NUEVOS COMPUESTOS DE QUELATO DE GADOLINIO PARA USAR EN IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a los artículos caracterizados en las reivindicaciones de patentes de invención, a saber nuevos quelatos de gadolinio extracelulares de alta relaxividad basados en poliaminas centrales de bajo peso molecular, métodos para preparar dichos compuestos, uso de tales compuestos como agentes de contraste de imágenes de resonancia magnética (IRM) y su uso en el cuerpo de un mamífero.

Antecedentes

1. Introducción

Se aprobaron nueve agentes de contraste basados en gadolinio (GBCA, por sus siglas en inglés) para uso clínico: gadopentetato de dimeglumina (Magnevist®), gadoterate de meglumina (Dotarem®), gadoteridol (ProHance®), gadodiamida (Omniscan®), gadobutrol (Gadovist®), gadoversetamida (OptiMARK®), ácido gadoxético (Primovist®), gadobenato de dimeglumina (MultiHance®) y gadofosveset trisódico (Vasovist®/Ablavar®). Con excepción del ácido gadoxético, el gadobenato de dimeglumina y gadofosveset trisódico, los GBCA presentan una distribución pasiva estrictamente extracelular en el cuerpo y son excretados exclusivamente por medio del riñón.

El ácido gadoxético y el gadobenato de dimeglumina presentan un perfil farmacocinético diferente al de los otros agentes. Además de la distribución extracelular, son absorbidos y también excretados parcialmente por el hígado. Ello permite, además de las posibilidades de análisis por imágenes clásicas (por ejemplo, imágenes del sistema nervioso central, angiografía, extremidades, corazón, cabeza/rostro/cuello, abdomen y mama), también imágenes del hígado debido a la mejora del parénquima del hígado causada por la absorción de los GBCA en hepatocitos.

En contraposición a los otros GBCA, el gadofosveset trisódico no muestra ninguna difusión pasiva en el cuerpo y permanece en el espacio vascular. El período prolongado en los vasos sanguíneos causado por la unión reversible a la albúmina de suero humano (HSA, *por sus siglas en inglés*) permite angiografías de RM de alta resolución.

Los diversos GBCA difieren en su eficacia, que es dada por su relaxividad longitudinal (r1) y transversal (r2) y depende de las resistencias del campo magnético, la temperatura y diferentes factores intrínsecos de los quelatos de metal. Los parámetros que influyen en la relaxividad intrínseca son principalmente la cantidad de moléculas de agua unidas directamente al gadolinio (denominadas esferas de agua internas, q), el tiempo de residencia medio de las moléculas de esferas de agua internas (τm), la cantidad y tiempos de residencia de las moléculas de agua en la segunda esfera de hidratación (denominada segunda

esfera de agua) y la difusión giratoria (τr) (Helm L. et. al., Future Med Chem. 2010; 2: 385-396). En términos de su relaxividad, todos los GBCA disponibles en el comercio son muy similares entre sí y derivan de un rango de 4 a 7 L $mmol^{-1}s^{-1}$.

Las estrategias para aumentar la sensibilidad de los GBCAs se describen con frecuencia en la literatura (Caravan P. et. al. Chem. Soc. Rev., 2006, 35, 512-523, Helm et.al. Future Med Chem. 2010; 2:385-396, Jacques V. Invest Radiol. 2010;45:613-624). Una de las estrategias es el aumento de las moléculas de esferas de agua internas (q) que son moléculas de agua que se hallan directamente coordinadas al ión de gadolinio en el quelato. Tal como muestran los ejemplos de ligandos basados en HOPO y AAZTA, el aumento de las moléculas de esferas de agua internas de una a dos conduce a un aumento significativo en la relaxividad. Otra estrategia para aumentar la relaxividad es la ralentización de la difusión giratoria de la molécula. La denominada tasa de colapso (τr, véase la introducción) describe el colapso de la molécula en solución y es afectada principalmente por el tamaño de la molécula y la unión a proteínas de los GBCA (Merbach A.S. et. al., The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging, 2013, ISBN: 978-1-119-99176-2).

Otra característica importante de los GBCA es su estabilidad compleja. El potencial de los GBCA para liberar iones de Gd^{3+} tóxicos libres constituye una cuestión de seguridad mayor y de suma importancia,

en particular para pacientes con enfermedad renal en etapa terminal. La fibrosos sistémica nefrogénica (NSF, *por sus siglas en inglés*) es un síndrome raro y grave que se asocia con la exposición a los GBCA en pacientes con falla severa de los riñones. La NSF comprende cambios fibróticos en la piel y muchos órganos. En 2010, la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, *por sus siglas en inglés*) publicó recomendaciones revisadas de etiquetado para cuatro GBCA, implicados principalmente en la NSF, que incluyen gadodiamida (Omniscan®), gadobenato de dimeglumina (MultiHance®), gadopentetato de dimeglumina (Magnevist®) y gadoversetamida (OptiMARK®) (Yang L et. al. Radiology. 2012;265:248-253). A primera vista, la estabilidad de todos los GBCA es muy alta, pero existen diferencias significativas entre los agentes lineales y macrocíclicos y entre los representantes iónicos y no iónicos de los agentes lineales. Los GBCA macrocíclicos poseen las estabilidades complejas más elevadas (Frenzel T. et. al. Invest Radiol. 2008; 43:817-828). Debido a un mejor conocimiento de los pacientes en riesgo, al uso de menores dosis y a un uso más extendido de los GBCA macrocíclicos, la incidencia de la NSF ha disminuido en los últimos años (Wang Y. et.al. Radiology. 2011;260:105-111 y Becker S. et.al. *Nephron Clin Pract*. 2012; 121:c91-c94).

La cuestión esencial para aplicaciones clínicas es la estabilidad in vivo. La inercia cinética combinada con la estabilidad termodinámica es particularmente con respecto al riesgo de fibrosis sistémica nefrogénica

(NSF, por sus siglas en inglés), el mejor indicador de la toxicidad in vivo de quelatos q=2 (Merbach A.S. et. al., The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging, 2013, ISBN: 978-1-119-99176-2, páginas 157-208). Los complejos con q=2 muestran una doble mejora de la relaxividad pero, desafortunadamente, poseen una menor estabilidad que los compuestos q=1 (Hermann P. et.al. Dalton Trans., 2008, 3027-3047).

2. Descripción del arte previo, problema a resolver y su solución

Se describen varios compuestos macrocíclicos en el arte previo.

EP1931673 B1 y EP2457914 B1 se refieren a compuestos de pyDO3A (q=2), DO3A y DOTA que comprenden complejos de metal y cadenas de aminoalcohol cortas y complejos de metales para imágenes médicas.

Los GBCA tipo DO3A y DOTA de lantánidos macrocíclicos con elevadas relaxividades se encuentran descriptos en el arte previo.

Ranganathan R.S. et.al. (Investigative Radiology 1998;33:779-797) investigaron el efecto de la multimerización en la relaxividad de los quelatos de gadolinio macrocíclicos. WO199531444 se refiere a compuestos monoméricos y multiméricos que poseen relaxividades mejoradas.

US 5679810 se refiere a compuestos poliquelantes de oligómeros lineales y quelatos formados con ellos, que poseen fracciones enlazantes

y quelantes alternas unidas juntas por medio de fracciones amida o éster, y al uso en imágenes de diagnóstico.

US 5650133 se refiere a diquelantes, en particular compuestos que poseen dos grupos quelantes macrocíclicos unidos por un puente que contiene un enlace amida o éster, y a sus quelatos de metal, así como también al su uso en imágenes de diagnóstico.

WO 97/32862 A1 describe poliquelantes de gadolinio como agentes de imágenes de resonancia magnética que unen al menos dos unidades de quelante a los grupos amino de una estructura vehicular objetivo (como, por ejemplo, una proteína, aminoácido o péptido).

US 2007/202047 se refiere a compuestos de de quelatos de gadolinio para usar en imágenes de resonancias magnéticas, que derivan de una molécula quelante seleccionada de ácido 1,4,7,10-tetraazaciclo-dodecan-1,4,7,10-tetraacético (DOTA) y ácido dietilentriaminapentaacético (DTPA), donde al menos uno de los grupos carboxílicos de la molécula quelante se hace reaccionar con una amina.

Los GBCA con mayor relaxividad ofrecen, por un lado, la oportunidad de una reducción considerable de la dosis y, por otro lado, una mayor sensibilidad en la examinación de IRM de muchas enfermedades con el uso de dosis estándar (Giesel FL. et.al. Eur Radiol 2010, 20: 2461–2474).

Sin embargo, existe una necesidad médica insatisfecha de proporcionar GBCA para uso general en imágenes de resonancias magnéticas, que:

- presenten una alta relaxividad,
- muestren un perfil farmacocinético favorable,
- sean completamente excretados,
- sean químicamente estables,
- presenten una elevada solubilidad en agua,
- ofrezcan el potencial de una reducción considerable de la dosis,
- sean adecuados para imágenes de diferentes regiones del cuerpo; y
- sean muy bien tolerados.

El estado de la técnica descripta precedentemente no describe los compuestos de quelato de gadolinio extracelulares de alta relaxividad específicos de fórmula general (I) de la presente invención de acuerdo con lo definido en la presente, o un estereoisómero, tautómero, N-óxido, hidrato, solvato o una sal de los mismos, de acuerdo con lo descripto y definido en la presente y de acuerdo con lo referido de aquí en adelante como “compuestos de la presente invención”.

Actualmente, se ha hallado y ello constituye luna base de la presente invención, que dichos compuestos de la presente invención poseen propiedades sorprendentes y ventajosas.

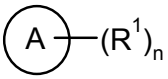
En particular, se halló que los compuestos de la presente invención presentan un perfil equilibrado de una elevada relaxividad, un perfil farmacocinético favorable, una excreción completa, una elevada estabilidad, una elevada solubilidad, el potencial para una reducción considerable de la dosis y el potencial para imágenes de todo el cuerpo, por lo cual, se pueden usar como agentes de contraste para imágenes de resonancia magnética (IRM).

SÍNTESIS

La presente invención describe una nueva clase de complejos de quelato de gadolinio extracelular de alta relaxividad, métodos para su preparación y su uso como agentes de contraste de IRM.

Descripción de la Invención

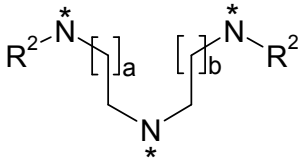
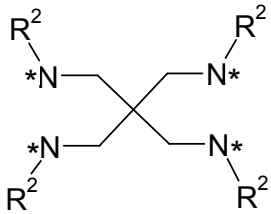
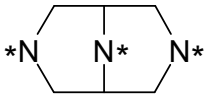
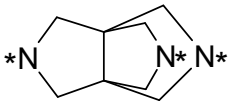
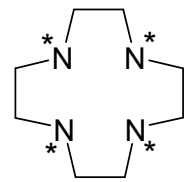
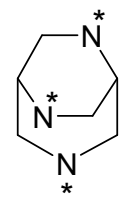
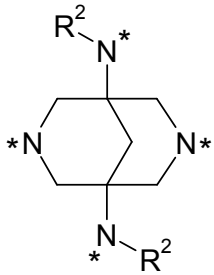
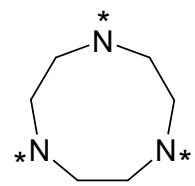
De acuerdo con un primer aspecto, la presente invención abarca compuestos de fórmula general (**I**), que comprenden 4, 5, 6, 7 u 8 grupos [4,7,10-tris (carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio:



(**I**),

en la que:

A representa un grupo seleccionado de:

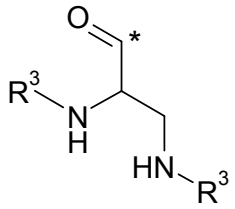
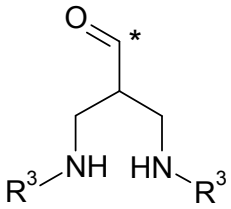

,

,

,

,

,

,

, y

;

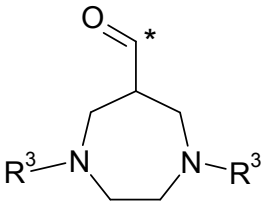
en cuyos grupos a y b representan, de manera independiente respecto uno del otro, un número entero de 1 o 2;

y,

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1;

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de:

R^3 ,  ,  , y



,

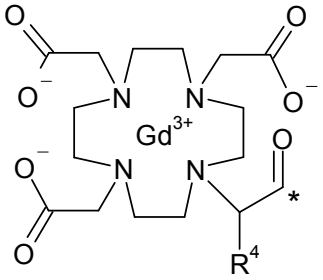
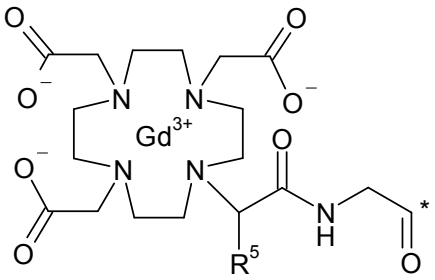
en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con A,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar a un átomo de hidrógeno;

n representa un número entero de 3 o 4;

R^2 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo;

R^3 representa un grupo seleccionado de:

 , y  ;

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula;

R^4 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo;

R^5 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo ;

o un estereoisómero, tautómero, N-óxido, hidrato, solvato, o una sal del mismo, o una mezcla de ellos.

Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más centros asimétricos, según la ubicación y naturaleza de los diversos sustituyentes deseados. Los átomos de carbono asimétricos pueden estar presentes en la configuración (R) o (S), que puede resultar en mezclas racémicas en el caso de un único centro asimétrico, y en mezclas diastereoméricas en el caso de múltiples centros asimétricos. En ciertas instancias, la asimetría puede también hallarse presente debido a la rotación restringida alrededor de un enlace dado, por ejemplo, el enlace central que une dos anillos aromáticos sustituidos de los compuestos especificados.

Los compuestos preferidos son aquellos que producen la actividad biológica más deseable. Los isómeros y estereoisómeros puros o parcialmente purificados, separados o las mezclas racémicas o diastereoméricas de los compuestos de la presente invención se incluyen también dentro del alcance de la presente invención. La purificación y separación de tales materiales se puede lograr mediante técnicas estándar conocidas en el arte.

Los isómeros ópticos se pueden obtener mediante redisolución de las mezclas racémicas de acuerdo con procesos convencionales, por ejemplo, mediante la formación de sales diastereoisoméricas con el uso de un ácido activo o base activa o la formación de diastereómeros covalentes. Los ejemplos de ácidos adecuados son el ácido tartárico, diacetiltartárico, ditoluoiltartárico y canforsulfónico. Las sobre luna base de sus diferencias físicas y/o químicas mediante métodos conocidos en el arte, por ejemplo, mediante cromatografía o cristalización fraccional. Las bases o ácidos ópticamente activos se liberan luego de las sales diastereoméricas separadas. Un proceso diferente para la separación de isómeros ópticos comprende el uso de una cromatografía quiral (por ejemplo, columnas de HPLC quiral), con o sin derivación convencional, elegidos óptimamente para maximizar la separación de los enantiómeros. Las columnas de HPLC quiral adecuadas son fabricadas por Daicel, por ejemplo, Chiracel OD y Chiracel OJ, entre muchas otras, todas rutinariamente seleccionables. Las separaciones enzimáticas, con o sin derivación, también son útiles. Los compuestos ópticamente activos de la presente invención pueden obtenerse incluso mediante síntesis quirales con el uso de materiales de partida ópticamente activos.

A los efectos de limitar los diferentes tipos de isómeros entre sí, se hace referencia a la Sección E de las Normas IUPAC (Quím. Apl. Pura 45, 11-30, 1976).

La presente invención incluye todos los estereoisómeros posibles de los compuestos de la presente invención como estereoisómeros únicos o como cualquier mezcla de dichos estereoisómeros, por ejemplo, isómeros R o S, o isómeros E o Z, en cualquier relación. El aislamiento de un único estereoisómero, por ejemplo, un único enantiómero o un único diastereómero, de un compuesto de la presente invención se puede lograr mediante cualquier estado adecuado del método de la técnica, como, por ejemplo, cromatografía, especialmente la cromatografía quiral.

Además, los compuestos de la presente invención pueden existir como N-óxidos, que se hallan definidos, ya que al menos un nitrógeno de los compuestos de la presente invención es oxidado. La presente invención incluye a la totalidad de tales N-óxidos posibles.

La presente invención se refiere también a formas útiles de los compuestos descriptos en la presente como, por ejemplo, metabolitos, hidratos, solvatos, sales, en particular sales farmacéuticamente aceptables y coprecipitados.

Los compuestos de la presente invención pueden existir en forma de un hidrato, o un solvato, en donde los compuestos de la presente invención contienen solventes polares, en particular agua, metanol, o etanol, por ejemplo, como elemento estructural de la red cristalina de los compuestos. La cantidad de solventes polares, en particular agua, puede existir en una relación estequiométrica o no estequiométrica. En el caso de los solvatos estequiométricos, por ejemplo, un hidrato, hemi-, (semi-),

mono-, sesqui-, di-, tri-, tetra-, penta- *etc*. solvatos o hidratos, respectivamente, son posibles. La presente invención incluye la totalidad de tales hidratos o solvatos.

Además. los compuestos de la presente invención pueden existir en forma de sal. Dicha sal puede ser una sal de adición orgánica o inorgánica, particularmente cualquier sal de adición inorgánica u orgánica aceptable desde el punto de vista farmacéutico de uso habitual en farmacia.

El término “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal de adición de ácido inorgánica u orgánica, relativamente no tóxica, de un compuesto de la presente invención. Por ejemplo, véase S. M. Berge, *et al*. “Pharmaceutical Salts”, J. Pharm. Sci. **1977**, 66, 1-19. La producción de sales especialmente neutras se encuentra descripta en US 5.560.903.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la invención incluyen sales de ácidos minerales y ácidos carboxílicos, por ejemplo, en forma no taxativa, sales de ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido aspártico, y ácido glutámico.

Los expertos en la técnica reconocerán además que las sales de adición de ácido de los compuestos reivindicados se pueden preparar mediante la reacción de los compuestos con el ácido orgánico o

inorgánico adecuado mediante cualquiera de diversos métodos conocidos.

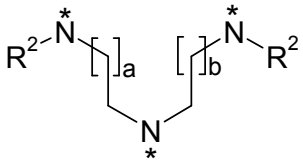
La presente invención incluye la totalidad de sales posibles de los compuestos de la presente invención en forma de sales únicas, o como cualquier mezcla de dichas sales, en cualquier relación.

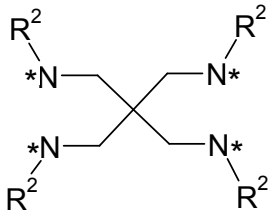
En el presente texto, en particular en la Sección Experimental, para la síntesis de intermediarios y de ejemplos de la presente invención, cuando un compuesto se menciona como una forma salina con luna base o ácido correspondiente, la composición estequiométrica exacta de dicha forma salina, de acuerdo con lo obtenido mediante la preparación respectiva y/o el proceso de purificación respectivo, en la mayoría de los casos es desconocido.

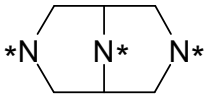
Ello se aplica análogamente a los casos en los que los intermediarios de la síntesis, los compuestos de ejemplo o sus sales se obtuvieron mediante la preparación y/o procesos de purificación descriptos como solvatos, como, por ejemplo, hidratos (si estuvieren definidos) con una composición estequiométrica desconocida.

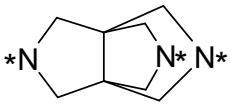
De acuerdo con una segunda modalidad del primer aspecto, la presente invención abarca compuestos de fórmula general (I), *supra*, que comprenden 4, 5 o 6 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio, donde :

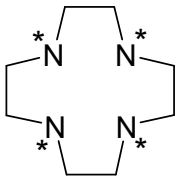
A representa un grupo seleccionado de:

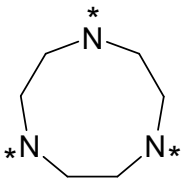


,


,


,


,


, y


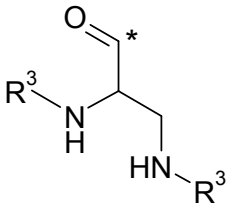
;

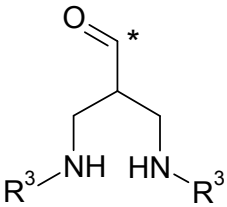
en cuyos grupos a y b representan, de manera independiente respecto uno del otro, un número entero de 1 o 2;

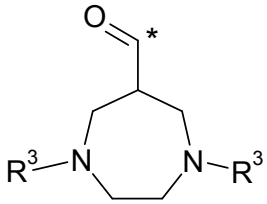
y,

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1;

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de:

R^3 ,


,


, y


,

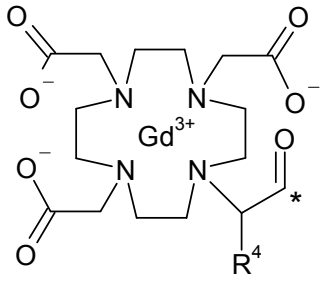
en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con A ,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar a un átomo de hidrógeno;

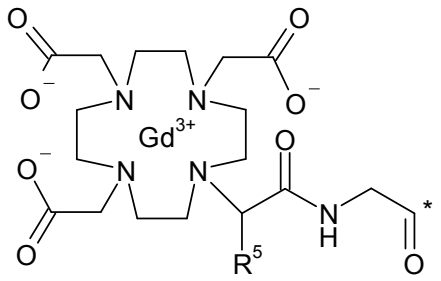
n representa un número entero de 3 o 4;

R^2 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo;

R^3 representa un grupo seleccionado de:



, y



;

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula;

R^4 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo;

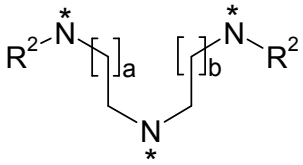
R^5 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo;

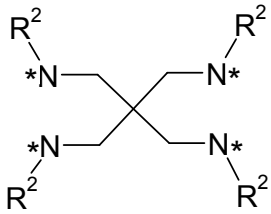
o un estereoisómero, tautómero, N-óxido, hidrato, solvato, o una sal del mismo, o una mezcla de ellos.

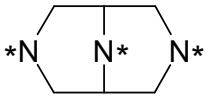
De acuerdo con una tercera modalidad del primer aspecto, la presente invención abarca compuestos de fórmula general (I), *supra*, que

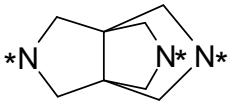
comprenden 4, 5 o 6 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il] de gadolinio, donde :

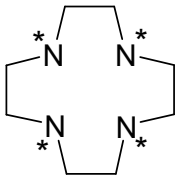
A representa un grupo seleccionado de:

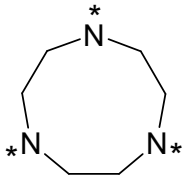


,


,


,


,


, y


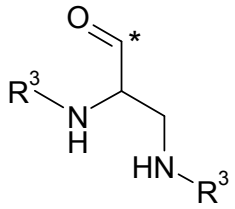
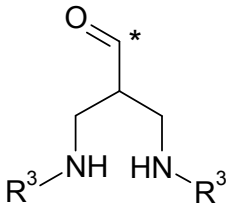
;

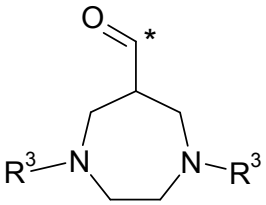
en cuyos grupos a y b representan un número entero de 1;

y,

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1;

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de:

R^3 ,  ,  , y

 ,

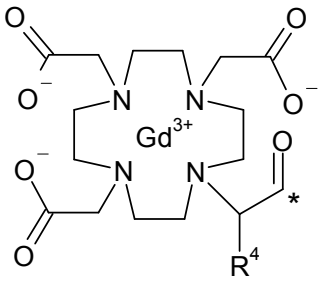
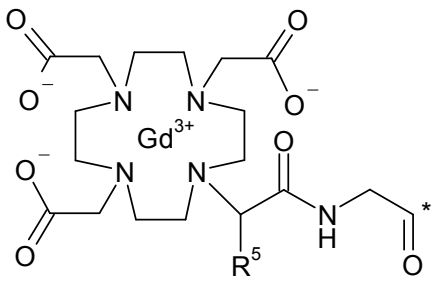
en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con A,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar un átomo de hidrógeno;

n representa un número entero de 3 o 4;

R^2 representa un átomo de hidrógeno;

R^3 representa un grupo seleccionado de:

 , y  ;

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula;

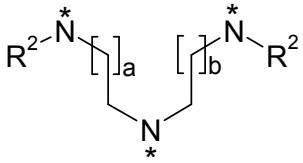
R^4 representa un átomo de hidrógeno;

R^5 representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo;

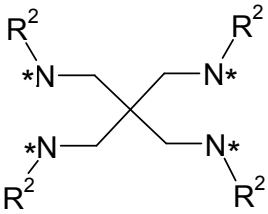
o un estereoisómero, tautómero, N-óxido, hidrato, solvato, o una sal del mismo, o una mezcla de ellos.

De acuerdo con una cuarta modalidad del primer aspecto, la presente invención abarca compuestos de fórmula general (I), *supra*, que comprenden 4, 5 o 6 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio, donde:

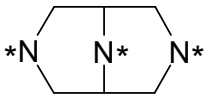
A representa un grupo seleccionado de:



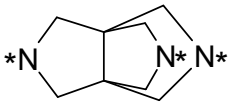
,



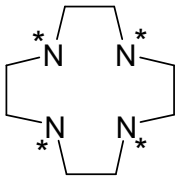
,



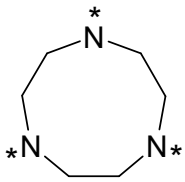
,



,



, y



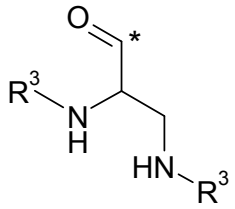
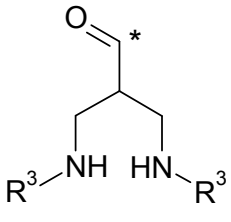
;

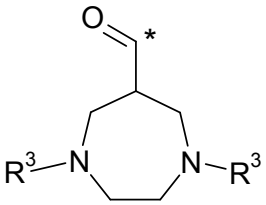
en cuyos grupos a y b representan un número entero de 1;

y,

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1;

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de:

R^3 ,  ,  , y

 ,

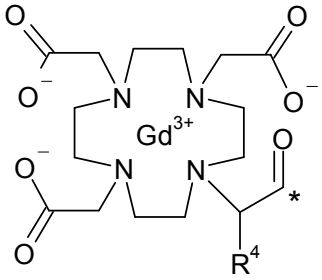
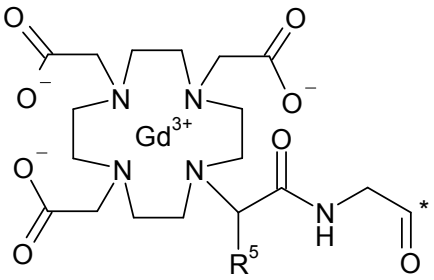
en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con A,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar un átomo de hidrógeno;

n representa un número entero de 3 o 4;

R^2 representa un átomo de hidrógeno;

R^3 representa un grupo seleccionado de:

 , y  ;

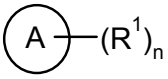
en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula;

R^4 representa un átomo de hidrógeno;

R^5 representa un grupo metilo;

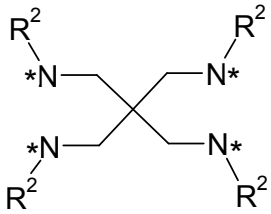
o un estereoisómero, tautómero, N-óxido, hidrato, solvato, o una sal del mismo, o una mezcla de ellos.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención abarca compuestos de fórmula general (I),



(I) ,

en la que:

A representa un grupo  ,

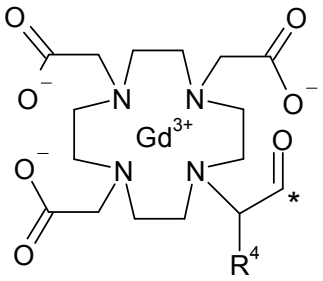
en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1;

R^1 representa un grupo R^3;

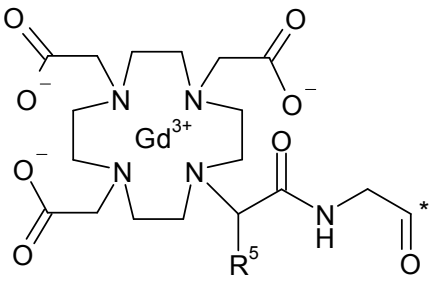
n representa un número entero de 4;

R^2 representa un átomo de hidrógeno;

R^3 representa un grupo seleccionado de:



, y



,

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula;

R^4 representa un átomo de hidrógeno;

R^5 representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo;

o un estereoisómero, tautómero, N-óxido, hidrato, solvato, o una sal del mismo, o una mezcla de ellos.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), que comprenden 4, 5, 6, 7 o 8 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), que comprenden 4, 5 o 6 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), que comprenden 4 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), que comprenden 5 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio.

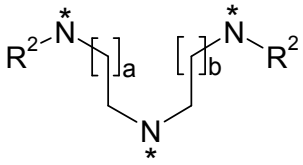
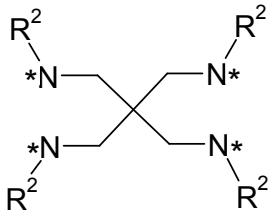
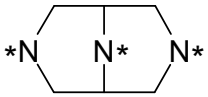
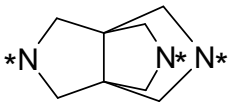
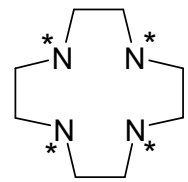
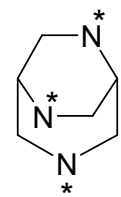
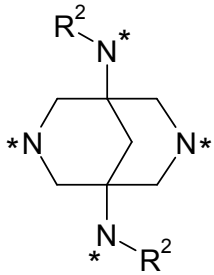
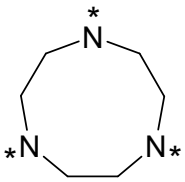
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), que comprenden 6 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), que comprenden 7 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), que comprenden 8 grupos [4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-ilo] de gadolinio.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo seleccionado de:

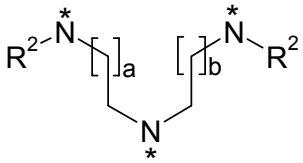
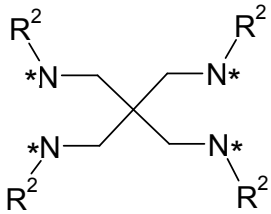
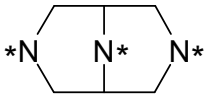
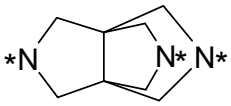
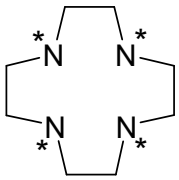
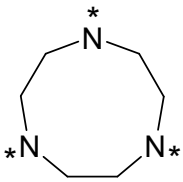

,

,

,

,

,

,

, y

;

en cuyos grupos a y b representan, de manera independiente respecto uno del otro, un número entero de 1 o 2; y

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), donde:

representa un grupo seleccionado de:

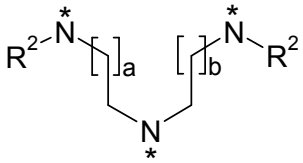
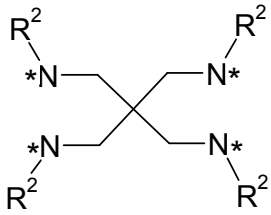
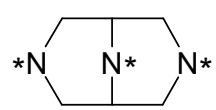
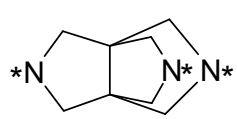
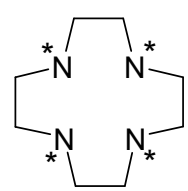
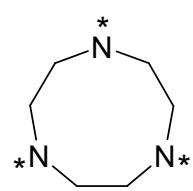







en cuyos grupos a y b representan, de manera independiente respecto uno del otro, un número entero de 1 o 2; y

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1 .

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

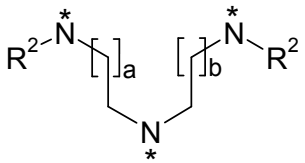
A representa un grupo seleccionado de:

en cuyos grupos a y b representan un número entero de 1; y

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

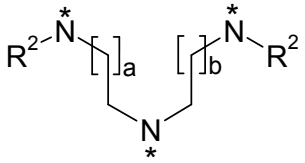
A representa un grupo  ,

en cuyos grupos a y b representan, de manera independiente respecto uno del otro, un número entero de 1 o 2;

y

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

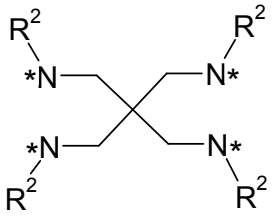
A representa un grupo  ,

en cuyos grupos a y b representan un número entero de 1;

y

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

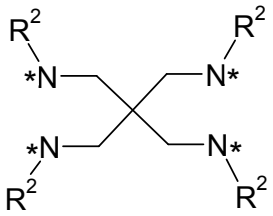
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo 

,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo 

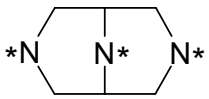
,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1,

y

R^2 representa un átomo de hidrógeno.

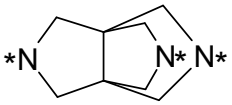
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo 

,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

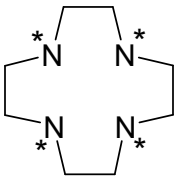
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo 

,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

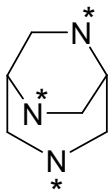
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo 

,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

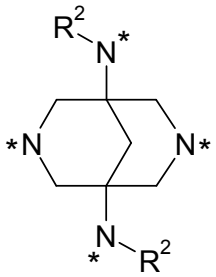
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo 

,

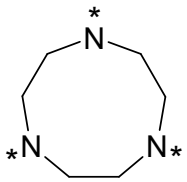
en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo  ,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

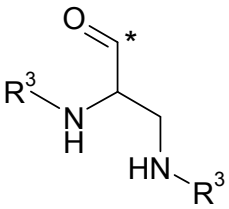
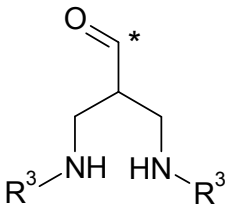
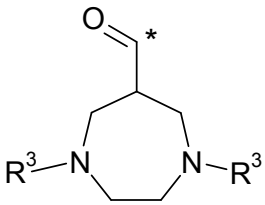
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

A representa un grupo  ,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con R^1.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de:

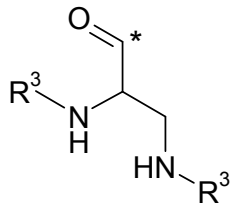
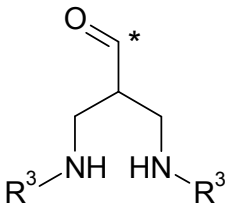
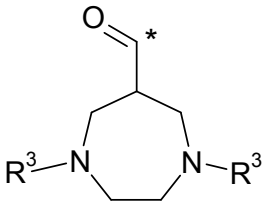
R^3,  ,  , y  ,

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con A ,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar un átomo de hidrógeno.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

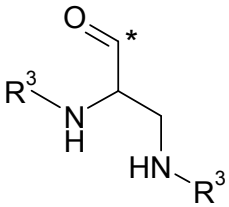
R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro un grupo seleccionado de:

R^3 ,  ,  , y  ,

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con A.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

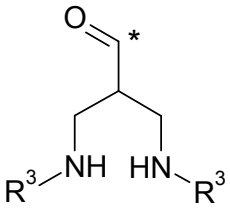
R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro un grupo seleccionado de:

R^3 , y  ,

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con A.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro un grupo seleccionado de:

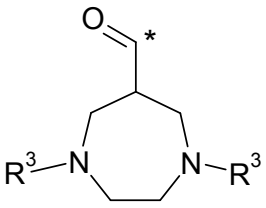
R^3 , y 

,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con A.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro un grupo seleccionado de :

R^3 , y 

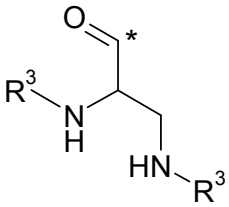
,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con A.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

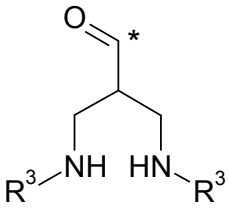
R^1 representa un grupo R^3.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa un grupo 

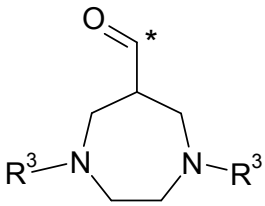
en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con A.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa un grupo  ,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con A.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa un grupo  ,

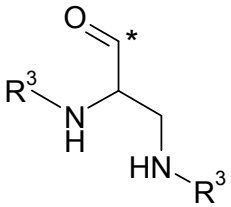
en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con A.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo R^3,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar un átomo de hidrógeno .

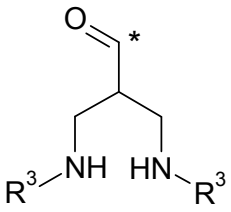
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo 

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con A,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar un átomo de hidrógeno.

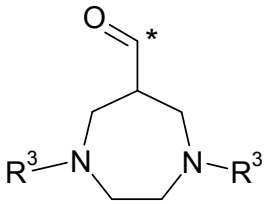
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo  ,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con A,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar un átomo de hidrógeno.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^1 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo 

,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con A,

con la condición de que solamente uno de los sustituyentes R^1 puede representar un átomo de hidrógeno.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

n representa un número entero de 3 o 4.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

n representa un número entero de 3.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

n representa un número entero de 4.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^2 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

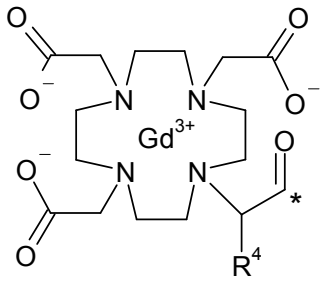
R^2 representa un átomo de hidrógeno.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

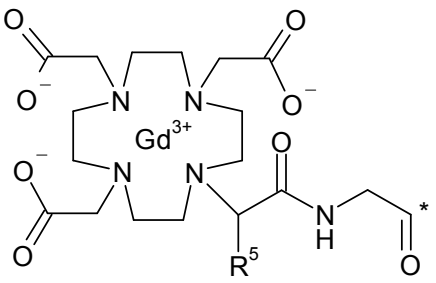
R^2 representa un grupo metilo.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^3 representa un grupo seleccionado de:



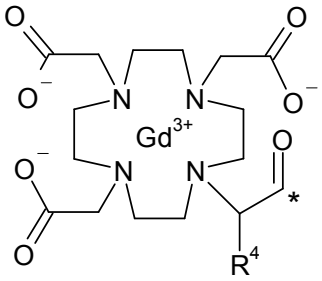
, y



;

en cuyos grupos * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula.

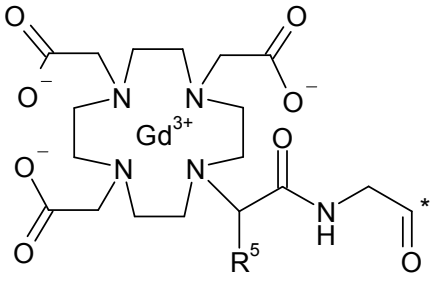
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^3 representa un grupo 

,

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula.

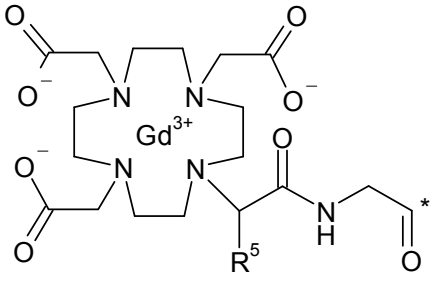
En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^3 representa un grupo 

;

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^3 representa un grupo 

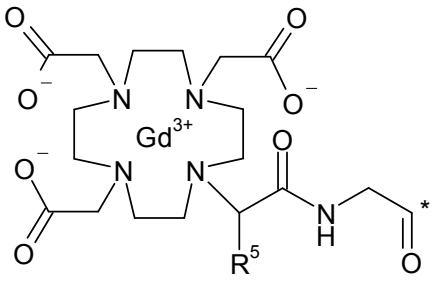
;

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula;

y

R^5 representa un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^3 representa un grupo 

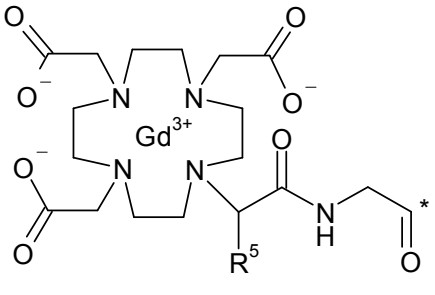
;

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula;

y

R^5 representa un átomo de hidrógeno.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^3 representa un grupo 

;

en cuyo grupo * indica el punto de unión de dicho grupo con el resto de la molécula;

y

R^5 representa un grupo metilo.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^4 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^4 representa un átomo de hidrógeno.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^4 representa un grupo metilo.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^5 representa, de manera independiente respecto uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^5 representa un átomo de hidrógeno.

En otra modalidad del aspecto mencionado precedentemente, la invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en los que:

R^5 representa un grupo metilo.

Ha de entenderse que la presente invención se refiere también a cualquier combinación de las modalidades descriptas precedentemente.

