

COMPUESTOS QUELANTES MULTIMÉRICOS PARA USO EN RADIOTERAPIA DIRIGIDA

La presente invención se relaciona con nuevos agentes quelantes para radionúclidos emisores de partículas alfa, como se describe y se define en este documento, métodos para preparar dichos compuestos, compuestos intermediarios útiles para la preparación de dichos compuestos, composiciones farmacéuticas y combinaciones que comprenden dichos compuestos, y el uso de dichos compuestos para la fabricación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades, en particular, de trastornos hiperplásicos o neoplásicos, como agentes únicos o en combinación con otros ingredientes activos.

10 ANTECEDENTES.

La muerte celular específica puede ser esencial para el tratamiento exitoso de una diversidad de enfermedades en sujetos mamíferos. Ejemplos típicos de esto se encuentran en el tratamiento de enfermedades malignas tales como sarcomas y carcinomas. Sin embargo, la eliminación selectiva de ciertos tipos de células también puede jugar un rol clave en el tratamiento de otras enfermedades, especialmente enfermedades hiperplásicas y neoplásicas.

Actualmente, los métodos más comunes de tratamiento selectivo son la cirugía, la quimioterapia y la irradiación externa. Sin embargo, la terapia con radionúclidos dirigidos es un área prometedora y en desarrollo, con el potencial de suministrar radiación altamente citotóxica específicamente a los tipos de células asociadas con la enfermedad. Las formas más comunes de agentes radiofarmacéuticos actualmente autorizados para el uso en humanos emplean radionúclidos emisores beta y/o emisores gamma. Sin embargo, ha habido cierto interés en el uso de radionúclidos emisores alfa en la terapia, debido a su potencial de muerte celular de manera más específica. El rango de radiación de los emisores alfa típicos en un entorno fisiológico es generalmente inferior a 100 micrómetros, el equivalente de solo algunos diámetros de células. Esto hace que estas fuentes sean muy adecuadas para el tratamiento de tumores, incluidas las micrometástasis, porque tienen el rango para alcanzar las células vecinas dentro de un tumor, pero si están bien dirigidas, poca de la energía irradiada pasará más allá de las células objetivo. Por lo tanto, no es necesario dirigirse a todas las células, pero se puede minimizar el daño al tejido sano circundante (ver Feinendegen et al., Radiat Res 148: 195–201 (1997)). Por el contrario, una partícula beta tiene un rango de 1 mm o más en agua (ver Wilbur, Antibody Immunocon Radiopharm 4: 85–96 (1991)).

La energía de la radiación de partículas alfa es alta en comparación con la que transportan las partículas beta, los rayos gamma y los rayos X, siendo típicamente de 5 a 8 MeV, o de 5 a 10 veces la de una partícula beta y 20 o más veces la energía de un rayo gama. Por lo tanto, esta

deposición de una gran cantidad de energía en una distancia muy corta le da a la radiación α una transferencia de energía lineal (LET) excepcionalmente alta, una eficacia biológica relativa (RBE) alta y una relación de aumento de oxígeno (OER) baja en comparación con la radiación gamma y beta (ver Hall, "Radiobiology for the radiologist", Quinta edición, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA, USA, 2000). Esto explica la citotoxicidad excepcional de los radionúclidos emisores alfa, y también impone exigencias estrictas sobre el direccionamiento biológico de dichos isótopos y sobre el nivel de control y estudio de la distribución de radionúclidos emisores alfa que es necesario para evitar efectos secundarios inaceptables.

Varios emisores alfa, tales como Terbio-149 (^{149}Tb), Astatina-211 (^{211}At), Bismuto-212 (^{212}Bi), Bismuto-213 (^{213}Bi), Actinio-225 (^{225}Ac), Radio-223 (^{223}Ra), Radio-224 (^{224}Ra), o Torio-227 (^{227}Th), han sido investigados y/o comercializados para el uso como agentes radiofarmacéuticos. En particular, el uso de agentes radiofarmacéuticos "dirigidos a tejidos" ha significado que el núcleo radiactivo se puede suministrar a la célula objetivo (por ejemplo, una célula cancerosa) con una precisión mejorada, de modo de minimizar así el daño no deseado al tejido circundante y, por lo tanto, minimizar los efectos secundarios. Los agentes radiofarmacéuticos dirigidos a tejidos suelen ser conjugados en los que el resto radiofarmacéutico está unido a una unidad de direccionamiento, por ejemplo, a través de un quelante. La unidad de direccionamiento (por ejemplo, un anticuerpo) guía el agente radiofarmacéutico a la célula deseada (dirigiéndose a un antígeno particular en una célula cancerosa, por ejemplo), de modo que la radiación alfa pueda suministrarse muy cerca del objetivo. Una pequeña cantidad de elementos se pueden considerar "autodirigidos" debido a sus propiedades inherentes. El radio, por ejemplo, es un análogo del calcio y se dirige a las superficies óseas por esta naturaleza inherente; sin embargo, su utilidad está limitada por la escasez de agentes quelantes que acomplejan eficazmente el radio con una estabilidad suficientemente alta para ser útil *in vivo* cuando se conjuga con ligandos objetivo. Henriksen et al. [Applied Radiation and Isotopes 56, 2002, 667] informó sobre las propiedades cinéticas y termodinámicas de los agentes quelantes DOTA, DTPA, kryptofix 2.2.2 y el ácido calix[4]-tetraacético, este último con las mejores propiedades. Sin embargo, la rápida disociación del complejo indicó que estos sistemas quelantes monoméricos no serían útiles *in vivo* debido a la escasa estabilidad.

Más recientemente, Thiele et al. informaron sobre el quelante macropa que tiene la mayor afinidad por Ba^{2+} a pH 7,4 [J Am Chem Soc 2018, 140 (49) 17071]. Este ligando parecía poseer también una excelente selectividad para los metales alcalinotérreos grandes frente a los pequeños. Los mismos autores han presentado posteriormente (EANM, 2019) un trabajo que demuestra que este quelante en alta concentración, de hecho, forma un complejo con radio-223 en concentraciones de quelante en el rango milimolar. Desafortunadamente, todos los

intentos por marcar conjugados que comprendían macropa unido covalentemente a un ligando objetivo en las concentraciones útiles para la terapia alfa dirigida fracasaron debido a la poca inestabilidad de los complejos de los derivados mono–quelante–conjugado.

5 Sin embargo, el estado de la técnica no describe multímeros de macropa que tengan suficiente estabilidad para ser útiles en la terapia alfa dirigida. Ahora se ha encontrado, y esto constituye la base de la presente invención, que los compuestos de la presente invención tienen propiedades sorprendentes y ventajosas.

10 En particular, los compuestos de la presente invención tienen suficiente estabilidad para ser útiles en la terapia alfa dirigida, ya que múltiples interacciones de quelantes entre átomos donantes contribuyen a la estabilización del complejo en el rango de concentración que permite la terapia alfa dirigida.

Curiosamente, los multímeros poseen propiedades beneficiosas en términos de adaptación de las propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas de los conjugados objetivo de esta invención. En particular, se encontró que los conjugados tenían una absorción ósea reducida, 15 lo que resultó en una mielosupresión reducida en modelos de roedores, lo que llevó a una mejora sorprendente en la sobrevida.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION.

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

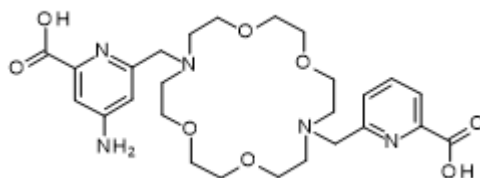


donde C es un quelante y $n > 1$, L es un resto enlazador multifuncional que comprende múltiples grupos funcionales para la unión covalente de un quelante, tal como un esqueleto que contiene poliamina o poliácido o un polímero que contiene aminoácidos que comprende cadenas laterales con restos amino, tiol o ácido carboxílico tales como lisina, cisteína o ácido glutámico, 25 y V es un resto dirigido a tejidos donde $m = 1-5$ que se acopla preferentemente a través de un resto de acoplamiento o bien al resto enlazador multifuncional L, o directamente al resto quelante C, y estereoisómeros, tautómeros, N–óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

Los n preferidos de la fórmula general (I) son 2, 4, 8, 16 y 32.

30 Se conocen quelantes capaces de acomplejar un metal, donde dicho metal es un isótopo radiactivo definido en este documento. Se pueden encontrar ejemplos no limitativos de quelantes en Q J Nucl Med Mol Imaging, 2008 junio; 52 (2); 166–173.

En una primera forma de realización del primer aspecto, C es el agente quelante macrocíclico macropa–NH₂a continuación:

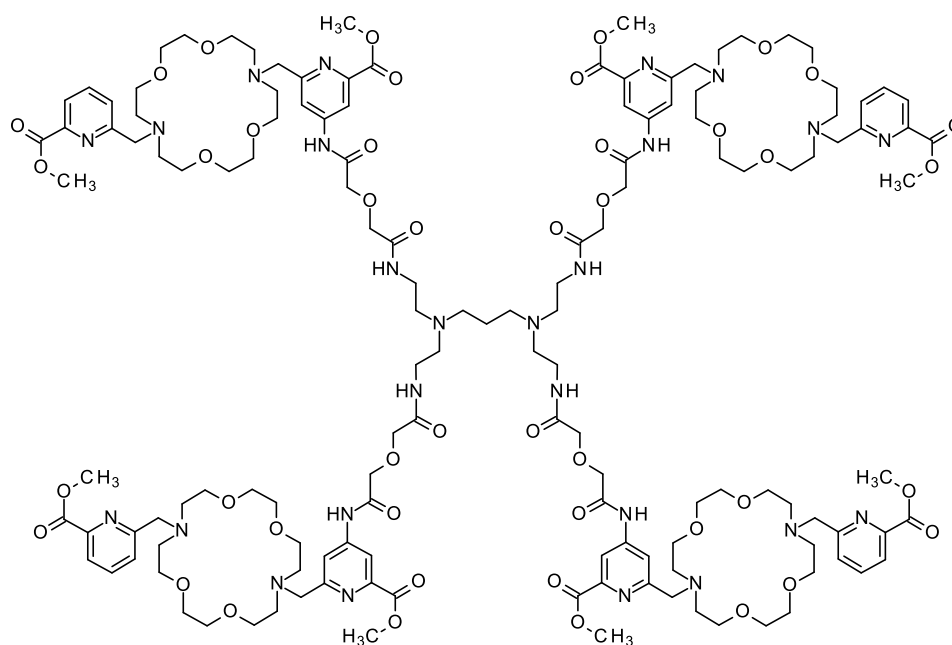


5

donde o bien el grupo sustituyente amino o los grupos ácido carboxílico se usan para formar enlaces amida con L o V.

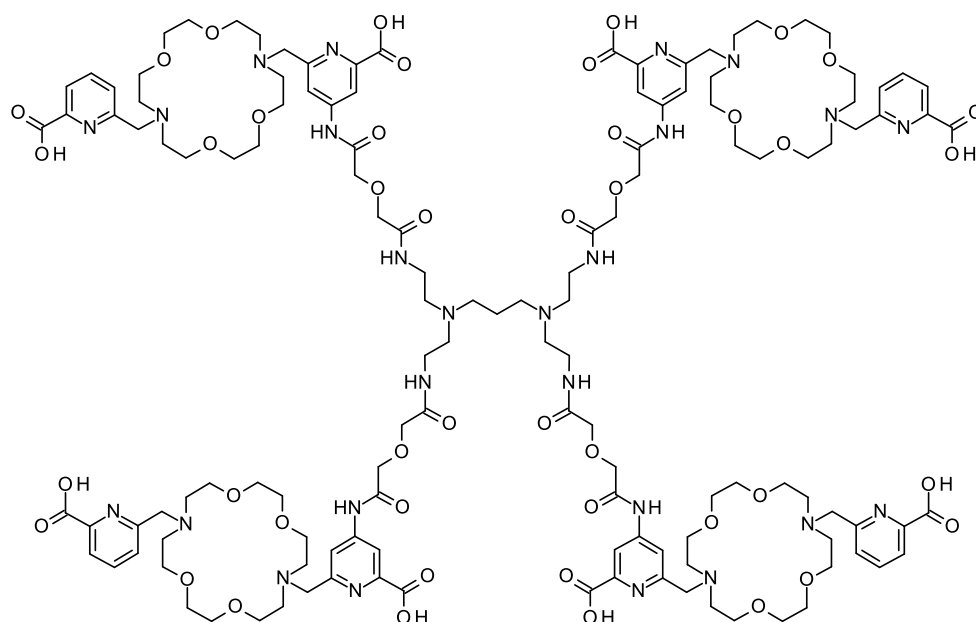
En una forma de realización, el compuesto (Tet1) comprende 4 unidades macropa unidas a través de un esqueleto de tetraamino modificado con el espaciador de ácido diglicólico:

10



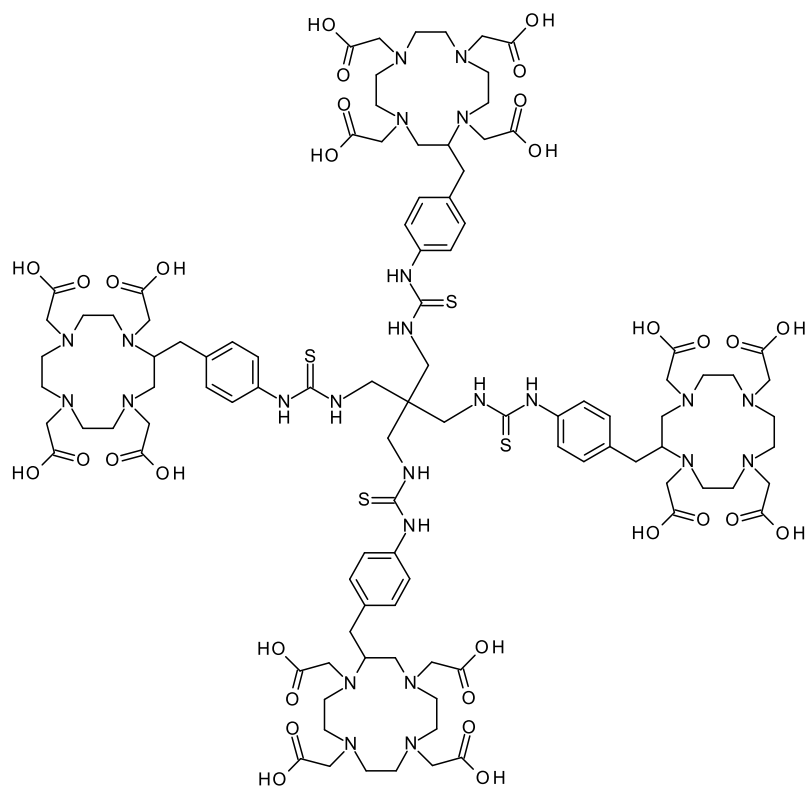
Tet1

En otra forma de realización, las funciones éster del compuesto Tet1 se hidrolizan para producir Compuesto Tet2. Este compuesto tetra–macropa tiene 8 grupos ácido carboxílico que se pueden utilizar para la conjugación adicional del agente quelante con un resto de direccionamiento a través de la formación de enlaces de amida. En una forma de realización preferida, este agente de direccionamiento es un anticuerpo monoclonal.



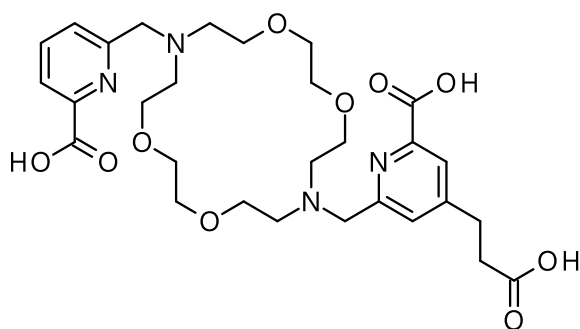
Tet2

- 5 En otra forma de realización, el quelante DOTA se usa para preparar compuestos multiméricos, tales como, p. ej., tetra-DOTA como se describe a continuación, donde dichos compuestos se pueden utilizar para la conjugación adicional con un resto de direccionamiento. Debería ser evidente para un experto en la técnica lo que constituye un radiometal adecuado para la formación de complejos con el quelante DOTA, p. ej., Y-90, Lu-177, Ac-225, Th-227,
- 10 Bi-212, Bi-213.



Tetra DOTA

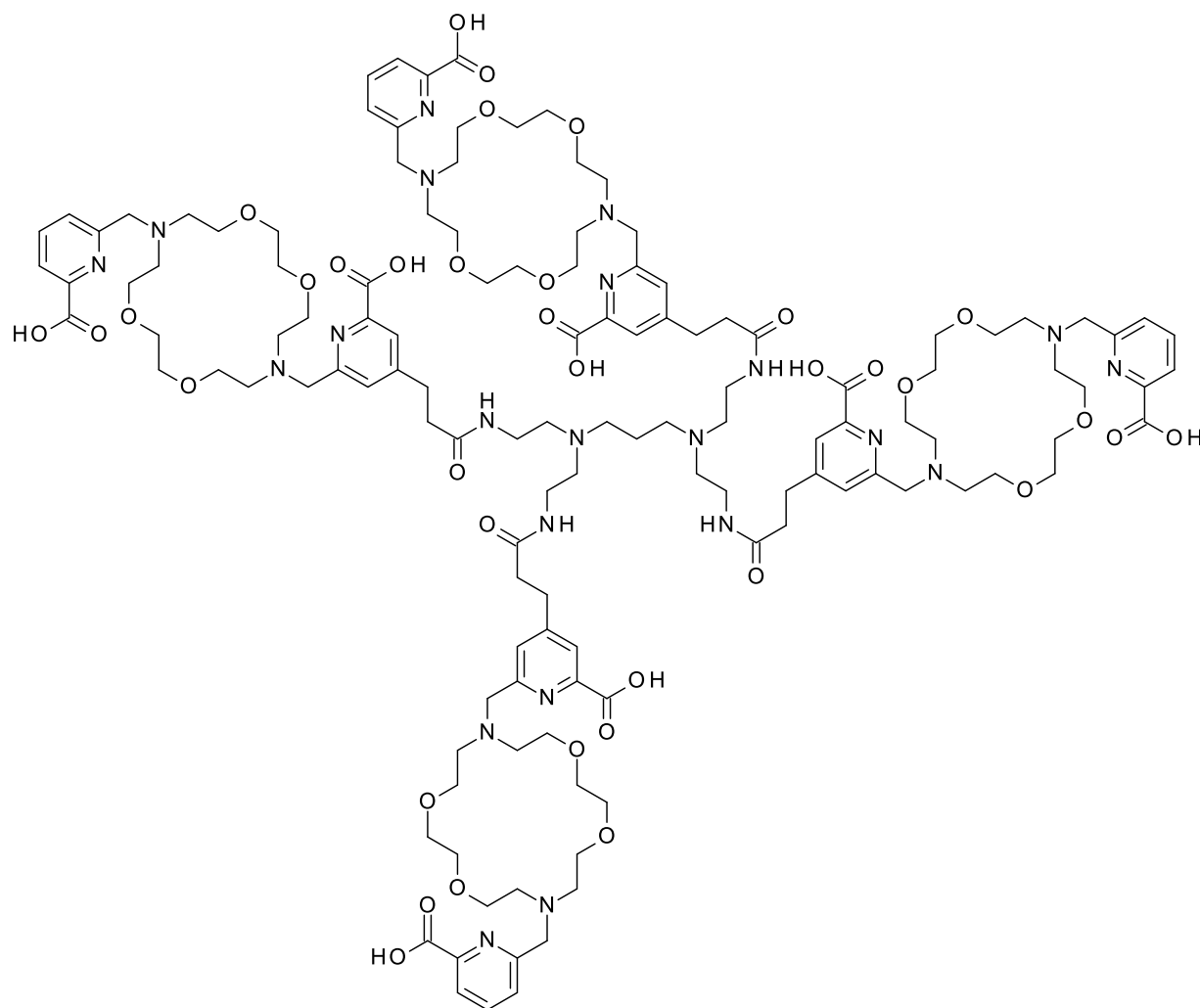
- En una segunda forma de realización del primer aspecto, C es el agente quelante
 5 macrocíclico macropa- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-COOH}$ a continuación:



en el que los grupos ácido carboxílico se usan para formar enlaces de amida o bien con L o V.

10

En una forma de realización preferida, el quelante se une al esqueleto multiamina a través de un enlazador de carboxietilo, que se une a la piridina del quelante, como se muestra a continuación para Tet5.



Tet5

DEFINICIONES.

- Como se usa aquí, el término "resto enlazador" se usa para indicar una entidad química que sirve para unir los grupos quelantes a la estructura central, que forman un componente clave en diversos aspectos de la invención. Típicamente, cada resto quelante (p. ej., los de la fórmula I anterior) será multidentado y poseerá una selectividad relativamente buena para los isótopos de radio. Sin embargo, solo cuando se combinan en complejos multiméricos logramos una estabilidad aceptable para el uso de radioterapia dirigida *in vivo*. Los restos enlazadores también pueden servir como punto de unión entre la parte acomplejante y el resto de direccionamiento. En tal caso, por lo menos un resto enlazador se unirá a un resto de acoplamiento. Los restos enlazadores adecuados incluyen grupos hidrocarbilo cortos, tales como hidrocarbilo C1 a C12, incluidos grupos alquilo, alquenilo o alquinilo C1 a C12, incluidos grupos metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo y/o hexilo de todas las topologías.
- Los restos enlazadores también pueden ser o comprender cualquier otra unión química adecuadamente robusta, incluidos ésteres, éteres, grupos amina y/o amida. El número total de átomos que unen dos restos quelantes (contando por el camino más corto si existe más de

un camino) generalmente será limitado, de modo de restringir los restos quelantes en una disposición adecuada para la formación de complejos. Por lo tanto, los restos enlazadores se elegirán típicamente para proporcionar no más de 25 átomos entre los restos quelantes, preferentemente de 1 a 15 átomos y más preferentemente de 5 a 15 átomos entre los restos

5 quelantes. Cuando un resto enlazador se une directamente a dos restos quelantes, el enlazador tendrá típicamente una longitud de 1 a 12 átomos, preferentemente de 2 a 10 (tal como etilo, propilo, n-butilo, etc.). Cuando el resto enlazador se une a un esqueleto central, entonces cada enlazador puede ser más corto, con dos enlazadores separados que unen los restos quelantes. En este caso puede preferirse una longitud de enlazador de 1 a 8 átomos,

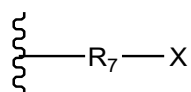
10 preferentemente de 1 a 6 átomos (siendo adecuados metilo, etilo y propilo, así como grupos tales como estos que tienen una unión éster, éter o amida en un extremo o en ambos).

Un "resto de acoplamiento" como se usa en el presente documento sirve para unir el componente enlazador o quelante al resto de direccionamiento a través de la formación de un

15 enlace covalente estable tal como un enlace de amida. Preferentemente, los restos de acoplamiento estarán presentes en el quelante, lo que permitirá la unión covalente directa al resto de direccionamiento o, más típicamente, facilitará la unión a través del resto enlazador o el esqueleto. Si se utilizan dos o más restos de acoplamiento, cada uno puede unirse a cualquiera de los sitios disponibles, tal como en cualquier esqueleto, enlazador o grupo

20 quelante.

En una forma de realización, el resto de acoplamiento puede tener la estructura:



donde R_7 es un resto de puente, que es un miembro seleccionado de alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido y heteroarilo sustituido o no sustituido; y X es un grupo funcional reactivo. Los restos de puente preferidos incluyen todos los grupos indicados en el presente documento como restos enlazadores adecuados. Los restos de direccionamiento preferidos incluyen todos los descriptos aquí, y los grupos X reactivos preferidos incluyen cualquier

25 grupo capaz de formar una unión covalente con un resto de direccionamiento, incluidos, por ejemplo, los grupos COOH, OH, SH, NHR y COH, donde el R de NHR puede ser H o cualquiera de los grupos hidrocarbilo cortos descriptos en este documento. Los grupos altamente preferidos para unirse al resto de direccionamiento incluyen épsilon-aminas de residuos lisina, y grupos tiol de residuos de cisteína. Los ejemplos no limitantes de grupos X

30 reactivos adecuados incluyen N-hidroxisuccimidilésteres, imidoésteres, acilhaluros, N-maleimidas, alfa-haloacetilo e isotiocianatos, donde los últimos tres son adecuados para la

35

reacción con un grupo tiol. La conjugación del componente quelante–enlazador de la invención con el resto de direccionamiento a través de la formación de enlaces covalentes se puede lograr utilizando la "química de clic" como se describe en Chem. Rev., 2013, 113, 7, 4905–4979.

5

El término "sustituido" significa que uno o más átomos de hidrógeno en el átomo o grupo designado se reemplazan con una selección del grupo indicado, siempre que no se exceda la valencia normal del átomo designado en las circunstancias existentes. Se permiten combinaciones de sustituyentes y/o variables.

10

El término "opcionalmente sustituido" significa que el número de sustituyentes puede ser igual o diferente a cero. A menos que se indique lo contrario, es posible que los grupos opcionalmente sustituidos se sustituyan con tantos sustituyentes opcionales como se puedan acomodar mediante el reemplazo de un átomo de hidrógeno con un sustituyente no hidrógeno en cualquier átomo de carbono, nitrógeno o azufre disponible. Comúnmente, es posible que el número de sustituyentes opcionales, cuando están presentes, sea 1, 2, 3, 4 o 5, en particular 1, 2 o 3.

15

Como se usa en este documento, el término "uno o más", p. ej., en la definición de los sustituyentes de los compuestos de fórmula general (I) de la presente invención, significa "1, 2, 3, 4 o 5, en particular, 1, 2, 3 o 4, más en particular, 1, 2 o 3, incluso más en particular 1 o 2".

20

Cuando los grupos en los compuestos de acuerdo con la invención están sustituidos, es posible que dichos grupos estén monosustituidos o polisustituidos con sustituyentes, a menos que se especifique lo contrario. Dentro del alcance de la presente invención, los significados de todos los grupos que aparecen repetidamente son independientes entre sí. Es posible que los grupos en los compuestos de acuerdo con la invención estén sustituidos con uno, dos o tres sustituyentes idénticos o diferentes, en particular, con un sustituyente.

25

Como se usa aquí, un "sustituyente oxo" representa un átomo de oxígeno, que está unido a un átomo de carbono o a un átomo de azufre a través de un doble enlace.

El término "sustituyente del anillo" significa un sustituyente unido a un anillo aromático o no aromático que reemplaza un átomo de hidrógeno disponible en el anillo.

30

El término "que comprende" cuando se usa en la memoria descriptiva incluye "que consiste en". Si en el presente texto se hace referencia a cualquier elemento como "como se menciona en el presente documento", esto significa que puede mencionarse en cualquier parte del presente texto.

Los términos mencionados en el presente texto tienen los siguientes significados:

El término "átomo de halógeno" significa un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo, en particular, un átomo de flúor, cloro o bromo.

El término "C₁–C₆–alquilo" significa un grupo hidrocarburo monovalente, saturado, lineal o ramificado que tiene 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono, p. ej., un grupo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*–butilo, isobutilo, *ter*–butilo, pentilo, isopentilo, 2–metilbutilo, 1–metilbutilo, 1–etilpropilo, 1,2–dimetilpropilo, *neo*–pentilo, 1,1–dimetilpropilo, hexilo, 1–metilpentilo, 2–metilpentilo, 3–metilpentilo, 4–metilpentilo, 1–etilbutilo, 2–etilbutilo, 1,1–dimetilbutilo, 2,2–dimetilbutilo, 3,3–dimetilbutilo, 2,3–dimetilbutilo, 1,2–dimetilbutilo o 1,3–dimetilbutilo, o uno de sus isómeros. En particular, dicho grupo tiene 1, 2, 3 o 4 átomos de carbono ("C₁–C₄–alquilo"), p. ej., un grupo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*–butilo isobutilo, o *ter*–butilo, más en particular, 1, 2 o 3 átomos de carbono ("C₁–C₃–alquilo"), p. ej., un grupo metilo, etilo, *n*–propilo o isopropilo.

El término "C₁–C₆–hidroxialquilo" significa un grupo hidrocarburo monovalente, saturado, lineal o ramificado en el cual el término "C₁–C₆–alquilo" se define *supra*, y en el cual 1, 2 o 3 átomos de hidrógeno están reemplazados con un grupo hidroxilo, p. ej., un grupo hidroximetilo, 1–hidroxietilo, 2–hidroxietilo, 1,2–dihidroxietilo, 3–hidroxipropilo, 2–hidroxipropilo, 1–hidroxipropilo, 1–hidroxipropan–2–ilo, 2–hidroxipropan–2–ilo, 2,3–dihidroxipropilo, 1,3–dihidroxipropan–2–ilo, 3–hidroxio–2–metil–propilo, 2–hidroxio–2–metil–propilo, 1–hidroxio–2–metil–propilo.

El término "C₁–C₆–alquilosulfanilo" significa un grupo monovalente saturado, lineal o ramificado de la fórmula (C₁–C₆–alquilo)–S–, en el cual el término "C₁–C₆–alquilo" es como se define *supra*, p. ej., un grupo metilsulfanilo, etilsulfanilo, propilsulfanilo, isopropilsulfanilo, butilsulfanilo, *sec*–butilsulfanilo, isobutilsulfanilo, *ter*–butilsulfanilo, pentilsulfanilo, isopentilsulfanilo, hexilsulfanilo.

El término "C₁–C₆–haloalquilo" significa un grupo hidrocarburo monovalente, saturado, lineal o ramificado en el cual el término "C₁–C₆–alquilo" es como se define *supra*, y en el cual uno o más de los átomos de hidrógeno están reemplazados, de manera idéntica o diferente, con un átomo de halógeno. En particular, dicho átomo de halógeno es un átomo de flúor. Dicho grupo C₁–C₆–haloalquilo es, por ejemplo, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, 2–fluoroetilo, 2,2–difluoroetilo, 2,2,2–trifluoroetilo, pentafluoroetilo, 3,3,3–trifluoropropilo o 1,3–difluoropropan–2–ilo.

El término "C₁–C₆–alcoxi" significa un grupo monovalente saturado, lineal o ramificado de la fórmula (C₁–C₆–alquilo)–O–, en el cual el término "C₁–C₆–alquilo" es como se define *supra*, p. ej., un grupo metoxi, etoxi, *n*–propoxi, isopropoxi, *n*–butoxi, *sec*–butoxi, isobutoxi, *ter*–butoxi, pentiloxi, isopentiloxi o *n*–hexiloxi, o uno de sus isómeros.

