



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 253 114**

② Número de solicitud: 200402679

⑤ Int. Cl.:
C07D 231/10 (2006.01)
A61K 49/06 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **08.11.2004**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.05.2006**

Fecha de la concesión: **14.06.2007**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **01.07.2007**

⑮ Fecha de publicación del folleto de la patente:
01.07.2007

⑰ Titular/es:
**Universidad Nacional de Educación a Distancia
c/ Bravo Murillo, 38 - 4ª
28015 Madrid, ES**

⑱ Inventor/es: **Ballesteros García, Paloma y
Pérez Mayoral, Elena**

⑳ Agente: **No consta**

⑳ Título: **Ligandos heterocíclicos y sus complejos de gadolinio (III) con aplicaciones biomédicas.**

㉑ Resumen:

Ligandos heterocíclicos y sus complejos de gadolinio (III) con aplicaciones biomédicas.

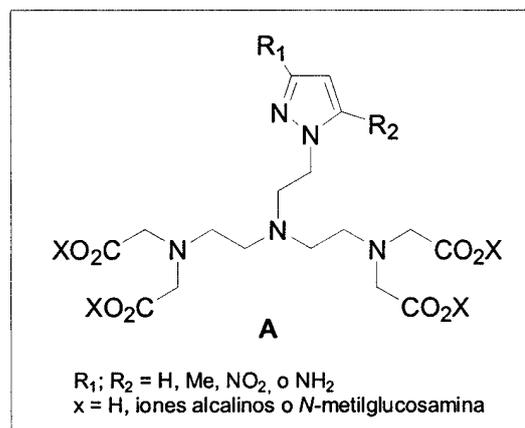
Compuestos de Fórmula General A cuyos complejos paramagnéticos de Gd(III) y otros lantánidos se emplean como agentes de contraste para Imagen por Resonancia Magnética.

Compuestos de Fórmula General A en donde R₁ y/o R₂ son hidrógenos, grupos metilo, grupos nitro y grupos amino.

Un procedimiento para la obtención de estos compuestos partiendo de los correspondientes bromoetilpirazoles, que implica las siguientes etapas:

- 1) alquilación de la amina de partida; 2) desprotección de los grupos *tert*-butoxicarbonilamino; 3) alquilación de los grupos amino con bromoacetato de metilo y finalmente, 4) la hidrólisis básica que conduce a la sal tetrasódica.

Los complejos de Gd(III) y de otros lantánidos derivados de los compuestos de Fórmula General A, el procedimiento de obtención de los complejos, y su utilización experimental y clínica en la fabricación de agentes de contraste para el diagnóstico clínico por Imagen de Resonancia Magnética.



Fórmula General

ES 2 253 114 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Ligandos heterocíclicos y sus complejos de gadolinio (III) con aplicaciones biomédicas.

5 **Campo técnico de la invención**

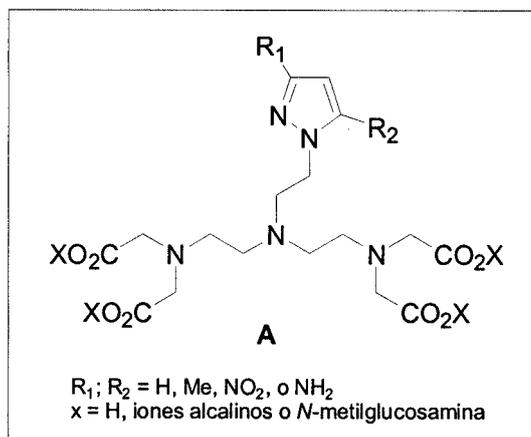
Se presenta la síntesis y caracterización de una serie de ligandos con grupos pirazoliletilo de Fórmula General A que se indica a continuación:

10

15

20

25

**Fórmula General**

30

Se obtiene una nueva serie de complejos de Gd(III) y otros lantánidos derivados de la estructura A que se utilizan como agentes de contraste para Imagen por Resonancia Magnética (IRM).

Estado de la técnica anterior

35

La gran diferenciación y resolución espacial de los tejidos blandos ha hecho que la Imagen por Resonancia Magnética (IRM) sea una de las técnicas más utilizadas en el diagnóstico clínico.

40

45

Los principales determinantes del contraste en una imagen de RM son los tiempos de relajación de los protones del agua, T_1 y T_2 . Así, cuando la diferencia de contraste entre regiones sanas y patológicas de un tejido es muy pequeña, debido a pequeñas variaciones en los tiempos de relajación, el uso de agentes de contraste es altamente beneficioso. Los agentes de contraste son sustancias capaces de alterar considerablemente los tiempos de relajación de los protones del agua en los tejidos en donde se distribuyen. El uso de estos agentes supone una gran mejora en el diagnóstico clínico en términos de alta especificidad, mejor caracterización de los tejidos, reducción de artefactos en la imagen e información funcional de los mismos. Los agentes de contraste más utilizados son los quelatos paramagnéticos de gadolinio. La efectividad de los mismos para actuar como un agente de contraste se valora, en primer lugar, por la determinación de su relajatividad, es decir por el incremento de la relajación de los protones del agua.

50

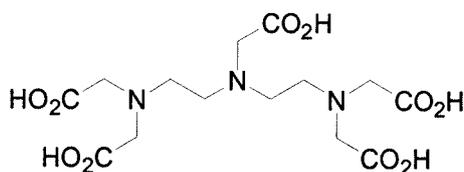
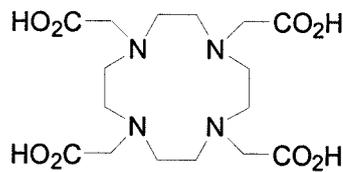
En los últimos 15 años, se han publicado numerosos artículos dirigidos al estudio de la estructura y la dinámica de los complejos de Gd(III), lo que ha supuesto un gran avance en la comprensión de los parámetros estructurales, dinámicos y electrónicos determinantes en la relajatividad de estos complejos. El diagnóstico temprano del cáncer y de enfermedades vasculares, junto con el seguimiento de una terapia efectiva, puede realizarse empleando nuevas sondas capaces de informarnos sobre acontecimientos específicos que ocurren tanto en un nivel celular como molecular. Por todo ello, los agentes de contraste pueden considerarse como sustancias capaces de dar información acerca del entorno biológico de los tejidos.

