

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 804 509**

51 Int. Cl.:

A61K 51/04 (2006.01)

A61K 51/08 (2006.01)

A61K 103/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.07.2011 PCT/EP2011/062897**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.02.2012 WO12013701**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2011 E 11741553 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2020 EP 2598175**

54 Título: **Composiciones radiofarmacéuticas**

30 Prioridad:

27.07.2010 US 367992 P

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

08.02.2021

73 Titular/es:

**SERAC HEALTHCARE LIMITED (100.0%)
6th Floor Charlotte Building 17 Gresse Street
London W1T 1QL, GB**

72 Inventor/es:

BARNETT, DAVID, JONATHAN

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 804 509 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones radiofarmacéuticas

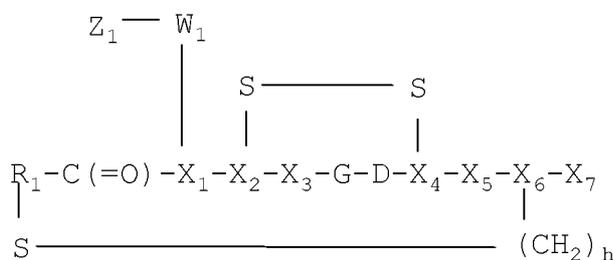
5 Campo de la invención.

La presente invención se refiere composiciones radiofarmacéuticas de ^{99m}Tc-maraciclatida, que están estabilizadas con un radioprotector. También se describen kits para la preparación de composiciones radiofarmacéuticas, así como métodos para preparar dichas composiciones a partir del kit. La invención también incluye métodos para la obtención de imágenes del cuerpo de un mamífero usando las composiciones radiofarmacéuticas.

Antecedentes de la invención.

15 ^{99m}Tc-maraciclatida es el INN recomendado (nombre aprobado en Estados Unidos) para ^{99m}Tc-NC100692. El ^{99m}Tc-NC100692 se ha descrito tanto en patentes como en publicaciones, como un radiofarmacéutico que se dirige a los receptores de integrina *in vivo*.

El documento WO 03/006491 divulga compuestos de fórmula (I):



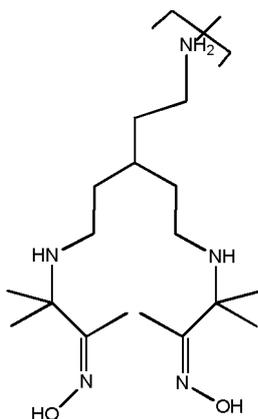
(I)

20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en donde:

- 25 G representa glicina
- D representa ácido aspártico
- R₁ representa -(CH₂)_n- o -(CH₂)_n-C₆H₄- en donde n representa un número entero positivo de 1 a 10, h representa un número entero positivo de 1 o 2,
- 30 X₁ representa un resto aminoácido en donde dicho aminoácido posee una cadena lateral funcional tal como un ácido o una amina,
- X₂ y X₄ representan independientemente un resto aminoácido capaz de formar un enlace de disulfuro,
- X₃ representa arginina, N-metilarginina o un mimético de arginina,
- X₅ representa un aminoácido hidrófobo o derivados del mismo,
- 35 X₆ representa un resto aminoácido que contiene tior,
- X₇ está ausente o representa un resto biomodificador,
- Z₁ representa un agente antineoplásico, un agente quelante o un resto informador y
- W₁ está ausente o representa un resto espaciador.

40 El documento WO 03/006491 desvela que un resto quelante preferido tiene la fórmula mostrada e incluye complejos de ^{99m}Tc de dicho conjugado quelante de fórmula I en el mismo:



El documento WO 03/006491 no divulga kits.

5 Edwards et al [Nucl. Med. Biol., 35, 365-375 (2008)] divulga que el ^{99m}Tc-maraciclátida (^{99m}Tc-NC100692) se puede preparar a partir de un kit. Edwards *et al.* exponen que cada kit liofilizado contiene aproximadamente 44 nmol de maraciclátida (NC100692), más una diversidad de excipientes que incluyen tampón, agente reductor estannoso y ácido metileno difosfónico (presente como un solubilizador de Sn²⁺). Edwards *et al.* indican que la pureza radioquímica (RCP) de cada kit reconstituido se determinó a los 20 minutos después de la reconstitución y se encontró que era al menos del 90 %. Se encontró que la RCP fue estable durante el periodo en el que se usaron los kits reconstituidos. Edwards *et al.* no enseñan o sugieren el uso de un radioprotector tal como el ácido para-amino benzoico en los kits o composiciones de los mismos.

15 Axelsson *et al.* [Acta Radiol., 51, 40-46 (2010)] describen un estudio clínico en fase 2a con ^{99m}Tc-NC100692 en pacientes con cáncer en estadio tardío. Axelsson *et al.* mencionan que cualquier alergia conocida a un excipiente tal como el ácido para-aminobenzoico representaría un criterio de exclusión del paciente, pero usa de manera explícita el kit de Edwards *et al.* en sus estudios, que no tiene dicho excipiente (tal como se ha descrito anteriormente).

20 La presente invención.

El tecnecio-99m (^{99m}Tc) es un radioisótopo que se desintegra con una semivida de 6,02 horas a tecnecio-99 (⁹⁹Tc). La desintegración radiactiva está acompañada por la emisión de un rayo gamma con una energía que es casi ideal para la obtención de imágenes médicas con una cámara gamma moderna. El producto de desintegración, ⁹⁹Tc, también es radiactivo y se desintegra por emisión β con una semivida de 2,1 x 10⁵ años (al isótopo estable ⁹⁹Ru), pero las emisiones radiactivas del ⁹⁹Tc son insuficientes para la obtención de imágenes médicas.

30 Los "generadores" de ^{99m}Tc convencionales comprenden el radioisótopo ⁹⁹Mo, que se desintegra con una semivida de 66,2 horas. La forma química del tecnecio eluido de dicho generador es el pertecnetato de ^{99m}Tc. Aproximadamente el 86 % de la desintegración del ⁹⁹Mo da como resultado la producción de ^{99m}Tc, sin embargo, aproximadamente el 14 % de la desintegración del ⁹⁹Mo da como resultado la producción directa de ⁹⁹Tc. Por lo tanto, si un generador de ^{99m}Tc se eluye muy poco tiempo después de la elución previa, el contenido de ^{99m}Tc será bajo pero será aproximadamente el 86 % del contenido total de tecnecio. Según pasa el tiempo desde la elución previa del generador, el ⁹⁹Tc se produce tanto del ⁹⁹Mo como de la desintegración del ^{99m}Tc a ⁹⁹Tc. Por consiguiente, según aumenta el intervalo de tiempo entre las eluciones del generador, la relación ⁹⁹Tc/^{99m}Tc aumenta. Los isótopos de tecnecio ⁹⁹Tc y ^{99m}Tc son químicamente idénticos y, en consecuencia, cualquier preparación radiofarmacéutica debe ser capaz de hacer frente a un amplio intervalo de contenido químico de ⁹⁹Tc en la elución para poder funcionar de manera eficaz durante el tiempo de vida útil del generador. También existe el caso en el que las eluciones hechas con un generador de ^{99m}Tc fresco probablemente tengan una concentración radiactiva mayor y, por lo tanto, tengan una concentración mayor de radicales libres reactivos que surgen de la radiólisis del disolvente (agua). Por lo tanto, una preparación radiofarmacéutica de ^{99m}Tc viable necesitar ser capaz de proporcionar un rendimiento de RCP satisfactorio incluso cuando dichos radicales reactivos libres están presentes. Estas características del generador de ^{99m}Tc están ilustradas en la mayoría de los libros de texto de radioquímica o química nuclear y los problemas que las propiedades de las distintas eluciones pueden generar al rendimiento de los kits de ^{99m}Tc se han descrito en Saha, G. B. "Radiopharmaceuticals and Methods of Radiolabeling"; capítulo 6 (páginas 80-108) en Fundamentals of Nuclear Pharmacy (3^a ed.).

Los presentes inventores han descubierto que el kit de maraciclátida informado por Edwards *et al.* (anteriormente) sufre varios problemas no reconocidos anteriormente en la técnica anterior:

- 50 (i) RCP inicial relativamente baja después de la reconstitución del kit con pertecnetato de ^{99m}Tc;
 (ii) estabilidad insuficiente después de la reconstitución;
 (iii) la necesidad de almacenar y enviar el kit a de -15 a -20 °C para mantener la estabilidad y el rendimiento del

kit;

(iv) solo se obtiene una única dosis para el paciente a partir del kit.

La presente invención proporciona composiciones radiofarmacéuticas de ^{99m}Tc-maraciclátida mejoradas que exhiben una pureza radioquímica inicial (RCP) reproducible y estabilidad mejorada después de la reconstitución, de modo que se mantiene una RCP del 85 al 90 % a las 6 horas después de la reconstitución. El problema de la RCP insatisfactoria para las preparaciones de ^{99m}Tc-maraciclátida en ciertas condiciones de niveles de radiactividad, concentraciones de radiactividad o volúmenes de reconstitución no se reconoció en la técnica anterior. Dichas condiciones son aquellas que podrían surgir en condiciones normales de uso de un generador de radionúclidos comercial, tal como un generador de ^{99m}Tc.

Berger [Int. J. Appl. Rad. Isotop., 33, 1341-1344 (1982)] divulga que se puede usar una amplia variedad de antioxidantes para estabilizar los radiofarmacéuticos de ^{99m}Tc. El azul de metileno y el ácido ascórbico se han destacado como estabilizadores particularmente adecuados [Weisner *et al.*, Eur. J. Nucl. Med., 20, 661-666 (1993) y Liu *et al.*, Bioconj. Chem., 14(4), 1052-1056 (2003)].

Los presentes inventores han establecido también que el radioprotector bien conocido ácido ascórbico/ascorbato en realidad tiene un efecto perjudicial en la RCP de la ^{99m}Tc-maraciclátida. Otro radioprotector conocido, el ácido gentísico, causó problemas de decoloración, lo que impidió su uso en la presente composición. La presente invención proporciona composiciones que comprenden un radioprotector que resuelve este problema no reconocido previamente. Los kits de la presente invención tienen las ventajas de: RCP inicial más alta; RCP más robusta durante periodos de tiempo más largos después de la reconstitución; compatibilidad con diversos generadores radiofarmacéuticos de ^{99m}Tc comerciales y en un intervalo de condiciones de elución; la facilidad para obtener dos dosis de paciente por kit (es decir para reconstituir con éxito con mayores niveles de radiactividad); estabilidad adecuada para ser almacenado y transportado en refrigerador (+5 ±3 °C) en vez de a temperatura de congelador (de -10 a -20 °C) y estabilidad de la vida útil del kit de al menos 3 años.

Descripción detallada de la invención.

