



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **3 011 272**

⑮ Int. Cl.:

A61K 51/04 (2006.01)
A61K 51/08 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.07.2018** PCT/EP2018/070533

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **31.01.2019** WO19020831

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.07.2018** E 18743540 (9)

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2024** EP 3658194

④ Título: **Radiotrazador y agente radioterapéutico de modo dual**

⑩ Prioridad:

28.07.2017 EP 17183795

④ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.04.2025

⑩ Titular/es:

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN (50.00%)
Arcisstr. 21
80333 München, DE y
TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN -
KLINIKUM RECHTS DER ISAR (50.00%)

⑩ Inventor/es:

WURZER, ALEXANDER JOSEF;
WESTER, HANS-JÜRGEN y
EIBER, MATTHIAS JOHANNES

⑩ Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 3 011 272 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

Radiotrazador y agente radioterapéutico de modo dual

- 5 La presente descripción se refiere a un conjugado ligando-SIFA-quelante, que comprende, dentro de una única
 10 molécula: (a) uno o más ligandos que son capaces de unirse a una molécula diana relevante para la enfermedad,
 15 (b) un resto aceptor de fluoruro de silicio (SIFA) que comprende un enlace covalente entre un átomo de silicio y un
 20 átomo de flúor, y que puede marcarse con ^{18}F mediante intercambio isotópico de ^{19}F por ^{18}F , o que está marcado
 25 con ^{18}F , y (c) uno o más grupos quelantes, que opcionalmente contienen un catión no radiactivo o radiactivo
 30 quelado.

Cáncer de próstata

- 15 El cáncer de próstata (CaP) sigue siendo durante las últimas décadas la enfermedad neoplásica más común en
 20 hombres, con una alta incidencia y bajas tasas de supervivencia. Debido a su sobreexpresión en el cáncer de
 25 próstata (Silver et al., Clinical Cancer Research 3, 81-85 (1997)), el antígeno de membrana específico de la próstata
 30 (PSMA) o glutamato carboxipeptidasa II (GCP II) demostró su idoneidad como una diana excelente para el
 desarrollo de agentes radiomarcados altamente sensibles para la endorradioterapia y la obtención de imágenes
 35 del CaP (Afshar-Oromieh et al., European journal of nuclear medicine and molecular imaging 42, 197-209 (2015);
 40 Benešová et al., Journal of Nuclear Medicine 56, 914-920 (2015); Robu et al., Journal of Nuclear Medicine, jnmed.
 45 116.178939 (2016); Weineisen et al.; Journal of Nuclear Medicine 55, 1083-1083 (2014); Rowe et al., Prostate
 50 cancer and prostatic diseases (2016); Maurer et al., Nature Reviews Urology (2016)). El antígeno de membrana
 55 específico de la próstata es una hidrolasa extracelular cuyo centro catalítico comprende dos iones de zinc (II) con
 60 un ligando hidróxido de puente. Está altamente aumentado en carcinomas de próstata metastásicos y refractarios
 65 a hormonas, pero también se ha informado de su expresión fisiológica en riñones, glándulas salivales, intestino
 70 delgado, cerebro y, en menor medida, también en tejido prostático sano. En el intestino, el PSMA facilita la
 75 absorción de folato mediante la conversión de pteroípoli-γ-glutamato en pteroíglutamato (folato). En el cerebro,
 80 hidroliza el N-acetil-L-aspartil-L-glutamato (NAAG) a N-acetil-L-aspartato y glutamato.

30 Antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA)

- El antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) es una glicoproteína transmembrana tipo II que está
 35 altamente sobreexpresada en las células epiteliales del cáncer de próstata. A pesar de su nombre, el PSMA
 40 también se expresa, en diversos grados, en la neovasculatura de una amplia variedad de cánceres no prostáticos.
 45 Entre los cánceres no prostáticos más comunes que demuestran la expresión de PSMA se incluyen el carcinoma
 50 de mama, de pulmón, colorrectal y de células renales.

- Las estructuras generales necesarias de las moléculas que se dirigen contra el PSMA comprenden una unidad de
 40 unión que engloba un grupo de unión a zinc (tal como urea (Zhou et al., Nature Reviews Drug Discovery 4, 1015-
 45 1026 (2005)), fosfinato o fosforamidato) conectado a un resto de glutamato P1', que garantiza una alta afinidad y
 50 especificidad por el PSMA y normalmente está conectado además a una funcionalidad efectora (Machulkin et al.,
 55 Journal of drug targeting, 1-15 (2016)). La parte efectora es más flexible y hasta cierto punto tolerante a las
 60 modificaciones estructurales. El túnel de entrada contempla otras dos características estructurales destacadas,
 65 que son importantes para la unión del ligando. El primero es un parche de arginina, un área con carga positiva en
 70 la pared del embudo de entrada y la explicación mecanicista por la preferencia de funcionalidades con carga
 75 negativa en la posición P1 de PSMA. Esta parece ser la razón de la incorporación preferible de restos con carga
 80 negativa dentro del armazón del ligando. Hasta el momento, no se ha realizado un análisis en profundidad sobre
 85 el efecto de las cargas positivas sobre los ligandos de PSMA, según nuestro conocimiento. Tras la unión, el
 90 reposicionamiento concertado de las cadenas laterales de arginina puede conducir a la apertura de un bolsillo
 95 accesorio hidrófobo S1, la segunda estructura importante que se ha demostrado que aloja un grupo yodo-bencilo
 100 de varios inhibidores basados en urea, lo que contribuye a su alta afinidad por PSMA (Barinka et al., Journal of
 medicinal chemistry 51, 7737-7743 (2008)).

- Zhang et al. descubrieron un sitio de unión remoto de PSMA, que puede emplearse para el modo de unión
 55 bidentado (Zhang et al., Journal of the American Chemical Society 132, 12711-12716 (2010)). El llamado sitio de
 60 unión de arenó es un motivo estructural simple formado por las cadenas laterales de Arg463, Arg511 y Trp541, y
 65 es parte de la tapa de entrada de GCP II. La unión del sitio de unión de arenó mediante un resto inhibidor distal
 70 puede dar como resultado un aumento sustancial de la afinidad del inhibidor por PSMA debido a los efectos de
 75 avidez. PSMA I&T se desarrolló con la intención de interactuar de esta manera con PSMA, aunque no hay ningún
 80 análisis de la estructura cristalina del modo de unión disponible. Una característica necesaria según Zhang et al.
 85 es una unidad enlazadora (ácido subérico en el caso de PSMA I&T), que facilita una conformación abierta de la
 90 tapa de entrada de GCP II y por lo tanto permite la accesibilidad al sitio de unión de arenó. Se demostró además
 95 que la composición estructural del enlazador tiene un impacto significativo en la dianización del tumor y la actividad
 100 biológica, así como en el contraste de imágenes y la farmacocinética (Liu et al., Bioorganic & medicinal chemistry
 letters 21, 7013-7016 (2011)), propiedades que son cruciales tanto para una alta calidad de imagen como para una
 105 endorradioterapia dirigida eficiente.

Actualmente se utilizan dos categorías de inhibidores dirigidos contra PSMA en entornos clínicos. Por un lado, existen trazadores con unidades quelantes para la complejación de radionúclidos tal como PSMA 18T o compuestos relacionados (Kiess et al., *The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging* 59, 241 (2015)). Por otro lado, hay moléculas pequeñas, que comprenden una unidad dianizadora y moléculas efectoras.

Los agentes más utilizados para la obtención de imágenes selectivas de PSMA son PSMA HBED-CC (Eder et al., *Bioconjugate chemistry* 23, 688-697 (2012)), PSMA-617 (Benešová et al., *Journal of Nuclear Medicine* 56, 914-920 (2015)) y PSMA I&T (Weineisen et al., *Journal of Nuclear Medicine* 55, 1083-1083 (2014)), que están marcados predominantemente con ^{68}Ga (88,9% β^+ , E_{β^+} , max = 1,89 MeV, $t_{1/2}$ = 68 min). Entre estos, ^{68}Ga -PSMA-HBED-CC (también conocido como ^{68}Ga -PSMA-11) se considera hasta ahora el estándar de oro para la obtención de imágenes de PET del CaP.

Marcaje de ^{18}F

Recientemente, varios grupos se han centrado en el desarrollo de nuevos inhibidores basados en urea marcados con ^{18}F para el diagnóstico del CaP. A diferencia del radiometal ^{68}Ga , que se puede obtener a partir de generadores de radionúclidos $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ distribuidos comercialmente (^{68}Ge ; $t_{1/2}$ = 270,8 d), el radioisótopo ^{18}F -fluoruro (96,7% β^+ , E_{β^+} , max = 634 keV) requiere un ciclotrón in situ para su producción. A pesar de esta limitación, el ^{18}F ofrece, debido a su vida media más larga ($t_{1/2}$ = 109,8 min) y su menor energía de positrones, ventajas significativas en términos de manejo de rutina y calidad de imagen. Además, existe la posibilidad de producción a gran escala en un ciclotrón, lo que sería beneficioso para un mayor rendimiento de los pacientes y una reducción de los costos de producción. El inhibidor de PSMA basado en urea marcado con ^{18}F , ^{18}F -DCPyl, demostró resultados prometedores en la detección de CaP primario y metastásico (Rowe et al., *Molecular Imaging and Biology*, 1-9 (2016)) y superioridad frente a ^{68}Ga -PSMA-HBED-CC en un estudio comparativo (Dietlein et al., *Molecular Imaging and Biology* 17, 575-584 (2015)). Basándose en la estructura del PSMA-617, recientemente se desarrolló el análogo PSMA-1007 marcado con ^{18}F , que mostró relaciones tumor a órgano comparables (Cardinale et al., *Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine* 58, 425-431 (2017); Giesel et al., *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 43, 1929-1930 (2016)). Un estudio comparativo con ^{68}Ga -PSMA-HBED-CC reveló una precisión diagnóstica similar de ambos trazadores y un aclaramiento urinario reducido de ^{18}F -PSMA-1007, lo que permitió una mejor evaluación de la próstata (Giesel et al., *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 44, 678-688 (2017)).

Un enfoque atractivo para introducir marcadores de ^{18}F es el uso de aceptores de fluoruro de silicio (SIFA). Los aceptores de fluoruro de silicio se describen, por ejemplo, en Lindner et al., *Bioconjugate Chemistry* 25, 738-749 (2014). Para preservar el enlace silicio-fluoruro, el uso de aceptores de fluoruro de silicio introduce la necesidad de grupos estéricamente exigentes alrededor del átomo de silicio. Esto a su vez hace que los aceptores de fluoruro de silicio sean altamente hidrófobos. En términos de unión a la molécula diana, en particular a la molécula diana que es PSMA, el resto hidrófobo proporcionado por el aceptor de fluoruro de silicio puede ser aprovechado con el fin de establecer interacciones del compuesto radiodiagnóstico o terapéutico con el bolsillo hidrófobo descrito en Zhang et al., *Journal of the American Chemical Society* 132, 12711-12716 (2010). Sin embargo, antes de la unión, el mayor grado de lipofilia introducido en la molécula plantea un grave problema con respecto al desarrollo de radiofármacos con una biodistribución in vivo adecuada, es decir, una baja unión no específica en tejidos no diana.

45 No se logró resolver el problema de la hidrofobia

A pesar de muchos intentos, el problema de la hidrofobia causado por los aceptores de fluoruro de silicio no se ha resuelto satisfactoriamente en la técnica anterior.

Para explicar más, Schirrmacher E. et al. (*Bioconjugate Chem.* 2007, 18, 2085-2089) sintetizaron diferentes péptidos marcados con ^{18}F utilizando el sintón de marcado altamente eficaz p-(di-terc-butilfluorosilil) benzaldehído ($[^{18}\text{F}]$ SIFA-A), que es un ejemplo de un aceptor de fluoruro de silicio. La técnica de SIFA dio como resultado un intercambio isotópico ^{19}F - ^{18}F inesperadamente eficiente, y produjo el sintón de ^{18}F en rendimientos casi cuantitativos en actividades específicas altas entre 225 y 680 GBq/ μmol (6081-18 378 Ci/mmol) sin aplicar purificación por HPLC. Finalmente, se utilizó $[^{18}\text{F}]$ SIFA-benzaldehído para marcar los péptidos derivatizados de amino-oxi (N-AO) N-terminal AO-Tyr3-octreotato (AO-TATE), ciclo($\text{K}(\text{AO-N})\text{RGD}$) y N-AO-PEG₂-[D-Tyr-Gln-Trp-Ala-Val-Ala-His-Thi-Nle-NH₂] (AO-BZH3, un derivado de bombesina) en altos rendimientos radioquímicos. Sin embargo, los péptidos marcados son altamente lipófilos (como se puede deducir de los tiempos de retención de HPLC utilizando las condiciones descritas en este artículo), y por lo tanto no son adecuados para una evaluación adicional en modelos animales o humanos.

En Wängler C. et al. (*Bioconjugate Chem.*, 2009, 20(2), pp 317-321), se ha descrito la primera radiofluoración tipo kit basada en SIFA de una proteína (seroalbúmina de rata, RSA). Como agente de marcaje, se produjo 4-(di-terc-butil $[^{18}\text{F}]$ fluorosilil)bencenotiol (Si $[^{18}\text{F}]$ FA-SH) mediante un simple intercambio isotópico con un rendimiento radioquímico (RCY) del 40-60%, y se acopló el producto directamente a la seroalbúmina derivatizada con maleimida, con un RCY total del 12% en 20-30 min. El procedimiento de marcaje, técnicamente sencillo, no

requiere ningún procedimiento de purificación elaborado, y es un ejemplo sencillo de una aplicación exitosa de la química de Si-18F para la obtención de imágenes in vivo con PET. Las curvas de actividad-tiempo y las imágenes de μ PET de ratones mostraron que la mayor parte de la actividad estaba localizada en el hígado, lo que demuestra que el agente marcador es demasiado lipófilo y dirige la sonda in vivo a la excreción hepatobiliar y al metabolismo hepático extenso.

Wängler C. et al. (véase Bioconjug Chem. 15 de diciembre de 2010;21(12):2289-96) intentaron posteriormente superar el principal inconveniente de la tecnología de SIFA, la alta lipofilia de los radiofármacos resultantes, sintetizando y evaluando nuevos análogos de SIFA-octreotato (SIFA-Tyr³-octreotato, SIFA-Asn(AcNH- β -Glc)-Tyr³-octreotato y SIFA-Asn(AcNH- β -Glc)-PEG-Tyr³-octreotato). En estos compuestos, se introdujeron enlaces hidrófilos y modificadores farmacocinéticos entre el péptido y el resto de SIFA, es decir, un hidrato de carbono y un enlazador de PEG más un hidrato de carbono. Como medida de lipofilia de los conjugados, se determinó el log P(ow), y se encontró que era 0,96 para SIFA-Asn(AcNH- β -Glc)-PEG-Tyr³-octreotato y 1,23 para SIFA-Asn(AcNH- β -Glc)-Tyr³-octreotato. Estos resultados muestran que la alta lipofilia del resto de SIFA sólo puede compensarse marginalmente mediante la aplicación de restos hidrófilos. Un primer estudio de imágenes demostró un aclaramiento hepático/captación hepática excesiva, y por lo tanto nunca se transfirió a un primer estudio en humanos.

Bernard-Gauthier et al. (Biomed Res Int. 2014;2014:454503) revisan una gran cantidad de diferentes especies de SIFA que se han informado en la bibliografía, que oscilan desde pequeños grupos prostéticos y otros compuestos de bajo peso molecular hasta péptidos marcados y, más recientemente, moléculas de aficuerpos. Con base en estos datos, el problema de la lipofilia de los grupos prostéticos basados en SIFA no se ha resuelto hasta ahora; es decir, no se ha descrito una metodología que reduzca la lipofilia general de un péptido conjugado con SIFA hasta un log D menor que aprox. -2,0.

En Lindner S. et al. (Bioconjug Chem. 16 de abril de 2014;25(4):738-49) se describe que se sintetizaron derivados de bombesina PEGilada (PESIN) como ligandos específicos del receptor GRP y péptidos RGD (códigos de una letra para arginina-glicina-ácido aspártico) como ligantes específicos de av β 3, y se etiquetaron con un resto de aceptor de silicio-fluor (SIFA). Para compensar la alta lipofilia del resto de SIFA, se introdujeron varias modificaciones de la estructura hidrófila que condujeron a valores logD reducidos. SIFA-Asn(AcNH- β -Glc)-PESIN, SIFA-Ser(β -Lac)-PESIN, SIFA-Cya-PESIN, SIFA-LysMe3-PESIN, SIFA- γ -carboxi-d-Glu-PESIN, SIFA-Cya2-PESIN, SIFA-LysMe3- γ -carboxi-d-Glu-PESIN, SIFA-(γ -carboxi-d-Glu)2-PESIN, SIFA-RGD, SIFA- γ -carboxi-d-Glu-RGD, SIFA-(γ -carboxi-d-Glu)2-RGD, SIFA-LysMe3- γ -carboxi-d-Glu-RGD. Todos estos péptidos, ya mejorados y derivatizados con el objetivo de reducir la lipofilia, mostraron un valor logD en el intervalo entre +2 y -1,22.

En Niedermoser S. et al. (J Nucl Med. 2015 Jul;56(7):1100-5), se compararon los derivados de TATE modificados con ¹⁸F-SIFA y con ¹⁸F-SIFAlin (SIFA = aceptor de fluoruro de silicio), recientemente desarrollados, con el estándar de oro clínico actual ⁶⁸Ga-DOTATATE para obtener imágenes de alta calidad de tumores portadores del receptor de somatostatina. Para este fin, se desarrollaron ¹⁸F-SIFA-TATE y dos análogos bastante complejos, ¹⁸F-SIFA-Glc-PEG1-TATE, ¹⁸F-SIFAlin-Glc-Asp2-PEG1-TATE. Ninguno de los agentes mostró un logD <-1,5.

Litau et al (Bioconjugate Chemistry, vol. 26, no. 12 (2015-12-16), páginas 2350-2359), Lindner et al (Bioconjugate Chemistry, vol. 25, no. 4 (2014-04-16), páginas 738-749), Bernard-Gauthier et al (Bioconjugate Chemistry, vol. 27, no. 2 (2016-02-17), páginas 267-279) y el documento CN102626522 describen compuestos que comprenden un resto de SIFA.

En vista de lo anterior, el problema técnico que subyace a la presente invención consiste en proporcionar agentes de radiodiagnóstico y radioterapéuticos que contengan un aceptor de fluoruro de silicio y que, al mismo tiempo, se caractericen por propiedades in vivo favorables.

Como se hará evidente a continuación, se ha establecido una prueba de principio que utiliza conjugados específicos que se unen con alta afinidad al antígeno específico de la próstata (PSMA) como diana. Por consiguiente, se puede ver un problema técnico adicional subyacente a la presente invención en el suministro de agentes radioterapéuticos y de radiodiagnóstico mejorados para la indicación médica que es el cáncer, preferiblemente el cáncer de próstata.

Estos problemas técnicos se resuelven mediante la materia objeto de las reivindicaciones adjuntas. La invención se expone en las reivindicaciones adjuntas. Todas las realizaciones descritas que quedan fuera del alcance de las reivindicaciones adjuntas no representan la invención.

La presente descripción se refiere a un conjugado ligando-SIFA-quelante, como se define en las reivindicaciones, que comprende, dentro de una única molécula: (a) uno o más ligandos que son capaces de unirse a una molécula diana relevante para la enfermedad, (b) un resto aceptor de fluoruro de silicio (SIFA) que comprende un enlace covalente entre un átomo de silicio y un átomo de flúor, y que puede marcarse con ¹⁸F mediante intercambio isotópico de ¹⁹F por ¹⁸F, o que está marcado con ¹⁸F, y (c) uno o más grupos quelantes, que opcionalmente contienen un catión no radiactivo o radiactivo quelado.

El conjugado ligando-SIFA-quelante comprende tres restos separados. Los tres restos separados son a) uno o más ligandos que son capaces de unirse a una molécula diana relevante para la enfermedad, (b) un resto de acceptor de fluoruro de silicio (SIFA) que comprende un enlace covalente entre un átomo de silicio y un átomo de flúor, y (c) uno o más grupos quelantes, que opcionalmente contienen un catión radiactivo o no radiactivo quelado.

- 5 El átomo de flúor en el resto de SIFA puede ser ^{19}F o ^{18}F .
- 10 Si bien ciertos ligandos que son capaces de unirse a una molécula diana relevante para la enfermedad pueden ser péptidos cílicos, dichos péptidos cílicos no son grupos quelantes como se prevé aquí, ya que el problema del resto de SIFA hidrófobo no se resuelve en ausencia de un resto quelante adicional. Por lo tanto, los compuestos requieren un grupo quelante hidrófilo además de los ligandos que son capaces de unirse a una molécula diana relevante para la enfermedad. El grupo quelante hidrófilo es necesario para reducir la naturaleza hidrófoba de los compuestos causada por la presencia del resto de SIFA.
- 15 Un aspecto clave es la combinación, dentro de una sola molécula, de un acceptor de fluoruro de silicio y un quelante o un quelato. Estos dos elementos estructurales, SIFA y el quelante, exhiben una proximidad espacial. Preferiblemente, la distancia más corta entre dos átomos de los dos elementos es menor o igual a 25 Å, más preferiblemente menor que 20 Å, y aún más preferiblemente menor que 15 Å. Alternativamente o además, se prefiere que no más de 25 enlaces covalentes separen un átomo del resto de SIFA y un átomo del quelante, preferiblemente no más de 20 enlaces químicos, y aún más preferiblemente no más de 15 enlaces químicos.
- 20
- 25 El catión según el apartado (c) puede ser un catión radiactivo o no radiactivo. Se trata preferentemente de un catión metálico radiactivo o no radiactivo, y más preferentemente de un catión metálico radiactivo. Más adelante se ofrecen más ejemplos.
- 30 Como consecuencia de ello, la descripción incluye conjugados que están marcados radiactivamente tanto en el resto de SIFA como en el grupo quelante, moléculas que están marcadas radiactivamente sólo en uno de los dos lados, así como moléculas que no están marcadas radiactivamente en absoluto. En el último caso, el grupo quelante puede ser un complejo de un ion frío (no radiactivo), o puede estar desprovisto de cualquier ion.
- 35
- 40 Los presentes inventores descubrieron sorprendentemente que la colocación del acceptor de fluoruro de silicio en la vecindad de un quelante hidrófilo tal como, pero sin limitarse a, DOTAGA o DOTA, protege o compensa eficientemente la lipofilia del resto de SIFA en una medida que cambia la hidrofobia general del compuesto radioterapéutico o de radiodiagnóstico en un intervalo que hace que el compuesto sea adecuado para la administración *in vivo*.
- 45 Además, la combinación del uso de un quelante y un intercambio isotópico en SIFA por medio de ^{18}F -fluoruro también da como resultado trazadores de diagnóstico "emparejados" que pueden usarse como trazadores [^{18}F] $^{[\text{nat}]\text{Ion}}$ en centros con ciclotrón en sitio o centros que obtienen ^{18}F -fluoruro por envío desde centros de ciclotrón, mientras que en centros que no tienen acceso a ^{18}F -fluoruro pero tienen acceso a generadores de radioisótopos, tal como un generador de Ge-68/Ga-68, se pueden usar las versiones correspondientes, por ejemplo trazadores [$^{[\text{nat}]\text{F}}$] $^{[68]\text{Ga}}$.
- 50 Es importante destacar que, en ambos casos, se inyecta un radiofármaco químicamente idéntico, por lo que no se esperan diferencias en el comportamiento *in vivo*. Mientras que actualmente, debido a diferencias químicas, los datos clínicos de un compuesto marcado con ^{18}F proporcionado por una cohorte de pacientes en un sitio no se pueden comparar directamente con los datos clínicos de un análogo de ^{68}Ga proporcionado por otro grupo en otro sitio, los agentes radiofarmacéuticos y/o de radiodiagnóstico según la descripción se pueden comparar directamente, y por lo tanto permitirán relacionar dichos datos (por ejemplo, datos de un centro en Europa que trabaja con F-18 y otro centro en India que trabaja con Ga-68). Además, cuando se selecciona adecuadamente, el quelato también se puede utilizar para marcar con un isótopo terapéutico, tales como los isótopos emisores beta Lu-177, Y-90, o el isótopo emisor alfa Ac-225, lo que permite ampliar el concepto de trazadores "emparejados" para unir radiofármacos de diagnóstico (trazadores [^{18}F] $^{[\text{nat}]\text{Lu}}$) y terapéuticos ($^{[\text{nat}]\text{F}}$ $^{[177]\text{Lu}}$),
- 55 Una ventaja adicional de los compuestos, especialmente de los compuestos dirigidos al PSMA de la presente descripción, es su acumulación sorprendentemente baja en los riñones de los ratones en comparación con otros radiofármacos dirigidos al PSMA, tal como PSMA I&T. Sin querer limitarnos a una teoría en particular, parece ser la combinación del elemento estructural SIFA con un quelante lo que proporciona la reducción inesperada de la acumulación en los riñones.
- 60 En términos de lipofilia/hidrofilia, el valor de logP (a veces también denominado valor de logD) es una medida establecida en la técnica.
- 65 El término "lipofilia" se refiere a la fuerza con la que un compuesto se disuelve o absorbe en disoluciones lipídicas, o se adsorbe en una superficie o matriz similar a un lípido. Denota una preferencia por los lípidos (significado literal) o por líquidos orgánicos o apolares, o por líquidos, disoluciones o superficies con un momento dipolar pequeño en

comparación con el agua. El término "hidrofobia" se utiliza aquí con un significado equivalente. Los adjetivos lipófilo e hidrófobo se utilizan con el significado correspondiente a los sustantivos descritos anteriormente.

5 El flujo másico de una molécula en la interfaz de dos disolventes inmiscibles o sustancialmente inmiscibles está determinado por su lipofilia. Cuanto más lipófila sea una molécula, más soluble será en la fase orgánica lipófila. El coeficiente de reparto de una molécula que se observa entre el agua y el n-octanol se ha adoptado como medida estándar de la lipofilia. El coeficiente de reparto P de una especie A se define como la relación $P = [A]_{n\text{-octanol}} / [A]_{\text{agua}}$. Una cifra comúnmente reportada es el valor de logP, que es el logaritmo del coeficiente de reparto. En caso de que una molécula sea ionizable, en principio estarán presentes en ambas fases una pluralidad de microespecies 10 distintas (formas ionizadas y no ionizadas de la molécula). La cantidad que describe la lipofilia general de una especie ionizable es el coeficiente de distribución D, definido como la relación $D = [\text{suma de las concentraciones de todas las microespecies}]_{n\text{-octanol}} / [\text{suma de las concentraciones de todas las microespecies}]_{\text{agua}}$. De manera análoga a logP, con frecuencia se informa el logaritmo del coeficiente de distribución, logD. A menudo, se utiliza un sistema amortiguador tal como disolución salina amortiguada con fosfato como alternativa al agua en la 15 determinación de logP descrita anteriormente.

Si se debe evaluar y/o determinar cuantitativamente el carácter lipófilo de un sustituyente en una primera molécula, se puede evaluar una segunda molécula correspondiente a ese sustituyente, en el que dicha segunda molécula 20 se obtiene, por ejemplo, rompiendo el enlace que conecta dicho sustituyente al resto de la primera molécula y conectando la o las valencias libres obtenidas de ese modo a hidrógeno o hidrógenos.

Alternativamente, se puede determinar la contribución del sustituyente al logP de una molécula. La contribución $\pi_X x$ de un sustituyente X al logP de una molécula R-X se define como $\pi_X x = \log P_{R-X} - \log P_{R-H}$, en el que R-H es el compuesto original no sustituido.

25 Valores de P y D mayores que uno, así como valores de logP, logD y $\pi_X x$ mayores que cero indican carácter lipófilo/hidrófobo, mientras que valores de P y D menores que uno, así como valores de logP, logD y $\pi_X x$ menores que cero indican carácter hidrófilo de las respectivas moléculas o sustituyentes.

30 Los parámetros descritos anteriormente que caracterizan la lipofilia del grupo lipófilo o de la molécula entera según la descripción se pueden determinar por medios experimentales y/o predecir mediante métodos computacionales conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Sangster, Octanol-water Partition Coefficients: fundamentals and physical chemistry, John Wiley & Sons, Chichester. (1997)).

35 El valor de logP de los compuestos puede estar entre -5 y -1,5. El valor de logP puede estar entre -3,5 y -2,0.

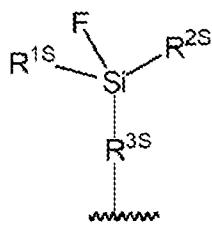
Un ligando según la descripción puede comprender o consistir en un péptido, un peptidomimético, o una urea 40 sustituida, sustituyentes que incluyen aminoácidos. Se entiende que un ligando que comprende un péptido o peptidomimético también comprende una parte no peptídica y no peptidomimética. En términos de peso molecular, se da preferencia a pesos moleculares inferiores a 15 kDa, inferiores a 10 kDa, o inferiores a 5 kDa. Por consiguiente, las proteínas pequeñas también se incluyen bajo el término "ligando". Las moléculas diana no están particularmente limitadas, e incluyen enzimas, receptores, epítopos, transportadores, moléculas de la superficie celular, y proteínas de la matriz extracelular. Se prefieren las dianas que son relevantes para la enfermedad. Se prefieren especialmente las dianas que están implicadas causalmente en una enfermedad dada, o que están 45 altamente sobreexpresadas en una enfermedad dada y/o cuya inhibición puede causar un efecto beneficioso en un paciente que sufre una enfermedad dada. Los ligandos son preferiblemente ligandos de alta afinidad, con una afinidad preferible, expresada como IC_{50} , inferior a 50 nM, inferior a 20 nM, o inferior a 5 nM.

50 Los ligandos pueden unirse con alta afinidad a moléculas diana relevantes para la enfermedad o biomoléculas relevantes para la enfermedad, incluidos, pero sin limitarse a, receptores de somatostatina, receptores de bombesina, receptores de quimiocinas, receptores de integrina, receptores de colecistoquinina, receptores de melanocortina, receptores de péptidos intestinales vasoactivos, receptores de neurtensina, receptores de neuropeptido Y, receptores de neuroquinina, receptores de péptido similar a glucacón 1, receptores Her2, PD-L1, PD-1, receptores de hormona liberadora de gonadotropina, y antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA).

55 La expresión "relevante para la enfermedad" se refiere preferentemente a una implicación causal en una enfermedad.

60 La resto de aceptor de fluoruro de silicio (SIFA) es como se define en las reivindicaciones.

La descripción incluye restos de aceptor de fluoruro de silicio (SIFA) que pueden tener la estructura representada por la fórmula (I):

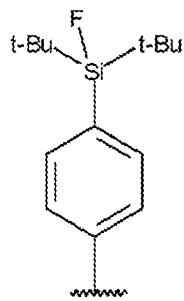


en la que R^{1S} y R^{2S} son independientemente un grupo alquilo de C3 a C10 lineal o ramificado, preferiblemente R^{1S} y R^{2S} se seleccionan de isopropilo y terc-butilo, y más preferiblemente R^{1S} y R^{2S} son terc-butilo; R^{3S} es un grupo hidrocarbonado de C1 a C20 que puede comprender una o más unidades aromáticas y una o más unidades alifáticas y/o hasta 3 heteroátomos seleccionados de O y S, preferiblemente R^{3S} es un grupo hidrocarbonado de C6 a C10 que comprende un anillo aromático y que puede comprender una o más unidades alifáticas; más preferiblemente R^{3S} es un anillo de fenilo, y lo más preferible, R^{3S} es un anillo de fenilo en el que el sustituyente que contiene Si y el enlace marcado por

10
están en una posición para, y en en el que el resto de SIFA está unido al resto del conjugado a través del enlace marcado por

15
.

20 El resto de aceptor de fluoruro de silicio (SIFA) en los compuestos según se reivindica tiene la estructura representada por la fórmula (Ia):



25 en la que t-Bu indica un grupo terc-butilo.

El grupo quelante es como se define en las reivindicaciones.

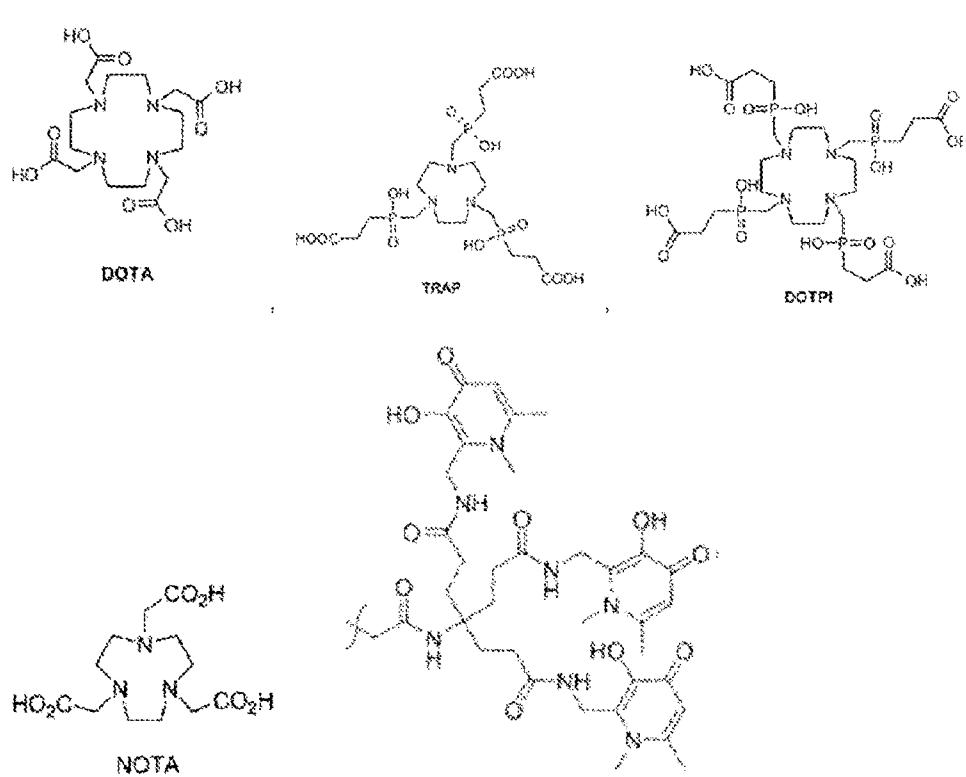
La descripción incluye grupos quelantes que pueden comprender al menos uno de los siguientes (i), (ii) o (iii).

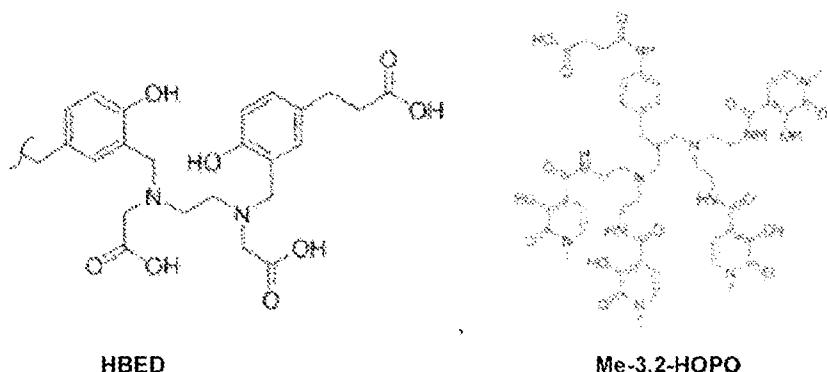
- 30 (i) Una estructura de anillo macrocíclico con 8 a 20 átomos anulares, de los cuales 2 o más, más preferiblemente 3 o más, se seleccionan de átomos de oxígeno o átomos de nitrógeno. Preferiblemente, 6 o menos átomos anulares se seleccionan de átomos de oxígeno o átomos de nitrógeno. Se prefiere especialmente que 3 o 4 átomos sean átomos de nitrógeno o átomos de oxígeno. Entre los átomos de oxígeno y nitrógeno, se da preferencia a los átomos de nitrógeno. En combinación con la estructura de anillo macrocíclico, el grupo quelante preferido puede comprender 2 o más, tal como 2 a 6, preferiblemente 2 a 4, grupos carboxilo y/o grupos hidroxilo. Entre los grupos carboxilo y los grupos hidroxilo, se da preferencia a los grupos carboxilo.
- 35 (ii) Una estructura quelante de cadena abierta, acíclica, con 8 a 20 átomos de cadena principal (estructura principal), de los cuales 2 o más, más preferiblemente 3 o más, son heteroátomos seleccionados de átomos de oxígeno o átomos de nitrógeno. Preferiblemente, 6 o menos átomos de la cadena principal se seleccionan de átomos de oxígeno o átomos de nitrógeno. Entre los átomos de oxígeno y nitrógeno, se da preferencia a los átomos de nitrógeno. Más preferiblemente, la estructura quelante de cadena abierta es una estructura que comprende una combinación de 2 o más, más preferiblemente 3 o más heteroátomos seleccionados de átomos de oxígeno o átomos de nitrógeno, y 2 o más, tales como 2 a 6, preferiblemente 2 a 4, grupos carboxilo y/o grupos hidroxilo. Entre los grupos carboxilo y los grupos hidroxilo, se da preferencia a los grupos carboxilo.
- 40 (iii) Una estructura quelante de cadena abierta, acíclica, con 8 a 20 átomos de cadena principal (estructura principal), de los cuales 2 o más, más preferiblemente 3 o más, son heteroátomos seleccionados de átomos de oxígeno o átomos de nitrógeno. Preferiblemente, 6 o menos átomos de la cadena principal se seleccionan de átomos de oxígeno o átomos de nitrógeno. Entre los átomos de oxígeno y nitrógeno, se da preferencia a los átomos de nitrógeno. Más preferiblemente, la estructura quelante de cadena abierta es una estructura que comprende una combinación de 2 o más, más preferiblemente 3 o más heteroátomos seleccionados de átomos de oxígeno o átomos de nitrógeno, y 2 o más, tales como 2 a 6, preferiblemente 2 a 4, grupos carboxilo y/o grupos hidroxilo. Entre los grupos carboxilo y los grupos hidroxilo, se da preferencia a los grupos carboxilo.
- 45

- 5 (iii) Una estructura quelante ramificada que contiene un átomo de carbono cuaternario. Preferiblemente, el átomo de carbono cuaternario se sustituye con 3 grupos quelantes idénticos además del resto SIFA/ligando. Los grupos quelantes sustituidos pueden comprender una amida. Los grupos quelantes sustituidos pueden comprender un grupo aromático. Los grupos quelantes sustituidos pueden comprender una hidroxipiridinona.

