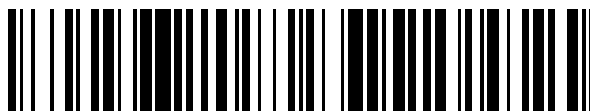


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 535 690**

51 Int. Cl.:

**C07D 241/26** (2006.01)

**A61K 41/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2009 E 09804099 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.02.2015 EP 2376459**

54 Título: **Derivados de pirazina modificados y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**17.12.2008 US 138149 P**

**22.12.2008 US 139911 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**13.05.2015**

73 Titular/es:

**MEDIBEACON, LLC (100.0%)**  
**4041 Forest Park Avenue, Suite 250**  
**St. Louis, MO 63108 , US**

72 Inventor/es:

**POREDDY, AMRUTA y**  
**NEUMANN, WILLIAM L.**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 535 690 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

Derivados de pirazina modificados y usos de los mismos

**Referencia cruzada con solicitudes relacionadas**

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. núm. 61/138.149 presentada el 17 de diciembre de 2008 y la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. 61/139.911 presentada el 22 de diciembre de 2008, cada una de las cuales se incorporan aquí por referencia en su totalidad hasta el grado de que no sea inconsistente con la presente descripción.

**Fundamento**

10 La presente invención se refiere a derivados de pirazina y métodos de uso de los mismos en procedimientos médicos.

Como una nota preliminar, varias publicaciones se mencionan a lo largo de esta descripción mediante número árabes en corchetes. Una cita que corresponde a cada número de referencia se enumera después de la descripción detallada.

15 La insuficiencia renal aguda (IRA) es una enfermedad común en pacientes admitidos en hospitales medico-quirúrgicos generales. Aproximadamente la mitad de los pacientes que desarrollan IRA mueren, y los supervivientes afrontan marcados aumentos en morbilidad y hospitalización prolongada [1]. El diagnóstico temprano generalmente se cree que es importante, porque la insuficiencia renal es a menudo asintomática y necesita típicamente un seguimiento minucioso de los marcadores de la función renal en sangre. La monitorización dinámica de la función renal del paciente es deseable para reducir el riesgo de insuficiencia renal aguda provocada por varios procesos clínicos, fisiológicos y patológicos [2-6]. Dicha monitorización dinámica puede ser particularmente deseable en el caso de pacientes enfermos o lesionados de forma crítica, porque un gran porcentaje de estos pacientes tienden a afrontar el riesgo de fallo multiorgánico (FMO) dando lugar de forma potencial a la muerte [7, 8]. FMO es un fallo secuencial de los pulmones, hígado y riñones y está incitado por uno o más de lesión aguda del pulmón (LAP), síndrome de distrés respiratorio en adultos (SDRA), hipermetabolismo, hipotensión, foco inflamatorio persistente y síndrome séptico. Las características histológicas normales de hipotensión y shock que llevan a FMO generalmente incluyen necrosis tisular, congestión vascular, edema intersticial y celular, hemorragia y microtrombos. Estos cambios generalmente afectan a pulmones, hígado, riñones, intestino, glándulas adrenales, cerebro y páncreas en orden descendiente de frecuencia [9]. La transición desde etapas tempranas de trauma a FMO clínico generalmente se ajusta con un grado particular de insuficiencia hepática y renal además de un cambio en el riesgo de mortalidad de aproximadamente 30% hasta aproximadamente 50% [10].

35 Tradicionalmente, la función renal de un paciente se ha determinado usando medidas en bruto de la producción de orina del paciente y los niveles de creatinina en plasma [11-13]. Estos valores pueden ser engañosos porque dichos valores están afectados por la edad, estado de hidratación, perfusión renal, masa muscular, ingesta de alimentos y muchas otras variables clínicas y antropométricas. Además, un único valor obtenido varias horas después del muestreo puede ser difícil de correlacionar con otros sucesos fisiológicos tales como presión sanguínea, potencia cardiaca, estado de hidratación y otros sucesos clínicos específicos (por ejemplo, hemorragia, bacteriemia, ajustes de ventilador y otros).

40 Con respecto a procedimientos de monitorización renal convencionales, una aproximación de una tasa de filtración glomerular de pacientes (TFG) puede hacerse por medio de un procedimiento de recogida de orina de 24 horas que (como el nombre sugiere) necesita típicamente aproximadamente 24 horas para la recogida de orina, varias horas más para el análisis y una meticulosa técnica de recogida de cabecera. Desafortunadamente, el ritmo tardío indeseable y duración significativa de este procedimiento convencional puede reducir la probabilidad de tratar eficazmente al paciente y/o salvar el(los) riñón(ones). Como una desventaja adicional a este tipo de procedimiento, los datos repetidos tienden a ser igualmente tan incómodos de obtener como los datos adquiridos de forma original.

45 Ocasionalmente, los cambios en la creatinina en suero de un paciente se ajustan en base a valores de medida tales como los electrolitos urinarios del paciente y la osmolalidad además de cálculos derivados tales como "índice de insuficiencia renal" y/o "secreción fraccional de sodio". Dichos ajustes de creatinina en suero tienden indeseablemente a necesitar la recogida contemporánea de muestras adicionales de suero y orina y, después de algún retraso, cálculos adicionales. Frecuentemente, la dosificación de medicación se ajusta para la función renal y por tanto puede ser igualmente tan equivocado, igualmente retrasado, y tan difícil de reexaminar como los valores de medida y cálculos sobre los que se basa la dosificación. Finalmente, las decisiones clínicas en la población críticamente enferma son a menudo igualmente tan importantes en su ritmo como son en su exactitud.

55 Se sabe que las sustancias hidrófilas, aniónicas, son generalmente capaces de excretarse por los riñones [14]. El aclaramiento renal se da típicamente por medio de dos rutas: filtración glomerular y secreción tubular. La secreción tubular puede caracterizarse como un procedimiento de transporte activo, y por tanto, las sustancias que se aclaran por medio de esta ruta típicamente muestran propiedades específicas con respecto al tamaño, carga y lipofilia.

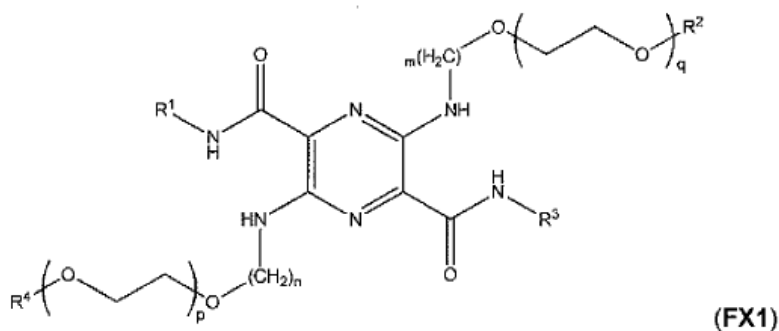
La mayoría de las sustancias que pasan a través de los riñones se filtran a través de los glomérulos (un pequeño grupo entrelazado de capilares en el cuerpo de malphigi del riñón). Ejemplos de sustancias exógenas capaces de aclarar el riñón por medio de filtración glomerular (en adelante denominadas como "agentes TFG") se muestran en la Figura 1 e incluyen creatinina, o-yodohipurano, y <sup>99m</sup>Tc-DTPA [15-17]. Ejemplos de sustancias exógenas que son capaces de experimentar aclaramiento renal por medio de secreción tubular incluyen <sup>99m</sup>Tc-MAG3 y otras sustancias conocidas en la técnica [15, 18, 19]. <sup>99m</sup>Tc-MAG3 se usa también ampliamente para evaluar la función renal mediante escintigrafía gamma además de a través de medida de flujo sanguíneo renal. Como un inconveniente a las sustancias ilustradas en la Figura 1, o-yodohipurano, <sup>99m</sup>Tc-DTPA y <sup>99m</sup>Tc-MAG3 incluyen radioisótopos para permitir que los mismos se detecten. Incluso si se fueran a usar análogos no radioactivos (por ejemplo, tal como un análogo de o-yodohipurano) u otras sustancias no radioactivas para la monitorización de la función renal, dicha monitorización típicamente necesitaría el uso de radiación ultravioleta indeseable para la excitación de esas sustancias.

### Compendio

La presente invención generalmente se refiere a compuestos para aplicaciones biomédicas, que incluyen procesos médicos de formación de imágenes y diagnóstico. Los compuestos proporcionados absorben y emiten energía espectral en el intervalo de longitud de onda visible, infrarrojo cercano y/o cualquier otra útil para la detección óptica en procedimientos médicos. La invención incluye compuestos y métodos terapéuticos relacionados, que comprenden compuestos de pirazina que tiene grupos sustituyentes que permiten el ajuste de las propiedades espectrales y/o proporcionan características deseadas en un sistema biológico.

En las realizaciones, se proporcionan compuestos y métodos útiles para medir propiedades del sistema renal, que incluyen la velocidad de excreción renal y función renal. En un aspecto, la invención se refiere a compuestos útiles para la rápida, y en una realización, en tiempo real, evaluación de la función renal. Los compuestos de la invención se caracterizan generalmente como derivados de pirazina. Los derivados de pirazina de la invención son deseables para aplicaciones renales porque se aclaran del cuerpo por medio de los riñones, demuestran fuerte absorción y luminiscencia en regiones útiles del espectro electromagnético y muestra desplazamientos de Stokes significativos. En una realización, por ejemplo, una absorción máxima de un compuesto de la invención se desplaza un número seleccionado de nanómetros (por ejemplo, 10-50 nm) hacia la región roja del espectro electromagnético por selección de la composición de sustituyentes del grupo pirazina central. Estas propiedades proporcionan flexibilidad tanto de ajuste de la molécula a las longitudes de onda de absorción y emisión deseadas como para proporcionar sustituyentes para mejorar las propiedades de aclaramiento renal. En un aspecto, los compuestos de pirazina de la presente invención tienen propiedades de aclaramiento renal que son comparables con o mejores que las de creatinina o iotalamato u otros agentes de evaluación de aclaramiento renal convencionales.

En un aspecto, la presente invención se dirige a derivados de pirazina de Fórmula (FX1):



35 en donde:

R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> son cada uno independientemente -H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>b</sub>R<sup>5</sup>, -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>b</sub>R<sup>5</sup>, -CH(COOH)CH<sub>2</sub>OH o -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>Y<sup>1</sup>;

cada Y<sup>1</sup> es independientemente -OR<sup>6</sup>, -(CHOH)<sub>c</sub>R<sup>7</sup>, -NR<sup>8</sup>R<sup>9</sup>, -CONR<sup>8</sup>R<sup>9</sup>, -NHCO(CHOH)<sub>c</sub>R<sup>7</sup> o -NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>b</sub>R<sup>5</sup>;

40 cada uno de R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> son independientemente -H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son independientemente -H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>(CHOH)<sub>c</sub>R<sup>7</sup> o -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>b</sub>R<sup>5</sup>;

cada a y c es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 0 a 6;

cada b es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 1 a 120;

cada p y q es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 0 a 120;

cada uno de m y n es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 3 a 6.

5 En un aspecto, se describen en esta memoria compuestos de Fórmula (FX1) y sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^3$  es  $-\text{CH}(\text{COOH})\text{CH}_2\text{OH}$ . En otras realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^3$  es  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_b\text{R}^5$ . En aún otras realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^3$  es  $-\text{H}$ . En otras realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^3$  es  $-(\text{CH}_2)_a\text{Y}^1$ . En incluso otras realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^3$  es  $-\text{CH}_3$ . En aún otras realizaciones, cada uno de  $R^1$  y  $R^3$  es  $-(\text{CH}_2)_a(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_b\text{R}^5$ .

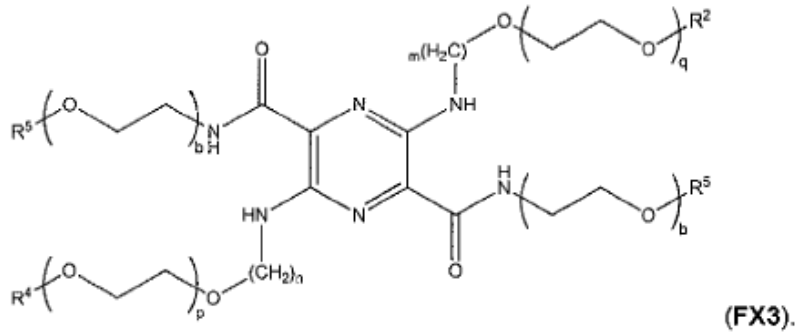
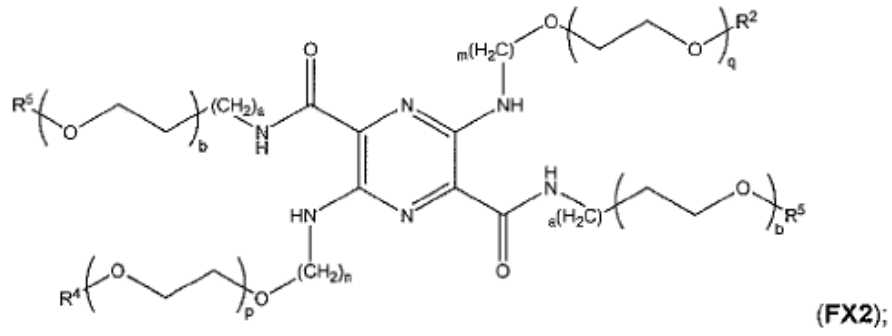
10 Aún en referencia a compuestos de Fórmula (FX1), en una realización  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  y  $R^7$  son cada uno independientemente  $-\text{H}$  o alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_3$ . En algunas realizaciones, cada suceso de  $R^5$  y  $R^7$  es independientemente alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$  (por ejemplo, cada suceso de  $R^5$  es alquilo  $\text{C}_1$ ). En algunas realizaciones, cada uno de  $R^2$  y  $R^4$  es  $-\text{H}$ . En otras realizaciones, cada uno de  $R^2$  y  $R^4$  es independientemente alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_3$  (por ejemplo, cada uno de  $R^2$  y  $R^4$  es alquilo  $\text{C}_1$ ).

15 El número entero m varía independientemente de 3 a 6 inclusive. Por ejemplo, en algunas realizaciones, m puede ser 3 o 4 (por ejemplo, m puede ser 3 en algunas realizaciones). Igualmente, el número entero n varía independientemente de 3 a 6, inclusive. Por ejemplo, en algunas realizaciones, n puede ser 3 o 4 (por ejemplo, n puede ser 3 en algunas realizaciones). Uno de los beneficios de m y n que varían independientemente de 3 a 6 es que el derivado de pirazina puede "ajustarse" para absorber o emitir luminiscencia a una longitud de onda o intervalo de longitudes de onda deseadas. A este respecto, un derivado de pirazina que tiene tanto m como n iguales a 3 puede absorber y/o emitir luminiscencia a las respectivas longitudes de onda de luz que son mayores que (por ejemplo, aproximadamente 10-15 nm mayores que) las de un derivado de pirazina generalmente similar donde tanto m como n son iguales a 2. Un fenómeno similar podría observarse moviendo de 3 a 4, de 4 a 5 y/o de 5 a 6. Por consiguiente, los derivados de pirazina descritos en esta memoria pueden diseñarse para absorber y/o emitir luminiscencia a longitudes de onda de luz que pueden penetrar tejidos mejor que las de longitudes de onda de luz menores.

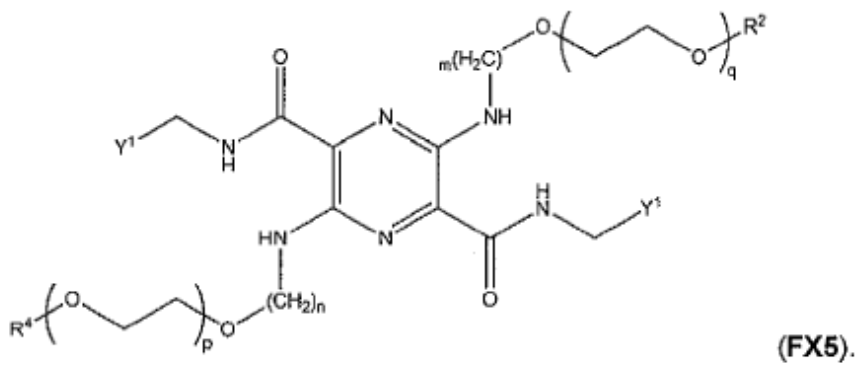
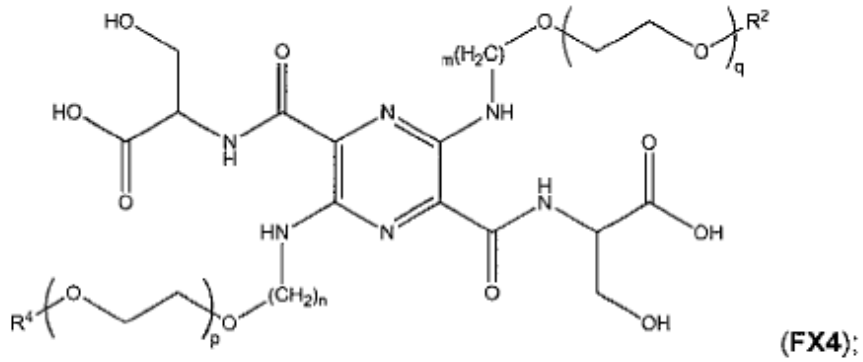
25 Aún en referencia a compuestos de Fórmula (FX1), cada suceso de p y q varía independientemente de 0 a 120, inclusive. En algunas realizaciones, cada suceso de p y q varía independientemente de 1 a 120, inclusive. Por ejemplo, en algunas realizaciones, cada uno de p y q varía independientemente de 2 a 50, inclusive. En otras realizaciones, cada uno de p y q varía independientemente de 2 a 24, inclusive. En otras realizaciones, cada uno de p y q varía independientemente de 1 a 99, inclusive. En otras realizaciones, cada uno de p y q varía independientemente de 2 a 40, inclusive. En otras realizaciones, cada uno de p y q varía independientemente de 3 a 23, inclusive. En realizaciones, el número de grupos PEG en una cadena particular varía de 1 a 120. En otras realizaciones, el número de grupos PEG en una cadena particular varía de 2 a 50. En otras realizaciones, el número de grupos PEG en una cadena particular varía de 2 a 24.

35 Con respecto a las diversas posibilidades para  $R^1$  y  $R^3$  en la Fórmula (FX1), cada suceso de a y c varía independientemente de 0 a 6, inclusive. Por ejemplo, cada suceso de a y c puede ser 3 o 4 en algunas realizaciones. Además, cada suceso de b varía independientemente de 1 a 120, inclusive. Por ejemplo, en algunas realizaciones, cada suceso de b puede variar independientemente de 2 a 50, inclusive. En realizaciones, cada b es independientemente un número entero de 1 a 100. En realizaciones, cada b es independientemente un número entero de 12 a 24. En realizaciones, cada b es independientemente un número entero de 10 a 40. En realizaciones, cada b es independientemente un número entero de 2 a 24.

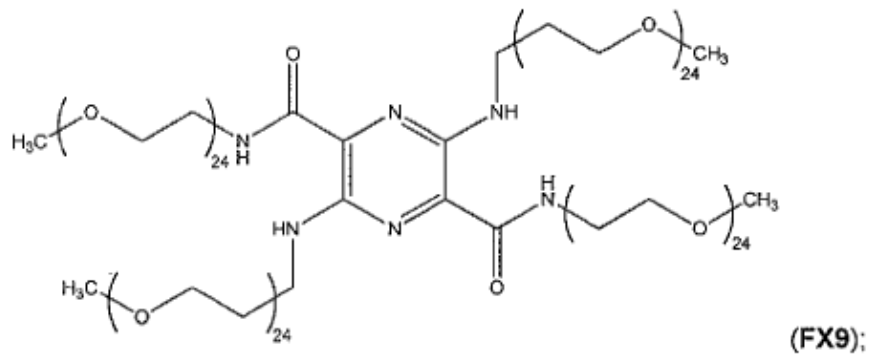
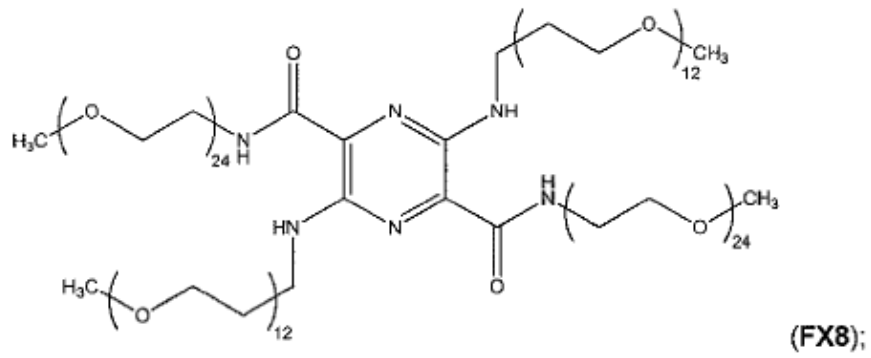
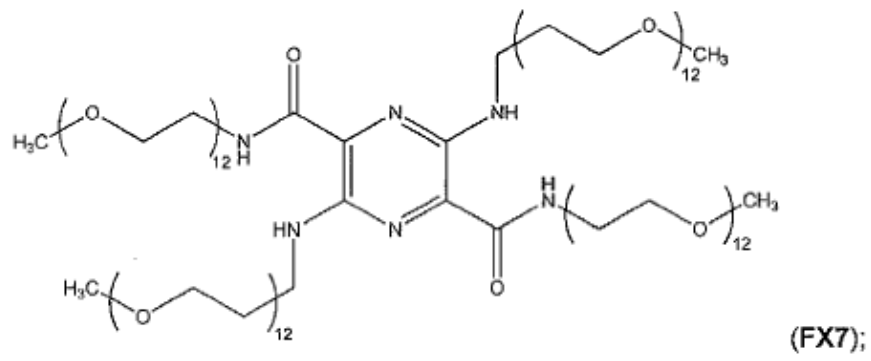
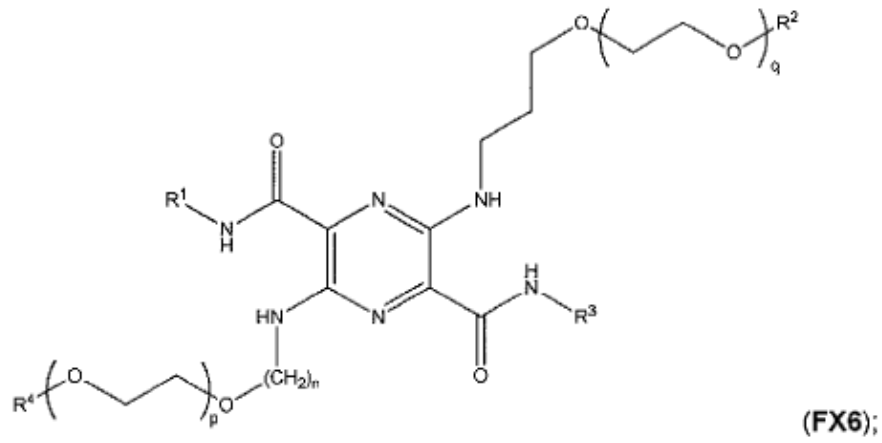
40 En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen fórmulas (FX2) a (FX3):

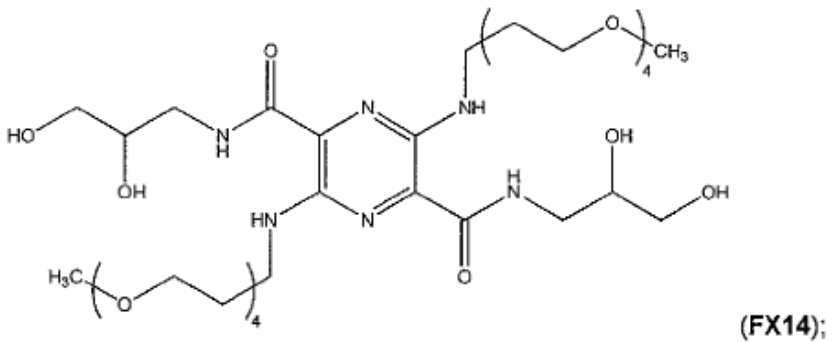
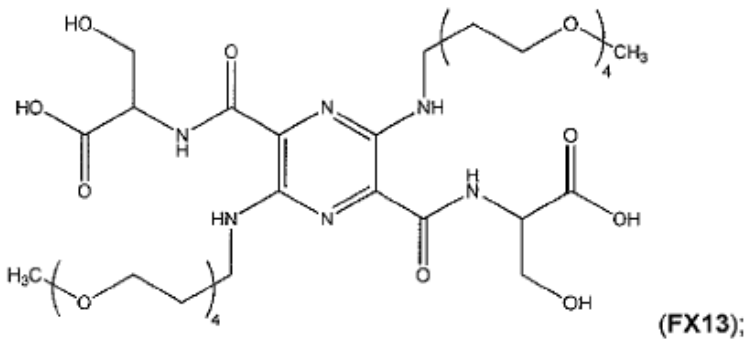
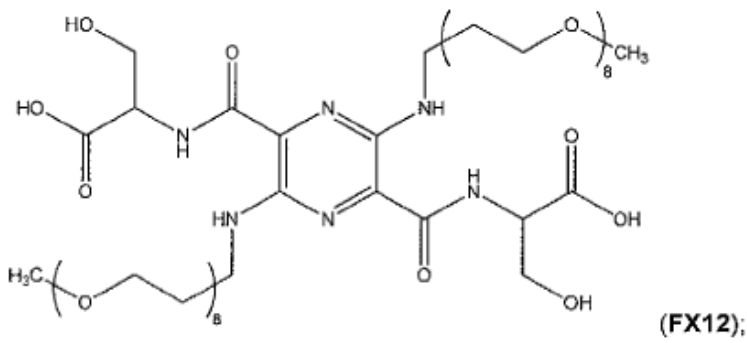
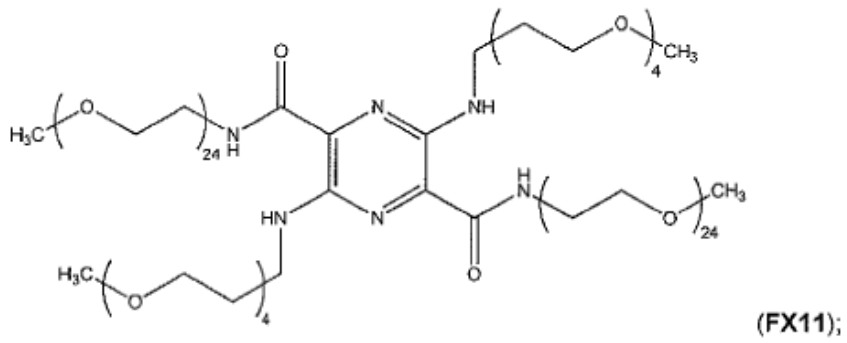
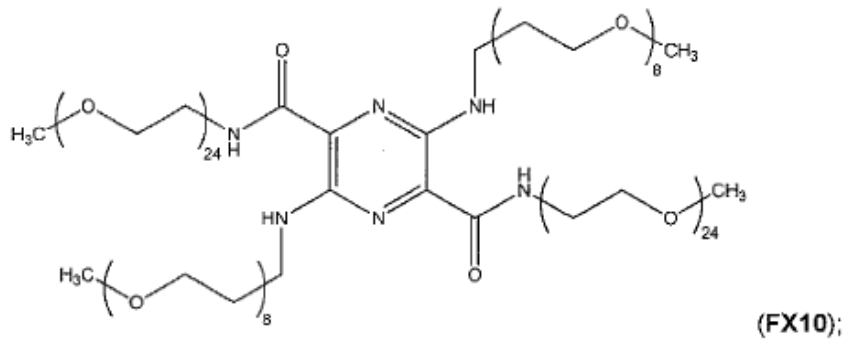


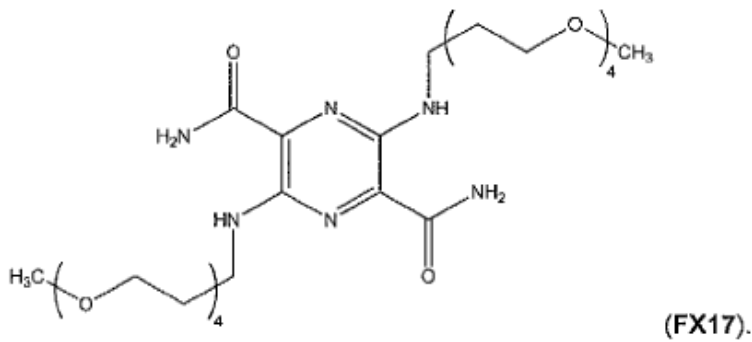
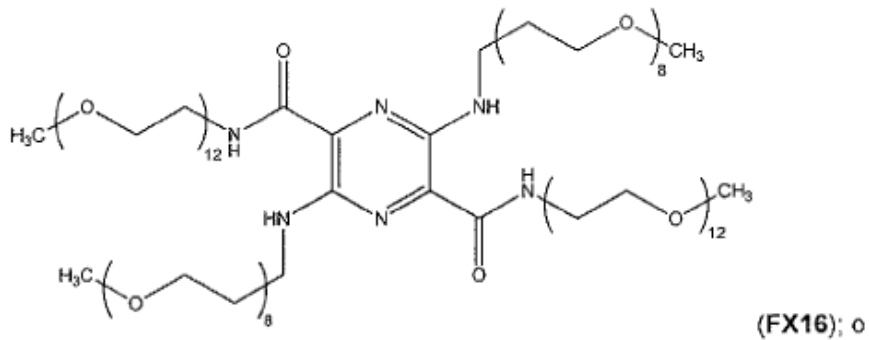
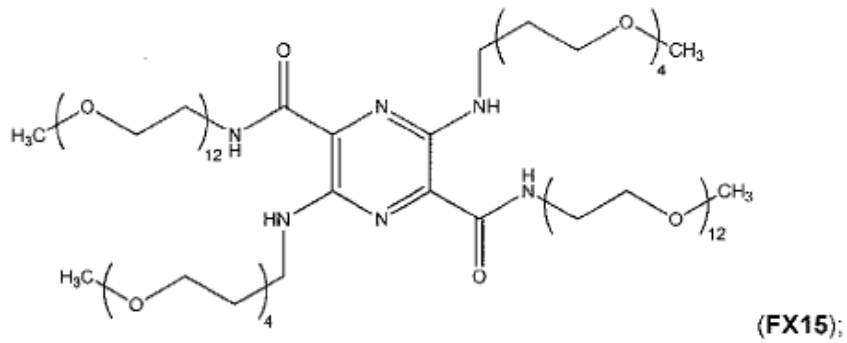
En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen fórmulas (FX4) a (FX5):



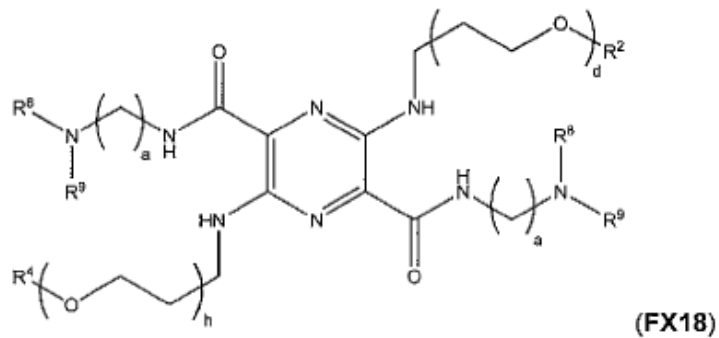
En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen fórmulas (FX6) a (FX17):







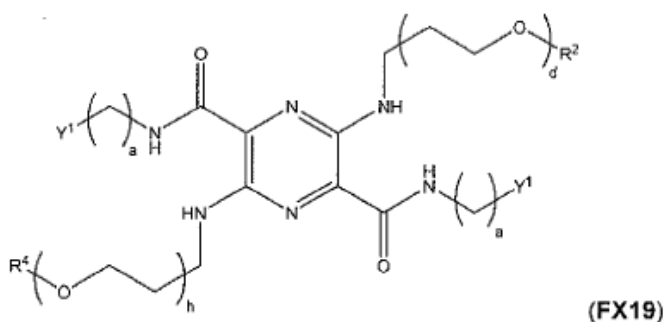
En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (FX18):



5 donde d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 1 a 50. En una realización, d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50. En un aspecto del compuesto de fórmula (FX18), cada a es 2. En un aspecto del compuesto de fórmula (FX18), R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son cada uno –(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>(CHOH)<sub>c</sub>R<sup>7</sup>.

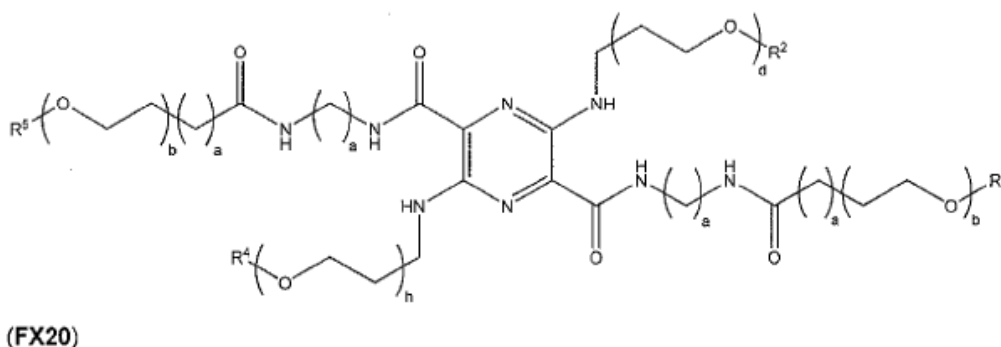
En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (FX19):



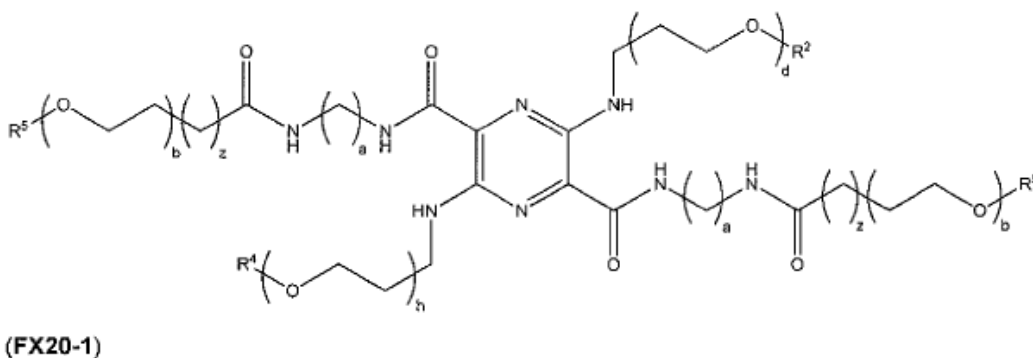


5 donde d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 1 a 50. En una realización, d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50. En un aspecto del compuesto de fórmula (FX19), Y<sup>1</sup> es -NR<sup>8</sup>R<sup>9</sup> en donde R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son cada uno -(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>(CHOH)<sub>c</sub>R<sup>7</sup> en donde cada a es independientemente 1 o 2 y c es 2, 3, 4, 5 o 6.

En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (FX20):

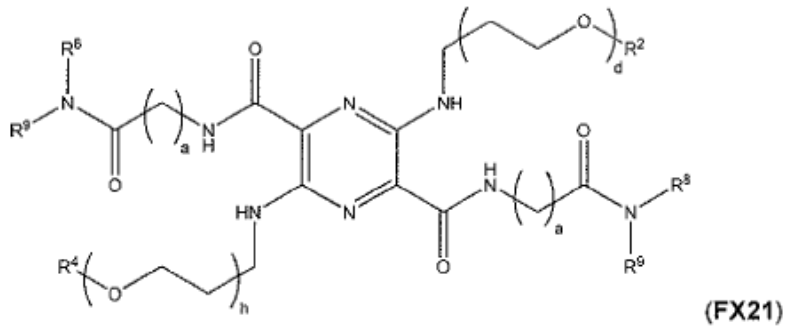


10 donde d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 1 a 50. En una realización, d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50. En un aspecto específico del compuesto de fórmula (FX20), cada a es independientemente 0, 2 o 3, y cada R<sup>5</sup> es independientemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>. En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen fórmula (FX20-1) que tienen la fórmula:



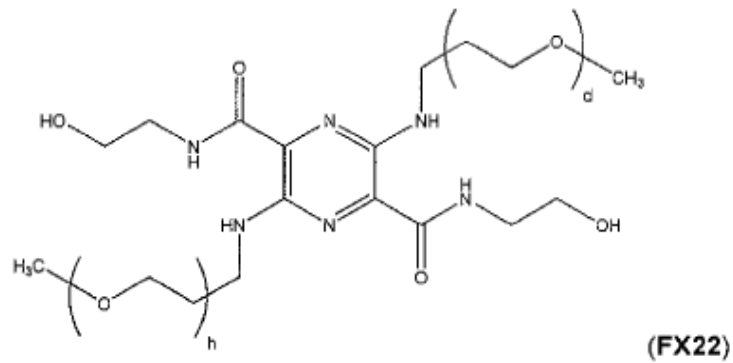
donde cada z es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 0 a 6.

En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (FX21):



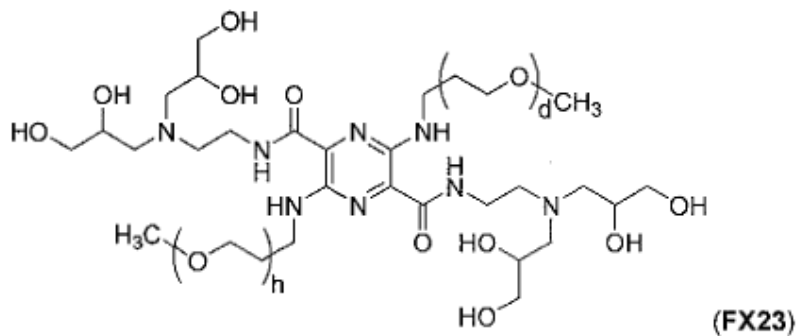
en donde d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 1 a 50 y cada a es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 0 a 6. En una realización, d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50.

5 En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (FX22)



donde d y h son independientemente números enteros de 1 a 50. En una realización, d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50.

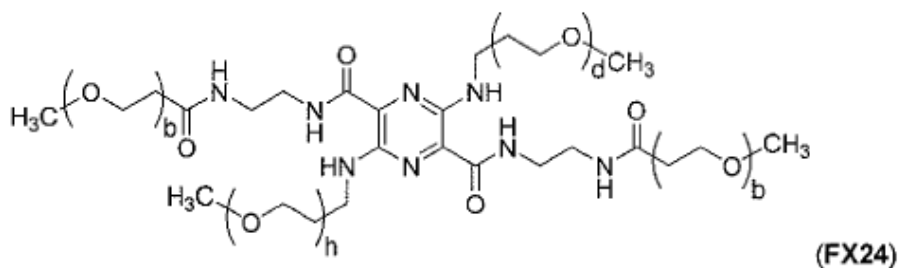
En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (FX23):



10

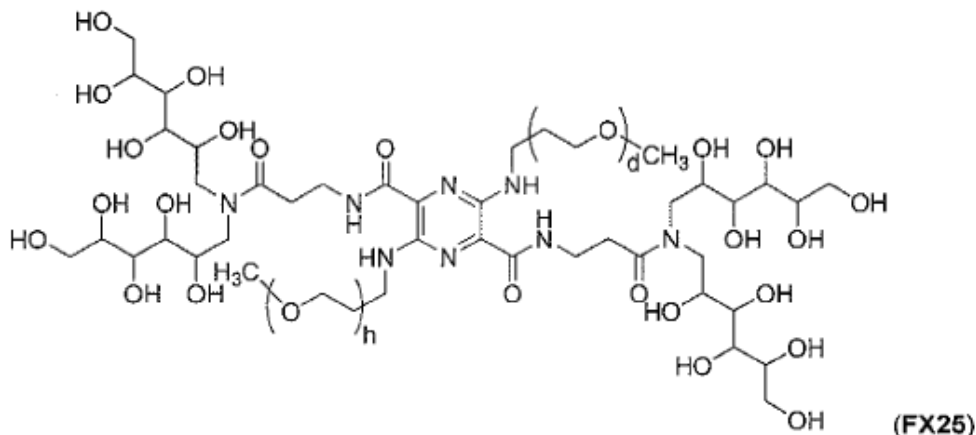
donde d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 1 a 50. En una realización, d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50.

En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (FX24)



donde d y h son independientemente números enteros de 1 a 50 y cada b es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 1 a 50. En una realización, d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50.

En una realización, la invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (FX25):



5

donde d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 1 a 50. En una realización, d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50.

En un aspecto de la invención, p y q son el mismo número entero. En un aspecto de la invención, cada b que aparece en una fórmula es el mismo número entero. En un aspecto de la invención, cada b que aparece en una fórmula es un número entero diferente. En un aspecto de la invención, cada b que aparece en una fórmula es el mismo o diferente número entero. En un aspecto de la invención, cada variable alfabética (es decir, a, b, p, q, d, h, c, m, n, etc.) es números enteros iguales o diferentes. En un aspecto de la invención, cada c que aparece en una fórmula es el mismo número entero. En un aspecto de la invención, cada a que aparece en un grupo  $-(CH_2)_a Y^1$  es el mismo número entero. En un aspecto de la invención,  $R^2$  y  $R^4$  son iguales. En un aspecto de la invención, los grupos que están en para a cada uno de los otros en el anillo pirazina son iguales. En un aspecto de la invención,  $R^1$  y  $R^3$  son iguales. En un aspecto de la invención, m y n son iguales. En un aspecto de la invención, los compuestos de la invención son compuestos de aminopirazina que tienen uno o más grupos poli(etilenglicol) (PEG). En un aspecto de la invención, los grupos PEG añaden carácter hidrófilo a los derivados de pirazina. Como se usa en esta memoria, los grupos PEG se representan generalmente por la fórmula  $-(CH_2CH_2O)_b-$  y se conocen también como grupos de óxido de etileno de repetición.

