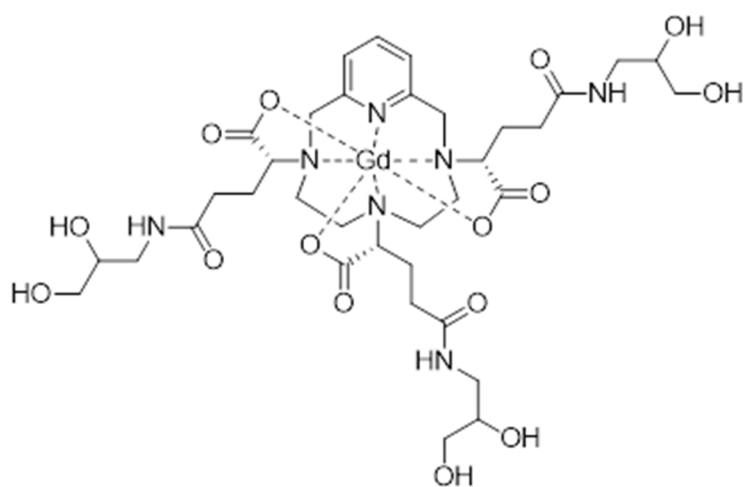


(II)

que consiste en al menos el 80% de un exceso diastereoisomérico que comprende una mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS de fórmulas:



(II-SSS)



(II-RRR)

y un ligando macrocíclico en forma libre,

la composición comprende entre 0,002 y 0,4 mol/mol de ligando macrocíclico libre en relación con el complejo de la fórmula (II).

5 Por "exceso diastereoisomérico" se pretende denotar, en el contexto de la presente invención, y con respecto al complejo de fórmula (II), el hecho de que dicho complejo está predominantemente presente en forma de un isómero o grupo de isómeros elegido entre los diastereoisómeros II-RRR, II-SSS, II-RRS, II-SSR, II-RSS, II-SRR, II-RSR e II-SRS. Dicho exceso diastereoisomérico se expresa como un porcentaje y corresponde a la cantidad representada por la mayoría del isómero o grupo de isómeros con respecto a la cantidad total del complejo de fórmula (II). Se entiende que este porcentaje puede ser tanto molar como masa, en la medida en que los isómeros tienen, por definición, la misma masa molar.

10 En una realización particular del compuesto según la invención, el complejo de fórmula (II) tiene al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 92%, preferiblemente al menos 94%, ventajosamente al menos 97%, más ventajosamente al menos el 99% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

15 Preferiblemente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

Ventajosamente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

20 El término "mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS" también cubre, por extensión, el caso en el que solo uno de los isómeros, ya sea II-RRR o II-SSS, esté presente. Sin embargo, el término "mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS" designa preferiblemente todos los casos en los que cada uno de los isómeros II-RRR e II-SSS está presente en una cantidad variable pero no nula.

En una realización preferida del compuesto según la invención, los isómeros II-RRR e II-SSS están presentes dentro de dicha mezcla en una relación entre 65/35 y 35/65, en particular entre 60/40 y 40/60, en particular entre 55/45 y 45/55. Ventajosamente, los isómeros II-RRR e II-SSS están presentes en la mezcla en una relación 50/50.

25 Más particularmente, el exceso diastereoisomérico como se definió anteriormente corresponde al pico 4 de la gráfica de UHPLC (es decir, la cuarta masa de isómeros en el orden de elución y correspondiente a iso4), caracterizado por un tiempo de retención de entre 6.0 y 6.6 minutos, típicamente alrededor de 6.3 minutos, obteniéndose dicha gráfica implementando el método UHPLC descrito a continuación.

30 Por "gráfica de UHPLC" se entiende, en el sentido de la presente invención, el perfil de las concentraciones medidas por el detector después del pasaje y separación de una mezcla de compuestos (en este caso, isómeros de un compuesto) sobre una fase estacionaria en función del tiempo para una composición dada y la velocidad de flujo del eluyente. La gráfica de UHPLC se compone de diferentes picos o macizos característicos del compuesto o mezcla de compuestos analizados.

Método UHPLC:

- columna CORTECS® UPLC T3 150 x 2.1 mm - 1.6 µm de Waters.

35 Es una columna UPLC de fase inversa con partículas esféricas que consisten en un núcleo, preferiblemente muy duro, hecho de sílice rodeado de una sílice porosa con un injerto trifuncional C18 (octadecilo), y los silanoles de los cuales han sido tratados con agentes de protección (con cubierta de extremo). Se caracteriza además por una longitud de 150 mm, un diámetro interno de 2.1 mm, un tamaño de partícula de 1.6 µm, una porosidad de 120 Å y un contenido de carbono del 4.7%.

40 Preferiblemente, la fase estacionaria utilizada debe ser compatible con las fases móviles acuosas.

- condiciones de análisis:

Muestra	Solución acuosa del complejo de fórmula (II) a 2.0 mg/mL
Temperatura de la columna	40°C
Temperatura de la muestra	Temperatura ambiente (20-25°C)
Flujo	0.3 mL/min
Volumen de inyección	1 µL
Detección UV	200 nm

- gradiente de fase móvil (% v /v) :

Tiempo (min)	Acetonitrilo (100 %)	H ₂ SO ₄ (solución acuosa a 0.0005 % v/v)
0	1	99
3	5	95
12	10	90

- 5 En la presente descripción, los términos "ligando macrocíclico" o "quelato macrocíclico" se pueden usar indistintamente.

En el contexto de la presente invención, el término "macrociclo" designa un ciclo que típicamente comprende al menos 9 átomos, ya sean átomos de carbono o heteroátomos, y el "ligando macrocíclico" o "quelato macrocíclico" es un ligando polidentado, al menos bidentado.

- 10 Por "ligando macrocíclico libre" se entiende en el sentido de la presente invención el ligando macrocíclico en forma libre, es decir, no complejoado, en particular con metales, - incluidos lantánidos y actínidos- o con cationes de tierras alcalinas como el calcio o el magnesio. En particular, el ligando macrocíclico libre no está en forma de complejo con gadolinio, y no se introduce en la composición en forma de complejo débil, típicamente de calcio, sodio, zinc o magnesio, como se describe en documento US 5,876,695, la presencia de dichos cationes en un estado traza en la composición y, por lo tanto, de los complejos correspondientes, sin embargo, no se excluyen.

- 15 Como se discutió previamente, la formulación del complejo de fórmula (II) con un ligando macrocíclico libre, y no un complejo débil de dicho ligando macrocíclico como se recomienda en el documento EP 1 931 673, y posible gracias a la estabilidad mejorada del complejo de fórmula (II) diastereoisoméricamente enriquecido según la invención.

En una forma de realización ventajosa, el compuesto de acuerdo con la invención tiene una concentración de gadolinio libre inferior a 1 ppm (m/v), preferiblemente inferior a 0.5 ppm (m/v).

- 20 En la presente descripción, a menos que se indique lo contrario, las expresiones "Gd", "gadolinio" y "Gd³⁺" se usan indistintamente para designar el ion Gd³⁺. Por extensión, también puede ser una fuente de gadolinio libre, como cloruro de gadolinio (GdCl₃) u óxido de gadolinio (Gd₂O₃).

- 25 En la presente invención, el término "Gd libre" denota las formas no complejas de gadolinio, y preferiblemente disponibles para la formación de complejos. Es típicamente el ion Gd³⁺ disuelto en agua. Por extensión, también puede ser una fuente de gadolinio libre, como cloruro de gadolinio (GdCl₃) u óxido de gadolinio (Gd₂O₃).

El gadolinio en forma libre generalmente se mide por dosificación colorimétrica, generalmente xilenol naranja o Arsenazo (III). En ausencia de un ion metálico (como el gadolinio), estos indicadores tienen un color específico: a pH ácido, el xilenol naranja tiene un color amarillo, mientras que Arsenazo tiene un color rosa. En presencia de gadolinio, su color se vuelve púrpura.

- 30 La determinación visual del cambio de color en la solución permite verificar la presencia o ausencia de gadolinio en la solución.

Además, es posible medir cuantitativamente el gadolinio libre presente en la solución mediante un ensayo de retorno, utilizando, por ejemplo, EDTA como el quelato "débil" de gadolinio. En tal ensayo, el indicador coloreado se agrega hasta que se obtiene un color púrpura. Luego EDTA, se agrega un ligando de gadolinio a la mezcla gota a gota. Dado que el EDTA es un agente complejante más fuerte que el indicador coloreado, el gadolinio cambiará el ligando y dejará

- 35

que el indicador coloreado forme un complejo preferencial con el EDTA. Por lo tanto, el indicador de color recuperará gradualmente su forma no compleja.

Cuando la cantidad de EDTA agregada es igual a la cantidad inicial de Gd libre, el indicador coloreado está completamente en su forma libre y la solución se "vuelve" amarilla. Al conocerse la cantidad de EDTA agregada, esto permite conocer la cantidad inicial de Gd libre en la solución a analizar.

Estos métodos son bien conocidos por los expertos en la materia, y se describen en particular por el documento Barge et al. (*Contrast Media and Molecular Imaging* 1, 2006, 184-188).

Por lo tanto, estos métodos colorimétricos generalmente se implementan en una solución cuyo pH está entre 4 y 8. De hecho, fuera de estos rangos de pH, la precisión de la medición puede verse afectada debido a una modificación (o incluso una eliminación) de la curva de color.

Por lo tanto, si es necesario, el pH de la muestra a analizar se ajusta entre 4 y 8. En particular, si el pH de la muestra es ácido y, en particular, inferior a 4, el pH se ajusta ventajosamente agregando una base, entonces la medición de Gd libre se lleva a cabo en la muestra al pH ajustado.

La composición según la invención presenta así estabilidad en el tiempo, es decir que su composición permanece de acuerdo con las especificaciones en términos de concentración de gadolinio libre (en particular, su concentración de Gd libre permanece por debajo de 1 ppm (m/v)), durante un período de al menos 3 años, preferiblemente al menos 4 años o más preferiblemente al menos 5 años, en particular en términos de contenido de metal paramagnético libre. De acuerdo con las pautas de ICH, la observación de esta estabilidad durante 6 meses a 40°C se considera una buena indicación de una estabilidad de 3 años a 25°C.

En una forma de realización particular, la composición de acuerdo con la invención tiene una concentración de entre 0.01 y 1.5 mol.L⁻¹, preferiblemente entre 0.2 y 0.7 mol.L⁻¹, más preferiblemente entre 0.3 y 0.6 mol.L⁻¹ en el complejo de fórmula (II) descrito anteriormente.

El complejo de fórmula (II) está determinado por los métodos conocidos por un experto en la materia. En particular, puede determinarse después de la mineralización y una determinación del gadolinio total presente en la composición, por espectrometría de emisión óptica (también llamada ICP-AES o Espectrometría de Emisión Atómica ICP).

El contenido del complejo de fórmula (II) permite que esta composición tenga un poder de contraste óptimo mientras tiene una viscosidad satisfactoria. De hecho, por debajo de 0.01 mol.L⁻¹ del complejo de fórmula (II) descrito anteriormente, el rendimiento como producto de contraste es menos satisfactorio y a una concentración superior a 1.5 mol.L⁻¹, la viscosidad de esta composición se vuelve demasiado alta para un fácil manejo.

En una forma de realización particular, la composición de acuerdo con la invención comprende entre 0.01 y 0.3% mol/mol, preferiblemente entre 0.02 y 0.2% mol/mol, más preferiblemente entre 0.05 y 0.15% mol/mol de ligando macrocíclico libre con respecto al complejo de fórmula (II).

