

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 960 729**

51 Int. Cl.:

C07F 5/00 (2006.01)

A61K 51/04 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.03.2019** **PCT/MX2019/000025**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.09.2019** **WO19177449**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2019** **E 19768668 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2023** **EP 3766893**

54 Título: ¹⁷⁷ **Lu-dota-hynic-ipsma como un radiofármaco terapéutico dirigido al antígeno prostático específico de membrana**

30 Prioridad:

14.03.2018 MX 2018003175

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.03.2024

73 Titular/es:

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
NUCLEARES (100.0%)
Carretera México-Toluca s/n La Marquesa
Ocoyoacac, Estado de México 52750, MX**

72 Inventor/es:

**FERRO FLORES, GUILLERMINA;
OCAMPO GARCÍA, BLANCA ELI;
LUNA GUTIÉRREZ, MYRNA ALEJANDRA;
SANTOS CUEVAS, CLARA LETICIA;
AZORÍN VEGA, ERIKA PATRICIA;
JIMÉNEZ MANCILLA, NALLELY PATRICIA;
HERNÁNDEZ JIMÉNEZ, TANIA y
RAMÍREZ DE LA CRUZ, FLOR DE MARÍA**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 960 729 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

¹⁷⁷Lu-dota-hynic-ipsma como un radiofármaco terapéutico dirigido al antígeno prostático específico de membrana

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un nuevo radiofármaco terapéutico de lutecio-177 como inhibidor del antígeno prostático específico de membrana (iPSMA), donde el ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA) unido a la molécula hidrazinonicotinamida (HYNIC) de naturaleza heterocíclica, genera una estructura química rígida que minimiza el número de conformelos y enlaces de hidrógeno intramoleculares, produciendo una orientación espacial favorable del sitio activo (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) en la molécula para el reconocimiento biológico por la proteína PSMA. El nuevo radiofármaco de ¹⁷⁷Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA se acumula, con alta afinidad in vivo, en tumores que sobre-expresan a la proteína PSMA, actuando como un agente radioterapéutico.

ANTECEDENTES

El cáncer de próstata (CaP) es el segundo cáncer más común en hombres en todo el mundo [Jemal A, et al. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin. 2010, 60: 277-300]. En los pacientes con CaP localizado, la tasa de supervivencia a cinco años se aproxima al 100 %; sin embargo, en los pacientes con metástasis, la tasa de supervivencia a los cinco años es de 31 % [Wei Q, et al. Global analysis of differentially expressed genes in androgen-independent prostate cancer. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2007, 10: 167-174]. Casi todos los pacientes con metástasis responden inicialmente bien a los tratamientos anti-andrógenos. Sin embargo, la principal causa de muerte en pacientes con CaP es la progresión a la independencia de andrógenos.

La enzima glutamato carboxipeptidasa II, también conocida como antígeno prostático específico de membrana (PSMA), está expresada en las células

epiteliales de la próstata y altamente sobre-expresada en el 95 % de los cánceres de próstata avanzados. Los niveles de expresión del PSMA se correlacionan directamente a la independencia de andrógenos, la metástasis y a la progresión de CaP [Santoni M., et al. Targeting prostate-specific membrane antigen for personalized therapies in prostate cancer: morphologic and molecular backgrounds and future promises. J Biol Regul Homeost Agents. 2014, 28: 555–563]. Por lo tanto, el PSMA es un blanco molecular adecuado para la detección por imagen y la radioterapia de cáncer de próstata metastásico utilizando radiofármacos específicos.

El gen de PSMA se compone de 19 exones que abarcan ~ 60 kb del ADN genómico. Este gen codifica una proteína de tipo II transmembranal con fragmento citoplasmático corto (19 aminoácidos), un dominio transmembranal hidrófobo (24 aminoácidos), y un gran dominio extracelular (707 aminoácidos). El PSMA contiene Zn en el centro activo de la enzima, por lo que la secuencia Glu-NH-CO-NH-Lys(β-naftil alanina)=Glu-NH-CO-NH-Lys(Nal), se ha propuesto como un inhibidor efectivo de su actividad [Benesová, M, et al. Preclinical evaluation of a tailor-made DOTA-conjugated PSMA inhibitor with optimized linker moiety for imaging and endoradiotherapy of prostate cancer. J Nucl Med, 56, 2015: 914-920]. En la interacción química específica, los 3 grupos carboxilo del fragmento Glu-NH-CO-NH-Lys interactúan electrostáticamente con las cadenas laterales peptídicas en el centro activo del PSMA, el oxígeno de la urea se coordina al Zinc y la estructura aromática en Nal interactúa para el acoplamiento con el sitio hidrofóbico activo de la enzima. En estudios clínicos recientes, la aplicación de dos diferentes derivados de inhibidores de PSMA marcados con Lu-177, el ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 y ¹⁷⁷Lu-PSMA-I&T, han demostrado una disminución significativa en los niveles del antígeno prostático (PSA) en el 50-70 % de los pacientes con CaP, sin mostrar efectos secundarios severos incrementando significativamente la supervivencia de los pacientes [Ahmadzadehfar H., et al. Early side effects and first results of radioligand therapy with ¹⁷⁷Lu-DKFZ-617 PSMA of castrate-resistant metastatic prostate cancer: a two-centre study. EJNMMI Res. 2015, 5:36;