20

En una realización, los compuestos de la invención comprenden uno o más grupos alquilo de cadena ramificada o lineal que contienen dos o más grupos hidroxilo. Estos grupos pueden denominarse como grupos "alquilo polihidroxilado" o polihidroxialquilo" en una realización. En una realización, el grupo alquilo polihidroxilado tiene de tres a seis átomos de carbono. En una realización, el grupo alquilo polihidroxilado incluye dos o más grupos  $-(CHOH)$  junto con uno o más grupos metileno, representados por la fórmula:  $-(CHR^{10})_r R^{11}$  donde  $R^{10}$  y  $R^{11}$  son cada uno independientemente H, alquilo  $C_1-C_3$  o  $-OH$ , y r es un número entero de 1 a 10. En una realización, los grupos hidroxilo pueden estar adyacentes el uno al otro o separados por uno o más grupos metileno. En una realización, el grupo alquilo polihidroxilado se refiere a un sustituyente que tiene de 2 a 12 átomos de carbono y de 2 a 5 grupos hidroxilo, tal como el residuo 2,3-dihidroxiopropilo, 2,3,4-trihidroxiobutilo o 2,3,4,5-tetrahidroxipentilo.

25

En un aspecto de la invención, hay a grupo alquileo de tres a seis carbonos unido a los grupos amino directamente unidos al núcleo de pirazina.

30

En una realización, los compuestos absorben radiación electromagnética que tiene longitudes de onda en la parte UVA, visible e IR cercano del espectro. En una realización, los compuestos de la invención absorben radiación electromagnética entre 350 a 1300 nm. En una realización, los compuestos de la invención absorben radiación electromagnética que tiene longitudes de onda entre 400 a 900 nm. En una realización, los compuestos de la invención absorben radiación electromagnética que tiene longitudes de onda entre 300 a 500 nm. En una realización, los compuestos de la invención muestran luminiscencia entre 520 a 650 nm. En un aspecto de la invención, es deseable para los compuestos absorber y emitir a mayores longitudes de onda para mejorar los métodos de detección óptica debido a la penetración del tejido mejorada de absorción minimizada de la hemoglobina, agua, lípidos y otras sustancias presentes en un sistema biológico.

35

40

En un aspecto de la invención, los derivados de pirazina tetra-sustituídos de la invención que tienen grupos PEG son típicamente hidrófilos. Aumentar el número de grupos PEG en los derivados de pirazina se cree que aumenta la vida media terminal en la circulación del cuerpo. Se cree que cadenas PEG de peso molecular inferior (<6000 Da) se

filtran por los glomérulos y no se absorben por los túbulos renales. Estas características son útiles en la confección del compuesto para que tenga las características deseadas.

5 En un aspecto de la invención, los compuestos de la invención tienen un porcentaje de unión a plasma de 20% o menos. En un aspecto de la invención, los compuestos de la invención tienen porcentaje de unión a plasma de 15% o menos. En un aspecto de la invención, los compuestos de la invención tienen porcentaje de unión a plasma de 10% o menos. En un aspecto de la invención, los compuestos de la invención tienen porcentaje de unión a plasma de 1-10%. En un aspecto de la invención, los compuestos de la invención tienen porcentaje de unión a plasma de 1-15%. Como se usa en esta memoria, "porcentaje de unión a plasma" es la cantidad de compuesto que se une al plasma en la administración a un sujeto, tal como un sujeto humano. En una realización de la invención, los  
10 compuestos de la invención se aclaran altamente en la orina en un paciente en un periodo de tiempo de horas. En una realización particular, los compuestos de la invención se aclaran al menos en 80% en la orina en las 10 horas después de la administración.

15 En un aspecto de la presente invención, un compuesto de la invención se usa en un procedimiento de formación de imágenes ópticas, formación de imágenes biomédicas, diagnóstico, visualización, monitorización, procedimiento quirúrgico, biomédico o terapéutico en un paciente. En un aspecto de la presente invención, la invención se dirige para realizar un procedimiento de formación de imágenes ópticas, formación de imágenes biomédicas, diagnóstico, visualización, monitorización, procedimiento quirúrgico, biomédico o terapéutico en un paciente. En un aspecto de la presente invención, la invención se dirige a un método para realizar un procedimiento de formación de imágenes biomédicas o procedimiento diagnóstico en un paciente. En un aspecto, el método comprende administrar una  
20 cantidad diagnósticamente efectiva del compuesto a un sujeto, en donde el compuesto se separa diferencialmente de un fluido corporal del sujeto por un órgano, tejido o sistema en el sujeto; y detectar el compuesto administrado. En un aspecto, el compuesto puede detectarse químicamente, donde una muestra de un fluido corporal se analiza después de la administración del compuesto y la concentración del compuesto se mide. En una realización de este aspecto de la invención, el compuesto se administra en un fluido corporal.

25 En un aspecto de la presente invención, el procedimiento de formación de imágenes biomédicas o procedimiento diagnóstico comprende detectar radiación electromagnética que emite o es luminiscente desde el compuesto en el sujeto. En un aspecto del procedimiento de formación de imágenes biomédicas o procedimiento de diagnóstico de la presente invención, exponer el compuesto administrado al sujeto a radiación electromagnética cambia una propiedad óptica del compuesto. En un aspecto de la invención, el cambio en la propiedad óptica del compuesto administrado a partir de la exposición a radiación electromagnética se mide o monitoriza.  
30

En un aspecto de la invención, la radiación electromagnética es no ionizante. En un aspecto de la invención, exponer el compuesto administrado a radiación electromagnética genera luminiscencia desde el compuesto, por ejemplo, fluorescencia. En un aspecto de la invención, el procedimiento comprende detectar luminiscencia del compuesto administrado. En un aspecto de la invención, el método comprende generar una imagen basada, al  
35 menos en parte en la luminiscencia del compuesto. En un aspecto de la invención, la luminiscencia se recoge próxima al oído, mano, cabeza, frente o dedo del sujeto. En un aspecto de la invención, la luminiscencia se detecta visualmente. En un aspecto de la invención, la luminiscencia se detecta usando una cámara, dispositivo acoplado cargado, o una serie de diodos. En un aspecto de la invención, el procedimiento de formación de imágenes biomédicas o de diagnóstico comprende: administrar una cantidad efectiva de un compuesto excretable renalmente de la invención a un sujeto; exponer un tejido del sistema renal del sujeto que tiene el compuesto administrado a radiación electromagnética, generando así radiación electromagnética emitida del compuesto; detectar la radiación electromagnética emitida del compuesto, visualizando o formando imágenes así al menos una parte del sistema renal del sujeto. En un aspecto de la invención, el procedimiento comprende determinar si el compuesto administrado se retiene esencialmente en el tejido del sistema renal del sujeto. En un aspecto de la invención, se proporciona un compuesto descrito en esta memoria para uso en un procedimiento biomédico para evaluar la función fisiológica de un órgano, tejido o sistema. En un aspecto de la invención, un compuesto de la invención se usa in vivo en la evaluación de la función renal de un sujeto. En un aspecto de la invención, un compuesto de la invención se usa in vivo en la detección de al menos una parte del sistema urinario de un sujeto en un procedimiento quirúrgico. En un aspecto de la invención, una parte del sistema urinario comprende un uréter, vejiga o uretra del  
40 sujeto. En un aspecto de la invención, un compuesto de la invención se: administra en la corriente sanguínea de un sujeto; expone a radiación electromagnética mientras en la corriente sanguínea del sujeto; y se detecta en la corriente sanguínea del sujeto. En un aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En un aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos o agentes de diagnóstico.  
45

55 La presente invención incluye además composiciones para aplicaciones biomédicas, que incluyen monitorizar la función renal que comprende estereoisómeros purificados (por ejemplo, enantiómeros y diastereómeros), sales (que incluyen sales cuaternarias), y/o formas iónicas (por ejemplo, formas protonadas y desprotonadas) de los compuestos de cualquiera de las fórmulas (FX1)-(FX25), y mezclas de los mismos, y métodos relacionados de uso de compuestos de fórmulas (FX1) a (FX25), por ejemplo en un procedimiento biomédico. Como se entenderá por los  
60 que tienen conocimientos generales en la técnica, los grupos funcionales ácidos y grupos funcionales básicos de los compuestos de cualquiera de las fórmulas (FX1) – (FX25) pueden estar en estados protonados o desprotonados

dependiendo del medio molecular (por ejemplo, pH, fortaleza iónica, composición, etc.), por ejemplo durante la síntesis, formulación y/o administración.

La presente invención proporciona métodos de fabricación y uso de compuestos de la invención, que incluyen los específicamente mostrados en esta memoria, en particular compuestos de fórmulas (FX1) a (FX25). Los métodos de este aspecto de la presente invención incluyen métodos in vivo, in vitro y ex vivo para aplicaciones biomédicas y bioanalíticas. Los métodos de la presente invención incluyen métodos fotodiagnósticos y fototerapéuticos, tales como formación de imágenes ópticas, visualización anatómica, visualización endoscópica y cirugía guiada por imagen. Para algunos compuestos para uso in vivo, in vitro o ex vivo para la formación de imágenes y visualización, el tejido, órganos y/o células es un riñón, uréter, célula renal u otra parte del sistema renal.

En otro aspecto, se describen en esta memoria "kits" que incluyen uno o más compuestos (o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos) que tienen una fórmula (FX1) – (FX25) y un vehículo farmacéuticamente aceptable en un único paquete. En otras palabras, el compuesto (o sal farmacéuticamente aceptable del mismo) y el vehículo farmacéuticamente aceptable se empaquetan juntos. Un kit de este aspecto opcionalmente incluye instrucciones (por ejemplo, en la forma de un prospecto de papel) para preparar y/o utilizar una composición que incluye el compuesto (o sal farmacéuticamente aceptable del mismo) y el vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, el compuesto (o sal farmacéuticamente aceptable del mismo) puede haberse combinado ya con (por ejemplo, disuelto o suspendido con) el vehículo farmacéuticamente aceptable antes de colocar el mismo en el paquete. En otras realizaciones, el compuesto (o sal farmacéuticamente aceptable del mismo) puede disponerse en un primer envase, y el vehículo farmacéuticamente aceptable puede disponerse en un segundo envase que está separado y es distinto del primer envase. En dichas realizaciones, el primer y segundo envase puede encontrarse en el mismo paquete.

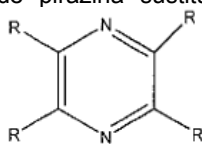
La incorporación de una combinación de los sustituyentes en el anillo de pirazina es particularmente beneficioso para proporcionar compuestos y agentes ópticos que tienen grandes coeficientes de extinción en las regiones visible e infrarrojo cercano del espectro electromagnético (por ejemplo, 350 nm – 1300 nm, opcionalmente 400 nm a 900 nm), emisión en las regiones visible e infrarrojo cercano (por ejemplo, 350 nm – 1300 nm, opcionalmente 500 – 900 nm), un gran rendimiento cuántico de fluorescencia (por ejemplo, >0,1) y un desplazamiento de Stokes útil para la detección óptica y formación de imágenes (por ejemplo, desplazamiento de Stokes >10 nm). Por ejemplo, dependiendo del número de grupos metileno presentes en el sustituyente unido al anillo de pirazina, el desplazamiento de Stokes puede aumentarse en 10 nm o más.

En una realización, se proporcionan en esta memoria métodos para un procedimiento biomédico, tal como un procedimiento de formación de imágenes, en donde el método comprende: (i) administrar (por ejemplo, por vía intravenosa o inyección intraarterial, administración oral, administración tópica, administración subcutánea, etc.) a un sujeto una cantidad diagnósticamente efectiva del compuesto que tiene cualquiera de la fórmula (FX1) – (FX25) y (ii) exponer el compuesto administrado a radiación electromagnética. En una realización, la etapa de administración se lleva a cabo bajo condiciones suficientes para poner en contacto el compuesto con un fluido corporal del sujeto, en donde el compuesto se separa diferencialmente del fluido corporal del sujeto por un órgano, tejido o sistema en el sujeto.

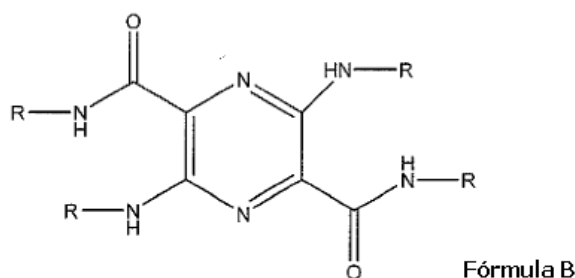
En una realización, exponer el compuesto administrado a radiación electromagnética genera una cantidad diagnósticamente efectiva de luminiscencia, por ejemplo una cantidad de luminiscencia que permite la detección óptica, visualización y/o formación de imágenes del compuesto. En una realización, un método de la invención comprende además exponer el compuesto administrado a radiación electromagnética que tiene suficiente potencia, fluencia, intensidad y/o dosis (número neto de fotones proporcionados al tejido diana) para proporcionar detección óptica, visualización y/o formación de imágenes del compuesto. En una realización, un método de la invención comprende además generar una imagen de la luminiscencia a partir del compuesto. En una realización, un método de la invención comprende además visualizar la luminiscencia a partir del compuesto.

En una realización, la radiación electromagnética expuesta al compuesto de cualquiera de las fórmulas (FX1) – (FX25) no tiene longitudes de onda en la región de rayos X del espectro electromagnético. En una realización, la radiación electromagnética expuesta al compuesto de cualquiera de las fórmulas (FX1) – (FX25) no tiene longitudes de onda en la región ultravioleta del espectro electromagnético.

Como se usa en esta memoria, los compuestos de pirazina o derivados de la presente invención incluyen un grupo de pirazina sustituida. Por ejemplo, la invención proporciona un compuesto de pirazina de la Fórmula A:



(Fórmula A) donde las variables R representan "colas" o grupos sustituyentes y se definen y se describen adicionalmente en esta memoria. En una realización específica, los compuestos de pirazina o derivados de la presente invención incluyen la estructura mostrada en la Fórmula B:



donde las variables R se definen y se describen adicionalmente en esta memoria.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para visualizar fluidos corporales, órganos o tejidos de un sujeto. Un método de este aspecto comprende las etapas de: administrar a un sujeto una cantidad efectiva de un compuesto descrito en esta memoria, por ejemplo cualquiera de los compuestos que tienen fórmulas (FX1) – (FX25), y detectar el compuesto en un fluido corporal, órgano o tejido del sujeto. En realizaciones, el compuesto se administra al sujeto de forma intravenosa, por inyección o infusión intraperitoneal o subcutánea, por administración oral, por absorción transdérmica a través de la piel, por inhalación, por administración parenteral o por cualquier combinación de estos. En una realización específica, el compuesto se excreta por el sistema renal del sujeto, por ejemplo, a partir de un fluido corporal (por ejemplo, sangre) en otro fluido corporal (por ejemplo, orina).

10 En realizaciones específicas, la etapa de detección del compuesto comprende exponer el compuesto en el fluido corporal, órgano o tejido a radiación electromagnética, por ejemplo habiendo seleccionado longitudes de onda en el intervalo de 350 a 1300 nm, 400 a 900 nm o 300 a 500 nm. Para ciertas realizaciones, en la excitación por radiación electromagnética de longitud de onda detectable, los compuestos en el fluido corporal, órgano, tejido o sistema muestran luminiscencia detectable, por ejemplo luminiscencia que tiene longitudes de onda seleccionadas en el intervalo de 350 nm a 1300 nm, 500 a 900 nm o 520 a 650 nm. En realizaciones, los compuestos se detectan en el fluido corporal, órgano o tejido del sujeto visualmente (por ejemplo, por el ojo) o por una cámara, dispositivo acoplado cargado o serie de diodos. En una realización específica, los compuestos se detectan próximos al oído, mano, cabeza, frente o dedo del sujeto.

15 Otro método de este aspecto comprende las etapas de: administrar a un sujeto una cantidad efectiva de un compuesto descrito en esta memoria, por ejemplo cualquiera de los compuestos que tienen fórmulas (FX1) – (FX25), y detectar el compuesto en un fluido corporal, órgano o tejido del sujeto durante un procedimiento quirúrgico. En una realización específica, el compuesto en el fluido corporal, órgano o tejido se expone a radiación electromagnética, generando así luminiscencia que se detecta posteriormente, por ejemplo visualmente o por una cámara, dispositivo acoplado cargado o serie de diodos. Estos y otros métodos son útiles, por ejemplo, ya que pueden indicar a un cirujano que fluidos corporales, órganos o tejidos contienen el compuesto administrado.

20 Sin desear limitarse por ninguna teoría particular, puede haber discusión en esta memoria de creencias o conocimientos de principios subyacentes o mecanismos relacionados con la invención. Se reconoce que a pesar de la exactitud última de cualquier explicación o hipótesis, una realización de la invención puede no obstante ser operativa y útil.

### Breve descripción de las figuras

La Figura 1 ilustra estructuras de algunos agentes renales convencionales.

La Figura 2 proporciona un esquema sintético para la preparación de compuestos de la presente invención.

La Figura 3 proporciona un esquema sintético para la preparación de compuestos de la presente invención.

35 La Figura 4 proporciona un esquema sintético para la preparación de compuestos de la presente invención.

La Figura 5 ilustra un diagrama de bloque de un montaje para evaluar la función renal.

La Figura 6 proporciona un diagrama esquemático de un dispositivo de monitorización de la presente invención.

La Figura 7 ilustra un aparato para la detección *in vivo* no invasiva de fluorescencia.

40 La Figura 8A proporciona un gráfico que muestra señal de fluorescencia *in vivo* no invasiva como una función de tiempo después del reparto de un compuesto renalmente excretable. La Figura 8B proporciona un gráfico que muestra PK (concentración en plasma) invasiva como una función de tiempo después del reparto de un compuesto renalmente excretable.

La Figura 9 proporciona los gráficos de las Figuras 8A y 8B representadas la una frente a la otra para representar una correlación lineal entre las farmacocinéticas ópticas y de plasma.

### Descripción detallada

5 En referencia a los dibujos, similares números indican similares elementos y el mismo número que aparece en más de un dibujo se refiere al mismo elemento. En general los términos y frases usados en esta memoria tienen su significado reconocido en la técnica, que puede encontrarse por referencia a textos estándares, referencias a revistas y contextos conocidos por los expertos en la técnica. Las siguientes definiciones se proporcionan para clarificar su uso específico en el contexto de la invención.

10 “Agente óptico” generalmente se refiere a compuestos, composiciones, preparados, y/o formulaciones que absorben, emiten o dispersan radiación electromagnética de longitud de onda, generalmente en el intervalo de 350-1300 nanómetros, en un medio o condición biológicamente relevante. En algunas realizaciones, los agentes ópticos de la invención, cuando se excitan por radiación electromagnética, experimentan emisión por medio de luminiscencia tal como rutas de fluorescencia o fosforescencia. Estas rutas son útiles para la formación de imágenes diagnósticas, visualización o monitorización de función de órgano. Los compuestos que pertenecen a esta clase se denominan normalmente como “agentes de formación de imágenes ópticas” o “agentes de contraste óptico”. En una  
15 realización, un agente óptico es un compuesto descrito en esta memoria.

Los agentes ópticos de la presente invención pueden contener fluoróforos. El término “fluoróforo” generalmente se refiere a un componente o resto de una molécula que provoca que una molécula sea fluorescente. Los fluoróforos pueden ser grupos funcionales en una molécula que absorben radiación electromagnética de primeras longitudes de onda específicas y re-emiten energía a segundas longitudes de onda específicas. La cantidad y longitudes de onda de la radiación electromagnética emitida dependen tanto del fluoróforo como del medio químico del fluoróforo.  
20

Los compuestos y composiciones de la invención proporcionan agentes ópticos que incluyen agentes de formación de imágenes y agentes detectables; y conjugados, complejos y derivados de los mismos. Algunos agentes ópticos de la invención proporcionan agentes detectables que pueden administrarse a un sujeto y posteriormente detectarse usando una variedad de técnicas ópticas, que incluyen formación de imágenes ópticas, visualización, y detección óptica de uno, dos, tres puntos.  
25

Los agentes ópticos incluyen, aunque no están limitados a, agentes de formación de imágenes, agentes detectables y conjugados, complejos y derivados de los mismos.

30 Cuando se usan en esta memoria, los términos “diagnosis”, “diagnóstico” y otros derivados de la palabra raíz son como se entienden en la técnica y se pretende además que incluyan una monitorización general, caracterización y/o identificación de un estado de salud o enfermedad. El término se entiende que abarca el concepto de pronóstico. Por ejemplo, la diagnosis de insuficiencia renal aguda puede incluir una determinación inicial y/o una o más evaluaciones posteriores a pesar del resultado de un descubrimiento anterior. El término no implica necesariamente un nivel definido de certeza en relación a la predicción de un estado o resultado particular.

35 Como se define en esta memoria, “administrar” significa que un compuesto o formulación del mismo de la invención, tal como un agente óptico, se proporciona a un paciente o sujeto, por ejemplo en una cantidad diagnósticamente efectiva. La invención incluye métodos para un procedimiento biomédico en donde una cantidad diagnósticamente efectiva de un compuesto que tiene cualquiera de las fórmulas (FX1) – (FX25) se administra a un paciente que necesita un diagnóstico, por ejemplo a un paciente que se sospecha que tiene un trastorno en el sistema renal. La administración puede llevarse a cabo mediante una variedad de técnicas conocidas en la técnica que incluyen inyección o infusión intravenosa, intraperitoneal o subcutánea, administración oral, absorción transdérmica a través de la piel o por inhalación.  
40

Los grupos alquilo incluyen grupos alquilo de cadena lineal, ramificada y cíclica. Los grupos alquilo incluyen los que tienen de 1 a 30 átomos de carbono. Los grupos alquilo incluyen pequeños grupos alquilo que tienen 1 a 3 átomos de carbono. Los grupos alquilo incluyen grupos alquilo de longitud media que tienen de 4-10 átomos de carbono. Los grupos alquilo incluyen grupos alquilo largos que tienen más de 10 átomos de carbono, particularmente aquellos que tienen 10-30 átomos de carbono. Los grupos alquilo cíclicos incluyen los que tienen uno o más anillos. Los grupos alquilo cíclicos incluyen los que tienen un anillo de carbono de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 miembros y particularmente los que tienen un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros. Los anillos de carbono en grupos alquilo cíclicos pueden también portar grupos alquilo. Los grupos alquilo cíclicos pueden incluir grupos alquilo bicíclicos y tricíclicos. Los grupos alquilo están sustituidos opcionalmente. Los grupos alquilo sustituidos incluyen entre otros aquellos que están sustituidos con grupos arilo, que a su vez pueden estar opcionalmente sustituidos. Los grupos alquilo específicos incluyen grupos metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, s-butilo, t-butilo, ciclobutilo, n-pentilo, pentilo ramificado, ciclopentilo, n-hexilo, hexilo ramificado y ciclohexilo, todos los cuales están opcionalmente sustituidos.  
50 Los grupos alquilo sustituidos incluyen grupos alquilo totalmente halogenados o semihalogenados, tales como grupos alquilo que tienen uno o más hidrógenos sustituidos con uno o más átomos de flúor, átomos de cloro, átomos de bromo y/o átomos de yodo. Los grupos alquilo sustituidos incluyen grupos alquilo totalmente fluorados o semifluorados, tales como grupos alquilo que tienen uno o más hidrógenos sustituidos con uno o más átomos de  
55

flúor. Un grupo alcoxi es un grupo alquilo que se ha modificado por unión a oxígeno y puede representarse por la fórmula R-O y puede también denominarse como un grupo alquiléter. Ejemplos de grupos alcoxi incluyen, aunque no están limitados a, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi y heptoxi. Los grupos alcoxi incluyen grupos alcoxi sustituidos en donde la parte alquilo de los grupos está sustituido como se proporciona en esta memoria en conexión con la descripción de grupos alquilo. Como se usa en esta memoria MeO- se refiere a CH<sub>3</sub>O-.

Los grupos alquenoilo incluyen grupos alquenoilo de cadena lineal, ramificada y cíclica. Los grupos alquenoilo incluyen aquellos que tienen 1, 2 o más dobles enlaces y aquellos en que dos o más de los dobles enlaces son dobles enlaces conjugados. Los grupos alquenoilo incluyen aquellos que tienen de 2 a 20 átomos de carbono. Los grupos alquenoilo incluyen grupos alquenoilo pequeños que tienen 2 a 3 átomos de carbono. Los grupos alquenoilo incluyen grupos alquenoilo de longitud media que tienen de 4-10 átomos de carbono. Los grupos alquenoilo incluyen grupos alquenoilo largos que tienen más de 10 átomos de carbono, particularmente los que tienen 10-20 átomos de carbono. Los grupos alquenoilo cíclicos incluyen los que tienen uno o más anillos. Los grupos alquenoilo cíclicos incluyen aquellos en que un doble enlace está en el anillo o en un grupo alquenoilo unido a un anillo. Los grupos alquenoilo cíclicos incluyen los que tienen un anillo de carbono de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 miembros y particularmente los que tienen un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros. Los anillos de carbono en grupos alquenoilo cíclicos pueden también portar grupos alquilo. Los grupos alquenoilo cíclicos pueden incluir grupos alquilo bicíclicos y tricíclicos. Los grupos alquenoilo están opcionalmente sustituidos. Los grupos alquenoilo sustituidos incluyen entre otros aquellos que están sustituidos con grupos alquilo o arilo, cuyos grupos a su vez pueden estar opcionalmente sustituidos. Los grupos alquenoilo específicos incluyen etenilo, prop-1-enilo, prop-2-enilo, cicloprop-1-enilo, but-1-enilo, but-2-enilo, ciclobut-1-enilo, ciclobut-2-enilo, pent-1-enilo, pent-2-enilo, pentenilo ramificado, ciclopent-1-enilo, hex-1-enilo, hexenilo ramificado, ciclohexenilo, todos los cuales están opcionalmente sustituidos. Los grupos alquenoilo sustituidos incluyen grupos alquenoilo totalmente halogenados o semihalogenados, tales como grupos alquenoilo que tienen uno o más hidrógenos sustituidos con uno o más átomos de flúor, átomos de cloro, átomos de bromo y/o átomos de yodo. Los grupos alquenoilo sustituidos incluyen grupos alquenoilo totalmente fluorados o semifluorados, tales como grupos alquenoilo que tienen uno o más hidrógenos sustituidos con uno o más átomos de flúor.

Los grupos arilo incluyen grupos que tienen uno o más anillos aromáticos de 5, 6 o 7 miembros o aromáticos heterocíclicos. Los grupos arilo pueden contener uno o más anillos aromáticos condensados. Los anillos aromáticos heterocíclicos pueden incluir uno o más átomos de N, O o S en el anillo. Los anillos aromáticos heterocíclicos pueden incluir aquellos con uno, dos o tres N, aquellos con uno o dos O, y aquellos con uno o dos S, o combinaciones de uno o dos o tres N, O o S. Los grupos arilo están opcionalmente sustituidos. Los grupos arilo sustituidos incluyen entre otros aquellos que están sustituidos con grupos alquilo o alquenoilo, cuyos grupos a su vez pueden estar opcionalmente sustituidos. Grupos arilo específicos incluyen grupos fenilo, grupos bifenilo, grupos piridinilo y grupos naftilo, todos los cuales están opcionalmente sustituidos. Los grupos arilo sustituidos incluyen grupos arilo totalmente halogenados o semihalogenados, tales como grupos arilo que tienen uno o más hidrógenos sustituidos con uno o más átomos de flúor, átomos de cloro, átomos de bromo y/o átomos de yodo. Grupos arilo sustituidos incluyen grupos arilo totalmente fluorados o semifluorados, tales como grupos arilo que tienen uno o más hidrógenos sustituidos con uno o más átomos de flúor. Los grupos arilo incluyen, aunque no están limitados a, grupos que contienen grupo aromático o que contienen grupo aromático heterocíclico que corresponden a cualquiera de los siguientes benceno, naftaleno, naftoquinona, difenilmetano, fluoreno, antraceno, antraquinona, fenantreno, tetraceno, naftaceno, piridina, quinolina, isoquinolina, indoles, isoindol, pirrol, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, pirazina, pirimidina, purina, bencimidazol, furanos, benzofurano, dibenzofurano, carbazol, acridina, acridona, fenantridina, tiofeno, benzotiofeno, dibenzotiofeno, xanteno, xantona, flavona, cumarina, azuleno o antraciclina. Como se usa en esta memoria, un grupo que corresponde a los grupos enumerados anteriormente incluye expresamente un radical aromático o aromático heterocíclico, que incluyen radicales monovalentes, divalentes y polivalentes, de los grupos aromáticos y aromáticos heterocíclicos enumerados anteriormente proporcionados en una configuración unida de forma covalente en los compuestos de la invención. Los grupos arilo tienen opcionalmente uno o más anillos aromáticos o anillos aromáticos heterocíclicos que tienen uno o más grupos dadores de electrones, grupos aceptores de electrones y/u otros ligandos proporcionados como sustituyentes.

Los grupos arilalquilo son grupos alquilo sustituidos con uno o más grupos arilo en donde los grupos alquilo portan opcionalmente sustituyentes adicionales y los grupos arilo están opcionalmente sustituidos. Grupos alquilarilo específicos son grupos alquilo sustituidos con fenilo, por ejemplo, grupos fenilmetilo. Los grupos alquilarilo se describen de forma alternativa como grupos arilo sustituidos con uno o más grupos alquilo en donde los grupos alquilo portan opcionalmente sustituyentes adicionales y los grupos arilo están opcionalmente sustituidos. Los grupos alquilarilo específicos son grupos fenilo sustituidos con alquilo tal como metilfenilo. Los grupos arilalquilo sustituidos incluyen grupos arilalquilo totalmente halogenados o semihalogenados, tales como grupos arilalquilo que tienen uno o más alquilo y/o arilo que tienen uno o más hidrógenos sustituidos con uno o más átomos de flúor, átomos de cloro, átomos de bromo y/o átomos de yodo.

La sustitución opcional de cualquiera de grupos alquilo, alquenoilo y arilo incluye la sustitución con uno o más de los siguientes sustituyentes: halógenos, grupos -CN, -COOR, -OR, -COR, -OCOOR, -CON(R)<sub>2</sub>, -CON(R)<sub>2</sub>, -N(R)<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -SR, -SO<sub>2</sub>R, -SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub> o -SOR. La sustitución opcional de grupos alquilo incluye sustitución con uno o más grupos alquenoilo, grupos arilo o ambos, en donde los grupos alquenoilo o grupos arilo están opcionalmente sustituidos. La sustitución opcional de grupos alquenoilo incluye la sustitución con uno o más grupos alquilo, grupos



arilo o ambos, en donde los grupos alquilo o grupos arilo están opcionalmente sustituidos. La sustitución opcional de grupos arilo incluye la sustitución del anillo arilo con uno o más grupos alquilo, grupos alqueno o ambos, en donde los grupos alquilo o grupos alqueno están opcionalmente sustituidos.

Los sustituyentes opcionales para grupos alquilo, alqueno y arilo incluyen entre otros:

- 5 -COOR donde R es un hidrógeno o un grupo alquilo o un grupo arilo y más específicamente donde R es grupos metilo, etilo, propilo, butilo o fenilo todos los cuales están opcionalmente sustituidos;
- COR donde R es un hidrógeno o un grupo alquilo o unos grupos arilo y más específicamente donde R es grupos metilo, etilo, propilo, butilo o fenilo, todos de dichos grupos están opcionalmente sustituidos;
- 10 -CON(R)<sub>2</sub> donde cada R, independientemente una de la otra R, es un hidrógeno o un grupo alquilo o un grupo arilo y más específicamente donde R es grupos metilo, etilo, propilo, butilo o fenilo, todos de dichos grupos están opcionalmente sustituidos; R y R pueden formar un anillo que puede contener uno o más dobles enlaces;
- CON(R)<sub>2</sub> donde cada R, independientemente una de la otra R, es un hidrógeno o un grupo alquilo o un grupo arilo y más específicamente donde R es grupos metilo, etilo, propilo, butilo o fenilo, todos de dichos grupos están opcionalmente sustituidos; R y R pueden formar un anillo que puede contener uno o más dobles enlaces;
- 15 -N(R)<sub>2</sub> donde cada R, independientemente una de la otra R, es un hidrógeno, o un grupo alquilo, grupo arilo o un grupo arilo y más específicamente donde R es grupos metilo, etilo, propilo, butilo o fenilo o acetilo, todos los cuales están opcionalmente sustituidos; o R y R pueden formar un anillo que puede contener uno o más dobles enlaces;
- SR, -SO<sub>2</sub>R o -SOR donde R es un grupo alquilo o unos grupos arilo y más específicamente donde R es grupos metilo, etilo, propilo, butilo, fenilo, todos los cuales están opcionalmente sustituidos, para -SR, R puede ser hidrógeno;
- 20 -OCOOR donde R es un grupo alquilo o unos grupos arilo;
- SO<sub>2</sub>N(R)<sub>2</sub> donde R es un hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo arilo y R y R pueden formar un anillo;
- OR donde R es H, alquilo, arilo o acilo; por ejemplo, R puede ser un acilo dando -OCOR\* donde R\* es un hidrógeno o un grupo alquilo o un grupo arilo y más específicamente donde R\* es grupos metilo, etilo, propilo, butilo o fenilo, todos de dichos grupos están opcionalmente sustituidos.
- 25 Como se usa en esta memoria, el término "alqueno" se refiere a un radical divalente derivado de un grupo alquilo como se define en esta memoria. Los grupos alqueno en algunas realizaciones funcionan como grupos de unión y/o espaciadores en las presentes composiciones. Los compuestos de la invención incluyen grupos alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> y alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, sustituidos y no sustituidos.
- 30 Como se usa en esta memoria, el término "cicloalqueno" se refiere a un radical divalente derivado de un grupo cicloalquilo como se define en esta memoria. Los grupos cicloalqueno en algunas realizaciones funcionan como grupos de unión y/o espaciadores en las presentes composiciones. Los compuestos de la invención incluyen grupos cicloalqueno C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, cicloalqueno C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> y cicloalqueno C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, sustituidos y no sustituidos.
- 35 Como se usa en esta memoria, el término "alqueno" se refiere a un radical divalente derivado de un grupo alqueno como se define en esta memoria. Los grupos alqueno en algunas realizaciones funcionan como grupos de unión y/o espaciadores en las presentes composiciones. Los compuestos de la invención incluyen grupos alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> y alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, sustituidos y no sustituidos.
- 40 Como se usa en esta memoria, el término "cicloalqueno" se refiere a un radical divalente derivado de un grupo cicloalqueno como se define en esta memoria. Los grupos cicloalqueno en algunas realizaciones funcionan como grupos de unión y/o espaciadores en las presentes composiciones. Los compuestos de la invención incluyen grupos cicloalqueno C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, cicloalqueno C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> y cicloalqueno C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, sustituidos y no sustituidos.
- 45 Como se usa en esta memoria, el término "alqueno" se refiere a un radical divalente derivado de un grupo alqueno como se define en esta memoria. Los grupos alqueno en algunas realizaciones funcionan como grupos de unión y/o espaciadores en las presentes composiciones. Los compuestos de la invención incluyen grupos alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> y alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, sustituidos o no sustituidos.
- Como se usa en esta memoria, el término "halo" se refiere a un grupo halógeno tal como un flúor (-F), cloro (-Cl), bromo (-Br), yodo (-I) o astato (-At).
- 50 Como se usa en esta memoria, el término "azo" se refiere a un grupo que tiene al menos un resto -N=N-. Los grupos azo incluyen grupos cíclicos y acíclicos que tienen un resto -N=N-, por ejemplo: (i) grupos aril-azo que tienen un resto -N=N- directa o indirectamente unido a uno o más anillos aromáticos carbocíclicos o heterocíclicos de un arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>, (ii) grupos alquil-azo que tienen un resto -N=N- directa o indirectamente unidos a un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> y

- (iii) grupos alquilaril-azo que tienen un resto –N=N- directa o indirectamente unido a un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> y uno o más anillos aromáticos carbocíclicos o heterocíclicos de un arilo C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>. En una realización, por ejemplo, un grupo azo de un compuesto de la invención incluye un grupo cíclico que tiene un grupo –N=N- dentro del anillo. En una realización, por ejemplo, un grupo azo de un compuesto de la invención incluye un grupo cíclico en donde un enlace carbono-carbono en un anillo carbocíclico o heterocíclico está sustituido con un doble enlace nitrógeno-nitrógeno (es decir, N=N). En una realización, por ejemplo, un azocompuesto de la invención incluye una estructura anular condensada que comprende uno o más grupos aromáticos y uno o más grupos alicíclicos, en donde un enlace carbono-carbono en un anillo carbocíclico o heterocíclico del grupo alicíclico está sustituido con un doble enlace nitrógeno-nitrógeno (es decir, N=N).
- 5 El término “heterocíclico” se refiere a estructuras anulares que contienen al menos otra clase de átomo, además de carbono, en el anillo. Ejemplos de dichos átomos incluyen nitrógeno, oxígeno y azufre. Los ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, aunque no están limitados a, grupos pirrolidinilo, piperidilo, imidazolidinilo, tetrahidrofurilo, tetrahidrotienilo, furilo, tienilo, piridilo, quinolilo, isoquinolilo, piridazinilo, pirazinilo, indolilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, pirazolilo, piridinilo, benzoxadiazolilo, benzotiadiazolilo, triazolilo y tetrazolilo.
- 10 El término carbocíclico se refiere a estructuras anulares que contienen solo átomos de carbono en el anillo. Los átomos de carbono de anillos carbocíclicos pueden unirse a un amplio intervalo de otros átomos y grupos funcionales.
- Alicíclico se refiere a un anillo que no es un anillo aromático. Anillos alicíclicos incluyen anillos tanto carbocíclicos como heterocíclicos.
- 20 Alcoxialquilo: como se usa en esta memoria, el término “alcoxialquilo” se refiere a un sustituyente de la fórmula alquilo-O-alquilo.
- Polialcoxialquilo: como se usa en esta memoria, el término “polialcoxialquilo” se refiere a un sustituyente de la fórmula alquil-(alcoxi)<sub>n</sub>-alcoxi en donde n es un número entero de 1 a 10, preferiblemente 1 a 4, y más preferiblemente para algunas realizaciones 1 a 3.
- 25 Como se usa en esta memoria, el término “luminiscencia” se refiere a la emisión de radiación electromagnética a partir de estados electrónicos excitados de átomos o moléculas. La luminiscencia se refiere generalmente a emisión por radiación electromagnética, tal como fotoluminiscencia, quimioluminiscencia y electroquimioluminiscencia, entre otras. En la fotoluminiscencia, que incluye fluorescencia y fosforescencia, el estado electrónico excitado se crea por la absorción de radiación electromagnética. La detección de luminiscencia implica la detección de una o más propiedades de la luminiscencia o procedimiento de luminiscencia asociado. Estas propiedades pueden incluir intensidad, espectro de excitación y/o emisión, polarización, tiempo de vida y transferencia de energía, entre otras. Estas propiedades pueden también incluir propiedades independientes del tiempo (estado estacionario) y/o dependientes del tiempo (resuelto en el tiempo) de la luminiscencia. Técnicas de luminiscencia representativas incluyen intensidad de fluorescencia (FLINT), polarización de fluorescencia (FP), transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), tiempo de vida de la fluorescencia (FLT), fluorescencia por reflexión interna total (TIRF), espectroscopia de correlación de fluorescencia (FCS), recuperación de fluorescencia después de fotoblanqueo (FRAP) y transferencia de energía por resonancia de bioluminiscencia (BRET), entre otras. Por medio de ejemplo, cuando un agente óptico se usa en la presente invención, es deseable que la longitud de onda de la radiación no ionizante se tal que excite al agente óptico. Esta excitación provoca que un enlace de la molécula se rompa liberando así un radical apropiado. Esta excitación puede también provocar que la molécula emita parte de la energía absorbida a una longitud de onda diferente; dicha emisión puede detectarse usando técnicas fluorimétricas como se describe anteriormente. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente la técnica de detección opcional más apropiada en base, al menos en parte, al(a los) agente(s) específico(s) administrado(s) y/o el uso particular (por ejemplo, área a formarse por imágenes).
- 30
- 35
- 40
- 45 Como se usa en esta memoria, el término “componente de liberación controlada” se refiere a un agente que facilita la liberación controlada de un compuesto que incluye, aunque no está limitado a, polímeros, matrices poliméricas, geles, membranas permeables, liposomas, microesferas o similares, o cualquier combinación de los mismos. Los métodos para producir compuestos en combinación con componentes de liberación controlada se conocen por los expertos en la técnica.
- 50 Como se usa en esta memoria, el término “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia reguladora de un gobierno federal o estatal apropiado o enumerado en la Farmacopea de EE.UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente en seres humanos o que no imparte efecto dañino o indeseable significativo en un sujeto al que se administra y en el contexto en que se administra.
- 55 Como es habitual y bien conocido en la técnica, los átomos de hidrógeno en las fórmulas (FX1) – (FX25) no siempre se muestran de forma explícita, por ejemplo, los átomos de hidrógeno unidos a los átomos de carbono de anillos aromáticos y alicíclicos no siempre se muestran de forma explícita en las fórmulas (FX1) – (FX25). Las estructuras proporcionadas en esta memoria, por ejemplo en el contexto de la descripción de fórmulas (FX1) – (FX25), se pretende que transmitan a un experto razonable en la técnica la composición química de los compuestos de los

métodos y composiciones de la invención, y como se entenderá por un experto en la técnica, las estructuras proporcionadas no indican los ángulos de unión específicos entre átomos de estos compuestos.