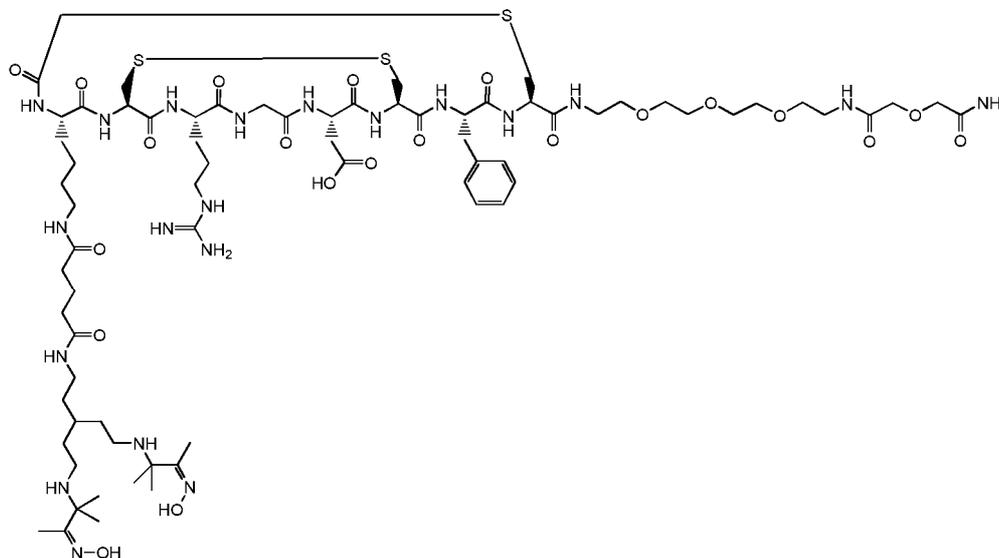
En un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición radiofarmacéutica que comprende:

(i) ^{99m}Tc-maraciclátida;

(ii) un radioprotector seleccionado entre ácido para-aminobenzoico o una sal del mismo con un catión biocompatible;

en un vehículo biocompatible en una forma adecuada para su administración a un mamífero.

El término "maraciclátida" se refiere al compuesto conocido en la bibliografía científica como NC100692 [D. Edwards *et al.*, Nucl. Med. Biol., 35, 365-375 (2008)]. El nombre químico es: ácido 1,5-pentanodioico-(5-[2-hidroxiimino-1,1-dimetilpropilamino]-3-(2-[2-hidroxiimido-1,1-dimetil-propilamino]-etil)-pentil)-amida 5-[13-bencil-19-carboximetil-25-(3-guanidino-propil)-10-(4,7,10,16-tetraoxa-14,18-dioxo-1,13,19-triazanonadecil)-carbamoil-3,6,12,15,18,21,24,27-octaoxo-8,29,30-tritia-2,5,11,14,17,20,23,26-octaaza-biciclo[14.11A]hentriacont-4-il]pentilamida. La estructura química de la maraciclátida es como sigue:



Maraciclátida

La maraciclátida se puede usar en la forma de base libre o en la forma de sal (por ejemplo, el trifluoroacetato). El término "radiofarmacéutico" tiene su significado habitual y se refiere a un compuesto radiactivo adecuado para administración a un mamífero *in vivo* para su uso en diagnóstico o terapia.

Por el término "radioprotector" se refiere a un compuesto que inhibe las reacciones de degradación, tales como procesos redox, atrapando los radicales libres altamente reactivos, tales como radicales libres que contienen oxígeno que surgen de la radiólisis del agua. El radioprotector de la presente invención se elige adecuadamente entre ácido para-aminobenzoico (es decir ácido 4-aminobenzoico) y sus sales con un catión biocompatible. Estos radioprotectores están disponibles en el mercado, incluyendo en una pureza de calidad farmacéutica. Preferentemente, se usa material de calidad farmacéutica.

Por la expresión "catión biocompatible" (B^c) se refiere a un contraión de carga positiva que forma una sal con un grupo ionizado, de carga negativa, en donde dicho contraión de carga positiva además es no tóxico y por lo tanto adecuado para su administración al cuerpo de los mamíferos, en especial al cuerpo humano. Algunos ejemplos de cationes biocompatibles adecuados incluyen: los metales alcalinos sodio o potasio; los metales alcalinotérreos calcio y magnesio y el ion amonio. Se prefieren los cationes biocompatibles sodio y potasio, más preferentemente sodio.

El "vehículo biocompatible" es un fluido, en especial un líquido, en el cual el radiofarmacéutico se puede suspender o preferentemente disolver, de modo que la composición es fisiológicamente tolerable, es decir, se puede administrar al cuerpo del mamífero sin toxicidad o molestias indebidas. El vehículo biocompatible es adecuadamente un vehículo inyectable líquido tal como agua libre de pirógenos, estéril, para inyección; una solución acuosa tal como solución salina (que se puede equilibrar de manera ventajosa de modo que el producto final para inyección sea isotónico); una solución tampón acuosa que comprende un agente de tamponamiento biocompatible (por ejemplo, tampón fosfato); una solución acuosa de una o más sustancias de ajuste de tonicidad (por ejemplo, sales de cationes plasmáticos con contraiones biocompatibles), azúcares (por ejemplo, glucosa o sacarosa), alcoholes de azúcar (por ejemplo sorbitol o manitol), glicoles (por ejemplo glicerol) u otros materiales de poliol no iónicos (por ejemplo, polietilenglicoles, propilenglicoles y similares). Preferentemente, el vehículo biocompatible es agua libre de pirógenos para inyección, solución salina isotónica o tampón fosfato.

Por la frase "en una forma adecuada para su administración a mamíferos" se refiere a una composición que es estéril, libre de pirógenos, que carece de compuestos que producen efectos tóxicos o adversos y que se formula a un pH biocompatible (aproximadamente pH de 4,0 a 10,5, preferentemente de 6,5 a 9,5 para los agentes de la presente invención) y osmolalidad fisiológicamente compatible. Dichas composiciones carecen de partículas que podrían arriesgarse a provocar embolias *in vivo* y están formuladas de modo que no se produce precipitación en contacto con los fluidos biológicos (por ejemplo, sangre). Dichas composiciones también contienen únicamente excipientes biológicamente compatibles y son preferentemente isotónicos.

Preferentemente, el mamífero es un cuerpo de mamífero intacto *in vivo* y es más preferentemente un sujeto humano. Preferentemente, el radiofarmacéutico se puede administrar al cuerpo humano de una manera mínimamente invasiva, es decir, sin un riesgo sustancial de salud para el sujeto mamífero incluso cuando se lleva a cabo con experiencia médica profesional. Dicha administración mínimamente invasiva es preferentemente administración intravenosa en una vena periférica de dicho sujeto, sin necesidad de anestesia local o general.

La expresión "que comprende" tiene su significado habitual a lo largo de esta solicitud e implica que la composición debe tener los componentes enumerados, pero que además pueden estar presentes otros compuestos o especies no especificados. La expresión "que comprende" incluye como un conjunto preferido "que consiste esencialmente en", lo que significa que la composición tiene los componentes enumerados sin que estén presentes otros compuestos o especies.

La composición radiofarmacéutica puede contener excipientes opcionales adicionales tales como: un conservante antimicrobiano, agente de ajuste del pH, carga, solubilizante o agente de ajuste de la osmolalidad.

Por la expresión "conservante antimicrobiano" se refiere a un agente que inhibe el crecimiento de microorganismos potencialmente perjudiciales tales como bacterias, levaduras y mohos. El conservante antimicrobiano puede mostrar también algunas propiedades bactericidas, dependiendo de la dosis empleada. La función principal del conservante o los conservantes antimicrobianos de la presente invención es inhibir el crecimiento de cualquier microorganismo de este tipo en la composición farmacéutica. El conservante antimicrobiano puede, sin embargo, de manera opcional, usarse también para inhibir el crecimiento de microorganismos potencialmente perjudiciales en uno o más componentes de los kits usados para preparar dicha composición antes de su administración. El o los conservantes antimicrobianos adecuados incluyen: los parabenos, es decir metil, etil, propil o butil parabeno o mezclas de los mismos; alcohol bencílico; etanol, fenol; cresol; cetrimida y tiomersal. El o los conservantes antimicrobianos preferidos son los parabenos o el etanol.

La expresión "agente de ajuste del pH" significa un compuesto o mezcla de compuestos útil para asegurar que el pH de la composición está dentro de los límites aceptables (aproximadamente pH de 4,0 a 10,5, preferentemente de 6,5

a 9,5 para los agentes de la presente invención) para su administración a seres humanos o mamíferos. Dichos agentes de ajuste del pH adecuados incluyen tampones farmacéuticamente aceptables, tales como tricina, fosfato, acetato o TRIS [es decir *tris*(hidroximetil)aminometano] y bases farmacéuticamente aceptables tales como carbonato sódico, bicarbonato sódico o mezclas de los mismos. Cuando la composición se emplea en forma de kit, el agente de ajuste del pH opcionalmente se puede proporcionar en un recipiente o envase separado, de modo que el usuario del kit puede ajustar el pH como parte de un procedimiento multietapa.

Por el término "carga" se refiere a un agente farmacéuticamente aceptable para aumentar el volumen que puede facilitar el manejo del material durante la producción y la liofilización. Las cargas adecuadas incluyen sales inorgánicas tales como cloruro de sodio y azúcares solubles en agua o alcoholes de azúcar tales como sacarosa, maltosa, manitol o trehalosa.

Por el término "solubilizante" se refiere a un aditivo presente en la composición que aumenta la solubilidad del radiofarmacéutico en el disolvente. Un disolvente preferido de este tipo es un medio acuoso y, por lo tanto, el solubilizante preferentemente aumenta la solubilidad en agua. Dichos solubilizantes adecuados incluyen: alcoholes C₁₋₄; glicerina; polietilenglicol (PEG); propilenglicol; monooleato de polioxietileno sorbitán; monooleato de sorbitán; polisorbatos (por ejemplo, Tween™); copolímeros de bloque de poli(oxietileno)poli(oxipropileno)poli(oxietileno) (Pluronic™); ciclodextrinas (por ejemplo, alfa, beta o gamma ciclodextrina, hidroxipropil-β-ciclodextrina o hidroxipropil-γ-ciclodextrina) y lecitina.

Son solubilizantes preferidos ciclodextrinas, alcoholes C₁₋₄, polisorbatos y Pluronic™, más preferentemente ciclodextrinas y alcoholes C₂₋₄. Cuando el solubilizante es un alcohol, preferentemente es etanol o propanol, más preferentemente etanol. El etanol potencialmente tiene diversas funciones, dado que también puede funcionar como un vehículo biocompatible, radioprotector o conservante antimicrobiano. Cuando el solubilizante es una ciclodextrina, preferentemente es una gamma ciclodextrina, más preferentemente hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPCD). La concentración de ciclodextrina puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 40 mg/ml, preferentemente entre aproximadamente 5 y aproximadamente 35 mg/ml, más preferentemente de 20 a 30 mg/ml, lo más preferentemente alrededor de 25 mg/ml.