10 La descripción incluye grupos quelantes que pueden ser un resto de un agente quelante seleccionado de bis(carboximetil)-1,4,8,11-tetraazabiciclo[6.6.2]hexadecano (CBTE2a), ácido ciclohexil-1,2-diaminotetraacético (CDTA), ácido 4-(1,4,8,11-tetraazacicotetradec-1-il)-metilbenzoico (CPTA), N'-[5-[acetil(hidroxi)amino]pentil]-N-[5-[[4-[5-aminopentil-(hidroxi)amino]-4-oxobutanoil]amino]pentil]-N-hidroxibutanodiamida (DFO), 4,11-bis(carboximetil)-1,4,8,11-tetraazabiciclo[6.6.2]hexadecano (DO2A), ácido 1,4,7,10-tetraciclododecan-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA), ácido α -(2-carboxietil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTAGA), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano N, N', N'', N''' 1,4,7,10-tetra(metileno) fosfónico (DOTMP), N,N'-dipiridoxiletendiamina-N,N'-diacetato-5,5'-bis(fosfato) (DPDP), ácido dietilentriamino N,N',N''' penta(metileno) fosfónico (DTMP), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), ácido etilendiamino-N,N'-tetraacético (EDTA), ácido etilenglicol-O,O-bis(2-aminoetil)-N,N,N',N'''-tetraacético (EGTA), ácido N,N-bis(hidroxibencil)-etilendiamino-N,N'-diacético (HBED), ácido hidroxietildiamintriacético (HEDTA), 1-(p-nitrobencil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-4,7,10-triacetato (HP-DOA3), 6-hidrazinil-N-metilpiridin-3-carboxamida (HYNIC), quelantes de tetra 3-hidroxi-N-metil-2-piridinona (ácido 4-((4-(3-(bis(2-(3-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-4-carboxamido)etil)amino)-2-((bis(2-(3-hidroxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-4-carboxamido)etil)amino)propil)fenil)amino)-4-oxobutanoico), abreviado como Me-3,2-HOPO, ácido 1,4,7-triazaciclonanon-1-succínico-4,7-diacético (NODASA), 1-(1-carboxi-3-carboxipropil)-4,7-(carbooxi)-1,4,7-triazaciclonanonano (NODAGA), ácido 1,4,7-triazaciclonanonanetriacético (NOTA), 4,11-bis(carboximetil)-1,4,8,11-tetraazabiciclo[6.6.2]hexadecano (TE2A), ácido 1,4,8,11-tetraazaciclododecano-1,4,8,11-tetraacético (TETA), tris(hidroxipiridinona) (THP), ácido terpiridin-bis(metilenamintetraacético (TMT), ácido 1,4,7-triazaciclonanonano-1,4,7-tris[metilen(2-carboxietil)fosfónico] (TRAP), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclotridecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (TRITA), ácido 3-[[4,7-bis[[2-carboxietil(hidroxi)fosforil]metil]-1,4,7-triazanon-1-il]metil-hidroxi-fosforil]propanoico, y ácido trietilentetraaminohexaacético (TTHA), cuyo resto se obtiene uniendo covalentemente un grupo carboxilo contenido en el agente quelante al resto del conjugado a través de un enlace de éster o amida.

30 A continuación se muestran quelantes particulares:





El grupo quelante puede ser un resto de un agente quelante seleccionado de TRAP, DOTA y DOTAGA.

- 5 Los compuestos macrocíclicos y acíclicos quelantes de metales o cationes son bien conocidos en la técnica, y están disponibles a través de varios fabricantes. Si bien el resto quelante según la presente descripción no está particularmente limitado, se entiende que una persona experta puede utilizar numerosos restos de manera estándar sin más preámbulos.

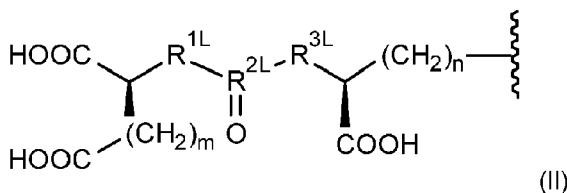
10 El grupo quelante puede comprender un catión quelado que puede ser radiactivo o no radiactivo, preferiblemente un catión metálico quelado que puede ser radiactivo o no radiactivo. Es más preferido un isótopo metálico radiactivo quelado.

15 Ejemplos de cationes que se pueden quelar por el grupo quelante son los cationes de ^{43}Sc , ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{51}Cr , ^{52m}Mn , ^{58}Co , ^{52}Fe , ^{56}Ni , ^{57}Ni , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{66}Ga , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{89}Y , ^{90}Y , ^{90}Y , ^{99m}Tc , ^{97}Tc , ^{97}Ru , ^{105}Rh , ^{109}Pd , ^{111}Ag , ^{110m}In , ^{111}In , ^{113m}In , ^{114m}In , ^{117m}Sn , ^{121}Sn , ^{127}Te , ^{142}Pr , ^{143}Pr , ^{149}Pm , ^{151}Pm , ^{149}Tb , ^{152}Tb , ^{155}Tb , ^{161}Tb , ^{153}Sm , ^{157}Gd , ^{161}Tb , ^{166}Ho , ^{165}Dy , ^{169}Er , ^{169}Yb , ^{175}Yb , ^{172}Tm , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{191}Pt , ^{197}Hg , ^{198}Au , ^{199}Au , ^{212}Pb , ^{203}Pb , ^{211}At , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{223}Ra , ^{225}Ac , ^{227}Th , una molécula catiónica que comprende ^{18}F o un catión tal como $^{18F}\text{-}[AlF}_4^{2-}$. El catión puede seleccionarse de los cationes de ^{44}Sc , ^{47}Sc , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{90}Y , ^{111}In , ^{161}Tb , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{188}Re , ^{212}Pb , ^{213}Bi , ^{225}Ac , y ^{227}Th , o una molécula catiónica que comprende ^{18}F .

Utilizando ligantes de PSMA como ejemplo, los presentes inventores llevaron la descripción anterior a la práctica. Sin embargo, el sorprendente hallazgo realizado por los presentes inventores (compensación de la lipofilia del resto de SIFA en un grado sorprendente) no se limita a las moléculas que comprenden un ligante de PSMA.

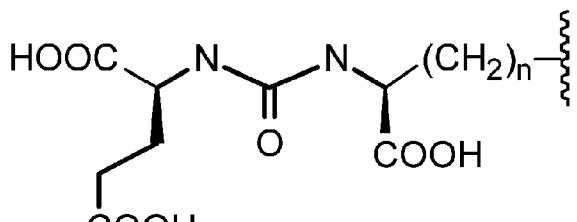
- En consecuencia, el ligando puede ser capaz de unirse al antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA).

El ligando puede tener la estructura representada por la fórmula (II):



en la que m es un número entero de 2 a 6, preferiblemente 2 a 4, más preferiblemente 2; n es un número entero de 2 a 6, preferiblemente 2 a 4, más preferiblemente 2 o 3; R^{1L} es CH_2 , NH u O, preferiblemente NH; R^{3L} es CH_2 , NH u O, preferiblemente NH; R^{2L} es C o P(OH), preferiblemente C; y en la que el ligando está unido al resto del conjugado a través del enlace marcado por

- 40 El ligando puede tener la estructura representada por la fórmula (IIa):



(IIa)

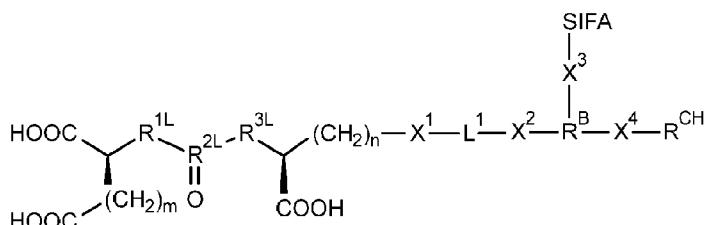
en la que n es un número entero de 2 a 6; y en la que el ligando está unido al resto del conjugado a través del enlace marcado por