5 Grupos alquilo sustituidos específicos incluyen grupos haloalquilo, particularmente grupos trihalometilo y específicamente grupos trifluorometilo. Grupos arilo sustituidos específicos incluyen grupos fenilo mono, di, tri, tetra y pentahalo-sustituidos; grupos naftaleno mono, di, tri, tetra, penta, hexa y heptahalo-sustituidos; grupos fenilo 3 o 4-halo-sustituidos, grupos fenilo 3 o 4-alquil-sustituidos, grupos fenilo 3 o 4-alcóxi-sustituidos, grupos fenilo 3 o 4-RCO-sustituidos, naftaleno 5 o 6-halo-sustituidos. Más específicamente, los grupos arilo sustituidos incluyen grupos acetilfenilo, particularmente grupos 4-acetilfenilo; grupos fluorofenilo, particularmente grupos 3-fluorofenilo y 4-fluorofenilo; grupos clorofenilo, particularmente grupos 3-clorofenilo y 4-clorofenilo; grupos metilfenilo, particularmente grupos 4-metilfenilo, y grupos metoxifenilo, particularmente grupos 4-metoxifenilo.

10 Como a cualquiera de los grupos anteriores que contienen uno o más sustituyentes, se entiende que dichos grupos no contienen ninguna sustitución o patrones de sustitución que sean estéricamente impracticables y/o sintéticamente inviables. Además, los compuestos de esta invención incluyen todos los isómeros estereoquímicos que surgen de la sustitución de estos compuestos.

15 Las sales farmacéuticamente aceptables comprenden aniones y/o cationes farmacéuticamente aceptables. Como se usa en esta memoria, el término "sal farmacéuticamente aceptable" puede referirse a sales de adición de ácido o sales de adición de base de los compuestos en la presente descripción. Una sal farmacéuticamente aceptable es cualquier sal que retenga al menos una parte de la actividad del compuesto parental y no imparte efecto dañino o indeseable significativo en un sujeto al que se le administra y en el contexto en que se administra. Sales farmacéuticamente aceptables incluyen complejos y sales metálicas de ácidos tanto inorgánicos como orgánicos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales metálicas tales como sales de aluminio, calcio, hierro, magnesio, manganeso y sales complejas. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque no están limitadas a, sales de ácido tales como acético, aspártico, alquilsulfónico, arilsulfónico, axetilo, bencenosulfónico, benzoico, bicarbónico, bisulfúrico, bitartárico, butírico, edetato de calcio, camsílico, carbónico, clorobenzoico, -cilexetilo, cítrico, edético, edisílico, estólico, esilo, esílico, fórmico, fumárico, glucéptico, glucónico, glutámico, glicólico, glicolilarsanílico, hexámico, hexilresorcinoico, hidrabámico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, hidroxinaftoico, isetiónico, láctico, lactobiónico, maleico, málico, malónico, mandélico, metanosulfónico, metilnitrato, metilsulfúrico, múcico, mucónico, napsílico, nítrico, oxálico, p-nitrometanosulfónico, pamoico, pantoténico, fosfórico, monohidrogenofosfórico, dihidrogenofosfórico, ftálico, poligalacturónico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfámico, sulfanílico, sulfónico, sulfúrico, tánico, tartárico, teoclico, toluensulfónico y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden derivarse de aminoácidos, que incluyen aunque no están limitados a cisteína. Otras sales farmacéuticamente aceptables pueden encontrarse, por ejemplo, en Stahl et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Wiley-VCH; Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, 2002. (ISBN 3-906390-26-8). Los cationes farmacéuticamente aceptables incluyen entre otros, cationes de metal alcalino (por ejemplo,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ), cationes de metal alcalinotérreo (por ejemplo,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), cationes de metales pesados no tóxicos y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y amonio sustituido ( $\text{N}(\text{R}')_4^+$ , donde  $\text{R}'$  es hidrógeno, alquilo o alquilo sustituido, es decir, que incluyen, metilo, etilo o hidroxietilo, específicamente, cationes trimetilamonio, trietilamonio y trietanolamonio). Los aniones farmacéuticamente aceptables incluyen entre otros haluros (por ejemplo,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ), sulfato, acetatos (por ejemplo, acetato, trifluoroacetato), ascorbatos, aspartatos, benzoatos, citratos y lactato.

40 Los compuestos de esta invención pueden contener uno o más centros quirales. Por consiguiente, esta invención se pretende que incluya mezclas racémicas, diastereómeros, enantiómeros, tautómeros y mezclas enriquecidas en uno o más estereoisómeros. El alcance de la invención como se describe y reivindica abarca las formas racémicas de los compuestos además de los enantiómeros individuales y mezclas no racémicas de los mismos.

45 Antes de describirse los métodos presentes, se entiende que esta invención no está limitada a la metodología particular, protocolos y reactivos descritos, ya que estos pueden variar. También se va a entender que la terminología usada en esta memoria es con el propósito de describir solo realizaciones particulares, y no se pretende que limite el alcance de la invención que se limitará solo por las reivindicaciones añadidas.

50 En ciertas realizaciones, la invención abarca administrar agentes ópticos útiles en la invención a un paciente o sujeto. Un "paciente" o "sujeto", usado de forma equivalente en esta memoria, se refiere a un animal. En particular, un animal se refiere a un mamífero, preferiblemente un ser humano. El sujeto puede o bien: (1) tener un proceso diagnosticable por administración de un agente óptico de la invención; o (2) ser susceptible de un proceso que es diagnosticable administrando un agente óptico de esta invención. El paciente puede también estar implicado en un procedimiento quirúrgico para el tratamiento de un trastorno separado.

55 Las composiciones de la invención incluye formulaciones y preparados que comprenden uno o más de los presentes agentes ópticos proporcionados en una disolución acuosa, tal como una formulación o preparado farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, las composiciones de la invención comprenden además uno o más tensioactivos, tampones, electrolitos, sales, vehículos, aglutinantes, recubrimientos, conservantes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En una realización, la invención proporciona una formulación farmacéutica que tiene un ingrediente activo que comprende una composición de la invención, tal como un compuesto de cualquiera de las fórmulas (FX1) – (FX25). En una realización, la invención proporciona un método para sintetizar una composición de la invención o una formulación farmacéutica de la misma, tal como un compuesto de cualquiera de las fórmulas (FX1) – (FX25). En una realización, una formulación farmacéutica comprende uno o más excipientes, vehículos, diluyentes y/u otros componentes como se entendería en la técnica. Preferiblemente, los componentes encuentran los estándares de la National Formulary (“NF”), United States Pharmacopoeia (“USP”, United States Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville, Maryland) o Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations (Sarfraz K. Niazi, todos los volúmenes, ISBN: 9780849317521, ISBN 10: 0849317525; CRC Press, 2004). Véase, por ejemplo, United States Pharmacopoeia and National Formulary (USP 30-NF 25), Rockville, MD; United States Pharmacopoeial Convention; 2007; y 2008, y cada una de cualquier edición anterior; The Handbook of Pharmaceutical Excipients, publicado conjuntamente por la Asociación de farmacéuticos americanos y la prensa farmacéutica (Pharmaceutical Press (2005) (ISBN-10:0853696187, ISBN-13: 978-0853696186); Merck Index, Merck & Co., Rahway, N.J.; y Gilman et al., (eds) (1996); Goodman and Gilman’s: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8ª ed., Pergamon Press. En las realizaciones, la base de formulación de las formulaciones de la invención comprende excipientes fisiológicamente aceptables, a saber, al menos un aglutinante y opcionalmente, otros excipientes fisiológicamente aceptables. Los excipientes fisiológicamente aceptables son los conocidos por ser útiles en los sectores de tecnología farmacéutica y áreas adyacentes, particularmente, los enumerados en farmacopeas relevantes (por ejemplo, DAB, Ph. Eur., BP, NF, USP), además de otros excipientes cuyas propiedades no imparten un uso fisiológico.

En una realización, una cantidad efectiva de una composición de la invención es una cantidad “diagnósticamente efectiva”. Como se usa en esta memoria, la frase “diagnósticamente efectiva” califica la cantidad de compuesto administrado en diagnóstico, por ejemplo de un estado de enfermedad u otro proceso patológico. La cantidad alcanza el resultado de ser detectable mientras que evita efectos secundarios adversos encontrados con mayores dosis. En una realización, un ingrediente activo u otro componente se incluyen en una cantidad terapéuticamente aceptable. En una realización, un ingrediente activo u otro componente se incluyen en una cantidad diagnósticamente aceptable.

Variaciones en composiciones que incluyen sales y formas éster de compuestos: compuestos de esta invención y compuestos útiles en los métodos de esta invención, incluyen aquellos de los compuestos y fórmula(s) descritos en esta memoria y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de esos compuestos. En realizaciones, las sales incluyen cualquier sal derivada de los ácidos de las fórmulas en esta memoria que son aceptables para uso en aplicaciones humanas o veterinarias. En realizaciones, el término ésteres se refiere a ésteres hidrolizables de compuestos de los nombres y fórmulas estructurales en esta memoria. En realizaciones, las sales y ésteres de los compuestos de las fórmulas en esta memoria pueden incluir aquellos que tienen las mismas o mejores propiedades generales terapéuticas, diagnósticas o farmacéuticas (humanas o veterinarias) como los compuestos de las fórmulas en esta memoria. En una realización, una composición de la invención es un compuesto o sal o éster del mismo adecuado para formulaciones farmacéuticas.

En una realización, la invención proporciona un método para diagnosticar un proceso médico que comprende administrar a un sujeto (por ejemplo, paciente) que lo necesita, una cantidad diagnósticamente efectiva de una composición de la invención, tal como un compuesto de cualquiera de las fórmulas (FX1) – (FX25). En una realización, el proceso médico es insuficiencia renal aguda u otras enfermedades diversas, lesiones y trastornos, que incluyen trastornos del sistema renal tal como disminución de la función renal, insuficiencia hepática, insuficiencia renal e insuficiencia de uno o más órganos o aspectos del sistema renal.

En una realización, la invención proporciona un medicamento que comprende una cantidad diagnósticamente efectiva de una o más composiciones de la invención. En una realización, la invención proporciona un método para fabricar un medicamento para la diagnosis o ayuda en la diagnosis de un proceso descrito en esta memoria. En una realización, la invención proporciona el uso de una o más composiciones descritas en esta memoria para la fabricación de un medicamento.

De acuerdo con la presente invención, un protocolo para evaluar la función fisiológica de las células corporales incluye administrar una cantidad efectiva de un compuesto representado por la Fórmula (FX1) a un paciente. Una dosis apropiada del compuesto que se administra a un paciente es fácilmente determinable por un experto habitual en la técnica y puede variar según el procedimiento clínico contemplado, que oscila generalmente de aproximadamente 1 nanomolar a aproximadamente 100 micromolar. La administración del compuesto al paciente puede darse en cualquiera de un número de modos apropiados que incluyen, aunque no están limitados a: (1) inyección o infusión intravenosa, intraperitoneal o subcutánea; (2) administración oral; (3) absorción transdérmica a través de la piel; y (4) inhalación.

Los compuestos de esta invención pueden administrarse como disoluciones en la mayoría de vehículos intravenosos farmacéuticamente aceptables conocidos en la técnica. Los vehículos farmacéuticamente aceptables que son bien conocidos por los expertos en la técnica incluyen, aunque no están limitados a, tampón fosfato 0,01-0,1 M o solución salina al 0,8%. Adicionalmente, los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser disoluciones, suspensiones, emulsiones, acuosas o no acuosas, o combinaciones apropiadas de las mismas. Ejemplos de disolventes no

5 acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Ejemplos de vehículos acuosos son agua, disoluciones, emulsiones o suspensiones alcohólicas/acuosas, que incluyen solución salina y medio tamponado. Vehículos parenterales  
ejemplares incluyen disolución de cloruro sódico, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro sódico, solución de Ringer  
lactada o aceites fijos. Vehículos intravenosos ejemplares incluyen reforzadores de fluidos y nutrientes, reforzadores  
de electrolitos tales como los basados en dextrosa de Ringer, y similares. Los conservantes y otros aditivos pueden  
también estar presentes, tal como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes recopiladores, gases inertes  
y similares.

10 Diluyentes, conservantes, solubilizantes, emulsificadores, adyuvantes y/o excipientes adecuados también son  
vehículos adecuados. Dichos vehículos son líquidos o formulaciones liofilizadas o secas de otra forma e incluyen  
diluyentes de contenido de diversos tampones (por ejemplo, Tris-HCl, acetato, fosfato), pH y fortaleza iónica, aditivos  
tales como albúmina o gelatina para evitar la absorción a superficies, detergentes (por ejemplo, Tween 20, Tween  
80, Pluronic F68, sales de ácidos biliares), agentes de solubilización (por ejemplo, glicerol, polietilenglicerol), anti-  
oxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito sódico), conservante (por ejemplo, Thimerosal, alcohol  
15 bencílico, parabenos), sustancias aglutinantes o modificadores de la tonicidad (por ejemplo, lactosa, manitol),  
complejación con iones metálicos, o incorporación del material en o sobre preparados particulados de compuestos  
poliméricos tales como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, hidrogeles, etc., o sobre liposomas, microemulsiones,  
micelas, vesículas unilamelares o multilamelares, fantasmas de eritrocito o esferoplastos. Dichos vehículos pueden  
influir el estado físico, solubilidad, estabilidad, velocidad de liberación *in vivo*, y/o velocidad de aclaramiento *in vivo*.

20 Aún en referencia al protocolo mencionado anteriormente, el compuesto puede exponerse a luz visible y/o de  
infrarrojo cercano. Esta exposición del compuesto a la luz puede darse a cualquier tiempo apropiado aunque  
preferiblemente se da mientras el compuesto está situado en el cuerpo (por ejemplo, en la corriente sanguínea y/o  
sistema urinario). Debido a esta exposición del compuesto a la luz visible y/o de infrarrojo cercano, el compuesto  
emite luminiscencia, emitiendo energía espectral (por ejemplo, luz visible y/o de infrarrojo cercano) que puede  
25 detectarse mediante equipo de detección apropiado. La luminiscencia procedente del compuesto tiende a mostrar un  
intervalo de longitud de onda mayor que un intervalo de longitud de onda absorbido por el compuesto durante la  
excitación. Por ejemplo, si una realización del compuesto absorbe luz a aproximadamente 700 nm, el compuesto  
puede emitir luminiscencia, emitiendo luz a aproximadamente 745 nm.

30 La detección del compuesto (o más particularmente, la luminiscencia de él) puede alcanzarse a través de  
procedimientos de fluorescencia óptica, absorbancia o dispersión de luz conocidos en la técnica. En una realización,  
esta detección de la energía espectral emitida por luminiscencia puede caracterizarse como una recogida de la  
energía espectral emitida por luminiscencia y una generación de señal eléctrica indicativa de la energía espectral  
recogida. El(los) mecanismo(s) utilizado(s) para detectar la luminiscencia procedente del compuesto que está  
presente en el cuerpo puede diseñarse para detectar solo longitudes de onda (o intervalos de longitudes de onda)  
35 seleccionadas y/o puede incluir uno o más filtros espectrales apropiados. Diversos catéteres, endoscopios, clips de  
oreja, cintas para la mano, cintas para la cabeza, bobinas de superficie, sondas para dedos y similares pueden  
utilizarse para exponer el compuesto a la luz y/o para detectar la luz emitida por luminiscencia de ellos [30]. Esta  
detección de luminiscencia puede conseguirse a una o más veces de forma intermitente o puede ser esencialmente  
continua.

40 Los compuestos de esta invención pueden proporcionarse en forma de un kit que comprende un compuesto  
envasado en un recipiente. En algunas realizaciones, el compuesto puede estar disuelto en un vehículo  
farmacéuticamente aceptable y proporcionarse en un recipiente individual. El vehículo farmacéuticamente aceptable  
puede comprender cualquier vehículo, diluyente, conservante, solubilizante, emulsificador, adyuvante, excipiente  
adecuado y/o similar tal como se conoce en la técnica y/o como se describe anteriormente. En algunas  
45 realizaciones, el compuesto puede estar en un recipiente (por ejemplo, en una forma seca o liofilizada), y el vehículo  
farmacéuticamente aceptable puede estar en un recipiente separado, todos los cuales se envasan juntos en el kit.  
Los kits de la invención pueden incluir también un prospecto que proporciona instrucciones para el uso.

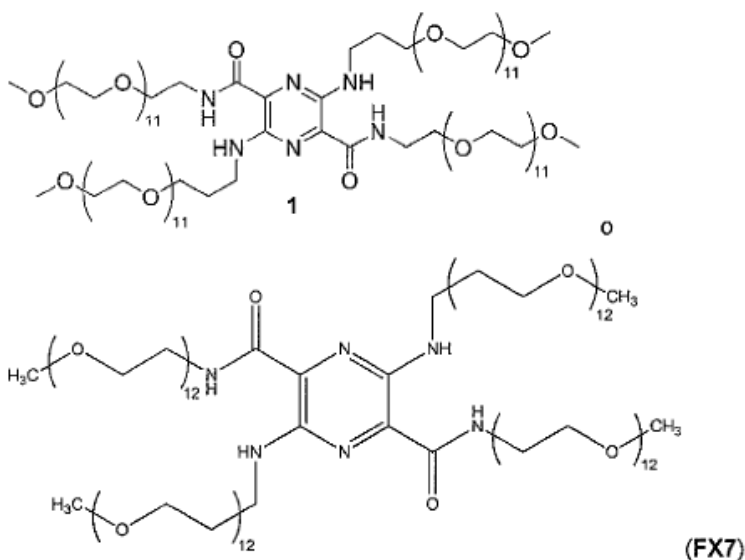
50 La función renal de un paciente puede determinarse en base a la luminiscencia detectada. Esto puede alcanzarse  
usando datos indicativos de la luminiscencia detectada y generando un perfil de intensidad/tiempo indicativo de un  
aclaramiento del compuesto desde el cuerpo. Este perfil puede correlacionarse con un proceso fisiológico o  
patológico. Por ejemplo, los perfiles de aclaramiento del paciente y/o velocidades de aclaramiento pueden  
compararse a perfiles y/o velocidades de aclaramiento conocidos para evaluar la función renal del paciente y para  
diagnosticar el proceso fisiológico del paciente. En el caso de analizar la presencia del compuesto en fluidos  
corporales, las curvas de concentración/tiempo pueden generarse y analizarse (preferiblemente a tiempo real)  
55 usando un microprocesador apropiado para diagnosticar la función renal.

La función fisiológica puede evaluarse: (1) comparando diferencias en las maneras en que las células y/o tejidos  
normales y dañados eliminan un compuesto de la invención de la corriente sanguínea; (2) midiendo una tasa o una  
acumulación de un compuesto de la invención en órganos o tejidos; y/u (3) obteniendo imágenes tomográficas de  
órganos o tejidos que tienen un compuesto de la invención asociado con ellos.

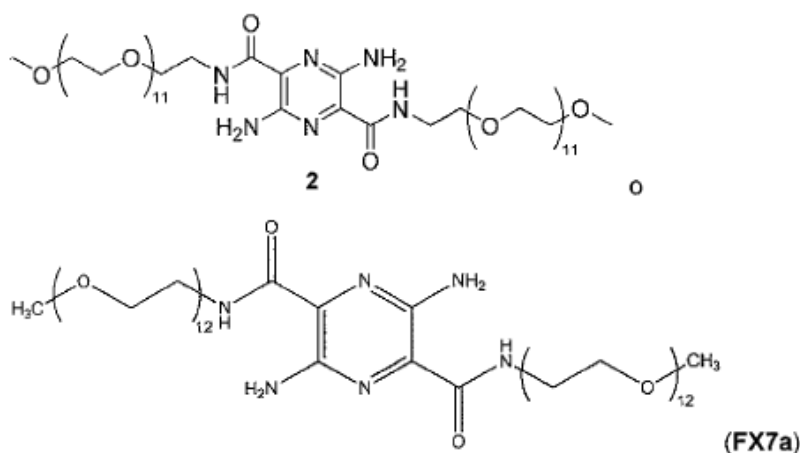
La invención se detalla adicionalmente en los siguientes Ejemplos, que se ofrecen por medio de ilustración y no pretenden limitar el alcance de la invención de ninguna manera.

Condiciones experimentales generales: a menos que se anote otra cosa, todos los reactivos se usaron como se suministraron. La TLC analítica se realizó en platos GF de gel de sílice Analtech (250 mm). La cromatografía rápida se llevó a cabo usando tanto gel de sílice 60 de EMD Chemicals Inc. (40-63 mm) o columnas de gel de sílice preempacetas RediSep en sistema de cromatografía CombiFlash. Los análisis RP-LC/MS (ESI, modo ión positivo) se llevaron a cabo en un sistema Waters Micromass ZQ equipado con un detector PDA usando columna ThermoElectron Hypersil Gold C18 3  $\mu\text{m}$  (4,6 mm x 50 mm) (gradiente: 5-95% de B/6 min; caudal: 1 ml; fase móvil A: TFA al 0,05% en  $\text{H}_2\text{O}$ ; fase móvil B: TFA al 0,05% en  $\text{CH}_3\text{CN}$ ). La RP-HPLC preparativa se llevó a cabo usando un sistema Waters Dual Pump equipado con un Gestor Líquido y un detector PDA [columna: Waters XBridge™ Prep C18 OBD™ 5  $\mu\text{m}$  30 x 150 mm o Sunfire™ Prep C18 5  $\mu\text{m}$  OBD™ 30 x 150 mm,  $\lambda_{\text{max}}$ : PDA (200-600 nm); caudal: 50 mL/min; gradiente: 5-20 a 40-95% de B/10-15 min; fase móvil A: TFA al 0,1% en  $\text{H}_2\text{O}$ ; fase móvil B: TFA al 0,1% en  $\text{CH}_3\text{CN}$ ]. Los análisis RP-HPLC se llevaron a cabo en un sistema Agilent 1200 series equipado con un detector de UV (columna: Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  C18(2) 100 Å 250 x 4,6 mm; caudal: 1 mL/min; fase móvil A: TFA al 0,1% en  $\text{H}_2\text{O}$ ; fase móvil B: TFA al 0,1% en  $\text{CH}_3\text{CN}$ ). Los espectros RMN se grabaron o bien en un espectrómetro Varian GEmini-300 o un VNMR5-500. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón ( $\delta$ ) respecto a TMS ( $\delta=0$ ) como un patrón interno y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se presentan en Hz. El dato HRMS (ESI) se obtuvo en un espectrómetro de masas Thermo Scientific LTQ-Orbitrap equipado con una fuente de ionización por electropulverizado IonMax en modo FTMS (Transformada de Fourier) con resolución  $\geq 30\text{K}$ .

- 20 Ejemplo 1: 3,6-bis(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctriacontan-38-ilamino)- $N^2,N^5$ -di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaheptatriacontan-37-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (1)



Etapa 1. Síntesis de 3,6-diamino- $N^2,N^5$ -di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaheptatriacontan-37-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (2).

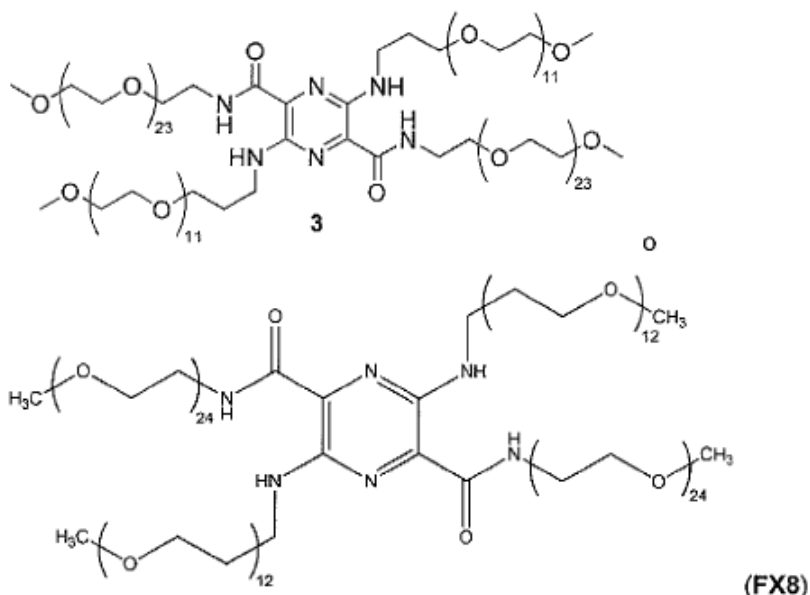


5 A una disolución incolora de m-dPEG<sup>TM</sup><sub>12</sub> amina (5,37 g, 9,60 mmoles) en DMF anhidro (100 mL), ácido 3,6-diaminopirazina-2,5-dicarboxílico (0,793 g, 4,00 mmoles) se añadió y la suspensión de rojo ladrillo se agitó a temperatura de baño de hielo en una atmósfera de N<sub>2</sub>. Después se añadieron PyBOP (5,00 g, 9,60 mmoles) y DIPEA (5,00 mL, 28,7 mmoles) y de alguna manera la suspensión amarilla ligeramente parduzca se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente. La reacción se volvió casi homogénea en una hora o así y se agitó toda la noche bajo N<sub>2</sub>. La mayoría del DMF se eliminó a alto vacío; el jarabe amarillo parduzco se filtró primero a través de Sepadex G-10 (130 g) usando agua seguido por cromatografía sobre gel de sílice C18 (YMC, 130 g) usando H<sub>2</sub>O-CH<sub>3</sub>CN (3:1 a 3:2, v/v) como eluyente. El producto que contiene fracciones amarillas se combinaron, se concentraron hasta sequedad, y se secó adicionalmente a alto vacío para dar la bis-amida 2 semi-pura (5,12 g, 100%) como un sólido pegajoso amarillo parduzco: RP-LC/MS (ESI) *m/z* 1281,9 (M+H)<sup>+</sup> (*t<sub>R</sub>* = 3,76 min).

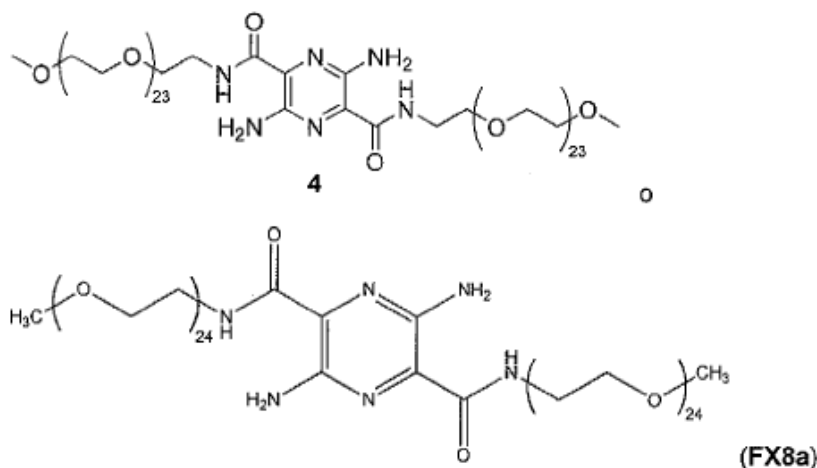
15 Etapa 2. A una disolución naranja de la bis-amida 2 anterior (2,24 g, 1,75 mmoles) en 1,2-dicloroetano anhidro (DCE, 65 mL), se añadió una disolución de m-dPEG<sup>TM</sup><sub>12</sub> propionaldehído (3,00 g, 5,24 mmoles) en DCE (5 mL), y el matraz de reacción se sumergió en un baño de hielo. Después se añadió HOAc glacial (0,30 mL, 5,20 mmoles) seguido por la adición de triacetoxiborohidruro sódico (1,11 g, 5,24 mmoles) en pequeñas porciones durante un periodo de 30 min. La suspensión rojiza resultante se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó toda la noche (ca. 16 h) en una atmósfera de argón. La reacción se apagó mediante una lenta adición de NaHCO<sub>3</sub> saturada (50 mL) a 0°C. La mezcla bifásica se agitó durante 30 min, las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con CHCl<sub>3</sub> (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl acuoso al 50% (50 mL) y salmuera (50 mL) y después se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La eliminación de disolventes dio 6,89 de sólido rojo, que se sometió a purificación por RP-HPLC preparativo (XBridge, 20-45% de B/15 min). Las fracciones puras se concentraron al vacío, el residuo se co-evaporó con CH<sub>3</sub>CN (3 x 50 mL), y después se secó a alto vacío a un peso constante para dar 1 (2,57 g, 61%) como semi-sólido rojo (solidificado en el almacenaje en el frigorífico): <sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 8,41 (t, 2, *J* = 5,9), 7,30 (ancho, 2), 3,65-3,34 [m, 192, incluye un pico ancho a δ 3,49 para - (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-], 3,23 (s, 12), 1,79-1,74 (quintuplete, 4); RP-HPLC (280 nm) 98% (*t<sub>R</sub>* = 14,73 min); RP-LC/MS (ESI) *m/z* 1198,0 (M + 2H)<sup>2+</sup>, 1207,2 (M + H + NH<sub>4</sub>)<sup>2+</sup>, 1209,2 (M + H + Na)<sup>2+</sup> (*t<sub>R</sub>* = 4,64 min). HRMS (ESI) *m/z* calculado para C<sub>108</sub>H<sub>212</sub>N<sub>6</sub>O<sub>50</sub>Na<sub>3</sub> (M + 3Na)<sup>3+</sup> 820,7969, encontrado 820,7993; calculado para C<sub>108</sub>H<sub>212</sub>N<sub>6</sub>O<sub>50</sub>Na<sub>2</sub> (M + 2Na)<sup>2+</sup> 1219,7008, encontrado 1219,7040; calculado para C<sub>108</sub>H<sub>212</sub>N<sub>6</sub>O<sub>50</sub>Na (M + Na)<sup>+</sup> 2416,4123, encontrado 2416,4162.

El esquema sintético general se muestra en la Figura 2, donde las variables "x" representan varias unidades de repetición como se describen y se muestran adicionalmente en esta memoria.

30 Ejemplo 2: 3,6-bis(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaoctatriacontan-38-ilamino)-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetrasoaxatriheptacontan-73-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (3)



35 Etapa 1. Síntesis de 3,6-diamino-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetrasoaxatriheptacontan-73-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (4)



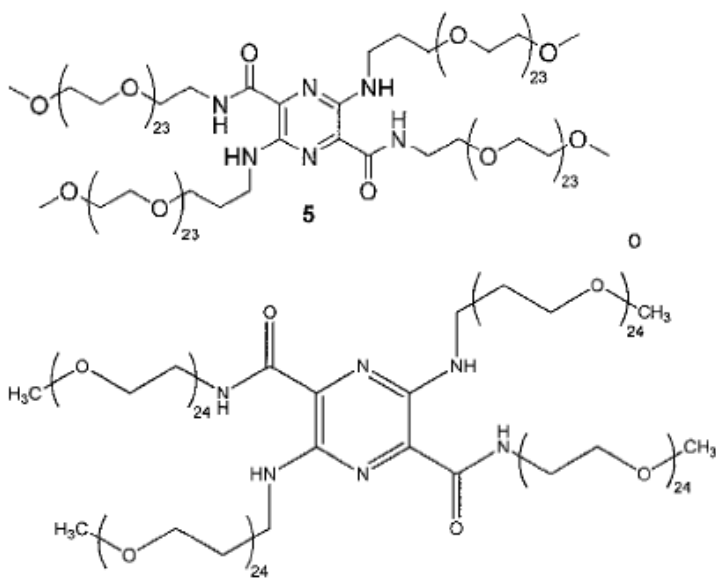
5 A una mezcla de ácido 3,6-diaminopirazina-2,5-dicarboxílico (0,316 g, 1,60 mmoles), m-dPEG<sup>TM</sup><sub>24</sub> amina (4,00 g, 3,68 mmoles) y PyBOP (1,92 g, 3,69 mmoles) en DMF anhidro (120 mL), se añadió Et<sub>3</sub>N (8,00 mL, 57,4 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó toda la noche (ca. 20 h) a temperatura ambiente bajo argón. La mayoría del DMF se eliminó a alto vacío, el aceite se disolvió en CHCl<sub>3</sub> (250 mL), y se lavó sucesivamente con KHSO<sub>4</sub> 0,50 M-salmuera (1:1, v/v), NaHCO<sub>3</sub> saturado-salmuera (1:1, v/v), y salmuera (partes de 75 mL). La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentró *al vacío*, y se filtró a través de un lecho de gel de sílice C18 usando CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O (3:1, v/v) como eluyente para dar la bis-amida **4** en bruto (5,32 g, 142%) como un sólido amarillo parduzco, que se usó como tal en la siguiente reacción sin ninguna purificación adicional: RP-LC/MS (ESI) *m/z* 780,7 (M + 3H)<sup>3+</sup>, 1179,1 (M + H + NH<sub>4</sub>)<sup>2+</sup>, 1182,0 (M + H + Na)<sup>2+</sup> (*t<sub>R</sub>* = 3,88 min).

15 Etapa 2. A una disolución amarilla parduzca de la bis-amida **4** anterior (3,86 g en bruto, 1,16 mmoles) en DCE anhidro (45 mL), se añadió una disolución de m-dPEG<sup>TM</sup><sub>12</sub> propionaldehído (2,00 g, 3,49 mmoles) en DCE (5 mL), y el matraz de reacción se sumergió en un baño de hielo. Después se añadió HOAc glacial (0,20 mL, 3,47 mmoles) seguido por la adición de triacetoxiborohidruro sódico (0,740 g, 3,49 mmoles) en pequeñas porciones durante un periodo de 1 h. La suspensión rojiza resultante se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó toda la noche (ca. 22 h) en una atmósfera de argón. La reacción se apagó mediante una lenta adición de NaHCO<sub>3</sub> saturado (50 mL) a 0°C. La mezcla bifásica se agitó durante 30 min, las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con CHCl<sub>3</sub> (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (50 mL) y después se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La eliminación de disolventes dio 5,93 g de aceite viscoso rojo, que se dializó frente a agua usando tubo de diálisis SpectraPor 7 (MWCO 2.000 Da) para dar 2,47 g de producto semi-puro que se sometió a purificación adicional por RP-HPLC preparativo (XBridge, 20-40% de B/14 min). Las fracciones puras se concentraron *al vacío*, el residuo se co-evaporó con EtOH anhidro (2 x 25 mL), y después se secó a alto vacío a un peso constante para dar **3** (1,84 g, 46%) como semi-sólido rojo (solidificado en el almacenaje en el frigorífico): <sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 8,41 (t, 2, *J* = 5,7), 7,87 (t ancho, 2), 3,74-3,39 [m, 200, incluye singlete ancho a δ 3,49 para –(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>], 3,34 (s, 8), 3,23, 3,22 (2s, 12), 1,86-1,72 (quintuplete, 4); RP-HPLC (280 nm) 97% (*t<sub>R</sub>* = 14,69 min); RP-LC/MS (ESI) *m/z* 1166,73 (M + H + 2Na)<sup>3+</sup>, 1737,73 (M + H + Na)<sup>2+</sup>, 1209,2 (M + H + Na)<sup>2+</sup> (*t<sub>R</sub>* = 19,13 min, Phenomenex). HRMS (ESI) *m/z* calculado para C<sub>156</sub>H<sub>308</sub>N<sub>6</sub>O<sub>74</sub>Na<sub>3</sub> (M + 3Na)<sup>3+</sup> 1173,0066, encontrado 1173,0101; calculado para C<sub>156</sub>H<sub>308</sub>N<sub>6</sub>O<sub>74</sub>Na<sub>2</sub> (M + 2Na)<sup>2+</sup> 1748,0153, encontrado 1748,0199; calculado para C<sub>156</sub>H<sub>308</sub>N<sub>6</sub>O<sub>74</sub>Na (M + Na)<sup>+</sup> 3473,0415, encontrado 3473,0421.

30 El esquema sintético general se muestra en la Figura 2, donde las variables “x” representan varias unidades de repetición como se describe y muestra adicionalmente en esta memoria.

Ejemplo 3: 3,6-bis(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetracosaoxatetraheptacontan-74-ilamino)-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetracosaoxatriheptacontan-73-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (5)

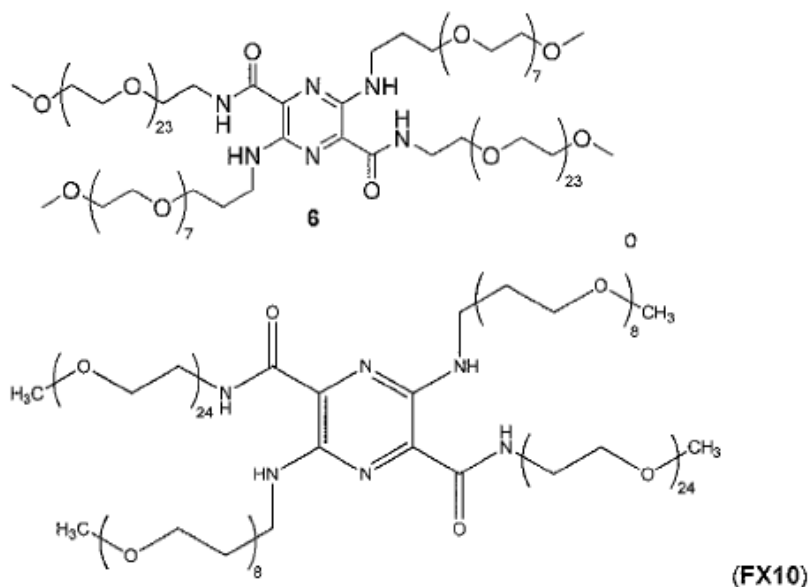




La reacción de 3,6-diamino- $N^2, N^5$ -di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetracosaoxatriheptacontan-73-il)pirazina-2,5-dicarboxamida 4 (2,55 g en bruto, 136% de rendimiento de material, 1,16 mmoles) con m-dPEG<sup>TM</sup><sub>24</sub> propionaldehído (2,60 g, 2,36 mmoles) en la presencia de HOAc (0,20 mL, 2,38 mmoles) y triacetoxiborohidruro sódico (0,508 g, 2,40 mmoles) en DCE (40 mL) se llevó a cabo toda la noche como se describe en la preparación del Ejemplo 2 (incompleto por el análisis de RP-LC/MS). En esta etapa, la mezcla de reacción se trató con más m-dPEG<sup>TM</sup><sub>24</sub> propionaldehído (0,400 g, 0,363 mmoles), HOAc (0,021 mL, 0,363 mmoles), y triacetoxiborohidruro sódico (0,077 g, 0,363 mmoles) como se describe anteriormente, y la reacción se continuó toda la noche (aún incompleta). Después del desarrollo habitual descrito en el Ejemplo 2, el producto en bruto (5,70 g) obtenido se sometió a purificación por RP-HPLC preparativo (XBridge, 20-40% de B/13 min) para dar 5 (0,869 g, 24%) como un sólido rojo ladrillo: <sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 8,42 (t, 2, *J* = 5,8), 7,95 (ancho, 2), 3,63-3,42 [m, 384, s ancha a  $\delta$  3,51 para  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ ], 3,24 (s, 12), 1,80-1,75 (quintuplete, 4); RP-HPLC (280 nm) 96% (*t*<sub>R</sub> = 13,16 min. HRMS (ESI) *m/z* calculado para C<sub>204</sub>H<sub>404</sub>N<sub>6</sub>O<sub>98</sub>Na<sub>4</sub> (M + 4Na)<sup>4+</sup> 1149,6596, encontrado 1149,6617.

El esquema sintético general se muestra en la Figura 2, donde las variables "x" representan varias unidades de repetición como se describen y se muestran adicionalmente en esta memoria.

