



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 354 320**

② Número de solicitud: 200801885

⑤ Int. Cl.:

C07K 7/64 (2006.01) **C01F 17/00** (2006.01)

A61K 49/06 (2006.01) **A61K 51/08** (2006.01)

A61K 38/08 (2006.01) **G01N 33/68** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

② Fecha de presentación: **24.06.2008**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **14.03.2011**

Fecha de la concesión: **29.09.2011**

⑤ Fecha de anuncio de la concesión: **11.10.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la patente:
11.10.2011

⑦ Titular/es:

**Universidade de Santiago de Compostela
Edificio EMPRENDIA-Campus Vida
15782 Santiago de Compostela, A Coruña, ES
Universidade Nacional de Educación a Distancia
(UNED)**

⑦ Inventor/es: **Brea Fernández, Roberto J.;**

**Ballesteros García, Paloma;
Granja Guillán, Juan R.;**
Pérez Mayoral, Elena;
Castedo Expósito, Luis;
Soler Padrós, Jordi y
Reiriz Armental, César

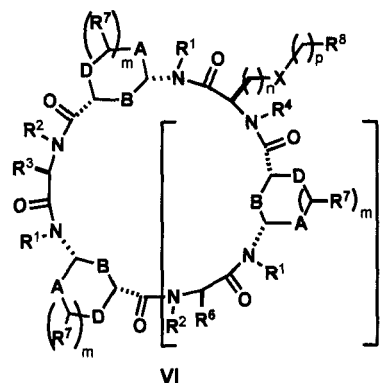
⑦ Agente: **No consta**

⑤ Título: **Ciclopéptidos marcados magnéticamente con complejos de lantánidos.**

⑤ Resumen:

Ciclopéptidos marcados magnéticamente con complejos de lantánidos.

La presente invención se dirige a la utilización de ciclopéptidos capaces de coordinar de forma efectiva elementos de la serie de los lantánidos, preferentemente iones metálicos como Gd³⁺. Dichas unidades cíclicas pueden autoensamblarse dando lugar a la formación de estructuras nanotubulares marcadas magnéticamente. De esta forma, se puede llevar a cabo la preparación de nanotubos para su aplicación como agentes de contraste para Imagen por Resonancia Magnética (IRM). Debido a la forma de sus agregados supramoleculares poseen propiedades magnéticas anisotrópicas con aplicaciones en la detección precoz de diversos cánceres y problemas de aterosclerosis. En segundo lugar, esta patente también está dirigida a la síntesis de intermedios útiles para la obtención de ciclopéptidos y agentes quelatantes de metales.



Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Ciclopéptidos marcados magnéticamente con complejos de lantánidos.

5 Sector de la técnica

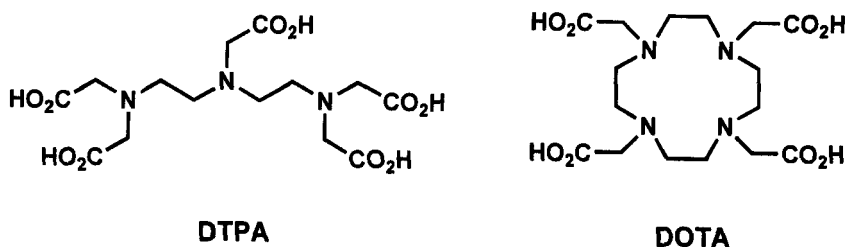
La presente invención se dirige a los compuestos de fórmula VI, ciclopéptidos marcados magnéticamente con complejos de lantánidos con propiedades magnéticas anisotrópicas debido a la forma de sus agregados supramoleculares, lo que los hace útiles como agentes de contraste para Imagen por Resonancia Magnética (IRM) y especialmente para la detección precoz de cánceres y/o arteroesclerosis; también se dirige a los compuestos de fórmula I, intermedios útiles en la preparación de los compuestos de fórmula VI; y al procedimiento de obtención de estos compuestos.

15 Antecedentes

La Imagen por Resonancia Magnética (IRM) constituye una de las herramientas más poderosas en el diagnóstico clínico actual. Su eficacia aparece ligada tanto al desarrollo de secuencias más eficaces de imagen, como a la preparación de nuevos agentes de contraste (ACs) que permiten aumentar la calidad, resolución y especificidad de las imágenes RM.

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 ACs es altamente beneficioso. Los ACs 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 ACs más utilizados en clínica son los quelatos paramagnéticos de gadolinio; la efectividad de los mismos para actuar como un AC se valora, en primer lugar, por la determinación de su relajatividad, es decir por el incremento de la relajación de los protones del agua.

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. 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).



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. Recientemente, se ha descrito una nueva serie de ácidos pirazoliletildietilentriaminotetraacéticos cuyos complejos de Gd(III) presentan unas propiedades magnéticas superiores a las de los complejos empleados en clínica (P. Ballesteros García, E. Pérez Mayoral, Ligandos heterocíclicos y sus complejos de gadolinio (III) con aplicaciones biomédicas, PCT Int. Appl., (2006) WO 2006051142; P. Ballesteros García, E. Pérez Mayoral, Ácidos 1-pirazoliletil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-4,7,10-triacéticos. Aplicación de sus complejos de gadolinio (III) en el diagnóstico clínico, PCT Int. Appl., (2006), WO 2006051142. Recientemente el grupo de investigación de los Prof. Paloma Ballesteros y Sebastián Cerdán (UNED-CSIC) ha demostrado, mediante el empleo de nanotubos de carbono que contienen 1,8 y 0.7% en peso de cobalto y níquel, respectivamente, que presentan propiedades magnéticas anisotrópicas. (S. Cerdán García-Esteller, P. López Larrubia, L. Nieto Charques, P. Ballesteros García, E. Pérez Mayoral, V. Negri. Materiales nanoestructurados tubulares con propiedades magnéticas anisotrópicas. Procedimiento de obtención y sus aplicaciones, P200800024).

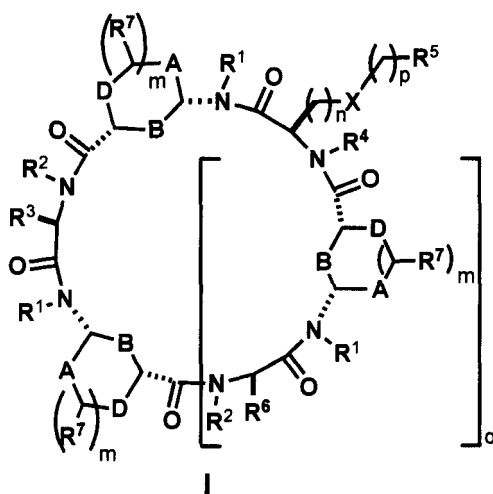
En general, los ACs pueden considerarse como sustancias capaces de dar información acerca del entorno biológico de los tejidos. El diagnóstico temprano del cáncer y de enfermedades vasculares, como la aterosclerosis, junto con el seguimiento de una terapia efectiva, puede realizarse empleando nuevas sondas capaces de dar información sobre acontecimientos específicos que ocurren tanto a nivel celular como molecular. Más concretamente, la aterosclerosis es una enfermedad sistémica que se caracteriza por la acumulación de placas lipídicas en las paredes de los vasos sanguíneos, siendo una de las principales causas de mortalidad en los países desarrollados a nivel mundial. Por ello, es necesario el desarrollo de nuevos agentes para diagnosticar, de manera temprana, esta enfermedad.

10 Descripción de la invención

En la presente invención se describe una nueva generación de agentes de contraste (Acs) basados en ciclopéptidos, capaces de auto-ensamblarse mediante enlaces de hidrógeno dando lugar a estructuras de naturaleza tubular, cuyos complejos de lantánidos presentan propiedades magnéticas anisotrópicas. La naturaleza tubular de los ligandos ciclopeptídicos es una característica importantísima la cual permite distinguir entre flujo turbulento y laminar, aumentando de esta forma la eficacia de los ACs para su uso en IRM. Una de las principales ventajas de la invención es su biocompatibilidad debido al carácter peptídico.

Además resulta fácil modificar la estructura aminoacídica del ciclopéptido sin alterar su capacidad para autoensamblarse y formar nanotubos, así como sus propiedades paramagnéticas, ya que sólo uno de los aminoácidos que componen el ciclopéptido se emplea para la unión con el ligando quelatante del lantánido.

En un aspecto la invención se dirige a los intermedios de fórmula general I



su mezcla racémica, cada uno de sus enantiómeros, sus diastereoisómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde

R¹ se selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénílico lineal o ramificado, alquínílico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONR₂), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R² y R⁴ se seleccionan independientemente entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénílico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR ó -NHCONRR'), o trisustituida

ES 2 354 320 B2

(-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

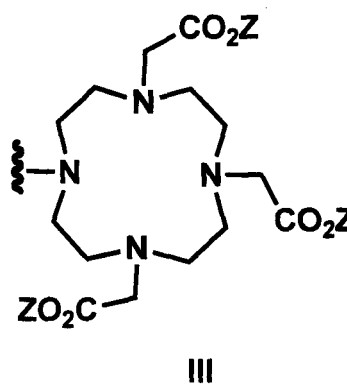
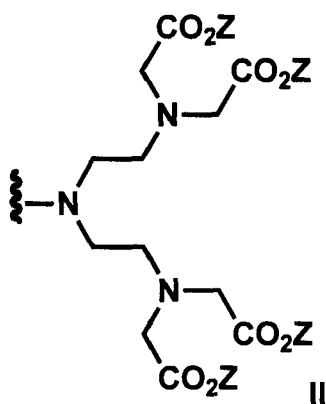
R³ se selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénfílico lineal o ramificado, alquínfílico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

q es un número entero seleccionado de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

de este modo el número de aminoácidos que constituyen el ciclopéptido es variable según el valor de q; asimismo dependiendo del valor de q habrá un número variable de sustituyentes R⁶, que serán seleccionados de forma independiente entre

H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénfílico lineal o ramificado, alquínfílico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R⁵ es uno de los polietilenoamino derivados cíclicos o acíclicos de fórmula general (II) o (III)



en los que Z puede ser seleccionado entre H, Li, Na, K, N-metilglucosamina, bencilo ó tercbutilo (*t*-Bu);

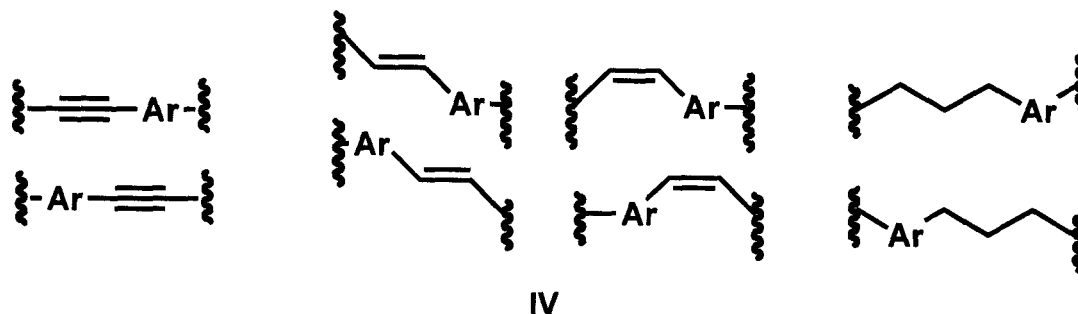
ES 2 354 320 B2

X representa un grupo seleccionado entre amidas (-CONH- ó -NHCO-), aminas (-NR-), ésteres (-COO- ó -OCO-), éteres (-O-), tioéteres (-S-), disulfuros (-SS-), ureas (-NHCONH-), carbamatos (-NHCOO- ó -OCONH-), mono o biciclo arilos o heteroarilos nitrogenado, oxigenado ó sulfurados, saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros, o conectores de fórmula general IV

5

10

15



20

en donde Ar representa un grupo mono o bicíclico arílicos, o heteroarílicos nitrogenados, oxigenados o sulfurados que contienen 5 ó 6 miembros;

m, n, p son números enteros seleccionados de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

25

A, B, D, se seleccionan de forma independiente entre los átomos de nitrógeno (N), azufre (S), oxígeno (O) ó carbono (C); en caso de que dichos átomos sean N ó C, están opcionalmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo (-OH), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonilo (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONR'R''), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado, saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros, radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalqueno, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

30

35

40

m es un número entero seleccionado de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5. Hay tantos R⁷ como el valor que adopte m, dichos R⁷ se seleccionan de forma independiente entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros.

45

50

R, R' y R'' pueden ser seleccionados de forma independiente entre hidrógeno o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, cicloalquilo, cicloalquénflico, bicicloalquénflico, mono o bicicloarilo, heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S); pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógeno, hidroxilo, aciloxi, cicloalquilo, cicloalqueno, fenilo, ciano, nitro, carboxi o alcóxicarbonilo, heterociclo nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros.

55

En un aspecto más concreto la invención se dirige hacia los intermedios de fórmula I en donde

60

R¹, R², R⁴ y R⁷ se seleccionan independientemente entre H o un radical alquílico lineal o ramificado,

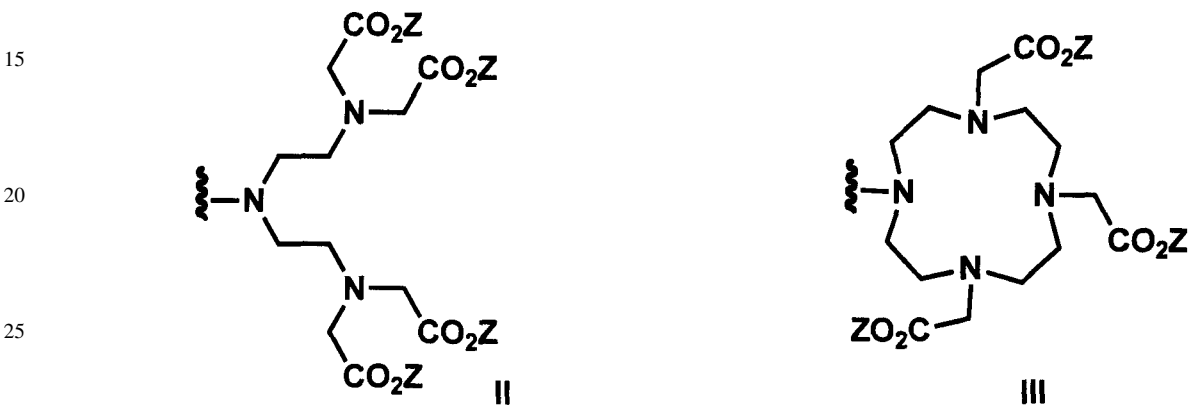
65

R³ y R⁶ se seleccionan entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o

ES 2 354 320 B2

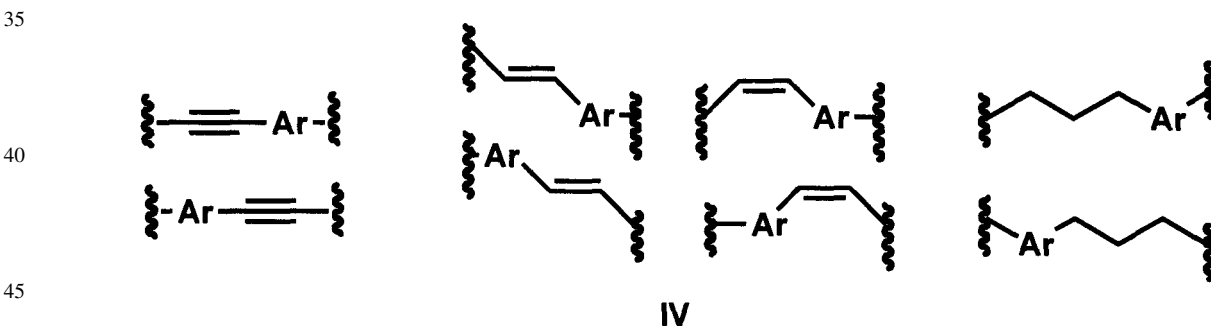
5 trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquenoilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcocarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterociclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

10 R⁵ se selecciona entre las estructuras de fórmula general (II) o (III)



30 en donde Z se selecciona entre H, Li, Na, K, *N*-metilglucosamina, bencilo ó *tert*-butilo (*t*-Bu);

X se selecciona entre amida (-CONH- ó -NHCO-), éster (-COO- ó -OCO-), éter (-O-), tioéteres (-S-), disulfuro (-SS-), o conectores de fórmula general IV o conectores de fórmula general IV



50 en donde Ar representa un grupo mono o bicíclico arílicos, o heteroarílicos nitrogenados, oxigenados o sulfurados que contienen 5 ó 6 miembros;

m, n, p y q son números enteros seleccionados de forma independiente entre 0, 1, 2, 3,4 ó 5;

A, B y D son sustituyentes alquílicos.