5

~~~~~

- 10 En la técnica se conocen varios ligantes de PSMA que son todos adecuados según la descripción. La realización preferida anterior es una definición estructural de un grupo preferido de ligantes de PSMA.

Se proporciona un compuesto de fórmula (III):



(III)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 20 SIFA es un resto de aceptor de fluoruro de silicio (SIFA) que comprende un enlace covalente entre un átomo de silicio y un átomo de flúor y que puede marcarse con  $^{18}\text{F}$  mediante intercambio isotópico de  $^{19}\text{F}$  por  $^{18}\text{F}$  o que está marcado con  $^{18}\text{F}$ ; preferiblemente SIFA es el resto de SIFA de fórmula (I), y más preferiblemente de fórmula (Ia) definida anteriormente;

25 m es un número entero de 2 a 6, preferiblemente 2 o 3, más preferiblemente 2;

n es un número entero de 2 a 6, preferiblemente 2 o 3, más preferiblemente 2 o 4;

30  $\text{R}^{1\text{L}}$  es  $\text{CH}_2$ , NH u O, preferiblemente NH;

$\text{R}^{3\text{L}}$  es  $\text{CH}_2$ , NH u O, preferiblemente NH;

35  $\text{R}^{2\text{L}}$  es C o  $\text{P}(\text{OH})$ , preferiblemente C;

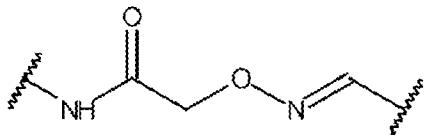
40  $\text{X}^1$  se selecciona de un enlace de amida, un enlace de éter, un enlace de tioéster, un enlace de éster, un enlace de tioéster, un puente de urea, y un enlace de amina, preferiblemente un enlace de amida;

45  $\text{X}^2$  se selecciona de un enlace de amida, un enlace de éter, un enlace de tioéster, un enlace de éster, un enlace de tioéster, un puente de urea, y un enlace de amina, preferiblemente un enlace de amida;

40  $\text{L}^1$  es un grupo de enlace divalente con una estructura seleccionada de una oligoamida, un oligoéter, un oligotioéter, un oligoéster, un oligotioéster, una oligourea, una oligo(éter-amida), una oligo(tioéter-amida), una oligo(éster-amida), una oligo(tioéster-amida), una oligo(urea-amida), una oligo(éter-tioéster), una oligo(éster-éster), una oligo(éter-tioéster), una oligo(éster-urea), una oligo(tioéster-éster), una oligo(tioéster-tioéster), una oligo(éster-tioéster), una oligo(éster-urea), y una oligo(tioéster-urea), preferiblemente con una estructura seleccionada de una oligoamida y una oligo(éster-amida).

$\text{L}^1$  puede sustituirse opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de -OH, - $\text{OCH}_3$ , -COOH, - $\text{COOCH}_3$ , -NH<sub>2</sub>, y -NHC(NH)NH<sub>2</sub>.

$X^3$  se selecciona de un enlace de amida, un enlace de éster, un de éter, una amina, y un grupo enlazante de la fórmula:



10

en la que el enlace marcado por

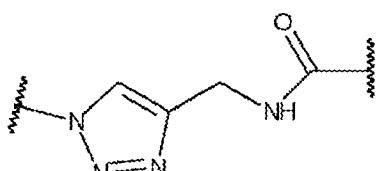
1

en el grupo NH está unido a  $R^B$  y el otro enlace marcado por

1000000000

15 está unido a SIEA; preferiblemente  $X^3$  es un enlace de amida;  $R^B$  es un grupo de acoplamiento trivalente;

X<sup>4</sup> se selecciona de un enlace de amida, un enlace de éter, un enlace de tioéter, y un enlace de éster, un enlace de tioéster, un puente de urea, un enlace de amina, un grupo enlazante de la fórmula:



21

en la que el enlace de amida está marcado por

20

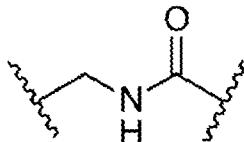
2

se forma con el grupo quelante, y el otro enlace marcado por

✓

30

está unido a  $R^B$ ; y un grupo enlazante de la fórmula:



en la que el enlace marcado por

1000000000

en el extremo del carbonilo se forma con el grupo quelante, y el otro enlace marcado por

4

10

está unido a  $R^B$ ; preferiblemente  $X^4$  es un enlace de amida;

45  $R^{CH}$  es un grupo quelante que contiene opcionalmente un catión radiactivo o no radiactivo quelado, preferiblemente un catión metálico radiactivo o no radiactivo, en el que las realizaciones preferidas de dicho grupo quelante y del catión quelado opcional son las definidas anteriormente.

50 El término "oligo", como se utiliza en oligoamida, oligoéter, oligotioéter, oligoéster, oligotioéster, oligourea, oligo(éter-amida), oligo(tioéter-amida), oligo(éster-amida), oligo(tioéster-amida), oligo(urea-amida), oligo(éter-tioéter), oligo(éter-éster), oligo(éter-tioéster), oligo(éter-urea), oligo(tioéster-éster), oligo(tioéster-tioéster), oligo(tioéster-urea), oligo(éster-tioéster), oligo(tioéster-urea), oligo(éster-tioéster), oligo(éster-urea) y oligo(tioéster-urea), se debe entender preferiblemente como una referencia a un grupo en el que 2 a 20, más preferiblemente en

el que 2 a 10 subunidades están enlazadas por el tipo de enlaces especificado en los mismos términos. Como comprenderá el lector experto, cuando se indican entre paréntesis dos tipos diferentes de enlaces, ambos tipos de enlaces están contenidos en el grupo en cuestión (por ejemplo, en "oligo (éster-amida)", están contenidos los enlaces de éster y los enlaces de amida).

5  $L^1$  puede comprender un total de 1 a 5, un total de 1 a 3, o un total de 1 o 2 enlaces de amida y/o de éster, preferiblemente enlaces de amida, dentro de su cadena principal.

10 Por lo tanto, el término oligoamida describe un resto que tiene una cadena de grupos  $CH_2$  o  $CHR$  intercalados con grupos seleccionados de  $NHCO$  o  $CONH$ . Cada aparición del resto R es un sustituyente opcional seleccionado de  $-OH$ ,  $-OCH_3$ ,  $-COOH$ ,  $-COOCH_3$ ,  $-NH_2$ , y  $-NHC(NH)NH_2$ .

- $X^1-L^1-X^2-$  puede representar una de las siguientes estructuras (L-1) y (L-2):

15  $-NH-C(O)-R^6-C(O)-NH-R'-NH-C(O)-$  (L-1)

$-C(O)-NH-R^8-NH-C(O)-R^9-C(O)-NH-R^{10}-NH-C(O)-$  (L-2)

20 en las que  $R^6$  a  $R^{10}$  se seleccionan independientemente de alquíleno de C2 a C10, preferiblemente alquíleno de C2 a C10 lineal, grupos alquíleno los cuales pueden estar sustituidos cada uno con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de  $-OH$ ,  $-OCH_3$ ,  $-COOH$ ,  $-COOCH_3$ ,  $-NH_2$ , y  $-NHC(NH)NH_2$ .

25 El número total de átomos de carbono en  $R^6$  y  $R^7$  puede ser 4 a 20, o 4 a 16, sin átomos de carbono contenidos en sustituyentes opcionales. El número total de átomos de carbono en  $R^8$  a  $R^{10}$  puede ser 6 a 20, o 6 a 16, sin átomos de carbono contenidos en sustituyentes opcionales. - $X^1-L^1-X^2-$  puede representar una de las siguientes estructuras (L-3) y (L-4):

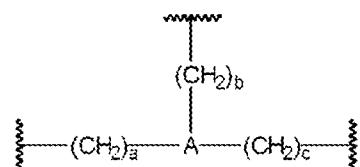
$-NH-C(O)-R^{11}-C(O)-NH-R^{12}-CH(COOH)-NH-C(O)-$  (L-3)

30  $-C(O)-NH-CH(COOH)-R^{13}-NH-C(O)-R^{14}-C(O)-NH-R^{15}-CH(COOH)-NH-C(O)-$  (L-4)

en las que  $R^{11}$  a  $R^{15}$  se seleccionan independientemente de alquíleno de C2 a C8, preferiblemente alquíleno de C2 a C8 lineal.

35 El número total de átomos de carbono en  $R^{11}$  y  $R^{12}$  o  $R^{13}$  a  $R^{15}$ , respectivamente, puede ser 8 a 18, 8 a 12, o 9 o 10.

$R^B$  puede tener la estructura representada por la fórmula (IV):



40 (IV)

en la que: A se selecciona de N,  $CR^{16}$ , en el que  $R^{16}$  es H o alquilo de C1-C6, y un grupo carbocíclico o heterocíclico de 5 a 7 miembros; preferiblemente, A se selecciona de N y CH, y más preferiblemente, A es CH; el enlace marcado por

45 ~~wwww~~

en  $(CH_2)_a$  se forma con  $X^2$ , y a es un número entero de 0 a 4, preferiblemente 0 o 1, y más preferiblemente 0; el enlace marcado por

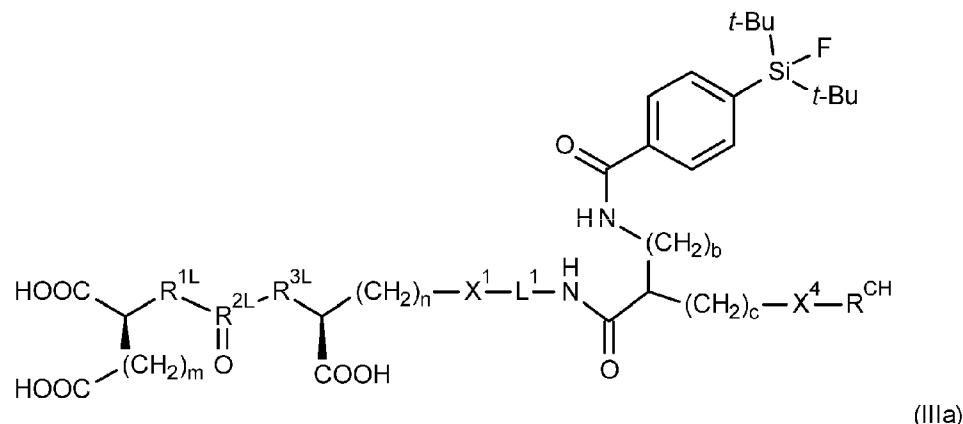
50 ~~wwww~~

en  $(CH_2)_b$  se forma con  $X^3$ , y b es un número entero de 0 a 4, preferiblemente de 0 a 2, y más preferiblemente 0 o 1; y el enlace marcado por

55 ~~wwww~~

en  $(CH_2)_c$  se forma con  $X^4$ , y c es un número entero de 0 a 4, preferiblemente de 0 a 2, y más preferiblemente 0 o 1.

Se proporciona un compuesto de fórmula (IIIa):



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que  $m$ ,  $n$ ,  $R^{1L}$ ,  $R^{2L}$ ,  $R^{3L}$ ,  $X^1$ ,  $L^1$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $X^4$  y  $R^{CH}$  son como se definen anteriormente, incluidas todas sus realizaciones preferidas.

10

En el compuesto de fórmula (IIIa) puede darse el caso de que  $b+c \geq 1$ .

10

En el compuesto de fórmula (IIIa) puede darse el caso de que  $b+c \geq 3$ .

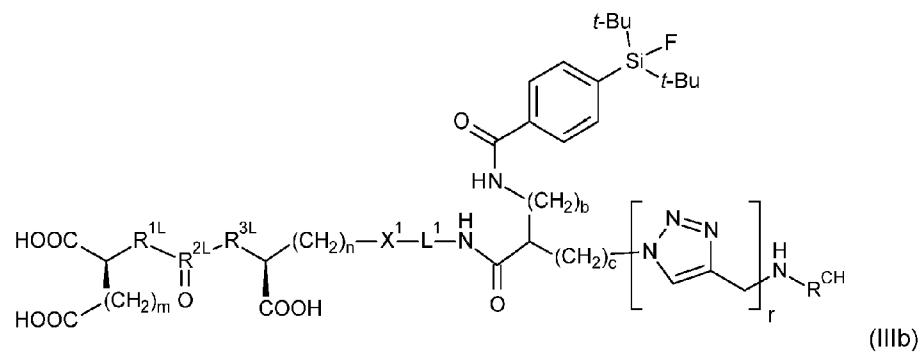
15

En el compuesto de fórmula (IIIa) puede darse el caso de que  $b$  sea 1 y  $c$  sea 0.

15

En el compuesto de fórmula (III),  $-X^4-R^{CH}$  puede representar un resto de un agente quelante seleccionado de DOTA y DOTAGA unido con uno de sus grupos carboxílicos a través de un enlace de amida al resto del conjugado.

El compuesto de fórmula (III) puede ser un compuesto de fórmula (IIIb):



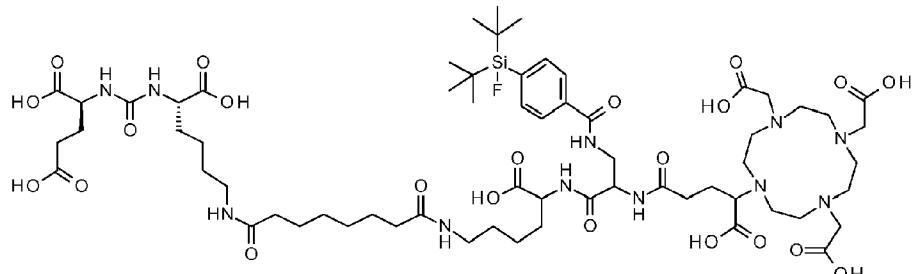
20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que  $m$ ,  $n$ ,  $R^{1L}$ ,  $R^{2L}$ ,  $R^{3L}$ ,  $X^1$ ,  $L^1$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $X^4$  y  $R^{CH}$  son como se definen anteriormente; y  $r$  es 0 o 1.  $-N(H)-R^{CH}$  puede representar un resto de un agente quelante seleccionado de DOTA y DOTAGA unido con uno de sus grupos carboxílicos a través de un enlace de amida al resto del conjugado.

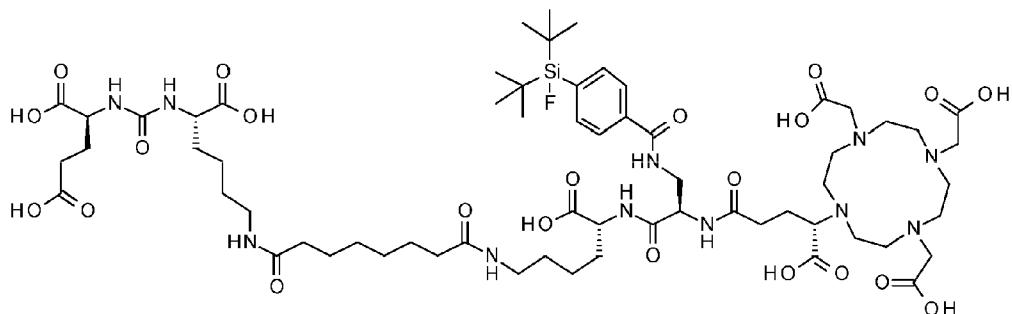
25

Se proporcionan los siguientes compuestos:

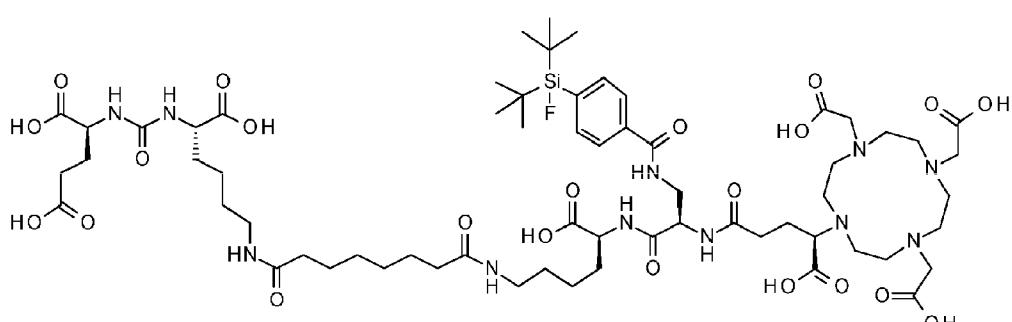
PSMA-SIFA1 (5)



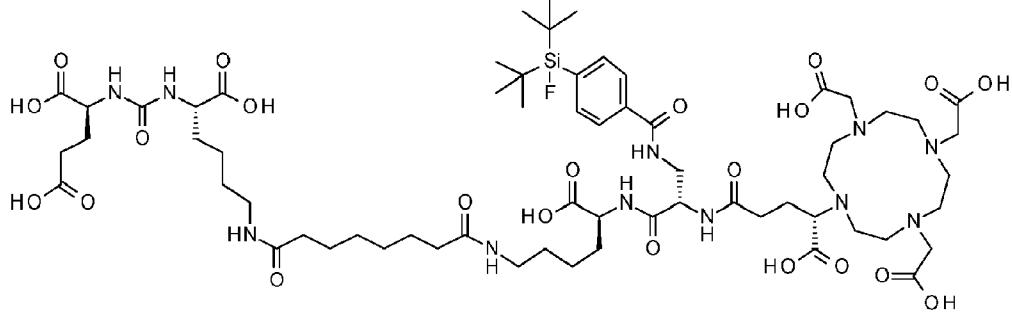
y sus isómeros:

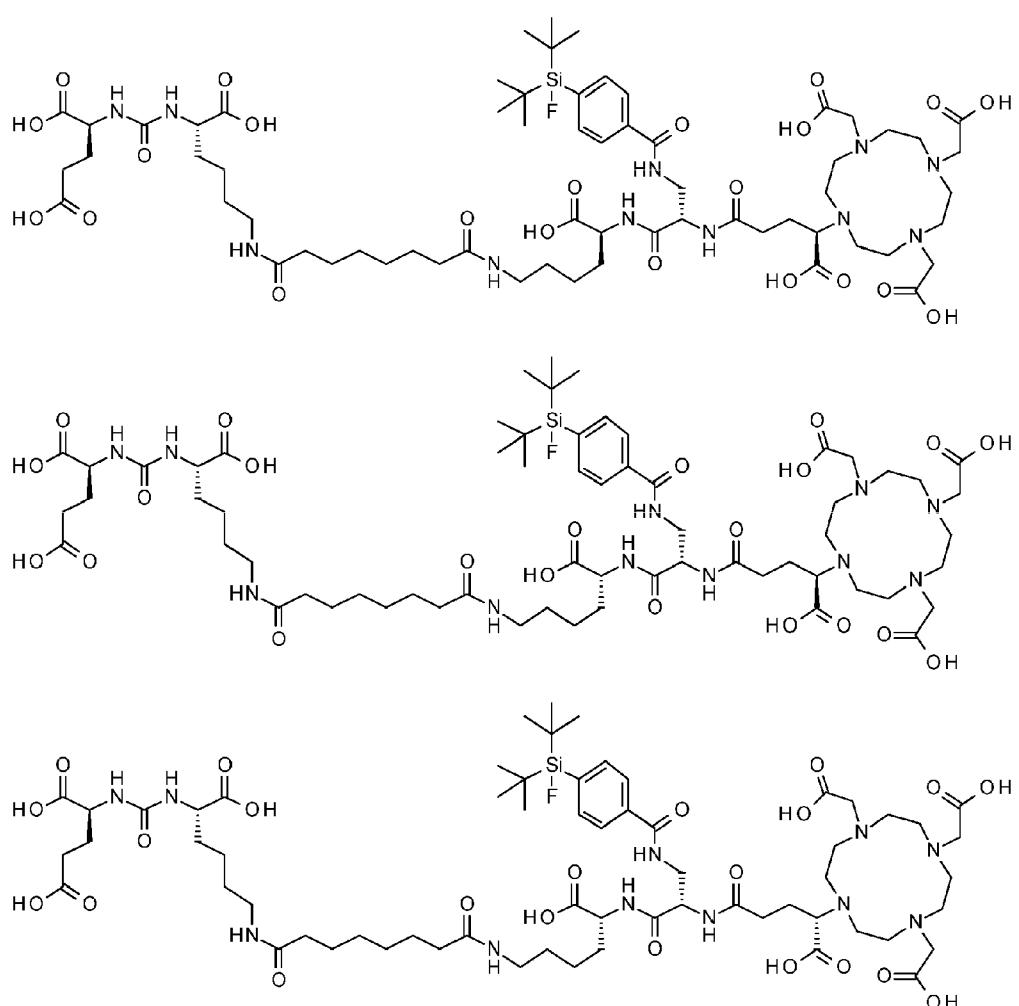


5



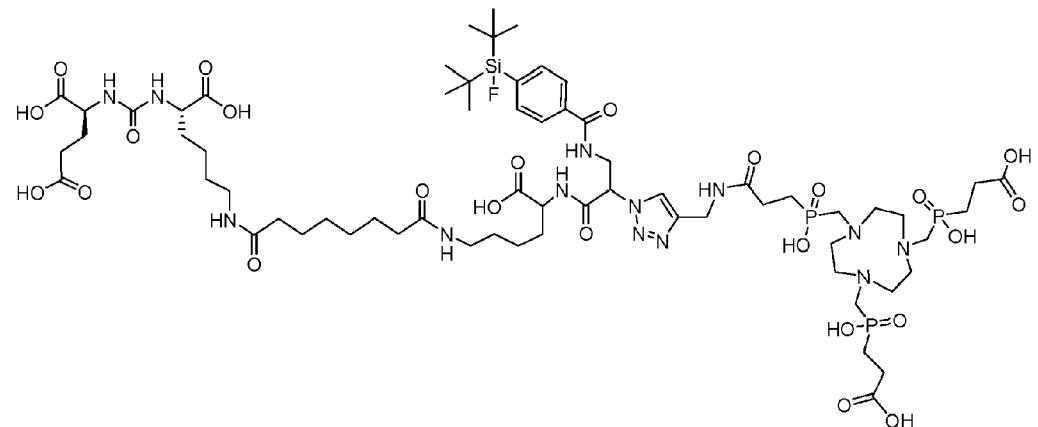
10





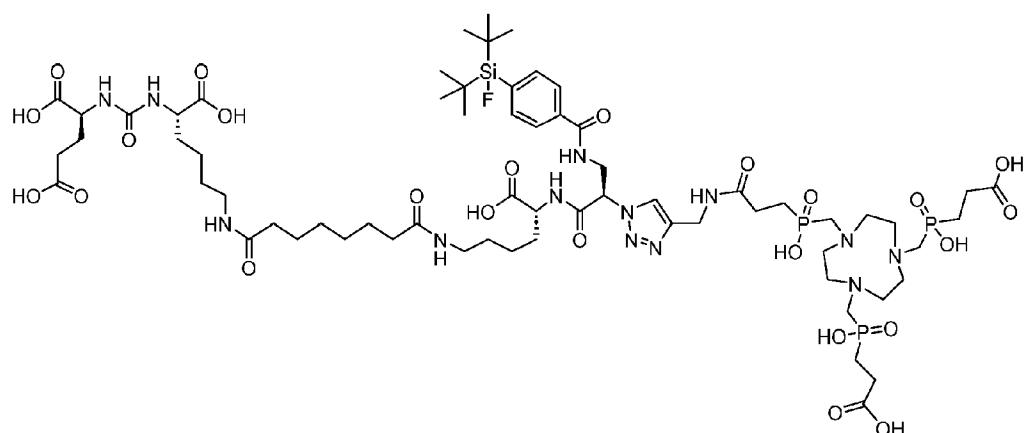
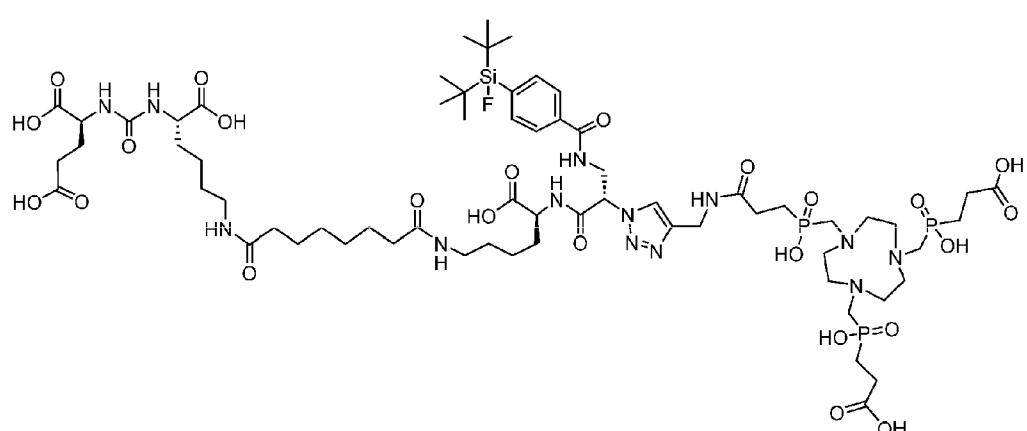
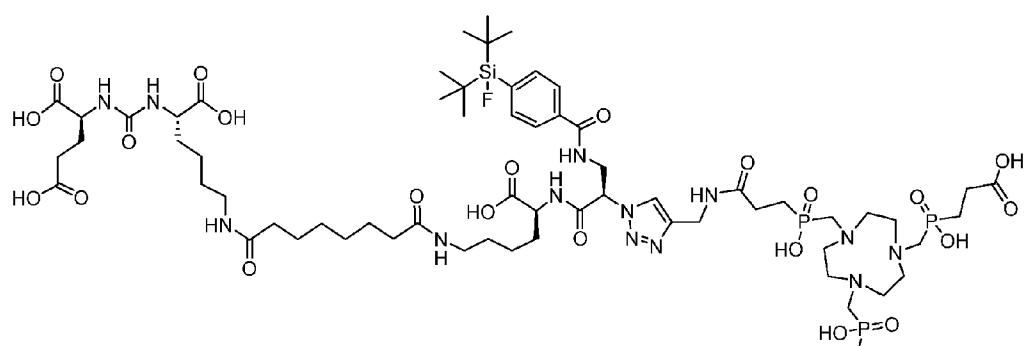
5

## PSMA-SIFA2 (6)

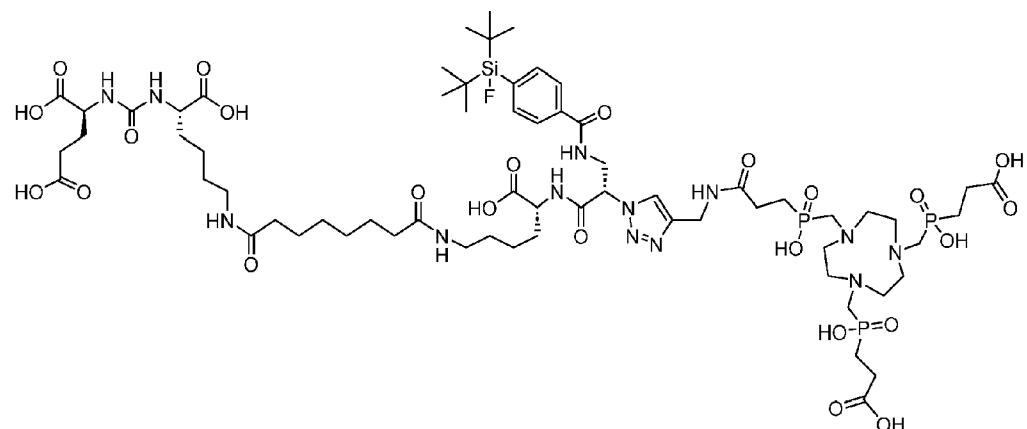


y sus isómeros

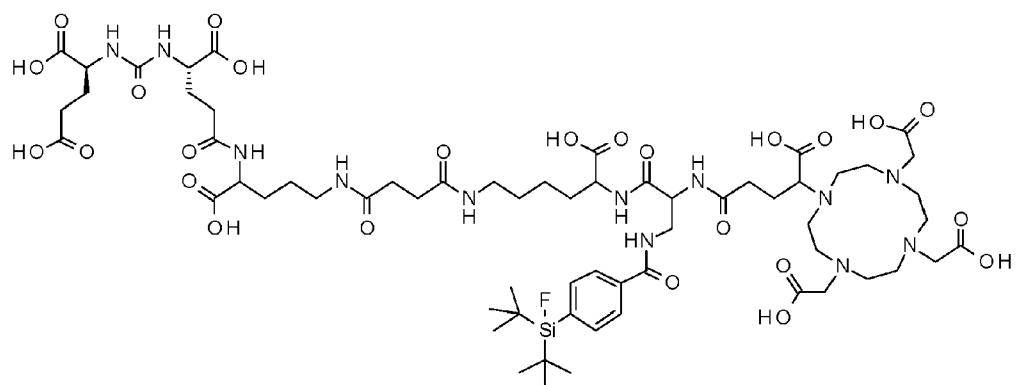
10



5

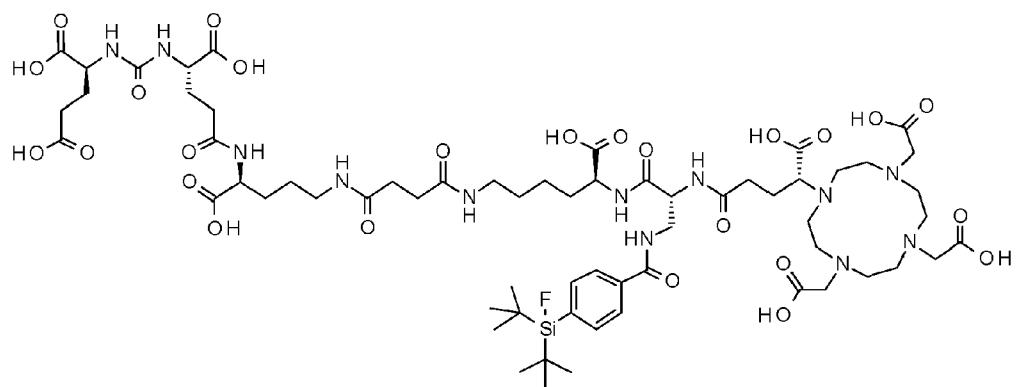
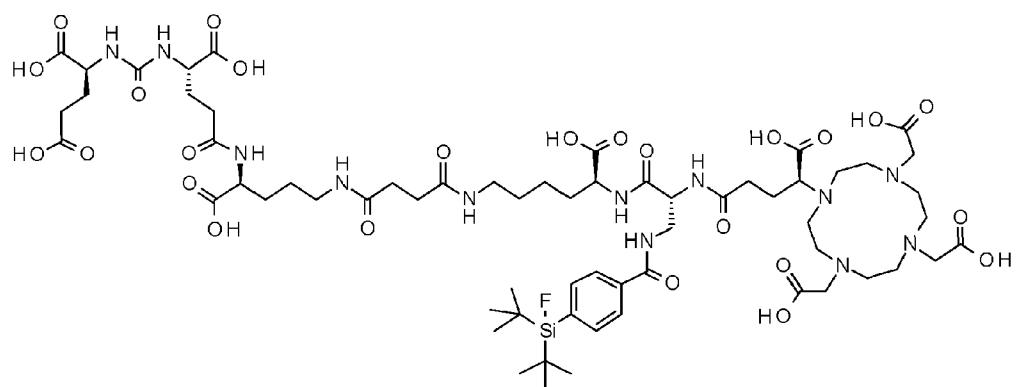
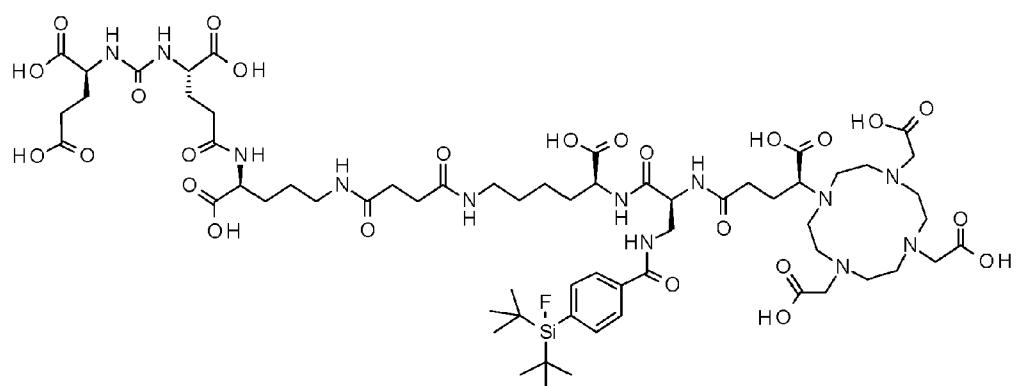


PSMA-SIFA3 (7)

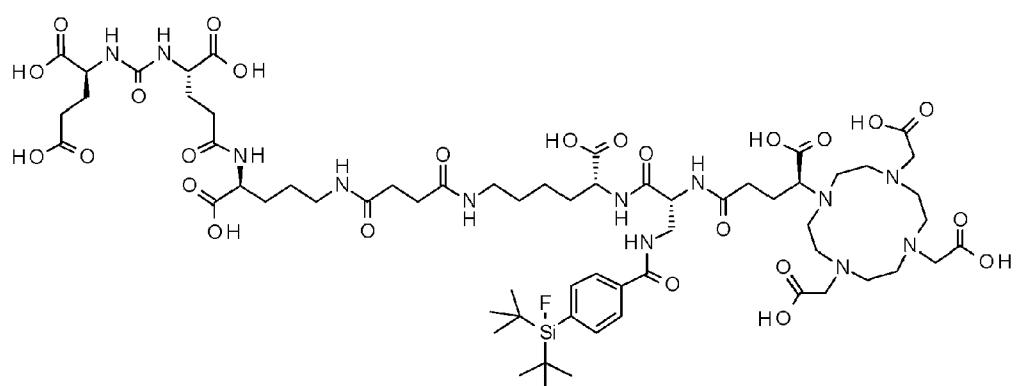
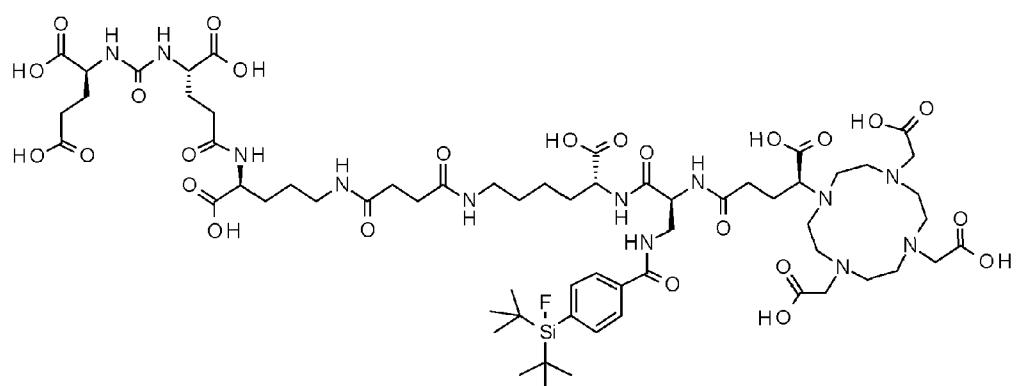
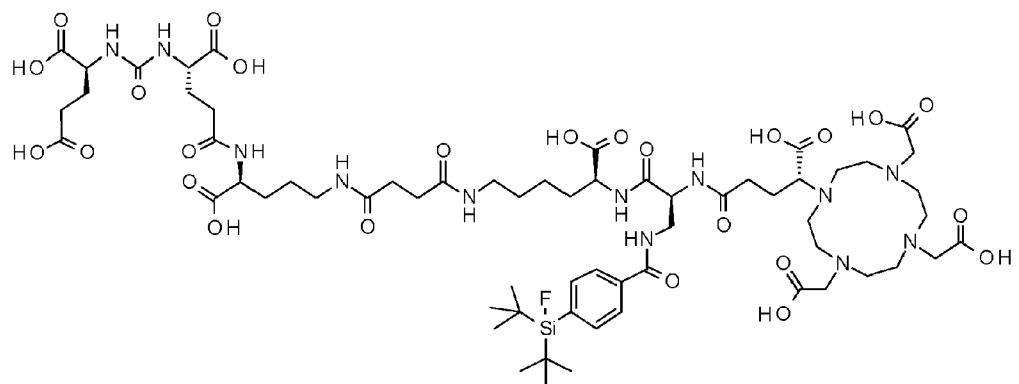


y sus isómeros

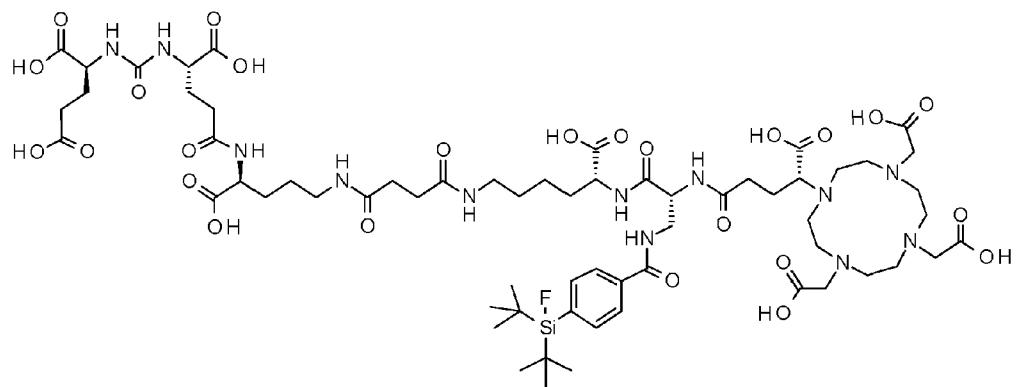
5

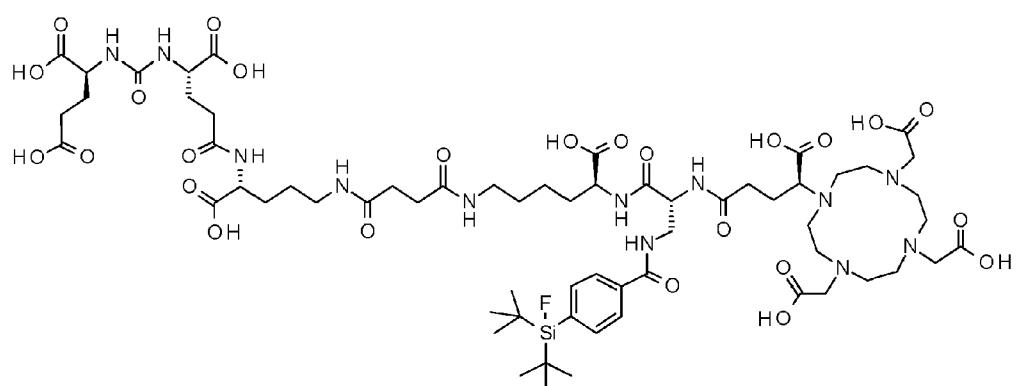
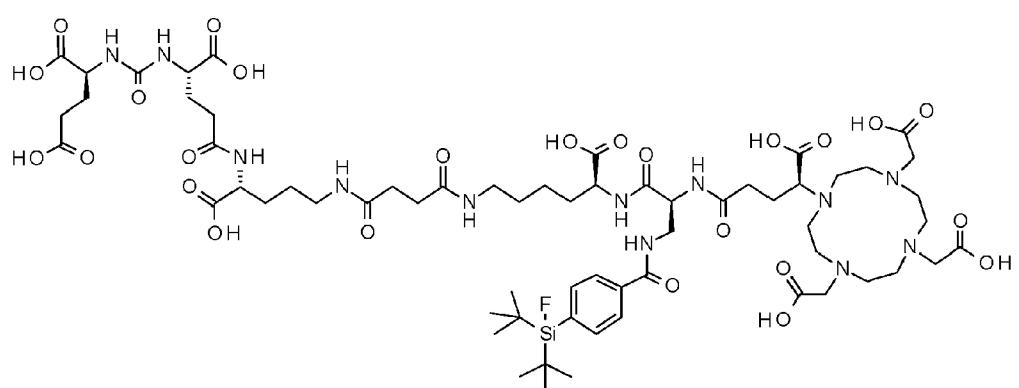
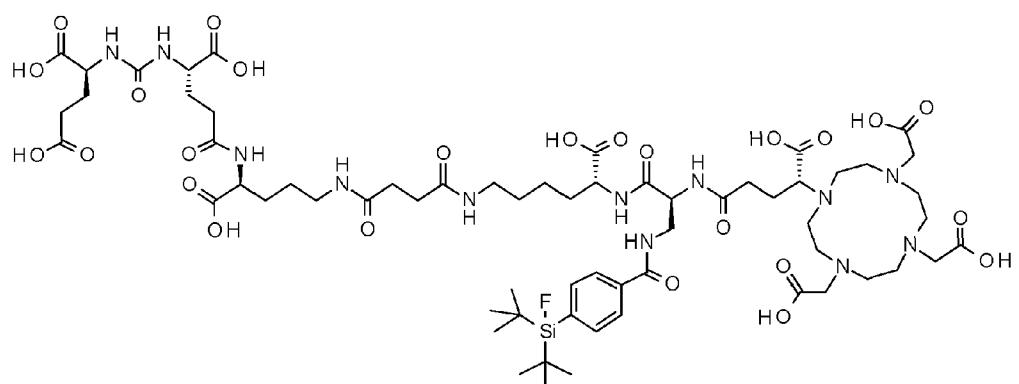


10

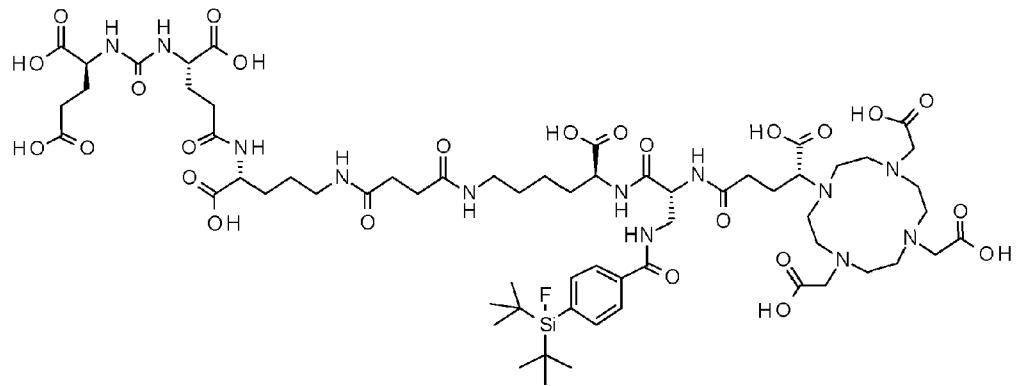


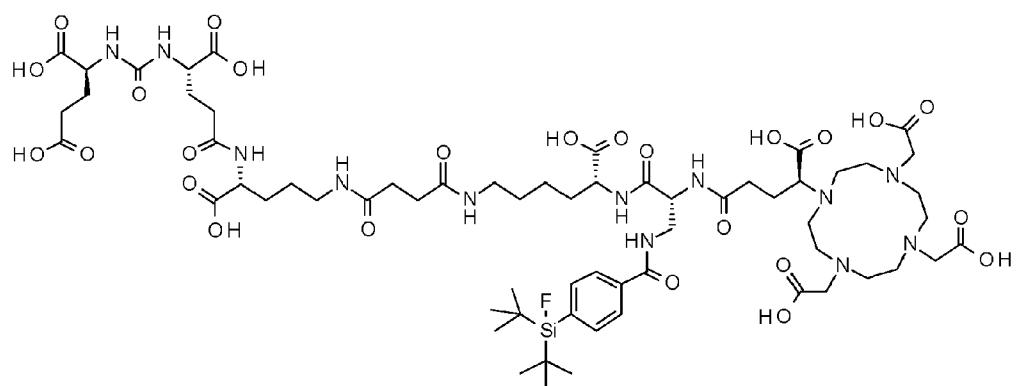
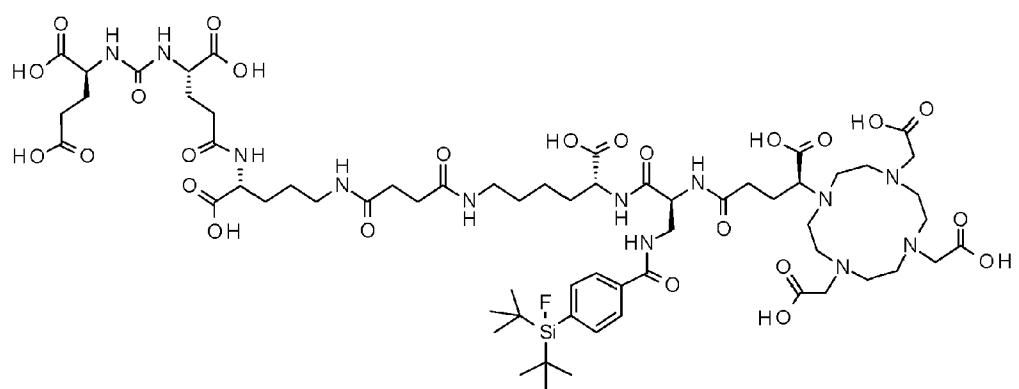
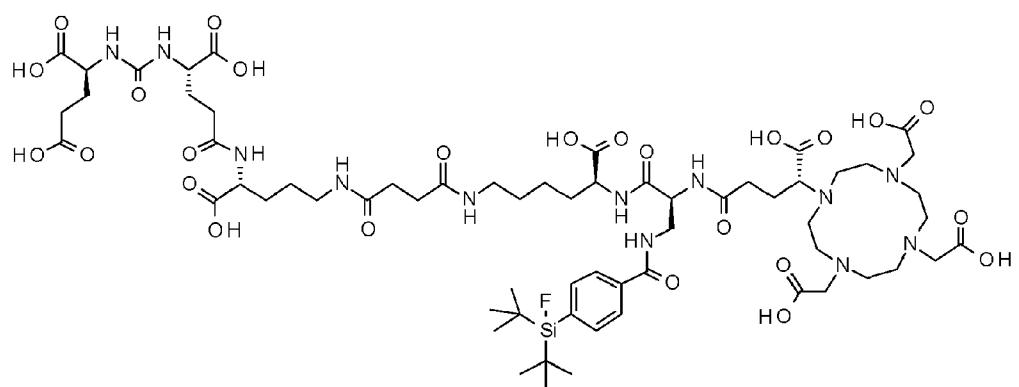
5



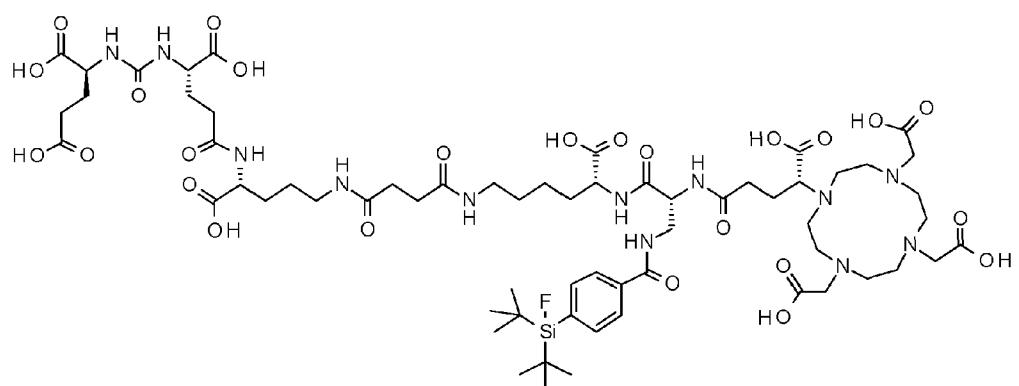


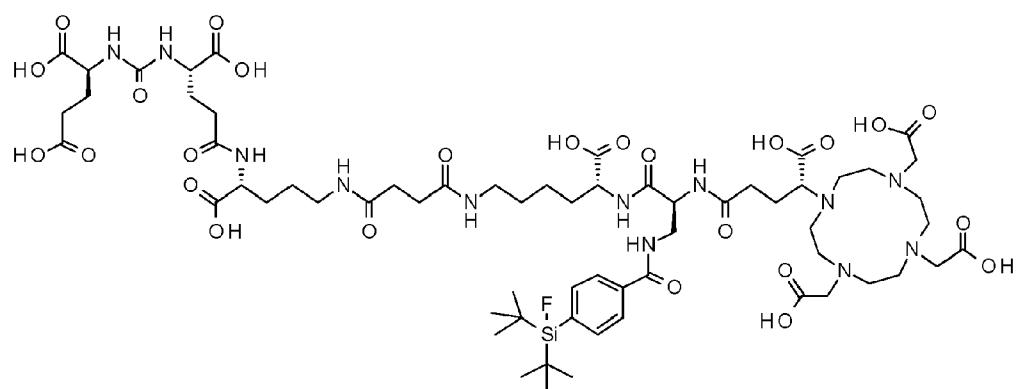
5



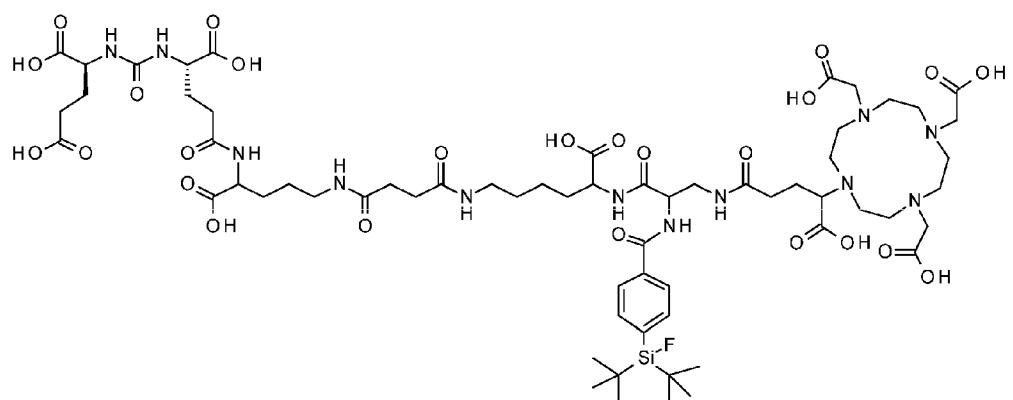


5

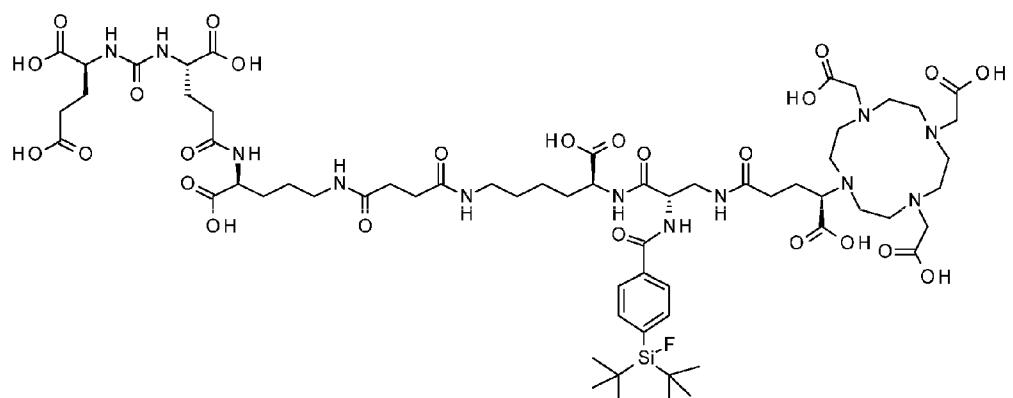
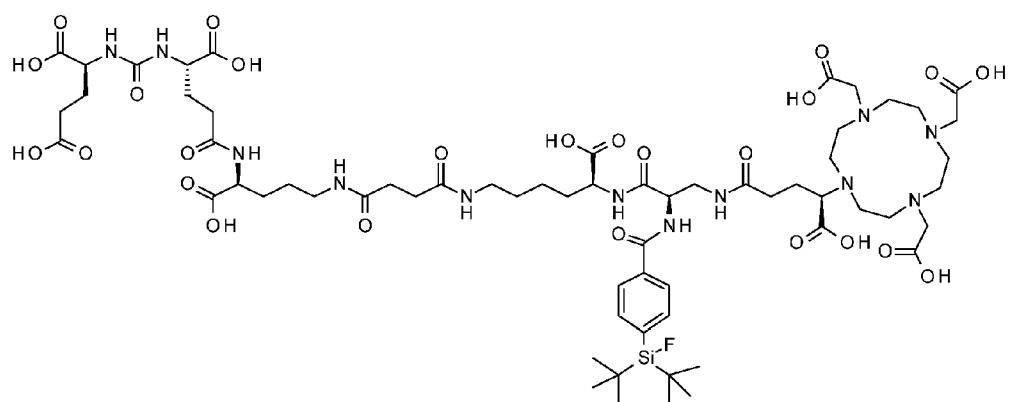


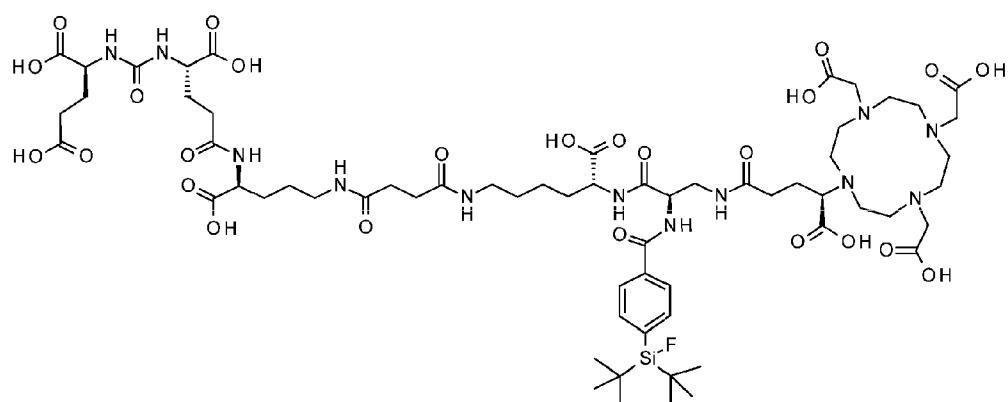
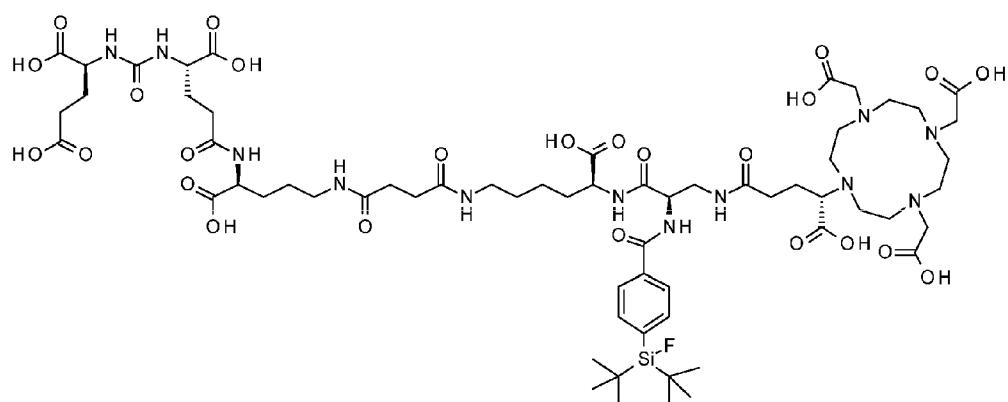
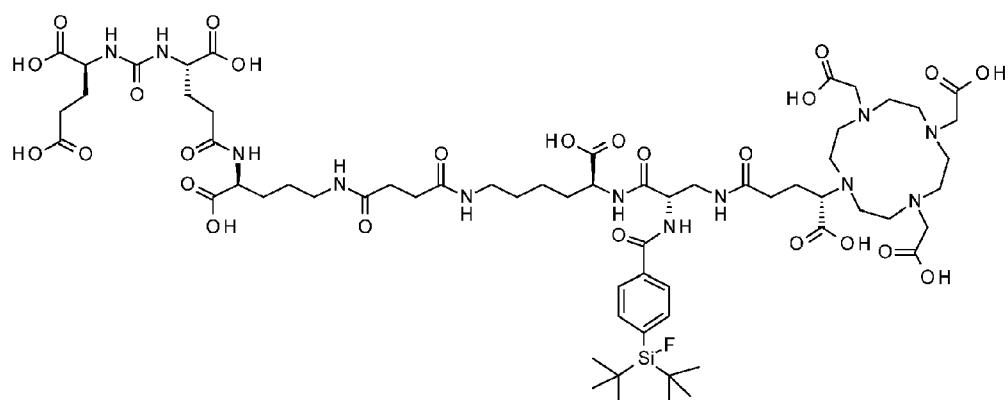


PSMA-SIFA4 (8)

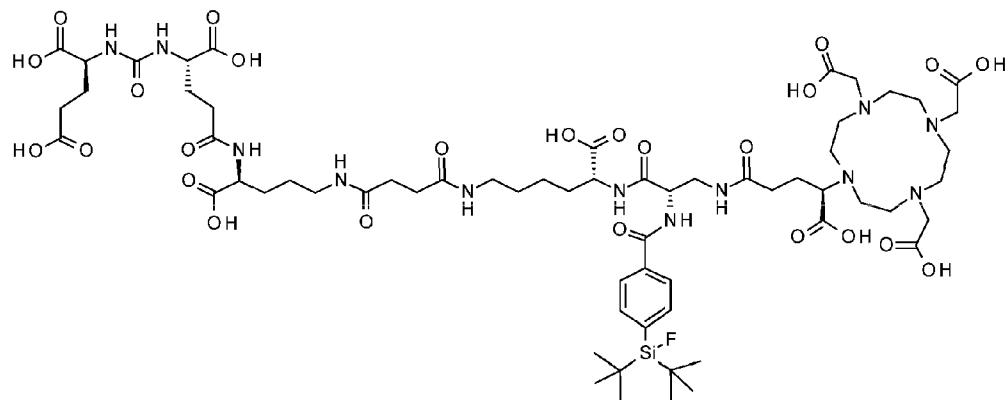


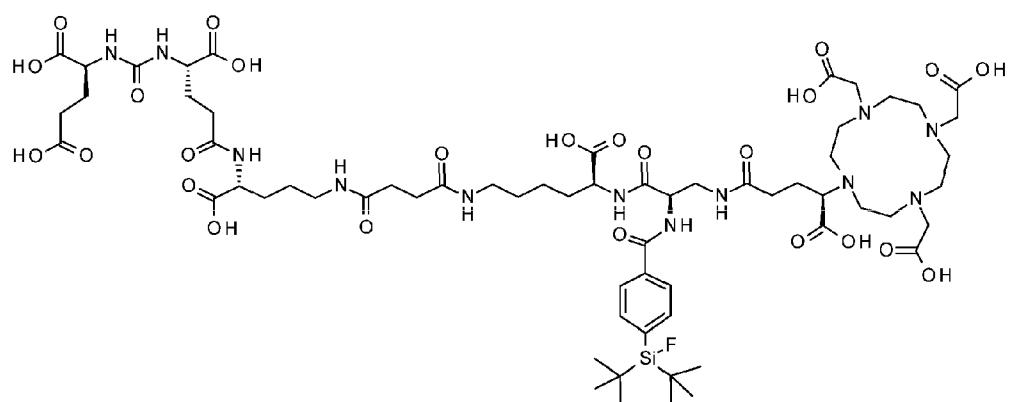
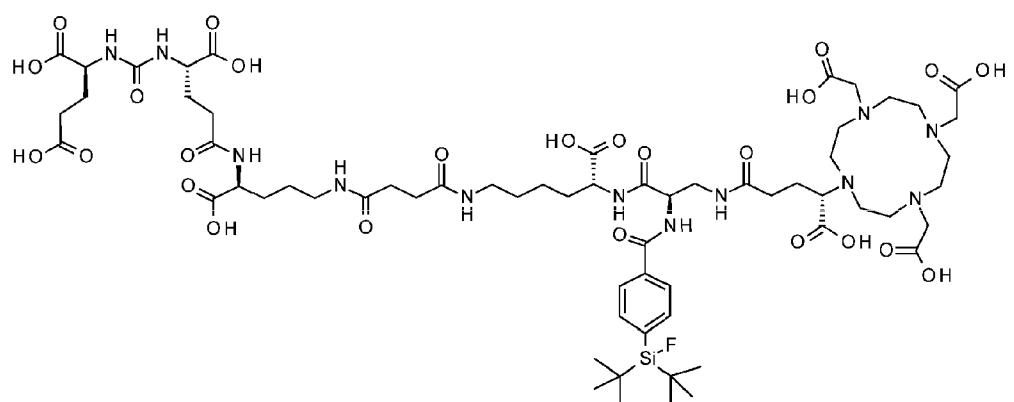
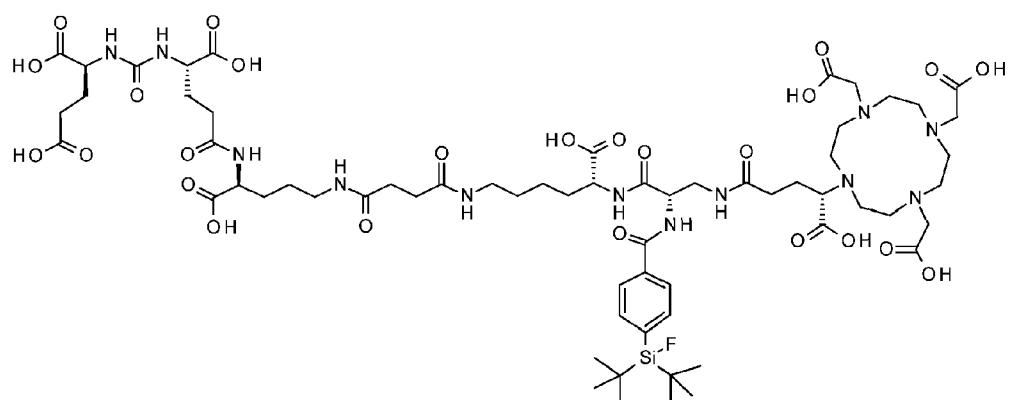
5 y sus isómeros



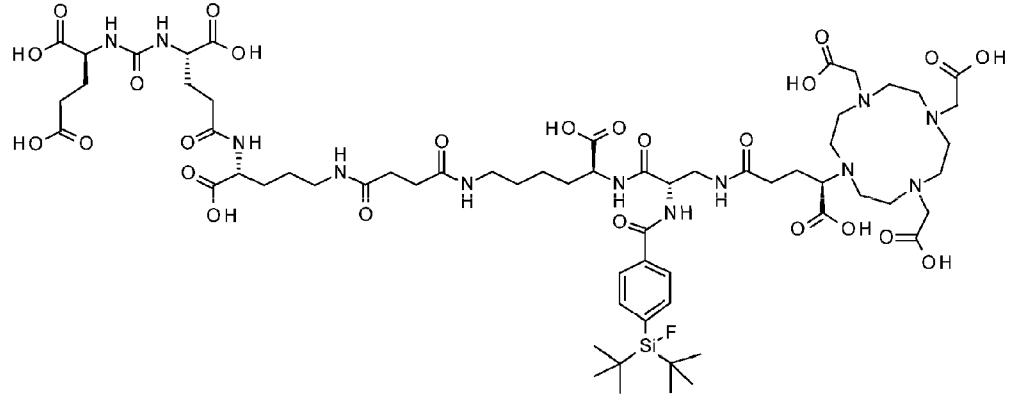


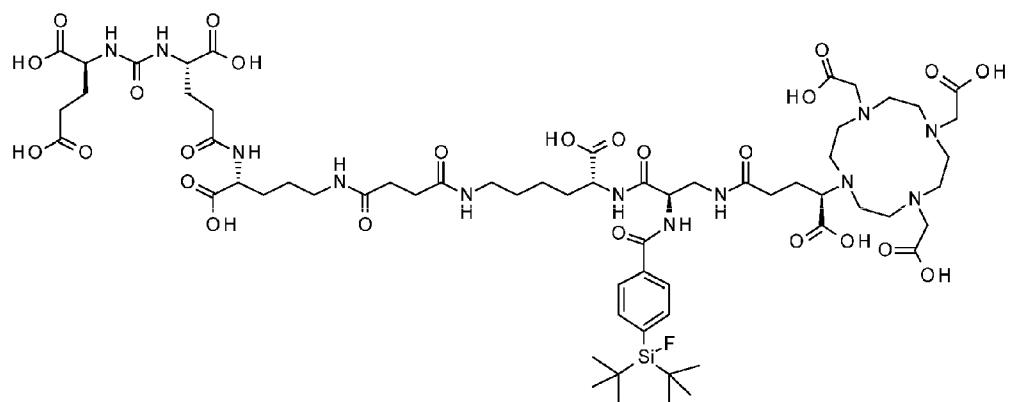
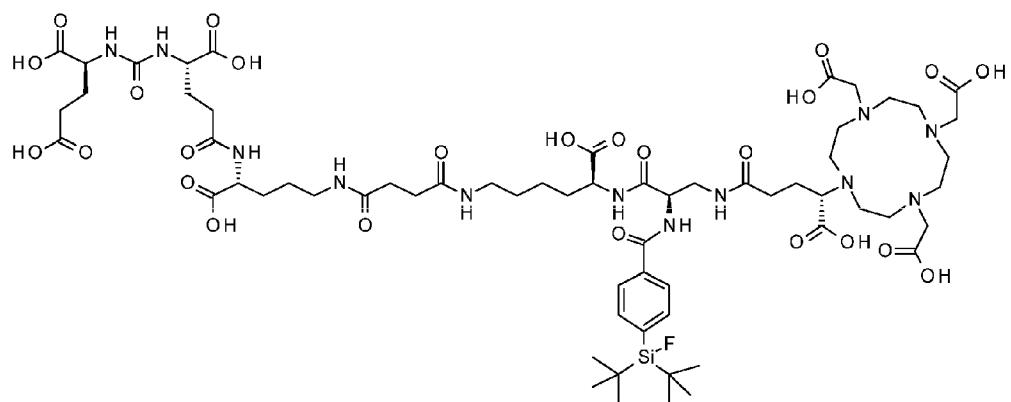
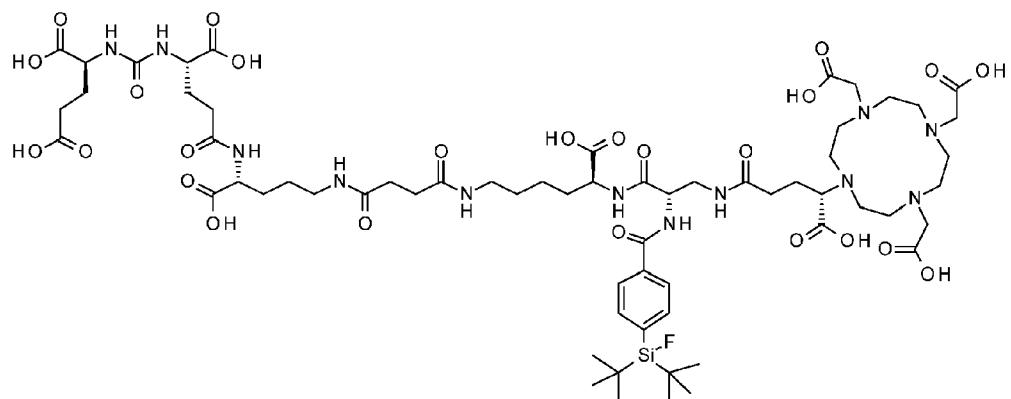
5



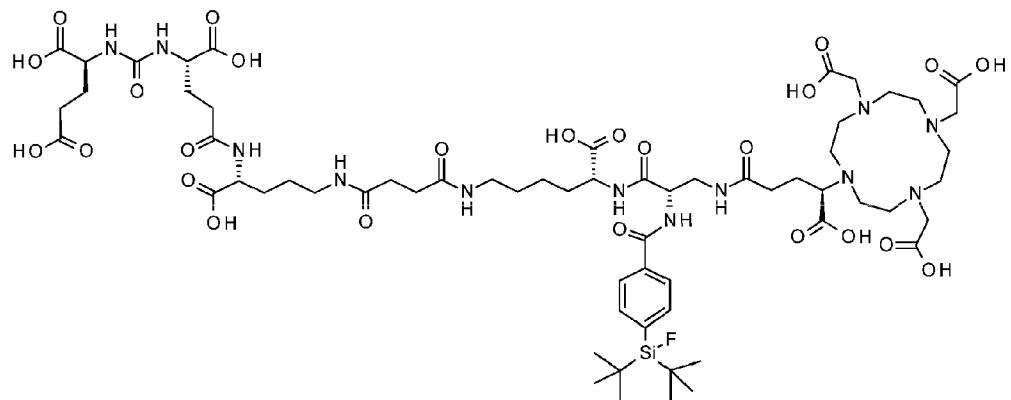


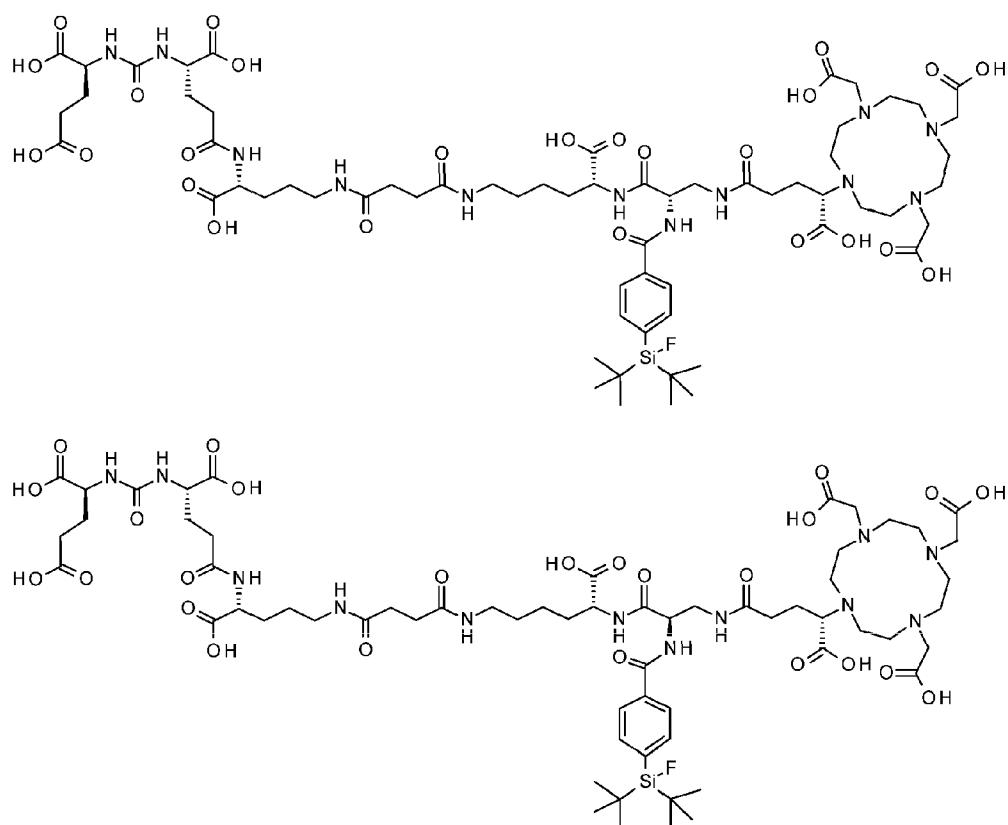
5



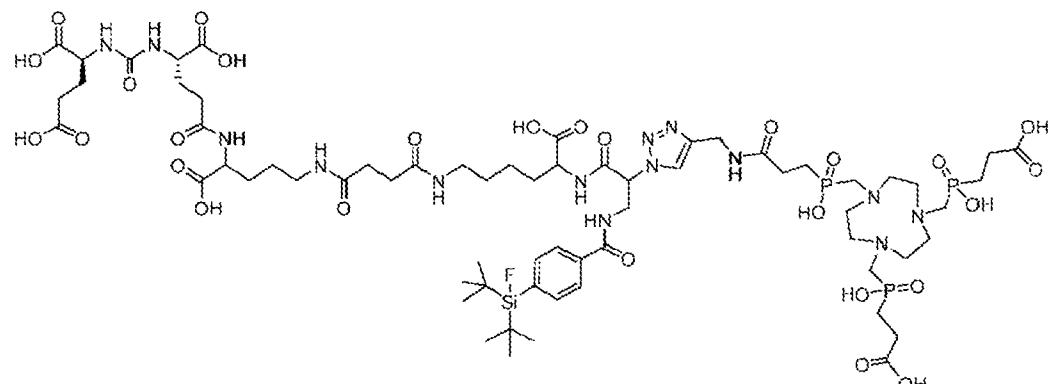


5



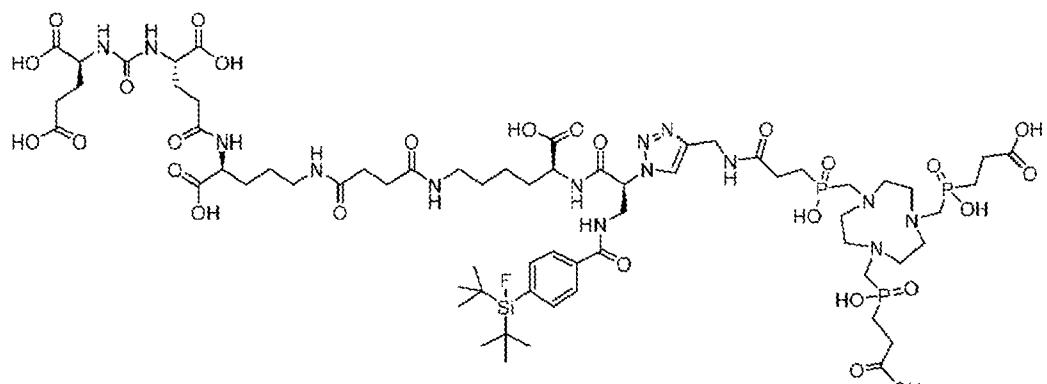


PSMA-SIFA5 (9)

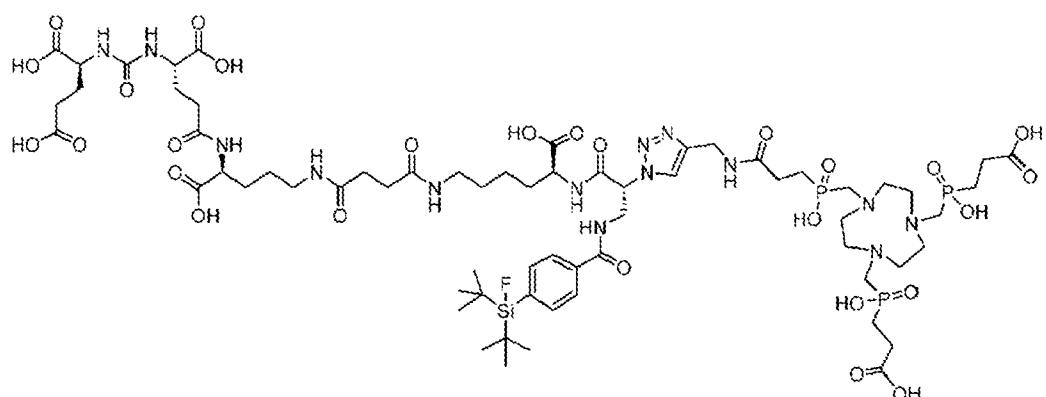
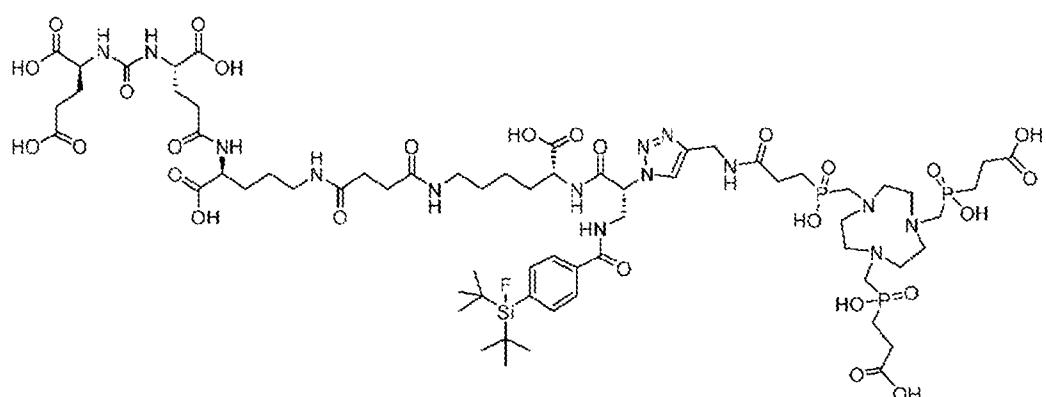
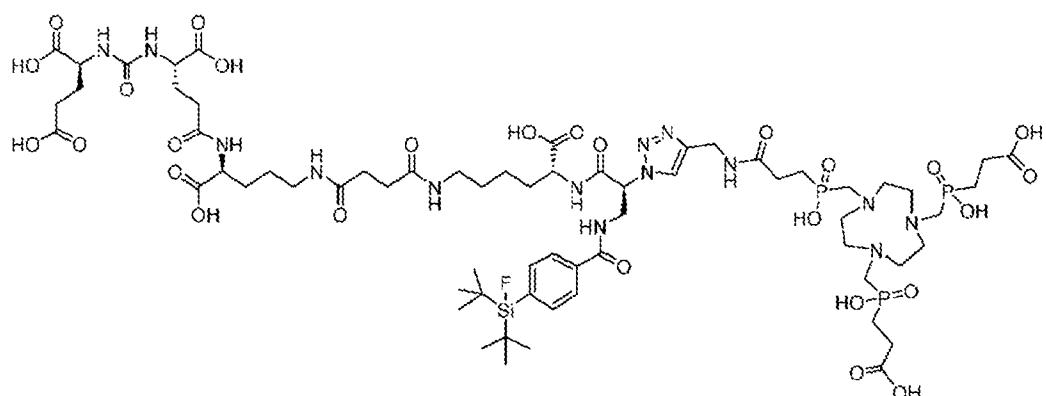


5

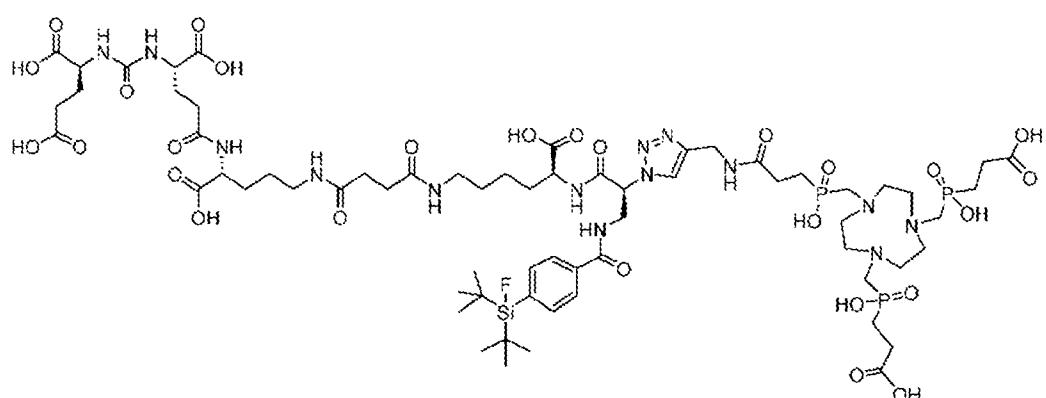
y sus isómeros

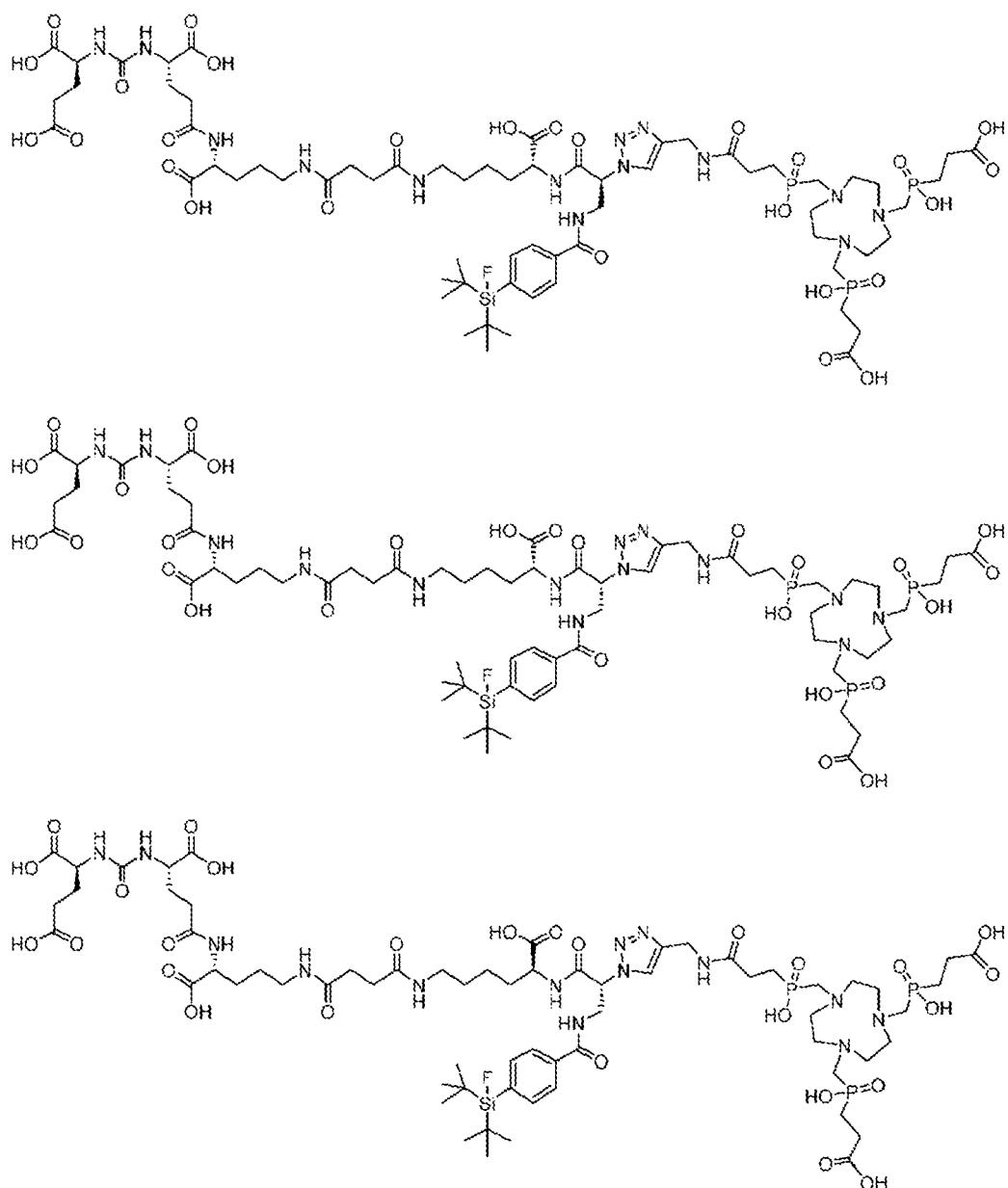


10



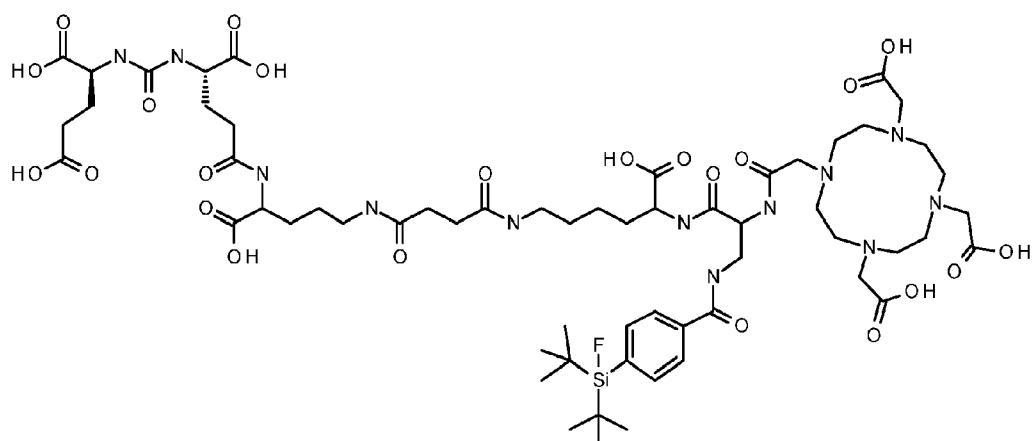
5



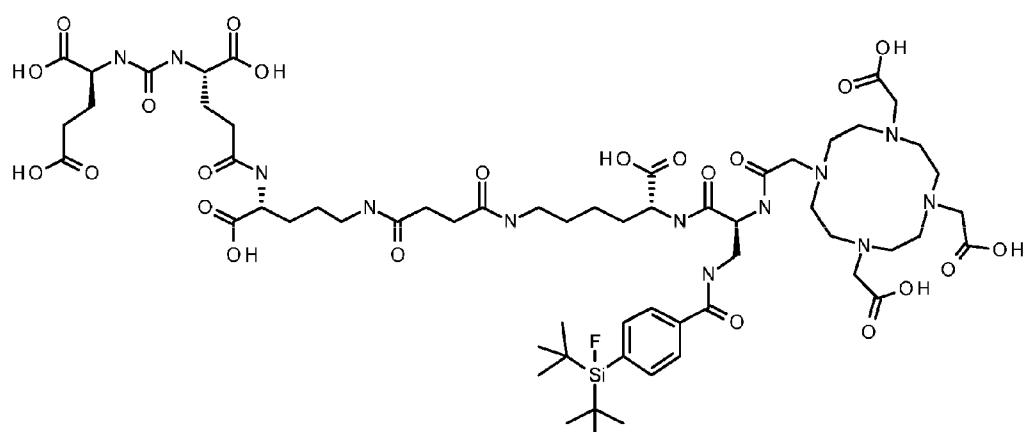
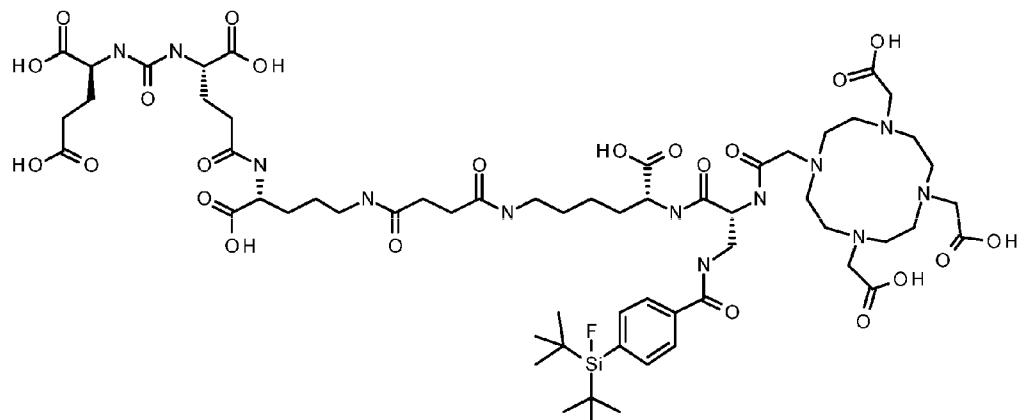


5

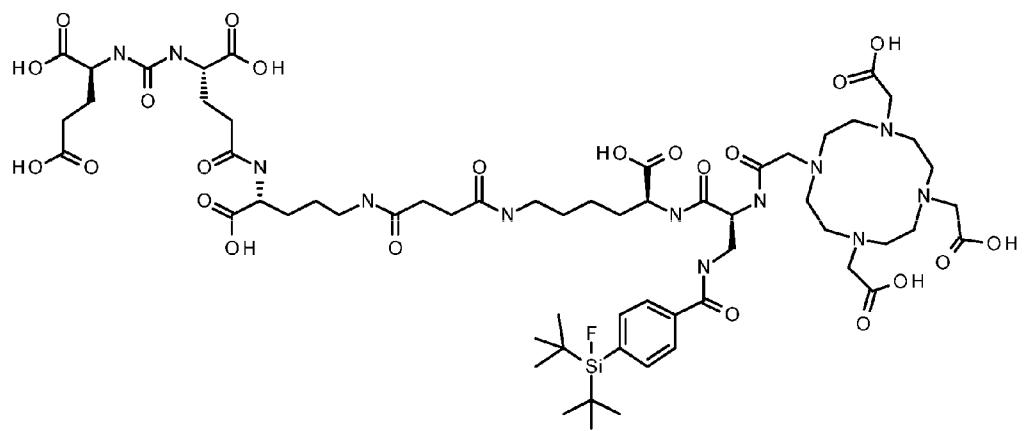
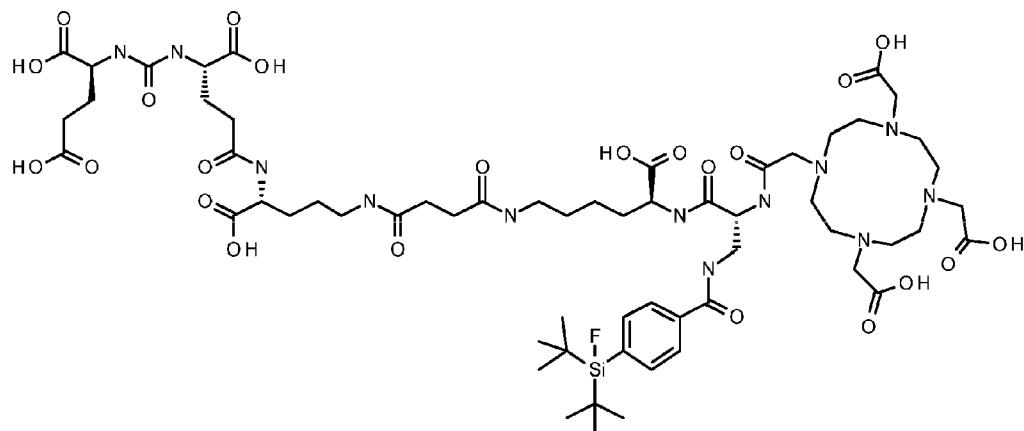
## PSMA-SIFA 10

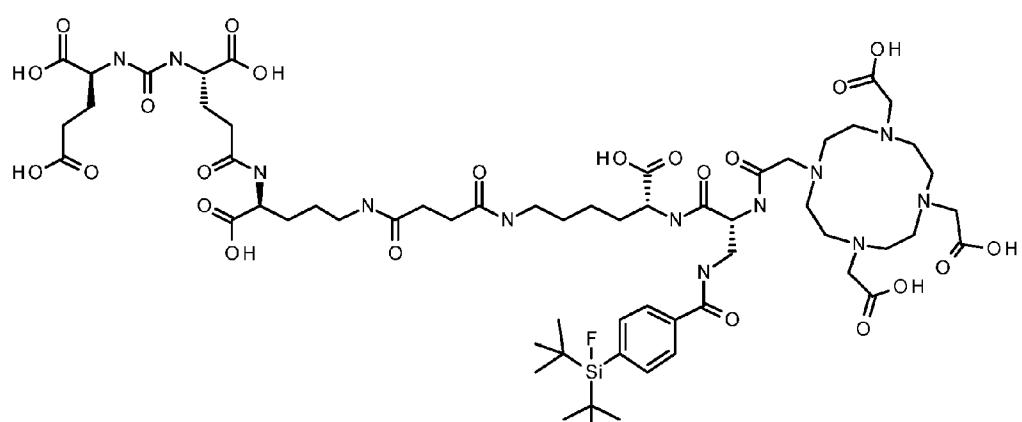
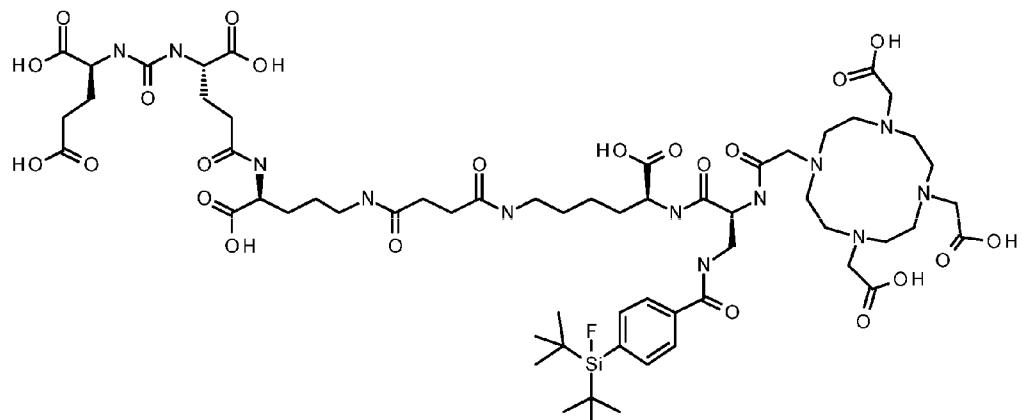


y sus isómeros:

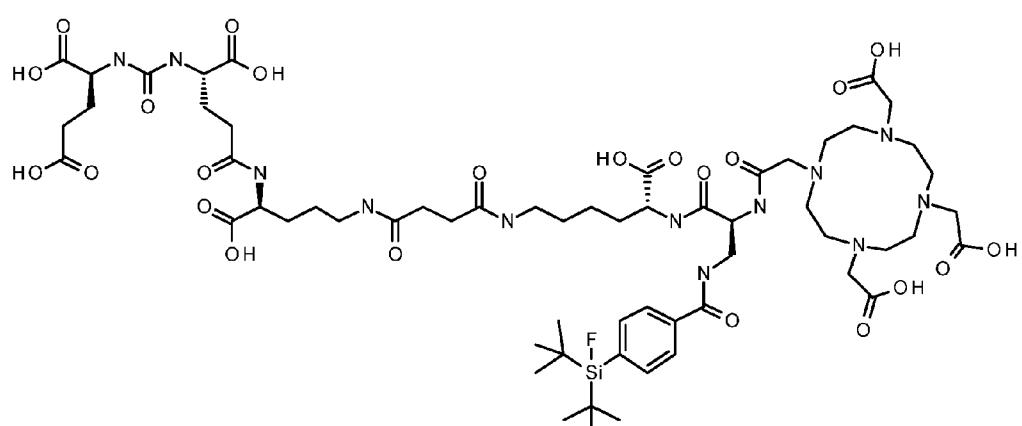
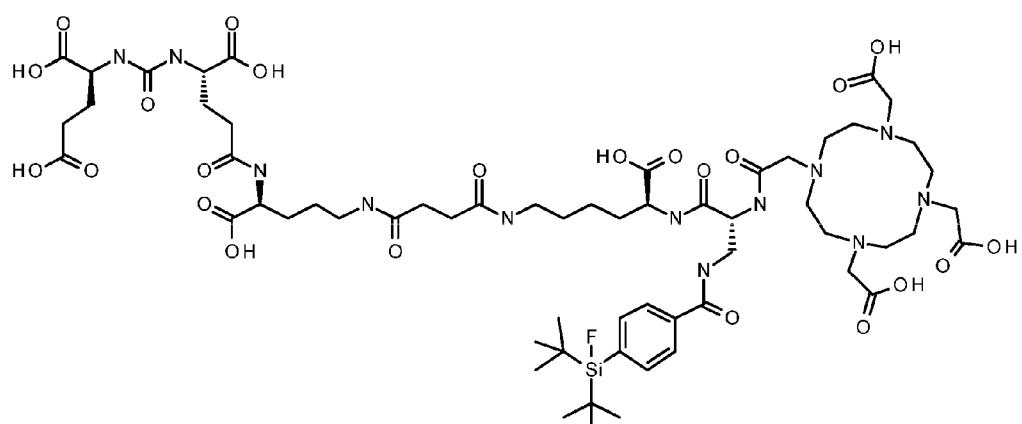


5

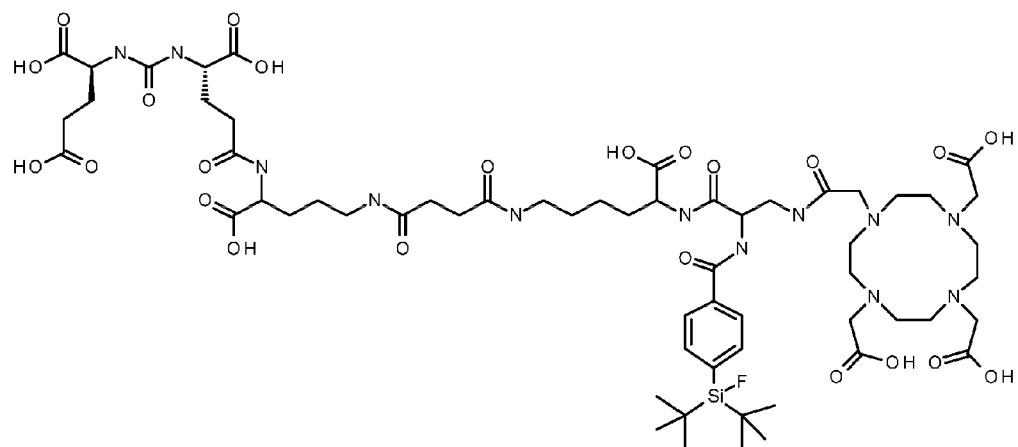




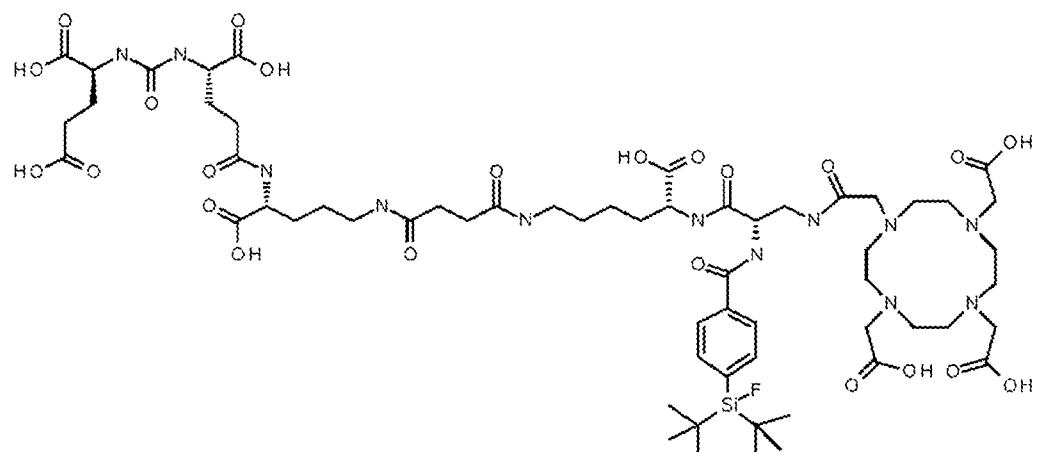
5



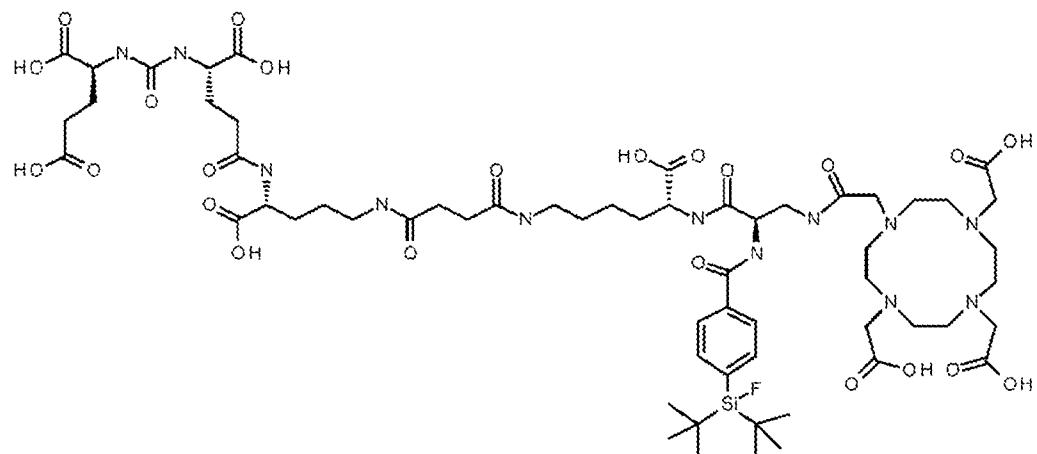
## PSMA-SIFA 11

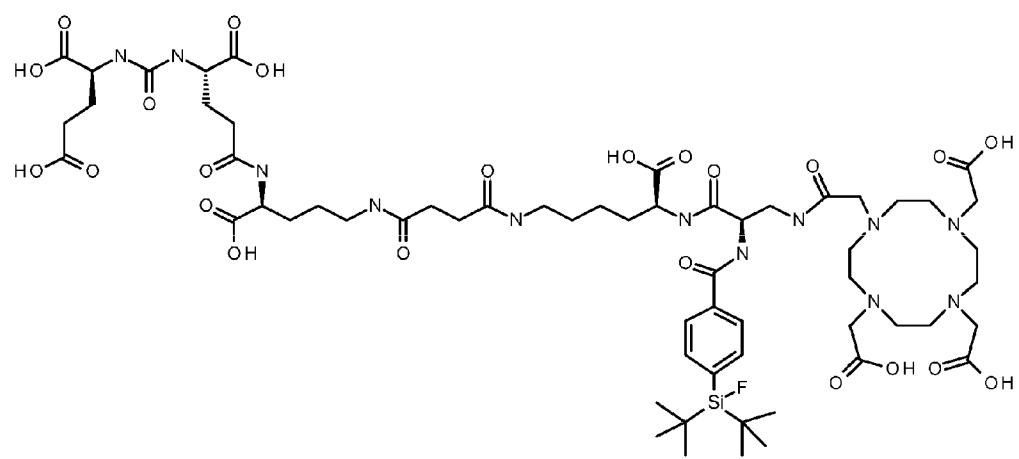
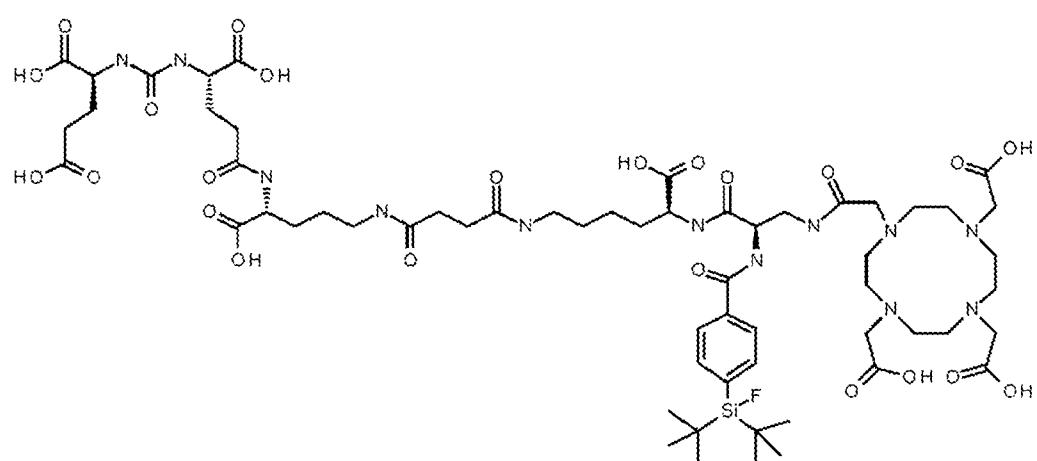
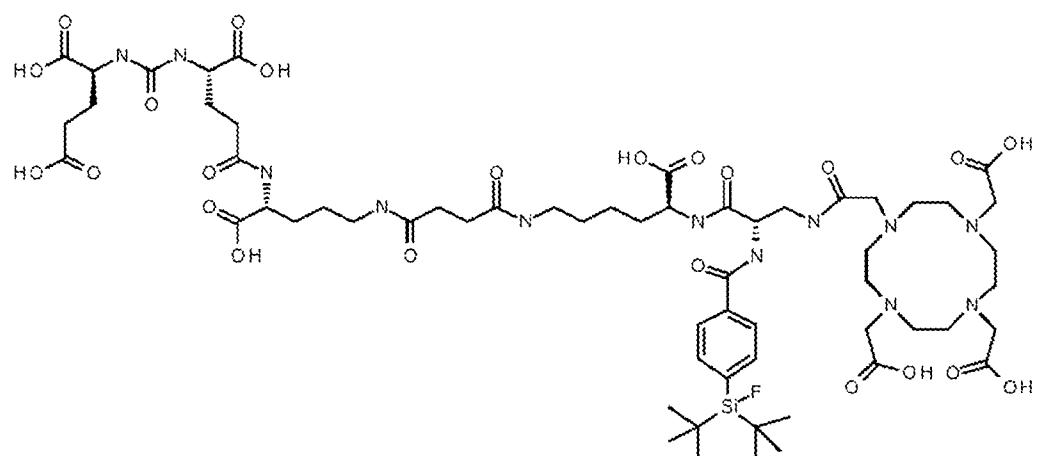


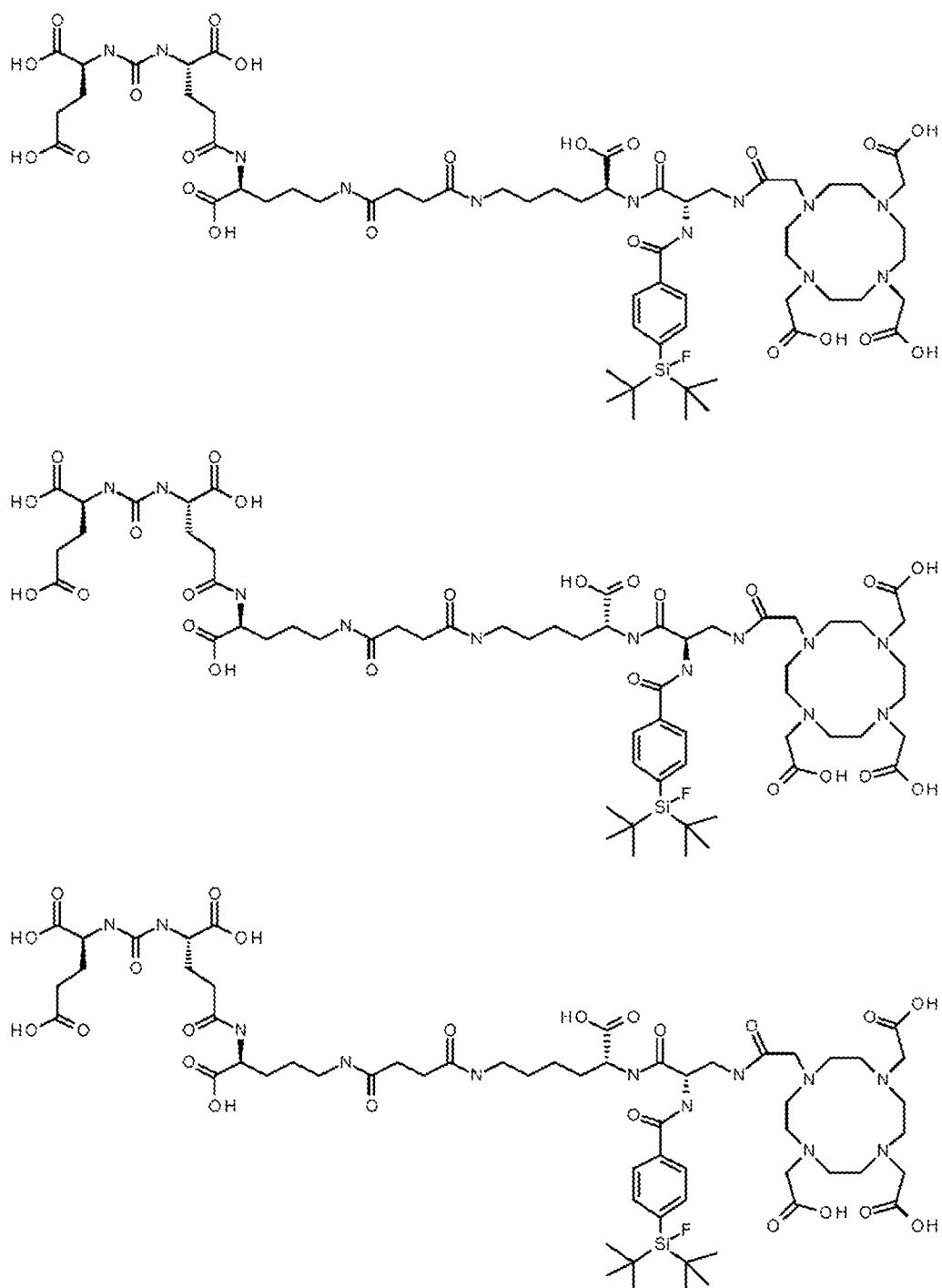
y sus isómeros:



5







5

Los esquemas de marcaje para estos compuestos son como se definen aquí anteriormente.

- 10 También se proporciona una composición farmacéutica que comprende o consiste en uno o más conjugados o compuestos de la descripción como se describe aquí anteriormente.
- 15 También se proporciona una composición de diagnóstico que comprende o consiste en uno o más conjugados o compuestos de la descripción como se describe aquí anteriormente.
- 20 También se proporciona una composición terapéutica que comprende o consiste en uno o más conjugados o compuestos de la descripción como se describe aquí anteriormente.
- La composición farmacéutica puede comprender además vehículos, excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de vehículos, excipientes y/o diluyentes farmacéuticos adecuados son bien conocidos en la técnica, e incluyen disoluciones salinas amortiguadas con fosfato, agua, emulsiones, tales como emulsiones

de aceite/agua, diversos tipos de agentes humectantes, disoluciones estériles, etc. Las composiciones que comprenden dichos vehículos se pueden formular mediante métodos convencionales bien conocidos. Estas composiciones farmacéuticas pueden administrarse al sujeto en una dosis adecuada. La administración de las composiciones adecuadas puede efectuarse de diferentes maneras, por ejemplo mediante administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, tópica, intradérmica, intranasal o intrabronquial. Se prefiere particularmente que dicha administración se realice mediante inyección y/o administración, por ejemplo, en un sitio del páncreas o en una arteria cerebral o directamente en el tejido cerebral. Las composiciones también pueden administrarse directamente al sitio diana, por ejemplo mediante administración biolítica a un sitio diana externo o interno, como el páncreas o el cerebro. La pauta posológica se determinará por el médico tratante y factores clínicos. Como es bien sabido en las técnicas médicas, las dosis para cada paciente dependen de muchos factores, incluidos el tamaño del paciente, la superficie corporal, la edad, el compuesto particular que se va a administrar, el sexo, el momento y la vía de administración, la salud general, y otros medicamentos que se administren simultáneamente. La materia farmacéuticamente activa puede estar presente en cantidades entre 0,1 ng y 10 mg/kg de peso corporal por dosis; sin embargo, se prevén dosis inferiores o superiores a este intervalo ejemplar, especialmente considerando los factores antes mencionados.

También se proporcionan uno o más compuestos de la descripción como se describe aquí anteriormente para uso en medicina.

20 Los usos preferidos en medicina son en medicina nuclear, tal como en obtención de imágenes de diagnóstico nuclear, también llamadas obtención de imágenes moleculares nucleares, y/o radioterapia dirigida de enfermedades asociadas con una sobreexpresión, preferiblemente de PSMA en el tejido enfermo.

25 También se proporciona un compuesto de la descripción como se define aquí anteriormente para uso en un método de diagnóstico y/o estadificación del cáncer, preferiblemente cáncer de próstata. El cáncer de próstata no es el único cáncer que expresa PSMA. Los cánceres no prostáticos que demuestran la expresión de PSMA incluyen el carcinoma de mama, pulmón, colorrectal y de células renales. Por lo tanto, cualquier compuesto descrito aquí que tenga un resto de unión a PSMA se puede utilizar en el diagnóstico, la obtención de imágenes o el tratamiento de un cáncer que tenga expresión de PSMA.

30 35 Las indicaciones preferidas son la detección o estadificación del cáncer, tal como, pero sin limitarse a, gliomas de alto grado, cáncer de pulmón y especialmente cáncer de próstata y cáncer de próstata metastásico, la detección de enfermedad metastásica en pacientes con cáncer de próstata primario de riesgo intermedio a alto, y la detección de sitios metastásicos, incluso con valores bajos de PSA sérico en pacientes con cáncer de próstata bioquímicamente recurrente. Otra indicación preferida es la obtención de imágenes y visualización de la neoangiogénesis.

40 En cuanto a las indicaciones médicas para someter al paciente a terapia, especialmente radioterapia, el cáncer es una indicación preferida. El cáncer de próstata es una indicación especialmente preferida.

45 50 También se proporciona un conjugado o compuesto de la descripción como se define aquí anteriormente, para uso en un método de diagnóstico y/o estadificación del cáncer, preferiblemente cáncer de próstata.

Las Figuras ilustran:

45 **Figura 1:**

50 Correlación ejemplar de la determinación de la unión de nueve sustancias de referencia a la seroalbúmina humana (OriginPro 2016G)