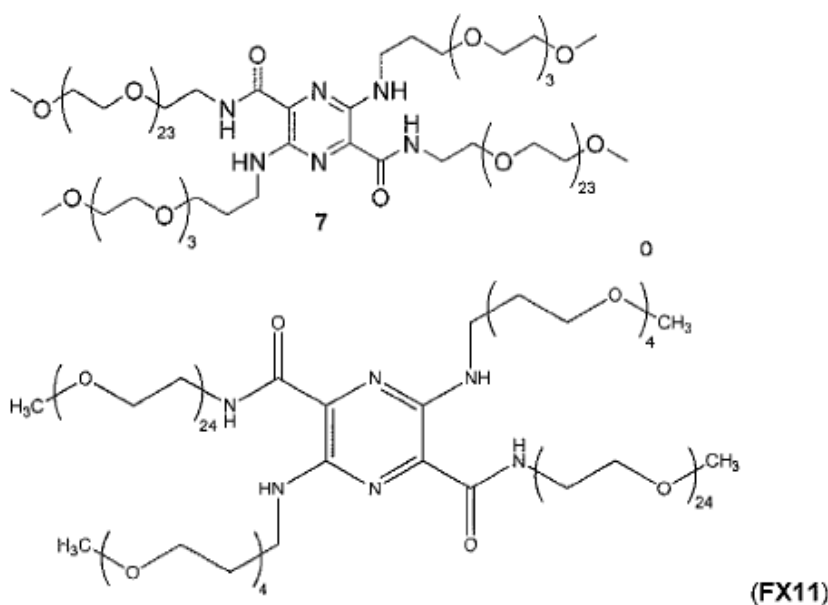
Ejemplo 4: 3,6-bis(2,5,8,11,14,17,20,23-octaoxahexacosan-26-ilamino)- $N^2, N^5$ -di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetracosaoxatriheptacontan-73-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (6)



La reacción de 3,6-diamino- $N^2, N^5$ -di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetracosaoxatriheptacontan-73-il)pirazina-2,5-dicarboxamida 4 (1,45 g en bruto, 142% de rendimiento en material, 0,437 mmoles) con m-dPEG<sup>TM</sup><sub>8</sub> propionaldehído (0,520 g, 1,31 mmoles) en presencia de HOAc (0,070 mL, 1,21 mmoles) y triacetoxiborohidruro sódico (0,280 g, 1,32 mmoles) en DCE (25 mL) se llevó a cabo toda la noche (ca. 18 h) como se describe en la preparación del Ejemplo 2 (incompleto por análisis RP-LC/MS). En esta etapa, la mezcla de reacción se trató con más m-dPEG<sup>TM</sup><sub>8</sub> propionaldehído (0,230 g, 0,580 mmoles), HOAc (0,070 mL, 1,21 mmoles) y triacetoxiborohidruro sódico (0,120 g, 0,566 mmoles) como se describe anteriormente, y la reacción se continuó toda la noche (reacción completa). Después del desarrollo normal descrito en el Ejemplo 2, el producto en bruto (2,03 g) se sometió a purificación por RP-HPLC preparativo (XBridge, 20-40% de B/13 min) para dar rojo ladrillo 6 (0,625 g, 46%): <sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 8,42 (t, 2, *J* = 6,0), 7,90 (ancho, 2), 3,67-3,40 [m, 256, incluye pico ancho a δ 3,50 para -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>], 3,24, 3,23 (2s, 12), 1,80-1,75 (quintuplete, 4); RP-HPLC (280 nm) 99% (*t*<sub>R</sub> = 14,72 min); RP-LC/MS (ESI) *m/z* 1033,7 (M + 3H)<sup>3+</sup>, 1559,3 (M + H + NH<sub>4</sub>)<sup>2+</sup> (*t*<sub>R</sub> = 4,08 min). HRMS (ESI) *m/z* calculado para C<sub>140</sub>H<sub>276</sub>N<sub>6</sub>O<sub>66</sub>Na<sub>2</sub> (M + 2Na)<sup>2+</sup> 1571,9105, encontrado 1571,9145.

El esquema sintético general se muestra en la Figura 2, donde las variables "x" representan varias unidades de repetición como se describen y se muestran adicionalmente en esta memoria.

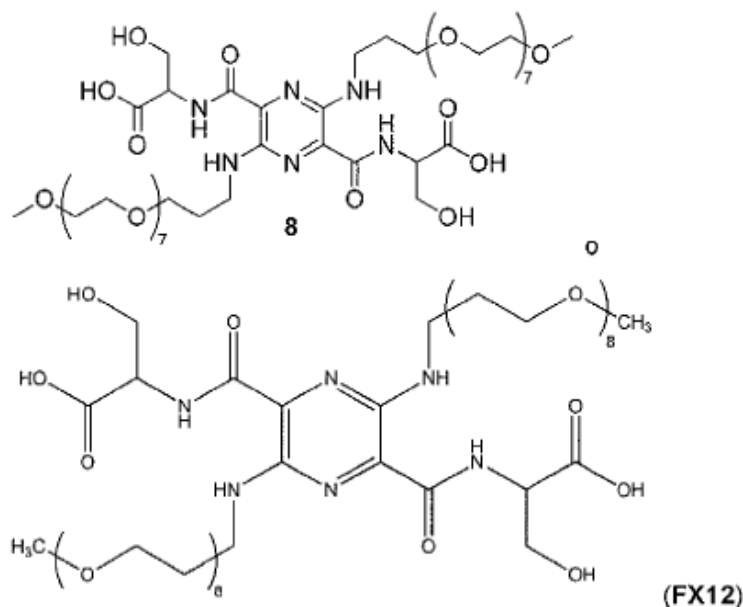
Ejemplo 5: 3,6-bis(2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-ilamino)- $N^2, N^5$ -di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetracosaoxatriheptacontan-73-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (7)



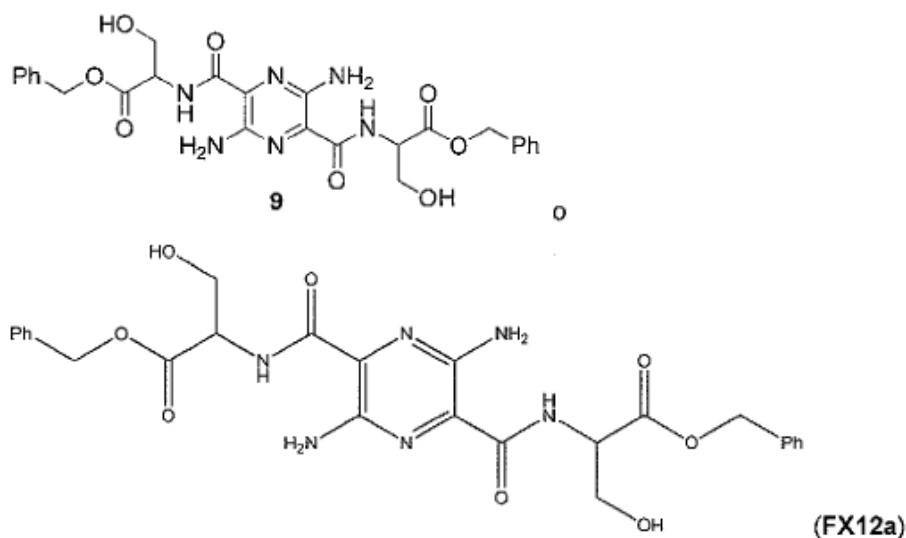
La reacción de 3,6-diamino- $N^2, N^5$ -di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-tetracosaoxatriheptacontan-73-il)pirazina-2,5-dicarboxamida 4 (1,80 g purificados, 0,77 mmoles) con m-dPEG<sup>TM</sup><sub>4</sub> propionaldehído (0,500 g, 2,27 mmoles) en presencia de HOAc (1,00 mL, 17,3 mmoles) y triacetoxiborohidruro sódico (0,481 g, 2,27 mmoles) en DCE (100 mL) se llevó a cabo toda la noche como se describe en la preparación del Ejemplo 2 (incompleto por análisis RP-LC/MS). En esta etapa, la mezcla de reacción se trató con una carga fresca de cantidades similares de los reactivos como se describe anteriormente y se continuó toda la noche (aún incompleto). Después de desarrollo normal descrito en el Ejemplo 2, el producto en bruto se sometió a RP-HPLC preparativo para dar 7 (0,620 g, 29%): <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) s ancho característico a δ 3,65 y singletes a δ 3,39 y 3,38 para restos poli(etilenglicol): RP-HPLC (280 nm) 94% (*t*<sub>R</sub> = 15,36 min); RP-LC/MS (ESI) *m/z* 2747,2 (M + H)<sup>+</sup> (*t*<sub>R</sub> = 4,83 min).

El esquema sintético general se muestra en la Figura 2, donde las variables "x" representan varias unidades de repetición como se describe y se muestra adicionalmente en esta memoria.

Ejemplo 6: 3,6-bis(2,5,8,11,14,17,20,23-octaoxahexacosan-26-ilamino)- $N^2, N^5$ -bis[(R)-1-carboxi-2-hidroxietil]pirazina-2,5-dicarboxamida (8)



Etapa 1. Síntesis de 3,6-diamino- $N^2, N^5$ -bis[(R)-1-(benciloxi)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il]pirazina-2,5-dicarboxamida (9)



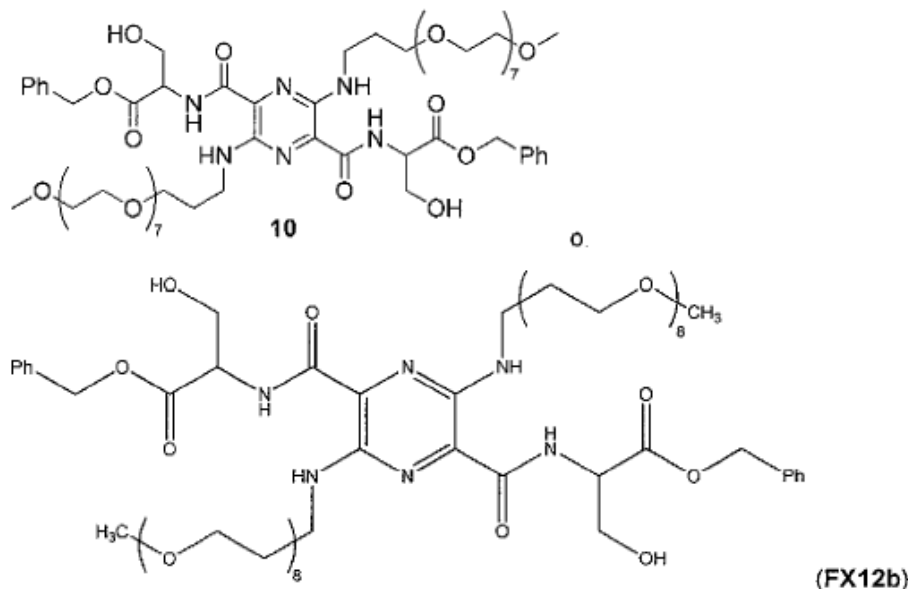
5 Un matraz de fondo redondo de 1 L equipado con un adaptador Claisen y un embudo de adición se cargó con hidrocloreuro de D-serina-benciléster (24,33 g, 105 mmoles) y DMF anhidro se añadió por cánula en él. La disolución incolora resultante se enfrió en un baño de hielo y se agitó durante 15 min en una atmósfera de  $N_2$ . Después se añadió DIPEA (19,16 mL, 110 mmoles) en gotas por medio del embudo de adición durante un periodo de 30 min, y después de 15 min, el baño de enfriamiento se eliminó y se añadió ácido 6-diaminopirazina-2,5-dicarboxílico (9,91 g, 50,0 mmoles) en una porción. La suspensión rojo ladrillo se dejó agitar durante 15 min antes de la adición de HOBt. $H_2O$  (17,61 g, 115 mmoles) en una porción. Después de otros 15 min, el matraz de reacción se enfrió una vez más en un baño de hielo, y se añadió EDC.HCl (22,05 g, 115 mmoles) en porciones durante un periodo de 10 min.

10 La suspensión resultante marrón y de alguna forma más clara se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó toda la noche (ca. 14 h) en  $N_2$ . La disolución oscura se concentró a un residuo tipo jarabe a alto vacío (temperatura del baño  $60^\circ C$ ) que se repartió entre EtOAc y milli-Q  $H_2O$  (400 mL de cada). Las fase se separaron y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con EtOAc (3 x 200 mL) y los extractos de EtOAc combinados se lavaron sucesivamente con  $KHSO_4$  0,50 M,  $NaHCO_3$  saturado,  $H_2O$  y salmuera (250 mL de cada). Los extractos secos ( $Na_2SO_4$ ) se filtraron (Whatman) y se evaporaron al vacío para dejar un fango naranja que se secó a alto vacío durante el fin de semana a 23,7 g de un sólido naranja. El producto en bruto se sometió a cromatografía rápida sobre gel de sílice (EMD 60) usando  $CHCl_3$  a  $CHCl_3$ -MeOH (97:3, v/v) como eluyente en un modo de gradiente (la muestra adsorbida en gel de sílice se cargó en la columna; llevado a cabo en 4 marchas) para dar la bis-amida 9 (19,6 g, 71% como sólido naranja:  $^1H$  RMN (DMSO- $d_6$ ) 8,56 (d, 2,  $J = 8,0$  Hz), 7,40-7,33 (m, 10), 6,76 (s, 4), 5,37 (t, 2,  $J = 5,5$ ), 5,20 (par AB distorsionado, 4), 4,66-4,63 (dt, 2,  $J = 8,0, 4,0$  Hz), 3,97-3,93 (m, 2), 3,81-3,77 (m, 2);  $^{13}C$  RMN (DMSO- $d_6$ ) 170,57, 165,39, 146,90, 136,33, 128,88, 128,48, 128,11, 126,34, 66,70, 61,59, 54,92; RP-LC/MS

20

(ESI)  $m/z$  553,3 ( $M + H$ )<sup>+</sup> ( $t_R = 4,44$  min). HRMS (ESI)  $m/z$  calculado para  $C_{26}H_{29}N_6O_8$  ( $M + H$ )<sup>+</sup> 575,1861, encontrado 575,1859.

Etapa 2. Síntesis de 3,6-bis(2,5,8,11,14,17,20,23-octaohexacosan-26-ilamino)- $N^2,N^5$ -bis[(*R*)-1-benciloxi]-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il]pirazina-2,5-dicarboxamida (10).

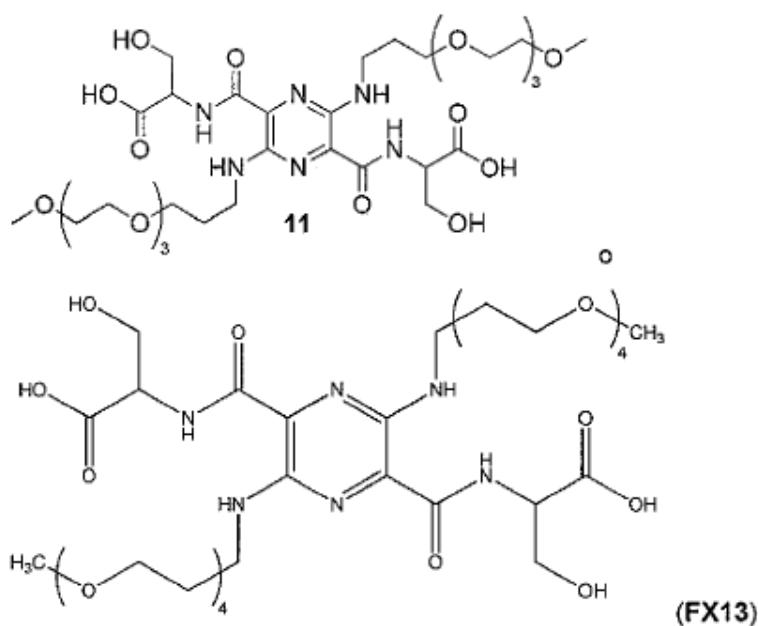


5 Un matraz de fondo redondo de 50 mL equipado con barra de agitación magnética y entrada de argón se cargó con la bis-amida 9 anterior (0,350 g, 0,633 mmoles), m-dPEG<sup>TM</sup><sub>8</sub> propionaldehído (1,00 g, 2,52 mmoles) HOAc (0,190 g, 3,14 mmoles) en DCE (25 mL) y triacetoxiborohidruro sódico (0,537 g, 2,53 mmoles) se añadió y se agitó a temperatura ambiente durante el fin de semana. La reacción se agitó durante 30 min con NaHCO<sub>3</sub> saturado (25 mL), se diluyó con 50 ml de CHCl<sub>3</sub> (50 mL), y la fase orgánica se separó y se lavó con salmuera. Los compuestos orgánicos se secaron y se concentraron al vacío para dar 1,30 g de líquido rojo que se sometió a HPLC preparativo. Las fracciones puras se concentraron al vacío a ½ volumen y se vertieron en una mezcla de NaHCO<sub>3</sub> saturado y salmuera y se extrajeron con CHCl<sub>3</sub> (2 x 150 mL). Los compuestos orgánicos combinados se secaron y se concentraron al vacío para dar bis-benciléster 10 (0,390 g, 47%) como aceite rojo: HRMS (ESI)  $m/z$  calculado para  $C_{62}H_{101}N_6O_{24}$  ( $M + H$ )<sup>+</sup> 1313,6862, encontrado 1313,6907.

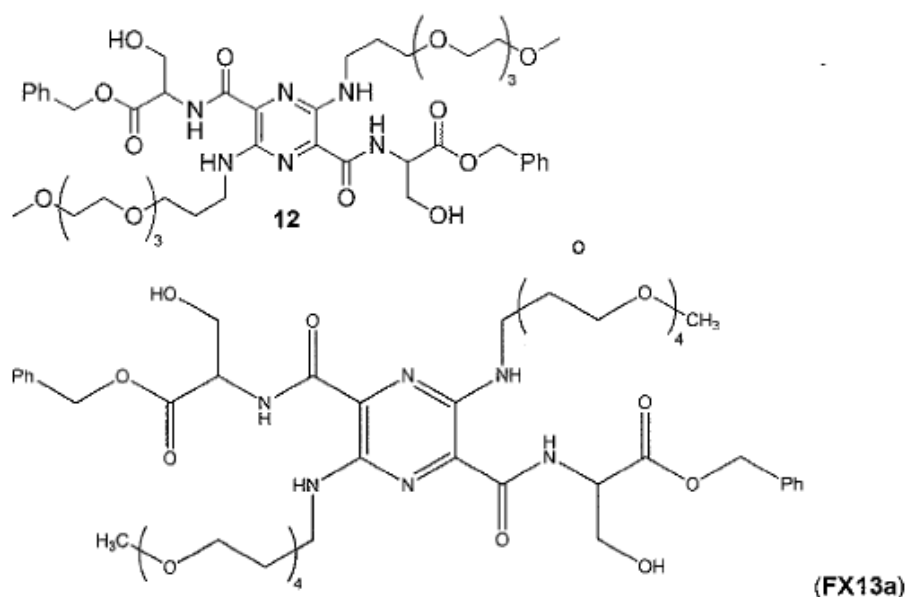
20 Etapa 3. Un matraz de fondo redondo de 250 mL equipado con una barra de agitación magnética se cargó con el bis-benciléster 10 anterior (0,390 g, 0,297 mmoles) y formiato de amonio (0,112 g, 1,78 mmoles) en MeOH (10 mL) y agua (10 mL). A esto se añadió lechada de Pd/C al 10% (0,095 g) en agua (10 mL) y la mezcla de reacción se agitó a 60°C. El análisis RP-LC/MS después de 1 h mostró ~60% de monoéster y el resto material de partida. En esta etapa, se añadieron formiato de amonio adicional (0,112 g, 1,78 mmoles) y Pd/C al 10% (0,095 g) y la reacción se completó en una hora. El catalizador se eliminó por filtración a través de Celite, se lavó con agua desionizada (~100 mL), y los filtrados combinados se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por HPLC preparativo y el producto se concentró *al vacío* y se transfirió a un vial de 4 dracmas con acetonitrilo, se concentró y se secó al vacío para dar 8 (0,300 g, 76%) como aceite rojo: HRMS (ESI)  $m/z$  calculado para  $C_{48}H_{89}N_6O_{24}$  ( $M + H$ )<sup>+</sup> 1133,5923, encontrado 1133,5958.

El esquema sintético general se muestra en la Figura 3, donde las variables “x” representan varias unidades de repetición como se describe y se muestra adicionalmente en esta memoria.

Ejemplo 7: 3,6-bis(2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-ilamino)- $N^2,N^5$ -bis[(*R*)-1-carboxi-2-hidroxi-2-il]pirazina-2,5-dicarboxamida (11)



Etapa 1. 3,6-bis(2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-ilamino)- $N^2,N^6$ -bis[(*R*)-1-(benciloxi)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il]pirazina-2,5-dicarboxamida (**12**).



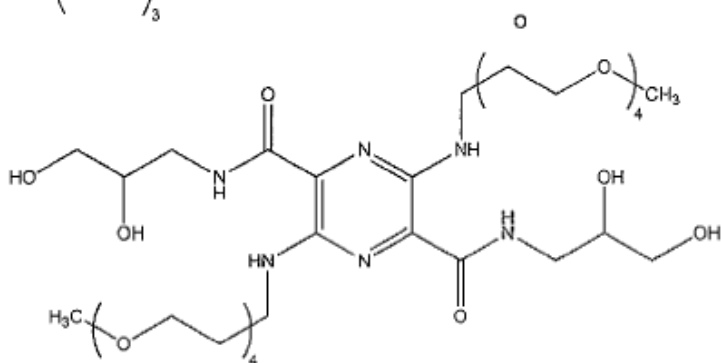
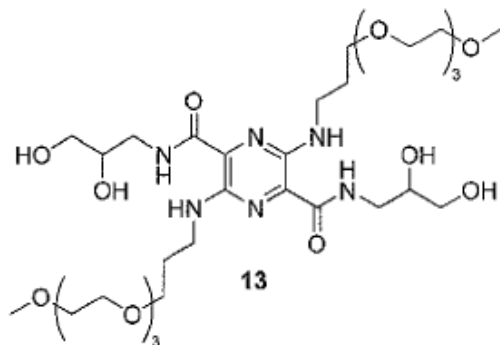
5 Un matraz de fondo redondo de 100 mL equipado con barra de agitación magnética y entrada de argón se cargó con 3,6-diamino- $N^2,N^6$ -bis[(*R*)-1-(benciloxi)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il]pirazina-2,5-dicarboxamida **9** (0,800 g, 1,45 mmoles), m-dPEG<sup>TM</sup><sub>4</sub> propionaldehído (1,00 g, 4,54 mmoles), triacetoxiborohidruro sódico (0,962 g, 4,54 mmoles) en DCE (25 mL) y HOAc (0,50 mL, 8,67 mmoles) se añadió y se agitó a temperatura ambiente toda la noche (RP-LC/MS: ~50% de reacción). La mezcla de reacción se trató con más de m-dPEG<sup>TM</sup><sub>4</sub> propionaldehído (0,508 g, 2,31

10 mmoles), triacetoxiborohidruro sódico (2,24 mmoles) y HOAc (0,50 mL, 8,67 mmoles), y después se agitó toda la noche en argón (aún incompleto). La mezcla de reacción se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL) y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado (2 x 200 mL). La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, los disolventes se eliminaron *al vacío*, y el residuo se sometió a RP-HPLC preparativo para dar el bis-benciléster **12** (0,501 g, 36%).

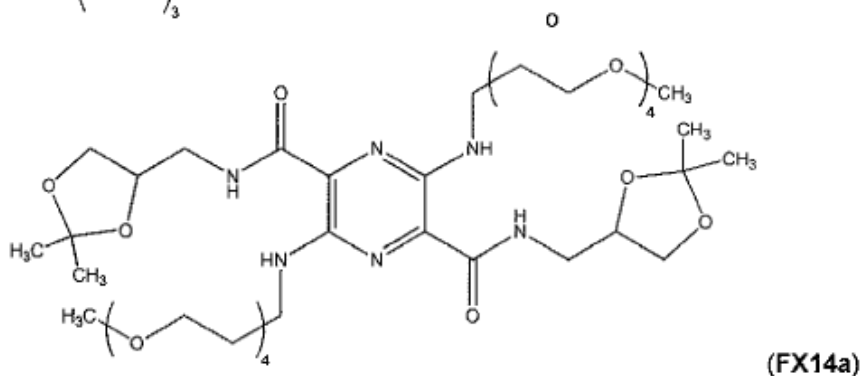
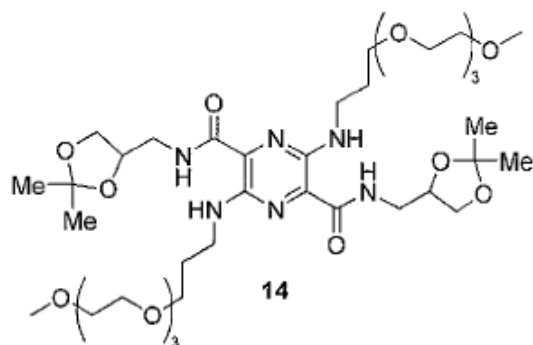
15 Etapa 2. Un matraz de fondo redondo de 50 mL equipado con barra de agitación magnética se cargó con bis-benciléster **12** (0,501 g, 0,521 mmoles), se disolvió en EtOH-H<sub>2</sub>O (20 mL; 3:1, v/v) y se añadió Pd-C al 10% (100 mg) como lechada en agua (1-2 mL). La mezcla de reacción se purgó totalmente con argón y después con H<sub>2</sub> y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h en una atmósfera de H<sub>2</sub>. El catalizador se eliminó por filtración, los disolventes se eliminaron *al vacío*, y el producto en bruto se sometió a purificación por RP-HPLC preparativo para dar **11** (0,108 g, 26%).

El esquema sintético general se muestra en la Figura 3, donde las variables "x" representan varias unidades de repetición como se describen y se muestran adicionalmente en esta memoria.

Ejemplo 8: 3,6-bis(2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-ilamino)-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-bis(2,3-dihidroxipropil)pirazina-2,5-dicarboxamida (13)



5 Etapa 1. 3,6-bis(2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-ilamino)-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil]pirazina-2,5-dicarboxamida (14).



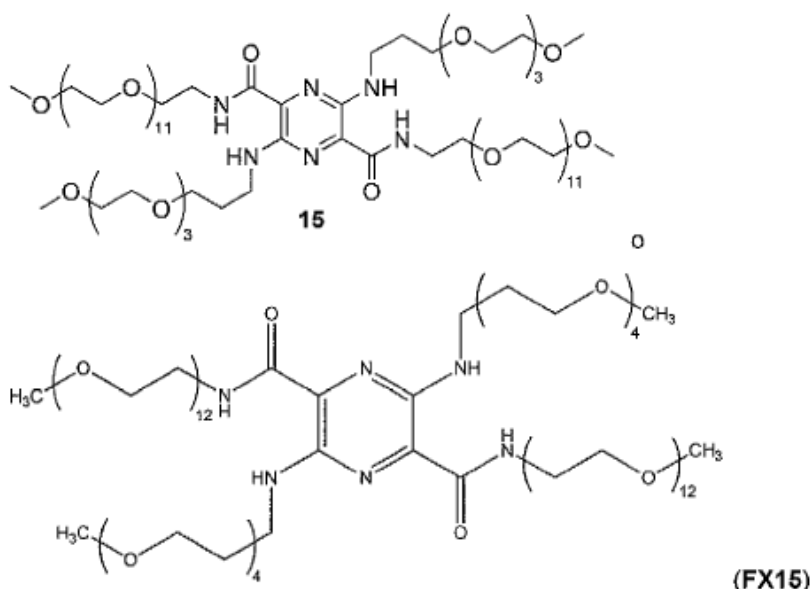
10 A una suspensión amarilla de 3,6-diamino-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-bis[(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil]pirazina-2,5-dicarboxamida de (0,424 g, 1,00 mmoles) en DCE anhidro (25 mL), se añadió m-dPEG<sup>TM</sup><sub>4</sub> propionaldehído (0,661 g, 3,00 mmoles), y el matraz de reacción se sumergió en un baño de hielo. Después se añadió HOAc (0,17 mL, 2,95 mmoles) seguido por la adición de triacetoxiborohidruro sódico (0,628 g, 2,96 mmoles) en pequeñas porciones durante un periodo de 40

min. La suspensión rojiza resultante se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó toda la noche (ca. 20 h) en una atmósfera de argón (incompleta por análisis de RP-LC/MS). La mezcla de reacción se trató con más m-dPEG<sup>TM</sup><sub>4</sub> propionaldehído (0,165 g, 0,749 mmoles), HOAc (0,040 mL, 0,694 mmol), y triacetoxiborohidruro sódico (0,160 g, 0,755 mmol) como se describe anteriormente, y después de 8 h, se apagó por lenta adición de NaHCO<sub>3</sub> saturado (50 mL) a 0°C. El compuesto se extrajo en CHCl<sub>3</sub> (150 mL), la fase orgánica se lavó con agua (50 mL) seguido por salmuera (50 mL), y después se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La eliminación de disolventes dio diacetona 14 (1,15 g) como una goma rojiza que se usó como tal en la siguiente reacción: RP-L/MS (ESI) *m/z* 834,4 (M + H)<sup>+</sup> (*t<sub>R</sub>* = 4,53 min).

Etapa 2. A una disolución rojiza de la dicetona 14 anterior (1,00 mmol) en THF (25 mL), se añadió HCl 1,0 N (5 mL) y se agitó durante 5 h en una atmósfera de argón. La mayoría del THF se eliminó de la mezcla de reacción, se neutralizó por NaOH 1,0 N, y se concentró *al vacío*. El producto en bruto (2,40 g) se sometió a RP-HPLC preparativo (XBridge, 10-50% de B/12 min) para proporcionar diastereómero 13 (0,554 g, 74%) como goma roja: UV ( $\lambda_{max}$ ) 499 nm; <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) 8,66, 8,56 (2 t, 2), 6,24 (s ancho, 6), 4,40 (t, 1,5, *J* = 4,2, 5,2), 4,23-4,15 (m, 1,5), 3,97-3,90 (m, 3), 3,70-3,50 (m, 36), 3,37, 3,36 (2 s, 6), 1,98-1,90 (quintuplete, 4); RP-HPLC (254 nm) 98% (*t<sub>R</sub>* = 17,43 min, 5-50% de B); RP-LC/MS (ESI) *m/z* 754,5 (M + H)<sup>+</sup> (*t<sub>R</sub>* = 3,58 min). HRMS (ESI) *m/z* calculada para C<sub>32</sub>H<sub>61</sub>N<sub>6</sub>O<sub>14</sub> (M + H)<sup>+</sup> 753,4240, encontrada 753,4252.

El esquema sintético general se muestra en la Figura 4, donde las variables "x" representan varias unidades de repetición como se describen y se muestran adicionalmente en esta memoria.

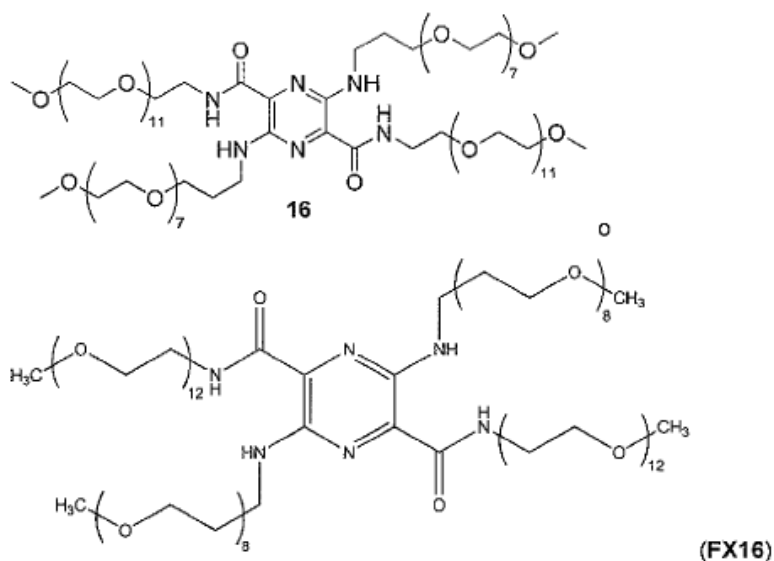
Ejemplo 9: 3,6-bis(2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-ilamino)-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaheptatriacontan-37-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (15)



La reacción de 3,6-diamino-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaheptatriacontan-37-il)pirazina-2,5-dicarboxamida 2 (1,00 g, 0,78 mmoles) con m-dPEG<sup>TM</sup><sub>4</sub> propionaldehído (0,52 g, 2,36 mmoles) en presencia de HOAc (0,13 mL, 2,27 mmoles) y triacetoxiborohidruro sódico (0,50 g, 2,36 mmoles) en DCE anhidro (20 mL) se llevó a cabo toda la noche (ca. 18 h) como se describe en la preparación del Ejemplo 1 (incompleto por análisis RP-LC/MS). En esta etapa, la mezcla de reacción se trató con más m-dPEG<sup>TM</sup><sub>4</sub> propionaldehído (0,17 g, 0,77 mmoles), HOAc (0,130 mL, 2,27 mmoles), y triacetoxiborohidruro sódico (0,17 g, 0,80 mmoles) como se describe anteriormente y la reacción se continuó toda la noche (reacción completada). Después del desarrollo descrito en el Ejemplo 1, el producto en bruto (2,22 g) se sometió a purificación por RP-HPLC preparativo (XBridge, 30-40% de B/25 min) para dar compuesto 15 (0,391 g, 30%) como un aceite rojo: <sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 8,42 (t, 2, *J* = 6,0), 3,40-3,55 [m, 130, incluye picos anchos a  $\delta$  3,50 para -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>], 3,24, 3,22 (2 s, 12), 1,80-1,75 (quintuplete, 4); RP-HPLC (280 nm) 96% (*t<sub>R</sub>* = 15,37 min); RP-LC/MS (ESI) *m/z* 846,2 (M + 2H)<sup>2+</sup>, 1690,9 (M + H)<sup>+</sup> (*t<sub>R</sub>* = 4,07 min). HRMS (ESI) *m/z* calculado para C<sub>76</sub>H<sub>146</sub>N<sub>6</sub>O<sub>34</sub> (M + H)<sup>+</sup> 1690,0109, encontrado 1690,0182; calculado para C<sub>76</sub>H<sub>146</sub>N<sub>6</sub>O<sub>34</sub>Na (M + Na)<sup>+</sup> 1711,9989, encontrado 1711,9929.

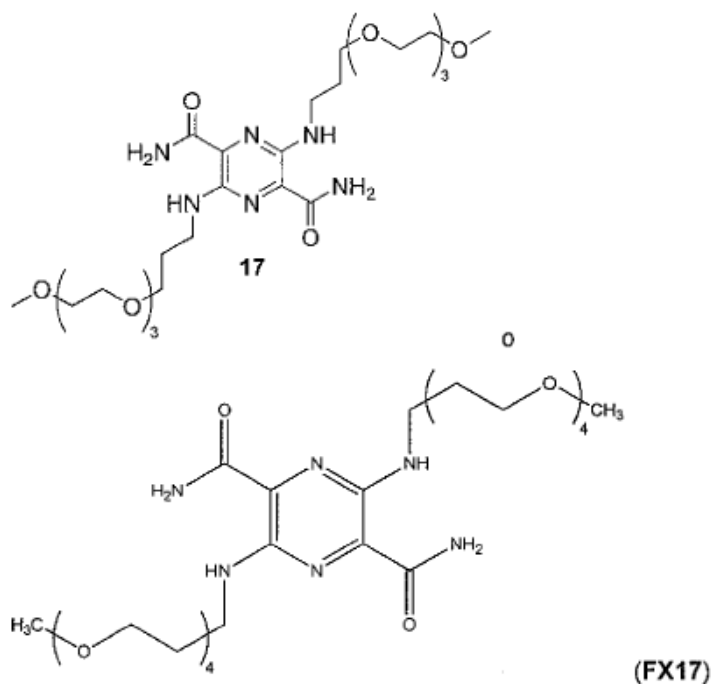
El esquema sintético general se mostró en la Figura 2, donde las variables "x" representan varias unidades de repetición como se describen y se muestran adicionalmente en esta memoria.

Ejemplo 10: 3,6-bis(2,5,8,11,14,17,20,23-octaoxahexacosan-26-ilamino)-*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>5</sup>-di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaheptatriacontan-37-il)pirazina-2,5-dicarboxamida (16)



- La reacción de 3,6-diamino- $N^2, N^5$ -di(2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35-dodecaoxaheptatriacontan-37-il)pirazina-2,5-dicarboxamida 2 (1,00 g, 0,78 mmoles) con m-dPEG<sup>TM</sup><sub>8</sub> propionaldehído (0,93 g, 2,35 mmoles) en presencia de HOAc (0,13 mL, 2,27 mmoles) y triacetoxiborohidruro sódico (0,50 g, 2,36 mmoles) en DCE anhidro (20 mL) se llevó a cabo toda la noche (ca. 18 h) como se describe en la preparación del Ejemplo 1 (incompleto por análisis RP-LC/MS). En esta etapa, la mezcla de reacción se trató con m-dPEG<sup>TM</sup><sub>8</sub> propionaldehído (0,31 g, 0,78 mmoles), HOAc (0,13 mL, 2,27 mmoles), y triacetoxiborohidruro sódico (0,17 g, 0,80 mmoles) como se describe anteriormente, y la reacción se continuó toda la noche (reacción completada). Después del desarrollo descrito en el Ejemplo 1, el producto en bruto (2,41 g) se sometió a purificación por RP-HPLC preparativo (XBridge, 30-40% de B/20 min) para dar compuesto 16 (0,237 g, 15%) como un aceite rojo: <sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 8,41 (t, 2, *J* = 6,0), 3,40-3,55 (m, 162, incluye picos anchos a  $\delta$  3,50 para  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ ), 3,230, 3,227 (2 s, 12), 1,79-1,74 (quintuplete, 4); RP-HPLC (280 nm) 92% (*t<sub>R</sub>* = 13,96 min); RP-LC/MS (ESI) *m/z* 1022,2 (*M* + 2H)<sup>2+</sup> (*t<sub>R</sub>* = 4,09 min); HRMS (ESI) *m/z* calculado para C<sub>92</sub>H<sub>182</sub>N<sub>6</sub>O<sub>42</sub> (*M* + 2H)<sup>2+</sup> 1021,6140, encontrado 1021,5850; calculado para C<sub>92</sub>H<sub>181</sub>N<sub>6</sub>O<sub>42</sub> (*M* + H)<sup>+</sup> 2042,2206, encontrado 2042,2082; calculado para C<sub>92</sub>H<sub>180</sub>N<sub>6</sub>O<sub>42</sub>Na (*M* + Na)<sup>+</sup> 2064,2026, encontrado 2064,30.
- El esquema sintético general se muestra en la Figura 2, donde las variables "x" representan varias unidades de repetición como se describe y se muestra adicionalmente en esta memoria.

Ejemplo 11: 3,6-bis(2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-ilamino)pirazina-2,5-dicarboxamida (17)





A una suspensión en agitación de 3,6-diamino-2,5-pirazinadicarboxamida (0,196 g, 1,00 mmoles) en DCE (10 mL) se añade en el siguiente orden: m-dPEG<sup>TM</sup><sub>4</sub> propionaldehído (0,661 g, 3,00 mmoles), ácido acético glacial (0,180 g, 3,00 mmoles), y triacetoxiborohidruro sódico (0,633 g, 3,00 mmoles). Después de la adición, la mezcla de reacción se agita toda la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con cloruro de metileno (10 mL) y se apaga con NaHCO<sub>3</sub> saturado (5 mL). La fase orgánica se separa, se lava con agua, se seca sobre sulfato sódico anhidro, se filtra, y el filtrado se evapora *al vacío*. El residuo se purifica usando columna de cromatografía rápida en fase inversa C18 20 g usando gradiente de metanol agua (0 a 20% de metanol durante 1 h). Las fracciones deseadas se acumulan y se evaporan *al vacío*.

Ejemplo 12: protocolo para evaluar la función renal

Un ejemplo de un montaje de monitorización renal in vivo 510 se muestra en la Figura 5 e incluye una fuente de luz 512 y un sistema de procesado de datos 514. La fuente de luz 512 generalmente incluye o está interconectada con un dispositivo apropiado para exponer al menos una parte de un cuerpo del paciente a su luz. Ejemplos de dispositivos apropiados que pueden interconectarse con o ser una parte de la fuente de luz 512 incluyen, aunque no están limitados a, catéteres, endoscopios, fibras ópticas, clips de oreja, cintas para la mano, cintas para la cabeza, sensores para la frente, bobinas de superficie y sondas para el dedo. De hecho, cualquiera de un número de dispositivos capaces de emitir luz visible y/o de infrarrojo cercano de la fuente de luz puede emplearse en el montaje de monitorización renal 510.

Aún en referencia a la Figura 5, el sistema de procesado de datos 514 del montaje de monitorización renal 510 puede ser cualquier sistema apropiado capaz de detectar energía espectral y datos de procesado indicativos de la energía espectral. Por ejemplo, el sistema de procesado de datos 514 puede incluir una o más lentes (por ejemplo, para dirigir y/o enfocar la energía espectral), uno o más filtros (por ejemplo, para filtrar longitudes de onda indeseadas de energía espectral), un fotodiodo (por ejemplo, para recoger la energía espectral y convertir la misma en señal eléctrica indicativa de la energía espectral detectada), un amplificador (por ejemplo, para amplificar la señal eléctrica del fotodiodo), y una unidad de procesado (por ejemplo, para procesar la señal eléctrica del fotodiodo). Este sistema de procesado de datos 514 se configura opcionalmente para manipular los datos espectrales recogidos y generar un perfil de intensidad/tiempo y/o una curva de concentración/tiempo indicativa de aclaramiento renal de un compuesto de la presente invención del paciente 520. De hecho, el sistema de procesado de datos 514 puede configurarse para generar datos de función renal apropiados comparando diferencias en las maneras en que las células normales y dañadas eliminan un compuesto de la invención de la corriente sanguínea, para determinar una tasa o una acumulación del compuesto en órganos o tejidos de los pacientes 520, y/o proporcionar imágenes tomográficas de órganos o tejidos que tienen el compuesto asociado con ellos.

En un protocolo para determinar la función renal, una cantidad efectiva de un compuesto de la invención se administra al paciente (por ejemplo, en forma para una composición farmacéuticamente aceptable). Al menos una parte del cuerpo del paciente 520 se expone a luz visible y/o de infrarrojo cercano a partir de la fuente de luz 512 como se indica por la flecha 516. Por ejemplo, la luz de la fuente de luz 512 puede repartirse por medio de una fibra óptica que está adherida a la oreja del paciente 520. El paciente puede exponerse a la luz de la fuente de luz 512 antes y/o después de la administración del compuesto al paciente 520. En algunos casos, puede ser beneficioso generar una lectura de fondo o base de luz que se emite del cuerpo del paciente 520 (debido a la exposición a la luz a partir de la fuente de luz 512) antes de administrar el compuesto al paciente 520. Cuando el compuesto que está en el cuerpo del paciente 520 se expone a la luz de la fuente de luz 512, el compuesto emite luminiscencia, emitiendo luz (indicada por la flecha 518) que se detecta/recoge por el sistema de procesado de datos 514. Inicialmente, la administración del compuesto al paciente 520 generalmente permite una señal espectral inicial indicativa del contenido inicial del compuesto en el paciente 520. La señal espectral tiende a disminuir entonces como una función de tiempo ya que el compuesto se aclara del paciente 520. Esta disminución en la señal espectral como una función de tiempo es indicativa de la función renal del paciente. Por ejemplo, en un primer paciente que muestra función renal sana/normal, la señal espectral puede disminuir de nuevo a una línea base en un tiempo de T. Sin embargo, una señal espectral indicativa de un segundo paciente que muestra función renal deficiente puede disminuir de nuevo a una línea base en un tiempo de T+4 horas. Como tal, el paciente 520 puede exponerse a la luz de la fuente de luz 512 durante cualquier cantidad de tiempo apropiado para proporcionar los datos de función renal deseados. Asimismo, el sistema de procesado de datos 514 puede dejarse que recoja/detecte la energía espectral para cualquier cantidad de tiempo apropiado para proporcionar los datos de función renal deseados.