Kratochwil C et al. [¹⁷⁷Lu]Lutetium-labelled PSMA ligand-induced remission in a patient with metastatic prostate cancer. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 42, 2015: 987-988; Weineisen M. et al, ⁶⁸Ga- and ¹⁷⁷Lu-Labeled PSMA I&T: Optimization of a PSMA-Targeted Theranostic Concept and First Proof-of-Concept Human Studies. J Nucl Med 2015; 56:1169-1176; Baum, R. P., et al. Lutetium-177 PSMA radioligand therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer: safety and efficacy. J Nucl Med, 2016, 57:1006-1013; Kratochwil, C, et al. PSMA-targeted radionuclide therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer with Lu-177 labeled PSMA-617. J Nucl Med, 2016, 57:1170-1176; Rahbar, K et al. Response and tolerability of a single dose of ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a multicenter retrospective analysis. J Nucl Med, 2016, 57:1334-1338; Rahbar, K et al. German Multicenter Study Investigating ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 Radioligand Therapy in Advanced Prostate Cancer Patients. J Nucl Med, 2017, 58:85-90]. La proteína PSMA es multifuncional, ya que puede actuar como un receptor de internalización, como una enzima de absorción de nutrientes, o bien como una peptidasa que participa en la transducción de señales en las células epiteliales y en la migración celular [Rajasekaran A. et al. Is prostate-specific membrane antigen a multifunctional protein? American Journal of Physiology - Cell Physiology, 2005, 288:C975-C981]. Por ello, los radiofármacos inhibidores de PSMA también pueden utilizarse en otro tipo de neoplasias diferentes al CaP, como en el caso del cáncer de mama metastásico, osteosarcomas, gliomas y cáncer diferenciado de tiroides, entre otros [la Fougère, et al. In vivo visualization of prostate-specific membrane antigen in glioblastoma. Eur J Nucl Med and Mol Imaging, 2015, 42: 170-171; Verburg FA, et al. First evidence of PSMA expression in differentiated thyroid

cancer using [^{68}Ga] PSMA-HBED-CC PET/CT. *Eur J Nucl Med and Mol imaging*, 2015, 42: 1622-1623; Zeng C et al. Prostate-specific membrane antigen: a new potential prognostic marker of osteosarcoma. *Medical Oncology*, 2012, 29: 2234-2239; Sathekge M et al. ^{68}Ga -PSMA imaging of metastatic breast cancer. *Eur J Nucl Med and Mol Imaging*, 2015, 42:1482-1483].

- 5 Sin embargo, antes de cualquier tratamiento radioterapéutico, debe evaluarse por imagen nuclear la captación del radiofármaco en los tumores o sus metástasis a fin de confirmar si el tratamiento será o no útil para el paciente, así como para determinar la actividad necesaria a administrar para impartir la dosis de radiación ablativa a los tumores, es decir, se practica la medicina personalizada y la teranóstica. Para ello, es necesario utilizar radiofármacos diagnóstico inhibidores de PSMA con la finalidad de obtener imágenes moleculares por tomografía de emisión de positrones (PET) o por tomografía de emisión de fotón único (SPECT), de los cuales el ^{68}Ga -PSMA-11 (PET) es el más utilizado en la práctica clínica por su alta sensibilidad y especificidad [Eder M et al. Novel preclinical and radiopharmaceutical aspects of [^{68}Ga]Ga-PSMA-HBED-CC: a new PET tracer for imaging of prostate cancer. *Pharmaceuticals*, 2014, 7: 779-796; Eder M et al. ^{68}Ga -complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging. *Bioconjugate Chem*, 2012, 23: 688-697; Weineisen et al. ^{68}Ga -and ^{177}Lu -labeled PSMA I&T: optimization of a PSMA-targeted theranostic concept and first proof-of-concept human studies." *J Nucl Med*, 2015, 56: 1169-1176; Afshar-Oromieh, A., et al. Comparison of PET/CT and PET/MRI hybrid systems using a ^{68}Ga -labelled PSMA ligand for the diagnosis of recurrent prostate cancer: initial experience. *Eur J Nucl Med and Molecular Imaging* 41.5 (2014): 887-897].