El término "C₁-C₆-haloalcoxi" significa un grupo C₁-C₆-alcoxi lineal o ramificado, saturado, monovalente, como se define *supra*, en el cual uno o más de los átomos de hidrógeno son reemplazados, de manera idéntica o diferente, con un átomo de halógeno. En particular, dicho átomo de halógeno es un átomo de flúor. Dicho grupo C₁-C₆-haloalcoxi es, por ejemplo, fluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometoxi, 2,2,2-trifluoroetoxi o pentafluoroetoxi.

El término "C₂-C₆-alquenilo" significa un grupo hidrocarburo monovalente lineal o ramificado, que contiene uno o dos enlaces dobles, y que tiene 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono, en particular 2 o 3 átomos de carbono ("C₂-C₃-alquenilo"), donde se entiende que, en el caso en el cual dicho grupo alquenilo contiene más de un enlace doble, entonces es posible que dichos enlaces dobles estén aislados entre sí, o conjugados entre sí. Dicho grupo alquenilo es, por ejemplo, un grupo etenilo (o "vinilo"), prop-2-en-1-ilo (o "alilo"), prop-1-en-1-ilo, but-3-enilo, but-2-enilo, but-1-enilo, pent-4-enilo, pent-3-enilo, pent-2-enilo, pent-1-enilo, hex-5-enilo, hex-4-enilo, hex-3-enilo, hex-2-enilo, hex-1-enilo, prop-1-en-2-ilo (o "isopropenilo"), 2-metilprop-2-enilo, 1-metilprop-2-enilo, 2-metilprop-1-enilo, 1-metilprop-1-enilo, 3-metilbut-3-enilo, 2-metilbut-3-enilo, 1-metilbut-3-enilo, 3-metilbut-2-enilo, 2-metilbut-2-enilo, 1-metilbut-2-enilo, 3-metilbut-1-enilo, 2-metilbut-1-enilo, 1-metilbut-1-enilo, 1,1-dimetilprop-2-enilo, 1-etilprop-1-enilo, 1-propilvinilo, 1-isopropilvinilo, 4-metilpent-4-enilo, 3-metilpent-4-enilo, 2-metilpent-4-enilo, 1-metilpent-4-enilo, 4-metilpent-3-enilo, 3-metilpent-3-enilo, 2-metilpent-3-enilo, 1-metilpent-3-enilo, 4-metilpent-2-enilo, 3-metilpent-2-enilo, 2-metilpent-2-enilo, 1-metilpent-2-enilo, 4-metilpent-1-enilo, 3-metilpent-1-enilo, 2-metilpent-1-enilo, 1-metilpent-1-enilo, 3-etilbut-3-enilo, 2-etilbut-3-enilo, 1-etilbut-3-enilo, 3-etilbut-2-enilo, 2-etilbut-2-enilo, 1-etilbut-2-enilo, 3-etilbut-1-enilo, 2-etilbut-1-enilo, 1-etilbut-1-enilo, 2-propilprop-2-enilo, 1-propilprop-2-enilo, 2-isopropilprop-2-enilo, 1-isopropilprop-2-enilo, 2-propilprop-1-enilo, 1-propilprop-1-enilo, 2-isopropilprop-1-enilo, 1-isopropilprop-1-enilo, 3,3-dimetilprop-1-enilo, 1-(1,1-dimetiletil)etenilo, buta-1,3-dienilo, penta-1,4-dienilo o hexa-1,5-dienilo. En particular, dicho grupo es vinilo o alilo.

El término "C₂-C₆-alquinilo" significa un grupo hidrocarburo monovalente lineal o ramificado que contiene uno triple enlace, y que contiene 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono, en particular 2 o 3 átomos de carbono ("C₂-C₃-alquinilo"). Dicho grupo C₂-C₆-alquinilo es, por ejemplo, grupo etinilo, prop-1-inilo, prop-2-inilo (o "propargilo"), but-1-inilo, but-2-inilo, but-3-inilo, pent-1-inilo, pent-2-inilo, pent-3-inilo, pent-4-inilo, hex-1-inilo, hex-2-inilo, hex-3-inilo, hex-4-inilo, hex-5-inilo, 1-metilprop-2-inilo, 2-metilbut-3-inilo, 1-metilbut-3-inilo, 1-metilbut-2-inilo, 3-metilbut-1-inilo, 1-etilprop-2-inilo, 3-metilpent-4-inilo, 2-metilpent-4-inilo, 1-metilpent-4-inilo, 2-metilpent-3-inilo, 1-metilpent-3-inilo, 4-metilpent-2-inilo, 1-metilpent-2-inilo, 4-metilpent-1-inilo, 3-metilpent-1-inilo, 2-etilbut-3-inilo, 1-etilbut-3-inilo, 1-etilbut-2-inilo, 1-

propilprop-2-inilo, 1-isopropilprop-2-inilo, 2,2-dimetilbut-3-inilo, 1,1-dimetilbut-3-inilo, 1,1-dimetilbut-2-inilo o 3,3-dimetilbut-1-inilo.

El término "C₃-C₈-cicloalquilo" significa un anillo hidrocarburo saturado, monovalente, mono- o bicíclico que contiene 3, 4, 5, 6, 7 o 8 átomos de carbono ("C₃-C₈-cicloalquilo"). Dicho grupo

5 C₃-C₈-cicloalquilo es, por ejemplo, un anillo hidrocarburo monocíclico, p. ej. un anillo hidrocarburo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctilo, o un anillo hidrocarburo bicíclico, p. ej., un biciclo[4.2.0]octilo u octahidropentalenilo.

El término "C₄-C₈-cicloalquenilo" significa un anillo hidrocarburo monovalente, mono- o bicíclico que contiene 4, 5, 6, 7 o 8 átomos de carbono y un doble enlace. En particular, dicho

10 anillo contiene 4, 5 o 6 átomos de carbono ("C₄-C₆-cicloalquenilo"). Dicho grupo C₄-C₈-cicloalquenilo es, por ejemplo, un anillo hidrocarburo monocíclico, p. ej., un ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo o ciclooctenilo, o un anillo hidrocarburo bicíclico, p. ej., un biciclo[2.2.1]hept-2-enilo o biciclo[2.2.2]oct-2-enilo.

El término "C₃-C₈-cicloalcoxi" significa un grupo saturado, monovalente, mono- o bicíclico de

15 la fórmula (C₃-C₈-cicloalquilo)-O-, que contiene 3, 4, 5, 6, 7 o 8 átomos de carbono, en el cual el término "C₃-C₈-cicloalquilo" se define *supra*, p. ej., un grupo ciclopropiloxi, ciclobutiloxi, ciclopentiloxi, ciclohexiloxi, cicloheptiloxi o ciclooctiloxi.

El término "espirocicloalquilo" significa un grupo hidrocarburo saturado, monovalente bicíclico, en el cual los dos anillos comparte un átomo de carbono de anillo común, y donde dicho grupo

20 hidrocarburo bicíclico contiene 5, 6, 7, 8, 9, 10 o 11 átomos de carbono, donde es posible que dicho grupo espirocicloalquilo esté unido al resto de la molécula a través de uno de los átomos de carbono excepto el átomo de carbono espiro. Dicho grupo espirocicloalquilo es, por ejemplo, espiro[2.2]pentilo, espiro[2.3]hexilo, espiro[2.4]heptilo, espiro[2.5]octilo, espiro[2.6]nonilo, espiro[3.3]heptilo, espiro[3.4]octilo, espiro[3.5]nonilo, espiro[3.6]decilo, espiro[4.4]nonilo, 25 espiro[4.5]decilo, espiro[4.6]undecilo o espiro[5.5]undecilo.

Los términos "heterocicloalquilo de 4 a 7 miembros" y "heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros" significan un heterociclo saturado monocíclico con 4, 5, 6 o 7 o, respectivamente, 4, 5 o 6 átomos en el anillo en total, que contiene uno o dos heteroátomos anulares iguales o diferentes de la serie N, O y S, donde dicho grupo heterocicloalquilo puede estar unido al resto de la

30 molécula a través de cualquiera de los átomos de carbono o, si está presente, un átomo de nitrógeno.

Dicho grupo heterocicloalquilo, sin limitación, puede ser un anillo de 4 miembros tal como azetidino, oxetanilo o tietanilo, por ejemplo; o un anillo de 5 miembros, tal como tetrahidrofurano, 1,3-dioxolanilo, tianilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, 1,1- 35 dioxidotianilo, 1,2-oxazolidinilo, 1,3-oxazolidinilo o 1,3-tiazolidinilo, por ejemplo; o un anillo

de 6 miembros, tal como tetrahidropiraniilo, tetrahidrotiopiraniilo, piperidinilo, morfolinilo, ditianiilo, tiomorfolinilo, piperazinilo, 1,3-dioxaniilo, 1,4-dioxaniilo o 1,2-oxaziniilo, por ejemplo, o un anillo de 7 miembros, tal como azepaniilo, 1,4-diazepaniilo o 1,4-oxazepaniilo, por ejemplo.

Particularmente, "heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros" significa un heterocicloalquilo de 4 a 6 miembros como se define anteriormente que contiene un átomo de nitrógeno en el anillo y opcionalmente otro heteroátomo en el anillo de la serie: N, O, S. Más en particular, "heterocicloalquilo de 5 o 6 miembros" significa un heterociclo saturado monocíclico con 5 o 6 átomos en el anillo en total, que contiene un átomo de nitrógeno en el anillo y opcionalmente otro heteroátomo en el anillo de la serie: N, O.

El término "heterocicloalqueno de 5 a 8 miembros" significa un heterociclo monocíclico, insaturado, no aromático con 5, 6, 7 u 8 átomos en el anillo en total, que contiene uno o dos enlaces dobles y uno o dos heteroátomos en el anillo idénticos o diferentes de la serie: N, O, S; donde es posible que dicho grupo heterocicloalqueno esté unido al resto de la molécula a través de cualquiera de los átomos de carbono o, si está presente, de un átomo de nitrógeno.

Dicho grupo heterocicloalqueno es, por ejemplo, 4H-piraniilo, 2H-piraniilo, 2,5-dihidro-1H-pirrolilo, [1,3]dioxolilo, 4H-[1,3,4]tiadiaziniilo, 2,5-dihidrofuranilo, 2,3-dihidrofuranilo, 2,5-dihidrotiofenilo, 2,3-dihidrotiofenilo, 4,5-dihidrooxazolilo o 4H-[1,4]tiaziniilo.

El término "heteroespirocicloalquilo" significa un heterociclo saturado bicíclico con 6, 7, 8, 9, 10 u 11 átomos en el anillo en total, en el que los dos anillos comparten un átomo de carbono común en el anillo, cuyo "heteroespirocicloalquilo" contiene uno o dos heteroátomos idénticos o diferentes de anillo de la serie: N, O, S; donde es posible que dicho grupo heteroespirocicloalquilo esté unido al resto de la molécula a través de cualquiera de los átomos de carbono, excepto el átomo de carbono espiro, o, si está presente, un átomo de nitrógeno.

Dicho grupo heteroespirocicloalquilo es, por ejemplo, azaspiro[2.3]hexilo, azaspiro[3.3]heptilo, oxaazaspiro[3.3]heptilo, tiaazaspiro[3.3]heptilo, oxaspiro[3.3]heptilo, oxazaspiro[5.3]nonilo, oxazaspiro[4.3]octilo, azaspiro[4.5]decilo, oxazaspiro [5.5]undecilo, diazaspiro[3.3]heptilo, tiazaspiro[3.3]heptilo, tiazaspiro[4.3]octilo, azaspiro[5.5]undecilo, o uno de los andamios homólogos adicionales tales como espiro[3.4]–, espiro[4.4]–, espiro[2.4]–, espiro[2.5]–, espiro[2.6]–, espiro[3.5]–, espiro[3.6]–, espiro[4.5]– y espiro[4.6]–.

El término "heterocicloalquilo fusionado" significa un heterociclo saturado bicíclico con 6, 7, 8, 9 o 10 átomos en el anillo en total, en el que los dos anillos comparten dos átomos anulares adyacentes, cuyo "heterocicloalquilo fusionado" contiene uno o dos heteroátomos idénticos o diferentes de anillo de la serie: N, O, S; donde es posible que dicho grupo heterocicloalquilo fusionado se una al resto de la molécula a través de cualquiera de los átomos de carbono o, si está presente, de un átomo de nitrógeno.

Dicho grupo heterocicloalquilo fusionado es, por ejemplo, azabicyclo[3.3.0]octilo, azabicyclo[4.3.0]nonilo, diazabicyclo[4.3.0]nonilo, oxazabicyclo[4.3.0]nonilo, tiazabicyclo[4.3.0]nonilo o azabicyclo[4.4.0]decilo.

El término "heterocicloalquilo puenteado" significa un heterociclo bicíclico saturado con 7, 8, 9 o 10 átomos en el anillo en total, en el que los dos anillos comparten dos átomos comunes en el anillo que no son adyacentes, cuyo "heterocicloalquilo puenteado" contiene uno o dos heteroátomos idénticos o diferentes de anillo de la serie: N, O, S; donde es posible que dicho grupo heterocicloalquilo puenteado esté unido al resto de la molécula a través de cualquiera de los átomos de carbono, excepto el átomo de carbono espiro, o, si está presente, un átomo de nitrógeno.

Dicho grupo heterocicloalquilo puenteado es, por ejemplo, azabicyclo[2.2.1]heptilo, oxazabicyclo[2.2.1]heptilo, tiazabicyclo[2.2.1]heptilo, diazabicyclo[2.2.1]heptilo, azabicyclo[2.2.2]octilo, diazabicyclo[2.2.2]octilo, oxazabicyclo[2.2.2]octilo, tiazabicyclo[2.2.2]octilo, azabicyclo[3.2.1]octilo, diazabicyclo[3.2.1]octilo, oxazabicyclo[3.2.1]octilo, tiazabicyclo[3.2.1]octilo, azabicyclo[3.3.1]nonilo, diazabicyclo[3.3.1]nonilo, oxazabicyclo[3.3.1]nonilo, tiazabicyclo[3.3.1]nonilo, azabicyclo[4.2.1]nonilo, diazabicyclo[4.2.1]nonilo, oxazabicyclo[4.2.1]nonilo, tiazabicyclo[4.2.1]nonilo, azabicyclo[3.3.2]decilo, diazabicyclo[3.3.2]decilo, oxazabicyclo[3.3.2]decilo, tiazabicyclo[3.3.2]decilo o azabicyclo[4.2.2]decilo.

El término "heteroarilo" significa un anillo aromático monovalente, monocíclico, bicíclico o tricíclico que tiene 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 átomos en el anillo (un grupo "heteroarilo de 5 a 14 miembros"), particularmente 5, 6, 9 o 10 átomos en el anillo, que contiene por lo menos un heteroátomo en el anillo y opcionalmente uno, dos o tres heteroátomos en el anillo adicionales de la serie: N, O y/o S, y que está unido a través de un átomo de carbono en el anillo u opcionalmente a través de un átomo de nitrógeno en el anillo (si lo permite la valencia).

Dicho grupo heteroarilo puede ser un grupo heteroarilo de 5 miembros, tal como, por ejemplo, tienilo, furanilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, triazolilo, tiadiazolilo o tetrazolilo; o un grupo heteroarilo de 6 miembros, tal como, por ejemplo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo; o un grupo heteroarilo tricíclico, tal como, por ejemplo, carbazolilo, acridinilo o fenazinilo; o un grupo heteroarilo de 9 miembros, tal como, por ejemplo, benzofuranilo, benzotienilo, benzoxazolilo, bencisoxazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, indazolilo, indolilo, isoindolilo, indolizinilo o purinilo; o un grupo heteroarilo de 10 miembros, tal como, por ejemplo, quinolinilo, quinazolinilo, isoquinolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinoxalinilo o pteridinilo.

En general, y a menos que se indique lo contrario, los grupos heteroarilo o heteroarileno incluyen todas las formas isoméricas posibles de los mismos, por ejemplo: tautómeros e isómeros posicionales con respecto al punto de enlace con el resto de la molécula. Por lo tanto,

para algunos ejemplos ilustrativos no restrictivos, el término piridinilo incluye piridin-2-ilo, piridin-3-ilo y piridin-4-ilo; o el término tienilo incluye tien-2-ilo y tien-3-ilo.

El término "C₁-C₆", como se usa en el presente texto, p. ej., en el contexto de la definición de "C₁-C₆-alquilo", "C₁-C₆-haloalquilo", "C₁-C₆-hidroxialquilo", "C₁-C₆-alcoxi" o "C₁-C₆-haloalcoxi", significa un grupo alquilo que tiene un número finito de átomos de carbono de 1 a 6, es decir, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono.

Además, como se usa en el presente documento, el término "C₃-C₈", como se usa en el presente texto, p. ej., en el contexto de la definición de "C₃-C₈-cicloalquilo", significa un grupo cicloalquilo que tiene un número finito de átomos de carbono de 3 a 8, es decir, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono.

Cuando se proporciona un rango de valores, dicho rango abarca cada valor y subrangos dentro de dicho rango.

Por ejemplo:

"C₁-C₆" abarca C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₁-C₆, C₁-C₅, C₁-C₄, C₁-C₃, C₁-C₂, C₂-C₆, C₂-C₅, C₂-C₄, C₂-C₃, C₃-C₆, C₃-C₅, C₃-C₄, C₄-C₆, C₄-C₅, y C₅-C₆;

"C₂-C₆" abarca C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₂-C₆, C₂-C₅, C₂-C₄, C₂-C₃, C₃-C₆, C₃-C₅, C₃-C₄, C₄-C₆, C₄-C₅, y C₅-C₆;

"C₃-C₁₀" abarca C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₃-C₁₀, C₃-C₉, C₃-C₈, C₃-C₇, C₃-C₆, C₃-C₅, C₃-C₄, C₄-C₁₀, C₄-C₉, C₄-C₈, C₄-C₇, C₄-C₆, C₄-C₅, C₅-C₁₀, C₅-C₉, C₅-C₈, C₅-C₇, C₅-C₆, C₆-C₁₀, C₆-C₉, C₆-C₈, C₆-C₇, C₇-C₁₀, C₇-C₉, C₇-C₈, C₈-C₁₀, C₈-C₉ y C₉-C₁₀;

"C₃-C₈" abarca C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₃-C₈, C₃-C₇, C₃-C₆, C₃-C₅, C₃-C₄, C₄-C₈, C₄-C₇, C₄-C₆, C₄-C₅, C₅-C₈, C₅-C₇, C₅-C₆, C₆-C₈, C₆-C₇ y C₇-C₈;

"C₃-C₆" abarca C₃, C₄, C₅, C₆, C₃-C₆, C₃-C₅, C₃-C₄, C₄-C₆, C₄-C₅, y C₅-C₆;

"C₄-C₈" abarca C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₄-C₈, C₄-C₇, C₄-C₆, C₄-C₅, C₅-C₈, C₅-C₇, C₅-C₆, C₆-C₈, C₆-C₇ y C₇-C₈;

"C₄-C₇" abarca C₄, C₅, C₆, C₇, C₄-C₇, C₄-C₆, C₄-C₅, C₅-C₇, C₅-C₆ y C₆-C₇;

"C₄-C₆" abarca C₄, C₅, C₆, C₄-C₆, C₄-C₅ y C₅-C₆;

"C₅-C₁₀" abarca C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₅-C₁₀, C₅-C₉, C₅-C₈, C₅-C₇, C₅-C₆, C₆-C₁₀, C₆-C₉, C₆-C₈, C₆-C₇, C₇-C₁₀, C₇-C₉, C₇-C₈, C₈-C₁₀, C₈-C₉ y C₉-C₁₀;

"C₆-C₁₀" abarca C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₆-C₁₀, C₆-C₉, C₆-C₈, C₆-C₇, C₇-C₁₀, C₇-C₉, C₇-C₈, C₈-C₁₀, C₈-C₉ y C₉-C₁₀.

Como se usa en este documento, el término "grupo saliente" significa un átomo o un grupo de átomos que se desplaza en una reacción química como especie estable, llevándose consigo los electrones de enlace. En particular, dicho grupo saliente se selecciona del grupo que comprende: haluro, en particular fluoruro, cloruro, bromuro o yoduro, (metilsulfonil)oxi, [(trifluorometil)sulfonil]oxi, [(nonafluorobutil)sulfonil]oxi, (fenilsulfonil)oxi, [(4-metilfenil)sulfonil]oxi, [(4-bromofenil)sulfonil]oxi, [(4-nitrofenil)sulfonil]oxi, [(2-nitrofenil)sulfonil]oxi, [(4-isopropilfenil)sulfonil]oxi, [(2,4,6-triisopropilfenil)sulfonil]oxi, [(2,4,6-trimetilfenil)sulfonil]oxi, [(4-*ter*-butilfenil)sulfonil]oxi y [(4-metoxifenil)sulfonil]oxi.

Es posible que los compuestos de la fórmula general (I) existan como variantes isotópicas. Por lo tanto, la invención incluye una o más variantes isotópicas de los compuestos de la fórmula general (I), en particular, compuestos de la fórmula general (I) que contienen deuterio.

El término "variante isotópica" de un compuesto o reactivo se define como un compuesto que presenta una proporción no natural de uno o más de los isótopos que constituyen dicho compuesto.

El término "variante isotópica del compuesto de la fórmula general (I)" se define como un compuesto de la fórmula general (I) que exhibe una proporción no natural de uno o más de los isótopos que constituyen tal compuesto.

La expresión "proporción no natural" significa una proporción de dicho isótopo que es superior a su abundancia natural. Las abundancias naturales de isótopos que se aplicarán en este contexto se describen en "Composiciones isotópicas de los elementos 1997", Pure Appl. Chem., 70 (1), 217–235, 1998.

Los ejemplos de tales isótopos incluyen isótopos estables y radiactivos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro, bromo y yodo, tales como ^2H (deuterio), ^3H (tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{33}S , ^{34}S , ^{35}S , ^{36}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I y ^{131}I , respectivamente.

Con respecto al tratamiento y/o profilaxis de los trastornos especificados aquí, la(s) variante(s) isotópica(s) de los compuestos de la fórmula general (I) contienen preferentemente deuterio ("compuestos que contienen deuterio de la fórmula general (I)"). Las variantes isotópicas de los compuestos de la fórmula general (I) en los que se incorporan uno o más isótopos radiactivos, tales como ^3H o ^{14}C , son útiles, p. ej., para incorporar en estudios de distribución tisular de fármacos y/o sustratos. Estos isótopos son particularmente preferidos por la facilidad de su incorporación y detectabilidad. Los isótopos emisores de positrones tales como ^{18}F o ^{11}C pueden incorporarse en un compuesto de la fórmula general (I). Estas variantes isotópicas de los compuestos de la fórmula general (I) son útiles para aplicaciones de imágenes *in vivo*. Los

compuestos que contienen deuterio y ^{13}C de la fórmula general (I) se pueden utilizar en análisis de espectrometría de masas en el contexto de estudios preclínicos o clínicos.

Las variantes isotópicas de los compuestos de la fórmula general (I) se pueden preparar generalmente por métodos conocidos por el experto en la técnica, tales como los descritos en los esquemas y/o ejemplos del presente documento, sustituyendo un reactivo por una variante isotópica de dicho reactivo, preferentemente para un reactivo que contenga deuterio. De acuerdo con los sitios de deuteración deseados, en algunos casos, el deuterio de D_2O puede incorporarse directamente en los compuestos o en reactivos que son útiles para sintetizar tales compuestos. El gas deuterio también es un reactivo útil para incorporar deuterio a las moléculas.

La deuteración catalítica de enlaces olefínicos y enlaces acetilénicos es una ruta rápida para la incorporación de deuterio. Los catalizadores metálicos (es decir, Pd, Pt y Rh) en presencia de gas deuterio se pueden usar para intercambiar directamente deuterio por hidrógeno en grupos funcionales que contienen hidrocarburos. Una diversidad de reactivos deuterados y bloques de construcción sintéticos están disponibles comercialmente de compañías tales como, por ejemplo, C/D/N Isotopes, Quebec, Canadá; Cambridge Isotope Laboratories Inc., Andover, MA, EE. UU.; y CombiPhos Catalysts, Inc., Princeton, NJ, EE. UU.

El término "compuesto de la fórmula general (I) que contiene deuterio" se define como un compuesto de la fórmula general (I), en el que uno o más átomos de hidrógeno están reemplazados por uno o más átomos de deuterio y en el que la abundancia de deuterio en cada posición deuterada del compuesto de la fórmula general (I) es mayor que la abundancia natural de deuterio, que es de alrededor de 0,015 %. En particular, en un compuesto de la fórmula general (I) que contiene deuterio, la abundancia de deuterio en cada posición deuterada del compuesto de la fórmula general (I) es superior al 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, preferentemente, superior a 90 %, 95 %, 96 % o 97 %, incluso más preferentemente, superior a 98 % o 99 %, en dicha(s) posición(es). Se entiende que la abundancia de deuterio en cada posición deuterada es independiente de la abundancia de deuterio en otra(s) posición(es) deuterada(s).

La incorporación selectiva de uno o más átomos de deuterio en un compuesto de la fórmula general (I) puede alterar las propiedades fisicoquímicas (tales como, por ejemplo, la acidez [C. L. Perrin, et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 4490], la basicidad [C. L. Perrin et al., J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 9641], lipofilicidad [B. Testa et al., Int. J. Pharm., 1984, 19(3), 271]) y/o el perfil metabólico de la molécula, y puede dar lugar a cambios en la relación del compuesto original a los metabolitos, o en las cantidades de metabolitos formados. Dichos cambios pueden dar como resultado ciertas ventajas terapéuticas y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. Se han informado tasas reducidas de metabolismo y cambio metabólico, donde cambia la relación de metabolitos (A. E. Mutlib et al., Toxicol. Appl. Pharmacol., 2000, 169, 102).

Estos cambios en la exposición al fármaco original y sus metabolitos pueden tener consecuencias importantes con respecto a la farmacodinámica, la tolerabilidad y la eficacia de un compuesto de la fórmula general (I) que contiene deuterio. En algunos casos, la sustitución de deuterio reduce o elimina la formación de un metabolito no deseado o tóxico y mejora la formación de un metabolito deseado (p. ej., Nevirapine: A. M. Sharma et al., Chem. Res. Toxicol., 2013, 26, 410; Efavirenz: A. E. Mutlib et al., Toxicol. Appl. Pharmacol., 2000, 169, 102). En otros casos, el principal efecto de la deuteración es reducir la tasa de aclaramiento sistémico. Como resultado, se incrementa la vida media biológica del compuesto. Los potenciales beneficios clínicos incluirían la capacidad de mantener una exposición sistémica similar con niveles pico reducidos y niveles mínimos de valle aumentados. Esto podría resultar en menos efectos secundarios y una mayor eficacia, de acuerdo con la relación farmacocinética/farmacodinámica del compuesto en particular. ML-337 (C. J. Wenthur et al., J. Med. Chem., 2013, 56, 5208) y Odanacatib (K. Kassahun et al., WO2012/112363) son ejemplos de este efecto de deuterio. Se han informado aún otros casos en los que las tasas reducidas de metabolismo dan como resultado un aumento en la exposición del fármaco, sin cambiar la tasa de aclaramiento sistémico (p. ej., Rofecoxib: F. Schneider et al., Arzneim. Forsch. / Drug. Res., 2006, 56, 295; Telaprevir: F. Maltais et al., J. Med. Chem., 2009, 52, 7993). Los fármacos deuterados que muestran este efecto pueden tener requisitos de dosificación reducidos (por ejemplo, menor número de dosis o dosificación más baja para lograr el efecto deseado) y/o pueden producir cargas de metabolitos más bajas.

Un compuesto de la fórmula general (I) puede tener múltiples sitios potenciales de ataque para el metabolismo. A fin de optimizar los efectos descritos anteriormente sobre las propiedades fisicoquímicas y el perfil metabólico, se pueden seleccionar compuestos que contienen deuterio de la fórmula general (I) que tienen un cierto patrón de uno o más intercambios deuterio-hidrógeno. En particular, los uno o más átomos de deuterio de los compuestos que contienen deuterio de la fórmula general (I) están unidos a un átomo de carbono, y/o están ubicados en aquellas posiciones del compuesto de la fórmula general (I), que son sitios de ataque para metabolizar enzimas tales como, p. ej., citocromo P₄₅₀.

Cuando se usa aquí la forma plural de la palabra compuestos, sales, polimorfos, hidratos, solvatos y similares, esto significa también un único compuesto, sal, polimorfo, isómero, hidrato, solvato o similar.

Por "compuesto estable" o "estructura estable" se entiende un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento de una mezcla de reacción hasta un grado útil de pureza, y a la formulación como un agente terapéutico eficaz.

Los compuestos de la presente invención contienen opcionalmente uno o más centros asimétricos, de acuerdo con la ubicación y naturaleza de los diversos sustituyentes deseados.

Es posible que uno o más átomos de carbono asimétricos estén presentes en la configuración (R) o (S), lo que puede resultar en mezclas racémicas, en el caso de un solo centro asimétrico, y en mezclas diastereoméricas, en el caso de múltiples centros asimétricos. En ciertos casos, es posible que la asimetría también esté 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 separados, puros o parcialmente purificados, o las mezclas racémicas o diastereoméricas de los compuestos de la presente invención también se incluyen dentro del alcance de la presente invención. La purificación y la separación de tales materiales se pueden realizar mediante técnicas estándares conocidas en la técnica.

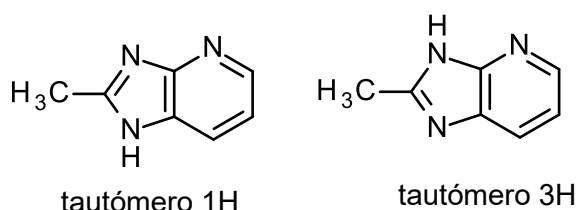
Los isómeros preferidos son aquellos que producen la actividad biológica más deseable. Estos isómeros separados, puros o parcialmente purificados, o las mezclas racémicas de los compuestos de esta invención también están incluidos dentro del alcance de la presente invención. La purificación y la separación de tales materiales se pueden realizar mediante técnicas estándares conocidas en la técnica.