55

Los agentes de contraste más utilizados en imagen diagnóstica son los complejos de gadolinio derivados del ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) y del ácido 1,4,7,10-tetraaza-1,4,7,10-ciclododecanotetraacético (DOTA).

60

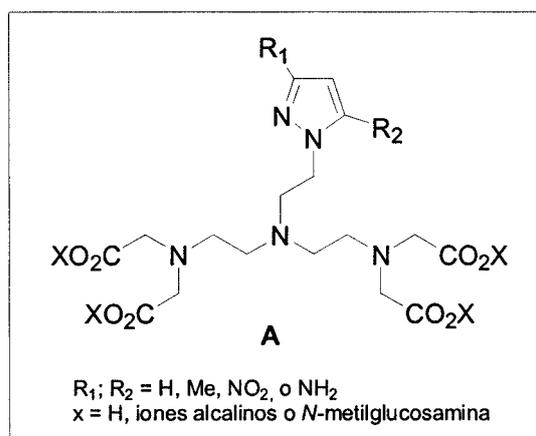
65

**DTPA****DOTA**

Actualmente, la investigación en este campo se centra en el diseño y síntesis de nuevos agentes quelantes que tengan gran afinidad por el metal paramagnético correspondiente, así como una alta relajatividad. En este sentido, se describió una familia de ligandos que incluyen anillos pirazólicos y una unidad de ácido iminodiacético, con afinidad por el ion Gd(III) (Ballesteros García, Paloma *et al.*, Complexons with the structure of N-[2-[azol-1(2)-yl]ethyl]iminodiacetic acids, synthesis, analytical study, and biological applications. PCT Int. Appl. (1996), 43, WO9641797; P. López *et al.*, N-2-(Azol-1(2)-yl)ethyliminodiacetic acids: a novel series of Gd(III) chelators as T2 relaxation agents for magnetic resonance imaging. *Bioorg. Med. Chem.*, **1999**, 7, 517). Estos agentes quelantes tienen baja afinidad por el ion gadolinio pero sin embargo, presentan unas propiedades de relajación superiores a la de los complejos comerciales empleados en clínica. Recientemente se ha descrito una nueva serie de ligandos mixtos con estructura de bi- o bis-pirazol (P. Ballesteros and S. Cerdán, Nuevos Ligandos de Gd(III) con estructuras bi- y bis-azólicas. PCT Int. Appl., WO 0259097, 2002; E. Pérez Mayoral *et al.* A novel series of complexones with bis- or biazole structure as mixed ligands of paramagnetic contrast agents for MRI. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 5555). En este caso, la constante de estabilidad con el metal ha sido ligeramente mejorada aunque igualmente baja, debido a que estos compuestos forman dobles complejos tetradentados con el metal. Sin embargo, al igual que en los casos anteriores, presentan unas propiedades de relajación (r_1 y r_2) muy superiores a las descritas para complejos de bajo peso molecular. Las propiedades magnéticas de estos complejos suponen un gran avance, con respecto a los complejos comerciales, en términos de eficacia como agentes de contraste. Sin embargo presentan una baja constante de afinidad con el Gd(III), lo que hace que no puedan emplearse con fines diagnósticos debido a su toxicidad. En principio, esta mejora de las propiedades de relajación podría deberse, además de a un número de hidratación alto, a la incorporación de azoles en la estructura de estos ligandos. Por esta razón, en esta invención se presenta una serie de nuevos ligandos orgánicos y sus complejos de Gd(III) que tienen una mayor constante de estabilidad con el ion metálico y por lo tanto menor toxicidad.

Descripción detallada de la invención

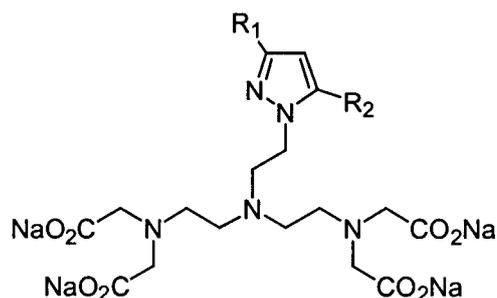
Esta invención presenta una nueva familia de ácidos pirazoliletildietilentriaminotetraacéticos (A) y su síntesis, con la Fórmula General que se indica a continuación:



Fórmula General

Se presenta un estudio de Resonancia Magnética (RM) detallado que permite calcular algunos de los parámetros que gobiernan el comportamiento de sus complejos de Gd(III) en disolución. El análisis de los resultados permite establecer la participación del azol en la complejación con el centro metálico.

En esta Memoria se describe, como ejemplo, la síntesis de los ligandos 1-4 (figura 1).