55 En un aspecto todavía más concreto la invención se dirige a los compuestos de fórmula I:

- en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 1, R¹, R³ y R⁶ son Me, R² y R⁴ son H, R⁵ es la estructura II, donde Z es *tert*-butilo, o

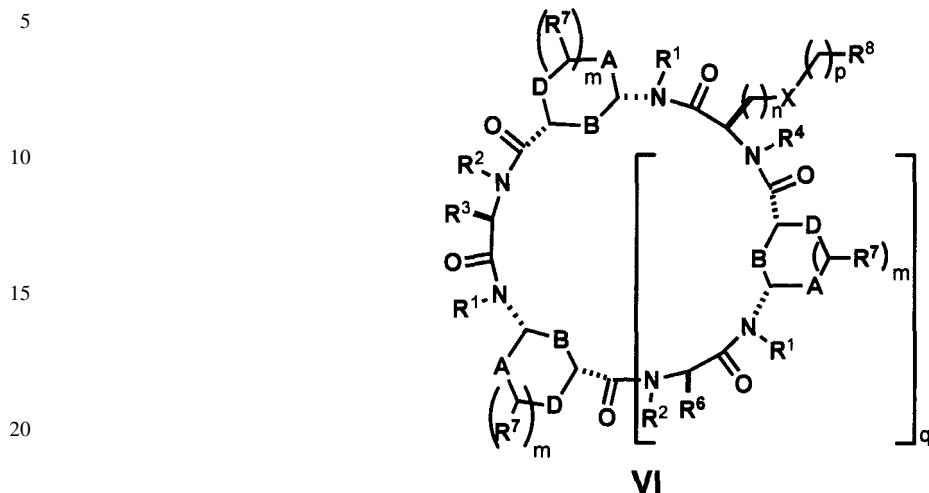
60 - en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 1, R², R³ y R⁶ son Me, R¹ y R⁴ son H, R⁵ es la estructura II, donde Z es *tert*-butilo, o

65 - en donde A, B y D sin -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 2, R², R³, y R⁶ son Me, R¹ y R⁴ son H, R⁵ es la estructura II, donde Z es *tert*-butilo.

Los compuestos de fórmula I son intermedios útiles en la preparación de los compuestos de fórmula VI.

ES 2 354 320 B2

En otro aspecto la invención se dirige a los compuestos de fórmula general VI



25 su mezcla racémica, cada uno de sus enantiómeros, sus diastereoisómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde

30 R¹ se selecciona entre H o los radicales alquílicos lineal o ramificado, alquénfílicos lineal o ramificado, alquínfílicos lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONR₂), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

40 R² y R⁴ se selecciona entre H o los radicales alquílicos lineal o ramificado, alquénfílicos lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

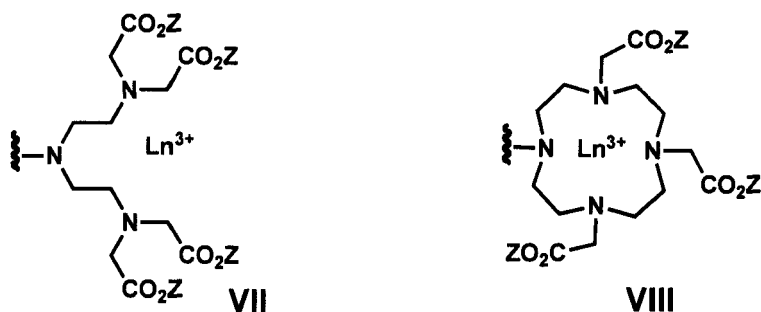
50 R³ se selecciona entre H o los radicales alquílicos lineal o ramificado, alquénfílicos lineal o ramificado, alquínfílicos lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

q es un número entero seleccionado de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

65 de este modo el número de aminoácidos que constituyen el ciclopéptido es variable según el valor de q; asimismo dependiendo del valor de q habrá un número variable de sustituyentes R₆, que serán seleccionados de forma independiente entre

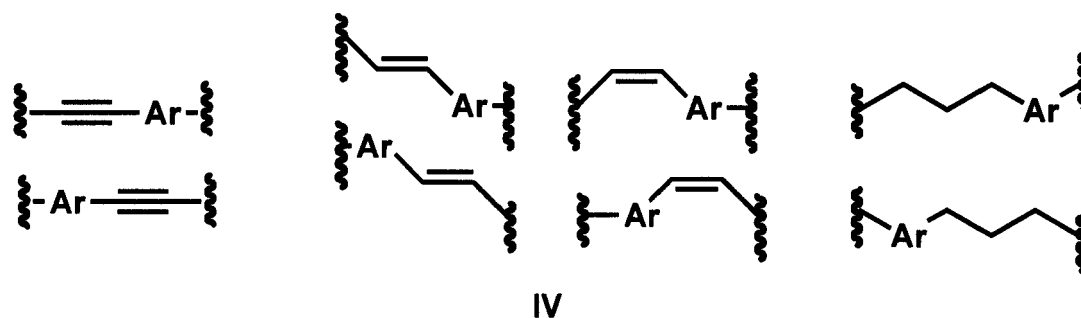
H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalqueno, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R⁸ es uno de los polietilenoamino derivados cíclicos o acíclicos de fórmula general (VII) o (VIII)



en los que Z puede ser H, Li, Na, K, N-metilglucosamina; y Ln⁺³ pueden ser Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb,

X representa un grupo seleccionado entre amidas (-CONH- ó -NHCO-), aminas (-NR-), ésteres (-COO- ó -OCO-), éteres (-O-), tioéteres (-S-), disulfuros (-SS-), ureas (-NHCONH-), carbamatos (-NHCOO- ó -OCONH-), mono o biciclo arilos o heteroarilos nitrogenado, oxigenado ó sulfurados, saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros, o conectores de fórmula general IV



en donde Ar representa un grupo mono o bicíclico arílicos, o heteroarílicos nitrogenados, oxigenados o sulfurados que contienen 5 ó 6 miembros;

m, n, p y q son números enteros seleccionados de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

A, B, D, son cada uno de ellos se selecciona de forma independiente entre los átomos de nitrógeno (N), azufre (S), oxígeno (O) ó carbono (C); en caso de que dichos átomos sean N ó C, están opcionalmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo (-OH), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonilo (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR')

ES 2 354 320 B2

6 ó -NHCONR'R''), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, bicyclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado, saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros, radicales alquílico lineal o ramificado, alquénílico lineal o ramificado, alquínílico lineal o ramificado, pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

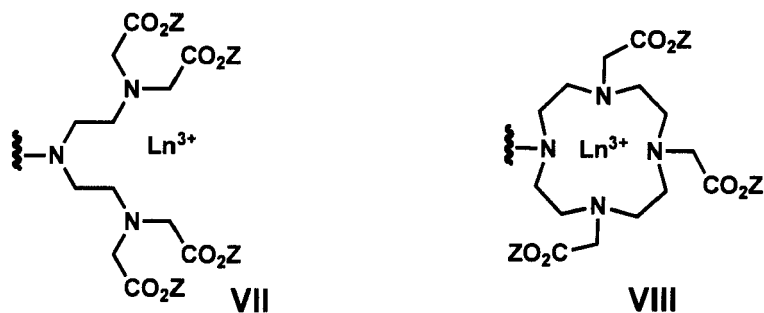
m es un número entero seleccionado de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5; hay tantos R⁷ como el valor que adopte m, dichos R⁷ se seleccionan de forma independiente entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénílico lineal o ramificado, pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, bicyclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R, R' y R'' pueden ser seleccionados de forma independiente entre hidrógeno o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénílico lineal o ramificado, alquínílico lineal o ramificado, cicloalquilo, cicloalquénílico, bicycloalquénílico, mono o bicycloarilo, heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S); pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógeno, hidroxilo, aciloxi, cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo, ciano, nitro, carboxi o alcóxicarbonilo, heterociclo nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros.

En otro aspecto particular la invención se dirige a los compuestos de fórmula VI en donde R¹, R², R⁴ y R⁷ se seleccionan independientemente entre H o un radical alquílico lineal o ramificado,

R³ y R⁶ se seleccionan entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénílico lineal o ramificado, alquínílico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicycloarilo, mono o bicyclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

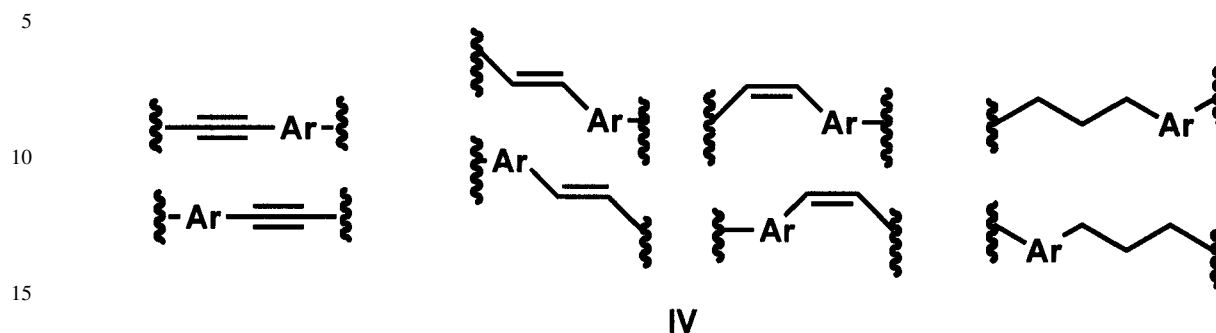
R⁸ se selecciona entre las estructuras de fórmula general (VII) o (VIII)



en donde Z se selecciona entre H, Li, Na, K, N-metilglucosamina;

ES 2 354 320 B2

X se selecciona entre amida (-CONH- ó -NHCO-), éster (-COO- ó -OCO-), éter (-O-), tioéteres (-S-), disulfuros (-SS-), o conectores de fórmula general IV o conectores de fórmula general IV



20 en donde Ar representa un grupo mono o bicíclico arílicos, o heteroarílicos nitrogenados, oxigenados o sulfurados que contienen 5 ó 6 miembros;

m, n, p y q son números enteros seleccionados de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

25 A, B y D son sustituyentes alquílicos.

Ln es Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb.

En otro aspecto más particular la invención se dirige a compuestos de fórmula VI:

30 - en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 1, R¹, R³ y R⁶ son Me, R² y R⁴ son H, R⁸ es la estructura II, donde Z puede ser H, Li, Na, K, o N-metilglucosamina y el lantánido Ln³⁺ se selecciona entre Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb, o

35 - en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 1, R², R³ y R⁶ son Me, R¹ y R⁴ son H, R⁸ es la estructura II, donde Z puede ser H, Li, Na, K, o N-metilglucosamina y el lantánido Ln³⁺ se selecciona entre Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb, o

40 - en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 2, R², R³ y R⁶ son Me, R¹ y R⁴ son H, R⁸ es la estructura II, donde Z puede ser H, Li, Na, K, o N-metilglucosamina y el lantánido Ln³⁺ se selecciona entre Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb.

45 Los ciclopéptidos de fórmula I y los ciclopéptidos de fórmula VI poseen la capacidad de autoensamblarse para dar lugar a estructuras tubulares debido a la formación de enlaces de hidrógeno entre los carbonilos de un ciclopéptido y el NH de los grupos amida de otro ciclopéptido.

Además según los sustituyentes seleccionados podemos tener diferentes estructuras tubulares, de modo que cuando R¹ es H y R² es un sustituyente seleccionado entre los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxil (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcoxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), tendremos un nanotubo formado por dos ciclopéptidos mediante una interacción que denominaremos gamma (γ-γ) (Figura 1, en la que los distintos grupos R se han omitido por simplicidad).

60 Cuando R² es H y R¹ es un sustituyente seleccionado entre los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxil (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcoxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), tendremos un nanotubo formado por dos ciclopéptidos mediante una interacción que denominaremos alfa (α-α) (Figura 2, en la que los distintos grupos R se han omitido por simplicidad).

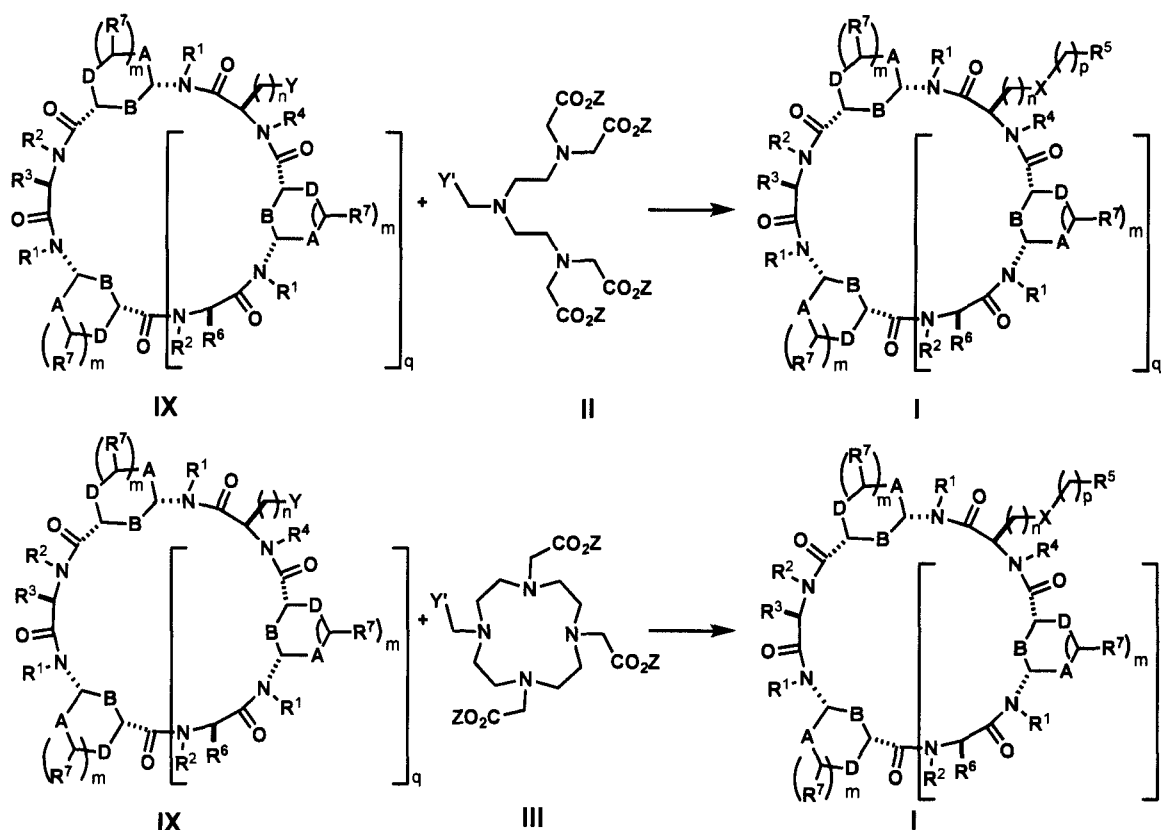
ES 2 354 320 B2

En el caso de que tanto R^1 como R^2 sean H se obtiene una estructura tubular formada por múltiples ciclopeptidos (Figura 3, en la que los distintos grupos R se han omitido por simplicidad).