Ventajosamente, el ligando macrocíclico se selecciona del grupo que consiste en DOTA, NOTA, DOSA, BT-DO3A, HP-DO3A, PCTA, DOTA-GA y sus derivados.

Preferiblemente, es DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético).

La concentración de DOTA libre en la composición se mide típicamente mediante un ensayo de retorno al cobre, utilizando, por ejemplo, sulfato de cobre como fuente de iones de cobre.

En este método, bien conocido por los expertos en la técnica, preferiblemente usando una solución que contiene una concentración inicial conocida Q₀ de sulfato de cobre, siendo esta concentración mayor que la cantidad de ligando libre en la solución. A esta solución de sulfato de cobre se agrega la solución de dosificación, que contiene DOTA libre en la cantidad Q₁ a determinar. DOTA es un muy buen agente complejante de cobre: por lo tanto, se observa la formación de un complejo DOTA-cobre.

Una dosificación de retorno del cobre que queda libre en la solución se lleva a cabo ventajosamente por potenciometría. Para hacer esto, EDTA se agrega por ejemplo a la mezcla gota a gota. El EDTA formará complejos de cobre libre en solución sin descomplejar el cobre-DOTA, porque DOTA es un agente complejante más fuerte que el EDTA. Cuando la cantidad de EDTA agregado Q₂ es igual a la cantidad de cobre libre en la solución, hay una fuerte caída en el potencial de la solución.

Conociendo la cantidad inicial Q₀ de cobre y la cantidad de EDTA agregada Q₂, restando estos dos valores Q₀ - Q₂ da la cantidad de DOTA libre en la solución de dosificación Q₁.

Alternativamente, se pueden usar los métodos de HPLC, en particular el método HILIC LC-UV.

Estos métodos de medición (en particular los métodos potenciométricos) se implementan en soluciones cuyo pH está ventajosamente entre 4 y 8. Por lo tanto, si es necesario, el pH de la muestra a analizar se ajusta entre 4 y 8. En particular, si el pH de la muestra es ácido, y en particular inferior a 4, el pH se ajusta ventajosamente agregando una base como la meglumina, entonces la medición de DOTA libre se realiza en la muestra a pH ajustado.

- 5 Preferiblemente, las proporciones especificadas en la presente invención y en particular anteriormente son proporciones antes de la esterilización de la composición.

10 Ventajosamente, el pH de la composición está entre 4.5 y 8.5, preferiblemente entre 5 y 8, ventajosamente entre 6 y 8, especialmente entre 6.5 y 8. Estos intervalos de pH hacen posible en particular limitar la aparición de ciertas impurezas y favorecen la complejación del ion de metal paramagnético M.

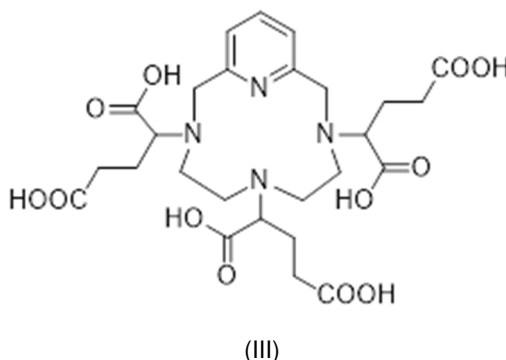
15 En particular, la composición según la invención se puede tamponar, es decir, también puede comprender un tampón elegido entre tampones de uso establecidos para el intervalo de pH de 5 a 8 y preferiblemente de tampones lactato, tartrato, malato, maleato, succinato, ascorbato, carbonato, Tris (Tris (hidroximetil) aminometano), HEPES (ácido 2- [4- (2-hidroxietil)-1-piperazina] etanosulfónico), MES (ácido 2-morfolino etanosulfónico) y mezclas de los mismos, y preferiblemente un tampón seleccionado de los tampones Tris, lactato, tartrato, carbonato, MES y mezclas de estos. Ventajosamente, la composición según la invención comprende el tampón Tris.

La composición objeto de la invención es preferiblemente estéril.

Proceso para la preparación del complejo de fórmula (II)

20 El complejo de fórmula (II) de una composición de acuerdo con la invención puede obtenerse particularmente mediante un método de preparación que comprende las siguientes etapas sucesivas:

- a) Complejación del hexaácido de fórmula (III) siguiente:



con gadolinio para obtener el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) como se definió anteriormente,

- 25 b) Isomerización por calentamiento del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) en una solución acuosa a pH entre 2 y 4, para obtener un complejo enriquecido diastereoisoméricamente que consiste en al menos 80% de un exceso diastereoisomérico que comprende una mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS de dicho complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I), y

- 30 c) Formación, a partir del complejo enriquecido diastereoisoméricamente obtenido en la etapa b), del complejo de fórmula (II), por reacción con 3-amino-1,2-propanodiol.

Este método de preparación no está contemplado en el texto de las reivindicaciones. No obstante, su descripción detallada se considera útil para comprender la invención.

Etapas a)

- 35 Durante esta etapa, se produce una reacción de complejación entre el hexaácido de fórmula (III) y el gadolinio, lo que permite obtener el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) como se definió anteriormente.

Según una realización particular del procedimiento para preparar el complejo de fórmula (II) de una composición según la invención, la etapa a) comprende la reacción entre el hexaácido de fórmula (III) y una fuente de Gd libre en agua.

En una realización preferida del método no reivindicado, la fuente de Gd libre es $GdCl_3$ o Gd_2O_3 , preferiblemente Gd_2O_3 .

Preferiblemente, los reactivos utilizados en la etapa a), es decir la fuente de gadolinio (típicamente óxido de gadolinio), el hexaácido de fórmula (III) y el agua, son lo más puros posible, especialmente con respecto a las impurezas metálicas.

Por lo tanto, la fuente de gadolinio será ventajosamente óxido de gadolinio, preferiblemente con una pureza mayor del 99.99%, y más preferiblemente mayor del 99.999%.

- 5 El agua utilizada en el proceso comprende preferiblemente menos de 50 ppm de calcio, más preferiblemente menos de 20 ppm, y lo más preferiblemente menos de 15 ppm de calcio. En general, el agua utilizada en el proceso es agua desionizada, agua para inyección (agua ppi) o agua purificada.

10 Ventajosamente, las cantidades de los reactivos (el hexaácido de fórmula (III) y el gadolinio) utilizados en esta etapa a) corresponden a o están cerca de las proporciones estequiométricas, según lo dictado por la ecuación de equilibrio de la reacción de complejación que tiene lugar durante esta etapa.

Por "cerca de las proporciones estequiométricas", se entiende que la diferencia entre las proporciones molares en las que se introducen los reactivos y las proporciones estequiométricas es inferior al 15%, en particular inferior al 10%, preferiblemente inferior al 8%.

15 El gadolinio se puede introducir en particular en un ligero exceso en relación con las proporciones estequiométricas. La relación entre la cantidad de material introducido en gadolinio y la cantidad de material introducido en hexaácido de fórmula (III) es entonces mayor que 1, pero típicamente menor que 1.15, en particular menor que 1.10, ventajosamente menor que 1.08. En otras palabras, la cantidad de gadolinio introducida es mayor que 1 equivalente (eq.), pero típicamente menor que 1.15 eq., en particular menor que 1.10 eq., ventajosamente menor que 1.08 eq., con respecto a la cantidad de hexaácido de fórmula (III) introducida, que a su vez corresponde a 1 equivalente. En la
20 realización preferida según la cual la fuente de gadolinio libre es Gd_2O_3 , la cantidad de Gd_2O_3 introducida es típicamente mayor que 0.5 eq., pero menor que 0.575 eq., en particular menor que 0.55 eq., ventajosamente menos a 0.54 eq., en relación con la cantidad de hexaácido de fórmula (III) introducida (1 eq.).

Según una realización particular del método no reivindicado, la etapa a) comprende las siguientes etapas sucesivas:

- a1) Preparación de una solución acuosa de hexaácido de fórmula (III), y
25 a2) Adición, a la solución acuosa obtenida en la etapa a1), de una fuente de gadolinio libre.

En esta realización, el contenido de hexaácido de fórmula (III) en la solución acuosa preparada durante la etapa a1) está típicamente entre 10% y 60%, especialmente entre 15% y 45%, preferiblemente entre 20% y 35%, ventajosamente entre 25% y 35%, incluso más ventajosamente entre 25% y 30% en peso con respecto al peso total de la solución acuosa.

- 30 Preferiblemente, las etapas a) y b) se llevan a cabo de acuerdo con una realización de un solo recipiente (o "one-pot" en inglés), es decir en el mismo reactor y sin un aislamiento intermedio o purificación.

Por lo tanto, en esta realización preferida, el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) formado durante la etapa a) se somete directamente a la etapa b) de isomerización, sin ser aislado o purificado, y en el mismo reactor que el usado para la etapa a).

35 ▪ Etapa b)

El complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) formado por la reacción complejante entre el hexaácido de fórmula (III) y el gadolinio durante la etapa a) se obtiene inicialmente en forma de una mezcla de diastereoisómeros .

La etapa b) tiene como objetivo enriquecer la mezcla de diastereoisómeros con los isómeros I-RRR e I-SSS, para obtener el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente que consiste en al
40 menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, preferiblemente al menos al menos 97%, ventajosamente al menos 98%, más ventajosamente al menos 99% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de los isómeros I-RRR e I-SSS.

Por "exceso diastereoisomérico" se pretende denotar, en el contexto de la presente invención, y con respecto al complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I), el hecho de que dicho complejo está presente principalmente en
45 forma de un isómero o grupo de isómeros elegidos entre los diastereoisómeros I-RRR, I-SSS, I-RRS, I-SSR, I-RSS, I-SRR, I-RSR e I-SRS. Dicho exceso diastereoisomérico se expresa como un porcentaje, y corresponde a la cantidad representada por el isómero mayoritario o grupo de isómeros en relación con la cantidad total del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I). Se entiende que este porcentaje puede ser tanto molar como masa, en la medida en que los isómeros tienen, por definición, la misma masa molar.

50 Preferiblemente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de la mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS.

Ventajosamente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en la mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS.

De hecho, los inventores han descubierto que factores como el pH y la temperatura de la solución de fórmula (I) del complejo de gadolinio de hexaácido obtenida al final de la etapa a) influyen en la relación en la que los diversos isómeros del complejo de fórmula (I) están presentes en la mezcla de diastereoisómeros. Con el tiempo, la mezcla tiende a enriquecerse en un grupo de isómeros que comprenden los isómeros que son, sorprendentemente, los más termodinámicamente estables pero también químicamente, en este caso los isómeros I-RRR e I-SSS.

El término "mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS" también cubre, por extensión, el caso en que solo uno de los isómeros, ya sea I-RRR o I-SSS, está presente.

Sin embargo, en una realización preferida del método no reivindicado, los isómeros I-RRR e I-SSS están presentes dentro de dicha mezcla en una relación de entre 65/35 y 35/65, en particular entre 60/40 y 40/60, en particular entre 55/45 y 45/55. Ventajosamente, la mezcla de isómeros I-RRR/I-SSS es una mezcla racémica (50/50).

La etapa b) de isomerización del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) en una solución acuosa se lleva a cabo típicamente a un pH de entre 2 y 4, en particular entre 2 y 3, ventajosamente entre 2.2 y 2.8.

El pH se ajusta preferiblemente con un ácido, preferiblemente un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico o ácido fosfórico, por ejemplo con ácido clorhídrico.