Los isómeros ópticos se pueden obtener mediante la resolución de las mezclas racémicas de acuerdo con procesos convencionales, por ejemplo, mediante la formación de sales diastereoisómeras utilizando un ácido o una base ópticamente activos, o la formación de diastereómeros covalentes. Ejemplos de ácidos apropiados son ácido tartárico, diacetiltartárico, ditoluoiltartárico y canforsulfónico. Las mezclas de diastereoisómeros pueden separarse en sus diastereómeros individuales sobre la base de sus diferencias físicas y/o químicas mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante cromatografía o cristalización fraccionada. A continuación, las bases o los ácidos ópticamente activos se liberan de las sales diastereoméricas separadas. Un proceso diferente para la separación de isómeros ópticos implica el uso de cromatografía quiral (p. ej., columnas de HPLC que utilizan una fase quiral), con o sin derivación convencional, elegida de manera óptima para maximizar la separación de los enantiómeros. Las columnas de HPLC adecuadas que utilizan una fase quiral están disponibles comercialmente, tales como las fabricadas por Daicel, por ejemplo, Chiracel OD y Chiracel OJ, por ejemplo, entre muchas otras, todas las cuales se pueden seleccionar de forma rutinaria. También son útiles las separaciones enzimáticas, con o sin derivación. Los compuestos ópticamente activos de la presente invención también se pueden obtener mediante síntesis quirales utilizando materiales de partida ópticamente activos.

Para distinguir los diferentes tipos de isómeros entre sí, se hace referencia a la Sección E de las Normas IUPAC (Pure Appl Chem 45, 11–30, 1976).

La presente invención incluye todos los estereoisómeros posibles de los compuestos de la presente invención como estereoisómeros individuales o como cualquier mezcla de dichos estereoisómeros, p. ej., isómeros (R) o (S), en cualquier relación. El aislamiento de un solo estereoisómero, p. ej., un solo enantiómero o un solo diastereómero, de un compuesto de la presente invención se logra mediante cualquier método adecuado del estado de la técnica, tal como cromatografía, especialmente cromatografía quiral, por ejemplo.

Además, es posible que los compuestos de la presente invención existan como tautómeros. Por ejemplo, cualquier compuesto de la presente invención que contenga un resto imidazopiridina como un grupo heteroarilo, por ejemplo, puede existir como un tautómero 1H, o un tautómero 3H, o incluso una mezcla en cualquier cantidad de los dos tautómeros, a saber:



La presente invención incluye todos los tautómeros posibles de los compuestos de la presente invención como tautómeros individuales, o como cualquier mezcla de dichos tautómeros, en cualquier relación.

Además, los compuestos de la presente invención pueden existir como N-óxidos, que se definen porque por lo menos un nitrógeno de los compuestos de la presente invención está oxidado. La presente invención incluye todos los posibles N-óxidos.

La presente invención también cubre formas útiles de los compuestos de la presente invención, tales como metabolitos, hidratos, solvatos, profármacos, sales, en particular sales farmacéuticamente aceptables y/o coprecipitados.

Los compuestos de la presente invención pueden existir como hidrato, o como 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. Es posible que la cantidad de solventes polares, en particular, agua, exista en una relación estequiométrica o no estequiométrica. En el caso de solvatos estequiométricos, p. ej., son posibles un hidrato, hemi-, (semi-), mono-, sesqui-, di-, tri-, tetra-, penta-, etc. solvatos o hidratos, respectivamente. La presente invención incluye todos estos hidratos o solvatos.

Además, es posible que los compuestos de la presente invención existan en forma libre, p. ej., como base libre, o como ácido libre, o como zwitterión, o existan en forma de sal. Dicha sal puede ser cualquier sal, o bien una sal de adición orgánica o inorgánica, en particular, cualquier sal de adición orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable, que se usa habitualmente

en farmacia, o que se usa, por ejemplo, para aislar o purificar los compuestos de la presente invención.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal de adición de ácido inorgánico u orgánico de un compuesto de la presente invención. Por ejemplo, ver S. M. Berge, *et al.*

5 "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1–19.

Una sal farmacéuticamente aceptable adecuada de los compuestos de la presente invención puede ser, por ejemplo, una sal de adición de ácido de un compuesto de la presente invención que porta un átomo de nitrógeno, en una cadena o en un anillo, por ejemplo, que es suficientemente básico, tal como una sal de adición de ácido con un ácido inorgánico, o "ácido mineral", tal como el ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfámico, bisulfúrico, 10 fosfórico o nítrico, por ejemplo, o con un ácido orgánico, tal como, por ejemplo, ácido fórmico, acético, acetoacético, pirúvico, trifluoroacético, propiónico, butírico, hexanoico, heptanoico, undecanoico, láurico, benzoico, salicílico, 2–(4–hidroxibenzoil)–benzoico, canfórico, cinámico, ciclopentanopropiónico, diglucónico, 3–hidroxi–2–naftoico, nicotínico, pamoico, pectínico, 3– 15 fenilpropiónico, piválico, 2–hidroxietanosulfónico, itacónico, trifluorometanosulfónico, dodecilsulfúrico, etanosulfónico, bencenosulfónico, para–toluenosulfónico, metanosulfónico, 2–naftalenosulfónico, naftalenodisulfónico, canforsulfónico, cítrico, tartárico, esteárico, láctico, oxálico, malónico, succínico, málico, adípico, algínico, maleico, fumárico, D–glucónico, mandélico, ascórbico, glucoheptanoico, glicerofosfórico, aspártico, sulfosalicílico o tiociánico.

20 Además, otra sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la presente invención que es suficientemente ácida es una sal de metal alcalino, por ejemplo, una sal de sodio o potasio, una sal de metal alcalinotérreo, por ejemplo, una sal de calcio, magnesio o estroncio, o una sal de aluminio o zinc, o una sal de amonio derivada de amoníaco o de una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria que tiene de 1 a 20 átomos de carbono, tal como etilamina, 25 dietilamina, trietilamina, etildiisopropilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitclohexilamina, dimetilaminoetanol, dietilaminoetanol, tris(hidroximetil)aminometano, procaína, dibencilamina, *N*–metilmorfolina, arginina, lisina, 1,2–etilendiamina, *N*–metilpiperidina, *N*–metil–glucamina, *N,N*–dimetil–glucamina, *N*–etil–glucamina, 1,6–hexanodiamina, glucosamina, sarcosina, serinol, 2–amino–1,3–propanodiol, 3–amino–1,2– 30 propanodiol, 4–amino–1,2,3–butanotriol, o una sal con un ion de amonio cuaternario que tienen de 1 a 20 átomos de carbono, tal como tetrametilamonio, tetraetilamonio, tetra(*n*–propil)amonio, tetra(*n*–butil)amonio, *N*–bencil–*N,N,N*–trimetilamonio, colina o benzalconio.

Los expertos en la técnica reconocerán además que es posible preparar sales ácidas de los compuestos reivindicados por reacción de los compuestos con el ácido inorgánico u orgánico 35 apropiado mediante cualquiera de varios métodos conocidos. Alternativamente, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos de los compuestos ácidos de la presente invención se

preparan haciendo reaccionar los compuestos de la presente invención con la base apropiada a través de una diversidad de métodos conocidos.

La presente invención incluye todas las sales posibles de los compuestos de la presente invención como sales simples o como cualquier mezcla de dichas sales, en cualquier relación.

5 En el presente texto, en particular en la Sección Experimental, para la síntesis de intermediarios y de ejemplos de la presente invención, cuando se menciona un compuesto en forma de sal con la base o ácido correspondiente, la composición estequiométrica exacta de dicha forma de sal, tal como se obtiene mediante el respectivo proceso de preparación y/o purificación, es, en la mayoría de los casos, desconocida.

10 A menos que se especifique lo contrario, los sufijos de nombres químicos o fórmulas estructurales relacionadas con sales, tales como "clorhidrato", "trifluoroacetato", "sal de sodio" o " x HCl", " x CF_3COOH ", " x Na^+ ", por ejemplo, significan una forma de sal, cuya estequiometría no se especifica.

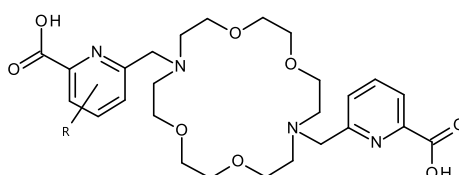
Esto se aplica de manera análoga a los casos en los que se han obtenido intermediarios de síntesis o compuestos de ejemplo o sales de los mismos, mediante los procesos de preparación y/o purificación descritos, como solvatos, tales como hidratos, con (si se define) composición estequiométrica desconocida.

Además, la presente invención incluye todas las posibles formas cristalinas, o polimorfos, de los compuestos de la presente invención, o bien como un solo polimorfo, o como una mezcla de más de un polimorfo, en cualquier relación.

Además, la presente invención también incluye profármacos de los compuestos de acuerdo con la invención. El término "profármacos" designa aquí compuestos que pueden ser en sí mismos biológicamente activos o inactivos, pero que se convierten (por ejemplo, metabólica o hidrolíticamente) en compuestos de acuerdo con la invención durante su tiempo de permanencia en el cuerpo.

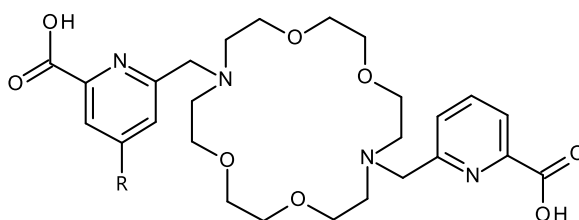
De acuerdo con una forma de realización alternativa del primer aspecto, la presente invención cubre compuestos de la fórmula general (I), supra, en los que:

C es el agente quelante macrocíclico Macropa a continuación, donde el sustituyente R está unido a cualquier átomo de carbono libre en el anillo piridina:



donde $R = \text{NH}_2$ o $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$.

C además puede ser el agente quelante macrocíclico macropa a continuación:

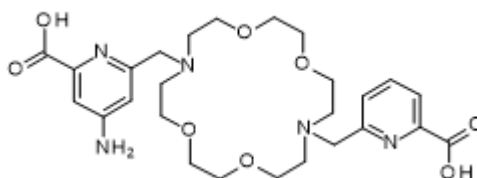


donde R= NH₂ o CH₂CH₂COOH.

De acuerdo con una segunda forma de realización del primer aspecto, la presente invención

5 cubre compuestos de la fórmula general (I), *supra*, en los que:

C es el agente quelante macrocíclico macropa–NH₂ a continuación:



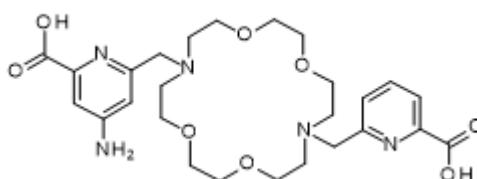
10 donde o bien el grupo sustituyente amino o los grupos ácido carboxílico se usan para formar enlaces de amida con L o V, n es 2, y V es un anticuerpo monoclonal,

y estereoisómeros, tautómeros, N–óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

De acuerdo con una tercera forma de realización del primer aspecto, la presente invención cubre

15 compuestos de la fórmula general (I), *supra*, en los que:

C es el agente quelante macrocíclico macropa–NH₂ a continuación:

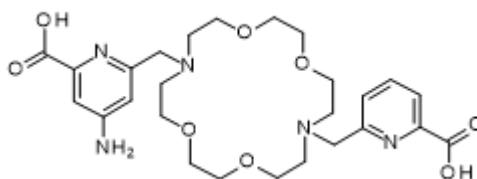


donde el grupo sustituyente amino o los grupos de ácido carboxílico se usan para formar enlaces de amida con L o V, n es 3, y V es un anticuerpo monoclonal,

y estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

- 5 De acuerdo con una cuarta forma de realización del primer aspecto, la presente invención cubre compuestos de la fórmula general (I), *supra*, en los que:

C es el agente quelante macrocíclico macropa-NH₂ a continuación:



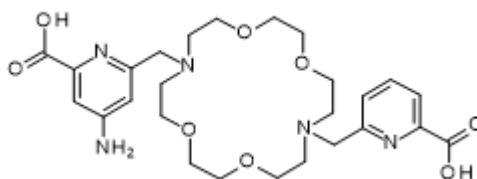
10

donde el grupo sustituyente amino o los grupos de ácido carboxílico se usan para formar enlaces de amida o bien con L o V, n es 4, y V es un anticuerpo monoclonal,

y estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

- 15 De acuerdo con una quinta forma de realización del primer aspecto, la presente invención cubre compuestos de la fórmula general (I), *supra*, en los que:

C es el agente quelante macrocíclico macropa-NH₂ a continuación:

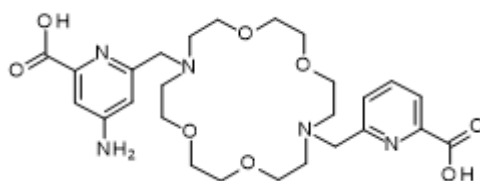


- 20 donde el grupo sustituyente amino o los grupos ácido carboxílico se usan para formar enlaces de amida con L o V, n es mayor que 4 pero menor que 20, y V es un anticuerpo monoclonal, y estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

En otra forma de realización del primer aspecto, la presente invención cubre compuestos de la

- 25 fórmula (I), *supra*, en los que:

C es el agente quelante macrocíclico macropa-NH₂ a continuación:

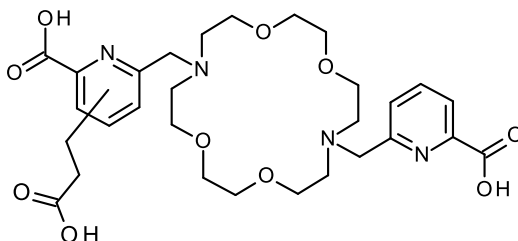


- 5 donde n es 4, y V es un anticuerpo monoclonal, y C está unido a través de un esqueleto de tetraamino modificado con un espaciador de ácido diglicólico, y estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

En otra forma de realización del primer aspecto, la presente invención cubre compuestos de la

- 10 fórmula (I), *supra*, en los que:

C también puede ser el agente quelante macrocíclico macropa a continuación:

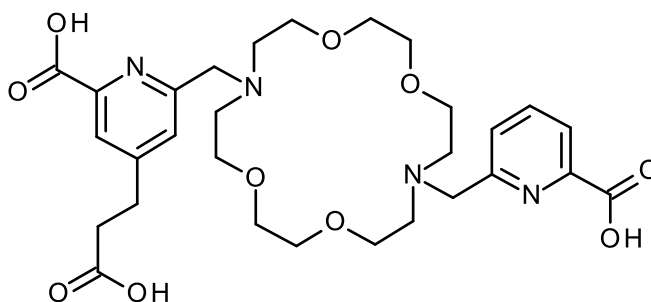


donde n es 4, y V es un anticuerpo monoclonal, y C está unido mediante un espaciador de ácido propiónico a un esqueleto de tetraamino,

- 15 y estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

En una forma de realización adicional del primer aspecto, la presente invención cubre compuestos de la fórmula (I), *supra*, en los que:

C es el agente quelante macrocíclico macropa a continuación:



donde n es 4, y V es un anticuerpo monoclonal, y C está unido mediante un espaciador de ácido propiónico a un esqueleto de tetraamino,

y estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

La solicitud prioritaria original reivindicaba lo siguiente:

1. Un compuesto de la fórmula general (I):



en la que: C representa el agente quelante macrocíclico macropa, L representa un resto enlazador multifuncional que comprende múltiples grupos funcionales para la unión covalente de C, y V es un resto dirigido a tejido, y donde n > 1 y m es de 1 a 5, o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato o una sal del mismo, o una mezcla de los mismos.

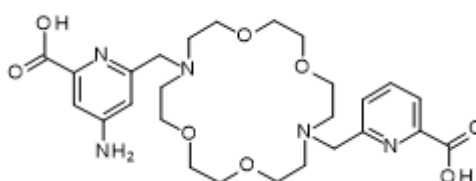
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto comprende además un radioisótopo emisor alfa o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato o una sal del mismo, o una mezcla de los mismos.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, donde el radioisótopo emisor alfa se selecciona del grupo que consiste en radio-223, radio-224, Bi-212, Bi-213 y actinio-225 o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato o una de sus sales, o una mezcla de los mismos.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3, en el que el resto dirigido al tejido es un anticuerpo monoclonal o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato o una sal del mismo, o una mezcla de los mismos.

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3 o 4, en el que:

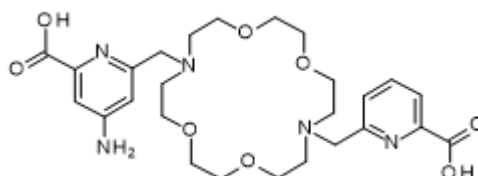
C es el agente quelante macrocíclico macropa a continuación:



donde el grupo sustituyente amino o los grupos ácido carboxílico se usan para formar enlaces de amida con L o V, n es 2, y V es un anticuerpo monoclonal, o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato, o una de sus sales, o una mezcla de los mismos.

6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3 o 4, en el que:

- 5 C es el agente quelante macrocíclico macropa a continuación:

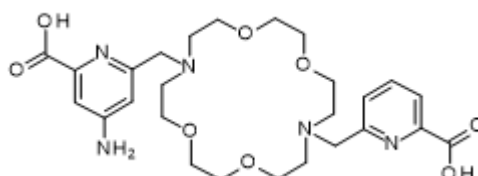


donde o bien el grupo sustituyente amino o los grupos ácido carboxílico se utilizan para formar enlaces de amida o bien con L o V, n es 3, y V es un anticuerpo monoclonal, o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato, o una de sus sales, o una mezcla de los mismos.

10

7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3 o 4, en el que:

C es el agente quelante macrocíclico macropa a continuación:

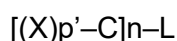


donde o bien el grupo sustituyente amino o los grupos ácido carboxílico se usan para formar enlaces de amida o bien con L o V, n es 4, y V es un anticuerpo monoclonal, o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato, o una de sus sales, o una mezcla de los mismos.

15

8. Un método para preparar un compuesto de la fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde dicho método comprende el paso de permitir que un compuesto intermediario de la fórmula general (II):

20



(II),

en la que C, L, n y m y m son como se definen para el compuesto de la fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7,

25

reaccione con V;

en la que V es como se define para el compuesto de la fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7,

para proporcionar así un compuesto de la fórmula general (I):



en la que C, L, V, n y m son como se definen para el compuesto de la fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

9. Un compuesto de la fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para el uso en el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad.

10 10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

11. Una combinación farmacéutica que comprende:

• uno o más primeros ingredientes activos, en particular, compuestos de la fórmula general (I)
15 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y

• uno o más ingredientes activos adicionales, en particular, agentes anticancerígenos.

12. Uso de un compuesto de la fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad.

13. Uso de un compuesto de la fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las
20 reivindicaciones 1 a 7 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad.

14. Uso de acuerdo con la reivindicación 9, 12 o 13, donde la enfermedad es un trastorno hiperproliferativo, tal como un trastorno oncológico, por ejemplo.

En una forma de realización particular adicional del primer aspecto, la presente invención cubre
25 combinaciones de dos o más de las formas de realización mencionadas anteriormente bajo el encabezado "formas de realización adicionales del primer aspecto de la presente invención".

La presente invención cubre cualquier subcombinación dentro de cualquier forma de realización o aspecto de la presente invención de compuestos de la fórmula general (I), supra.

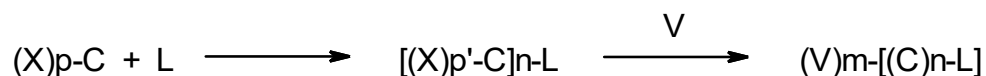
La presente invención cubre los compuestos de la fórmula general (I) que se describen en la
30 Sección de Ejemplos de este texto, *infra*.

Los compuestos de acuerdo con la invención de la fórmula general (I) se pueden preparar de acuerdo con los siguientes esquemas 1 y 2. Los esquemas y procedimientos descriptos a

continuación ilustran rutas sintéticas para los compuestos de la fórmula general (I) de la invención y no pretenden ser limitantes. Está claro para el experto en la técnica que el orden de las transformaciones como se ejemplifica en los esquemas 1 y 2 puede modificarse de diversas maneras. Por lo tanto, el orden de las transformaciones ejemplificado en estos esquemas no pretende ser limitativo. Además, la interconversión de cualquiera de los sustituyentes puede lograrse antes y/o después de las transformaciones ejemplificadas. Estas modificaciones pueden ser tales como la introducción de grupos protectores, escisión de grupos protectores, reducción u oxidación de grupos funcionales, halogenación, metalación, sustitución u otras reacciones conocidas por el experto en la técnica. Estas transformaciones incluyen aquellas que introducen una funcionalidad que permite una mayor interconversión de sustituyentes. Los grupos protectores apropiados y su introducción y escisión son bien conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, T. W. Greene y P. G. M. Wuts en *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª edición, Wiley 1999). Los ejemplos específicos se describen en los párrafos siguientes.

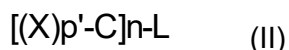
En los esquemas 1 y 2 se describen dos rutas para la preparación de compuestos de la fórmula general (I).

Esquema 1.



Esquema 1: Ruta para la preparación de compuestos de la fórmula general (I) en la que C, L, V, n y m tienen el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, y X es un grupo funcional, o más preferentemente, un grupo funcional reactivo, y p es 1–10, y p' es 1–10, más preferentemente, p y p' son 1–4.

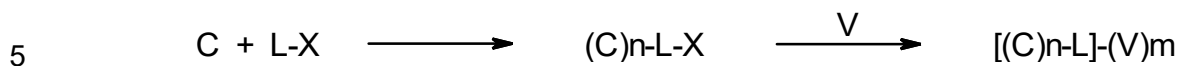
Los quelantes C pueden activarse con un grupo funcional reactivo X tal como, p. ej., un éster de NHS, un éster de TFP, un éster de HOBt, un éster de HOAt o un grupo NSC para la posterior conjugación posterior con L que es, p. ej., un esqueleto que contiene poliamina. La formación de enlaces de amida o enlaces de tiourea resultantes entre C y L se puede realizar en solventes acuosos u orgánicos a pH entre 7 y 11 a temperatura ambiente o temperaturas elevadas. El aislamiento de productos e intermediarios puede llevarse a cabo con, p. ej., HPLC preparativa u otras técnicas de separación conocidas. La conjugación de quelantes multiméricos de la fórmula general (II),



al resto de direccionamiento V puede efectuarse siendo X un grupo funcional reactivo tal como un éster de NHS, un éster de TFP o un grupo NSC que forma enlaces de amida o enlaces de

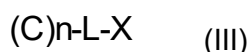
tiourea con V, p. ej., conjugación con grupos amino de cadena lateral de lisina de un anticuerpo, para preparar un compuesto de la fórmula general (I) como se define anteriormente.

Esquema 2.



Esquema 2: Ruta para la preparación de compuestos de la fórmula general (I) en la que C, L, V, n y m tienen el significado dado para la fórmula general (I), *supra*, y X es un grupo funcional reactivo.

- 10 Los quelantes C pueden conjugarse con L siendo, p. ej., un esqueleto que contiene poliamina que contiene un grupo funcional reactivo protegido. La formación de enlaces de amida o enlaces de tiourea resultantes entre C y L se puede realizar en solventes acuosos u orgánicos a pH entre 7 y 11 a temperatura ambiente o temperaturas elevadas. El aislamiento de intermediarios y productos puede llevarse a cabo con, p. ej., HPLC preparativa u otras técnicas de separación
- 15 conocidas. La conjugación de quelantes multiméricos de la fórmula general (III),



- al resto de direccionamiento V puede efectuarse siendo X un grupo funcional reactivo tal como un éster de NHS, un éster de TFP o un grupo NSC que forma enlaces de amida o enlaces de tiourea con V, p. ej., conjugación con grupos amino de cadena lateral de lisina de un anticuerpo,
- 20 para preparar un compuesto de la fórmula general (I) como se define anteriormente. Los ejemplos específicos se describen en la Sección Experimental.

La presente invención cubre los compuestos intermediarios definidos por la fórmula (II) y la fórmula (III) que se describen en la Sección de Ejemplos de este texto, *infra*.

- La presente invención cubre cualquier subcombinación dentro de cualquier forma de realización o aspecto de la presente invención de compuestos intermediarios de las fórmulas generales (II)
- 25 y (III), *supra*.

- Los compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención se pueden convertir en cualquier sal, preferentemente sales farmacéuticamente aceptables, como se describe en este documento, mediante cualquier método conocido por el experto en la técnica. De manera
- 30 similar, cualquier sal de un compuesto de la fórmula general (I) de la presente invención se puede convertir en el compuesto libre mediante cualquier método conocido por el experto en la técnica.

Los compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención demuestran un espectro farmacológico de acción y un perfil farmacocinético de valor, los cuales no podrían haberse previsto. Sorprendentemente, se ha descubierto que los compuestos de la presente invención inhiben de manera eficaz el objetivo, y, por lo tanto, es posible que dichos compuestos sean
5 usados para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades, preferentemente trastornos hiperproliferativos en seres humanos y animales.

Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar para inhibir, bloquear, reducir, disminuir, etc., la proliferación celular y/o la división celular, y/o para producir apoptosis. Este método comprende administrar a un mamífero que lo necesita, incluido un ser humano, una
10 cantidad de un compuesto de la fórmula general (I) de la presente invención, o una de sus sales, isómeros, polimorfos, metabolitos, hidratos, solvatos o ésteres farmacéuticamente aceptables, que es eficaz para tratar el trastorno.

Los trastornos hiperproliferativos incluyen, sin limitación, por ejemplo: psoriasis, queloides y otras hiperplasias que afectan la piel, hiperplasia prostática benigna (HPB), tumores sólidos,
15 tales como cáncer de mama, de las vías respiratorias, de cerebro, órganos reproductivos, tracto digestivo, tracto urinario, ojo, hígado, piel, cabeza y cuello, tiroides, paratiroides y sus metástasis distantes. Esos trastornos también incluyen linfomas, sarcomas y leucemias.

Los ejemplos de cáncer de mama incluyen, sin limitación, carcinoma ductal invasivo, carcinoma lobulillar invasivo, carcinoma ductal *in situ* y carcinoma lobulillar *in situ*.

Los ejemplos de cáncer del tracto respiratorio incluyen, sin limitación, carcinoma de pulmón de células pequeñas y no pequeñas, así como adenoma bronquial y blastoma pleuropulmonar.

Los ejemplos de cáncer cerebral incluyen, sin limitación, glioma del tronco encefálico e hipofálmico, astrocitoma cerebeloso y cerebral, meduloblastoma, ependimoma, así como tumor neuroectodérmico y pineal.

Los tumores de los órganos reproductores masculinos incluyen, entre otros, cáncer de próstata y testicular.

Los tumores de los órganos reproductores femeninos incluyen, sin limitación, cáncer de endometrio, cervical, ovárico, vaginal y vulvar, así como sarcoma del útero.

Los tumores del tracto digestivo incluyen, sin limitación, cáncer anal, de colon, colorrectal, esofágico, de vesícula biliar, gástrico, pancreático, rectal, de intestino delgado y de glándulas
30 salivales.

Los tumores del tracto urinario incluyen, sin limitación, cánceres de vejiga, pene, riñón, pelvis renal, uréter, uretra y renal papilar humano.

El cáncer de ojo incluye, sin limitación, melanoma intraocular y retinoblastoma.

Los ejemplos de cáncer de hígado incluyen, sin limitación, carcinoma hepatocelular (carcinomas de células hepáticas con o sin variante fibrolamelar), colangiocarcinoma (carcinoma de las vías biliares intrahepáticas) y colangiocarcinoma hepatocelular mixto.

5 El cáncer de piel incluye, entre otros, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, melanoma maligno, cáncer de piel de células de Merkel y cáncer de piel no melanoma.

El cáncer de cabeza y cuello incluye, entre otros, cáncer de laringe, hipofaringe, nasofaringe, orofaringe, cáncer de labio y la cavidad oral y de células escamosas.

10 Los linfomas incluyen, entre otros, linfoma relacionado con el SIDA, linfoma no hodgkiniano, linfoma cutáneo de células T, linfoma de Burkitt, enfermedad de Hodgkin y linfoma del sistema nervioso central.

Los sarcomas incluyen, entre otros, sarcoma de tejido blando, osteosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, linfosarcoma y rabdomiosarcoma.

Las leucemias incluyen, sin limitación, leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica y leucemia de células pilosas.

15 La presente invención también proporciona métodos para tratar trastornos angiogénicos que incluyen enfermedades asociadas con angiogénesis excesiva y/o anormal.

La expresión inapropiada y ectópica de angiogénesis puede ser perjudicial para un organismo. Varias condiciones patológicas están asociadas con el crecimiento de vasos sanguíneos extraños. Estas incluyen, por ejemplo, retinopatía diabética, oclusión isquémica de la vena
20 retinal y retinopatía del prematuro [Aiello et al., New Engl. J. Med., 1994, 331, 1480; Peer et al., Lab. Invest., 1995, 72, 638], degeneración macular relacionada con la edad (AMD, por sus siglas en inglés) [Lopez et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., **1996**, 37, 855], glaucoma neovascular, psoriasis, fibroplasias retrolentales, angiofibroma, inflamación, artritis reumatoide (AR, por sus siglas en inglés), restenosis, restenosis en endoprótesis, restenosis del injerto vascular, etc.

25 Además, el aumento del suministro de sangre asociado con tejido canceroso y neoplásico fomenta el crecimiento, lo que lleva a un rápido crecimiento del tumor y la metástasis. Aún más, el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos y linfáticos en un tumor proporciona una vía de escape para las células renegadas, lo que fomenta la metástasis y la consiguiente propagación del cáncer. Por lo tanto, los compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención se
30 pueden utilizar para tratar y/o prevenir cualquiera de los trastornos de la angiogénesis mencionados anteriormente, por ejemplo, inhibiendo y/o reduciendo la formación de vasos sanguíneos; inhibiendo, bloqueando, reduciendo, disminuyendo, etc. La proliferación de células endoteliales u otros tipos implicados en la angiogénesis, así como provocando la muerte celular o la apoptosis de tales tipos de células.

Estos trastornos han sido bien caracterizados en humanos, pero también existen con una etiología similar en otros mamíferos, y pueden tratarse mediante la administración de composiciones farmacéuticas de la presente invención.