Otra modalidad del primer aspecto consiste en los compuestos de fórmula (I) seleccionados del grupo que consta de:

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{3,6,10,18,22,25-hexaoxo-26-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-14-[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-9,19-bis({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14,17,21,24-heptaazaheptacosan-2-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de pentagadolinio,

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{3,6,10,15,19,22-hexaoxo-23-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,16-bis({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-11-(2-{[3-{[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-propanoil}amino)acetil]amino}-2-({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)propanoil]amino}etil)-4,7,11,14,18,21-hexaazatetracosan-2-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de hexagadolinio,

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de tetragadolinio;

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2R)-2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de tetragadolinio,

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2S)-2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de tetragadolinio,

[4-(1-{[2-(bis{2-[({1,4-bis[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetra-azaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-1,4-diazepan-6-il}carbonil)amino]etil}amino)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-7,10-

bis(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de pentagadolinio,

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''',2'''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''-{etan-1,2-diilcarbamoil-1,4-diazepan-6,1,4-triiltris[(2-oxoetan-2,1-diil)imino(1-oxopropan-1,2-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]}octadecaacetato de hexagadolinio,

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''',2'''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''-(1,4,7-triazonan-1,4,7-triiltris{carbonil-1,4-diazepan-6,1,4-triil-bis[(2-oxoetan-2,1-diil)imino(1-oxopropan-1,2-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]})octadecaacetato de hexagadolinio,

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''-{1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7,10-tetrailtetraquis[(2-oxoetan-2,1-diil)imino(1-oxopropan-1,2-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]}dodecaacetato de tetragadolinio,

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''',2'''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''-{3,7,10-triazatriciclo[3.3.3.0^{1,5}]undecan-3,7,10-triiltris[carbonil(3,6,11,14-tetraoxo-4,7,10,13-tetraazahexadecan-8,2,15-

triil)di-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]}octadecaacetato de hexagadolinio,

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''-(3,7,9-triazabiciclo-[3.3.1]nonan-3,7-diilbis{carbonil-1,4-diazepan-6,1,4-triilbis[(2-oxoetan-2,1-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]})dodecaacetato de tetragadolinio,

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[2-oxo-2-({3-({[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)-2,2-bis[({[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)metil]propil}amino)etil]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de tetragadolinio, y

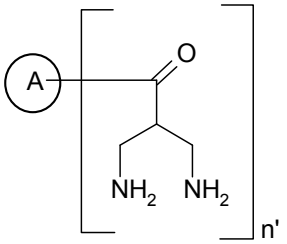
[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{2,5,11,14-tetraoxo-15-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-8,8-bis({[({[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)acetil]amino}metil)-3,6,10,13-tetraazapentadec-1-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de tetragadolinio,

o un estereoisómero, tautómero, N-óxido, hidrato, solvato, o una sal del mismo, o una mezcla de ellos.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención comprende métodos para preparar compuestos de la presente invención, métodos que comprenden los pasos descriptos en la Sección Experimental en la presente

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención comprende compuestos intermediarios que son útiles para la preparación de los compuestos de fórmula general (I), *supra*.

Particularmente, las invenciones comprenden compuestos de fórmula general (II-a):

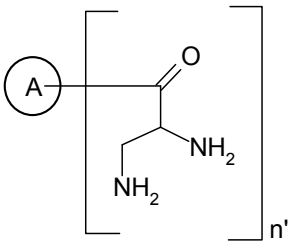


(II-a)

en la que (A) es como se definió para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y sus sales;

y

los compuestos de fórmula general (II-b) :

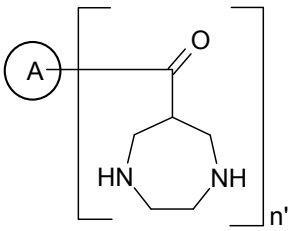


(II-b)

en la que A es como se definió para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y sus sales;

y

los compuestos de fórmula general (II-c):

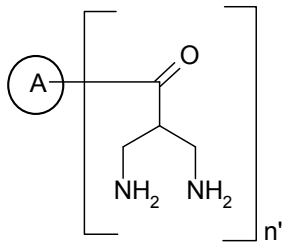


(II-c)

en la que A es como se definió para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y sus sales.

Más particularmente aún, la presente invención comprende los compuestos intermediarios que se describen en la sección ejemplos de este texto, *infra*.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención comprende el uso de los compuestos de fórmula general (II-a):

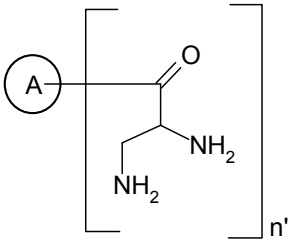


(II-a)

en la que

es como se definió para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y sus sales, para la preparación de un compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con lo definido *supra*.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención comprende el uso de los compuestos de fórmula general (II-b):

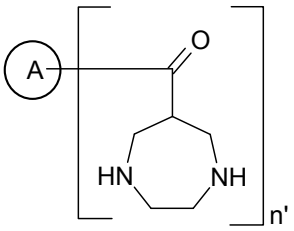


(II-b)

en la que

es como se definió para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y sus sales, para la preparación de un compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con lo definido *supra*.

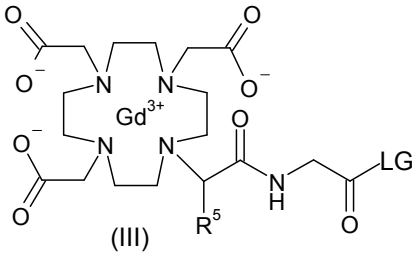
De acuerdo con otro aspecto, la presente invención comprende el uso de los compuestos de fórmula general (II-c) :



(II-c)

en la que A es como se definió para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y sus sales, para la preparación de un compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con lo definido *supra*.

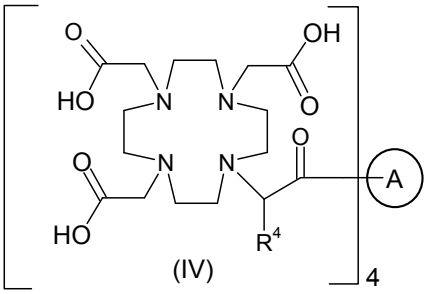
De acuerdo con otro aspecto, la presente invención comprende el uso de los compuestos de fórmula general (III) :



(III)

en la que R^5 es como se definió para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *infra*, para la preparación de un compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con lo definido *supra*.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención comprende el uso de los compuestos de fórmula general (IV):



(IV)

en la que R^4 es como se definió para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, y (A) representa una tetraamina de acuerdo con lo definido para los compuestos de fórmula general (I), *supra*, para la preparación de un compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con lo definido *supra*.

Otro aspecto de la invención es el uso de un compuesto de fórmula general (**I**) para imágenes de diagnóstico.

Preferentemente, el uso de un compuesto de la invención en el diagnóstico se realiza con imágenes de resonancia magnética (IRM).

Otro aspecto de la invención consiste en los compuestos de fórmula general (**I**) para uso en imágenes de diagnóstico.

Otro aspecto de la invención consiste en compuestos de fórmula general (**I**) para uso en imágenes de resonancia magnética (IRM).

La invención también contiene compuestos de fórmula general (**I**) para la fabricación de agentes de diagnóstico.

Otro aspecto de la invención es el uso de los compuestos de fórmula general (**I**) o sus mezclas para la fabricación de agentes de diagnóstico.

Otro aspecto de la invención es el uso de los compuestos de fórmula general (**I**) o sus mezclas para la fabricación de agentes de diagnóstico para imágenes de resonancia magnética (MRI).

Otro aspecto de la invención es un método de obtención de imágenes de tejido corporal en un paciente, que comprende los pasos de administración al paciente de una cantidad efectiva de uno o más compuestos de fórmula general (**I**) en un vehículo farmacéuticamente aceptable, y el sometimiento del paciente a una tomografía de RMN. Este método se halla descripto en US 5.560.903.

Para la fabricación de agentes de diagnóstico, por ejemplo la administración a individuos humanos o animales, los compuestos de fórmula general (**I**) o sus mezclas se formularán de manera conveniente junto con vehículos o excipientes farmacéuticos. Los medios de contraste de la invención pueden contener convenientemente auxiliares de formulación farmacéutica, por ejemplo, estabilizadores, antioxidantes, agentes que ajustan el pH, saborizantes, y similares. La producción de los medios de diagnóstico de acuerdo con la invención también se realiza de manera conocida en el arte, véase US 5.560.903. Se pueden formular para la administración parenteral o enteral o para la administración directa en las cavidades corporales. Por ejemplo, las formulaciones parenterales

contienen una solución o suspensión estéril en una dosis de 0,0001-5 mmol de gadolinio/kg de peso corporal, especialmente 0,005-0,5 mmol de gadolinio/kg de peso corporal del compuesto de fórmula (**I**) de acuerdo con la presente invención. Por ende, los medios de la invención pueden hallarse en formulaciones farmacéuticas convencionales como, por ejemplo, soluciones, suspensiones, dispersiones, jarabes, etc. en un medio vehicular fisiológicamente aceptable, con preferencia en agua para inyecciones. Cuando el medio de contraste se formula para la administración parenteral, será, preferentemente, isotónica o hipertónica y cercano a pH 7,4.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método de diagnóstico y monitoreo de la salud de los pacientes. Este método comprende a) administrar a un humano que necesite tal diagnóstico un compuesto de la invención para detectar el compuesto en el humano de acuerdo con lo aquí descripto y lo descripto precedentemente, y b) medir la señal que surge de la administración del compuesto al humano, con preferencia mediante imágenes de resonancia magnética (IRM).

Síntesis General

Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden preparar de acuerdo con los siguientes esquemas 1 a 12.

Los esquemas y procedimientos descriptos a continuación ilustran rutas sintéticas hacia los compuestos de fórmula general (I) de la

invención y no se pretende que sea limitativos. Es obvio para el experto en la técnica que el orden de las transformaciones como se ejemplifican en los esquemas se puede modificar de diversas maneras. Por ende, el orden de las transformaciones ejemplificadas en los esquemas no es limitativo. Los grupos protectores adecuados y su introducción y escisión son muy conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, T.W. Greene y P.G.M. Wuts in *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ra edición, Wiley 1999). En los siguientes párrafos se describen ejemplos específicos.

El término "grupo aminoprotector" de acuerdo con su uso en la presente por sí mismo o como parte de otro grupo es conocido u obvio para una persona versada en la técnica, que se elige pero no se limita a una clase de grupos protectores, a saber carbamatos, amidas, imidas, N-alquilaminas, N-arilaminas, iminas, enaminas, boranos, grupos protectores N-P, N-sulfenilo, N-sulfonilo y N-sililo, y que se elige pero no se limita a aquellos descriptos en el libro de texto de Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, tercera edición, página 494-653, incluido en la presente por referencia. El "grupo aminoprotector" es preferentemente carbobenciloxi (Cbz), *p*-metoxibencilo (Moz o MeOZ), *ter*-butiloxicarbonilo (BOC), 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (FMOC), bencilo (Bn), *p*-metoxibencilo (PMB), 3,4-dimetoxibencilo (DMPM), *p*-metoxifenilo (PMP), trifenilmetilo (Tritil), metoxifenil difenilmetilo (MMT) o el grupo

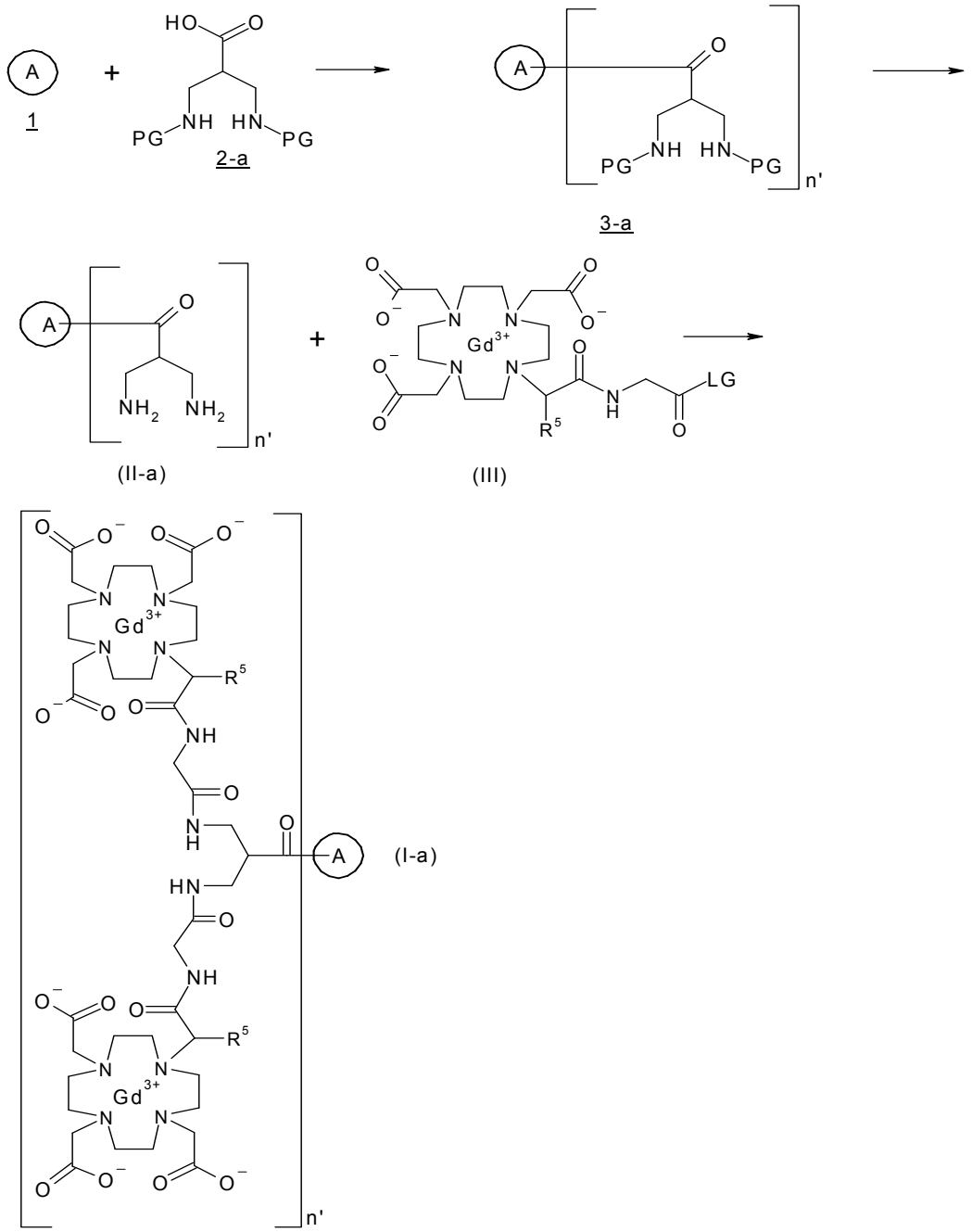
amino protegido es un 1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-ilo (ftalimido) o un grupo azido.

El término “grupo protector de carboxilo” de acuerdo con su uso en la presente por sí mismo o como parte de otro grupo es conocido u obvio para una persona versada en la técnica, que se elige, en forma no taxativa, de una clase de grupos protectores tales como ésteres, amidas e hidrazidas, y que se selecciona, en forma no taxativa, de aquellos descriptos en el libro de texto de Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, tercera edición, página 369-453, incluido en la presente por referencia. El “grupo protector carboxilo” es preferentemente metilo, etilo, propilo, butilo *ter*-butilo, alilo, bencilo, 4-metoxibencilo o 4-metoxifenilo.

El contenido de los documentos que se citan en la presente se incorpora por la presente mediante referencia.

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-a) se describe en el Esquema 1.

Esquema 1



Esquema 1: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-a), en la que

A y R^5 poseen el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y PG representa un grupo protector de amina, como, por ejemplo, un grupo *ter*-butiloxicarbonilo (BOC) o un grupo de acuerdo con lo definido a continuación.

Los materiales de partida 1 son poliaminas disponibles en el comercio o sus sales [por ejemplo, CAS 111-40-0, CAS 28634-67-5, CAS 4730-54-5, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] o poliaminas o sus sales que son conocidos en la literatura o que se pueden preparar en forma análoga a los compuestos descriptos en la literatura o en la parte experimental, *infra* [por ejemplo, CAS 41077-50-3].

Una triamina, tetraamina 1 o su sal se hace reaccionar con un ácido 3-amino-2-(aminometil)propiónico protegido 2-a, [por ejemplo CAS 496974-25-5] o una sal del mismo, lo cual conduce a un intermediario 3-a. Los grupos protectores de amina adecuados para el ácido 3-amino-2-(aminometil)propiónico son, por ejemplo, carbobencilooxi (Cbz), *p*-metoxibencilcarbonilo (Moz o MeOZ), *ter*-butiloxicarbonilo (BOC), 9-fluorenilmetiloxicarbonil (FMOC), bencilo (Bn), *p*-metoxibencilo (PMB), 3,4-dimetoxibencilo (DMPM), *p*-metoxifenilo (PMP), trifenilmetilo (Tritil), metoxifenil difenilmetilo (MMT) o el grupo amino protegido es un 1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il (ftalimido) o un grupo azido. La reacción de apareamiento de poliaminas 1 con derivados de ácido propiónico 2-a se realiza en condiciones de apareamiento de péptidos estándar, como, por ejemplo, apareamiento en presencia de HATU y *N*,*N*-

diisopropiletilamina, en un solvente adecuado como, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida, en un rango de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 80°C, para proporcionar los intermediarios de fórmula general 3-a.

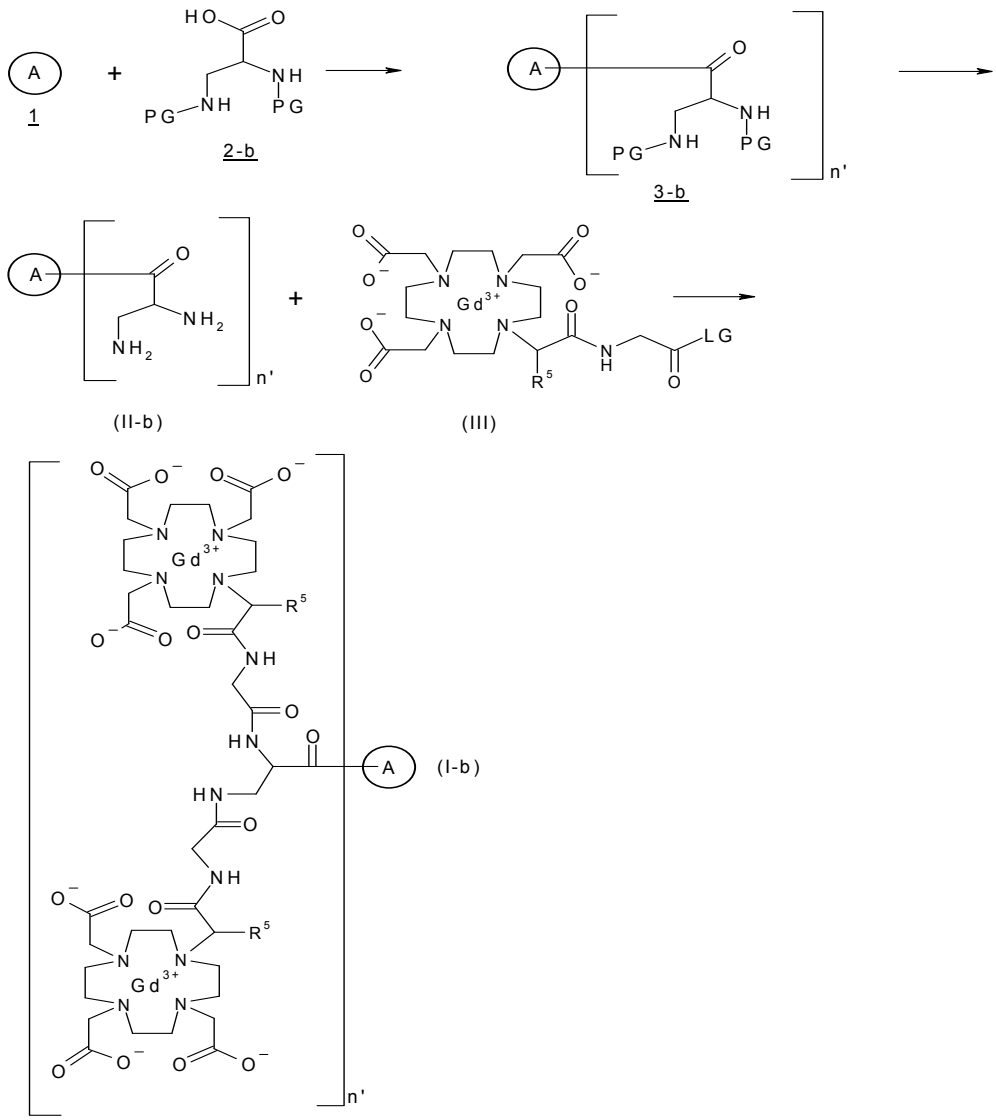
La desprotección de intermediarios de fórmula general 3-a que conduce a intermediarios de fórmula general (II-a) o sus sales se realiza en forma análoga a los métodos descriptos en el libro de texto de Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, segunda edición, página 309-405, incluido en la presente mediante referencia. El grupo protector de amino *ter*-butiloxicarbonilo (BOC) se retira mediante la disolución de un intermediario protegido por BOC de fórmula general 3-a en un solvente adecuado, como, por ejemplo, un alcohol, tetrahidrofurano, dioxano o *N,N*-dimetilformamida, o una mezcla de ellos, mediante el agregado de ácidos adecuados, como, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico acuoso o ácido trifluoroacético en solventes orgánicos como diclorometano. La reacción de desprotección se realiza a temperaturas que oscilan desde la temperatura ambiente hasta el punto de ebullición del solvente respectivo o la mezcla de solventes, preferentemente la reacción se realiza a temperaturas que oscilan desde la temperatura ambiente hasta 80°C.

Los intermediarios de fórmula general (II-a) o sus sales se hacen reaccionar con complejos de Gd de la fórmula general (III), que se activan mediante un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, pentafluorofenol, 4-

nitrofenol, 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona, hidroxibenzotriazol o 3H-[1,2,3]triazol[4,5-b]piridin-3-ol, que conduce a compuestos de la fórmula general (I-a). La preparación de ésteres activados es muy conocida por los expertos en la técnica y se halla descripta en forma detallada, por ejemplo, por C.A. Montalbetti y V. Falque en Tetrahedron **61** (2005), página 10827-10852. Por ejemplo, la preparación 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio se encuentra descripta en forma detallada en WO 2001051095 A2. La reacción de intermediarios de fórmula general (II-a) con los complejos de Gd activados de fórmula general (III) se realiza en un solvente adecuado, como, por ejemplo, sulfóxido de dimetilo, *N,N*-dimetilformamida, piridina o una mezcla de ellos, opcionalmente la reacción se realiza en presencia de una base. Las bases adecuadas son, por ejemplo, trialquilaminas, como, por ejemplo, trietilamina o *N,N*-diisopropiletilamina. La reacción se realiza a temperaturas que oscilan desde la temperatura ambiente hasta 100°C, con preferencia la reacción se realiza a temperaturas que oscilan desde 50°C hasta 70°C.

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-b) se describe en el Esquema 2.

Esquema 2



Esquema 2: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-b), en la que

A y R^5 poseen el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y PG representa un grupo protector de amina, como, por ejemplo, un grupo *ter*-butiloxicarbonilo

(BOC) o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*.

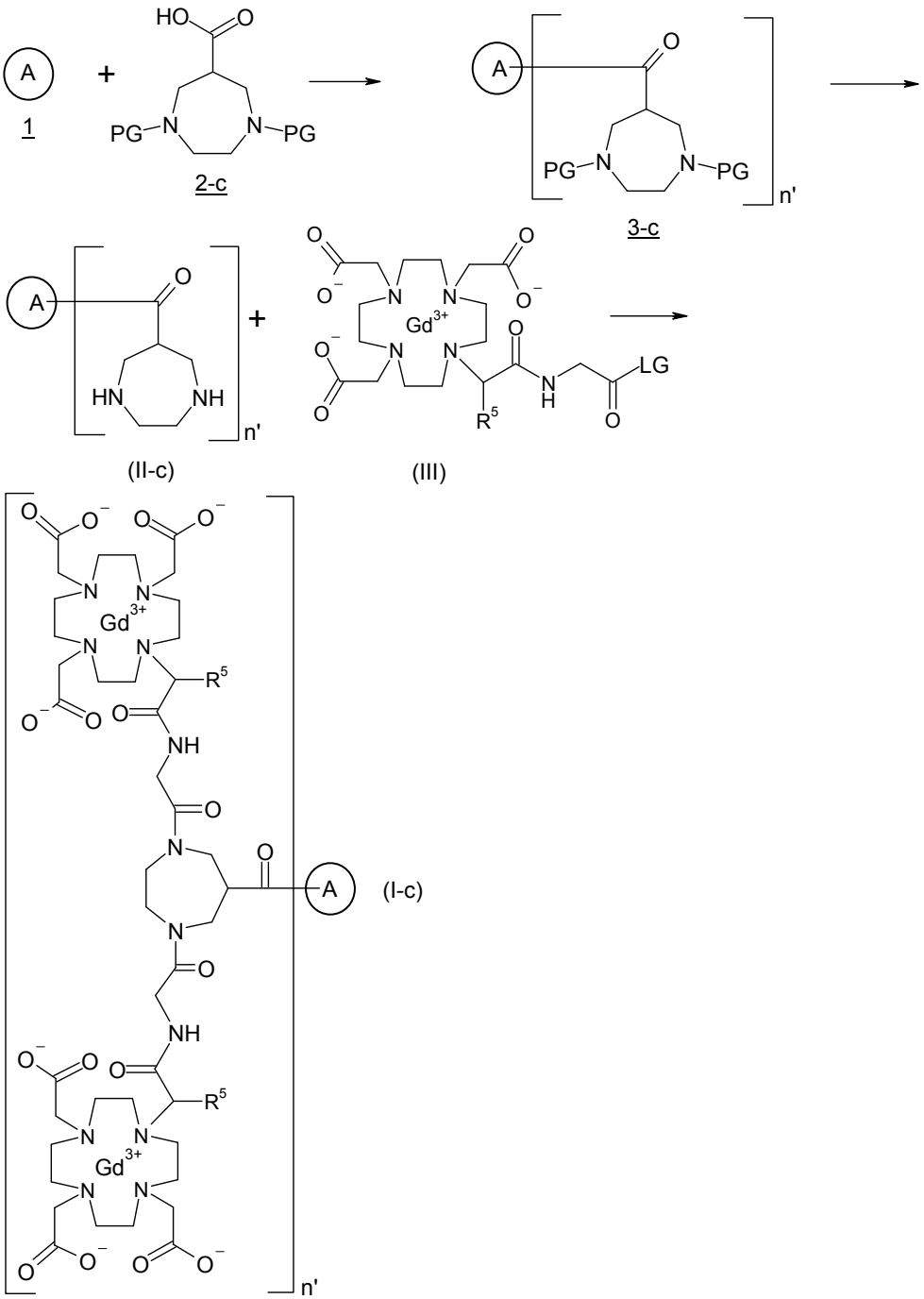
Los compuestos de fórmula general (I-b) se sintetizan en forma análoga a los compuestos de fórmula general (I-a), de acuerdo con lo descripto precedentemente.

Los materiales de partida 1 son poliaminas disponibles en el comercio o sus sales [por ejemplo, CAS 111-40-0, CAS 28634-67-5, CAS 4730-54-5, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] o poliaminas o sus sales conocidas en la literatura, o que se pueden preparar en forma análoga a los compuestos descriptos en la literatura o en la parte experimental, *infra* [por ejemplo, CAS 41077-50-3].

Una triamina, tetraamina 1 o una sal de la misma se hace reaccionar con un ácido 2,3-diaminpropiónico protegido 2-b [por ejemplo, CAS 201472-68-6] o una sal del mismo, para proporcionar un intermediario de fórmula general 3-b, que luego de la desprotección proporciona un intermediario de fórmula general (II-b) o una sal del mismo. En el paso final, un intermediario de fórmula general (II-b) o una sal del mismo se hace reaccionar con un complejo de Gd de la fórmula general (III), que conduce a un compuesto de la fórmula general (I-b).

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-c) se describe en el Esquema 3.

Esquema 3



A
1
HO
O
PG
N
N
PG
2-c
A
O
PG
N
N
PG
n'
3-c
A
O
HN
NH
n'
(II-c)
O
O
O
O
N
N
Gd3+
N
N
O
O
O
R5
N
H
LG
O
(III)
O
O
O
O
N
N
Gd3+
N
N
R5
O
O
O
NH
O
N
O
A
(I-c)
N
O
NH
O
O
O
R5
N
N
Gd3+
N
N
O
O
O
O
n'

Esquema 3: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-c), en la que

Ⓐ y R^5 poseen el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, n' representa un número entero de 2, 3 y 4, y PG representa un grupo protector de amina, como, por ejemplo, un grupo *ter*-butiloxicarbonilo (BOC) o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*.

Los compuestos de fórmula general (I-c) se sintetizan en forma análoga a los compuestos de fórmula general (I-a), de acuerdo con lo descripto precedentemente.

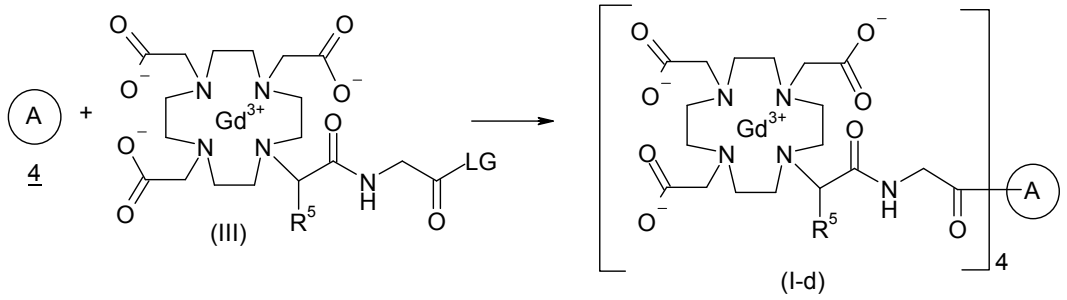
Los materiales de partida 1 son poliaminas disponibles en el comercio o sus sales [por ejemplo, CAS 111-40-0, CAS 28634-67-5, CAS 4730-54-5, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] o poliaminas o sus sales, que son conocidas en la literatura o que se pueden preparar en forma análoga a los compuestos descriptos en la literatura y en la parte experimental, *infra* [por ejemplo, CAS 41077-50-3].

Una triamina, tetraamina 1 o una de sus sales se hace reaccionar con un ácido 1,4-diazepan-6-carboxílico protegido 2-c, que se puede sintetizar de acuerdo con lo descripto en la parte experimental *infra*, a partir de 1,4-dibencilo-1,4-diazepan-6-carboxilato de metilo [véase US 5.866.562], para proporcionar un intermediario de fórmula general 3-c, que luego de la desprotección proporciona un intermediario de fórmula general (II-c) o una sal del mismo. En el paso final, un intermediario de

fórmula general (II-c) o una sal del mismo se hace reaccionar con un complejo de Gd de la fórmula general (III), que conduce a un compuesto de la fórmula general (I-c).

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-d) se describe en el Esquema 4.

Esquema 4



Esquema 4: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-d), en la que:

R^5 posee el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, (A) representa una tetraamina como para la dada para la fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por

ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*.

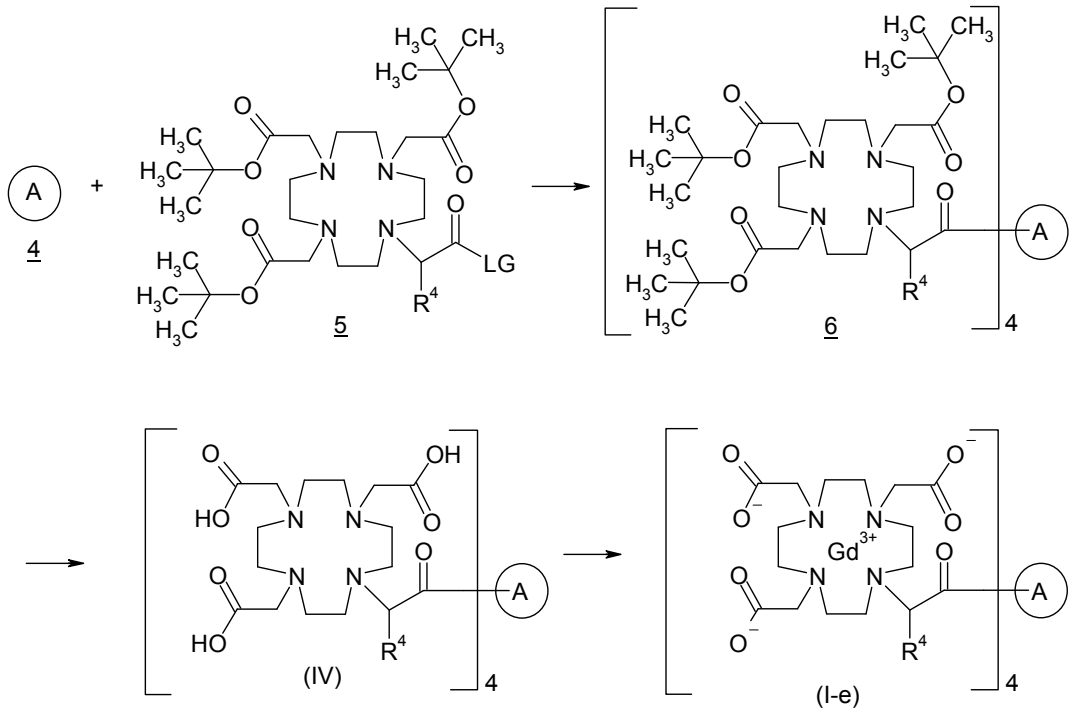
Los materiales de partida 4 son tetraaminas disponibles en el comercio o sus sales [por ejemplo, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] o tetraaminas o sus sales que son conocida en la literatura, o que se pueden preparar en forma análoga a los compuestos descriptos en la literatura.

Una tetraamina 4 o una de sus sales se hace reaccionar con un complejo de Gd de la fórmula general (III), que es activado por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, pentafluorofenol, 4-nitrofenol, 1-hidroxipirrolidina-2,5-diona, hidroxibenzotriazol o 3H-[1,2,3]triazol[4,5-b]piridin-3-ol, que conduce a un compuesto de la fórmula general (I-d). La preparación de ésteres activados es muy conocida por los expertos en la técnica y se halla descripta, por ejemplo, por C.A. Montalbetti y V. Falque en Tetrahedron **61** (2005), página 10827-10852. Por ejemplo, la preparación de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio se encuentra descripta en forma detallada en WO 2001051095 A2. La reacción de poliamina 4 o una sal del mismo con complejos de Gd activados de fórmula general (III) se realiza en un solvente adecuado, como, por ejemplo, sulfóxido de dimetilo, *N,N*-dimetilformamida, piridina o una mezcla de ellos, opcionalmente la reacción se realiza en presencia de una base. Las bases adecuadas son, por ejemplo, trialquilamines, como,

por ejemplo, trietilamina o *N,N*-diisopropiletilamina. La reacción se realiza a temperaturas que oscilan desde la temperatura ambiente hasta 100°C, con preferencia la reacción se realiza a temperaturas que oscilan desde 50°C hasta 70°C.

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-e) se describe en el Esquema 5.

Esquema 5



Esquema 5: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-e), en la que:

R^4 posee el significado dado para la fórmula general (I), *supra*,

(A) representa una tetraamina como la dada para la fórmula general (I),

supra, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*.

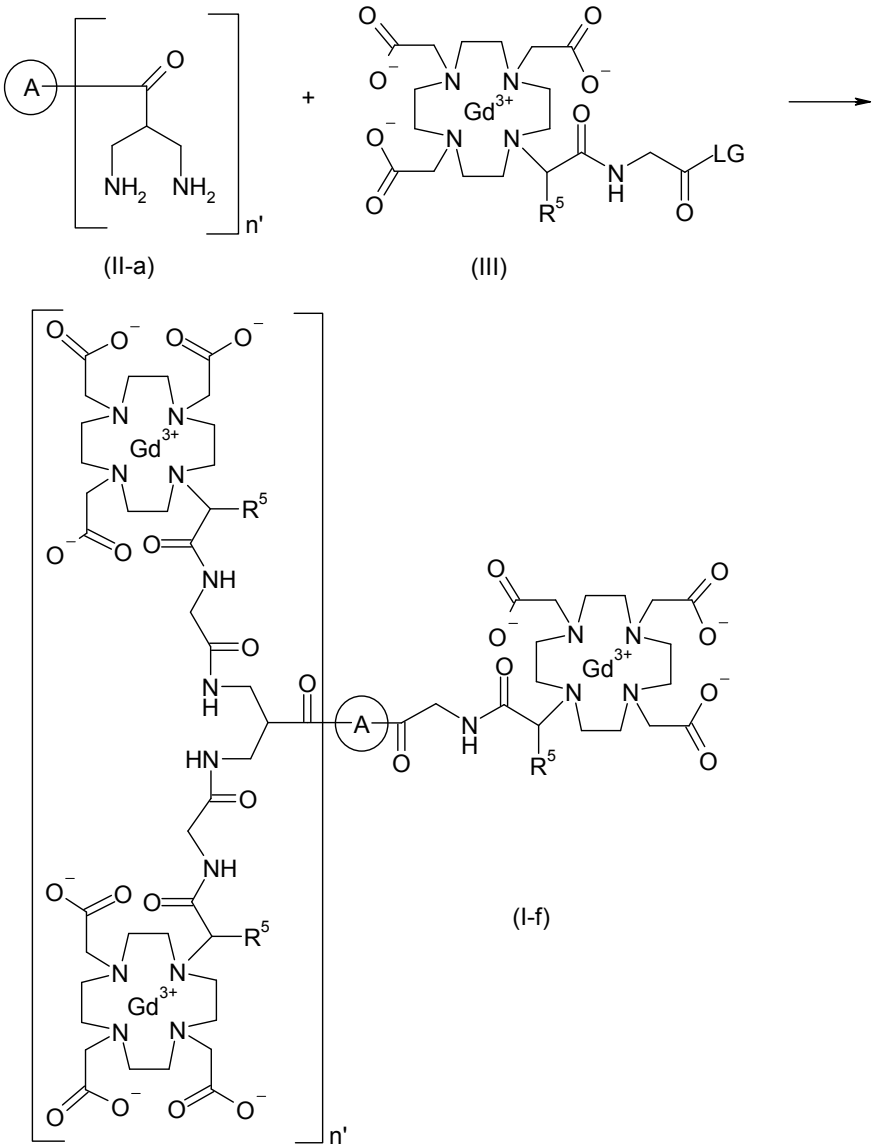
Los materiales de partida 4 son tetraaminas disponibles en el comercio o sus sales [por ejemplo, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] o tetraaminas o sus sales conocidas en la literatura, o que se pueden preparar en forma análoga a los compuestos descriptos en la literatura.

Una tetraamina 4 o una de sus sales se hace reaccionar con un derivado de ácido [4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético 5, que es activado por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, pentafluorofenol, 4-nitrofenol, 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona [por ejemplo, la síntesis de 2,2',2''-(10-{2-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]-2-oxoetil}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato de tri-ter-butilo se halla descripta en forma detallada por Cong Li *et al.*, *J. Am.Chem.Soc.* **2006**, *128*, p.15072-15073; S3-5 y Galibert *et al.*, Biorg. y Med. Chem. Letters 20 (2010), 5422 - 5425] o hidroxibenzotriozol, que conduce a un intermediario 6. La preparación de ésteres activados es muy conocida por los expertos en la técnica y se encuentra descripta en forma detallada, por ejemplo, por C.A. Montalbetti y V. Falque en Tetrahedron **61** (2005), página 10827-10852. La reacción de apareamiento de poliaminas 4 con derivados de ácido [4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético 5 se realiza en un solvente adecuado, como, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida o

sulfóxido de dimetilo, o una mezcla de ellos, en un rango de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 80°C, para proporcionar los intermediarios 6. La escisión de los grupos protectores de carboxilo de los intermediarios 6 para proporcionar los intermediarios de fórmula general (IV) se puede lograr de acuerdo con lo descripto en el libro de texto de Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, segunda edición, página 245-247. La desprotección, por ejemplo, se realiza mediante la disolución y agitación de los intermediarios 6 en ácido trifluoroacético a temperatura ambiente durante varias horas. La complejación de intermediarios de fórmula general (IV) con compuestos de gadolinio (III) adecuados o sus sales, como, por ejemplo, trióxido de gadolinio, triacetato de gadolinio o hidratos de triacetato de gadolinio, tricloruro de gadolinio o trinitrato de gadolinio, es muy conocida por los expertos en la técnica. Los intermediarios de fórmula general (IV) se disuelven en agua y luego de agregar compuestos de gadolinio (III) adecuados, las mezclas resultantes se agitan en un rango de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 100°C a pH = 1-7 durante varias horas, para proporcionar los compuestos de fórmula general (I-e). Los intermediarios de fórmula general (IV), por ejemplo, se disuelven en agua, se agrega tetrahidrato de triacetato de gadolinio, se ajusta el pH a 3,5-5,5 mediante la adición de una base adecuada, como, por ejemplo, una solución de hidróxido de sodio acuosa. La reacción se realiza a temperaturas que oscilan de 50°C a 80°C, lo cual conduce a compuestos de fórmula general (I-e).

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-f) se describe en el Esquema 6.