En referencia ahora a la Figura 6, un ejemplo adicional de un montaje de monitorización in vivo incluye una fuente de radiación electromagnética 610, un detector de radiación electromagnética 670 y un sistema de procesado de datos 680. La fuente de radiación electromagnética 610 generalmente incluye o está interconectada con un dispositivo o dispositivos apropiados 620 para exponer al menos una parte de un cuerpo de sujeto a radiación electromagnética procedente de 630. Ejemplos de dispositivos apropiados 620 que pueden estar conectados de forma operativa a, o ser una parte de, la fuente de radiación electromagnética 610 incluyen, aunque no están limitados a, catéteres, endoscopios, fibras ópticas, clips de oreja, cintas de mano, cintas de cabeza, sensores de frente, bobinas de superficie y sondas de dedo. De hecho, cualquiera de un número de dispositivos capaces de emitir radiación electromagnética visible y/o de infrarrojo cercano puede emplearse en un montaje de monitorización.

El detector de radiación electromagnética 670 del montaje de monitorización puede ser cualquier sistema apropiado capaz de recoger y detectar radiación electromagnética emitida desde un sujeto 690. El detector de radiación electromagnética 670 puede estar conectado de forma operativa a, por ejemplo, uno o más elementos de recogida óptica 650. Los elementos de recogida óptica 650 del montaje de monitorización pueden incluir, entre otros  
 5 elementos, lentes, espejos, filtros y fibras ópticas. Los detectores de radiación electromagnética 670 adecuados para usar con el montaje de monitorización incluyen, aunque no están limitados a, detectores CCD, detectores CMOS, detectores de fotodiodo, detectores en serie de fotodiodos, y detectores de tubo fotomultiplicador.

El sistema de procesado de datos 680 del montaje de monitorización puede ser cualquier sistema apropiado capaz de procesar datos obtenidos del detector de radiación electromagnética 670. Por ejemplo, el sistema de procesado de datos 680 puede incluir un amplificador (por ejemplo, para amplificar una señal eléctrica del detector), y una  
 10 unidad de procesado (por ejemplo, para procesar la señal eléctrica del detector). El sistema de procesado de datos 680 se configura preferiblemente para manipular datos de radiación electromagnética recogidos y generar una intensidad como una función de perfil de tiempo y/o una concentración como una función de curva de tiempo indicativa de aclaramiento de agente detectable, tal como un compuesto de la fórmula (FX1) – (FX25), de un sujeto  
 15 690. De hecho, el sistema de procesado de datos 680 puede configurarse para generar datos apropiados comparando la cantidad o concentración de la composición en la corriente sanguínea o fluido corporal, para determinar una velocidad de excreción o una acumulación de la composición en células, órganos o tejidos del sujeto 690, y/o para proporcionar imágenes tomográficas de células, órganos o tejidos que tienen la composición ópticamente funcional asociada con ellos.

En un protocolo para la monitorización, una cantidad efectiva de una composición, tal como un compuesto de la fórmula (FX1), se administra al sujeto. Al menos una parte del cuerpo del sujeto se expone a radiación electromagnética 630 desde la fuente de radiación electromagnética 610. Por ejemplo, la radiación electromagnética 630 desde la fuente de radiación electromagnética 610 puede repartirse por medio de una fibra óptica 620 que está adherida a una oreja del sujeto 690. El sujeto 690 puede exponerse a la radiación electromagnética 630 de la fuente de radiación electromagnética 610 antes, después o durante la administración de la composición al sujeto 690. En algunos casos, puede ser beneficioso generar una lectura de fondo o base de radiación electromagnética 640 que se emite desde el cuerpo del sujeto 690, debido a la exposición a la radiación electromagnética 630 de la fuente de radiación electromagnética 610, antes de administrar la composición al sujeto 690. Cuando la composición ópticamente funcional que está en el cuerpo del sujeto 690 se expone a la radiación electromagnética 630 de la fuente de radiación electromagnética 610, las composiciones ópticamente funcionales emiten radiación electromagnética 640 que se recoge mediante los elementos de recogida óptica 650 y se detectan por el detector de radiación electromagnética 670. La señal del detector de radiación electromagnética 670 se analiza entonces mediante el sistema de procesado de datos 680.

Ejemplo 13: propiedades fotofísicas y de aclaramiento renal de compuestos ilustrativos

Las propiedades espectrales y farmacocinéticas, propiedades fotofísicas, porcentajes en orina, aclaramiento tisular (óptico) y aclaramientos farmacocinéticos en plasma de algunos compuestos se midieron según los métodos descritos a continuación y en esta memoria. La Tabla 1 muestra los resultados de estas medidas.

Tabla 1. Propiedades fotofísicas, aclaramiento en orina, datos de monitorización óptica y farmacocinéticos de compuestos en los Ejemplos 1-10.

Compuesto	Propiedades fotofísicas		Porcentaje encontrado en orina <sup>a</sup> (6 hrs)	Aclaramiento tisular (óptico) T <sub>1/2</sub> β <sup>a</sup> (min)	farmacocinéticas	
	Excitación	Emisión			T <sub>1/2</sub> β <sup>a</sup> (min)	Aclaramiento <sup>a</sup>
	λ <sub>max</sub> (nm)	λ <sub>max</sub> (nm)				
1	500	605	97 ± 0,4 (3) <sup>b</sup>	19,9 ± 2,4 (3)	18,8 ± 0,6(3) [18,0 ± 0,3 (3)] <sup>c</sup>	3,1 ± 0,2 (3) [3,3 ± 0,1 (3)]
3	499	602	89 ± 2 (3)	20,4 ± 2,0 (4)	30,5 ± 3,2 (3)	2,5 ± 0,2 (3)
5	495	603	86 ± 7 (3)	17,6 ± 0,9 (4)	---	---
6	498	603	92 ± 4 (3)	19,1 ± 0,8 (4)	---	---
7	494	602	97 ± 2 (3)	14,6 ± 1,1 (4)	---	---
8	495	605	61 ± 7 (3)	---	---	---
13	486	607	29 ± 2 (3)	---	---	---
15	492	603	86 ± 1 (3)	---	---	---

Compuesto	Propiedades fotofísicas		Porcentaje encontrado en orina <sup>a</sup> (6 hrs)	Aclaramiento tisular (óptico) T <sub>1/2</sub> β <sup>a</sup> (min)	farmacocinéticas	
	Excitación λ <sub>max</sub> (nm)	Emisión λ <sub>max</sub> (nm)			T <sub>1/2</sub> β <sup>a</sup> (min)	Aclaramiento <sup>a</sup>
16	492	605	87 ± 1 (3)	---	---	---

<sup>a</sup>Dado como media ± EDE. <sup>b</sup>Números en paréntesis indican el número de animales de ensayo.

<sup>c</sup>Números en corchetes corresponden al experimento de provocación con probenecid.

Propiedades fotofísicas y unión de proteína. En general se disuelven compuestos renalmente excretables en tampón de PBS para formar una disolución madre 2 mM. Las propiedades de absorbancia UV se determinan en una disolución 100 μM en PBS usando un sistema espectrofotómetro de Barrido UV-Vis-NIR UV-3101PC de Shimadzu. Las propiedades de fluorescencia (λ<sub>ex</sub>, λ<sub>em</sub> y CPS a λ<sub>em</sub>) se determinan en una disolución 10 μM en PBS usando un sistema de espectrofluorímetro Fluorolog-3 de Jobin Yvon Horiba. El porcentaje de unión a proteína en plasma se determina en una disolución de compuesto 20 μM en plasma de rata incubado a 37°C durante 1 h. La separación de compuesto libre de unido se hace usando un dispositivo Amicon Centrifree YM-30 (Regenerated Cellulose 30.000 MWCO) y una Centrifuga Universal Refrigerada Z400K de Hermlle. La concentración de compuesto libre de proteína se determina por medio de análisis de HPLC usando un conjunto de patrones de calibrado externo y detección de fluorescencia.

Estudios de eliminación en orina. Los estudios de eliminación de orina de rata se realizan en ratas Sprague-Dawley tanto conscientes como anestesiadas. El compuesto de ensayo (1 mL, 2 mM en PBS) se administra por inyección en la vena del rabo en ratas conscientes, sujetas, con la recogida posterior de orina en los puntos temporales de 2, 4 y 6 h posteriores a la inyección. Las cajas metabólicas se lavan con agua para maximizar la recuperación de orina descargada en cada punto temporal. De forma alternativa, las ratas se anestesian con 100 mg/kg de inactina de forma intraperitoneal, un tubo traqueal se inserta para mantener la respiración adecuada, y se inyecta 1 mL de compuesto de ensayo en la vena del rabo lateral. Las ratas se colocan en una almohadilla caliente a 37°C durante todo el experimento. A las 6 h posteriores a la inyección, se abre el abdomen, y la orina se elimina de la vejiga usando una aguja de calibre 21 y una jeringa de 3 cc. La cuantificación de cada compuesto en orina se realiza por medio de análisis HPLC usando un equipo de patrones de calibrado externo y detección de fluorescencia. El porcentaje de recuperación de compuesto en orina en cada punto temporal se calcula en base al equilibrio de masas.

Estudios farmacocinéticos ópticos no invasivos. Las ratas Sprague-Dawley macho (330-380 g) se anestesian mediante inactina (I.P.) o anestesia por gas isoflurano al 2% repartido por una máquina de anestesia por gas de pequeños roedores (RC2, Vetequip, Pleasanton, CA). Los animales se colocan en una tabla caliente donde la temperatura se mantiene entre 36-38°C. Un lóbulo de oreja se pega plano a un portaobjetos de cristal colocado aproximadamente 2 mm por debajo de un haz de fibra óptica para grabar la fluorescencia de un compuesto de ensayo pasando a través de la oreja. Después de grabar una línea base de 100 segundos, se inyecta 1 mL de una disolución 2 mM en la vena del rabo de la rata y la señal de fluorescencia que corresponde a la distribución en plasma y tejido y posterior aclaramiento renal del compuesto se monitoriza en la oreja. Los parámetros farmacocinéticos de los compuestos se analizan usando software de modelado farmacocinético WinNonLin (Pharsight, Mountain View, CA) y Microsoft (Redmond, Washington) Excel. Este método se usa para detectar compuestos renalmente excretables de la invención y la Fig. 8A proporciona una gráfica que ilustra la fluorescencia *in vivo* no invasiva como una función de tiempo después del reparto de un compuesto renalmente excretable.

Aparato y protocolo de monitorización óptica. Un esquema del aparato para detección de fluorescencia *in vivo* no invasiva se muestra en la Figura 7. Se emplea una fuente láser en estado sólido de 473 nm nominal (100) (Power Technology modelo LDCU12/7314). La fuente láser se dirige a un tramo (110) de un haz de fibra óptica bifurcado de sílice (120) (Oriel núm. 77565). El final común de este haz bifurcado (130) se sitúa a aproximadamente a 2 mm de la oreja de rata (140). El segundo tramo del haz de fibra óptica bifurcada (150) se ajusta con una sonda de rayo de colimación (160) (Oriel núm. 77644). Un filtro de paso largo (170) (Semrock LP02-488RS-25) y filtro de interferencia de banda estrecha (180) (Semrock FF01-593/40-25) se colocan en frente de un tubo fotomultiplicador (190) (módulo fotosensor Hamamatsu H7827-011).

Un interruptor (200) (Stanford Research Systems modelo SR540) se coloca después del láser y antes del lanzamiento en el cable bifurcado. La salida del fotosensor se conecta a un amplificador de bloqueo (210) (Stanford Research Systems modelo SR830). El resultado de bloqueo se digitaliza (220) (National Instruments NI-USB-6211) y los datos digitalizados se obtienen por ordenador usando software de adquisición de datos LabVIEW<sup>®</sup> (230).

Estudios farmacocinéticos invasivos. Las ratas Sprague-Dawley macho (330-380 g) se anestesian por inactina (I.P.). Las ratas se instrumentan quirúrgicamente con un tubo traqueal (PE-190) para facilitar la respiración y catéteres en la arteria y vena femoral (PE-50 relleno con 20 unidades/mL de solución salina heparinizada) para el muestreo de sangre y administración de fármaco respectivamente. Después de la administración de 1 mL de una disolución de

agente 2 mM, aproximadamente 200  $\mu$ L de sangre se muestrean y se colocan en un tubo heparinizado (Tubo de marca Microtainer con Heparina de litio, BD 365971) a 0, 1, 6, 12, 18, 30, 45, 60, 90, 120 min. La concentración de compuesto en cada muestra de plasma centrifugada se determina por medio de análisis de HPLC usando un equipo de patrones de calibrado externo y detección de fluorescencia. Los parámetros farmacocinéticos resultantes del compuesto se analizan usando el software de modelado farmacocinético WinNonLin (Pharsight, Mountain View, CA). Este método se usa para detectar los compuestos renalmente excretables de la invención y la Fig. 8B proporciona un gráfico que ilustra PK invasivo (concentración en plasma) como una función del tiempo después del reparto de un compuesto renalmente excretable.

Estudios de inhibición de probenecid. Seis ratas Sprague-Dawley macho se tratan de la misma manera como se describe anteriormente en los estudios farmacocinéticos invasivos. Estas 6 ratas reciben 70 mg/kg de probenecid (Sigma-Aldrich; St. Louis, MO) 10 minutos antes del compuesto de ensayo; esta administración se lava con 0,2 ml de NaCl. Unas 6 ratas adicionales se tratan de la misma forma pero no reciben probenecid.

Correlación de concentración no invasiva e invasiva. Los datos a lo largo del tiempo de un experimento farmacocinético (PK) en plasma invasivo y un experimento de monitorización óptica no invasiva se usan para correlacionar la fluorescencia *in vivo* con la concentración en plasma. Representando la respuesta unitaria de fluorescencia respecto a la media de tres marchas de monitorización óptica frente a valores de concentración a partir de un experimento PK invasivo para cada punto temporal, puede demostrarse una buena correlación para un compuesto renalmente excretable. La Fig. 9 proporciona un gráfico que ilustra dicha correlación lineal. Los parámetros de PK se determinan a partir de los datos de aclaramiento óptico. La tasa de filtración glomerular (TFG) se estima con seguridad razonable a partir del valor de aclaramiento farmacocinético derivado del análisis directo de los datos de monitorización óptica no invasiva.

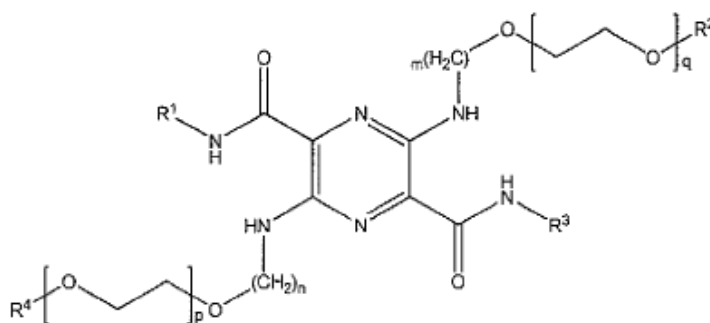
Ejemplo 14. Visualización de compuestos durante la cirugía.

Los compuestos de cualquier fórmula (FX1) - (FX25) pueden usarse en un procedimiento quirúrgico para visualizar los fluidos corporales, órganos y tejidos. Los compuestos de cualquier fórmula (FX1)- (FX25), por ejemplo, pueden administrarse a un sujeto y dejarse recoger en fluidos corporales, órganos, tejidos o sistemas seleccionados, tal como orina y el sistema renal. El área quirúrgica puede entonces iluminarse con radiación electromagnética, por ejemplo, radiación electromagnética de longitud de onda seleccionada sobre el intervalo de 350 nanómetros a 900 nanómetros. El cirujano será entonces capaz de ver luminiscencia del compuesto administrado que se habría expuesto el compuesto a la radiación electromagnética de iluminación. Por ejemplo, si un fluido corporal, tal como orina, que contiene el compuesto administrado, se expone a la radiación electromagnética de iluminación, el cirujano verá la luminiscencia resultante de ella.

Una vez administrados a un sujeto, los compuestos de cualquier fórmula (FX1) - (FX25) permiten más resultados quirúrgicos exitosos, por ejemplo debido a la capacidad del cirujano de identificar esos fluidos corporales y órganos, tal como el sistema renal, que contienen los compuestos administrados. La identificación de estos fluidos y órganos permite al cirujano evitar el daño indeseado a órganos y tejidos que no son diana durante la cirugía. Si, sin embargo, un órgano o tejido que comprende el compuesto administrado se daña, la luminiscencia desde el compuesto administrado en los fluidos corporales a o cerca del sitio del daño alertará al cirujano del daño. El cirujano puede entonces tomar medidas correctivas y reducir así la extensión del daño al sujeto.

Ejemplo 15: derivados de pirazina modificada y usos de los mismos

En una realización, se proporcionan los siguientes compuestos y métodos. Se anota que las definiciones de variable se pretende que se usen solo en este ejemplo.



Fórmula I

En un primer aspecto, la presente invención se dirige a compuestos de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables. Con respecto a la Fórmula I, cada uno de  $R^1$  y  $R^3$  es independientemente  $-H$ ,  $-(CH_2)_z(CH_2CH_2O)_aR^5$ ,  $-(CH_2CH_2O)_aR^5$ ,  $-CH(COOH)CH_2OH$  o alquilo  $C_3$ - $C_6$  polihidroxilado. Además, cada uno de  $R^2$ ,  $R^4$  y  $R^5$  es

independientemente –H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>. Cada suceso de “m”, “n” y “z” varía independientemente de 3 a 6, inclusive. Además, cada suceso de “p” y “q” varía independientemente de 1 a 99, inclusive, y cada suceso de “a” varía independientemente de 1 a 100, inclusive.

5 Con respecto a la Fórmula I, R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> son independientemente –H, -(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>a</sub>R<sup>5</sup>, -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>a</sub>R<sup>5</sup>, -CH(COOH)CH<sub>2</sub>OH o alquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> polihidroxilado. Por ejemplo, en algunas realizaciones, cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> es –CH(COOH)CH<sub>2</sub>OH. En otras realizaciones, cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> es -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>a</sub>R<sup>5</sup>. En aún otras realizaciones, cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> polihidroxilado (por ejemplo, cada uno es alquilo C<sub>3</sub> polihidroxilado, o cada uno es alquilo C<sub>3</sub> o C<sub>4</sub> polihidroxilado). En incluso otras realizaciones, cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> es –H. En aún otras realizaciones, cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>a</sub>R<sup>5</sup>.

10 Aún en referencia a compuestos de Fórmula I, R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son independientemente –H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>. Por ejemplo, en algunas realizaciones, cada suceso de R<sup>5</sup> puede ser independientemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> (por ejemplo, cada suceso de R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1</sub>). En algunas realizaciones, cada uno de R<sup>2</sup> y R<sup>4</sup> es –H. En otras realizaciones, cada uno de R<sup>2</sup> y R<sup>4</sup> es independientemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> (por ejemplo, cada uno de R<sup>2</sup> y R<sup>4</sup> es alquilo C<sub>1</sub>). “m” varía independientemente de 3 a 6, inclusive. Por ejemplo, en algunas realizaciones, “m” puede ser 3 o 4 (por ejemplo, “m” puede ser 3 en algunas realizaciones). Asimismo, “n” varía independientemente de 3 a 6, inclusive. Por ejemplo, en algunas realizaciones, “n” puede ser 3 o 4 (por ejemplo, “n” puede ser 3 en algunas realizaciones). Uno de los beneficios de “m” y “n” que varían independientemente de 3 a 6 es que el derivado de pirazina puede “ajustarse” a una longitud de onda deseada. A este respecto, un derivado de pirazina que tiene tanto “m” como “n” igual a 3 puede absorber y/o emitir luminiscencia a longitudes de onda de luz respectivas que son mayores que (por ejemplo, aproximadamente 10-15 nm mayores que) las de un derivado de pirazina generalmente similar donde tanto “m” como “n” son iguales a 2. Un fenómeno similar podría observarse potencialmente moviéndose de 3 a 4, de 4 a 5, y/o de 5 a 6. Por consiguiente, los derivados de pirazina de la Fórmula I pueden diseñarse para absorber y/o emitir luminiscencia a longitudes de onda de luz que pueden penetrar tejidos mejor que las de longitudes de onda de luz menores.

25 Aún en referencia a compuestos de Fórmula I, cada suceso de “p” y “q” varía independientemente de 1 a 99, inclusive. Por ejemplo, en algunas realizaciones, cada uno de “p” y “q” varía independientemente de 2 a 40, inclusive. En otras realizaciones, cada uno de “p” y “q” varía independientemente de 3 a 23, inclusive.

30 Con respecto a las diversas posibilidades para R<sup>1</sup> y R<sup>3</sup> en la Fórmula I, cada suceso de “z” varía independientemente de 3 a 6, inclusive. Por ejemplo, cada suceso de “z” puede ser 3 o 4 en algunas realizaciones. Además, cada suceso de “a” varía independientemente de 1 a 100, inclusive. Por ejemplo, en algunas realizaciones, cada suceso de “a” puede variar independientemente de 10 a 40, inclusive. En otras realizaciones, cada suceso de “a” varía independientemente de 12 a 24, inclusive.

35 Un segundo aspecto de la invención se dirige a composiciones farmacéuticamente aceptable, cada una de las cuales incluye un compuesto (o sal farmacéuticamente aceptable del mismo) descrito en esta memoria y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Aún un tercer aspecto de la invención se dirige a métodos para visualizar el sistema urinario y determinar la función renal usando un compuesto (o sal farmacéuticamente aceptable del mismo) de Fórmula I. En estos métodos, una cantidad efectiva del compuesto se administra al cuerpo de un paciente (por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano o animal). El compuesto en el cuerpo del paciente se expone a luz visible y/o de infrarrojo cercano. Debido a esta exposición del compuesto a la luz, el compuesto emite luminiscencia de energía espectral que puede detectarse mediante equipo de detección apropiado. Por ejemplo, la luminiscencia del compuesto puede detectarse usando un mecanismo de detección apropiado tal como una sonda óptica invasiva o no invasiva. El sistema urinario puede visualizarse y/o la función renal puede determinarse en base a la luminiscencia detectada. Por ejemplo, una cantidad inicial del compuesto presente en el cuerpo de un paciente puede determinarse mediante una magnitud/intensidad de luminiscencia del compuesto que se detecta (por ejemplo, en la corriente sanguínea del paciente). Como el compuesto se aclara del cuerpo, la magnitud/intensidad de luminiscencia detectada tiende a disminuir. Por consiguiente, una velocidad a la que esta magnitud de luminiscencia detectada disminuye puede correlacionarse con una velocidad de aclaramiento renal del paciente. Esta detección puede hacerse periódicamente o en esencialmente tiempo real (proporcionando una monitorización esencialmente continua de función renal). De hecho, los métodos de la presente invención permiten que la función/aclaramiento renal se determine por medio de la detección de uno o ambos de un cambio y una velocidad de cambio de la magnitud detectada de luminiscencia.

Ejemplo 16: formación de imágenes ópticas usando compuestos de pirazina

55 En general, las moléculas que absorben, emiten o difunden en la región visible o NIR del espectro electromagnético son útiles para la medida óptica. La alta sensibilidad asociada con la fluorescencia permite la detección sin los efectos negativos de la radioactividad o radiación ionizante. Los compuestos de pirazina de la invención absorben fuertemente en las regiones del rojo y NIR. Además, las propiedades electrónicas de estos sistemas son muy sensibles a patrones de sustitución en el anillo del compuesto de pirazina y permite el “ajuste” de las propiedades de absorción y emisión usando la información descrita en esta memoria.

En una realización de este aspecto, la invención proporciona un método de uso de un agente óptico, por ejemplo, en un procedimiento biomédico para la formación de imágenes ópticamente o la visualización de un tejido diana o una clase de tejidos diana. Los presentes métodos incluyen métodos de formación de imágenes y visualización selectivos de tejido, tal como formación de imágenes o visualización de tejido renal. Un método de este aspecto comprende la etapa de administrar una cantidad diagnósticamente efectiva de un compuesto a un sujeto, en donde el compuesto es un compuesto que tiene cualquiera de las fórmulas (FX1) a (FX25) o un preparado farmacéutico de los mismos. Los presentes métodos son útiles para aspectos de la formación de imágenes o visualización del sistema renal, por ejemplo.

En métodos de este aspecto, el compuesto que se ha administrado al sujeto se expone entonces *in vivo* a radiación electromagnética y la radiación electromagnética emitida o difundida por el compuesto se detecta entonces. En algunas realizaciones, la fluorescencia se excita a partir del compuesto (por ejemplo, debido a la exposición a radiación electromagnética), opcionalmente por medio de procedimientos de excitación de multifotones. En una realización particularmente útil para la formación de imágenes y/o visualización, el método de este aspecto comprende además: (i) exponer un compuesto, tal como un compuesto que tiene cualquiera de la fórmula (FX1) a (FX25), administrada al sujeto por radiación electromagnética capaz de excitar la emisión del compuesto; y (ii) medir la emisión del compuesto. En algunas realizaciones, los métodos de la presente invención usan excitación de fluorescencia por medio de la exposición a luz que tiene longitudes de onda seleccionadas sobre el intervalo de 400-1300 nm. Por ejemplo, la tomografía por coherencia óptica (TCO) es una técnica de formación de imágenes ópticas compatibles con los presentes compuestos que permite la formación de imágenes transversales de alta resolución de microestructura tisular. Los métodos TCO usan longitudes de onda de aproximadamente 1280 nm. El uso de radiación electromagnética que tiene longitudes de onda seleccionadas sobre un intervalo de 700 nanómetros a 1300 nanómetros puede ser útil para algunos métodos de formación de imágenes ópticas *in situ* de la presente invención, que incluyen aplicaciones biomédicas para la formación de imágenes de órganos, tejidos y/o tumores, visualización anatómica, cirugía guiada por medios ópticos y procedimientos endoscópicos. Los compuestos en métodos presentes pueden funcionar como agentes de contraste, sondas ópticas y/o elementos indicadores. Los métodos de la presente invención incluyen formación de imágenes y visualización *in vivo*, *in vitro* y *ex vivo*. La presente invención proporciona métodos para un intervalo de procedimientos clínicos, que incluyen métodos de formación de imágenes ópticas y/o cirugía guiada por visualización y/o diagnóstico endoscópico y procedimientos terapéuticos.

Las técnicas utilizadas para detectar la energía espectral del derivado de pirazina que está presente en el cuerpo pueden diseñarse para detectar solo longitudes de onda seleccionadas (o intervalos de longitud de onda) y/o pueden incluir uno o más filtros espectrales apropiados. Varios catéteres, endoscopios, clips de oreja, cintas de cabeza, bobinas de superficie, sondas de dedo, y similares pueden utilizarse para exponer el derivado de pirazina a la luz y/o para detectar la luz que se emite de ella. Esta detección de energía espectral puede conseguirse a una o más veces de forma intermitente o puede ser esencialmente continua.

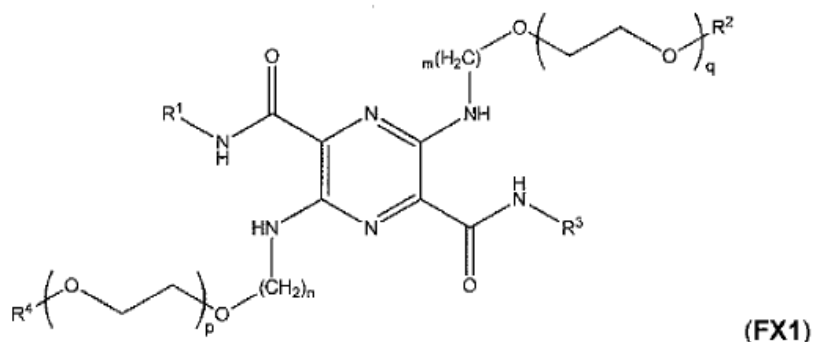
Preferiblemente, la energía no ionizante se administra al sujeto o muestra para detectar o formar imágenes de uno compuesto de la invención. Como se usa en esta memoria, el término "energía no ionizante" generalmente se refiere a radiación electromagnética que no porta suficiente energía para eliminar completamente al menos un electrón de un átomo o molécula del cuerpo del paciente. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la energía no ionizante puede incluir energía espectral que oscila en longitud de onda de aproximadamente 350 nm a aproximadamente 1200 nm. En algunas realizaciones, la energía no ionizante puede simplemente incluir luz visible y/o de infrarrojo cercano.

En una realización, las propiedades espectrales de los compuestos de la invención pueden ajustarse a intervalos de longitud de onda deseados para la excitación y/o emisión. Esto puede ser útil, por ejemplo, en el desarrollo de una técnica de formación de imágenes particular usando una fuente de excitación conocida.

Ejemplo 17: Métodos para monitorizar la función del órgano usando compuestos de pirazina.

La invención proporciona composiciones y métodos para monitorizar la función del órgano en un sujeto. En una realización, la presente invención proporciona un método de uso de un agente detectable, comprendiendo el método:

(i) administrar una cantidad diagnósticamente efectiva de un agente detectable a un sujeto, por ejemplo administrando el agente detectable en un fluido corporal del sujeto, en donde el agente detectable se separa diferencialmente de un fluido corporal por el órgano o tejido; comprendiendo el agente detectable un compuesto que tiene fórmula (FX1), o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

$R^1$  y  $R^3$  son cada uno independientemente  $-H$ ,  $-(CH_2)_a(CH_2CH_2O)_bR^5$ ,  $-CH(COOH)CH_2OH$  o  $-(CH_2)_aY^1$ ;

5 cada  $Y^1$  es independientemente  $-OR^6$ ,  $-(CHOH)_cR^7$ ,  $-NR^8R^9$ ,  $-CONR^8R^9$ ,  $-NHCO(CHOH)_cR^7$  o  $-NHCO(CH_2)_a(CH_2CH_2O)_bR^5$ ;

cada uno de  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  y  $R^7$  son independientemente  $-H$  o alquilo  $C_1-C_6$ ;

$R^8$  y  $R^9$  son independientemente  $-H$ , alquilo  $C_1-C_3$ ,  $-(CH_2)_a(CHOH)_cR^7$ , o  $-(CH_2)_a(CH_2CH_2O)_bR^5$ ;

cada  $a$  y  $c$  es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 0 a 6;

cada  $b$  es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 1 a 120;

10 cada  $p$  y  $q$  es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 0 a 120;

cada uno de  $m$  y  $n$  es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 3 a 6;

(ii) exponer el agente detectable en un fluido corporal a radiación electromagnética para excitar la emisión desde el agente detectable;

(iii) medir la emisión desde el agente detectable que está en un fluido corporal; y

15 (iv) determinar la función fisiológica del órgano o tejido del sujeto en base a la medida de la emisión. En una realización, por ejemplo, el órgano o tejido es un riñón, o tejido o células del mismo, del sujeto. En una realización, por ejemplo, el órgano o tejido es un hígado, o tejido o células del mismo, del sujeto.

20 En una realización, un método de la invención de monitorización de la función orgánica comprende administrar a un paciente un compuesto que tiene cualquiera de la fórmula seleccionada de (FX1)-(FX25), que incluye cualquiera de las clases de composiciones específicas y compuestos descritos en conexión con la fórmula (FX1) – (FX25). Como se entenderá por un experto en la técnica, los presentes métodos de monitorización de la función orgánica incluyen expresamente métodos de uso de agentes ópticos en donde el agente detectable incluye las clases de compuesto, compuestos y todas las variaciones de los mismos, descritos en esta memoria, que incluyen las clases de compuestos, compuestos y variaciones descritas en conexión con cualquiera de las fórmulas (FX1) – (FX25).

25 En una realización, por ejemplo, el método comprende además excitar y medir la fluorescencia del agente detectable en el sujeto para una pluralidad de tiempos después de la administración del agente detectable. En una realización, un perfil temporal de fluorescencia del agente detectable administrado al sujeto se determina y evalúa con respecto a la caracterización del funcionamiento del órgano, por ejemplo, midiendo una velocidad de cambio en la fluorescencia (por ejemplo, una disminución en la fluorescencia) como una función del tiempo, y comparando  
30 opcionalmente la velocidad medida de cambio en la fluorescencia a una velocidad de cambio característica de un sujeto que tiene un órgano sano o un sujeto que tiene un proceso de enfermedad conocido. La función orgánica puede evaluarse en los presentes métodos comparando las diferencias en la manera en que las células normales y dañadas eliminan el agente detectable (también denominado como un indicador en este contexto) de la corriente sanguínea, midiendo el aclaramiento o acumulación de estos indicadores en los órganos o tejidos, y/u obteniendo  
35 imágenes tomográficas de los órganos o tejidos. El aclaramiento de acumulación de sangre puede medirse de forma no invasiva a partir de capilares superficiales convenientes tales como los encontrados en un lóbulo de oreja o un dedo o pueden medirse de forma invasiva usando un catéter endovascular. La acumulación del indicador en las células de interés puede evaluarse de un modo similar. El aclaramiento de los compuestos indicadores puede determinarse seleccionando longitudes de onda de excitación y filtros para los fotones emitidos. Las curvas de  
40 concentración frente al tiempo y/o curvas de intensidad de fluorescencia frente a tiempo pueden analizarse (preferiblemente, aunque no necesariamente a tiempo real) por un microprocesador o similar.

Los sistemas y métodos de la presente invención pueden incluir opcionalmente un montaje o dispositivo de monitorización óptica para detectar agentes ópticos de la invención. Un ejemplo de un montaje de monitorización óptica de estado de enfermedad *in vivo* incluye una fuente de radiación electromagnética, un detector de radiación electromagnética y un sistema de procesado de datos. La fuente de radiación electromagnética generalmente incluye o está interconectada con un dispositivo o dispositivos apropiados para exponer al menos una parte de un cuerpo de un paciente a radiación electromagnética de ellos. Ejemplos de dispositivos apropiados que pueden estar conectados de forma operativa a, o ser una parte de, la fuente de radiación electromagnética incluyen, aunque no están limitados a, catéteres, endoscopios, fibras ópticas, clips de oreja, cintas de mano, cintas de cabeza, sensores de frente, bobinas de superficie y sondas de dedo. De hecho, cualquiera de un número de dispositivos capaces de emitir radiación electromagnética visible y/o de infrarrojo cercano puede emplearse en un montaje de monitorización óptico.

El detector de radiación electromagnético del montaje de monitorización óptico puede ser cualquier sistema apropiado capaz de recoger, detectar y medir la intensidad de radiación electromagnética emitido desde un sujeto. El detector de radiación electromagnética puede estar conectado de forma operativa a, por ejemplo, uno o más elementos de recogida óptica. Los elementos de recogida óptica del montaje de monitorización óptica pueden incluir, entre otros elementos, lentes, espejos, filtros ópticos (por ejemplo, filtros de paso de banda y filtros de corte) y fibras ópticas. Los detectores de radiación electromagnética adecuados para usar con el montaje de monitorización óptico de estado de enfermedad incluyen, aunque no están limitados a, detectores CCD, detectores CMOS, detectores de fotodiodo, detectores de series de fotodiodos y detectores de tubo fotomultiplicador.

El sistema de procesado de datos del montaje de monitorización óptica puede ser cualquier sistema apropiado capaz de procesar de datos obtenidos del detector de radiación electromagnética. Por ejemplo, el sistema de procesado de datos puede incluir un amplificador (por ejemplo, para amplificar una señal eléctrica del detector) y una unidad de procesado (por ejemplo, para procesar la señal eléctrica del detector). El sistema de procesado de datos se configura preferiblemente para manipular los datos de radiación electromagnética recogidos y generar una intensidad como una función de perfil de tiempo y/o una concentración como una curva de función de tiempo indicativa del aclaramiento de un agente óptico, conjugado, bioconjugado o composición de bioconjugado integrado de la presente invención de un sujeto. De hecho, el sistema de procesado de datos puede configurarse para generar los datos de estado de enfermedad o estado de salud apropiados comparando diferencias en la cantidad de células normales y dañadas en la corriente sanguínea, determinar una tasa o una acumulación de la composición en células, órganos o tejidos del sujeto, y/o proporcionar imágenes tomográficas de células, órganos o tejidos que tienen el agente óptico, conjugado, bioconjugado o composición bioconjugada integrada asociados con eso.

En un protocolo para la monitorización óptica, una cantidad efectiva de una composición que tiene la fórmula (FX1) – (FX25) que incluye un agente óptico, conjugado, bioconjugado o bioconjugado integrado de la invención se administra al sujeto. Al menos una parte del cuerpo del sujeto se expone a radiación electromagnética visible y/o de infrarrojo cercano desde la fuente de radiación electromagnética. Por ejemplo, la radiación electromagnética de la fuente de radiación electromagnética puede repartirse por medio de una fibra óptica que se fija a una oreja del sujeto. El sujeto puede estar expuesto a radiación electromagnética procedente de la fuente de radiación electromagnética antes, durante o después de la administración de la composición al sujeto. En algunos casos, puede ser beneficioso generar una lectura de fondo o base de radiación electromagnética que se emite del cuerpo del sujeto, debido a la exposición a la radiación electromagnética desde la fuente de radiación electromagnética, antes de administrar la composición al sujeto. Cuando los agentes ópticos, conjugados, bioconjugados o bioconjugados integrados de la composición que están en el cuerpo del sujeto se exponen a la radiación electromagnética desde la fuente de radiación electromagnética, los agentes ópticos, conjugados, bioconjugados o bioconjugados integrados emiten radiación electromagnética que se recoge mediante elementos de recogida óptica y se detecta por el detector de radiación electromagnética. La señal procedente del detector de radiación electromagnética se analiza entonces mediante el sistema de procesado de datos.

Inicialmente, la administración de la composición al sujeto generalmente permite una señal de radiación electromagnética indicativa del contenido del(de los) agente(s) óptico(s), conjugado(s), bioconjugado(s) o bioconjugado(s) integrado(s) en el sujeto. En algunas realizaciones, la señal de radiación electromagnética tiende a decaer como una función de tiempo ya que el(los) agente(s) óptico(s), conjugado(s), bioconjugado(s) o bioconjugado(s) integrado(s) se aclara(n) del sujeto. En un sujeto con un estado de enfermedad saludable, la señal de radiación electromagnética decaerá a cerca del nivel base ya que el(los) agente(s) óptico(s), conjugado(s), bioconjugado(s) o bioconjugado(s) integrado(s) se aclara(n) del sujeto. En un sujeto con una condición de enfermedad insalubre, el(los) agente(s) óptico(s), conjugado(s), bioconjugado(s) o bioconjugado(s) integrado(s) no se aclarará(n) por el sujeto durante la escala de tiempo de la monitorización, o se aclarará(n) a una velocidad que difiere de la velocidad de aclaramiento del estado de enfermedad saludable. Como resultado, la señal de radiación electromagnética puede disminuir a una velocidad diferente. De forma alternativa, la señal de radiación electromagnética puede no disminuir al nivel base, sino que permanecerá a un nivel elevado. La diferencia entre este nivel de señal de radiación electromagnética aumentada (o velocidad de decaimiento) y el nivel base (o velocidad de decaimiento) puede ser indicativo de un estado de enfermedad en el sujeto. Algunos métodos de la presente invención comprenden además comparar la velocidad de decaimiento de la intensidad de fluorescencia a un número de diferentes tiempos para así evaluar el estado de la función orgánica. Como tal, el sujeto puede



exponerse a la radiación electromagnética procedente de la fuente de radiación electromagnética para cualquier cantidad de tiempo apropiada para proporcionar los datos de monitorización del estado de enfermedad deseado. Asimismo, la recogida de radiación electromagnética, detección y sistemas de procesado de datos puede dejarse que se recoja y se detecte la radiación electromagnética para cualquier cantidad de tiempo apropiado para proporcionar los datos de monitorización del estado de enfermedad deseados.

Además de las técnicas no invasivas, se ha desarrollado un catéter de la arteria pulmonar modificado que puede usarse para hacer medidas deseadas. Esto es una mejora distinta sobre los catéteres de la arteria pulmonar habituales que miden solo presiones intravasculares, potencia cardiaca y otras medidas derivadas de flujo sanguíneo. Los pacientes críticamente enfermos habituales se gestionan usando estos parámetros pero dependen del muestro de sangre intermitente y ensayo para la evaluación de la función renal. Estos parámetros de laboratorio representan datos discontinuos y se confunden frecuentemente en muchas poblaciones de pacientes. Todavía, de forma importante, están dependiendo fuertemente de la evaluación del paciente, decisiones del tratamiento y dosificación de fármacos.

El catéter de la arteria pulmonar modificado incorpora un sensor óptico en la punta de un catéter de arteria pulmonar estándar. Este sensor óptico específico de la longitud de onda puede monitorizar la eliminación específica a la función renal de una entidad química diseñada, ópticamente detectable. Así, mediante un método esencialmente análogo a una curva de dilución de tinte, la función renal a tiempo real puede monitorizarse por la desaparición del compuesto detectado ópticamente. La modificación apropiada de un catéter de arteria pulmonar estándar generalmente incluye meramente la fabricación del sensor de fibra óptica específica de la longitud de onda. Los catéteres que incorporan tecnología de fibra óptica para medir la saturación de oxígeno venoso mixto existen actualmente.