30 Características preferidas.

El radioprotector de la presente invención preferentemente comprende *para*-aminobenzoato de sodio. También puede estar presente un radioprotector adicional. Si se usa dicho radioprotector adicional, preferentemente este no comprende ácido ascórbico o ácido gálico o sales de los mismos. Más preferentemente, el radioprotector de la presente invención consiste esencialmente en ácido *para*-aminobenzoico o una sal del mismo con un catión biocompatible. De la manera más preferente, el radioprotector de la presente invención consiste esencialmente en *para*-aminobenzoato de sodio.

La composición radiofarmacéutica del primer aspecto se proporciona de manera adecuada en un envase de calidad farmacéutica. Un envase preferido de este tipo es un recipiente cerrado herméticamente con un septo, en donde el cierre hermético está sellado con un sello (habitualmente de aluminio). El cierre es adecuado para una única o múltiples punciones con una aguja hipodérmica (por ejemplo, un cierre sellado con un septo hermético) mientras se mantiene la integridad estéril. Dichos envases tienen la ventaja adicional de que el cierre puede resistir el vacío si se desea (por ejemplo para cambiar el gas del espacio superior o soluciones desgasificadas) y resistir cambios de presión tales como reducciones en la presión sin permitir el ingreso de gases atmosféricos externos, tales como oxígeno o vapor de agua. Los recipientes multidosis preferidos comprenden un único recipiente a granel (por ejemplo, de 10 a 30 cm³ de volumen) que contiene múltiples dosis de paciente, de modo que las dosis individuales del paciente se pueden extraer por tanto en jeringas de calidad clínica en distintos intervalos de tiempo durante el tiempo de vida viable de la preparación para adecuarse a la situación clínica.

La composición radiofarmacéutica del primer aspecto se puede proporcionar también en una jeringa. Las jeringas precargadas se diseñan para contener una sola dosis humana o "dosis unitaria" y por lo tanto son preferentemente una jeringa de un solo uso u otra adecuadas para uso clínico. La jeringa radiofarmacéutica preferentemente está provista con un protector de jeringa para minimizar la dosis de radiación al practicante.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona un kit para la preparación de la composición radiofarmacéutica del primer aspecto, en donde dicho kit comprende:

- (i) Maraciclátida;
- (ii) un radioprotector seleccionado entre ácido *para*-aminobenzoico o una sal del mismo con un catión biocompatible;
- (iii) un reductor estannoso;
- (iv) ácido metileno difosfónico o una sal del mismo con un catión biocompatible.

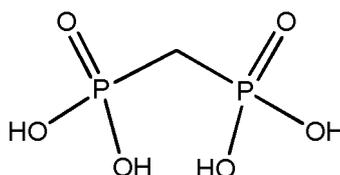
Por el término "kit" se refiere a uno o más envases de calidad farmacéutica, que comprenden los químicos no radiactivos necesarios para preparar la composición radiofarmacéutica deseada, junto con las instrucciones de uso.

El kit se diseña para ser reconstituido con ^{99m}Tc para dar una solución adecuada para su administración a un ser humano con el mínimo de manipulación. El kit de la presente invención comprende preferentemente una composición liofilizada que contiene todos los componentes del kit en una única formulación liofilizada en un único envase.

- 5 El kit del segundo aspecto no es radiactivo. Los aspectos preferidos del radioprotector en el kit son como se describen en el primer aspecto (anteriormente).

10 La expresión "reductor estannoso" tienen su significado habitual en el campo de los kits radiofarmacéuticos de ^{99m}Tc y se refiere a una sal de Sn^{2+} , es decir, estaño en el estado de oxidación Sn (II). Dichas sales adecuadas pueden estar en forma hidratada o anhidra e incluyen: cloruro estannoso, fluoruro estannoso y tartrato estannoso. Un reductor estannoso preferido de este tipo es cloruro estannoso.

El término "ácido metilendifosfónico" tiene su significado químico habitual y tiene la estructura química mostrada:



15 ácido metilendifosfónico (MDP)

20 Preferentemente el kit se liofiliza y se diseña para ser reconstituido con pertechnetato de ^{99m}Tc estéril (TcO_4^-) a partir de un generador del radioisótopo ^{99m}Tc para dar una solución adecuada para su administración a un ser humano sin más manipulación. Opcionalmente, los kits no radiactivos pueden comprender además componentes adicionales tales como un transquelante, un conservante antimicrobiano, un agente de ajuste del pH o una carga - tal como se define para el primer aspecto anteriormente.

25 Preferentemente el kit del segundo aspecto comprende además un tampón que comprende una mezcla de hidrogenocarbonato de sodio y carbonato de sodio anhidro. Un kit más preferido es como sigue (Formulación C del ejemplo 8):

Componente	Cantidad por recipiente
Maraciclátida	75 μg
Cloruro estannoso dihidrato	17,8 μg
Ácido metilendifosfónico (MDP)	90 μg
Ácido <i>para</i> -aminobenzoico (pABA), sal sódica	200 μg
Hidrogenocarbonato de sodio	1800 μg
Carbonato de sodio anhidro	630 μg

30 En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un método para la preparación de la composición radiofarmacéutica del primer aspecto, que además comprende:

- 35 (i) reconstitución del kit del segundo aspecto con un suministro de un vehículo biocompatible, seguido de la adición de un suministro de ^{99m}Tc en un vehículo biocompatible al kit reconstituido o
 (ii) reconstitución del kit del segundo aspecto con un suministro de ^{99m}Tc en un vehículo biocompatible.

Los aspectos preferidos del kit en el tercer aspecto son como se describen en el segundo aspecto (anteriormente).

40 El suministro de ^{99m}Tc está adecuadamente en forma estéril y es preferentemente pertechnetato de ^{99m}Tc (TcO_4^-) a partir de un generador del radioisótopo ^{99m}Tc . Dichos generadores están disponibles en el mercado.

45 Cuando se usa la opción (i), esto significa reconstituir primero el kit con un vehículo biocompatible no radiactivo en forma estéril (tal como se ha definido anteriormente; por ejemplo solución salina), seguido de la adición del ^{99m}Tc . Cuando se usa la opción (ii), esto significa reconstituir el kit mediante la adición de ^{99m}Tc en un vehículo biocompatible directamente al kit. Se prefiere la opción (ii), especialmente en combinación con un envase en kit liofilizado, individual, dado que proporciona una solución adecuada para administración al ser humano sin más manipulación.

El método del tercer aspecto se realiza preferentemente a temperatura ambiente, es decir no se requiere calentamiento.

50 El método del tercer aspecto se usa preferentemente para preparar dosis de paciente unitarias, extrayendo la

composición radiofarmacéutica en una jeringa de calidad clínica, como se describe en el primer aspecto (anteriormente).

5 En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona el uso del kit del segundo aspecto en la preparación de la composición radiofarmacéutica del primer aspecto.

Los aspectos preferidos del kit y la composición radiofarmacéutica en el cuarto aspecto son como se describen en los aspectos segundo y primero respectivamente (anteriormente).

10 En un quinto aspecto, la presente invención proporciona el uso de ácido para-aminobenzoico o una sal del mismo con un catión biocompatible, como radioprotector para estabilizar cualquiera de:

(i) composiciones radiofarmacéuticas de ^{99m}Tc-maraciclátida;

15 (ii) kits según se describen en el segundo aspecto (anteriormente) para la preparación de composiciones radiofarmacéuticas de ^{99m}Tc-maraciclátida.

20 Las composiciones radiofarmacéuticas del quinto aspecto y las realizaciones preferidas de las mismas, son preferentemente como se describen en el primer aspecto (anteriormente). Las realizaciones preferidas del kit en el quinto aspecto son como se describen en el segundo aspecto (anteriormente). Las realizaciones preferidas del radioprotector en el quinto aspecto son como se describen en el primer aspecto (anteriormente).

En un sexto aspecto, la presente invención proporciona el uso de la composición radiofarmacéutica del primer aspecto en un método de obtención de imágenes del cuerpo de un mamífero.

25 Los aspectos preferidos de la composición radiofarmacéutica en el sexto aspecto son como se describen en el primer aspecto (anteriormente). Preferentemente, el mamífero es un sujeto mamífero intacto *in vivo* y más preferentemente es un sujeto humano. El método de obtención de imágenes se usa preferentemente para asistir en un método de diagnóstico de dicho sujeto mamífero.

30 En un séptimo aspecto, la presente invención proporciona un método para obtención de imágenes del cuerpo de un mamífero que comprende la obtención de imágenes de un mamífero al que previamente se le ha administrado la composición radiofarmacéutica del primer aspecto. Los aspectos preferidos de la composición radiofarmacéutica en el séptimo aspecto son como se describen en el primer aspecto (anteriormente). Preferentemente, el mamífero es un cuerpo de mamífero intacto *in vivo* y es más preferentemente un sujeto humano.

35 La obtención de imágenes de los aspectos sexto y séptimo preferentemente es para obtener imágenes de un sujeto mamífero que sufre una enfermedad en la que se expresan las integrinas, tal como angiogénesis, fibrosis o inflamación.

40 La invención se ilustra mediante los ejemplos no limitantes detallados a continuación. Los ejemplos 1 a 3 proporcionan la síntesis del quelante 1 (también denominado algunas veces carba-Pn216) de la invención. El ejemplo 4 proporciona la síntesis del quelante 1A de la invención - una versión activa funcionalizada con éster del quelante 1. El ejemplo 5 proporciona la síntesis de péptidos cíclicos de la invención y la conjugación quelante. El ejemplo 6 proporciona la síntesis de maraciclátida. El ejemplo 7 proporciona un estudio sobre la elección del radioprotector. El ejemplo 8
45 proporciona datos sobre la optimización de la cantidad del radioprotector usado. El ejemplo 9 describe formulaciones en kit comparativas vs una formulación en kit anterior a la técnica. El ejemplo 10 proporciona un estudio de compatibilidad del generador de ^{99m}Tc para los kits de la invención, que muestra que son compatibles con una diversidad de generadores disponibles en el mercado bajo diversas condiciones. El ejemplo 11 proporciona datos sobre la estabilidad de la vida útil de los kits de la invención.

50

Abreviaturas.

Se usan abreviaturas de aminoácidos convencionales de letra única o de 3 letras.

Ac:	Acetilo
Boc:	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo
tBu:	butilo terciario
DMF:	dimetilformamida
DMSO:	Dimetilsulfóxido
Fmoc:	9-fluorenilmetoxicarbonilo
HATU:	Hexafluorofosfato de <i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
HBTU:	Hexafluorofosfato de <i>O</i> -benzotriazol-1-il- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
HPLC:	Cromatografía líquida de alto rendimiento
NMM	<i>N</i> -metilmorfolina
pABA:	sal sódica del ácido <i>para</i> -aminobenzoico

PBS:	Solución salina tamponada con fosfato
PEG:	polietilenglicol, unidades repetidas de (OCH ₂ CH ₂) _n , en donde n es un número entero,
tBu:	<i>tert</i> -butilo
RCP:	pureza radioquímica.
RP-HPLC:	HPLC de fase inversa.
TFA:	Ácido trifluoroacético
THF:	Tetrahidrofurano
TIS:	Triisopropilsilano
TLC:	cromatografía de capa fina
Trt:	Tritilo.