El término "tratar" o "tratamiento" tal como se establece a lo largo de este documento se usa convencionalmente, por ejemplo, el abordaje o cuidado de un sujeto con el fin de combatir, aliviar, reducir, paliar, mejorar la condición de una enfermedad o de un trastorno, tal como un carcinoma.

Preferentemente, la terapia alfa dirigida de la presente invención es para el tratamiento de linfoma no hodgkiniano o neoplasias de células B, de mama, colorrectal, endometrial, gástrica, leucemia mieloide aguda, próstata o cerebro, mesotelioma, cáncer de ovario, pulmón o páncreas. Típicamente, la terapia de combinación de la presente invención se utilizará en el tratamiento del cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal o leucemia mieloide aguda.

Generalmente, el uso de agentes quimioterapéuticos y/o agentes anticancerígenos en combinación con un compuesto o una composición farmacéutica de la presente invención servirá para:

1. producir una mayor eficacia en la reducción del crecimiento de un tumor o incluso eliminar el tumor en comparación con la administración de cualquier agente solo,
2. proporcionar la administración de cantidades menores de los agentes quimioterapéuticos administrados,
3. proporcionar un tratamiento quimioterapéutico que sea bien tolerado por el paciente, con menos complicaciones farmacológicas perjudiciales que las observadas con quimioterapias de agente único y ciertas otras terapias combinadas,
4. proporcionar el tratamiento de un espectro más amplio de diferentes tipos de cáncer en mamíferos, especialmente, humanos,
5. proporcionar una tasa de respuesta más alta entre los pacientes tratados,
6. proporcionar un tiempo de sobrevida más largo entre los pacientes tratados en comparación con los tratamientos de quimioterapia estándares,
7. proporcionar un tiempo más largo para la progresión del tumor, y/o
8. producir resultados de eficacia y tolerabilidad por lo menos tan buenos como los de los agentes usados solos, en comparación con los casos conocidos en los que otras combinaciones de agentes contra el cáncer producen efectos antagónicos.

Además, los compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención también se pueden usar en combinación con radioterapia y/o intervención quirúrgica.

En otra forma de realización de la presente invención, los compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención se pueden usar para sensibilizar una célula a la radiación, es decir, el tratamiento de una célula con un compuesto de la presente invención antes del tratamiento con radiación de la célula hace que la célula sea más susceptible al daño del ADN y a la muerte celular de lo que sería en ausencia de cualquier tratamiento con un compuesto de la presente invención. En un aspecto, la célula se trata con por lo menos un compuesto de la fórmula general (I) de la presente invención.

Por lo tanto, la presente invención también proporciona un método para destruir una célula, en el que se administran a una célula uno o más compuestos de la presente invención en combinación con radioterapia convencional.

La presente invención también proporciona un método para tornar una célula más susceptible a la muerte celular, en el que la célula se trata con uno o más compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención antes del tratamiento de la célula para provocar o inducir la muerte celular. En un aspecto, después de que la célula se trata con uno o más compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención, la célula se trata con por lo menos un compuesto, o por lo menos un método, o una combinación de los mismos, para causar daño al ADN con el fin de inhibir la función de la célula normal o destruir la célula.

En otras formas de realización de la presente invención, se destruye una célula mediante el tratamiento de la célula con por lo menos un agente dañante del ADN, es decir, después de tratar una célula con uno o más compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención para sensibilizar la célula a la muerte celular, la célula se trata con por lo menos un agente dañante del ADN para matar la célula. Los agentes dañantes del ADN útiles en la presente invención incluyen, entre otros, agentes quimioterapéuticos (por ejemplo, cisplatino), radiación ionizante (rayos X, radiación ultravioleta), agentes cancerígenos y agentes mutagénicos.

En otras formas de realización, se destruye una célula mediante el tratamiento de la célula con por lo menos un método para causar o inducir daños en el ADN. Dichos métodos incluyen, sin limitación, la activación de una vía de señalización celular que da como resultado el daño en el ADN cuando se activa la vía, la inhibición de una vía de señalización celular que da como resultado el daño en el ADN cuando se inhibe la vía, y la inducción de un cambio bioquímico en una célula, donde el cambio da como resultado el daño en el ADN. A modo de ejemplo no limitativo, se puede inhibir una vía de reparación del ADN en una célula, de modo de impedir así la reparación del daño del ADN y producir una acumulación anormal del daño del ADN en una célula.

En un aspecto de la invención, un compuesto de la fórmula general (I) de la presente invención se administra a una célula antes de la radiación u otra inducción del daño del ADN en la célula. En otro aspecto de la invención, un compuesto de la fórmula general (I) de la presente invención

se administra a una célula de forma concomitante con la radiación u otra inducción del daño del ADN en la célula. En otro aspecto más de la invención, un compuesto de la fórmula general (I) de la presente invención se administra a una célula inmediatamente después de que ha comenzado la radiación u otra inducción del daño del ADN en la célula.

- 5 En otro aspecto, la célula está *in vitro*. En otra forma de realización, la célula está *in vivo*.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención cubre compuestos de la fórmula general (I), como se describe anteriormente, o estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, en particular, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o mezclas de los mismos, para el uso en el tratamiento o la profilaxis de
10 enfermedades, en particular, trastornos hiperproliferativos.

La actividad farmacéutica de los compuestos de acuerdo con la invención puede explicarse por su actividad como mecanismo.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención cubre el uso de compuestos de la fórmula general (I), como se describe anteriormente, o estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, en particular, sales farmacéuticamente aceptables de
15 los mismos, o mezclas de los mismos, para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades, en particular, trastornos hiperproliferativos, particularmente, trastornos oncológicos.

De acuerdo con otro aspecto más, la presente invención cubre el uso de un compuesto de la fórmula (I), descrito anteriormente, o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato o una sal del mismo, en particular, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una mezcla de los mismos, para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades, en particular
20 trastornos hiperproliferativos, particularmente trastornos oncológicos.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención cubre el uso de compuestos de la fórmula general (I), como se describe anteriormente, o estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, en particular, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o mezclas de los mismos, en un método de tratamiento o profilaxis de enfermedades, en particular, trastornos hiperproliferativos, particularmente trastornos oncológicos.
25

De acuerdo con otro aspecto más, la presente invención cubre el uso de un compuesto de la fórmula general (I), como se describe anteriormente, o estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, particularmente sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o mezclas de los mismos, para la preparación de una composición farmacéutica, preferentemente un medicamento, para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades, en particular trastornos hiperproliferativos, particularmente trastornos oncológicos.
30

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención cubre un método de tratamiento o profilaxis de enfermedades, en particular, trastornos hiperproliferativos, particularmente trastornos oncológicos, usando una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula general (I), como se describe anteriormente, o estereoisómeros, tautómeros, N-óxidos, hidratos, solvatos y sales de los mismos, particularmente sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención cubre composiciones farmacéuticas, en particular un medicamento, que comprenden un compuesto de la fórmula general (I), como se describe anteriormente, o un estereoisómero, un tautómero, un N-óxido, un hidrato, un solvato, una sal del mismo, en particular una sal farmacéuticamente aceptable, o una mezcla de los mismos, y uno o más excipientes, en particular uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Pueden utilizarse procedimientos convencionales para preparar tales composiciones farmacéuticas en formas de dosificación apropiadas.

La presente invención cubre además composiciones farmacéuticas, en particular medicamentos, que comprenden por lo menos un compuesto de acuerdo con la invención, convencionalmente junto con uno o más excipientes farmacéuticamente adecuados, y su uso para los propósitos mencionados anteriormente.

Es posible que los compuestos de acuerdo con la invención tengan actividad sistémica y/o local. Para ello, pueden administrarse de manera adecuada, tal como, por ejemplo, por vía parenteral.

Para estas vías de administración, los compuestos de acuerdo con la invención pueden administrarse en formas de administración adecuadas.

La administración parenteral puede efectuarse evitando un paso de absorción (por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intracardíaca, intraespinal o intralumbal). Las formas de administración que son adecuadas para la administración parenteral son, entre otras, preparaciones para inyección e infusión en forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, liofilizados o polvos estériles.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden incorporarse en las formas de administración indicadas. Esto puede efectuarse de una manera en sí conocida mezclando con excipientes farmacéuticamente adecuados. Los excipientes farmacéuticamente adecuados incluyen, entre otros,

- rellenos y portadores (por ejemplo, celulosa, celulosa microcristalina (tal como, por ejemplo, Avicel®), lactosa, manitol, almidón, fosfato de calcio (tal como, por ejemplo, Di-Cafos®)),

- bases para ungüentos (por ejemplo, vaselina, parafinas, triglicéridos, ceras, cera de lana, alcoholes de cera de lana, lanolina, ungüento hidrofílico, polietilenglicoles),

- bases para supositorios (por ejemplo, polietilenglicoles, manteca de cacao, grasas duras),

- solventes (por ejemplo, agua, etanol, isopropanol, glicerol, propilenglicol, aceites grasos de triglicéridos de cadena media, polietilenglicoles líquidos, parafinas),
- tensioactivos, emulsionantes, dispersantes o humectantes (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio), lecitina, fosfolípidos, alcoholes grasos (tales como, por ejemplo, Lanette®), ésteres de
- 5 ácidos grasos de sorbitán (como, por ejemplo, Span®), ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitán (tales como, por ejemplo, Tween®), glicéridos de ácidos grasos de polioxietileno (tales como, por ejemplo, Cremophor®), ésteres de ácidos grasos de polioxietileno, éteres de alcoholes grasos de polioxietileno, ésteres de ácidos grasos de glicerol, poloxámeros (tales como, por ejemplo, ejemplo, Pluronic®),
- 10 • tampones, ácidos y bases (por ejemplo, fosfatos, carbonatos, ácido cítrico, ácido acético, ácido clorhídrico, solución de hidróxido de sodio, carbonato de amonio, trometamol, trietanolamina),
- agentes para la isotonicidad (por ejemplo, glucosa, cloruro de sodio),
- adsorbentes (por ejemplo, sílices altamente dispersas),
- agentes que aumentan la viscosidad, formadores de gel, espesantes y/o aglutinantes (por
- 15 ejemplo, polivinilpirrolidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, almidón, carbómeros, ácidos poliacrílicos (tales como, por ejemplo, Carbopol®); alginatos, gelatina),
- desintegrantes (por ejemplo, almidón modificado, carboximetilcelulosa sódica, glicolato de almidón sódico (tal como, por ejemplo, Explotab®), polivinilpirrolidona reticulada, croscarmelosa
- 20 sódica (tal como, por ejemplo, AcDiSol®)),
- reguladores de flujo, lubricantes, deslizantes y agentes de desmoldeo (por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, sílices altamente dispersas (tales como, por ejemplo, Aerosil®)),
- materiales de recubrimiento (por ejemplo, azúcar, goma laca) y formadores de película para
- 25 películas o membranas de difusión que se disuelven rápidamente o en forma modificada (por ejemplo, polivinilpirrolidonas (tales como, por ejemplo, Kollidon®), alcohol polivinílico, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa, poliacrilatos, polimetacrilatos tales como, por ejemplo, Eudragit®)),
- 30 • materiales para cápsulas (por ejemplo, gelatina, hidroxipropilmetilcelulosa),
- polímeros sintéticos (por ejemplo, poliláctidos, poliglicólidos, poliacrilatos, polimetacrilatos (tales como, por ejemplo, Eudragit®), polivinilpirrolidonas (tales como, por ejemplo, Kollidon®), alcoholes polivinílicos, acetatos de polivinilo, óxidos de polietileno, polietilenglicoles y sus copolímeros y copolímeros de bloques),

- plastificantes (por ejemplo, polietilenglicoles, propilenglicol, glicerol, triacetina, citrato de triacetilo, ftalato de dibutilo),
- mejoradores de penetración,
- estabilizadores (por ejemplo, antioxidantes tales como, por ejemplo, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, ascorbato de sodio, butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno, galato de propilo),
- conservantes (por ejemplo, parabenos, ácido sórbico, tiomersal, cloruro de benzalconio, acetato de clorhexidina, benzoato de sodio),
- colorantes (por ejemplo, pigmentos inorgánicos tales como, por ejemplo, óxidos de hierro, dióxido de titanio),
- saborizantes, edulcorantes, agentes enmascaradores de aromas y/u olores.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de acuerdo con la invención, convencionalmente junto con uno o más excipientes farmacéuticamente adecuados, y a su uso de acuerdo con la presente invención.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención cubre combinaciones farmacéuticas, en particular medicamentos, que comprenden por lo menos un compuesto de la fórmula general (I) de la presente invención y por lo menos uno o más ingredientes activos adicionales, en particular para el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno hiperproliferativo.

Particularmente, la presente invención cubre una combinación farmacéutica, que comprende:

- uno o más primeros ingredientes activos, en particular, compuestos de la fórmula general (I) como se define anteriormente, y
- uno o más ingredientes activos adicionales, en particular, para el tratamiento del trastorno hiperproliferativo.

El término "combinación" en la presente invención se utiliza como es conocido por los expertos en la técnica, donde es posible que dicha combinación sea una combinación fija, una combinación no fija o un equipo de partes.

Una "combinación fija" en la presente invención se usa como es sabido por los expertos en la técnica, y se define como una combinación en la que, por ejemplo, un primer ingrediente activo, tal como uno o más compuestos de la fórmula general (I) de la presente invención, y un ingrediente activo adicional están presentes juntos en una dosificación unitaria o en una sola entidad. Un ejemplo de una "combinación fija" es una composición farmacéutica en la que un primer ingrediente activo y un ingrediente activo adicional están presentes en mezcla para la administración simultánea, tal como en una formulación. Otro ejemplo de una "combinación fija" es una combinación farmacéutica en la que un primer ingrediente activo y un ingrediente activo adicional están presentes en una unidad sin estar en mezcla.

Una combinación no fija o un "equipo de partes" en la presente invención se usa como es sabido por los expertos en la técnica, y se define como una combinación en la que un primer ingrediente activo y un ingrediente activo adicional están presentes en más de una unidad. Un ejemplo de combinación no fija o equipo de partes es una combinación en la que el primer ingrediente activo y el ingrediente activo adicional están presentes por separado. Es posible que los componentes de la combinación no fija o del equipo de partes se administren en forma separada, secuencial, simultánea, concurrente o cronológicamente escalonada.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar como el único agente farmacéutico o en combinación con uno o más otros ingredientes farmacéuticamente activos, donde la combinación no provoca efectos adversos inaceptables. La presente invención también cubre dichas combinaciones farmacéuticas. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención se pueden combinar con agentes anticancerígenos conocidos.

Ejemplos de agentes anticancerígenos incluyen:

131I-chTNT, abarelix, abemaciclib, abiraterona, acalabrutinib, aclarubicina, adalimumab, ado-
trastuzumab emtansina, afatinib, aflibercept, aldesleukina, alectinib, alemtuzumab, ácido
alendrónico, alitretinoína, alfaradina, altretamina, amifostina, aminoglutetimida, hexilo
aminolevulinato, amrrubicina, amsacrina, anastrozol, ancestim, anetol ditioletona, anetumab
ravtansina, angiotensina II, antitrombina III, apalutamida, aprepitant, arcitumomab, arglabina,
trióxido arsénico, asparaginasa, atezolizumab, avelumab, axicabtageno ciloleucel, axitinib,
azacitidina, basiliximab, belotecán, bendamustina, besilesomab, belinostat, bevacizumab,
bexaroteno, bicalutamida, bisantreno, bleomicina, blinatumomab, bortezomib, bosutinib,
buserrelina, brentuximab vedotina, brigatinib, busulfán, cabazitaxel, cabozantinib, calcitonina,
folinato de calcio, levofolinato de calcio, capecitabina, capromab, carbamazepina carboplatino,
carboquona, carfilzomib, carmofur, carmustina, catumaxomab, celecoxib, celmoleukina,
cemiplimab, ceritinib, cetuximab, clorambucilo, clormadinona, clormetina, cidofovir, cinacalcet,
cisplatino, cladribina, ácido clodrónico, clofarabina, cobimetinib, copanlisib, crisantaspasa,
crizotinib, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daratumumab,
darbepoetina alfa, dabrafenib, dasatinib, daunorrubicina, decitabina, degarelix, denileukina
difitox, denosumab, depreotida, deslorrelina, dianhidrogalactitol, dexrazoxano, cloruro de
dibrospidio, dianhidrogalactitol, diclofenac, dinutuximab, docetaxel, dolasetrón, doxifluridina,
doxorubicina, doxorubicin + estrona, dronabinol, durvalumab, eculizumab, edrecolomab,
eliptinio acetato, elotuzumab, eltrombopag, enasidenib, endostatina, enocitabina, enzalutamida,
epirubicina, epitiostanol, epoetina alfa, epoetina beta, epoetina zeta, eptaplatina, eribulina,
erlotinib, esomeprazol, estradiol, estramustina, etinilestradiol, etopósido, everolimus,
exemestano, fadrozol, fentanilo, filgrastim, fluoximesterona, floxuridina, fludarabina,
fluorouracilo, flutamida, ácido folínico, formestano, fosaprepitant, fotemustina, fulvestrant,

gadobutrol, gadoteridol, ácido gadotérico meglumina, gadoversetamida, ácido gadoxético, nitrato de galio, ganirelix, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab, Glucarpidasa, glutoxim, GM-CSF, goserrelina, granisetron, factor estimulante de colonia de granulocitos, diclorhidrato de histamina, histrelina, hidroxycarbamida, semillas de I-125, lansoprazol, ácido ibandronico, 5 ibritumomab tiuxetan, ibrutinib, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, imiquimod, improsulfan, indisetrón, ácido incadrónico, ingenol mebutato, inotuzumab ozogamicina, interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, iobitridol, iobenguano (123I), iomeprol, ipilimumab, irinotecan, itraconazol, ixabepilona, ixazomib, lanreotida, lansoprazol, lapatinib, lasocolina, lenalidomida, lenvatinib, lenograstim, lentinán, letrozol, leuprorelina, levamisol, levonorgestrel, 10 levotiroxina sódica, lisurida, lobaplatina, lomustina, lonidamina, lutetio Lu 177 dotatato, masoprocol, medroxiprogesterona, megestrol, melarsoprol, melfalan, mepitiostano, mercaptopurina, mesna, metadona, metotrexato, metoxsaleno, metilaminolevulinato, metilprednisolona, metiltestosterona, metirosina, midostaurina, mifamurtida, miltefosina, miriplatina, mitobronitol, mitoguazona, mitolactol, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, 15 mogamulizumab, molgramostim, mopidamol, clorhidrato de morfina, sulfato de morfina, mvasi, nabilona, nabiximoles, nafarelina, naloxona + pentazocina, naltrexona, nartogastim, necitumumab, nedaplatino, nelarabina, neratinib, ácido neridronico, netupitant/palonosetrón, nivolumab, pentetretotida, nilotinib, nilutamida, nimorazol, nimotuzumab, nimustina, nintedanib, niraparib, nitracrina, nivolumab, obinutuzumab, octreotida, ofatumumab, olaparib, olaratumab, 20 omacetaxina mepesuccinato, omeprazol, ondansetrón, oprelvekina, orgoteína, orilotimod, osimertinib, oxaliplatino, oxycodona, oximetolona, ozogamicina, p53 geonterapia, paclitaxel, palbociclib, palifermina, semillas de paladio-103, palonosetrón, ácido pamidronico, panitumumab, panobinostat, pantoprazol, pazopanib, pegaspargasa, PEG-epoetina beta (metoxi PEG-epoetina beta), pembrolizumab, pegfilgrastim, peginterferón alfa-2b, 25 pembrolizumab, pemetrexed, pentazocina, pentostatina, peplomicina, Perflubutano, perfosfamida, Pertuzumab, picibanilo, pilocarpina, pirarrubicina, pixantrona, plerixafor, plicamicina, poliglusam, poliestradiol fosfato, polivinilpirrolidona + hialuronato de sodio, polisacárido-K, pomalidomida, ponatinib, porfímero sódico, pralatrexato, prednimustina, prednisona, procarbazona, procodazol, propranolol, quinagolida, rabeprazol, racotumomab, 30 cloruro de radio-223, radotinib, raloxifeno, raltitrexed, ramosetrón, ramucirumab, ranimustina, rasburicasa, razoxano, refametinib, regorafenib, ribociclib, ácido risedronico, etidronato de renio-186, rituximab, rogaratinib, rolapitant, romidepsina, romiplostim, romurtida, rucaparib, samario (153Sm) lexidronam, sargramostim, sarilumab, satumomab, secretina, siltuximab, espipuleucel-T, sizofirano, sobuzoxano, glicididazol de sodio, sonidegib, sorafenib, estanozolol, 35 estreptozocina, sunitinib, talaporfina, talimogeno laherparepvec, tamibaroteno, tamoxifeno, tapentadol, tasonermina, teceleukina, tecnecio (99mTc) nofetumomab merpentán, 99mTc-HINIC-[Tyr3]-octreotida, tegafur, tegafur + gimeracilo + oteracilo, temoporfina, temozolomida,

temsirolimus, teniposida, testosterona, tetrofosmina, talidomida, tiotepa, timalfasina, tiotropina alfa, tioguanina, tisagenlecleucel, tislelizumab, tocilizumab, topotecán, toremifeno, tositumomab, trabectedina, trametinib, tramadol, trastuzumab, trastuzumab emtansina, treosulfán, tretinoína, trifluridina + tipiracilo, triloestano, triptorrelina, trametinib, trofosfamida, trombopoyetina, triptófano, ubenimex, valatinib, valrubicina, vandetanib, vaporetida, vemurafenib, vinblastina, vincristina, vindesina, vinflunina, vinorelbina, vismodegib, vorinostat, vorozol, microesferas de vidrio de itrio-90, zinostatina, zinostatina estimalámero, ácido zoldrónico, zorrubicina.

Sobre la base de las técnicas de laboratorio estándares conocidas para evaluar compuestos útiles para el tratamiento de trastornos hiperproliferativos, mediante pruebas de toxicidad estándares y ensayos farmacológicos estándares para la determinación del tratamiento de las afecciones identificadas anteriormente en mamíferos, y mediante la comparación de estos resultados con los resultados de ingredientes activos conocidos o medicamentos que se utilizan para tratar estas afecciones, la dosificación eficaz de los compuestos de la presente invención puede determinarse fácilmente para el tratamiento de cada indicación deseada. La cantidad del ingrediente activo por administrar en el tratamiento de una de estas afecciones puede variar ampliamente de acuerdo con consideraciones tales como el compuesto particular y la unidad de dosificación empleada, el modo de administración, el período de tratamiento, la edad y el sexo del paciente tratado, y la naturaleza y extensión de la afección tratada.

La cantidad total del ingrediente activo por administrar variará generalmente de alrededor de alrededor de 0,001 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg de peso corporal por día, y preferentemente de alrededor de 0,01 mg/kg a alrededor de 1 mg/kg de peso corporal por día. Los programas de dosificación clínicamente útiles variarán desde una dosificación de una a cuatro veces al mes, hasta una dosificación de una vez cada dos a ocho meses. Además, son posibles los "descansos de fármacos", en los que un paciente no recibe dosis de fármaco durante un cierto período de tiempo, de modo de ser beneficioso para el equilibrio general entre el efecto farmacológico y la tolerabilidad.

Naturalmente, el régimen de dosificación inicial y continuo específico para cada paciente variará de acuerdo con la naturaleza y la gravedad de la afección según lo determine el médico tratante, la actividad del compuesto específico empleado, la edad y el estado general del paciente, el tiempo de la administración, la vía de administración, la velocidad de excreción del fármaco, las combinaciones de fármacos y factores similares. El modo deseado de tratamiento y el número de dosis de un compuesto de la presente invención o de una sal o un éster farmacéuticamente aceptable o de una composición del mismo pueden ser determinados por los expertos en la técnica usando pruebas de tratamiento convencionales.

SECCIÓN EXPERIMENTAL.

Las denominaciones químicas se generaron usando el soporte lógico ACD/Name, de ACD/Labs. En algunos casos, se utilizaron nombres generalmente aceptados de reactivos disponibles comercialmente en lugar de nombres generados por ACD/Name.

La siguiente tabla 1 enumera las abreviaturas utilizadas en este párrafo y en la sección de Ejemplos, en la medida en que no se explican dentro del cuerpo del texto. Otras abreviaturas tienen sus significados habituales per se para el experto en la técnica.

Tabla 1: Abreviaturas.

La siguiente tabla enumera las abreviaturas utilizadas en este documento.

	²²³ Ra	radio-223
10	²²⁵ Ac	actinio-225
	Ac-225	actinio-225
	ACC	conjugado de anticuerpo-quelante
	ACN	acetonitrilo
	Bn	bencilo
15	CAR	relación de quelante a anticuerpo
	DCC	N,N'-diciclohexilcarbodiimida
	DCM	diclorometano
	DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
	DMA	N,N-dimetilacrilamida
20	DMSO	dimetil sulfóxido
	DOTA	ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético
	DSS	trimetilsililpropanosulfonato de sodio
	ESI	ionización por electropulverización
	EtOAc	acetato de etilo
25	EtOH	etanol
	FA	ácido fórmico
	FPLC	cromatografía líquida de proteína rápida
	HCl	ácido clorhídrico
	HPGe	germanio de alta pureza
30	HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
	iTLC	cromatografía de capa delgada instantánea
	IRF	fracción inmunorreactiva
	Lys	lisina
	mAb	anticuerpo monoclonal
35	min	minutos
	MS	espectrometría de masas

	NaCl	cloruro de sodio
	NMP	N-metil-2-pirrolidona
	nm	nanómetro
	nmol	nanomol
5	RMN	resonancia magnética nuclear
	PBS	solución salina tamponada con fosfato
	PEG	poli(etilenglicol)
	PLT	plaquetas
	PyAOP	(7-Azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidino fosfonio hexafluorofosfato
10	Ra-223	radio-223
	RAC	concentración radiactiva
	RCP	pureza radioquímica
	SEC	cromatografía de exclusión por tamaño
	tBu	ter-butilo
15	TFA	ácido trifluoroacético
	TFP	2,3,5,6-tetrafluorofenol
	TOF	tiempo de vuelo
	UPLC	cromatografía líquida de ultrarrendimiento
	WBC	glóbulos blancos
20	Los diversos aspectos de la invención descritos en esta solicitud se ilustran mediante los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar la invención de ninguna manera.	

Los experimentos de prueba de ejemplos descritos aquí sirven para ilustrar la presente invención, y la invención no se limita a los ejemplos proporcionados.

SECCIÓN EXPERIMENTAL – PARTE GENERAL.

25 Todos los reactivos cuya síntesis no se describe en la parte experimental están disponibles en el mercado, o son compuestos conocidos, o pueden ser formados a partir de compuestos conocidos por métodos conocidos por un experto en la técnica.

Los compuestos e intermediarios producidos de acuerdo con los métodos de la invención pueden requerir purificación. La purificación de compuestos orgánicos es bien conocida por el
 30 experto en la técnica, y puede haber varias formas de purificar el mismo compuesto. En algunos casos, puede no ser necesaria ninguna purificación. En algunos casos, los compuestos pueden purificarse por cristalización. En algunos casos, las impurezas se pueden remover usando un solvente adecuado. En algunos casos, los compuestos se pueden purificar mediante cromatografía, en particular, cromatografía en columna instantánea, utilizando, por ejemplo,
 35 cartuchos de gel de sílice preempaquetados, p. ej., cartuchos Biotage SNAP KP-Sil® o KP-NH®

en combinación con un sistema de autopurificación Biotage (SP4® o Isolera Four®) y eluyentes tales como gradientes de hexano/acetato de etilo o DCM/metanol. En algunos casos, los compuestos se pueden purificar mediante HPLC preparativa utilizando, por ejemplo, un autopurificador Waters equipado con un detector de matriz de diodos y/o un espectrómetro de masas de ionización por electropulverización en línea, en combinación con una columna de fase inversa preempaquetada adecuada y eluyentes tales como gradientes de agua y acetonitrilo, que pueden contener aditivos tales como ácido trifluoroacético, ácido fórmico o amoníaco acuoso.

En algunos casos, los métodos de purificación descritos anteriormente pueden proporcionar aquellos compuestos de la presente invención que poseen una funcionalidad suficientemente básica o ácida en forma de sal, tal como, en el caso de un compuesto de la presente invención que es suficientemente básico, una sal de trifluoroacetato o formiato, por ejemplo, o, en el caso de un compuesto de la presente invención que sea suficientemente ácido, una sal de amonio, por ejemplo. Una sal de este tipo puede o bien transformarse en su forma de base libre o de ácido libre, respectivamente, por diversos métodos conocidos por el experto en la técnica, o puede usarse como sales en ensayos biológicos posteriores. Debe entenderse que la forma específica (p. ej., sal, base libre, etc.) de un compuesto de la presente invención aislado y descrito en el presente documento no es necesariamente la única forma en la que dicho compuesto puede aplicarse a un ensayo biológico con el fin de para cuantificar la actividad biológica específica.

Las formas de los picos de RMN se indican tal como aparecen en los espectros; no se han considerado los posibles efectos de orden superior.

Los datos de ^1H -RMN de compuestos seleccionados se enumeran en forma de listas de picos de ^1H -RMN. Allí, para cada pico de señal, se proporciona el valor δ en ppm, seguido de la intensidad de la señal, informada entre paréntesis. Los pares de intensidad de señal– valor δ de diferentes picos están separados por comas. Por lo tanto, un listado de picos se describe mediante la forma general: δ_1 (intensidad₁), δ_2 (intensidad₂), ... , δ_i (intensidad_i), ... , δ_n (intensidad_n).