La naturaleza tubular de los ligandos ciclopeptídicos es una característica importantísima ya que permite distinguir entre flujo turbulento y laminar, mejorando de esta forma la eficacia de los ACs para su uso en IRM.

En otro aspecto la invención se dirige hacia un procedimiento para la obtención de los compuestos de fórmula VI, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula general I y un cloruro del lantánido en agua.

La obtención de los compuestos de fórmula general I se puede realizar mediante el acoplamiento entre el compuesto de fórmula (IX) y el ligando tipo (II) o el ligando tipo (III),



en donde Y se selecciona entre ácido carboxílico, amina, alcohol, tiol, azida, alqueno terminal, haluroalqueno terminal, alquino terminal, haluro arílico monocíclico o bicíclico, haloheterociclo mono cíclico o bicíclico saturado o insaturado; Y' representa un grupo seleccionado entre ácidos carboxílicos, aminas, alcoholes, tioles, azidas, alquenos terminales, haluroalquenos terminales, alquinos terminales, haluros arílicos monocíclicos o bicíclicos, haloheterociclos mono cíclicos o bicíclicos saturados o insaturados; Y e Y' se seleccionan de forma que sus reactividades permitan formar un enlace covalente entre ellos.

Por último, la invención se dirige hacia el uso de los compuestos de fórmula VI en la fabricación de agentes de contraste para Imagen por Resonancia Magnética (IRM) en el diagnóstico clínico.

También se dirige a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula VI y al menos un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

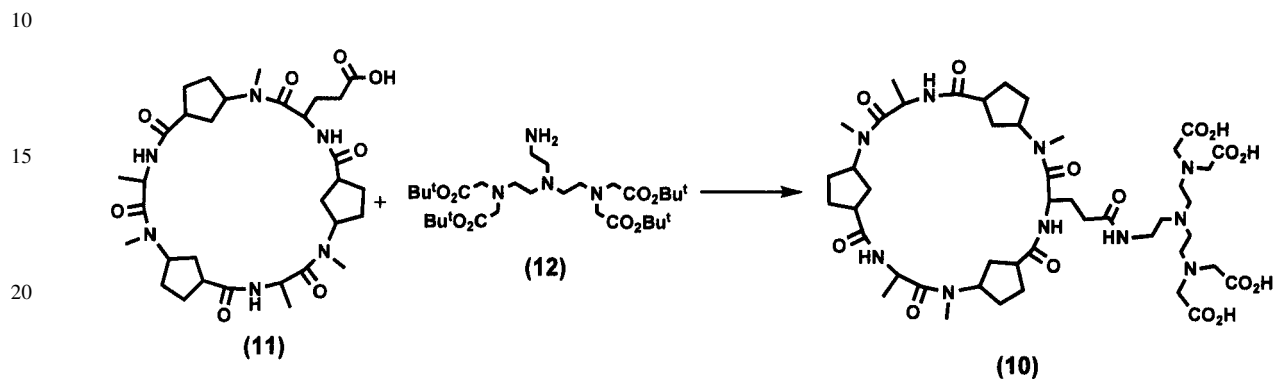
Y se dirige hacia un método para el diagnóstico de arteroesclerosis mediante IMR en un mamífero, que comprende administrar a un mamífero que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula VI.

Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención y no deben considerarse limitantes de la misma.

Modo de realización de la invención

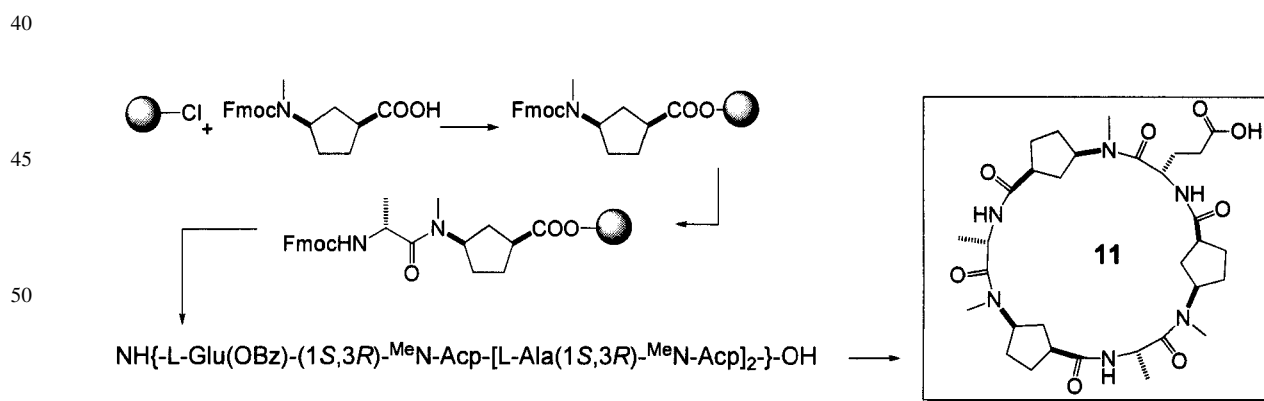
El compuesto 10 se preparó mediante acoplamiento entre el ciclopéptido 11 y el aminoéster 12 usando DIC y DMAP en DMF como disolvente, y posterior desprotección de los ésteres *tert*-butílicos en medio ácido (esquema 1).

Esquema 1



La síntesis del hexapéptido 11 se ha llevado a cabo siguiendo el procedimiento general conocido para la síntesis en fase sólida de péptidos lineales empleando como grupos protectores Fmoc-*t*Bu (esquema 2). Comienza con el anclaje del ácido (1*S*,3*R*)-3-[(9*H*-fluoren-9-ilmtoxycarbonil)-metil-amino]-ciclopentanocarboxílico, (Fmoc-^{Me}N-Acp), previamente preparado, a la resina de 2-clorotritilo (GL BIOCHEM 100-200 mesh, 1% DVB, 1 mmol/g), desprotección selectiva del grupo amino terminal, seguida de acoplamiento con L-Fmoc-Ala conduciendo a un dipéptido, que por sucesivos acoplamientos de Fmoc-^{Me}N-Acp-OH, L-Fmoc-Ala-OH, Fmoc-^{Me}N-Acp-OH, y L-Fmoc-Glu(*t*Bu)-OH dio lugar al hexapéptido L-Glu(O*t*Bu)-(1*S*,3*R*)-^{Me}N-Acp-L-Ala-(1*S*,3*R*)-^{Me}N-Acp-L-Ala-(1*S*,3*R*)-^{Me}N-Acp. Posteriormente se llevó a cabo la ciclación del hexapéptido lineal en presencia de TBTU y DIEA en diclorometano dando lugar al ciclopéptido 13 que por tratamiento en medio ácido fuerte (TFA:CH₂Cl₂) condujo al ciclopéptido 11 deseado.

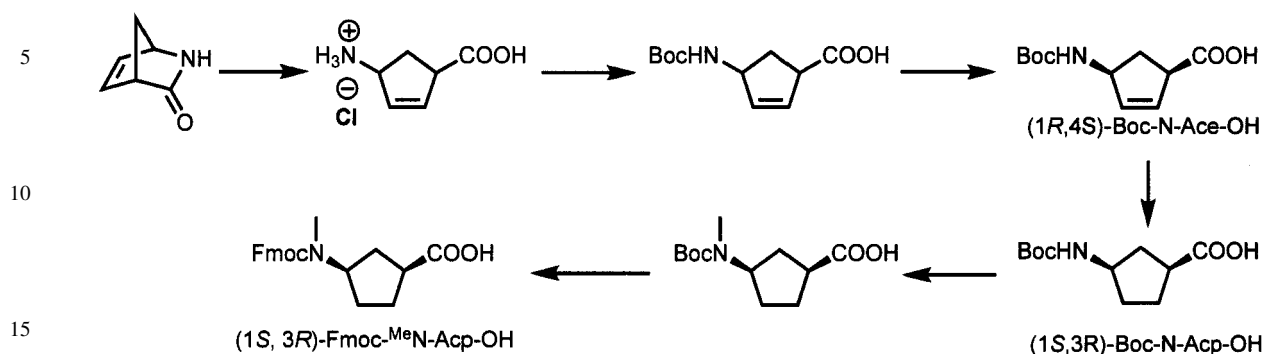
Esquema 2



El (1*S*,3*R*)-Fmoc-^{Me}N-AcpOH se ha preparado a partir de la lactama de Vince, mediante su hidrólisis ácida para dar lugar al hidrocloreto del ácido *cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico, el cual tratamos con Boc₂O en presencia de base, obteniéndose la correspondiente mezcla racémica del ácido *N*-Boc-*cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico. Esta mezcla racémica se resolvió mediante una cristalización la (+)-feniletilamina, de forma que después de tres cristalizaciones obtenemos los 2 enantiómeros del aminoácido con un exceso enantiomérico superior al 98%. El ácido (1*R*,4*S*)-*N*-*tert*-butoxicarbonilaminociclopent-2-enocarboxílico se redujo con Pd/C en atmósfera de H₂, el aminoácido reducido se trató con NaH y MeI obteniendo el *N*-metil aminoácido, el último paso es la desprotección del grupo amino en medio ácido y posterior tratamiento con cloruro de 9-fluorenilmetoxicarbonilo, obteniéndose (1*S*,3*R*)-Fmoc-^{Me}N-Acp debidamente protegido y con la estereoquímica adecuada (esquema 3).

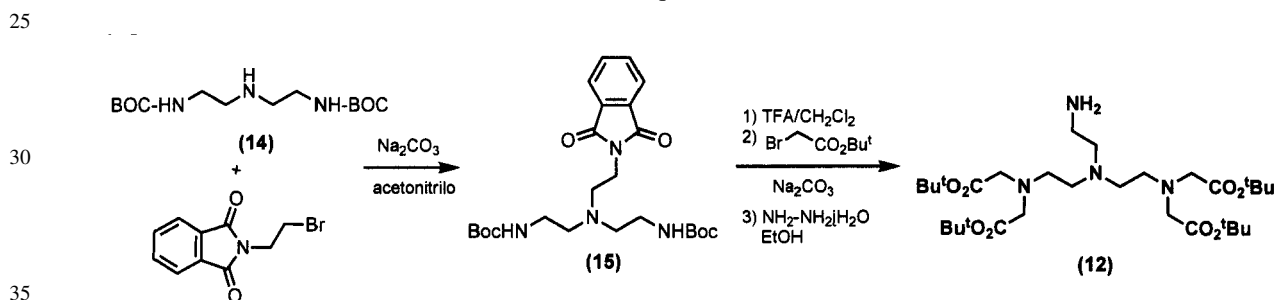
ES 2 354 320 B2

Esquema 3



20 Por otra parte, la preparación de 12 se ha realizado a partir de bis(*tert*-butoxicarbonilamino)dietilentriamina 14 como se indica en el esquema 4. La alquilación de 14 con *N*-(2-bromoetil)ftalimida conduce a 15; el tratamiento de dicho compuesto con ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano, alquilación con bromoacetato de *tert*-butilo y posterior tratamiento con hidrazina en etanol da lugar a la amina 12.

Esquema 4



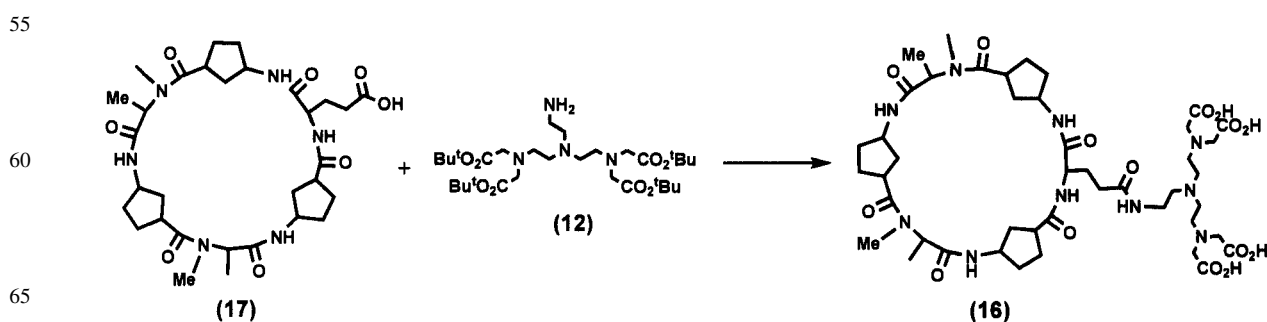
40 Una vez sintetizado el compuesto 10 se ha realizado un estudio por RMN que demuestra que el ciclopéptido 10 es capaz de auto-ensamblarse, mediante enlaces de hidrógeno entre los grupos CO de una de las sub-unidades y los NH de otro ciclopéptido, dando lugar a dímeros estables. Además, los cálculos computacionales realizados, tanto en fase gaseosa como en disolución en agua, confirman el auto-ensamblaje observado.

45 Los correspondientes complejos de lantánidos se obtienen por reacción entre cantidades equimoleculares de MCl₃·6H₂O (M = lantánido) y el correspondiente ligando orgánico en disolución acuosa a temperatura ambiente a un pH entre 5-7.

Estos complejos presentan una estructura adecuada, de naturaleza tubular, que les confiere unas propiedades magnéticas anisotrópicas.

50 El segundo ejemplo, el péptido 16, se preparó mediante la condensación de la amina 12 con el ciclopéptido 17, que tras su posterior tratamiento con el ácido trifluoroacético dio lugar al ciclohexapéptido deseado (esquema 5).