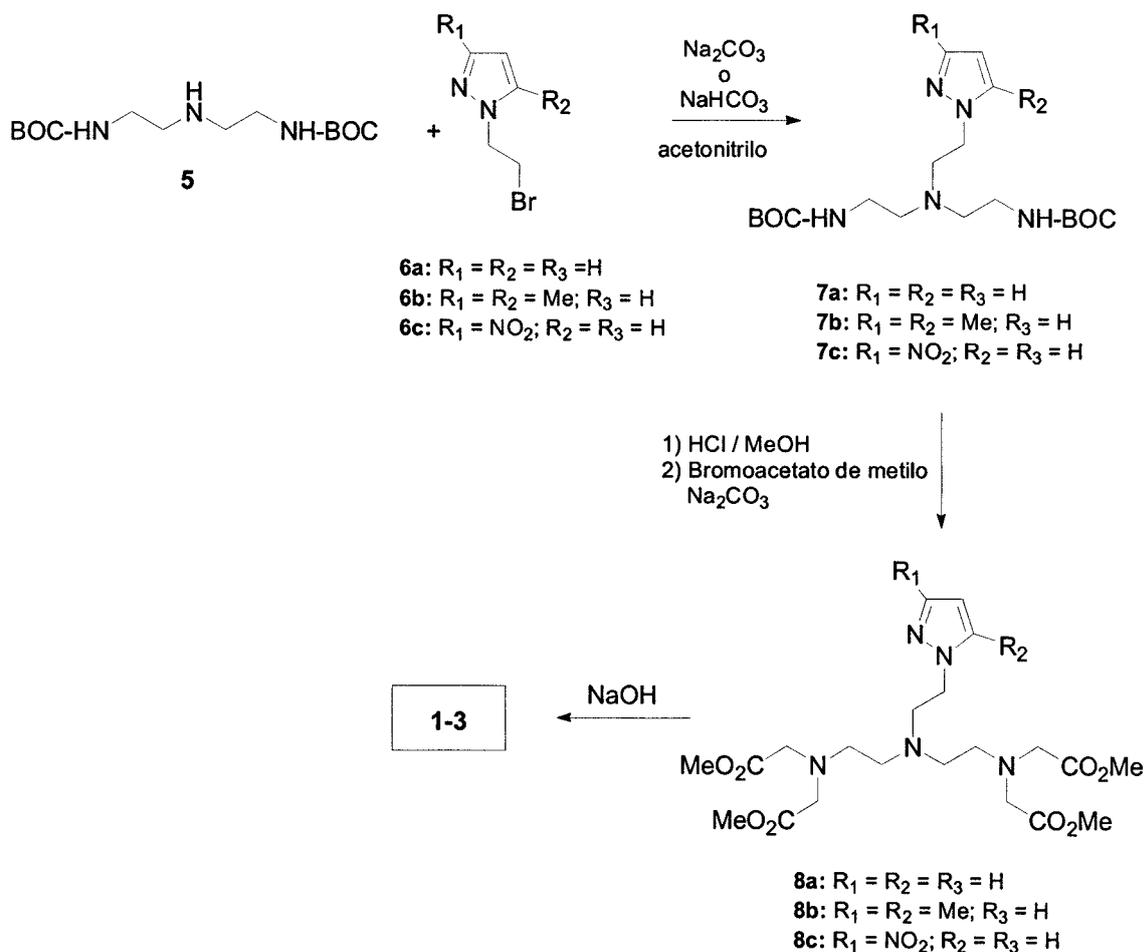


- 1 : R₁ = R₂ = H
 2 : R₁ = R₂ = Me
 3 : R₁ = NO₂; R₂ = H
 4 : R₁ = NH₂; R₂ = H

Figura 1

Los compuestos 1-3 se han sintetizado a partir de bis(*tert*-butoxicarbonilamino)dielentriamina (5) como se indica en el esquema 1. La alquilación de 5 con el correspondiente bromoetilpirazol 6 conduce a las aminas 7, que por tratamiento en medio ácido y posterior alquilación con bromoacetato de metilo da lugar a los aminoésteres 8. Finalmente la hidrólisis básica de 8 conduce a los ligandos objeto de la invención. Los agentes alquilantes 6 se obtienen a partir del pirazol correspondiente por reacción con 1,2-dibromoetano en condiciones de transferencia de fase.

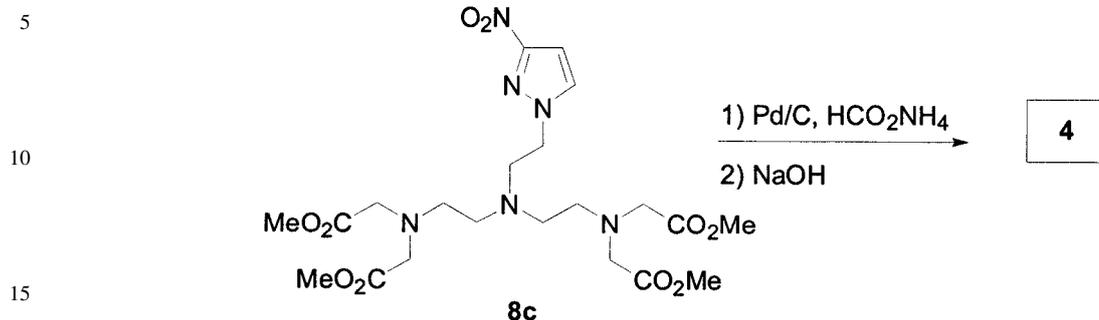
Esquema 1



El ligando 4 se sintetiza por reducción del correspondiente nitroderivado 8c, empleando Pd sobre C como catalizador y formiato amónico como donador de hidrógeno (esquema 2).

ES 2 253 114 B1

Esquema 2



20 Los complejos de gadolinio se obtienen por reacción entre cantidades equimoleculares de GdCl₃·6H₂O y el correspondiente ligando orgánico en disolución acuosa a 80°C.

Síntesis de los compuestos 7

Procedimiento A

25 Una mezcla de 1 equivalente del correspondiente bromoetilpirazol 6 y 2 equivalentes de la amina 5 se calienta a 80°C durante 15 h. La mezcla de reacción se deja enfriar y se le añaden 10 mL de CH₂Cl₂. A continuación se filtra el sólido formado y se elimina el disolvente a presión reducida.

Procedimiento B

30 Una mezcla de 1 equivalente del correspondiente bromoetilpirazol 6, 1 equivalente de la amina 5 y 1 equivalente de NaHCO₃ ó Na₂CO₃ en acetonitrilo (20-30 mL), se calienta a reflujo hasta total evolución de la reacción. La mezcla de reacción se deja enfriar, se filtra el sólido formado y se elimina el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice.