Esquema 6



Esquema 6: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-f), en la que:

n' representa un número entero de 2, si Ⓐ representa una triamina de acuerdo con lo definido *supra*, o

n' representa un número entero de 3, si Ⓐ representa una tetraamina de acuerdo con lo definido *supra*,

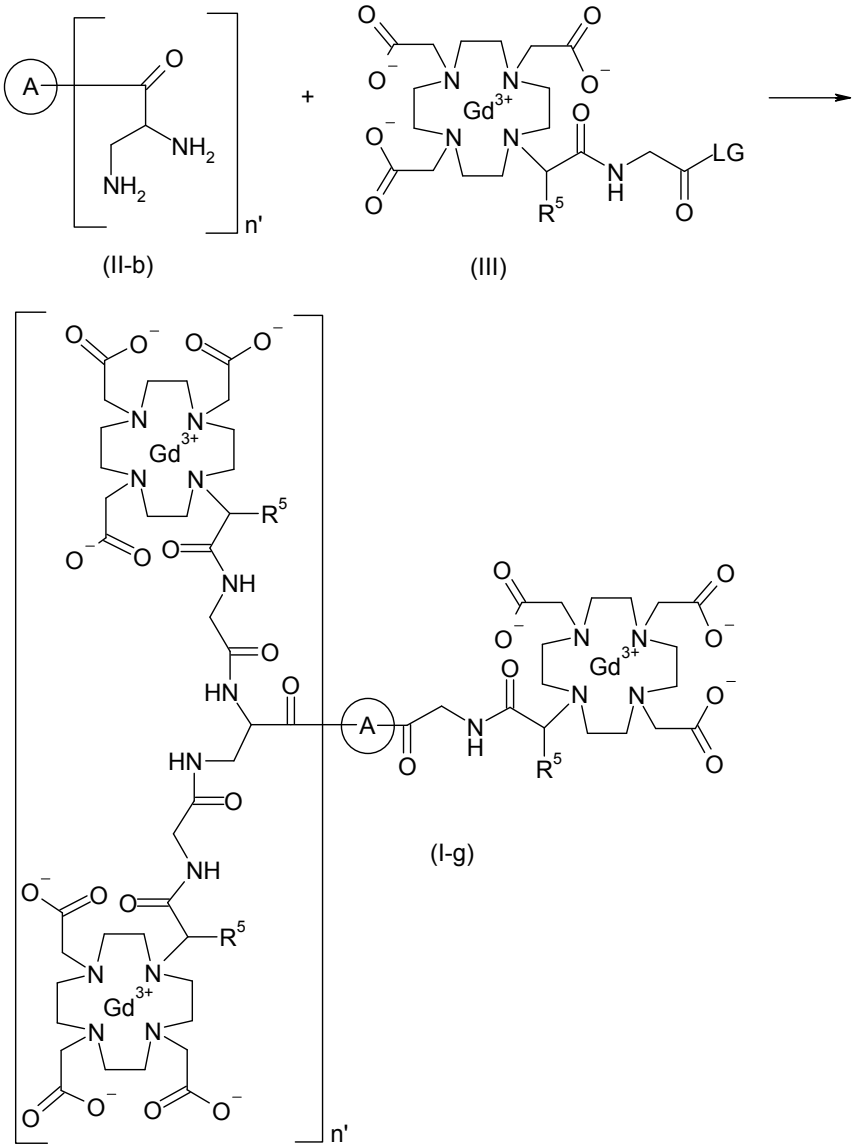
y R^5 posee el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, y LG representa grupos salientes activadores, como, por ejemplo, 4-nitrofenol o un grupo de acuerdo con lo definido a continuación.

Los intermediarios de fórmula general (II-a) o sus sales, de acuerdo con lo descripto en el Esquema 1 y en la parte experimental *infra*, donde n' representa un número entero de 2 y Ⓐ representa un núcleo de triamina de acuerdo con lo definido *supra*, o los intermediarios de fórmula general (II-a) o sus sales, donde n' representa un número entero de 3 y Ⓐ representa un núcleo de tetraamina de acuerdo con lo definido *supra*, se hacen reaccionar con complejos de Gd de la fórmula general (III), que son activados por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, pentafluorofenol, 4-nitrofenol, 1-hidroxipirrolidina-2,5-diona, hidroxibenzotriozol o 3H-[1,2,3]triazol[4,5-b]piridin-3-ol, lo cual conduce a compuestos de la fórmula general (I-f). La preparación de ésteres activados es muy conocida por los expertos en la técnica y se encuentra descripta en forma detallada, por ejemplo, por C.A. Montalbetti y V. Falque en Tetrahedron **61** (2005), página 10827-10852. Por ejemplo, la

preparación de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio se encuentra descripta en forma detallada in WO 2001051095 A2. La reacción de intermediarios de fórmula general (II-a) o sus sales con los complejos de Gd activados de fórmula general (III) se realiza en un solvente adecuado, como, por ejemplo, sulfóxido de dimetilo, *N,N*-dimetilformamida, piridina o una mezcla de ellos, opcionalmente la reacción se realiza en presencia de una base. Las bases adecuadas son, por ejemplo, trialquilaminas, como, por ejemplo, trietilamina o *N,N*-diisopropiletilamina. La reacción se realiza a temperaturas que oscilan desde la temperatura ambiente hasta 100°C, con preferencia la reacción se realiza a temperaturas que oscilan desde 50°C a 70°C.

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-g) se describe en el Esquema 7.

Esquema 7



Esquema 7: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-g), en la que:

n' representa un número entero de 2, si (A) representa una triamina de acuerdo con lo definido *supra*, o

n' representa un número entero de 3 si Ⓐ representa una tetraamina de acuerdo con lo definido *supra*,

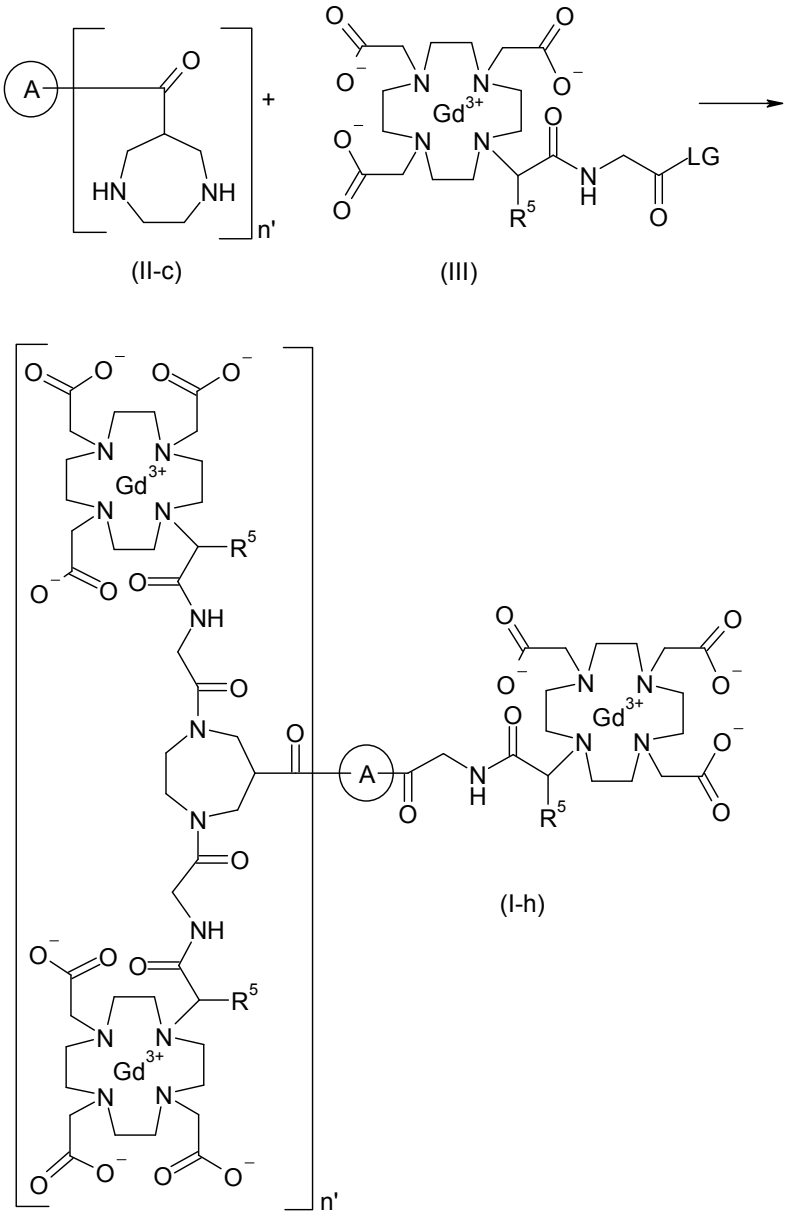
y R^5 posee el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, y LG representa grupos salientes activadores, como, por ejemplo, 4-nitrofenol o un grupo de acuerdo con lo definido a continuación.

Los compuestos de fórmula general (I-g) se sintetizan en forma análoga a los compuestos de fórmula general (I-f), de acuerdo con lo descripto precedentemente.

Los intermediarios de fórmula general (II-b) o sus sales, de acuerdo con lo descripto en el Esquema 2, donde n' representa un número entero de 2 y Ⓐ representa un núcleo de triamina de acuerdo con lo definido *supra*, o intermediarios de fórmula general (II-b) o sus sales, donde n' representa un número entero de 3 y Ⓐ representa un núcleo de tetraamina de acuerdo con lo definido *supra*, se hacen reaccionar con complejos de Gd de la fórmula general (III), que son activados por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, pentafluorofenol, 4-nitrofenol, 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona, hidroxibenzotriazol o 3H-[1,2,3]triazol[4,5-b]piridin-3-ol, que conduce a compuestos de la fórmula general (I-g).

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-h) se describe en el Esquema 8.

Esquema 8



Esquema 8: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-h), en la que:

n' representa un número entero de 2, si Ⓐ representa una triamina de acuerdo con lo definido *supra*, o

n' representa un número entero de 3, si Ⓐ representa una tetraamina de acuerdo con lo definido *supra*,

y R^5 posee el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, y LG representa grupos salientes activadores, como, por ejemplo, 4-nitrofenol o un grupo de acuerdo con lo definido a continuación.

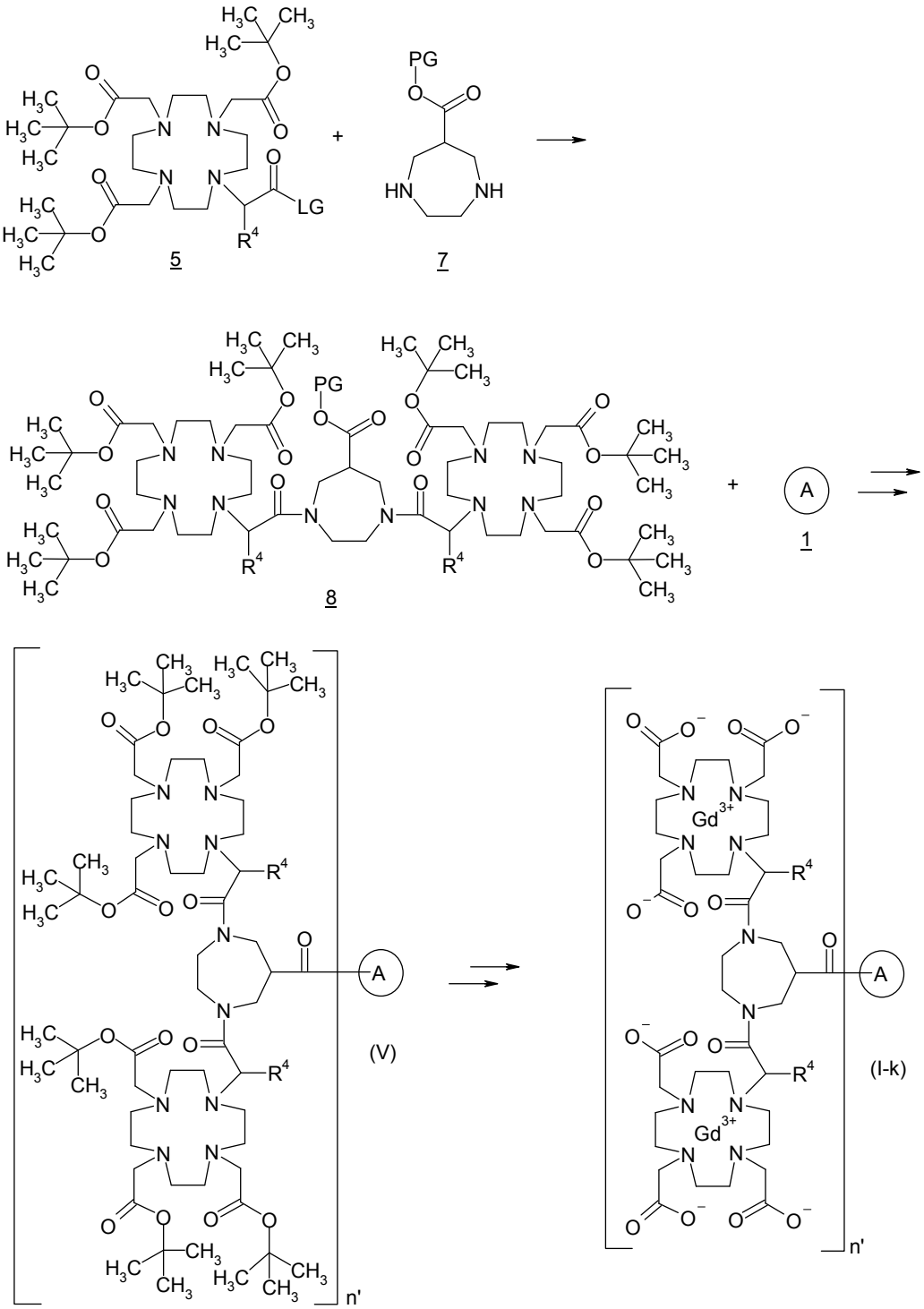
Los compuestos de fórmula general (I-h) se sintetizan en forma análoga a los compuestos de fórmula general (I-f), de acuerdo con lo descripto precedentemente.

Los intermediarios de fórmula general (II-c) o sus sales, de acuerdo con lo descripto en el Esquema 3, donde n' representa un número entero de 2 y Ⓐ representa un núcleo de triamina de acuerdo con lo definido *supra*, intermediarios de fórmula general (II-c) o sus sales, donde n' representa un número entero de 3 y Ⓐ representa un núcleo de tetraamina de acuerdo con lo definido *supra*, se hacen reaccionar con complejos de Gd de la fórmula general (III), que son activados por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, pentafluorofenol, 4-nitrofenol, 1-hidroxipirrolidin-2,5-

diona, hidroxibenzotriazol o 3H-[1,2,3]triazol[4,5-b]piridin-3-ol, que conduce a compuestos de la fórmula general (I-h).

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-k) se describe en el Esquema 9.

Esquema 9


5
7
8
1
(V)
(I-k)
n'
n'

Esquema 9: Ruta para la preparación de compuestos de fórmula general (I-k), en la que:

A y R^4 poseen el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, n' representa un número entero de 2, 3 y 4, LG representa grupos salientes activadores, como, por ejemplo, 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*, y PG representa un grupo protector de carboxilo, como, por ejemplo, un grupo metilo o etilo.

Los materiales de partida 1 son poliaminas disponibles en el comercio o sus sales [por ejemplo, CAS 111-40-0, CAS 28634-67-5, CAS 4730-54-5, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] o poliaminas o sus sales que son conocidas en la literatura, o que se pueden preparar en forma análoga a compuestos descriptos en la literatura o en la parte experimental, *infra* [por ejemplo CAS 41077-50-3].

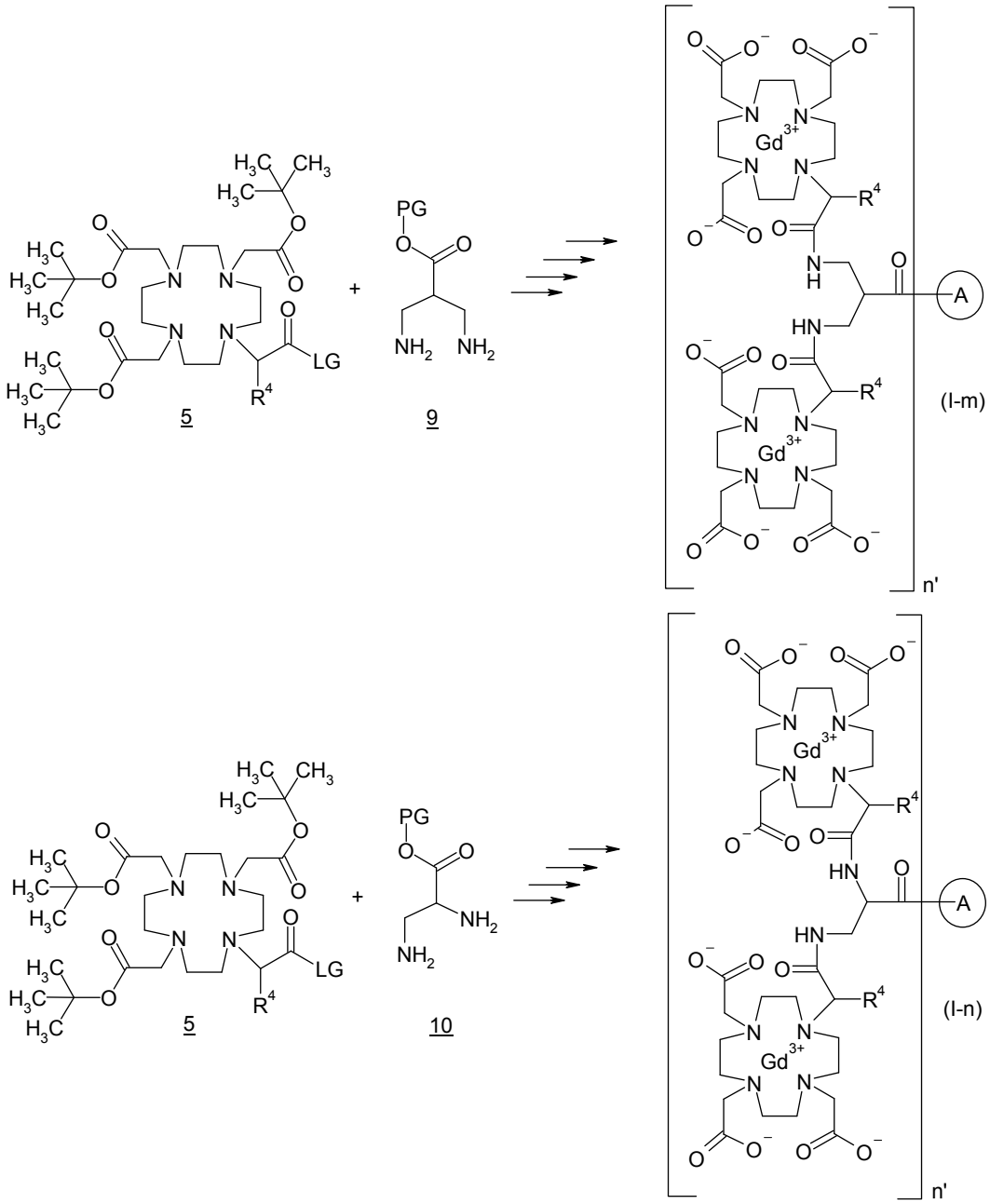
Las diaminas 7 o sus sales se hallan disponibles en el comercio [por ejemplo CAS 1417898-94-2] o se pueden sintetizar mediante métodos muy conocidos por los expertos en la técnica. Las diaminas 7 o sus sales se pueden hacer reaccionar con un derivado de ácido [4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético 5, que es activado por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, pentafluorofenol, 4-nitrofenol, 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona [por ejemplo, la síntesis de 2,2',2''-(10-{2-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]-2-oxoetil}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato de tri-ter-butilo se encuentra

descripta en forma detallada por Cong Li *et al.*, *J. Am.Chem.Soc.* **2006**, *128*, p.15072-15073; S3-5 y Galibert *et al.*, *Biorg. y Med. Chem. Letters* **2010**, *20* , p.5422-5425] o hidroxibenzotriazol, que conduce a los intermediarios 8. La preparación de ésteres activados es muy conocida por los expertos en la técnica y se encuentra descripta en forma detallada, por ejemplo, por C.A. Montalbetti y V. Falque en *Tetrahedron* **2005**, *61* página 10827-10852. El grupo de protección PG de los intermediarios 8 se puede escindir en condiciones básicas, como, por ejemplo, mediante el tratamiento con hidróxidos de metal álcali, como, por ejemplo, hidróxido de litio, en agua o en una mezcla de agua y tetrahidrofurano, para proporcionar la sal correspondiente del ácido carboxílico. Esta sal se puede aparear con poliaminas 1 con el uso de condiciones de apareamiento estándar de péptidos, como, por ejemplo, el apareamiento en presencia de HATU y 3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-3-ol en presencia de *N*,*N*-diisopropiletilamina, en un solvente adecuado, como, por ejemplo, diclorometano, a temperatura ambiente, para proporcionar los intermediarios de fórmula general (V). La escisión de los grupos protectores de carboxilo de los intermediarios de fórmula general (V) se puede lograr en condiciones estándar, como, por ejemplo, mediante la disolución y agitación de los intermediarios (V) en ácido clorhídrico acuoso a temperatura ambiente. La complejación posterior con compuestos de gadolinio (III) adecuados o sales, como, por ejemplo, trióxido de gadolinio, triacetato de gadolinio o hidratos de triacetato de

gadolinio, tricloruro de gadolinio o trinitrato de gadolinio, es muy conocida por los expertos en la técnica y, por ejemplo, se puede lograr mediante la reacción con compuestos de gadolinio (III) adecuados en un rango de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 100°C a pH = 1-7 durante varias horas, para proporcionar los compuestos de fórmula general (I-k). Los ácidos carboxílicos brutos derivados de los compuestos de fórmula general (V) se hacen reaccionar, por ejemplo, con trióxido de gadolinio a 80°C, lo cual conduce a los compuestos de fórmula general (I-k).

Una ruta para la preparación de compuestos de fórmulas generales (I-m) y (I-n) se describe en el Esquema 10.

Esquema 10



Esquema 10: Ruta para la preparación de compuestos de fórmulas generales (I-m) y (I-n), en las que:

A y R^4 poseen el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, n' representa un número entero de 2, 3 y 4, LG representa grupos salientes activadores, como, por ejemplo, 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*, y PG representa un grupo protector de carboxilo, como, por ejemplo, un grupo metilo o etilo.

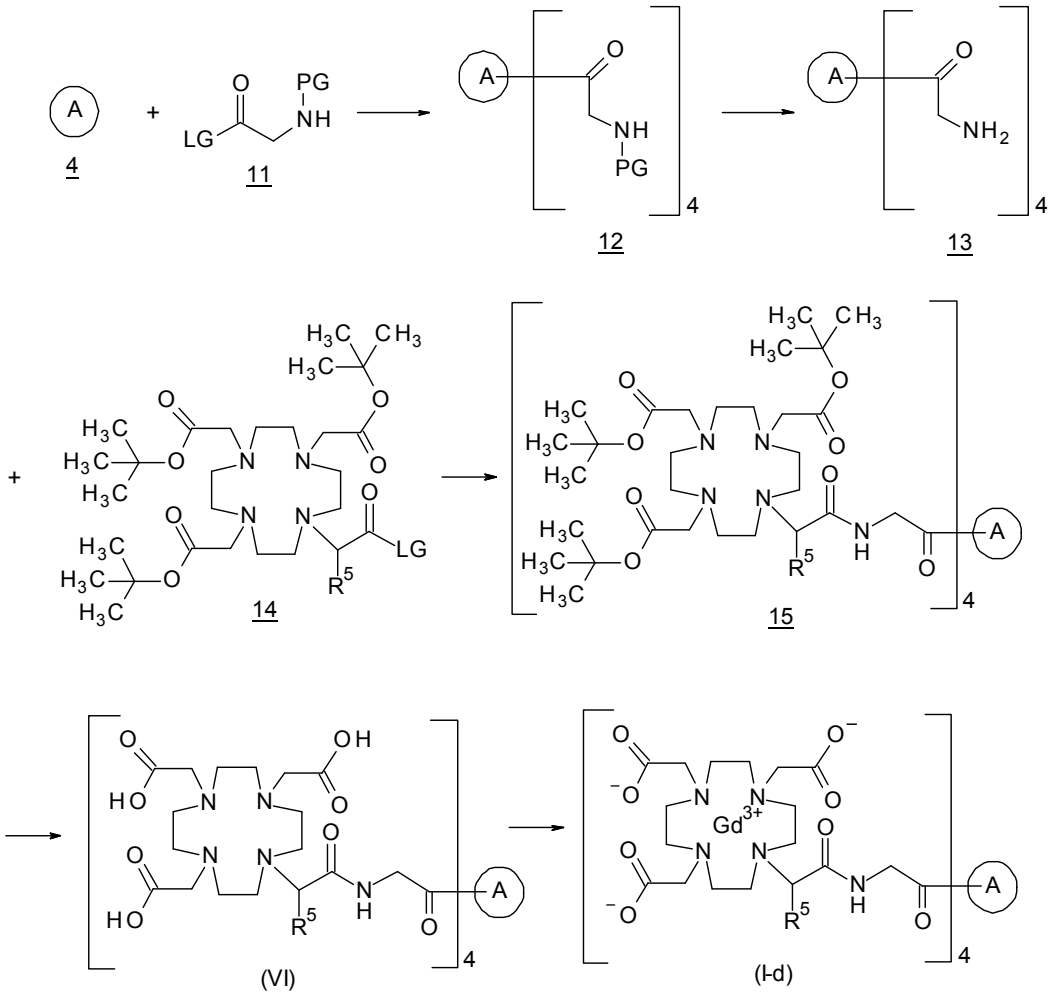
Cuando en lugar de las diaminas de fórmula 7, de acuerdo con lo descripto en el Esquema 9, se utilizan diaminas de fórmulas 9 y 10 o sus sales en la síntesis análoga de acuerdo con lo descripto en el Esquema 9, es posible obtener los compuestos de fórmulas generales (I-m) y (I-n).

Las diaminas 9 o sus sales se hallan disponibles en el comercio [por ejemplo, CAS 159029-33-1, CAS 440644-06-4] o se pueden sintetizar mediante métodos muy conocidos por los expertos en la técnica.

Las diaminas 10 o sus sales se hallan disponibles en el comercio [por ejemplo, CAS 20610-20-2, CAS 6059-44-5] o se pueden sintetizar mediante métodos muy conocidos por los expertos en la técnica.

Una ruta alternativa a la descripta en el Esquema 4 para la preparación de compuestos de fórmula general (I-d) se describe en el Esquema 11.

Esquema 11



Esquema 11: Una ruta alternativa para la preparación de compuestos de fórmula general (I-d), en la que:

R^5 posee el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, (A) representa una tetraamina como la dada para la fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo,

3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-ol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*.

Los materiales de partida 4 son tetraaminas disponibles en el comercio o sus sales [por ejemplo, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] o tetraaminas o sus sales que son conocida en la literatura, o que se pueden preparar en forma análoga a compuestos descriptos en la literatura. Los materiales de partida 14 se hallan disponibles en el comercio, son conocidos en la literatura o se pueden sintetizar en forma análoga a los compuestos descriptos en la literatura, por ejemplo, mediante una alquilación en pasos del núcleo de cicleno.

Una tetraamina 4 o una de sus sales se hace reaccionar con un derivado de aminoácido 11, que es activado por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona, pentafluorofenol, 4-nitrofenol o 3H-[1,2,3]triazol[4,5-b]piridin-3-ol, lo cual conduce a un intermediario 12. La preparación de ésteres activados es muy conocida por los expertos en la técnica y se encuentra descripta en forma detallada, por ejemplo, por C.A. Montalbetti y V. Falque en Tetrahedron **61** (2005), página 10827-10852. Las reacciones de apareamiento de poliaminas 4 con derivados de aminoácidos 11 se realizan en un solvente adecuado, como, por ejemplo, diclorometano o *N,N*-dimetilformamida, en un rango de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 50°C, para proporcionar los intermediarios 12. La escisión de los grupos protectores de amino (PG) de los intermediarios 12 para proporcionar los

intermediarios 13 se puede lograr de acuerdo con lo descrito en el libro de texto de Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, segunda edición. En el caso de grupos protectores de *ter*-butoxicarbonilo, la desprotección se realiza, por ejemplo, al hacer reaccionar los intermediarios 12 con HCl en CPME en un solvente adecuado, como, por ejemplo, CPME o 1,4-dioxano o una mezcla de ellos en un rango de temperatura de 0°C hasta la temperatura ambiente durante varias horas.

Una tetraamina 13 o una de sus sales se hace reaccionar con un derivado de ácido [4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético 14, que es activado por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, 3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-ol, 4-nitrofenol o 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona, lo cual conduce a un intermediario 15. La reacción de apareamiento de las tetraaminas 13 con derivados del ácido [4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético 14 se realiza en un solvente adecuado, como, por ejemplo, *N,N*-dimetilacetamida o sulfóxido de dimetilo, o una mezcla de ellos, en un rango de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 80°C, para proporcionar los intermediarios 15.

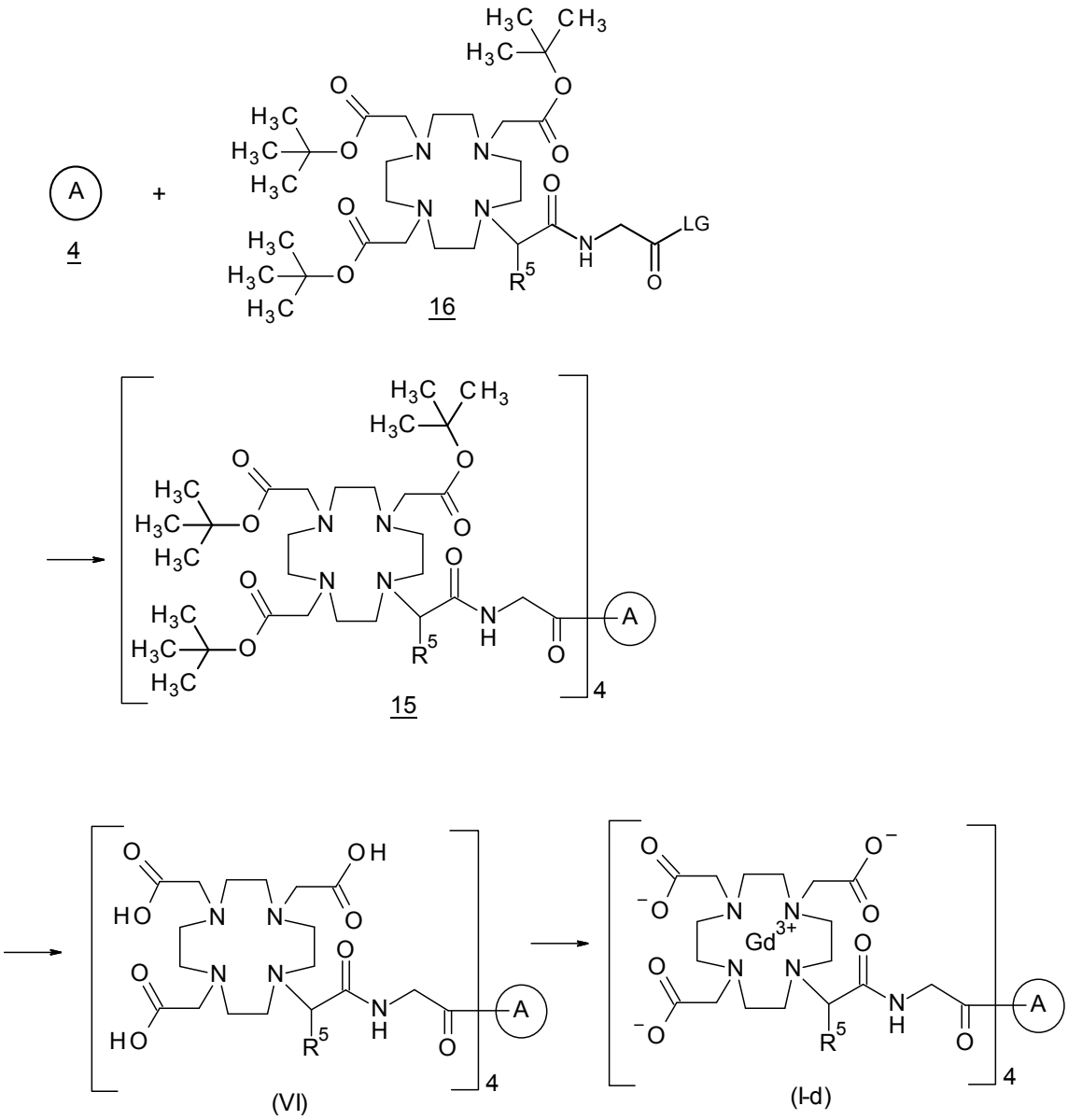
La escisión de los grupos protectores de carboxilo de los intermediarios 15 para proporcionar los intermediarios de fórmula general (VI) se puede lograr de acuerdo con lo descrito en el libro de texto de Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, segunda edición, página 245-247. La desprotección se realiza, por ejemplo, mediante la

disolución y agitación de intermediarios 15 en ácido trifluoroacético a temperatura ambiente durante varias horas.

La complejación de intermediarios de fórmula general (VI) con compuestos de gadolinio (III) adecuados o sus sales, como, por ejemplo, trióxido de gadolinio, triacetato de gadolinio o hidratos de triacetato de gadolinio, tricloruro de gadolinio o trinitrato de gadolinio, es muy conocida por los expertos en la técnica. Los intermediarios de fórmula general (VI) se disuelven en agua y luego de agregar compuestos de gadolinio (III) adecuados, las mezclas resultantes se agitan en un rango de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 100°C a pH = 1-7 durante varias horas para proporcionar los compuestos de fórmula general (I-d). Los intermediarios de fórmula general (VI), por ejemplo, se disuelven en agua, se agrega tetrahidrato de triacetato de gadolinio y se ajusta el pH a 3,5 - 5,5 mediante la adición de una base adecuada, como, por ejemplo, una solución de hidróxido de sodio acuosa. La reacción se realiza a temperaturas que oscilan desde 50°C a 80°C, lo cual conduce a compuestos de fórmula general (I-d).

Una ruta alternativa a la descripta en el Esquema 4 para la preparación de compuestos de fórmula general (I-d) se describe en el Esquema 12.

Esquema 12



Esquema 12: Ruta alternativa para la preparación de compuestos de fórmula general (I-d), en la que:

R^5 posee el significado dado para la fórmula general (I), *supra*,

(A) representa una tetraamina como la dada para la fórmula general (I),

supra, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 3H-[1,2,3]triazol[4,5-b]piridin-3-ol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*.

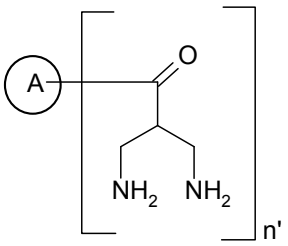
Los materiales de partida 4 son tetraaminas disponibles en el comercio o sus sales [por ejemplo, CAS 4742-00-1, CAS 294-90-6] o tetraaminas o sus sales que son conocidas en la literatura, o que se pueden preparar en forma análoga a los compuestos descriptos en la literatura. Los materiales de partida 16 se conocen en la literatura o bien se pueden sintetizar en forma análoga a compuestos descriptos en la literatura, por ejemplo, la alquilación en pasos del núcleo de cicleno.

Una tetraamina 4 o una de sus sales se hace reaccionar con un derivado de ácido [4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético 16, que es activado por un grupo saliente (LG), como, por ejemplo, 3*H*-[1,2,3]triazol[4,5-b]piridin-3-ol, 4-nitrofenol o 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona, que conduce a un intermediario 15. La reacción de apareamiento de las tetraaminas 4 con derivados de ácido [4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético 16 se realiza en un solvente adecuado, como, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida, para proporcionar los intermediarios 16.

La complejación de los intermediarios de fórmula general (VI) con compuestos de gadolinio (III) adecuados o sus sales, como, por ejemplo, trióxido de gadolinio, triacetato de gadolinio o hidratos de triacetato de gadolinio, tricloruro de gadolinio o trinitrato de gadolinio, es muy conocida

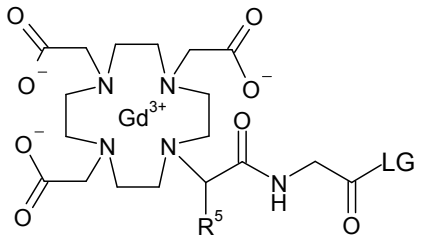
por los expertos en la técnica. Los intermediarios de fórmula general (VI) se disuelven en agua y luego de agregar compuestos de gadolinio (III) adecuados, las mezclas resultantes se agitan en un rango de temperatura desde la temperatura ambiente hasta 100°C a un pH = 1-7 durante varias horas, para proporcionar los compuestos de fórmula general (I-d). Los intermediarios de fórmula general (VI), por ejemplo, se disuelven en agua, se agrega tetrahidrato de triacetato de gadolinio y se ajusta el pH a 3,5 - 5,5 mediante el agregado de una base adecuada, como, por ejemplo, una solución de hidróxido de sodio acuosa. La reacción se realiza a temperaturas que oscilan de 50°C a 80°C, que conducen a compuestos de fórmula general (I-d).

De acuerdo con una modalidad, la presente invención también se refiere a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I-a) de acuerdo con lo definido *supra*, dicho método comprende el paso de permitir que un compuesto intermediario de fórmula general (II-a):



(II-a)

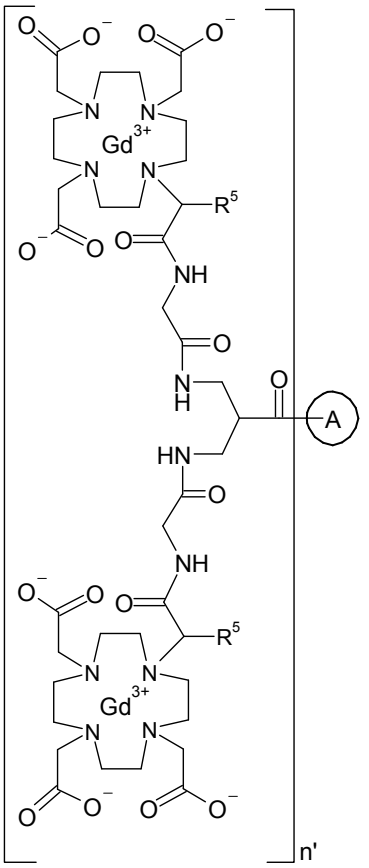
en la que (A) es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, o una sal del mismo, reaccione con un compuesto de fórmula general (III):



(III)

en la que R^5 es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*,

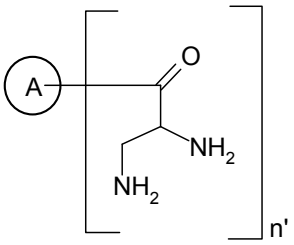
para proporcionar de ese modo un compuesto de fórmula general (I-a) :



(I-a)

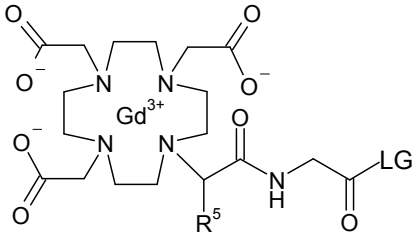
en la que (A) y R^5 son acordes a lo definido para el compuesto de fórmula general (I) *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4.

De acuerdo con otra modalidad, la presente invención también se refiere a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I-b) de acuerdo con lo definido *supra*, dicho método comprende el paso de permitir que un compuesto intermediario de fórmula general (II-b):



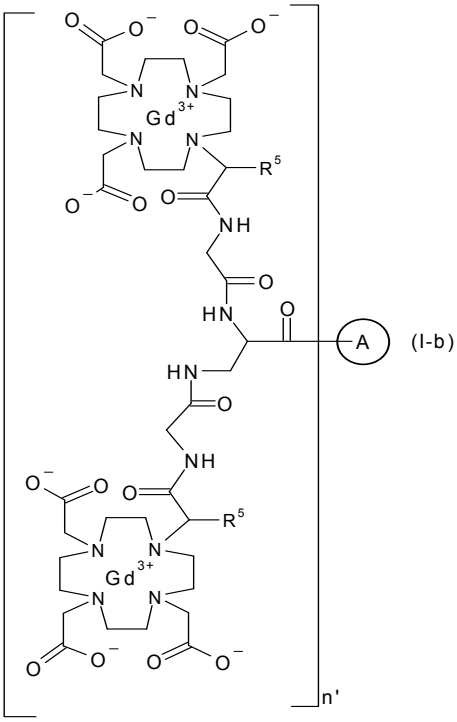
(II-b)

en la que (A) es acorde a definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, o una sal del mismo, reaccione con un compuesto de fórmula general (III):



(III)

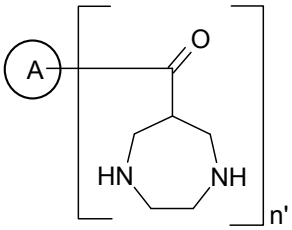
en la que R^5 es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*, para proporcionar de ese modo un compuesto de fórmula general (I-b) :



(I-b)

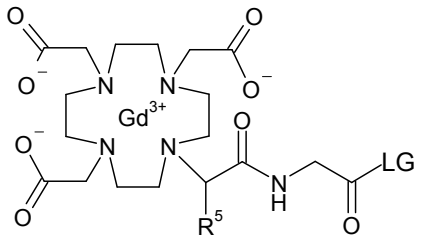
en la que A y R^5 son acordes a lo definido para el compuesto de fórmula general (I) *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4.