- 20 No obstante, a nivel nacional e internacional, los estudios por SPECT representan más de 70 % del total en medicina nuclear por su menor costo y mayor disponibilidad de equipos y radionúclidos, ya que no es necesario tener un ciclotrón dentro de los Hospitales o cercano a éstos. Para imágenes SPECT, el radionúclido más utilizado es el $^{99\text{m}}\text{Tc}$, y recientemente se reportó al $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-iPSMA como un radiofármaco inhibidor del antígeno prostático específico de membrana (iPSMA) que contiene hidrazinonicotinamida (HYNIC) como un grupo químico crítico en el incremento de la lipofilia de la molécula para el acoplamiento a los sitios hidrófobos del PSMA, aunado al uso convencional del HYNIC como un agente quelante para el radiometal $^{99\text{m}}\text{Tc}$, donde el ácido etilendiaminodiacético (EDDA) es usado para completar la esfera de coordinación del radiometal. El radiofármaco de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-iPSMA detecta, con alta afinidad in vivo, a la proteína PSMA sobre-expresada en células de cáncer de próstata mediante técnicas de imagen molecular SPECT en medicina nuclear [Ferro-Flores G., et al. Clinical translation of a PSMA inhibitor for $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -based SPECT. *Nucl Med Biol*, 2017, 48:36-44 ; Santos-Cuevas et al. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-iPSMA: Biokinetics and Radiation Dosimetry in Healthy Subjects and Tumor Imaging in Patients with Prostate Cancer. *Nucl Med Biol*, 2017, 52:1-6; Lawal I.O., et al. Diagnostic sensitivity of Tc-99m HYNIC PSMA SPECT/CT in prostate carcinoma: A comparative analysis with Ga-68 PSMA PET/CT. *The Prostate*, 2017, 1-8; Ferro-Flores G., et al. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC iPSMA as a radiopharmaceutical for detecting the overexpression of prostate-specific membrane antigen, WO2017222362, PCT/MX2017/000068].

- 35 El documento WO2015055318A1 (Eder et al.) divulga inhibidores de PSMA marcados y su uso como agentes de orientación, más específicamente, DOTA conjugado al inhibidor de PSMA Glu-Urea-Lys acoplado a través de un conector variable. b

- El documento WO2007005491 (Harris et al.) divulga conjugados de hidrazina como agentes de detección por imagen, más específicamente, un aminoácido o péptido que tiene 2 aminoácidos, acoplado a través de un conector a un quelador de hidrazina para radioisótopos de diagnóstico.

- 40 Con la finalidad de desarrollar un par teranóstico para el ligando HYNIC-iPSMA que pueda ser marcado con Lu-177, se propone introducir la molécula DOTA unida al HYNIC, de forma que se genere una estructura química rígida que minimice el número de conformeros y enlaces de hidrógeno intramoleculares, produciendo una orientación espacial favorable del sitio activo (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) de la molécula para el reconocimiento biológico por la proteína PSMA.

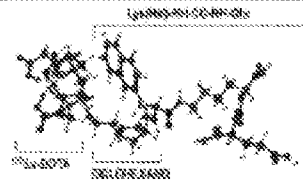
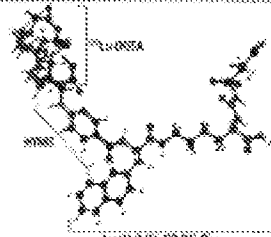
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- Se presenta con fines de patente un nuevo radiofármaco de lutecio-177 inhibidor del antígeno prostático específico de membrana (iPSMA) que contiene el ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA) unido a la molécula hidrazinonicotinamida (HYNIC) de naturaleza heterocíclica, lo cual genera una estructura química rígida que minimiza el número de conformeros y enlaces de hidrógeno intramoleculares, produciendo una orientación espacial favorable del sitio activo (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) de la molécula para el reconocimiento biológico por la proteína PSMA. El nuevo radiofármaco de ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA se acumula, con alta afinidad in vivo, en tumores que sobre-expresan a la proteína PSMA, actuando como un agente radioterapéutico. En la figura 1 se muestra esquemáticamente la estructura del radiofármaco a patentar (^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA).

- 55 Basados en el conocimiento básico de que por su naturaleza heterocíclica la piridina tiene un momento dipolar y una energía de resonancia menor a la del benceno (117 kJ·mol⁻¹ para la piridina frente a 150 kJ·mol⁻¹ para el benceno), así como una menor longitud del enlace C-N (137 pm) frente a 139 pm para el enlace C-C en el benceno y ciclohexano [Eischenbroich C. *Organometallic chemistry*, 6th ed., 2008, ISBN 3-8351-0167-6], se diseñó y sintetizó el derivado ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA para obtener una estructura química poco reactiva y rígida en la región del HYNIC que minimice

el número de confórmeros y enlaces de hidrógeno intramoleculares con respecto a los derivados ^{177}Lu -PSMA-617 y ^{177}Lu -PSMA-I&T. En la tabla 1 siguiente se presenta para los diferentes inhibidores de PSMA, los resultados comparativos de sus propiedades moleculares y geometrías estructurales óptimas. Los ligandos PSMA-617, DOTA-HYNIC-iPSMA, y PSMA-I&T se construyeron teniendo en cuenta la valencia, el tipo de enlace, la carga y la hibridación. Las energías mínimas (procedimiento MM3 aumentado) y el confórmero de energía más bajo (procedimiento CONFLEX) asociado a la geometría óptima de sus estructuras, se obtuvieron utilizando el software CAChe Work System Pro. Las estructuras geométricas óptimas se confirmaron mediante métodos mecánico- cuánticos usando la ecuación de Schrödinger con MOPAC (orbital molecular) que calcula el calor de la formación en agua (COSMO). A partir de ellas se construyeron los complejos con Lutecio y se presentan los resultados de MM3 (mecánica molecular) aumentado, CONFLEX y la estructura de la geometría más estable y óptima para los radiofármacos Lu-PSMA-617 y Lu DOTA-HYNIC-iPSMA y Lu-PSMA-I&T. En la tabla 1 se observa que la molécula Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA es más estable que la de Lu-PSMA-617 de acuerdo con la energía del confórmero más estable (menor energía) y al menor número total de confórmeros; así como la formación de menos enlaces de hidrógeno en Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA respecto a Lu-PSMA-617 y Lu-PSMA-I&T. Es importante enfatizar que los enlaces de hidrógeno juegan un papel crucial para la conformación espacial, ya que, aunque el