Ester *tert*-butílico del ácido {2-[(2-*tert*-butoxicarbonilaminoetil)-(2-pirazol-1-il-ethyl)amino]etil}carbámico (7a)

40 Procedimiento B: Se emplean 1-(2-bromoetil)-1-*H*-pirazol (6a) (613 mg; 3.5 mmol) y la amina 5 (1.06 g; 3.5 mmol) y NaHCO₃ (294 mg; 3.5 mmol). Se obtiene 7a (940 mg; 68%) en forma de un aceite amarillo; IR (ATR): ν 3337, 1697, 1514, 1170 cm⁻¹; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7.55 (1 H, d, J = 1.2 Hz, H₃), 7.46 (1 H, s ancho, H₅), 6.26 (1 H, s ancho, H₄), 5.03 (2 H, s ancho NH-BOC), 4.14 (2 H, t, J = 5.6 Hz, CH₂-N(azol)), 2.99 (4 H, m, CH₂-NH-BOC), 2.84 (2 H, t aparente, J = 5.6, 5.3 Hz, N-CH₂), 2.51 (4 H, t, J = 5.6 Hz, CH₂-N), 1.45 (18 H, s, CH₃) ppm; ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 156.0, 139.5, 129.8, 105.3, 78.8, 54.0, 53.1, 50.2, 38.1, 28.3 ppm;

Ester *tert*-butílico del ácido (2-[(2-*tert*-butoxicarbonilaminoetil)-[2-(3,5-dimetilpirazol-1-il)-etil]amino]etil}carbámico (7b)

50 Procedimiento A: Se emplean 2-bromoetil-3,5-dimetilpirazol (6b) (345 mg; 1.7 mmol) y la amina 5 (1 g; 3.3 mmol). Se obtiene 7b (700 mg; 97%) en forma de un sólido blanco (p.f. 106-108°C H/EtOH); IR (ATR): ν 3396, 3264, 1698, 1505, 1458, 1249, 1164 cm⁻¹; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 5.81 (1 H, s, H₄), 5.29 (2 H, s ancho, NH-BOC), 3.99 (2 H, t aparente, J = 5.6, 5.5 Hz, CH₂-N(azol)), 3.01 (4 H, m, CH₂-NH-BOC), 2.73 (2 H, t, J = 5.5 Hz, CH₂-N), 2.52 (4 H, t aparente, J = 5.6, 5.3 Hz, CH₂-N), 2.26 (3 H, s, CH₃), 2.23 (3 H, s, CH₃), 1.49 (18 H, s, CH₃) ppm; ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 156.2, 138.5, 105.1, 78.7, 53.6, 46.6, 38.5, 28.4, 13.3, 10.9 ppm; Anal. Calcdo for C₂₁H₃₉N₅O₄: C 59.27, H 9.24, N 16.46. Encontrado C 59.30, H 9.00, N 16.46.

Ester *tert*-butílico del ácido (2-[(2-*tert*-butoxicarbonilaminoetil)-[2-(3-nitropirazol-1-il)etil]amino]etil}carbámico (7c)

60 Procedimiento B: Se emplean 1-(2-bromoetil)-3-nitro-1-*H*-pirazol (6c) (700 mg; 3.18 mmol) y la amina 5 (964 mg; 3.18 mmol) y NaHCO₃ (267 mg; 3.18 mmol). Se obtiene 7c (700 mg; 50%) en forma de un aceite amarillo; IR (ATR): ν 3343, 1687, 1504, 1164 cm⁻¹; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7.58 (1 H, d, J = 2.4 Hz, H₅), 6.87 (1 H, d, J = 2.4 Hz, H₄), 4.77 (2 H, s ancho, NH), 4.22 (2 H, t, J = 5.6 Hz, CH₂-N(azol)), 3.07 (4 H, m, CH₂NH-BOC), 2.95 (2 H, t, J = 5.6 Hz, CH₂-N), 2.56 (4 H, t, J = 5.9 Hz, N-CH₂), 1.44 (18 H, s, CH₃) ppm; ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ 155.9, 132.9, 102.5, 79.3, 53.7, 52.1, 38.3, 28.3 ppm;

ES 2 253 114 B1

Síntesis de los compuestos 8

Procedimiento general: Una disolución del carbamato correspondiente 7 en HCl/MeOH (6N) se mantiene con agitación a temperatura ambiente durante 1 h. Seguidamente se elimina el disolvente a presión reducida obteniéndose un residuo en forma de un sólido blanco. A continuación, el residuo sólido obtenido junto con 4.4 equivalentes de bromoacetato de metilo, 8-9 equivalentes de K_2CO_3 en acetonitrilo, se calienta a reflujo hasta la total desaparición del producto de partida. Seguidamente, se deja enfriar, se filtran las sales formadas y se elimina el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice.

10 Ester metílico del ácido [(2-[[2-(bis-metoxycarbonilmetilamino)etil]-[2-pirazol-1-il)etil]-amino]etil)metoxycarbonilmetilamino]acético (8a)

Seguidamente se emplea 7a (0.9 g; 2.27 mmol), HCl/MeOH (25 mL). A continuación, el sólido obtenido junto con bromoacetato de metilo (1.53 g; 10 mmol) K_2CO_3 (18.2 g; 2.5 mmol) en acetonitrilo (30 mL) se refluje durante 7 h. Se obtiene el éster 8a (814 mg; 74%; CH_2Cl_2 /EtOH 98:2) en forma de un aceite amarillo; IR (ATR): ν 1748, 1737, 1204 cm^{-1} ; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.46 (2 H, s ancho, H_3 y H_5), 6.17 (1 H, s ancho, H_4), 4.18 (2 H, m, CH_2 -N(azol)), 3.68 (12 H, s, OCH_3), 3.5 (8 H, s, CH_2CO_2Me), 2.90 (2 H, m, CH_2 -N), 2.71 (4 H, m, $N-CH_2CH_2$ -N), 2.59 (4 H, m, $N-CH_2CH_2$ -N) ppm; ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ 171.5, 139.1, 129.9, 104.9, 55.1, 54.6, 53.3, 52.1, 51.4 ppm.