En una realización de este aspecto, la presente invención proporciona un método de monitorización de un estado o condición fisiológica de un paciente que se somete a tratamiento. En este método, una cantidad efectiva de un agente óptico de la presente invención se administra a un mamífero (por ejemplo, un paciente que se somete a tratamiento). Además, el agente óptico que se ha administrado se expone a radiación electromagnética. Además, se detecta la radiación electromagnética transmitida, difundida o emitida por el agente óptico. En algunas realizaciones, un cambio en las longitudes de onda o intensidades de radiación electromagnética emitidas por el agente óptico que se ha administrado al mamífero puede detectarse y/o medirse, opcionalmente como una función de tiempo. Los métodos de este aspecto de la presente invención incluyen *in situ*, métodos a tiempo real de monitorización de la función renal en el mamífero, en donde el agente óptico se aclara mediante el sistema renal del sujeto.

En una realización particularmente útil para monitorizar la función fisiológica de un órgano o tejido de un sujeto, el método de este aspecto comprende adicionalmente: (i) exponer el agente detectable en el fluido corporal a radiación electromagnética para excitar la emisión del agente detectable; (ii) medir la emisión del agente detectable que está en el fluido corporal; y (iii) determinar la función fisiológica del órgano o tejido del sujeto en base a la medida de la emisión. La presente invención incluye la detección de fluorescencia de un agente que se aclara de la corriente sanguínea por los riñones. Así, la evaluación de la función renal por la detección de fluorescencia *in vivo* está abarcada en el alcance de la invención. La invención puede usarse también para monitorizar la eficacia de la hemodiálisis. El órgano o tejido en algunos métodos es un riñón, o tejido o células del mismo, del sujeto, en donde la presente invención proporciona métodos para monitorizar la función renal del sujeto.

Los métodos de este aspecto de la presente invención pueden además comprender una variedad de etapas opcionales, que incluyen el análisis de la emisión medida del agente óptico como una función de tiempo, tal como sobre un periodo que oscila de 10 minutos a 48 horas. En una realización, por ejemplo, el método comprende además medir un parámetro o perfil de aclaramiento de sangre del agente detectable administrado al sujeto. Un método de este aspecto comprende además comparar el parámetro o perfil de aclaramiento de sangre del agente detectable administrado al sujeto a un parámetro o perfil de aclaramiento de sangre de referencia. Los parámetros de aclaramiento de sangre útiles para este aspecto de la invención incluyen velocidades instantáneas y/o promedio de aclaramiento del agente detectable. Un método de este aspecto comprende además comparar la emisión del sujeto o función del mismo con uno o más valores de referencia de emisión o una función del mismo de un sujeto de referencia. En algunas realizaciones, medir la emisión del agente detectable comprende medir la emisión del agente detectable en el fluido corporal a una pluralidad de tiempos diferentes. El aclaramiento de una pluralidad de indicadores separados puede determinarse de forma simultánea seleccionando las longitudes de onda de excitación y filtros para la radiación electromagnética emitida. Las curvas de concentración frente al tiempo o intensidad de fluorescencia frente al tiempo pueden analizarse a tiempo real mediante un microprocesador. Las velocidades de aclaramiento resultantes pueden calcularse y representarse para el impacto clínico inmediato. En los casos donde están presentes compuestos de competición sin marca, una muestra de sangre sencilla puede analizarse para la concentración de estos compuestos de competición y los resultados usarse para calcular un flujo (micromoles/minuto) a través de rutas de aclaramiento.

De acuerdo con una realización de la presente invención, un método se describe para determinar la función celular y/u orgánica midiendo el aclaramiento de acumulación de sangre de un agente óptico, a veces denominado en esta memoria como un indicador. La función celular y/u orgánica puede determinarse por la velocidad con que estas

células eliminan el indicador de la corriente sanguínea. La función puede también evaluarse midiendo la velocidad con que las células de interés acumulan el indicador o lo convierten en una forma activa u otra forma. El agente puede dirigirse a un grupo de células u órgano que es un sistema de aclaramiento de alta capacidad. El agente puede ser un agente óptico que comprende un compuesto de pirazina, o derivado o conjugado del mismo que incluye bioconjugado, tal como las composiciones proporcionadas en las fórmulas (FX1) – (FX25). Para los agentes ópticos que contienen un componente de pirazina, el aclaramiento de acumulación de sangre puede medirse usando un dispositivo fotodetector de fuente de luz que mide la absorbancia o fluorescencia tisular en un sitio que no es diana, tal como un lóbulo de oreja, dedo, cerebro o retina. La acumulación del indicador en las células de interés puede evaluarse en una forma similar. La detección de dicha acumulación puede facilitarse usando fluoróforos que emiten en las longitudes de onda del infrarrojo cercano ya que los tejidos corporales son relativamente transparentes a estas longitudes de onda.

La presente invención puede usarse para la evaluación de cabecera rápida de funciones biológicas. Por ejemplo, los datos en la función renal pueden obtenerse en menos de sesenta minutos a la cabecera después de una inyección intravenosa sencilla. De acuerdo con una realización, un paciente puede recibir una inyección de bolo de una pluralidad (por ejemplo, tres) de compuestos diferentes, cada uno que contiene un agente óptico diferente (por ejemplo, fluoróforo, tinte, cromóforo).

En una realización, el método comprende exponer al agente detectable en el fluido corporal a radiación electromagnética que tiene longitudes de onda seleccionadas sobre el intervalo de 350 nm a 1300 nm. Opcionalmente, la excitación se alcanza usando la radiación electromagnética esencialmente libre (por ejemplo, menos que aproximadamente 10% de la energía radiante total), de radiación ultravioleta por ejemplo para minimizar la exposición del sujeto a la radiación electromagnética capaz de provocar daño celular o tisular indeseado. La excitación de agentes ópticos puede proporcionarse por un amplio intervalo de técnicas y fuentes ópticas como se conoce en la técnica, que incluye el uso de láser, fibra óptica y/o fuentes ópticas y métodos endoscópicos. La presente invención incluye métodos que usa la excitación de multifotones de agentes ópticos. En una realización, el método comprende medir la fluorescencia del agente detectable que tiene longitudes de onda seleccionados sobre el intervalo de 350 nm a 1300 nm. La detección de emisión, que incluye fluorescencia, puede alcanzarse por un amplio intervalo de técnicas y sistemas de detección como se conoce en la técnica, que incluye la detección a ojo (por ejemplo, visualización) y la detección bidimensional o tridimensional.

Ejemplo 18: Formulaciones farmacéuticas

Cantidad terapéuticamente efectiva

La toxicidad y eficacia diagnóstica de compuestos de la invención puede determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales para determinar la LD<sub>50</sub> (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED<sub>50</sub> (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico que puede expresarse como la relación LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>. Se prefieren los compuestos que muestran grandes índices terapéuticos. Aunque los compuestos que muestran efectos secundarios tóxicos pueden usarse, debería tenerse cuidado para diseñar un sistema de reparto que minimice el daño potencial a células y reduzca los efectos secundarios.

Los datos obtenidos de los ensayos de cultivo celular y estudios animales pueden usarse en la formulación de un intervalo de dosificaciones para usar en seres humanos y otros mamíferos. La dosificación de dichos compuestos cae preferiblemente en un intervalo de concentraciones de plasma circulante u otro fluido corporal que incluyen las ED<sub>50</sub> y proporciona resultados efectivos de formación de imágenes (es decir, capacidad para formar imágenes o diagnosticar un proceso o sistema). La dosificación puede variar en este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la ruta de administración utilizada. Para cualquier compuesto de la presente invención, la cantidad visualmente efectiva puede estimarse inicialmente a partir de los ensayos de cultivo celular. Una dosificación puede formularse en modelos animales para alcanzar un intervalo de concentración en plasma circulante que incluye la IC<sub>50</sub> (la concentración del compuesto de ensayo que alcanza una inhibición máxima de la mitad de los síntomas) como se determina en el cultivo celular. Dicha información puede usarse para determinar con exactitud las dosificaciones útiles en seres humanos y otros mamíferos. Los niveles de compuesto en plasma pueden medirse, por ejemplo, por cromatografía líquida de alto rendimiento.

Como se usa en esta memoria, un “fluido corporal” es un líquido que se origina dentro de un organismo vivo. Un fluido corporal puede ser excretable o secretable del cuerpo. La sangre y los componentes sanguíneos son ejemplos particulares de fluidos corporales.

Como se usa en esta memoria, “próximo” significa cerca o en. Por ejemplo, un sensor se coloca próximo a una fuente de emisión de luz si el sensor puede detectar la emisión de luz. Como se usa en esta memoria, “función renal” es una medida del funcionamiento del sistema renal o componente del mismo. El sistema renal incluye los riñones, arteria renal y sistema urinario.

Una cantidad de un compuesto que puede combinarse con un vehículo farmacéuticamente aceptable para producir una forma de dosificación sencilla variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración.

Se apreciará por los expertos en la técnica que el contenido unitario de un compuesto contenido en una dosis individual de cada forma de dosificación no necesita en si mismo constituir la cantidad de formación de imágenes efectiva, ya que la necesaria cantidad efectiva de formación de imágenes podría alcanzarse por administración de un número de dosis individuales. La selección de la dosificación depende de la forma de dosificación utilizada, y el propósito particular a alcanzar según la determinación de los expertos en la técnica.

La dosificación y el régimen de dosificación para formar una imagen de una enfermedad o proceso puede seleccionarse de acuerdo con una variedad de factores, que incluyen el tipo, edad, peso, sexo, dieta y/o condición médica del paciente, la ruta de administración, consideraciones farmacológicas tales como perfiles de actividad, eficacia, farmacocinética y/o toxicología del compuesto particular empleado, si un sistema de reparto de compuesto se utiliza, y/o si el compuesto se administra como un pro-fármaco o parte de una combinación de fármacos. Así, el régimen de dosificación realmente empleado puede variar ampliamente de sujeto a sujeto, o enfermedad a enfermedad y rutas diferentes de administración pueden emplearse en diferentes marcos clínicos.

Los sujetos son preferiblemente animales (por ejemplo, mamíferos, reptiles y/o aves), más preferiblemente seres humanos, caballos, vacas, perros, gatos, ovejas, cerdos y/o pollos, y lo más preferiblemente seres humanos.

En una realización, la invención proporciona un medicamento que comprende una imagen o cantidad diagnósticamente efectiva de una o más composiciones de la invención, tal como un compuesto de cualquiera de las fórmulas (FX1) - (FX25). En una realización, la invención proporciona un método para fabricar un medicamento para la formación de imágenes o diagnóstico de un proceso descrito en esta memoria tal como insuficiencia renal o trastorno del sistema renal. En una realización, la invención proporciona un método para fabricar un medicamento para la diagnosis o ayuda en la diagnosis de un proceso descrito en esta memoria. En una realización, la invención proporciona el uso de una o más composiciones presentadas en esta memoria para la fabricación de un medicamento.

Los compuestos de la invención pueden tener formas de profármaco. Los profármacos de los compuestos de la invención son útiles en realizaciones que incluyen composiciones y métodos. Cualquier compuesto que se convertirá *in vivo* para proporcionar una forma biológicamente, farmacéuticamente o diagnósticamente activa de un compuesto de la invención es un profármaco. Varios ejemplos y formas de profármacos se conocen bien en la técnica. Ejemplos de profármacos se encuentran, entre otros, en Design of Prodrugs, editado por H. Bundgaard (Elsevier, 1985), Methods in enzymology, Vol. 42, en págs. 309-396, editado por K. Widder, et. al., (Academic Press, 1985); A Textbook of Drug Design and Development, editado por Krosgaard-Larsen y H. Bundgaard, Capítulo 5, "Design and Application of Prodrugs", por H. Bundgaard, en págs. 113-191, 1991); H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, Vol. 8, págs. 1-38 (1992); H. Bundgaard, et. al., Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 77, pág. 285 (1988); y Nogradý (1985) Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, Nueva York, páginas 388-392). Un profármaco, tal como un profármaco farmacéuticamente aceptable puede representar profármacos de los compuestos de la invención que son, en el alcance del juicio médico sonado, adecuado para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica, indebidas, y similares, proporcional con una relación beneficio/riesgo razonable y efectivo para su uso pretendido. Los profármacos de la invención pueden transformarse rápidamente *in vivo* a un compuesto madre de un compuesto descrito en esta memoria, por ejemplo, por hidrólisis en sangre o por otros procedimientos de la célula, tejido, órgano o sistema. Se proporciona discusión adicional en T. Higuchi y V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, V. 14 de la A.C.S. Symposium Series, y en Edward B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press (1987).

La invención contempla compuestos farmacéuticamente activos o bien sintetizados químicamente o formados por biotransformación *in vivo* a los compuestos descritos en esta memoria.

En una realización, una composición de la invención se aísla o purifica. En una realización, un compuesto aislado o purificado puede estar al menos parcialmente aislado o purificado como se entendería en la técnica. En una realización, la composición de la invención tiene una pureza química de 95%, opcionalmente para algunas aplicaciones 99%, opcionalmente para algunas aplicaciones 99,9%, opcionalmente para algunas aplicaciones 99,99% de pureza, y opcionalmente para algunas aplicaciones 99,999% de pureza.

Típicamente, un compuesto de la invención o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra a un sujeto en una cantidad efectiva diagnósticamente o en formación de imágenes. Un experto en la técnica puede determinar generalmente una dosificación apropiada. Los factores que afectan a un régimen de dosificación particular (que incluye la cantidad de compuesto repartido, frecuencia de administración, y si la administración es continua o intermitente) incluyen, por ejemplo, el tipo, edad, peso, sexo, dieta y condición del sujeto; el tipo de proceso patológico y su gravedad; y la naturaleza del efecto terapéutico deseado. Las consideraciones farmacológicas incluyen perfiles de actividad de compuesto, eficacia, farmacocinética y toxicológico de compuesto particular usado; la ruta de administración y si un sistema de reparto de fármaco se utiliza; y si el compuesto se administra como parte de una terapia de combinación (por ejemplo, si el agente se administra en combinación con uno o más compuestos activos distintos, otros agentes, radiación y similar).

Las composiciones para la administración oral pueden prepararse, por ejemplo, de una manera tal que una única dosis en una o más preparaciones orales contienen al menos aproximadamente 20 mg del compuesto de pirazina por metro cuadrado de área superficial del cuerpo del sujeto, o al menos aproximadamente 50, 100, 150, 200, 300, 400 o 500 mg del compuesto de pirazina por metro cuadrado de área superficial del cuerpo del sujeto (el área superficial del cuerpo promedio para un ser humano es, por ejemplo, 1,8 metros cuadrados). En particular, una dosis única de una composición para la administración oral puede contener de aproximadamente 20 a aproximadamente 600 mg, y en ciertos aspectos de aproximadamente 20 a aproximadamente 400 mg, en otro aspecto de aproximadamente 20 a aproximadamente 300 mg, y en aún otro aspecto de aproximadamente 20 a aproximadamente 200 mg del compuesto de pirazina por metro cuadrado de área superficial del cuerpo del sujeto.

Las composiciones para la administración parenteral pueden prepararse en una manera tal que una única dosis contiene al menos aproximadamente 20 mg del compuesto de pirazina por metro cuadrado de área superficial del cuerpo del sujeto, o al menos aproximadamente 40, 50, 100, 150, 200, 300, 400 o 500 mg del compuesto de pirazina por metro cuadrado de área superficial del cuerpo del sujeto. En particular, una dosis única en una o más preparaciones parenterales contiene de aproximadamente 20 a aproximadamente 500 mg, y en ciertos aspectos de aproximadamente 20 a aproximadamente 400 mg, y en otro aspecto de aproximadamente 20 a aproximadamente 450 mg, y en aún otro aspecto de aproximadamente 20 a aproximadamente 350 mg del compuesto de pirazina por metro cuadrado de área superficial del cuerpo del sujeto. Debería reconocerse que estos intervalos de dosificación oral y parenteral representan generalmente intervalos de dosificación preferidos, y no se pretende limitar la invención. El régimen de dosificación empleado actualmente puede variar ampliamente, y por lo tanto, puede desviarse del régimen de dosificación generalmente preferido. Se contempla que un experto en la técnica ajustará estos intervalos al sujeto individual.

Se contempla además que los compuestos y sales de pirazina de esta invención pueden usarse en forma de un kit que es adecuado para usar en la realización de los métodos descritos en esta memoria, empaquetados en un envase. El kit puede contener los compuestos de pirazina y, opcionalmente, diluyentes apropiados, dispositivos o componentes de dispositivo adecuados para la administración e instrucciones para el uso según los métodos de la invención. Los dispositivos pueden incluir dispositivos de inyección parenteral, tales como jeringas o parches transdérmicos o similares. Los componentes de dispositivo pueden incluir cartuchos para el uso en dispositivos de inyección y similares. En un aspecto, el kit incluye una primera forma de dosificación que incluye un compuesto de pirazina o sal de esta invención y una segunda forma de dosificación que incluye otro ingrediente activo en cantidades suficientes para llevar a cabo los métodos de la invención. La primera forma de dosificación y la segunda forma de dosificación juntas pueden incluir una cantidad diagnósticamente efectiva de los compuestos para la formación de imágenes o diagnóstico del(de los) proceso(s) diana.

Esta invención también se dirige, en parte, a composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad diagnósticamente efectiva de un compuesto o sal de esta invención, además de procedimientos para hacer dichas composiciones. Dichas composiciones generalmente incluyen uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, excipientes, vehículos, agentes auxiliares, adyuvantes, diluyentes) y pueden incluir otros ingredientes activos. La formulación de estas composiciones puede alcanzarse por diversos métodos conocidos en la técnica. Una discusión general de estos métodos pueden encontrarse en, por ejemplo, Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA: 1975). Véase también, Lachman, L., eds., Pharmaceutical Dosage Forms (Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980).

La composición preferida depende de la ruta de administración. Cualquier ruta de administración puede usarse mientras la diana del compuesto o sal farmacéuticamente aceptable esté disponible por medio de esa ruta. Las rutas adecuadas de administración incluyen, por ejemplo, administración oral, intravenosa, parenteral, por inhalación, rectal, nasal, tópica (por ejemplo, transdérmica e intraocular), intravascular, intratecal, enteral, pulmonar, intralinfática, intracavital, vaginal, transuretral, intradérmica, aural, intramamaria, bucal, ortotópica, intratraqueal, intralesional, percutánea, endoscópica, transmucosa, sublingual e intestinal.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en conjunto con los compuestos de la invención se conocen bien por los expertos en la técnica. Los vehículos pueden seleccionarse en base a un número de factores que incluyen, por ejemplo, el(los) compuesto(s) de pirazina particular(es) o sal(es) farmacéuticamente aceptable(s) usada(s); la concentración de compuesto, estabilidad y biodisponibilidad pretendida; el proceso a tratar; la edad, tamaño y condición general del sujeto; la ruta de administración; etc. Una discusión general relacionadas con los vehículos puede encontrarse en, por ejemplo, J.G. Nairn, Remington's Pharmaceutical Science, págs. 1492-1517 (A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1985)).

Las formas de dosificación sólida para la administración oral incluyen, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, cápsulas de gel, píldoras, grageas, pastillas, polvos, gránulos y pastillas para chupar. En dichas formas de dosificación sólida, los compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden combinarse con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden mezclarse con vehículos que incluyen, aunque no están limitados a, lactosa, sacarosa, polvo de almidón, almidón de maíz, almidón de patata, carbonato de magnesio, celulosa microcristalina, ésteres de celulosa de ácidos alcanoicos, alquilésteres de celulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales sódicas y de calcio de ácidos fosfórico y sulfúrico, carbonato sódico, agar, manitol, sorbitol, sacarina sódica, gelatina, goma

arábica, ácido alginico, alginato sódico, tragacanto, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa sódica, polivinilpirrolidona y/o poli(alcohol de vinilo), y entonces se forman comprimidos o se encapsulan para la conveniente administración. Dichas cápsulas o comprimidos pueden contener una formulación de liberación controlada, como puede proporcionarse en una dispersión del compuesto o sal en hidroxipropilmetilcelulosa. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden incluir agentes de tamponado, tales como citrato sódico, o carbonato o bicarbonato de magnesio o calcio. Los comprimidos y píldoras pueden adicionalmente incluir, por ejemplo, un recubrimiento (por ejemplo, un recubrimiento entérico) para retrasar la desintegración y absorción. La concentración del compuesto de pirazina en una forma de dosificación oral sólida puede ser de aproximadamente 5 a aproximadamente 50%, y en ciertos aspectos de aproximadamente 8 a aproximadamente 40%, y en otro aspecto de aproximadamente 10 a aproximadamente 30% en peso en base al peso total de la composición.

Las formas de dosificación líquida de los compuestos de la invención para la administración oral incluyen, por ejemplo, emulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes usados normalmente en la técnica (por ejemplo, agua). Dichas composiciones también pueden incluir adyuvantes, tal como agentes humectantes, emulsificante, de suspensión, aromatizantes (por ejemplo, edulcorantes) y/o de perfumado. La concentración del compuesto de pirazina en la forma de dosificación líquida puede ser de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg, y en ciertos aspectos de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 mg, y en otro aspecto de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 mg por ml de la composición. Bajas concentraciones de los compuestos de la invención en forma de dosificación líquida pueden prepararse en el caso de que el compuesto de pirazina sea más soluble a bajas concentraciones. Las técnicas para fabricar formas de dosificación oral útiles en la invención se describen generalmente en, por ejemplo, *Modern Pharmaceutics*, Capítulos 9 y 10 (Banker & Rhodes, Editors (1979)). Véase también, Lieberman et al., *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* (1981). Véase también, Ansel, *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms* (2ª Edición (1976)).

En algunos aspectos de la invención, los comprimidos o polvos para la administración oral pueden prepararse disolviendo el compuesto de pirazina en un disolvente farmacéuticamente aceptable capaz de disolver el compuesto para formar una disolución y después evaporar cuando la disolución se seca al vacío. Un vehículo puede añadirse también a la disolución antes de secar. La disolución resultante puede secarse al vacío para formar un cristal. El cristal puede mezclarse entonces con un aglutinante para formar un polvo. Este polvo puede mezclarse con cargas u otros agentes de formación de comprimidos convencionales, y después procesarse para formar un comprimido. De forma alternativa, el polvo puede añadirse a un vehículo líquido para formar una disolución, emulsión, suspensión o similar.

En algunos aspectos, las disoluciones para la administración oral se preparan disolviendo el compuesto de pirazina en un disolvente farmacéuticamente aceptable capaz de disolver el compuesto para formar una disolución. Un volumen apropiado de un vehículo se añade a la disolución mientras se agita para formar una disolución farmacéuticamente aceptable para la administración oral.

“Administración parenteral” incluye inyecciones subcutáneas, inyecciones intravenosas, inyecciones intraarteriales, inyecciones intraorbitales, inyecciones intracapsulares, inyecciones intraespinales, inyecciones intraperitoneales, inyecciones intramusculares, inyecciones intraesternales e infusión. Las formas de dosificación adecuadas para la administración parenteral incluyen disoluciones, suspensiones, dispersiones, emulsiones y cualquier otra forma de dosificación que puede administrarse parenteralmente.

Los preparados inyectables (por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles) pueden formularse según la técnica conocida usando agentes de dispersión, agentes humectantes y/o agentes de suspensión adecuados. Los vehículos aceptables para uso parenteral incluyen disolventes acuosos y no acuosos farmacéuticamente aceptables. Los disolventes acuosos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, por ejemplo, agua, soluciones salinas, disoluciones de dextrosa (por ejemplo, tal como DW5), disoluciones de electrolito, etc.

En una realización, los presentes compuestos de pirazina se formulan como nanopartículas o micropartículas. El uso de dichas formulaciones de nanopartículas o micropartículas puede ser beneficioso para algunas aplicaciones para mejorar el reparto, localización, especificidad diana, administración, etc. del compuesto de pirazina. Nanopartículas y micropartículas potencialmente útiles incluyen, aunque no están limitadas a, micelas, liposomas, microemulsiones, nanoemulsiones, vesículas, micelas tubulares, micelas cilíndricas, bicapas, estructuras de láminas apiladas, agregados globulares, micelas hinchadas, complejo de inclusión, gotas encapsuladas, microcápsulas, nanocápsulas o similares. Como puede entenderse por los que tienen conocimientos en la técnica, los compuestos de pirazina presentes pueden colocarse dentro de la nanopartícula o micropartícula, en una membrana o pared de la nanopartícula o micropartícula, o fuera de (aunque unido a o asociado de otra forma con) la nanopartícula o micropartícula. El agente formulado en nanopartículas o micropartículas puede administrarse por cualquiera de las rutas descritas anteriormente. En una formulación aplicada de forma tópica, el compuesto de pirazina se libera lentamente en el tiempo. En una formulación inyectable, el liposoma, micela, cápsula, etc., circula en la corriente sanguínea y se reparte al sitio deseado (por ejemplo, sistema renal).

La preparación y carga de nanopartículas y micropartículas se conocen bien en la técnica. Como un ejemplo, los liposomas pueden prepararse a partir de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) o fosfatidilcolina de huevo (PC) porque este lípido tiene una transición a bajo calor. Los liposomas se hacen usando procedimientos estándar como conoce un experto en la técnica (por ejemplo, Braun-Falco et al., (Eds.), Griesbach Conference, Lioposome Dermatics, Springer-Verlag, Berlín (1992), págs. 6981; 91117 que se incorpora expresamente por referencia en esta memoria).  
 5 Policaprolactona, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, polianhídrido o lípidos pueden formularse como microesferas. Como un ejemplo ilustrativo, los presentes compuestos de pirazina pueden mezclarse con poli(alcohol de vinilo) (PVA), la mezcla se seca entonces y se recubre con acetato de etilenoivinilo, después se enfría de nuevo con PVA. En un liposoma, los presentes compuestos de pirazina pueden estar en una o ambas bicapas de lípido, en la fase acuosa entre las bicapas, o en el centro o núcleo. Los liposomas pueden modificarse con otras moléculas y lípidos para formar un liposoma catiónico. Los liposomas pueden también modificarse con lípidos para volver su superficie más hidrófila lo que aumenta su tiempo de circulación en la corriente sanguínea. El liposoma así modificado se ha denominado como liposoma "sigiloso", o un liposoma de larga vida, como se describe en la Patente de EE.UU. núm. 6.258.378, y en Stealth Liposomes, Lasic y Martin (Eds.) 1995 CRC Press, Londres, que se incorporan expresamente por referencia en esta memoria. Los métodos de encapsulado incluyen diálisis con detergente, secado por congelación, formación de película, inyección, como conoce un experto en la técnica y se describe en, por ejemplo, la Patente de EE.UU. núm. 6.406.713 que se incorpora expresamente por referencia en esta memoria en su totalidad. Opcionalmente, las presentes composiciones y métodos incluyen un sistema de reparto de micelas, por ejemplo, implicando uno o más polímeros anfífilos basados en PEG desarrollados para reparto de fármacos que incluyen construcciones PEG-poli( $\epsilon$ -caprolactona), PEG-poli(aminoácido), PEG-polilactida o un PEG-fosfolípido; un sistema polimérico de poli(ácido acrílico) reticulado, un sistema basado en fosfolípido y/o sistemas de copolímeros en bloque que comprenden uno o más de los siguientes bloques poliméricos, un bloque polimérico de poli(ácido láctico), un bloque polimérico de poli(propilenglicol); un bloque polimérico de poli(aminoácido); un bloque polimérico de poli(éster); y un bloque polimérico de poli( $\epsilon$ -caprolactona), un bloque de poli(etilenglicol), un bloque de poli(ácido acrílico), un bloque de polilactida, un bloque de poliéster, un bloque de poliamida, un bloque de polianhídrido, un bloque de poliuretano, un bloque de poliimina, un bloque de poliurea, un bloque de poliactal, un bloque de polisacárido y un bloque de polisiloxano.

Los disolventes no acuosos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, aunque no están limitados a, lo siguiente (además de mezclas de los mismos): alcoholes (estos incluyen, por ejemplo,  $\sigma$ -glicerol formal,  $\beta$ -glicerol formal, 1,3-butilenglicol, alcoholes alifáticos o aromáticos que tienen de 2 a aproximadamente 30 carbonos (por ejemplo, metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol, t-butanol, hexanol, octanol, hidrato de amileno, alcohol bencílico, glicerina (glicerol), glicol, hexileno, glicol, hexileno, glicol, alcohol de tetrahidrofuranilo, alcohol cetílico y alcohol de estearilo), ésteres de ácido graso de alcoholes grasos (por ejemplo, polialquilenoglicoles, tales como polipropilenglicol y polietilenglicol), sorbitano, sacarosa y colesterol); amidas (estos incluyen, por ejemplo, dimetilacetamida (DMA), benzoato de bencilo DMA, dimetilformamida, N-hidroxietil-O-lactamida, N,N-dimetilacetamida-amidas, 2-pirrolidinona, 1-metil-2-pirrolidinona y polivinilpirrolidona); ésteres (estos incluyen, por ejemplo, ésteres de acetato (por ejemplo, monoacetina, diacetina y triacetina), ésteres alifáticos y aromáticos (por ejemplo, caprilato u octanoato de etilo, oleato de alquilo, benzoato de bencilo o acetato de bencilo), dimetilsulfóxido (DMSO), ésteres de glicerina (por ejemplo, citratos y tartratos de mono, di y tri-glicerilo), benzoato de etilo, acetato de etilo, carbonato de etilo, lactato de etilo, oleato de etilo, ésteres de ácido graso de sorbitano, monoestearato de glicerilo, ésteres de glicerida (por ejemplo, mono, di o tri-glicéridos), ésteres de ácido graso (por ejemplo, miristrato de isopropilo), ésteres PEG derivados de ácido graso (por ejemplo, PEG-hidroxiolcato y PEG-hidroxiestearato), N-metil-pirrolidinona, pluronic 60, poliésteres de polioxietileno-sorbitol oleico (por ejemplo, poli(oleato)<sub>2-4</sub> de sorbitol poli(etoxilado)<sub>30-60</sub>, monooleato de poli(oxietileno)<sub>15-20</sub>, mono 12-hidroxiestearato de poli(oxietileno)<sub>15-20</sub> y mono ricinoleato de poli(oxietileno)<sub>15-20</sub>), ésteres de polioxietileno sorbitano (por ejemplo, monooleato de polioxietileno-sorbitano, monopalmitato de polioxietileno-sorbitano, monolaurato de polioxietileno-sorbitano, monoestearato de polioxietileno-sorbitano y POLYSORBATE 20, 40, 60 y 80 (de ICI Americas, Wilmington, DE)), polivinilpirrolidona, ésteres de ácido graso modificado por alquilenoxi (por ejemplo, aceite de ricino hidrogenado con polioxilo 40 y aceites de ricino polioxietilados, tal como disolución de CREMOPHOR EL o disolución de CREMOPHOR RH 40), ésteres de ácido graso de sacárido (es decir, el producto de condensación de un monosacárido (por ejemplo, pentosas, tales como ribosa, ribulosa, arabinosa, xilosa, lixosa y xilulosa; hexosas, tal como glucosa, fructosa, galactosa, manosa y sorbosa; triosas; tetrasas; heptosas y octosas), disacárido (por ejemplo, sacarosa, maltosa, lactosa y trehalosa), oligosacárido o una mezcla de los mismos con uno o más ácidos grasos C<sub>4</sub>-C<sub>22</sub> (por ejemplo, ácidos grasos saturados, tal como ácido caprílico, ácido cáprico, ácido laurico, ácido mirístico, ácido palmítico y ácido esteárico; y ácidos grasos insaturados, tal como ácido palmitoleico, ácido oleico, ácido eláidico, ácido erucico y ácido linoleico), y ésteres esteroideales); éteres (estos son típicamente éteres de alquilo, arilo y cíclico que tienen de 2 a aproximadamente 30 carbonos. Ejemplos que incluyen dietiléter, tetrahidrofurano, isosorburo de dimetilo, monoetiléter de dietilenglicol) y glucofurool (polietilenglicoléter de alcohol de tetrahidrofurfuranilo), cetonas (estas tienen típicamente de aproximadamente 3 a aproximadamente 30 carbonos. Los ejemplos incluyen acetona, metiletacetona, metilisobutilcetona); hidrocarburos (estos son típicamente hidrocarburos alifáticos, cicloalifáticos y aromáticos que tienen de aproximadamente 4 a aproximadamente 30 carbonos). Los ejemplos incluyen benceno, ciclohexano, diclorometano, dioxolanos, hexano, n-decano, n-dodecano, n-hexano, sulfolano, tetrametilenosulfona, tetrametilenosulfóxido, tolueno, dimetilsulfóxido (DMSO); y tetrametilenosulfóxido; aceites (estos incluyen aceites de origen mineral, vegetal, animal, esencial o sintético). Estos incluyen aceites minerales, tales como hidrocarburos

alifáticos y con base de cera, hidrocarburos aromáticos, hidrocarburos con base alifática y aromática mezclada, y aceite de parafina refinada; aceites vegetales, tales como aceite de lino, tung, cártamo, soja, ricino, algodón, cacahuete, colza, coco, palma, oliva, maíz, germen de maíz, sésamo, pérsico y cacahuete; glicéridos, tal como mono, di y triglicéridos; aceites animales, tales como aceite de pescado, marino, ballena, hígado de bacalao, hígado de fletán, escualeno, escualano, y de hígado de tiburón; aceites oleicos; y aceite de ricino polioxietilado); haluros de alquilo, alqueno o arilo (estos incluyen haluros de alquilo o arilo que tienen de 1 a aproximadamente 30 carbonos y uno o más sustituyentes halógenos. Ejemplos incluyen cloruro de metileno); monoetanolamina; bencina de petróleo; trolamina; ácidos grasos omega-3 poliinsaturados (por ejemplo, ácido alfa-linolénico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico o ácido docosahexaenoico); poliglicoléster de ácido 12-hidroxiestearico y polietilenglicol (SOLUTOL HS-15, de BASF, Ludwigshafen, Alemania); polioxietilenglicerol; laurato sódico; oleato sódico; y monooleato de sorbitano. Otros disolventes farmacéuticamente aceptables para usar en la invención se conocen bien por los expertos en la técnica. La discusión general que se refiere a dichos disolventes puede encontrarse en, por ejemplo, *The Chemotherapy Source Book* (Williams & Wilkins Publishing), *The Handbook of Pharmaceutical Excipients* (American Pharmaceutical Association, Washington, D.C., y The Pharmaceutical Society of Great Britain, Londres, Inglaterra, 1968); *Modern Pharmaceutics* 3ª ed., (G. Banker et al., eds., Marcel Dekker, Inc, Nueva York, Nueva York (1995)), *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (Goodman & Gilman, McGraw Hill Publishing), *Pharmaceutical Dosage Forms* (H. Lieberman et al., eds., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, Nueva York (1980)), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 19ª ed. (A. Gennaro, ed., Mack Publishing, Easton, PA (1995)), *The United States Pharmacopeia* 24, *The National Formulary* 19 (National Publishing, Filadelfia, PA (2000)); Spiegel, A.J., et al., "Use of Nanoqueous Solvents in Parenteral Products", *J. Pharma. Sciences*, Vol. 52, núm. 10, págs. 917-927 (1963).

Los disolventes útiles en la invención incluyen, aunque no están limitados a, los conocidos para estabilizar los compuestos de pirazina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Estos incluyen típicamente, por ejemplo, aceites ricos en triglicéridos, tales como aceite de cártamo, aceite de soja y mezclas de los mismos; y ésteres de ácidos grasos modificados por alquilenoxi, tal como aceite de ricino hidrogenado con polioxilo 40 y aceites de ricino polioxietilados (por ejemplo, disolución de CREMOPHOR EL o disolución de CREMOPHOR RH 40). Triglicéridos disponibles comercialmente incluyen aceite de soja emulsionado con INTRALIPID (Kabi-Pharmacia Inc., Estocolmo, Suecia), emulsión de NUTRALIPID (McGaw, Irvine, California), emulsión de LIPOSYN II al 20% (una disolución de emulsión de grasa al 20% que contiene 100 mg de aceite de cártamo, 100 mg de aceite de soja, 12 mg de fosfatidas de huevo, y 25 mg de glicerina por ml de disolución; Abbott Laboratories, Chicago, IL), emulsión de LIPOSYN III al 2% (una disolución de emulsión de grasa al 2% que contiene 100 mg de aceite de cártamo, 100 mg de aceite de soja, 12 mg de fosfatidas de huevo y 25 mg de glicerina por ml de disolución; Abbott Laboratories, Chicago, IL), derivados de glicerol natural o sintético que contienen el grupo docosahexaenoilo a niveles de aproximadamente 25 a aproximadamente 100% (en peso en base al contenido total de ácido graso) (DHASCO de Martek Biosciences Corp., Columbia, MD; DHA MAGURO de Daito Enterprises, Los Ángeles, CA; SOYACAL; y TRAVEMULSION). El etanol en particular es un disolvente útil para disolver un compuesto de pirazina o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para forma disoluciones, emulsiones y similares.

Componentes adicionales pueden incluirse en las composiciones de esta invención por varios propósitos generalmente conocidos en la industria farmacéutica. Estos componentes tienden a impartir propiedades que, por ejemplo, mejoran la retención del compuesto de pirazina o sal en el sitio de administración, protegen la estabilidad de la composición, controlan el pH, y facilitan el procesado del compuesto de pirazina o sal en las formulaciones farmacéuticas, y similares. Los ejemplos específicos de dichos componentes incluyen agentes crioprotectores; agentes para prevenir la reprecipitación del compuesto de pirazina o sal en la superficie; agentes activos, humectantes o emulsificantes (por ejemplo, lecitina, polisorbato-80, TWEEN 80, pluronic 60, y estearato de polioxietileno); conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo); conservantes microbianos (por ejemplo, alcohol bencílico, fenol, m-cresol, clorobutanol, ácido sórbico, timerosal y parabeno); agentes para ajustar el pH o agentes de tamponado (por ejemplo, ácidos, bases, acetato sódico, monolaurato de sorbitano, etc.); agentes para ajustar la osmolaridad (por ejemplo, glicerina), espesantes (por ejemplo, monoestearato de aluminio, ácido esteárico, alcohol cetílico, alcohol de estearilo, goma guar, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, triestearina, ésteres de cera cetílica, polietilenglicol, etc.); colorantes; tintes; auxiliares de flujo; siliconas no volátiles (por ejemplo, ciclometicona); arcillas (por ejemplo, bentonitas); adhesivos; agentes de carga; aromatizantes; edulcorantes; adsorbentes; rellenos (por ejemplo, azúcares tales como lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, fosfato de calcio, etc.); diluyentes (por ejemplo, agua, solución salina, disoluciones de electrolito, etc.); aglutinantes (por ejemplo, gelatina; azúcar de tragacanto; metilcelulosa; hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica; polivinilpirrolidona; azúcares; polímeros; goma arábiga; almidones, tales como almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz y almidón de patata; etc.); agentes disgregantes (por ejemplo, almidones, tales como almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata y almidón de carboximetilo; polivinilpirrolidona reticulada; agar; ácido alginico o una sal del mismo, tal como alginato sódico; croscarmelosa sódica; crosopovidona; etc.); lubricantes (por ejemplo, sílice; talco; ácido esteárico y sales del mismo, tal como estearato de magnesio; polietilenglicol; etc.); agentes de recubrimiento (por ejemplo, disoluciones de azúcar concentrado que incluyen goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel carboxipol, polietilenglicol, dióxido de titanio, etc.); y antioxidantes (por ejemplo, metabisulfito sódico, bisulfito sódico, sulfito sódico, dextrosa, fenoles, tiofenoles, etc.). Las técnicas y composiciones para hacer formas de dosificación parenteral se conocen generalmente en la técnica. Las formulaciones para la administración parenteral pueden prepararse a partir de uno o más polvos y/o gránulos estériles que tienen un compuesto o sal de esta invención y uno o más de los vehículos o diluyentes mencionados para el uso en las formulaciones para

administración oral. El polvo o gránulo típicamente se añade a un volumen apropiado de un disolvente (típicamente mientras se agita (por ejemplo, agitando el disolvente) que es capaz de disolver el polvo o gránulo. Disolventes particulares útiles en la invención incluyen, por ejemplo, agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro sódico y/o varios tampones.

5 Las emulsiones para administración parenteral pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo un compuesto o sal de esta invención en cualquier disolvente farmacéuticamente aceptable capaz de disolver el compuesto para formar una disolución; y añadir un volumen apropiado de un vehículo a la disolución mientras se agita para formar la emulsión. Las disoluciones para administración parenteral pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo un compuesto o sal de esta invención en cualquier disolvente farmacéuticamente aceptable capaz de disolver el compuesto para formar una disolución; y añadir un volumen apropiado de un vehículo a la disolución mientras se agita para formar una disolución.

10 Los supositorios para administración rectal pueden prepararse, por ejemplo, mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas normales, aunque líquido a la temperatura rectal y fundirá por lo tanto en el recto para liberar el fármaco. Excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, manteca de cacao; mono, di o triglicéridos sintéticos; ácidos grasos y/o polietilenglicoles.

15 La "administración tópica" incluye el uso de administración transdérmica, tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis.

20 Si se desea, las emulsiones o disoluciones descritas anteriormente para administración oral o parenteral pueden empaquetarse en bolsas IV, viales u otros envases convencionales en forma concentrada, y después diluirse con un líquido farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, suero salino) para formar una concentración de compuesto de pirazina aceptable antes de usar.

25 Se entiende que esta invención no está limitada a los compuestos, metodología, protocolos y reactivos particulares descritos, ya que estos pueden variar. También se va a entender que la terminología usada en esta memoria es con el propósito de describir solo realizaciones particulares, y no pretende limitar el alcance de la invención que estará limitada solo por las reivindicaciones adjuntas.