Compuestos de la invención.

Compuesto	Estructura
Quelante 1	
Quelante 1A	

5 Ejemplo 1: Síntesis de 1,1,1-*tris*(2-aminoetil)metano.

Etapa 1(a): Dimetiléster del ácido 3-(metoxicarbonilmetileno)glutárico.

10 Se trató carbometoximetilentrifenilfosforano (167 g, 0,5 mol) en tolueno (600 ml) con 3-oxoglutarato de dimetilo (87 g, 0,5 mol) y la reacción se calentó a 100 °C en un baño de aceite a 120 °C en atmósfera de nitrógeno durante 36 h. Después, la reacción se concentró al vacío y el residuo oleoso se trituró con 40/60 éter de petróleo/dietiléter (1:1, 600 ml). Precipitó óxido de trifenilfosfina y el líquido sobrenadante se eliminó por decantación/filtrado. El residuo de la evaporación al vacío se sometió a destilación Kugelrohr en Bpt de alto vacío Bpt (temperatura del horno 180-200 °C a 0,027 kPa (0,2 torr)) para dar dimetiléster del ácido 3-(metoxicarbonilmetileno)glutárico (89,08 g, 53 %). RMN ¹H (CDCl₃): δ 3,31 (2H, s, CH₂), 3,7 (9H, s, 3xOCH₃), 3,87 (2H, s, CH₂), 5,79 (1H, s, =CH,) ppm.

15 RMN ¹³C (CDCl₃), δ 36,56, CH₃, 48,7, 2xCH₃, 52,09 y 52,5 (2xCH₂); 122,3 y 146,16 C=CH; 165,9, 170,0 y 170,5 3xCOO ppm.

Etapa 1(b): Hidrogenación del dimetiléster del ácido 3-(metoxicarbonilmetileno)glutárico.

20 El dimetiléster del ácido 3-(metoxicarbonilmetileno)glutárico (89 g, 267 mmol) en metanol (200 ml) se agitó con (paladio al 10 % sobre carbón:agua al 50 %) (9 g) en atmósfera de gas hidrógeno (350 kPa (3,5 bar)) durante 30 h. La solución se filtró a través de un kieselguhr y se concentró al vacío para dar dimetiléster del ácido 3-(metoxicarbonilmetil)glutárico en forma de un aceite, rendimiento (84,9 g, 94 %). RMN H (CDC1₃), δ 2,48 (6H, d, J=8 Hz, 3xCH₂), 2,78 (1H, hextete, J=8 Hz CH), 3,7 (9H, s, 3xCH₃).

25 RMN ¹³C (CDCl₃), δ 28,6, CH; 37,50, 3xCH₃; 51,6, 3xCH₂; 172,28, 3 x COO.

Etapa 1(c): Reducción y esterificación de trimetil éster al triacetato.

30 En atmósfera de nitrógeno, en un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 2 l, se trató hidruro de litio y aluminio (20 g, 588 mmol) en THF (400 ml) cuidadosamente con *tris*(metiloxycarbonilmetil)metano (40 g, 212 mmol) en THF (200 ml) durante 1 h. Tuvo lugar una reacción fuertemente exotérmica, lo que provocó un fuerte reflujo del disolvente. La

reacción se calentó en un baño de aceite a 90 °C a reflujo durante 3 días. La reacción se interrumpió mediante la cuidadosa adición gota a gota de ácido acético (100 ml) hasta que cesó el desprendimiento de hidrógeno. La mezcla de reacción en agitación se trató cuidadosamente con solución de anhídrido acético (500 ml) a una velocidad tal como para provocar un reflujo suave. El matraz se equipó para destilación y se agitó y después se calentó a 90 °C (temperatura de baño de aceite) para eliminar el THF por destilación. Se añadió otra porción de anhídrido acético (300 ml), la reacción retornó a configuración de reflujo y se agitó y calentó en un baño de aceite a 140 °C durante 5 h. La reacción se dejó enfriar y se filtró. El precipitado de óxido de aluminio se lavó con acetato de etilo y los filtrados combinados se concentraron en un evaporador rotatorio a una temperatura de baño de agua de 50 °C al vacío (0,667 kPa (5 mmHg)) para proporcionar un aceite. El aceite se recogió en acetato de etilo (500 ml) y se lavó con solución acuosa saturada de carbonato de potasio. La solución de acetato de etilo se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío para proporcionar un aceite. El aceite se sometió a destilación Kugelrohr en alto vacío para dar *tris*(2-acetoxietil)metano (45,3 g, 95,9 %) en forma de un aceite. Pe. 220 °C a 0,013 kPa (0,1 mmHg). RMN H (CDCl₃), δ 1,66 (7H, m, 3xCH₂, CH), 2,08 (1H, s, 3xCH₃); 4,1 (6H, t, 3xCH₂O). RMN ¹³C (CDCl₃), δ 20,9, CH₃; 29,34, CH; 32,17, CH₂; 62,15, CH₂O; 171, CO.

Etapa 1(d): Eliminación de los grupos acetato del triacetato.

Se calentaron *tris*(2-acetoxietil)metano (45,3 g, 165 mM) en metanol (200 ml) y amoniaco 880 (100 ml) en un baño de aceite a 80 °C durante 2 días. La reacción se trató con una porción más de amoniaco 880 (50 ml) y se calentó a 80 °C en un baño de aceite durante 24 h. Se añadió una porción más de amoniaco 880 (50 ml) y la reacción se calentó a 80 °C durante 24 h. Después, la reacción se concentró al vacío para eliminar todos los disolventes para dar un aceite. Este se recogió en amoniaco 880 (150 ml) y se calentó a 80 °C durante 24 h. Después, la reacción se concentró al vacío para eliminar todos los disolventes para dar un aceite. La destilación Kugelrohr dio acetamida con pe. de 170-180 0,2 mm. Las ampollas que contenían la acetamida se lavaron y la destilación continuó. El *tris*(2-hidroxi)metano (22,53 g, 92 %) destiló con pe. de 220 °C 0,2 mm. RMN H (CDCl₃), δ 1,45 (6H, q, 3xCH₂), 2,2 (1H, quintuplete, CH); 3,7 (6H, t 3xCH₂OH); 5,5 (3H, sa, 3xOH). RMN ¹³C (CDCl₃), δ 22,13, CH; 33,95, 3xCH₂; 57,8, 3xCH₂OH.

Etapa 1(e): Conversión del triol al *tris*(metanosulfonato).

A una solución en agitación enfriada en hielo de *tris*(2-hidroxi)metano (10 g, 0,0676 mol) en diclorometano (50 ml) se le añadió por goteo lentamente una solución de cloruro de metanosulfonilo (40 g, 0,349 mol) en diclorometano (50 ml) en atmósfera de nitrógeno a una velocidad tal que la temperatura no se elevó por encima de 15 °C. Después se añadió gota a gota piridina (21,4 g, 0,27 mol, 4 equiv.) disuelta en diclorometano (50 ml) a una velocidad tal que la temperatura no se elevó por encima de 15 °C, reacción exotérmica. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 24 h y después se trató con solución 5 N de ácido clorhídrico (80 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con más diclorometano (50 ml) y los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío para dar *tris*[2-(metilsulfonilo)etil]metano contaminado con exceso de cloruro de metanosulfonilo. El rendimiento teórico fue de 25,8 g. RMN H (CDCl₃), δ 4,3 (6H, t, 2xCH₂), 3,0 (9H, s, 3xCH₃), 2 (1H, hexete, CH), 1,85 (6H, q, 3xCH₂).

Etapa 1(f): Preparación de 1,1,1-*tris*(2-azidoetil)metano.

Una solución en agitación de *tris*[2-(metilsulfonilo)etil]metano [de la etapa 1(e), contaminado con exceso de cloruro de metilsulfonilo] (25,8 g, 67 mmol, teórico) en DMF seca (250 ml) en atmósfera de nitrógeno se trató con azida sódica (30,7 g, 0,47 mol) en porciones durante 15 minutos. Se observó exotermia y la reacción se enfrió en un baño de hielo. Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a 50 °C durante 24 h. La reacción cambió a color pardo. La reacción se dejó enfriar, se trató con solución diluida de carbonato potásico (200 ml) y se extrajo tres veces con 40/60 éter de petróleo/dietiléter 10:1 (3x150 ml). Los extractos orgánicos se lavaron con agua (2x150 ml), se secaron sobre sulfato sódico y se filtraron. Se añadió etanol (200 ml) a la solución de petróleo/éter para mantener la triazida en solución y el volumen se redujo al vacío a no menos de 200 ml. Se añadió etanol (200 ml) y se volvió a concentrar al vacío eliminar las últimas de petróleo dejando no menos de 200 ml de solución etanólica. La solución en etanol de la triazida se usó directamente en la etapa 1(g).

PRECAUCIÓN: NO ELIMINAR TODO EL DISOLVENTE DADO QUE LA AZIDA ES POTENCIALMENTE EXPLOSIVA Y DEBERÍA MANTENERSE EN SOLUCIÓN DILUIDA EN TODO MOMENTO.

Se evaporó menos de 0,2 ml de la solución al vacío para eliminar el etanol y se realizó una RMN en esta pequeña muestra: RMN ¹H (CDCl₃), δ 3,35 (6H, t, 3xCH₂), 1,8 (1H, septete, CH), 1,6 (6H, q, 3xCH₂).

Etapa 1(g): Preparación de 1,1,1-*tris*(2-aminoetil)metano.

Se trató el *tris*(2-azidoetil)metano (15,06 g, 0,0676 mol), (suponiendo un rendimiento del 100 % de la reacción anterior) en etanol (200 ml) con paladio al 10 % sobre carbón (2 g, agua al 50 %) y se hidrogenó durante 12 h. El recipiente de reacción se evacuó cada 2 horas para eliminar el nitrógeno desprendido de la reacción y se volvió a llenar con hidrógeno. Se tomó una muestra para análisis por RMN para confirmar la conversión completa de la triazida en la triamina.

Precaución: la azida sin reducir podría explotar en la destilación. La reacción se filtró a través de un lecho de celite

para eliminar el catalizador y se concentró al vacío para dar *tris*(2-aminoetil)metano en forma de un aceite. Este se purificó otra vez mediante destilación Kugelrohr a pe. de 180-200 °C a 0,053 kPa (0,4 mm/Hg) para dar un aceite incoloro (8,1 g, 82,7 % de rendimiento total). RMN H (CDCl₃), δ 2,72 (6H, t, 3xCH₂N), 1,41 (H, septete, CH), 1,39 (6H, q, 3xCH₂). RMN ¹³C (CDCl₃), δ 39,8 (CH₂NH₂), 38,2 (CH₂), 31,0 (CH).