TABLA 1. PROPIEDADES MOLECULARES DE TRES LIGANDOS INHIBIDORES DE LA PROTEÍNA PSMA CON CAPTACIÓN TUMORAL Y EFECTO RADIOTERAPÉUTICO DEMOSTRADO EN ESTUDIOS CLÍNICOS CUANDO SE COORDINAN AL Lu-177

CALCULO (kcal/mol)	PSMA-617	Lu-PSMA-617	DOTA-HYNIC- iPSMA	Lu-DOTA- HYNIC-iPSMA	PSMA-I&T	Lu-PSMA-I&T
Energía mínima (MM3)	87.795	88.838	106.812	77.388	105.592	81.891
Carga electrónica	-20.447	-187.827	-10.081	-308.795	32.131	-219.523
Enlaces de hidrógeno	35.517	32.625	25.363	18.894	27.344	35.688
van der Waals	45.071	55.025	68.030	71.704	63.840	127.455
Torsión (grados)	8.864	10.184	7.385	36.870	8.471	83.105
Ángulo	18.395	21.295	20.784	84.579	29.504	143.282
Torsión de lazo	5.932	1.198	1.317	4.383	1.138	8.848
Dihedral	14.292	32.267	15.882	42.292	33.508	83.746
Torsión simple	5.173	4.525	0.044	0.299	0.217	1.864
Torsión de lazo	-1.268	-1.525	-1.169	-0.389	-1.803	-8.234
Flexión lazo	-0.164	0.691	-0.023	3.244	-0.825	8.832
CONFLEX						
Energía del confórmero más estable	74.127	88.288	78.395	75.281	93.095	82.884
No. de confórmeros almacenados	1181	46	438	28	496	2
MOPAC/PSMA	-755.846		-855.842		-1058.281	
Costo de formación						
MOPAC/PSMA/PSMA	-138.283		-338.134		-1138.073	
Costo de formación en (g, g)						
Geometría óptima del radiofármaco Lu-PSMA-617						
Geometría óptima del radiofármaco Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA						
Geometría óptima del radiofármaco Lu-PSMA-I&T						

Lu-PSMA-I&T presenta el menor número de conformaros con la menor energía mínima, en su conformación se ven comprometidos los anillos hidrófobos de la molécula al orientarse, debido sustancialmente a dichas interacciones débiles de hidrógeno, hacia el anillo ^{177}Lu -DOTA (interacciones benceno-[m-yodo-fenol]- ^{177}Lu -DOTA). Por ello, las geometrías estructurales óptimas de los diferentes radiofármacos presentadas en la tabla 1, indican una conformación espacial conveniente para el Lu-DOTA-HYNIC-iPSMA, donde se produce una orientación espacial favorable (sin interacciones intramoleculares significativas) del sitio activo (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) de la molécula para el reconocimiento biológico por la proteína PSMA. Es decir, los 3 grupos carboxilo del fragmento Glu-NH-CO-NH-Lys quedan libres para interactuar electrostáticamente con las cadenas laterales peptídicas en el centro activo del PSMA, el oxígeno de la urea para coordinarse al Zinc y la estructura aromática en Nal para el acoplamiento con el sitio hidrofóbico activo de la enzima.

Por otro lado, en la estructura del radiofármaco a patentar, el HYNIC no se utiliza como una molécula para quelar al radiometal, mientras que en otros radiofármacos, el HYNIC se utiliza exclusivamente como agente bifuncional para el marcado con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [Decristoforo C et al. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-TOC: a new $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled radiopharmaceutical for imaging somatostatin receptor-positive tumours; first clinical results and intra-patient comparison with ^{111}In -labelled octreotide derivatives, 2000, J Nucl Med 27;1318-25; Ferro-Flores G et al. Preparation and Evaluation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-[Lys³]-Bombesin for Imaging of GRP Receptor-Positive Tumours. Nucl Med Comm, 2006, 27:371-376; González-Vázquez A et al. Dosimetry and Biokinetics of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-Tyr³-Octreotide Prepared from Lyophilized Kits. Appl Rad Isot, 2006, 64: 792-79; Ortiz-Arzate Z et al. Kit preparation and biokinetics in women of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-E-[c(RGDfK)]₂ for breast cancer imaging. Nucl Med Gommun, 2014, 35:42.3-32; Medina-García V et al. A Freeze-Dried Kit Formulation for the Preparation of Lys²⁷/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-Exendin(9-39)/ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-Tyr³-Octreotide to Detect Benign and Malignant Insulinomas. Nucl Med Biol, 2015, 42: 911-916].