55 **Figura 2:**

55 Imagen de PET representativa (proyección de máxima intensidad, marco dorsal) de  $^{68}\text{Ga-}\text{nat}\text{F-5}$  en un ratón SCID portador de tumor LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE ( $n = 4$ ). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. La posición del tumor se indica mediante una flecha.

60 **Figura 3:**

60 Imagen de PET representativa (proyección de máxima intensidad, marco dorsal) de  $^{68}\text{Ga-}\text{nat}\text{F-6}$  en un ratón SCID portador de tumor LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE ( $n = 4$ ). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. La posición del tumor se indica mediante una flecha.

65 **Figura 4:**

5 Imágenes de PET representativas (proyección de intensidad máxima, marco dorsal) de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -7 y  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -7 coinyectados con PMPA (8 mg/kg) en ratones SCID portadores de tumores LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados del barrido de PET sin bloqueo. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE (n = 2). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. Las posiciones de los tumores se indican mediante flechas.

10 **Figura 5:**

15 Curvas de actividad frente al tiempo (TAC, gráfico logarítmico) en % ID/ml derivadas de datos de PET dinámica (tiempo de adquisición de 90 min, reconstrucción 3D OSEM) en la combinación de sangre (corazón), músculo, riñones, hígado y xenoinjerto de tumor LNCaP de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -7 en un ratón SCID portador de tumor LNCaP.

20 **Figura 6:**

25 Imágenes de PET representativas (proyección de máxima intensidad, marco dorsal) de  $^{18}\text{F}$ -7 (con quelato libre) en ratones SCID portadores de tumores LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados del barrido de PET sin bloqueo. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE (n = 3). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. Las posiciones de los tumores se indican mediante flechas.

30 **Figura 7:**

25 Curvas de actividad frente al tiempo (TAC, gráfico logarítmico) en % ID/ml derivadas de datos de PET dinámica (tiempo de adquisición de 90 min, reconstrucción 3D OSEM) en la combinación de sangre (corazón), músculo, riñones, hígado y xenoinjerto de tumor LNCaP de  $^{18}\text{F}$ -7 (con quelato libre) en un ratón SCID portador de tumor LNCaP.

35 **Figura 8:**

30 Biodistribución (en %ID/g) de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -7 (barras grises) y  $^{18}\text{F}$ -7 (con quelato libre) (barras blancas) a 1 hora p.i. en ratones SCID portadores de tumores LNCaP. Los datos se expresan como media  $\pm$  SD (n=3).

35 **Figura 9:**

35 Imágenes de PET representativas (proyección de intensidad máxima, marco dorsal) de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -8 y  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -8 coinyectados con PMPA (8 mg/kg) en ratones SCID portadores de tumores LNCaP (1 h i.p., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados del barrido de PET sin bloqueo. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE (n = 2). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. Las posiciones de los tumores se indican mediante flechas.

40 **Figura 10:**

45 Curvas de actividad frente al tiempo (TAC, gráfico logarítmico) en % ID/ml derivadas de datos de PET dinámica (tiempo de adquisición de 90 min, reconstrucción 3D OSEM) en la combinación de sangre (corazón), músculo, riñones, hígado y xenoinjerto de tumor LNCaP de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -8 en un ratón SCID portador de tumor LNCaP.

50 **Figura 11:**

50 Imágenes de PET representativas (proyección de máxima intensidad, marco dorsal) de  $^{18}\text{F}$ -8 (quielato libre) y  $^{18}\text{F}$ -8 (quielato libre) coinyectados con PMPA (8 mg/kg) en ratones SCID portadores de tumores LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados del barrido de PET sin bloqueo. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE (n = 3). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. Las posiciones de los tumores se indican mediante flechas. Tenga en cuenta la diferente escala (0-10 a la izquierda; 0-20 a la derecha)

55 **Figura 12:**

60 Curvas de actividad frente al tiempo (TAC, gráfico logarítmico) en % ID/ml derivadas de datos de PET dinámica (tiempo de adquisición de 90 min, reconstrucción 3D OSEM) en la combinación de sangre (corazón), músculo, riñones, hígado y xenoinjerto de tumor LNCaP de  $^{18}\text{F}$ -8 en un ratón SCID portador de tumor LNCaP.

65 **Figura 13:**

Biodistribución (en %ID/g) de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -8 (quelato libre) (barras grises) y  $^{18}\text{F}$ -8 (barras blancas) a 1 hora p.i. en ratones SCID portadores de tumores LNCaP. Los datos se expresan como media  $\pm$  SD (n=3).

**Figura 14:**

Imágenes de PET representativas (proyección de intensidad máxima, marco dorsal) de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -9 (quelato libre) y  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -9 (quelato libre) coinyectados con PMPA (8 mg/kg) en ratones SCID portadores de tumores LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados del barrido de PET sin bloqueo. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE (n = 3). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. Las posiciones de los tumores se indican mediante flechas.

**Figura 15:**

Curvas de actividad frente al tiempo (TAC, gráfico logarítmico) en % ID/ml derivadas de datos de PET dinámica (tiempo de adquisición de 90 min, reconstrucción 3D OSEM) en la combinación de sangre (corazón), músculo, riñones, hígado y xenoinjerto de tumor LNCaP de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -9 en un ratón SCID portador de tumor LNCaP.

**Figura 16:**

Imágenes de PET representativas (proyección de máxima intensidad, marco dorsal) de  $^{18}\text{F}$ -9 (quelato libre) y  $^{18}\text{F}$ -9 (quelato libre) coinyectados con PMPA (8 mg/kg) en ratones SCID portadores de tumores LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados del barrido de PET sin bloqueo. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE (n = 4). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. Las posiciones de los tumores se indican mediante flechas.

**Figura 17:**

Curvas de actividad frente al tiempo (TAC, gráfico logarítmico) en % ID/ml derivadas de datos de PET dinámica (tiempo de adquisición de 90 min, reconstrucción 3D OSEM) en la combinación de sangre (corazón), músculo, riñones, hígado y xenoinjerto de tumor LNCaP de  $^{18}\text{F}$ -9 (quelato libre) en un ratón SCID portador de tumor LNCaP.

**Figura 18:**

Biodistribución (en %ID/g) de  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -9 (barras grises) y  $^{18}\text{F}$ -9 (quelato libre) (barras blancas) a 1 hora p.i. en ratones SCID portadores de tumores LNCaP. Los datos se expresan como media  $\pm$  SD (n=3).

**Figura 19:**

Imágenes de PET representativas (proyección de intensidad máxima, marco dorsal) de  $^{18}\text{F-}^{nat}\text{Ga}$ -7 (quelato libre) y  $^{18}\text{F-}^{nat}\text{Ga}$ -7 (quelato libre) coinyectados con PMPA (8 mg/kg) en ratones SCID portadores de tumores LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados del barrido de PET sin bloqueo. Los datos se expresan como media  $\pm$  DE (n = 3). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. Las posiciones de los tumores se indican mediante flechas.

**Figura 20:**

Biodistribución (en %ID/g) de  $^{18}\text{F-}^{nat}\text{Ga}$ -7 (quelato libre) (barras blancas), en comparación con el compuesto estructuralmente idéntico  $^{68}\text{Ga-}^{nat}\text{F}$  -7 (quelato libre) (barras grises) a 1 hora p.i. en ratones SCID portadores de tumores LNCaP. Los datos se expresan como media  $\pm$  SD (n=3).

**Figura 21:**

La imagen de la izquierda muestra la proyección de máxima intensidad (MIR) de PET de un sujeto con biodistribución normal (sin lesiones tumorales detectables). Las imágenes se adquirieron 76 minutos después de la inyección de 272 MBq de PSMA-SIFA3 marcado con 18F (7). La Figura 21 a la derecha muestra la proyección de intensidad máxima (MIP) de PET de un sujeto con enfermedad moderadamente avanzada que presenta múltiples lesiones tumorales con una alta relación lesión a fondo. Las imágenes se adquirieron 102 minutos después de la inyección de 312 MBq de PSMA-SIFA3 marcado con 18F (7).

**Figura 22:**

es una representación gráfica de la Tabla 6

**Figura 23:**

es una representación gráfica de la Tabla 7

**Figura 24:**

5 es una representación gráfica de la Tabla 8

**Figura 25:**

10 es una representación gráfica de la Tabla 9

**Figura 26:**

15 muestra: Imágenes MIR (A) y transaxial (B-D) de un paciente de 70 años con recidiva bioquímica 1,5 años después de prostatectomía radical (Gleason 8, pT2c, pN1). Se presenta una única lesión típica de cáncer de próstata de 5 mm de diámetro en la pelvis derecha con alta captación de PSMA-SiFA3 marcado con 18F (7). La naturaleza maligna de la lesión se verificó mediante histopatología.

**Figura 27:**

20 Conjunto de imágenes de un paciente de 80 años con cáncer de próstata progresivo avanzado resistente a la castración (PSA 66,4 ng/ml). Las imágenes muestran una alta captación de PSMA-SiFA3 marcado con 18F (7) en diferentes clases de lesiones de cáncer de próstata (tumor local, metástasis de ganglios linfáticos, metástasis óseas, metástasis hepáticas). Las lesiones demostradas son tan pequeñas como 2 mm (las flechas indican lesiones tumorales representativas, no todas).

**Figura 28:**

30 muestra una investigación de prueba de concepto de un trazador de PET basado en un quelante sustituido con SiFA marcado con <sup>68</sup>Ga.

**Figura 29:**

35 Imágenes de PET representativas (proyección de máxima intensidad, marco dorsal) de <sup>18</sup>F-<sup>nat</sup>Lu-rh-7 en ratones SCID portadores de tumores LNCaP (1 h p.i., tiempo de adquisición 15 min) y cuantificación de ROI de órganos seleccionados del barrido de PET sin bloqueo. Los datos se expresan como media ± DE (n = 3). %ID/ml = %dosis inyectada por ml. Las posiciones de los tumores se indican mediante flechas.

**Figura 30:**

40 Curvas de actividad frente al tiempo (TAC, gráfico logarítmico) en % ID/ml derivadas de datos de PET dinámica (tiempo de adquisición de 90 min, reconstrucción 3D OSEM) en la combinación de sangre (corazón), músculo, riñones, hígado y xenoinjerto de tumor LNCaP de <sup>18</sup>F-<sup>nat</sup>Lu-rh-7 en un ratón SCID portador de tumor LNCaP.

**Figura 31:**

45 Biodistribución (en %ID/g) de <sup>177</sup>Lu-<sup>nat</sup>F-7, <sup>177</sup>Lu-<sup>nat</sup>F-8 y <sup>177</sup>Lu-<sup>nat</sup>F-10 a las 24 horas p.i. en ratones SCID portadores de tumores LNCaP. Los datos se expresan como media ± DE (n = 4).

**Figura 32:**

50 Biodistribución (en %ID/g) de <sup>177</sup>Lu-<sup>nat</sup>F-10 a las 1 hora y 24 h p.i. en ratones SCID portadores de tumores LNCaP. Los datos se expresan como media ± DE (n = 4).

**Figura 33:**

55 Biodistribución comparativa (en %ID/g) de ligandos de rhPSMA establecidos y nuevos a las 24 horas p.i. en ratones SCID portadores de tumores LNCaP. Los datos se expresan como media ± SD (n = 4-5).

**Figura 34:**

60 Biodistribución (en %ID/g) de <sup>177</sup>Lu-<sup>nat</sup>F-10 y <sup>68</sup>Ga-<sup>nat</sup>F-10 a 1 hora p.i. en ratones SCID portadores de tumores LNCaP. Los datos se expresan como media ± DE (n = 4).

**Ejemplo 1: Material y métodos**

**General**

5 El Fmoc-(9-fluorenilmetoxicarbonil-) y todos los demás análogos de aminoácidos protegidos se adquirieron en Bachem (Bubendorf, Suiza) o Iris Biotech (Marktredwitz, Alemania). La resina de cloruro de trítilo poliestireno (TCP) se obtuvo de PepChem (Tübingen, Alemania). Chematech (Dijon, Francia) suministró los quelantes DOTAGA-anhídrido y NOTA. El quelante TRAP (ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-tris[metilen(2-carboxietil)fosfínico]) se sintetizó como se describió anteriormente (Notni et al., Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 16, 7174-85 (2010)). La síntesis del aceptor de fluoruro de silicio SIFA-ácido benzoíco se realizó según un procedimiento publicado previamente (Iovkova et al., Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany) 15, 2140-7 (2009)). Todos los disolventes necesarios y otros reactivos orgánicos se adquirieron de Alfa Aesar (Karlsruhe, Alemania), Sigma-Aldrich (Múnich, Alemania) o VWR (Darmstadt, Alemania). La síntesis en fase sólida de los péptidos se llevó a cabo mediante operación manual utilizando un agitador de jeringa Intelli-Mixer (Neolab, Heidelberg, Alemania). Se realizó cromatografía de alta presión de fase inversa analítica y preparativa (RP-HPLC) 10 utilizando sistemas de gradiente Shimadzu (Shimadzu Deutschland GmbH, Neufahrn, Alemania), cada uno equipado con un detector UV/Vis SPD-20A (220 nm, 254 nm). Se utilizó una columna Nucleosil 100 C18 (125 × 4,6 mm, tamaño de partícula de 5 µm) (CS GmbH, Langerwehe, Alemania) para medidas analíticas a un caudal de 1 ml/min. En el texto se citan tanto los gradientes específicos como los tiempos de retención correspondientes  $t_R$ . La purificación por HPLC preparativa se realizó con una columna Multospher 100 RP 18 (250 × 10 mm, tamaño 15 de partícula de 5 µm) (CS GmbH, Langerwehe, Alemania) a un caudal constante de 5 ml/min. Se realizó una radio RP-HPLC analítica y preparativa utilizando una columna Nucleosil 100 C18 (5 µm, 125 × 4,0 mm) (CS GmbH, Langerwehe, Alemania). Los eluyentes para todas las operaciones de HPLC fueron agua (disolvente A) y acetonaítrilo (disolvente B), conteniendo ambos 0,1% de ácido trifluoroacético. Los espectros de masas de 20 ionización por electropulverización, para la caracterización de las sustancias, se adquirieron en un espectrómetro de masas expression<sup>L</sup> CMS (Advion Ltd., Harlow, Reino Unido). La radiactividad se detectó mediante la conexión de la salida del fotómetro UV a un contador de centelleo de tipo pocillo NaI(Tl) de EG&G Ortec (Múnich, Alemania). La cromatografía de permeación en gel (GPC) se realizó en Sephadex GP-10 (100 g, tamaño de lecho aprox. 30×3 cm) con agua como eluyente, separando el eluato en fracciones de 20 ml. Los espectros de RMN se registraron 25 en espectrómetros Bruker AVHD-300 o AVHD-400 a 300 K. Los valores de pH se midieron con un pH-metro SevenEasy (Mettler Toledo, Gießen, Alemania).

**Protocolos de síntesis****1) Síntesis de péptidos en fase sólida siguiendo la estrategia Fmoc****35 Carga de resina de TCP**

40 La carga de la resina de cloruro de trítilo poliestireno (TCP) con un aminoácido protegido con Fmoc (AA) se llevó a cabo agitando una disolución de la resina de TCP (1,95 mmol/g) y Fmoc-AA-OH (1,5 eq.) en DCM anhídrido con DIPEA (4,5 eq.) a temperatura ambiente durante 2 h. El cloruro de trítilo restante se encaperguzó mediante adición de metanol (2 ml/g de resina) durante 15 min. Posteriormente, la resina se filtró y se lavó con DCM (2 × 5 ml/g de resina), DMF (2 × 5 ml/g de resina), metanol (5 ml/g de resina), y se secó a vacío. La carga final / de Fmoc-AA-OH 45 se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$l \left[ \frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right] = \frac{(m_2 - m_1) \times 1000}{(M_{\text{W}} - M_{\text{HCl}}) m_2}$$

45  $m_2$  = masa de resina cargada [g]

50  $m_1$  = masa de resina descargada [g]

$M_{\text{W}}$  = peso molecular de AA [g/mol]

$M_{\text{HCl}}$  = peso molecular de HCl [g/mol]

**55 Formación de péptidos en resina**

60 El Fmoc-AA-OH protegido de cadena lateral respectivo (1,5 eq.) se disolvió en DMF (8 ml/g de resina) y se preactivó añadiendo TBTU (1,5 eq.), HOBt (1,5 eq.) y DIPEA (4,5 eq.). La preactivación de SIFA-BA se realizó de forma análoga. Para los aminoácidos azido-sustituidos (2,0 eq.), se utilizaron HATU (3,0 eq.), HOAt (3,0 eq.) y DIPEA (6,0 eq.). Despues de la activación durante 15 minutos, la disolución se añadió al péptido de amina libre unido a resina, TCP-AA-NH<sub>2</sub>, y se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Posteriormente, la resina se lavó con DMF (6 × 5 ml/g de resina), y después de la desprotección de Fmoc se acopló el siguiente aminoácido de forma análoga.

**Desprotección de Fmoc en resina**

65

El Fmoc-péptido unido a resina se trató con piperidina al 20% en DMF (v/v, 8 ml/g de resina) durante 5 min, y posteriormente durante 15 min. Después, la resina se lavó a fondo con DMF (8 × 5 ml/g de resina).