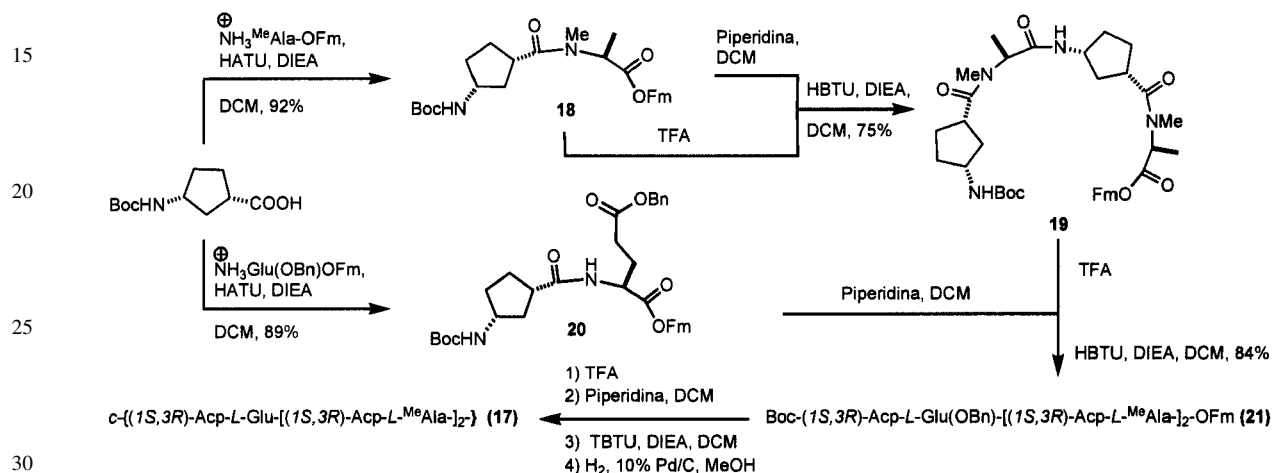
Esquema 5



ES 2 354 320 B2

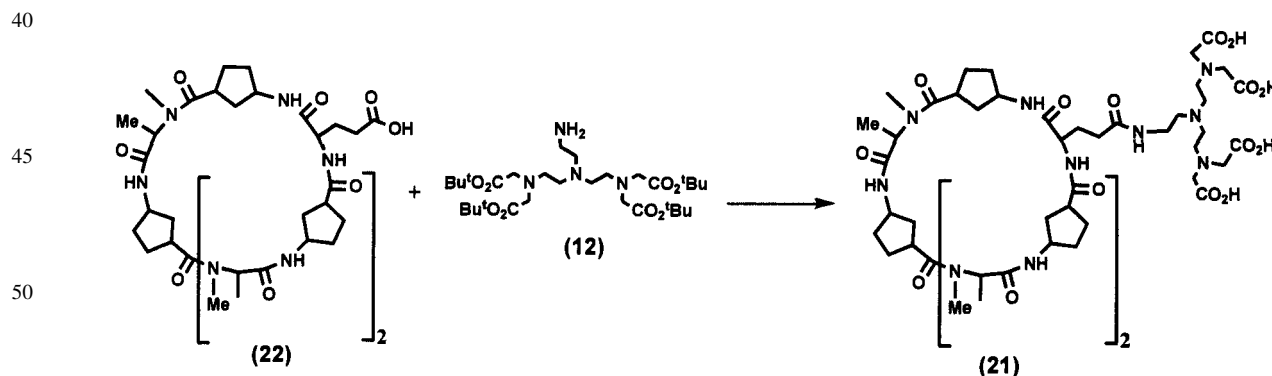
Para la preparación de 17 se seleccionó en este caso una estrategia en disolución basada en la formación de los dipéptidos Boc-(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla-OFm y Boc-(1*S*,3*R*)-Acp-Glu(OBn)-OFm, tal como se muestra en el esquema 6. La posterior formación del tetrapéptido Boc-[(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla]₂OFm por acoplamiento de los dipéptidos Boc-(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla-OH (obtenido por tratamiento con piperidina) y NH₃-(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla-OFm (tras el tratamiento con TFA), seguido de acoplamiento con el Boc-Acp-Glu(OBn)-OH, tras el tratamiento con TFA condujo al correspondiente hexapéptido. La ciclación y posterior desprotección de la cadena lateral del glutámico mediante una hidrogenólisis dio lugar al péptido 17.

Esquema 6



El tercer ejemplo, el péptido 21, se preparó mediante la condensación de la amina 12 con el ciclopéptido 22, que tras su posterior tratamiento con el ácido trifluoroacético dio lugar al ciclohexapéptido deseado (esquema 7).

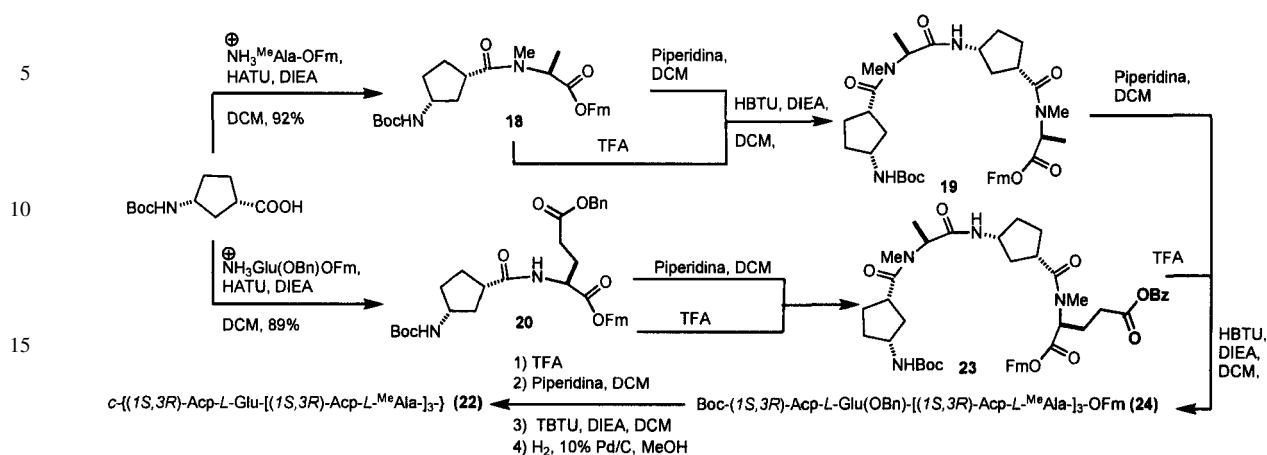
Esquema 7



Para la preparación de 22 se seleccionó en este caso una estrategia en disolución basada en la formación de los dipéptidos Boc-(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla-OFm y Boc-(1*S*,3*R*)-Acp-Glu(OBn)-OFm, tal como se muestra en el esquema 8. La posterior formación del tetrapéptido Boc-[(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla]₂OFm por acoplamiento de los dipéptidos Boc-(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla-OH (obtenido por tratamiento con piperidina) y NH₃-(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla-OFm (tras el tratamiento con TFA). Por otro lado se sintetizó el tetrapéptido Boc-(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla-(1*R*,3*R*)-Acp-Glu(OBn)-OFm por acoplamiento de los dipéptidos Boc-(1*S*,3*R*)-Acp-MeAla-OH (obtenido por tratamiento con piperidina) y H₃N-Acp-Glu(OBn)-OFm (tras el tratamiento con TFA). El acoplamiento de ambos tetrapéptidos, después de ser tratado uno con piperidina y otro TFA, dio lugar al octapéptido lineal. La ciclación y posterior desprotección de la cadena lateral del glutámico mediante una hidrogenólisis dio lugar al péptido 22.

ES 2 354 320 B2

Esquema 8



Los correspondientes complejos de lantánidos se obtienen por reacción entre cantidades equimoleculares de $MCl_3 \cdot 6H_2O$ (M = lantánido) y el correspondiente ligando orgánico en disolución acuosa a temperatura ambiente a un pH entre 5-7.

Estos complejos presentan una estructura adecuada, de naturaleza tubular, que les confiere unas propiedades magnéticas anisotrópicas.

Síntesis del compuesto 10

Ácido *cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico

Una disolución de la lactama de Vince (25 g, 22.9 mmol) en una disolución acuosa de HCl (10%, 1.5 L) se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 24 h. A continuación se concentró el disolvente a presión reducida y se añadió acetona. El sólido formado se filtró y se lavó repetidas veces con acetona obteniéndose 37 g del ácido *cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico en forma de un sólido marrón, que se utilizó en el siguiente paso de síntesis sin previa purificación. 1H RMN (D_2O , 250.13 MHz) δ 2.1 (dt, 1H, CHH), 2.70 (dt, 1H, CHH), 3.76 (s, 1H, CH), 4.42 (t, 1H, CH), 6.9-6.25 (dd, 2H, CH=CH); ^{13}C RMN (D_2O , 62.83 MHz) δ 31.6 50.1, 56.5, 130.0-136.6, 177.7. EM (Iq) [m/z (%): 128 ((M+H)+, 82), 111 (((M+H)+-OH), 53), 110 ((M+OH),100), 82 ((M+-COOH), 50).

Ácido *N*-Boc-*cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico

A una disolución del ácido *cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico (37 g, 226.37 mmol) en agua (750 mL) y dioxano (750 mL), se le añadió Boc_2O (74.02 g, 339.55 mmol) y DIEA (118.6 mL, 679.10 mmol) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 3 h. A continuación, la mezcla de reacción se acidificó hasta pH=3 con una disolución acuosa de HCl (10%) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 200 mL). La combinación de las fases orgánicas se seco con sulfato sódico anhidro, se eliminó el desecante por filtración y seguidamente se eliminó el disolvente a presión reducida. El aceite amarillo obtenido se purifica por cristalización en una mezcla de hexano: $CHCl_3$ (1:1) obteniéndose el ácido *N*-Boc-*cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico (41.91 g, 81%). 1H -RMN ($CDCl_3$, 250.13 MHz) δ 1.42 (s, 9H, $(CH_3)_3C$), 1.9 (s, 1H, CHH), 2.50 (s, 1H, CHH), 3.46 (s, 1H, CH), 4.76 (t, 1H, CH), 5.90 (d, 2H, CH=CH), 10.76 (s, 1H, OH); ^{13}C -RMN ($CDCl_3$, 62.83 MHz) δ 28.3, 34.2, 49.2, 55.9, 79.6, 130.1-135.9, 155.3, 178.9. E.M. (Iq) [m/z (%): 228 ((M+H)⁺, 60), 171 (((M+H)⁺-C-(CH_3)₃),100), 127 ((M+H)⁺-Boc),52), 110 ((M⁺-OH), 66). HRMS (EIS) [MH]⁺ calculada para $C_{11}H_{17}NO_4$: 228.1158; encontrada 228.1238.

Resolución del ácido *N*-Boc-*cis*-4-aminociclopent-2-enocarboxílico

A una disolución de Boc- γ -Ace (40.0 g, 176.21 mmoles) en $CHCl_3$ (900 mL) se le añadió (-)-1-feniletilamina (13.91 mL, 105.7 mmol) y hexano (900 mL) y la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 96 h. A continuación, se filtraron los cristales blancos formados y se lavó con hexano. Seguidamente, el sólido obtenido se suspendió en CH_2Cl_2 (500 mL) y se lavó con ácido clorhídrico 5% (3 x 150 mL). La combinación de las fases orgánicas se seco con sulfato sódico anhidro, se eliminó el desecante por filtración y finalmente se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose el ácido (1*R*,4*S*)-aminociclopent-2-enocarboxílico (15.95 g; e.e.=98%). $[\alpha]_D^{298} = -46.05$. 1H RMN ($CDCl_3$, 250.13 MHz) δ 1.43 (s, 9H, $(CH_3)_3C$), 1.85- 2.53 (m, 2H, CH_2), 3.48 (s, 1H, CH), 4.58-4.89 (t, 1H, CH), 5.88-6.22 (d, 2H, CH=CH), 10.4 (s, 1H, COOH); ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 62.83 MHz) δ 28.8, 33.8, 49.6, 56.3-57.3, 80.4-81.3, 131.3-135.3, 155.7-157.2, 178-09-179.3. E.M. (Iq) [m/z (%): 228 ((M+H)⁺, 60), 171 (((M+H)⁺-C-(CH_3)₃), 100), 127 ((M+H)⁺-Boc),52), 110 ((M⁺-OH), 66). HRMS (EIS) [MH]⁺ calculada para $C_{11}H_{17}NO_4$ es 228.1158; encontrada 228.1238.

ES 2 354 320 B2

Ácido *N*-Boc-(1*S*,3*R*)-aminociclopentanocarboxílico ((+)-Boc-Acp-OH)

A una disolución del ácido Boc-(1*R*,4*S*)-aminociclopent-2-enocarboxílico (4.8 g; 21.15 mmoles) en EtOH (40 mL) se le añadió Pd/C al 10% (0.25 g), y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente, bajo atmósfera de argón, durante 24 horas. Posteriormente el crudo de reacción se filtró sobre celita, y se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniendo el ácido (1*S*, 3*R*)-aminociclopentanocarboxílico (4.84 g; 100%). $[\alpha]_D^{20} = -16.8$ (c=1.0, MeOH). ^1H RMN (CDCl_3 , 250.13 MHz) δ 1.37 (s, 9H, 3 x $(\text{CH}_3)_3$), 1.90(m, 2H, CH_2), 2.19 (m, 2H, CH_2), 2.80 (m, 1H, CHH), 3.83 (s, 1H, CHH), 3.98 (s, 1H, CH), 4.86 (s, 1H, CH), 6.30 (s, 1H, NH), 10.20 (s, 1H, COOH); ^{13}C RMN (CDCl_3 , 62.83 MHz) δ 28.5, 28.8, 33.6, 36.5, 42.2, 52.4, 156.0, 182.4. E.M. (Iq) [m/z (%): 230 ((M+H)⁺, 1), 174 (((M+H)⁺-C(CH₃)₃), 45), 130 ((M+H)⁺-Boc), 100), 112 ((M⁺-OH), 88). HRMS (EIS) [MH]⁺ calculada para C₁₁H₂₀NO₄ 230.1392; encontrada 230.1403.

Acido (1*S*,3*R*)-3-amino-*N*-*tert*-butiloxicarbonil-*N*-metilciclopentanocarboxílico ((+)-Boc-MeN-Acp-OH)

A una disolución de ácido Boc-(1*S*,3*R*)-3-amino-*N*-*tert*-butiloxicarbonil-*N*-ciclopentanocarboxílico (2.3 g; 10.04 mmoles) en THF seco (230 mL), se le añadió NaH (2 g; 50.22 mmoles) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a 0°C durante 30 min. A continuación, se le añadió yoduro de metilo (3.13 mL; 50.22 mmoles), y la mezcla resultante se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante toda la noche. Seguidamente, se hidrolizó con agua y el disolvente se eliminó a presión reducida. La solución acuosa se lavó con Et₂O, y se acidificó con una disolución acuosa de HCl al 10% hasta pH 3. Finalmente, se extrajo con CH₂Cl₂. La combinación de las fases orgánicas se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se eliminó el desecante por filtración y el disolvente a presión reducida obteniéndose el ácido (1*S*,3*R*)-3-amino-*N*-*tert*-butiloxicarbonil-*N*-metilciclopentanocarboxílico (1.42 g, 98%). ^1H NMR (CDCl_3 , 250.13 MHz) δ 4.47 (m, 1H, CH), 2.77 (m, 1H, CH), 2.69 (s, 3H, N-CH₃), 2.13-1.64 (m, 6H), 1.47 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 62.90 MHz) δ 181.2, 155.8, 79.6, 55.8, 41.2, 31.7, 28.3, 28.2, 27.3, 27.2; MS(Iq) [m/z (%): 244 ([MH]⁺, 3), 188 (36), 170 (30), 144 ([MH -Boc]⁺, 100), 126 (85), 112 (9); HRMS [MH]⁺ calculada para C₁₂H₂₂NO₄ 244.1549, encontrada 244.1553.

Ácido (1*S*,3*R*)-3-*N*-(9*H*-fluoren-9-ilmtoxycarbonil-*N*-metil-ciclopentanocarboxílico ((+)-Fmoc-MeN-Acp-OH)

A una disolución del ácido Boc-(1*S*,3*R*)-3-amino-*N*-*tert*-butiloxicarbonil-*N*-metilciclopentanocarboxílico (2.08 g; 8.58 mmoles) en CH₂Cl₂ (10 mL), se le añadió TFA (10 mL) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura 30 min. A continuación, se eliminó el disolvente a presión reducida.

A una disolución del residuo obtenido en dioxano : H₂O (100 mL), se le añadió FmocCl (2.8 g, 11.1 mmoles) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación durante 15 min. Seguidamente, se añadió Na₂CO₃ (2.73 g, 25.74 mmoles) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación durante 12 h. A continuación, el crudo de reacción se acidificó con una disolución acuosa de HCl al 5% y se extrajo con CH₂Cl₂. La combinación de las fases orgánicas se secó con Na₂SO₄, se eliminó el desecante por filtración y el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando como eluyente una mezcla MeOH/CH₂Cl₂ (gradiente 0-5%). ^1H RMN (CDCl_3 , 250.13 MHz) δ 2.15-1.62 (m, 6H, CH₂), 2.81 (s, 3H, N-CH₃), 2.83 (m, 1H, CHCOOH), 4.25 (t, 1H, O-CH₂CH), 4.44 (d, 2H, O-CH₂CH), 4.62 (s ancho, 1H, CH-N), 7.29-7.43 (m, 4H), 7.58 (d, 2H), 7.77 (d, 2H) ppm.