De acuerdo con otra modalidad, la presente invención también se refiere a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I-c) de acuerdo con lo definido *supra*, método que comprende el paso de permitir que un compuesto intermediario de fórmula general (II-c):



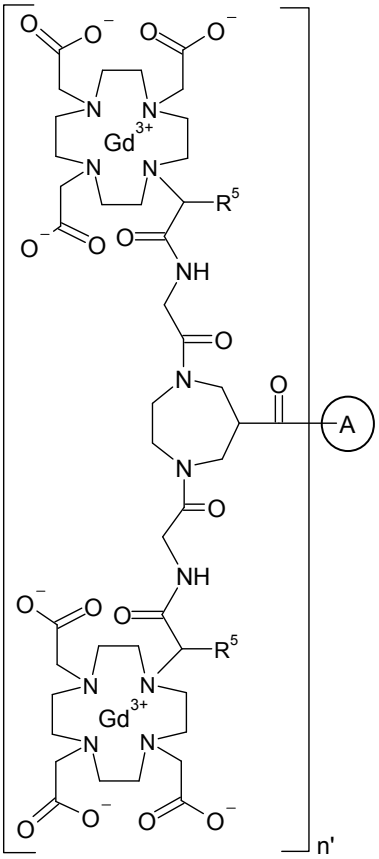
(II-c)

en la que (A) es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, o una sal del mismo, reaccione con un compuesto de fórmula general (III):



(III)

en la que R^5 es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*, para proporcionar de ese modo un compuesto de fórmula general (I-c) :



(I-c)

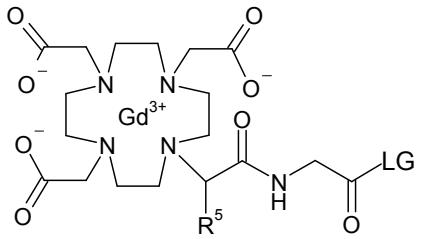
en la que (A) y R^5 son acordes a lo definido para el compuesto de fórmula general (I) *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4.

De acuerdo con otra modalidad, la presente invención se refiere también a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I-d) de acuerdo con lo definido *supra*, método que comprende el paso de permitir que un compuesto de fórmula 4,

(A)

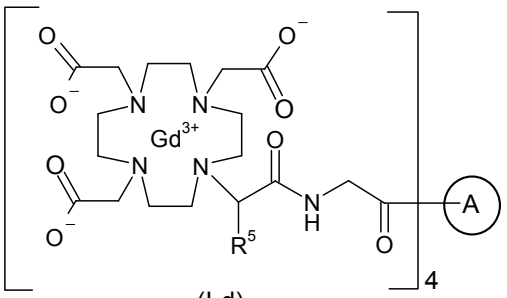
4

en la que (A) es una tetraamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, o una sal del mismo, reaccione con un compuesto de fórmula general (III):



(III)

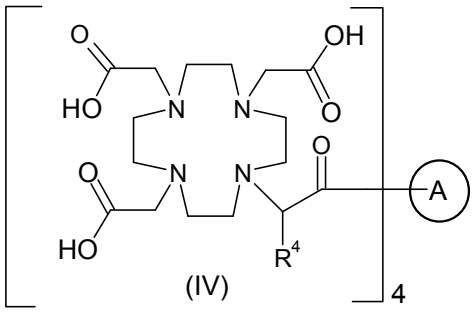
en la que R^5 es acorde a definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*, para proporcionar de ese modo un compuesto de fórmula general (I-d) :



(I-d)

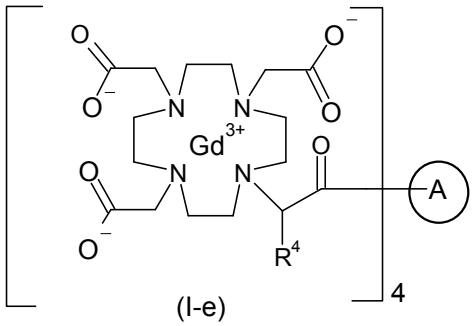
en la que R^5 es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I) *supra*, y (A) es una tetraamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*.

De acuerdo con otra modalidad, la presente invención se refiere también a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I-e) de acuerdo con lo definido *supra*, método que comprende el paso de permitir que un compuesto intermediario de fórmula general (IV):



(IV)

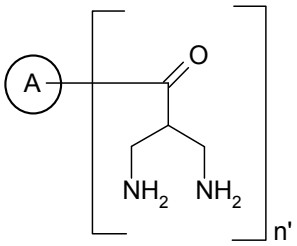
en la que R^4 es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y (A) es una tetraamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, reaccione con un compuesto de gadolinio (III) como, por ejemplo, trióxido de gadolinio, triacetato de gadolinio o hidratos de triacetato de gadolinio, tricloruro de gadolinio o trinitrato de gadolinio, o con una sal de ellos, para proporcionar de ese modo un compuesto de fórmula general (I-e):



(I-e)

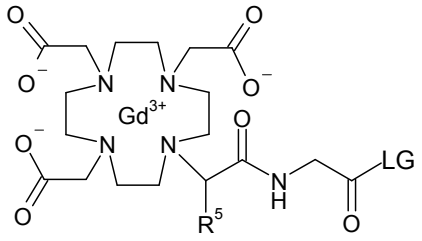
en la que R^4 es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y (A) es una tetraamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*.

De acuerdo con otra modalidad, la presente invención se refiere también a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I-f) de acuerdo con lo definido *supra*, método que comprende el paso de permitir que un compuesto intermediario de fórmula general (II-a):



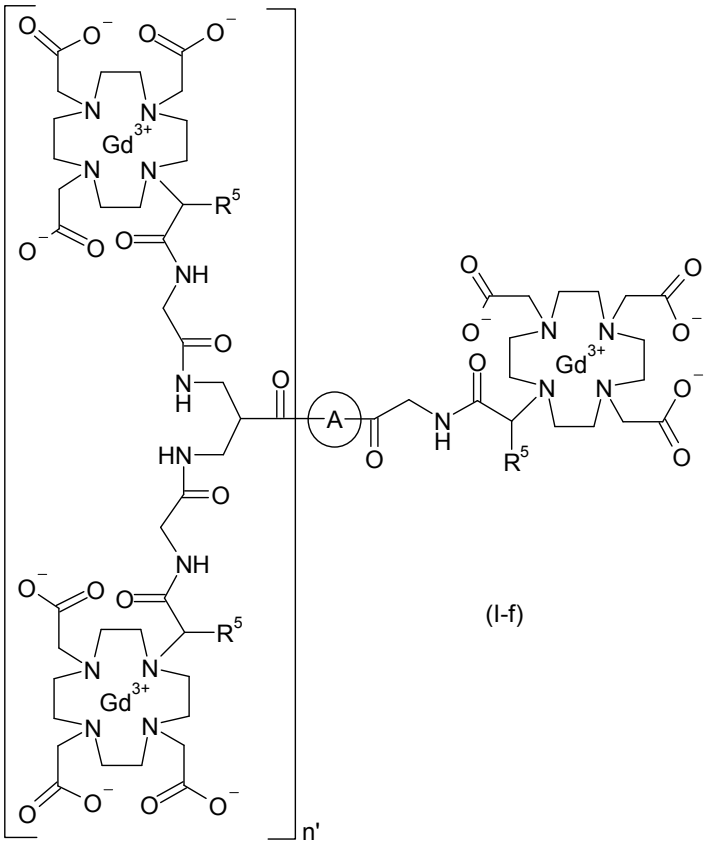
(II-a)

en la que (A) es una triamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, o una de sus sales, o en la que (A) es una tetraamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 3, o una sal del mismo, reaccione con un compuesto de fórmula general (III):



(III)

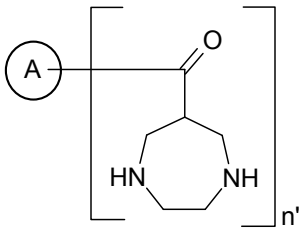
en la que R^5 es acorde con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*, para proporcionar de ese modo un compuesto de fórmula general (I-f) :



(I-f)

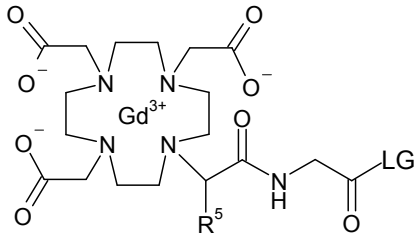
en la que R^5 es acorde a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y en la que (A) es una triamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, o en la que (A) es una tetraamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 3.

De acuerdo con otra modalidad, la presente invención se refiere también a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I-h) de acuerdo con lo definido *supra*, método que comprende el paso de permitir que un compuesto intermediario de fórmula general (II-c):



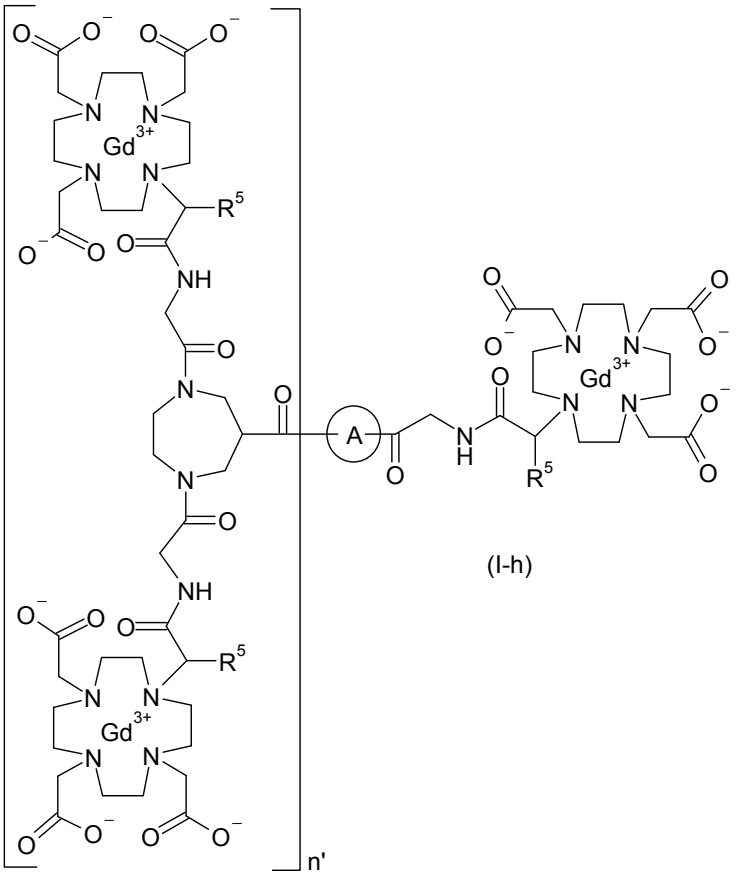
(II-c)

en la que (A) es una triamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, o una de sus sales, o en la que (A) es una tetraamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 3, o una sal del mismo, reaccione con un compuesto de fórmula general (III):



(III)

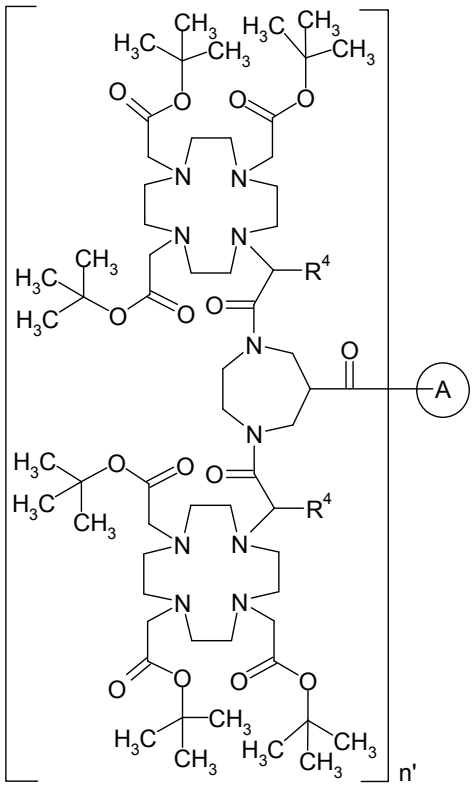
en la que R^5 es acorde con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y LG representa un grupo saliente activador, como, por ejemplo, 4-nitrofenol, o un grupo de acuerdo con lo definido para la síntesis de los compuestos de la fórmula general (I-a) *supra*, para proporcionar de ese modo un compuesto de fórmula general (I-h) :



(I-h)

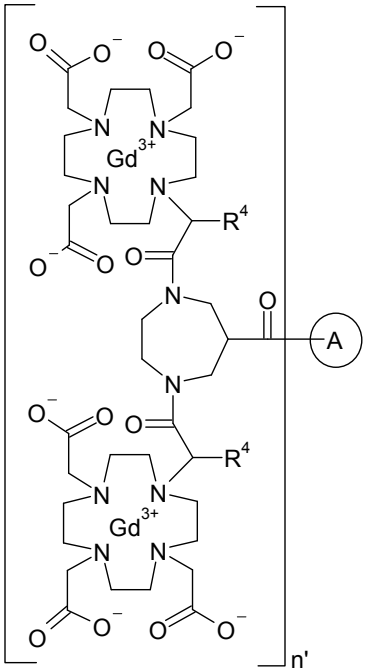
en la que R^5 es acorde con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y en la que (A) es una triamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, o en la que (A) es una tetraamina de acuerdo con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 3.

De acuerdo con otra modalidad, la presente invención se refiere también a un método para preparar un compuesto de fórmula general (I-k) de acuerdo con lo definido *supra*, método que comprende el paso e permitir que un compuesto intermediario de fórmula general (V):



(V)

en la que (A) y R^4 son acordes a lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4, en un primer paso reaccione con un ácido, como, por ejemplo, ácido clorhídrico acuoso, y en un segundo paso reacciones con un compuesto de gadolinio (III), como, por ejemplo, trióxido de gadolinio, triacetato de gadolinio o hidratos de triacetato de gadolinio, tricloruro de gadolinio o trinitrato de gadolinio, o con una de sus sales, para proporcionar de ese modo un compuesto de fórmula general (I-k) :



(I-k)

en la que (A) y R^4 son acordes con lo definido para el compuesto de fórmula general (I), *supra*, y n' representa un número entero de 2, 3 y 4.

Descripción de las Figuras

La **Figura 1** muestra la cinética del plasma sanguíneo del Ejemplo 3 contra Gadovist® en ratas. El perfil farmacocinético del Ejemplo 3 es comparable con aquel de Gadovist®.

La **Figura 2** muestra la evolución de la tasa relativa de relajación longitudinal paramagnética de protones de agua $R_1^p(t)/R_1^p(0)$ contra el tiempo del Ejemplo 3, el compuesto de referencia 1 (Gadovist®), el compuesto de referencia 2 (Magnevist®) y el compuesto de referencia 3 (Primovist®). La estabilidad del Ejemplo 3 es comparable con el compuesto 1 de referencia macrocíclico de alta estabilidad (Gadovist®).

La **Figura 3** muestra los datos de una angiografía de resonancia magnética en conejos blancos machos de Nueva Zelanda: (A) 30 µmol Gd/kg de peso corporal de compuesto de referencia 1 (Gadovist®); (B) 30 µmol Gd/kg de peso corporal del Ejemplo 3 y (C) 100 µmol Gd/kg de peso corporal del compuesto de referencia 1. La mejora de contraste del protocolo de baja dosis con el Ejemplo 3 (B) es comparable con aquella de la dosis estándar del compuesto de referencia 1 (C). Además, la calidad de las imágenes del protocolo de baja dosis del Ejemplo 3 (B) es significativamente mejor que el protocolo de dosis baja del compuesto de referencia 1 (A). El estudio de angiografía demuestra el potencial para el Ejemplo 3 para una reducción significativa de la dosis.

La **Figura 4** muestra imágenes de RM antes y después de la administración del agente de contraste. Las imágenes representativas de

la región de cabeza y cuello antes y 1,.4 min después de la administración del Ejemplo 3 (A) y el compuesto de referencia 1 (B). La intensidad fuerte de la señal es visible, por ejemplo, en el corazón, la lengua y el músculo del cuello.

La **Figura 5** muestra imágenes de una RM antes y después de la administración del agente de contraste. Las imágenes representativas de la región abdominal antes y 0,5 min después de la administración del Ejemplo 3 (A) y del compuesto de referencia 1 (B). La intensidad fuerte de la señal es visible, por ejemplo, en la aorta, el riñón, hígado y bazo.

La **Figura 6** muestra imágenes de RM antes y después de la administración del agente de contrasto. Imágenes representativas de la región pélvica antes y 2,9 minutos luego de la administración del Ejemplo 3 (A) y el compuesto de referencia 1 (B). La intensidad fuerte de la señal es visible, por ejemplo, en el sistema vascular (vasos) y en los músculos de las extremidades.

La **Figure 7** muestra intensidades de la señal de IRM para diferentes regiones del cuerpo. Intensidad de la señal con el transcurso del tiempo luego de la administración del Ejemplo 3 y el compuesto de referencia 1 (Gadovist®) para la lengua, músculo bucal, hígado, bazo, aorta y músculo de extremidad. No se observó ninguna diferencia en el transcurso del tiempo de cambios de señal entre el Ejemplo 3 y el compuesto de referencia 1. Ello demuestra las propiedades farmacocinéticas idénticas e indica el potencial del Ejemplo 3 para la

obtención de imágenes de diferentes regiones del cuerpo. Tal como se esperaba a partir de aproximadamente el doble de relaxividad (véase el Ejemplo A), las intensidades de contraste observadas del Ejemplo 3 fueron más elevadas en comparación con aquellas del compuesto de referencia 1 (Gadovist®). Las barras verticales representan el desvío estándar.

La **Figura 8** muestra una correlación de la concentración de gadolinio en el tejido y la intensidad de la señal de la IRM.

La concentración de gadolinio se midió en muestras de tejido de cerebro, lengua, hígado, bazo, sangre y músculo de extremidades (músculo) y los cambios de las señales de la IRM respectivos se determinaron in-vivo luego de la administración del Ejemplo 3 y el compuesto de referencia 1. Las barras de error vertical y horizontal representan el desvío estándar. Las líneas de puntos representan la regresión lineal entre la concentración de gadolinio y el cambio de señal de IRM.

La **Figura 9** muestra la difusión de diferentes agentes de contraste a través de las membranas semipermeables (20 kDa).

Se realizaron mediciones de CT dinámica para mostrar la capacidad de diferentes agentes de contraste de difundirse a través de una membrana semipermeable. Imágenes de CT (A) de los Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 en comparación con aquellas del compuesto de referencia 1 (Gadovist®) y 4 (Gadomer). En la imagen A1, se indica una región de

medición representativa para la evaluación de la señal con el transcurso del tiempo.

La **Figura 10** es un análisis de señales de un estudio fantasma de difusión de CT dinámica con el transcurso del tiempo. La señal en las unidades Hounsfield (HU) con el transcurso del tiempo de la casete de diálisis en una solución bovina fetal, para los ejemplos 1-6 y los compuestos de referencia 1 y 4 demuestran que contrariamente al compuesto de referencia 4 (Gadomer), todos los compuestos investigados son capaces de pasar a través de la membrana semipermeable (20 kDa).

La **Figura 11** muestra imágenes de resonancias magnéticas intensificadas por contraste de tumores de cerebro GS9L en ratas (marcados con flechas blancas). (A) Comparación intraindividual del compuesto de referencia (Gadovist®) y el Ejemplo 3 a la misma dosis de 0,1 mmol Gd/kg de peso corporal (pc). El Ejemplo 3 mostró un mayor contraste de la lesión respecto del cerebro y una excelente demarcación del borde del tumor.

(B) Comparación del compuesto de referencia 1 (Gadovist®) a 0,3 mmol Gd/kg de peso corporal y el Ejemplo 3 a 0,1 mmol de Gd/kw de peso corporal. El ejemplo 3 mostró un contraste similar de la lesión respecto del cerebro a un tercio de la dosis del compuesto de referencia 1.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

Abreviaturas

ACN	acetonitrilo
AUC	área debajo de la curva
br	señal amplia (en datos de la RMN)
pc	peso corporal
CPME	ciclopentilmetiléter
CPMG	Carr-Purcell-Meiboom-Gill (secuencia de IRM)
C_{Gd}	concentración del compuesto normalizado al Gadolinio
CI	ionización química
Cl_{tot}	Aclaramiento total
d	día(s)
DAD	Detector con matriz de diodos
DCM	diclorometano
DMF	*N,N*-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO-d_6	dimetilsulfóxido deuterado
ECCM	medios de contraste extracelulares
EI	ionización de electrones
ELSD	detector de dispersión de luz evaporativa
ESI	ionización por electroatomización
FBS	suero bovino fetal

h	hora
HATU	hexafluorofosfato de *N*-[(dimetilamino)(3*H*-[1,2,3]triazol[4,5-*b*]piridin-3-iloxi)-metiliden]-*N*-metilmetanaminio
HCOOH	ácido fórmico
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
HU	Unidades Hounsfield
IR	Recuperación de inversión
kDa	kiloDalton
CLEM	cromatografía líquida -espectrometría de masa
ICP-MS	Espectrometría de masa de plasma acoplada inductivamente
IRM	Imágenes de resonancia magnética
TRM	tiempo de residencia medio
EM	espectrometría de masa
m	multiplete
min	minuto(s)
RMN	espectroscopía de resonancia magnética nuclear: los cambios químicos (δ) se expresan en ppm.
r_i	(donde i=1, 2) relaxividades en L $mmol^{-1}$ s^{-1}
Rt.	tiempo de retención
s	singlete

RC	compuestos de referencia
R_i	(donde i=1, 2) tasas de relajación ($1/T_{1,2}$)
$R_{i(0)}$	tasa de relajación del solvente respectivo
$T_{1,2}$	tiempo de relajación
T	Tesla
t	triplete
t½ α	vida media del plasma, compartimento V1
t½ β	vida media del plasma, compartimento V2
t½ γ	vida media del plasma, compartimento V3
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TI	tiempo de inversión
UPLC	cromatografía líquida de ultrarrendimiento
V1 + V2	volumen, compartimentos V1+V2
V_c (V1)	volumen, compartimento central V1
$V_{d,ss}$	volumen de distribución en estado estable

Materiales e instrumentación

Los productos químicos utilizados para el trabajo sintético tenían una calidad de grado de reactivo y se utilizaron tal como se obtuvieron

Todos los reactivos, para los cuales no se describe la síntesis en la sección experimental, se hallan disponibles en el comercio o bien son compuestos conocidos o se pueden formar a partir de compuestos conocidos mediante métodos conocidos por un experto en la técnica.

Se midieron los espectros de RMN ^1H en $CDCl_3$, D_2O o DMSO-d_6, respectivamente (temperatura ambiente, espectómetro Bruker Avance 400, frecuencia de la resonancia: 400.20 MHz para ^1H o espectrómetro Bruker Avance 300, frecuencia de la resonancia: 300.13 MHz para ^1H. Los cambios químicas se expresan en ppm con respecto al (trimetilsilil)propionato-d_4 sódico (D_2O) o tetrametilsilano (DMSO-d_6) como estándares externos (δ = 0 ppm).

Los compuestos e intermediarios producidos de acuerdo con los métodos de la invención pueden requerir una purificación. La purificación de compuestos orgánicos es muy conocida por los expertos en la técnica y pueden existir varias maneras de purificar el mismo compuesto. En algunos casos, puede no necesitarse una purificación. En algunos casos, los compuestos se pueden purificar mediante cristalización. En algunos casos, las impurezas se pueden eliminar mediante agitación con un solvente adecuado. En algunos casos, los compuestos se pueden purificar mediante cromatografía, particularmente cromatografía en columna ultrarrápida, por ejemplo, con cartuchos de gel de sílice preempaquetados, cartuchos Biotage SNAP KP-Sil® o KP-NH® en combinación con un sistema purificador automático de Biotage (SP4® o Isolera Four®) y levigantes como, por ejemplo, gradientes de hexano/acetato de etilo o DCM/metanol. En algunos casos, los compuestos se pueden purificar mediante HPLC evaporativa, por ejemplo, con un purificador automático Waters equipado con un detector con matriz

de diodos y/o un espectrómetro de masa de ionización por electroatomización en línea en combinación con una columna de fase inversa prempaquetada adecuada y levigantes tales como gradientes de agua y acetonitrilo que pueden contener aditivos como, por ejemplo, ácido trifluoroacético, ácido fórmico o amoníaco acuoso.

Los ejemplos se analizaron y caracterizaron mediante los siguientes métodos analíticos basados en HPLC a los efectos de determinar el tiempo de retención y el espectro de masa característicos:

Método 1: UPLC (ACN-HCOOH):

Instrumento: Waters Acquity UPLC-MS SQD 3001; columna: Acquity UPLC BEH C18 1,7 µm, 50x 2,1mm; levigante A: agua + 0,1% de ácido fórmico, levigante B: acetonitrilo; gradiente: 0-1,6 min 1-99% B, 1,6-2,0 min 99% B; flujo 0,8 mL/min; temperatura: 60°C; inyección: 2 µl; barrido DAD: 210-400 nm; ELSD.

Método 2: UPLC (ACN-HCOOH polar):

Instrumento: Waters Acquity UPLC-MS SQD 3001; columna: Acquity UPLC BEH C18 1,7 µm, 50x2,1mm; levigante A: agua + 0,1% de ácido fórmico, levigante B: acetonitrilo; gradiente: 0-1,7 min 1-45% B, 1,7-2,0 min 45-99% B; flujo 0,8 mL/min; temperatura: 60°C; inyección: 2 µl; barrido del detector de matriz de diodos (*DAD, por sus siglas en inglés*): 210-400 nm; ELSD.

Método 3: UPLC (ejecución prolongada ACN-HCOOH):

Instrumento: Waters Acquity UPLC-MS SQD 3001; columna: Acquity UPLC BEH C18 1,7 µm, 50x2,1mm; levigante A: agua + 0,1% de ácido fórmico, levigante B: acetonitrilo; gradiente: 0-4,5 min 0-10% B; flujo 0,8 mL/min; temperatura: 60°C; inyección: 2 µl; barrido del DAD: 210-400 nm; ELSD.

Método 4: UPLC (ACN-NH_3):

Instrumento: Waters Acquity UPLC-MS ZQ2000; columna: Acquity UPLC BEH C18 1,7 µm, 50x2,1 mm; Levigante A: agua + 0,2% de amoníaco, levigante B: acetonitrilo; gradiente: 0-1,6 min 1-99% B, 1,6-2,0 min 99% B; velocidad de flujo 0,8 mL/min; temperatura: 60°C; inyección: 1 µL; barrido del DAD: 210-400 nm; ELSD.

Método 5: CL-EM:

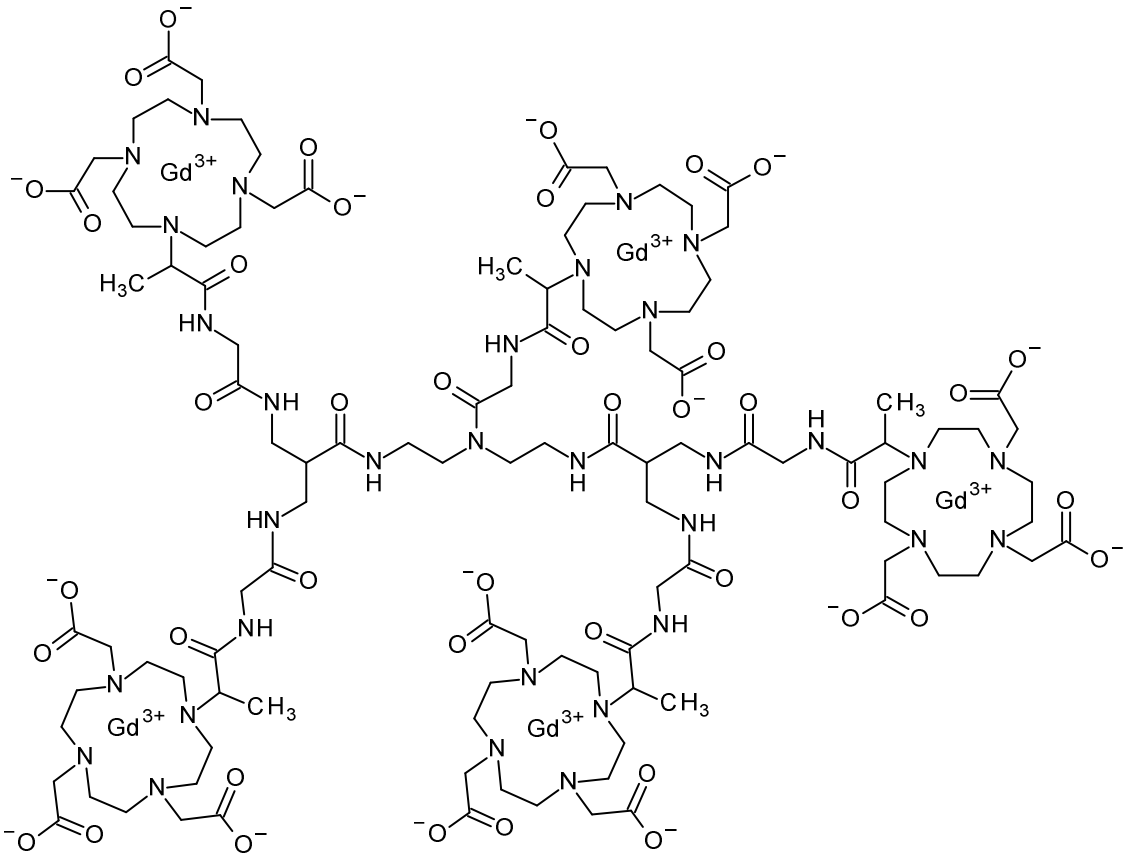
Instrumento: Agilent 1290 UHPLCMS Tof; columna: BEH C 18 (Waters) 1,7 µm, 50x2,1 mm; levigante A: agua + 0,05 % en vol. de ácido fórmico (99%), levigante B: acetonitrilo + 0,05% de ácido fórmico; gradiente: 0-1,7 min 98-10% A, 1,7-2,0 min 10% A, 2,0-2,5 min 10-98% A, flujo 1,2 mL/min; temperatura: 60°C; barrido del DAD: 210-400 nm.

Compuestos de ejemplo

Ejemplo 1

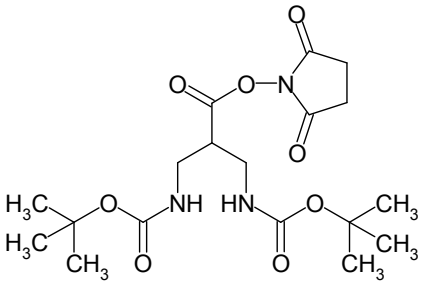
[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{3,6,10,18,22,25-hexaoxo-26-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-14-[({2-

[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-9,19-bis({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14,17,21,24-heptaazaheptacosan-2-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de pentagadolinio



Ejemplo 1a

(2-{[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]carbonil}propan-1,3-diil)biscarbamato de Di-*ter*-butilo



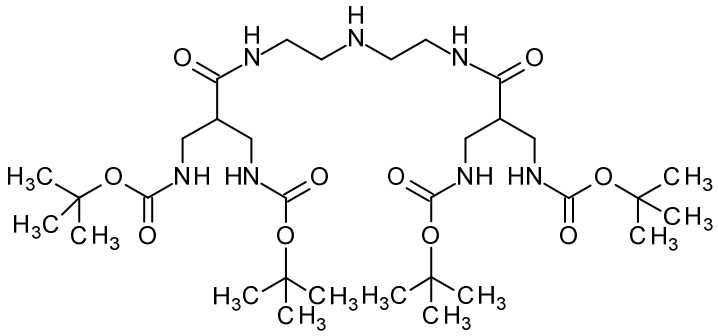
Se disolvieron 3,60 g (11,3 mmol, 1 eq.) de ácido 3-[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-2-{[(*ter*-butoxicarbonil)amino]metil}propanoico (véase WO 2006/136460 A2) y 1,43 g (12,4 mmol, 1,1 eq.) de 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona en 120 mL de THF. Se agregó por goteo a la mezcla de reacción una solución de 2,57 g (12,4 mmol, 1,1 eq.) *N*,*N*'-diciclohexilcarbodiimida en 60 mL de THF. Luego de agitar durante 3 horas a temperatura ambiente, la suspensión resultante se enfrió hasta 0°C y se filtró la urea precipitada. La solución transparente se evaporó hasta secarse, lo cual proporcionó 5,50 g (13,24 mmol, 117%) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,15 min.

EM (ES^+): m/z = 416,3 $(M + H)^+$.

Ejemplo 1b

(7,17-bis{[(*ter*-butoxicarbonil)amino]metil}-2,2-dimetil-4,8,16-trioxo-3-oxa-5,9,12,15-tetraazaoctadecan-18-il)carbamato de ter-butilo



Se disolvieron 4,70 g (11,3 mmol, 2,22 eq.) de (2-{[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]carbonil}propan-1,3-diil)biscarbamato de di-*ter*-butilo (ejemplo 1a) en 120 mL de THF. Se agregó por goteo a la mezcla de reacción una solución de 0,53 g (5,10 mmol, 1 eq.) de *N*-(2-aminoetil)etan-1,2-diamina y 1,14 g (11,3 mmol, 2,22 eq.) trietilamina en 40 mL de THF. Luego de agitar durante 3 horas a temperatura ambiente, la suspensión resultante se diluyó con diclorometano. La solución orgánica se lavó con hidróxido de sodio acuoso (0.1 M), con agua y se secó sobre sulfato de sodio. El producto bruto se aisló mediante evaporación bajo presión reducida y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice lo cual proporcionó 2,81 g (3,99 mmol, 78%) del compuesto del título.

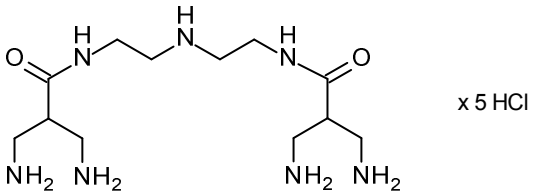
^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,36 (s, 36 H), 2,39 - 2,47 (m, 3 H), 2,52 - 2,58 (m, 4 H), 2,95 - 3,20 (m, 12 H), 6,64 (t, 4 H), 7,72 (t, 2 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,06 min.

EM (ES^+): m/z = 704,6 (M^+ + H).

Ejemplo 1c

Pentaclorhidrato de *N,N'*-(iminodietan-2,1-diil)bis[3-amino-2-(aminometil)propanamida]



Se disolvieron 600 mg (0,85 mmol) de (7,17-bis{[(*ter*-butoxicarbonil)amino]metil}-2,2-dimetil-4,8,16-trioxo-3-oxa-5,9,12,15-tetraazaoctadecan-18-il)carbamato de *ter*-butilo (ejemplo 1b) en 9,6 mL de metanol y 2,85 mL de ácido clorhídrico acuoso (37%). La mezcla de reacción se calentó con agitación durante 2 horas a 50°C. Para el aislamiento, la suspensión se evaporó hasta secarse, lo cual proporcionó 423 mg (0,87 mmol, 102%) del compuesto del título.

^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O): δ = 3,04 - 3,15 (m, 2 H), 3,17 - 3,27 (m, 8 H), 3,29 - 3,38 (m, 4 H), 3,55 (t, 4 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,19 min.

MS (ES^+): m/z = 304,2 $(M + H)^+$, base libre.

Ejemplo 1

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{3,6,10,18,22,25-hexaoxo-26-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-14-[({2-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-9,19-bis({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-

propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14,17,21,24-heptaazaheptacosan-2-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de pentagadolinio

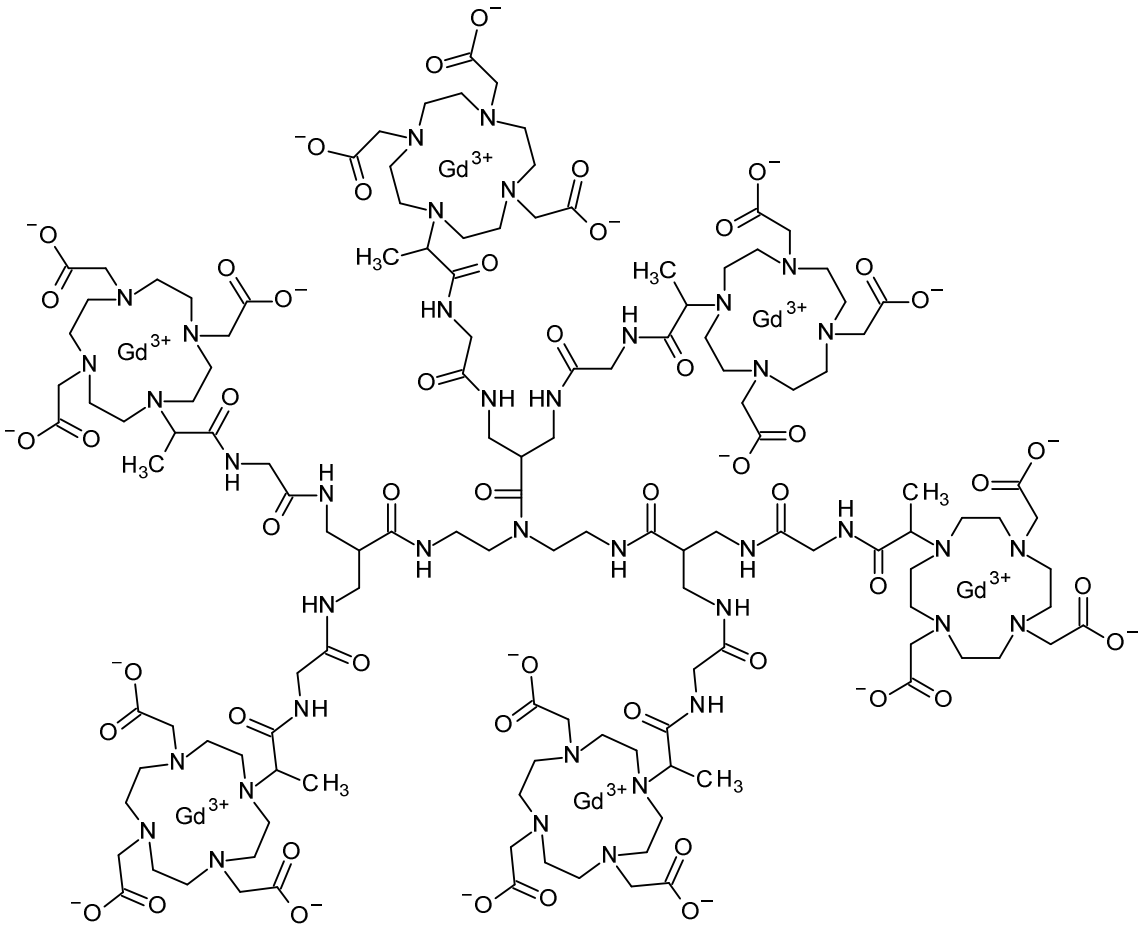
Se disolvieron 150 mg (309 µmol, 1 eq.) de pentaclorhidrato de *N*,*N*'-(Iminodietan-2,1-diil)bis[3-amino-2-(aminometil)-propanamida] (ejemplo 1c) en 60 mL de DMSO. Luego de agregar 499 mg (3,86 mmol, 12,5 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 4,06 g (5,40 mmol, 17,5 eq.) de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio (véase WO 2001051095 A2), La mezcla de reacción resultante se agitó y calentó durante 8 horas a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida hasta obtener un volumen final de 15-20 mL. El concentrado se vertió con agitación en 400 mL de acetato de etilo, el precipitado formado se filtró y se secó en condiciones de vacío. El sólido se disolvió en agua, la solución resultante se ultrafiltró con agua con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante Cromatografía de RP lo cual proporcionó 668 mg (64%, 199 µmol) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,46 min.

EM (ES^-): m/z (z = 2) = 1680,5 $(M - 2H)^{2-}$; (ES^+): m/z (z =3) = 1121,3 $(M + H)^{3+}$, m/z (z = 4) = 841,4 $[(M + H)^{4+}$.

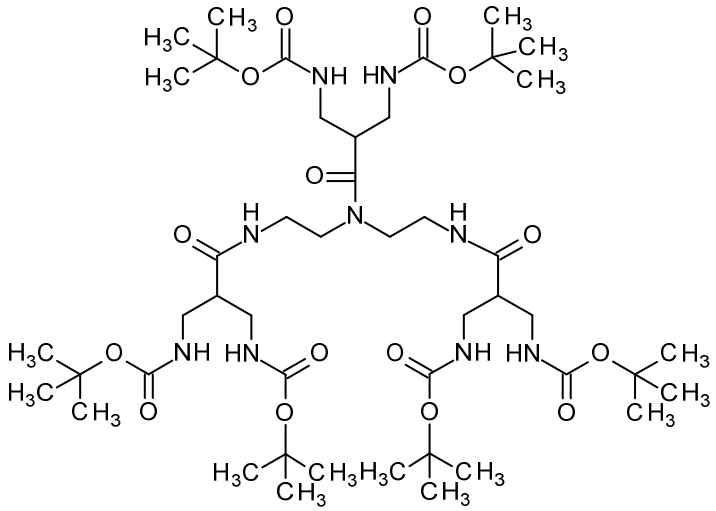
Ejemplo 2

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{3,6,10,15,19,22-hexaoxo-23-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,16-bis({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-amino}metil)-11-(2-{[3-{[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclo-dodecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}-2-({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)propanoil]-amino}etil)-4,7,11,14,18,21-hexaazatetracosan-2-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de hexagadolinio



Ejemplo 2a

(12-{2-[(3-[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-2-{[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-metil}propanoil)amino]etil}-7,14-bis{[(*ter*-butoxicarbonil)amino]metil}-2,2-dimetil-4,8,13-trioxo-3-oxa-5,9,12-triazapentadecan-15-il)carbamato de *ter*-butilo



Se disolvieron 890 mg (2,80 mmol, 3 eq.) de ácido 3-[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-2-{[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-metil}propanoico (véase WO 2006/136460 A2) en 22 mL de DMF. Se agregaron a la solución 434 mg (3,36 mmol, 3,6 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 1,28 g (3,36 mmol, 3,6 eq.) de HATU. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Luego de la adición por goteo de una solución de 96,1 mg (0,93 mmol, 1 eq.) de *N*-(2-aminoetil)etan-1,2-diamina y 434 mg (3,36 mmol, 3,6 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina en 9 mL de DMF, La mezcla de reacción resultante se calentó con agitación durante 3 horas a 70°C. Luego de enfriar y diluir con diclorometano, la solución se lavó con hidróxido de sodio acuoso (0.1 M), ácido cítrico acuoso (1%) y agua y se secó sobre sulfato de sodio. El producto bruto se aisló mediante evaporación bajo presión reducida y se purificó mediante

cromatografía de gel de sílice, lo cual proporcionó 451 mg (0,45 mmol, 48%) del compuesto del título.