5

Ejemplo 2: Preparación de 3-cloro-3-metil-2-nitrosobutano.

Una mezcla de 2-metilbut-2-eno (147 ml, 1,4 mol) y nitrito de isoamilo (156 ml, 1,16 mol) se enfrió a -30 °C en a un caño de hielo seco y metanol y se agitó vigorosamente con un agitador superior de aire y se trató gota a gota con ácido clorhídrico concentrado (140 ml, 1,68 mol) a una velocidad tal que la temperatura se mantuvo por debajo de -20 °C. Esto requiere aproximadamente 1 h dado que existe una exotermia significativa y se debe tener cuidado para evitar el sobrecalentamiento. Se añadió etanol (100 ml) para reducir la viscosidad de la suspensión que se había formado al final de la adición y la reacción se agitó a de -20 a -10 °C durante 2 h más para completar la reacción. El precipitado se recogió por filtración al vacío y se lavó con 4x30 ml de etanol frío (-20 °C) y 100 ml de agua enfriada con hielo y se secó al vacío para dar 3-cloro-3-metil-2-nitrosobutano en forma de un sólido de color blanco. El filtrado de etanol y los lavados se combinaron y se diluyeron con agua (200 ml) y se enfriaron y dejaron reposar durante 1 h a -10 °C, cuando se retiró mediante cristalización un cultivo adicional de 3-cloro-3-metil-2-nitrosobutano. El precipitado se recogió por filtración y se lavó con el mínimo de agua y se secó al vacío para dar un rendimiento total de 3-cloro-3-metil-2-nitrosobutano (115 g 0,85 mol, 73 %) > 98 % puro según RMN.

10

15

20

RMN ¹H (CDCl₃), En forma de una mezcla de isómeros (isómero 1, 90 %) 1,5 d, (2H, CH₃), 1,65 d, (4H, 2 xCH₃), 5,85, q y 5,95, q, junto con 1H. (isómero 2, 10 %), 1,76 s, (6H, 2x CH₃), 2,07 (3H, CH₃).

Ejemplo 3: Síntesis de *bis*[N-(1,1-dimetil-2-N-hidroxiimina propil)2-aminoetil]-(2-aminoetil)metano (Quelante 1).

25

A una solución de *tris*(2-aminoetil)metano (ejemplo 1; 4,047 g, 27,9 mmol) en etanol seco (30 ml) se le añadió carbonato potásico anhidro (7,7 g, 55,8 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente con agitación vigorosa en atmósfera de nitrógeno. Una solución de 3-cloro-3-metil-2-nitrosobutano (ejemplo 2; 7,56 g, 55,8 mmol, 2 equiv.) se disolvió en etanol seco (100 ml) y 75 ml de esta solución se añadieron gota a gota lentamente en la mezcla de reacción. La reacción se siguió por TLC sobre sílice [las placas se analizaron en diclorometano, metanol, amoniaco concentrado (0,88 sg); 100/30/5 y la placa de TLC se reveló mediante pulverización con ninhidrina y calentamiento]. Los productos mono, di y tri alquilados se observaron con incremento de RF en ese orden. La HPLC analítica se llevó a cabo usando una columna de PRP de fase inversa en un gradiente de acetonitrilo del 7,5-75 % en amoniaco acuoso al 3 %. La reacción se concentró al vacío para eliminar el etanol y se volvió a suspender en agua (110 ml). La suspensión acuosa se extrajo con éter (100 ml) para eliminar parte del compuesto trialquilado y las impurezas lipófilas, dejando el producto mono y el dialquilado deseado en la capa acuosa. La solución acuosa se tamponó con acetato amónico (2 eq, 4,3 g, 55,8 mmol) para asegurar una buena cromatografía. La solución acuosa se almacenó a 4 °C durante una noche antes de purificar mediante HPLC preparativa automatizada.

30

35

Rendimiento (2,2 g, 6,4 mmol, 23 %).

Espectr. de masas; Ion positivo voltaje del cono 10 V. Encontrado: 344; calculado M+H= 344. RMN H (CDCl₃), δ 1,24 (6H, s, 2xCH₃), 1,3 (6H, s, 2xCH₃), 1,25-1,75 (7H, m, 3xCH₂, CH), (3H, s, 2xCH₂), 2,58 (4H, m, CH₂N), 2,88 (2H, t CH₂N), 5,0 (6H, s, NH₂, 2xNH, 2xOH). RMN ¹H((CD₃)₂SO) δ 1,1 4xCH; 1,29, 3xCH₂; 2,1 (4H, t, 2xCH₂);

40

RMN ¹³C ((CD₃)₂SO), δ 9,0 (4xCH₃), 25,8 (2xCH₃), 31,0 2xCH₂, 34,6 CH₂, 56,8 2xCH₂N; 160,3, C=N.

Condiciones de HPLC: caudal 8 ml/min usando una columna PRP de 25 mm [A=solución de amoniaco al 3 % (sp.gr = 0,88)/agua; B = Acetonitrilo].

45

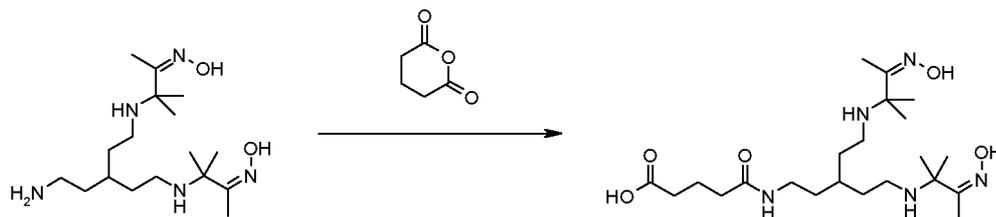
Gradiente	Tiempo (min)	0	15	20	22	30
	% de B	7,5	75,0	75,0	7,5	7,5

Cargar 3 ml de solución acuosa por análisis y recoger en una ventana temporal de 12,5-13,5 min.

Ejemplo 4: Síntesis del éster de tetrafluorotiofenilo del quelante 1-ácido glutárico (Quelante 1A).

50

(Etapa 4a) Síntesis del intermedio [Quelante 1]-ácido glutárico.

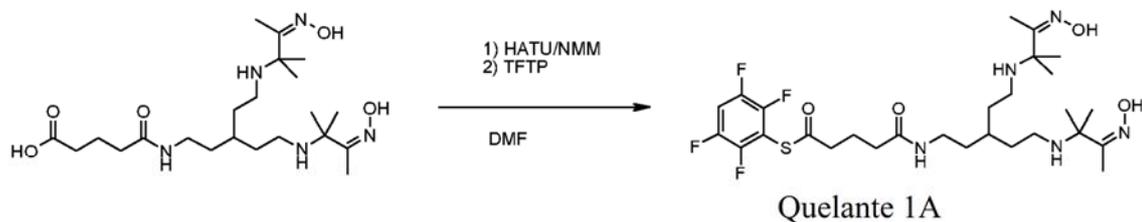


El quelante 1 (100 mg, 0,29 mmol) se disolvió en DMF (10 ml) y se añadió anhídrido glutárico (33 mg, 0,29 mmol) en porciones con agitación. La reacción se agitó durante 23 horas para proporcionar la conversión completa del producto

55

deseado. El ácido puro se obtuvo después de RP-HPLC con un buen rendimiento.

(Etapa 4b) Síntesis del quelante 1A.



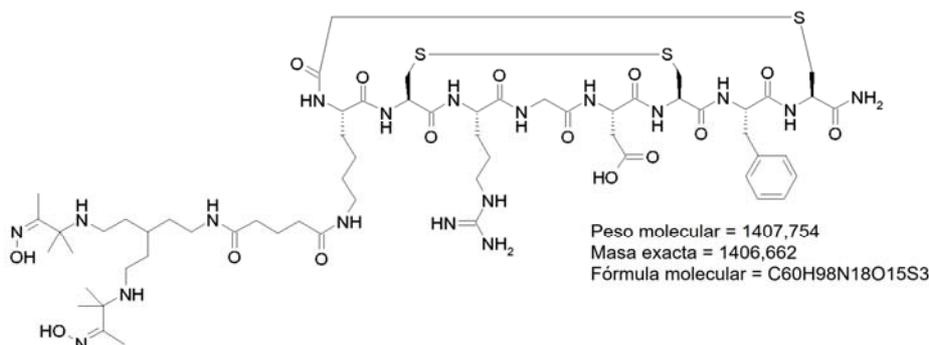
5

Al [Quelante 1]-ácido glutárico (de la etapa 4a; 300 mg, 0,66 mmol) en DMF (2 ml) se le añadió HATU (249 mg, 0,66 mmol) y NMM (132 μ l, 1,32 mmol). La mezcla se agitó durante 5 minutos, después se añadió tetrafluorotiofenol (0,66 mmol, 119 mg). La solución se agitó durante 10 minutos, después la mezcla de reacción se diluyó con acetonitrilo al 20 %/agua (8 ml) y el producto se purificó por RP-HPLC produciendo 110 mg del producto deseado después de liofilización.

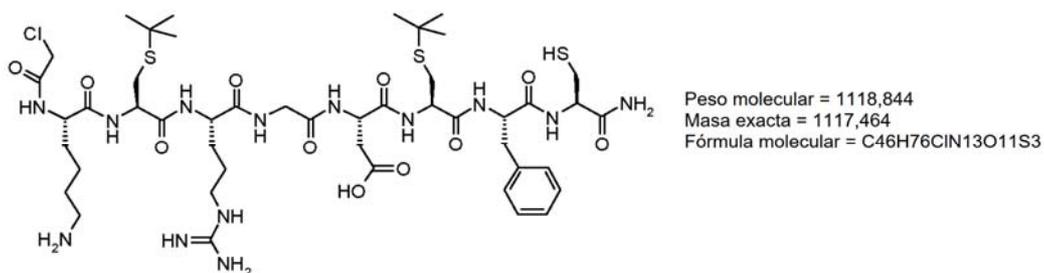
10

Ejemplo 5: Síntesis de disulfuro [Cys²⁻⁶] tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys(Quelante 1-glutaril)-Cys²-Arg-Gly-Asp-Cys⁶-Phe-Cys]-NH₂.