La intensidad de una señal aguda se correlaciona con la altura (en cm) de la señal en un espectro de RMN impreso. Cuando se comparan con otras señales, estos datos se pueden correlacionar con las relaciones reales de las intensidades de las señales. En el caso de señales anchas, se muestran más de un pico, o el centro de la señal junto con su intensidad relativa, en comparación con la señal más intensa mostrada en el espectro. Un listado de picos de ^1H -RMN es similar a una lectura de ^1H -RMN clásica y, por lo tanto, habitualmente contiene todos los picos enumerados en una interpretación de RMN clásica. Además, de manera similar a las impresiones clásicas de ^1H -RMN, los listados de picos pueden mostrar señales de solventes,

señales derivadas de estereoisómeros del compuesto objetivo particular, picos de impurezas, picos de satélites de ^{13}C y/o bandas laterales giratorias. Los picos de los estereoisómeros y/o los picos de las impurezas se exhiben típicamente con una intensidad más baja en comparación con los picos del compuesto objetivo (p. ej., con una pureza de >90 %). Dichos estereoisómeros y/o impurezas pueden ser típicos para el proceso de fabricación particular y, por lo tanto, sus picos pueden ayudar a identificar una reproducción del proceso de fabricación sobre la base de "huellas dactilares de subproductos". Un experto que calcula los picos del compuesto objetivo mediante métodos conocidos (MestReC, simulación ACD o mediante el uso de valores esperados evaluados empíricamente), puede aislar los picos del compuesto objetivo según sea necesario, opcionalmente utilizando filtros de intensidad adicionales. Tal operación sería similar a la selección de picos en la interpretación clásica de ^1H -RMN. Se puede encontrar una descripción detallada de la notificación de datos de RMN en forma de listados de picos en la publicación "Citation of RMN Peaklist Data within Patent Applications" (cf. <http://www.researchdisclosure.com/searching-disclosures>, Base de Datos de Divulgación de Investigación Número 605005, 2014, 01 de agosto de 2014). En la rutina de recolección de picos, como se describe en la Base de Datos de Divulgación de Investigación Número 605005, el parámetro "Altura mínima" se puede ajustar entre 1 % y 4 %. Sin embargo, de acuerdo con la estructura química y/o de acuerdo con la concentración del compuesto medido, puede ser razonable establecer el parámetro "Altura mínima" <1 %.

Procedimientos estándares de UPLC-MS.

La UPLC-MS analítica se realizó como se describe a continuación. Las masas (m/z) se informan a partir de la ionización por electropulverización en modo positivo (ESI^+), a menos que se indique el modo negativo (ESI^-). En la mayoría de los casos se utiliza el método 1. En caso contrario, es indicado.

Método 1:

Instrumento: Waters Acquity UPLC-MS XEVO; columna: Acquity UPLC BEH C18 1,7 50 x 2,1 mm; eluyente A: agua + 0,1 % TFA, eluyente B: acetonitrilo; caudal 0,5 mL/min; temperatura: ambiente; inyección: 10 μL ; barrido DAD: 210–400 nm;

Método 2:

Instrumento: SHIMADZU LCMS-2020 SingleQuad; columna: Chromolith@Flash RP-18E 25-2 MM; eluyente A: agua + 0,0375 % en vol ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo + 0,01875 % en vol ácido trifluoroacético; gradiente: 0–0,8 min, 5–95 % B, 0,8–1,2 min 95 % B; caudal: 1,5 ml/min; temperatura: 50°C; PDA: 220 nm & 254 nm.

SECCIÓN EXPERIMENTAL – INTERMEDIARIOS.

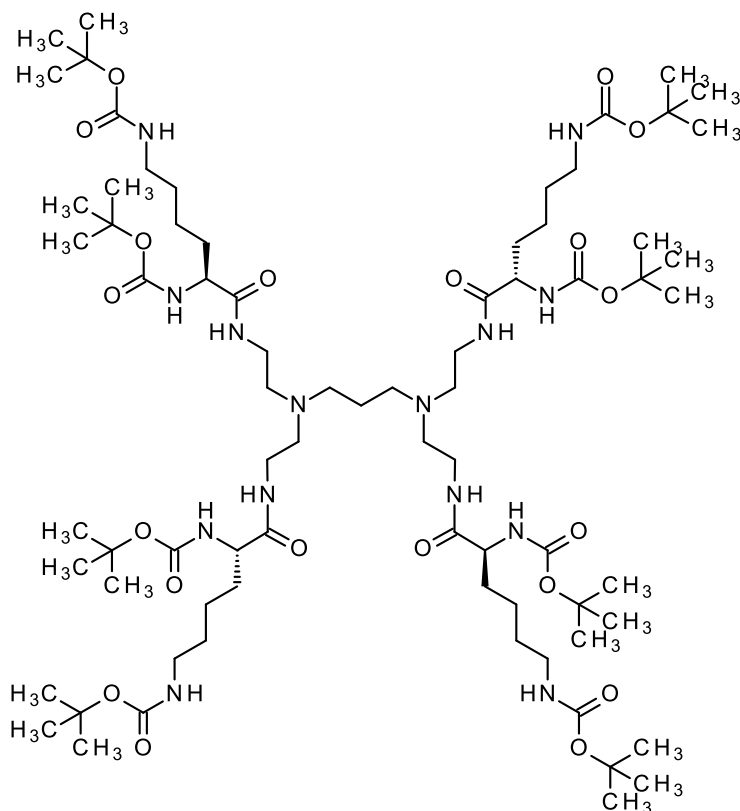
Intermediario 1

ter-butilo

N-[(5S)-6-[2-[3-[bis[2-[[[(2S)-2,6-bis(ter-

butoxicarbonilamino)hexanoil]amino]etil]amino]propil-[2-[[[(2S)-2,6-bis(ter-

- 5 butoxicarbonilamino)hexanoil]amino]etil]amino]etilamino]-5-(ter-butoxicarbonilamino)-6-oxo-hexil]carbamato



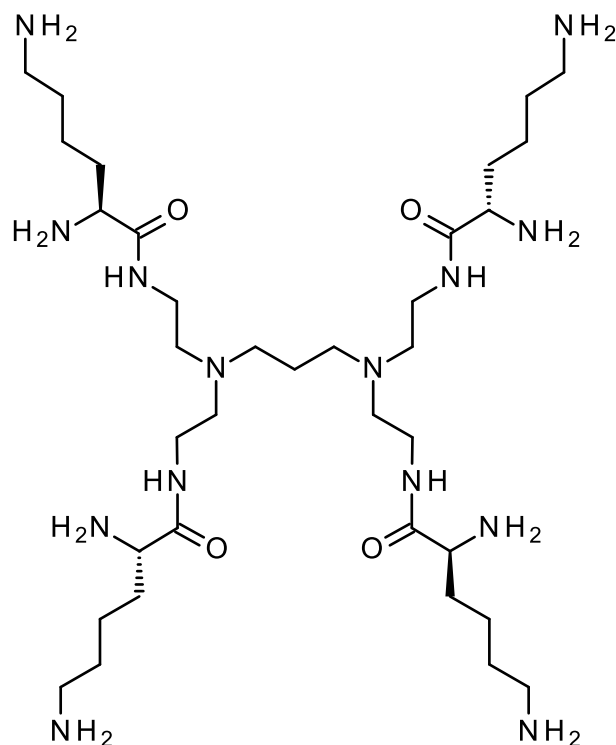
- Una solución de L-lisina (1,47 g) en agua/THF (50 mL) se enfrió en un baño de agua con hielo, y se añadió NaHCO₃ (2,52 g) y anhídrido de Boc (10,52 g). El baño de enfriamiento se retiró luego, y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evaporó el THF a presión reducida, se añadió ácido cítrico al 10 % (acuoso) para obtener un pH de 3, y la mezcla se extrajo con DCM (2 x 100 mL), se lavó con agua (50 mL) y salmuera (50 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a presión reducida. La cromatografía instantánea sobre gel de sílice eluyendo con DCM:MeOH (90:10) proporcionó 3,0 g (86 %) de Boc-L-Lys(Boc)-OH como un sólido pegajoso incoloro.

- A una mezcla de N,N,N',N'-tetrakis(2-aminoetil)propano-1,3-diamina (92,9 mg, [142745-40-2]) y Boc-L-Lys(Boc)-OH (652,3 mg) en DMF seca (5 mL) se añadieron HBTU (714 mg) y trietilamina (530 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 7 días. La mezcla de reacción fue concentrada a baja presión. El residuo se disolvió en EtOAc (100 mL), se lavó con HCl 1 M (ac) (25 mL) y Na₂CO₃ (sat) (ac) (25 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró

y se concentró a presión reducida. La cromatografía instantánea sobre gel de sílice eluyendo con CH₂Cl₂:MeOH (95:5) – (90:10) proporcionó 393 mg del compuesto objetivo.

Intermediario 2.

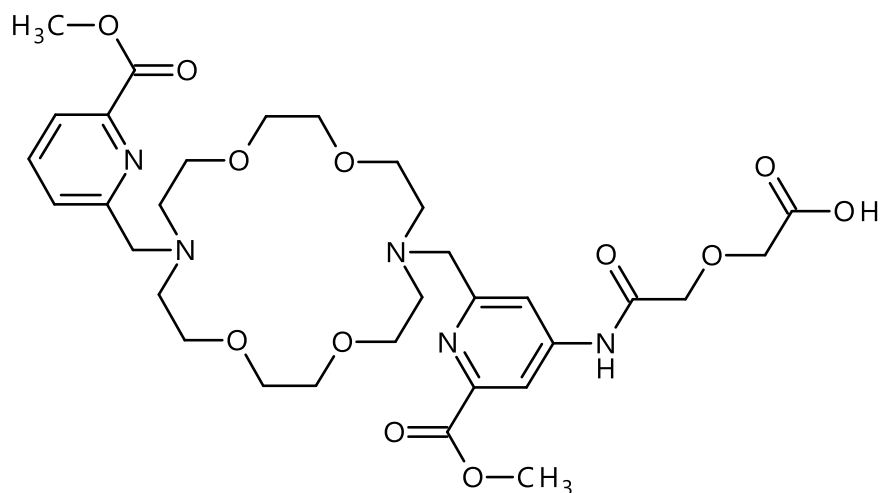
- 5 **(2S)-2,6-diamino-N-[2-[3-[bis[2-[[[(2S)-2,6-diaminohexanoil]amino]etil]amino]propil-
[2-[[[(2S)-2,6-diaminohexanoil]amino]etil]amino]etil]hexanamida**



- ter-butilo N-[(5S)-6-[2-[3-[bis[2-[[[(2S)-2,6-bis(ter-butoxicarbonilamino)hexanoil]amino]etil]amino]propil-[2-[[[(2S)-2,6-bis(ter-butoxicarbonilamino)hexanoil]amino]etil]amino]etilamino]-5-(ter-butoxicarbonilamino)-6-oxo-hexil]carbamato (139 mg) se trató con 90 % TFA/agua durante 30 min. Se agregó agua (15 mL), y el producto se liofilizó a fin de lograr 219 mg de compuestos objetivo como sal de TFA. El producto puro se analizó por HPLC analítica (gradiente: 0–30 % B durante 2,5 min, donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,13 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH⁺ 759,6, hallado m/z: 759,7).
- 10
- 15

Intermediario 3 (M2)

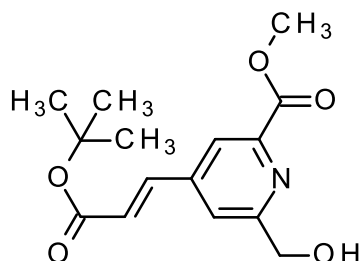
Ácido 2-[2-[2-metoxycarbonil-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]amino]-2-oxo-etoxi]acético



Se disolvieron metil 4-amino-6-[[16-[(6-metoxicarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxilato (81 mg, [2146091-22-5]) y anhídrido diglicólico (163 mg) en NMP (1 mL). Se agregó DIPEA (245 μ L), y la solución se mantuvo a 40°C durante la noche. La solución se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), se ajustó a pH 3 con TFA (50 μ L), y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 μ m C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10–50 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 67 mg (69 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto puro se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10–50 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 μ m, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,19 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH^+ 692,3, hallado m/z: 692,3).

15 **Intermediario 4.**

Metil 4-[(1E)-3-ter-butoxi-3-oxoprop-1-en-1-il]-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato



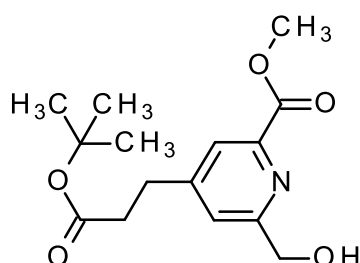
A una mezcla de metilo 4-bromo-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (3,08 g, 12,5 mmol, [1842336-50-8]), ter-butilo prop-2-enoato (2,41 g, 18,8 mmol), tris-(o-tolil)fosfina (381 mg, 1,25 mmol) y trietilamina (14 mL, 100 mmol) en acetonitrilo (150 mL) se agregó paladio(II) acetato

(141 mg, 0,626 mmol) a 25°C bajo atmósfera de nitrógeno. Después de agitar a 80°C durante 16 horas bajo atmósfera de nitrógeno, la mezcla se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la cromatografía de columna instantánea (éter de petróleo/EtOAc = 4:1 a 2:3) a fin de obtener el compuesto objetivo (3,37 g, 92 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] = 8,15 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,92 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 5,58 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 4,62 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 1,49 (s, 9H).

Intermediario 5.

10 Metil 4-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato

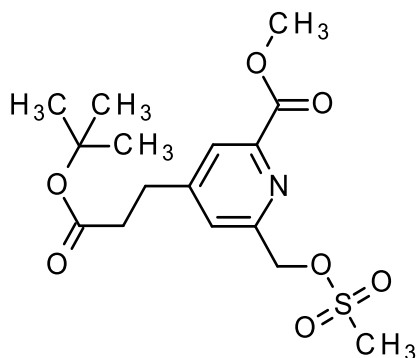


Una mezcla de metilo 4-[(1E)-3-ter-butoxi-3-oxoprop-1-en-1-il]-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (3,37 g, 11,5 mmol, Intermediario 4), paladio sobre carbón activado (337 mg, 10 % de pureza, húmedo) en metanol (50 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas bajo hidrógeno (103,4 kPa ((15 psi))). La mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite, y la torta filtro se lavó con metanol tres veces. El filtrado se concentró a fin de obtener el compuesto objetivo (3,00 g, 88 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] = 7,79 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 5,54 (s, 1H), 4,58 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 2,93 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,60 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,35 (s, 9H).

20 Intermediario 6.

Metilo 4-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-[[metanosulfonil]oxi]metil]piridina-2-carboxilato



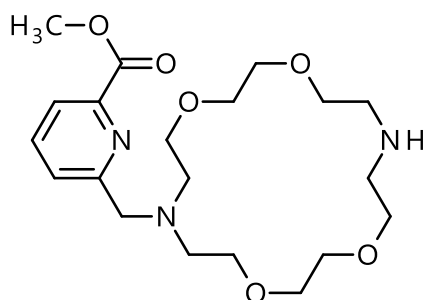
A una mezcla de metilo 4-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (3,60 g, 12,2 mmol, Intermediario 5) y trietilamina (5,1 ml, 37 mmol) en DCM (50 mL) se agregó cloruro de metanosulfonilo (1,68 g, 14,6 mmol) por goteo a 0°C. Después de agitar a 0°C durante

5 1 hora, la mezcla de reacción se apagó con agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la cromatografía de columna instantánea (éter de petróleo/EtOAc = 4:1 a 1:1) a fin de obtener el compuesto objetivo (3,10 g, 68 % de pureza) en forma de un aceite de color amarillo.

- 10 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 7,94 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,65 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 5,34 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,32 (s, 3H), 2,96 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,63 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,35 (s, 9H).

Intermediario 7.

Metil 6-((1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-ilmetil)piridina-2-carboxilato



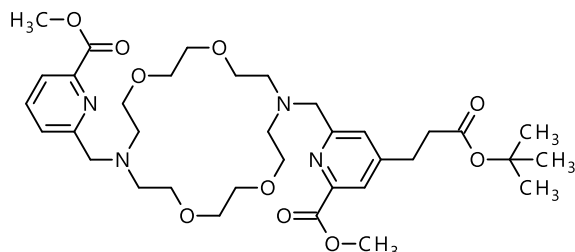
- 15 Una mezcla de 1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecano (4,50 g, 17,2 mmol, [23978-55-4]), metilo 6-(((metanosulfonil)oxi)metil)piridina-2-carboxilato (3,79 g, 15,4 mmol, [871235-14-2]) y carbonato de potasio (4,74 g, 34,3 mmol) en acetonitrilo (150 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se filtró, y la torta filtro se lavó con acetonitrilo tres veces. El filtrado se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la
- 20 cromatografía de columna en gel de sílice (malla 100-200, éter de petróleo/EtOAc = 1:1, luego 1:2, luego 0:1, luego EtOAc/metanol = 10:1) a fin de obtener el compuesto objetivo (3,00 g, 42 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] = 7,94–7,89 (m, 2H), 7,84 (dd, $J = 2,4, 6,4\text{Hz}$, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,80 (s, 2H), 3,49–3,44 (m, 16H), 2,73 (t, $J = 5,6\text{ Hz}$, 4H), 2,67 (t, $J = 4,8\text{ Hz}$, 4H).

Intermediario 8.

Metil 4-(3-ter-butoxi-3-oxo-propil)-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-

5 1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxilato

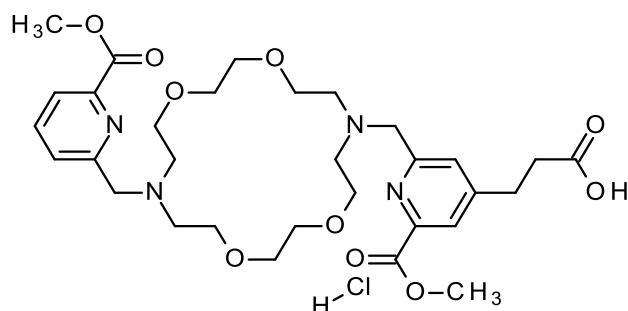


Una mezcla de metilo 6-[(1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato (1,50 g, 3,65 mmol, Intermediario 7), metilo 4-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-[[{(metanosulfonil)oxi]metil]piridina-2-carboxilato (1,09 g, 2,92 mmol, Intermediario 6),
 10 carbonato de potasio (1,01 g, 7,29 mmol) y yoduro de sodio (50,0 mg) en acetonitrilo (30 mL) se agitó a 50°C durante 16 horas. La mezcla se filtró, y la torta filtro se lavó con acetonitrilo tres veces. El filtrado se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la HPLC preparativa de fase inversa (Instrumento: Agela HP1000; columna: Welch Ultimate XB_C18 150 x 400 mm 20/40 μm ; eluyente A: agua/0,1 % FA), eluyente B: ACN; gradiente: 0–
 15 30 % B durante 30 min; flujo 100 mL/min; detector: UV 220/254 nm) a fin de obtener el compuesto objetivo (830 mg, 33 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] = 7,93–7,86 (m, 2H), 7,81 (dd, $J = 7,2, J = 1,6\text{ Hz}$, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,86 (s, 3H), 3,83 (s, 2H), 3,79 (s, 2H), 3,55–3,53 (m, 8H), 3,50 (s, 8H), 2,88 (t, $J = 7,2\text{ Hz}$, 2H), 2,76–2,74 (m, 8H), 2,57 (t, $J = 7,2\text{ Hz}$, 2H), 1,33 (s, 9H).
 20 9H).

Intermediario 9 (M3).

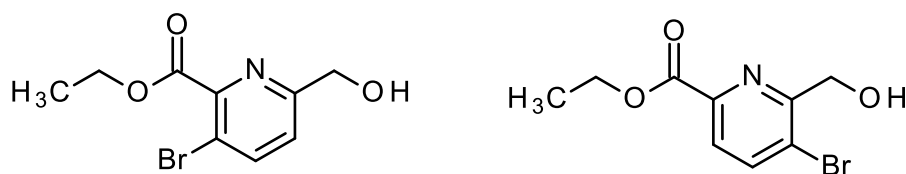
Ácido 3-[2-metoxycarbonil-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoico



A una solución de metil 4-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato (780 mg, 1,13 mmol, Intermediario 8) en 1,4-dioxano (20 mL) se agregó ácido clorhídrico (10 mL, 4,0 M en 1,4-dioxano, 40 mmol) a 25°C. Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, la mezcla se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se disolvió en agua y se liofilizó a fin de obtener el compuesto objetivo (640 mg, 88 % de pureza, 74 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo. El producto se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 5-95 % B durante 0,8 min donde A = agua/0,0375 % TFA y B = ACN//0,01875 % TFA, caudal: 1,5 mL/min, columna: Chromolith@Flash RP-18E 25 x 2 mm, detección: matriz de diodo de UV, temperatura: 50°C tiempo de retención de producto: 0,57 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH⁺: 633,3, hallado m/z: 633,2).

Intermediarios 10 y 11.

Etilo 3-bromo-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato y etilo 5-bromo-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato



A una solución de dietilo 3-bromopiridina-2,6-dicarboxilato (50,0 g, 165 mmol, [2021236-26-8]) en etanol (500 mL) y diclorometano (100 mL) se agregó tetrahidroborato de sodio (6,26 g, 165 mmol) en porciones a 0°C. Después de agitar a 25°C durante 12 horas, la mezcla de reacción se apagó mediante la adición de cloruro de amonio saturado. La solución resultante se extrajo con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la cromatografía de columna instantánea en gel de sílice (éter de petróleo: etilo acetato = 2: 1) a fin de obtener etil 3-bromo-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (16 g, 37 % de rendimiento, Intermediario 10) y etil 5-bromo-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (13 g, 30 % de rendimiento, Intermediario 11) en forma de un aceite de color amarillo.

Intermediario 10..

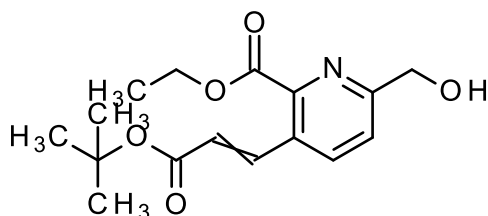
¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8,20 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 8,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,64 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,53 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 4,36 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,32 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Intermediario 11

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] = 8,25 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,38 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,67 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 4,35 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,33 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Intermediario 12.

Etil 3-(3-ter-butoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato



5

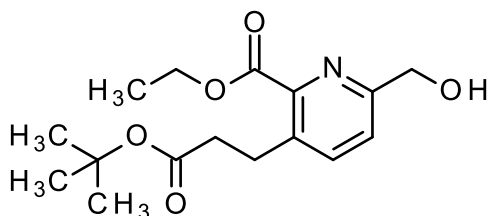
A una solución de etilo 3-bromo-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (16,0 g, 61,5 mmol, Intermediario 10) en acetonitrilo (160 mL) se agregaron ter-butilo prop-2-enoato (11,8 g, 92,3 mmol), trietilamina (34 ml, 250 mmol), paladio(II) acetato (691 mg, 3,08 mmol) y tri-2-tolilfosfina (1,87 g, 6,15 mmol) a 25°C. Después de agitar a 100°C durante 16 horas bajo atmósfera de nitrógeno, la mezcla se vertió en agua y se extrajo con etilo acetato. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la cromatografía de columna instantánea en gel de sílice (éter de petróleo: etilo acetato = 1: 1) a fin de obtener etilo 3-(3-ter-butoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (17,3 g, 92 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

15

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] = 8,36 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,57 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 5,61 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,59 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 4,37 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,48 (s, 9H), 1,33 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Intermediario 13.

20 Etil 3-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato



25

A una solución de etilo 3-(3-ter-butoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (17,3 g, 56,3 mmol, Intermediario 12) en etanol (200 mL) se agregó paladio sobre carbón activado (1,7 g, contenía 50 % de agua, 10 % de pureza) a 20°C. Después de agitar a 20°C durante 16 horas bajo hidrógeno (103,4 kPa ((15 psi))), la mezcla se filtró a través de una

almohadilla de celite. El filtrado se concentró a fin de obtener producto etil 3-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato en forma de un aceite de color amarillo.

El producto se combinó con el material de un experimento anterior (2,30 g), se disolvió en etanol, y se concentró a fin de obtener etil 3-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (16,5 g, 75 %) en forma de un aceite de color amarillo.

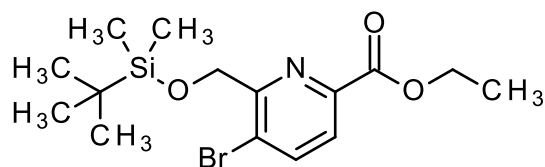
LC-MS (Método 2): R_t = 0,817 min; MS (ESIpos): m/z = 310,2 $[M+H]^+$.

1H RMN (CLOROFORMO- d , 400 MHz): δ (ppm) 7,68 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 4,77 (s, 2H), 4,44 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,13 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,57 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 1,42 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,40 (s, 9H). No se observa OH.

^{13}C RMN (CLOROFORMO- d , 101 MHz): δ (ppm) 171,8, 166,1, 157,4, 146,9, 140,0, 135,7, 122,7, 80,6, 64,0, 61,8, 36,4, 28,0, 27,9 (3C), 14,2.

Intermediario 14.

Etil 5-bromo-6-([ter-butil(dimetil)silil]oxi)metil]piridina-2-carboxilato

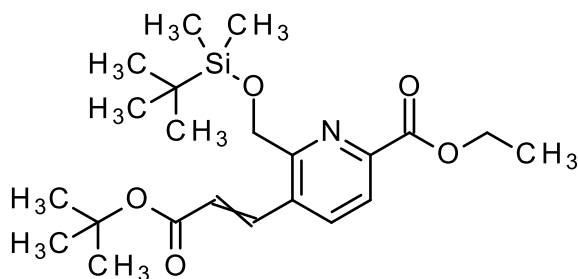


A una mezcla de etil 5-bromo-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (13,0 g, 50,0 mmol, Intermediario 11) e imidazol (6,81 g, 100 mmol) en diclorometano (130 mL) se agregó ter-butil(cloro)dimetilsilano (9,04 g, 60,0 mmol) en porciones a 0°C. Después de agitar a 25°C durante 16 horas, la mezcla se vertió en agua y se extrajo con diclorometano. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la cromatografía de columna instantánea en gel de sílice (éter de petróleo: etilo acetato = 20: 1) a fin de obtener etilo 5-bromo-6-([ter-butil(dimetil)silil]oxi)metil]piridina-2-carboxilato (18,0 g, 96 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = 8,25 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,87 (s, 2H), 4,34 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,32 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 0,87 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Intermediario 15.

Etil 5-(3-ter-butoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)-6-([ter-butil(dimetil)silil]oxi)metil]piridina-2-carboxilato

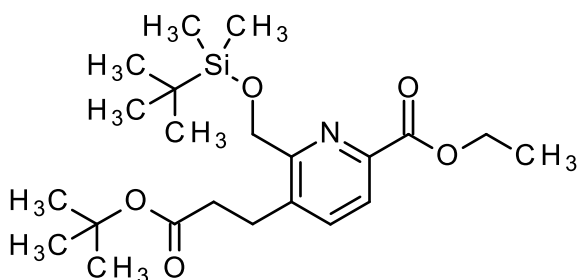


A una solución de etil 5-bromo-6-(([[ter-butil(dimetil)silil]oxi]metil)piridina-2-carboxilato (18,0 g, 48,1 mmol, Intermediario 14) en acetonitrilo (200 mL) se agregaron ter-butilo prop-2-enoato (9,24 g, 72,1 mmol), trietilamina (27 mL, 190 mmol), paladio(II) acetato (540 mg, 2,40 mmol) y tri-2-tolilfosfina (1,46 g, 4,81 mmol) a 25°C. Después de agitar a 100°C durante 16 horas bajo atmósfera de nitrógeno, la mezcla se vertió en agua y se extrajo con etil acetato. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la cromatografía de columna instantánea en gel de sílice (éter de petróleo: etilo acetato = 20: 1) a fin de obtener etil 5-(3-ter-butoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)-6-(([[ter-butil(dimetil)silil]oxi]metil)piridina-2-carboxilato (19,0 g, 94 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8,37 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,99 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,90 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H), 6,62 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,35 (q, *J* = 6,8 Hz, 2H), 1,48 (s, 9H), 1,33 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,08 (s, 6H).

15 **Intermediario 16.**

Etil 5-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(([[ter-butil(dimetil)silil]oxi]metil)piridina-2-carboxilato

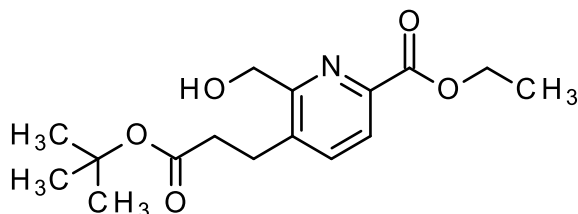


A una solución de etil 5-(3-ter-butoxi-3-oxoprop-1-en-1-il)-6-(([[ter-butil(dimetil)silil]oxi]metil)piridina-2-carboxilato (19,0 g, 45,1 mmol, Intermediario 15) en etanol (200 mL) se agregó paladio sobre carbón activado (1,77 g, contenía 50 % de agua, 10 % de pureza) a 20°C. Después de agitar a 50°C durante 16 horas bajo hidrógeno (103,4 kPa ((15 psi))), la mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite. El filtrado se concentró a fin de obtener etil 5-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(([[ter-butil(dimetil)silil]oxi]metil)piridina-2-carboxilato (19,0 g, 99 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ [ppm] = 7,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,83 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,84 (s, 2H), 4,33 (q, J = 6,8 Hz, 2H), 3,00 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 2,60 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,32 (t, J = 6,8 Hz, 3H), 0,86 (s, 9H), 0,08 (s, 6H).

Intermediario 17.

5 Etil 5-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato



A una mezcla de etil 5-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-([ter-butil(dimetil)silil]oxi)metil)-piridina-2-carboxilato (19,0 g, 44,9 mmol, Intermediario 16) en tetrahidrofurano (200 mL) se agregó fluoruro de tetra-N-butilamonio (54 mL, 1,0 M en tetrahidrofurano, 54 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 0,5 horas, la mezcla se concentró. El residuo se combinó con el material de un experimento anterior (4,30 g), se disolvió en agua y se extrajo con etil acetato. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a fin de obtener un residuo. El residuo se purificó por medio de la cromatografía de columna instantánea (éter de petróleo: etilo acetato = 3: 2) a fin de obtener etilo 5-(3-ter-butoxi-3-oxopropil)-6-(hidroximetil)piridina-2-carboxilato (13,5 g, 74 %) en forma de un aceite de color amarillo.

LC-MS (Método 2): R_t = 0,867 min; MS (ESIpos): m/z = 310,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz): δ (ppm) 7,92 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-3), 7,82 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-4), 5,31 (t, J = 5,7 Hz, 1H, OH), 4,66 (d, J = 5,7 Hz, 2H, 6- CH_2), 4,34 (q, J = 7,0 Hz, 2H, 2-O CH_2), 3,00 (t, J = 7,6 Hz, 2H, 5- CH_2), 2,61 (t, J = 7,6 Hz, 2H, 5- CH_2CO), 1,37 (s, 9H, t-Bu), 1,33 (t, J = 7,1 Hz, 3H, 2- CH_3). La asignación proporcionada es consistente con los experimentos NOESY y COSY.