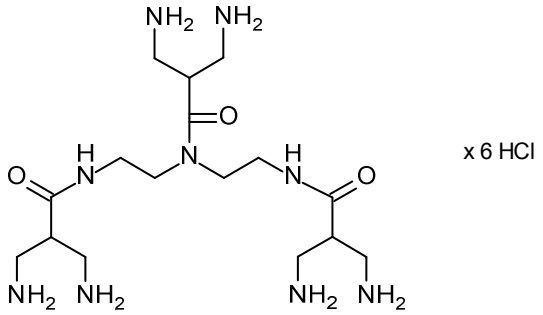
^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,37 (s, 54 H), 2,36 - 2,49 (m, 3 H), 2,81 - 3,30 (m, 17 H), 3,36 - 3,70 (m, 3 H), 6,16 - 6,92 (m, 6 H), 7,77 - 8,35 (m, 2 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,49 min.

EM (ES^+): m/z = 1004,6 $(M + H)^+$.

Ejemplo 2b

Hexaclorhidrato de 3-amino-*N,N*-bis(2-{[3-amino-2-(aminometil)propanoil] amino}etil)-2-(aminometil)-propanamida



Se disolvieron 581 mg (0,58 mmol) de (12-{2-[(3-[(ter-butoxicarbonil)amino]-2-{[(*ter*-butoxi-carbonil)amino]metil}propanoil)amino]etil}-7,14-bis{[(*ter*-butoxicarbonil)amino]metil}-2,2-dimetil-4,8,13-trioxo-3-oxa-5,9,12-triazapentadecan-15-il)carbamato de ter-butilo (ejemplo 2a) en 9,3 mL de

metanol y 2,9 mL de ácido clorhídrico acuoso (37%). La mezcla de reacción se calentó con agitación durante 2 horas a 50°C. Para el aislamiento, la suspensión se evaporó hasta secarse, lo cual proporcionó 376 mg (0,60 mmol, 103%) del compuesto del título.

^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O): δ = 3,13 - 3,27 (m, 2 H), 3,28 - 3,85 (m, 21 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,19 min.

EM (ES^+): m/z = 404.3 $(M + H)^+$, base libre.

Ejemplo 2

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{3,6,10,15,19,22-hexaoxo-23-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,16-bis({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-amino}metil)-11-(2-{[3-{[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}-2-({[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)propanoil]-amino}etil)-4,7,11,14,18,21-hexaazatetracosan-2-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de Hexagadolinio

Se disolvieron 150 mg (241 µmol, 1 eq.) de hexaclorhidrato de 2-amino-*N*,*N*-bis(2-{[3-amino-2-(aminometil)propanoil]amino}-etil)-2-(aminometil)propanamida (ejemplo 2b) en 60 mL de DMSO. Luego de agregar 467 mg (3,62 mmol, 15 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 3,80 g (5,06 mmol, 21 eq.) de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio (véase WO 2001051095 A2), la mezcla de reacción resultante se agitó y calentó durante 8 horas a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida hasta obtener un volumen final de 15-20 mL. El concentrado se vertió con agitación en 400 mL de acetato de etilo y el precipitado formado se filtró y se secó en condiciones de vacío. El sólido se disolvió en agua, la solución resultante se ultrafiltró con agua con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de RP lo cual proporcionó 677 mg (166 µmol, 69%) del compuesto del título.

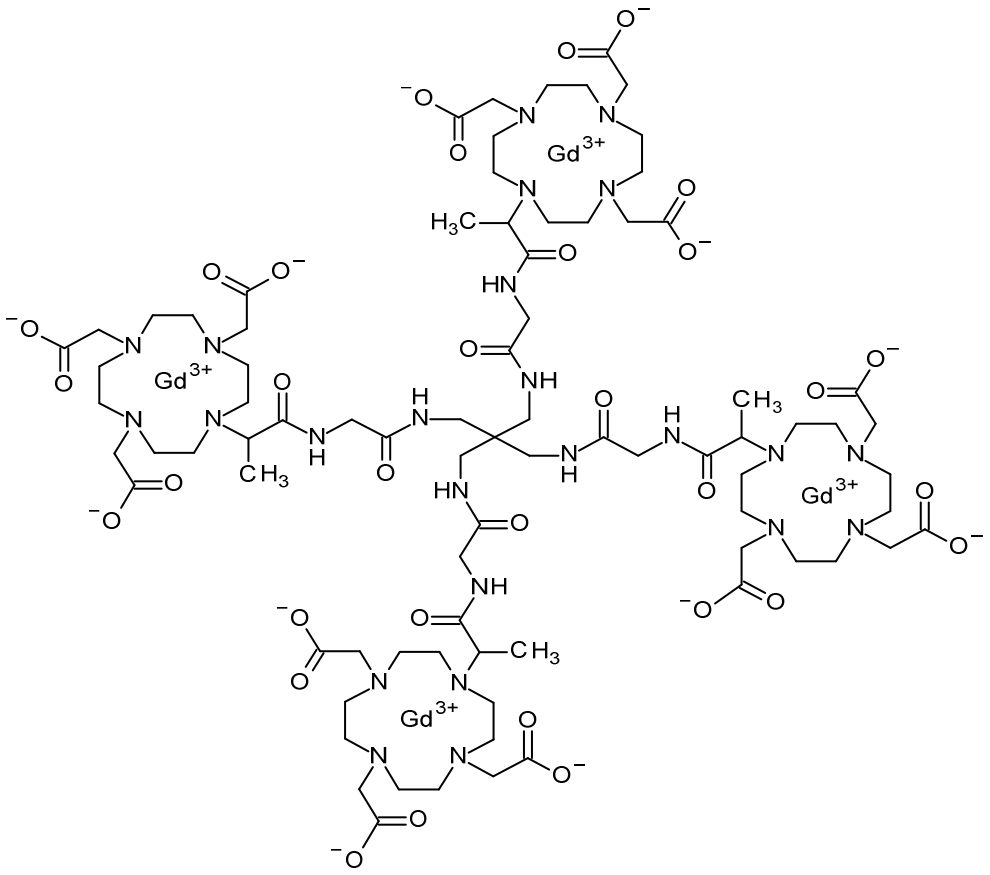
UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,44 min.

EM (ES^+): m/z (z = 3) = 1357,4 $(M + 3H)^{3+}$, m/z (z = 4) = 1018,8 $(M + 4H)^{4+}$], m/z (z = 5) = 815,7 $(M + 5H)^{5+}$,

Ejemplo 3

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({2-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-

il]propanoil}amino)acetil]-amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de tetragadolinio



Se disolvieron 225 mg (1,65 mmol, 1 eq.) de 2,2-bis(aminometil)propan-1,3-diamina (véase W. Hayes et al., Tetrahedron 59 (2003), 7983 - 7996) en 240 mL de DMSO. Luego de agregar 1,71 g (13,2 mmol, 8 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 14,9 g (19,85 mmol, 12 eq.) de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio (véase WO

2001051095 A2), la mezcla de reacción resultante se agitó y calentó durante 8 horas a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida hasta obtener un volumen final de 40 - 50 mL. El concentrado se vertió con agitación en 600 mL de acetato de etilo y el precipitado formado se filtró y se secó en condiciones de vacío. El sólido se disolvió en agua, la solución resultante se ultrafiltró con agua con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de RP, lo cual proporcionó 3,42 g (80%, 1,33 mmol) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,42 min.

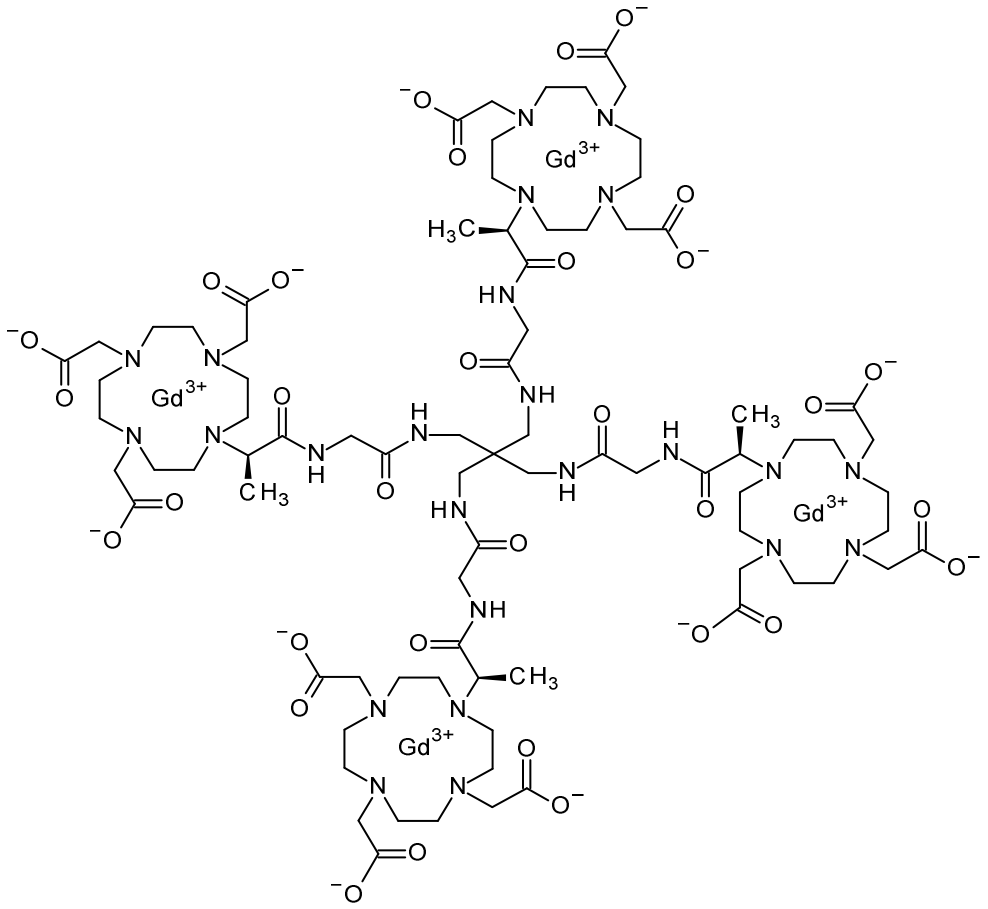
EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1290,4 $(M + H)^{2+}$, m/z (z = 3) = 860,7 $(M + H)^{3+}$.

El Ejemplo 3 comprende una mezcla de estereoisómeros, que presentan las siguientes configuraciones absolutas:

todos-R, todos-S, RRRS, SSSR, RRSS.

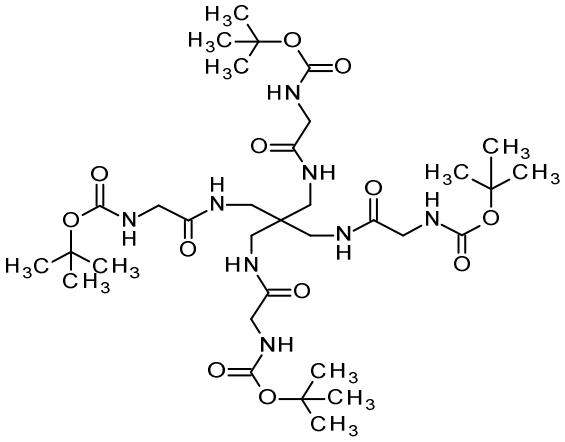
Ejemplo 3-1

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2R)-2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)-acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de tetragadolinio



Ejemplo 3-1a

{10,10-bis[({[(*ter*-butoxicarbonil)amino]acetil}amino)metil]-2,2-dimetil-4,7,13-trioxo-3-oxa-5,8,12-triazatetradecan-14-il}carbamato de *ter*-butilo



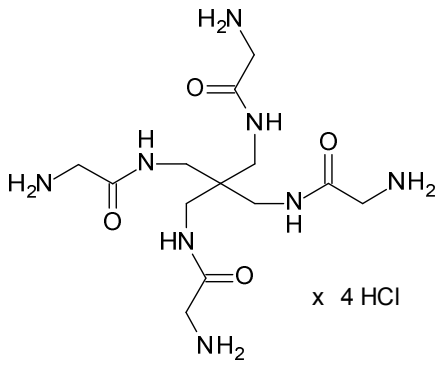
Una mezcla de tetraclorhidrato de 2,2-bis(aminometil)propan-1,3-diamina (851 mg, 3,06 mmol, 1 eq.; véase W. Hayes et al., Tetrahedron 59 (2003), 7983 - 7996) en diclorometano (50 mL) se trató con *N*,*N*-diisopropiletilamina (6,00 eq., 3,20 mL, 18,4 mmol) y 2,5-dioxopirrolidin-1-il *N*-(*ter*-butoxicarbonil)glicinato (Nro. de CAS [3392-07-2]; 6,00 eq., 5,00 g, 18,4 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante dos días y medio. La mezcla de reacción se diluyó con agua, el precipitado formado se filtró y lavó con agua y diclorometano. El material precipitado se sometió a una cromatografía de gel de sílice (diclorometano/metanol) para proporcionar el compuesto del título (800 mg, 34%).

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,36 (s, br, 36H), 2,74 - 2,76 (m, 8H), 3,48 - 3,50 (m, 8H), 6,96 (s, br, 0,4H*), 7,40 - 7,42 (m, 3,6H*), 7,91 - 8,00 (m, 4H) ppm.

CL-EM (ES^+): m/z = 761,4 $(M + H)^+$; Rt. = 1,16 min.

Ejemplo 3-1b

Tetraclorhidrato de 2-amino-*N*-(3-[(aminoacetil)amino]-2,2-bis{[(aminoacetil)amino]metil}propil)acetamida



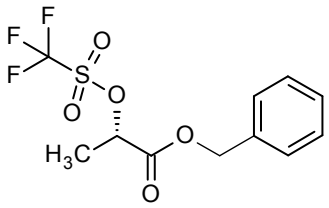
Una suspensión de {10,10-bis[({[(*ter*-butoxicarbonil)amino]acetil}amino)metil]-2,2-dimetil-4,7,13-trioxo-3-oxa-5,8,12-triazatetradecan-14-il}carbamato de *ter*-butilo (1,00 eq., 800 mg, 1,05 mmol) del ejemplo 11a en CPME (10 mL) se enfrió hasta 0°C y se trató por goteo con HCl en CPME (10 eq., 3,5 mL de una solución 3M, 10,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 C durante 1 hora y a ta durante la noche ante lo cual se agregaron dioxano (4 mL) y otra cantidad de HCl en CPME (30 eq., 11 mL de una solución 3M, 32 mmol) y se agitó a ta en forma continua durante 2 días. La suspensión resultante se concentró in vacuo para proporcionar el compuesto del título (575 mg, cuant.) que no se purificó adicionalmente.

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 3,17 - 3,18 (m, 8H), 3,59 - 3,61 (m, 8H), 8,21 (s, br, 12H), 8,55 (t, 4H) ppm.

CL-EM (ES^+): m/z = 361.2 $(M - 3HCl - Cl^-)^+$; Rt. = 0,10 min.

Ejemplo 3-1c

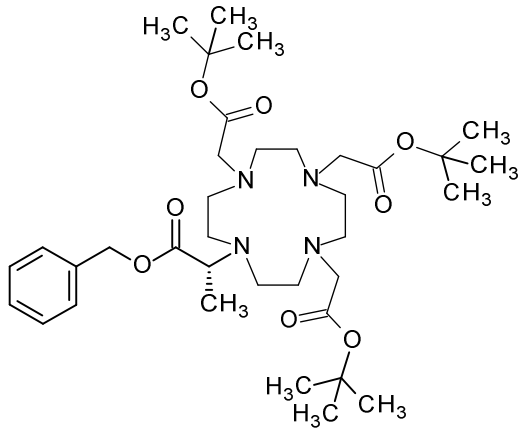
(2S)-2-{[(Trifluorometil)sulfonil]oxi}propanoato de bencilo



Preparado de acuerdo con H.C.J. Ottenheim et al., Tetrahedron 44 (1988), 5583 – 5595: Una solución de benciléster del ácido (S)-(-)-láctico (CAS Nro. [56777-24-3]; 1,00 eq., 5,00 g, 27,7 mmol) en diclorometano seco (95 mL) se enfrió hasta 0°C y se trató con anhídrido trifluorometansulfónico (CAS Nro. [358-23-6]; 1,1 eq., 5,2 mL, 8,6 g, 31mmol). Luego de agitar durante 5 minutos, se agregó 2,6-dimetilpiridina (1,15 eq., 3,72 mL, 3,42 g) y se agitó en forma continua durante otros 5 minutos. La mezcla de reacción obtenida se usó directamente en el siguiente paso.

Ejemplo 3-1d

(2R)-2-[4,7,10-Tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoato de bencilo



Una solución de 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato de tri-*ter*-butilo (CAS Nro. [122555-91-3]; 1,00 eq., 9,52 g, 18,5 mmol) en diclorometano seco (75 mL) se enfrió hasta 0°C y se trató con la mezcla de reacción de (2S)-2-{[(trifluorometil)sulfonil]oxi}propanoato de bencilo en diclorometano preparado en el ejemplo 3-1c; y *N,N*-diisopropiletilamina (3,0 eq, 9,7 mL, 55 mmol). La solución resultante se agitó a ta durante 6 días, luego de lo cual se diluyó con acetato de etilo y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró bajo presión reducida. El material obtenido se purificó mediante una cromatografía de gel de sílice en fase amino (KP-NH®, hexano/acetato de etilo a diclorometano/metanol) para proporcionar el compuesto del título (1,92 g, 14%).

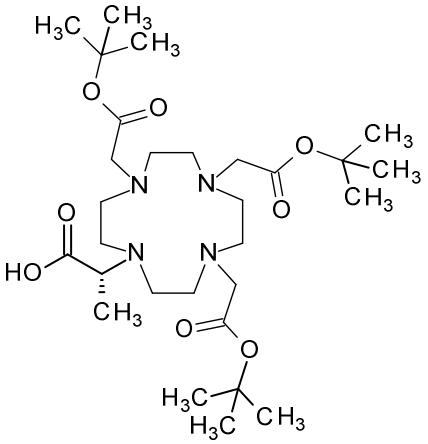
^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,20 (d, 3H), 1,37 - 1,45 (m, 27H), 1,98 - 2,01 (m, 3H), 2,08 - 2,24 (m, 5H), 2,57 - 2,84 (m, 7H), 2,94 - 3,11 (m,

4H), 3,38 - 3,48 (m, 3H), 3,75 (q, 1H), 5,07 - 5,17 (m, 2H), 7,32 - 7,40 (m, 5H) ppm.

CL-EM (ES^+): m/z = 677,5 $(M + H)^+$, m/z (z =2) = 339,2 $(M + H)^{2+}$; Rt, = 1,06 min.

Ejemplo 3-1e

Ácido (2R)-2-[4,7,10-Tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoico



Una solución de (2R)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoato de bencilo (ejemplo 3-1d; 1,92 g, 2,84 mmol) en metanol (17,5 mL) se trató con Pd/C (10% en peso; 0,050 eq., 151 mg, 0,14 mmol) y se agitó en una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre Celite®, se lavó con metanol y el filtrado se concentró in vacuo para

proporcionar el compuesto del título (1,51 g, 88%) que no se purificó adicionalmente.

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,11 (s, br, 3H), 1,42 - 1,43 (m, 27H), 1,97 - 2,13 (m, 5H), 2,56 - 2,82 (m, 7H), 2,97 - 3,07 (m, 4H), 3,34 - 3,53 (m, 7H), 12,8 (s, br, 1H) ppm.

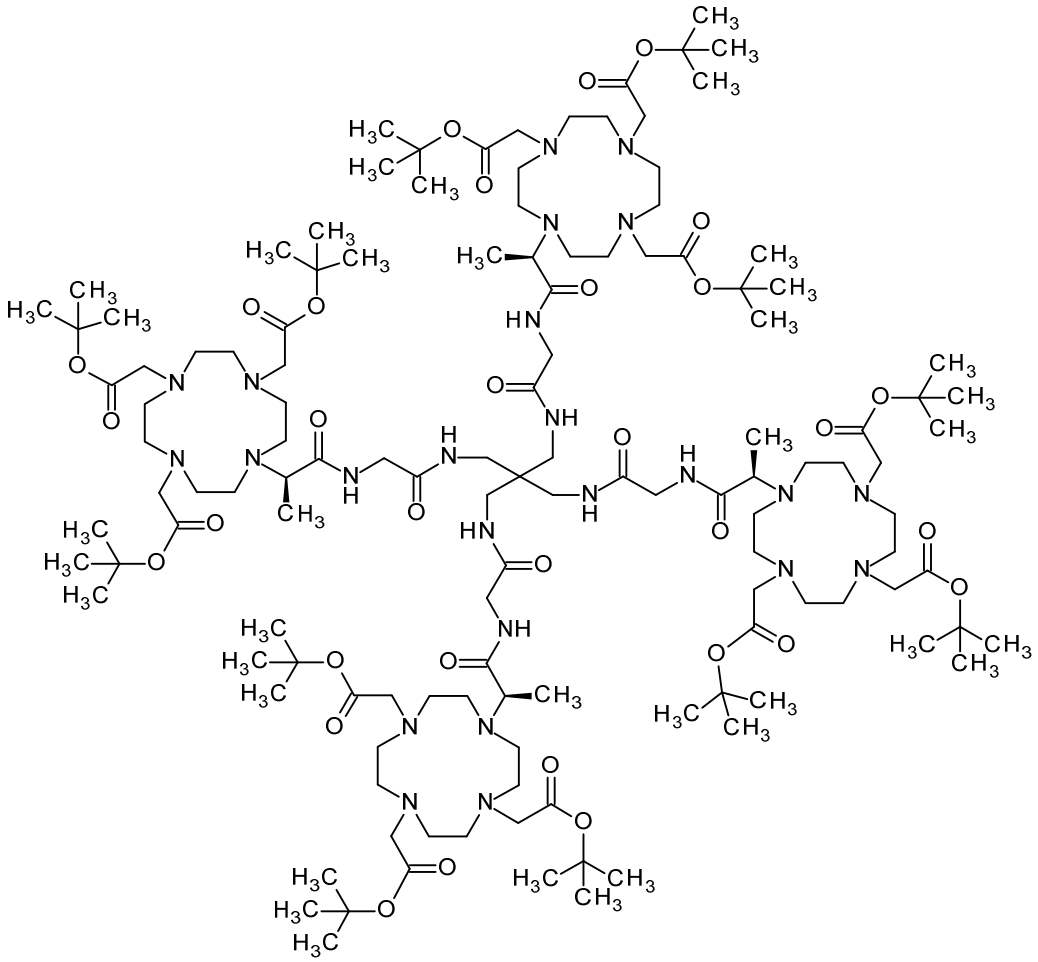
UPLC (ACN-NH_3): Rt. = 1,31 min.

EM (ES^+): m/z = 587 $(M + H)^+$.

CL-EM (ES^+): m/z = 587 $(M + H)^+$, m/z (z =2) = 294,2 $(M + H)^{2+}$; Rt. = 0,79 min.

Ejemplo 3-1f

{4,10-bis(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2R)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}-amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de *ter*-butilo



Una mezcla de ácido (2R)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoico (ejemplo 3-1e; 12,0 eq., 1,50 g, 2,56 mmol) en *N*,*N*-dimetilacetamida (15 mL) se trató con HATU (14,4 eq., 1,17 g, 3,07 mmol) y *N,N*-diisopropiletilamina (14,4 eq, 534 µL, 3,07 mmol) y se agitó a ta durante 20 minutos. Se agregó una suspensión de tetraclorhidrato de 2-amino-*N*-(3-[(aminoacetil)amino]-2,2-bis{[(aminoacetil)amino]metil}propil)acetamida (ejemplo 3-1b; 1,00 eq.,

108 mg, 213 µmol) en *N*,*N*-dimetilacetamida (6mL) y la mezcla resultante se agitó a 50°C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y el residuo obtenido se sometió a una cromatografía de gel de sílice en fase amino (KP-NH®, acetato de etilo a acetato de etilo/metanol) para proporcionar el compuesto del título (260 mg, 42%).

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,03 (s, br, 5H), 1,28 (s, br, 7H), 1,36 - 1,43 (m, 108H), 1,87 - 2,24 (m, 23H), 2,42 (s, br, 4H), 2,53 - 2,84 (m, 41H), 2,97 - 3,18 (m, 17H), 3,28 (s, br, 5H), 3,39 - 3,46 (m, 6H), 3,58 (s, br, 7H), 3,76 (s, br, 2H), 4,01 (s, br, 3H), 7,81 (s, br, 5H), 8,33 (s, br, 2H), 9,27 (s, br, 1H) ppm.

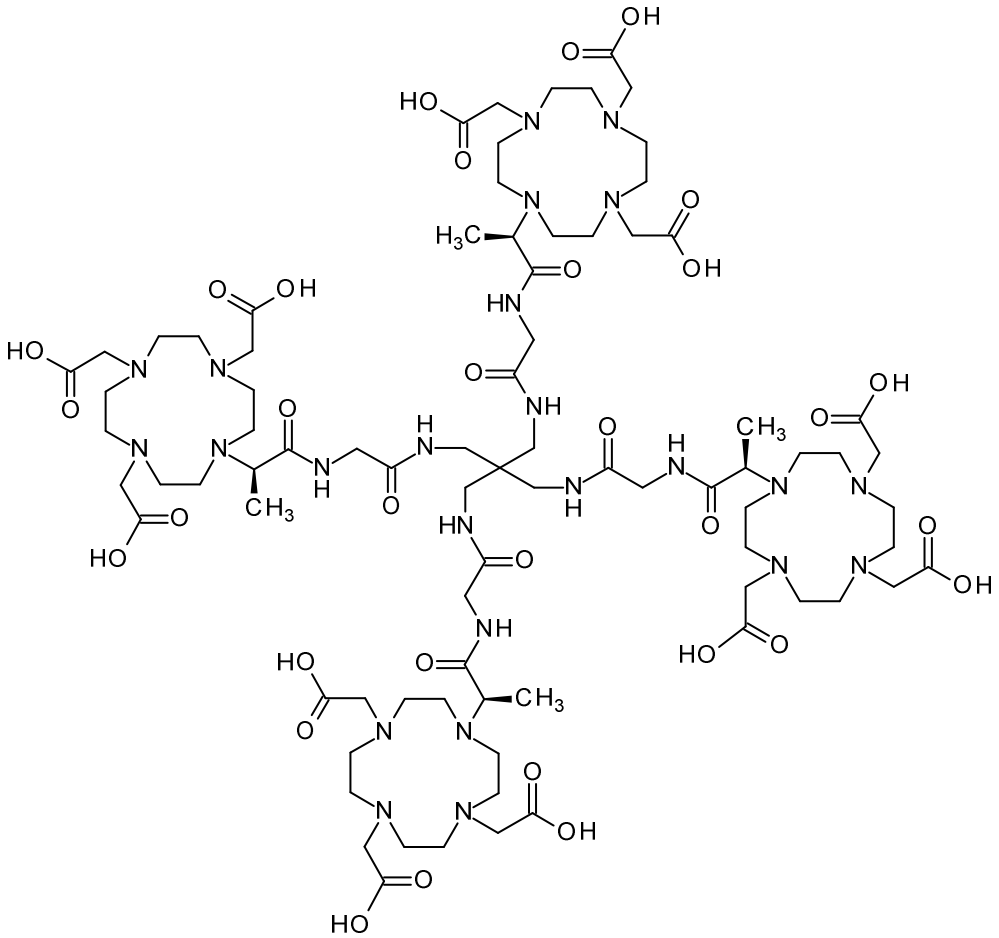
UPLC (ACN-NH_3): Rt. = 1,23 min.

EM (ES^+): m/z (z =4) = 660 $(M + H)^{4+}$.

CL-EM (ES^+): m/z (z =2) = 1318 $(M + H)^{2+}$, m/z (z =3) = 879 $(M + H)^{3+}$, m/z (z =4) = 660 $(M + H)^{4+}$; Rt, = 0,94 min.

Ejemplo 3-1g

Ácido {4,10-bis(carboximetil)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2R)-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil] amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acético



{4,10-bis(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2R)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}-acetato de ter-butilo (ejemplo 3-1f; 260 mg, 0,099 mmol) se trató con TFA (25 mL) con agitación a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, el residuo obtenido se tomó

con agua (20 mL) y se liofilizó. El producto bruto se usó sin caracterización adicional en el siguiente paso químico.

Ejemplo 3-1

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2R)-2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de tetragadolinio

El material bruto ácido {4,10-bis(carboximetil)-7-[(2R,16R)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2R)-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil] amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acético del ejemplo 3-1g se disolvió en agua (20 mL). Se agregó tetrahidrato de tris(acetato-kappaO)gadolinio (298 mg, 0,734 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 70°C durante 2 h. El valor de pH de la solución resultante se ajustó a 4,5 mediante la adición de una solución de hidróxido de sodio acuoso (2 N) y agitación a 70°C en forma continua durante 2 días. La solución resultante se ultrafiltró con agua (7x100 mL)

con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó, lo cual proporcionó el compuesto del título (70 mg, 27% en dos pasos).

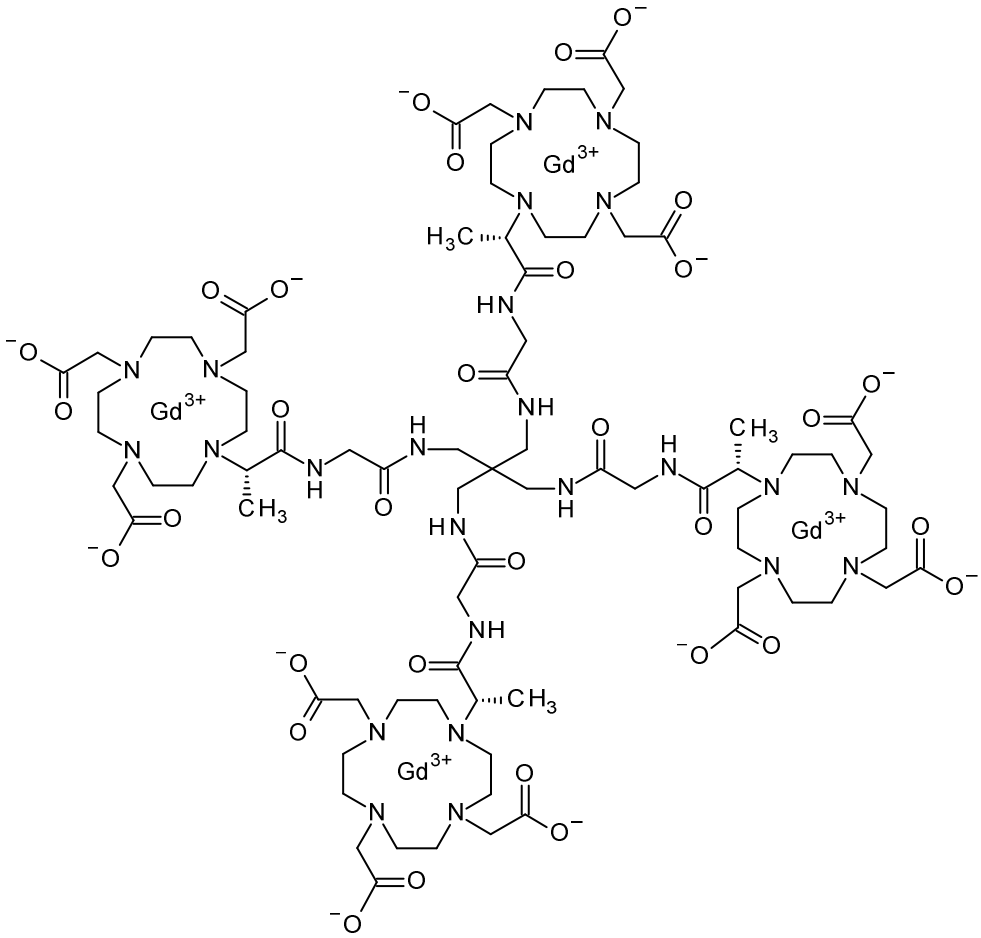
UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,39 min.

EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1290,1 $(M + H)^{2+}$, m/z (z = 3) = 860,3 $(M + H)^{3+}$.

CL-EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1290,3 $(M + H)^{2+}$, m/z (z = 3) = 860,9 $(M + H)^{3+}$, m/z (z = 4) = 645,6 $(M + H)^{4+}$; Rt, = 0,25 min.

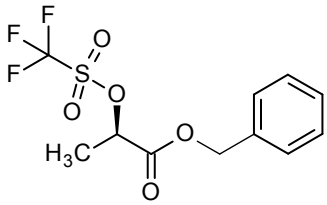
Ejemplo 3-2

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2S)-2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}-acetato de tetragadolinio



Ejemplo 3-2a

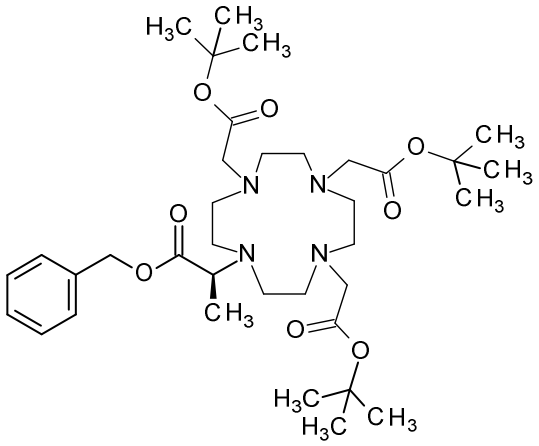
(2R)-2-{[(Trifluorometil)sulfonil]oxi}propanoato de bencilo



Preparado en forma análoga al isómero S correspondiente (ejemplo 3-1c) a partir de benciléster del ácido (R)-(+)-láctico (CAS nro. [74094-05-6]; 8,00 g, 44,4 mmol) en diclorometano. La mezcla de reacción obtenida se usó directamente en el siguiente paso.

Ejemplo 3-2b

(2S)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoato de bencilo

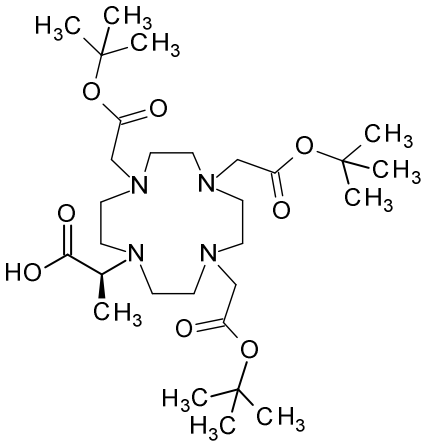


Preparado en forma análoga al isómero R correspondiente (ejemplo 3-1d) a partir de 2,2',2''-(1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato de tri-*ter*-butilo (CAS Nro. [122555-91-3]; 1,00 eq., 15,2 g, 29,6 mmol) y la mezcla de reacción de (2R)-2-{[(trifluorometil)sulfonil]oxi}propanoato de bencilo en diclorometano preparada en el ejemplo 3-2a.

CL-EM (ES^+): m/z = 677,.4 $(M + H)^+$, m/z (z =2) = 339,2 $(M + H)^{2+}$; Rt. = 0,94 min.

Ejemplo 3-2c

Ácido (2S)-2-[4,7,10-Tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-propanoico



Preparado en forma análoga al isómero R correspondiente (ejemplo 3-1e) a partir de (2S)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoato de bencilo (ejemplo 3-2b).

UPLC (ACN-NH_3): Rt. = 1,31 min.

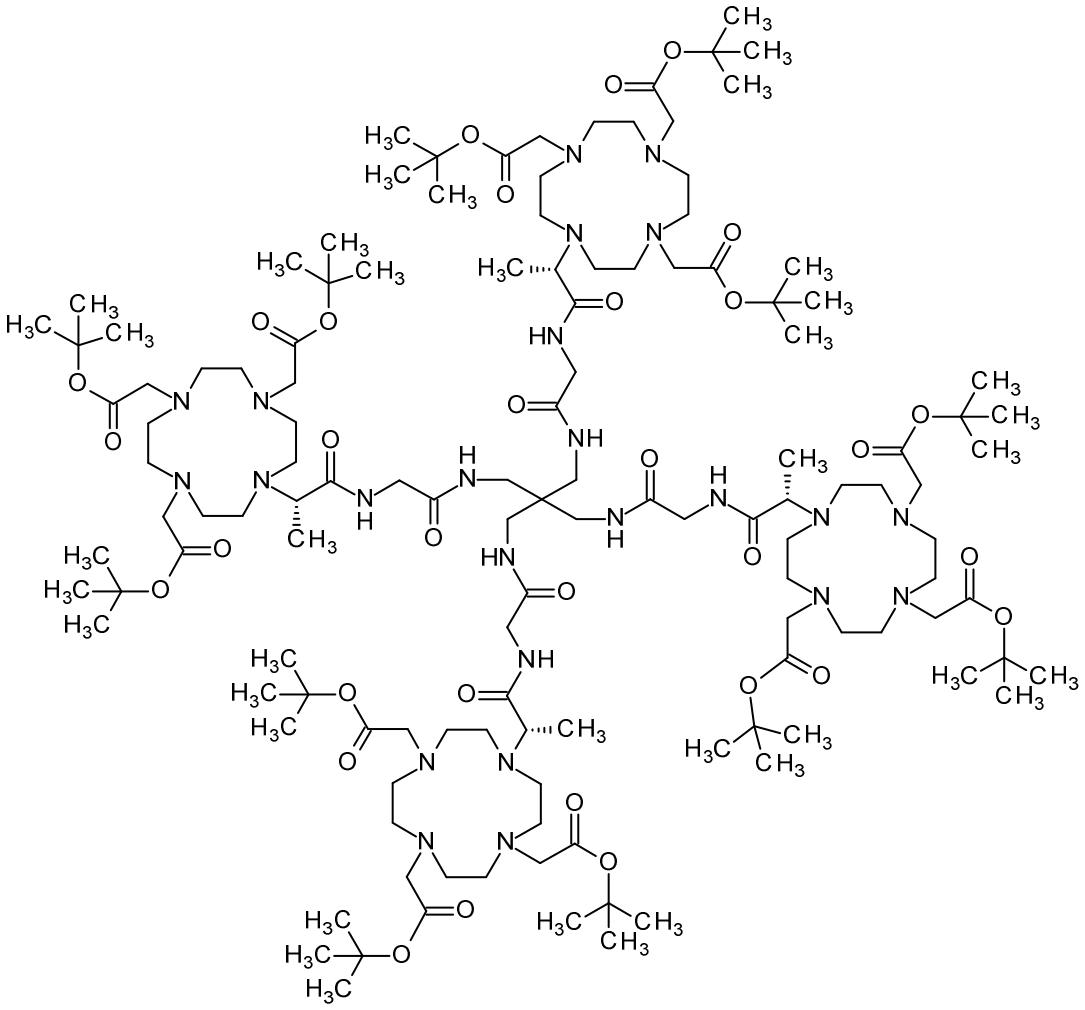
EM (ES^+): m/z = 587 $(M + H)^+$.

CL-EM (ES^+): m/z = 587,4 $(M + H)^+$, m/z (z =2) = 294,2 $(M + H)^{2+}$; Rt, = 0,82 min.