15



(Etapa 5a) Síntesis de C1CH₂CO-Lys-Cys(tBu)-Arg-Gly-Asp-Cys(tBu)-Phe-Cys-NH₂



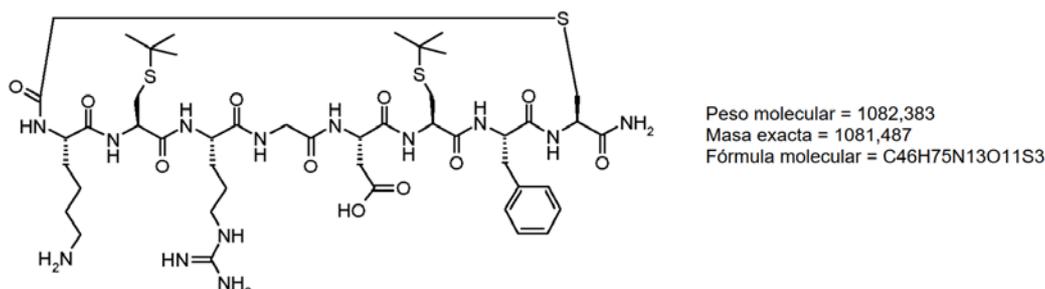
20

El péptido se sintetizó en un sintetizador automático de péptidos ABI 433A comenzando con resina Rink Amide AM a una escala de 0,25 mmol usando cartuchos de aminoácidos de 1 mmol. Los aminoácidos se preactivaron usando HBTU antes del acoplamiento. Los grupos amina N-terminales se cloroacetilaron usando una solución de anhídrido cloroacético en DMF durante 30 min. La eliminación simultánea del péptido y los grupos protectores de cadena lateral (excepto tBu) de la resina se realizó en TFA que contenía TIS (5 %), H₂O (5 %) y fenol (2,5 %) durante dos horas. Después del procesamiento se obtuvieron 295 mg de péptido en bruto (HPLC analítica: Gradiente, 5-50 % de B durante 10 min donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %; columna, Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 4,6 mm; caudal, 2 ml/min; detección, UV 214 nm; tiempo de retención del producto, 6,42 min). Se realizó otra caracterización del producto usando espectrometría de masas: esperado, M+H a 1118,5, encontrado, a 1118,6).

25

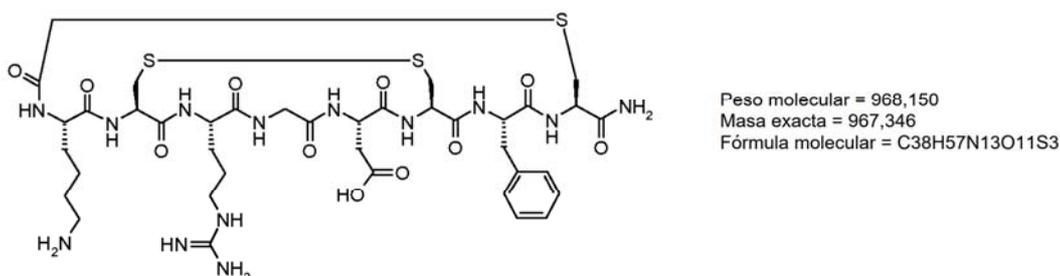
30

(Etapa 5b) Síntesis de tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys-Cys-(tBu)-Arg-Gly-Asp-Cys(tBu)-Phe-Cys]-NH₂.



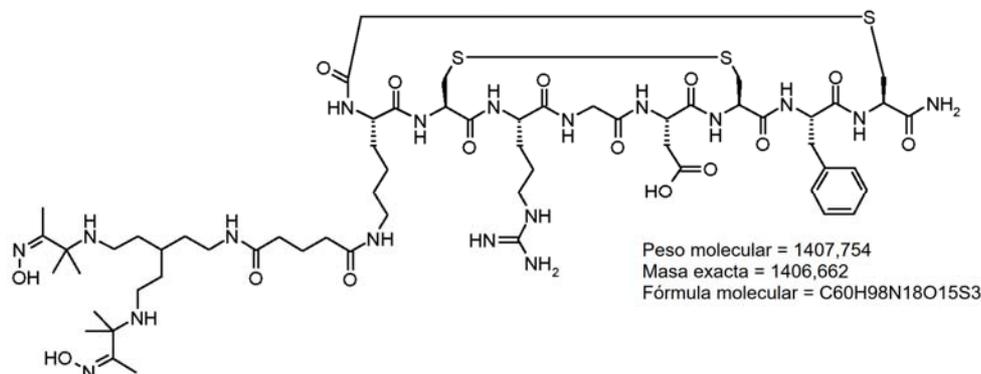
Se disolvieron 295 mg de CHCl₂CO-Lys-Cys(tBu)-Arg-Gly-Asp-Cys(tBu)-Phe-Cys-NH₂ en agua/acetonitrilo. La mezcla se ajustó a pH 8 con solución de amoníaco y se agitó durante 16 horas. Después del procesamiento se obtuvieron 217 mg de péptido en bruto (HPLC analítica: Gradiente, 5-50 % de B durante 10 min donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %; columna, Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 4,6 mm; caudal, 2 ml/min; detección, UV 214 nm; tiempo de retención del producto, 6,18 min). Se realizó otra caracterización del producto usando espectrometría de masas: esperado, M+H a 1882,5, encontrado, a 1882,6).

10 (Etapa 5c) Síntesis de disulfuro [Cys²⁻⁶] tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys-Cys²-Arg-Gly-Asp-Cys⁶Phe-Cys]-NH₂.



Se trataron 217 mg de tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys-Cys(tBu)-Arg-Gly-Asp-Cys(tBu)-Phe-Cys]-NH₂ con una solución de anisol (500 μl), DMSO (2 ml) y TFA (100 ml) durante 60 min después de lo cual se eliminó el TFA al vacío y el péptido precipitó mediante la adición de éter dietílico. La purificación por HPLC preparativa (columna Phenomenex Luna 10 μ C18 (2) 250 x 50 mm) del material en bruto (202 mg) se realizó usando 0-30 % de B, donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %, durante 60 min a un caudal de 50 ml/min. Después de liofilización se obtuvieron 112 mg de material puro (HPLC analítica: Gradiente, 5-50 % de B durante 10 min donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %; columna, Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 4,6 mm; caudal, 2 ml/min; detección, UV 214 nm; tiempo de retención del producto, 5,50 min). Se realizó otra caracterización del producto usando espectrometría de masas: esperado, M+H a 968, encontrado, a 971).

25 (Etapa 5d) Síntesis de disulfuro [Cys²⁻⁶] tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys(Quelante 1-glutaril)-Cys²-Arg-Gly-Asp-Cys⁶-Phe-Cys]-NH₂.



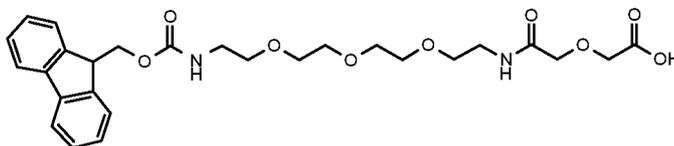
Se disolvieron 9,7 mg de disulfuro [Cys²⁻⁶]tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys-Cys-Arg-Gly-Asp-Cys-Phe-Cys]-NH₂, 9,1 mg del quelante 1A (Ejemplo 5) y 6 μl de NMM en DMF (0,5 ml). La mezcla se agitó durante 3 horas. La purificación por HPLC preparativa (columna Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 x 21,20 mm) de la mezcla de reacción se realizó usando 0-30 % de B, donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %, durante 40 min a un caudal de 10 ml/min. Después de liofilización se obtuvieron 5,7 mg de material puro (HPLC analítica: Gradiente, 0-30 % de B durante 10 min donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %; columna, Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 4,6 mm; caudal, 2 ml/min; detección, UV 214 nm; tiempo de retención del producto, 7,32 min). Se realizó otra caracterización del producto

usando espectrometría de masas: esperado, M+H a 1407,7, encontrado, a 1407,6).

Ejemplo 6: Síntesis de disulfuro [Cys²⁻⁶ tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys(Quelante 1-glutaril)-Cys²-Arg-Gly-Asp-Cys²-Phe-Cys⁶-(PEG)₃-NH₂ (Maraciclátida)

5

(Etapa 6a) Síntesis de ácido 17-(Fmoc-amino)-5-oxo-6-aza-3,9,12,15-tetraoxaheptadecanoico.



10 Este elemento constitutivo se acopla a la fase sólida usando química Fmoc.

1,11-diazido-3,6,9-trioxaundecano.

15 Una solución de tetraetilenglicol seco (19,4 g, 0,100 mol) y cloruro de metanosulfonilo (25,2 g, 0,220 mol) en THF seco (100 ml) se mantuvo en atmósfera de argón y se enfrió a 0 °C en un baño de hielo/agua. Al matraz se le añadió una solución de trietilamina (22,6 g, 0,220 mol) en THF seco (25 ml) gota a gota durante 45 min. Después de 1 h el baño de refrigeración se retiró y la agitación continuó durante 4 h. Se añadió agua (60 ml). A la mezcla se le añadió hidrogenocarbonato sódico (6 g, a pH 8) y azida sódica (14,3 g, 0,220 mmol), en ese orden. El THF se eliminó por destilación y la solución acuosa se calentó a reflujo durante 24 h (se formaron dos capas). La mezcla se enfrió y se añadió éter (100 ml). La fase acuosa se saturó con cloruro sódico. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con éter (4 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 x 50 ml) y se secaron (MgSO₄). La filtración y concentración dieron 22,1 g (91 %) de un aceite de color amarillo. El producto se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

25 11-azido-3,6,9-trioxaundecanamina.

30 A una suspensión agitada vigorosamente, de forma mecánica, de 1,11-diazido-3,6,9-trioxaundecano (20,8 g, 0,085 mol) en ácido clorhídrico al 5 % (200 ml) se le añadió una solución de trifetilfosfina (19,9 g, 0,073 mol) en éter (150 ml) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 24 h más. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 40 ml). La fase acuosa se enfrió en un baño de hielo/agua y el pH se ajustó a aproximadamente 12 mediante la adición de KOH. El producto se extrajo en diclorometano (5 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄). La filtración y la evaporación dieron 14,0 g (88 %) de un aceite de color amarillo. El análisis mediante espectroscopía de masas MALDI-TOF (matriz: ácido α-ciano-4-hidroxicinámico) dio un pico M+H a 219 según lo esperado. Otra caracterización usando espectroscopía por RMN ¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) verificó la estructura.

Ácido 17-azido-5-oxo-6-aza-3,9,12,15-tetraoxaheptadecanoico.

40 A una solución de 11-azido-3,6,9-trioxaundecanamina (10,9 g, 50,0 mmol) en diclorometano (100 ml) se le añadió anhídrido diglicólico (6,38 g, 55,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche. El análisis mediante HPLC (columna Vydac 218TP54; disolventes: A = agua/TFA al 0,1 % y B = acetonitrilo/TFA al 0,1%; gradiente 4-16 % de B durante 20 min; caudal 1,0 ml/min; detección UV a 214 y 284 nm), mostró conversión completa del material de partida al producto con un tiempo de retención de 18,3 min. La solución se concentró para dar rendimiento cuantitativo de un jarabe de color amarillo. El producto se analizó por LC-MS (ionización ES) dando [MH]⁺ a 335 según lo esperado. La espectroscopía por RMN ¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) coincidía con la estructura. El producto se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

Ácido 17-amino-5-oxo-6-aza-3,9,12,15-tetraoxaheptadecanoico.