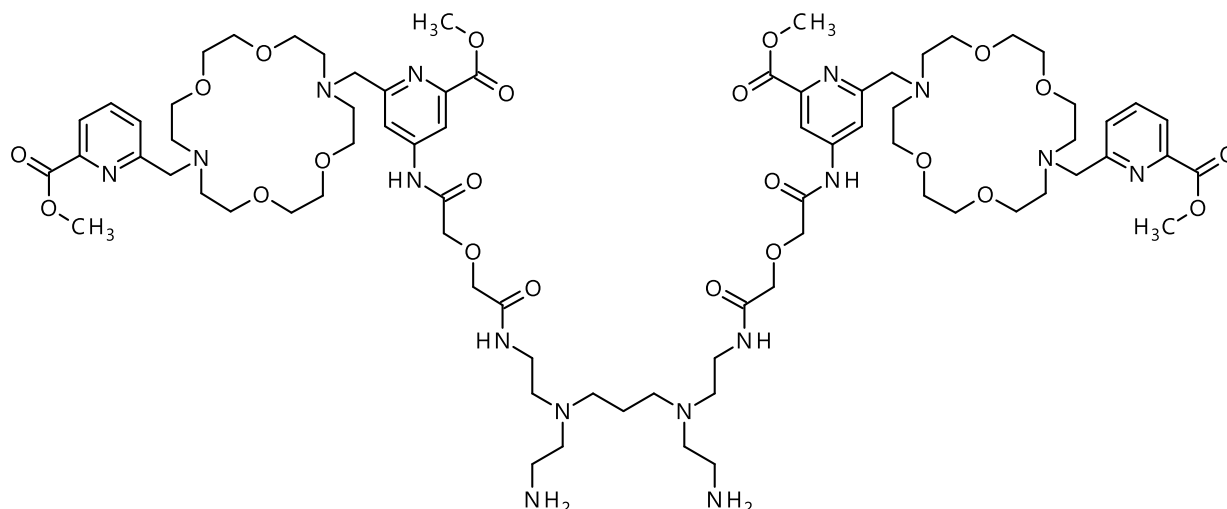
^{13}C RMN (CLOROFORMO- d , 101 MHz): δ (ppm) 171,2, 164,9, 156,5, 144,6, 137,1, 136,6, 123,8, 81,2, 61,7, 61,5, 34,4, 28,0 (3C), 25,3, 14,3.

25 SECCIÓN EXPERIMENTAL – EJEMPLOS.

Quelantes diméricos.

Ejemplo 1 (Dim1).

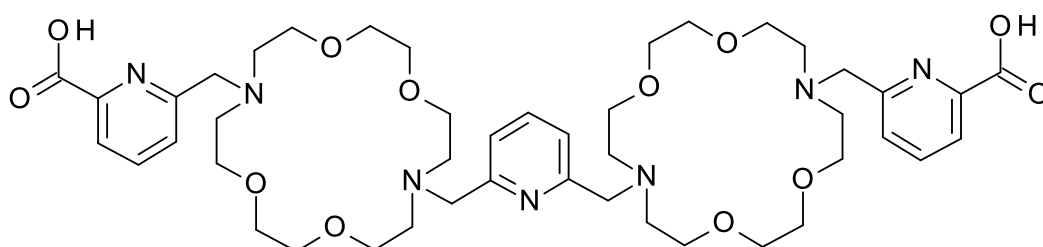
Dimetilo 4,4'-{[9,13-bis(2-aminoetil)-1,5,17,21-tetraoxo-3,19-dioxa-6,9,13,16-tetraazahenicosano-1,21-diil]diimino}bis{6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato}



- 5 N,N,N',N'-tetrakis(2-aminoetil)propano-1,3-diamina (4,5 mg, [871235-14-2]), ácido [2-({2-(metoxicarbonil)-6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}amino)-2-oxoetoxi]acético (13,3 mg, Intermediario 3) y PyAOP (10 mg) se disolvieron en NMP (1 mL). Se agregó DIPEA (11,2 μ L), y la reacción se dejó durante 24 hrs. La mezcla de reacción se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), y el
- 10 producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 μ m C18(2) 100 Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10-40 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 7,6 mg (74 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10-40 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 %
- 15 TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 μ m, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,43 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH^+ : 1593,8, hallado m/z: 1593,9).

Ejemplo 2 (Dim2).

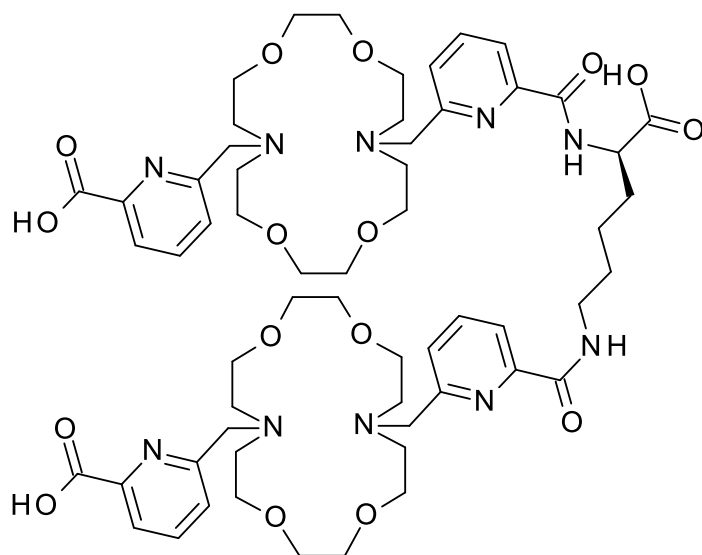
- 20 **Ácido 6,6'-[piridina-2,6-diilbis(metileno-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecano-16,7-diilmetileno)]dipiridina-2-carboxílico**



Ácido 6-(1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-ilmetil)piridina-2-carboxílico (238 mg, 0,507 mmol, preparado como se describe en Angewandte Chemie, Nikki et al, 2017) se mezcló con Na₂CO₃ (70 mg, 0,660 mmol) en ACN (10 mL). Se agregó DIPEA (0,44 mL, 2,538 mmol). La solución se calentó a reflujo y se agitó durante 10 min, luego se agregó 2,6-bis-(bromometil)piridina (40 mg, 0,152 mmol) en ACN (5 mL) y se agitó durante 3 días bajo nitrógeno. La solución se filtró y se evaporó al vacío. El residuo se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 5–30 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 36,7 mg (27 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 5–30 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,42 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH⁺: 898,5, hallado m/z: 898,5).

Ejemplo 3 (Dim3).

Ácido 6-[[16-[[6-[(5R)-5-carboxi-5-[[6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carbonil]amino]pentil]carbamoil]-2-piridil]metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxílico



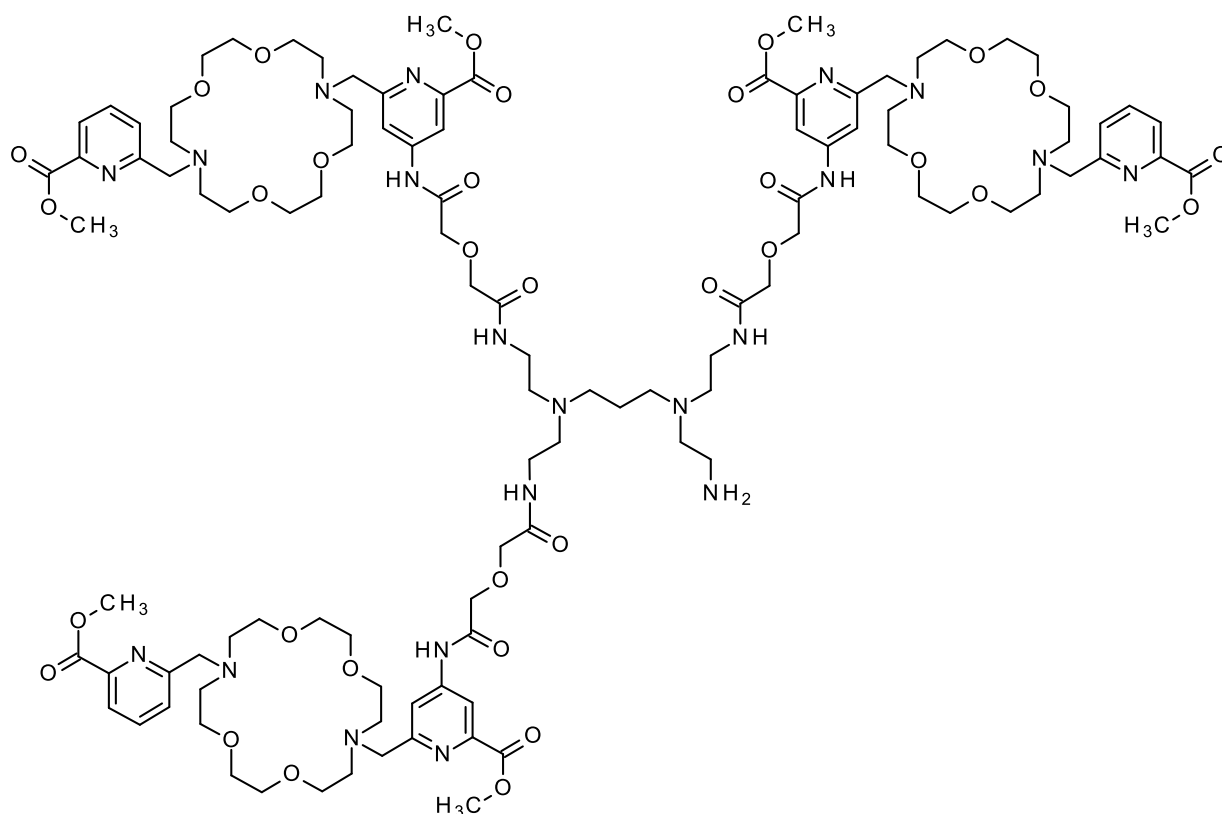
D-lisina (0,5 mg) y bis(2,3,5,6-tetrafluorofenil) 6,6'-[1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecano-7,16-diilbis(metileno)]dipiridina-2-carboxilato (Ejemplo 15; 5,7 mg) se disolvieron en PBS (1 mL) y NMP (0,4 mL), y la solución se calentó a 40–60°C durante 5 horas. La solución se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), y el producto se aisló por medio de la purificación de HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50

mm; gradiente: 5–30 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 7,6 mg (74 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10–50 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 μ m, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,02 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH^+ : 1175,6, hallado m/z : 1175,6).

Quelantes triméricos.

10 Ejemplo 4 (Tri1).

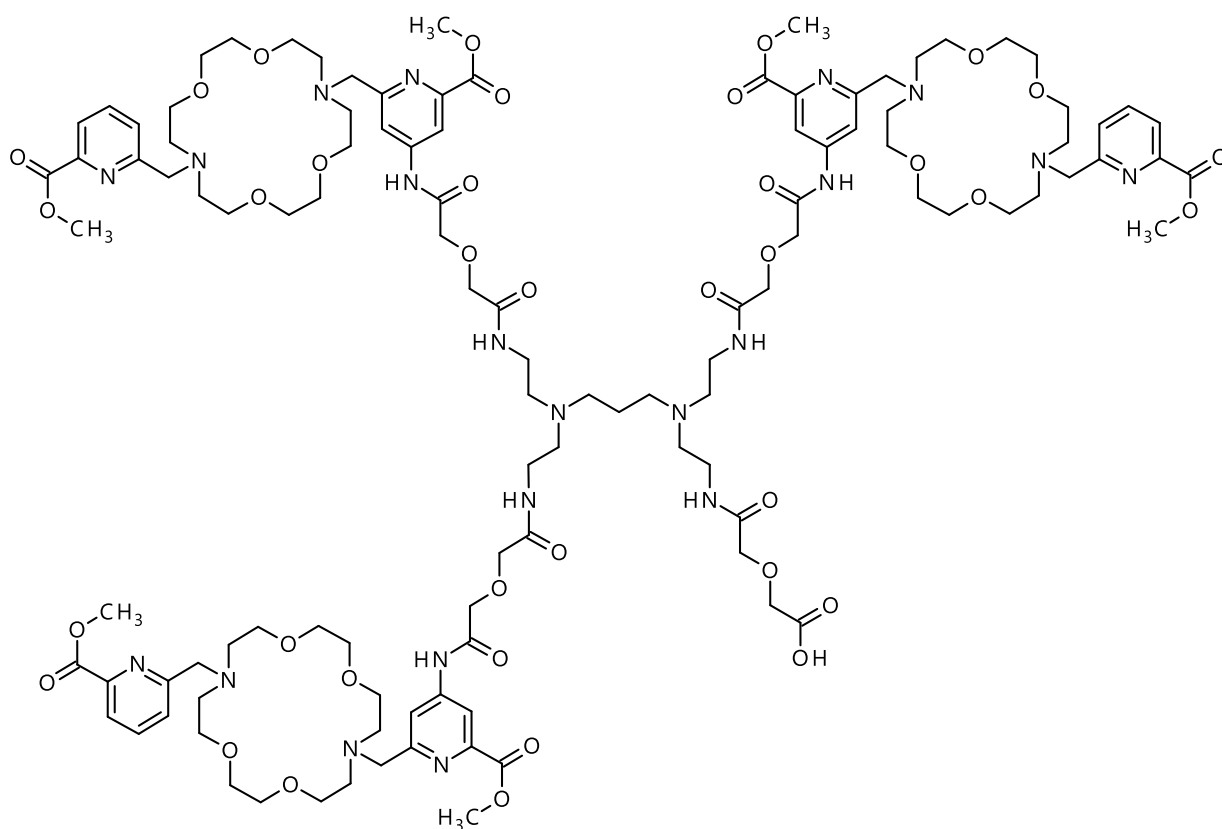
Dimetil 4,4'-[13-(2-aminoetil)-9-(2-{2-[2-({2-(metoxicarbonil)-6-[(16-[[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}amino)-2-oxoetoxi]acetamido)etil)-1,5,17,21-tetraoxo-3,19-dioxa-6,9,13,16-tetraazahenicosano-1,21-diil]diimino}bis{6-[(16-[[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato}



N,N,N',N'-tetrakis(2-aminoetil)propano-1,3-diamina (8 mg, [871235-14-2]), ácido [2-({2-(metoxicarbonil)-6-[(16-[[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}amino)-2-oxoetoxi]acético (23,6 mg, Intermediario

20

Ácido 2-[2-[2-[3-[bis[2-[[2-[2-[[2-metoxicarbonil-6-[[16-[(6-metoxicarbonil-2-
piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]amino]-2-
15 oxo-etoxi]acetil]amino]etil]amino]propil-[2-[[2-[2-[[2-metoxicarbonil-6-[[16-[(6-
metoxicarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-
4-piridil]amino]-2-oxo-etoxi]acetil]amino]etil]amino]etilamino]-2-oxo-etoxi]acético



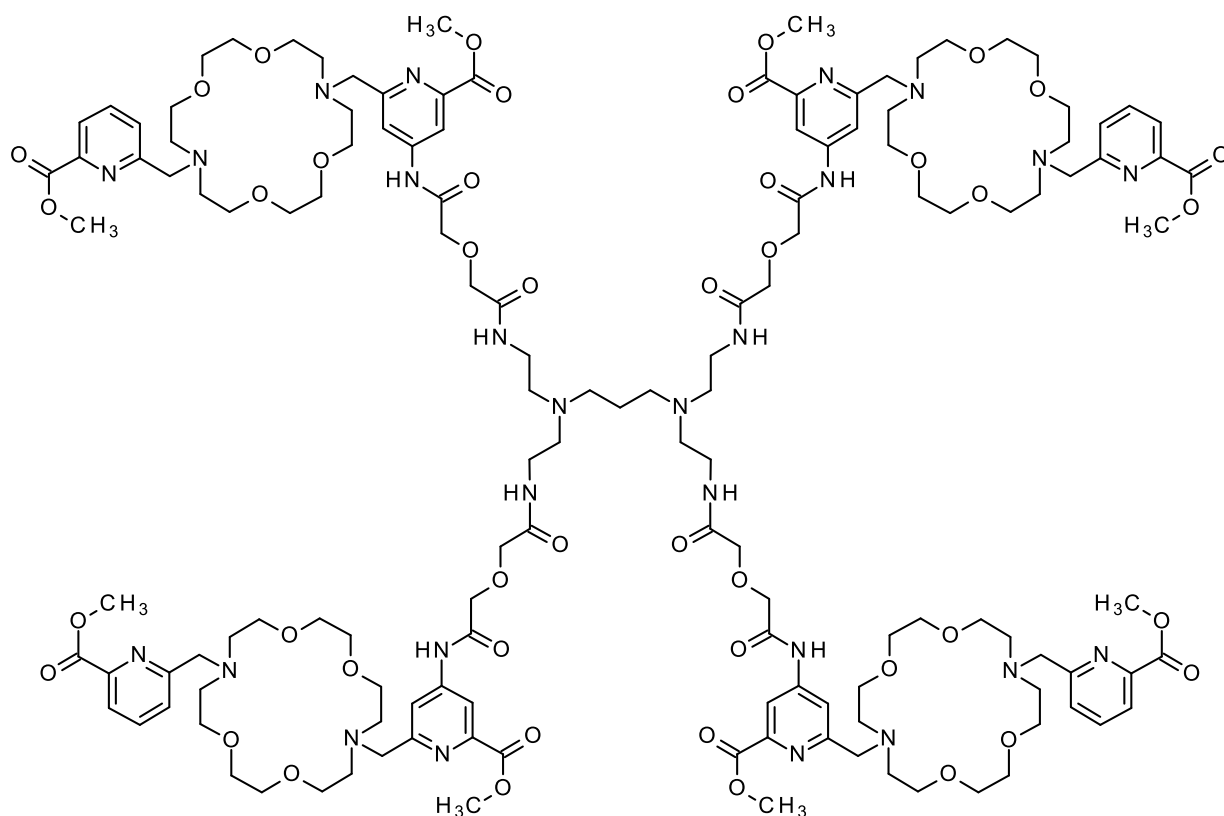
- 60 -

il)metil]piridin-4-il}amino)-2-oxoetoxi]acetamido}etil)-1,5,17,21-tetraoxo-3,19-dioxa-6,9,13,16-tetraazahenicosano-1,21-diil]diimino}bis{6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato} (11,4 mg, Ejemplo 4), anhídrido diglicólico (2,9 mg) y DPEA (4,4 µL) se disolvieron en NMP (1 mL), y la solución se dejó durante 24 horas. La solución se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10-50 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 6,2 mg (52 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10-50 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,31 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH⁺: 2383,3, hallado m/z: 2383,2).

15 Quelantes tetraméricos.

Ejemplo 6 (Tet1).

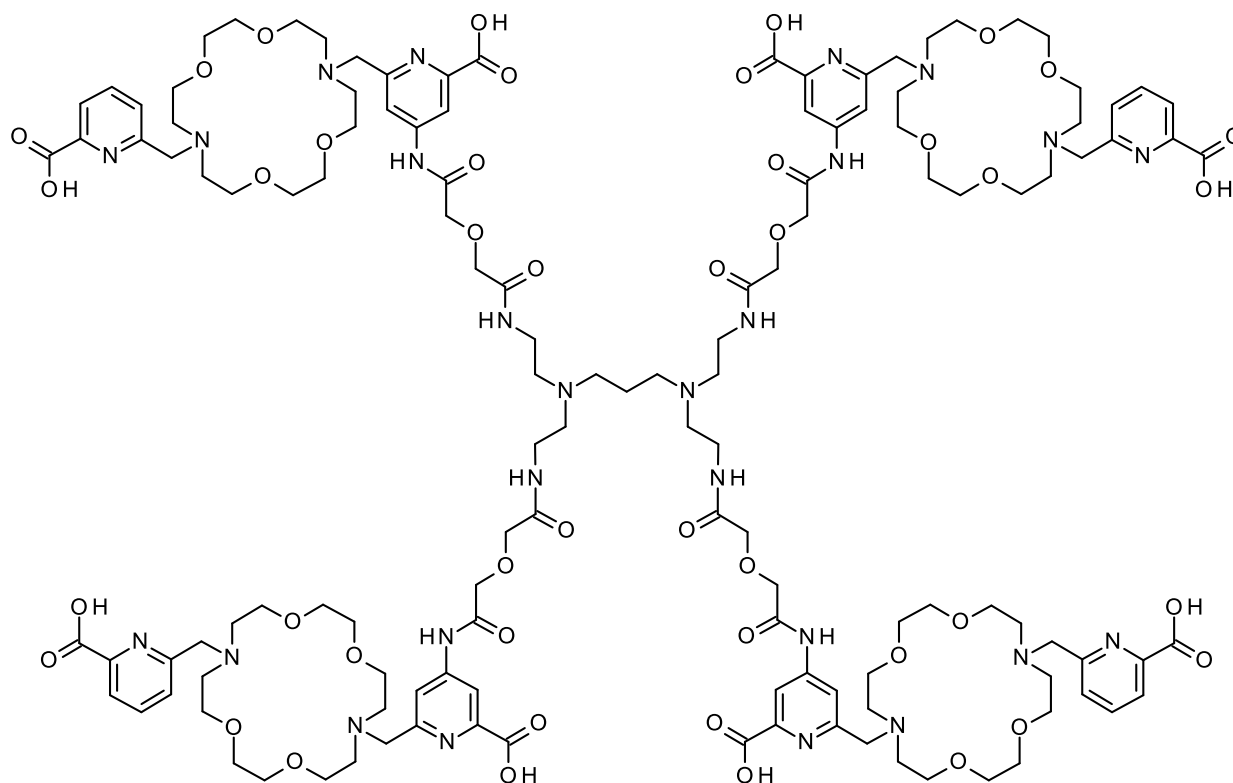
Dimetil 4,4'-{[9,13-bis(2-{2-[2-({2-(metoxicarbonil)-6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}amino)-2-oxoetoxi]acetamido}etil)-1,5,17,21-tetraoxo-3,19-dioxa-6,9,13,16-tetraazahenicosano-1,21-diil]diimino}bis{6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato}



N,N,N',N'-tetrakis(2-aminoetil)propano-1,3-diamina (2 mg, [871235-14-2]), ácido [2-({2-(metoxycarbonil)-6-[(16-{[6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il]amino)-2-oxoetoxi]acético (16,7 mg, intermediario 3) y PyAOP (7,4 mg) se disolvieron en NMP (1 mL). Se agregó DIPEA (9,9 µL), y la reacción se dejó durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10-50 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 8 mg (96 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10-50 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,47 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH⁺: 2940,4, hallado m/z: 2940,4).

Ejemplo 7 (Tet2).

Ácido 4,4'-[(9,13-bis{2-[2-(2-{[2-carboxi-6-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il]amino)-2-oxoetoxi]acetamido]etil}-1,5,17,21-tetraoxo-3,19-dioxa-6,9,13,16-tetraazahenicosano-1,21-diil)diimino]bis[6-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxílico]

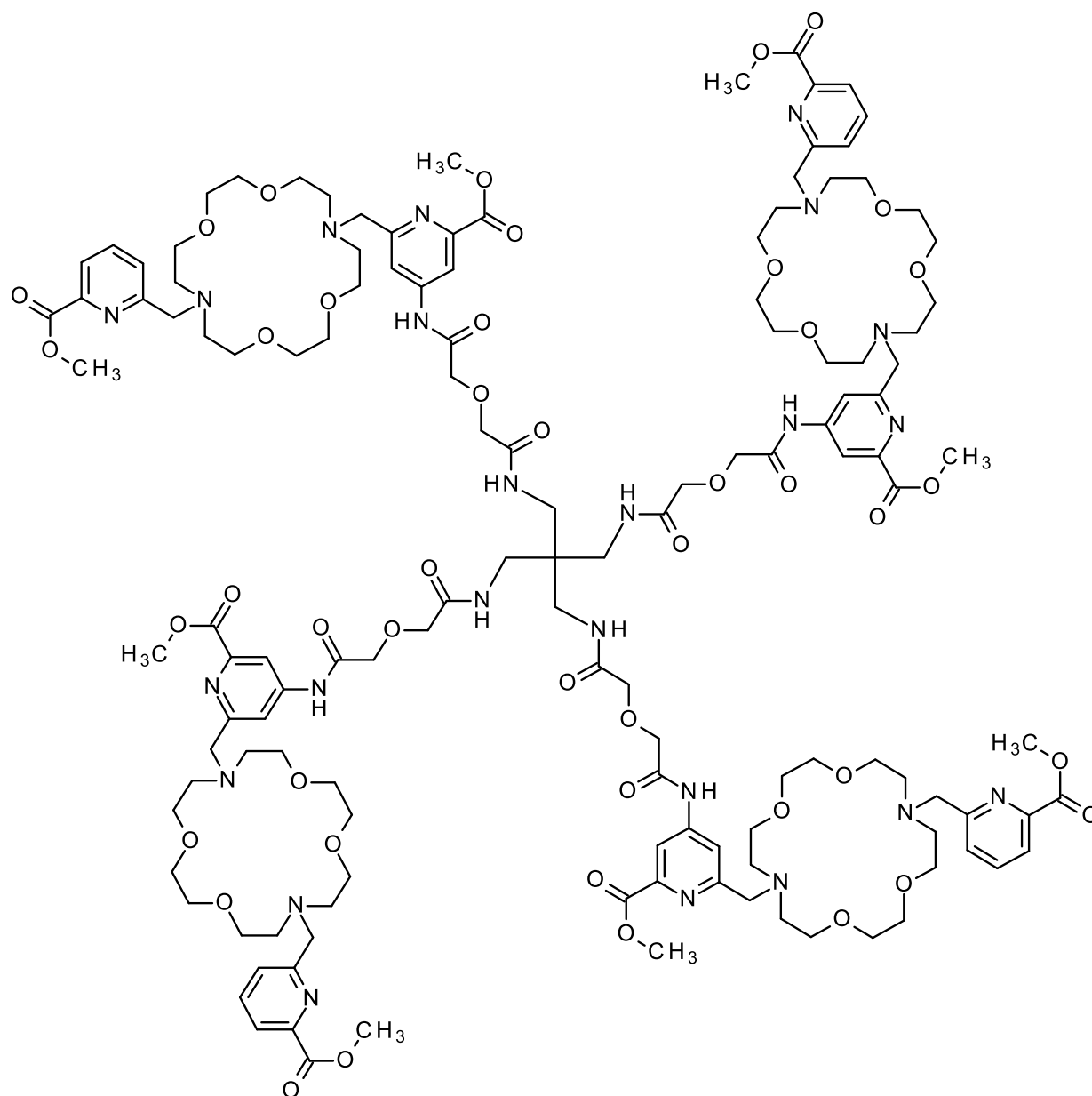


Dimetil 4,4'-[9,13-bis(2-{2-[2-({2-(metoxycarbonil)-6-[(16-{6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}amino)-2-oxoetoxi]acetamido}etil)-1,5,17,21-tetraoxo-3,19-dioxa-6,9,13,16-tetraazahenicosano-1,21-diil]diimino}bis{6-[(16-{6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato} (2,7 mg, Ejemplo 6) se disolvió en 2,5 % amoníaco/10 % ACN (1 mL), y la solución se dejó durante un día. La solución se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), se ajustó a pH 2 con TFA (20 µL), y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10–50 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 1,7 mg (65 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10–50 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,9 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando masa de electropulverización (MH_3^{3+} : 943,8, hallado m/z: 943,8).

Ejemplo 8 (Tet3).

Dimetil 4,4'-[8,8-bis({2-[2-({2-(metoxycarbonil)-6-[(16-{6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}amino)-2-oxoetoxi]acetamido}etil)-1,5,11,15-tetraoxo-3,13-dioxa-6,10-diazapentadecano-

1,15-diil]diimino}bis{6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato}

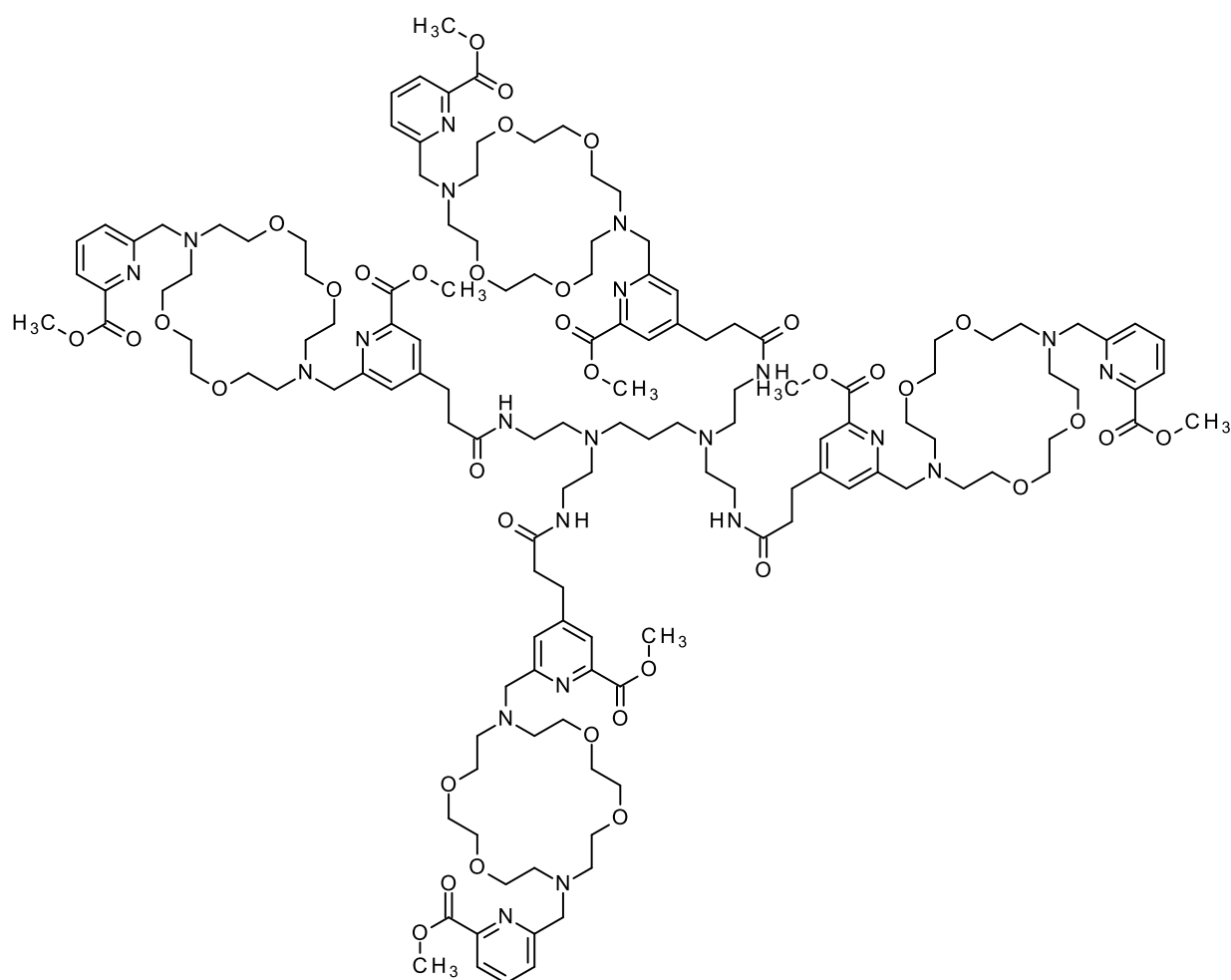


5 Tetraclorhidrato de 2,2-bis(aminometil)propano-1,3-diamina (1 mg, [14302-75-1]), ácido [2-
 5 ({2-(metoxicarbonil)-6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-
 diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}amino)-2-oxoetoxi]acético (14,2 mg, Intermediario
 3) y PyAOP (25,3 mg) se disolvieron en NMP (1 mL). Se agregó DIPEA (18,8 µL), y la reacción
 se calentó a 60°C durante 2 días. La mezcla de reacción se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL),
 y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm
 10 C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10-50 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y
 B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 6,6 mg (65 % de
 rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó
 por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10-50 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 %

TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 μ m, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,53 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH_2^{2+} : 1413,7, hallado m/z: 1413,7).