Ciclo-[[*(1S,3R)*-MeN-Acp-L-Ala]₂-*(1S,3R)*-MeN-Acp-L-Glu(OtBu)]] (13)

El acoplamiento de Fmoc-MeN-Acp (0.313 g, 0.855 mmol), con la resina 2-clorotritilo (0.285 g, 0.285 mmol Cl) se llevó a cabo en presencia de DIEA (0.368 g, 2.85 mmol) en CH₂Cl₂ durante 2 h.

Las desprotecciones selectivas de los grupos Fmoc terminales de los aminoácidos anclados a la resina se llevaron a cabo empleando 20% de piperidina en DMF.

Los acoplamientos de los Fmoc-*N*-aminoácidos se han realizado mediante su activación con HATU, si el aminoácido anclado en la resina está *N*-metilado, y con HBTU en presencia de DIEA en DMF, siguiendo los procedimientos habituales.

La liberación del hexapéptido de la resina se realizó en una mezcla de ácido acético/trifluoroetanol/diclorometano (1:1:8). El hexapéptido lineal L-Glu(O^tBu)-*(1S,3R)*-MeN-Acp-L-Ala-*(1S,3R)*-MeN-Acp-L-Ala-*(1S,3R)*-MeN-Acp se cicló con TBTU en presencia de DIEA en CH₂Cl₂. El compuesto 13 se purificó mediante HPLC (columna Phenomenex Maxsil- 10 sílica 250x10,00 mm). Finalmente, se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose el ciclohexapéptido 12 en forma de un sólido blanco (30 mg, 15%) ^1H NMR (CDCl_3 , 250.13 MHz) δ 1.32 (d, 6H, 2 x CHCH₃), 1.41 (s, 9H, (CH₃)₃C), 1.50-2.44 (5m, 22H, CH₂), 2.92 (m, 3H, CHCOO-NH), 3.03 (3s, 9H, 3 x N-CH₃), 4.78 (m, 3H, CH-NH-CO), 5.15 (m, 3H, N-CH-CO), 8.22 (3m, 3H, N-H) ppm.

Ciclo-[[*(1S,3R)*-MeN-Acp-L-Ala]₂-*(1S,3R)*-MeN-Acp-L-Glu]] (11)

Una disolución de 13 (30 mg, 0.042 mmol) en 0.8 mL de TFA/CH₂Cl₂ (1:1) se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose el compuesto 11 en forma de sólido blanco. ^1H RMN (CDCl_3 , 250.13 MHz) δ 1.33 (d, 6H, 2 x CHCH₃), 1.48-2.48 (4m, 22H, CH₂), 2.92

ES 2 354 320 B2

(m, 3H, CH-CO-NH), 3.02 (s ancho, 12H, 3 x N-CH₃ y CH-CO-NH), 4.74 (m, 3H, CH-NH-CO), 5.20 (m, 3H, NH-CH-CO), 8.58 (m, 3H, NH) ppm.

(2-((2-*terc*-Butoxicarbonilaminoetil)-[2-(1,3-dioxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)-etil]-amino)-etil)-carbamato de *terc*-butilo (15)

Una disolución de 14 (1.42 g, 4.68 mmol), *N*-(2-bromoetil)ftalimida (1.29 g, 5.08 mmol) y Na₂CO₃ (1.08 g, 10.16 mmol) en acetonitrilo seco (30 mL) se mantuvo con agitación a reflujo durante 48 h. A continuación se filtró el sólido en suspensión y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna sobre sílica gel usando como eluyente una mezcla de CH₂Cl₂/EtOH (96:4), obteniéndose el producto 15 en forma de un sólido blanco (p. f. 121-122°C, CH₂Cl₂/Hexano); ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 1.40 (s, 18H, (CH₃)₃C), 2.61 (t, 4H, N-CH₂-CH₂-NHBoc), 2.75 (t, 2H, (CO)₂N-CH₂-CH₂-N), 3.13 (m, 4H, CH₂-NHBoc), 3.74 (t, 2H, (CO)₂N-CH₂), 4.97 (s ancho, 1H, NHBoc), 7.72 (m, 2H, aromático), 7.85 (m, 2H, aromático) ppm; ¹³C RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 28.0, 35.8, 37.9, 52.0, 53.2, 78.5, 122.9, 131.5, 133.6, 155.6, 168.0 ppm; IR (ATR): ν 3361.6, 1704.4, 1683.0, 1522.3, 1164.5, 1014.7, 869.8, 723.5 cm⁻¹; Anal. Calcdo para C₂₄H₃₆N₄O₆: C 59.27, H 9.24, N 16.46. Encontrado C 59.30, H 9.00, N 16.46.

[(2-((2-Aminoetil)-[2-(bis-*terc*-butoxicarbonilmetilamino)etil]amino)etil)-*terc*-butoxicarbonilmetilamino]acetato de *terc*-butilo (12)

Una disolución de 15 (0.72 g, 1.5 mmol) en una mezcla de TFA/CH₂Cl₂ (1:1) (22 mL) se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 24 h y a continuación se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en acetonitrilo seco (30 mL), se le añadió bromoacetato de *tert*-butilo (1.29 g, 6.6 mmol) y K₂CO₃ (2.05 g, 14.83 mmol) y la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 24 h. Seguidamente el crudo de reacción se dejó enfriar y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se disolvió en etanol seco (50 mL), se le añade exceso de hidrazina monohidratada y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a reflujo durante 4 horas. A continuación se filtró el sólido formado y se eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna sobre sílica gel usando como eluyente una mezcla CH₂Cl₂/MeOH con un gradiente de 7.5 al 12%. Se obtuvo el producto 12 en forma de aceite amarillo. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 1.45 (s, 36H, 4 x (CH₃)₃C), 2.62 (t, 4H, 2 x CH₂-N), 2.80 (m, 6H, 3 x N-CH₂), 3.07 (t, 2H, CH₂-NH₂), 3.42 (s, 8H, N-CH₂-CO) ppm; ¹³C RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 28.1, 38.1, 48.8, 51.6, 52.5, 55.1, 81.8, 170.7 ppm; IR (ATR): ν 1729.2, 1680.8, 1147.5 cm⁻¹; EM (FAB) [m/z (%): 603 (100), 560 (26), 160 (45), 145 (35), 57 (37); HRMS (FAB): [MH]⁺ calculado para C₃₀H₅₈N₄O₈: 603.4333, encontrado 603.4320.

Obtención del ciclopéptido (10)

A una disolución del ciclopéptido 11 (27.6 mg, 0.042 mmol), *N,N*-diisopropilcarbodiimida (DIC) (8 mg, 0.063 mmol) y *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) (30.78 mg, 0.252 mmol) en DMF seca (0.5 mL), se le añadió, bajo atmósfera de argón, una disolución de 12 (37.64 mg, 0.063 mmol) en DMF seca (0.6 mL) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente, hasta la consumición total del producto de partida comprobado por MS (24 h). Finalmente, se eliminó el disolvente a presión reducida. Seguidamente el crudo obtenido se disuelve en una mezcla de TFA/CH₂Cl₂ en proporción 1:1 (1.8 mL) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 24 h. A continuación, se eliminó el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción se purificó mediante HPLC (columna Licroscarp C18), usando como fase móvil H₂O:TFA (99.9:0.1) y ACN:TFA (99.9:0.1). Se liofilizó la disolución obteniéndose 10 como un sólido blanco (17 mg, 40%; p. f. 265-268°C). ¹H RMN (D₂O, 500 MHz): δ 1.27 (d, 6H, CHCH₃), 1.54 (m, 3H, CH₂), 1.80-2.08 (2m, 14H, CH₂ y CH₂CH₂CONH), 2.13 (m, 3H, CH₂), 2.24-2.39 (2m, 2H, CH₂CH₂CONH), 2.55-3.43 (6m, 15H), 3.02 (s, 9H, N-CH₃), 3.79 (s, 8H, CH₂CO₂H), 4.72-4.89 (m, 6H, CH-N y CHCH₃) ppm. HRMS (ESI-TOF; iones negativos): [MH]⁻ calculado para C₄₆H₇₄N₁₀O₁₅: 1006.534, encontrado 1007.542.

Síntesis del compuesto 16

Tert-butil-(*S*)-1-(((9*H*-fluoren-9-il)-metoxycarbonil-3-(fenoxycarbonil)propilcarbamato ((*L*)-Boc-Glu(OBz)-OFm)

Una disolución de Boc-L-Glu(OBz)-OH (1.0 g, 2.96 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (60 mL) fue tratada con EDC·HCl (724 mg, 3.26 mmoles), HOBT (500 mg, 3.70 mmoles), 9-fluorenil metanol (642 mg, 3.26 mmoles) y DMAP (452 mg, 3.70 mmoles). Después de 4 horas agitando a t. a., se lavó la disolución con HCl al (10%), NH₄Cl (sat.) y NaHCO₃ (sat.). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró a vacío, y el crudo resultante fue purificado mediante una cromatografía en columna (20% hexano/diclorometano). ¹H-RMN (CDCl₃, 250.13 MHz) δ: 1.47 (s, 9H), 1.92 (dt, 1H), 2.15 (m, 1H), 2.40 (m, 2H), 4.22 (t, 1H), 4.57-4.38 (m, 3H), 5.15 (s, 2H), 5.19 (d, 1H), 7.44-7.26 (m, 9H), 7.62-7.60 (dd, 2H), 7.77-7.74 (dd, 2H); E.M. (ESI-TOF) [m/z]: 538.2183 (M+Na⁺), 416.1837 (MH⁺-Boc). HRMS (ESI-TOF) [MNa]⁺ calculada para C₃₁H₃₃N₁Na₁O₆: 538.2200; encontrada 538.2183.

Ácido (2*S*)-2-amino-*N*-*terc*-butiloxycarbonil-*N*-metil-propanoico ((*L*)-Boc-^{Me}*N*-Ala-OH)

A una disolución del aminoácido (*L*)-Boc-Ala-OH (5.0 g; 26.45 mmoles) en THF seco (265 mL), se le añadió NaH (3.17 g; 132.27 mmoles) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a 0°C durante 30 min. A continuación, se

ES 2 354 320 B2

le añadió yoduro de metilo (8.23 mL; 132.37 mmoles), y la mezcla resultante se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante toda la noche. Seguidamente, se hidrolizó con agua y el disolvente se eliminó a presión reducida. La solución acuosa se lavó con Et₂O, y se acidificó con una disolución acuosa de HCl al 10% hasta pH 3. Finalmente, se extrajo con CH₂Cl₂. La combinación de las fases orgánicas se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se eliminó el desecante por filtración y el disolvente a presión reducida obteniéndose el ácido deseado. (5.36 g, 99%). El producto resultante es un aceite. ¹H-RMN (CDCl₃, 250.13 MHz) δ: 1.45 (m, 12H), 2.85 (d, 3H), 4.45 (q, 0,5 H), 4.85 (q, 0,5 H), 10.55 (s, 1H).

(9H-fluoren-9-il)metil (2S)-2-amino-N-tert-butiloxicarbonil-N-metil-propanato ((L)-Boc-Me-N-Ala-OFm)

Una disolución de Boc-L-Me-N-Ala-OH (5.37 g, 26.45 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (60 mL) fue tratada con EDC·HCl (6.47 g, 33.74 mmoles), HOBt (4.47 g, 33.06 mmoles), 9-fluorenil metanol (5.73 g, 29.1 mmoles) y DMAP (4.04 g, 33.06 mmoles). Después de 4 horas agitando a t. a., se lavó la disolución con HCl al (10%), NH₄Cl (sat.) y NaHCO₃ (sat.). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró a vacío, y el crudo resultante fue purificado mediante una cromatografía en columna (10% acetato de etilo/hexano). Obteniendo un aceite. ¹H-RMN (CDCl₃, 250.13 MHz) δ: 1.48-1.21 (b, 13H), 2.03 (s, 0,5), 2.76 (d, 3H), 4.59-4.06 (b, 4H), 4.06 (q, 0,5H), 7.42-7.25 (dt, 4H), 7.58 (d, 2H), 7.74 (d, 2H).

Boc-(1S,3R)-Acp-L-Me-N-Ala-OFm (18)

Una solución de Boc-(+)-L-Me-N-Ala-OFm (1.66 g, 4.36 mmoles) en CH₂Cl₂:TFA (44 mL) fue agitada a temperatura ambiente durante 15 min, a continuación se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se secó a vacío durante 3 h. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (20 mL) y se le añadió una suspensión de (1S, 3R)-Boc-Acp-OH (998 mg, 4.36 mmoles), HATU, (1.82 g, 4.80 mmoles), DIEA (4,6 mL, 26.16 mmoles) en CH₂Cl₂ (20 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La disolución se lavó con HCl (5%) y NaHCO₃ (sat.), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente acetato de etilo/hexano (gradiente 20% a 30%). Obteniendo una espuma blanca. ¹H-RMN (CDCl₃, 250.13 MHz) δ: 1.29 (d, 3H), 1.46 (d, 9H), 2.08-1.56 (b, 6H), 2.43 (s, 0,6H), 2.70 (s, 2,4H), 2.97 (m, 1H), 4.22-3.98 (m, 2H), 4.78-4.38 (m, 2H), 5.18 (q, 1H), 5.55 (dd, 1H), 7.42-7.25 (dt, 4H), 7.58 (dd, 2H), 7.74 (d, 2H). E.M. (ESI-TOF) [m/z]: 515.2499 (M+Na⁺), 437.2066 (MH⁺-¹Bu), 393.2159 (MH⁺-Boc). HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₂₉H₃₇N₂O₅: 493.2730; encontrada 493.2683.

Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-Me-N-Ala]₂-OFm (19)

Una solución de Boc-(1S, 3R)-Acp-L-Me-N-Ala-OFm (600 mg, 1.22 mmoles) en CH₂Cl₂:TFA (12,2 mL) fue agitada a temperatura ambiente durante 15 min., a continuación se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se secó a vacío durante 3 h, dando lugar a la sal TFA⁻-H₂N-(1S, 3R)-Acp-L-Me-N-Ala-OFm (sal A). Por otro lado se trató una disolución de Boc-(1S, 3R)-Acp-L-Me-N-Ala-OFm (600 mg, 1.22 mmoles) en CH₂Cl₂ (9,8 mL) con piperidina (2,5 mL), se agitó a temperatura ambiente, después de 20 minutos se lavó con HCl (5%), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró, y concentró, obteniendo una espuma. Esta espuma se disolvió en CH₂Cl₂ (24 mL) y se le añadió HATU (510 mg, 1.34 mmoles), DIEA (0,85 mL, 4.88 mmoles), la suspensión se agitó durante 2 minutos y se añadió la sal A. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La disolución se lavó con HCl (5%) y NaHCO₃ (sat.), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente CH₂Cl₂:MeOH (gradiente 1% MeOH a 3%). Obteniendo una espuma blanca. ¹H-RMN (CDCl₃, 250.13 MHz) δ: 1.21-1.46 (m, 16H), 2.08-1.56 (b, 18H), 2.47-3.20 (b, 8H), 2.97 (m, 1H), 4.01-4.78 (m, 3H), 5.00-5.30 (m, 1,5H), 5.86 (d, 0,5H), 7.45-7.28 (dt, 4H), 7.56 (dd, 2H), 7.75 (d, 2H). E.M. (ESI-TOF) [m/z]: 711.3905 (M+Na⁺), 689.3901 (M+H⁺), 589.3707 (MH⁺-Boc). HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₃₉H₅₃N₄O₇: 689.3909; encontrada 689.3901.

Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)]-OFm (20)

Una solución de Boc-(1S, 3R)-L-Glu(OBz)-OFm (600 mg, 1.17 mmoles) en CH₂Cl₂:TFA (11,6 mL) fue agitada a temperatura ambiente durante 15 min., a continuación se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se secó a vacío durante 3 h. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (13 mL) y se le añadió una suspensión de (1S, 3R)-Boc-Acp-OH (267 mg, 1.17 mmoles), HATU, (531 g, 1.40 mmoles), DIEA (1,22 mL, 6.99 mmoles) en CH₂Cl₂ (10 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La disolución se lavó con HCl (5%) y NaHCO₃ (sat.), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente CH₂Cl₂:MeOH (gradiente 1% MeOH a 3%). Obteniendo una espuma blanca. ¹H-RMN (CDCl₃, 250.13 MHz) δ: 1.26-1.12 (m, 3H), 1.42 (s, 13H), 2.40-1.60 (b, 16H), .58 (m, 1H), 2.80 (s, 1,5H), 2.96 (s, 0,5H), 3.06 (s, 0,5H), 4.08 (m, 2H), 4.22 (t, 1,4H), 4.54 (d, 2H), 4.60 (m, 1H), 5.12 (s, 2H), 5.77-5.39 (2xb, 1H), 6.23 (d, 1H), 7.43-7.26 (m, 9H), 7.57 (dd, 2H), 7.75 (dd, 2H). E.M. (ESI-TOF) [m/z]: 647.2894 (M+Na⁺), 627.3081 (M+H⁺), 527.2535 (MH⁺-Boc). HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₃₇H₄₃N₂O₇: 627.3065; encontrada 627.3081.

Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-Me-N-Ala]₂-(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)]-OFm (21)

Una solución de Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)]-OFm (377 mg, 0.60 mmoles) en CH₂Cl₂:TFA (6 mL) fue agitada a temperatura ambiente durante 15 min., a continuación se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se secó a vacío durante 3 h, dando lugar a la sal TFA⁻-H₂N-[(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)]-OFm (sal B). Por otro lado se trató

ES 2 354 320 B2

una disolución de Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-^{Me}N-Ala]₂-OFm (415 mg, 0.60 mmoles) en CH₂Cl₂ (4,8 mL) con piperidina (1,2 mL), se agitó a temperatura ambiente, después de 20 minutos se lavó con HCl (5%), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró, y concentró, obteniendo una espuma. Esta espuma se disolvió en CH₂Cl₂ (24 mL) y se le añadió HATU (252 mg, 0.66 mmoles), DIEA (0,63 mL, 3.62 mmoles), la suspensión se agitó durante 2 minutos y se añadió la sal B. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La disolución se lavó con HCl (5%) y NaHCO₃ (sat.), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente CH₂Cl₂:MeOH (gradiente 1% MeOH a 3%). Obteniendo una espuma blanca. ¹H-RMN (CDCl₃, 250.13 MHz) δ: 1.31 (dd, 6H), 1.42 (s, 13H), 2.12-1.60 (b, 28H), 2.24 (q, 2H), 2.63 (b, 0.7H), 2.82 (d, 1H), 2.92 (d, 6H), 3.24 (b, 1.5H), 4.70-3-98 (b, 7H), 5.30-5.01 (b, 3.60H), 5.84 (d, 0.4H), 6.43 (d, 0.6H), 7.48-7.28 (m, 9H), 7.56 (t, 2H), 7.75 (dd, 2H). E.M. (ESI-TOF) [m/z]: 1041.5269 (M+Na⁺), 1019.5462 (M+H⁺). HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₅₇H₇₄N₆O₁₁: 1019.5488; encontrada 1019.5462.

c-[(1S,3R)-Acp-L-^{Me}N-Ala]₂-(1S,3R)-Acp-Glu(OBz)-] (22)

Una disolución del hexapéptido 13, Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-^{Me}N-Ala]₂-(1S, 3R)-Acp-Glu(OBz)-OFm, (542 mg, 0,553 mmoles), en CH₂Cl₂ (4,2 mL) se trató con piperidina (1,1 mL), esta disolución se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos, y se lavó con HCl (5%), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a vacío. El residuo obtenido se disolvió en CH₂Cl₂:TFA (5,4 mL) y se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente, transcurrido este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida, y se secó a vacío durante 3 horas. El hexapéptido resultante se fue disuelto en CH₂Cl₂ (533 mL) y se trató con PyAOP (333 mg, 0,64 mmoles) y DIEA (0.56 mL, 3,20 mmoles). La disolución se mantuvo bajo agitación y a temperatura ambiente durante 12 h, después se lavó con una disolución HCl(5%) y otra saturada de NaHCO₃, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El crudo resultante se purificó mediante HPLC-FR, usando como eluyente H₂O: 0.1 TFA (A) y ACN: 0.1 TFA (B), gradiente 5%B al 95% de B en 30 min. y se liofilizó obteniéndose un sólido blanco. ¹H-RMN (CDCl₃, 500.13 MHz): 1.36-1.19 (m, 15H), 2.12-1.57 (b, 60H), 2.49-2.28 (m, 5H), 2.73-2.56 (m, 7.5H), 3.20-2.84 (m, 28H), 3.96 (q, 1H), 4.14 (m, 1H), 4.50-4.20 (m, 9H), 4.75 (q, 0.2H), 5.18-5.03 (m, 8H), 6.47 (d, 1H), 6.54 (d, 1H), 6.79 (d, 0.2H), 7.28 (m, 12H), [7.60 (d), 7.65 (d), 7.74 (d), 7.93 (d), 8.02 (d), 8.06 (d), 8.21 (d); 6H].

HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₃₈H₅₅N₆O₈: 723.4076; encontrada 723.4096.

c-[(1S,3R)-Acp-L-^{Me}N-Ala]₂-(1S,3R)-Acp-Glu-] (17)

El ciclopéptido 14 (21 mg, 0.03 mmoles) se disolvió en MeOH (2 mL) y se adicióno Pd/C (4,7 mg, 0.0045 mmoles), la suspensión resultante se agitó durante 3 h bajo atmósfera de H₂(g). Después de este tiempo se filtró sobre celita y se arrastro con metanol, se concentró a vacío, obteniendo un sólido blanco. ¹H-RMN (CDCl₃, 500.13 MHz): 2.65-0,6 (b, 99H), 2.55 (s, 1H), 2.82-2.64 (m, 2H), 2.88 (s, 3H), 3.06-2.96 (5H), 3.21 (m, 1H), 4.17 (q, 1H), 4.25 (m, 1H), 4.36 (m, 1H), 4.44 (m, 1H), 4.91 (q, 1H), 5.14 (q, 1H), 6.38 (d, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.82 (d, 1H), 8.00 (d, 1H).

HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₃₁H₄₉N₆O₈: 633.3606; encontrada 633.3602.

Obtención del ciclopéptido 16

A una disolución del ciclopéptido 17 (22.9 mg, 0.035 mmol) en diclorometano (700 μL) y DMF (150 μL), se añadió HATU (*O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium hexafluorophosphate) (19.8 mg, 0,052 mmol) y DIEA (36 μL, 0.21 mmol), y se agitó durante 2 min, a continuación se añadió una disolución del compuesto 12 (31.4 mg, 0.052 mmoles) en diclorometano (150 μL), y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente, hasta la consumición total del producto de partida. Se eliminó el disolvente a presión reducida. Seguidamente el crudo obtenido se disolvió en una mezcla de TFA / CH₂Cl₂ en proporción 1:1 (600 μL) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación, se eliminó el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción se purifica mediante HPLC (columna Licroscarp C18), usando como fase móvil H₂O:TFA (99.9:0.1) y ACN:TFA (99.9:0.1). Se liofiliza la disolución obteniéndose 16 como un sólido blanco (17 mg).

HRMS (ESI-TOF; iones negativos): [MH]⁺ calculado para C₄₅H₇₃N₁₀O₁₅: 993.5256, encontrado 993.5251.

Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-^{Me}N-Ala-(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)]-OFm (23)

Una solución de Boc-(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)-OFm (764, 1.22 mmoles) en CH₂Cl₂:TFA (12,2 mL) fue agitada a temperatura ambiente durante 15 min., a continuación se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se secó a vacío durante 3 h, dando lugar a la sal TFA⁻H₂N-(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)-OFm (sal A). Por otro lado se trató una disolución de Boc-(1S, 3R)-Acp-L-^{Me}N-Ala-OFm (600 mg, 1.22 mmoles) en CH₂Cl₂ (9,8 mL) con piperidina (2,5 mL), se agitó a temperatura ambiente, después de 20 minutos se lavó con HCl (5%), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró, y concentró, obteniendo una espuma. Esta espuma se disolvió en CH₂Cl₂ (24 mL) y se le añadió HATU (510 mg, 1.34 mmoles), DIEA (0,85 mL, 4.88 mmoles), la suspensión se agitó durante 2 minutos y se añadió la sal A. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La disolución se lavó con HCl (5%) y NaHCO₃ (sat.), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente CH₂Cl₂:MeOH (gradiente 1% MeOH a 3%). Obteniendo una espuma blanca (rto.: 82%, 987 mg). HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₄₇H₅₉N₄O₉: 822.9848; encontrada 822.9853.

ES 2 354 320 B2

Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-MeN-Ala-(1S, 3R)]₃-Acp-L-Glu(OBz)]-OFm (24)

Una solución de Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-MeN-Ala-(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)]-OFm (500 mg, 0.43 mmoles) en CH₂Cl₂:TFA (12,2 mL) fue agitada a temperatura ambiente durante 15 min., a continuación se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se secó a vacío durante 3 h, dando lugar a la sal TFA⁻H₂N-[(1S, 3R)-Acp-L-MeN-Ala-(1S, 3R)-Acp-L-Glu(OBz)]-OFm (sal A). Por otro lado se trató una disolución de Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-MeN-Ala]₂-OFm (296 mg, 0.43 mmol) en CH₂Cl₂ (9,8 mL) con piperidina (2,5 mL), se agitó a temperatura ambiente, después de 20 minutos se lavó con HCl (5%), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró, y concentró, obteniendo una espuma. Esta espuma se disolvió en CH₂Cl₂ (24 mL) y se le añadió HATU (188 mg, 0.49 mmoles), DIEA (0.45 mL, 2.58 mmoles), la suspensión se agitó durante 2 minutos y se añadió la sal A. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La disolución se lavó con HCl (5%) y NaHCO₃ (sat.), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de sílica gel usando como eluyente CH₂Cl₂:MeOH (gradiente 1% MeOH a 5%). Obteniendo una espuma blanca. (338 mg, rto: 68%); HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₆₇H₉₁N₈O₁₃: 1215.4773; encontrada 1215.4576.

c-[(1S,3R)-Acp-L-MeN-Ala]3-(1S,3R)-Acp-Glu(OBz)-I (25)

Una disolución del octapéptido 24, Boc-[(1S, 3R)-Acp-L-MeN-Ala]₃-(1S, 3R)-Acp-Glu(OBz)]-OFm, (100 mg, 0.085 mmoles), en CH₂Cl₂ (0,8 mL) se trató con piperidina (0,2 mL), esta disolución se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos, y se lavó con HCl (5%), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a vacío. El residuo obtenido se disolvió en CH₂Cl₂:TFA (1,0 mL) y se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente, transcurrido este tiempo se eliminó el disolvente a presión reducida, y se secó a vacío durante 3 horas. El octapéptido resultante se fue disuelto en CH₂Cl₂ (85 mL) y se trató con PyAOP (55.36 mg, 0.106 mmoles) y DIEA (89 μL, 0.51 mmoles). La disolución se mantuvo bajo agitación y a temperatura ambiente durante 12 h, después se lavó con una disolución HCl(5%) y otra saturada de NaHCO₃, la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El crudo resultante se purificó mediante HPLC-FR, usando como eluyente H₂O: 0.1 TFA (A) y ACN: 0.1 TFA (B), gradiente 5%B al 95% de B en 30 min. y se liofilizó obteniéndose un sólido blanco. HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₄₈H₇N₈O₁₀: 919.1170; encontrada 919,1174.

c-[(1S,3R)-Acp-L-MeN-Ala]₃-(1S,3R)-Acp-Glu-I (26)

El ciclopeptido 25 (26.2 mg, 0.03 mmoles) se disolvió en MeOH (2 mL) y se adiciono Pd/C (4,7 mg, 0.0045 mmoles), la suspensión resultante se agitó durante 3 h bajo atmósfera de H₂(g). Después de este tiempo se filtró sobre celita y se arrastro con metanol, se concentró a vacío, obteniendo un sólido blanco. HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₄₁H₆₅N₈O₁₀:828.9945; encontrada 828.9948.

Obtención del ciclopeptido 21

A una disolución del ciclopeptido 26 (23.58 mg, 0.03 mmoles) en diclorometano (700 μL) y DMF (150 μL), se añadió HATU (*O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium hexafluorophosphate) (17.1 mg, 0.045 mmoles) y DIEA (31.4 mg, 0.18 moles), y se agitó durante 2 min, a continuación se añadió una disolución del compuesto 12 (27.1 mg, 0.045 mmoles) en diclorometano (150 μL), y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente, hasta la consumición total del producto de partida. Se eliminó el disolvente a presión reducida. Seguidamente el crudo obtenido se disolvió en una mezcla de TFA/CH₂Cl₂ en proporción 1:1 (600 μL) y la mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación, se eliminó el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción se purifica mediante HPLC (columna Licroscarp C18), usando como fase móvil H₂O:TFA (99.9:0.1) y ACN:TFA (99.9:0.1). Se liofiliza la disolución obteniéndose 21 como un sólido blanco (15.4 mg). HRMS (ESI-TOF) [MH]⁺ calculada para C₅₅H₈₉N₁₂O₁₇: 1189.3574; encontrada 1189.3577.

Procedimiento para la síntesis del complejo de Gd(III) del ligando 10: Una disolución de un equivalente del ligando 10 y un equivalente de GdCl₃·6H₂O en 5 mL de agua (MQ) a pH ~ 5-7 se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 4 h. A continuación se eliminó el disolvente a presión reducida.

Procedimiento para la síntesis del complejo de Gd(III) del ligando 16: Una disolución de un equivalente del ligando 16 y un equivalente de GdCl₃·6H₂O en 5 mL de agua (MQ) a pH ~ 5-7 se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 4 h. A continuación se eliminó el disolvente a presión reducida.

Procedimiento para la síntesis del complejo de Gd(III) del ligando 21: Una disolución de un equivalente del ligando 21 y un equivalente de GdCl₃·6H₂O en 5 mL de agua (MQ) a pH ~ 5-7 se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 4 h. A continuación se eliminó el disolvente a presión reducida.

Estudio de Resonancia Magnética: relajatividad

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 0.5 mM del ligando orgánico 10 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.

ES 2 354 320 B2

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

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

5

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, $[LGd]$ es la concentración del complejo de Gd(III) empleada (igual a la concentración del ligando).

10 Los estudios de RMN se han realizado usando disoluciones acuosas de Gd(III)-10 obteniéndose un valor relajatividad r_1 2.80 (1.64) y r_2 3.80 (2.31) $s^{-1}mM^{-1}$ a 37°C, pH ~ 7.2 (25°C, pH ~ 7.2).

15 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 0.5 mM del ligando orgánico 16 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.

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

20

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

25 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, $[LGd]$ es la concentración del complejo de Gd(III) empleada (igual a la concentración del ligando).

Los estudios de RMN se han realizado usando disoluciones acuosas de Gd(III)-16 obteniéndose un valor relajatividad r_1 2.04 y r_2 2.58 $s^{-1}mM^{-1}$ a 37°C, pH ~ 7.2 (25°C, pH ~ 7.2).