Método de preparación del radiofármaco de la invención

Para la síntesis de la molécula se utilizó inicialmente el di-ter-butil éster del ácido glutámico, el cual se hizo reaccionar con carbonildiimidazol (CDI) en presencia de trietilamina (TEA) para formar el derivado acilimidazol, el cual se activó con metil triflato (MeOTf) para reaccionar con el (S)-ter-butil-2-amino-6-(benciloxicarbonilamino) hexanoato (Cbz-Lys-Ot-Bu) con posterior desprotección del Cbz via hidrogenólisis, obteniendo así el derivado Glu-Urea-Lys, el cual se hizo reaccionar en fase sólida (resina MBHA) con el aminoácido Fmoc-β-naftil alanina (HBTU/HOBt), seguido del ácido 6-Boc-hidrazinQipridin-3-carboxílico (Boc-HYNIC) en presencia de diisopropiletilenamina (DIPEA) y dimetilformamida (DMF) y posterior adición de TFA. Este último paso de adición se repitió para la introducción de DOTA-tris (t-Bu ester). Finalmente, el compuesto se desprotegió con TFA, se purificó por HPLC y se liofilizó. El producto final fue el Glu-NH-CO-NH-Lys(β-naftil alanina)-HYNIC-DOTA (DOTA-HYNIC-iPSMA), que presentó el espectro de masas esperado que se muestra en la figura 2. El análisis por HPLC en fase reversa del sólido blanco liofilizado mostró una pureza química del compuesto del 98.8 %.

El DOTA-HYNIC-iPSMA (0.6 mg) se formuló como una forma farmacéutica liofilizada conteniendo 50 mg de manitol y 100 mg de ácido ascórbico. Dicha formulación, después de ser reconstituido con 1.1 mL de buffer de acetato de sodio 1 M, pH 5.0, conteniendo la solución estéril y libre de pirógenos de cloruro de lutecio-177 ($^{177}\text{LuCl}_3$) e incubación de 30 min en un baño seco a 95°C, provee una solución acuosa transparente del compuesto a patentar ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA (figura 1) con una pureza radioquímica mayor al 98 % determinada por HPLC de fase reversa que presenta el radiocromatograma de la figura 3.

El radiofármaco se mantiene estable con una pureza radioquímica mayor al 98 % después de 7 días de marcado. Las pruebas in vitro de estabilidad en suero humano muestran una unión a proteínas séricas de 6.5 ± 1.8 % y una alta estabilidad radioquímica (>98 %). La afinidad del ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA, determinada por estudios de saturación en células de cáncer positivas a la proteína PSMA (LNCaP), mostró un K_d de 6.33 ± 2.69 nM, y un número máximo de sitios de unión (B_{max}) de 5.89 ± 0.47 nM.

El compuesto no presentó toxicidad ni efectos adversos cuando se administró a una dosis de 40 mg/kg en ratones balb-C de laboratorio. Las pruebas de biodistribución del ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA en ratones atímicos con tumores inducidos LNCaP, mostraron una captación en los tumores de 9.74 ± 1.13 % de la actividad administrada por gramo de tejido (%ID/g) con vía de eliminación principalmente renal.

Para determinar la biocinética y dosimetría del radiofármaco, se adquirieron imágenes de cuerpo entero de cinco sujetos sanos a los 20 min, 6, 24, 48 y 120 h después de la administración de ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA (185 MBq). La secuencia de imágenes se usó para extrapolar las curvas de tiempo-actividad en cada órgano para ajustar el modelo biocinético y calcular el número total de desintegraciones (N) que ocurrieron en las regiones fuente. Los datos N se utilizaron en el código OLINDA/EXM para calcular las dosis de radiación interna. Las imágenes en voluntarios sanos, muestran una rápida depuración sanguínea, con un valor de vida media de 1.1 h para el componente rápido ($T_{1/2\alpha} = \ln 2/0.614$), 9.2 h para el primer componente lento ($T_{1/2\beta} = \ln 2/0.075$) y 79.6 h para el segundo componente lento ($T_{1/2\gamma} = \ln 2/0.008$). La mayor captación y excreción es renal, con menor captación hepática y alta captación en glándulas paratiroides, salivales y lagrimales. Las dosis promedio absorbidas fueron 0.23, 0.28, 0.88 y 1.17 mGy/MBq para el bazo, el hígado, el riñón y las glándulas salivales, respectivamente.

Para evaluar el potencial radioterapéutico, se administró a once pacientes (edad media: 66 años, rango 45-86) de 1 a 4 ciclos de ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA (3.7 o 7.4 GBq) cada 8-10 semanas. La respuesta se evaluó utilizando imágenes con ^{68}Ga -PSMA-11 PET/CT (radiofármaco con probada afinidad en la práctica clínica y técnica de alta resolución para la detección de lesiones metastásicas de cáncer de próstata) y determinando los niveles séricos del antígeno prostático específico (PSA) antes y después del tratamiento. El 60 % de los pacientes tuvieron una disminución del PSA y el 70 % una reducción en el número y tamaño de lesiones metastásicas y/o en la intensidad de captación de radiofármaco en las metástasis y tumor primario determinado por imagen.