Es bastante sorprendente que bajo tales condiciones de pH, se produzca un enriquecimiento de la mezcla con isómeros particulares, en este caso los isómeros I-RRR e I-SSS, en la medida en que se sabe en la técnica que los quelatos de gadolinio se caracterizan por una baja inercia cinética en un medio ácido. De hecho, cuanto mayor es la concentración de iones H^+ en el medio, mayor es la probabilidad de que un protón se transfiera a uno de los átomos donantes del ligando, lo que conduce a la disociación del complejo. En consecuencia, los expertos en la materia habrían esperado que colocar el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) en una solución acuosa a un pH entre 2 y 4 causara la disociación del complejo, y no su isomerización en I-RRR e I-SSS.

Cabe señalar que el rango de pH recomendado por el documento EP 1 931 673 para la complejación del hexaácido de fórmula (III), es decir, 5.0-6.5, no permite obtener el complejo de fórmula (I) enriquecido en sus isómeros I-RRR e I-SSS.

La etapa b) se lleva a cabo típicamente a una temperatura entre 80°C y 130°C, en particular entre 90°C y 125°C, preferiblemente entre 98°C y 122°C, ventajosamente entre 100°C y 120°C, típicamente durante un período de entre 10 h y 72 h, especialmente entre 10 h y 60 h, ventajosamente entre 12 h y 48 h.

Contra todas las expectativas, tales condiciones de temperatura, que, junto con las condiciones de pH mencionadas anteriormente, deberían promover la inestabilidad del quelato de gadolinio, no conducen a su descomplejamiento ni a la formación de ninguna otra impureza, sino a su isomerización en I-RRR e I-SSS.

En una realización particular del método no reivindicado, la solución acuosa de la etapa b) comprende ácido acético. La etapa b) se lleva a cabo ventajosamente a una temperatura entre 100°C y 120°C, en particular entre 110°C y 118°C, típicamente durante un período entre 12 h y 48 h, en particular entre 20 h y 30 h, en particular entre 24 h y 26 h.

El ácido acético se agrega preferiblemente antes del calentamiento de la solución del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) obtenida durante la etapa a) en una cantidad tal que el contenido de ácido acético esté entre 25% y 75%, en particular entre 40% y 50% en masa con respecto a la masa de hexaácido de fórmula (III) utilizada durante la etapa a).

Cuando la solución acuosa se calienta a una temperatura ventajosamente entre 100°C y 120°C, típicamente entre 110°C y 118°C, se agrega ácido acético a medida que el agua se evapora, para mantener un volumen constante de solución.

Según una realización preferida del método no reivindicado, al final de la etapa b), el complejo enriquecido diastereoisoméricamente se aísla por cristalización, preferiblemente por cristalización por siembra.

En esta realización, la etapa b) comprende las siguientes etapas sucesivas:

b1) Isomerización por calentamiento del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) en una solución acuosa a pH entre 2 y 4, para obtener un complejo enriquecido diastereoisoméricamente que consiste en al menos el 80% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS de dicho complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I), y

b2) Aislamiento por cristalización de dicho complejo enriquecido diastereoisoméricamente preferiblemente por cristalización por siembra.

La etapa b2) de cristalización apunta, por un lado, a eliminar las impurezas posiblemente presentes en la solución acuosa, que pueden resultar de las etapas anteriores, para obtener un producto de mayor pureza, decolorado, en forma de cristales, y por otro lado, para continuar el enriquecimiento diastereoisomérico del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I), para obtener un exceso diastereoisomérico que comprenda la mezcla de los isómeros I-RRR e I-SSS de dicho complejo mayor que la obtenida como resultado de la etapa b1). De hecho, los isómeros I-RRR e I-SSS del complejo hexaácido de fórmula (I) cristalizan en agua. Por otro lado, el complejo hexaácido gadolinio de fórmula (I) no enriquecido en dichos isómeros no cristaliza.

El hecho de que los isómeros I-RRR e I-SSS, en los que el complejo tiende a enriquecerse durante la etapa b) (y esto contra toda expectativa, en vista de las condiciones en que se lleva a cabo), son los solos isómeros del complejo que se cristalizarán en agua constituyen un resultado completamente inesperado. La isomerización y la cristalización contribuyen así sinérgicamente al enriquecimiento en los isómeros I-RRR e I-SSS y, por lo tanto, a la eficiencia global del proceso de acuerdo con la invención.

Además, debe tenerse en cuenta que la cristalización en agua de los isómeros de interés del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) permite evitar la adición de disolvente como se describe en el Ejemplo 7 del documento EP 1.931.673, que implica una etapa de precipitación en etanol de la sal trisódica de dicho complejo.

La etapa b2) se lleva a cabo ventajosamente a una temperatura entre 10°C y 70°C, en particular entre 30°C y 65°C, en particular entre 35 ° y 60°C.

Alternativamente, después de bajar la temperatura de la solución acuosa, de modo que esté dentro de los rangos indicados anteriormente, el proceso de cristalización es inducido por inoculación. La "cristalización por inoculación", también llamada "cristalización por iniciación", implica la introducción en el reactor en el que se lleva a cabo la cristalización (también llamado cristizador) de una cantidad conocida de cristales, llamada "semilla" o "iniciador". Esto reduce el tiempo de cristalización. La cristalización por semilla es bien conocida por los expertos en la materia. En el método, la siembra mediante el uso de un iniciador, en este caso cristales de complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente añadido en la solución acuosa del complejo enriquecido diastereoisoméricamente cuya temperatura se ha reducido previamente, permite obtener la nucleación y, por lo tanto, iniciar la cristalización. La duración de la cristalización por siembra es ventajosamente entre 2 h y 20 h, preferiblemente entre 6 h y 18 h, típicamente, es 16 h.

Los cristales de complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecidos diastereoisoméricamente se aíslan típicamente por filtración y secado, usando cualquier técnica bien conocida por los expertos en la materia.

Ventajosamente, el grado de pureza del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente aislado al final de la etapa b2) es mayor que 95%, en particular mayor que 98%, ventajosamente mayor que 99%, estando expresado el dicho grado de pureza como un porcentaje en masa del complejo de fórmula (I) en relación con la masa total obtenida al final de la etapa b2).

En una realización particular del método no reivindicado, el complejo enriquecido diastereoisoméricamente de la etapa b) aislado por cristalización se purifica nuevamente por recristalización, para obtener un complejo enriquecido y purificado diastereoisoméricamente.

En esta realización, la etapa b) comprende, además de las etapas sucesivas b1) y b2) descritas previamente, una etapa b3) de purificación por recristalización del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente aislado.

La etapa b3) de recristalización tiene como objetivo, como la etapa b2) de cristalización, por un lado, obtener un producto de mayor pureza y, por otro lado, continuar el enriquecimiento diastereoisomérico del complejo de gadolinio hexaácido de fórmula (I), para obtener un exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de los isómeros I-RRR e I-SSS de dicho complejo mayor que el obtenido al final de la etapa b2).

La etapa b3) generalmente incluye las siguientes subetapas sucesivas:

- suspensión del complejo gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecida diastereoisoméricamente aislada durante la etapa b2) en solución acuosa, preferiblemente en agua,
- solubilización de dicho complejo calentando a una temperatura ventajosamente entre 80°C y 120°C, por ejemplo a 100°C,
- recristalización, preferiblemente mediante siembra, a una temperatura ventajosamente entre 10°C y 90°C, en particular entre 20°C y 87°C, en particular entre 55°C y 85°C, típicamente durante un período de entre 2 horas y 20 horas, especialmente entre 6 horas y 18 horas, y
- aislamiento de cristales de complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecidos y purificados diastereoisoméricamente, por ejemplo por filtración y secado.

El grado de pureza del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) purificado enriquecido diastereoisoméricamente aislado al final de la etapa b3) es típicamente mayor que 98%, en particular mayor que 99%, ventajosamente mayor que 99.5% , expresándose dicho grado de pureza como un porcentaje en masa del complejo de fórmula (I) en relación con la masa total obtenida al final de la etapa b2).

- 5 En otra realización del método no reivindicado, el complejo enriquecido diastereoisoméricamente de la etapa b) se enriquece adicionalmente por descomplejamiento selectivo de los diastereoisómeros del complejo de fórmula (I) distintos de los diastereoisómeros I-RRR e I-SSS, es decir, por descomplejamiento selectivo de los diastereoisómeros. I-RSS, I-SRR, I-RSR, I-SRS, I-RRS e I-SSR.

- 10 En esta realización, la etapa b) comprende, además de las etapas sucesivas b1) y b2) descritas previamente, una etapa b4) de descomplejamiento selectivo de los diastereoisómeros del complejo de fórmula (I) distintos de los diastereoisómeros I-RRR e I-SSS. En esta variante, la etapa b) también puede incluir la etapa b3) descrita previamente, implementando dicha etapa b3) entre las etapas b2) y b4), o después de la etapa b4).

- 15 La etapa b4) de descomplejamiento selectivo tiene como objetivo continuar el enriquecimiento diastereoisomérico del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I), para obtener un exceso diastereoisomérico que comprenda la mezcla de los isómeros I-RRR e I-SSS de dicho complejo, mayor que el obtenido al final de la etapa b2) o al final de la etapa b3), cuando esta última se implementa antes de la etapa b4).

La etapa b4) generalmente incluye las siguientes subetapas sucesivas:

- suspender el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente aislado durante la etapa b2) o durante la etapa b3) en agua,
- 20 • adicionar una base, por ejemplo sosa,
- calentar a una temperatura ventajosamente entre 30°C y 60°C, en particular entre 35°C y 55°C, por ejemplo a 40°C, típicamente durante un período entre 2 h y 20 h, especialmente entre 10 h y 18 h,
- enfriar a una temperatura ventajosamente entre 10°C y 30°C, por ejemplo a 30°C, y
- 25 • aislar del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido y purificado diastereoisoméricamente, por ejemplo por filtración y secado.

- 30 La etapa b4) es posible por el hecho de que los isómeros I-RRR e I-SSS son los más estables en el medio básico. Tales condiciones básicas favorecen la formación de hidróxido de gadolinio y, por lo tanto, la descomplejamiento de los isómeros menos estables. Por lo tanto, debe tenerse en cuenta que, sorprendentemente, los isómeros I-RRR e I-SSS son más estables tanto en un medio ácido, que permite la etapa b1) de isomerización, como en medio básico, que permite la etapa b4) de descomplejamiento selectivo.

- 35 En una realización preferida del método no reivindicado, el complejo enriquecido diastereoisoméricamente obtenido al final de la etapa b) de acuerdo con cualquiera de las variantes descritas anteriormente tiene al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95 %, preferiblemente al menos 97%, ventajosamente al menos 98%, más ventajosamente al menos 99% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de los isómeros I-RRR e I-SSS.

Preferiblemente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de la mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS.

Ventajosamente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en la mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS.

- 40 El término "mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS" también cubre, por extensión, el caso en que solo uno de los isómeros, ya sea I-RRR o I-SSS, esté presente. Sin embargo, el término "mezcla de isómeros I-RRR e I-SSS" designa preferiblemente todos los casos en los que cada uno de los isómeros I-RRR e I-SSS está presente en una cantidad variable pero no nula.

- 45 En una realización preferida del método no reivindicado, los isómeros I-RRR e I-SSS están presentes dentro de dicha mezcla en una relación de entre 65/35 y 35/65, en particular entre 60/40 y 40/60, en particular entre 55/45 y 45/55. Ventajosamente, la mezcla de isómeros I-RRR/I-SSS es una mezcla racémica (50/50).

▪ **Etapas c)**

La etapa c) tiene como objetivo formar el complejo de fórmula (II) a partir de su precursor, el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente obtenido durante la etapa b).