5 Ejemplo 9 (Tet4).

Dimetil 4,4'-[7,11-bis[2-(3-{2-(metoxicarbonil)-6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}propanamido)etil]-3,15-dioxo-4,7,11,14-tetraazaheptadecano-1,17-diil}bis{6-[(16-{[6-(metoxicarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato}

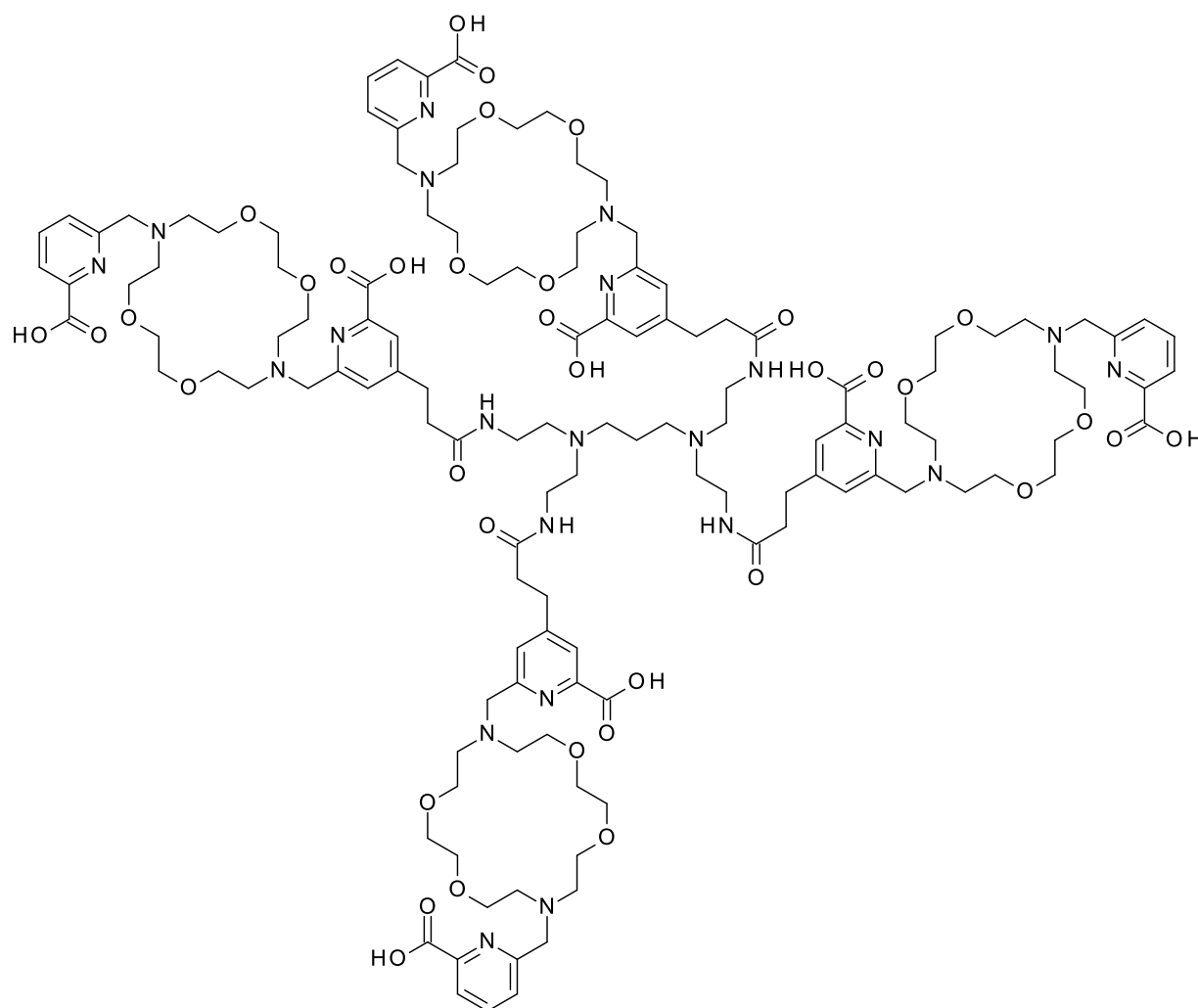


N,N,N',N'-tetrakis(2-aminoetil)propano-1,3-diamina (15 mg), [871235-14-2], ácido 3-[2-metoxicarbonil-6-[(16-{[6-(metoxicarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoico (81 mg, Intermediario 9) y PyAOP (94,6 mg) se disolvieron en NMP (1 mL). Se agregó DIPEA (149 μ L), y la reacción se dejó durante 20 min. Se agregaron dos porciones más (20 mg y 8 mg) de PyAOP, y la reacción se dejó durante 20 min después de cada adición. La mezcla de reacción se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), y

el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 μm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10–40 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 47 mg (81 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10–40 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 μm , 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,69 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH^+ : 2704,4, hallado m/z : 2704,5).

10 Ejemplo 10 (Tet5).

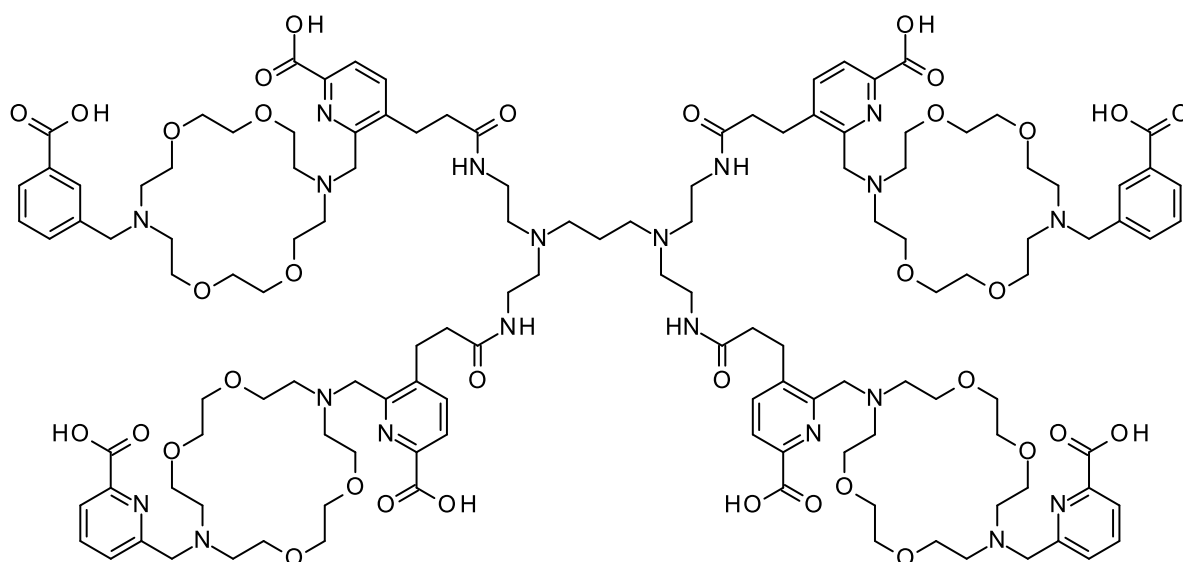
Ácido 4,4'-[7,11-bis(2-{3-[2-carboxi-6-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il}metil)piridin-4-il]propanamido}etil)-3,15-dioxo-4,7,11,14-tetraazaheptadecano-1,17-diil]bis[6-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il}metil)piridina-2-carboxílico]



Dimetil 4,4'-[7,11-bis[2-(3-{2-(metoxycarbonil)-6-[(16-{[6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridin-4-il}propanamido)etil]-3,15-dioxo-4,7,11,14-tetraazaheptadecano-1,17-diil]bis{6-[(16-{[6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]metil}-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il)metil]piridina-2-carboxilato} (47 mg, Ejemplo 9) se disolvió en 20 % ACN/agua (2 mL). Se agregó 5 M NaOH (100 µL), y la solución se dejó durante 1 hora, luego se ajustó a pH 2 con TFA (50 µL), se diluyó con agua/0,1 % TFA (7 mL), y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10-40 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 33 mg (70 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10-40 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,03 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH⁺: 2592,3, hallado m/z: 2592,4).

Ejemplo 11 (Tet6).

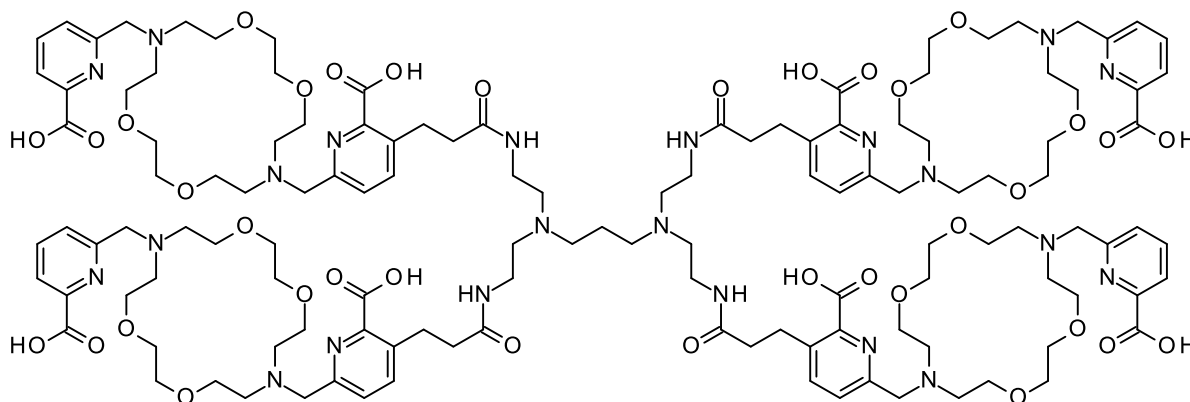
Ácido 5,5'-[7,11-bis(2-{3-[6-carboxi-2-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il}metil]piridin-3-il}propanamido)etil)-3,15-dioxo-4,7,11,14-tetraazaheptadecano-1,17-diil]bis(6-{[16-(3-carboxibencil)-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il]metil]piridina-2-carboxílico)



El compuesto del título se puede obtener usando los métodos que se describen para los Ejemplos 8 y 9 anteriores.

Ejemplo 12 (Tet 7).

Ácido 3,3'-[7,11-bis(2-{3-[2-carboxi-6-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il}metil)piridin-3-il]propanamido}etil)-3,15-dioxo-4,7,11,14-tetraazaheptadecano-1,17-diil]bis[6-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il}metil)piridina-2-carboxílico]



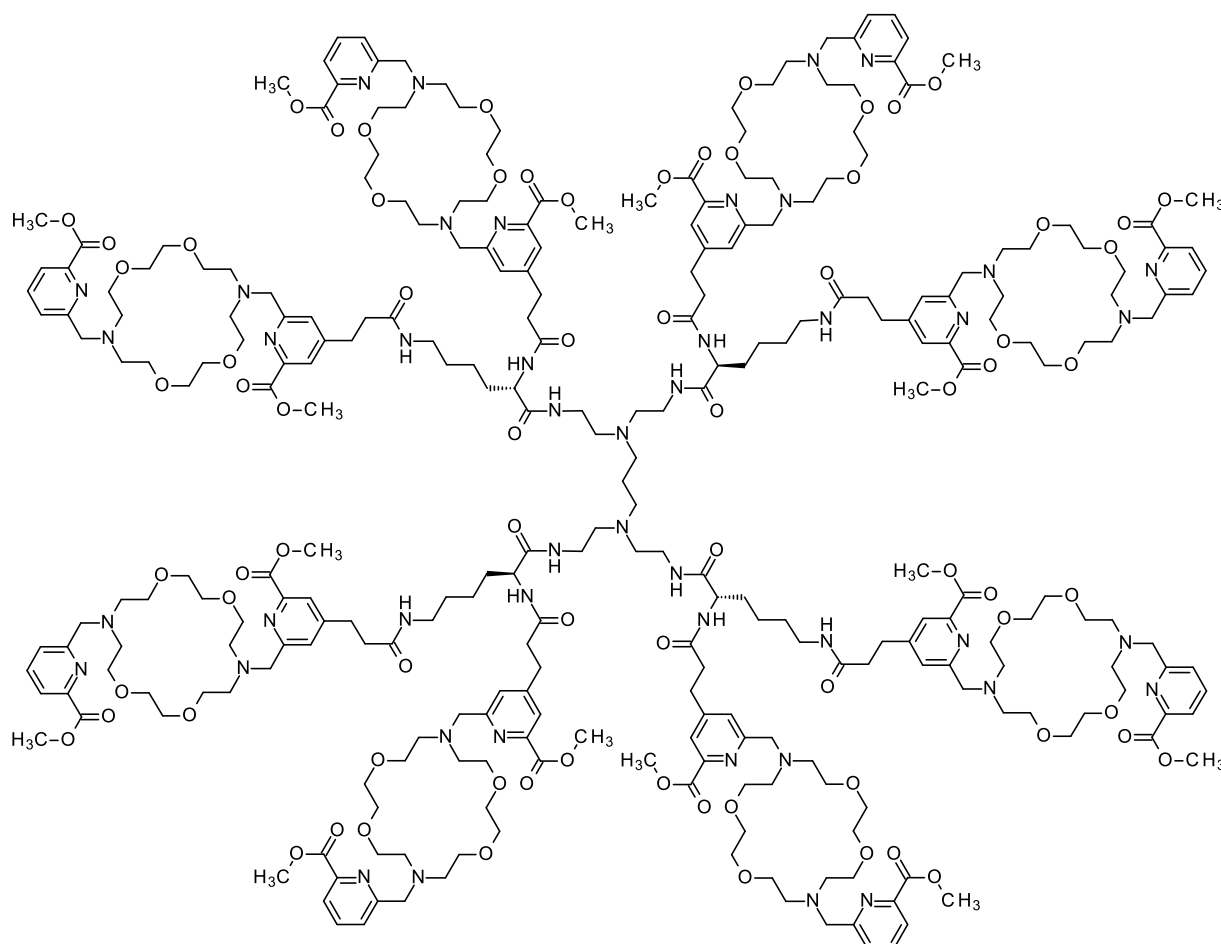
5

El compuesto del título se puede obtener usando los métodos que se describen para los Ejemplos 8 y 9 anteriores.

Quelantes octaméricos.

Ejemplo 13 (Oct1).

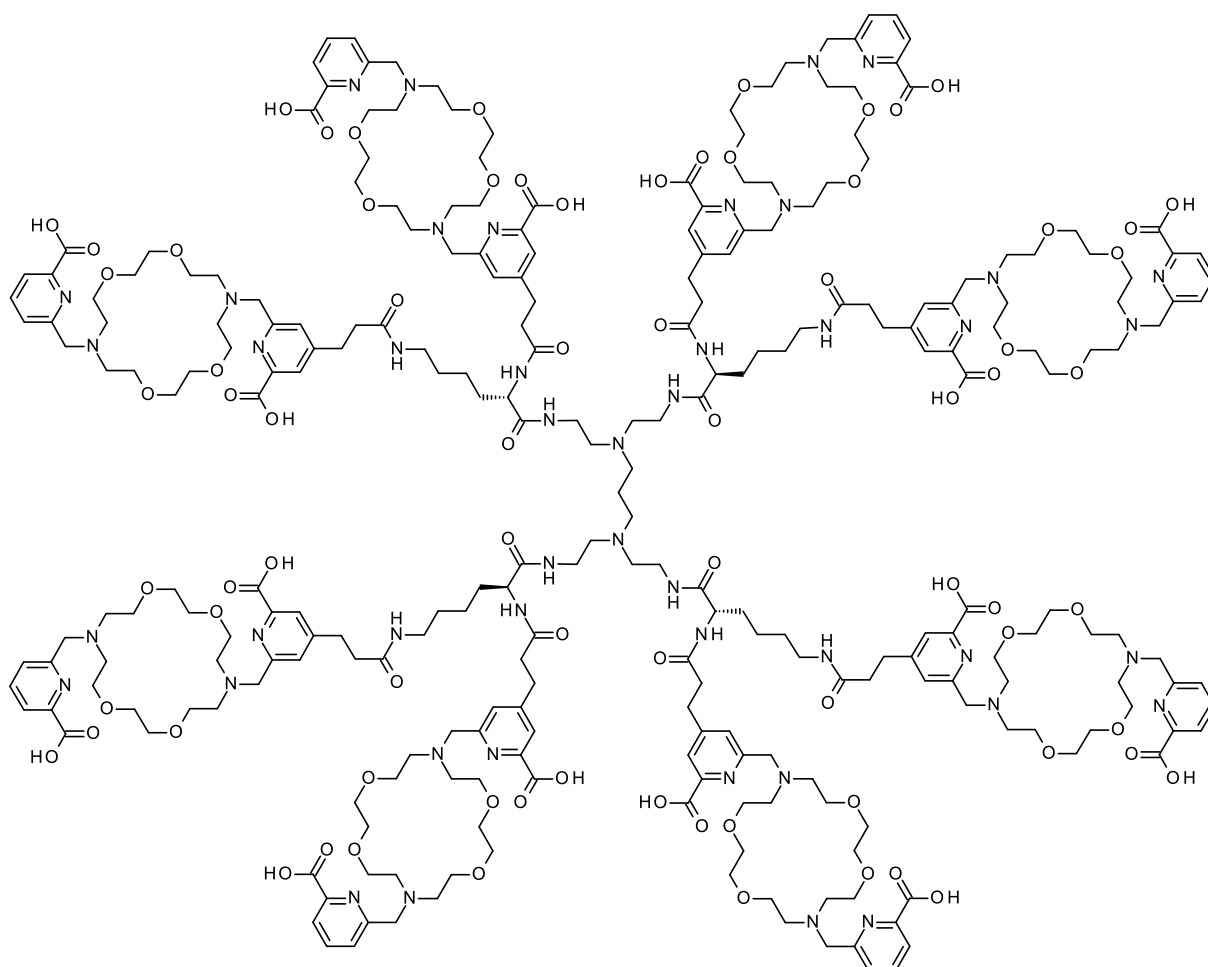
- 10 **Metil 4-[3-[6-[2-[3-[bis[2-[2,6-bis[3-[2-metoxycarbonil-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil]amino]propil-[2-[2,6-bis[3-[2-metoxycarbonil-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil]amino]etilamino]-5-[3-[2-metoxycarbonil-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]-6-oxo-hexil]amino]-3-oxo-propil]-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxilato**
- 15



(2S)-2,6-diamino-N-[2-[3-[bis[2-[(2S)-2,6-diaminohexanoil]amino]etil]amino]propil-[2-[[[(2S)-2,6-diaminohexanoil]amino]etil]amino]etil]hexanamida (5 mg, Intermediario 2), ácido 2-({2-(metoxycarbonil)-6-[[16-[[6-(metoxycarbonil)piridin-2-il]metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il]metil]piridin-4-il]amino)-2-oxoetoxi]acético (15 mg, Intermediario 9) y PyAOP (12,4 mg) se disolvieron en NMP (1 mL). Se agregó DIPEA (16,6 µL), y la reacción se dejó durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con agua/0,1 % TFA (8 mL), y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10–40 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 12,2 mg (78 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10–40 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,77 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH_2^{2+} : 2837,5, hallado m/z: 2837,5).

Ejemplo 14 (Oct2).

Ácido 4-[3-[[6-[2-[3-[bis[2-[2,6-bis[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil]amino]propil-[2-[2,6-bis[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil]amino]etilamino]-5-[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]-6-oxo-hexil]amino]-3-oxo-propil]-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxílico



10

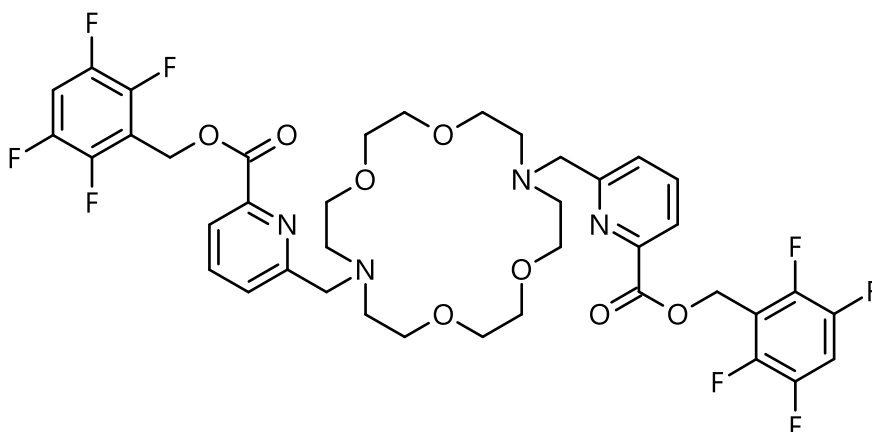
Metil 4-[3-[[6-[2-[3-[bis[2-[2,6-bis[3-[2-metoxycarbonil-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil]amino]propil-[2-[2,6-bis[3-[2-metoxycarbonil-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil]amino]etilamino]-5-[3-[2-metoxycarbonil-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]-6-oxo-hexil]amino]-3-oxo-propil]-6-[[16-[(6-metoxycarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxilato (12,2 mg, Ejemplo 13) se disolvió en agua (2 mL). Se agregó 5 M NaOH (100 μ L),

y la reacción se dejó durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con 10 % ACN/agua/0,1 % TFA (8,5 mL), y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 μ m C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10–30 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de
 5 lograr 7,5 mg (61 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10–30 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 μ m, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,65 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando
 10 espectrometría de masas de electropulverización (MH_2^{2+} : 2725,4, hallado m/z: 2725,4).

Ésteres activos quelantes.

Ejemplo 15 (AE1).

Bis(2,3,5,6-tetrafluorofenil) 6,6'-[1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecano-7,16-diilbis(metileno)]dipiridina-2-carboxilato

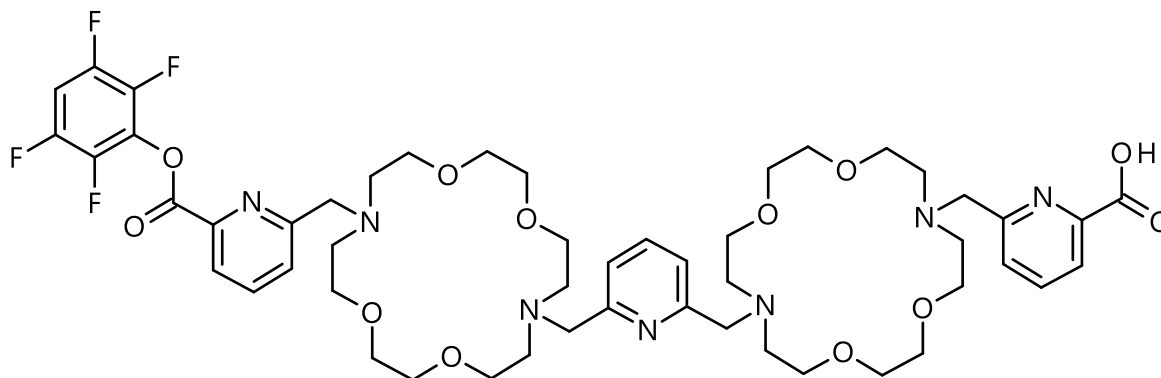


15

Ácido 6,6'-[1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecano-7,16-diilbis(metileno)]dipiridina-2-carboxílico (30 mg, preparado como se describe en Angewandte Chemie, Nikki et al, 2017), TFP (47 mg) y DCC (35 mg) se disolvieron en DCM (1 mL), y la solución se dejó durante 20 horas. Se eliminó el DCM por medio de una corriente de aire, y el residuo se disolvió en ACN
 20 (2 mL), se diluyó con agua/0,1 % TFA (7 mL), se filtró, y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 μ m C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 20–70 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 41 mg (88 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente:
 25 20–70 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 μ m, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,63 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH^+ : 829,2, hallado m/z: 829,2).

Ejemplo 16 (AE2).

Ácido 6-({16-[(6-{{16-[(6-[(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)carbonil]piridin-2-il}metil)-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il]metil}piridin-2-il)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il}metil)piridina-2-carboxílico



5

Ácido 6,6'-[piridina-2,6-diilbis(metileno-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecano-16,7-diilmetileno)]dipiridina-2-carboxílico (10 mg, Ejemplo 2), TFP (9,2 mg) y DCC (5,7 mg) se disolvieron en DCM (1 mL), y la solución se dejó durante 20 horas. Se eliminó el DCM por medio de una corriente de aire, y el residuo se disolvió en ACN (1 mL), se diluyó con agua/0,1 % TFA (7,5 mL), se filtró, y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10–50 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 1,2 mg (10 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10–50 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,52 min). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH⁺: 1046,5, hallado m/z: 1046,5).

10

15

Ejemplo 17 (AE3).