30 Las composiciones de la invención incluyen formulaciones y preparados que comprenden uno o más de los presentes compuestos proporcionados en una disolución acuosa, tal como una formulación o preparado farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, las composiciones de la invención comprenden además uno o más tensioactivos, tampones, electrolitos, sales, vehículos, aglutinantes, recubrimientos, conservantes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

#### Formulaciones y uso

35 Los compuestos y bioconjugados de la presente invención pueden formularse por métodos conocidos para la administración a un sujeto usando varias rutas que incluyen, aunque no están limitadas a rutas parenteral, oral, tópica, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oftálmica. Un compuesto/bioconjugado individual puede administrarse en combinación con uno o más compuestos/bioconjugados adicionales de la presente invención y/o junto con otros agentes biológicamente activos o biológicamente inertes. Dichos agentes biológicamente activos o inertes pueden estar en comunicación fluida o mecánica con el(los) compuesto(s)/bioconjugado(s) o unidos al(a los) compuesto(s)/bioconjugado(s) por fuerzas iónica, covalente, de Van der Waals, hidrófobas, hidrófilas u otras fuerzas físicas. La administración puede opcionalmente estar localizada en un sujeto. La administración puede ser opcionalmente sistémica.

40 Los compuestos y bioconjugados de la presente invención pueden formularse de cualquier manera convencional usando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Así, los compuestos/bioconjugados y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables pueden formularse específicamente para la administración, por ejemplo, por inhalación o insuflado (o bien a través de la boca o la nariz) o administración oral, bucal, parenteral o rectal. Los compuestos/bioconjugados pueden tomar la forma de formas salinas cargadas, neutras y/u otras farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque no están limitados a, los descritos en REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (A.R. Gennaro, Ed.), 20ª edición, Williams & Wilkins PA, USA (2000).

50 Los compuestos y bioconjugados de la presente invención pueden formularse en forma de disoluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación controlada o sostenida, y similares. Dichas formulaciones contendrán una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto/bioconjugado, preferiblemente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo para así proporcionar la forma para la administración apropiada al paciente. La formulación se ajustaría al modo de administración.

55 Administración parenteral



Los compuestos y bioconjugados de la presente invención pueden formularse para la administración parenteral por inyección (por ejemplo, por inyección de bolo o infusión continua). Las formulaciones para la inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria en ampollas o en envases multi-dosis con un conservante opcional añadido. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiple hechos de cristal, plástico o similares. La formulación puede tomar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes formuladores tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o de dispersión.

Por ejemplo, una preparación parenteral puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico (por ejemplo, como una disolución en 1,3-butanodiol). Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer, y disolución isotónica de cloruro sódico. Además, aceites fijos, estériles, se emplean convencionalmente como un disolvente o medio de suspensión. Para este propósito puede emplearse cualquier aceite fijo suave que incluyen mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico pueden usarse en la preparación parenteral.

De forma alternativa, los compuestos y bioconjugados de la presente invención pueden formularse en forma de polvo para la constitución con un vehículo adecuado, tal como agua libre de pirógenos estéril, antes del uso. Por ejemplo, un compuesto/bioconjugado adecuado para la administración parenteral puede incluir una solución salina isotónica estéril que contiene entre 0,1 por ciento y 90 por ciento en peso por volumen del compuesto/bioconjugado. Por medio del ejemplo, una disolución puede contener de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 20 por ciento, más preferiblemente de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 17 por ciento, más preferiblemente de aproximadamente 8 a aproximadamente 14 por ciento, y aún más preferiblemente aproximadamente 10 por ciento del compuesto/bioconjugado. La disolución o preparado en polvo puede incluir también un agente solubilizante y un anestésico local tal como lidocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Otros métodos de reparto parenteral de compuestos/bioconjugados se conocerán por el experto y están en el alcance de la invención.

#### Administración oral

Para la administración oral, un compuesto/bioconjugado de la invención puede formularse para tomar la forma de comprimidos o cápsulas preparadas por medios convencionales con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, excipientes tales como agentes de enlace, cargas, lubricantes y disgregantes):

##### A. Agentes de enlace

Los agentes de enlace incluyen, aunque no están limitados a, almidón de maíz, almidón de patata u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como arábica, alginato sódico, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa sódica), polivinilpirrolidona, metilcelulosa, almidón pre-gelatinizado, hidroxipropilmetilcelulosa (por ejemplo, núms. 2208, 2906, 2910), celulosa microcristalina y mezclas de los mismos. Formas adecuadas de celulosa microcristalina incluyen, por ejemplo, los materiales vendidos como AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103 y AVICEL-PH-105 (disponible de FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, Pensilvania, USA). Un agente ligante adecuado ilustrativo es una mezcla de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica vendido como AVICEL RC-581 por FMC Corporation.

##### B. Cargas

Las cargas incluyen, aunque no están limitadas a, talco, carbonato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvo), lactosa, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pre-gelatinizado y mezclas de los mismos.

##### C. Lubricantes

Los lubricantes incluyen, aunque no están limitados a, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral por radiación electromagnética, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, laurilsulfato sódico, talco, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de zinc, oleato de etilo, laurato de etilo, agar y mezclas de los mismos. Los lubricantes adicionales incluyen, por ejemplo, un gel de sílice siloide (AEROSIL 200, fabricado por W.R. Grace Co. de Baltimore, Maryland, USA), un aerosol coagulado de sílice sintético (comercializado por Deaussa Co. de Plano, Texas, USA), CAB-O-SIL (un producto de dióxido de silicio pirogénico vendido por Cabot Co. de Boston, Massachusetts, USA), y mezclas de los mismos.

##### D. Disgregantes

Los disgregantes incluyen, aunque no están limitados a, agar-agar, ácido algínico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, polacrilina de potasio, glicolato de almidón sódico, almidón de

patata o tapioca, otros almidones, almidón pre-gelatinizado, otros almidones, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas y mezclas de los mismos.

5 Los comprimidos o cápsulas pueden estar recubiertos opcionalmente por métodos bien conocidos en la técnica. Si se usan agentes ligantes y/o cargas con un compuesto/bioconjugado de la invención, se formulan típicamente como aproximadamente 50 a aproximadamente 99 por ciento en peso del compuesto/bioconjugado. En un aspecto, aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de disgregante, y particularmente aproximadamente 1 a aproximadamente 5 por ciento en peso de disgregante, pueden usarse en combinación con el compuesto. Un lubricante puede añadirse opcionalmente, típicamente en una cantidad de menos de 10 aproximadamente 1 por ciento en peso del compuesto/bioconjugado. Las técnicas y aditivos farmacéuticamente aceptables para fabricar formas de dosificación orales sólidas se describen en Marshall, SOLID ORAL DOSAGE FORMS, Modern Pharmaceuticals (Banker y Rhodes, Eds.), 7:359-427 (1979). Otras formulaciones menos típicas se conocen en la técnica.

15 Los preparados líquidos para la administración oral puede tomar la forma de disoluciones, jarabes o suspensiones. De forma alternativa, los preparados líquidos pueden presentarse como un producto seco para la constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de uso. Dichos preparados líquidos pueden prepararse por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes de emulsificación (por ejemplo, lecitina o goma arábica); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendra, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y/o conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico). Los preparados pueden contener también sales de tampón, agentes aromatizantes, colorantes, perfumantes y edulcorantes como apropiados. Los preparados para la administración oral pueden también formularse para alcanzar la liberación controlada del compuesto/bioconjugado. Las formulaciones orales preferiblemente contienen 10% a 95% de compuesto/bioconjugado. Además, un compuesto/bioconjugado de la presente invención puede formularse para administración bucal en la forma de comprimidos o pastillas para chupar 25 formulados en una manera convencional. Otros métodos de reparto oral de los compuestos/bioconjugados de la invención se conocerán por los expertos y están dentro del alcance de la invención.

#### Administración por liberación controlada

30 Los preparados de liberación controlada (o liberación sostenida) pueden formularse para extender la actividad de un compuesto/bioconjugado y reducir la frecuencia de dosificación. Los preparados de liberación controlada pueden usarse también para efectuar el tiempo del comienzo de acción u otras características, tal como niveles en sangre del compuesto/bioconjugado, y consecuentemente afectar el suceso de efectos secundarios.

35 Los preparados de liberación controlada pueden diseñarse para liberar inicialmente una cantidad de un compuesto/bioconjugado que produce el efecto terapéutico deseado, y liberar gradualmente y continuamente otras cantidades del compuesto/bioconjugado para mantener el nivel de efecto terapéutico sobre un periodo de tiempo extenso. Para mantener un nivel casi constante de un compuesto/bioconjugado en el cuerpo, el compuesto/bioconjugado puede liberarse desde la forma de dosificación a una velocidad que sustituirá la cantidad de compuesto/bioconjugado que se metaboliza y/o excreta del cuerpo. La liberación controlada de un compuesto/bioconjugado puede estimularse por varios inductores, por ejemplo, cambio en el pH, cambio en la temperatura, enzimas, agua, y/u otras condiciones fisiológicas o moléculas.

40 Los sistemas de liberación controlada pueden incluir, por ejemplo, una bomba de infusión que puede usarse para administrar el compuesto/bioconjugado de una manera similar a la usada para repartir insulina o quimioterapia al cuerpo generalmente, o los órganos o tumores específicos. Típicamente, usando dicho sistema, el compuesto/bioconjugado se administra en combinación con un implante polimérico biodegradable, biocompatible que libera el compuesto/bioconjugado durante un periodo de tiempo controlado a un sitio seleccionado. Ejemplos de 45 materiales poliméricos incluyen polianhídridos, poliortoésteres, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, acetato de polietilenoivinilo y copolímeros y combinaciones de los mismos. Además, un sistema de liberación controlada puede colocarse en proximidad de una diana terapéutica (por ejemplo, órgano, tejido o grupo de células), necesitando así solo una fracción de una dosificación sistémica.

50 Los compuestos/bioconjugados de la invención pueden administrarse por otros medios de liberación controlada o dispositivos de reparto que se conocen bien por los expertos en la técnica. Estos incluyen, por ejemplo, hidropropilmetilcelulosa, otras matrices poliméricas, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, recubrimientos multicapa, micropartículas, liposomas, microsferas o similares, o una combinación de cualquiera de las anteriores para proporcionar el perfil de liberación deseada en proporciones variables. Otros métodos de reparto por liberación controlada de compuestos/bioconjugados se conocerán por los expertos y están dentro del alcance de 55 la invención.

#### Administración por inhalación

Los compuestos/bioconjugados de la invención pueden administrarse directamente al pulmón de un paciente/sujeto por inhalación. Para la administración por inhalación, un compuesto/bioconjugado puede repartirse

convenientemente al pulmón por un número de diferentes dispositivos. Por ejemplo, un Inhalador de Dosis Medida ("IDM") que utiliza botes que contienen un propulsor adecuado de punto de ebullición bajo, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado puede usarse para repartir un compuesto/bioconjugado directamente al pulmón. Los dispositivos IDM están disponibles a partir de un número de suministradores tales como 3M Corporation, Aventis, Boehringer Ingelheim, Forest Laboratories, Glaxo-Wellcome, Schering Plough y Vectura.

De forma alternativa, un dispositivo Inhalador de Polvo Seco (IPS) puede usarse para administrar un compuesto/bioconjugado al pulmón. Los dispositivos IPS típicamente usan un mecanismo tal como un estallido de gas para crear una nube de polvo seco dentro de un envase, que puede inhalarse entonces por el paciente. Los dispositivos IPS también se conocen bien en la técnica y puede comprarse de un número de vendedores que incluyen, por ejemplo, Fisons, Glaxo-Wellcome, Inhale Therapeutic Systems, ML Laboratories, Qdose y Vectura. Una variación popular es el sistema IPS de dosis múltiple ("IPSDM"), que permite el reparto de más de una dosis terapéutica. Los dispositivos IPSDM están disponibles a partir de compañías tales como AstraZeneca, GlaxoWellcome, IVAX, Schering Plough, SkyePharma y Vectura. Por ejemplo, las cápsulas y cartuchos de gelatina para usar en un inhalador o insuflador pueden formularse conteniendo una mezcla de polvo del compuesto/bioconjugado y una base de polvo adecuado tal como lactosa o almidón para estos sistemas.

Otro tipo de dispositivo que puede usarse para repartir un compuesto/bioconjugado al pulmón es un dispositivo de pulverización líquida suministrado, por ejemplo, por Aradigm Corporation. Los sistemas de pulverización líquido usan agujeros de boquilla extremadamente pequeños para aerosolizar formulaciones líquidas de compuesto/bioconjugado que pueden inhalarse entonces directamente en el pulmón. Por ejemplo, un dispositivo nebulizador puede usarse para repartir un compuesto/bioconjugado al pulmón. Los nebulizadores crean aerosoles a partir de formulaciones líquidas de compuesto/bioconjugado usando, por ejemplo, energía ultrasónica para formar partículas finas que pueden inhalarse fácilmente. Ejemplos de nebulizadores incluyen dispositivos suministrados por Sheffield/Systemic Pulmonary Delivery Ltd., Aventis y Batelle Pulmonary Therapeutics.

En otro ejemplo, un dispositivo aerosol electrohidrodinámico ("EHD") puede usarse para repartir un compuesto/bioconjugado al pulmón. Los dispositivos de aerosol EHD usan energía eléctrica para aerosolizar disoluciones o suspensiones líquidas de compuesto/bioconjugado. Las propiedades electroquímicas de la formulación de compuesto/bioconjugado son parámetros importantes para optimizar cuando se reparte este compuesto/bioconjugado al pulmón con un dispositivo aerosol EHD. Dicha optimización se realiza de forma rutinaria por un experto en la técnica. Otros métodos de reparto intra-pulmonar de compuestos/bioconjugados se conocerán por el experto y están dentro del alcance de la invención.

Las formulaciones líquidas de compuesto/bioconjugado adecuadas para el uso con nebulizadores y dispositivos de pulverización líquidos y dispositivos de aerosol EHD incluirán típicamente el compuesto/bioconjugado con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización ejemplar, el vehículo farmacéuticamente aceptable es un líquido tal como alcohol, agua, polietilenglicol o un perfluorocarbono. Opcionalmente, otro material puede añadirse para alterar las propiedades del aerosol de la disolución o suspensión del compuesto/bioconjugado. Por ejemplo, este material puede ser un líquido tal como un alcohol, glicol, poliglicol o un ácido graso. Otros métodos de formulación de disoluciones o suspensiones líquidas de compuesto/bioconjugado adecuadas para el uso en los dispositivos de aerosol se conocen para los expertos en la técnica.

#### Administración por depósito

Un compuesto/bioconjugado de la invención puede formularse como un preparado de depósito. Dichas formulación a largo plazo pueden administrarse por implantación (por ejemplo, subcutánea o intramuscularmente) o por inyección intramuscular. Por consiguiente, el compuesto/bioconjugado puede formularse con materiales poliméricos o hidrofóbicos adecuados tal como una emulsión en un aceite aceptable o resinas de intercambio iónico, o unos derivados solubles con moderación tales como sales solubles con moderación. Otros métodos de reparto de depósito de compuestos/bioconjugados se conocerán por los expertos y están dentro del alcance de la invención.

#### Administración tópica

Para aplicación tópica, un compuesto/bioconjugado puede combinarse con un vehículo farmacéuticamente aceptable de manera que una dosis efectiva se reparte, en base a la actividad deseada que oscila de una dosificación efectiva, por ejemplo, de 1,0  $\mu\text{M}$  a 1,0 mM. En un aspecto de la invención, una formulación tópica de un compuesto/bioconjugado puede aplicarse a la piel. El vehículo farmacéuticamente aceptable puede estar en la forma de, por ejemplo, y no por medio de limitación, una pomada, crema, gel, pasta, espuma, aerosol, supositorio, almohadilla o barra gelificada.

Una formulación tópica puede incluir una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto/bioconjugado en un excipiente oftalmológicamente aceptable tal como solución salina tamponada, aceite mineral, aceites vegetales tales como aceite de maíz o cacahuete, vaselina, miglyol 182, disoluciones de alcohol, o liposomas o productos parecidos a liposomas. Cualquiera de estas formulaciones de dichos compuestos/bioconjugados puede incluir conservantes, antioxidantes, antibióticos, inmunosupresores, y otros agentes biológicamente o farmacéuticamente efectivos que no

ejercen un efecto perjudicial significativo en el compuesto/bioconjugado. Otros métodos de reparto tópico de compuestos/bioconjugados se conocerán por el experto y están dentro del alcance de la invención.

#### Administración rectal

5 Los compuestos/bioconjugados de la invención pueden formularse en formulaciones rectales tales como supositorios o enemas de retención que incluyen bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos y/o agentes ligantes y/o vehículos tales como triglicéridos, celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina. Las formulaciones rectales pueden contener un compuesto/bioconjugado en el intervalo de 0,5% a 10% en peso. Otros métodos de reparto rectal de compuestos/bioconjugados se conocerán por el experto y están dentro del alcance de la invención.

#### 10 Otros sistemas de administración

Varios sistemas de reparto distintos se conocen en la técnica y pueden usarse para administrar los compuestos/bioconjugados de la invención. Además, estos y otros sistemas de reparto pueden combinarse y/o modificarse para promover la optimización de la administración de compuestos/bioconjugados de la presente invención. Formulaciones ejemplares que incluyen compuestos/bioconjugados de la presente invención se describen a continuación (los compuestos/bioconjugados de la presente invención se indican como el ingrediente activo, aunque los expertos en la técnica reconocerán que pro-fármacos y combinaciones de compuestos se entiende también que se abarcan por este término).

#### Kits

20 Varias realizaciones de la presente invención incluyen kits. Dichos kits pueden incluir un compuesto/bioconjugado de la presente invención, opcionalmente uno o más ingredientes para preparar una formulación farmacéuticamente aceptable del compuesto/bioconjugado, e instrucciones para el uso (por ejemplo, administración). Cuando se suministran como un kit, diferentes componentes de una formulación de compuesto/bioconjugado pueden empaquetarse en envases separados y mezclarse inmediatamente antes del uso. Dicho empaquetado de los componentes separadamente puede, si se desea, presentarse en un paquete o dispositivo dispensador que puede 25 contener una o más formas de dosificación unitaria que contienen el compuesto/bioconjugado. El paquete puede comprender, por ejemplo, láminas de metal o plástico tal como un blíster. Dicho empaquetado de los componentes de forma separada puede también permitir, en ciertos ejemplos, el almacenaje a largo plazo sin perder la actividad de los componentes. Además, si se prevé más de una ruta de administración o se prevé más de un programa para la administración, los diferentes componentes pueden empaquetarse de forma separada y no mezclarse antes del 30 uso. En varias realizaciones, los diferentes componentes pueden empaquetarse en una combinación para la administración conjunta.

Los kits pueden incluir reactivos en envases separados tales como, por ejemplo, agua estéril o solución salina para añadirse a un componente activo liofilizado empaquetado de forma separada. Por ejemplo, ampollas de cristal selladas pueden contener compuestos liofilizados y en una ampolla separada, agua estéril, solución salina estéril o 35 compuesto estéril cada uno de los cuales se ha empaquetado en un gas no reactivo neutro, tal como nitrógeno. Las ampollas pueden consistir en cualquier material adecuado, tal como cristal, polímeros orgánicos, tales como policarbonato, poliestireno, material cerámico, metal o cualquier otro material típicamente empleado para contener reactivos. Otros ejemplos de envases adecuados incluyen botellas que pueden fabricarse a partir de sustancias similares a las ampollas, y sobres que pueden consistir en interiores forrados de láminas metálicas, tales como aluminio o una aleación. Otros envases incluyen tubos de ensayo, viales, matraces, botellas, jeringas y similares. Los envases pueden tener un puerto de acceso estéril, tal como una botella que tiene un tapón que puede perforarse por una aguja de inyección hipodérmica. Otros envases pueden tener dos compartimentos que están separados por una membrana fácilmente eliminable que al eliminarse permite que los componentes se mezclen. Las membranas eliminables pueden ser de cristal, plástico, caucho y similares.

45 En ciertas realizaciones, los kits pueden suministrarse con materiales de instrucción. Las instrucciones pueden estar impresas en papel u otro sustrato, y/o pueden suministrarse como un medio de lectura electrónica, tal como un disquete, mini-CD-ROM, CD-ROM, DVD-ROM, disco zip, cinta de video, cinta de audio, y similares. Las instrucciones detalladas pueden no estar físicamente asociadas con el kit; en vez de eso, un usuario puede dirigirse a una página de internet especificada por el fabricante o distribuidor del kit, o suministrarse como un correo electrónico. 50

#### Referencias

1. Nally, J.V., Acute renal failure in hospitalized patients. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2002, 69(7), 569-574.
2. C.A. Rabito, L.S.T. Fang, y A.C. Waltman. Renal function in patients at risk with contrast material-induced acute renal failure: Noninvasive real-time monitoring. *Radiology* 1993, 186, 851-854.

3. N.L. Tilney, y J.M. Lazarus. Acute renal failure in surgical patients: Causes, clinical patterns, and care. *Surgical Clinics of North America* 1983, 63, 357-377.
4. B.E. VanZee, W.E. Hoy y J.R. Jaenike. Renal injury associated with intravenous pyelography in non-diabetic and diabetic patients. *Annals of Internal Medicine* 1978, 89, 51-54.
- 5 5. S. Lundqvist, G. Edbom, S. Groth, U. Stendahl, y S.-O. Hietala. Iohexol clearance for renal function measurement in gynecologic cancer patients. *Acta Radiológica* 1996, 37, 582-586.
6. P. Guesry, L. Kaufman, S. Orloff, J.A. Nelson, S. Swann, y M. Holliday. Measurement of glomerular filtration rate by fluorescent excitation of non-radioactive meglumine iothalamate. *Clinical Nephrology* 1975, 3, 134-138.
7. C.C. Baker et al. Epidemiology of Trauma Deaths. *American Journal of Surgery* 1980, 140, 144-150.
- 10 8. R.G. Lobenhoffer et al. Treatment Results of Patients with Multiple Traumas: An Analysis of 3406 Cases Treated Between 1972 and 1991 at a German Level I Trauma Center. *Journal of Trauma* 1995, 38, 70-77.
9. J. Coalson, Pathology of Sepsis, Septic Shock, and Multiple Organ Failure. In *New Horizons: Multiple Organ Failure*, D.J. Bihari y F.B. Cerra (Eds.). Society of Critical Care Medicine, Fullerton, CA, 1986, págs. 27-59.
- 15 10. F.B. Cerra, Multiple Organ Failure Syndrome. In *New Horizons: Multiple Organ Failure*, D.J. Bihari y F.B. Cerra (Eds.). Society of Critical Care Medicine, Fullerton, CA, 1989, págs. 1-24.
11. R. Muller-Suur, y C. Muller-Suur. Glomerular filtration and tubular secretion of MAG3 in rat kidney. *Journal of Nuclear Medicine* 1989, 30, 1986-1991.
12. P.D. Dollan, E.L. Alpen y G.B. Theil. A clinical appraisal of the plasma concentration and endogenous clearance of creatinine. *American Journal of Medicine* 1962, 32, 65-79.
- 20 13. J.B. Henry (Ed). *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 17<sup>a</sup> Edición, W.B. Saunders, Filadelfia, PA, 1984.
14. F. Roch-Ramel, K. Besseghir, y H. Murer. Renal excretion and tubular transport of organic anions and cations. In *Handbook of Physiology, Sección 8, Neurological Physiology, Vol. II*, E.E. Windhager, Editor, págs. 2189-2262. Oxford University Press: Nueva York, 1992.
- 25 15. D.L. Nosco y J.A. Beaty-Nosco. Chemistry of technetium radiopharmaceuticals 1: Chemistry behind the development of technetium-99m compounds to determine kidney function. *Coordination Chemistry Reviews* 1999, 184, 91-123.
16. P.L. Choyke, H.A. Austin y J.A. Frank. Hydrated clearance of gadolinium-DTPA as a measurement of glomerular filtration rate. *Kidney International* 1992, 41, 1595-1598.
- 30 17. N. Lewis, R. Kerr y C. Van Buren. Comparative evaluation of urographic contrast media, inulin, and 99mTc-DTPA clearance methods for determination of glomerular filtration rate in clinical transplantation. *Transplantation* 1989, 48, 790-796.
18. W.N. Tauxe. Tubular Function. In *Nuclear Medicine in Clinical Urology and Nephrology*, W.N. Tauxe y E.V. Dubovsky, Editores, págs. 77-105, Appleton Century Crofts: East Norwalk, 1985.
- 35 19. A.R. Fritzberg et al. Mercaptoacetylglycylglycylglycine. *Journal of Nuclear Medicine* 1986, 27, 111-120.
20. G. Ekanoyan y N.W. Levin. In *Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification (K/DOQI)*. National Kidney Foundation: Washington, D.C., 2002, págs. 1-22.
21. Ozaki, H. et al. Sensitization of europium(III) luminescence by DTPA derivatives. *Chemistry Letters* 2000, 312-313.
- 40 22. Rabito, C. Fluorescent agents for real-time measurement of organ function. Patente de EE.UU. de 2002, 6.440.389.
23. R. Rajagopalan, R. et al. Polyionic fluorescent bioconjugates as composition agents for continuous monitoring of renal function. In *Molecular Imaging: Reporters, Dyes, Markers and Instrumentation*, A. Priezzhev, T. Asakura y J.D. Briers, Editores, Proceedings of SPIE, 2000, 3924, 1-7.
- 45 24. Dorshow, R.B. et al. Noninvasive renal function assessment by fluorescence detection. In *Biomedical Optical Spectroscopy and Diagnostics, Trends in Optics and Photonics Series 22*, E.M. Sevick-Muraca, J.A. Izatt y M.N. Ediger, Editores, págs. 54-56, Optical Society of America, Washington D.C., 1998.

25. Shirai, K. et al. Synthesis and fluorescent properties of 2,5-diamino-3,6-dicyanopyrazine dyes. *Dyes and Pigments* 1998, 39(1), 49-68.
26. Kim, J.H. et al. Self-assembling of aminopyrazine fluorescent dyes and their solid state spectra. *Dyes and Pigments* 1998, 39(4), 341-357.
- 5 27. Barlin, G.B. The pyrazines. In *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*. A. Weissberger y E.C. Taylor, Eds. John Wiley & Sons, Nueva York: 1982.
28. Donald, D.S. Synthesis of 3,5-diaminopyrazinoic acid from 3,5-diamino-2,6-dicyanopyrazine and intermediates. Patente de EE.UU. de 1976; 3.948.895.
29. Donald, D.S. Diaminosubstituted dicyanopyrazines and process. Patente de EE.UU. de 1974; 3.814.757.
- 10 30. Muller et al. Eds. *Medical Optical Tomography*, SPIE Volumen IS11, 1993.
31. R.B. Dorshow et al. Non-Invasive Fluorescence Detection of Hepatic and Renal Function, *Bull. Am. Phys. Soc.* 1997, 42, 681.
32. R.B. Dorshow et al. Monitoring Physiological Function by Detection of Exogenous Fluorescent Contrast Agents. In *Optical Diagnostics of Biological Fluids IV*, A. Priezzhev and T. Asakura, Editores, Proceedings of SPIE 1999, 3599, 2-8.
- 15 33. Stahl et al., *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, Wiley-VCH; Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, 2002. (ISBN 3-906390-26-8).
34. Poreddy et al., N-Alkylated aminopyrazines for use as hydrophilic optical agents. *Proc. of SPIE Vol. 7190 71900P-1—71900P-10*, 2009 (doi: 10,1117/12,809287).
- 20 35. Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. núm. 2008/0312539.

#### **Declaraciones respecto a la incorporación por referencia y variaciones**

Todas las referencias citadas a lo largo de esta aplicación, por ejemplos los documentos de patente que incluyen patentes presentadas o concedidas o equivalentes; publicaciones de solicitud de patente; y documentos bibliográficos que nos son patentes u otras fuentes de material; se incorporan por lo tanto por referencia en esta memoria en sus totalidades, como si se incorporaran individualmente por referencia, en la medida en que cada referencia es al menos parcialmente no inconsistente con la descripción de esta aplicación (por ejemplo, una referencia que es parcialmente inconsistente se incorpora por referencia excepto para la parte parcialmente inconsistente de la referencia).

25

Los términos y expresiones que se han empleado en esta memoria se usan como términos de descripción y no de limitación, y no hay intención en el uso de dichos términos y expresiones de excluir ningún equivalente de las características mostradas y descritas o partes de las mismas, aunque se reconoce que varias modificaciones son posibles en el alcance de la invención reivindicada. Así, se entendería que aunque la invención se ha descrito específicamente por realizaciones preferidas, realizaciones ilustrativas y características opcionales, se puede recurrir a la modificación y variación de los conceptos descritos en esta memoria por parte de los expertos en la técnica, y que dichas modificaciones y variaciones se considera que están dentro del alcance de esta invención como se define por las reivindicaciones adjuntas. Las realizaciones específicas proporcionadas en esta memoria son ejemplos de realizaciones útiles de la invención y será evidente para un experto en la técnica que la invención puede llevarse a cabo usando un gran número de variaciones de los dispositivos, componentes de dispositivos, etapas de los métodos descritos en la presente descripción. Como será evidente para un experto en la técnica, los métodos y dispositivos útiles para los presentes métodos pueden incluir un gran número de elementos y etapas opcionales de composición y procesado.

30

35

40

Cuando un grupo de sustituyentes se describe en esta memoria, se entiende que todos los miembros individuales de ese grupo y todos los subgrupos, incluyendo cualquier isómero, enantiómero y diastereómero de los miembros del grupo, se describen de forma separada. Cuando un grupo Markush u otro agrupamiento se usa en esta memoria, todos los miembros individuales del grupo y todas las combinaciones y subcombinaciones posibles del grupo se pretende que estén incluidos individualmente en la descripción. Cuando un compuesto se describe en esta memoria de manera que un isómero, enantiómero o diastereómero particular del compuesto no está especificado, por ejemplo, en una fórmula o en un nombre químico, esa descripción pretende que se incluya cada isómero y enantiómero del compuesto descrito individual o en cualquier combinación. Adicionalmente, a menos que se especifique otra cosa, todas las variantes isotópicas de compuestos descritos en esta memoria se pretende que estén abarcadas por la descripción. Por ejemplo, se entenderá que uno cualquiera de uno o más hidrógenos en una molécula descrita pueden sustituirse con deuterio o tritio. Las variantes isotópicas de una molécula son generalmente útiles como estándares en ensayos para la molécula y en investigación química y biológica relacionada con la molécula o su uso. Los métodos para hacer dichas variantes isotópicas se conocen en la técnica.

45

50

Los nombres específicos de compuestos se pretende que sean ilustrativos, ya que se sabe que un experto en la técnica puede nombrar los mismos compuestos de forma diferente. Se entiende también que hay diferentes formas para representar químicamente compuestos, por ejemplo, agrupando ciertos sustituyentes tales como grupos PEG.

5 Muchas de las moléculas descritas en esta memoria contienen uno o más grupos ionizables [grupos de los que puede eliminarse un protón (por ejemplo, -COOH) o añadirse (por ejemplo, aminas) o que pueden cuaternizarse (por ejemplo, aminas)]. Todas las posibles formas iónicas de dichas moléculas y sales de las mismas se pretende que estén incluidas individualmente en la descripción de esta memoria. Con respecto a sales de los compuestos de esta memoria, un experto en la técnica puede seleccionar de entre una amplia variedad de contraiones disponibles aquellos que son apropiados para la preparación de sales de esta invención para una aplicación dada. En realizaciones específicas, la selección de un anión o catión dado para la preparación de una sal puede dar por resultado solubilidad aumentada o disminuida de esa sal.

15 Debe notarse que como se usa en esta memoria y en las reivindicaciones añadidas, las formas singulares “un”, “una”, y “el/la” incluyen referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a “una célula” incluye una pluralidad de dichas células y equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la técnica, etcétera. Además, los términos “un” (o “uno”), “uno o más” y “al menos uno” pueden usarse de forma intercambiable en esta memoria. También se va a notar que los términos “que comprende”, “que incluye” y “que tiene” pueden usarse de forma intercambiable. La expresión “de cualquiera de las reivindicaciones XX-YY” (en donde XX e YY se refieren a números de reivindicación) se pretende que proporcionen una reivindicación multi-dependiente en la forma alternativa, y en algunas realizaciones es intercambiable con la expresión “como en cualquiera de las reivindicaciones XX-YY”.

20 A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos usados en esta memoria tienen los mismos significados que se entienden normalmente por un experto en la técnica al que esta invención pertenece. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en esta memoria pueden usarse en la práctica o ensayo de la invención, los métodos y materiales preferidos se describen ahora. Nada en esta memoria se va a construir como una admisión de que la invención no tiene derecho a poner una fecha anterior a dicha descripción debido a una invención previa.

En algunas realizaciones, un liposoma o micela puede utilizarse como un transporte o vehículo para la composición.

Cada formulación o combinación de componentes descritos o ejemplificados en esta memoria pueden usarse para ensayar la invención, a menos que se afirme otra cosa.

30 Las presentes composiciones, preparados y formulaciones pueden formularse en composiciones diagnósticas para administración enteral, parenteral, tópica, aerosol, inhalación o cutánea. El reparto tópico o cutáneo de las composiciones, preparados y formulaciones pueden también incluir formulación en aerosol, cremas, geles, disoluciones, etc. Las presentes composiciones, preparados y formulaciones se administran en dosis efectivas para alcanzar el efecto diagnóstico y/o terapéutico deseado. Dichas dosis pueden variar ampliamente dependiendo de las composiciones particulares empleadas en la composición, los órganos o tejidos a examinar, el equipo empleado en el procedimiento clínico, la eficacia del tratamiento alcanzado, y similares. Estas composiciones, preparados y formulaciones contienen una cantidad efectiva de la(s) composición(ones), junto con vehículos y excipientes farmacéuticos convencionales apropiados para el tipo de administración contemplada. Estas composiciones, preparados y formulaciones pueden también incluir opcionalmente agentes estabilizantes y agentes mejoradores de la penetración en la piel.

45 Los métodos de esta invención comprenden la etapa de administrar una “cantidad efectiva” de las presentes composiciones, formulaciones y preparados diagnósticos que contienen los presentes compuestos, para diagnosticar, formar por imágenes, monitorizar o evaluar un proceso biológico y/o estado de enfermedad en un paciente. El término “cantidad efectiva”, como se usa en esta memoria, se refiere a la cantidad de la formulación diagnóstica, que, cuando se administra al individuo es efectiva en diagnosis, formación de imágenes, monitorización o evaluación de un proceso biológico y/o estado de enfermedad. Como se entiende en la técnica, la cantidad efectiva de una composición dada o formulación dependerá al menos en parte de, el modo de administración (por ejemplo, administración intravenosa, oral, tópica), cualquier transporte o vehículo empleado, y el individuo específico al que se va a administrar la formulación (edad, peso, condición, sexo, etc.). Los requisitos de dosificación necesarios para alcanzar la “cantidad efectiva” varían con las formulaciones particulares empleadas, la ruta de administración, y los objetivos clínicos. En base a los resultados obtenidos en procedimientos de ensayo farmacológico estándar, las dosificaciones diarias proyectadas de compuesto activo pueden determinarse como se entiende en la técnica.

55 Cualquier forma adecuada de administración puede emplearse junto con las formulaciones diagnósticas de la invención. Las formulaciones diagnósticas de esta invención pueden administrarse de forma intravenosa, en formas de dosificación oral, intraperitonealmente, subcutáneamente, o intramuscularmente, todas usando formas de dosificación bien conocidas por los expertos en las técnicas farmacéuticas.

Las formulaciones diagnósticas de esta invención pueden administrarse solas, pero pueden administrarse con un vehículo farmacéutico seleccionado en la base de la ruta elegida de administración y práctica farmacéutica estándar.

5 Las formulaciones diagnósticas de esta invención y medicamentos de esta invención pueden comprender además uno o más vehículos, excipientes, tampones, emulsificantes, tensioactivos, electrolitos o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Dichas composiciones y medicamentos se preparan de acuerdo con procedimientos farmacéuticos aceptables, tales como, por ejemplo, los descritos en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª edición, ed. Alfonso R. Gennaro, Mack Publishing Company, Easton, Pa (1985).

10 Cuando se da un intervalo en la memoria, por ejemplo, un intervalo de temperatura, un intervalo de tiempo, o un intervalo de composición o concentración, todos los intervalos y subintervalos intermedios, además de todos los valores individuales incluidos en los intervalos dados se pretende que estén incluidos en la descripción. Como se usa en esta memoria, los intervalos incluyen específicamente los valores proporcionados como valores finales del intervalo. Por ejemplo, un intervalo de 1 a 100 específicamente incluye los valores finales de 1 a 100. Se entenderá que cualquier subintervalo o valores individuales en un intervalo o subintervalo que están incluidos en la descripción en esta memoria pueden excluirse de las reivindicaciones en esta memoria.

15 Como se usa en esta memoria, "que comprende" es sinónimo con "que incluye", "que contiene" o "caracterizado por", y es inclusivo o de final abierto y no excluye elementos o etapas de método no enumerados, adicionales. Como se usa en esta memoria, "que consiste en" excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en el elemento de reivindicación. Como se usa en esta memoria "que consiste esencialmente en" no excluye materiales o etapas que no afectan materialmente las características básicas o nuevas de la reivindicación. En cada ejemplo en esta memoria cualquiera de los términos "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" puede sustituirse con cualquiera de los otros dos términos. La invención descrita de forma ilustrativa en esta memoria puede practicarse adecuadamente en la ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones que no se describen específicamente en esta memoria.

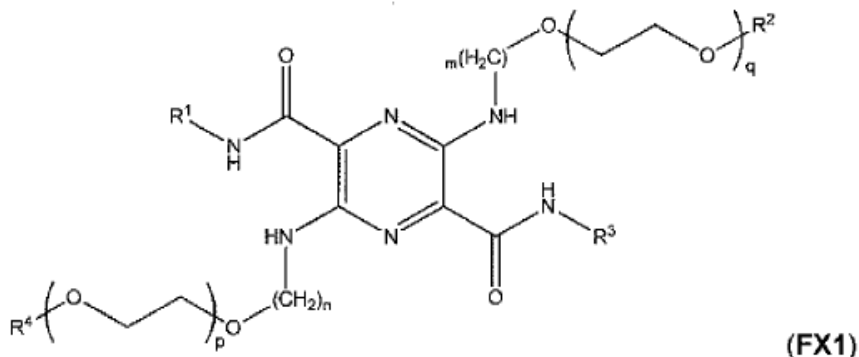
25 Un experto en la técnica apreciará que los materiales de partida, materiales biológicos, reactivos, métodos sintéticos, métodos de purificación, métodos analíticos, métodos de ensayo y métodos biológicos distintos de los específicamente ejemplificados pueden emplearse en la práctica de la invención sin recurrir a experimentación indebida. Todos los equivalentes funcionales conocidos en la técnica, y cualquiera de dichos materiales y métodos se pretende que estén incluidos en esta invención. Los términos y expresiones que se han empleado se usan como términos de descripción y no de limitación, y no hay intención de que en el uso de dichos términos y expresiones se excluya cualquier equivalente de las características mostradas y descritas o partes de las mismas, pero se reconoce que varias modificaciones son posibles dentro del alcance de la invención reivindicada. Así, se debería entender que aunque la invención se ha descrito específicamente mediante realizaciones preferidas y características opcionales, la modificación y variación de los conceptos descritos en esta memoria pueden recurrirse por los expertos en la técnica, y que dichas modificaciones y variaciones se considera que están dentro del alcance de esta invención como se define por las reivindicaciones adjuntas.