- 50 Durante esta etapa, las tres funciones ácido carboxílico del complejo hexaácido de fórmula (I) transportado por los átomos de carbono ubicados en la posición γ y en las cadenas laterales del complejo, en relación con los átomos de

nitrógeno del macrociclo en el que se injertan dichas cadenas laterales se convierten en funciones amida, por reacción de amidación con 3-amino-1,2-propanodiol, en forma racémica o enantioméricamente pura, preferiblemente en forma racémica.

Esta reacción de amidación no modifica la configuración absoluta de los tres átomos de carbono asimétricos ubicados en la posición α en las cadenas laterales, con respecto a los átomos de nitrógeno del macrociclo en el que se injertan dichas cadenas laterales. En consecuencia, la etapa c) hace posible obtener el complejo de fórmula (II) con un exceso diastereoisomérico que comprende una mezcla de los isómeros II-RRR e II-SSS idénticos al exceso diastereoisomérico que comprende una mezcla de los isómeros I-RRR e I-SSS con el que se obtiene el complejo hexaácido gadolinio de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente obtenido al final de la etapa b), que es al menos 80%.

En una realización preferida del método no reivindicado, el complejo de fórmula (II) obtenido al final de la etapa c) tiene al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 92%, preferiblemente al menos 94%, ventajosamente al menos 97%, más ventajosamente al menos 99% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

Preferiblemente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

Ventajosamente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

El término "mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS" también cubre, por extensión, el caso en el que solo uno de los isómeros, ya sea II-RRR o II-SSS, está presente. Sin embargo, el término "mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS" designa preferiblemente todos los casos en los que cada uno de los isómeros II-RRR e II-SSS está presente en una cantidad variable pero no nula.

En una realización preferida, los isómeros II-RRR e II-SSS están presentes dentro de dicha mezcla en una relación entre 65/35 y 35/65, en particular entre 60/40 y 40/60, en particular entre 55/45 y 45/55. Ventajosamente, los isómeros II-RRR e II-SSS están presentes en la mezcla en una relación 50/50.

La reacción de amidación se puede llevar a cabo de acuerdo con todos los métodos bien conocidos por los expertos en la materia, en particular en presencia de un agente que activa las funciones ácido carboxílico y/o en catálisis ácida.

En particular, puede llevarse a cabo de acuerdo con los métodos descritos en la patente EP 1.931.673, en particular en el párrafo [0027] de esta patente.

En una realización particular del método no reivindicado, la etapa c) comprende la activación de las funciones ácido carboxílico (-COOH) del complejo hexaácido de fórmula (I) transportado por los átomos de carbono ubicados en la posición γ en las cadenas laterales del complejo, por relación con los átomos de nitrógeno del macrociclo en el que se injertan dichas cadenas laterales, en forma de funciones derivadas que comprenden un grupo carbonilo (C = O), que son tales que el átomo de carbono del grupo carbonilo es más electrófilo que el átomo de carbono del grupo carbonilo de las funciones del ácido carboxílico. Por lo tanto, según esta realización particular, dichas funciones ácido carboxílico pueden activarse en particular en forma de funciones éster, cloruro de acilo, anhídrido de ácido, o en cualquier forma activada capaz de conducir a un enlace amida. Las formas activadas capaces de conducir a un enlace amida son bien conocidas por los expertos en la técnica y, por ejemplo, pueden obtenerse mediante todos los métodos conocidos en la química de péptidos para crear un enlace peptídico. Se dan ejemplos de tales métodos en la publicación Synthesis of peptides and peptidomimetics vol. E22a, p425-588, Houben-Weyl et al., Goodman Editor, Thieme-Stuttgart-New York (2004), y, entre estos ejemplos, se pueden mencionar en particular los métodos de activación de ácidos carboxílicos a través de una azida (acil azida), por ejemplo, por la acción de un reactivo como la difenilfosforilazida (comúnmente conocido por el acrónimo DPPA), el uso de carbodiimidas solo o en presencia de catalizadores (por ejemplo, N-hidroxisuccinimida y sus derivados), el uso de un carbonildiimidazol (1,1'-carbonildiimidazol, CDI), el uso de sales de fosfonio como el hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)fosfonio (comúnmente conocido por el acrónimo BOP) o incluso los uronios como el hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (comúnmente conocido por el acrónimo HBTU).

Preferiblemente, la etapa c) comprende la activación de las funciones ácido carboxílico (-COOH) mencionadas anteriormente en forma de funciones éster, cloruros de acilo o anhídridos de ácido.

Se prefiere esta realización al acoplamiento de péptidos mediante la activación de la función ácido carboxílico usando un agente de acoplamiento tal como EDCI/HOBT como se describe en el documento EP 1 931 673. De hecho, dicho acoplamiento da como resultado la formación de un equivalente de 1-etil-3-[3-(dimetilamino)propil]urea, que debe eliminarse, en particular por cromatografía sobre sílice o por extracción líquido/líquido agregando un solvente. Independientemente de la complejidad del proceso generado por dicha etapa adicional, la implementación de tales métodos de purificación no es deseable, como se discutió anteriormente. Además, el uso de HOBT es en sí mismo problemático, ya que es un producto explosivo.

Por "función éster", se entiende un grupo $-C(O)O-$. En particular, puede ser un grupo $-C(O)O-R_1$, en el que R_1 corresponde a un grupo alquilo (C_1-C_6).

Por grupo "alquilo (C_1-C_6)" se entiende una cadena de hidrocarburo saturada, lineal o ramificada, que comprende 1 a 6, preferiblemente 1 a 4, átomos de carbono. A modo de ejemplo, se pueden mencionar grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, pentilo o incluso hexilo.

Por "función cloruro de acilo", también llamada "función cloruro de ácido", se entiende un grupo $-CO-Cl$.

Por "función anhídrido de ácido" se entiende un grupo $-CO-O-CO-$. En particular, puede ser un grupo $-CO-O-CO-R_2$, en el que R_2 corresponde a un grupo alquilo (C_1-C_6).

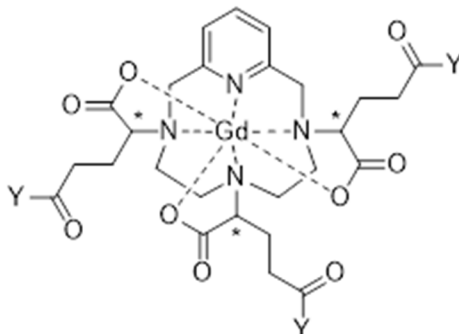
Las reacciones para convertir una función ácido carboxílico en una función éster, cloruro de acilo o anhídrido de ácido son bien conocidas por los expertos en la materia, que pueden implementarlas de acuerdo con cualquier método habitual con el que estén familiarizados.

El complejo de fórmula (II) se obtiene luego por aminólisis de las funciones ácido carboxílico activadas en forma de funciones éster, cloruros de acilo o anhídridos de ácido, en particular ésteres o anhídridos de ácido, preferiblemente ésteres, por reacción con el 3-amino-1,2-propanodiol, en forma racémica o enantioméricamente pura, preferiblemente en forma racémica.

Preferiblemente, las etapas de activación de las funciones ácido carboxílico y de aminólisis se llevan a cabo de acuerdo con una realización en un solo recipiente (o "one-pot" en inglés), es decir en el mismo reactor y sin etapa de aislamiento o purificación intermedia del intermedio que comprende las funciones ácido carboxílico activadas en forma de funciones éster, cloruros de acilo o anhídridos de ácido, en particular ésteres o anhídridos de ácido, preferiblemente ésteres.

Según una realización particular del método no reivindicado, la etapa c) comprende las siguientes etapas sucesivas:

c1) formación de un complejo activado de fórmula (VII),

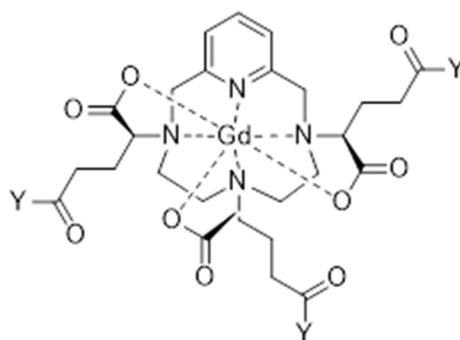


(VII)

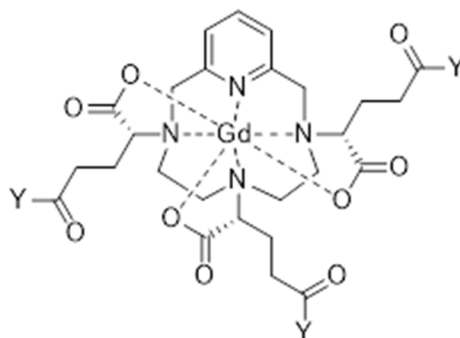
en el que Y representa un átomo de cloro, un grupo $-OR_1$ u $-O-C(O)-R_2$, preferiblemente Y representa un grupo $-OR_1$ u $-O-C(O)-R_2$, con R_1 y R_2 correspondientes, independientemente uno de el otro, a un grupo alquilo (C_1-C_6), y

c2) aminólisis del complejo activado de fórmula (VII) con 3-amino-1,2-propanodiol.

Como quedará claro para un experto en la materia, la reacción para la formación del complejo activado de fórmula (VII) no modifica la configuración absoluta de los tres átomos de carbono asimétricos ubicados en la posición α en las cadenas laterales, en relación con los átomos de nitrógeno del macrociclo en el que se injertan dichas cadenas laterales. En consecuencia, la etapa c1) permite obtener el complejo activado de fórmula (VII) con un exceso diastereoisomérico que comprende una mezcla de los isómeros VII-RRR y VII-SSS, de fórmulas (VII-RRR) y (VII-SSS) representado a continuación, idéntico al exceso diastereoisomérico que comprende una mezcla de los isómeros I-RRR e I-SSS con los que se obtiene el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente obtenido al final de la etapa b), que es al menos 80%.



(VII-SSS),



(VII-RRR).

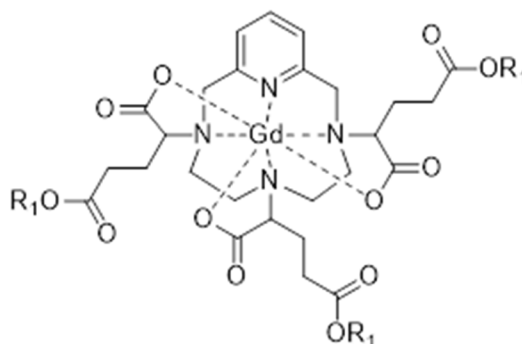
- 5 En el caso en que Y representa un átomo de cloro, la etapa c1) se lleva a cabo típicamente por reacción entre el complejo gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente obtenido durante la etapa b) y cloruro de tionilo (SOCl_2).

- 10 En el caso en que Y representa un grupo $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_3$, la etapa c1) se lleva a cabo típicamente por reacción entre el complejo gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecido diastereoisoméricamente obtenido durante la etapa b) y cloruro de acetilo.

En una realización ventajosa del método no reivindicado, la etapa c) comprende la activación de las funciones ácido carboxílico ($-\text{COOH}$) mencionadas anteriormente en forma de funciones éster.

De acuerdo con esta realización, la etapa c) puede comprender más particularmente las siguientes etapas sucesivas:

c1) formación de un triéster de fórmula (VIII),



(VIII)

en el que R_1 representa un grupo alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$), y

c2) aminólisis del triéster de fórmula (VIII) con 3-amino-1,2-propanodiol.

- 20 La etapa c1) se lleva a cabo típicamente en el alcohol de fórmula R_1OH , que desempeña tanto el papel de disolvente como de reactivo, en presencia de un ácido tal como ácido clorhídrico.