La figura 4 muestra una imagen SPECT del radiofármaco ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA obtenida en un voluntario sano a diferentes tiempos. La figura 5 muestra una imagen de PET y SPECT del mismo paciente con cáncer de próstata metastásico avanzado al que se le administró tanto ^{68}Ga -PSMA-11 (PET, 1 h) como ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA (SPECT, 24 h), mostrando que ambos radiofármacos detectan con alta sensibilidad los tumores y metástasis de cáncer de próstata, asociado al reconocimiento de la sobre-expresión del PSMA; confirmando la capacidad del radiofármaco ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA para detectar in vivo al PSMA sobre-expresado en las células de cáncer de próstata. Finalmente, la figura 6 muestra las imágenes de un paciente con cáncer de próstata metastásico después del tercer ciclo de tratamiento con ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA. El seguimiento por imagen con ^{68}Ga -PSMA-11 (PET) muestra que los sitios de lesión metastásica de cáncer de próstata (señalado con flechas), disminuyen en tamaño y número después de cada administración del ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA hasta su completa eliminación. Esta imagen confirma y es la principal evidencia, del potencial radioterapéutico del ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA en el tratamiento de lesiones tumorales que sobre-expresan PSMA.

Concluyendo, el ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA se obtiene con las siguientes características:

- Pureza radioquímica mayor al 98 %

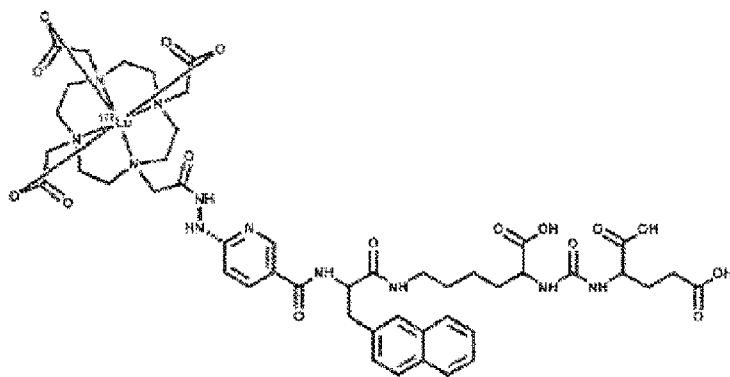
- Capacidad del radiofármaco para detectar in vivo a tumores que sobreexpresan el antígeno prostático específico de membrana, asociado a una orientación espacial favorable del sitio activo (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) de la molécula inducida por la presencia del HYNIC unido a la molécula DOTA.

- Debido al reconocimiento molecular asociado a una orientación espacial favorable del sitio activo (Lys(Nal)-NH-CO-NH-Glu) de la molécula inducida por la presencia del HYNIC unido a la molécula DOTA y marcada con lutecio-177, el radiofármaco ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA presenta propiedades radioterapéuticas que se demuestran en la reducción significativa de los niveles de PSA en suero, así como una disminución en el número y tamaño de lesiones metastásicas observadas en los pacientes con cáncer de próstata tratados con ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura hidazinonicotinamida de ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético - Glu-NH-CO-NH-Lys(Nal) (DOTA-HYNIC-iPSMA).
2. Un producto radiofarmacéutico con la fórmula: ^{177}Lu -DOTA-HYNIC-iPSMA que tiene la estructura:

5



3. Una composición radiofarmacéutica que comprende el producto radiofarmacéutico según la reivindicación 2.
4. El producto radiofarmacéutico según la reivindicación 2 para el uso en el tratamiento de tumores que expresan la proteína PSMA.