#### Desprotección de Dde en resina

El péptido protegido con Dde (1,0 eq.) se disolvió en una disolución de monohidrato de hidrazina al 2% en DMF (v/v, 5 ml/g de resina), y se agitó durante 15 min. En el caso de los grupos Fmoc presentes, la desprotección de Dde se realizó añadiendo una disolución de imidazol (0,46 g), hidrocloruro de hidroxilamina (0,63 g) en NMP (2,5 ml) y DMF (0,5 ml) durante 3 h a temperatura ambiente. Después de la desprotección, la resina se lavó con DMF (6 × 5 ml/g de resina).

#### Desprotección de Alloc en resina

El grupo protector aliloxi se eliminó mediante adición de triisopropilsilano (TIPS) (50,0 eq.) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) ( $Pd(PPh_3)_4$ ) (0,3 eq.) disueltos en DCM (6 ml). Después de 1,5 h a temperatura ambiente, la resina se lavó con DCM (6 × 5 ml/g de resina). *Desprotección de tBu/Boc*

La eliminación de los grupos protectores tBu/tBoc se llevó a cabo disolviendo el producto bruto en TFA y agitando durante 40 minutos a temperatura ambiente. Después de eliminar el TFA bajo una corriente de nitrógeno, el residuo se disolvió en una mezcla de terc-butanol y agua. Después de la liofilización, se obtuvo el péptido bruto.

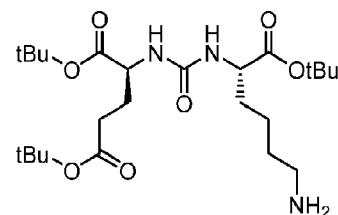
#### Escisión de péptido de la resina

a) Conservación de grupos protectores lábiles a ácido: El péptido unido a resina se disolvió en una mezcla de DCM/TFE/AcOH (v/v/v; 6/3/1, 8 ml/g de resina), y se agitó durante 30 min. La disolución que contenía el péptido completamente protegido se separó por filtración, y la resina se trató con otra porción de la disolución de escisión durante 30 minutos. Ambas fracciones se combinaron, y el ácido acético se eliminó a presión reducida añadiendo sucesivamente tolueno y agua. Después de la liofilización del agua restante, se obtuvo el péptido bruto totalmente protegido.

b) Desprotección de todos los grupos protectores lábiles a ácido: El péptido unido a resina totalmente protegido se disolvió en una mezcla de TFA/TIPS/agua (v/v/v; 95/2,5/2,5), y se agitó durante 30 minutos. La disolución se separó por filtración, y la resina se trató de la misma manera durante otros 30 minutos. Ambos filtrados se combinaron y se concentraron bajo una corriente de nitrógeno. Después de disolver el residuo en una mezcla de terc-butanol y agua, y posterior liofilización, se obtuvo el péptido bruto.

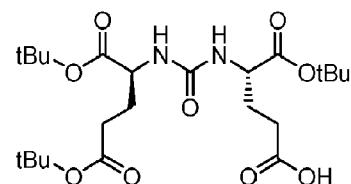
## 2) Síntesis de los motivos de unión

### Lys-urea-Glu ((tBuO)KuE(OtBu)<sub>2</sub>) (1)



La síntesis del motivo de unión Lys-urea-Glu protegido con tBu (EuK) se llevó a cabo como se describió anteriormente mediante síntesis en fase de disolución (Weineisen et al., EJNMMI research 4, 63 (2014)). El producto se obtuvo como un sólido ceroso (91,5%). HPLC (10 a 90% B en 15 min):  $t_R = 12,6$  min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{24}H_{45}N_3O_7$ ): 487,6 encontrado:  $m/z = 488,3 [M+H]^+$ , 510,3  $[M+Na]^+$ .

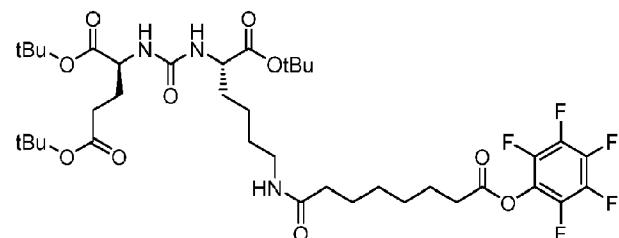
### Glu-urea-Glu ((tBuO)EuE(OtBu)<sub>2</sub>) (2)



El motivo de unión Glu-urea-Glu protegido con tBu (EuE) se sintetizó según un procedimiento publicado previamente (Weineisen et al., EJNMMI research 4, 63 (2014)). El producto se obtuvo como un sólido higroscópico

(84%). HPLC (10% a 90% B en 15 min):  $t_R = 11,3$  min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{23}H_{49}N_2O_9$ ): 488,3 encontrado:  $m/z = 489,4$   $[M+H]^+$ , 516,4  $[M+Na]^+$ .

### PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)<sub>2</sub> (3)

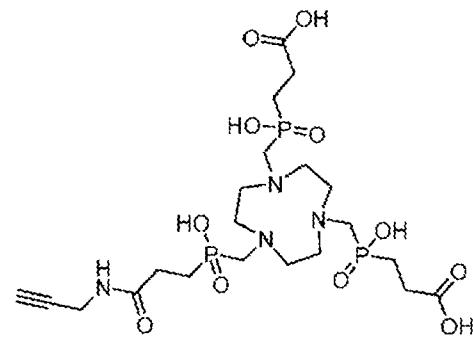


La conjugación de EuK con el espaciador de ácido subérico se realizó como se describió anteriormente (Weineisen et al., EJNMMI research 4, 63 (2014)). El producto se obtuvo como un aceite incoloro (72%). HPLC (10 a 90% B en 15 min):  $t_R$  = 15,5 min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{38}H_{56}F_5N_3O_{10}$ ): 809,4 encontrado:  $m/z$  = 810,6  $[M+H]^+$ , 832,4  $[M+Na]^+$ .

### Conjugación del resto EuK-sub (3) al péptido

15 El péptido desprotegido N-terminal (1,0 eq.) se añadió a una disolución de 3 (1,2 eq.) en DMF, y se añadió TEA (8 eq.). Después de agitar la disolución durante 2 h a temperatura ambiente, el DMF se eliminó a vacío. Para la escisión de los ésteres de tBu, se añadió TFA, y la disolución se agitó durante 45 minutos a temperatura ambiente. Después de eliminar el TFA bajo una corriente de nitrógeno, el producto bruto se purificó por RP-HPLC.

### 20 3) Síntesis de propargil-TRAP (4)



25 La síntesis de propargil-TRAP se llevó a cabo como se describió anteriormente (Reich et al., Chemical communications (Cambridge, Inglaterra) 53, 2586-2589(2017)). La purificación final se realizó mediante HPLC preparativa, obteniéndose 60,2 mg (82,4  $\mu$ mol, 46 %) de propargil-TRAP como un sólido incoloro. HPLC (2 a 40% B en 20 min):  $t_R$  = 6,0 min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{21}H_{39}N_4O_{11}P_3$ ): 616,5 encontrado: m/z = 617,5 [M+H]<sup>+</sup>.

30  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 300 K)  $\delta$  = 1,96-2,08 (m, 6H, C(O)-CH<sub>2</sub>), 2,46-2,55 (m, 2H, P<sup>B</sup>-CH<sub>2</sub>-C), 2,59-2,70 (m, 4H, P<sup>A</sup>-CH<sub>2</sub>-C), 3,36 (d, 2H,  $^2J_{\text{PH}} = 6$  Hz, P<sup>B</sup>-CH<sub>2</sub>-N), 3,41 (d, 4H,  $^2J_{\text{PH}} = 6$  Hz, P<sup>A</sup>-CH<sub>2</sub>-N), 3,47-3,48 (m, 12H, anillos-CH<sub>2</sub>), 3,95 (d, 2H, CH<sub>2</sub>-C≡CH,  $^4J_{\text{HH}} = 3$  Hz) ppm\*.  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -RMN (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 300 K)  $\delta$  = 24,61 (d,  $^1J_{\text{PP}} = 95$  Hz, P<sup>B</sup>-C-C), 25,07 (d,  $^1J_{\text{PP}} = 94$  Hz, P<sup>A</sup>-C-C), 26,71 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 4$  Hz, P<sup>B</sup>-C-C), 27,82 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 3$  Hz, P<sup>A</sup>-C-C), 28,89 (C-C=C), 51,29 / 51,41 / 51,50 (tres anillos diferentes-C), 53,66 (d,  $^1J_{\text{PP}} = 91$  Hz, N-C-P<sup>A</sup>), 53,66 (d,  $^1J_{\text{PP}} = 90$  Hz, N-C-P<sup>B</sup>), 71,79 (C-C≡C), 79,65 (C-C≡C), 174,46 (d,  $^3J_{\text{PP}} = 14$  Hz, N(H)-C=O<sup>B</sup>), 177,24 (d,  $^3J_{\text{PP}} = 13$  Hz, C≡O<sup>A</sup>) ppm\*.  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -RMN (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 300 K)  $\delta$  = 37,99 (P<sup>A</sup>), 38,68(P<sup>B</sup>) ppm\*. \*: los índices A y B indican átomos de P y O que pertenecen al brazo lateral A no decorado y al brazo lateral B decorado, respectivamente.

### Acoplamiento de propargil-TRAP (4) al péptido

40 Para la conjugación de péptidos funcionalizados con azida a propargil-TRAP a través de la cicloadición de alquino-azida catalizada por cobre (I) se aplicó un procedimiento desarrollado previamente (Reich et al., Chemical communications (Cambridge, Inglaterra) 53, 2586-2589 (2017)). Brevemente, propargil-TRAP (1,0 eq.) se disolvió en agua (disolución 40 mM), y se combinó con una disolución del péptido (1,1 eq.) en una mezcla 1:1 (v/v) de tBuOH y agua. Posteriormente, se añadió una disolución de ascorbato de sodio (0,5 M, 50 eq.) en agua. Para iniciar la reacción, se añadió una disolución acuosa de  $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,05 M, 1,2 eq.), lo que dio como resultado un precipitado marrón que se disolvió, después de agitar, en una disolución verde transparente. Para la desmetalización de TRAP, se añadió una disolución acuosa de ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-triacético

45

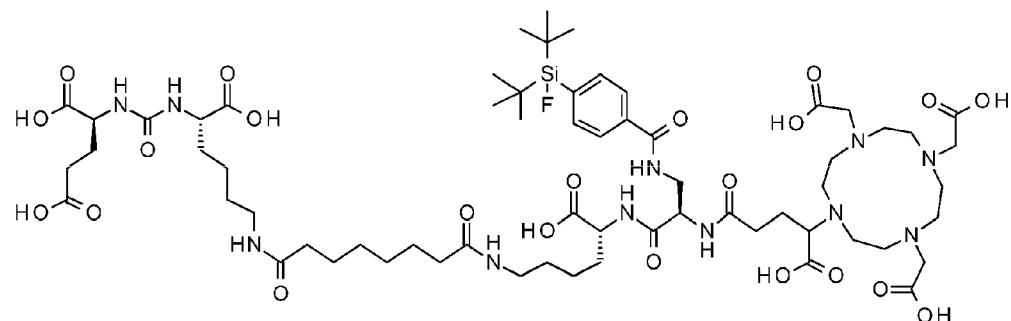
(NOTA, 8 mM, 12 eq.), y el pH se ajustó a 2,2 con HCl 1 M ac. Después de 1 hora a 60 °C, o 48 horas a temperatura ambiente, la mezcla se sometió directamente a purificación por HPLC preparativa.

#### 4) Conjugación de DOTAGA

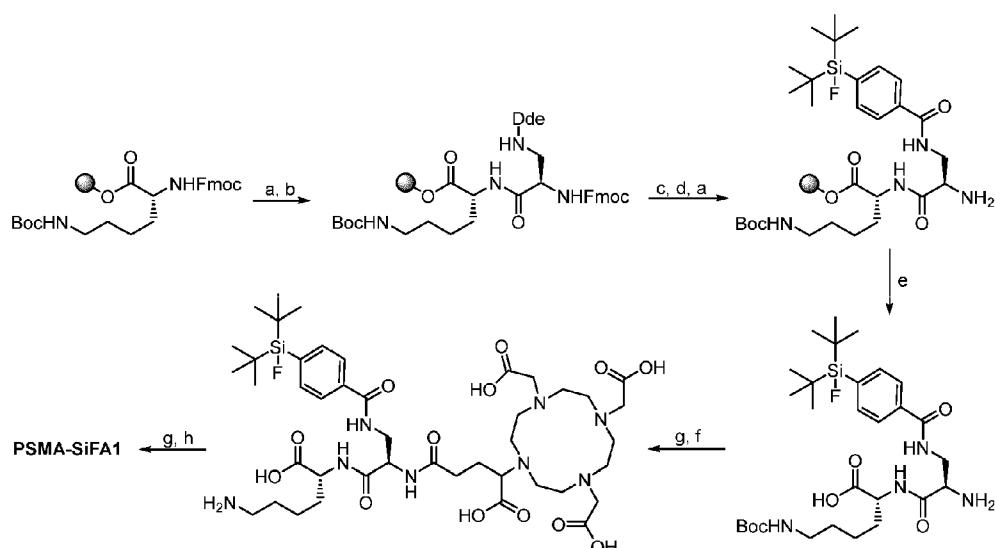
La condensación de péptidos y el respectivo quelante DOTAGA-anhídrido se describe en varias publicaciones, y se resume a continuación: El péptido desprotegido N-terminal (1,0 eq.) se disolvió junto con DOTAGA-anhídrido (1,5 eq.) y DIPEA (10,0 eq.) en DMF seca. Después de agitar la mezcla de reacción durante la noche, DMF se eliminó a vacío, obteniéndose el producto bruto.

## 5) Síntesis de inhibidores de PSMA-SIFA basados en EuK

### **PSMA-SIFA1 (5)**

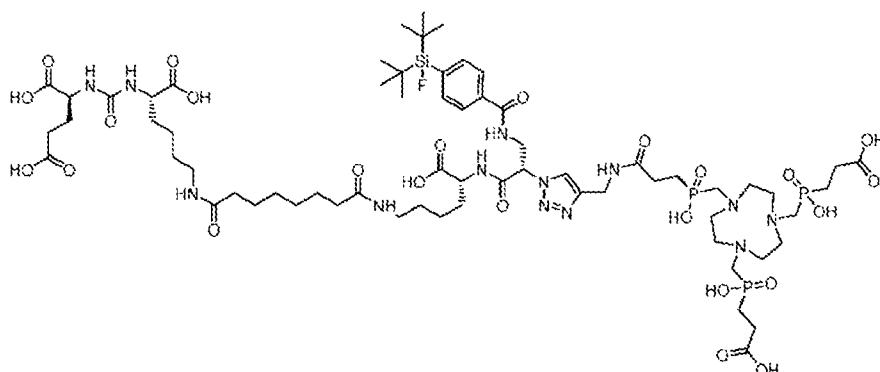


PSMA-SIFA1 se sintetizó según la síntesis de péptidos en fase sólida Fmoc estándar (SPPS) en una resina de cloruro de trítilo poliestireno (TCP), aplicando los métodos mencionados anteriormente. Brevemente, el Fmoc-D-Lys(Boc) unido a resina se desprotegió de Fmoc con piperidina al 20% en DMF, y el Fmoc-D-Dap(Dde)-OH (2,0 eq.) se conjugó aplicando HOBr (2,0 eq.), TBTU (2,0 eq.) y DIPEA (6,0 eq.) en DMF. Después de la desprotección de Dde ortogonal con imidazol e hidrolcoruro de hidroxilamina en una mezcla de NMP y DMF, SIFA-BA (1,5 eq.) se conjugó de forma análoga. La posterior desprotección de Fmoc y la escisión suave de la resina con TFE y AcOH en DCM produjeron la cadena principal del péptido protegido con Boc. La condensación de DOTAGA-anhídrido (1,5 eq.) se realizó añadiendo DIPEA (10 eq.) en DMF. Después de la desprotección de Boc en TFA, se añadió el resto PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)<sub>2</sub> (1,2 eq.) en una mezcla de TEA (8 eq.) y DMF. La escisión final de los ésteres de tBu en TFA, y la purificación por RP-HPLC, produjo PSMA-SIFA1 (70%) como un sólido incoloro. HPLC (10 a 90% B en 15 min):  $t_R$  = 9,1 min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{63}H_{102}FN_{11}O_{22}Si$ ): 1411,7 encontrado: m/z = 1412,3 [M+H]<sup>+</sup>, 706,8 [M+2H]<sup>2+</sup>.

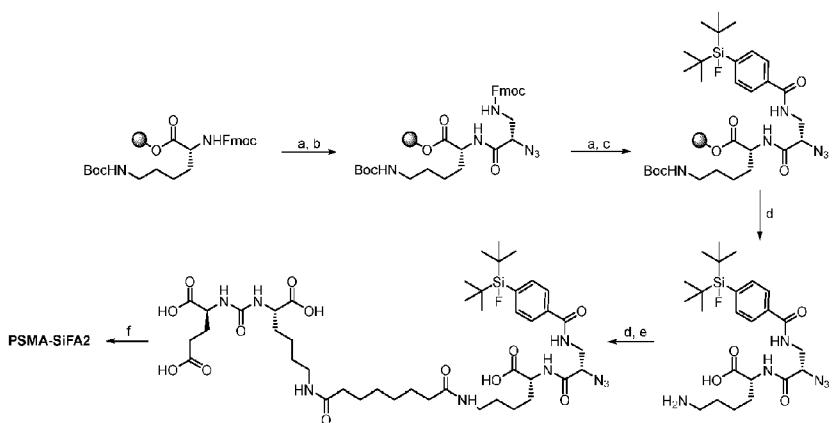


**Esquema 1:** Síntesis de PSMA-SIFA1: a) piperidina al 20%, (DMF); b) Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, HOBt, TBTU, DIPEA, (DMF); c) imidazol, hidrocloruro de hidroxilamina, (NMP, DMF); d) SIFA-BA, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); e) TFE, AcOH, (DCM); f) DOTAGA-anhídrido, DIPEA, (DMF); g) TFA; h) PfpO-Sub-(tBuO)-KuE(ObBu)<sub>2</sub>, TEA, (DMF).

35 **PSMA-SIFA2 (6)**



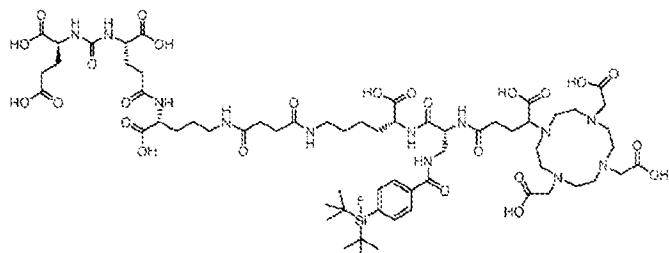
La síntesis de PSMA-SIFA2 se llevó a cabo aplicando los métodos y procedimientos generales mencionados anteriormente. En resumen, el Fmoc-D-Lys(Boc)-OH unido a resina se desprotegió de Fmoc con piperidina al 20% en DMF, y se conjugó a N<sub>3</sub>-L-Dap(Fmoc)-OH (2,0 eq.) con HATU (3,0 eq.), HOAt (3,0 eq.) y DIPEA (6,0 eq.) en DMF. Despues de la escisión del grupo Fmoc, se añadió SIFA-BA (1,5 eq.) con HOBr (1,5 eq.), TBTU (1,5 eq.) y DIPEA (4,5 eq.) en DMF. La escisión posterior de la resina con TFA produjo la cadena principal del péptido completamente desprotegido. Para la conjugación del resto de EuK, se añadió PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)<sub>2</sub> (1,2 eq.) en una mezcla de TEA (8 eq.) y DMF. La escisión de los ésteres de tBu se realizó añadiendo TFA. En una etapa final, el péptido purificado (1,1 eq.) se hizo reaccionar con propargil-TRAP (1,0 eq.) en una cicloadición de alquino-azida catalizada por cobre (I), como se mencionó anteriormente. Despues de la purificación por RP-HPLC, PSMA-SIFA2 (4%) se obtuvo como un sólido incoloro. HPLC (10 a 90% B en 15 min): t<sub>R</sub> = 8,5 min. Masa monoisotópica calculada (C<sub>65</sub>H<sub>109</sub>FN<sub>13</sub>O<sub>24</sub>P<sub>3</sub>Si): 1595,7 encontrado: m/z = 1596,5 [M+H]<sup>+</sup>, 799,1 [M+2H]<sup>2+</sup>.



Esquema 2: Síntesis de PSMA-SIFA2: a) piperidina al 20%, (DMF); b) N<sub>3</sub>-L-Dap(Fmoc)-OH, HATU, HOAt, DIPEA, (DMF); c) SIFA-BA, HOBr, TBTU, DIPEA (DMF); d) TFA; e) PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)<sub>2</sub>, TEA, (DMF); f) propargil-TRAP, Cu(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, ascorbato de sodio (tBuOH, H<sub>2</sub>O).

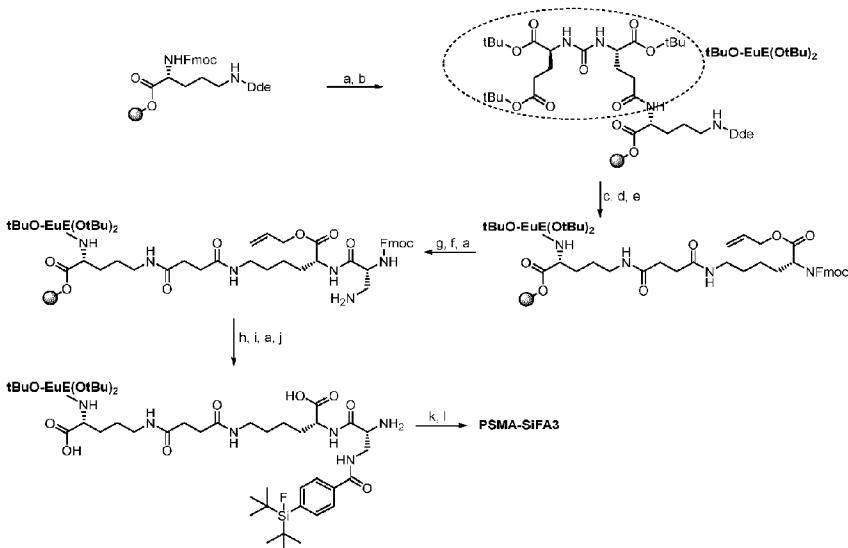
## 20 6) Síntesis de inhibidores de PSMA-SIFA basados en EuE

### PSMA-SIFA3 (7)



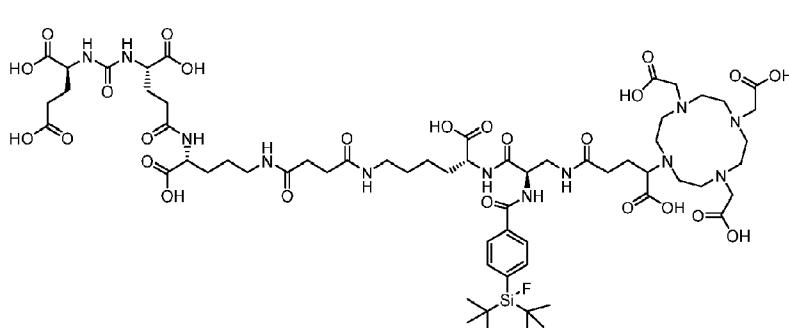
25 PSMA-SIFA3 se sintetizó aplicando el protocolo estándar de Fmoc-SPPS descrito anteriormente. Brevemente, el Fmoc-D-Orn(Dde)-OH unido a resina se desprotegió de Fmoc con piperidina al 20% en DMF, y (tBuO)EuE(OtBu)<sub>2</sub> (2,0 eq.) se conjugó con HOBr (2,0 eq.), TBTU (2,0 eq.) y DIPEA (6,0 eq.) en DMF. Despues de la escisión del grupo Dde con una mezcla de hidrazina al 2% en DMF, se añadió una disolución de anhídrido succínico (7,0 eq.) y DIPEA (7,0 eq.) en DMF. La conjugación de Fmoc-D-Lys-OAll·HCl (1,5 eq.) se logró añadiendo una mezcla de

HOEt (1,5 eq.), TBTU (1,5 eq.) y DIPEA (4,5 eq.) en DMF. Después de la escisión del grupo Fmoc con piperidina al 20% en DMF, la amina libre se conjugó con Fmoc-D-Dap(Dde)-OH (2,0 eq.) después de la preactivación del aminoácido en una mezcla de HOEt (2,0 eq.), TBTU (2,0 eq.) y DIPEA (6,0 eq.) en DMF. La siguiente desprotección de Dde ortogonal se realizó utilizando imidazol e hidrocloruro de hidroxilamina disueltos en una mezcla de NMP y DMF. SIFA-BA (1,5 eq.) se hizo reaccionar con la amina libre de la cadena lateral con HOEt (1,5 eq.), TBTU (1,5 eq.) y DIPEA (4,5 eq.) como reactivos de activación en DMF. El grupo protector alioxi se eliminó mediante adición de TIPS (50,0 eq.) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,3 eq.) disueltos en DCM. Después de la desprotección de Fmoc con piperidina, el péptido se escindió de la resina con preservación de los grupos protectores lábiles a ácido utilizando una mezcla de TFE y AcOH en DCM. La condensación final de DOTAGA-anhídrido (1,5 eq.) se logró con piperidina (10 eq.) en DMF. Después de la escisión de los ésteres de tBu del resto de EuE con TFA, el péptido bruto se purificó por RP-HPLC, obteniéndose PSMA-SIFA3 (24%) como un sólido incoloro. HPLC (10 a 70% B en 15 min):  $t_R = 10,4$  min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{63}H_{99}FN_{12}O_{25}Si$ ): 1470,7 encontrado: m/z = 1471,8 [M+H]<sup>+</sup>, 736,7 [M+2H]<sup>2+</sup>.

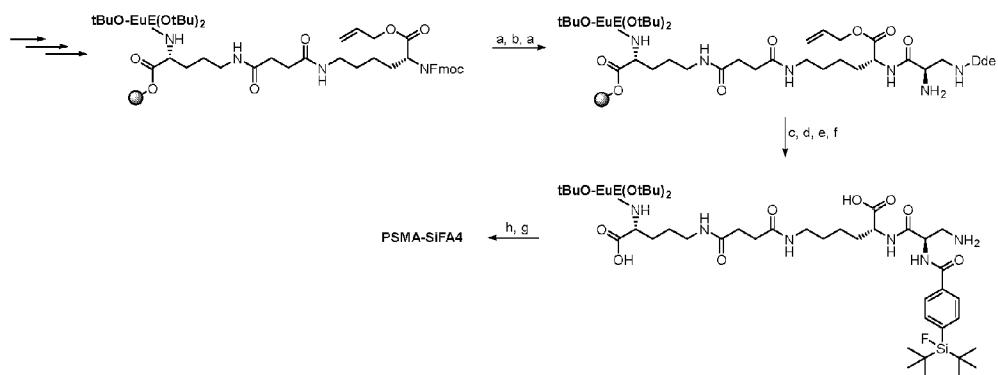


Esquema 3: Síntesis de PSMA-SIFA3: a) piperidina al 20%, (DMF); b) (tBuO)EuE(OtBu)<sub>2</sub>, HOEt, TBTU, DIPEA, (DMF); c) hidrazina al 2% (DMF); d) anhídrido succínico, DIPEA, (DMF); e) Fmoc-D-Lys-OAll-HCl, HOEt, TBTU, DIPEA, (DMF); f) Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, HOEt, TBTU, DIPEA, (DMF); g) imidazol, hidrocloruro de hidroxilamina, (NMP, DMF); h) SIFA-BA, HOEt, TBTU, DIPEA (DMF); i) TIPS, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, (DCM); j) TFE, AcOH (DCM); k) DOTAGA-anhídrido, DIPEA, (DMF); l) TFA.

#### PSMA-SIFA4 (8)



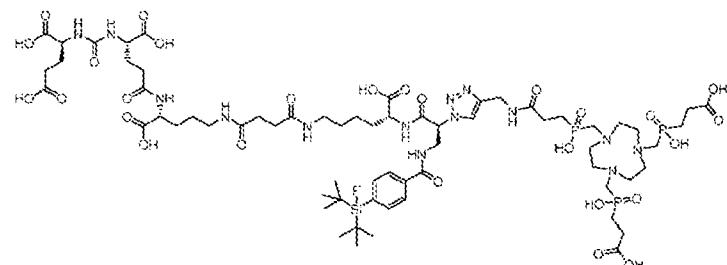
PSMA-SIFA4 se sintetizó a través de SPPS como compuesto 7, con una desviación; después de la conjugación de Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, el grupo protector de Fmoc se escindió primero con piperidina al 20% en DMF, y SIFA-BA se hizo reaccionar con el extremo N libre del péptido. El grupo Dde restante se escindió después de eliminar el grupo protector alioxi utilizando imidazol e hidrocloruro de hidroxilamina disueltos en una mezcla de NMP y DMF. Las siguientes etapas de reacción fueron idénticas a PSMA-SIFA3. Después de la purificación por RP-HPLC, se obtuvo PSMA-SIFA4 (11%) como un sólido incoloro. HPLC (10 a 70% B en 15 min):  $t_R = 10,4$  min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{63}H_{99}FN_{12}O_{25}Si$ ): 1470,7 encontrado: m/z = 1471,7 [M+H]<sup>+</sup>, 736,8 [M+2H]<sup>2+</sup>.



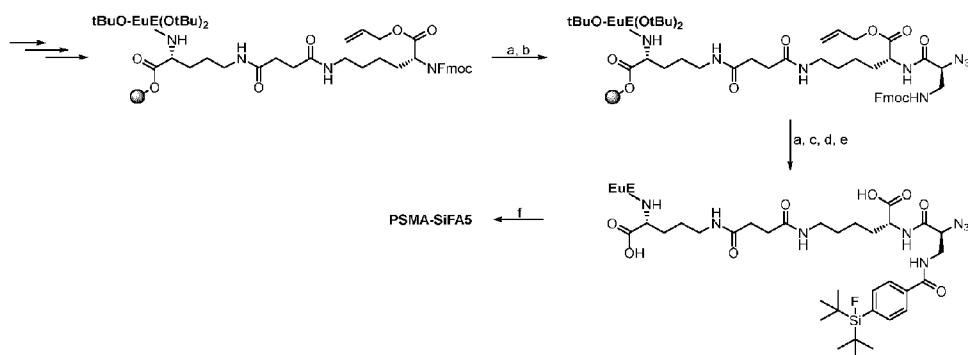
Esquema 4: Síntesis de PSMA-SIFA4: a) piperidina al 20%, (DMF); b) Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, HOBr, TBTU, DIPEA, (DMF); c) SIFA-BA, HOBr, TBTU, DIPEA (DMF); d) TIPS, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, (DCM); e) imidazol, hidrocloruro de hidroxilamina, (NMP, DMF); f) TFE, AcOH, (DCM); g) DOTAGA-anhídrido, DIPEA, (DMF); I) TFA.

5

### PSMA-SIFA5 (9)



- 10 La cadena principal peptídica de PSMA-SIFA5 se preparó de forma análoga al ligando 7 y 8. Una diferencia fue el uso de N<sub>3</sub>-L-Dap(Fmoc)-OH en lugar de Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, que era necesario para la reacción de clic final con propargil-TRAP. El aminoácido sustituido con azido (2,0 eq.) se conjugó con HATU (3,0 eq.), HOAt (3,0 eq.) y DIPEA (6,0 eq.) en DMF. Después de la desprotección de Fmoc de su cadena lateral con piperidina al 20%, SIFA-BA (1,5 eq.) se hizo reaccionar como se mencionó anteriormente. Hasta la conjugación del resto quelante, todas las etapas de reacción restantes fueron idénticas a los péptidos 7 y 8. Después de la escisión de la resina con TFA bajo desprotección concurrente de todos los grupos protectores lábiles a ácido, el conjugado EuE-azido purificado (1,1 eq.) se hizo reaccionar con propargil-TRAP (1,0 eq.) en una cicloadición de alquino-azida catalizada por cobre (I). La purificación por RP-HPLC produjo PSMA-SIFA5 (9%) como un sólido incoloro. HPLC (10 a 90% B en 15 min): t<sub>R</sub> = 8,7 min. Masa monoisotópica calculada (C<sub>65</sub>H<sub>106</sub>FN<sub>14</sub>O<sub>27</sub>P<sub>3</sub>Si): 1654,6 encontrado: m/z = 1655,6 [M+H]<sup>+</sup>, 828,4 [M+2H]<sup>2+</sup>.