La etapa c2) también se lleva a cabo típicamente en el alcohol de fórmula R₁OH, en presencia de un ácido tal como ácido clorhídrico.

Inicialmente, el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) y el alcohol R₁OH se cargan en el reactor. El medio de reacción se enfría luego a una temperatura inferior a 10°C, en particular inferior a 5°C, típicamente a 0°C, y luego se agrega gradualmente una solución ácida del alcohol R₁OH, típicamente de ácido clorhídrico en R₁OH. El medio de reacción se mantiene bajo agitación a temperatura ambiente (es decir a una temperatura entre 20 y 25°C) durante un período típicamente mayor de 5 h, preferiblemente entre 10 h y 20 h. El medio de reacción se enfría a una temperatura inferior a 10°C, en particular entre 0°C y 5°C, antes de la etapa c2).

Por lo tanto, las etapas c1) y c2) se pueden implementar fácilmente de acuerdo con una realización de un solo recipiente (o "one-pot" en inglés). Ventajosamente, el triéster de fórmula (VII) no está aislado entre las etapas c1) y c2).

Sin embargo, para promover la reacción de aminólisis, durante la etapa c2), el alcohol de fórmula R₁OH se elimina preferiblemente por destilación al vacío.

Por "destilación al vacío" se entiende, en el sentido de la presente descripción, la destilación de una mezcla llevada a cabo a una presión entre 10 y 500 mbar, en particular entre 10 y 350 mbar, preferiblemente entre 10 y 150 mbar, en especialmente entre 50 y 100 mbar.

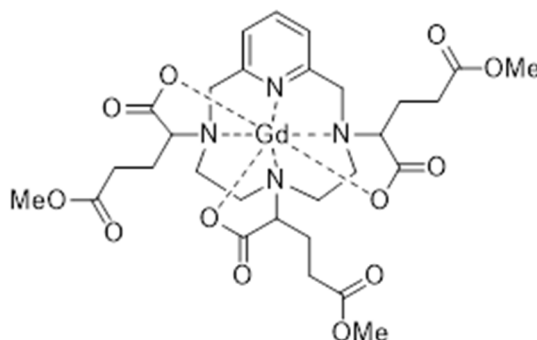
De manera similar, para promover la reacción de aminólisis, durante la etapa c2), se introduce 3-amino-1,2-propanodiol en gran exceso. Típicamente, la cantidad de material de 3-amino-1,2-propanodiol introducido es mayor que 4 eq., en particular mayor que 7 eq., ventajosamente mayor que 10 eq., en relación con la cantidad de material complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) enriquecida diastereoisoméricamente introducida inicialmente durante la etapa c), que corresponde a 1 equivalente.

Sorprendentemente, a pesar de las condiciones ácidas típicamente empleadas durante las etapas c1) y c2), que deberían aumentar la inestabilidad cinética de los complejos de gadolinio, no se observa descomplejamiento o isomerización del triéster de fórmula (VIII). La triamida deseada se obtiene con una muy buena tasa de conversión y se preserva la configuración absoluta de los tres átomos de carbono asimétricos ubicados en la posición α en las cadenas laterales, en relación con los átomos de nitrógeno del macrociclo.

Además, debe señalarse que, en general, las reacciones de amidación por reacción directa entre un éster y una amina se describen muy poco en la literatura (véase sobre este tema KC Nadimpally et al., Tetrahedron Letters, 2011, 52, 2579-2582).

En una realización preferida del método no reivindicado, la etapa c) comprende las siguientes etapas sucesivas:

c1) formación de un metil triéster de fórmula (IV),



(IV)

en particular por reacción en metanol en presencia de un ácido tal como ácido clorhídrico, y

c2) aminólisis del metil triéster de fórmula (IV) con 3-amino-1,2-propanodiol, en particular en metanol en presencia de un ácido como el ácido clorhídrico.

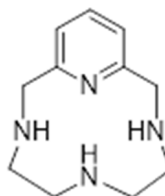
Ventajosamente, el metil triéster de fórmula (IV) no es aislado entre las etapas c1) y c2).

En una realización preferida del método no reivindicado, durante la etapa c2), el metanol se elimina por destilación al vacío, hasta que se alcanza una temperatura típicamente superior a 55°C, en particular entre 60°C y 65°C, y el medio de reacción se mantiene a esta temperatura al vacío durante una duración típicamente superior a 5 h, en particular entre 10 h y 20 h, antes de enfriarse a temperatura ambiente y diluirse con agua.

■ Preparación del hexaácido de fórmula (III)

El hexaácido de fórmula (III), que se produce durante la etapa a) del proceso de preparación que permite obtener el complejo de fórmula (II) de un compuesto de acuerdo con la invención, puede prepararse según todos los métodos ya conocidos y en particular según los métodos descritos en la patente EP 1 931 673.

- 5 Sin embargo, de acuerdo con una realización preferida del método no reivindicado, el hexaácido de fórmula (III) se obtiene por alquilación del picleno de fórmula (V):



(V)

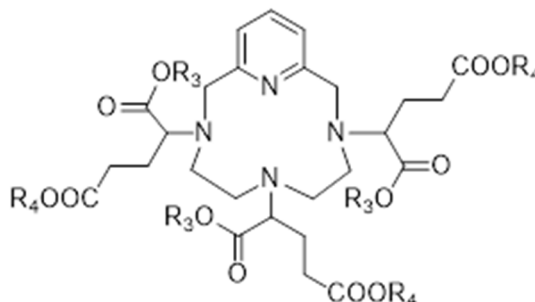
Con un compuesto de fórmula $R_3OOC-CHG_p-(CH_2)_2-COOR_4$ (IX),

- 10 en la que :

- R_3 y R_4 representan, independientemente uno del otro, un grupo alquilo (C_3-C_6), en particular un grupo alquilo (C_4-C_6) tal como un grupo butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, pentilo o hexilo, y

- G_p representa un grupo saliente tal como un tosilato, un grupo triflato o un átomo de halógeno, preferiblemente un átomo de bromo,

- 15 para obtener el hexaéster de fórmula (X)

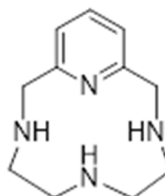


(X)

seguido de una etapa de hidrólisis, que conduce a dicho hexaácido de fórmula (III).

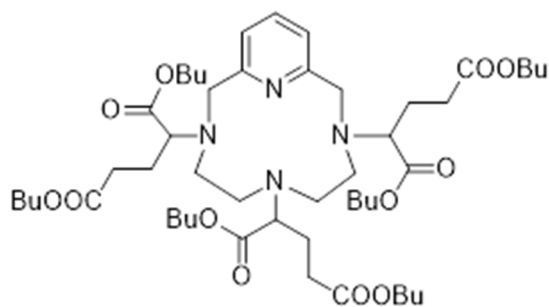
En una realización preferida del método no reivindicado, R_3 y R_4 son idénticos.

- 20 Según una realización ventajosa del método no reivindicado, el hexaácido de fórmula (III) se obtiene por alquilación del picleno de fórmula (V):



(V)

con dibutil 2-bromoglutarato, para obtener el butil hexaéster de fórmula (VI):



(VI)

seguido de una etapa de hidrólisis, que conduce a dicho hexaácido de fórmula (III).

El 2-bromoglutarato de dibutilo usado está en forma racémica o enantioméricamente pura, preferiblemente en forma racémica.

El uso de 2-bromoglutarato de dibutilo es particularmente ventajoso, en comparación con el del 2-bromoglutarato de etilo descrito en el documento EP 1 931 673. De hecho, el 2-bromoglutarato de dietilo comercial es un compuesto relativamente inestable, que se degrada con el tiempo y bajo el efecto de la temperatura. Más específicamente, este éster tiende a hidrolizarse o ciclizarse y, por lo tanto, pierde su átomo de bromo. Los intentos de purificar el 2-bromoglutarato de dietilo comercial, o desarrollar nuevas rutas sintéticas para obtenerlo con una pureza mejorada, y así evitar su degradación, no han tenido éxito.

La reacción de alquilación se lleva a cabo típicamente en un disolvente polar, preferiblemente en agua, en particular en agua desionizada, ventajosamente en presencia de una base tal como carbonato de potasio o de sodio.

Se prefiere el uso de agua en particular al de acetonitrilo, descrito en el documento EP 1 931 673, por razones obvias.

La reacción se lleva a cabo ventajosamente a una temperatura entre 40°C y 80°C, típicamente entre 50°C y 70°C, en particular entre 55°C y 60°C, durante un período entre 5 h y 20 h, en particular entre 8 h y 15 h.

La etapa de hidrólisis se lleva a cabo ventajosamente en presencia de un ácido o una base, ventajosamente una base tal como hidróxido de sodio. El disolvente de hidrólisis puede ser agua, un alcohol tal como etanol o una mezcla de agua/alcohol. Esta etapa se lleva a cabo ventajosamente a una temperatura entre 40°C y 80°C, típicamente entre 40°C y 70°C, especialmente entre 50°C y 60°C, típicamente durante un período entre 10 h y 30 h, en particular entre 15 h y 25 h.

Procedimiento para purificar el complejo de fórmula (II)

El complejo de fórmula (II) de una composición según la invención puede purificarse particularmente por un procedimiento que comprende :

1) la combinación de los siguientes 2 etapas:

1b) paso sobre resina(s) de intercambio iónico y

1c) ultrafiltración de dicho complejo, y

2) aislamiento del complejo purificado así obtenido en forma sólida.

Este procedimiento de purificación no está recogido en el texto de las reivindicaciones. No obstante, su descripción detallada se considera útil para comprender la invención.

Ventajosamente, dicho complejo de fórmula (II) tiene al menos 80%, preferiblemente al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 95%, más particularmente al menos 97%, preferiblemente al menos 98%, ventajosamente a menos 99%, de un exceso diastereoisomérico que comprende una mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS se obtuvo previamente de acuerdo con el proceso de preparación descrito previamente.

En una realización preferida del procedimiento no reivindicado, el complejo enriquecido diastereoisoméricamente en el que se implementa el proceso de purificación tiene al menos 85%, en particular al menos 90%, en particular al menos 92%, preferiblemente al menos 94%, ventajosamente al menos 97%, más ventajosamente al menos 99% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

Preferiblemente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

Ventajosamente, dicho exceso diastereoisomérico consiste en la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.

El término "mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS" también cubre, por extensión, el caso en el que solo uno de los isómeros, ya sea II-RRR o II-SSS, esté presente. Sin embargo, el término "mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS" designa preferiblemente todos los casos en los que cada uno de los isómeros II-RRR e II-SSS está presente en una cantidad variable pero no nula.

En una realización preferida, los isómeros II-RRR e II-SSS están presentes dentro de dicha mezcla en una relación entre 65/35 y 35/65, en particular entre 60/40 y 40/60, en particular entre 55/45 y 45/55. Ventajosamente, los isómeros II-RRR e II-SSS están presentes en la mezcla en una relación 50/50.

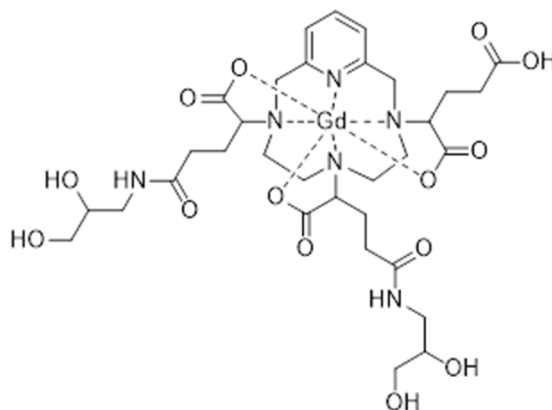
▪ Combinación de las etapas 1b) y 1c)

Las etapas 1b) y 1c) tienen como objetivo purificar el complejo de fórmula (II) eliminando las impurezas que pueden estar presentes debido al proceso para obtenerlo.