30

35

40

45

50

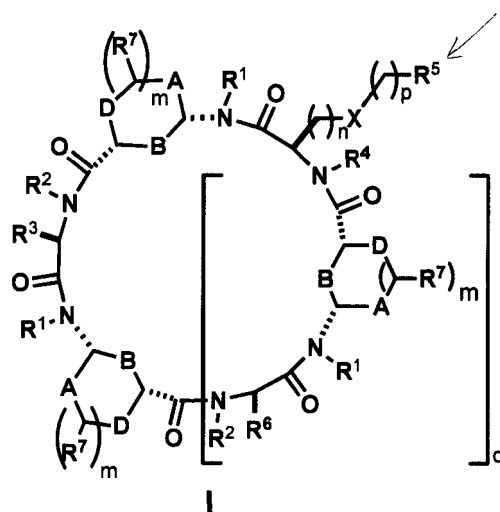
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Los compuestos de fórmula general I



su mezcla racémica, cada uno de sus enantiómeros, sus diastereoisómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde

R^1 se selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONR₂), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

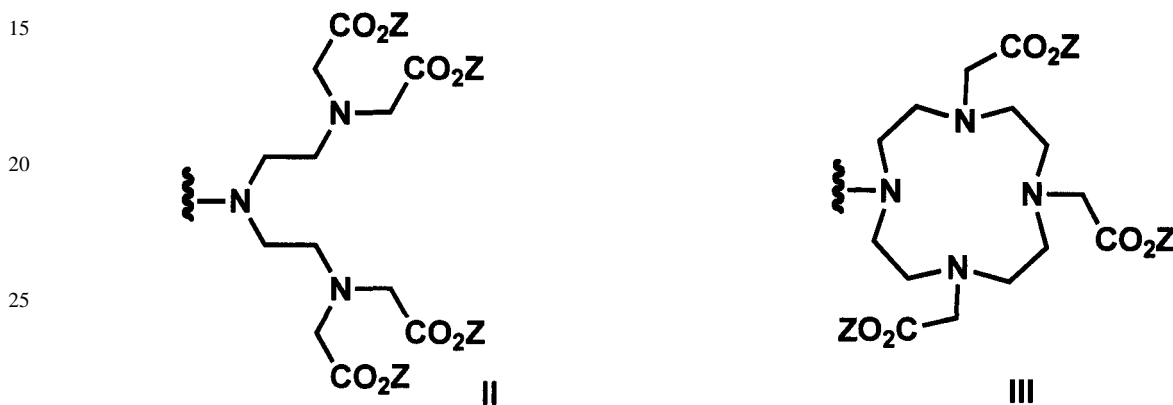
R^2 y R^4 se seleccionan independientemente entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R^3 se selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R^6 , se selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carbo-

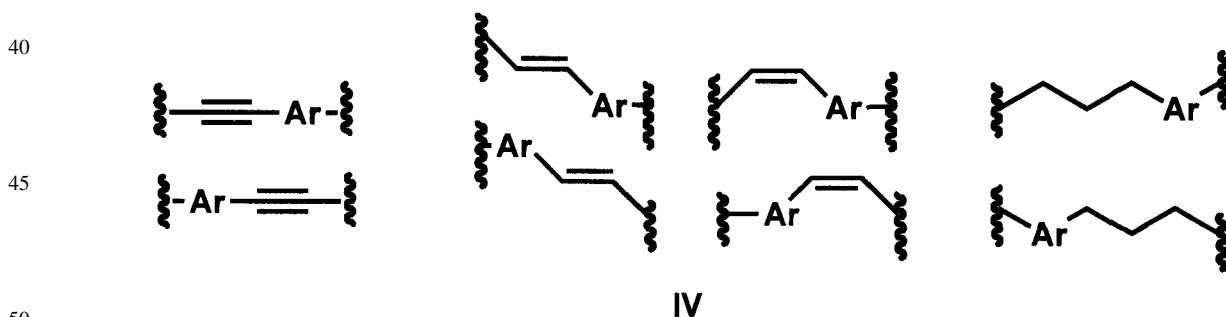
xiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxí (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalqueniilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R⁵ es uno de los polietilenamino derivados cíclicos o acíclicos de fórmula general (II) o (III)



en los que Z se selecciona entre H, Li, Na, K, N-metilglucosamina, bencilo ó tercbutilo (*t*-Bu);

X representa un grupo seleccionado entre amidas (-CONH- ó -NHCO-), aminas (-NR-), ésteres (-COO- ó -OCO-), éteres (-O-), tioéteres (-S-), disulfuros (-SS-), ureas (-NHCONH-), carbamatos (-NHCOO- ó -OCONH-), mono o biciclo arilos o heteroarilos nitrogenado, oxigenado ó sulfurados, saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros, o conectores de fórmula general IV



en donde Ar representa un grupo mono o bicíclico arílicos, o heteroarílicos nitrogenados, oxigenados o sulfurados que contienen 5 ó 6 miembros;

m, n, p y q son números enteros seleccionados de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

A, B, D, son cada uno de ellos se selecciona de forma independiente entre los átomos de nitrógeno (N), azufre (S), oxígeno (O) ó carbono (C); en caso de que dichos átomos sean N ó C, están opcionalmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre hidrógeno, halógeno, hidroxí (-OH), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueniilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonilo (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONR R''), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado, saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros, radicales alquílico lineal o ramificado, alquénfílico lineal o ramificado, alquínfílico lineal o ramificado, pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxí (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo,

cicloalqueno, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R⁷, es seleccionado de forma independiente entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros.

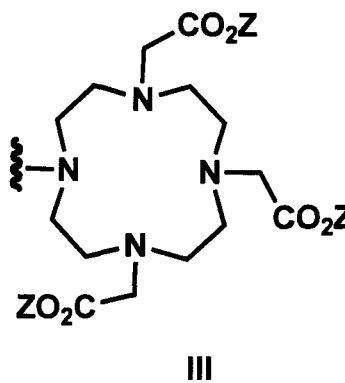
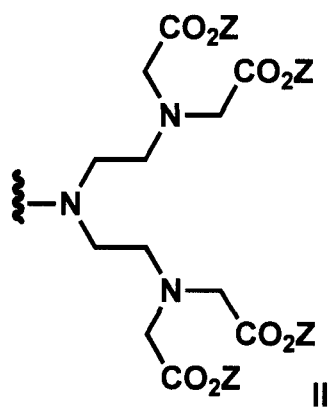
R, R' y R'' pueden ser seleccionados de forma independiente entre hidrógeno o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, cicloalquilo, cicloalquénflico, bicicloalquénflico, mono o bicicloarilo, heterocíclicos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S); pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógeno, hidroxilo, aciloxi, cicloalquilo, cicloalqueno, fenilo, ciano, nitro, carboxi o alcóxicarbonilo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros.

2. Un compuesto, según la reivindicación 1, en donde,

R¹, R², R⁴, y R⁷ se seleccionan independientemente entre H o un radical alquílico lineal o ramificado,

R³ y R⁶ se seleccionan entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterocíclicos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalqueno, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R⁵ se selecciona entre las estructuras de fórmula general (II) o (III)



en donde Z se selecciona entre H, Li, Na, K, *N*-metilglucosamina, bencilo ó *t*-tercbutilo (*t*-Bu);

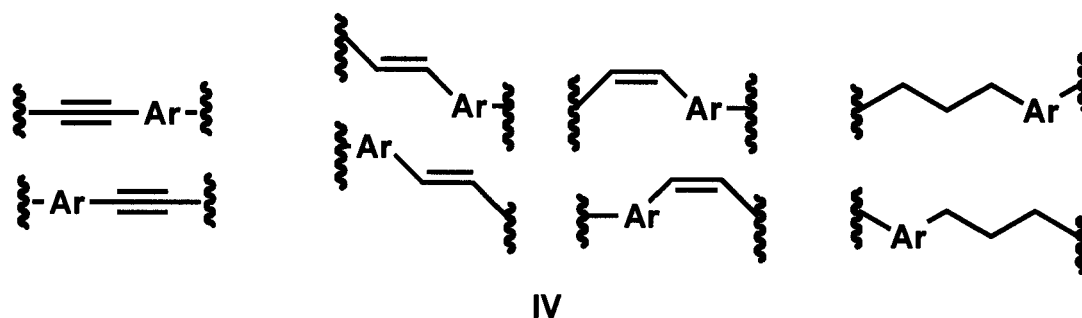
ES 2 354 320 B2

X se selecciona entre amida (-CONH- ó -NHCO-), éster (-COO- ó -OCO-), éter (-O-), tioéteres (-S-), disulfuros (-SS-), o conectores de fórmula general IV

5

10

15



20 en donde Ar representa un grupo mono o bicíclico arílicos, o heteroarílicos nitrogenados, oxigenados o sulfurados que contienen 5 ó 6 miembros;

m, n, p y q son números enteros seleccionados de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

25

A, B y D son sustituyentes alquílicos.

3. Un compuesto, según la reivindicación 2, en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 1, R¹, R³ y R⁶ son Me, R² y R⁴ son H, R⁵ es la estructura II, donde Z es terc-butilo.

30

4. Un compuesto, según la reivindicación 2, en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 1, R², R³ y R⁶ son Me, R¹ y R⁴ son H, R⁵ es la estructura II, donde Z es terc-butilo.

5. Un compuesto según la reivindicación 2, en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 2, R², R³, y R⁶ son Me, R¹ y R⁴ son H, R⁵ es la estructura II, donde Z es terc-butilo.

35

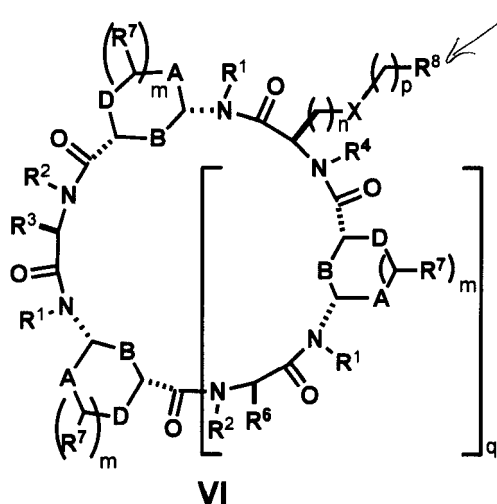
6. Un compuesto de fórmula general VI

40

45

50

55



60

su mezcla racémica, cada uno de sus enantiómeros, sus diastereoisómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables, en donde

65

R¹ se selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénfílico lineal o ramificado, alquinílico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), car-

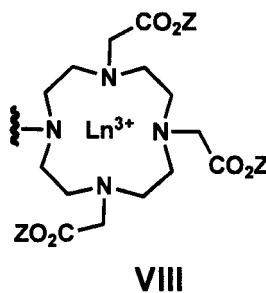
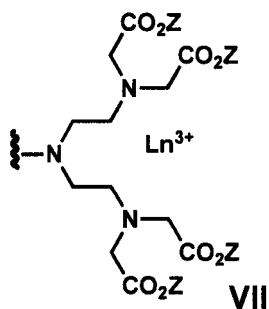
bonato (-OCOOR), carbamato (-OCONR₂), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (-CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONRR'), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R² y R⁴ selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R³ se selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R⁶, se selecciona entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquénilo, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalquénilo, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR), o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonoilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R⁸ uno de los polietilnamino derivados cíclicos o acíclicos de fórmula general (VII) o



en los que Z se selecciona entre H, Li, Na, K, *N*-metilglucosamina; y Ln³⁺ se selecciona entre Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb,

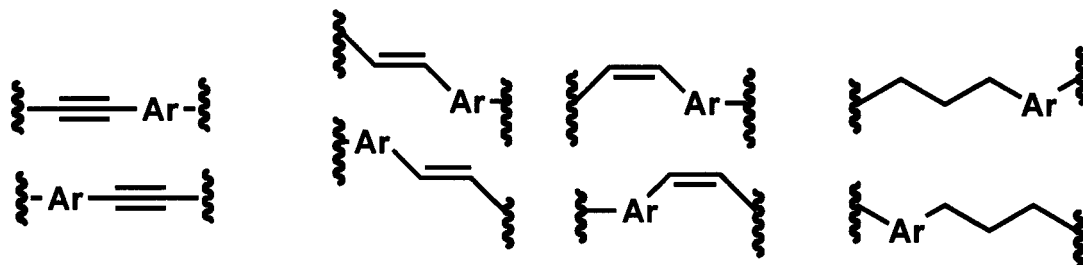
ES 2 354 320 B2

X representa un grupo seleccionado entre amidas (-CONH- ó -NHCO-), aminas (-NR-), ésteres (-COO- ó -OCO-), éteres (-O-), tioéteres (-S-), disulfuros (-SS-), ureas (-NHCONH-), carbamatos (-NHCOO- ó -OCONH-), mono o biciclo arilos o heteroarilos nitrogenado, oxigenado ó sulfurados, saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros, o conectares de fórmula general IV

5

10

15



IV

20

en donde Ar representa un grupo mono o bicíclico arílicos, o heteroarílicos nitrogenados, oxigenados o sulfurados que contienen 5 ó 6 miembros;

m, n, p y q son números enteros seleccionados de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

25

A, B, D, son cada uno de ellos se selecciona de forma independiente entre los átomos de nitrógeno (N), azufre (S), oxígeno (O) ó carbono (C); en caso de que dichos átomos sean N ó C, están opcionalmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo (-OH), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcoxicarbonilo (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado, saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros, radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalqueno, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcoxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

30

35

40

R⁷ seleccionado de forma independiente entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcoxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarbonilo (-NRCOOR'), arilo, biciclo, heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros.

45

50

R, R' y R'' pueden ser seleccionados de forma independiente entre hidrógeno o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, cicloalquilo, cicloalquénflico, bicicloalquílico, mono o bicicloarilo, heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S); pudiendo estar cualquiera de dichos radicales eventualmente sustituidos por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre halógeno, hidroxilo, aciloxi, cicloalquilo, cicloalqueno, fenilo, carboxi o alcoxicarbonilo, heterociclo nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros.