- 25 Esquema 5: Síntesis de PSMA-SIFA5: a) piperidina al 20%, (DMF); b) N<sub>3</sub>-L-Dap(Fmoc)-OH, HOBr, TBTU, DIPEA, (DMF); c) SIFA-BA, HOBr, TBTU, DIPEA (DMF); d) TIPS, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, (DCM); e) TFA; f) propargil-TRAP, Cu(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, ascorbato de sodio (tBuOH, H<sub>2</sub>O).

### Experimentos de complejación

- 30 Síntesis de complejos <sup>nat</sup>Ga-TRAP: Se combinaron 500 µl de una disolución madre 2 mM del precursor de PSMA en DMSO con 750 µl de una disolución de Ga(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 2 mM en agua. La complejación se produjo instantáneamente

a temperatura ambiente. La integridad de la reacción se controló mediante RP-HPLC y posterior espectrometría de masas.

5 <sup>nat</sup>Ga-PSMA-SIFA2: *HPLC* (10 a 90% B en 15 min):  $t_R$  = 9,5 min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{65}H_{106}FGaN_{13}O_{24}P_3Si$ ): 1661,6 encontrado: m/z = 1663,9 [M+H]<sup>+</sup>, 832,6 [M+2H]<sup>2+</sup>. <sup>nat</sup>Ga-PSMA-SIFA5: *HPLC* (10 a 90% B en 15 min):  $t_R$  = 9,0 min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{65}H_{103}FGaN_{14}O_{27}P_3Si$ ): 1720,5 encontrado: m/z = 1720,8 [M+H]<sup>+</sup>, 861,1 [M+2H]<sup>2+</sup>.

10 Síntesis de complejos <sup>nat</sup>Ga-DOTAGA: Se combinaron 500  $\mu$ l de una disolución madre 2 mM del precursor de PSMA en DMSO con 1500  $\mu$ l de una disolución de  $Ga(NO_3)_3$  2 mM en agua. La mezcla de reacción se calentó durante 30 minutos a 60 °C. El resultado de la reacción se controló mediante RP-HPLC y posterior espectrometría de masas. Para el marcaje radiactivo de los ligandos [<sup>nat</sup>Ga]PSMA-SIFA con <sup>18</sup>F, el compuesto complejado se purificó mediante RP-HPLC antes de la reacción de marcaje.

15 <sup>nat</sup>Ga-PSMA-SIFA1: *HPLC* (10 a 90% B en 15 min):  $t_R$  = 9,1 min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{63}H_{99}FGaN_{11}O_{22}Si$ ): 1477,6 encontrado: m/z = 1479,5 [M+H]<sup>+</sup>, 740,2 [M+2H]<sup>2+</sup>. <sup>nat</sup>Ga-PSMA-SIFA3: *HPLC* (10 a 70% B en 15 min):  $t_R$  = 10,4 min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{63}H_{96}FGaN_{12}O_{25}Si$ ): 1536,6 encontrado: m/z = 1539,4 [M+H]<sup>+</sup>, 770,3 [M+2H]<sup>2+</sup>. <sup>nat</sup>Ga-PSMA-SIFA4: *HPLC* (10 a 70% B en 15 min): *HPLC* (10 a 70% B en 15 min):  $t_R$  = 10,4 min. Masa monoisotópica calculada ( $C_{63}H_{96}FGaN_{12}O_{25}Si$ ): 1536,6 encontrado: m/z = 1539,1 [M+H]<sup>+</sup>, 770,5 [M+2H]<sup>2+</sup>.

20 Complejación con <sup>nat</sup>Lu: Los complejos de <sup>nat</sup>Lu<sup>III</sup> correspondientes se prepararon a partir de una disolución acuosa 2 mM del inhibidor de PSMA con un exceso molar de 2,5 de LuCl<sub>3</sub> (disolución 20 mM), calentada hasta 95 °C durante 30 min. Después de enfriar, la formación del quelato de <sup>nat</sup>Lu<sup>III</sup> se confirmó mediante HPLC y MS. Las disoluciones acuosas resultantes 1 mM de los respectivos complejos de <sup>nat</sup>Lu se diluyeron entonces y se utilizaron en los estudios de IC<sub>50</sub> *in vitro* sin procesamiento adicional.

### Radiomarcaje

30 Marcaje con <sup>68</sup>Ga: El marcaje con <sup>68</sup>Ga se realizó utilizando un sistema automatizado (GallElut<sup>+</sup> de Scintomics, Alemania) como se describió anteriormente (Notni et al., EJNMMI research, 28 (2012)). Brevemente, el generador de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga con matriz de SnO<sub>2</sub> (IThemba LABS) se eluyó con HCl acuoso 1,0 M, del cual una fracción (1,25 ml) de aproximadamente 80% de la actividad (500-700 MBq) se transfirió a un vial de reacción (ALLTECH, 5 ml). El reactor se cargó antes de la elución con 2-5 nmol del respectivo conjugado quelante en una disolución acuosa de HEPES 2,7 M (conjugados DOTAGA: 900  $\mu$ l, conjugados de TRAP: 400  $\mu$ l). Después de la elución, el vial se calentó durante 5 minutos a 95 °C. La purificación se realizó haciendo pasar la mezcla de reacción sobre un cartucho de extracción en fase sólida (C 8 light, SepPak), que se purgó con agua (10 ml), y el producto se eluyó con etanol acuoso al 50% (2 ml), disolución salina amortiguada con fosfato (PBS, 1 ml), y nuevamente agua (1 ml). Después de eliminar el etanol *a vacío*, la pureza de los compuestos radiomarcados se determinó mediante radio-TLC (papel cromatográfico ITLC-SG, fase móvil: citrato trisódico 0,1 M y mezcla 1:1 (v/v) de acetato de amonio 1 M y metanol).

40 Marcaje con <sup>18</sup>F: Para el marcaje con <sup>18</sup>F, se aplicó un procedimiento previamente publicado (Wangler et al., Nat Protoc 7, 1946-55 (2012)), que se modificó ligeramente. Brevemente, se hizo pasar <sup>18</sup>F- acuoso a través de un cartucho SAX (Sep-Pak Accell Plus QMA Carbonate light), que se preacondicionó con 10 ml de agua. Después de secar con 10 ml de aire, se eliminó el agua enjuagando el cartucho con 10 ml de acetonitrilo anhídrico, seguido de 20 ml de aire. El <sup>18</sup>F se eluyó con 100  $\mu$ mol de [K<sup>+</sup>c2.2.2]OH<sup>-</sup> disuelto en 500  $\mu$ l de acetonitrilo anhídrico. Antes del marcaje, se añadieron 25  $\mu$ mol de ácido oxálico en acetonitrilo anhídrico (1 M, 25  $\mu$ l). Esta mezcla se utilizó entera o en alícuota para la fluoración de 10-25  $\mu$ mol de PSMA-SIFA (1 M en DMSO anhídrico). La mezcla de reacción resultante se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente. Para la purificación del trazador, se utilizó un cartucho Sep-Pak C18 light, preacondicionado con 10 ml de EtOH, seguido de 10 ml de H<sub>2</sub>O. La mezcla de marcaje se diluyó con 9 ml de amortiguador HEPES 0,1 M (pH 3), y se hizo pasar a través del cartucho, seguido de 10 ml de H<sub>2</sub>O. El péptido se eluyó con 500  $\mu$ l de una mezcla 4:1 (v/v) de EtOH en agua. La pureza radioquímica del compuesto marcado se determinó mediante radio RP-HPLC y radio-TLC (gel de sílice 60 RP-18 F<sub>264S</sub>, fase móvil: mezcla 3:2 (v/v) de MeCN en H<sub>2</sub>O suplementada con 10% de disolución de NaOAc 2 M y 1% de TFA).

50 Marcaje con <sup>125</sup>I: El ligando de referencia para estudios *in vitro* ([<sup>125</sup>I]-BA)KuE se preparó según un procedimiento publicado previamente (Weineisen et al., EJNMMI research, 4, 63 (2014)). Brevemente, 0,1 mg del precursor estanilado ( $SnBu_3$ -BA)(OtBu)KuE(OtBu)<sub>2</sub> se disolvieron en una disolución que contenía 20  $\mu$ l de ácido peracético, 5,0  $\mu$ l (21 MBq) de [<sup>125</sup>I]NaI (74 TBq/mmol, 3,1 GBq/ml, NaOH 40 mM, Hartmann Analytic, Braunschweig, Alemania), 20  $\mu$ l de MeCN y 10  $\mu$ l de ácido acético. La disolución de reacción se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente, se cargó en un cartucho, y se enjuagó con 10 ml de agua (cartucho C18 Sep Pak Plus, preacondicionado con 10 ml de MeOH y 10 ml de agua). Después de la elución con 2,0 ml de una mezcla 1:1 (v/v) de EtOH/MeCN, la disolución radiactiva se evaporó hasta sequedad bajo una suave corriente de nitrógeno, y se trató con 200  $\mu$ l de TFA durante 30 minutos, con posterior evaporación del TFA. El producto bruto de ([<sup>125</sup>I]-BA)KuE se purificó por RP-HPLC (20% a 40% B en 20 min):  $t_R$  = 13,0 min.

5 Marcaje con  $^{177}\text{Lu}$ : A un volumen de reacción de 10  $\mu\text{l}$  de amortiguador de  $\text{NH}_4\text{OAc}$  1,0 M pH = 5,9 se añadió 0,75 a 1,0 nmol de trazador (7,5 a 10  $\mu\text{l}$ ), 10 a 40 MBq de  $^{177}\text{LuCl}_3$  (actividad específica ( $A_s$ ) > 3000 GBq/mg, 740 MBq/ml, HCl 0,04 M, ITG, Garching, Alemania), y finalmente se completó hasta 100  $\mu\text{l}$  con agua pura de trazas (Merck, Darmstadt, Alemania). La mezcla de reacción se calentó durante 30 min a 95 °C, y la pureza radioquímica se determinó mediante radio-TLC (gel de sílice 60 RP-18 F<sub>264s</sub>, mezcla 3:2 (v/v) de MeCN en  $\text{H}_2\text{O}$  suplementada con 10% de disolución de  $\text{NaOAc}$  2 M y 1% de TFA,  $R_f$  = 0,5).

### Experimentos *in vitro*

10 **Determinación de  $IC_{50}$**

15 Las células LNCaP positivas para PSMA se cultivaron en medio Eagle modificado por Dublecco/mezcla nutricional F-12 con Glutamax-I (1:1) (Invitrogen), suplementado con 10% de suero fetal bovino y mantenido a 37 °C en una atmósfera de  $\text{CO}_2$  humidificada al 5%. Para determinar la afinidad de PSMA ( $IC_{50}$ ), las células se recolectaron 24 ± 2 horas antes del experimento, y se sembraron en placas de 24 pocillos ( $1,5 \times 10^5$  células en 1 ml/pocillo). Despues de eliminar el medio de cultivo, las células se trataron una vez con 500  $\mu\text{l}$  de HBSS (disolución salina equilibrada de Hank, Biochrom, Berlín, Alemania, con adición de 1% de seroalbúmina bovina (BSA)), y se dejaron 15 minutos en hielo para equilibrar en 200  $\mu\text{l}$  de HBSS (1% de BSA). A continuación, se añadieron 25  $\mu\text{l}$  por pocillo de disoluciones que contenían HBSS (1% de BSA, control) o el ligando respectivo en concentración creciente ( $10^{-10}$  -  $10^{-4}$  M en HBSS), con adición posterior de 25  $\mu\text{l}$  de ( $[^{125}\text{I}]$ -BA)KuE (2,0 nM) en HBSS (1% de BSA). Todos los experimentos se realizaron al menos tres veces para cada concentración. Despues de 60 minutos de incubación en hielo, el experimento finalizó mediante la eliminación del medio y el enjuague consecutivo con 200  $\mu\text{l}$  de HBSS. Los medios de ambas etapas se combinaron en una fracción, y representan la cantidad de radioligando libre. Posteriormente, las células se lisaron con 250  $\mu\text{l}$  de NaOH 1 M, y se juntaron con los 200  $\mu\text{l}$  de HBSS de la etapa de lavado siguiente. La cuantificación del radioligando unido y libre se realizó en un contador  $\gamma$ .

### *Internalización*

30 Para los estudios de internalización, las células LNCaP se recolectaron 24 ± 2 horas antes del experimento y se sembraron en placas de 24 pocillos ( $1,25 \times 10^5$  células en 1 ml/pocillo). Despues de eliminar el medio de cultivo, las células se lavaron una vez con 500  $\mu\text{l}$  de DMEM-F12 (5% de BSA), y se dejaron equilibrar durante al menos 15 minutos a 37 °C en 200  $\mu\text{l}$  de DMEM-F12 (5% de BSA). Cada pocillo se trató con 25  $\mu\text{l}$  de DMEM-F12 (5% de BSA) o una disolución de PMPA 100  $\mu\text{M}$  para el bloqueo. A continuación, se añadieron 25  $\mu\text{l}$  del inhibidor de PSMA marcado con  $^{68}\text{Ga}/^{18}\text{F}$  (5,0 nM), y las células se incubaron a 37 °C durante 60 min. El experimento finalizó colocando la placa de 24 pocillos en hielo durante 3 min y eliminando el medio. Cada pocillo se enjuagó con 250  $\mu\text{l}$  de HBSS, y las fracciones de estas dos primeras etapas se combinaron, lo que representa la cantidad de radioligando libre. La eliminación de la actividad unida a la superficie se logró mediante la incubación de las células con 250  $\mu\text{l}$  de disolución de PMPA helada (10  $\mu\text{M}$  en PBS) durante 5 minutos y se enjuagaron nuevamente con otros 250  $\mu\text{l}$  de PBS helado. La actividad internalizada se determinó mediante la incubación de las células en 250  $\mu\text{l}$  de NaOH 1 M y la combinación con la fracción de una etapa de lavado posterior con 250  $\mu\text{l}$  de NaOH 1,0 M. Cada experimento (control y bloqueo) se realizó por triplicado. La actividad libre, unida a la superficie e internalizada se cuantificó en un contador  $\gamma$ . Todos los estudios de internalización se acompañaron de estudios de referencia utilizando ( $[^{125}\text{I}]$ -BA)KuE (c = 0,2 nM), que se realizaron de forma análoga. Los datos se corrigieron para la internalización no específica, y se normalizaron según la internalización específica observada para el compuesto de referencia radioyodado.

### *Coeficiente de reparto octanol-agua*

50 Se disolvió aproximadamente 1 MBq del trazador marcado en 1 ml de una mezcla 1:1 (por volúmenes) de disolución salina amortiguada con fosfato (PBS, pH 7,4) y n-octanol en un tubo Eppendorf. Despues de mezclar vigorosamente la suspensión durante 3 minutos a temperatura ambiente, el vial se centrifugó a 15000 g durante 3 minutos (Biofuge 15, Heraus Sepatech, Osterode, Alemania), y se midieron alícuotas de 100  $\mu\text{l}$  de ambas capas en un contador gamma. El experimento se repitió al menos seis veces.

55 **Unión de HSA**

60 Para la determinación de la unión de HSA, se utilizó una columna Chiraldak HSA (50 × 3 mm, 5  $\mu\text{m}$ , H13H-2433) a un caudal constante de 0,5 ml/min. La fase móvil (A:  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , 50 mM en agua, pH 7 y B: isopropanol) se preparó recientemente para cada experimento, y sólo se usó durante un día. La columna se mantuvo a temperatura ambiente, y cada experimento se detuvo después de la detección de la señal, para reducir el tiempo de adquisición. Todas las sustancias se disolvieron en una concentración de 0,5 mg/ml en 50% de 2-propanol y 50% de amortiguador de acetato de amonio 50 mM pH 6,9. Las sustancias de referencia elegidas muestran un intervalo de unión de HSA del 13% al 99%, ya que se asumió una amplia variedad de unión de albúmina con respecto a los péptidos. Las nueve sustancias de referencia (véase la Tabla 1) se inyectaron consecutivamente para establecer una regresión no lineal con OriginPro 2016G; véase la Figura 1.

Tabla 1 Sustancias de referencia (Yamazaki et al., Journal of pharmaceutical sciences 93, 1480-94 (2004)) utilizadas para la calibración de la columna de HSA.

| Referencia          | $t_R$ | Log $t_R$ | Lit. %HSA | Log K HSA |
|---------------------|-------|-----------|-----------|-----------|
| Alcohol p-bencílico | 2,40  | 0,38      | 13,15     | -0,82     |
| Anilina             | 2,72  | 0,43      | 14,06     | -0,79     |
| Fenol               | 3,28  | 0,52      | 20,69     | -0,59     |
| Ácido benzoico      | 4,08  | 0,61      | 34,27     | -0,29     |
| Carbamazepina       | 4,15  | 0,62      | 75,00     | 0,46      |
| p-nitrofenol        | 5,62  | 0,75      | 77,65     | 0,52      |
| Estradiol           | 8,15  | 0,91      | 94,81     | 1,19      |
| Probenecida         | 8,84  | 0,95      | 95,00     | 1,20      |
| Glibenclamida       | 29,18 | 1,47      | 99,00     | 1,69      |

5 El tiempo de retención se muestra a modo de ejemplo para un experimento realizado;  $t_R$ , tiempo de retención; Lit. HSA, valor de la bibliografía de la unión de seroalbúmina humana en [%]; Log K HAS, K logarítmica de la unión de seroalbúmina humana.

## 10 Experimentos in vivo

Todos los experimentos con animales se llevaron a cabo según las normas generales de bienestar animal en Alemania y las directrices institucionales para el cuidado y uso de animales. Para establecer xenoinjertos tumorales, se suspendieron células LNCaP ( $10^7$  células/200  $\mu$ l) en una mezcla 1:1 (v/v) de medio Eagle modificado por Dulbecco/mezcla nutricional F-12 con Glutamax-I (1:1) y Matrigel (BD Biosciences, Alemania), y se inocularon por vía subcutánea en el hombro derecho de ratones CB17-SCID de 6-8 semanas (Charles River, Sulzfeld, Alemania). Los ratones se utilizaron cuando los tumores habían crecido hasta un diámetro de 5-8 mm (3-4 semanas después de la inoculación).

## 20 Obtención de imágenes de $\mu$ PET

Los estudios de obtención de imágenes se realizaron en un sistema de PET para animales pequeños Siemens Inveon. Los datos se reconstruyeron como cuadros individuales empleando un algoritmo de maximización de expectativas de subconjuntos ordenados tridimensional (OSEM3D), seguido de un análisis de datos (cuantificación basada en ROI) utilizando el software Inveon Research Workplace. Para los estudios de PET, los ratones se anestesieron con isoflurano, y se les inyectaron 0,15-0,25 nmol (2-20 MBq) del trazador marcado con  $^{68}\text{Ga}$  o  $^{18}\text{F}$  en la vena de la cola. La obtención de imágenes dinámicas se llevó a cabo después de la inyección en la cama durante 90 minutos. Las imágenes estáticas se registraron una hora después de la inyección, con un tiempo de adquisición de 15 minutos. Para el bloqueo, se administraron 8 mg/kg de PMPA directamente antes de la inyección del trazador.