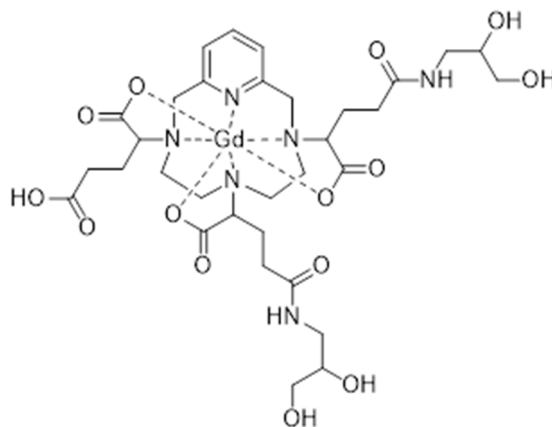
Dichas impurezas pueden comprender en particular 3-amino-1,2-propanodiol y/o una impureza desacoplada.

De hecho, el 3-amino-1,2-propanodiol puede estar presente en el producto final obtenido durante la implementación de un proceso para la preparación del complejo de fórmula (II), típicamente cuando el complejo de fórmula (II) se obtiene por amidificación del complejo de fórmula (I) y 3-amino-1,2-propanodiol. Como se detalla anteriormente, la reacción de amidificación puede comprender la activación de las tres funciones de ácido carboxílico llevadas por los átomos de carbono ubicados en la posición γ y en las cadenas laterales del complejo de fórmula (I), en relación con los átomos de nitrógeno del macrociclo sobre el cual se injertan dichas cadenas laterales, seguido de una aminólisis de las funciones del ácido carboxílico activadas por reacción con 3-amino-1,2-propanodiol. El 3-amino-1,2-propanodiol se usa ventajosamente en exceso, para asegurar una buena conversión en funciones amida de las tres funciones de ácido carboxílico activadas.

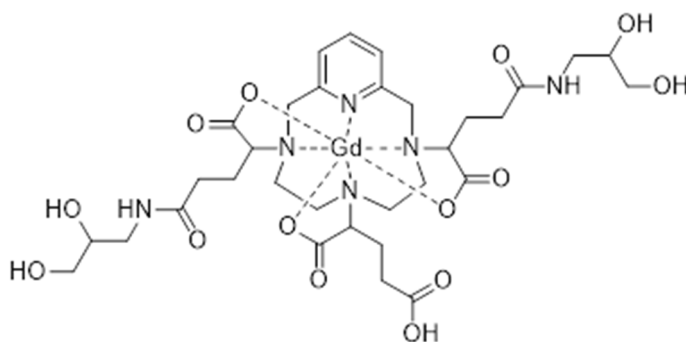
Por "impureza desacoplada" se entiende un complejo de fórmula (II-dc-a), (II-dc-b), (II-dc-c) representado a continuación o una mezcla de estos:



(II-dc-a)



(II-dc-b)



(II-dc-c)

La impureza desacoplada puede resultar en particular de la reacción de hidrólisis de una función amida del complejo de fórmula (II). También puede resultar de una activación incompleta de las funciones de ácido carboxílico del complejo de fórmula (I) (activación de dos de las tres funciones) o de una aminólisis incompleta de las funciones de ácido carboxílico activado (aminólisis de dos de las tres funciones), cuando el proceso para la preparación del complejo de fórmula (II) implementa dichas etapas.

La etapa 1b) corresponde al paso sobre las resina(s) de intercambio iónico del complejo de fórmula (II) enriquecida diastereoisoméricamente como se describió anteriormente.

Por "resina de intercambio iónico" se entiende, en el sentido de la presente descripción, un material sólido generalmente en forma de perlas compuestas de una matriz polimérica sobre la cual se injertan grupos funcionales cargados positivamente (resina aniónica) o negativamente (resina catiónica), lo que permitirá atrapar aniones o cationes respectivamente mediante adsorción. La adsorción de aniones o cationes en la resina se realiza mediante intercambio iónico entre los contraiones de los grupos funcionales inicialmente presentes para asegurar la electroneutralidad de la resina, y los aniones o cationes destinados a quedar atrapados.

La etapa 1b) comprende poner en contacto una solución acuosa del complejo de fórmula (II) enriquecida diastereoisoméricamente con una resina aniónica fuerte. El agua utilizada es preferiblemente agua purificada.

Dicha resina aniónica fuerte típicamente comprende, como grupos de intercambio funcionales, grupos de amonio ($N(RR'R'')^+$, donde R, R' y R'' son grupos alquilo (C_1-C_6) idénticos o diferentes). Se puede mencionar en particular la resina Amberlite® FPA900 vendida por Dow Chemical, ventajosamente en forma HO^- .

El paso sobre una resina aniónica fuerte permite eliminar, al menos en parte, las impurezas desacopladas.

La etapa 1b) puede comprender además poner en contacto una solución acuosa del complejo de fórmula (II) enriquecida diastereoisoméricamente con una resina catiónica débil. El agua utilizada es preferiblemente agua purificada.

Dicha resina catiónica débil típicamente comprende, como grupos funcionales intercambiadores, grupos carboxilato (CO_2^-). Se puede mencionar en particular la resina IMAC® HP336 vendida por Dow Chemical, ventajosamente en forma H^+ .

El paso sobre una resina catiónica débil hace posible eliminar, al menos en parte, el 3-amino-1,2-propanodiol y los posibles residuos de Gd^{3+} .

Debe observarse que la etapa 1b) del paso sobre resina(s) de intercambio iónico es posible gracias a la estabilidad mejorada del complejo de fórmula (II) enriquecida diastereoisoméricamente, cuya integridad es por lo tanto conservada durante esta etapa.

- La etapa 1c) corresponde a la ultrafiltración del complejo de fórmula (II) enriquecida diastereoisoméricamente como se describió anteriormente.

El término "ultrafiltración" pretende denotar, en la presente descripción, un método de filtración a través de una membrana mesoporosa semipermeable, cuyos poros generalmente tienen un diámetro de entre 1 y 100 nm, en particular entre 2 y 50 nm, en particular entre 10 y 50 nm (mesoporos), bajo el efecto de fuerzas tales como gradientes de presión, típicamente entre 1 y 10 bares, y posiblemente de concentración. Por lo tanto, es un proceso de separación de membrana por el cual las partículas en solución o en suspensión cuyo tamaño es mayor que el de los poros son retenidas por la membrana y separadas de la mezcla líquida que las contenía.

En el contexto del proceso de purificación de un complejo de fórmula (II) de un compuesto según la invención, la ultrafiltración es particularmente ventajosa para eliminar las endotoxinas.

Ventajosamente, la membrana de ultrafiltración usada en la etapa 1c) tiene un umbral de corte de menos de 100 kD, en particular menos de 50 kD, en particular menos de 25 kD, típicamente, un umbral de corte de 10 kD.

Preferiblemente, durante la etapa 1c), la presión transmembrana está entre 1 y 5 bares, en particular entre 2.25 y 3.25 bares.

- 5 ▪ En una realización particular del procedimiento no reivindicado, las etapas 1b) y 1c) también se combinan con una etapa 1a) de nanofiltración.

Por "nanofiltración", se pretende denotar, en la presente descripción, un método de filtración a través de una membrana porosa semipermeable, cuyos poros generalmente tienen un diámetro entre 0.1 y 100 nm, en particular entre 0.1 y 20 nm, en particular entre 1 y 10 nm, bajo el efecto de fuerzas tales como gradientes de presión, típicamente entre 1 y 50 bares, y posiblemente de concentración. Por lo tanto, es un proceso de separación de membrana por el cual las partículas en solución o en suspensión cuyo tamaño es mayor que el de los poros son retenidas por la membrana y separadas de la mezcla líquida que las contenía.

La etapa 1a) de la nanofiltración permite eliminar la mayoría del 3-amino-1,2-propanodiol (opcionalmente en forma de sal, en particular clorhidrato, o de derivados, en particular el derivado de acetamida) en exceso y las sales minerales.

- 15 En esta realización particular del procedimiento no reivindicado, la etapa de nanofiltración puede llevarse a cabo directamente sobre el complejo de fórmula (II) enriquecida diastereoisoméricamente en bruto como se obtiene de acuerdo con el proceso de preparación descrito anteriormente. En particular, no es necesario precipitar el complejo de fórmula (II) enriquecido diastereoisoméricamente previamente preparado mediante la adición de disolvente.

20 Ventajosamente, la membrana de nanofiltración usada en la etapa 1a) tiene un umbral de corte de menos de 1 kD, en particular menos de 500 Daltons, en particular menos de 300 Daltons, típicamente, un umbral de corte de 200 Daltons.

Preferiblemente, durante la etapa 1a), la presión transmembrana está entre 10 y 40 bares, en particular entre 2 y 30 bares.

En particular, la temperatura de la solución del complejo de fórmula (II) sometida a ultrafiltración durante la etapa 1a) está entre 20 y 40°C, en particular entre 25 y 35°C.

- 25 En una alternativa a esta realización particular, la etapa 1b) no incluye poner en contacto una solución acuosa del complejo de fórmula (II) enriquecida diastereoisoméricamente con una resina catiónica débil.

En una realización particular, las etapas 1a) cuando está presente, 1b y 1c se llevan a cabo en este orden. Esta realización ventajosa hace posible en particular minimizar las cantidades de resinas utilizadas y, por lo tanto, el costo de fabricación industrial.

- 30 ▪ Etapla 2)

La etapa 2) pretende aislar en forma sólida el complejo de fórmula (II) purificado obtenido al final de la combinación de las etapas 1b) y 1c), y opcionalmente combinado además en la etapa 1a).

35 Esta etapa de aislamiento en forma sólida puede llevarse a cabo de acuerdo con cualquier método bien conocido por los expertos en la técnica, en particular por atomización, precipitación, liofilización o centrifugación, ventajosamente por atomización.

En una realización preferida del procedimiento no reivindicado, la etapa 2) incluye la atomización.

De hecho, el aislamiento en forma sólida del complejo de fórmula (II) purificado por atomización permite en particular prescindir del uso de disolventes de precipitación.

40 La temperatura de entrada de aire en el atomizador está típicamente entre 150°C y 180°C, en particular entre 160°C y 175°C, ventajosamente entre 165°C y 170°C. La temperatura de salida está típicamente entre 90°C y 120°C, preferiblemente entre 105°C y 110°C.

45 Ventajosamente, el grado de pureza del complejo de fórmula (II) enriquecido diastereoisoméricamente en la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS purificado y aislado al final de la etapa 2) es mayor que 95%, en particular mayor que 97%, preferiblemente mayor que 97.5%, más preferiblemente mayor que 98%, ventajosamente mayor que 99%, dicho grado de pureza se expresa como porcentaje en masa del complejo de fórmula (II) con respecto a la masa total obtenida al final de la etapa 2).

Preferentemente, el complejo de fórmula (II) incluido en la composición según la invención descrita anteriormente es el complejo de fórmula (II) enriquecido diastereoisoméricamente y purificado, que puede obtenerse según el procedimiento de purificación de la invención.

EJEMPLOS

Los ejemplos dados a continuación se presentan a modo de ilustración y sin limitación de la invención.