20 Ester metílico del ácido [(2-[[2-(bis-metoxycarbonilmetilamino)etil]-[2-(3,5-dimetilpirazol-1-il)etil]amino]etil)metoxycarbonilmetilamino]acético (8b)

Seguidamente se emplea 7b (800 mg; 1.88 mmol) y HCl/MeOH (10 mL). A continuación, el sólido obtenido junto con bromoacetato de metilo (1.44 g; 9.4 mmol) K_2CO_3 (2.6 g; 18.8 mmol) en acetonitrilo (30 mL) se refluje durante 17 h. Se obtiene el éster 8b (817 mg; 85%; CH_2Cl_2 /EtOH 95:5) en forma de un aceite amarillo; IR (ATR): ν 1733, 1434, 1198, 1174, 881 cm^{-1} ; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 5.71 (1 H, s, H_4), 3.96 (2 H, t aparente, $J = 6.8, 6.7$ Hz, CH_2 -N(azol)), 3.68 (12 H, s, OCH_3), 3.51 (8 H, s, CH_2CO_2Me), 2.33 (2 H, t aparente, $J = 6.6, 6.5$ Hz, CH_2 -N), 2.72 (4 H, m, $N-CH_2CH_2$ -N), 2.58 (4 H, m, $N-CH_2CH_2$ -N), 2.20 (3 H, s, CH_3), 2.17 (3 H, s, CH_3) ppm; ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ 171.5, 147.2, 139.0, 104.6, 55.0, 54.5, 53.3, 52.2, 51.3, 47.1, 13.3, 10.9 ppm.

30 Ester metílico del ácido [(2-[[2-(bis-metoxycarbonilmetilamino)etil]-[2-(3-nitro-pirazol-1-il)-etil]amino]etil)metoxycarbonilmetilamino]acético (8c)

Seguidamente se emplea 7c (1.1 g; 2.5 mmol), HCl/MeOH (30 mL). A continuación, el sólido obtenido junto con bromoacetato de metilo (1.68 g; 11 mmol) K_2CO_3 (3.1 g; 22.5 mmol) en acetonitrilo (30 mL) se refluje durante 18 h. Se obtiene el éster 8c (1.25 g; 94%; CH_2Cl_2 /EtOH 98:2) en forma de un aceite amarillo; IR (ATR): ν 1734, 1199, 1177, 1129 cm^{-1} ; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.3 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H_5), 6.82 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H_4), 4.29 (2 H, t, $J = 5.9$ Hz, CH_2 -N(azol)), 3.68 (12 H, s, OCH_3), 3.48 (8 H, s, CH_2CO_2Me), 2.96 (2 H, t, $J = 5.9$ Hz, CH_2 -N), 2.68 (4 H, m, $N-CH_2CH_2$ -N), 2.58 (4 H, m, $N-CH_2CH_2$ -N) ppm; ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ 171.5, 155.7, 133.9, 102.1, 54.9, 54.1, 53.4, 52.2, 52.0, 51.4 ppm.

45 Ester metílico del ácido [(2-[[2-(3-aminopirazol-1-il)-etil]-[2-(bis-metoxycarbonilmetilamino)etil]amino]etil)metoxycarbonilmetilamino]acético (8d)

A una disolución del éster 8c (0.4 g; 0.75 mmol) en MeOH (15 mL) se le añade formiato amónico (200 mg; 3.23 mmol) y Pd/C (5%, 400 mg) y la mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente durante 48 h. A continuación se elimina el catalizador filtrando sobre celita y se elimina el disolvente a presión reducida. El producto de reacción se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice (EtOH/ NEt_3 98:2) obteniéndose el éster 8d (205 mg; 55%;) en forma de un aceite amarillo; IR (ATR): ν 3354, 3208, 1735, 1203, 1177, 1136 cm^{-1} ; 1H -RMN (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 7.26, (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H_4), 5.33 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H_5), 3.87 (2 H, t, $J = 6.2$ Hz, CH_2 -N(azol)), 3.59 (12 H, s, OCH_3), 3.49 (8 H, s, CH_2CO_2Me), 2.81 (4 H, m, $N-CH_2CH_2$ -N), 2.68 (2 H, t, $J = 6.2$ Hz, CH_2 -N), 2.58 (4 H, m, $N-CH_2CH_2$ -N) ppm; ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ 171.3, 155.1, 130.5, 91.3, 54.6, 54.0, 52.5, 51.5, 51.0, 49.0 ppm.

55 Síntesis de los compuestos 1-4

Procedimiento general: Una suspensión de un equivalente del correspondiente éster 8 junto con 4 equivalentes de NaOH en H_2O destilada (0.6%) se mantiene con agitación a temperatura ambiente hasta la total desaparición del compuesto de partida. A continuación la mezcla de reacción se lava con CH_2Cl_2 y se elimina el disolvente a presión reducida.

65 Sal tetrasódica del ácido [(2-[[2-(bis-metoxycarbonilmetilamino)etil]-[2-pirazol-1-il)etil]-amino]etil)metoxycarbonilmetilamino]acético (1)

Seguidamente se emplea 8a (440 mg; 0.91 mmol) y NaOH (146 mg; 3.64 mmol). Se obtiene 1 (462 mg, 98%) como un sólido amarillo; IR (ATR): ν 1574, 1401, 1330 cm^{-1} ; 1H -RMN (400 MHz, D_2O): δ 7.63 (1 H, d, $J = 2.04$ Hz, H_3), 7.53 (1 H, d, $J = 1.76$ Hz, H_5), 6.28 (1 H, t aparente, $J = 2.08, 2.04$ Hz, H_4), 4.21 (2 H, t,

ES 2 253 114 B1

$J = 6.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-N}(\text{azol})$), 3.10 (8 H, s, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Na}$), 2.91 (2 H, t, $J = 6.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.56 (8 H, m, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{-N}$) ppm; $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, D_2O): δ 178.4, 138.8, 130.6, 104.9, 57.8, 51.9, 50.4, 50.2, 47.8 ppm

5 *Sal tetrasódica del ácido [(2-{[2-(bis-carboximetilamino)etil]-[2-(3,5-dimetilpirazol-1-il)etil]amino}etil)carboximetilamino]acético (2)*

10 Siguiendo el procedimiento general se emplea 8b (696 mg; 1.36 mmol) y NaOH (218 mg; 5.44 mmol). Se obtiene 2 (662 mg, 89%) como un sólido amarillo; IR (ATR): ν 1579, 1404, 1103 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, D_2O): δ 5.86 (1 H, s, H_4), 4.02 (2 H, t aparente, $J = 7.1$, 7.0 Hz, $\text{CH}_2\text{-N}(\text{azol})$), 3.12 (8 H, s, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 2.80 (2 H, t aparente, $J = 7.1$, 7.0 Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.61 (8 H, m, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{-N}$), 2.20 (3 H, s, CH_3), 2.09 (3 H, s, CH_3) ppm; $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, D_2O): δ 176.7, 148.0, 140.8, 57.4, 51.5, 50.3, 49.9, 44.4, 11.2, 9.4 ppm.