Ejemplo 3-2d

{4,10-bis(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-

9,9-bis({[({(2S)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}-amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraaza-ciclododecan-1-il}acetato de *ter*-butilo



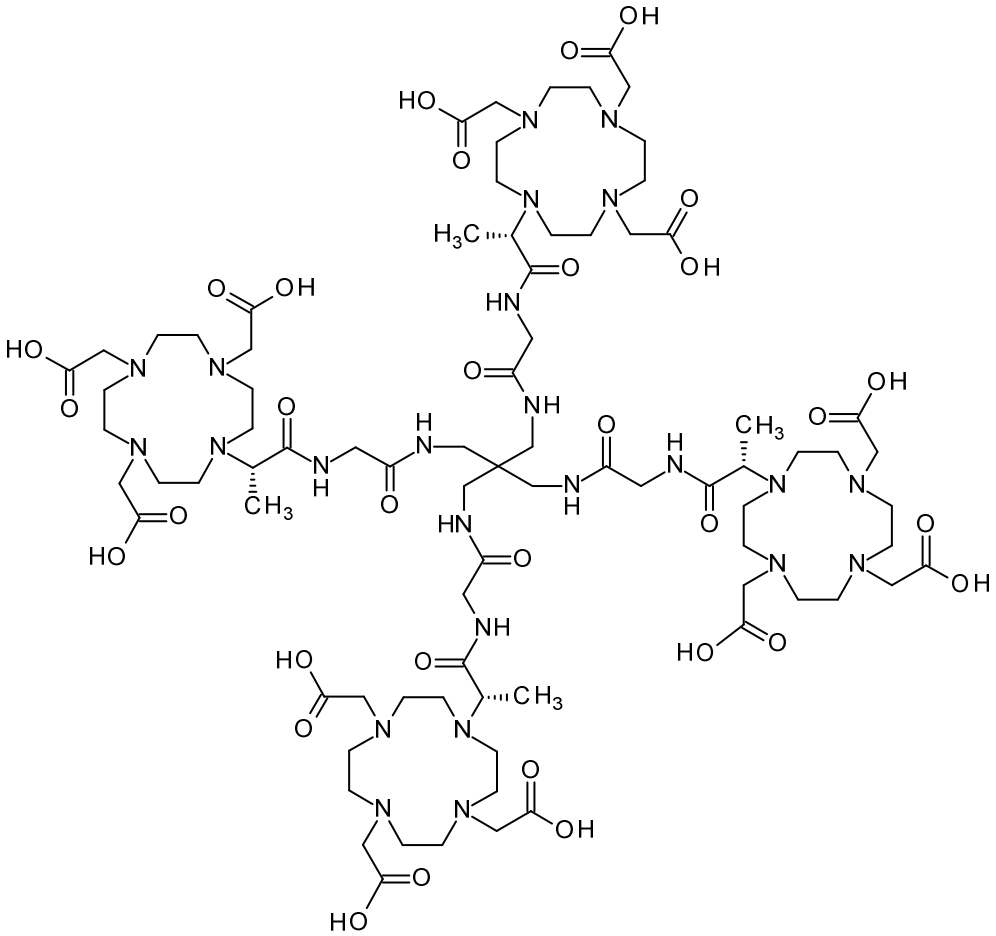
Preparado en forma análoga al correspondiente isómero R (ejemplo 3-1f) a partir de ácido (2S)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoico (ejemplo 3-2c) y

tetraclorhidrato de 2-amino-*N*-(3-[(aminoacetil)amino]-2,2-bis{[(aminoacetil)amino]metil}propil)acetamida (ejemplo 3-1b).

CL-EM (ES^+): m/z (z =2) = 1318 $(M + H)^{2+}$, m/z (z =3) = 879 $(M + H)^{3+}$, m/z (z =4) = 660 $(M + H)^{4+}$; Rt, = 0,95 min.

Ejemplo 3-2e

Ácido {4,10-bis(carboximetil)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2S)-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil] amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acético



Preparado en forma análoga al isómero R correspondiente (ejemplo 3-1g) a partir de {4,10-bis(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2S)-2-[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de *ter*-butilo (ejemplo 3-2d). El producto bruto se usó sin caracterización adicional en el siguiente paso químico.

Ejemplo 3-2

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2S)-2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}-acetato de tetragadolinio

Preparado en forma análoga al isómero R correspondiente (ejemplo 3-1) a partir de ácido {4,10-bis(carboximetil)-7-[(2S,16S)-3,6,12,15-tetraoxo-16-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-9,9-bis({[({(2S)-2-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]amino}metil)-4,7,11,14-tetraazaheptadecan-2-il]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acético (ejemplo 3-2e) y tetrahidrato de tris(acetato-kappaO)gadolinio a pH 4,5. La solución de reacción resultante se ultrafiltró con agua (8x100 mL) con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó y purificó mediante HPLC preparatoria.

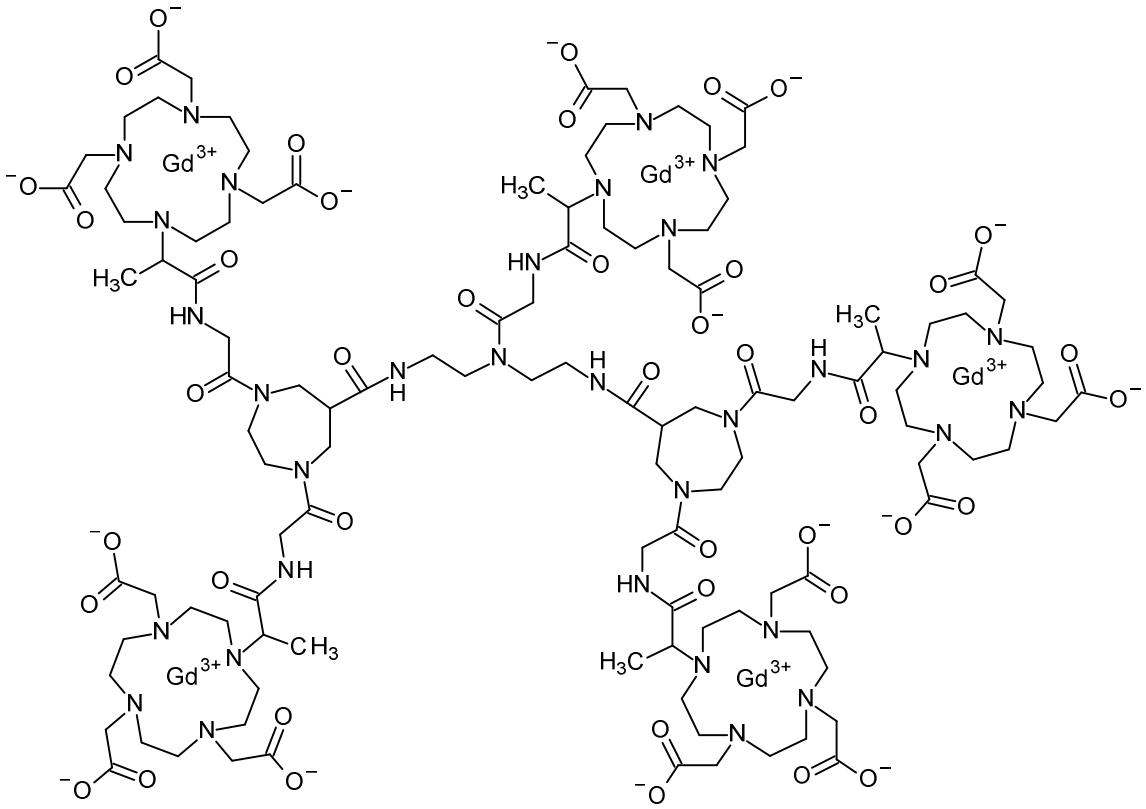
UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,41 min.

EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1290 $(M + H)^{2+}$, m/z (z = 3) = 861 $(M + H)^{3+}$.

CL-EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1290 $(M + H)^{2+}$, m/z (z = 3) = 860 $(M + H)^{3+}$, m/z (z = 4) = 645,6 $(M + H)^{4+}$; Rt, = 0,23 min.

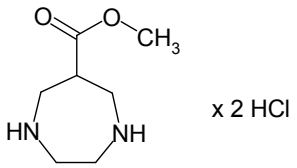
Ejemplo 4

[4-(1-{[2-(bis{2-[({1,4-bis[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-1,4-diazepan-6-il}carbonil)-amino]etil}amino)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-7,10-bis(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de pentagadolinio



Ejemplo 4a

Dicloruro de 6-(metoxicarbonil)-1,4-diazepanediio



Se disolvieron 6,00 g (17,7 mmol) del 1,4-dibencilo-1,4-diazepan-6-carboxilato de metilo [véase US 5.866.562] en 30 mL de metanol. Luego de agregar 6 mL de ácido clorhídrico acuoso (37%), 6 mL de agua y 600 mg de paladio sobre carbón (10%), la mezcla de reacción se hidrogenó (1 atm) durante 17 horas a 40°C. El catalizador se filtró y la solución se evaporó bajo presión reducida lo cual proporcionó 4,1 g (17,7 mmol, 100%) del compuesto del título.

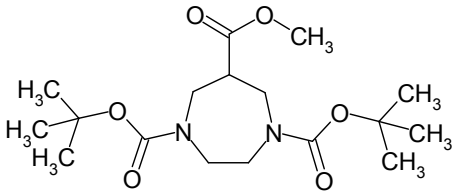
^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O): δ = 3,62 - 3,84 (m, 9 H), 3,87 (s, 3 H) ppm,

UPLC (ACN-HCOOH): Rt, = 0,20 min,

EM (ES^+): m/z = 159,1 $(M + H)^+$, base libre.

Ejemplo 4b

6-Metil 1,4-diazepan-1,4,6-tricarboxilato de 1,4-di-*ter*-butilo



Se disolvieron 4,00 g (17,3 mmol, 1 eq.) de dicloruro de 6-(metoxicarbonil)-1,4-diazepanediio (ejemplo 4a) en 80 mL de DMF. Luego de la adición de 7,71 g (76,2 mmol, 4,4 eq.) de trimetilamina y 8,31 g (38,1 mmol, 2,2 eq.) de dicarbonato de di-*ter*-butilo, la mezcla de reacción resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La suspensión se filtró, el filtrado se evaporó bajo presión reducida y se diluyó con acetato de etilo. La solución resultante se lavó con ácido cítrico acuoso (pH = 3 - 4), bicarbonato de sodio acuoso saturada la mitad, se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó bajo presión reducida, lo cual proporcionó 4,92 g (13,7 mmol, 79%) del compuesto del título.

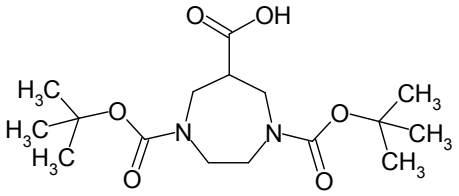
^{1}H-RMN (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,36 (s, 18 H), 2,69 - 3,27 (m, 4 H), 3,35 - 4,00 (m, 5 H), 3,62 (s, 3 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,32 min.

EM (ES^+): m/z = 359,2 $(M + H)^+$.

Ejemplo 4c

Ácido 1,4-bis(*ter*-butoxicarbonil)-1,4-diazepan-6-carboxílico



Se disolvieron 4,86 g (13,66 mmol) de 1,4-diazepan-1,4,6-tricarboxilato de 1,4-di-*ter*-butil 6-metilo (ejemplo 4b) en 82 mL de THF. Luego de agregar 27 mL de hidróxido de sodio acuoso (2 M), la mezcla de reacción resultante se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se aciduló (pH = 3-4) mediante la adición de ácido cítrico. El producto bruto se extrajo con diclorometano, la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó hasta secarse, lo cual proporcionó 4,67 g (12,4 mmol, 91%) del compuesto del título.

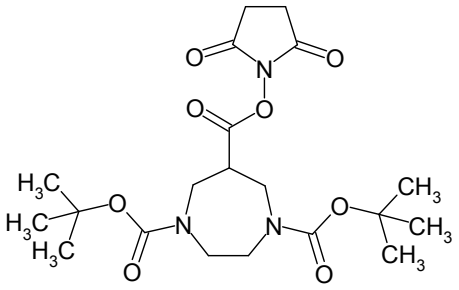
^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,38 (s, 18 H), 2,58 - 2,86 (m, 1 H), 2,94 - 4,00 (m, 8 H), 12,50 (s, br, 1 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,12 min.

EM (ES^+): m/z = 345,2 $(M + H)^+$.

Ejemplo 4d

6-{[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]carbonil}-1,4-diazepan-1,4-dicarboxilato de di-*ter*-butilo



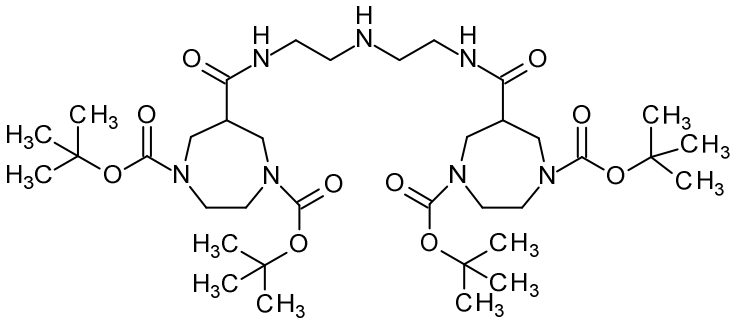
Se disolvieron 1,76 g (5,11 mmol, 1 eq.) de ácido 1,4-bis(*ter*-butoxicarbonil)-1,4-diazepan-6-carboxílico (ejemplo 4c) y 0,65 g (5,62 mmol, 1,1 eq) de 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona en 50 mL de THF. Se agregó una solución de 1,16 g (5,62 mmol, 1,1 eq.) de *N*,*N*'-diciclohexilcarbodiimida en 30 mL de THF y la mezcla de reacción resultante se sometió a reflujo durante 5 horas. La suspensión se enfrió hasta 0°C y la urea precipitada se filtró. La solución final del éster activado se usó directamente para el siguiente paso químico.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,24 min.

EM (ES^+): m/z = 442,3 $(M + H)^+$.

Ejemplo 4e

6,6'-[iminobis(etan-2,1-diilcarbamoil)]bis(1,4-diazepan-1,4-di-carboxilato) de tetra-*ter*-butilo



A la solución del éster activado, (5,11 mmol, 2,2 eq.) de 6-{[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]carbonil}-1,4-diazepan-1,4-dicarboxilato de di-*ter*-butilo a partir del ejemplo 4d se agregaron 517 mg (5,11 mmol, 2,2 eq.) de trietilamina y 240 mg (2,32 mmol, 1 eq.) de *N*-(2-aminoetil)etan-1,2-diamina. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente y se diluyó con diclorometano. La solución se lavó con hidróxido de sodio acuoso (0,1 M), con agua y se secó sobre sulfato de sodio. El producto bruto se aisló mediante evaporación y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice lo cual proporcionó 1,20 g (1,59 mmol, 68%) del compuesto del título.

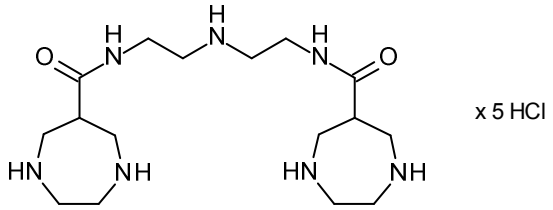
^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,37 (s, 36 H), 2,51 - 2,70 (m, 7 H), 2,85 - 3,28 (m, 12 H), 3,45 - 4,10 (m, 8 H), 7,69 - 8,27 (m, 2 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,20 min.

EM (ES^+): m/z = 756,7 $(M + H)^+$.

Ejemplo 4f

Pentaclorhidrato de *N,N'*-(Iminodietan-2,1-diil)bis(1,4-diazepan-6-carboxamida)



Se disolvieron 385 mg (0,51 mmol) de 6,6'-[iminobis(etan-2,1-diilcarbamoil)]bis(1,4-diazepan-1,4-dicarboxilato) de tetra-*ter*-butilo (ejemplo 4e) en 5,7 mL de metanol y 1,7 mL de ácido clorhídrico acuoso (37%). La mezcla de reacción se calentó con agitación durante 2 horas a 50°C. Para el aislamiento, la suspensión se evaporó hasta secarse, lo cual proporcionó 277 mg (0,51 mmol, 100%) del compuesto del título.

^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O): δ = 3,18 (t, 4 H), 3,32 - 3,40 (m, 2 H), 3,51 (t, 4 H), 3,57 - 3,69 (m, 16 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,24 min.

EM (ES^+): m/z = 356,3 $(M + H)^+$, base libre.

Ejemplo 4

[4-(1-{[2-(bis{2-[({1,4-bis[({2-[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]propanoil}amino)acetil]-1,4-diazepan-6-il}carbonil)amino]etil}amino)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-7,10-bis(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de pentagadolinio

Se disolvieron 150 mg (279 µmol, 1 eq.) de pentaclorhidrato de *N*,*N*'-(Iminodietan-2,1-diil)bis(1,4-diazepan-6-carboxamida) (ejemplo 4f) en 60 mL de DMSO. Luego de la adición de 451 mg (3,49 mmol, 12,5 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 3,67 g (4,88 mmol, 17,5 eq.) de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio (véase WO 2001051095 A2), la mezcla de reacción resultante se agitó y calentó durante 8 horas a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida hasta obtener un volumen final de 15 - 20 mL. El concentrado se vertió con agitación en 400 mL de acetato de etilo, el precipitado formado se filtró y se secó en condiciones de vacío. El sólido se disolvió en agua, la solución resultante se ultrafiltró con agua con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de RP que proporcionó 672 mg (197 µmol, 70%) del compuesto del título.

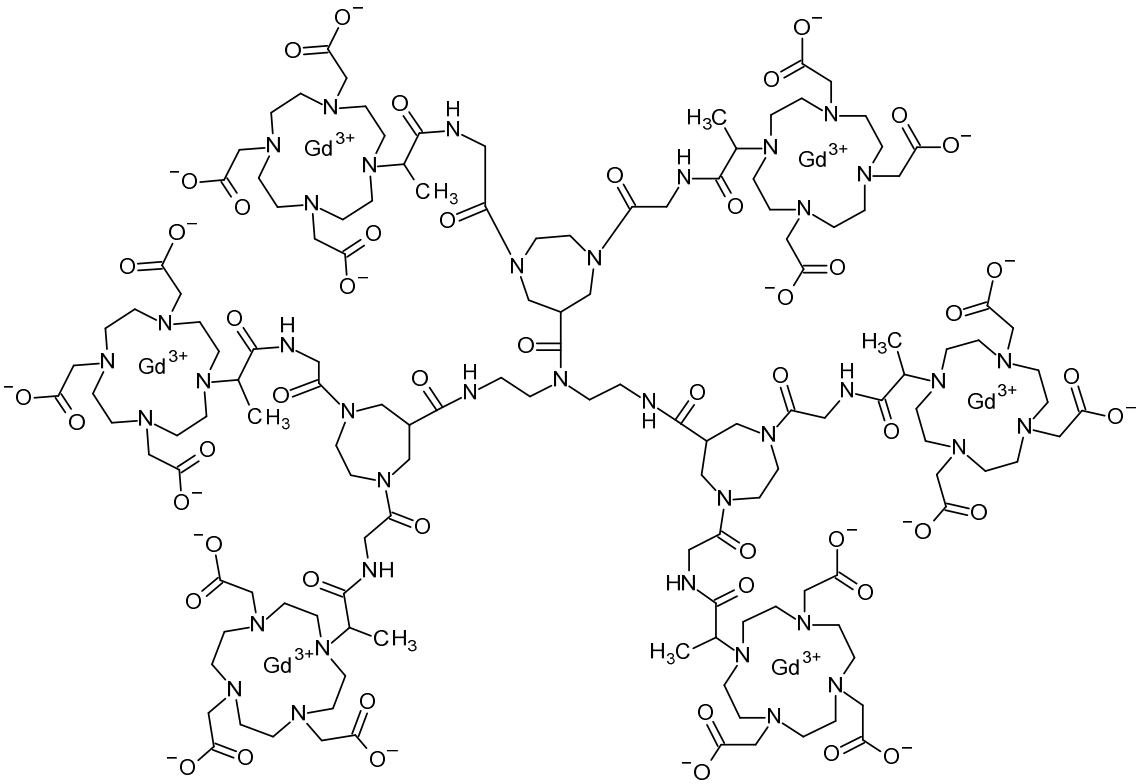
UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,43 min.

EM (ES^-): m/z (z = 2) = 1706,3 $(M - 2H)^{2-}$ m; (ES^+): m/z (z = 4) = 854,5 $(M + 4H)^{4+}$.

Ejemplo 5

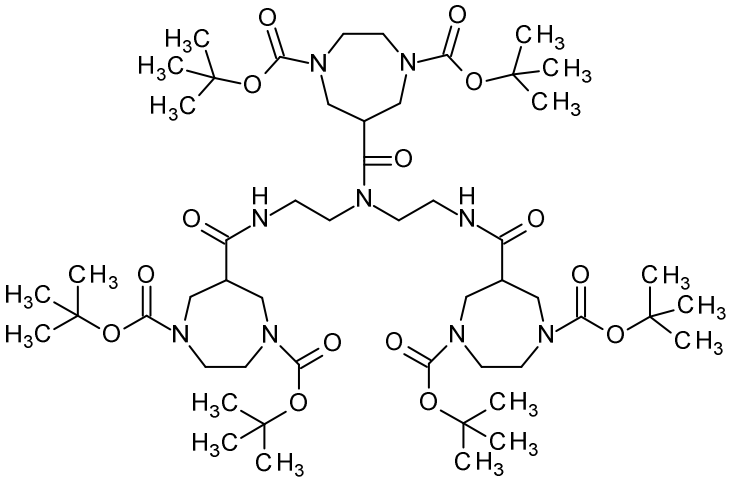
2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2'''''''''',2''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''',2'''''''''''''''',2''''''''''''''''-{etan-1,2-diilcarbamoil-1,4-diazepan-6,1,4-triiltris[(2-oxoetan-2,1-diil)imino(1-oxopropan-1,2-

diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]}octadecaacetato de hexagadolinio



Ejemplo 5a

6,6',6"-(etan-1,2-diilcarbamoil)tris(1,4-diazepan-1,4-dicarboxilato) de hexa-*ter*-butilo



Se disolvieron 1,20 g (3,48 mmol, 3 eq.) de ácido 1,4-bis(*ter*-butoxicarbonil)-1,4-diazepan-6-carboxílico (ejemplo 4c), 540 mg (4,18 mmol, 3,6 eq.) de diisopropiletilamina y 1.59 g (4,18 mmol, 3,6 eq.) de HATU en 30 mL de DMF y se agitaron durante 2 horas a temperatura ambiente. Luego de la adición por goteo de una solución de 120 mg (1,16 mmol, 1 eq.) de *N*-(2-aminoetil)etan-1,2-diamina y 540 mg (4,18 mmol, 3,6 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina en 8 mL de DMF, la mezcla de reacción resultante se calentó con agitación durante 3 horas a 70°C. Luego de enfriar y diluir con diclorometano, la solución se lavó con hidróxido de sodio acuoso (0,1 M), ácido cítrico acuoso (1%), y agua y se secó sobre sulfato de sodio. El producto bruto se aisló mediante evaporación bajo presión reducida y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice, lo cual proporcionó 660 mg (0,61 mmol, 52%) del compuesto del título.

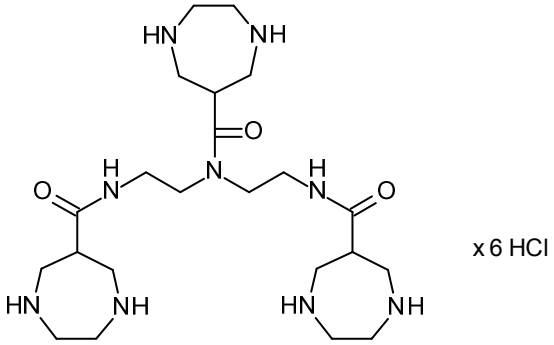
^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 1,38 (s, 54 H), 2,55 - 4,06 (m, 35 H), 7,90 - 8,52 (m, 2 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,64 min.

EM (ES^+): m/z = 1082,7 $(M + H)^+$.

Ejemplo 5b

Hexaclorhidrato de *N,N*-Bis{2-[(1,4-diazepan-6-ilcarbonil)amino]etil}-1,4-diazepan-6-carboxamida



Se disolvieron 654 mg (0,60 mmol) de 6,6',6''-(etan-1,2-diilcarbamoil)tris(1,4-diazepan-1,4-dicarboxilato) de hexa-*ter*-butilo (ejemplo 5a) en 6,8 mL de metanol y 3 mL de ácido clorhídrico acuoso (37%). La mezcla de reacción se calentó con agitación durante 2,5 horas a 50°C. Para el aislamiento, la suspensión se evaporó hasta secarse, lo cual proporcionó 441 mg (0,63 mmol, 105%) del compuesto del título.

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 3,20 - 3,71 (m, 35 H), 8,50 - 8,80 ppm (m, 2 H), 9,76 (s, br, 12 H).

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,19 min.

EM (ES^+): m/z = 482,3 $(M + H)^+$, base libre.

Ejemplo 5

2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''',

2'''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''',2'''''''''''''''-{etan-1,2-diilcarbamoil-1,4-diazepan-6,1,4-triiltris[(2-oxoetan-2,1-diil)imino(1-oxopropan-1,2-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]}octadecaacetato de hexagadolinio

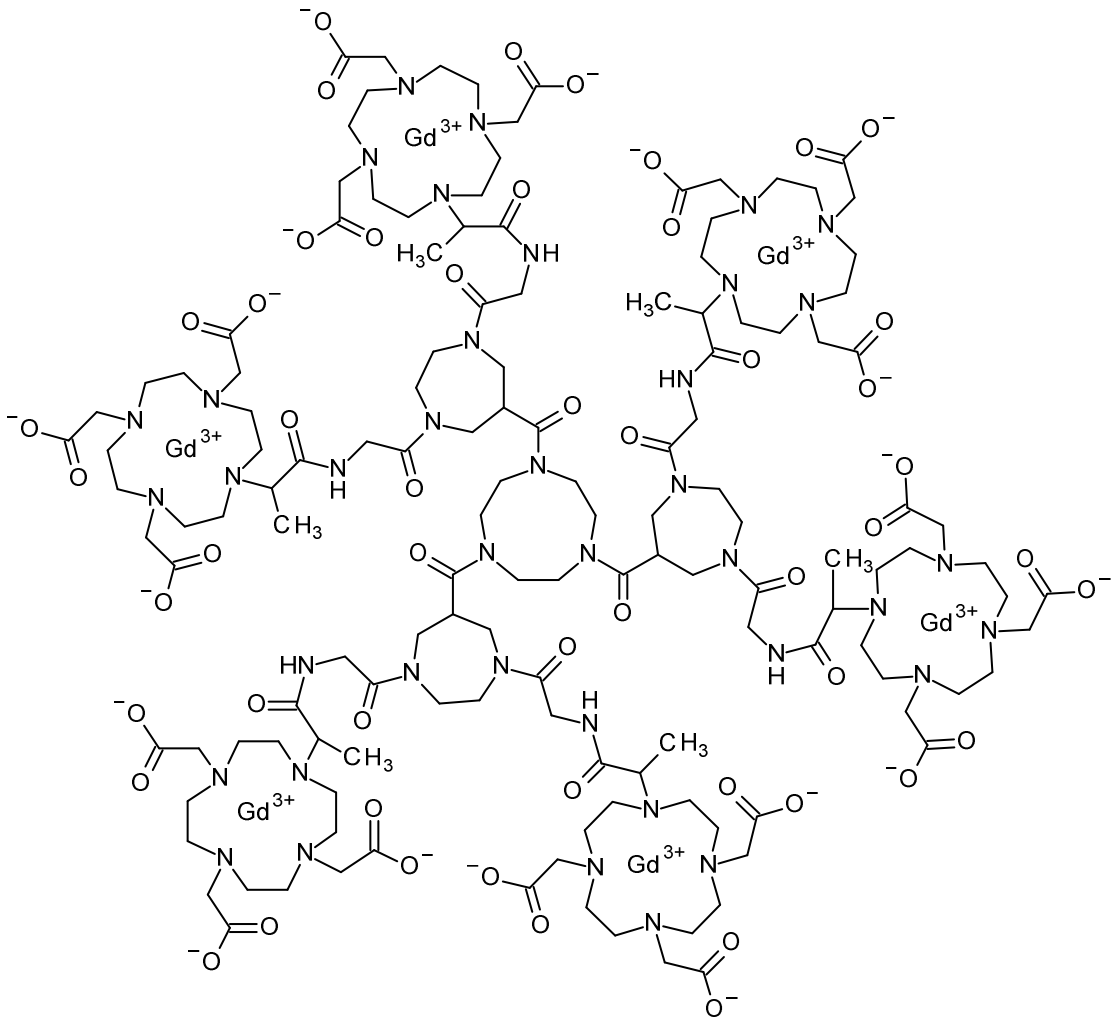
Se disolvieron 150 mg (214 µmol, 1 eq.) de hexaclorhidrato de *N*,*N*-Bis{2-[(1,4-diazepan-6-ilcarbonil)amino]etil}-1,4-diazepan-6-carboxamida (ejemplo 5b) en 60 mL de DMSO. Luego de agregar 0,42 g (3,21 mmol, 15 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 3,38 g (4,50 mmol, 21 eq.) y 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio (véase WO 2001051095 A2), la mezcla de reacción resultante se agitó y calentó durante 8 horas a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida hasta obtener un volumen final de 15 - 20 mL. El concentrado se vertió con agitación en 400 mL de acetato de etilo, el precipitado formado se filtró y se secó en condiciones de vacío. El sólido se disolvió en agua, la solución resultante se ultrafiltró con agua con el uso de una membrana de 1 kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de RP lo cual proporcionó 595 mg (143 µmol, 67%) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,41 min.

EM (ES^+): m/z (z = 3) = 1384,6 $(M + H)^{3+}$, m/z (z = 4) = 1039,5 $(M + H)^{4+}$, m/z (z = 5) = 831,6 $(M + H)^{5+}$.

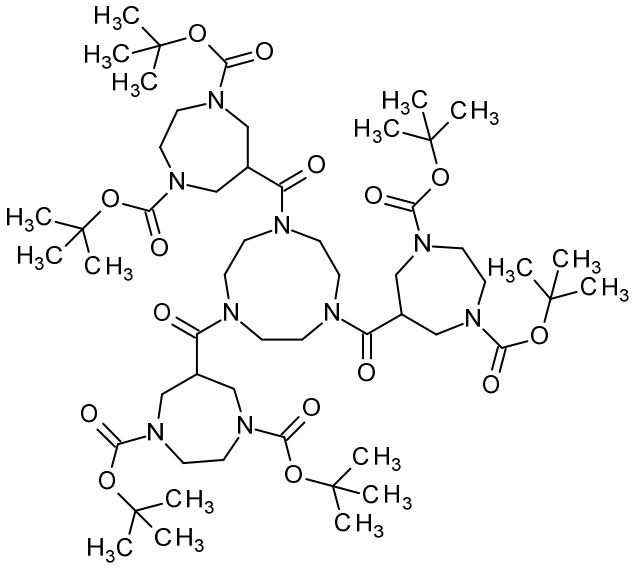
Ejemplo 6

2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''',2'''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''-(1,4,7-triazonano-1,4,7-triiltris{carbonil-1,4-diazepan-6,1,4-triilbis[(2-oxoetan-2,1-diil)imino(1-oxopropan-1,2-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]})octadecaacetato de hexagadolinio



Ejemplo 6a

6,6',6''-(1,4,7-triazonano-1,4,7-triiltricarbonil)tris(1,4-diazepan-1,4-di-carboxilato) de hexa-*ter*-butilo



Se disolvieron 800 mg (2,32 mmol, 3 eq.) de ácido 1,4-bis(*ter*-butoxicarbonil)-1,4-diazepan-6-carboxílico (ejemplo 4c), 360 mg (2,79 mmol, 3,6 eq.) de diisopropiletilamina y 1,06 g (2,79 mmol, 3,6 eq.) de HATU en 20 mL de DMF y se agitaron durante 2 horas a temperatura ambiente. Luego de la adición por goteo de una solución de 100 mg (774 µmol, 1 eq.) de triclorhidrato de 1,4,7-triazonano y 360 mg (2,79 mmol, 3,6 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina en 5 mL de DMF, la mezcla de reacción resultante se calentó con agitación durante 3 horas a 70°C. Luego de enfriar y diluir con diclorometano, la solución se lavó con hidróxido de

sodio acuoso (0,1 M) con ácido cítrico acuoso (1%), y agua y se secó sobre sulfato de sodio. El producto bruto se aisló mediante evaporación bajo presión reducida y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice, lo cual proporcionó 545 mg (492 µmol, 63%) del compuesto del título.

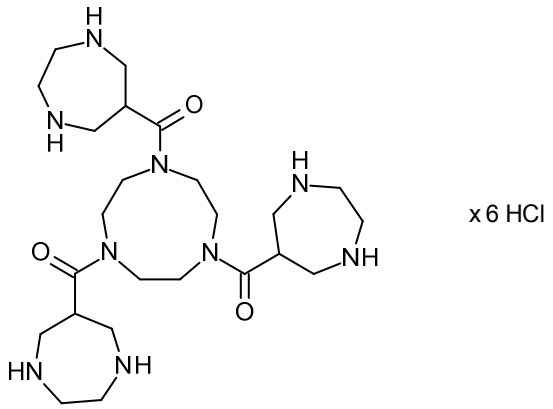
^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,47 (s, 54 H), 2,85 - 4,45 (m, 39 H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,73 min.

EM (ES^+): m/z = 1108,8 $(M + H)^+$.

Ejemplo 6b

Hexaclorhidrato de 1,4,7-triazonano-1,4,7-triiltris(1,4-diazepan-6-ilmetanona)



Se disolvieron 380 mg (343 µmol) de 6,6',6''-(1,4,7-triazonano-1,4,7-triiltricarbonil)tris(1,4-diazepan-1,4-dicarboxilato) de hexa-*ter*-butilo (ejemplo 6a) en 3,90 mL de metanol y 1,72 mL de ácido clorhídrico acuoso (37%). La mezcla de reacción se calentó con agitación durante

2,5 horas a 50°C. Para el aislamiento, la suspensión se evaporó hasta secarse, lo cual proporcionó 257 mg (354 µmol, 103%) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,19 min.

EM (ES^+): m/z = 508,4 $(M + H)^+$, base libre.

Ejemplo 6

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2'''''''''',2''''''''''',2''''''''''',2'''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''',2'''''''''''''''-(1,4,7-triazonano-1,4,7-triiltris{carbonil-1,4-diazepan-6,1,4-triilbis[(2-oxoetan-2,1-diil)imino(1-oxopropan-1,2-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]})octadecaacetato de hexagadolinio

Se disolvieron 175 mg (241 µmol, 1 eq.) de hexaclorhidrato de 1,4,7-triazonano-1,4,7-triiltris(1,4-diazepan-6-ilmetanona) (ejemplo 6b) en 60 mL de DMSO. Luego de agregar 467 mg (3,61 mmol, 15 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 3,80 g (5,06 mmol, 21 eq.) de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio (véase WO 2001051095 A2), la mezcla de reacción resultante se agitó y calentó durante 8 horas a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida hasta obtener un volumen final de 15 - 20 mL. El concentrado se vertió con agitación en 400 mL de acetato de etilo, el precipitado formado se filtró y se secó en condiciones de vacío. El sólido se disolvió en agua,

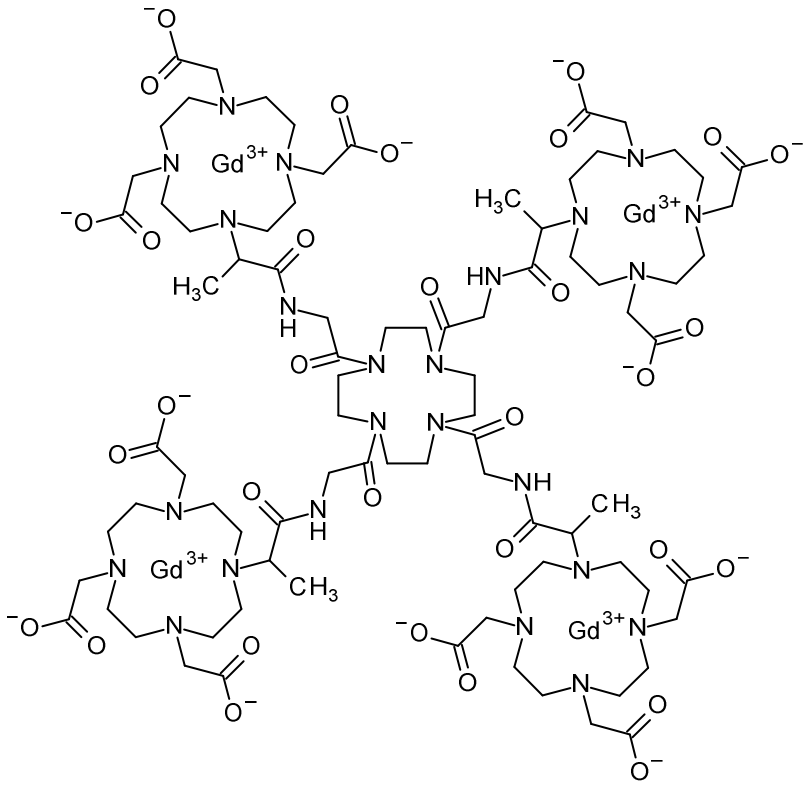
la solución resultante se ultrafiltró con agua con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de RP lo cual proporcionó 590 mg (141 µmol, 58%) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,43 min.

EM (ES^+): m/z (z = 3) = 1393,1 $(M + 3H)^{3+}$, m/z (z =4) = 1045,5 $(M + 4H)^{4+}$, m/z (z = 5) = 837,0 $[(M + 5H)^{5+}$.

Ejemplo 7

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''-{1,4,7,10-tetra-azaciclododecan-1,4,7,10-tetrailtetraquis[(2-oxoetan-2,1-diil)imino(1-oxopropan-1,2-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]}dodecaacetato de tetragadolinio



Se disolvieron 35 mg (203 µmol, 1 eq.) de 1,4,7,10-Tetraazaciclododecan en 60 mL de DMSO. Luego de agregar 2,14 g (2,84 mmol, 14 eq.) de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio (véase WO 2001051095 A2), la mezcla de reacción resultante se agitó y calentó durante 8 horas a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida hasta obtener un volumen final de 15 - 20 mL. El concentrado se vertió con agitación en 400 mL de acetato de etilo, y el precipitado formado se filtró y se secó en condiciones de vacío. El sólido se disolvió en agua, la solución resultante se ultrafiltró con agua

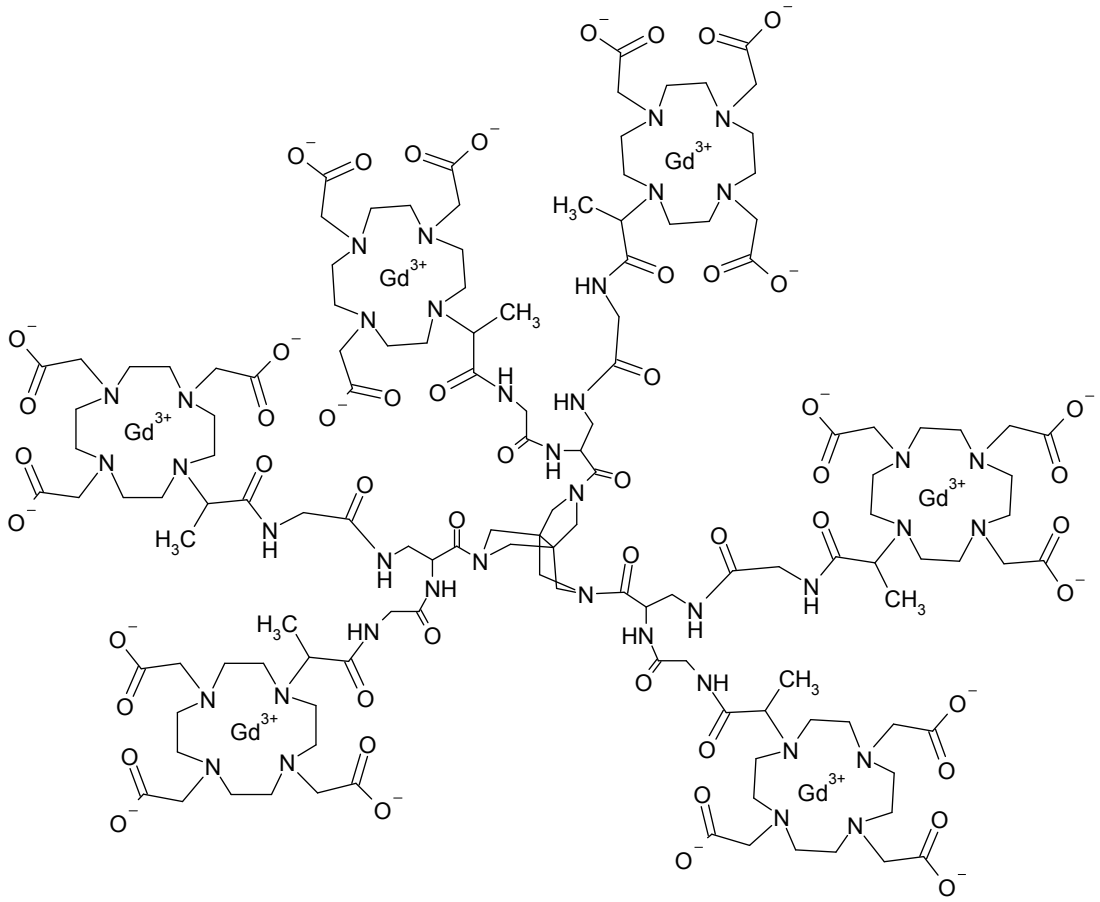
con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de RP, que proporcionó 28 mg (10,6 µmol, 5%) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,41 min.

EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1311,7 $(M + 2H)^{2+}$, m/z (z = 3) = 873,1 $(M + 3H)^{3+}$.