### ***Biodistribución***

35 Se inyectaron aproximadamente 2-20 MBq (0,2 nmol) de los inhibidores de PSMA marcados con  $^{68}\text{Ga}$  o  $^{18}\text{F}$  en la vena de la cola de ratones SCID CB-17 machos con tumores LNCaP, y se sacrificaron 1 hora después de la inyección ( $n = 3$ ). Se extrajeron órganos seleccionados, se pesaron, y se midieron en un contador  $\gamma$ .

## Experimentos en seres humanos

40 Se realizó una evaluación de prueba de concepto de uso en seres humanos bajo uso compasivo. El agente se aplicó de conformidad con la Ley de Medicamentos Alemana, AMG §13 2b, y de acuerdo con el organismo regulador responsable (Gobierno de Oberbayern).

45 Todos los sujetos se examinaron en un escáner Biograph mCT (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Alemania) o un escáner Biograph mMR (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Alemania). Todas los barridos de PET se adquirieron en modo 3D, con un tiempo de adquisición de 2 a 4 minutos por posición de lecho. Los datos de emisión se corrigieron por elementos aleatorios, tiempo muerto, dispersión, y atenuación, y se reconstruyeron iterativamente mediante un algoritmo de maximización de expectativas de subconjuntos ordenados (cuatro iteraciones, ocho subconjuntos), seguido de un filtro gaussiano de suavizado posterior a la reconstrucción (anchura completa de 5 mm a la mitad del máximo). Se obtuvieron imágenes de 53 sujetos con cáncer de próstata después

de la inyección de una media de 324 (intervalo 236-424) MBq de PSMA-SIFA3 marcado con  $^{18}\text{F}$  (7), a una media de 84 (intervalo 42-166) minutos después de la inyección. A 47 sujetos se les realizaron imágenes con un escáner de PET/CT, y a 6 sujetos se les realizó un escáner de PET/MR. En 33 sujetos se aplicó furosemida en el momento de la inyección del trazador, y en 20 sujetos no se administró furosemida.

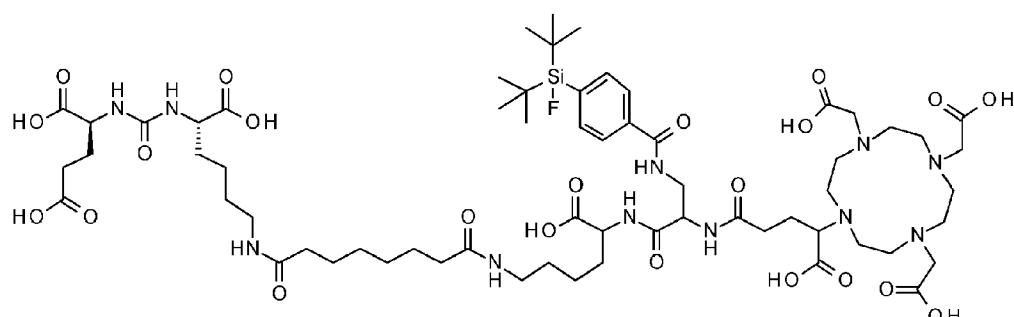
5 Se analizaron los valores de captación estandarizados medios y máximos (SUVmedio/SUVmax) de las glándulas parótidas, las glándulas submandibulares, los pulmones, el depósito sanguíneo mediastínico, el hígado, el bazo, la cabeza del páncreas, el duodeno, los riñones, la vejiga, y el hueso no enfermo. Para el cálculo del SUV, se dibujaron regiones circulares de interés alrededor de áreas con captación focalmente aumentada en cortes transaxiales, y se adaptaron automáticamente a un volumen de interés (VOI) tridimensional en un isocontorno del 50%. Se contaron las lesiones que visualmente se consideraron sugestivas de recaídas o metástasis de cáncer de próstata. Se analizaron una o dos lesiones del mismo tipo (tumor local, metástasis de ganglios linfáticos, metástasis óseas, metástasis viscerales) por paciente utilizando SUVmax y SUVmedia como se describió anteriormente. El músculo glúteo sirvió como fondo.

10

15 **Ejemplo 2: Resultados**

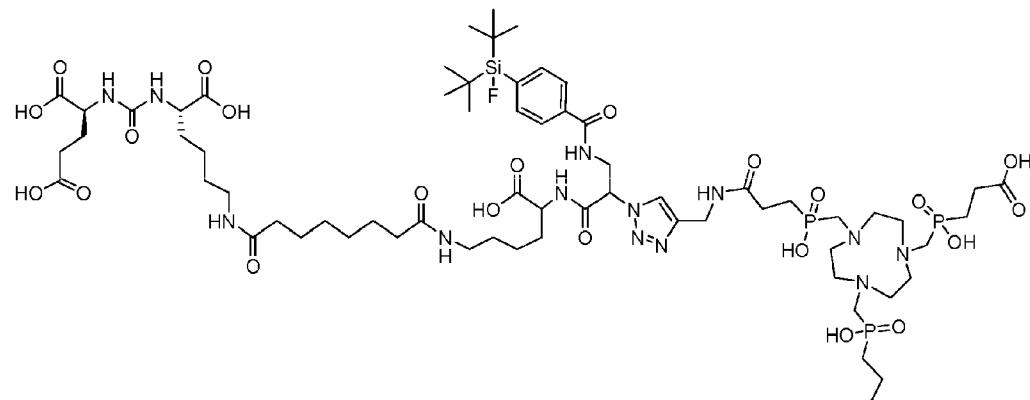
**Descripción general de los ligandos de PSMA-SIFA sintetizados**

PSMA-SIFA1 (5)

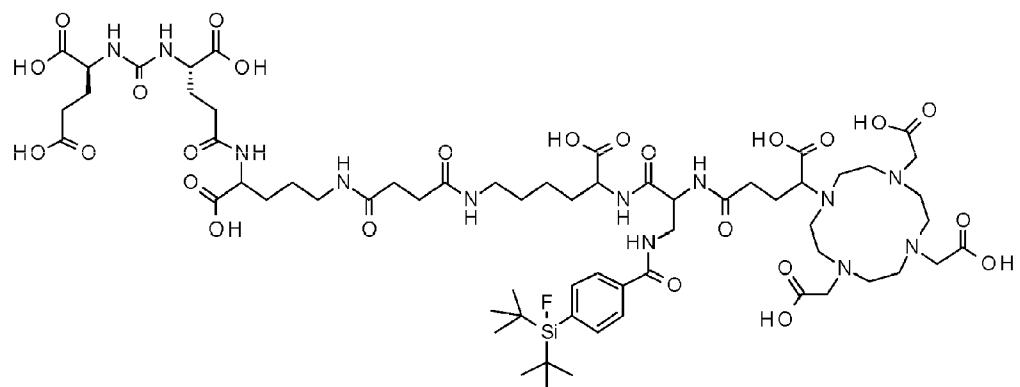


20

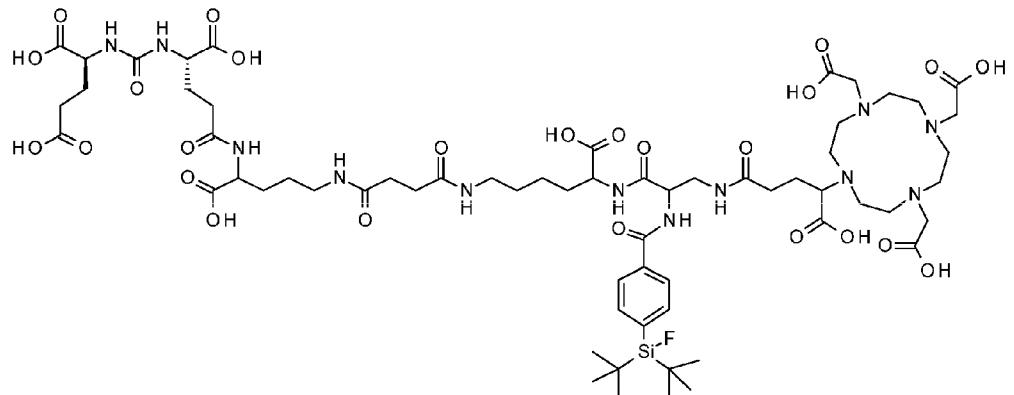
PSMA-SIFA2 (6)



PSMA-SIFA3 (7)

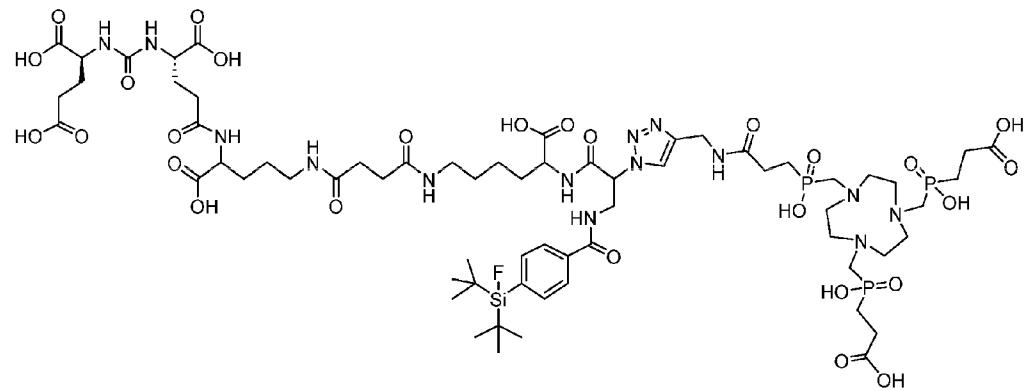


PSMA-SIFA4 (8)

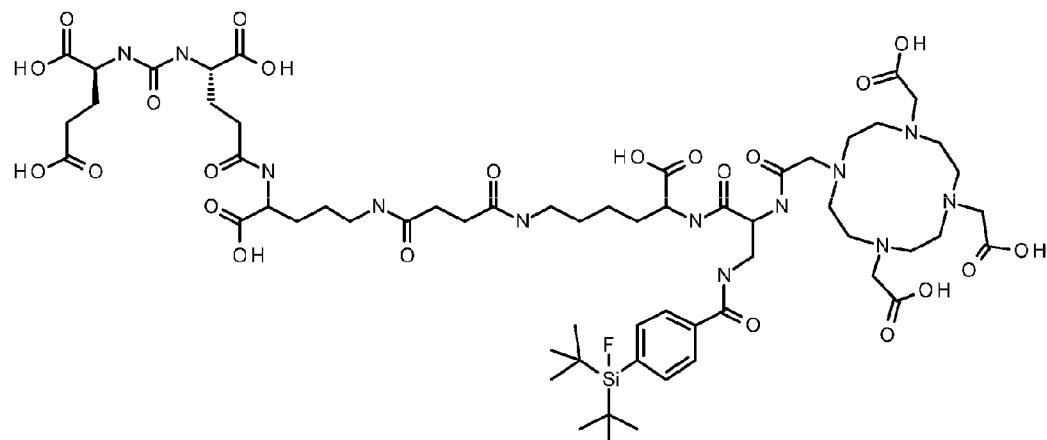


5

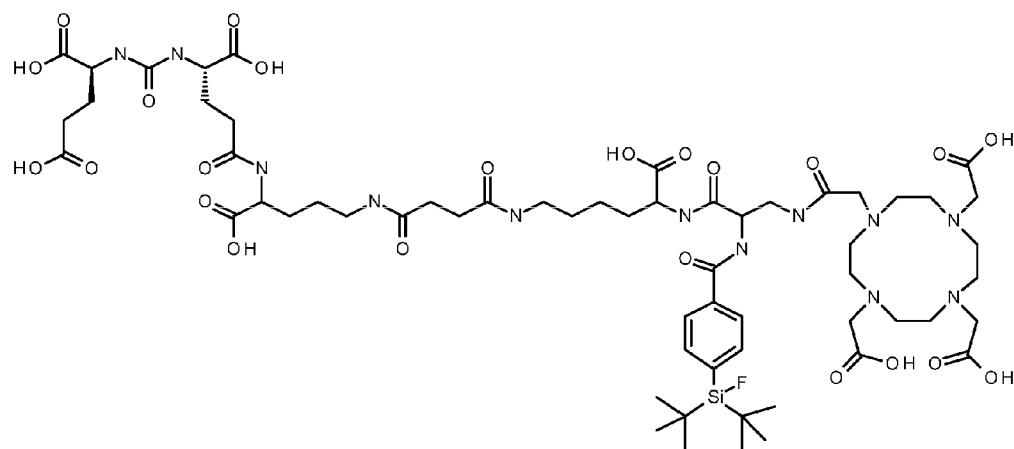
PSMA-SIFA5 (9)



PSMA-SIFA 10



PSMA-SIFA 11



## 5 Lipofilias

Los coeficientes de reparto de octanol/agua determinados ( $\log D$ ) de los compuestos marcados con  $^{68}\text{Ga}$  o  $^{18}\text{F}$  se presentan en la Tabla 2. Dentro de los inhibidores basados en EuK marcados con  $^{68}\text{Ga}$ , se encontró que el compuesto funcionalizado con TRAP (5) era más hidrófilo que 6, en el que se utilizó DOTAGA como quelante. Este resultado también se encontró para los agentes basados en EuE marcados con  $^{68}\text{Ga}$ , en los que el derivado de TRAP (9) mostró la mayor lipofilia. Todos los compuestos marcados con  $^{18}\text{F}$  mostraron hidrofilias más bajas, en comparación con los trazadores marcados con  $^{68}\text{Ga}$ .

**Tabla 2:** valores de  $\log D$  de los ligandos de PSMA-SIFA radiomarcados sintetizados ( $n = 6$ ).

| ligando | $\log D^{^{68}\text{Ga}-\text{natF-L}}$ | $\log D^{^{18}\text{F-L}}$ | $\log D^{^{177}\text{Lu}-\text{natF-L}}$ |
|---------|-----------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------|
| 5       | $-2,75 \pm 0,07$                        | n.d.                       |                                          |
| 6       | $-3,00 \pm 0,09$                        | n.d.                       |                                          |
| 7       | $-3,18 \pm 0,05$                        | $-1,98 \pm 0,04$           | $-4,20 \pm 0,09$                         |
| 8       | $-2,59 \pm 0,04$                        | $-2,25 \pm 0,07$           | $-3,75 \pm 0,06$                         |
| 9       | $-3,26 \pm 0,06$                        | $-2,23 \pm 0,07$           |                                          |
| 10      |                                         |                            | $-3,59 \pm 0,05$                         |
| 11      |                                         |                            | $-3,62 \pm 0,06$                         |

## Determinación de afinidades de PSMA

Los compuestos sintetizados que portan un motivo de unión a EuE (7, 8, 9) mostraron mayores afinidades por PSMA en comparación con los agentes basados en EuK (5, 6). Los compuestos con un quelante TRAP (6 y 9) mostraron afinidades ligeramente disminuidas, en comparación con sus análogos DOTAGA (5 y 7, respectivamente). No se observó ninguna diferencia significativa con respecto a las afinidades por PSMA entre los agentes complejados con <sup>nat</sup>Ga y el respectivo compuesto no complejado (Tabla 3).

**Tabla 3:** Afinidades de unión ( $IC_{50}$  en nM) de los ligandos PSMA-SIFA a PSMA. Las afinidades se determinaron utilizando células LNCaP (150000 células/pocillo) y ( $[^{125}\text{I}]$ -BA)KuE ( $c = 0,2$  nM) como radioligando (1 h, 4 °C, HBSS + 1% de BSA). Los datos se expresan como media ± SD ( $n = 3$ , en 3 experimentos diferentes).

| referencias: | (I-BA)KuE                                            | $IC_{50} = 7,1 \pm 2,4$ nM        |                                                      |
|--------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------|
|              | DCFPyL                                               | $IC_{50} = 12,3 \pm 1,2$ nM       |                                                      |
|              | PSMA-1007                                            | $IC_{50} = 4,2 \pm 0,5$ nM        |                                                      |
| ligando      | $IC_{50}$ [nM] <sup>nat</sup> Ga- <sup>nat</sup> F-L | $IC_{50}$ [nM] <sup>nat</sup> F-L | $IC_{50}$ [nM] <sup>nat</sup> Lu- <sup>nat</sup> F-L |
| 5            | $7,3 \pm 0,2$                                        | $6,4 \pm 0,2$                     |                                                      |
| 6            | $10,8 \pm 2,5$                                       | $8,5 \pm 1,7$                     |                                                      |
| 7            | $3,0 \pm 0,7$                                        | $3,5 \pm 0,2$                     | $3,9 \pm 0,5$                                        |
| 8            | $3,8 \pm 0,7$                                        | $2,5 \pm 0,2$                     | $3,0 \pm 0,2$                                        |
| 9            | $4,5 \pm 0,3$                                        | $4,3 \pm 0,2$                     |                                                      |
| 10           |                                                      |                                   | $2,8 \pm 0,7$                                        |
| 11           |                                                      |                                   | $4,8 \pm 0,7$                                        |

### Internalización

En analogía con las afinidades de unión, los compuestos basados en EuE (7, 8, 9) mostraron valores de internalización significativamente más altos en comparación con los péptidos que portan un motivo de unión a EuK (5, 6). Respecto a la influencia del quelante, TRAP demostró tener un efecto positivo sobre la internalización (5 y 9, comparado con 6 y 7 respectivamente), aunque las afinidades de unión fueron mayores para los análogos de DOTAGA (Tabla 3). Todos los compuestos marcados con <sup>18</sup>F mostraron valores de internalización más altos, en comparación con los trazadores marcados con <sup>68</sup>Ga respectivos (Tabla 4).

**Tabla 4:** Resumen de la actividad internalizada ( $c = 0,5$  nM) a 1 hora como % del ligando de referencia ( $[^{125}\text{I}]$ -BA)KuE ( $c = 0,2$  nM), determinado en células LNCaP (37 °C, DMEM F12 + 5% de BSA, 125.000 células/pocillo). Los datos se corrigen para la unión no específica (10 µmol de PMPA), y se expresan como media ± SD ( $n = 3$ ).

| referencias: [%] | DCFPyL                                                   | $118 \pm 5$                           |                                                           |
|------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
|                  | PSMA-1007                                                | $118 \pm 4$                           |                                                           |
| ligando          | Internalización [%] <sup>68</sup> Ga- <sup>nat</sup> F-L | Internalización [%] <sup>18</sup> F-L | Internalización [%] <sup>177</sup> Lu- <sup>nat</sup> F-L |
| 5                | $33,0 \pm 2,1$                                           | n.d.                                  |                                                           |
| 6                | $43,0 \pm 3,4$                                           | n.d.                                  |                                                           |
| 7                | $126,0 \pm 13,1$                                         | $164,8 \pm 4,5$                       | $185,8 \pm 4,5$                                           |
| 8                | $98,2 \pm 12,4$                                          | $130,3 \pm 5,5$                       | $165,9 \pm 8,5$                                           |
| 9                | $176,9 \pm 11,7$                                         | $211,6 \pm 5,3$                       |                                                           |
| 10               |                                                          |                                       | $184,1 \pm 16$                                            |
| 11               |                                                          |                                       | $134,5 \pm 18,5$                                          |

### Unión de seroalbúmina humana

**Tabla 5:** Unión de HSA de los ligandos PSMA-SIFA sintetizados, determinada en una columna Chiraldak HSA (50 x 3 mm, 5 µm, H13H-2433).

| ligando | Unión de HSA [%] <sup>nat</sup> Ga- <sup>nat</sup> F-L | Unión de HSA [%] <sup>nat</sup> Lu- <sup>nat</sup> F-L |
|---------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 7       | 95,7                                                   | 97,7                                                   |
| 8       | 96,5                                                   | 97,7                                                   |
| 9       | 95,1                                                   |                                                        |
| 10      |                                                        | 94,0                                                   |
| 11      |                                                        | 92,4                                                   |

5

**Obtención de imágenes de animales pequeños por PET y biodistribución**

1.  $[^{68}\text{Ga}]^{[\text{nat}]\text{F}}\text{PSMA-SIFA1}$  ( $^{68}\text{Ga-}^{[\text{nat}]\text{F-5}}$ )

10 Véase la Figura 2.

2.  $[^{68}\text{Ga}]^{[\text{nat}]\text{F}}\text{PSMA-SIFA2}$  ( $^{68}\text{Ga-}^{[\text{nat}]\text{F-6}}$ )

15 Véase la Figura 3.

15 3. PSMA-SIFA3 (7)

(a) obtención de imágenes estáticas de  $^{68}\text{Ga-PET}$

20 Véase la Figura 4.

b) obtención de imágenes dinámicas de  $^{68}\text{Ga-PET}$

25 Véase la Figura 5.

c) obtención de imágenes estáticas con  $^{18}\text{F-PET}$

30 Véase la Figura 6.

d) obtención de imágenes dinámicas con  $^{18}\text{F-PET}$

35 Véase la Figura 7.

e) estudios de biodistribución

35 Véase la Figura 8.

4. PSMA-SIFA4 (8)

40 (a) obtención de imágenes estáticas de  $^{68}\text{Ga-PET}$

Véase la Figura 9.

b) obtención de imágenes dinámicas de  $^{68}\text{Ga-PET}$

45 Véase la Figura 10.

c) obtención de imágenes estáticas con  $^{18}\text{F-PET}$

50 Véase la Figura 11.

d) obtención de imágenes dinámicas con  $^{18}\text{F-PET}$

55 Véase la Figura 12.

e) estudios de biodistribución

Véase la Figura 13.

5 5. PSMA-SIFA5 (9)

(a) obtención de imágenes estáticas de  $^{68}\text{Ga}$ -PET

Véase la Figura 14.

10 b) obtención de imágenes dinámicas de  $^{68}\text{Ga}$ -PET

Véase la Figura 15.

15 c) obtención de imágenes estáticas con  $^{18}\text{F}$ -PET

Véase la Figura 16.

20 d) obtención de imágenes estáticas con  $^{18}\text{F}$ -PET

Véase la Figura 17.

25 e) estudios de biodistribución

Véase la Figura 18.

25 6. Estudios de prueba de concepto de  $^{\text{nat}}\text{Ga}$ -PSMA-SIFA3 ( $^{\text{nat}}\text{Ga}$ -7)

a) obtención de imágenes estáticas con  $^{18}\text{F}$ -PET

30 Véase la Figura 19.

b) estudios de biodistribución

35 Véase la Figura 20.

35 7. Obtención de imágenes por PET de animales pequeños utilizando ligandos de Lutinium rhPSMA.

a) Obtención de imágenes estáticas por PET:  $^{18}\text{F}$ - $^{\text{nat}}\text{Lu}$ -rh-7

40 Véase la Figura 29.

b) Obtención de imágenes dinámicas por PET:  $^{18}\text{F}$ - $^{\text{nat}}\text{Lu}$ -rh-7

45 Véase la Figura 30.

c) estudios de biodistribución de  $^{177}\text{Lu}$ - $^{\text{nat}}\text{F}$ -7,  $^{177}\text{Lu}$ - $^{\text{nat}}\text{F}$ -8 y  $^{177}\text{Lu}$ - $^{\text{nat}}\text{F}$ -10 a 24 h Véase la Figura 31.

d) biodistribución de  $^{177}\text{Lu}$ - $^{\text{nat}}\text{F}$ -10 a 1 h y 24 h.

50

Véase la Figura 32.

e) Biodistribución comparativa de ligandos de rhPSMA establecidos y nuevos a las 24 h. Véase la Figura 33.

55

f) Biodistribución comparativa de  $^{177}\text{Lu}$ - $^{\text{nat}}\text{F}$ -rhPSMA-10 y  $^{68}\text{Ga}$ - $^{\text{nat}}\text{F}$ -rhPSMA-10 a 1h.

Véase la Figura 34.

60 **Biodistribución y captación de PSMA-SIFA3 (7) humano en lesiones tumorales**

60 No se observaron eventos adversos ni efectos farmacológicos clínicamente detectables.

65

La Figura 21 muestra la proyección de intensidad máxima (MIR) de la PET de un sujeto con biodistribución normal (sin lesiones tumorales detectables). Las imágenes se adquirieron 76 minutos después de la inyección de 272 MBq de PSMA-SIFA3 marcado con  $^{18}\text{F}$  (7). La Figura 21 a la derecha muestra la proyección de intensidad máxima (MIP) de PET de un sujeto con enfermedad moderadamente avanzada que presenta múltiples lesiones tumorales

con una alta relación lesión a fondo. Las imágenes se adquirieron 102 minutos después de la inyección de 312 MBq de PSMA-SIFA3 marcado con 18F (7).

5 Los parámetros de captación reflejan la expresión de fondo de PSMA para diferentes tipos de tejidos. Sólo se observó una captación significativa del radiotrazador en las glándulas salivales, los riñones, el hígado, el bazo y el duodeno. La captación en el tejido de fondo fue baja. La captación en la lesión tumoral fue sustancialmente mayor que en el tejido con baja expresión de PSMA.

10 **Tabla 6:** SUVmax promedio (izquierda) y SUVmedia (derecha) en diferentes tejidos (tejidos/órganos: n = 53, lesiones tumorales: n = 72) con su error estándar. Véase la Figura 22 para la representación gráfica.

|                       | SUVmax |      |       | SUVmedia |      |      |
|-----------------------|--------|------|-------|----------|------|------|
|                       | media  | mín. | máx.  | media    | mín. | máx. |
| fondo                 | 1,0    | 0,6  | 1,9   | 0,6      | 0,4  | 1,2  |
| combinación de sangre | 2,4    | 1,6  | 3,9   | 2,0      | 1,1  | 17,0 |
| glándula parótida     | 23,5   | 8,2  | 42,3  | 16,8     | 5,5  | 32,7 |