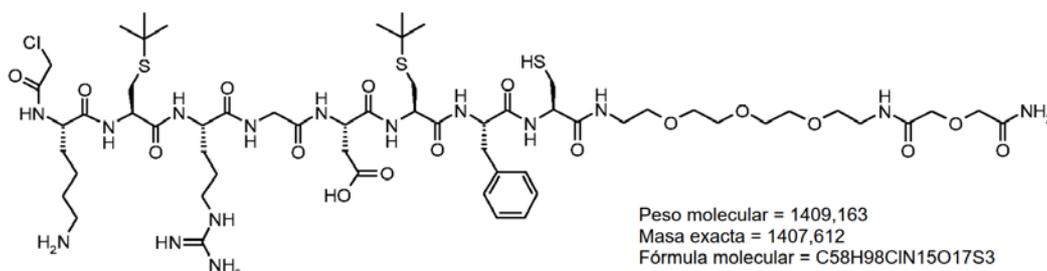
50 Una solución de ácido 17-azido-5-oxo-6-aza-3,9,12,15-tetraoxaheptadecanoico (8,36 g, 25,0 mmol) en agua (100 ml) se redujo usando H₂(g)-Pd/C (10 %). La reacción se ejecutó hasta que el análisis mediante LC-MS mostró conversión completa del material de partida (columna Vydac 218TP54; disolventes: A = agua/TFA al 0,1 % y B = acetonitrilo/TFA al 0,1%; gradiente 4-16 % de B durante 20 min; caudal 1,0 ml/min; detección UV a 214 y 284 nm, ionización por ES dando M+H a 335 para el material de partida y 309 para el producto). La solución se filtró y se usó directamente en la etapa siguiente.

Ácido 17-(Fmoc-amino)-5-oxo-6-aza-3,9,12,15-tetraoxaheptadecanoico.

60 A la solución acuosa de ácido 17-amino-5-oxo-6-aza-3,9,12,15-tetraoxaheptadecanoico procedente del anterior (correspondiente a aminoácido 25,0 mmol) se le añadió bicarbonato sódico (5,04 g, 60,0 mmol) y dioxano (40 ml). Se añadió gota a gota una solución de cloruro de Fmoc (7,11 g, 0,275 mol) en dioxano (40 ml). La mezcla de reacción se

agitó durante una noche. El dioxano se eliminó por evaporación (evaporador rotatorio) y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo. La fase acuosa se acidificó mediante la adición de ácido clorhídrico y el material precipitado se extrajo en cloroformo. La fase orgánica se secó (MgSO_4), se filtró y se concentró para dar 11,3 g (85 %) de un jarabe de color amarillo. La estructura se confirmó por análisis LC-MS (columna Vydac 218TP54; disolventes: A = agua/TFA al 0,1 % y B = acetonitrilo/TFA al 0,1%; gradiente 40-60 % de B durante 20 min; caudal 1,0 ml/min; detección UV a 214 y 254 nm, ionización por ES dando M+H a 531 según lo esperado para el pico del producto a los 5,8 minutos). El análisis mostró un contenido muy bajo de productos secundarios y el material se usó sin más purificación.

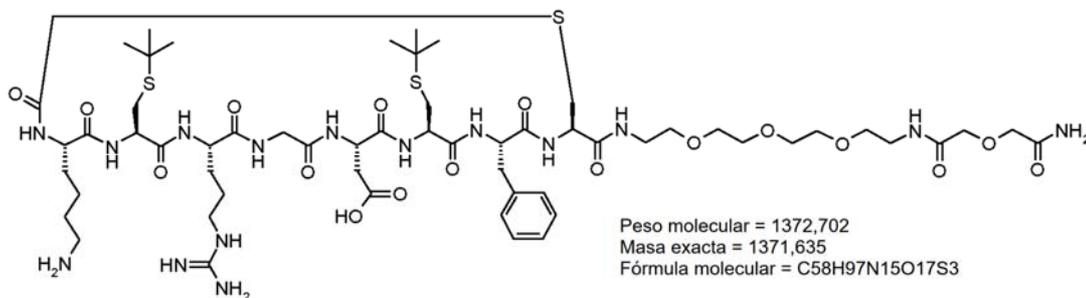
(Etapa 6b) Síntesis de $\text{CHCl}_2\text{CO-Lys-Cys(tBu)-Arg-Gly-Asp-Cys(tBu)-Phe-Cys-(PEG)}_3\text{-NH}_2$.



La unidad PEG se acoplo de forma manual a la resina Rink Amide AM, comenzando a una escala de 0,25 mmol, mediado por la activación de HATU. El péptido restante se ensambló en un sintetizador automático de péptidos ABI 433A usando cartuchos de aminoácidos de 1 mmol. Los aminoácidos se preactivaron usando HBTU antes del acoplamiento. Los grupos amina N-terminales se cloroacetilaron usando una solución de anhídrido cloroacético en DMF durante 30 min.

La eliminación simultánea del péptido y los grupos protectores de cadena lateral (excepto tBu) de la resina se realizó en TFA que contenía TIS (5 %), H_2O (5 %) y fenol (2,5 %) durante dos horas. Después del procesamiento se obtuvieron 322 mg de péptido en bruto (HPLC analítica: Gradiente, 5-50 % de B durante 10 min donde A = H_2O /TFA al 0,1 % y B = CH_3CN /TFA al 0,1 %; columna, Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 4,6 mm; caudal, 2 ml/min; detección, UV 214 nm; tiempo de retención del producto, 6,37 min). Se realizó otra caracterización del producto usando espectrometría de masas: esperado, M+H a 1409, encontrado, a 1415).

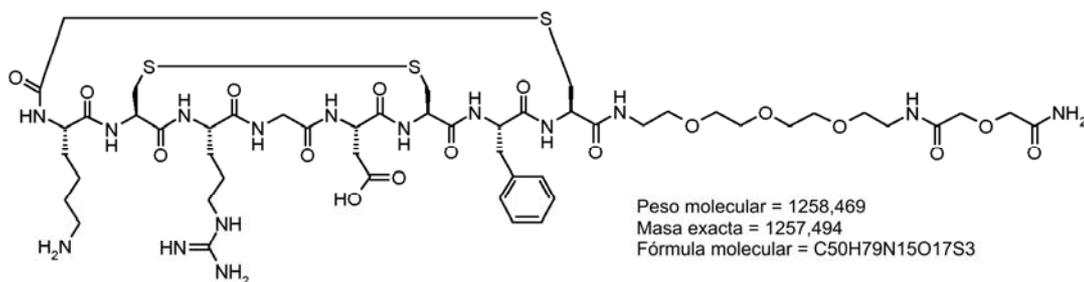
(Etapa 6c) Síntesis de tioéter $\text{ciclo}[\text{CH}_2\text{CO-Lys-Cys(tBu)-Arg-Gly-Asp-Cys(tBu)-Phe-Cys}]_3\text{-(PEG)}_3\text{-NH}_2$.



Se disolvieron 322 mg de $\text{CHCl}_2\text{CO-Lys-Cys(tBu)-Arg-Gly-Asp-Cys(tBu)-Phe-Cys-(PEG)}_3\text{-NH}_2$ en agua/acetonitrilo. La mezcla se ajustó a pH 8 con solución de amoníaco y se agitó durante 16 horas.

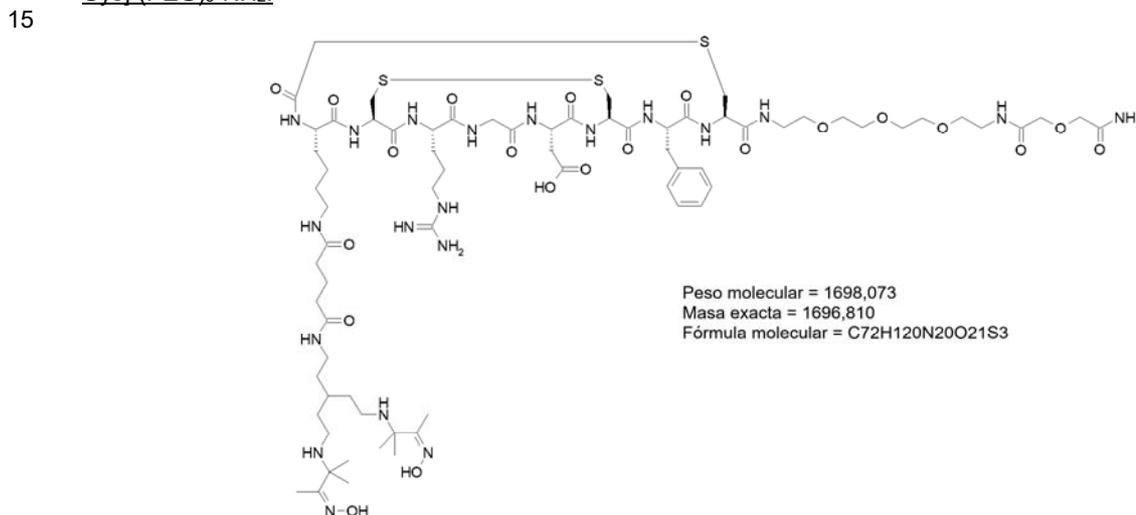
Después del procesamiento se obtuvo el péptido en bruto (HPLC analítica: Gradiente, 5-50 % de B durante 10 min donde A = H_2O /TFA al 0,1 % y B = CH_3CN /TFA al 0,1 %; columna, Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 x 4,6 mm; caudal, 2 ml/min; detección, UV 214 nm; tiempo de retención del producto, 6,22 min). Se realizó otra caracterización del producto usando espectrometría de masas: esperado, M+H a 1373, encontrado, a 1378).

(Etapa 6d) Síntesis de disulfuro [Cys²⁻⁶] tioéter $\text{ciclo}[\text{CH}_2\text{CO-Lys-Cys}^2\text{-Arg-Gly-Asp-Cys}^6\text{-Phe-Cys}]_3\text{-(PEG)}_3\text{-NH}_2$.



Se trató el tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys-Cys(tBu)-Arg-Gly-Asp-Cys(tBu)-Phe-Cys]-(PEG)₃-NH₂ con una solución de anisol (200 µl), DMSO (2 ml) y TFA (100 ml) durante 60 min después de lo cual se eliminó el TFA al vacío y el péptido precipitó mediante la adición de éter dietílico. La purificación por HPLC preparativa (columna Phenomenex Luna 5 µ C18 (2) 250 x 21,20 mm) de 70 mg de material en bruto se realizó usando 0-30 % de B, donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %, durante 40 min a un caudal de 10 ml/min. Después de liofilización se obtuvieron 46 mg de material puro (HPLC analítica: Gradiente, 0-30 % de B durante 10 min donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %; columna, Phenomenex Luna 3 µ C18 (2) 50 x 4,6 mm; caudal, 2 ml/min; detección, UV 214 nm; tiempo de retención del producto, 6,80 min). Se realizó otra caracterización del producto usando espectrometría de masas: esperado, M+H a 1258,5, encontrado, a 1258,8).