Separación de los grupos de isómeros iso1, iso2, iso3 e iso4 del complejo de fórmula (II) por UHPLC

- 5 Se utiliza un dispositivo UHPLC que consiste en un sistema de bombeo, un inyector, una columna cromatográfica, un detector UV y una estación de datos. La columna cromatográfica utilizada es una columna UHPLC de 150 x 2.1 mm -1.6 μ m (columna CORTECS® UPLC T3 de Waters).

- Fase móvil:

Vía A: 100% de acetonitrilo y Vía B: solución acuosa de H₂SO₄ (96%) a 0.0005% v/v

- Preparación de soluciones de prueba:

- 10 Solución del complejo de fórmula (II) a 2 mg/ml en agua purificada.

- Condiciones de análisis:

Temperatura de columna	40°C
Temperatura de muestra	Temperatura ambiente (20-25°C)
Flujo	0.3 ml/min
Volumen de inyección	1 μ l
Detección UV	200 nm
Duración del análisis	20 min

- Gradiente:

Tiempo	% Acn	% H ₂ SO ₄ 0.0005 %
0	1	99
3	5	95
12	10	90
15	25	75
16	1	99
20	1	99

15

Se obtienen 4 picos principales. El pico 4 de la gráfica de UHPLC, es decir iso4, corresponde a un tiempo de retención de 6.3 minutos.

Preparación del butilhexaéster de fórmula (VI)

- 20 En un reactor, 184 kg (570 moles) de 2-bromoglutarato de dibutilo y 89 kg (644 moles) de carbonato de potasio se mezclan y calientan a 55-60°C. Se agrega una solución acuosa de 29.4 kg (143 moles) de piclino en 24 kg de agua a la preparación previa. La mezcla de reacción se mantiene a 55-60°C y luego se calienta a reflujo durante diez horas. Después de la reacción, el medio se enfría, se diluye con 155 kg de tolueno y luego se lava con 300 litros de agua. El butilhexaéster se extrae en fase acuosa con 175 kg (1340 moles) de ácido fosfórico (75%). Luego se lava 3 veces con 150 kg de tolueno. El hexiléster de butilo se vuelve a extraer en la fase de tolueno mediante dilución con 145 kg de tolueno y 165 kg de agua, seguido de basificación con hidróxido de sodio al 30% (m/m) para alcanzar un pH de 5-5.5. Se elimina la fase acuosa inferior. El hexiléster de butilo se obtiene por concentración en seco al vacío a 60°C con un rendimiento de aproximadamente el 85%.
- 25

Preparación del hexaácido de fórmula (III)

5 En un reactor, se cargan 113 kg (121 moles) de butilhexaéster así como 8 kg de etanol. El medio se lleva a 55 +/- 5°C y luego se vierten 161 kg (1207.5 moles) de hidróxido de sodio al 30% (m/m) en 3 horas. La mezcla de reacción se mantiene a esta temperatura durante aproximadamente veinte horas. El butanol se elimina luego por decantación del medio de reacción. El hexaácido de fórmula (III) obtenido en forma de sal de sodio se diluye con agua para obtener una solución acuosa de aproximadamente 10% (m/m). Esta solución se trata en una resina catiónica ácida. El hexaácido de fórmula (III) en solución acuosa se obtiene con un rendimiento de aproximadamente 90% y una pureza de 95%.

Preparación del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I)10 **▪ Protocolo experimental**

- Complejación e isomerización.

- Sin ácido acético

15 En un reactor, se cargan 418 kg (117 kg de hexaácido puro de fórmula (III)/196 moles) de una solución acuosa de hexaácido de fórmula (III) al 28% en peso. El pH de la solución se ajusta a 2.7 agregando ácido clorhídrico, luego se agregan 37 kg (103.2 moles) de óxido de gadolinio. El medio de reacción se calienta a 100-102°C durante 48 horas para alcanzar la distribución isomérica esperada del hexaácido de fórmula (III).

- Con ácido acético

El óxido de gadolinio (0.525 mol eq.) se suspende en una solución de hexaácido de fórmula (III) al 28.1% en masa.

El ácido acético 99-100% (50% en masa/hexaácido de fórmula (III) puro) se vierte en el medio a temperatura ambiente.

20 El medio se calienta a reflujo y luego se destila a 113°C en masa, recargando el medio con ácido acético a medida que se elimina el agua. Llegado a 113°C, agregue la cantidad suficiente de ácido acético para llegar al volumen inicial.

El medio se mantiene a 113°C durante la noche.

- Cristalización, recristalización.

- Cristalización

25 El complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) en solución se enfría a 40°C, se agrega el cebador, se deja en contacto durante al menos 2 horas. Luego se aísla por filtración a 40°C y se lava con agua de ósmosis inversa.

- recristalización

30 Se suspenden 180 kg del complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) obtenido anteriormente (extracto seco a aproximadamente 72%) en 390 kg de agua. El medio se calienta a 100°C para disolver el producto, luego se enfría a 80°C para iniciarse agregando un poco de iniciador. Después de enfriar a temperatura ambiente, el complejo de gadolinio de hexaácido de fórmula (I) se aísla por filtración y secado.

- Descomplejamiento selectivo

35 El producto seco se carga en el reactor con agua de ósmosis/a 20°C. La masa de agua añadida es igual al doble de la masa del complejo hexaácido gadolinio de fórmula teórica (I). Se vierte soda al 30.5% (m/m) (6.5 eq) en el medio a 20°C. El medio se deja en contacto a 50°C al final de la adición de NaOH durante 16 horas. El medio se enfría a 25°C y el producto se filtra a través de un lecho de Clarcel.

- **Contenido en la mezcla de diastereoisómeros I-RRR e I-SSS**

40 La proporción en la que están presentes los diferentes isómeros del complejo de fórmula (I) dentro de la mezcla de diastereoisómeros depende de las condiciones bajo las cuales se llevan a cabo las etapas de complejación e isomerización, como se muestra en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3: contenido de la mezcla I-RRR e I-SSS en función de las condiciones de complejación/isomerización

<i>pH</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Contenido en hexaácido de fórmula (III)</i>	<i>Duración</i>	<i>Exceso diastereoisomérico en la mezcla de I-RRR e I-SSS</i>
5.7	80°C	40%	3 h	19%
3.5	90°C	50%	10 h	49%
3.0	101°C	40%	10 h	68%
2.7	101°C	28%	48 h	98.04%

Las etapas adicionales de recristalización y descomplejamiento selectivo permiten aumentar el exceso diastereoisomérico mediante la mezcla I-RRR e I-SSS (véase tabla 4).

- 5 **Tabla 4:** contenido en la mezcla I-RRR e I-SSS después de la cristalización/recristalización/descomplejamiento selectivo

	<i>Después de la 1ª re-cristalización</i>	<i>Después de la re-cristalización</i>	<i>Después del descomplejamiento selectivo</i>
<i>Exceso diastereoisomérico en la mezcla de I-RRR e I-SSS</i>	98.04 %	99.12 %	99.75 %

Preparación del complejo de fórmula (II)

- 10 En un reactor, se cargan 90 kg (119 moles) del complejo hexaácido de fórmula (I) y 650 kg de metanol. La mezcla se enfría a aproximadamente 0°C y luego se vierten 111 kg (252 moles) de una solución de ácido clorhídrico metanólico (HCl al 8.25% en metanol) mientras se mantiene la temperatura a 0°C. El medio de reacción se lleva a temperatura ambiente y luego se agita durante 16 horas. Después de enfriar a 0-5°C, se añaden 120 kg (1319 moles) de 3-amino-1,2-propanodiol. El medio de reacción se calienta destilando el metanol al vacío hasta que se alcanza una temperatura de 60-65°C. El concentrado se mantiene durante 16 horas a esta temperatura al vacío. Al final del contacto, el medio
- 15 se diluye con 607 kg de agua mientras se enfría a temperatura ambiente. La solución del complejo bruto de fórmula (II) se neutraliza con ácido clorhídrico al 20% (m/m). De este modo se obtienen 978.6 kg de solución, con una concentración del 10.3%, que representa 101 kg de material. El rendimiento obtenido es del 86.5%, la pureza del complejo de fórmula (II) es del 92.3% (HPLC s/s). La cantidad de impurezas desacopladas es del 6.4% (HPLC s/s).

Purificación del complejo de fórmula (II)

- 20 • Nanofiltración

La membrana de nanofiltración utilizada tiene un umbral de corte de 200 Daltons (Koch Membran System SR3D). Este procesamiento se lleva a cabo de la siguiente manera:

- 25 La solución compleja cruda de fórmula (II) se calienta a 30°C. El nanofiltro se llena con dicha solución. La bomba se inicia primero a bajo flujo para purgar el sistema, luego el flujo de la bomba de nanofiltro se incrementa gradualmente hasta el flujo de recirculación deseado (1.0 m³/h para una membrana de 2.5 X 40 pulgadas). El sistema se pone en recirculación completa a 30°C durante al menos 2 horas para establecer una capa de polarización. Luego se pasa el medio a través de diafiltración a 30°C bajo 25 bares mientras se mantiene constante el volumen añadiendo agua pura hasta que la conductividad del retenido es inferior a 1000 µS. Al final de la diafiltración, el medio se concentra hasta obtener una concentración de aproximadamente el 40% (m/m).

- 30 • Tratamiento de resina

La solución compleja de fórmula (II) resultante de la nanofiltración se diluye con agua purificada con agitación para obtener una solución al 15% (m/m). Esta solución se eluye en serie en 50 litros de resinas aniónicas fuertes (FPA900) en forma de OH⁻, luego en 50 litros de resinas catiónicas débiles (HP336) en forma de H⁺ a una tasa de elución

promedio de 2V/V/H (2 volúmenes de solución por volumen de resina por hora). Luego, las resinas se enjuagan con aproximadamente 450 litros de agua purificada hasta que se alcanza un índice de refracción inferior a 1.3335.

La solución compleja de fórmula (II) se concentra luego calentando a 50-60°C bajo un vacío de 20 mbar para alcanzar una concentración del 35% (m/m).

5 • Ultrafiltración

La membrana de ultrafiltración es una membrana UF 10KD Koch Spiral.

10 El ultrafiltro se suministra con la solución anterior del complejo de fórmula (II) al 35% calentado a 40°C. La ultrafiltración se aplica a un caudal de 3m³/H con una presión transmembrana de 2.5-3 bares. Se llevan a cabo varios enjuagues del sistema con 13 litros de agua purificada libre de pirógenos hasta que se logra una dilución final del complejo de fórmula (II) del 25% (m/m).

 • Atomización

El complejo de fórmula (II) se obtiene en forma de polvo por atomización de la solución anterior del complejo de fórmula (II) concentrada al 25%.

La atomización se lleva a cabo de la siguiente manera:

15 El atomizador se equilibra con agua pura sin pirógenos ajustando la temperatura de entrada a 165°C - 170°C y adaptando la velocidad de alimentación para que la temperatura de salida esté entre 105 y 110°C .

Luego, se agrega la solución concentrada de fórmula (II) y se ajusta el caudal para mantener los parámetros anteriores.

20 Estas condiciones de funcionamiento se mantienen durante toda la atomización, mientras se garantiza el buen comportamiento del polvo en la cámara de atomización y en la salida del atomizador. En particular, asegurarse de que el producto no se pegue.

Al final de la alimentación del atomizador con la solución, el recipiente de este complejo de fórmula (II) y el atomizador se enjuagan con agua pirogénica pura hasta la máxima recuperación del polvo.

Se obtiene un complejo de fórmula (II) que es 99.6% puro.

Este grado de pureza es determinada por cromatografía líquida en fase reversa.

25 **Composición según la invención y resultados de estudios al respecto**

 • Ejemplo de un proceso de fabricación según la invención.