15 *Sal tetrasódica del ácido [(2-{[2-(bis-metoxicarbonilmetilamino)etil]-[2-(3-nitro-pirazol-1-il)-etil]amino}etil)metoxicarbonilmetilamino]acético (3)*

20 Siguiendo el procedimiento general se emplea 8c (180 mg; 0.34 mmol) y NaOH (54 mg; 1.36 mmol). Se obtiene 3 (158 mg, 93%) como un sólido amarillo; IR (ATR): ν 1578, 1404, 1329 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, D_2O): δ 7.79 (1 H, d, $J = 2.32$ Hz, H_5), 6.95 (1 H, d, $J = 2.6$ Hz, H_4), 4.31 (2 H, t aparente, $J = 6.5$, 6.4 Hz, $\text{CH}_2\text{-N}(\text{azol})$), 3.11 (8 H, s, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Na}$), 3.00 (2 H, t aparente, $J = 6.5$, 6.4 Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.62 (8 H, m, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{-N}$) ppm; $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, D_2O): δ 180.3, 156.1, 135.5, 104.1, 59.7, 53.5, 52.3, 52.1, 51.5 ppm.

25 *Sal tetrasódica del ácido [(2-{[2-(3-aminopirazol-1-il)-etil]-[2-(bis-metoxicarbonilmetilamino)etil]amino}etil)metoxicarbonilmetilamino]acético (4)*

30 Siguiendo el procedimiento general se emplea 8d (180 mg; 0.36 mmol) y NaOH (58 mg; 1.44 mmol). Se obtiene 4 (187 mg, 97%) como un sólido amarillo; IR (ATR): ν 1578, 1404, 1329, 1113 cm^{-1} ; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, D_2O): δ 7.35 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H_4), 5.63 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H_5), 3.98 (2 H, t aparente, $J = 6.5$, 6.4 Hz, $\text{CH}_2\text{-N}(\text{azol})$), 3.11 (8 H, s, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Na}$), 2.84 (2 H, t aparente, $J = 6.5$, 6.4 Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 2.57 (8 H, m, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{-N}$) ppm; $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, D_2O): δ 180.3, 155.4, 134.12, 94.4, 59.6, 53.6, 52.4, 52.1, 49.6 ppm.

35 *Procedimiento general para la síntesis de los complejos de Gd(III) de los ligandos 1-4:* Una disolución de un equivalente de la correspondiente sal tetrasódica 1-4 y un equivalente de $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 5 mL de agua (MQ) a pH \sim 5-7, se calienta a 80°C durante 4 h. A continuación se deja enfriar y se elimina el disolvente a presión reducida.

35 *Estudio de resonancia magnética: relajatividad*

40 Los estudios de Resonancia Magnética que se presentan en esta invención se han realizado en un espectrómetro de 60 MHz (1.5 T). Los tiempos de relajación longitudinal y transversal se han medido a una concentración de 1 mM del ligando orgánico 1-4 o del correspondiente complejo de Gd(III), 150 mM de NaCl (fuerza iónica) y 100 mM de TRIS/HCl utilizando agua (MQ) como disolvente, a distintas temperaturas y pH.

La relajatividad se ha calculado según la ecuación que se representa a continuación:

$$45 \quad r_{1(2)} = \Delta[1/T_{1(2)}]/[\text{LGd}]$$

50 en donde, $r_{1(2)}$ es la relajatividad longitudinal (transversal), $\Delta[1/T_{1(2)}]$ es la diferencia entre el inverso de los tiempos de relajación longitudinal (transversal) del correspondiente complejo de Gd(III) y del ligando y, $[\text{LGd}]$ es la concentración del complejo de Gd(III) empleada (igual a la concentración del ligando).

En la Tabla 1 se recogen los valores de $T_{1(2)}$ y $r_{1(2)}$ de los complejos sintetizados a T 25°C y pH \sim 7.

Complejo	T_1 (s)	T_2 (s)	R_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	R_2 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
1-Gd(III)	0.20	0.17	4.60 ± 0.01	5.20 ± 0.01
2-Gd(III)	0.15	0.14	6.36 ± 0.01	6.70 ± 0.02
3-Gd(III)	0.27	0.22	3.41 ± 0.01	4.00 ± 0.01
4-Gd(III)	0.16	0.14	5.72 ± 0.01	6.65 ± 0.02
DTPA-Gd	0.20	0.18	4.62 ± 0.01	5.15 ± 0.01

65 T_1 : secuencia de inversión-recuperación. T_2 : secuencia de Carr-Purcell-Maiboom-Gill, ambos en un Espectrómetro de 60 MHz (1.5 Tesla).

En la presente invención se incluyen las gráficas en las que se representa la dependencia de $r_{1(2)}$ con la temperatura y el pH.