55

60

7. Un compuesto, según la reivindicación 6, en donde,

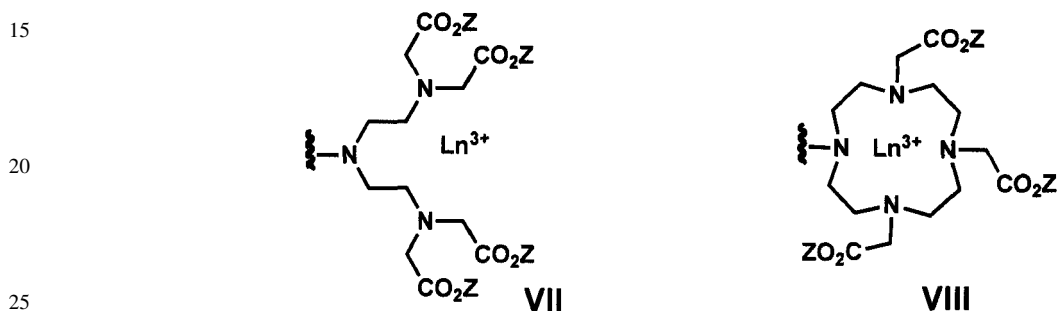
R¹, R², R⁴ y R⁷ se seleccionan independientemente entre H o un radical alquílico lineal o ramificado,

65

R³ y R⁶ se seleccionan entre H o los radicales alquílico lineal o ramificado, alquénflico lineal o ramificado, alquínflico lineal o ramificado, donde cada uno de estos radicales está opcionalmente sustituido por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, independientemente elegidos entre halógeno, hidroxilo (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalqueno, ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcoxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carbo-

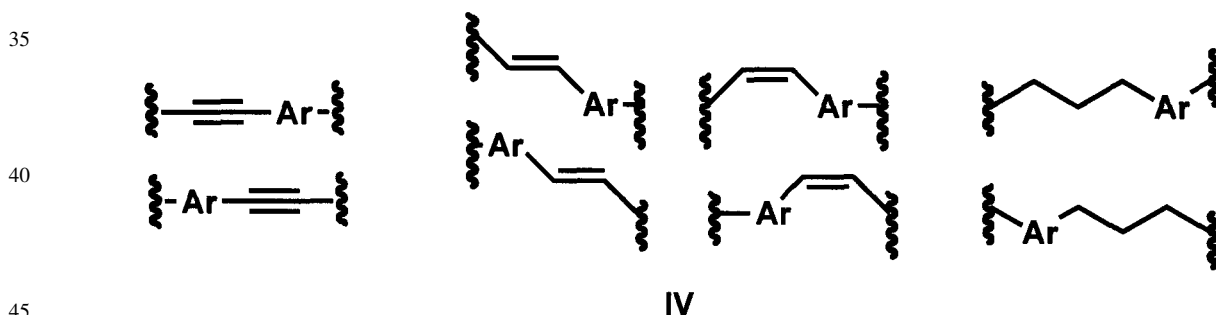
xiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarboilo (-NRCOOR'), mono o bicicloarilo, mono o biciclo heterociclos saturados o no saturados (teniendo un máximo de 5 heteroátomos seleccionados entre N, O y S), pudiendo estar cualquiera de dichos radicales cíclicos eventualmente modificados por uno o varios sustituyentes, idénticos o diferentes, elegidos entre los halógenos (-X), hidroxí (-OH), oxo (=O), tiol (-SH), tiolato (-SR), alcoxi (-OR), aciloxi (-OCOR), acilo (-COR), cicloalquilo, cicloalqueno, fenilo (-Ph), ciano (-CN), nitro (-NO₂), alcóxicarbonil (-COOR), carbonato (-OCOOR), carbamato (-OCONRR'), amina (-NH₂), amina mono (-NHR) o disustituida (-NRR'), carboxiamida mono (CONHR) o disustituida (-CONRR'), urea mono (-NHCONHR), di (-NRCONHR' ó -NHCONRR'), o trisustituida (-NRCONR'R''), aminocarboilo (-NRCOOR'), heterocíclico nitrogenado, oxigenado o sulfurado saturado o no saturado que contiene 5 ó 6 miembros;

R⁸ se selecciona entre las estructuras de fórmula general (VII) o (VIII)



en donde Z se selecciona entre H, Li, Na, K, N-metilglucosamina;

X se selecciona entre amida (-CONH- ó -NHCO-), éster (-COO- ó -OCO-), éter (-O-), tioéteres (-S-), disulfuros (-SS-), o conectores de fórmula general IV



en donde Ar representa un grupo mono o bicíclico arílicos, o heteroarílicos nitrogenados, oxigenados o sulfurados que contienen 5 ó 6 miembros;

m, n, p y q son números enteros seleccionados de forma independiente entre 0, 1, 2, 3, 4 ó 5;

A, B y D son sustituyentes alquílicos.

Ln⁺³ es Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb.

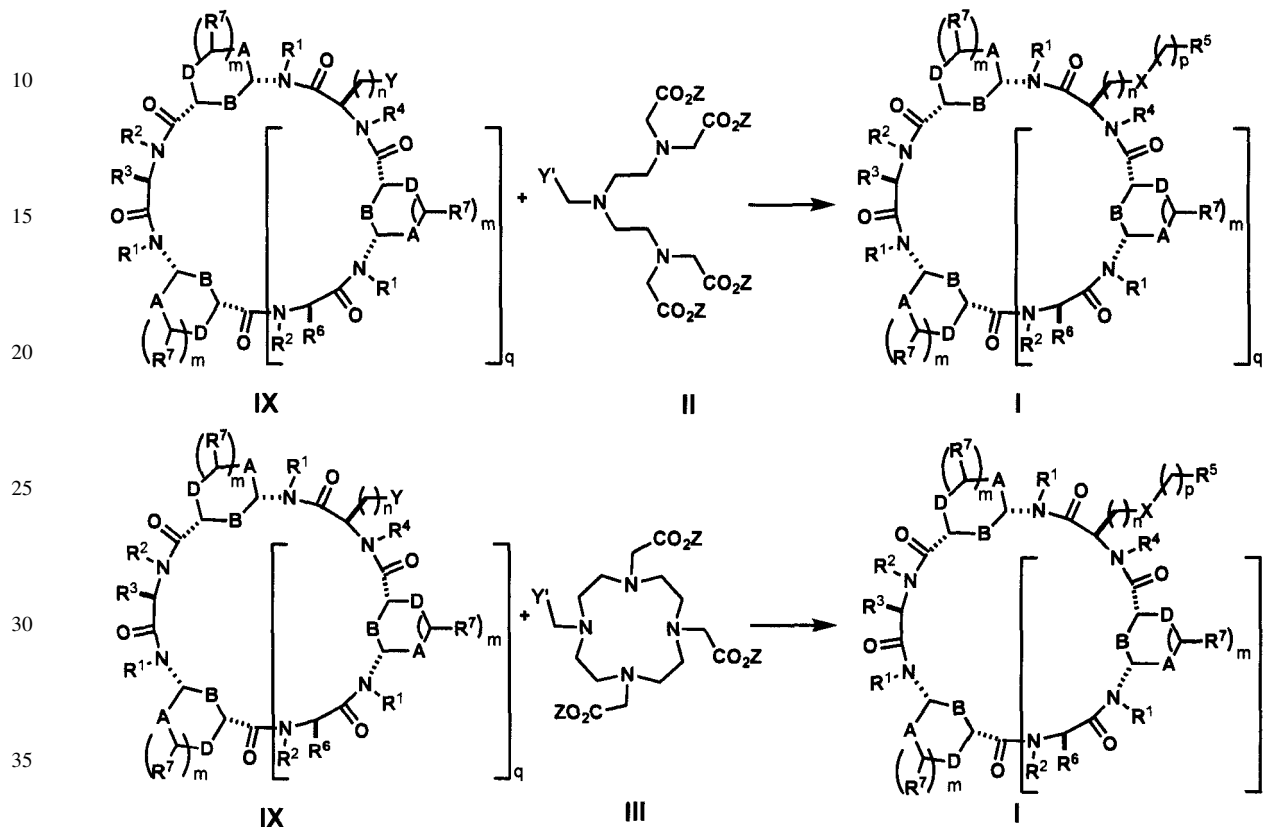
8. Un compuesto, según la reivindicación 7, en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 1, R¹, R³ y R⁶ son Me, R² y R⁴ son H, R⁸ es la estructura II, donde Z puede ser H, Li, Na, K, o N-metilglucosamina y el lantánido Ln³⁺ se selecciona entre Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb.

9. Un compuesto, según la reivindicación 7, en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 1, R², R³ y R⁶ son Me, R¹ y R⁴ son H, R⁸ es la estructura II, donde Z puede ser H, Li, Na, K, o N-metilglucosamina y el lantánido Ln³⁺ se selecciona entre Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb.

10. Un compuesto, según la reivindicación 7, en donde A, B y D son -CH₂-, X es una amida (-CONH-), m es 0, n y p son 2, q es 2, R², R³ y R⁶ son Me, R¹ y R⁴ son H, R⁸ es la estructura II, donde Z puede ser H, Li, Na, K, o N-metilglucosamina y el lantánido Ln³⁺ se selecciona entre Gd, Eu, Tb, Dy, Ho, Er, Tm y Yb.

11. Un procedimiento para la obtención de los compuestos de fórmula VI, según la reivindicación 6, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula general I, según la reivindicación 1, y un cloruro de lantánido en agua.

12. Un procedimiento según la reivindicación 11, en donde los compuestos de fórmula general I se obtienen mediante el acoplamiento entre el compuesto de fórmula (IX) y el ligando tipo (II) o el ligando tipo (III),

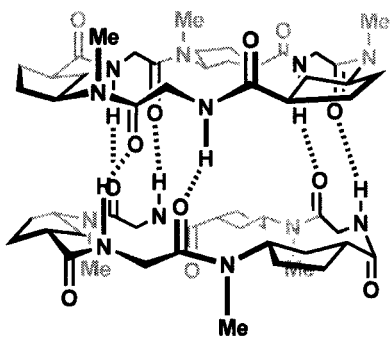


en donde Y se selecciona entre ácido carboxílico, amina, alcohol, tiol, azida, alqueno terminal, haluroalqueno terminal, alquino terminal, haluro arílico monocíclico o bicíclico, haloheterociclo mono cíclico o bicíclico saturado o insaturado; Y' representa un grupo seleccionado entre ácidos carboxílicos, aminas, alcoholes, tioles, azidas, alquenos terminales, haluroalquenos terminales, alquinos terminales, haluros arílicos monocíclicos o bicíclicos, haloheterociclos mono cíclicos o bicíclicos saturados o insaturados; Y e Y' se escogen de forma que sus reactividades permitan formar un enlace covalente entre ellos.

13. El uso de los compuestos de fórmula VI en la fabricación de agentes de contraste para Imagen por Resonancia Magnética (IMR) en el diagnóstico clínico.

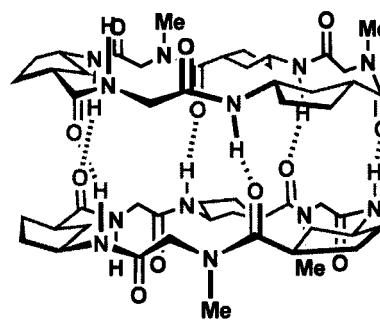
14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 6 y al menos un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

15. Un método para el diagnóstico de arteroesclerosis mediante IMR en un mamífero, que comprende administrar a un mamífero que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto según la reivindicación 6.



Interacci—n α - α

FIGURA 2



Interacci—n γ - γ

FIGURA 1

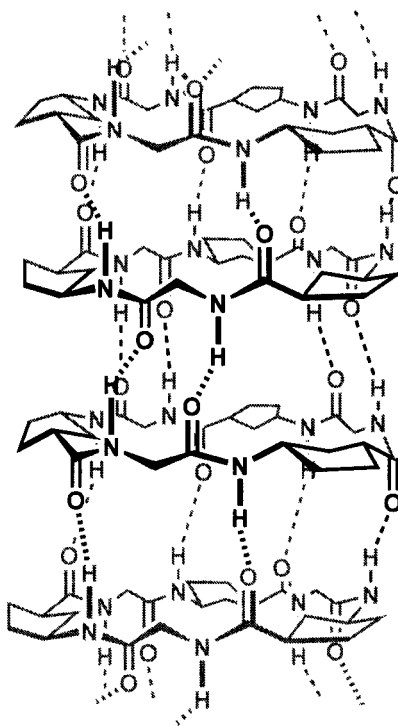


FIGURA 3



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 200801885

②② Fecha de presentación de la solicitud: 24.06.2008

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	M.R. GHADIRI et al., "Self-assembling organic nanotubes based on a cyclic peptide architecture", Nature (London, United Kingdom), 1993, vol. 366, nº 6453, páginas 324-327.	1-5,12
A	S. R. BULL et al., "Self-assembled peptide amphiphile nanofibers conjugated to MRI contrast agents", Nanoletters, 2005, vol. 5, nº 1, páginas 1-4.	1-15
A	WO 03014157 A2 (BRACCO IMAGING) 20.02.2003, reivindicaciones.	1-15
A	WO 2006051142 A1 (UNED) 18.05.2006, reivindicaciones.	1-15
A	K. N. RAYMOND et al., "Next generation, high relaxivity gadolinium MRI agents", Bioconjugate Chem., 2005, vol. 16, páginas 3-8.	1-15

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
22.02.2011

Examinador
E. Davila Muro

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07K7/64 (01.01.2006)

C01F17/00 (01.01.2006)

A61K49/06 (01.01.2006)

A61K51/08 (01.01.2006)

A61K38/08 (01.01.2006)

G01N33/68 (01.01.2006)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C01F, A61K, G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, XPESP, CAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 22.02.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-15	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-15	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	M.R. GHADIRI et al., Nature (London, United Kingdom), 1993, vol. 366, nº 6453, páginas 324-327.	
D02	S. R. BULL et al., Nanoletters, 2005, vol. 5, nº 1, páginas 1-4.	
D03	WO 03014157 A2 (BRACCO IMAGING)	20.02.2003
D04	WO 2006051142 A1 (UNED)	18.05.2006
D05	K. N. RAYMOND et al., Bioconjugate Chem., 2005, vol. 16, páginas 3-8.	

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención se refiere a unos ciclopéptidos de fórmula general VI capaces de coordinar de forma efectiva elementos de la serie de los lantánidos, en particular iones Gd³⁺, a través de ligandos orgánicos de tipo ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) y 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTA) unidos covalentemente a la estructura peptídica. Estos ciclopéptidos VI pueden autoensamblarse formando estructuras nanotubulares marcadas magnéticamente. La invención también se refiere a los ciclopéptidos de fórmula general I precursores de los anteriores, a la preparación de los compuestos VI a partir de los precursores I y un cloruro de lantánido en agua, así como a composiciones farmacéuticas que contienen los ciclopéptidos IV y su uso como agentes de contraste en técnicas de diagnóstico mediante IMR (imagen por resonancia magnética).

El documento D01 divulga unos ciclopéptidos capaces de autoensamblarse formando nanotubos orgánicos, cuya estructura es similar a los compuestos de fórmula I de la invención pero sin los sustituyentes que incorporan los ligandos orgánicos polietilenoamino derivados cíclicos y acíclicos DTPA y DOTA necesarios para formar complejos con los iones Gd³⁺.

El documento D02 divulga unos péptidos anfífilos también capaces de autoensamblarse formando nanoestructuras en forma esférica y de fibras, los cuales incorporan ligandos orgánicos de tipo DOTA conjugados con iones Gd³⁺, y que son capaces de actuar como agentes de contraste en técnicas IMR. En este caso los péptidos son lineales y no cíclicos.

El documento D03 divulga unos agentes de contraste para su uso en IMR que se obtienen mediante conjugación de una serie de péptidos acíclicos o cíclicos capaces de enlazar selectivamente en los receptores de somatostatina o clocistoquinina (CCK) y que están unidos mediante copolímeros de uno o varios aminoácidos (polilisinas) a unos complejos quelatos de iones metálicos paramagnéticos (en particular, lantánidos como Gd³⁺). En este caso, la estructura peptídica es diferente a la de los ciclopéptidos de la invención.

El documento D04 divulga unos compuestos macrocíclicos de tipo DOTA con sustituyentes 1-pirazoliletilo que se utilizan para formar complejos paramagnéticos de Gd³⁺ que se emplean como agentes de contraste para IMR. Estos compuestos no incluyen estructuras peptídicas.

El documento D05 divulga unos complejos de Gd³⁺ con estructuras de hidroxipiridinona capaces de actuar como agentes de contraste en IMR. Tampoco incluyen estructuras peptídicas como en la invención.

Ninguno de los documentos citados en el Informe de Búsqueda o cualquier combinación relevante de los mismos menciona unos ciclopéptidos de fórmula VI o sus precursores I que incorporen unos agentes quelantes capaces de coordinar iones Gd³⁺. Tampoco se ha encontrado divulgado la preparación de los compuestos VI a partir de los precursores I, ni la utilización de los ciclopéptidos VI como agentes de contraste para IMR en diagnóstico clínico tal como se especifica en la solicitud. En consecuencia, la invención recogida en las reivindicaciones 1-15 se considera nueva, con actividad inventiva y aplicación industrial (art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).