El proceso para fabricar una composición según la invención se lleva a cabo siguiendo las siguientes etapas:

30 a) 485.1 g (o 0.5 M) de complejo de fórmula (II) se disuelve en agua (qs 1 litro) calentando el tanque a una temperatura entre 39 y 48°C y llevando a cabo una fuerte agitación de la solución hasta la disolución completa de este complejo en agua. La solución se enfría luego a aproximadamente 30°C.

b) se agregan 0.404 g (es decir, 0.2% mol/mol con relación a la proporción de complejo agregado en la etapa a)) de DOTA (Simafex, Francia) con agitación a la solución obtenida en la etapa a) a través de una solución DOTA al 10% m/v.

35 c) Se agrega trometamol (Tris) a la solución obtenida en la etapa b) con agitación. El pH se ajusta luego a un valor entre 7.2 y 7.7 mediante la adición con agitación de una solución de ácido clorhídrico.

d) La concentración objetivo (0.5 mol/L) se obtiene agregando agua ppi en dos etapas hasta obtener un valor de densidad entre 1.198 y 1.219 g/mL.

La composición líquida se filtra luego a través de una membrana de polietersulfona y se coloca en su recipiente final, que finalmente se somete a esterilización a 121°C durante 15 minutos.

40 • Ejemplo de composición según la invención.

Gracias al proceso descrito anteriormente, se obtiene la siguiente formulación:

Ingredientes	Proporciones en la composición
Complejo de fórmula (II)	485.1 g (0.5 M)
DOTA**	0.404 g (1 mM, es decir, 0.2% mol/mol vs complejo)
NaOH o HCl	Qs pH 7.2 a 7.7
Trometamol	1.211 g
Gadolinio libre*	< 1 ppm m/v
Agua ppi (lista para inyección)	Qs 1 L
* Medición realizada por método colorimétrico con xilenol naranja	
** expresado en una base anhidra y pura	

• Pruebas de formulación realizadas

5 Se probaron diferentes concentraciones de trometamol de 0 a 100 mM. Los resultados de estas pruebas mostraron que un contenido de 10 mM (0.12% p/v) era suficiente para garantizar la estabilidad del pH de la formulación al tiempo que limiaba la formación de impurezas degradantes.

Se probaron diferentes concentraciones de DOTA de 0 a 2.5 mM. Los resultados de estas pruebas han demostrado que un contenido de 1 mM, que corresponde a 0.04% m/v o 0.2% mol/mol, asegura la ausencia de liberación de Gd libre durante el proceso y durante la vida del producto.

• Estudios de estabilidad en condiciones aceleradas de una composición según la invención.

10 La formulación del ejemplo anterior se analiza justo después de su fabricación (T₀) y después del almacenamiento a 40°C durante 6 meses después de su fabricación (T+6 meses).

A T₀ :

- Pureza evaluada por cromatografía*: 99.6%
- Concentración de Gd-DOTA: 0.007% (m/V)
- 15 - Concentración de Gd: por debajo del 0.0001% (m/V)
- pH: 7.5

A T+6 meses :

- Pureza evaluada por cromatografía *: 97.2%
- Concentración de Gd-DOTA: 0.014% (m/V) - 0.25 mM
- 20 - Concentración de Gd: por debajo del 0.0001% (m/V)
- pH: 7.5

* cromatografía líquida en fase reversa

Estos resultados demuestran que esta formulación tiene buena estabilidad en el tiempo.

• Estudios comparativos de estabilidad

25 La estabilidad de las siguientes composiciones se evaluó con el tiempo. El término "PA no optimizado" designa el principio activo, a saber, el complejo de fórmula (II), obtenido de acuerdo con el proceso descrito en el documento EP 1 931 673. El término "PA optimizado" designa el complejo de fórmula (II) diastereoisoméricamente enriquecido y purificado obtenido por el proceso de acuerdo con la invención.

	PA (0.5 M)	[DOTA] % mol/mol	Trometamol mM	pH _{ajuste}
C1	No optimizado	0.3	-	5.0
C2	Optimizado	0.2	-	7.5
C3	Optimizado	0.1	-	7.5
C4	Optimizado	0.2	10	7.5
C5	Optimizado	0.1	10	7.5
C6	Optimizado	0.2	-	5.0
C7	Optimizado	0.1	-	5.0

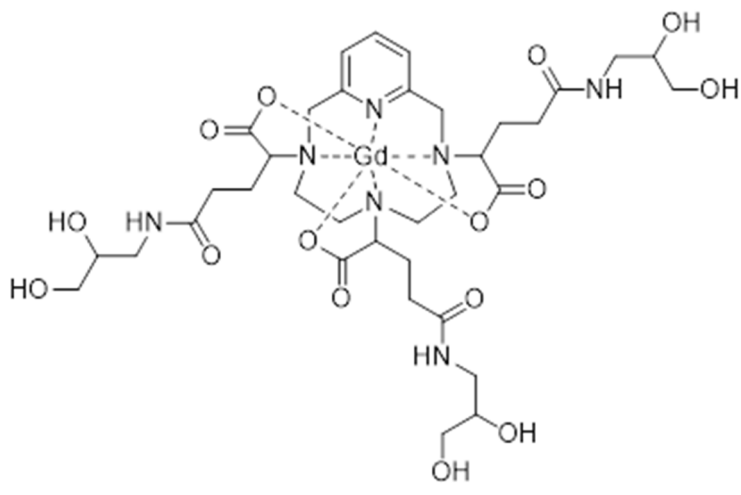
	Gd libre en ppm m/v (xilenol)		DOTA-Gd en % mol/mol (Formiato LC*)	
	T 0	T 6 meses 40°C	T 0	T 6 meses 40°C
C1	< LOD	0.18	0.27	0.3
C2	< LOD	< LOD	0.02	0.05
C3	< LOD	< LOD	0.02	0.05
C4	< LOD	< LOD	0.02	0.05
C5	< LOD	< LOD	0.02	0.08
C6	< LOD	< LOD	0.03	0.03
C7	< LOD	< LOD	0.02	0.07
* Formiato LC: método cromatográfico que implica detección fluorimétrica. La separación se lleva a cabo en una columna cromatográfica injertada con C18 en fase inversa con elución en modo gradiente.				

Los resultados informados anteriormente indican que la formulación del PA no optimizado con DOTA libre no es posible. De hecho, el excipiente quelante se consume por completo por la reacción de transligación entre el complejo de fórmula (II) y DOTA, y por lo tanto ya no puede cumplir su función de atrapar Gd³⁺ liberado.

- 5 Por otro lado, el complejo de fórmula (II) enriquecido y purificado diastereoisoméricamente obtenido por el proceso anteriormente descrito puede formularse con DOTA libre. De hecho, existe la ausencia de Gd libre en la composición a los 6 meses, 40°C, independientemente del pH de la formulación y de si hay o no especies tamponantes. Además, el consumo de excipiente quelante es muy bajo, ya que no supera el 0.08% mol/mol.

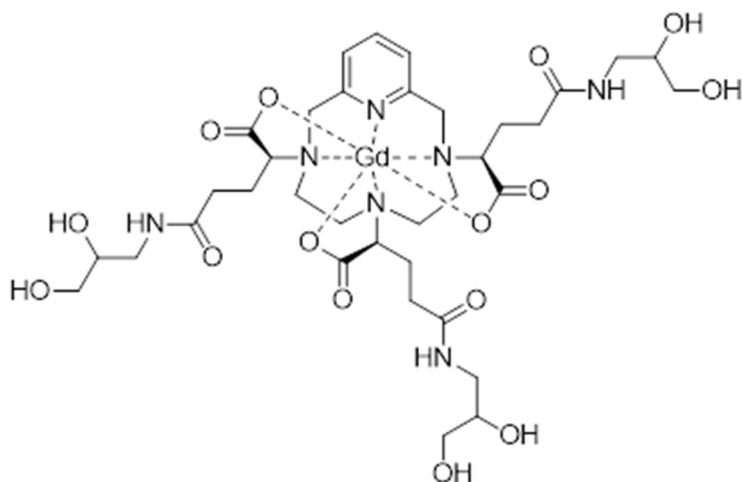
REIVINDICACIONES

1. Compuesto que comprende el complejo de la fórmula (II) siguiente:

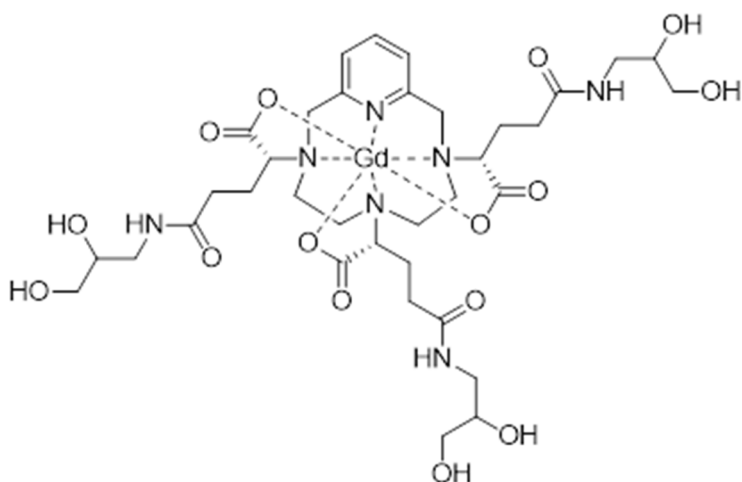


(II)

que consiste en al menos el 80% de un exceso diastereoisomérico que comprende una mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS de fórmulas:



(II-SSS),



(II-RRR).

y un ligando macrocíclico libre, y que ventajosamente tiene una concentración de gadolinio libre inferior a 1 ppm (m/v), caracterizado por que comprende entre 0,002 y 0,4 mol/mol de ligando macrocíclico libre con respecto al complejo de fórmula (II).

2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que el complejo de fórmula (II) presenta al menos 90% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.
3. Compuesto según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que el complejo de fórmula (II) presenta al menos 92% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.
- 5 4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que el complejo de fórmula (II) presenta al menos 94% del exceso diastereoisomérico que comprende la mezcla de isómeros II-RRR e II-SSS.
5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que comprende entre 0,01 y 0,3 mol/mol de ligando macrocíclico libre con respecto al complejo de fórmula (II).
- 10 6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que el ligando macrocíclico libre se selecciona del grupo que consiste en DOTA, NOTA, DO3A, BT-DO3A, HP-DO3A, PCTA, DOTA-GA y sus derivados.
7. Compuesto según la reivindicación 6, caracterizado por que el ligando macrocíclico libre es ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano -1,4,7,10-tetraacético (DOTA).
8. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que tiene una concentración de entre 0,01 y 1,5 mol.L⁻¹, preferentemente de entre 0,2 y 0,7 mol.L⁻¹ del complejo de fórmula (II).
- 15 9. Compuesto según la reivindicación 8, caracterizado por que la concentración del complejo de fórmula (II) está comprendida entre 0,3 y 0,6 mol.L⁻¹.
10. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado por que su pH está comprendido entre 6,5 y 8.
- 20 11. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por que comprende el tampón Tris (Tris(hidroximetil)aminometano).
12. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado por que el grado de pureza del complejo de fórmula (II) es superior al 95%.
13. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizado por que el grado de pureza del complejo de fórmula (II) es superior al 97%.
- 25 14. Compuesto según las reivindicaciones 12 ó 13, caracterizado por que el ligando macrocíclico libre es DOTA y en que tiene una concentración de gadolinio libre inferior a 1 ppm (p/v).
15. Compuesto según la reivindicación 14, caracterizado por que comprende entre 0,002 y 0,4 % mol/mol de DOTA en relación al complejo de fórmula (II).