Metil 4-[[2-[2-[2-[2-[2-[2-[[2-metoxicarbonil-6-[[16-[(6-metoxicarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]amino]-2-oxo-etoxi]acetil]amino]etil-[3-[2-[2-[2-[2-metoxicarbonil-6-[[16-[(6-metoxicarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]amino]-2-oxo-etoxi]acetil]amino]etil-[2-[2-[2-oxo-2-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)etoxi]acetil]amino]etil]amino]propil]amino]etilamino]-2-oxo-etoxi]acetil]amino]-6-[[16-[(6-metoxicarbonil-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxilato

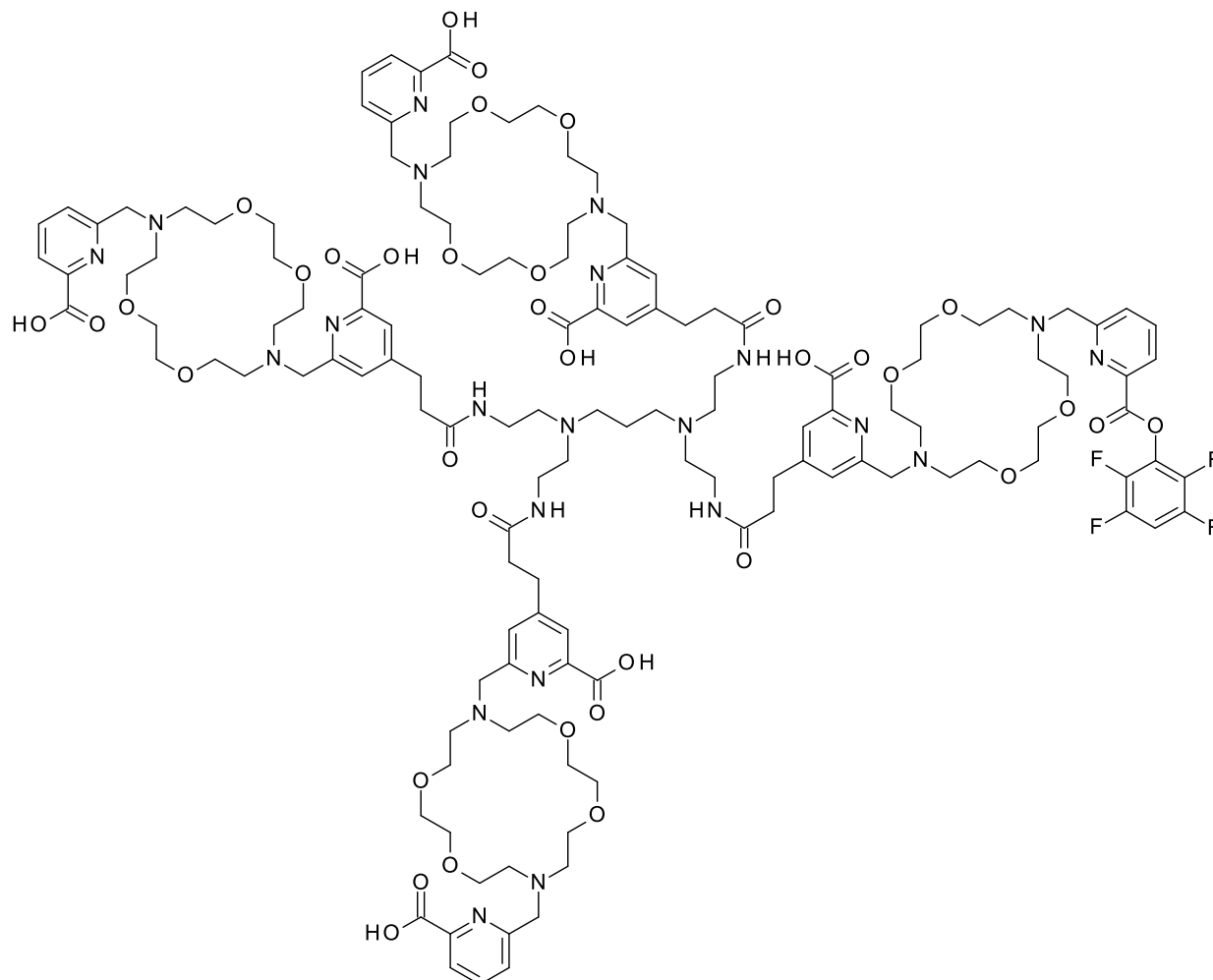
20

25

5
10
15

Ácido 4-[3-[2-[2-[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]etil-[3-[2-[3-[2-carboxi-6-

[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-
4-piridil]propanoilamino]etil-[2-[3-[2-carboxi-6-[[16-[[6-(2,3,5,6-
tetrafluorofenoxi)carbonil-2-piridil]metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-
7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]etil]amino]propil]amino]etilamino]-3-oxo-propil]-
5 6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-
il]metil]piridina-2-carboxílico

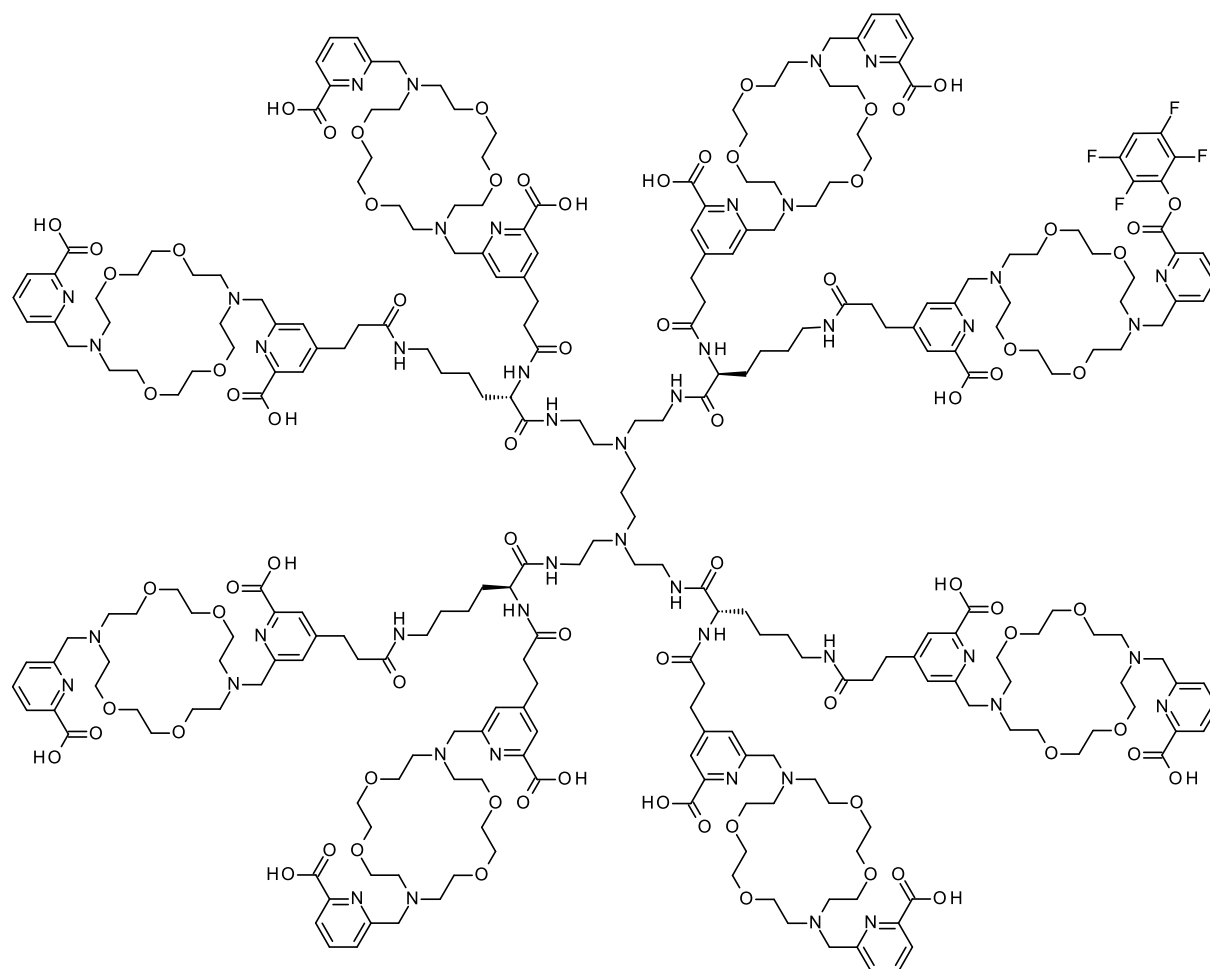


Ácido 4,4'-[7,11-bis(2-{3-[2-carboxi-6-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-
tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il}metil)piridin-4-il]propanamido}etil)-3,15-dioxo-
10 4,7,11,14-tetraazaheptadecano-1,17-diil]bis[6-({16-[(6-carboxipiridin-2-il)metil]-1,4,10,13-
tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7-il}metil)piridina-2-carboxílico] (19,2 mg, Ejemplo 10),
TFP (24,6 mg) y DCC (12,7 mg) se disolvieron en ACN (1 mL), y la solución se dejó durante 30
min. La solución se diluyó con agua/0,1 % TFA (9 mL), se filtró, y el producto se purificó por
medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm;
15 gradiente: 10–60 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min;
detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 6 mg (28 % de rendimiento) del compuesto objetivo
después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica
(gradiente: 10–70 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5

mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,04 y 1,13 min (mezcla de dos regioisómeros)). La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH⁺: 2740,3, hallado m/z: 2740,2).

5 **Ejemplo 19 (AE5).**

Ácido 4-[3-[[6-[2-[2-[2,6-bis[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil-[3-[2-[2,6-bis[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil-[2-[[2-[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]-6-[3-[2-carboxi-6-[[16-[(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)carbonil-2-piridil]metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoil]amino]etil]amino]propil]amino]etilamino]-5-[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]-6-oxo-hexil]amino]-3-oxo-propil]-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxílico

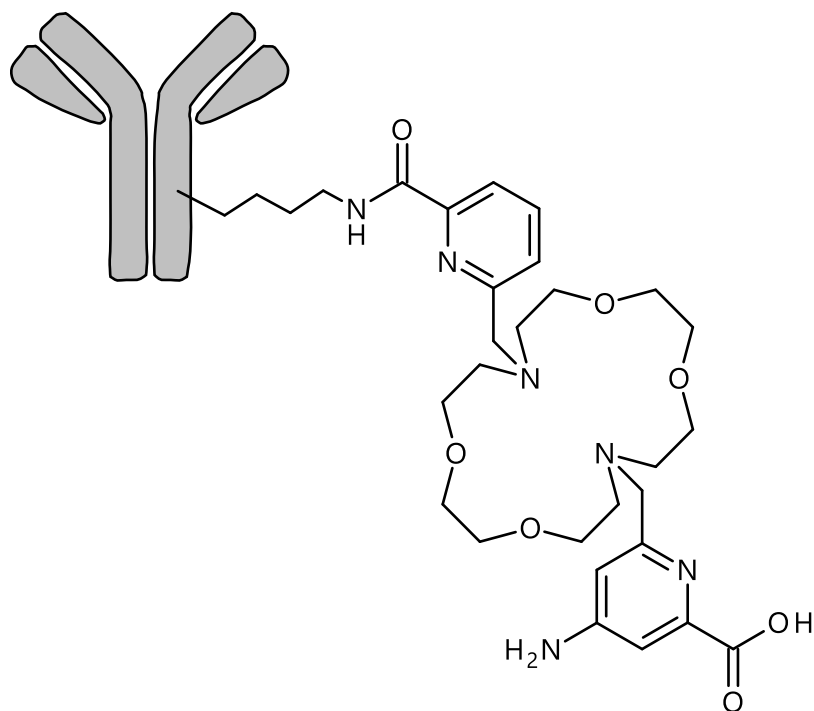


Ácido 4-[3-[[6-[2-[3-[bis[2-[2,6-bis[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil]amino]propil-[2-[2,6-bis[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]hexanoilamino]etil]amino]etilamino]-5-[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]-6-oxo-hexil]amino]-3-oxo-propil]-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxílico (3,8 mg, Ejemplo 14), TFP (6,3 mg) y DCC (2,3 mg) se disolvieron en ACN (1 mL), y la solución se dejó durante 30 min. La solución se diluyó con agua/0,1 % TFA (9 mL), se filtró, y el producto se purificó por medio de la HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna 5 µm C18(2) 100Å, 250 x 50 mm; gradiente: 10–60 % B durante 40 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN; caudal: 10 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 0,9 mg (23 % de rendimiento) del compuesto objetivo después de la liofilización. El producto purificado se analizó por medio de la HPLC analítica (gradiente: 10–60 % B durante 2,5 min donde A = agua/0,1 % TFA y B = ACN, caudal: 0,5 mL/min, columna: Waters Acquity BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm, detección: matriz de diodo de UV, tiempo de retención de producto: 1,20, 1,23 y 1,33 min (mezcla de tres regioisómeros)).

La caracterización adicional del producto se llevó a cabo usando espectrometría de masas de electropulverización (MH_4^{4+} : 1400,2, hallado m/z : 1400,4).

Conjugados de anticuerpo–quelante.

Ejemplo 20 (ACC1).

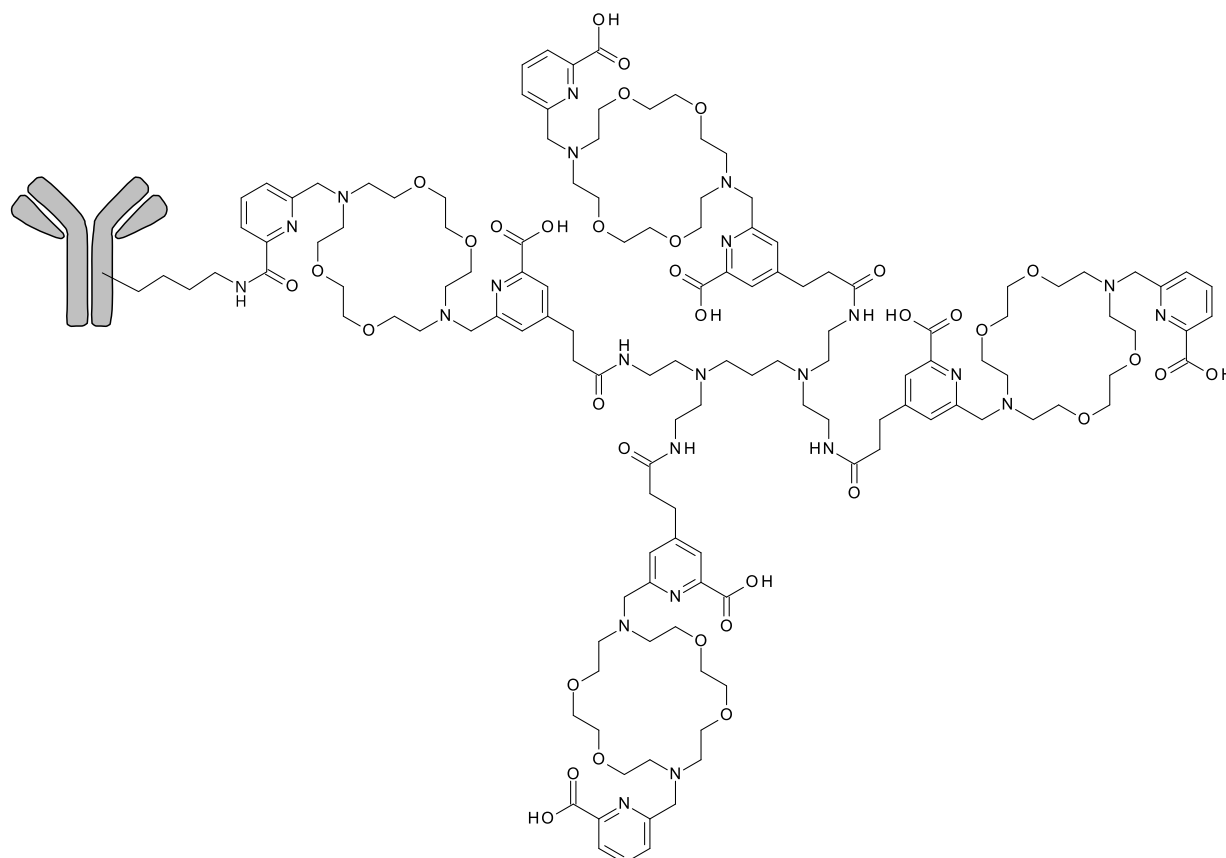


5

Bis(2,3,5,6–tetrafluorofenil) 6,6'–[1,4,10,13–tetraoxa–7,16–diazaciclooctadecano–7,16–diilbis(metileno)]dipiridina–2–carboxilato (1,67 mg, Ejemplo 15) disuelto en DMA (84 μ L) se agregó a mAb no. 1 (50,5 mg) en PBS (4 mL), y la solución se agitó durante 4 horas. La solución se diluyó con 100 mM acetato/100 mM NaCl 1:1 (1 mL), el producto se purificó por medio de la FPLC (columna: HiLoad 16/600 Superdex 200 pg columna; tampón de ejecución: 100 mM acetato/100 mM NaCl 1:1, pH 5; caudal: 1 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 35,6 mg (71 % de rendimiento) de ACC1 en 100 mM acetato/100 mM NaCl 1:1 (2,7 mg/mL).

10

Ejemplo 21 (ACC2).



Ácido 4-[3-[2-[2-[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]etil]-3-[2-[3-[2-carboxi-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-

- 5 piridil]propanoilamino]etil]-2-[3-[2-carboxi-6-[[16-[[6-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)carbonil-2-piridil]metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]-4-piridil]propanoilamino]etil]amino]propil]amino]etilamino]-3-oxo-propil]-6-[[16-[(6-carboxi-2-piridil)metil]-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadec-7-il]metil]piridina-2-carboxílico (1,79 mg, Ejemplo 18) se agregó a mAb no. 1 (20 mg) en PBS (1,79 mL), y la solución se agitó durante
- 10 3 horas. La solución se diluyó con 100 mM acetato/100 mM NaCl 1:1 (3,2 mL), el producto se purificó por medio de la FPLC (columna: HiLoad 16/600 Superdex 200 pg columna; tampón de ejecución: 100 mM acetato/100 mM NaCl 1:1, pH 5; caudal: 1 mL/min; detección: UV 214/254 nm) a fin de lograr 14 mg (70 % de rendimiento) de ACC2 en 100 mM acetato/100 mM NaCl 1:1 (1,0 mg/mL).

- 15 Se prepararon otros ACC usando el mismo procedimiento que para ACC1 y ACC2, iniciando a partir de los compuestos que se describen en los Ejemplos 15, 16, 17, 18, y 19.

La pureza y la concentración de los ACC se determinaron por SEC-UV (sistema Agilent 1260 Infinity HPLC, tampón de ejecución: 10 % DMSO/PBS; caudal: 0,3 mL/min, columna: Waters Acquity BEH SEC, 1,7 μ m, 4,6 x 300 mm, detección: UV a 280 nm).

- 20 CAR para cada uno de los ACC se determinó por SEC-MS (Water Acquity HPLC conectado a Waters XEVO TOF; tampón de ejecución: 50 % ACN/agua/0,1 % TFA; caudal: 0,06 mL/min,

columna: Waters Acquity BEH SEC, 1,7 μ m, 2,1 x 150 mm) usando alturas de pico de MS en porcentaje de altura de pico mayor para los componentes mAb, mAb + 1 quelante, mAb + 2 quelante, mAb + 3 quelante, etc., y usando la fórmula $CAR = \text{Suma}(n \cdot A_n) / \text{Suma } A_n$, donde n es igual al número de quelantes, y A_n es igual a la intensidad del conjugado de anticuerpo con n quelantes.

5

Tabla 1.**ACC preparados.**

mAb	Quelante	Tamaño de lote	CAR	ACC pureza (% área a 280 nM)	Concentración de ACC purificado (mg/mL)
mAb no. 2	Macropa	36 mg	1,4	99	2,4
mAb no. 2	Dim2	25 mg	0,9	99	2,0
mAb no. 2	Tri1	25 mg	0,2	99	1,8
mAb no. 2	Tet5	25 mg	0,5	99	1,9
mAb no. 3	Macropa	20 mg	1,5	99	1,6
mAb no. 3	Tet5	25 mg	2,1	99	1,0
mAb no. 3	Tet5	21,5 mg	0,7	99	1,9
Trastuzumab	Macropa	50 mg	0,9	99	3,0
mAb no. 1	Macropa	50 mg	1,4	99	2,7
mAb no. 1	Macropa	50 mg	5,3	99	2,9
mAb no. 1	Dim2	20 mg	0,9	99	1,2
mAb no. 1	Tet5	25 mg	1,4	99	1,0
mAb no. 1	Tet5	25 mg	0,7	99	1,5

mAb no. 4	Oct2	20 mg	0,5	99	1,1
Isotipo	Macropa	30 mg	1,1	99	2,6

Radiomarcado.

Se extrajeron alícuotas de Ac-225 en HCl 0,04 M o Ra-223 en HCl 0,05 M en tubos Eppendorf. La radiactividad en cada tubo se midió con un detector HPGe. Se añadieron a los tubos soluciones de compuestos en acetato de sodio 0,1 M, pH 5–5,5 (con NaCl 0,1 M adicional para soluciones de ACC). RAC estuvo en el rango de 1–5 MBq/mL, y la actividad específica, en el rango de 2–200 kBq/nmol. Las soluciones de marcaje se dejaron durante 60–90 min a temperatura ambiente.

Pureza radioquímica.

La pureza radioquímica (RCP) de los compuestos marcados se determinó mediante iTLC. Se cortaron tiras de iTLC de papel de cromatografía impregnado de sílice, de apróx. 1 cm de ancho y 11 cm de largo. Las tiras se marcaron con un bolígrafo a 1 cm (punto de aplicación), 4 cm (línea de corte para ACC) o 5 cm (línea de corte para quelantes) y 8 cm (línea frontal). Se llenó un vaso de precipitados hasta 0,5 cm con citrato 0,1 M en NaCl al 0,9 %, pH 5,5. Se agregaron 1–10 µL del compuesto radiomarcado al punto de aplicación, y las tiras se colocaron inmediatamente en forma vertical en el vaso de precipitados. Las tiras se retiraron cuando el frente del solvente alcanzó la línea frontal y luego se cortaron en dos secciones en la línea de corte. Cada sección se midió utilizando un detector HPGe (ORTEC) para determinar el origen de la radiactividad del núclido de interés. La RCP, en porcentaje, para el núclido de interés se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% RCP = \frac{\text{Radiactividad de sección de aplicación}}{\text{Radiactividad total (sección de aplicación + sección frontal)}} * 100$$

Tabla 2.**Resultados de RCP por iTLC de compuestos radiomarcados.**

Compuesto	RCP Ra-223 (concentración de marcaje)	RCP Ac-225 (concentración de marcaje)
Macropa	8 % (0,005 mM)	100 % (0,02 mM)
Macropa-NH ₂	12 % (0,27 mM) 2 % (0,1 mM)	99 % (0,02 mM)
Dim1	80 % (0,02 mM)	100 % (0,02 mM)
Dim2	11 % (0,2 mM)	100 % (0,02 mM)
Dim3	32 % (0,2 mM)	100 % (0,02 mM)
Tri1	89 % (0,02 mM)	
Tet1	95 % (0,02 mM)	99 % (0,02 mM)
Tet2	74 % (0,02 mM)	
Tet3	95 % (0,02 mM)	91 % (0,02 mM)
Tet5	95 % (0,02 mM) 36 % (0,005 mM)	
Oct2	64 % (0,005 mM)	
mAb no. 1-macropa	33 % (0,02 mM)	99 % (0,02 mM)
mAb no. 1-Tet5	37 % (0,02 mM)	99 % (0,02 mM)
mAb no. 3-macropa	8 % (0,02 mM)	100 % (0,02 mM)
mAb no. 3-Tet5	65 % (0,02 mM)	96 % (0,02 mM)
mAb no. 3-Oct2	51 % (0,02 mM)	
mAb no. 2-macropa	38 % (0,02 mM)	100 % (0,02 mM)
mAb no. 2-Tri1	64 % (0,02 mM)	81 % (0,02 mM)
mAb no. 2-Tet5		100 % (0,02 mM)

Los compuestos multiméricos Dim1, Tri1, Tet1, Tet2, Tet3, Tet5 y Oct2 demostraron una alta eficiencia de marcaje en comparación con macropa monomérico, en concentraciones de 0,1 y 0,02 mM, e incluso, tan bajas como 0,005 mM para Oct2. En estas concentraciones, no se observó acomplejado de radio-223 a macropa monomérico, e incluso a 0,27 mM solo se obtuvo una pureza radioquímica del 12 %, medida por iTLC (Tabla 2).

Radio-HPLC.

Los compuestos radiomarcados se analizaron mediante radio-HPLC usando a) un sistema Vanquish HPLC (Thermo) equipado con un detector de matriz de diodos y un radiodetector Flowstar LB 514 (tecnologías Berthold); o b) un sistema de HPLC 1290 Infinity-II (Agilent)

equipado con un detector de matriz de diodos y un radiodetector de conteo de flujo (Eckert & Ziegler).

Los compuestos quelantes marcados se eluyeron usando A = 40 mM TRIS/6 mM citrato/2 mM EDTA y B = ACN/MeOH (8:2); aKinetex C18 (30 x 2,1 mm), 1,7 μ m, 100 Å, Phenomenex);
 5 gradiente 5–50 % B durante 10 min; caudal de 0,3 mL/min o Discovery RP amida c16 (150 x 2,1 mm), 5 μ m, 100 Å, gradiente: 5–50 % B durante 12,5 min; caudal de 0,6 mL/min.

Los ACC marcados se eluyeron utilizando una columna Acquity Protein BEH SEC (300 x 4,6 mm, 200 Å, Waters) y un tampón de ejecución de acetato de amonio 170 mM/NaCl 300 mM/DMSO al 5 %, pH 5, utilizando un flujo isocrático de 0,3 mL/min durante 20 min.

- 10 El sistema de datos de cromatografía Chromeleon (CDS) se utilizó para registrar, integrar y visualizar los cromatogramas.

Se realizó el fraccionamiento de los picos de radio-HPLC para determinar los radionúclidos asociados a cada pico de radio. Las fracciones de los picos recogidas se analizaron utilizando un detector HPGe.

- 15 El análisis por radio HPLC del compuesto Tet1 demostró que casi no hay lavado de radiactividad libre en el volumen vacío, y un gran pico radiactivo con un tiempo de retención de 6–8 min correspondiente a complejos de Ra-223, Pb211 y Bi-211 (Figura). Esta observación muy sorprendente apunta al hecho de que el radio y los descendientes se capturan de una manera muy superior al introducir múltiples agentes quelantes, muy probablemente, a través de
 20 contribuciones de átomos donantes en quelantes adyacentes y/o el efecto de avidéz. Lo que resulta más interesante es que el marcaje eficiente de una solución 0,02 mM del compuesto Tet1 se encuentra en el nivel requerido para permitir la terapia alfa dirigida en concentraciones y dosis de ligando relevantes.

- 25 La Figura 1a ilustra el cromatograma de radio HPLC de ^{223}Ra -Dim1 marcado en una concentración de 0,02 mM.

La Figura 1b ilustra los datos de fraccionamiento de picos de ^{223}Ra -Dim1 marcado en una concentración de 0,02 mM.

La Figura 2a ilustra el cromatograma de radio HPLC de ^{223}Ra -Tet5 marcado en una concentración de 0,005 mM.

- 30 La Figura 2b ilustra el cromatograma de radio HPLC de ^{223}Ra -Oct2 marcado en una concentración de 0,001 mM.

La Figura 3 ilustra el cromatograma de radio HPLC de ^{225}Ac -mAb no. 1-macropa marcado en una concentración de 0,02 mM.

La Figura 4 ilustra los datos de fraccionamiento de picos para ^{225}Ac -mAb no. 1-macropa marcado a 0,02 mM.

- 5 La Figura 5 ilustra el cromatograma de radio HPLC para ^{225}Ac -mAb no. 1-Tet5 marcado a 0,02 mM.

La Figura 6 ilustra los datos de fraccionamiento de picos para ^{225}Ac -mAb no. 1-Tet5 marcado a 0,02 mM.

SECCIÓN EXPERIMENTAL – ENSAYOS BIOLÓGICOS.

- 10 Los Ejemplos se evaluaron en ensayos biológicos seleccionados una o más veces. Cuando se prueban más de una vez, los datos se informan o bien como valores promedio o como mediana de valores, donde

- el valor promedio, también denominado media aritmética de valores, representa la suma de los valores obtenidos dividida por el número de veces probado, y

- 15 • la mediana de valores representa el número medio del grupo de valores cuando se clasifican en orden ascendente o descendente. Si el número de valores en el conjunto de datos es impar, la mediana es el valor de medio. Si el número de valores en el conjunto de datos es par, la mediana es la media aritmética de los dos valores del medio.

- 20 Los ejemplos se sintetizaron una o más veces. Cuando se sintetizaron más de una vez, los datos de los ensayos biológicos representan valores promedio o mediana de valores calculados utilizando conjuntos de datos obtenidos de la prueba de uno o más lotes sintéticos.

In vitro.

- 25 Las propiedades de unión a antígeno del mAb no. 1-macropa (CAR 5.3) y mAb no. 1-Tet5 (CAR 1.4) marcados con Ac-225 se evaluaron mediante un ensayo de IRF, mediante el cual se incubaron perlas magnéticas recubiertas con el antígeno específico con los compuestos radiomarcados, lo que permitió que la fracción unida se separara fácilmente de la fracción de sobrenadante no unida, por magnetismo. La fracción no unida se determinó mediante el muestreo del 50 % representativo del sobrenadante. Se utilizaron réplicas idénticas preincubadas con un agente bloqueador del sitio de unión específico del antígeno objetivo, tal
- 30 como el mAb desnudo no radiomarcado, para determinar cualquier unión no específica del producto radiomarcado en el ensayo. La radiactividad en cada muestra se determinó usando un detector HPGe. Juntos, estos valores proporcionaron el valor de unión específica y, por lo

tanto, la IRF (producto radiomarcado específicamente unido expresado como porcentaje del producto radiomarcado total aplicado).

La Figura 7 ilustra las curvas de unión y los valores de IRF de unión máxima para mAb no. 1–macropa (CAR 5.3) y mAb no. 1–Tet5 (CAR 1.4) marcados con Ac–225.

- 5 Se investigó la estabilidad en suero de mAb no. 2–macropa, mAb no. 2–Tri1 y mAb no. 2–Tet5 marcados con Ac–225, agregando 25 kBq/mL de los compuestos marcados al suero de ratón e incubando a 37°C con agitación suave. La RCP de los compuestos marcados se midió mediante iTLC después de 1 hora, 96 horas, 120 horas y 144 horas. Se mostró el porcentaje de RCP en el marcado (punto de tiempo de 1 hora) para cada punto de tiempo.
- 10 La Figura 8 ilustra la estabilidad en suero del mAb no. 2–macropa, mAb no. 2–Tri1 y mAb no. 2–Tet5 marcados con Ac–225 no.

In vivo.

- 15 Se realizó un estudio de biodistribución de Macropa–NH₂ y Tet1 marcados con Ra–223. Los compuestos se marcaron con Ra–223 en acetato 0,1 M, pH 5, a 125 kBq/nmol, y se inyectaron respectivamente en ratones a 500 kBq/kg. Se inyectó acetato de Ra–223 por separado como control. Los animales se sacrificaron después de 5 min, 30 min, 4 horas y 24 horas, con tres animales para cada punto de tiempo. Se recogieron hígado, sangre y fémur de todos los animales, y se contaron las muestras usando un detector HPGe para determinar la cantidad de Ra–223.

- 20 La Figura 9 ilustra el porcentaje de dosis inyectada de ²²³Ra acetato, ²²³Ra–macropa–NH₂ y ²²³Ra–Tet1 por gramo de muestra.

- 25 Se condujo un estudio de biodistribución de mAb no. 3–macropa y mAb no. 3–Tet5 marcados con Ac–225. Los compuestos se marcaron con Ac–225 en acetato 0,1 M, pH 5, a 125 kBq/nmol, y se inyectaron respectivamente en ratones tratados con HEP–3B, tres veces a 500 kBq/kg. Se inyectó Ac–225 acetato por separado como control. Los animales se sacrificaron después de 24 horas, 72 horas, 168 horas y 336 horas, tres animales en cada punto de tiempo. Se recogieron el hígado, la sangre y el fémur de todos los animales.

La Figura 10 ilustra el porcentaje de dosis inyectada de ²²⁵Ac– mAb no. 3–macropa, ²²⁵Ac– mAb no. 3–Tet5 y ²²⁵Ac acetato, por gramo de muestra de órgano.

- 30 La Figura 11 ilustra el gráfico de supervivencia de ratones tratados con HEP–3B después de la inyección de ²²⁵Ac–mAb no. 3–macropa y ²²⁵Ac–mAb no. 3–Tet5.

La Figura 12 ilustra el recuento de glóbulos blancos y plaquetas para ²²⁵Ac–mAb no. 3–macropa y ²²⁵Ac–mAb no. 3–Tet5.

Se condujo un estudio de eficacia de mAb no. 3–macropa y mAb no. 3–Tet5 marcados con Ac–225. Los compuestos se marcaron con Ac–225 en acetato 0,1 M, pH 5, y se inyectaron respectivamente en ratones tratados con HEP–3B tres veces a 500 kBq/kg en intervalos de 7 días. La solución salina se inyectó por separado como control de vehículo. Los tamaños de los
5 tumores se midieron en puntos de tiempo de hasta 28 días.

La Figura 13 ilustra el área del tumor para ratones HEP–3B después del tratamiento con ^{225}Ac –mAb no. 3–macropa y ^{225}Ac –mAb no. 3–Tet5.