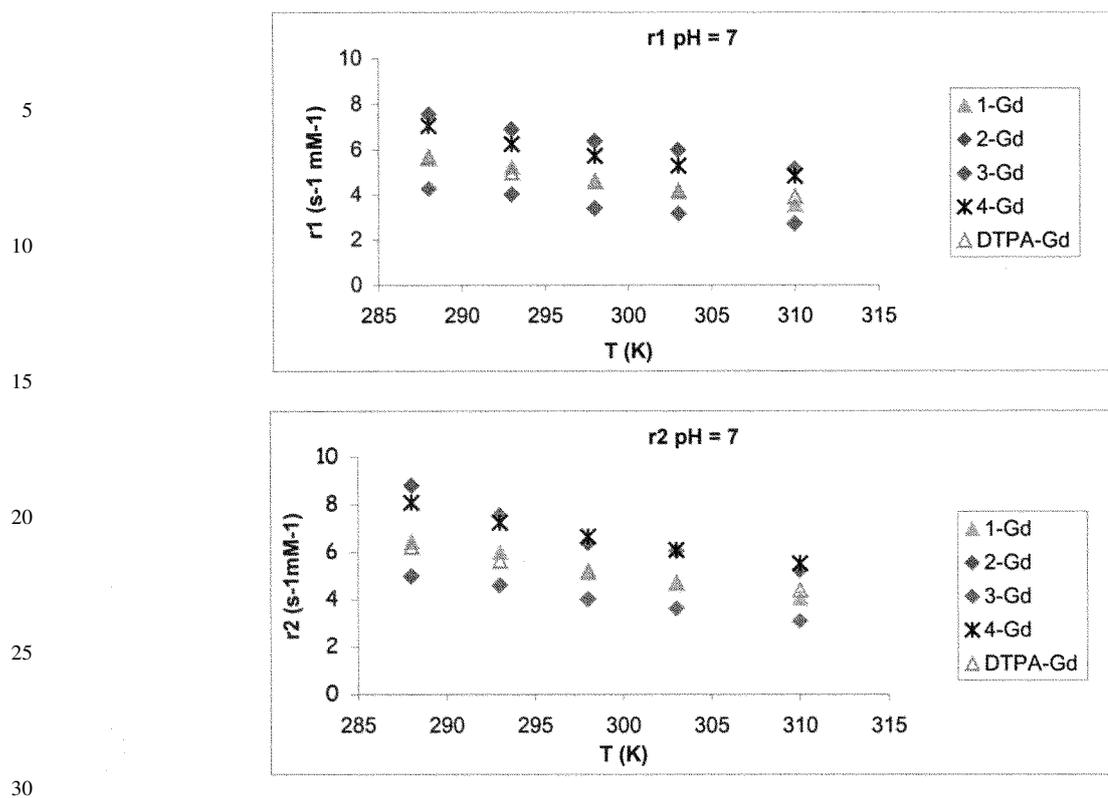


Figura 2

35 Variación de la relajatividad $r_{1(2)}$ con la temperatura. Disoluciones 1 mM del ligando (complejo), 150 mM NaCl y 100 mM de TRIS/HCl

En la figura 2 se representa la variación tanto de r_1 como r_2 con la temperatura a un pH de aproximadamente 7. Se observa que la relajatividad aumenta a medida que baja la temperatura, siendo este comportamiento típico de complejos derivados de ácidos poliaminopolicarboxílicos con una molécula de agua en su primera esfera de coordinación. Según la Teoría de la relajatividad y según las ecuaciones de Solomon-Bloembergen y Morgan puede ocurrir que: a) el tiempo de relajación de los protones del agua de la primera esfera de coordinación ($T_{1(2)M}$) sea menor que el tiempo de residencia de la molécula del agua (τ_M) con lo que la relajatividad disminuye al bajar la temperatura, o por el contrario, b) que $T_{1(2)M}$ sea mayor que τ_M aumentando la relajatividad al disminuir la temperatura. Este último caso es el que justifica el aumento de $r_{1(2)}$ a bajas temperaturas en los complejos que se presentan en esta invención.

Ecuaciones de Solomon-Bloembergen y Morgan:

$$50 \quad r_{1(2)} = q/55.5(T_{1(2)M} + \tau_M)$$

$$1/T_{1(2)M} = k/r^6 f(\tau_c)$$

55 en donde, q es el número de hidratación del complejo, $T_{1(2)M}$ es el tiempo de relajación longitudinal (transversal) de la molécula de agua directamente unida al metal, τ_M es el tiempo de residencia del agua en la primera esfera de coordinación con el metal, K es una constante, r es la distancia entre los protones del agua y el metal y por último, τ_c es el tiempo de correlación efectivo.