35



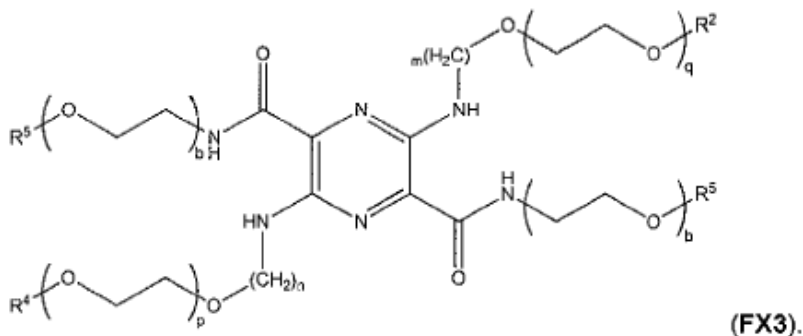
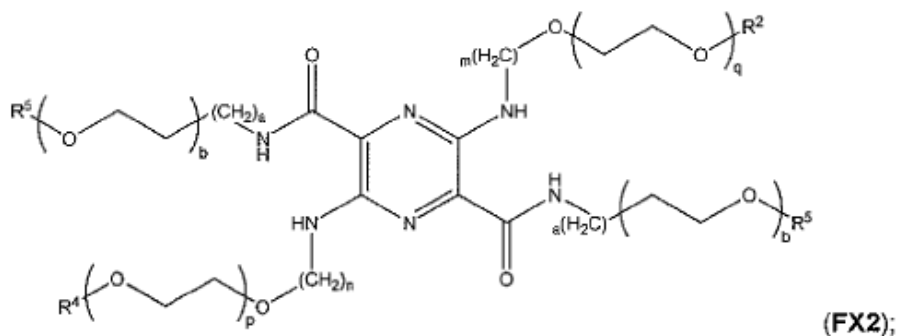
REIVINDICACIONES

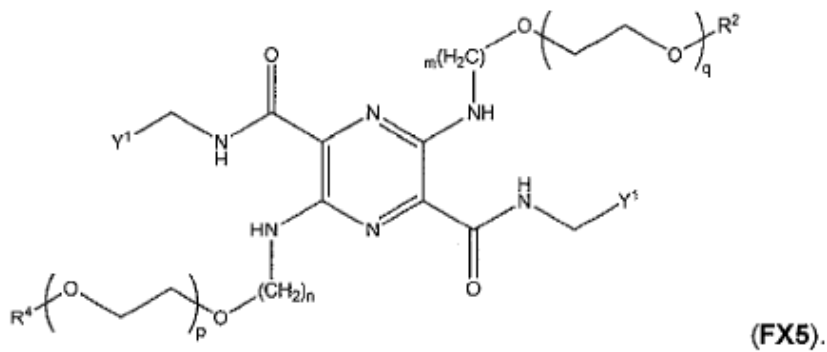
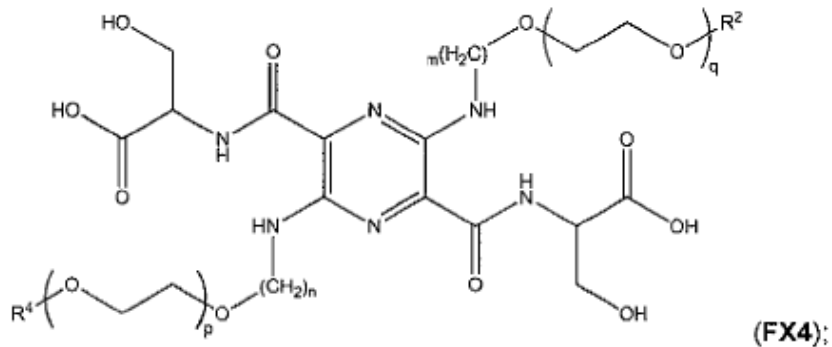
1. Un compuesto que es de la fórmula (FX1):



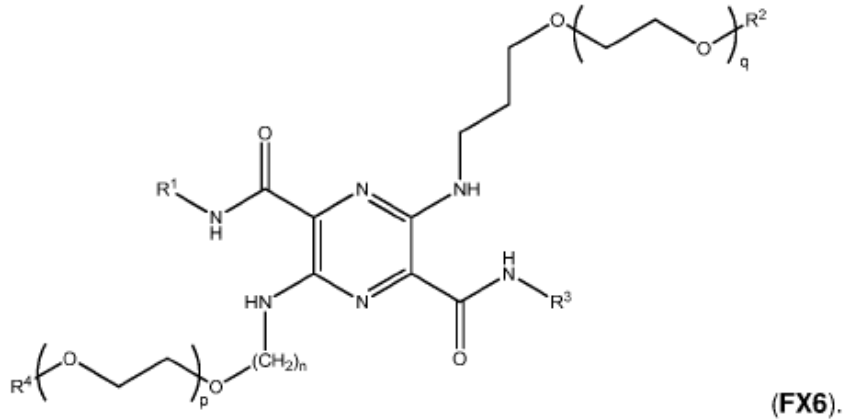
en donde:

- 5  $R^1$  y  $R^3$  son cada uno independientemente  $-H$ ,  $-(CH_2)_a(CH_2CH_2O)_bR^5$ ,  $-(CH_2CH_2O)_bR^5$ ,  $-CH(COOH)CH_2OH$  o  $-(CH_2)_aY^1$ ;  
 cada  $Y^1$  es independientemente  $-OR^6$ ,  $-(CHOH)_cR^7$ ,  $-NR^8R^9$ ,  $-CONR^8R^9$ ,  $-NHCO(CHOH)_cR^7$  o  $-NHCO(CH_2)_a(CH_2CH_2O)_bR^5$ ;  
 cada uno de  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$  y  $R^7$  son independientemente  $-H$  o alquilo  $C_1-C_6$ ;
- 10  $R^8$  y  $R^9$  son independientemente  $-H$ , alquilo  $C_1-C_3$ ,  $-(CH_2)_a(CHOH)_cR^7$ , o  $-(CH_2)_a(CH_2CH_2O)_bR^5$ ;  
 cada  $a$  y  $c$  es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 0 a 6;  
 cada  $b$  es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 1 a 120;  
 cada  $p$  y  $q$  es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 0 a 120;  
 cada uno de  $m$  y  $n$  es independientemente un número entero seleccionado del intervalo de 3 a 6.
- 15 2. El compuesto según la reivindicación 1, que es de la fórmula seleccionada a partir de (FX2); (FX3); (FX4); (FX5) y (FX6);

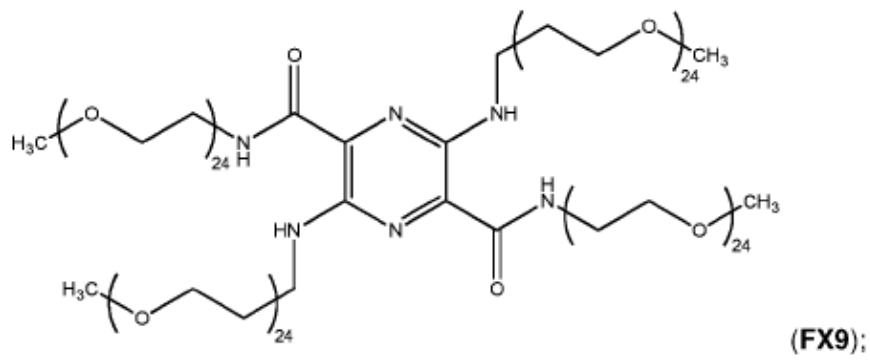
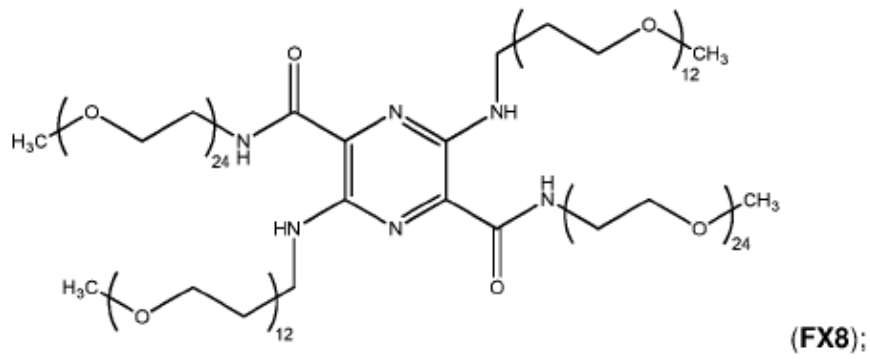
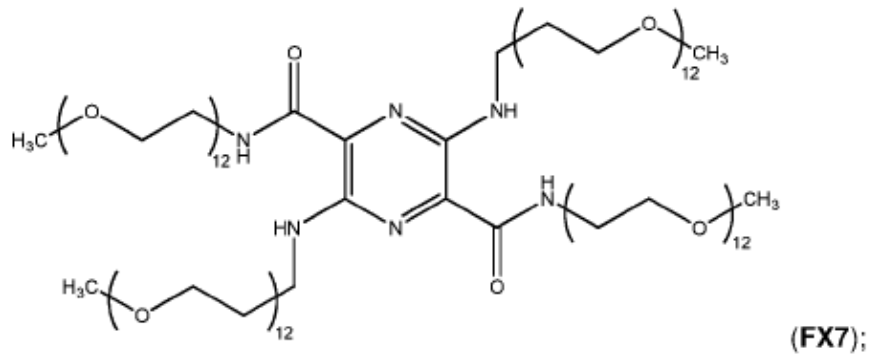


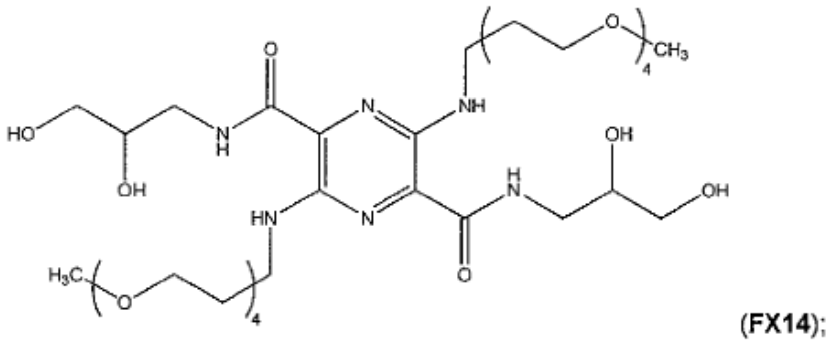
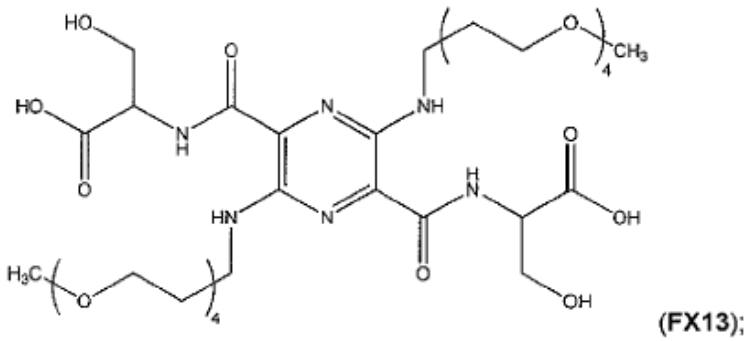
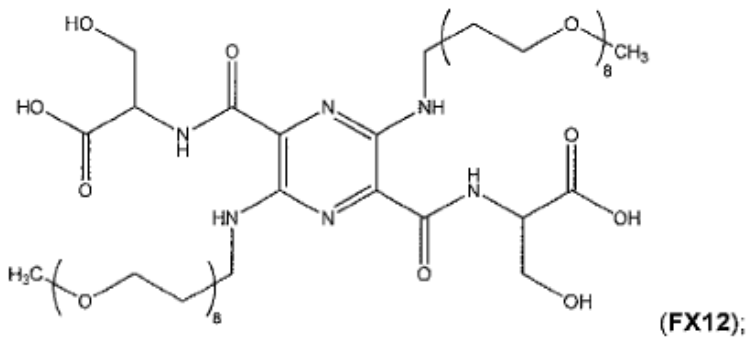
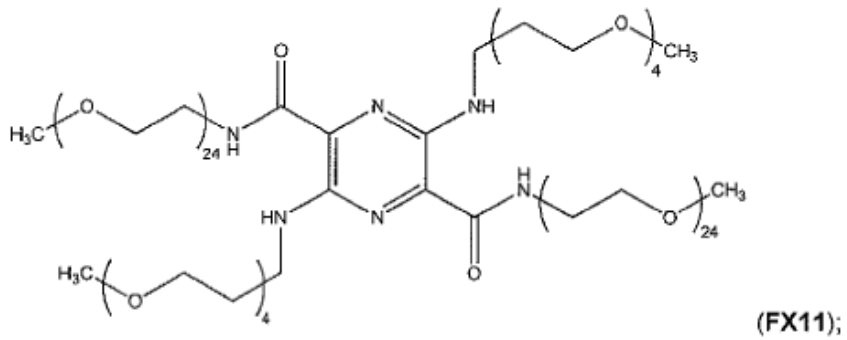
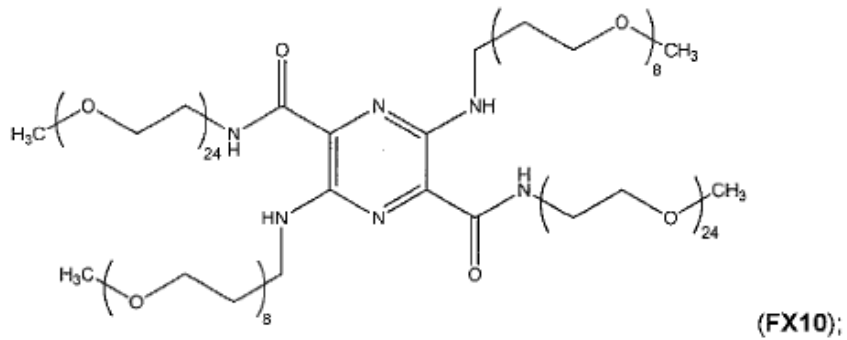


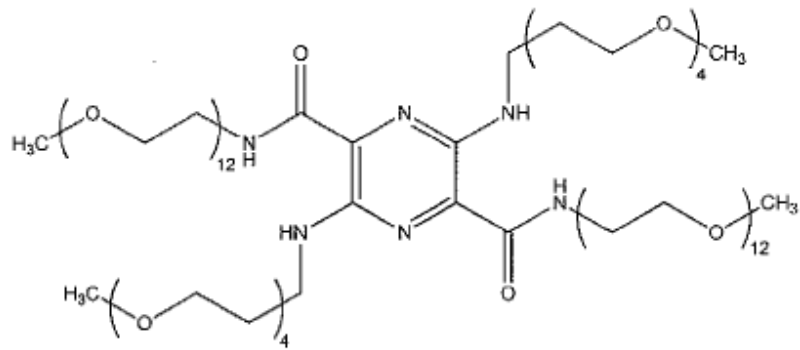
y



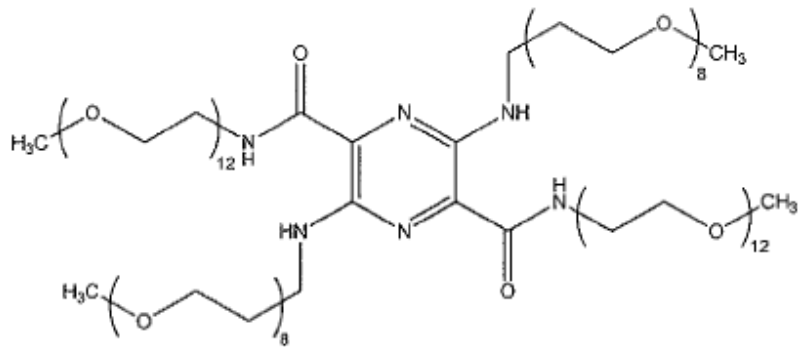
- 5 3. El compuesto según las reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde cada  $R^5$  es independientemente alquilo  $C_1-C_3$ .
4. El compuesto según las reivindicaciones 1-3, en donde cada uno de p, q y b son independientemente un número entero de 2 a 50, o un número entero 2 a 24.
5. El compuesto según la reivindicación 1, en donde  $R^1$  y  $R^3$  son cada uno -H.
- 10 6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde m y n son cada uno independientemente 3 o 4.
7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde  $R^2$  y  $R^4$  son cada uno -H o alquilo  $C_1-C_3$ .
8. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto es de la fórmula (FX7); (FX8); (FX9); (FX10); (FX11); (FX12); (FX13); (FX14); (FX15); (FX16) o (FX17):



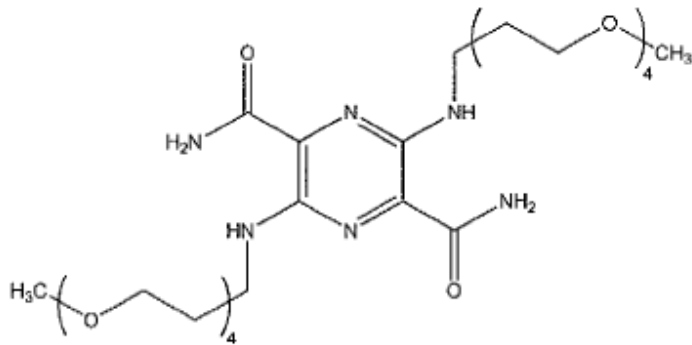




(FX15);

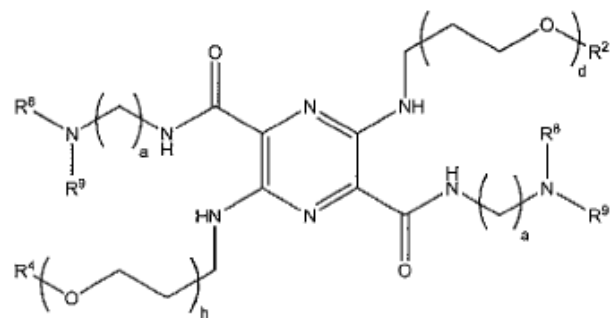


(FX16); o

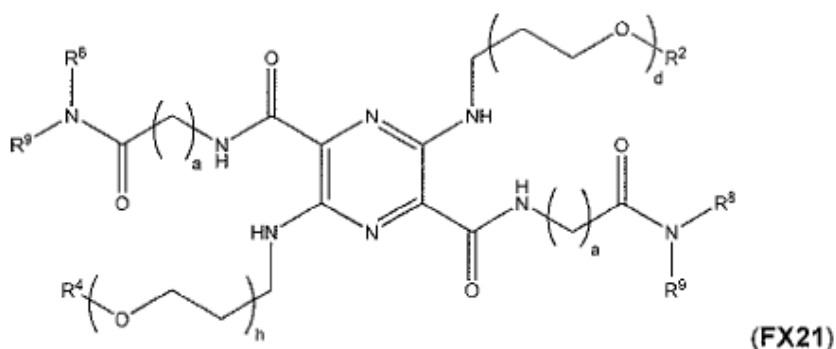
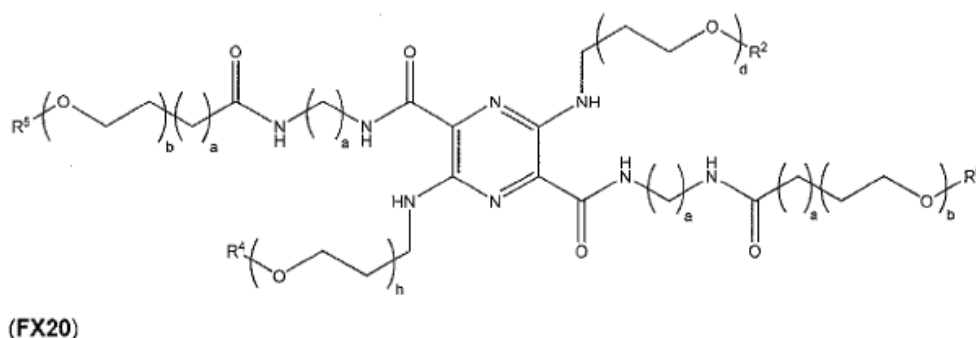
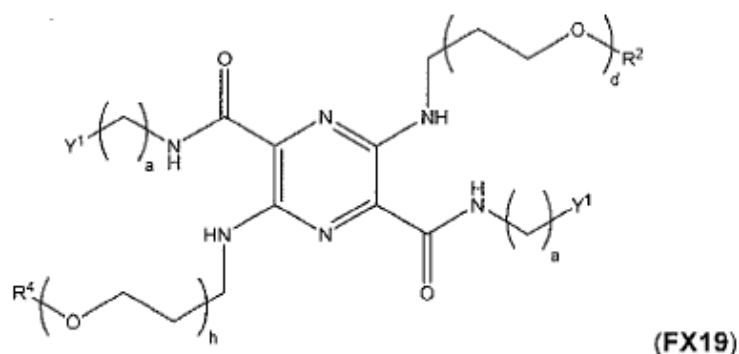


(FX17).

9. El compuesto según la reivindicación 1, que se selecciona a partir de la fórmula (FX18); (FX19); (FX20); y (FX21):

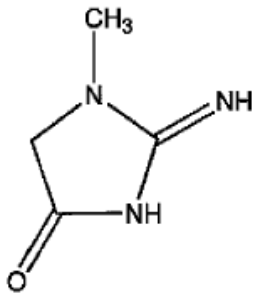


(FX18)

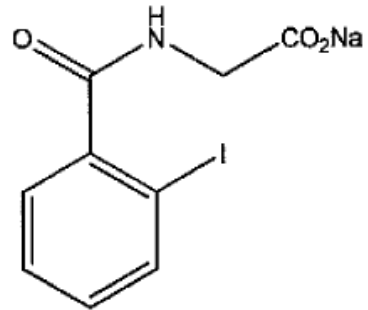


- 5 en donde d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 1 a 120, y cuando el compuesto es de la fórmula (FX21), cada a es independientemente un número entero seleccionado del intervalo 0 a 6.
10. El compuesto según la reivindicación 9, en donde cada d y h son independientemente números enteros seleccionados del intervalo de 2 a 50 o el intervalo de 2 a 24.
- 10 11. El compuesto según la reivindicación 9, en donde cuando el compuesto es de fórmula (FX18), cada a es 2; y cuando el compuesto es de fórmula (FX19) a es 1 o 2 y C es 2, 3, 4, 5 o 6; y cuando el compuesto es de fórmula (FX20) cada a es independientemente 0, 2 o 3 y cada b es 2 a 50.
12. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 9-11 en donde  $R^8$  y  $R^9$  son cada uno  $-(CH_2)_a(CHOH)_cR^7$ , en donde  $Y^1$  es  $-NR^8R^9$  y/o  $R^5$  es alquilo  $C_1-C_3$ .
- 15 13. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para el uso en un procedimiento de formación de imágenes ópticas, formación de imágenes biomédicas, diagnóstico, visualización, monitorización, quirúrgico, terapéutico o procedimiento biomédico para evaluar la función fisiológica de un órgano, tejido o sistema.
14. El compuesto según la reivindicación 13, en donde el procedimiento comprende detectar químicamente el compuesto administrado.
- 20 15. El compuesto según la reivindicación 13 o la reivindicación 14, en donde el procedimiento comprende exponer el compuesto administrado a radiación electromagnética que tiene longitudes de onda seleccionadas sobre el intervalo de 350 nanómetros a 900 nanómetros, y/o en donde la radiación electromagnética es no ionizante.

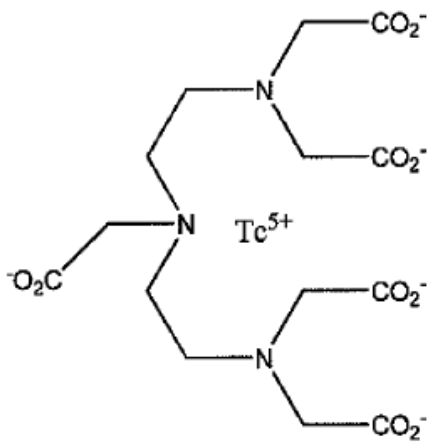
16. El compuesto según las reivindicaciones 13-15, en donde el procedimiento comprende detectar la luminiscencia del compuesto administrado y generar una imagen basada, al menos en parte en la luminiscencia del compuesto.
17. El compuesto según la reivindicación 16, en donde la luminiscencia se detecta visualmente, usando una cámara, dispositivo acoplado cargado o serie de diodos.
- 5 18. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el compuesto tiene unión al plasma de menos que 10%.
19. Una composición farmacéutica que comprende:  
el compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-18; y  
un excipiente farmacéuticamente aceptable, y/o
- 10 uno o más agentes terapéuticos o agentes diagnósticos adicionales.



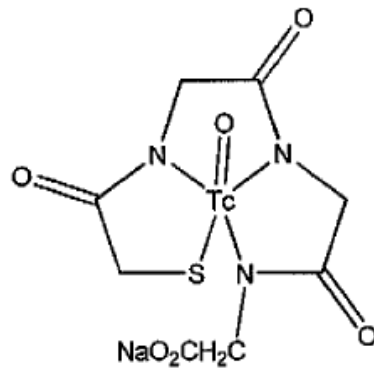
Creatinina  
PM: 113



o-yodohipurato  
PM: 327



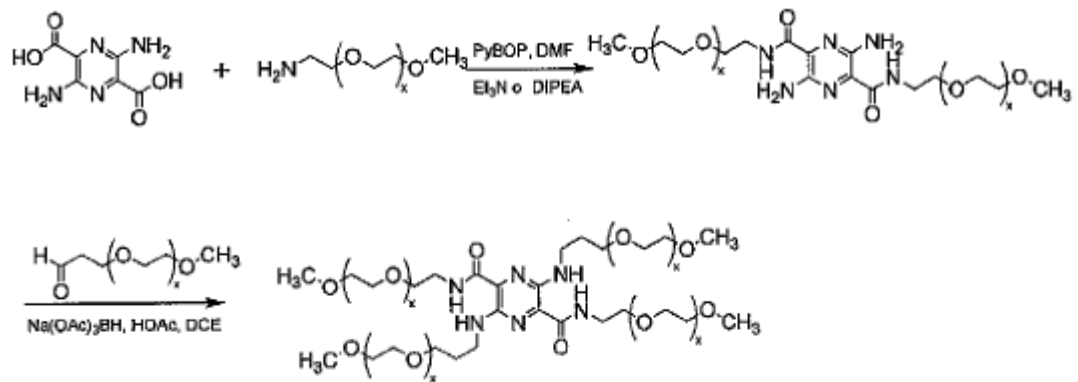
<sup>99m</sup>Tc-DTPA  
PM: 487



<sup>99m</sup>Tc-MAG3  
PM: 364

**Fig. 1**





**Fig. 2**

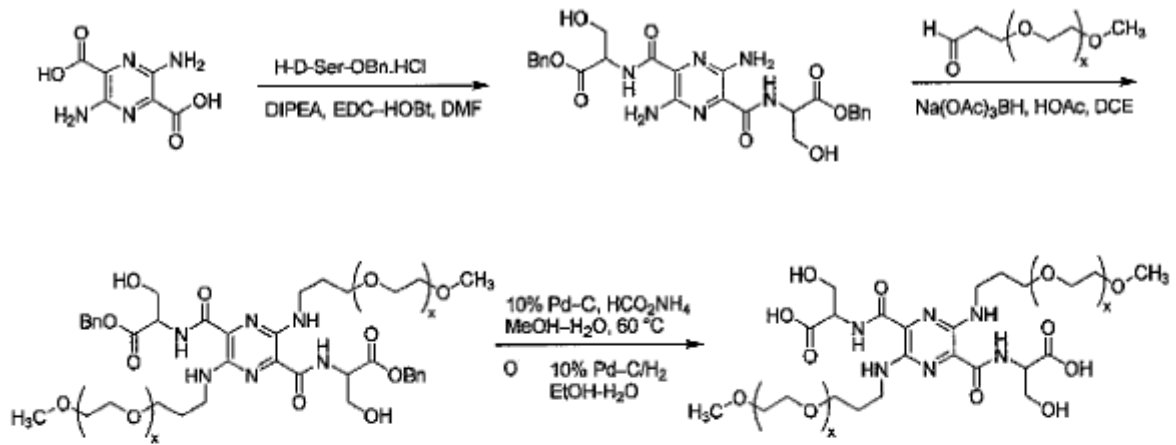
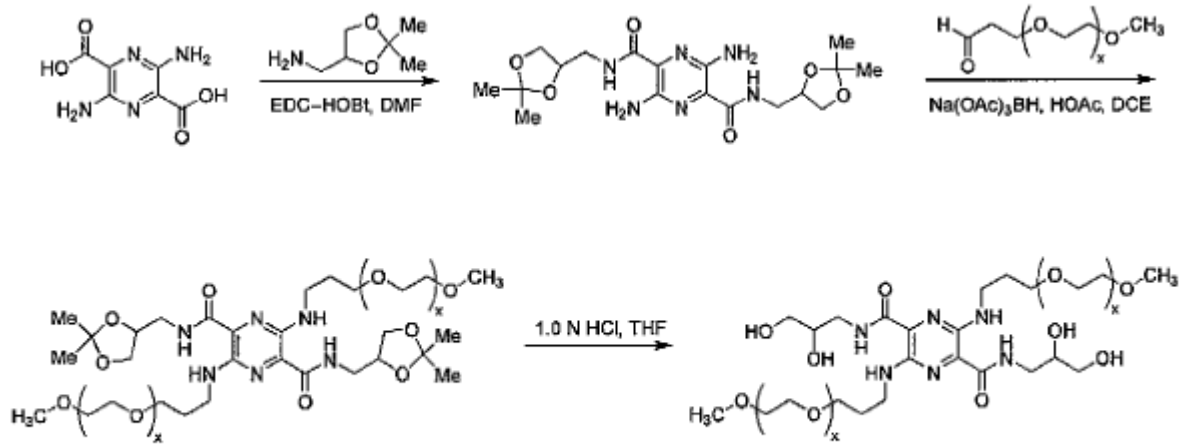
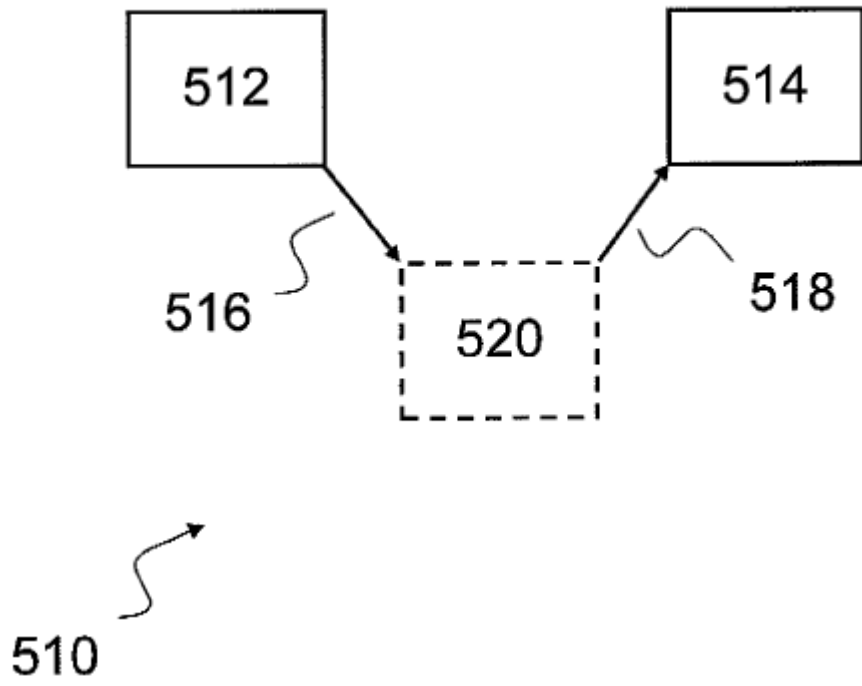
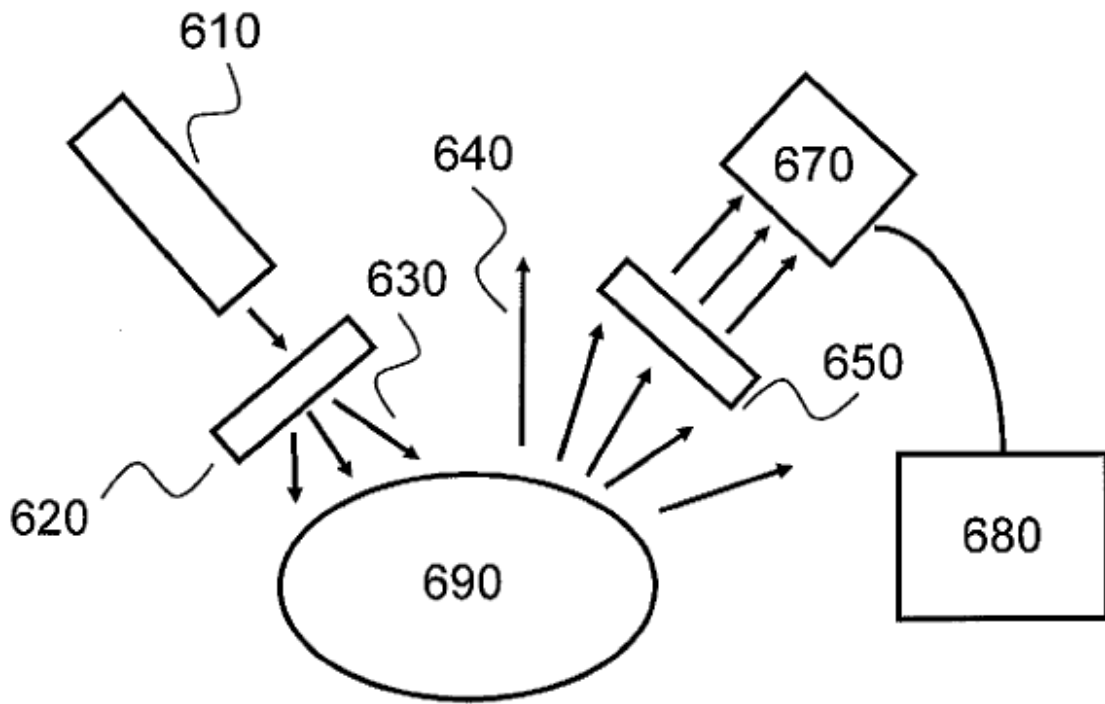


Fig. 3

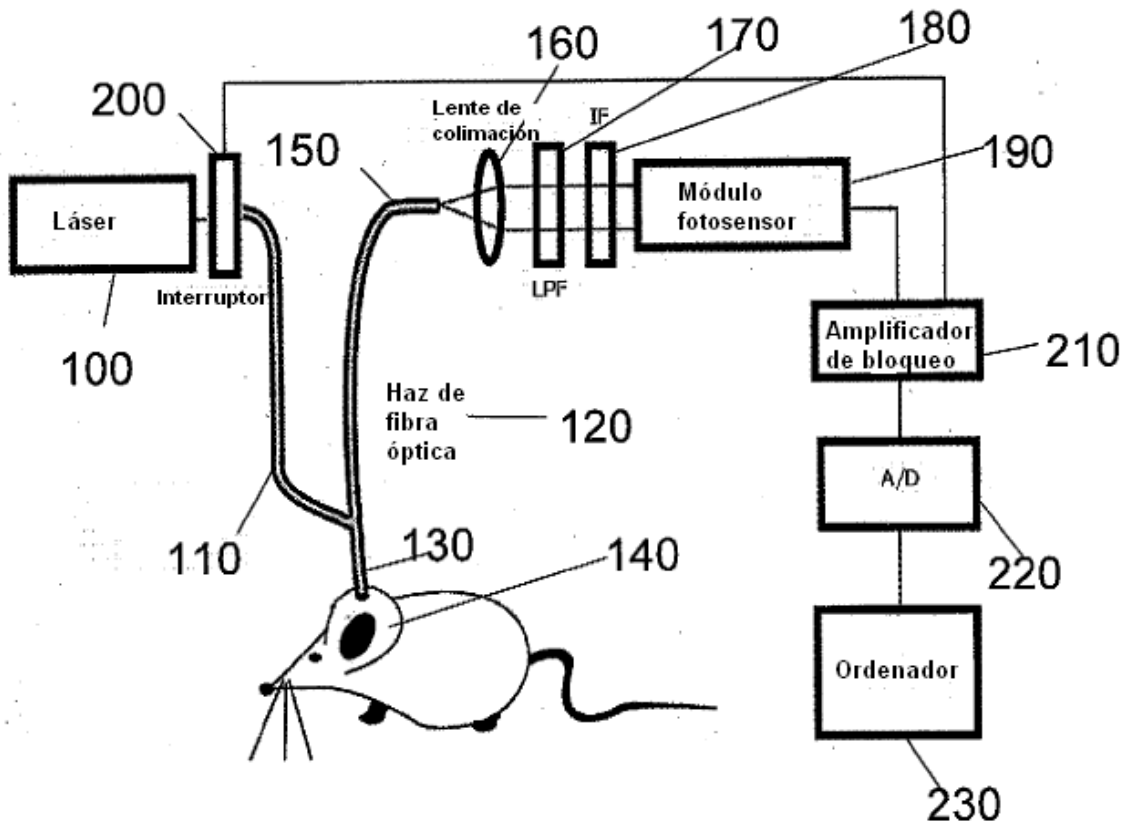
**Fig. 4**



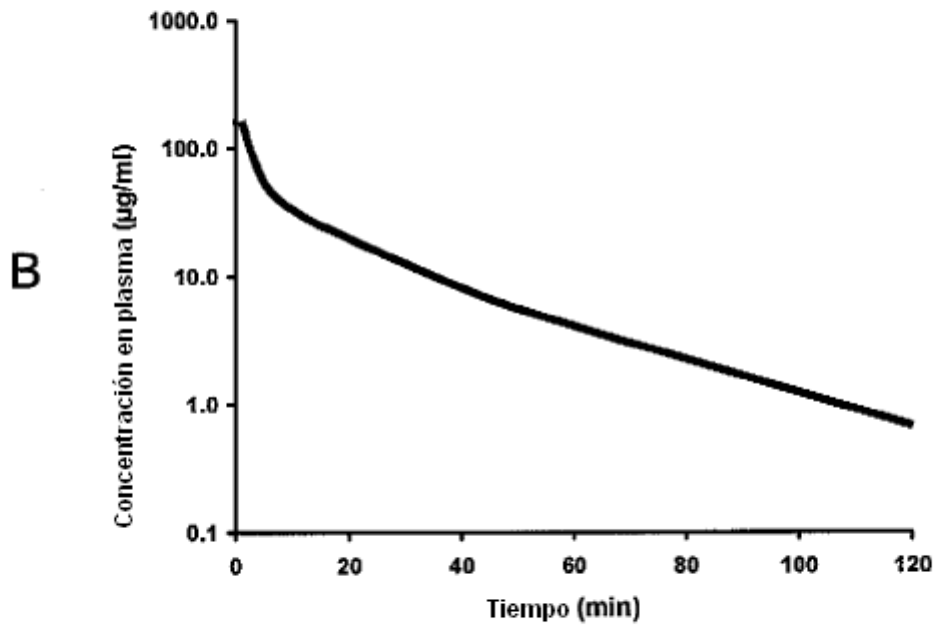
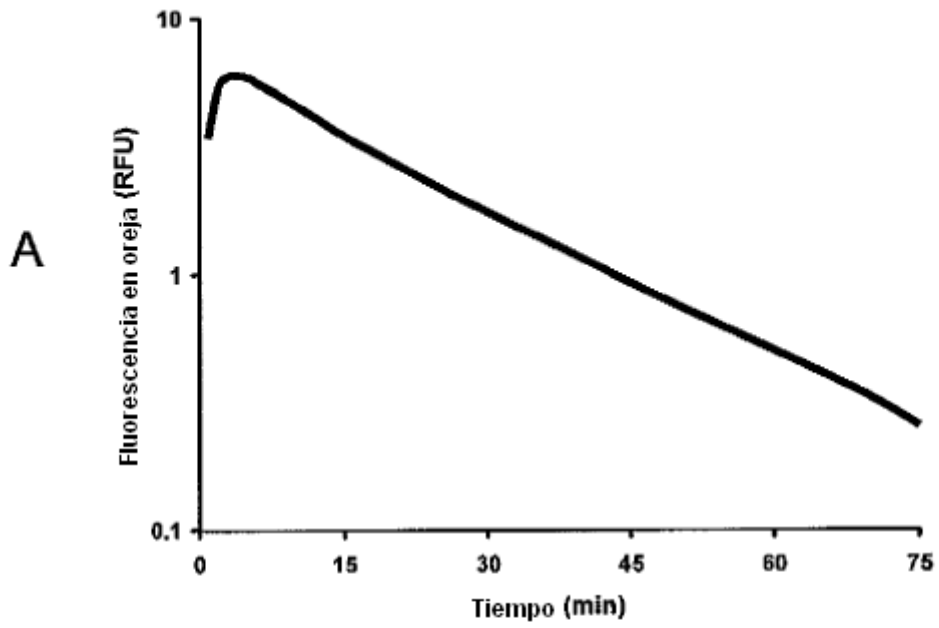
**Fig. 5**



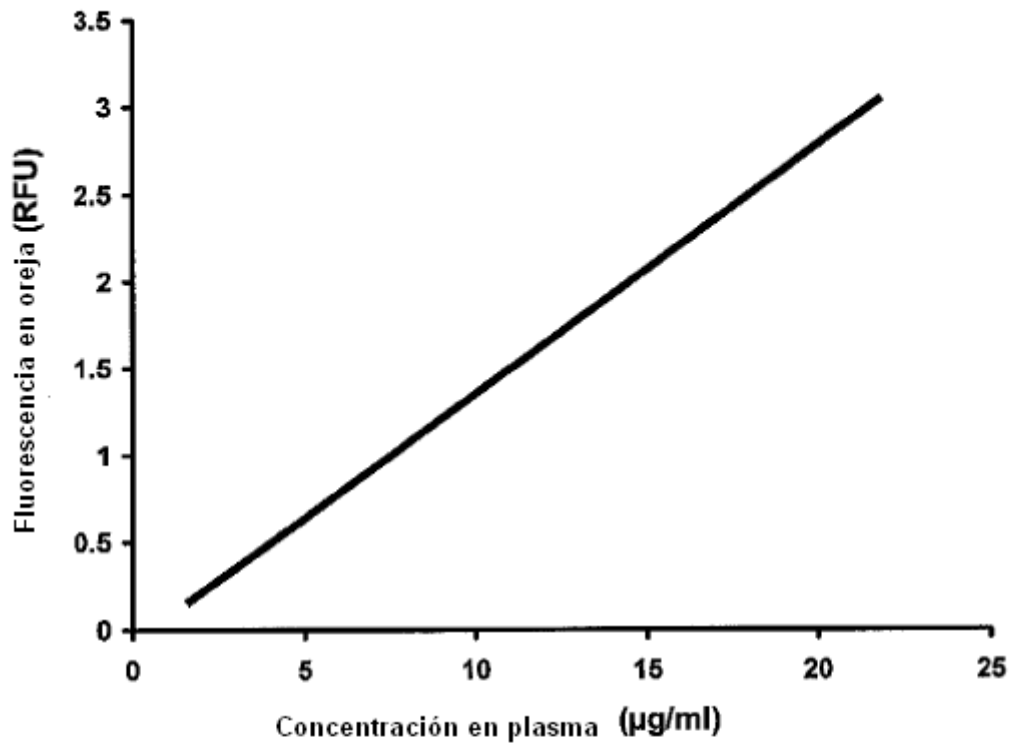
**Fig. 6**



**Fig. 7**



**Fig. 8**



**Fig. 9**