(Etapa 6e) Síntesis de disulfuro [Cys²⁻⁶] tioéter *ciclo*[CH₂CO-Lys(Quelante 1-glutaril)-Cys²⁻⁶-Arg-Gly-Asp-Cys⁶-Phe-Cys]-(PEG)₃-NH₂.



Se disolvieron 13 mg de [Cys²⁻⁶]*ciclo*[CH₂CO-Lys-Cys-Arg-Gly-Asp-Cys-Phe-Cys]-(PEG)₃-NH₂, 9,6 mg de quelante 1A y 8 µl de NMM en DMF (0,5 ml). La mezcla se agitó durante 2 horas y 30 minutos. La purificación por HPLC preparativa (columna Phenomenex Luna 5 µ C18 (2) 250 x 21,20 mm) de la mezcla de reacción se realizó usando 0-30 % de B, donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %, durante 40 min a un caudal de 10 ml/min. Después de liofilización se obtuvieron 14,2 mg de material puro (HPLC analítica: Gradiente, 0-30 % de B durante 10 min donde A = H₂O/TFA al 0,1 % y B = CH₃CN/TFA al 0,1 %; columna, Phenomenex Luna 3 µ C18 (2) 50 x 4,6 mm; caudal, 2 ml/min; detección, UV 214 nm; tiempo de retención del producto, 7,87 min). Se realizó otra caracterización del producto usando espectrometría de masas: esperado, M+H a 1697,8, encontrado, a 1697,9).

Ejemplo 7: Elección del radioprotector.

Se evaluó el efecto sobre la eficacia del radiomarcado y la radioestabilización de tres radioprotectores, pABA, ácido genticónico y ácido ascórbico, para kits liofilizados. Las formulaciones fueron idénticas a la formulación A (véase el ejemplo 9) excepto por la adición del radioprotector y una cantidad aumentada de carbonato de sodio para mantener el pH cerca de 9,3, véase la tabla 2:

Tabla 2: formulaciones de radioprotector

pABA, µg por recipiente	Ácido genticónico, µg por recipiente	Ácido ascórbico, µg por recipiente	Carbonato de sodio, µg por recipiente
350	-	-	830
-	1000	-	1530
-	-	500	930

La formulación tuvo una RCP a los 20 minutos después de la reconstitución de aproximadamente 90-91 %, cayendo al 82-85 % a las 4 horas y al 75-82 % a las 8 horas después de la reconstitución.

5 Los kits liofilizados que contenían ácido ascórbico tuvieron una pobre eficacia de radiomarcado - la RCP fue del 80 % tanto a los 20 minutos como a las 4 horas después de la reconstitución.

10 Los kits liofilizados con ácido gentísico mostraron una buena eficacia de radiomarcado, el 94 % a los 20 minutos después de la reconstitución, y un buen efecto de radioestabilización, la RCP fue del 90 % a las 4 horas después de la reconstitución. Sin embargo, la solución del kit reconstituido se decoloró (cambió a color rosa) después de algún tiempo. Se observó una decoloración similar en experimentos de química de soluciones.

15 Los kits liofilizados con pABA mostraron una buena eficacia de radiomarcado y la RCP estaba estabilizada. Los valores de RCP eran aproximadamente del 90 % tanto a los 20 minutos como a las 4 horas después de la reconstitución, con estabilidad mantenida incluso a las 8 horas después de la reconstitución (véase el ejemplo 8). No se observaron impurezas radiactivas nuevas en comparación con la formulación A.

Ejemplo 8: Optimización de la cantidad de radioprotector.

20 Para optimizar la cantidad de pABA en la formulación, se preparó un diseño factorial con 3 niveles de pABA [de 100 a 600 µg por recipiente] y 2 niveles de pH [de 8,7 a 9,3]. Los niveles de otros componentes del kit fueron como los de la formulación A. Se usaron los niveles de carbonato sódico para ajustar el pH.

Tabla 3 Resultados de RCP para el estudio de optimización de pABA

Formulación	pABA (µg/recipiente)	Na ₂ CO ₃ (µg/recipiente)	pH	% de RCP (en el momento de la p.r.)		
				20 min	4 horas	8 horas
#1	100	300	8,9	89,2	88,0	86,3
#2	100	600	9,3	91,6	88,8	85,8
#3	300	600	9,1	93,1	92,1	90,5
#4	350	500	8,9	89,6	89,9	88,6
#5	350	630	9,0	91,6	91,6	90,8
#6	350	830	9,2	91,8	90,7	89,5
#7	600	680	8,9	88,4	89,3	88,7
#8	600	1000	9,1	91,7	91,8	90,5

pr = después de la reconstitución

25 El análisis de los resultados del diseño factorial, mostrados en la tabla 3, mostró que la cantidad óptima de pABA con respecto a la RCP y la capacidad radioestabilizante está entre 200 y 350 µg/recipiente.

30 Dos lotes más con respectivamente 200 µg (lote n.º 9; 630 µg Na₂CO₃ pH 9,3) y 300 µg (lote n.º 10; 800 µg Na₂CO₃ pH 9,3) de pABA, dieron valores de RCP muy similares en un punto temporal inicial y durante la estabilidad. Los resultados mostraron que no hay diferencia significativa entre los kits liofilizados que contienen 200 y 300 µg de pABA con respecto a la eficacia de radiomarcado o la capacidad de radioestabilización.

35 Ejemplo 9: Formulaciones de kit liofilizado comparativas.

Los kits liofilizados se prepararon como sigue, para comparar el kit de la técnica anterior de Edwards *et al* [Nucl. Med. Biol., 35, 365-375 (2008)] y el kit estabilizado de la presente invención:

Tabla 1: formulaciones de kit

	Formulación A	Formulación C
Componente	Cantidad por recipiente (µg)	Cantidad por recipiente (µg)
Maraciclátida	75	75
Cloruro estannoso dihidrato	17,8	17,8
Sal sódica del ácido metilendifosfónico	90	90
Sal sódica del ácido <i>para</i> -amino-benzoico (pABA)	0	200
Hidrogenocarbonato de sodio	1800	1800
Carbonato de sodio anhidro	530	630

40 Ejemplo 10: Estudio de compatibilidad del generador.

5 Se han realizado dos estudios de compatibilidad de los generadores para investigar la compatibilidad de la formulación C. Los generadores estudiados en el primer estudio fueron: Technelite Technetium-99m, generador estéril [Bristol Myers Squibb Medical Imaging], Drytec Technetium-99m, generador estéril [GE Healthcare, RU], generador Ultra-Technekow® DTE [Tyco Healthcare Mallinckrodt, Estados Unidos] e ISOTEC Mo-99-Tc-99m, generador estéril [Amersham Health, Noruega]. Las muestras de ensayo eran de la formulación C (lote n.º 9 del ejemplo 8). Todas las muestras se reconstituyeron con elución del generador de 3,1 GBq/6 ml. Las variables estudiadas para los generadores fueron edad del generador (tiempo entre eluciones) y edad de la elución (tiempo después de la elución).

10 Los cuatro generadores analizados en el primer estudio eran compatibles con la formulación C. Solamente hubo una pequeña diferencia en los valores de la RCP, del 1,6 %. La edad de la elución tuvo un efecto negativo tanto en la RCP como en la estabilidad después de la reconstitución para los cuatro generadores.

Ejemplo 11: Estabilidad de los kits liofilizados.

15 El ensayo de la estabilidad de la vida útil se realizó en diversos lotes del kit almacenados a diversas temperaturas [-20 °C, 5 °C y 25 °C] y para algunas temperaturas, hasta 12 meses. Se determinó la RCP después de almacenar a diferentes condiciones de temperatura.

20 Kit de formulación A.

Almacenaje a 5°, 12 meses: La RCP a las 4 horas después de la reconstitución fue del 87 %
Almacenaje a 25°, 3 meses: La RCP a las 4 horas después de la reconstitución fue del 87 %

25 Kit de formulación C

Almacenaje a 5°, 12 meses: La RCP a las 4 horas después de la reconstitución fue del 91,7 %
Almacenaje a 25°, 3 meses: La RCP a las 4 horas después de la reconstitución fue del 91,5 %
Almacenaje a 25°, 6 meses: La RCP a las 4 horas después de la reconstitución fue > 90 %

30 La formulación C tiene una vida útil de al menos 50 meses cuando se almacena a 5 °C, mientras que la formulación A se debería almacenar a -20 °C para asegurar un rendimiento de RCP adecuada del kit.

REIVINDICACIONES

1. Una composición radiofarmacéutica que comprende
- 5 (i) ^{99m}Tc-maraciclátida;
(ii) un radioprotector seleccionado entre ácido para-aminobenzoico o una sal del mismo con un catión biocompatible;
- 10 en un vehículo biocompatible en una forma adecuada para su administración a un mamífero.
2. La composición radiofarmacéutica de la reivindicación 1, en donde el radioprotector es *para*-aminobenzoato de sodio.
3. La composición radiofarmacéutica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el radiofarmacéutico se proporciona en una jeringa.
- 15 4. La composición radiofarmacéutica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el radiofarmacéutico se proporciona en un recipiente equipado con un cierre.
- 20 5. Un kit para la preparación de la composición radiofarmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende:
- (i) Maraciclátida;
- 25 (ii) un radioprotector seleccionado entre ácido *para*-aminobenzoico o una sal del mismo con un catión biocompatible;
- (iii) un reductor estannoso;
- (iv) ácido metilén difosfónico o una sal del mismo con un catión biocompatible.
- 30 6. El kit de la reivindicación 5, todos los componentes del kit se liofilizan juntos.
7. El kit de la reivindicación 5 o la reivindicación 6, que además comprende un tampón.
8. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde el reductor estannoso es cloruro estannoso.
- 35 9. Un método de preparación de la composición radiofarmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que además comprende:
- (i) reconstitución del kit de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 con un suministro de un vehículo biocompatible, seguido de la adición de un suministro de ^{99m}Tc en un vehículo biocompatible al kit reconstituido o
- 40 (ii) reconstitución del kit de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 con un suministro de ^{99m}Tc en un vehículo biocompatible.
10. Uso del kit para una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 en la preparación de la composición radiofarmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 45 11. Uso de ácido *para*-aminobenzoico o una sal del mismo con un catión biocompatible, como radioprotector para estabilizar cualquiera de:
- (i) composiciones radiofarmacéuticas de ^{99m}Tc-maraciclátida;
- 50 (ii) kits de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 para la preparación de composiciones radiofarmacéuticas de ^{99m}Tc-maraciclátida.
12. Uso de la composición radiofarmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en un método para obtención de imágenes del cuerpo de un mamífero.
- 55 13. Un método para obtención de imágenes del cuerpo de un mamífero que comprende la obtención de imágenes de un mamífero al que previamente se le ha administrado la composición radiofarmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 60 14. El método de la reivindicación 13, en donde el mamífero sufre una enfermedad en la cual se expresan integrinas.