60

65

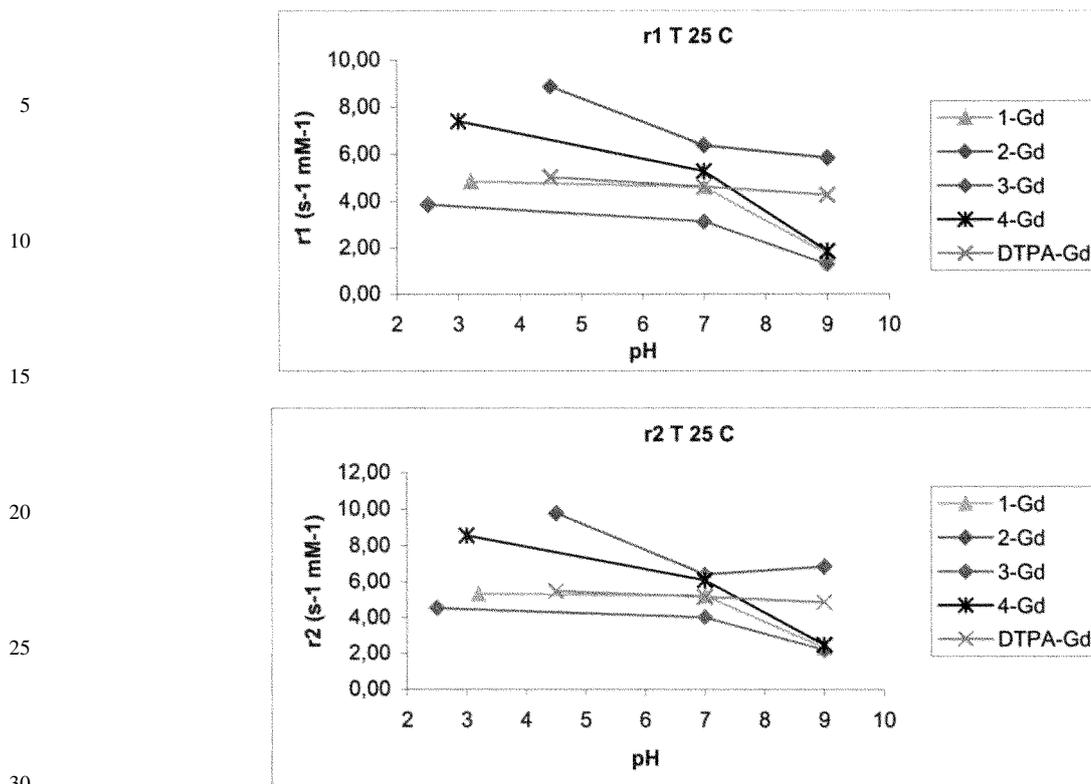


Figura 3

35 Variación de la relajatividad con el pH. Disoluciones 1 mM del ligando (complejo), 150 mM NaCl y 100 mM de TRIS/HCl

La figura 3 representa la variación de $r_1(2)$ con el pH medida a 60 MHz y 37°C y se observa que, mientras que la relajatividad de DTPA-Gd(III) se mantiene constante en un rango de pH de 9 a aproximadamente 4.5, la relajatividad de los complejos que se presentan en la invención es dependiente del pH. En el caso de 2-Gd(III), $r_1(2)$ aumenta a pHs ácidos mientras que en 1-Gd(III) y 3-4-Gd(III) $r_1(2)$ disminuye a pHs básicos. En los complejos 1-4-Gd(III) el valor tanto de r_1 como r_2 es superior o igual al observado para DTPA-Gd, excepto para 3-Gd(III), en un intervalo de pH próximo al pH fisiológico. Por ello estos complejos cumplen uno requisitos esenciales para que se utilicen como agentes de contraste en imagen diagnóstica.

45 Teniendo en cuenta el estudio de resonancia magnética anteriormente detallado, los complejos 2-Gd(III) y 4-Gd(III) de la invención presentan una eficacia mayor que DTPA-Gd(III) (complejo comercial actualmente utilizado en el diagnóstico clínico) mientras que, 1-Gd(III) muestra la misma eficacia. Sin embargo, el complejo 3-Gd(III) tiene una eficacia inferior. Hay que hacer notar que 4-Gd(III), con eficacia superior a la de DTPA-Gd(III) como ya se ha comentado, se obtiene a partir del ligando orgánico 8c, precursor de 3, por lo que la síntesis y el estudio de 3-Gd(III) están justificados.

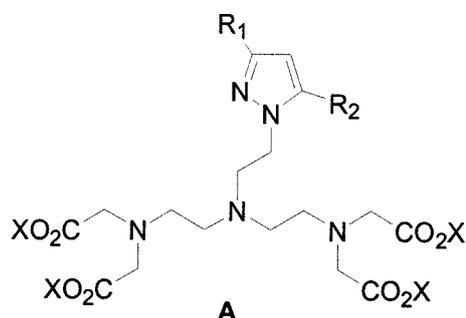
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula General A,



20 Donde los radicales R_1 y R_2 son hidrógenos, grupos metilo, grupos nitro y grupos amino, y X es hidrógeno, iones alcalinos I N-metilglucosamina y, cuyos complejos de Gd(III) y otros lantánidos se emplean como agentes de contraste para Imagen por Resonancia Magnética (IRM).

2. El compuesto de la reivindicación 1 en donde los radicales R_1 y R_2 son hidrógenos.

25 3. El compuesto de la reivindicación 1 en donde los radicales R_1 y R_2 son grupos metilo.

4. El compuesto de la reivindicación 1 en donde el radical R_1 es un grupo nitro y R_2 es un hidrógeno.

5. El compuesto de la reivindicación 1 en donde el radical R_1 es un grupo amino y R_2 es un hidrógeno.

30 6. Un procedimiento para la obtención de los compuestos de Fórmula General A de la reivindicación 1 en el que se parte de los correspondientes bromoetilpirazoles, sintetizados previamente, y que implica las etapas que se indican a continuación: 1) alquilación en el nitrógeno central de la dietilentriamina protegida; 2) desprotección de los grupos *tert*-butoxicarbonilamino (BOC) en medio ácido; 3) alquilación de los grupos amino terminales con bromoacetato de metilo en medio básico y finalmente, 4) la hidrólisis básica de los ésteres metílicos para la obtención de la sal tetrasódica.

35 7. Los complejos de Gd(III) de los compuestos de la reivindicación 1 en donde los radicales R_1 y R_2 son hidrógenos, grupos metilo, grupos nitro y grupos amino.

8. El complejo de Gd(III) del compuesto de la reivindicación 2 en donde los radicales R_1 y R_2 son hidrógenos.

9. El complejo de Gd(III) del compuesto de la reivindicación 3 en donde los radicales R_1 y R_2 son grupos metilo.

45 10. El complejo de Gd(III) del compuesto de la reivindicación 4 en donde el radical R_1 es un grupo nitro y R_2 es un hidrógeno.

50 11. El complejo de Gd(III) del compuesto de la reivindicación 5 en donde el radical R_1 es un grupo amino y R_2 es un hidrógeno.

12. La síntesis de los complejos paramagnéticos de Gd(III), y otros lantánidos, de los ligandos de la reivindicación 1 a 5 mediante una única etapa sintética, que consiste en hacer reaccionar cantidades equimoleculares del ligando orgánico y el cloruro del lantánido correspondiente en agua desionizada (MQ) a 80°C.

55 13. El uso de los compuestos de la reivindicación 1 a 5 en la fabricación de agentes de contraste para Resonancia Magnética en el diagnóstico clínico.

60 14. El uso de los complejos de la reivindicación 7 a 11 en la fabricación de agentes de contraste para Resonancia Magnética en el diagnóstico clínico.

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 253 114

② Nº de solicitud: 200402679

③ Fecha de presentación de la solicitud: **08.11.2004**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **C07D 231/10** (2006.01)
A61K 49/06 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ES 2094101 A1 (UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACION A DISTANCIA) 01.01.1997, todo el documento.	1-14
A	PEREZ MAYORAL, E. A novel series of complexones with bis or biazole structure as mixed ligands of paramagnetic contrast for MRI. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 1 Diciembre 2003, Vol. 11, Nº 24, páginas 5555-5567. Todo el documento.	1-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

30.01.2006

Examinador

E. Albarrán Gómez

Página

1/1