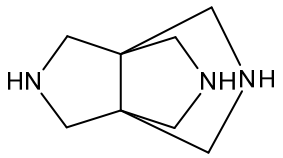
Ejemplo 8

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''',2''''''''''',2'''''''''''',2''''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''-{3,7,10-triazatriciclo[3.3.3.0^{1,5}] undecan-3,7,10-triiltris[carbonil(3,6,11,14-tetraoxo-4,7,10,13-tetraazahexadecan-8,2,15-triil)di-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]}octadecaacetato de hexagadolinio



Ejemplo 8a

Tetrahidro-1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometan)pirrolo[3,4-*c*]pirrol



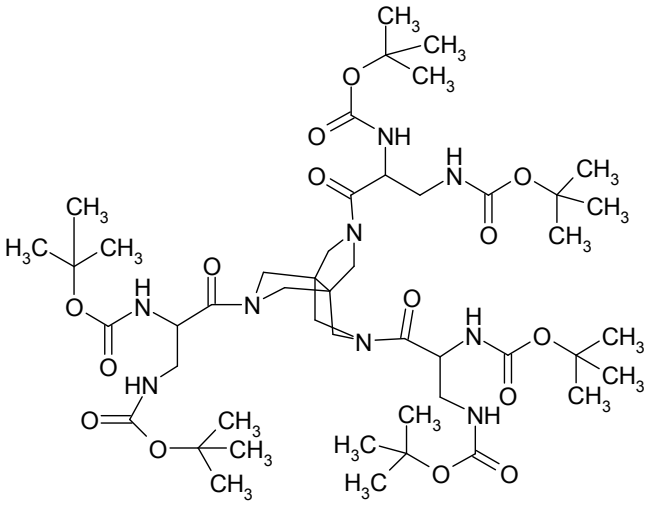
4,0 g (6,5 mmol) de 2,5,8-tris((4-metilfenil)sulfonil)tetrahidro-1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanimino-metan)pirrolo[3,4-*c*]pirrol (preparado mediante los procedimientos descriptos en *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8897-8903) se

sometieron a reflujo en 44 mL de ácido bromhídrico acuoso (47%) y 24 mL de ácido acético durante 18 horas. El solvente se eliminó in vacuo, el residuo se disolvió en agua y la fase acuosa se lavó dos veces con diclorometano. La fase acuosa se liofilizó y tomó en una pequeña cantidad de agua y se pasó por una columna de intercambio aniónico (DOWEX 1X8) mediante una levigación con agua. La fracción básica se recogió y concentró para proporcionar 0,89 g de tetrahidro-1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometan)pirrolo[3,4-*c*]pirrol como base libre.

^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O): δ = 2,74 (s, 12 H) ppm.

Ejemplo 8b

***Ter-butil*-{1-[5,8-bis{2,3-bis[(*ter*-butoxicarbonil)amino]propanoil}dihidro-1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometan)pirrolo[3,4-*c*]pirrol-2(3*H*)-il]-3-[(*ter*-butoxicarbonil) amino]-1-oxopropan-2-il}carbamato**



Una solución preparada a partir de 431,5 mg (0,89 mmol, CAS [201472-68-6]) de sal de *N,N*-diciclohexilamonio de *N*-(*ter*-butoxicarbonil)-3-[(*ter*-butoxicarbonil)amino]alanina, 0,44 mL (2,54 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 386 mg (1,0 mmol) de HATU en 4,3 mL de DMF se agregó a 38,9 mg (254 µmol) de tetrahidro-1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometan)pirrolo[3,4-*c*]pirrol en 2 mL de DMF. Luego de agitar la mezcla combinada durante 20 min a temperatura ambiente, se eliminó el solvente in vacuo y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice en fase amino (acetato de etilo en hexano, 0 a 100%) seguido por HPLC preparatoria (C18-Chromatorex 10 µm, acetonitrilo en agua + 0,1% de ácido fórmico, 65% a 100%) para proporcionar 68,6 mg de *ter*-butil-{1-[5,8-bis{2,3-bis[(*ter*-butoxicarbonil)amino]propanoil}dihidro-1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometan)pirrolo[3,4-*c*]pirrol-2(3*H*)-il]-3-[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-1-oxopropan-2-il}carbamato.

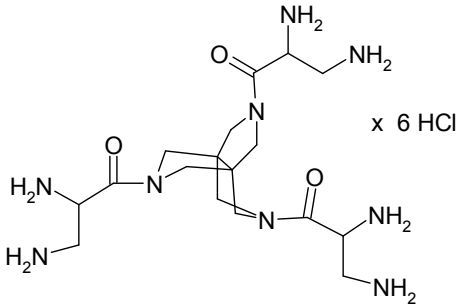
^{1}H-RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1,43 s, br, 54H), 3,34 - 3,97 (m, 18H), 4,48 (s, br, 3H), 5,01-5,67(m, 6H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 1,48 min.

EM (ES^+): m/z = 1012,6 $(M + H)^+$.

Ejemplo 8c

Hexacloruro de 3,3',3''-[1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometan)pirrolo[3,4-*c*]pirrol-2,5,8(3*H*,6*H*)-triil]-tris(3-oxopropan-1,2-diaminio)



Se disolvieron 65 mg (60 µmol) de *ter*-butil-{1-[5,8-bis{2,3-bis[(*ter*-butoxicarbonil)amino]propanoil}dihidro-1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometano)pirrolo [3,4-*c*]pirrol-2(3*H*)-il]-3-[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-1-oxopropan-2-il}carbamato (ejemplo 8b) en 2,0 mL de DMF y se agregaron 0,48 mL de ácido clorhídrico en dioxano (4 M, 0,19 mmol). La mezcla de reacción se calentó bajo radiación de microondas durante 10 min a 80°C mientras se agitaba. El solvente se eliminó in vacuo, el residuo se tomó en una pequeña cantidad de agua y se liofilizó para proporcionar 38,9 mg de hexacloruro de 3,3',3''-[1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometano)pirrolo[3,4-*c*]pirrol-2,5,8(3*H*,6*H*)-triil]tris(3-oxopropan-1,2-diaminio).

^{1}H-RMN (600 MHz, D_2O): δ = 3,40 - 3,50 (m, 3H), 3,52 - 3,56 (m, 3H), 3,79 - 4,19 (m, 12H), 4,51 – 4,54 (m, 3H) ppm.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,20 min.

EM (ES^+): m/z = 412,3($[M + H]^+$, base libre.

Ejemplo 8

2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''',2'''''''''''',2''''''''''''',2'''''''''''''',2''''''''''''''-{3,7,10-triazatriciclo[3.3.3.0^{1,5}]undecan-3,7,10-triiltris[carbonil(3,6,11,14-tetraoxo-4,7,10,13-tetraazahexadecan-8,2,15-triil)di-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]}octadecaacetato de hexagadolinio

Se disolvieron 30 mg (48 µmol) de hexacloruro de 3,3',3''-[1*H*,4*H*-3*a*,6*a*-(metanoiminometan)pirrolo[3,4-*c*]pirrol-2,5,8(3*H*,6*H*)-triil]tris(3-oxopropan-1,2-diaminio) (ejemplo 8c) en una mezcla de 1,8 mL de DMSO, 1,8 mL de DMF, y 116 µL de piridina. A 60°C, se agregaron 281 mg (0,38 mmol, WO 2001051095 A2) de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio seguido de 44 µL de trimetilamina y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 15 horas a 60°C y a temperatura ambiente durante dos días. Se agregó otra cantidad de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio (56 mg, 75 µmol) y trimetilamina (5,4 µL) a 60°C y la agitación a 60°C se continuó durante 15 horas. El solvente se eliminó in vacuo, el residuo se tomó en 200 mL de agua y la solución resultante se ultrafiltró con el uso de una membrana 1 kDa. Luego de diluir el retenido dos veces con 200 mL adicionales de agua desionizada y continuando la ultrafiltración, se liofilizó el retenido final. El residuo se disolvió en una mezcla de 1,6 mL de DMSO, 1,6 mL de

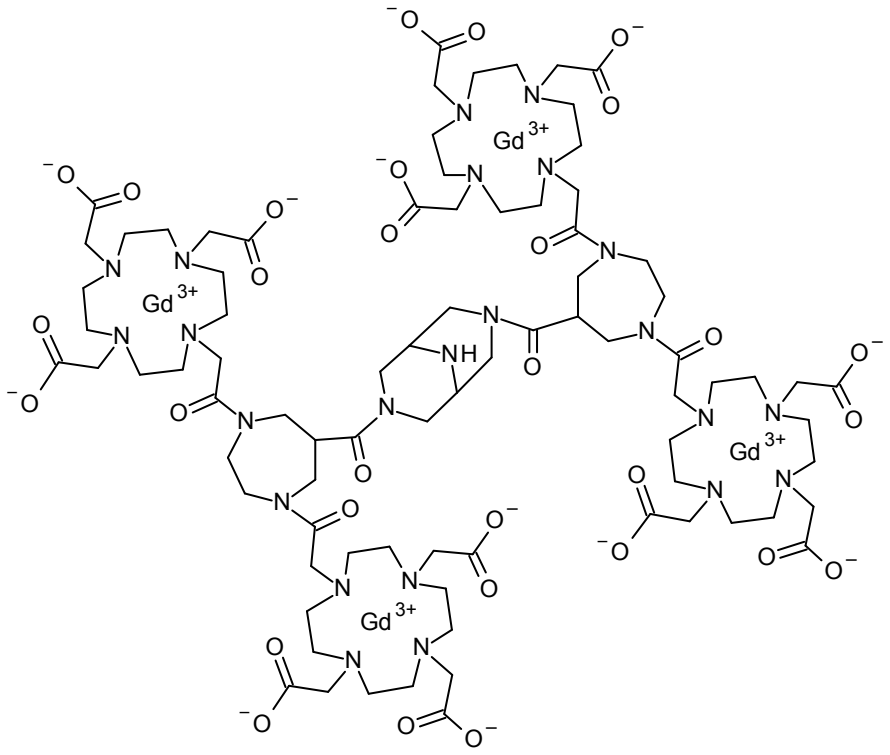
DMF, y 105 µL de piridina y la adición de 261 mg (0,35 mmol) de 2,2',2''-[10-(1-{[2-(4-nitrofenoxi)-2-oxoetil]amino}-1-oxopropan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil]triacetato de gadolinio y 48 µL de trietilamina a 60°C se repitió una tercera vez. Luego de agitar durante 18 horas a 60°C, el procedimiento de ultrafiltración con el uso de una membrana 1 kDa se repitió y el retenido se liofilizó luego de tres filtraciones de 200 mL. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparatoria (XBrigde C18, 5µm, acetonitrilo en agua + 0,1% de ácido fórmico, 0% a 7%) para proporcionar 51 mg del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH ejecución prolongada): Rt. = 2,95 min.

EM (ES^+): m/z (z =3) = 1360,4 $(M + 3H)^{3+}$, m/z (z =4) = 1021,3 $(M + 4H)^{4+}$, m/z (z = 5) = 817,5 $(M + 5H)^{5+}$**.**

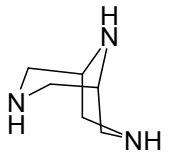
Ejemplo 9

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''-(3,7,9-triazabiciclo [3.3.1]nonano-3,7-diilbis{carbonil-1,4-diazepan-6,1,4-triilbis[(2-oxoetan-2,1-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]})dodecaacetato de tetragadolinio



Ejemplo 9a

3,7,9-triazabiciclo[3.3.1]nonano



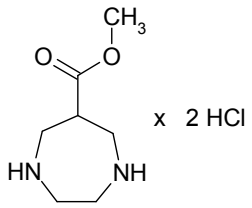
Se sometieron a reflujo de 220 mg (0,49 mmol) de 3,9-dibencilo-7-(fenilsulfonil)-3,7,9-triazabiciclo[3.3.1]nonano (preparado mediante los procedimientos descriptos en *Tetrahedron Letters,* **2005***, 46,* 5577-5580) en 3,4 mL de ácido bromhídrico acuoso (47%) y 1,8 mL de ácido acético durante 17 horas. El solvente se eliminó in vacuo, el residuo se disolvió en

agua y la fase acuosa se lavó dos veces con diclorometano. La fase acuosa se liofilizó y tomó en una pequeña cantidad de agua y se pasó a través de una columna de intercambio aniónico (DOWEX 1X8) por levigación con agua. La fracción básica se recogió y concentró para proporcionar 29,6 mg de 3,7,9-triazabiciclo[3.3.1]nonano en forma de base libre.

^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O): δ = 2,88 (t, 2H), 3,15 (d, 8H) ppm.

Ejemplo 9b

Dicloruro de 6-(metoxicarbonil)-1,4-diazepanediio

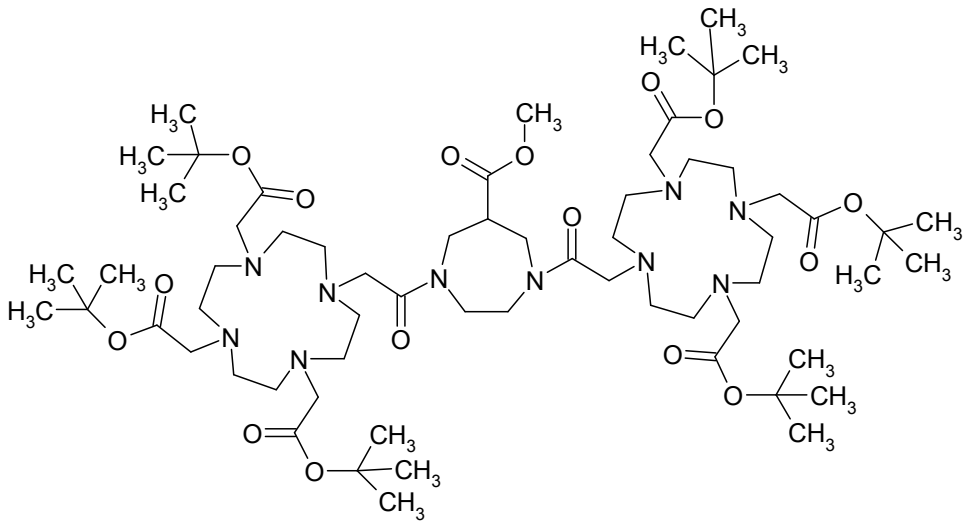


A 8,3 g (24,5 mmol) de 1,4-dibencilo-1,4-diazepan-6-carboxilato de metilo (preparado en forma análoga a US005866562A, p.9) en 42 mL de metanol se agregaron 8,3 mL de ácido clorhídrico concentrado, 2 mL de agua y 830 mg de paladio sobre carbón (10%). La suspensión se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 5 horas a 40°C y 17 horas a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de un taco de celite y el filtrado se concentró in vacuo luego de lo cual se agregó tolueno dos veces y se eliminó in vacuo. El residuo se disolvió en agua y se liofilizó para proporcionar 5,65 g de dicloruro de 6-(metoxicarbonil)-1,4-diazepandiio.

^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O): δ = 3,49 - 3,68 (m, 9H), 3,70 - 3,73 (m, 4H), 3,75 (s, 3H) ppm.

Ejemplo 9c

1,4-bis{[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}-1,4-diazepan-6-carboxilato de metilo



A 200 mg (0,78 mmol) de dicloruro de 6-(metoxicarbonil)-1,4-diazepandiio en 10 mL de diclorometano, se agregaron 10 mL (6,2 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y la mezcla se agitó durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó 1,04 g (1,56 mmol) de 2,2',2''-(10-{2-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]-2-oxoetil}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato de tri-*ter*-butilo (preparado en forma análoga a Cong Li *et al.*, *J. Am.Chem.Soc.* **2006**, *128*, p.15072-15073; S3-5 y Galibert *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Letters 2010 (20), 5422-5425) y la mezcla se agitó

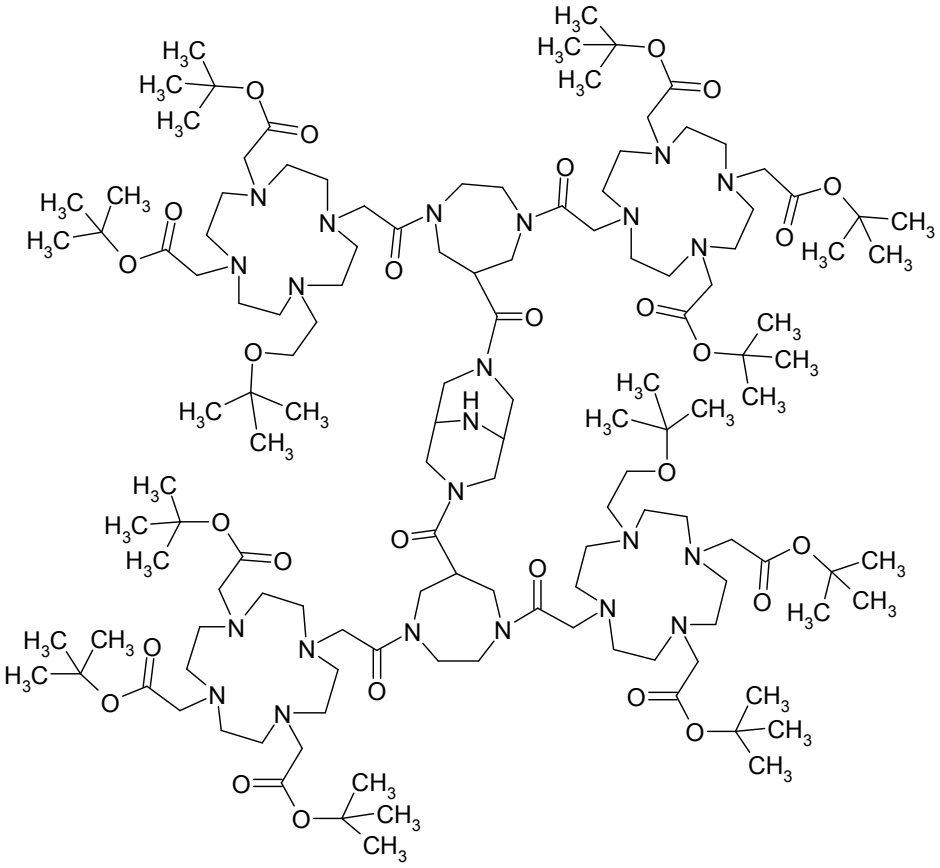
durante 18 horas a temperatura ambiente. El solvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice en fase amino (acetato de etilo en hexano, 20 a 100%, luego etanol en acetato de etilo 0 a 100%) para proporcionar 210 mg del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,94 min.

EM (ES^+): m/z = 1267,6 $(M + 1H)^+$

Ejemplo 9d

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''-(3,7,9-triaza-biciclo[3.3.1]nonano-3,7-diilbis{carbonil-1,4-diazepan-6,1,4-triilbis[(2-oxoetan-2,1-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]})dodecaacetato de dodeca-*ter*-butilo



Se disolvieron 305 mg (0,24 mmol) de 1,4-bis{[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}-1,4-diazepan-6-carboxilato de metilo (ejemplo 9c) en 3,9 mL de THF y se agregó una solución de 6,6 mg de hidróxido de litio en 0,87 mL de agua. Luego de agitar durante 15 min, el solvente se eliminó bajo presión reducida y el 1,4-bis{[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}-1,4-diazepan-6-carboxilato de litio bruto (300 mg) se disolvió en 2,0 mL de diclorometano. Se agregaron 120 µL (0,71 mmol) de *N*,*N*-diisopropiletilamina, 112 mg (0,30 mmol) de HATU y 40 mg (0,30 mmol)

de 3*H*-[1,2,3]triazol[4,5-*b*]piridin-3-ol y luego de agitar durante 15 min, se agregó una solución de 15 mg (0,12 mmol) de 3,7,9-triazabiciclo[3.3.1]nonano en 1 mL de diclorometano. La mezcla se agitó durante 3 días. A otros 170 mg adicionales de 1,4-bis{[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}-1,4-diazepan-6-carboxilato de litio bruto en 1 mL diclorometano se agregaron 67 mg (0,18 mmol) de HATU, 24 mg (0,18 mmol) de 3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-3-ol durante 15 min y 50 µL de *N*,*N*-diisopropiletilamina. Luego de agitar durante 15 minutos, se agregó la solución de HATU recién preparada a la mezcla de reacción. Luego de un día, el solvente se eliminó bajo presión reducida y posteriormente se agregó tolueno seis veces y se eliminó in vacuo. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice en fase amino (acetato de etilo en hexano, 0 a 100%, luego etanol en acetato de etilo 0 a 40%) para proporcionar 181 mg del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,78-0,84 min.

EM (ES^-): m/z (z = 2) = 1298,7 $(M – 2H)^{2–}$

Ejemplo 9

2,2',2'',2''',2'''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''',2'''''''''',2''''''''''-(3,7,9-triazabiciclo [3.3.1]nonano-3,7-diilbis{carbonil-1,4-diazepan-6,1,4-triilbis[(2-oxoetan-2,1-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]})dodecaacetato de tetragadolinio

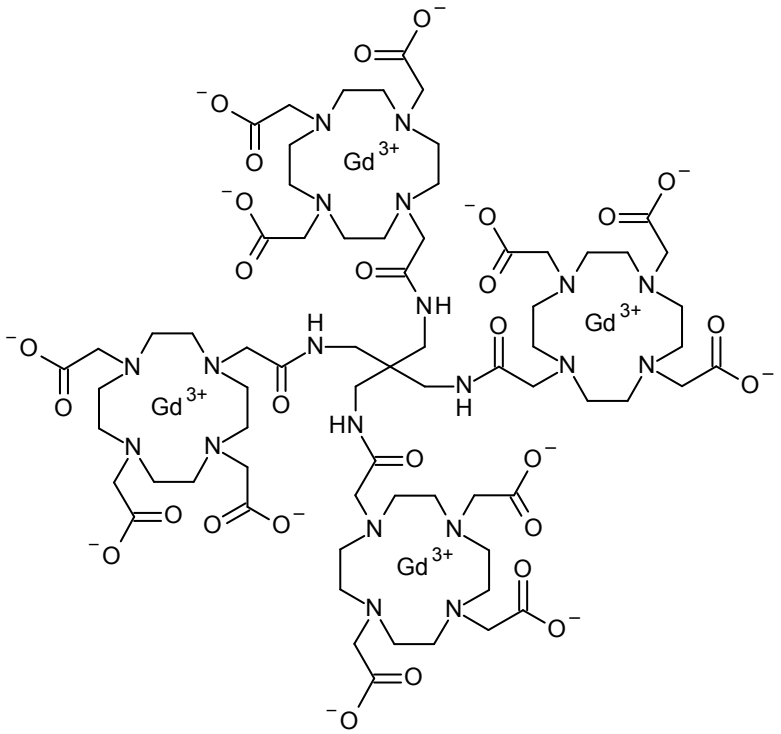
Se disolvieron 390 mg (mmol) de 2,2',2'',2''',2'''',2''''',2'''''',2''''''',2'''''''',2''''''''', 2'''''''''-(3,7,9-triazabiciclo[3.3.1]nonan-3,7-diilbis{carbonil-1,4-diazepan-6,1,4-triilbis [(2-oxoetan-2,1-diil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-10,1,4,7-tetrail]})dodecaacetato de dodeca-*ter*-butilo (ejemplo 9d) en 10,8 mL de agua y la solución se ajustó a pH 2,5 mediante la adición de ácido clorhídrico acuoso (2M). 440 mg (1,25 mmol) Se agregaron óxido de gadolinio (III) y la mezcla se agitó a 80°C durante 17 horas, mientras que el pH de la suspensión cambió a pH 5. La mezcla se diluyó con agua, se sonicó y filtró. El filtrado se ultrafiltró con el uso de una membrana 1 kDa. Luego de diluir el retenido dos veces con 100 mL adicionales de agua desionizada y continuando la ultrafiltración, se liofilizó el retenido final. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparatoria (C18 YMC-ODS AQ, 10 µm, acetonitrilo en agua + 0,1% de ácido fórmico, 1% a 10%) para proporcionar 14,5 mg del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,34 min.

EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1272,9 $(M + 2H)^{2+}$

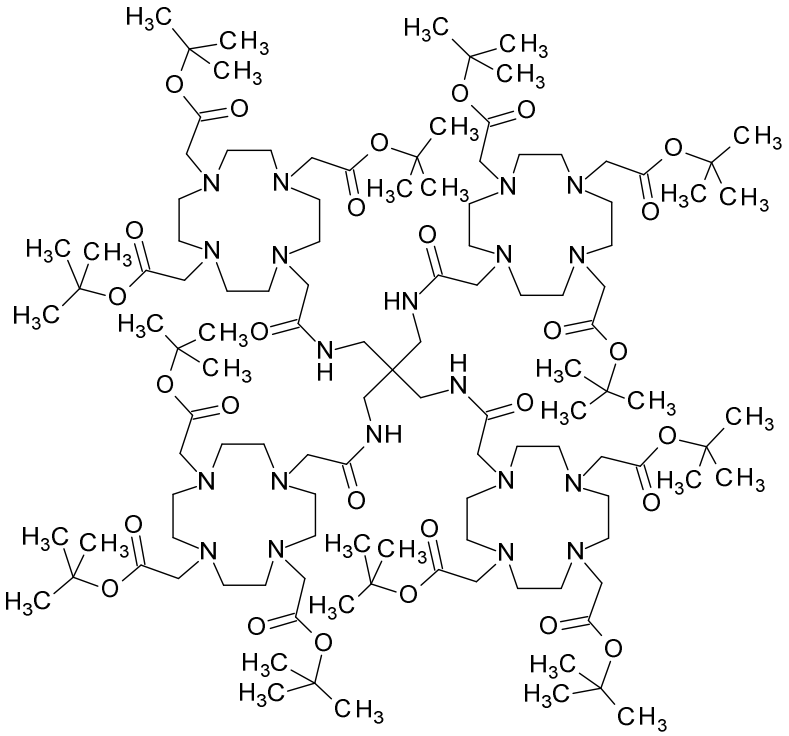
Ejemplo 10

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[2-oxo-2-({3-({[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)-2,2-bis[({[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)metil]propil}-amino)etil]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de tetragadolinio



Ejemplo 10a

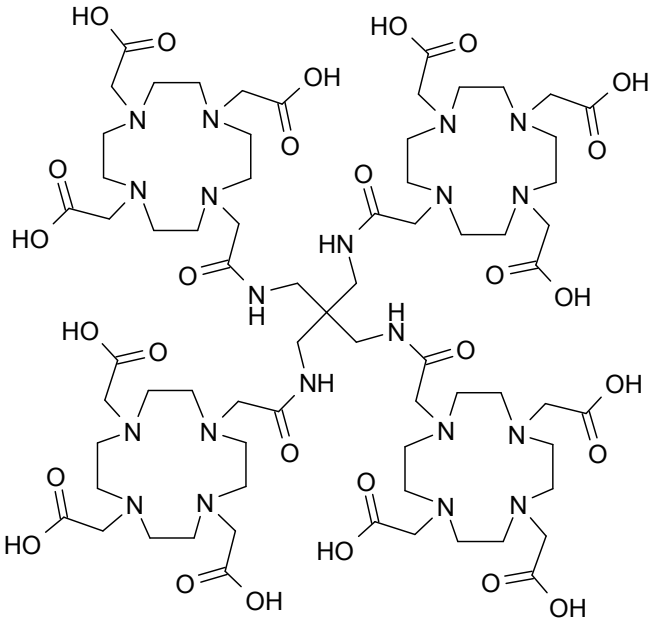
{4,10-bis(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-7-[2-oxo-2-({3-({[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)-2,2-bis[({[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)metil]-propil}amino)etil]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de *ter*-butilo



Se disolvieron 6,6 mg (49,8 µmol, 1 eq.) de 2,2-bis(aminometil)propan-1,3-diamina (véase W. Hayes et al., Tetrahedron 59 (2003), 7983 - 7996) en 7 mL de DMSO. Luego de agregar 77 mg (0,6 mmol, 12 eq.) de *N*,*N*-diisopropiletilamina y 400 mg de (0,6 mmol, 12 eq.) de 2,2',2''-(10-{2-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]-2-oxoetil}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato de tri-*ter*-butilo (véase M. Galibert et al., Bioorg. Med. Chem. Letters 2010 (20), 5422-5425 y *J. Am.Chem.Soc.* **2006**, *128*, p.15072-15073; S3-5), la mezcla de reacción resultante se agitó y calentó durante la noche a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida. El producto bruto se usó sin caracterización adicional para el siguiente paso químico.

Ejemplo 10b

Ácido {4,10-bis(carboximetil)-7-[2-oxo-2-({3-({[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)-2,2-bis[({[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)metil]propil}amino)etil]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acético



El {4,10-bis(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-7-[2-oxo-2-({3-({[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)-2,2-bis[({[4,7,10-tris(2-*ter*-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)metil]propil}amino)etil]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de *ter*-butilo bruto del ejemplo 10a se disolvió en 40 mL de TFA. La solución resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y

se concentró bajo presión reducida. El producto bruto se usó sin caracterización adicional para el siguiente paso químico.

Ejemplo 10

{4,10-bis(carboxilatometil)-7-[2-oxo-2-({3-({[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)-2,2-bis[({[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)metil]propil}-amino)etil]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acetato de tetragadolinio

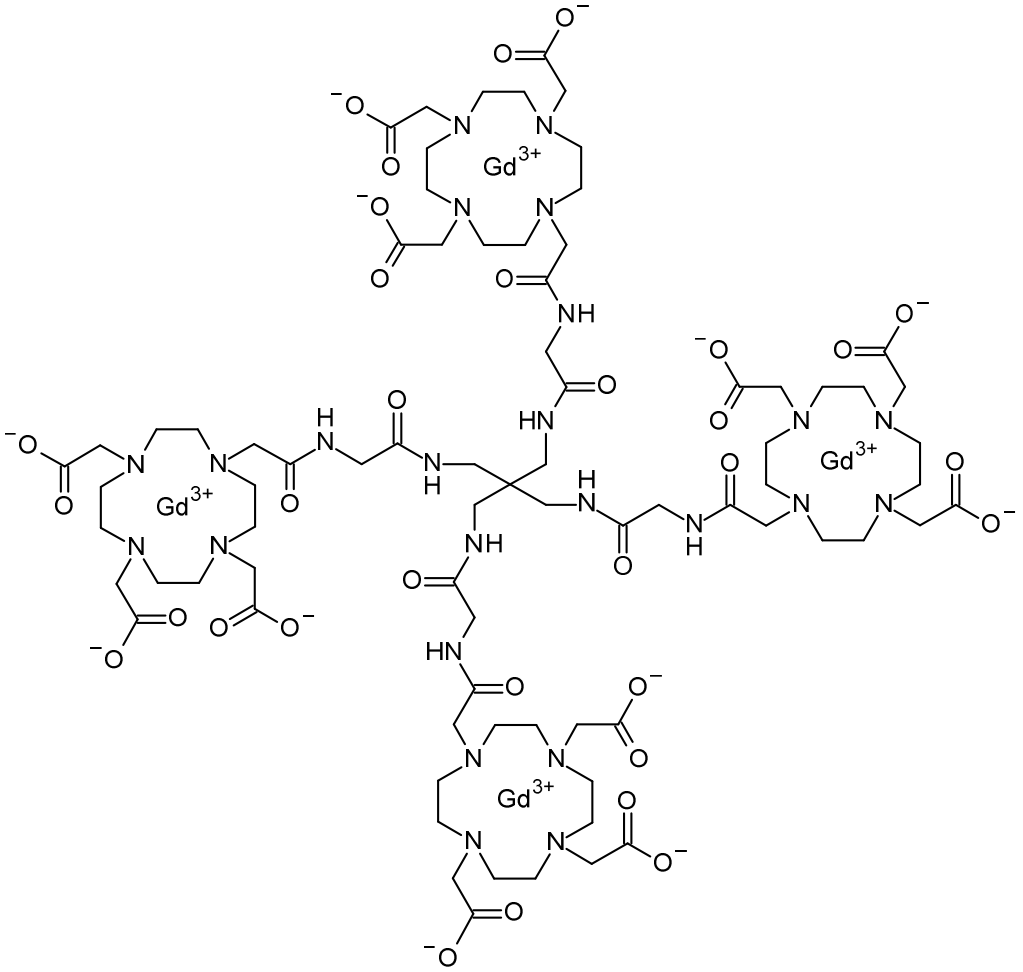
El ácido {4,10-bis(carboximetil)-7-[2-oxo-2-({3-({[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)-2,2-bis[({[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)metil]propil}amino)etil]-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il}acético bruto del ejemplo 10b se disolvió en 10 mL de agua. Luego de la adición de 326 mg de tetrahidrato de tris(acetato-kappaO)gadolinio, se ajustó el valor de pH de la solución resultante a 3,5 - 4,5 mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido de sodio. La mezcla de reacción se calentó con agitación durante la noche a 70°C. La solución resultante se ultrafiltró con agua con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de RP lo cual proporcionó 65 mg (28 µmol, 46%) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,40 min.

EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1149,7 $(M + 2H)^{2+}$, m/z (z =3) = 766,0 $(M + 3H)^{3+}$.

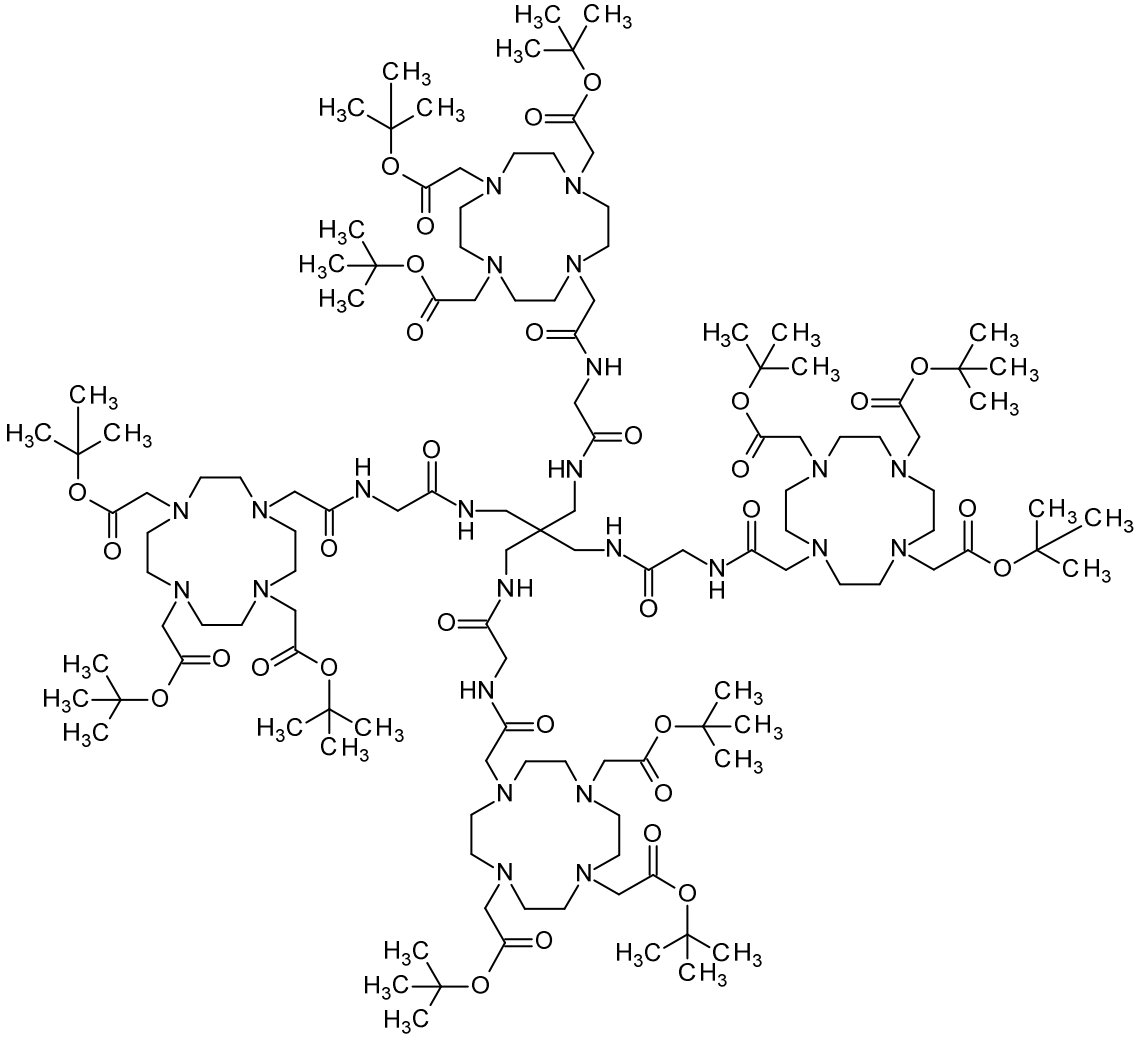
Ejemplo 11

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{2,5,11,14-tetraoxo-15-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-8,8-bis({[({[4,7,10-tris(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)acetil]amino}metil)-3,6,10,13-tetraazapentadec-1-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de tetragadolinio



Ejemplo 11a

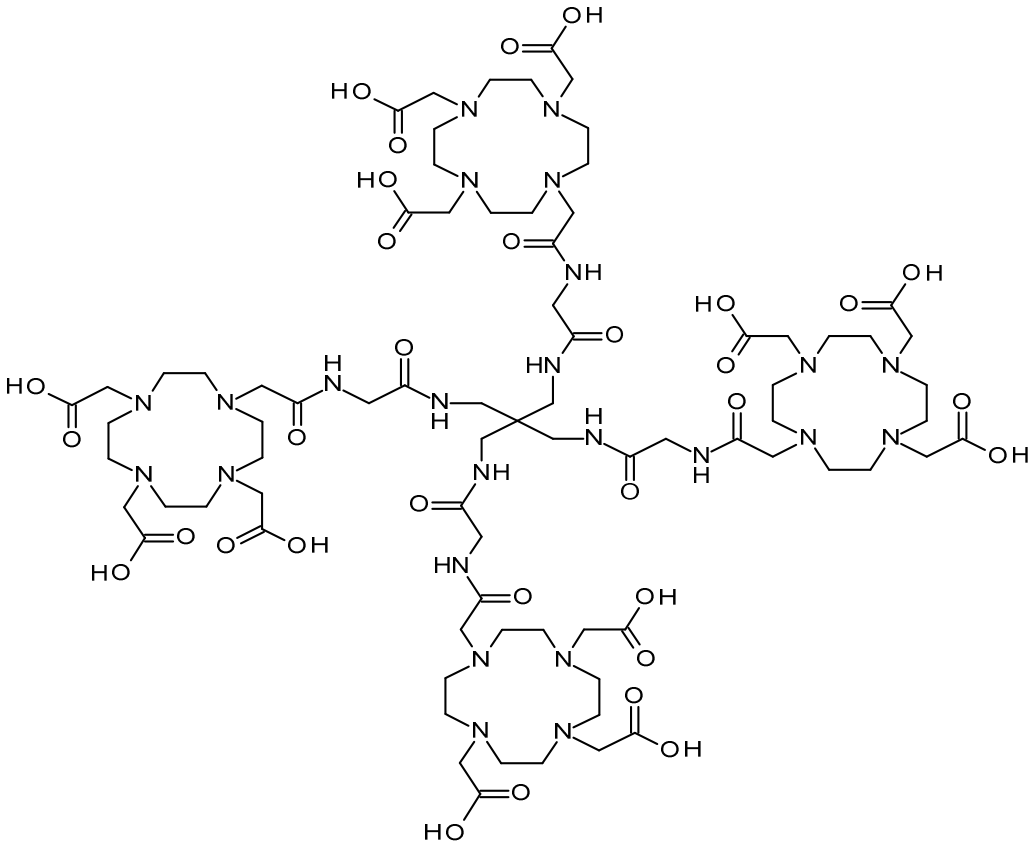
[4,10-bis(2-ter-butoxi-2-oxoetil)-7-{2,5,11,14-tetraoxo-15-[4,7,10-tris(2-ter-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-8,8-bis({[({[4,7,10-tris(2-ter-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)acetil]amino}metil)-3,6,10,13-tetraazapentadec-1-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de ter-butilo



Se disolvieron 2,99 g (4,75 mmol, 12 eq.) de N-{[4,7,10-tris(2-ter-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}glicina (véase M. Suchy et al., Org. Biomol. Chem. 2010, 8, 2560 - 2566) y 732 mg (5,70 mmol, 14,4 eq.) de etildiisopropilamina en 40 mL de N,N-dimetilformamida. Luego de la adición de 2.17 g de hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio (HATU; 5,70 mmol, 14,4 eq.), la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutes a temperatura ambiente. Se agregaron 100,1 mg (396 µmol, 1 eq.) de tetracloruro de 2,2-bis(amoniometil)propan-1,3-diaminio (véase W. Hayes et al., Tetrahedron 59 (2003), 7983 - 7996) y 982,7 mg (7,60 mmol, 19,2 eq.) de etildiisopropilamina y la mezcla de reacción resultante se agitó durante la noche a 50°C. La solución enfriada se concentró bajo presión reducida. El producto bruto se usó sin caracterización adicional para el siguiente paso químico.

Ejemplo 11b

Ácido [4,10-bis(carboximetil)-7-{2,5,11,14-tetraoxo-15-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-8,8-bis({[({[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)acetil]amino}metil)-3,6,10,13-tetraazapentadec-1-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético



El [4,10-bis(2-ter-butoxi-2-oxoetil)-7-{2,5,11,14-tetraoxo-15-[4,7,10-tris(2-ter-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-8,8-bis({[({[4,7,10-tris(2-ter-butoxi-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)acetil]amino}-metil)-3,6,10,13-tetraazapentadec-1-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de *ter*-butilo bruto del ejemplo 11a se disolvió en 125 mL de TFA. La solución resultante se agitó durante 2 horas a 70°C, durante la noche a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El producto oleoso se disolvió en 200 mL de agua,

se aisló mediante liofilización y se usó sin caracterización adicional para el siguiente paso químico.