10

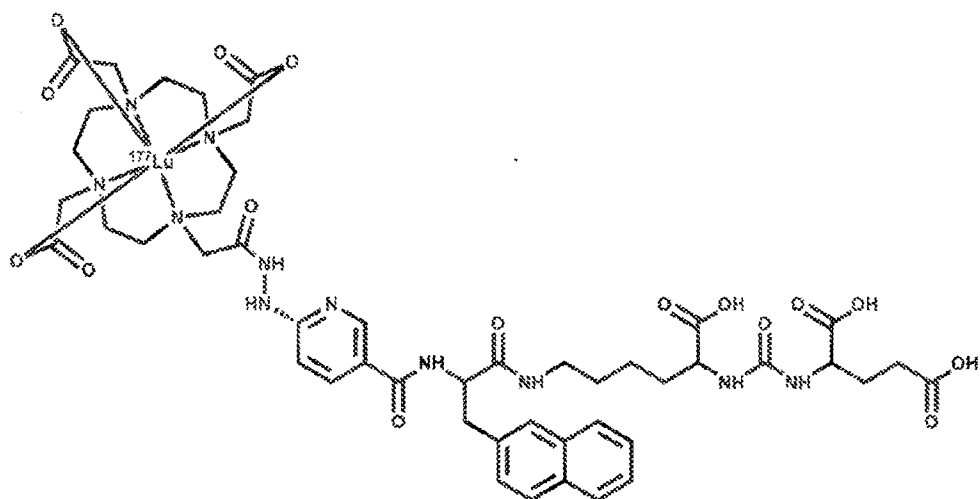


Figura 1

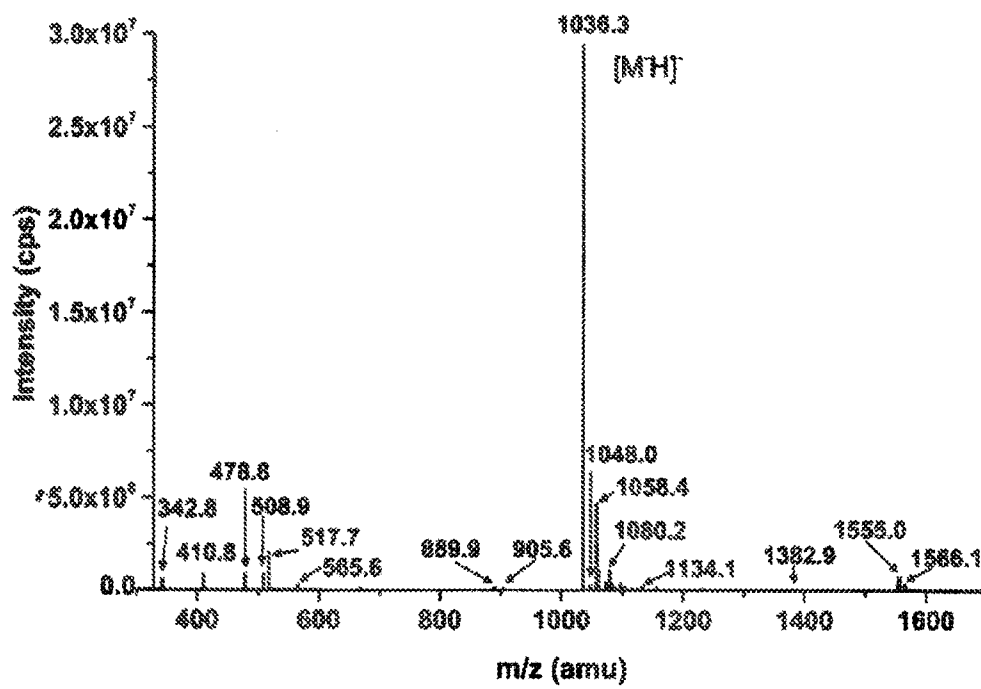


Figura 2

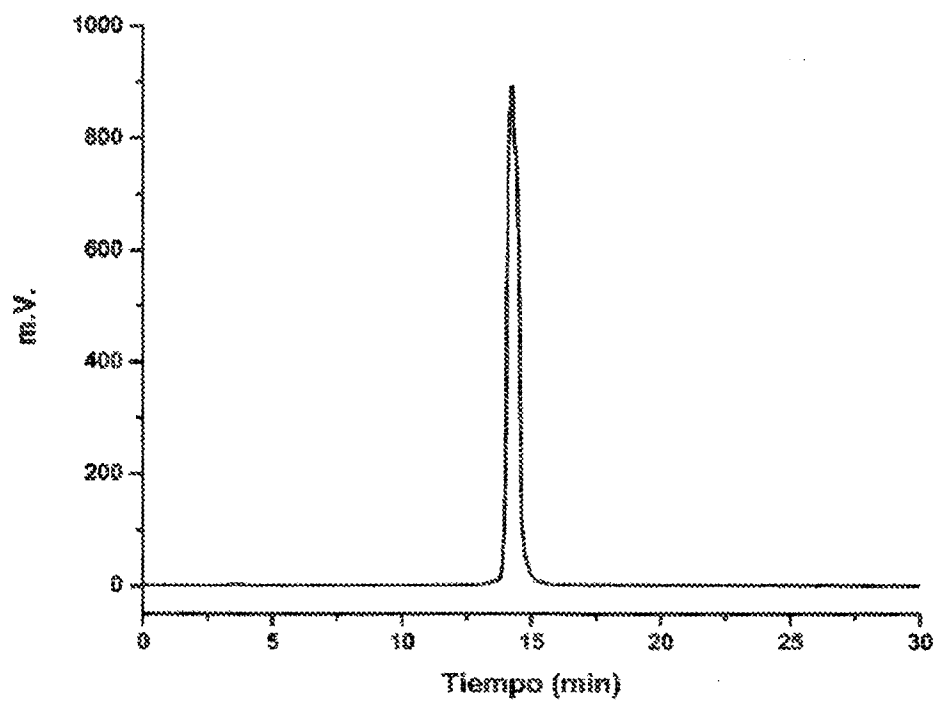


Figura 3