Ejemplo 11

[4,10-bis(carboxilatometil)-7-{2,5,11,14-tetraoxo-15-[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-8,8-bis({[({[4,7,10-tris-(carboxilatometil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)acetil]amino}-metil)-3,6,10,13-tetraazapentadec-1-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetato de tetragadolinio

El ácido [4,10-bis(carboximetil)-7-{2,5,11,14-tetraoxo-15-[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]-8,8-bis({[({[4,7,10-tris(carboximetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acetil}amino)acetil]amino}metil)-3,6,10,13-tetraazapentadec-1-il}-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il]acético bruto del ejemplo 11b se disolvió en 100 mL de agua. Luego de la adición de 2,89 g de tetrahidrato de tris(acetato-kappaO)gadolinio, se ajustó el valor de pH de la solución resultante a 3,0 - 3,5 mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido de sodio. La mezcla de reacción se calentó con agitación durante 24 horas a 70°C. La solución resultante se ultrafiltró con agua con el uso de una membrana 1kDa y el retenido final se liofilizó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de RP, que proporcionó 296 mg (120 µmol, 30%) del compuesto del título.

UPLC (ACN-HCOOH): Rt. = 0,41 min.

EM (ES^+): m/z (z = 2) = 1262,8 $(M + 2H)^{2+}$, m/z (z =3) = 841,5 $(M + 3H)^{3+}$.

Compuesto de referencia 1

Gadovist® (gadobutrol, Bayer AG, Leverkusen, Alemania)

Compuesto de referencia 2

Magnevist® (gadopentetato dimeglumina, Bayer AG, Leverkusen, Alemania)

Compuesto de referencia 3

Primovist® (gadoxetato disódico, Bayer AG, Leverkusen, Alemania)

Compuesto de referencia 4

Se sintetizó Gadomer-17 de acuerdo con lo descripto en EP0836485B1, Ejemplo 1k.

Caracterización in vitro e in vivo de los compuestos de ejemplo

Los ejemplos se sometieron a prueba en ensayos seleccionados una o más veces. Cuando se someten a prueba más de una vez, los datos se informan como valores promedio o como valores medios, en donde:

- el valor promedio, también mencionado como el valor medio aritmético, representa la suma de los valores obtenidos dividido por la cantidad de veces sometido a prueba; y
- el valor medio representa el número medio del grupo de valores cuando se clasifican en orden ascendente o descendente. Si la

cantidad de valores en el conjunto de datos es impar, el valor medio es el valor del medio. Si la cantidad de valores en el conjunto de datos es par, el medio es el medio aritmético de los dos valores del medio.

Los ejemplos se sintetizaron una o más veces. Cuando se sintetizan más de una vez, los datos de los ensayos representan valores promedio o valores medios calculados con el uso de conjuntos de datos obtenidos de la prueba de uno o más lotes sintéticos.

Ejemplo A

Mediciones de la relaxividad a 1,4 T

Las mediciones de relaxividad a 1,41T se realizaron con el uso de un espectrómetro MiniSpec mq60 (Bruker Analytik, Karlsruhe, Alemania) que operaba a una frecuencia de resonancia de 60 MHz y a una temperatura de 37°C. Los tiempos de relajación T_1 se determinaron con el uso de un método de recuperación de inversión estándar (IR) con un retardo de relajación establecido de al menos 5 x T_1. El tiempo de inversión variable (TI) se calculó automáticamente con el software estándar del MiniSpec mq60 (8 pasos). Las mediciones T_2 se realizaron con el uso de una secuencia de impulsos Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), y la aplicación de un retardo de relajación de al menos 5 x T_1.

Cada medición de relaxividad se realizó con tres concentraciones diferentes de Gd (3 concentraciones entre 0,05 y 2 mM). Los tiempos de relajación T_1 y T_2 de los compuestos de ejemplo 1-10 se midieron en

diferentes medios por ejemplo en agua, suero bovino fetal (FBS, Sigma, F7524) y plasma humano.

Preparación de plasma humano: Para cada experimento, se tomó sangre fresca de un voluntario con el uso de 10 mL de tubos de citrato (Sarstedt S-Monovette 02.1067.001, 10 mL, Citrato). Los tubos de 10 mL de citrato se invirtieron cuidadosamente 10 veces para mezclar la sangre y el anticoagulante y se centrifugaron durante 15 minutos a 1811 g a temperatura ambiente (Eppendorf, Centrifuge 5810R).

Las relaxividades r_i (donde i=1, 2) se calcularon sobre la base de las tasas de relajación medidas R_i en agua y plasma:

$R_i = R_{i(0)} + r_i [C_{Gd}]$,

Cuando $R_{i(0)}$ representa la tasa de relajación del solvente respectivo y C_{Gd}, la concentración del compuesto es normalizada al Gadolinio. Las concentraciones de gadolinio de las soluciones investigadas se verificaron mediante un espectroscopio de masa de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS Agilent 7500a, Waldbronn, Alemania).

Los valores de relaxividad determinados se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1: Relaxividades de los compuestos investigados en agua, suero bovino fetal (FBS, *por sus siglas en inglés*) y plasma humano a 1,41 T y relaxividades de los compuestos de referencia 1-4 (RC1-RC4) a 1,5 T en agua y plasma bovino. Todos los valores se midieron a 37°C, se normalizan a Gd y se expresan en L $mmol^{-1}$ s^{-1}.

Ejemplo nro.	r_1 agua*	r_2 agua*	r_1 FBS*	r_2 FBS*	r_1 plasma* humano	r_2 plasma* humano
1	11,1	12,9	13,2	16,3	13,0	19,5
2	12,1	14,2	13,4	16,4	13,9	17,6
3	10,1	11,7	11,5	13,7	11,8	14,7
3-1	9,5	11,1	n.d.	n.d.	10,4	13,1
3-2	9,4	10,8	n.d,	n.d.	11,4	14,2
4	11,5	13,5	13,3	16,0	13,2	16,5
5	13,0	15,2	14,6	18,1	14,3	17,7
6	13,4	15,7	14,2	17,5	14,6	18,6
7	10,8	12,6	11,7	14,4	12,1	14,9
8	12,5	14,5	14,5	17,9	14,6	18,1
9	7,4	8,5	8,8	10,4	n.d.	n.d.
10	7,3	8,3	9,2	10,7	9,7	11,3
RC1^	3,3	3,9	5,2	6,1	n.d.	n.d.
RC2^	3,3	3,9	4,1	4,6	n.d.	n.d.
RC3^	4,7	5,1	6,9	8,7	n.d.	n.d.
RC4^	17,3	22	16	19	n.d.	n.d.

* los valores se ilustran en L $mmol^{-1}$ s^{-1}

^ Relaxividades de los compuestos de referencia de Rohrer et. al. (Invest. Radiol. 2005; 40, 11: 715-724), plasma bovino (Kreaber GmbH, Pharmaceutical Raw Material, Ellerbek, Alemania)

Mediciones de la relaxividad a 3,0 T

Las mediciones de la relaxividad a 3,0 T se realizaron con un escáner de de IRM de cuerpo entero 3,0 T (Philips Intera, Philips Healthcare, Hamburg, Alemania) con el uso de una bobina para rodilla (SENSE-Knee-8, Philips Healthcare, Hamburg, Alemania). Los tubos de muestra (matraces CryoTubetm Vials, Thermo Scientific 1.8 mL, Roskilde,

Dinamarca) se posicionaron en 3 hileras de 4 y 5 tubos en un sostenedor de plástico en una caja rellena con agua. La temperatura se ajustó a 37°C. Para la secuencia de IRM, se usó el tiempo de eco más breve posible (TE) con 7,46 milisegundos. Los tiempos de inversión se eligieron para optimizar la secuencia a fin de medir valores T_1 correspondientes al rango T_1 estimado de todos los tiempos de relajación de las soluciones que contenían los medios de contraste. Se aplicaron los siguientes tiempos de inversión (TIs): 50, 100, 150, 200, 300, 500, 700, 1000, 1400, 2100, 3200, y 4500 milisegundos. La secuencia se ejecutó con un retardo de relajación constante de 3,4 segundos luego del registro del último eco (variable TR en el rango de 3450 a 7900 milisegundos). Para obtener detalles del procedimiento de ajuste, véase Rohrer et.al. (Invest. Radiol. 2005; 40, 11: 715-724). La matriz experimental de la medición fantasma fue de 320 x 320.

Las relaxividades se evaluaron con el uso de tres concentraciones diferentes de cada compuesto (3 concentraciones entre 0,05 y 2 mM).

Los tiempos de relajación T_1 de los compuestos de ejemplo 1-6 se midieron en agua y en plasma humano. Preparación de plasma humano: Para cada experimento, se tomó sangre fresca de un voluntario con el uso de tubos de citrato de 10 mL (Sarstedt S-Monovette 02.1067.001, 10 mL, Citrato). Los tubos de citrato de 10 mL se invirtieron cuidadosamente 10 veces para mezclar la sangre y el anticoagulante y se centrifugaron

durante 15 minutos a 1811 g a temperatura ambiente (Eppendorf, Centrífugo 5810R).

Las relaxividades r_i (donde i=1, 2) se calcularon sobre la base de las tasas de relajación medidas R_i en agua y plasma:

$R_i = R_{i(0)} + r_i [C_{Gd}]$,

donde $R_{i(0)}$ representa la tasa de relajación del solvente respectivo y C_{Gd}, la concentración del compuesto normalizada a Gadolio (Tabla 2).

Tabla 2: Relaxividades (normalizadas a Gd) en agua y plasma humano a 3,0 T y 37°C [L $mmol^{-1}$ s^{-1}]

Ejemplo Nro.	**r_1 agua***	**r_1 plasma humano**
1	9,5 ± 0,2	10,8 ± 0,1
2	9,2 ± 0,3	11,4 ± 0,1
3	9,2 ± 0,3	10,2 ± 0,2
3-1	8,9 ± 0,2	10,1 ± 0,1
3-2	9,0 ± 0,4	11,4 ± 0,2
4	10,1 ± 0,2	11,8 ± 0,3
5	10,8 ± 0,3	12,4 ± 0,2
6	11,3 ± 0,4	12,8 ± 0,3
RC1^	3,2 ± 0,3	5,0 ± 0,3
RC2^	3,1 ± 0,3	3,7 ± 0,2
RC3^	4,3 ± 0,3	6,2 ± 0,3
RC4^	13,0 ± 0,7	13 ± 1

* Promedio ± Desvío estándar, los valores se ilustran en L $mmol^{-1}$ s^{-1}

Ejemplo B

Parámetros farmacocinéticos

Los parámetros farmacocinéticos del compuesto del Ejemplo 3 se determinaron en ratas macho (Han-Wistar, 220-230 g, n=3). El compuesto se administró en forma de solución acuosa estéril (52,5 mmol Gd/L) en forma de bolo en la vena de la cola de los animales. La dosis fue de 0,1 mmol de Gd/kg. La sangre se muestreó 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360, 480 y 1440 min luego de la inyección y la concentración de Gd se determinó mediante un espectroscopio de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS Agilent 7500a, Waldbronn, Alemania). El nivel de sangre se convirtió a concentraciones de plasma mediante la división por 0,625 (fracción de plasma de sangre de rata, suponiendo una distribución estrictamente extracelular). Como control, se sometieron a prueba 3 animales tratadas de la misma manera con Gadovist®, un agente de contraste de bajo peso molecular. Los transcursos de tiempo de los niveles de plasma sanguíneo se muestran en la Figura 1.

El ajuste de los datos obtenidos a un modelo de tres compartimentos (Phoenix – WinNonlin) proporcionó los parámetros farmacocinéticos que se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Transcursos de tiempo de los niveles de plasma sanguíneo

Parámetro		**unidad**	**Gadovist®**		**Ejemplo 3**	
			medio	SD	medio	SD
t½ α	Vida media, compartimento V1	[min]	1,6	0,4	1,7	0,3
t½ β	Vida media, compartimento V2	[min]	20,5	1,9	18,2	3,4
t½ γ	Vida media, compartimento V3	[min]	232	126	133	22,0
MRT	Tiempo de residencia medio	[min]	30,1	3,8	24,1	4,4

AUC∞	Área debajo de la curva (al infinito)	[µmol/l*min]	11500	1180	9040	1220
V_c (V1)	Volumen, compartimento central V1	[l/kg]	0,14	0,01	0,11	0,01
V2	Volumen, compartimento V2	[l/kg]	0,12	0,01	0,15	0,01
V1 + V2	Volumen, compartimentos V1+V2	[l/kg]	0,25	0,02	0,26	0,01
$V_{d,ss}$	Volumen de distribución del estado estable	[l/kg]	0,28	0,02	0,28	0,01
Cl_{tot}	Aclaramiento total	[ml/min*kg]	9,30	0,9	11,8	1,7

Ejemplo C

Excreción y concentración de gadolinio residual luego de 5 días

La excreción y distribución de órganos del Ejemplo 3 se determinaron en ratas macho (Han-Wistar, 100-110 g, n=3). El compuesto se administró en forma de solución acuosa estéril (54 mmol Gd/L) en forma de bolo en la vena de la cola de los animales. La dosis fue de 0,1 mmol de Gd/kg. Se recogieron orina en los siguientes períodos de tiempo 0-1 h, 1-3 h, 3-6 h, 6-24 h, 1-2 d y 2-5 d luego de la inyección y heces 0-1 d, 1-2 d y 2-5 d luego de la inyección. Como control, se trataron 3 animales de la misma manera con Gadovist®, un agente de contraste de bajo peso molecular. El día 7, se sacrificaron los animales y se extirparon los siguientes órganos: hígado, riñón, bazo, corazón, pulmón, cerebro, nodos linfáticos mesentéricos, músculo, piel, estómago, intestino, hueso y médula ósea. La carcasa restante se secó por congelamiento y se trituró hasta obtener un polvo fino. La concentración de Gd en los órganos y la

carcasa se determinó mediante ICP-MS (ICP-MS Agilent 7500a, Waldbronn, Alemania). Los resultados de la distribución de órganos del Ejemplo 3 y el compuesto de referencia 1 (Gadovist®) se resumen en la Tabla 4. El Ejemplo 3 es excretado rápidamente por los riñones. Luego de 3 h, 95,8% ± 3,4% de la dosis inyectada se halló en la orina y 96,9% ± 3,7%, luego de 5 días. Aproximadamente 1,4% ± 0,6% fue excretado por medio de las heces. Menos del 0,5% de la dosis administrada se halló presente en el cuerpo a los 7 días luego de la inyección. Los órganos individuales contenían menos de 0,03% de la dosis inyectada, excepto el riñón que es el órgano de excreción.

Tabla 4: Excreción y distribución de órganos de Gadovist® y Ejemplo 3 en ratas

	Gadovist® [% de Dosis]	**Ejemplo 3** [% de Dosis]
Período de tiempo luego de la inyección	**Orina**	**Orina**
0-1 h	91,28 ± 2,69%	90,36 ± 4,4%
1-3 h	7,38 ± 1,50%	5,43 ± 1,04%
3-6 h	0,22 ± 0,08%	0,46 ± 0,38%
6-24 h	0,28 ± 0,03%	0,17 ± 0,02%
1-2 d	0,20 ± 0,02%	0,14 ± 0,01%
2-5 d	0,64 ± 0,18%	0,34 ± 0,03%
Período de tiempo luego de la inyección	**Heces**	**Heces**
0-1 d	1,47 ± 1,38%	1,13 ± 0,62%
1-2 d	0,13 ± 0,08%	0,10 ± 0,02%
2-5 d	0,13 ± 0,02%	0,13 ± 0,01%
Punto de tiempo luego de la inyección	**Σ órganos y carcasa**	**Σ órganos y carcasa**

7 d	0,50 ± 0,07%	0,49 ± 0,01%
Recuperación total	**101,9 ± 0,4%**	**98,8 ± 3,1%**

Ejemplo D

Estabilidad química

Los ejemplos 1, 2, 3 y 6 se disolvieron en forma separada en tampón de tris-HCl 10 mM, pH 7,4 a una concentración final de 5 mmol de Gd/L. Se retiró una fracción y el resto de la solución transparente e incolora se sometió a un autoclave a 121°C durante 20 min. Posteriormente, la solución se hallaba aún transparente e incolora. La fracción retirada antes y luego del autoclave se analizó mediante HPLC-ICP-MS para determinar la integridad del compuesto.

HPLC: Columna: Hypercarb 2,5 mm x 15 cm. Solvente A: 0,1% de ácido fórmico en agua. Solvente B: acetonitrilo. Gradiente de 100% A a 5% A + 95% B en 10 min. Flujo 1 ml/min. Detección por ICP-MS, ajustada a ^{158}Gd. Los cromatogramas, que mostraron la intensidad del GD detectado, se compararon visualmente. No se detectaron cambios en los cromatogramas antes y luego del sometimiento al autoclave. Los compuestos fueron estables durante el procedimiento de autoclave.

Ejemplo E

Liberación de gadolinio luego de la adición de zinc y fosfato

El protocolo relaxométrico de protones para la evaluación de la transmetalación para la determinación de la estabilidad del medio de

contraste de IRM se halla descripto por Laurent S. et al. (Invest. Radiol. 2001; 36, 2: 115-122). La se basa en una medición de la evolución de la tasa de relajación longitudinal paramagnética de protones de agua en un tampón de fosfato (pH 7,00, 26 mmol/L, KH_2PO_4 Merck, Hessen, Alemania) que contiene 2,5 mmol/L de complejo de gadolinio y 2,5 mmol/L de $ZnCl_2$ Sigma-Aldrich, Munich, Alemania). Cien microlitros de una solución de 250 mmol/L de $ZnCl_2$ se agregaron a 10 mL de una solución tamponada de complejo paramagnético (Compuestos de referencia 1-4 y Ejemplo 3). La mezcla se agitó vigorosamente y se tomaron 300 µL para el estudio relaxométrico a 0 min, 60 min, 120 min, 3 h, 4 h, 5 h, 24 h, 48 h y 72 h. Las mediciones se realizaron en un espectómetro MiniSpec mq60 (Bruker Analytik, Karlsruhe, Alemania) a 60 MHz y 37°C. Los resultados del Ejemplo 3 en comparación con el Compuesto de referencia 1 (Gadovist®), Compuesto de referencia 2 (Magnevist®) y Compuesto de referencia 3 (Primovist®) se muestran en la Figura 2. Si se activa la transmetalación de gadolinio por los iones de Zn^{2+} en una solución tamponada con fosfato, entonces el Gd^{3+} liberado reaccionaría con los iones libres de PO_4^{3-} para formar $GdPO_4$. Debido a la baja solubilidad de $GdPO_4$, una parte del Gadolinio se precipita como sólido y no posee ninguna otra influencia sobre la tasa de relajación longitudinal de agua. Se observaría una disminución de la tasa de relajación de protones para los quelatos de gadolinio con una baja estabilidad [véanse los medios de contraste lineal en la Figura:

Compuestos de referencia 2 (Magnevist®) y 3 (Primovist®)]. La estabilidad del Ejemplo 3 es comparable con la alta estabilidad del Compuesto de referencia 1 (Gadovist®).

Ejemplo F

Estabilidades del complejo de Gd en plasma humano a 37°C, 15 d

Los ejemplos 3 y 10 se disolvieron en forma separada en plasma humano a 1 mmol de Gd/L. Como referencia para el Gd^{3+} liberado, se disolvió 0,1 mmol/L de cloruro de gadolinio ($GdCl_3$) en plasma humano. Las muestras de plasma se incubaron durante 15 días a 37°C en una atmósfera de 5% de CO_2 para mantener el pH a 7.4. Se tomaron fracciones al comienzo y final de la incubación. La cantidad de Gd^{3+} liberado de los complejos se determinó por medio de HPLC-ICP-MS. Columna: sefarosa quelante (HiTrap, 1mL). Solvente A: 10 mM de BisTris-HCl pH 6,0. Solvente B: 15 mM de HNO3. Gradiente: 3 min a 100% A, de 3 a 10 min a 100% B. Flujo 1 mL/min. Detección por ICP-MS, ajustada a ^{158}Gd. Los cromatogramas, que mostraban la intensidad del Gd detectado, se evaluaron con un análisis de área de picos. Se registró el tamaño del pico de Gd^{3+}, que levigaba luego del cambio de solvente A a B. Para ambos compuestos, el aumento de este pico y, por ende, la liberación de Gd^{3+} se halló por debajo del límite de cuantificación (< 0,1% de la cantidad total inyectada de Gadolinio). Ambos complejos de Gd son estables en condiciones fisiológicas.

Ejemplo G

Solubilidad en agua

La solubilidad en agua de los compuestos se determinó a temperatura ambiente (20°C) en 0,5 mL de una solución de tampón (10 mM de Tris-HCl) en los tubos microcentrífugos (Eppendorf, 2,0 mL tapas con traba de seguridad). El compuesto sólido se agregó en pasos a la solución de tampón. La suspensión se mezcló con una batidora (Heidolph Reax 2000) y se trató 5 min en un baño de ultrasonido (Bandelin, Sonorex Super RK255H) La suspensión se almacenó a temperatura ambiente (20°C) durante la noche y se determinó la concentración final de Gadolinio mediante una espectrometría de masa de plasma acoplada inductivamente (ICP-MS). Los resultados se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5: Solubilidades de los compuestos en agua a 20°C.

Ejemplo Nro.	**Solubilidad** [mmol Gd/L]
1	>1200
2	>1200
3	>1400
4	>1200
5	>1100
6	>1100
7	>1400
8	>1000
9	>800
10	>800

Ejemplo H

Angiografía de resonancia magnética intensificada por contraste (CE-ARM)

El potencial de una reducción significativa de la dosis se demostró con una comparación intraindividual de 100 µmol de Gadolinio por kilogramo de peso corporal [100 µmol Gd/ kg pc], que es comparable con la dosis estándar humana, y un protocolo de baja dosis con el uso de 30 µmol de Gadolinio por kilogramo de peso corporal. El compuesto de referencia 1 (Gadovist®), como representante aprobado de los agentes de contraste de IRM basados en Gadolinio, se usó en ambos protocolos de dosis (100 µmol Gd/kg pc y 30 µmol Gd/kg pc) y se comparó con el Ejemplo 3 (30 µmol Gd/ kg pc).

El estudio de la angiografía de resonancia magnética intensificada por contraste se realizó en un escáner de 1,5T clínico (Magnetom Avanto, Siemens Healthcare, Erlangen, Alemania). Para una explotación óptima de la señal, se usó una bobina de espina dorsal estándar para la adquisición de datos. El estudio se realizó con conejos blancos machos de Nueva Zelanda (peso 2,5-2,9 kg, n=6, Charles River Kisslegg). Todos los animales se anestesiaron inicialmente con el uso de una inyección intramuscular ajustada al peso corporal de una mezcla (1+2) de clorhidrato de xilazin (20 mg/mL, Rompun 2%, Bayer Vital GmbH,

Leverkusen) y clorhidrato de ketamina (100 mg/mL, Ketavet, Pfizer, Pharmacia GmbH, Berlin) con el uso de 1 mL/kg de peso corporal. La anestesia continua de los animales intubados (tubo endotraqueal, Rueschelit Super Safe Clear, brazalete 3,0 mm, Willy Ruesch AG, Kernen, Alemania) se logró con una inyección intravenosa de 0,9 mg de propofol por kilogramo por hora (10 mg/mL, Propofol-Lipuro 1%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania). La inyección intravenosa continua se realizó con el uso de un sistema de infusión de RM (Continuum MR Infusion System, Medrad Europe B. V., AE Beek, Alemania). La respiración traqueal (SV 900C, Maquet, Rastatt, Alemania) se realizó con 55% de oxígeno, cuarenta respiraciones por minuto y un volumen respiratorio de 7 mL por kilogramo de peso corporal por minuto.

Sobre la base de una secuencia de localizador orientado en las direcciones coronal, axial y sagital, se adquirió el curso anatómico de la aorta. El tiempo hasta alcanzar el pico se determinó con el uso de un pequeño bolo de prueba intravenoso (0,25 mL/2,5-2,7 kg o 0,3 mL/2,8-2,9 kg pc, Compuesto de referencia 1) y una secuencia 3D FLASH (secuencia de bolo de prueba: tiempo de repetición: 36,4 milisegundos, tiempo de eco 1,45 milisegundos, ángulo de inclinación: 30 grados, resolución espacial: 1,0x 0,8 x 17 mm). La secuencia 3D FLASH de la angiografía se caracterizó por un tiempo de repetición de 3,24 milisegundos, un tiempo de eco de 1,17 milisegundos, un ángulo de inclinación de 25 grados y un espesor de corte de 0,94 mm. El campo visual de 141 x 300 mm se

combinó con una matriz de 150x320 que resultó en una resolución espacial de 0,9 x 0,9 x 0,9 mm y un tiempo de adquisición total de 13 segundos por bloque 3D. La secuencia 3D FLASH se realizó una vez antes e inmediatamente luego de la inyección del agente de contraste. El intervalo de tiempo para la comparación intraindividual entre las diferentes aplicaciones de los agentes de contraste fue de veinte a treinta minutos (n=3 animales).

Las angiografías de resonancia magnética resultantes de la comparación intraindividual en conejos se ilustran en la Figura 3: (A) 30 µmol de Gd/kg pc Compuesto de referencia 1 (Gadovist®); (B) 30 µmol de Gd/kg pc de Ejemplo 3 y (C) 100 µmol de Gd/kg pc del Compuesto de referencia 1. La intensificación del contraste del protocolo de dosis baja con el Ejemplo 3 (B) es comparable con aquel de la dosis estándar del compuesto de referencia 1 (C). Además, la calidad de la imagen del protocolo de baja dosis del Ejemplo 3 (B) es significativamente mejor que el protocolo de dosis baja del Compuesto de referencia 1 (A). El estudio de la angiografía demuestra el potencial del Ejemplo 3 para una reducción significativa de la dosis.

Ejemplo J

Imágenes del cuerpo completo

Los agentes de contraste clásicos basados en Gadolinio extracelular presentan una rápida distribución pasiva extracelular en todo el cuerpo y son excretados exclusivamente por el riñón. La rápida

distribución extracelular en todo el cuerpo permite las clásicas posibilidades de adquisición de imágenes como, por ejemplo, angiografía y la obtención de imágenes del sistema nervioso central, extremidades, corazón, cabeza/rostro/cuello, abdomen y mama. Se demostró la comparabilidad del comportamiento farmacocinético y de diagnóstico del Compuesto de referencia 1 (Gadovist®) y otros ECCM y forma la base para extrapolar la eficacia a todas las partes del cuerpo para las que generalmente se obtienen imágenes en el trabajo de diagnóstico de diversas enfermedades (Tombach B et.al., Eur Radiol 2002;12(6):1550-1556). El estudio descripto de resonancia magnética intensificada por contraste compara la distribución farmacocinética y el desempeño de diagnóstico del Ejemplo 3 con respecto al compuesto de referencia 1 (Gadovist®), como representante aprobado de los agentes de contraste de IRM basados en Gadolinio.

A los efectos de demostrar que el Ejemplo 3 posee el mismo modo de acción, se determinó la intensidad de la señal de IRM con respecto al tiempo y las concentraciones de Gd en diversos tejidos. El estudio se realizó en una IRM de cuerpo entero clínica equipada con una bobina para espina dorsal, una bobina flexible para abdomen, una bobina de cuello (1,5 T Magnetom Avanto, Siemens Healthcare, Erlangen, Alemania). El estudio se realizó con el uso de conejos blancos machos de Nueva Zelanda (peso 2,3-3,0 kg, n=8, Charles River Kisslegg). Todos los animales se anestesiaron inicialmente con el uso de una inyección

intramuscular ajustada al peso corporal de una mezcla (1+2) de clorhidrato de xilazin (20 mg/mL, Rompun 2%, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) y clorhidrato de ketamina (100 mg/mL, Ketavet, Pfizer, Pharmacia GmbH, Berlin) con el uso de 1 mL/kg de peso corporal. La anestesia continua de los animales intubados (tubo endotraqueal, Rueschelit Super Safe Clear, brazalete de 3,0 mm, Willy Ruesch AG, Kernen, Alemania) se logró con la inyección intravenosa de 0,9 mg de propofol por kilogramo por hora (10 mg/mL, Propofol-Lipuro 1%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania). La inyección intravenosa continua se realizó con el uso de un sistema de infusión de RM (Sistema de infusión de RM continua, Medrad Europe B. V., AE Beek, Alemania). La respiración traqueal (SV 900C, Maquet, Rastatt, Alemania) se realizó con 55% de oxígeno, cuarenta respiraciones por minuto y un volumen respiratorio de 7 mL por kilogramo de peso corporal por minuto.

Se realizaron mediciones de IRM dinámicas hasta 22 min luego de la inyección con un análisis posterior de señal cuantitativa (software Siemens Mean Curve (SYNGO Task Card, Siemens Healthcare, Erlangen, Alemania) para tres regiones diferentes: cabeza y cuello (cerebro, lengua, músculo bucal, músculo del cuello), abdomen (bazo, hígado, sangre) y pelvis (músculo de extremidad). Para los tres grupos de cortes diferentes, se usó una secuencia Vibe que se pesó para T1 3D (TR=4,74ms, TE=2,38, inclinación= 10, 1:29 min). Las mediciones dinámicas de los tres grupos de corte (Cabeza/cuello: 1,29 min,

Abdomen: 0:49 min, Pelvis: 1:16 min) se realizaron hasta 22 min posteriores a la inyección: 1. Cabeza/cuello: línea de base, 1,4, 5,2, 8,9, 12,8, 16,5, 20,4 min, 2. Abdomen: línea de base, 0,5, 4,3, 8,1, 11,9, 15,7, 19,5 min y 3. Pelvis: línea de base, 2,9, 6,7, 10,5, 14,4, 18,1, 22,0 min. A 30 min luego de la inyección, se procedió a sacrificar los animales y se midieron las concentraciones de Gd con el uso de una espectrometría de masa de plasma acoplada inductivamente (ICP-MS Agilent 7500a, Waldbronn, Alemania) en las siguientes muestras de tejido: sangre, cerebro, lengua, hígado, y músculo de una extremidad. Se realizó una evaluación de imágenes cuantitativa para el punto de tiempo de 30 minutos p.i. debido a la combinación de las concentraciones de gadolinio de la ICP-MS cuantitativa y el análisis de la región de interés de la IRM.

La administración del agente de contraste conduce a un aumento de la señal en el sistema vascular y en el espacio extravascular, extracelular del cuerpo. La intensidad de la señal se basa en las propiedades farmacocinéticas y fisicoquímicas de los agentes de contraste. La Figura 4 muestra imágenes representativas de la región de cabeza y cuello antes y 1,4 min después de la administración del Ejemplo 3 y del compuesto de referencia 1. La Figura 5 muestra imágenes abdominales representativas antes y 0,5 min luego de la administración del Ejemplo 3 y del compuesto de referencia 1. La Figura 6 muestra imágenes representativas de la región pélvica antes y 0,5 min luego de la administración del Ejemplo 3 y del Compuesto de referencia 1. Todas las

imágenes muestran una intensidad de señal clara, por ejemplo, en el corazón, la lengua, aorta, riñón, bazo, todo el sistema vascular y músculos.

Las curvas de señal-tiempo muestran el cambio de la señal con el tiempo luego de la administración del agente de contraste y representan la farmacocinética del agente de contraste en el tejido respectivo (Figura 7). En todos los tejidos investigados, se observó un rápido aumento de la intensidad de la señal luego de la inyección del agente de contraste, al que siguió una disminución de la señal continua. El grado de esas intensidades del contraste es específico del tejido. Sin embargo, no se observaron diferencias en el transcurso del tiempo en las intensidades de contraste entre el Ejemplo 3 y el Compuesto de referencia 1. Ello demuestra las propiedades farmacocinéticas idénticas y muestra que el Ejemplo 3 es adecuado para diferentes regiones del cuerpo (Figura 7). La amplitud de la intensidad de contraste depende de las características del tejido, especialmente en la perfusión de tejido y en las propiedades fisicoquímicas, especialmente en la relaxividad. De acuerdo con lo esperado sobre la relaxividad de aproximadamente 2 veces más elevada (véase el Ejemplo A), la intensidad del contraste con el uso de Ejemplo 3 es mayor en comparación con aquella del compuesto de referencia 1.

La relación entre la concentración de Gadolinio y el cambio de señal de la IRM se investigaron mediante la comparación de la cantidad de Gadolinio en el tejido 30 min p.i. con el cambio de la señal en la

medición de IRM realizada 19,5 min p.i. (abdomen), 20,4 min p.i. (cabeza y cuello) y 22,0 min p.i. (pelvis). Los datos respectivos para el Ejemplo 3 y el compuesto de referencia 1 se muestran en la Figura 8. Se observó una correlación lineal entre las concentraciones de Gadolinio en diversos tejidos y los cambios de señal de IRM respectivos. Ello demuestra que la eficacia del Ejemplo 3 y el compuesto de referencia 1 es independiente de la región corporal o tejido investigado. Se observó un leve desvío de esta correlación para el bazo, que muestra una intensidad de señal de IRM mayor que la que se esperaría de la concentración de Gadolinio en el tejido. Ello se observó para ambos agentes de contraste y se relaciona con el volumen de sangre significativamente mayor del bazo en comparación con otros órganos y tejidos. Consecuentemente, el bazo pierde mucha de su concentración de Gadolinio por el sangrado, que, a su vez, resulta en una falta de coincidencia entre la obtención de imágenes in vivo y la determinación ex vivo de la presencia de Gadolinio. La correlación entre el cambio de señal y la concentración de Gadolinio en el tejido de todos los demás tejidos y órganos, que representa la relaxividad respectiva, depende de la eficacia del agente de contraste utilizado. Se determinó una pendiente más grande para el Ejemplo 3 (1,9) que para el compuesto de referencia 1 (1,0), que es acorde con la relaxividad mayor conocida del Ejemplo 3 (Figura 8; véanse también los datos de relaxividad descriptos en el Ejemplo A).

Ejemplo K

Estudio fantasma de la difusión de CT dinámica

De acuerdo con lo indicado en el Ejemplo A, el compuesto de referencia 4 posee una relaxividad en un rango similar a la de los compuestos de la presente invención. Luego de la inyección intravenosa, todos los GBCA monoméricos pequeños, aprobados clínicamente (gadopentetato dimeglumina, gadoterato meglumina, gadoteridol, gadodiamida, gadobutrol y gadoversetamida) se distribuyen en la sangre y en el espacio extravascular/extracelular en forma de distribución pasiva (Aime S et. al., J Magn Reson Imaging. 2009; 30, 1259-1267). Los agentes de contraste con una elevada unión a proteínas, por ejemplo gadofosveset trisódico con un período prolongado en los vasos sanguíneos causado por la unión reversible a HSA, o grandes tamaños hidrodinámicos como, por ejemplo, el compuesto de referencia 4, son obstaculizados para pasar la pared del vaso. Para obtener buenos resultados de las imágenes, se requiere una rápida difusión a través de las paredes del vaso debido a una excreción renal rápida de GBCA.

El estudio descripto de difusión CT dinámica compara la capacidad de los Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5, 6 y los compuestos de referencia 1 y 4 para pasar una membrana semipermeable (20 kDa). Se usó un dispositivo de CT clínico de 128 hileras (SOMATOM Definition, 128; Siemens Healthcare, Forchheim, Alemania) para monitorear la difusión a través de la membrana semipermeable a 100kV y 104 mA. Se realizaron

mediciones únicas a 0 min, 1 min, 2 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 45 min, 60 min, 2 h, 3 h, 5 h, 7 h, 22 h, 24 h, 30 h, 46 h y 48 h luego de la colocación de la casete de diálisis (Slide-A-Lyser, 20,000 MWCO, capacidad de 0,1-0,5 mL, Thermo Scientific, Roskilde, Dinamarca) rellenada con agente de contraste en una solución de suero bovino fetal (FBS, Sigma, F7524). Las imágenes se reconstruyeron con un espesor de corte de 2,4 mm y un núcleo de convolución B30. La concentración usada en las casetes de diálisis de los Ejemplos investigados 1, 2, 3, 4, 5, 6 y los compuestos de referencia 1 y 4 fue de 20 mmol de Gd/L.

Los resultados de las imágenes para todos los ejemplos investigados y los compuestos de referencia 1 y 4 para los puntos de tiempo 0 min y 48 h luego de la colocación de las casetes en la solución de FBS se ilustran en la Figura 9. Para los análisis de las imágenes, se dibujaron manualmente las regiones de interés en un corte ubicado en el centro para cada punto de tiempo (una región de medición representativa se indica en la Figura 9: Imagen 1A). Los resultados de las unidades Hounsfield (HU) de las regiones analizadas con respecto al tiempo se muestran en la Figura 10. Las vidas medias de difusión calculada de los Ejemplos investigados y los compuestos de referencia se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6: Vida media de la difusión a través de una membrana semipermeable (20 kDa)

Ejemplo Nro.	**Vida media de difusión (20kDa)** [h]
1	39
2	39
3	11
4	21
5	24
6	36
RC 1	2
RC 4	~90000

La Figura 10 y los datos de la vida media calculada, similares a los del Compuesto 1 de referencia (Gadovist®) y en contraste con el compuesto de referencia 4, muestran que los Ejemplos 1-6 pueden pasar la membrana semipermeable. Además, los datos de los compuestos investigados se muestran contrarios a los otros agentes de alta relaxividad, que poseen una alta unión a proteínas o tasas muy bajas de disminución (por ejemplo, el compuesto de referencia 4), muestran que los compuestos de la presente invención poseen dimensiones hidrodinámicas que pueden superar las barreras de manera oportuna. Estos hallazgos indican la capacidad de los compuestos de la invención para superar barreras como, por ejemplo, las paredes endoteliales en el sistema vascular, que es un requisito para la obtención de imágenes de todo el cuerpo.

Ejemplo L

Evaluación de efectos secundarios posibles

Ninguno de los compuestos de ejemplo investigados mostró efectos secundarios negativos, no deseados, en animales luego de la aplicación. Adicionalmente, la actividad fuera del objetivo del Ejemplo 3 se cribó en ensayos de enzimas y unión de radioligandos comerciales (LeadProfilingScreen®, Eurofins Panlabs, Taipei, Taiwán) y no reveló ningún hallazgo crítico.

Ejemplo M

IRM intensificada por contraste de tumores cerebrales en ratas

El potencial de una reducción significativa de la dosis se demostró mediante una comparación intraindividual de 0,3 mmol de Gadolinio por kilogramo de peso corporal (300 µmol Gd/ kg pc) y un protocolo de dosis baja con el uso de 0,1 mmol de Gadolinio por kilogramo de peso corporal (100 µmol Gd/kg pc). El compuesto de referencia 1 (Gadovist®), como representante aprobado de los agentes de contraste de IRM basados en Gadolinio, se usó en ambos protocolos de dosis (0,3 mmol de Gd/kg pc y 0,1 mmol de Gd/kg pc) y se comparó con el Ejemplo 3 (0,1 mmol de Gd/ kg pc).

Se dejaron crecer líneas celulares GS9L (Colección europea de cultivos celulares, Cancer Res 1990;50:138-141; J Neurosurg

1971;34:335) en un medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM, GlutaMAX™, Ref: 31966-021, Gibco) complementado con 10% de suero bovino fetal (FBS, Sigma F75249) y 1% de Penicilina-estreptomicina (10.000 unidades/mL, Gibco). El estudio se realizó con ratas macho Fisher (F344, peso 170-240 g, n=4, Charles River Kisslegg). Se realizó una inoculación bajo anestesia con ketamina/xilazina con el uso de una inyección intramuscular ajustada al peso corporal de una mezcla (1+2) de clorhidrato de xilazin (20 mg/mL, Rompun 2%, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) y clorhidrato de ketamina (100 mg/mL, Ketavet, Pfizer, Pharmacia GmbH, Berlin) con el uso de 1 mL/kg de peso corporal. Para la implantación intracerebral ortotópica, los animales anestesiados se fijaron en un aparato estereotáctico y se inyectaron lentamente en el cerebro células 1,0E+06 GS9L suspendidas en un volumen de medio de 5 µl con el uso de una jeringa Hamilton.

El estudio de IRM de contraste intensificado se realizó en un escáner clínico 1,5T (Magnetom Avanto, Siemens Healthcare, Erlangen, Alemania). Se usó una bobina para cabeza de rata (bobina y sostén de animales para ratas, RAPID Biomedical GmbH) para la adquisición de datos. Las ratas se anestesiaron con el uso de una mezcla de isoflurano (2,25 %), gas de oxígeno (aprox. 0,5 L/min) y óxido nitroso (flujo aproximadamente 1 L/min). La obtención de imágenes de RM se realizó con el uso de una secuencia de turbo-spin eco 3D (12 cortes de 1 mm en un bloque 3 D, campo visual: 80 mm (33% de sobremuestreo), tiempo de

repetición: 500 milisegundos, tiempo de eco 19 milisegundos, resolución espacial: 0,3x0,3x1,0 mm). Los animales se sometieron a la obtención de imágenes dos días consecutivos. El primer día, se compararon individualmente el compuesto de referencia 1 (Gadovist®) y el Ejemplo 3 con la misma dosis de 0,1 mmol de Gd/kg pc, que es comparable con la dosis estándar humana. El segundo día, el compuesto de referencia 1 (Gadovist®) a 0,3 mmol de Gd/kg pc, que es comparable con la dosis triple humana (aprobada clínicamente en ciertas indicaciones para el sistema nervioso central), se comparó con la dosis estándar del Ejemplo 3 (0,1 mmol de Gd/kg pc). Las imágenes de RM resultantes de los tumores de cerebros de rata GS9L se ilustran en la Figura 11: (A) *Comparación intraindividual del compuesto de referencia 1 (Gadovist®) y el Ejemplo 3 a la misma dosis de 0,1 mmol de Gd/kg de peso corporal (pc).* El Ejemplo 3 mostró a la misma dosis un mayor contraste de lesión respecto del cerebro y una excelente demarcación del borde del tumor. (B) Comparación del compuesto de referencia 1 (Gadovist®) a 0,3 mmol de Gd/kg pc (triple dosis) y el Ejemplo 3 a 0,1 mmol de Gd/kw pc (dosis estándar). El Ejemplo 3 mostró un contraste similar de lesión respecto del cerebro con un tercio de la dosis del compuesto de referencia 1.