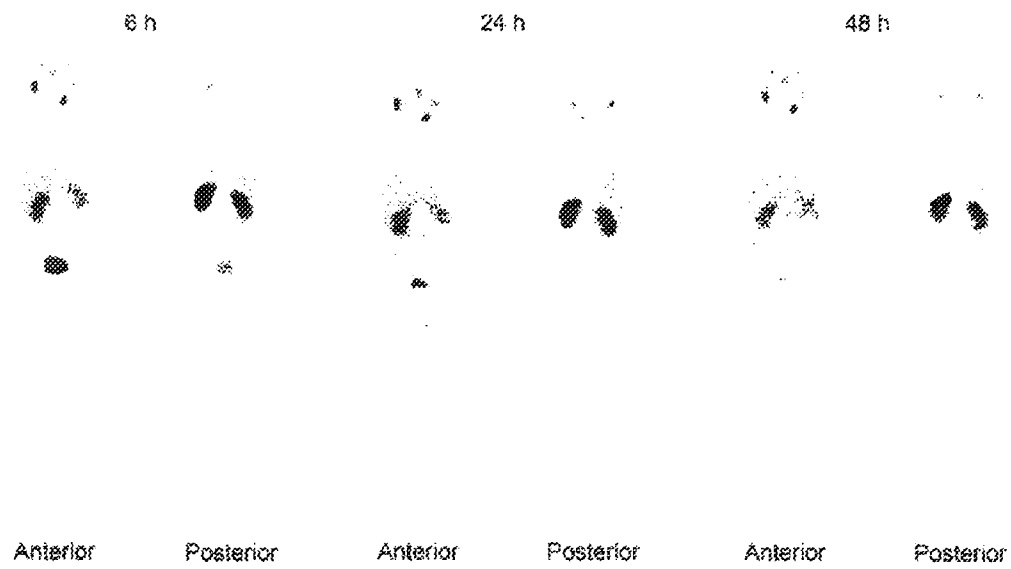


Figura 4

^{68}Ga -PSMA-11



^{177}Lu -DOTA-HYNIC-IPsMA



Figura 5

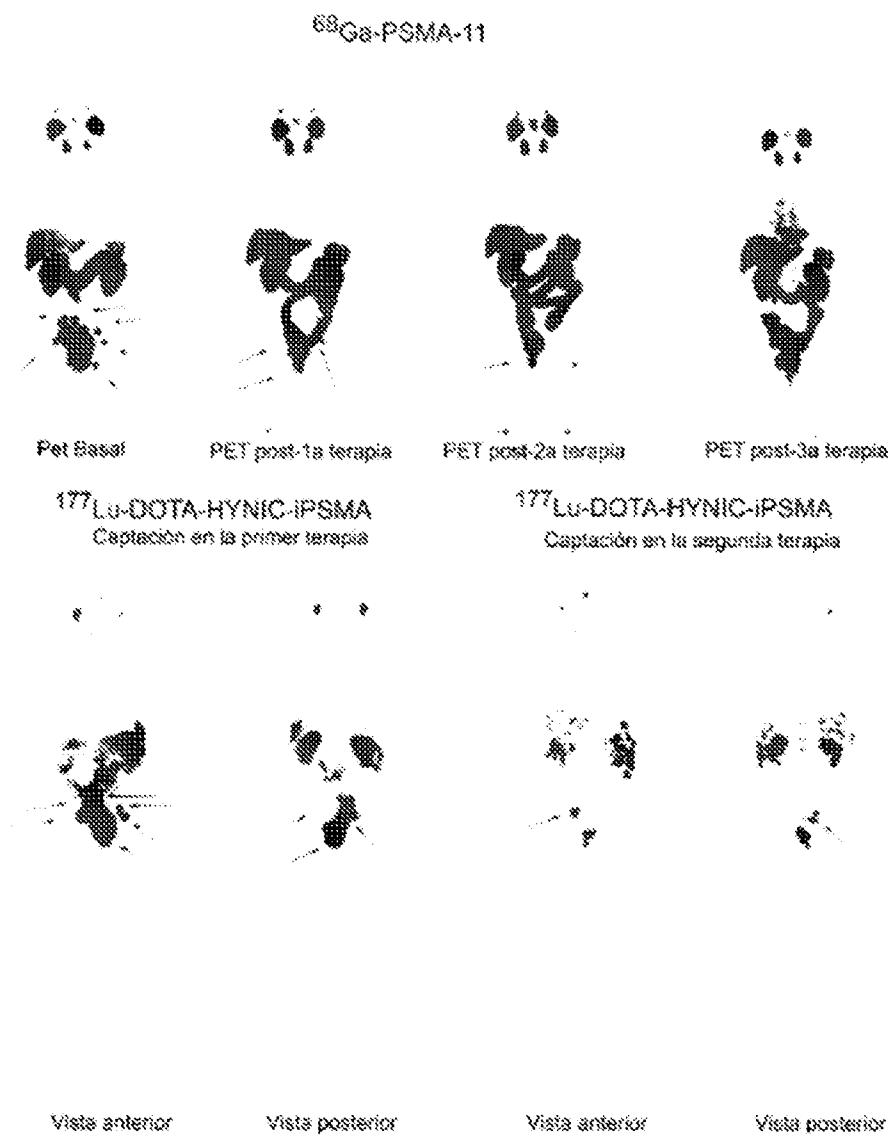


Figura 6