| glándula              |        |      |       |          |      |      |
| submandibular         | 26,7   | 10,1 | 43,8  | 19,6     | 7,0  | 29,7 |
| pulmones              | 1,0    | 0,5  | 3,1   | 0,7      | 0,3  | 2,0  |
| hígado                | 9,5    | 4,5  | 25,2  | 7,0      | 3,2  | 17,7 |
| bazo                  | 11,8   | 4,7  | 21    | 9,1      | 3,4  | 17,1 |
| páncreas              | 3,9    | 1,8  | 9,2   | 2,7      | 1,3  | 7,4  |
| duodeno               | 14,2   | 2,8  | 32,7  | 10,5     | 1,9  | 23,9 |
| hueso                 | 1,7    | 0,8  | 3,1   | 1,1      | 0,6  | 2,1  |
| riñón                 | 44,3   | 19,1 | 75,2  | 32,1     | 13,2 | 54,7 |
| vejiga                | 8,3    | 0,5  | 112,0 | 6,1      | 0,3  | 85,7 |
| lesiones tumorales    | 26,6   | 4,0  | 95,4  | 19,2     | 2,7  | 71,7 |

15 Debido a la baja de actividad de fondo, la relación SUV a fondo de los órganos y las lesiones tumorales es favorable para la obtención de imágenes clínicas. Las lesiones tumorales se muestran con alto contraste en comparación con el fondo.

20 **Tabla 7:** Relación promedio SUVmax (izquierda) y SUVmedia (derecha) con su error estándar en diferentes tejidos (tejidos/órganos: n = 53, lesiones tumorales: n = 72) con su error estándar. Véase la Figura 23 para obtener una representación gráfica.

|                            | relación SUVmax a fondo |      |      | relación SUVmedia a fondo |      |       |
|----------------------------|-------------------------|------|------|---------------------------|------|-------|
|                            | media                   | mín. | máx. | media                     | mín. | máx.  |
| combinación de sangre      | 2,5                     | 1,3  | 4,8  | 3,1                       | 1,5  | 21,3  |
| glándula parótida glándula | 24,3                    | 8,2  | 45,3 | 27,5                      | 9,2  | 54,5  |
| submandibular              | 27,8                    | 10,1 | 54,7 | 32,5                      | 11,7 | 61,8  |
| pulmones                   | 1,1                     | 0,4  | 3,3  | 1,1                       | 0,4  | 4,0   |
| hígado                     | 10,1                    | 2,9  | 42,0 | 11,7                      | 3,7  | 44,3  |
| bazo                       | 12,3                    | 4,7  | 35,0 | 14,9                      | 5,7  | 39,5  |
| páncreas                   | 4,0                     | 1,5  | 11,3 | 4,3                       | 1,9  | 10,8  |
| duodeno                    | 14,8                    | 2,8  | 31,3 | 17,3                      | 3,2  | 35,3  |
| hueso                      | 1,7                     | 0,9  | 2,9  | 1,8                       | 1,0  | 3,2   |
| riñón                      | 46,7                    | 16,9 | 98,7 | 53,8                      | 19,8 | 109,3 |

|                    | relación SUVmax a fondo |      |      | relación SUVmedia a fondo |      |      |
|--------------------|-------------------------|------|------|---------------------------|------|------|
|                    | media                   | mín. | máx. | media                     | mín. | máx. |
|                    | vejiga                  | 8,3  | 0,6  | 112,0                     | 9,8  | 0,5  |
| lesiones tumorales | 28,6                    | 5,0  | 83,4 | 31,9                      | 5,4  | 83,2 |

La captación en las lesiones tumorales y el contraste con el fondo fueron relativamente iguales entre los diferentes tipos de tumores (tumor local [n = 24], metástasis en los ganglios linfáticos [n = 23], metástasis óseas [n = 21], metástasis viscerales [n = 4]).

5

**Tabla 8:** SUVmax promedio, SUVmedia, relación SUVmax/fondo y relación SUVmedia/fondo en diferentes tipos de tumores con su error estándar. Véase la Figura 24 para obtener una representación gráfica.

| tumor local                           |  | SUVmax | relación SUVmax | SUVmedia | relación SUVmedia |      |
|---------------------------------------|--|--------|-----------------|----------|-------------------|------|
|                                       |  | media  | 26,9            | 29,6     | 19,3              | 32,4 |
|                                       |  | mín.   | 4               | 5        | 2,7               | 5,4  |
| metástasis en los ganglios linfáticos |  | SUVmax | relación SUVmax | SUVmedia | relación SUVmedia |      |
|                                       |  | media  | 22,2            | 23,7     | 16,6              | 27,3 |
|                                       |  | mín.   | 8,1             | 5,8      | 6,4               | 7,1  |
|                                       |  | máx.   | 67,5            | 63,6     | 44,6              | 70,7 |

10

| metástasis óseas      |  | SUVmax | relación SUVmax | SUVmedia | relación SUVmedia |      |
|-----------------------|--|--------|-----------------|----------|-------------------|------|
|                       |  | media  | 31,2            | 32,8     | 22,2              | 36,6 |
|                       |  | mín.   | 7,9             | 7,9      | 5,3               | 8,8  |
| metástasis viscerales |  | SUVmax | relación SUVmax | SUVmedia | relación SUVmedia |      |
|                       |  | media  | 26,1            | 28,9     | 17,4              | 30,2 |
|                       |  | mín.   | 20,4            | 18,5     | 15,5              | 22,1 |
|                       |  | máx.   | 32,5            | 40,6     | 19,1              | 38,2 |

#### Retención del trazador de PSMA-SiFA3 (7) humano en la vejiga urinaria

15 La retención de trazadores en el sistema urinario excretor es un inconveniente común en la obtención de imágenes con ligando de PSMA. El PSMA-SiFA3 marcado con <sup>18</sup>F (7), como posible compuesto principal del agente de PET basado en quelante sustituido con SiFA, se excreta a través del sistema excretor urinario, pero en un grado mucho menor que la mayoría de los demás agentes de PET. Además, su retención en la vejiga puede verse significativamente influenciada por la aplicación de furosemida en el momento de la inyección del trazador. La prueba de la T 8 reveló una retención del trazador estadística significativamente menor cuando se aplicó furosemida ( $p = 0,018$  tanto para SUVmax como para SUVmedia).

20 25 **Tabla 9:** SUVmax promedio (izquierda) y SUVmedia (derecha) de retención del trazador en la vejiga en sujetos con y sin administración de furosemida, con su error estándar. Véase la Figura 25 para la representación gráfica.

|                |  | SUVmax |      |      | SUVmedia |      |      |
|----------------|--|--------|------|------|----------|------|------|
|                |  | media  | mín. | máx. | media    | mín. | máx. |
| con furosemida |  | 4,8    | 1,6  | 32   | 3,4      | 1,1  | 26,6 |
| sin furosemida |  | 13,9   | 0,5  | 112  | 10,5     | 0,3  | 85,7 |

**Resultados clínicos de la detección de lesiones tumorales mediante PSMA-SIFA3 (7) y validación histopatológica**

5 **Se tomaron imágenes de los sujetos para la estadificación primaria (n = 6) y la enfermedad recurrente (n = 47). Lesiones**

10 se detectaron indicativas de cáncer de próstata en 39 pacientes. se analizaron 72 lesiones. 21 de 72 lesiones no tenían correlación en las imágenes morfológicas. De las 72 lesiones medidas, 14 presentaron un tamaño igual o menor a 5 mm en las imágenes morfológicas. Ambos demuestran un alto valor clínico del PSMA-SIFA3 marcado con 18F (7) para la detección de lesiones que de otro modo estarían ocultas en las imágenes morfológicas. Los parámetros de captación de las 35 lesiones sin correlación o de tamaño pequeño en las imágenes morfológicas mostraron parámetros de captación favorables.

15 **Tabla 10:** SUVmax promedio, SUVmedia, relación SUVmax/fondo y relación SUVmedia/fondo en tumores de cáncer de próstata con su error estándar.

|       | SUVmax | relación SUVmax | SUVmedia | relación SUVmedia |
|-------|--------|-----------------|----------|-------------------|
| media | 15,7   | 18,3            | 13,3     | 22,9              |
| mín.  | 9,2    | 5,8             | 6,4      | 7,1               |
| máx.  | 25     | 43,8            | 28,3     | 56,6              |

20 Los ejemplos de imágenes muestran características favorables. Se muestran tanto lesiones pequeñas subcentimétricas como enfermedad metastásica difusa que afecta diferentes tipos de tejidos.

25 La Figura 26 muestra: Imágenes MIR (A) y transaxial (B-D) de un paciente de 70 años con recidiva bioquímica 1,5 años después de prostatectomía radical (Gleason 8, pT2c, pN1). Se presenta una única lesión típica de cáncer de próstata de 5 mm de diámetro en la pelvis derecha con alta captación de PSMA-SIFA3 marcado con 18F (7). La naturaleza maligna de la lesión se verificó mediante histopatología.

30 La Figura 27 muestra: Conjunto de imágenes de un paciente de 80 años con cáncer de próstata progresivo avanzado resistente a la castración (PSA 66,4 ng/ml). Las imágenes muestran una alta captación de PSMA-SIFA3 marcado con 18F (7) en diferentes clases de lesiones de cáncer de próstata (tumor local, metástasis de ganglios linfáticos, metástasis óseas, metástasis hepáticas). Las lesiones demostradas son tan pequeñas como 2 mm (las flechas indican lesiones tumorales representativas, no todas).

35 **Aplicación clínica del PSMA-SIFA3 marcado con <sup>68</sup>Ga (7)**

40 Como prueba de concepto de investigación de trazadores de PET basados en quelantes sustituidos de SiFA marcados con <sup>68</sup>Ga, un sujeto con recurrencia bioquímica después de una prostatectomía radical (PSA 0,44 ng/ml, pT2c, pNO, Gleason 7b) se sometió a PET/RM 66 minutos después de la inyección de 144 MBq de PSMA-SIFA3 marcado con <sup>68</sup>Ga (7). Se demuestra una captación típica del cáncer de próstata recurrente en un ganglio linfático de 2 mm.

45 La Figura 28 muestra una investigación de prueba de concepto de un trazador de PET basado en un quelante sustituido con SiFA marcado con <sup>68</sup>Ga.

45 **Estudios de PSMA-SIFA3 humano (7)**

1. Biodistribución y captación en lesiones tumorales

50 (a) Proyección de intensidad máxima de PET de un sujeto con biodistribución normal. Véase la Figura 21.

(b) Valores de captación estandarizados promedio en diferentes tejidos

55 Véase la Figura 22.

(c) Valores de captación estandarizados de relación promedio en diferentes tejidos

Véase la Figura 23.

(d) Valores de captación estandarizados promedio en diferentes tipos de tumores

Véase la Figura 24.

5

2. Retención de trazadores en la vejiga urinaria

(a) Valores de captación promedio estandarizados de retención del trazador en la vejiga

10

Véase la Figura 25.

3. Resultados clínicos para la detección de lesiones tumorales y validación histopatológica Véanse las Figuras 26 y 27.

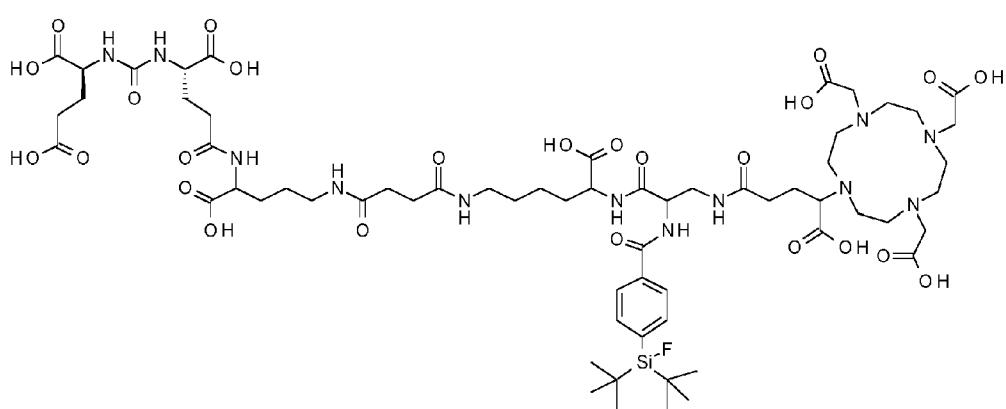
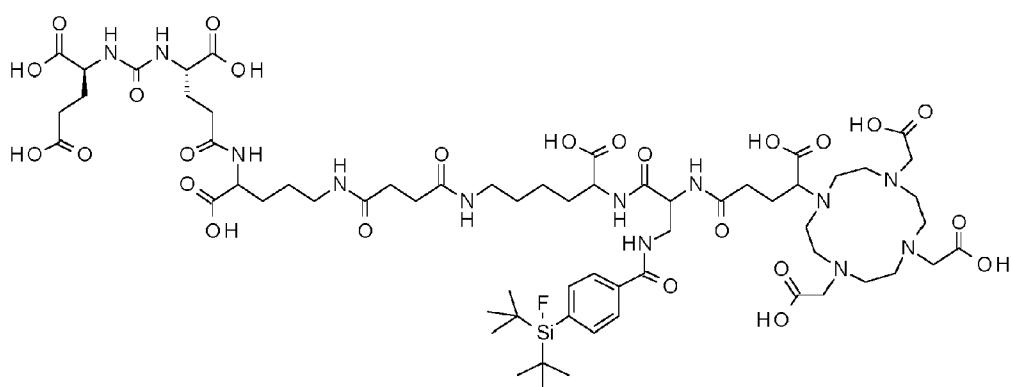
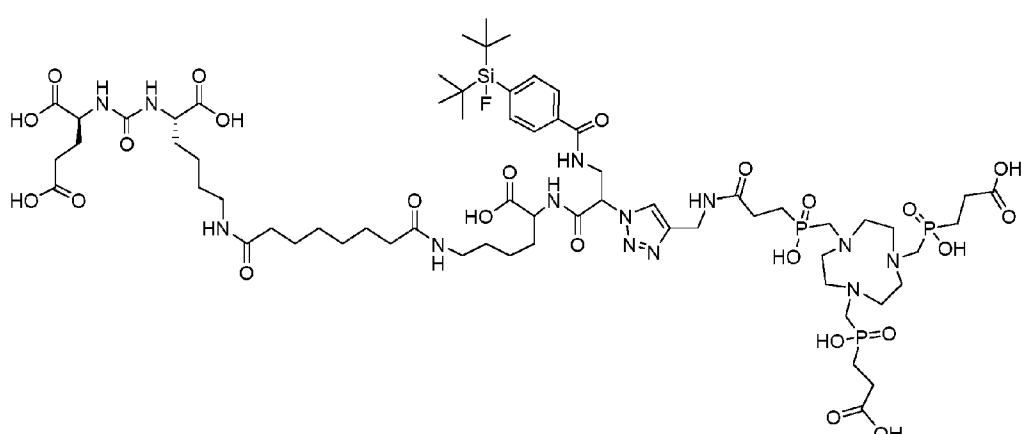
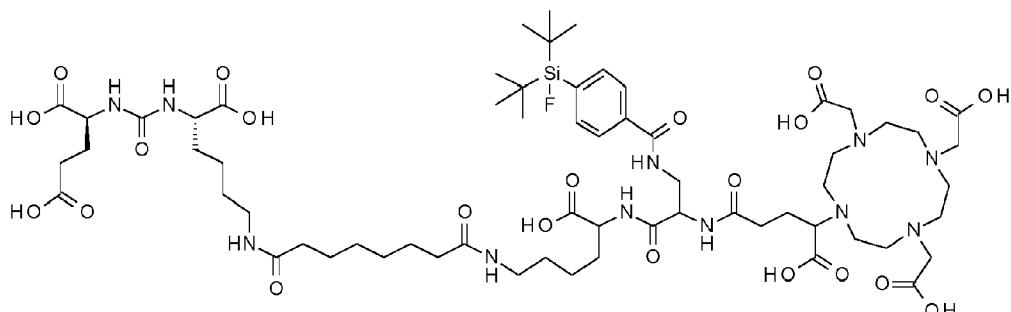
15

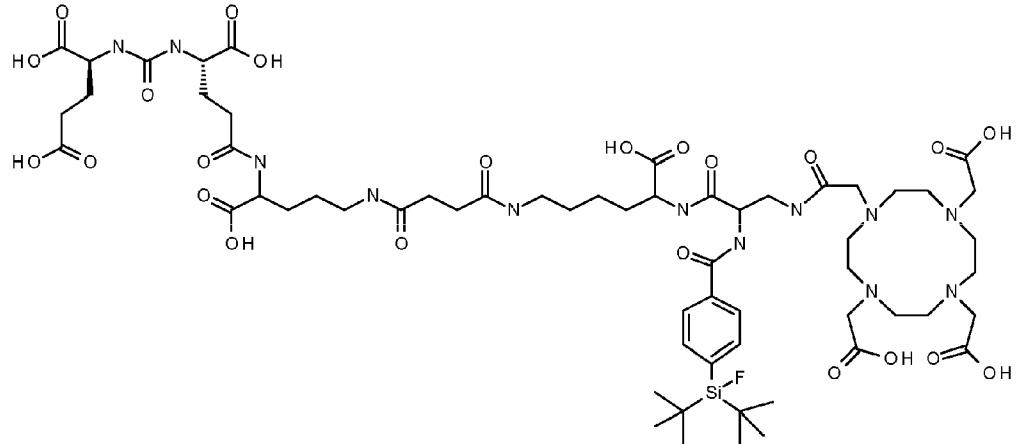
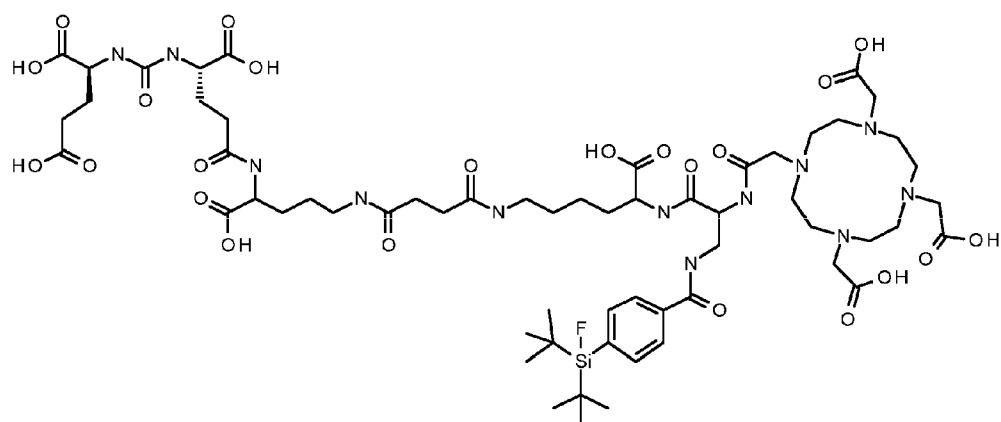
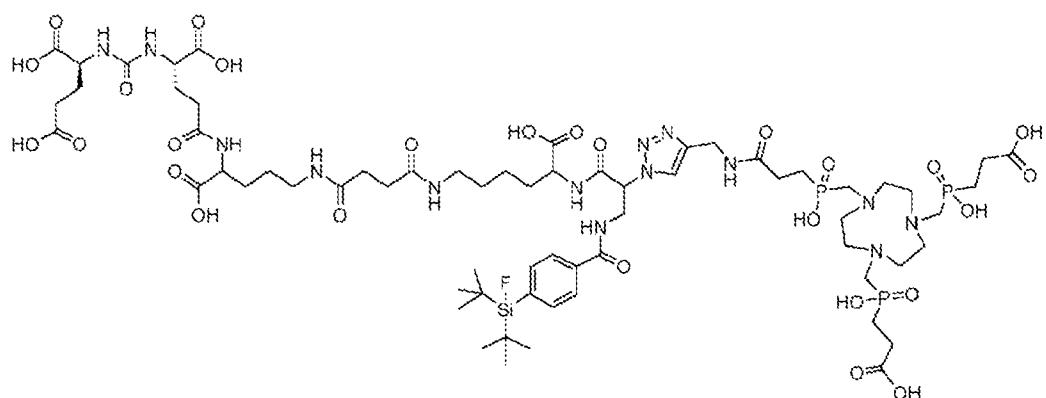
4. Aplicación clínica del PSMA-SIFA3 marcado con  $^{68}\text{Ga}$  (7)

Véase la Figura 28.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que se selecciona de:

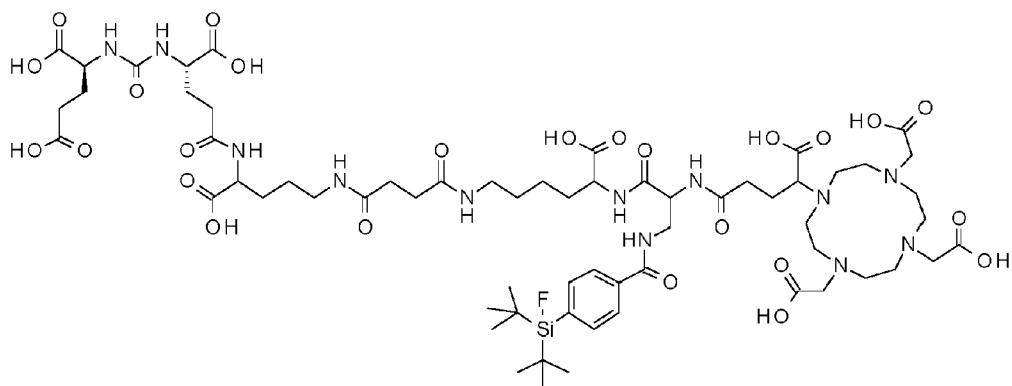




5

y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, que contiene opcionalmente un catión radiactivo o no radiactivo quelado, y en el que el átomo de flúor es opcionalmente  $^{18}\text{F}$ .

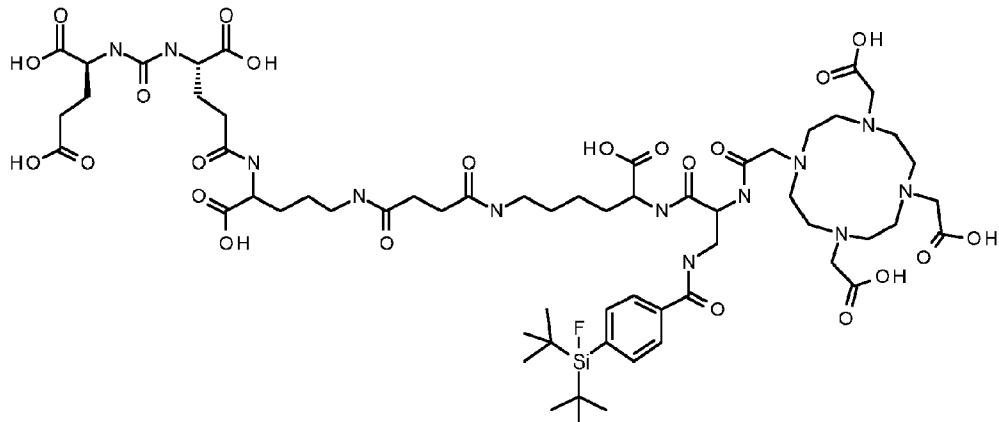
10 2. El compuesto según la reivindicación 1, que es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que contiene opcionalmente un catión radiactivo o no radiactivo quelado, y en el que el átomo de flúor es opcionalmente  $^{18}\text{F}$ .

5

3. El compuesto según la reivindicación 1, que es:



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que contiene opcionalmente un catión radiactivo o no radiactivo quelado, y en el que el átomo de flúor es opcionalmente  $^{18}\text{F}$ .

4. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el átomo de flúor es  $^{18}\text{F}$ .

15 5. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que incluye un catión radiactivo o no radiactivo quelado.

20 6. El compuesto según la reivindicación 5, en el que el catión quelado se selecciona de los cationes  $^{43}\text{Sc}$ ,  $^{44}\text{Sc}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{149}\text{Tb}$ ,  $^{152}\text{Tb}$ ,  $^{155}\text{Tb}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{212}\text{Pb}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{225}\text{Ac}$ , y  $^{227}\text{Th}$ , o una molécula catiónica que comprende  $^{18}\text{F}$ .

7. Una composición farmacéutica o de diagnóstico que comprende o consiste en uno o más compuestos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

25 8. Un compuesto o composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para uso en el tratamiento del cáncer o como agente de diagnóstico o de obtención de imágenes del cáncer.

9. El compuesto o composición para uso según la reivindicación 8, en el que el cáncer es carcinoma de próstata, mama, pulmón, colorrectal o de células renales.

30

10. Un compuesto o composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para el diagnóstico, la obtención de imágenes o la prevención de la neoangiogénesis/angiogénesis.

Figura 1

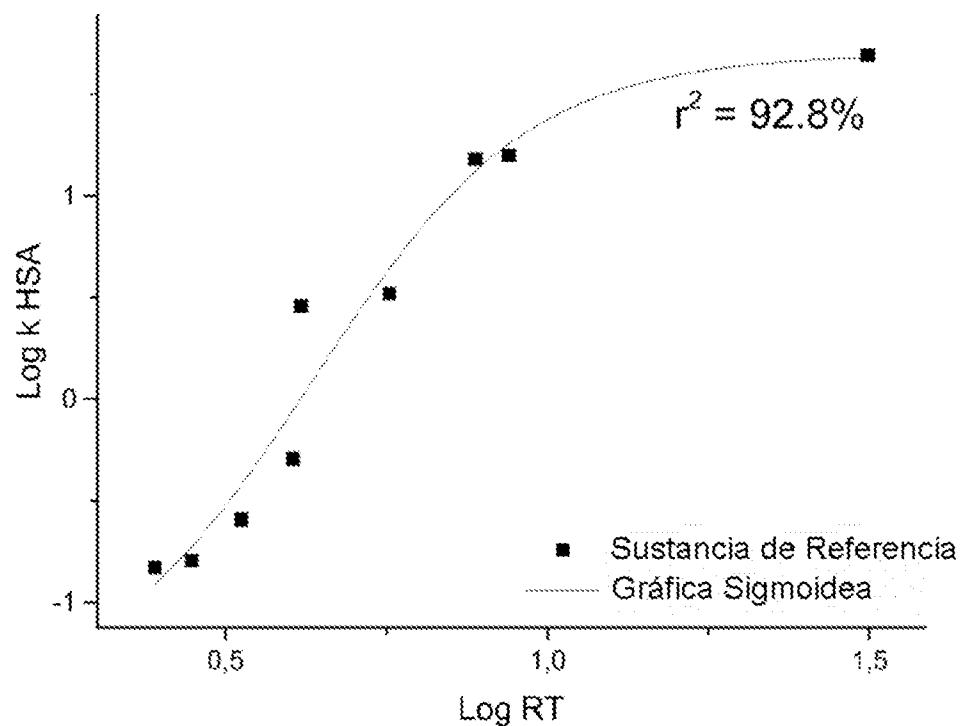
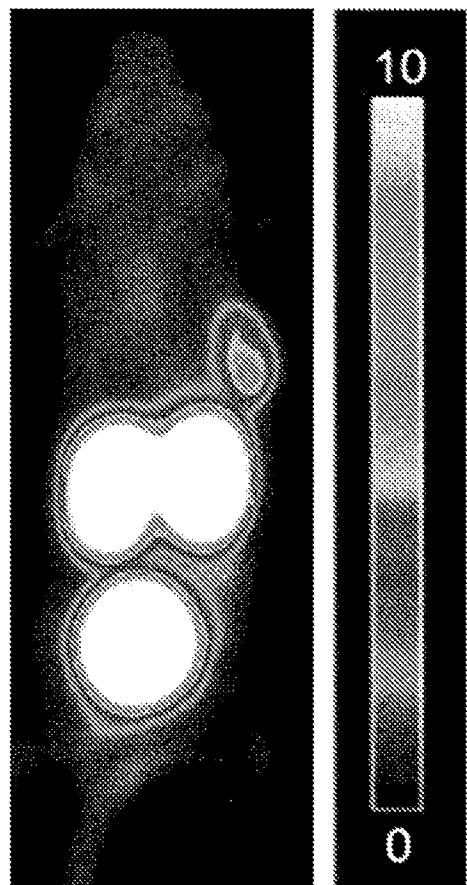
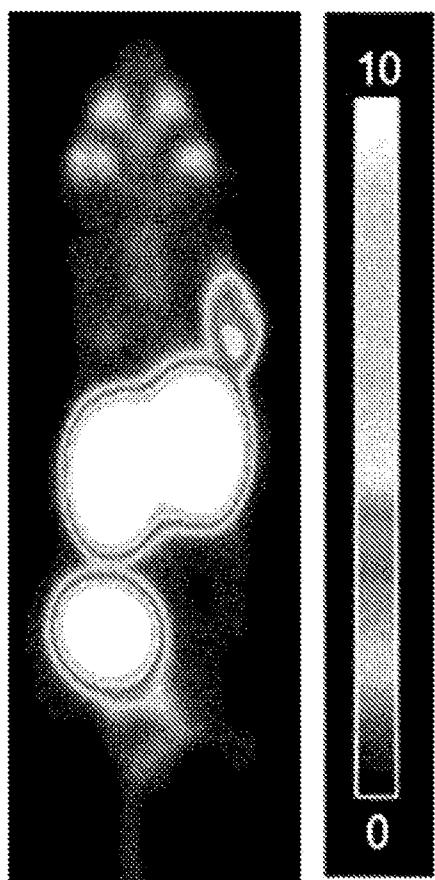


Figura 2



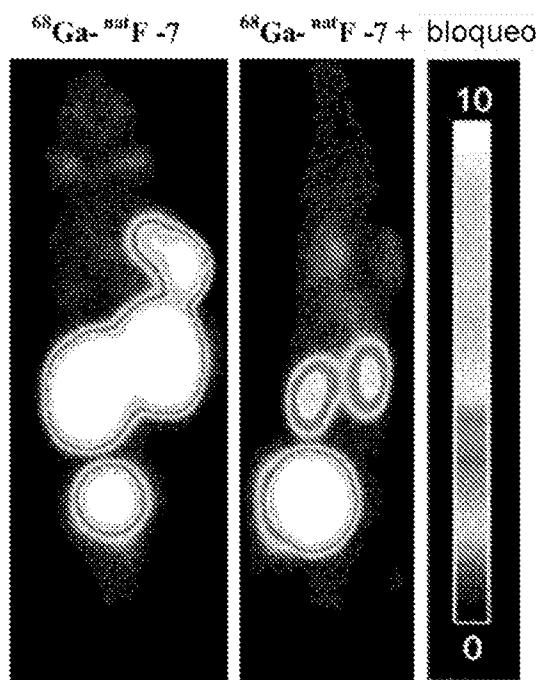
| órgano              | %ID/mL      |
|---------------------|-------------|
| tumor               | 4.8 ± 1.3   |
| glándulas salivales | 1.4 ± 0.17  |
| músculo             | 0.58 ± 0.01 |
| riñón               | 35.4 ± 7.9  |
| corazón             | 1.5 ± 0.11  |
| hígado              | 1.4 ± 0.12  |

Figura 3



| órgano              | %ID/ml      |
|---------------------|-------------|
| tumor               | 4.0 ± 0.18  |
| glándulas salivales | 2.1 ± 0.25  |
| músculo             | 0.57 ± 0.17 |
| riñón               | 46.2 ± 6.1  |
| corazón             | 1.4 ± 0.29  |
| hígado              | 1.3 ± 0.27  |

Figura 4



| órgano              | %ID/ml      |
|---------------------|-------------|
| tumor               | 8.3 ± 2.3   |
| glándulas salivales | 0.89 ± 0.12 |
| músculo             | 0.29 ± 0.03 |
| riñón               | 40.7 ± 2.3  |
| corazón             | 0.77 ± 0.05 |
| hígado              | 0.64 ± 0.02 |

Figura 5:

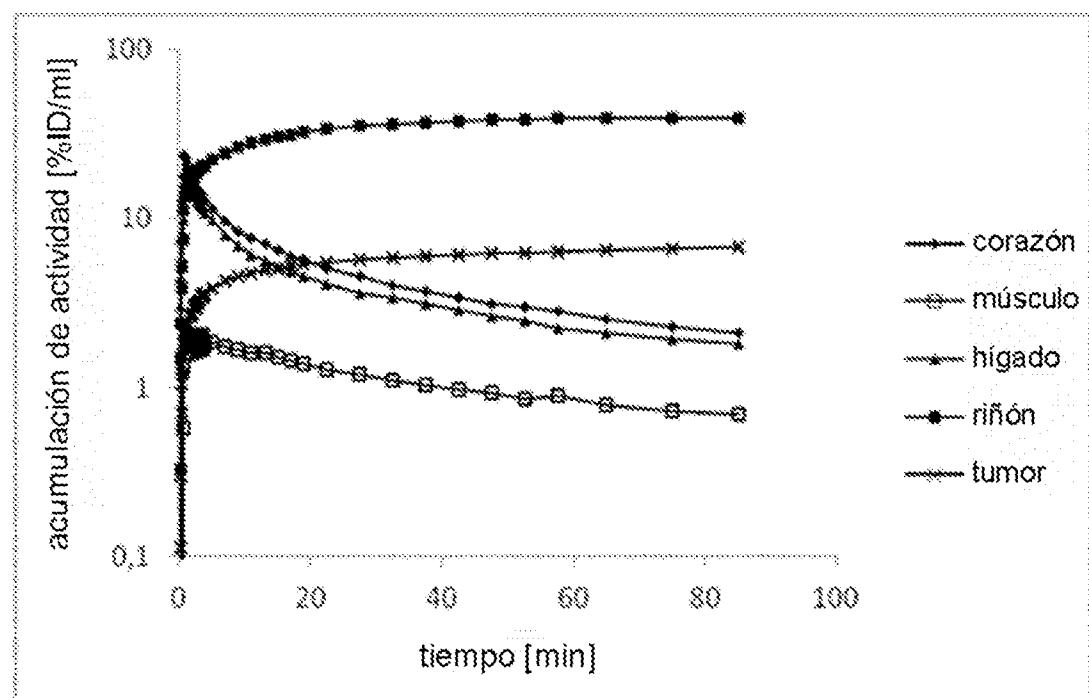
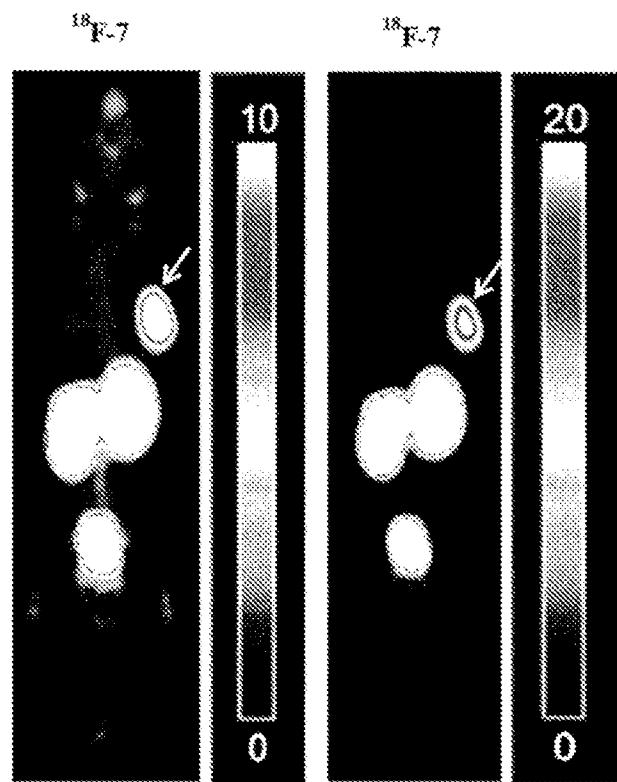


Figura 6.



| órgano              | %ID/ml      |
|---------------------|-------------|
| tumor               | 11.0 ± 4.1  |
| glándulas salivales | 2.0 ± 1.4   |
| músculo             | 0.68 ± 0.05 |
| riñón               | 46.3 ± 33.1 |
| corazón             | 1.6 ± 0.17  |
| hígado              | 1.3 ± 0.17  |

Figura 7

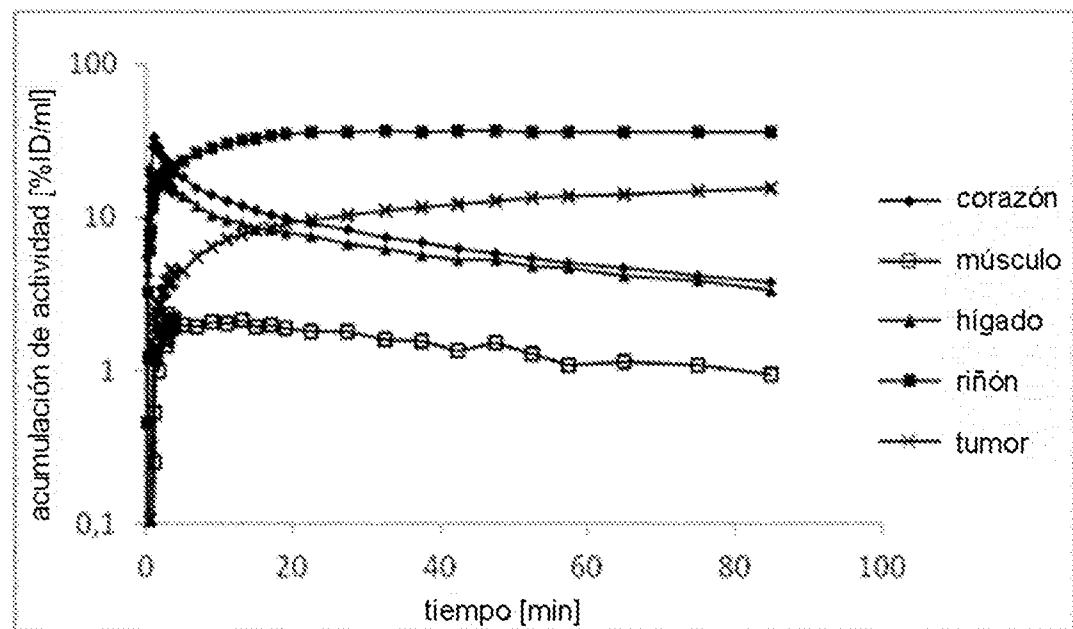
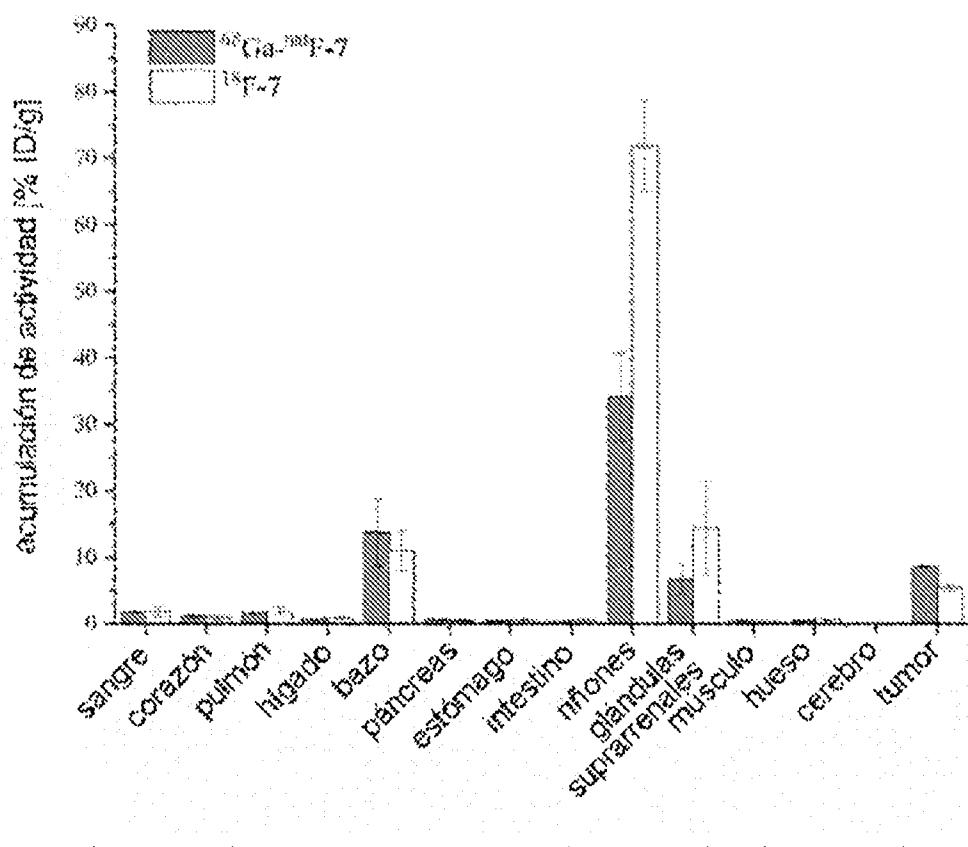


Figura 8



|               | $^{67}\text{Ga-}^{67}\text{F-7}$ | $^{18}\text{F-7}$ |
|---------------|----------------------------------|-------------------|
| sangre        | 1.9 ± 0.14                       | 1.9 ± 0.81        |
| corazón       | 1.2 ± 0.27                       | 1.0 ± 0.49        |
| pulmón        | 1.7 ± 0.16                       | 2.0 ± 0.68        |
| hígado        | 0.77 ± 0.19                      | 0.91 ± 0.21       |
| bazo          | 13.8 ± 5.0                       | 11.9 ± 2.9        |
| páncreas      | 0.71 ± 0.11                      | 0.55 ± 0.18       |
| estómago      | 0.51 ± 0.07                      | 0.66 ± 0.18       |
| intestino     | 0.43 ± 0.07                      | 0.67 ± 0.23       |
| riñones       | 34.3 ± 6.6                       | 71.9 ± 6.8        |
| suprarrenales | 6.7 ± 3.2                        | 14.6 ± 7.0        |
| músculo       | 0.42 ± 0.22                      | 0.37 ± 0.14       |
| hueso         | 0.52 ± 0.11                      | 0.76 ± 0.14       |
| cerebro       | 0.06 ± 0.01                      | 0.07 ± 0.02       |
| tumor         | 8.6 ± 0.20                       | 5.5 ± 0.56        |

Figura 9

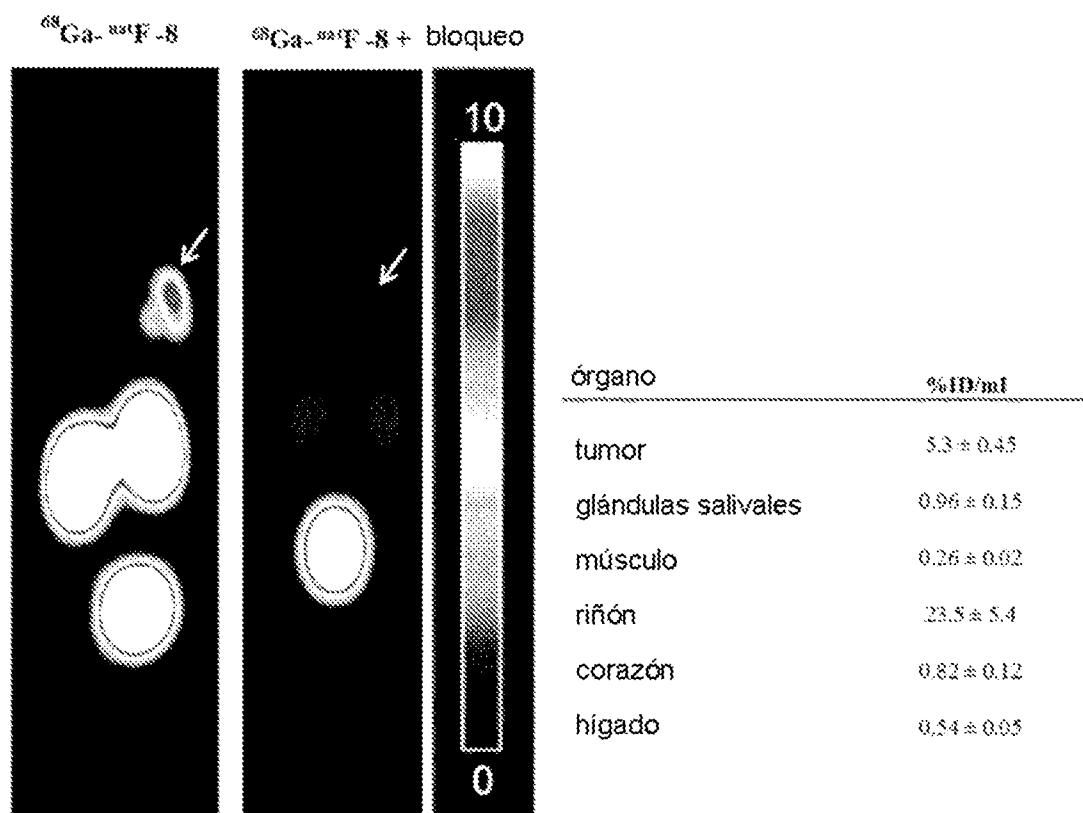


Figura 10

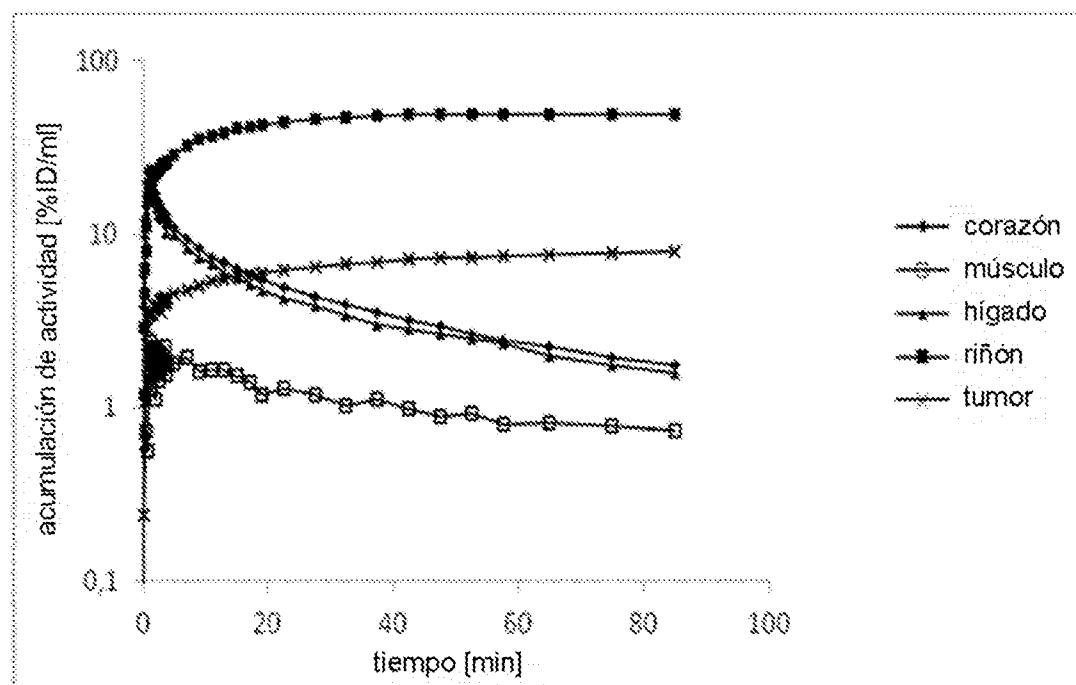
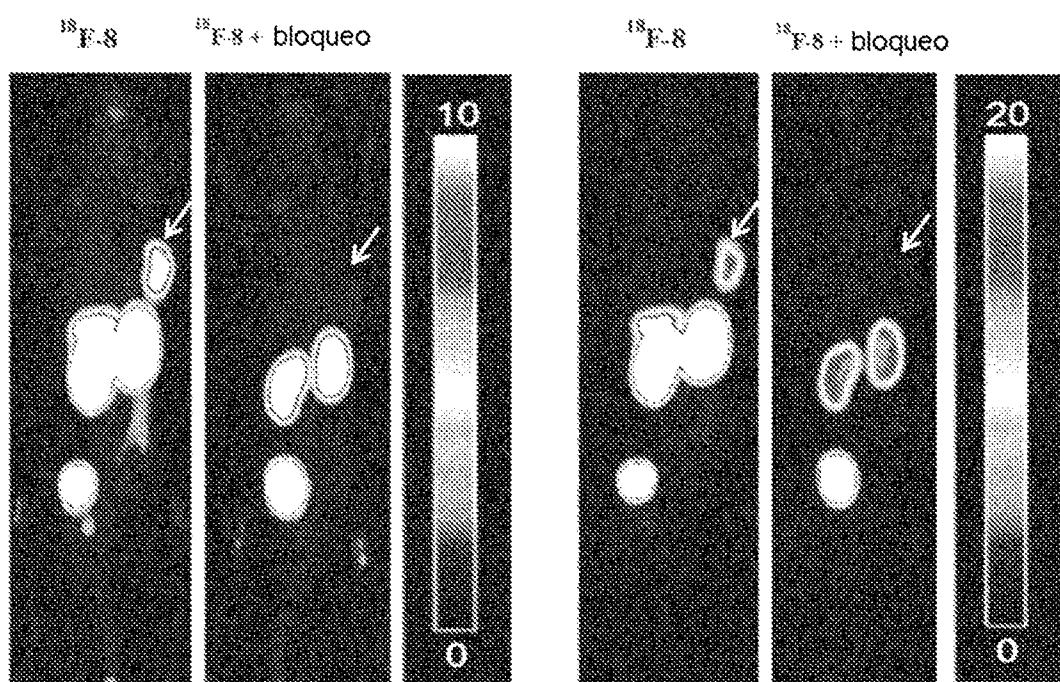


Figura 11

SPECT



| órgano              | %ID/ml      |
|---------------------|-------------|
| tumor               | 11.2 ± 3.3  |
| glándulas salivales | 2.0 ± 0.37  |
| músculo             | 0.59 ± 0.06 |
| riñón               | 46.2 ± 7.7  |
| corazón             | 3.7 ± 0.33  |
| hígado              | 3.5 ± 0.24  |

Figura 12

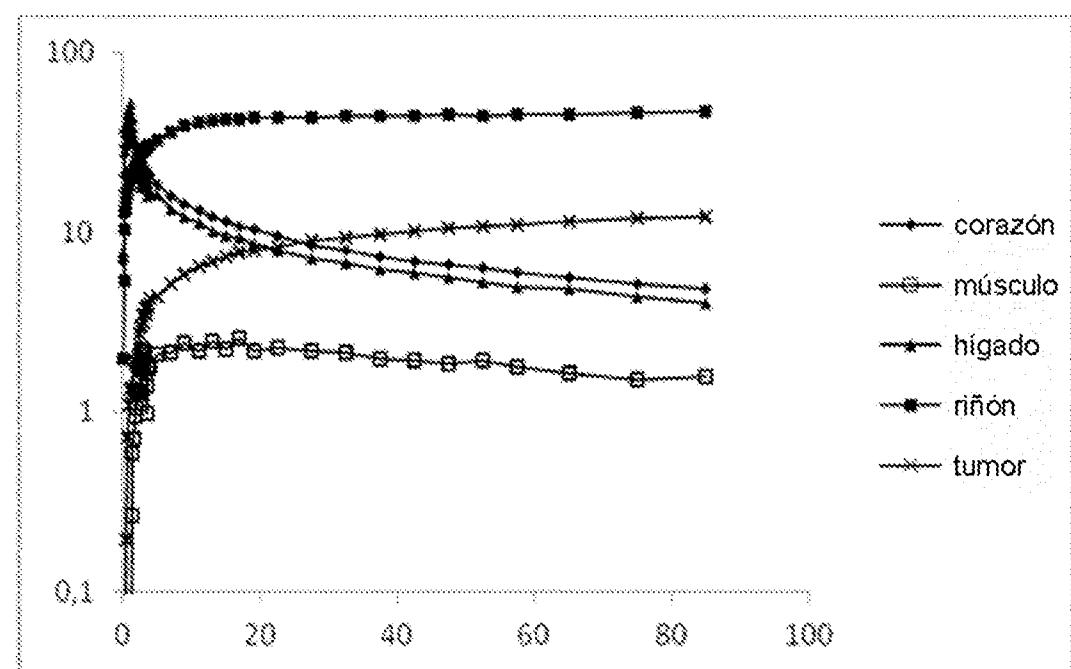
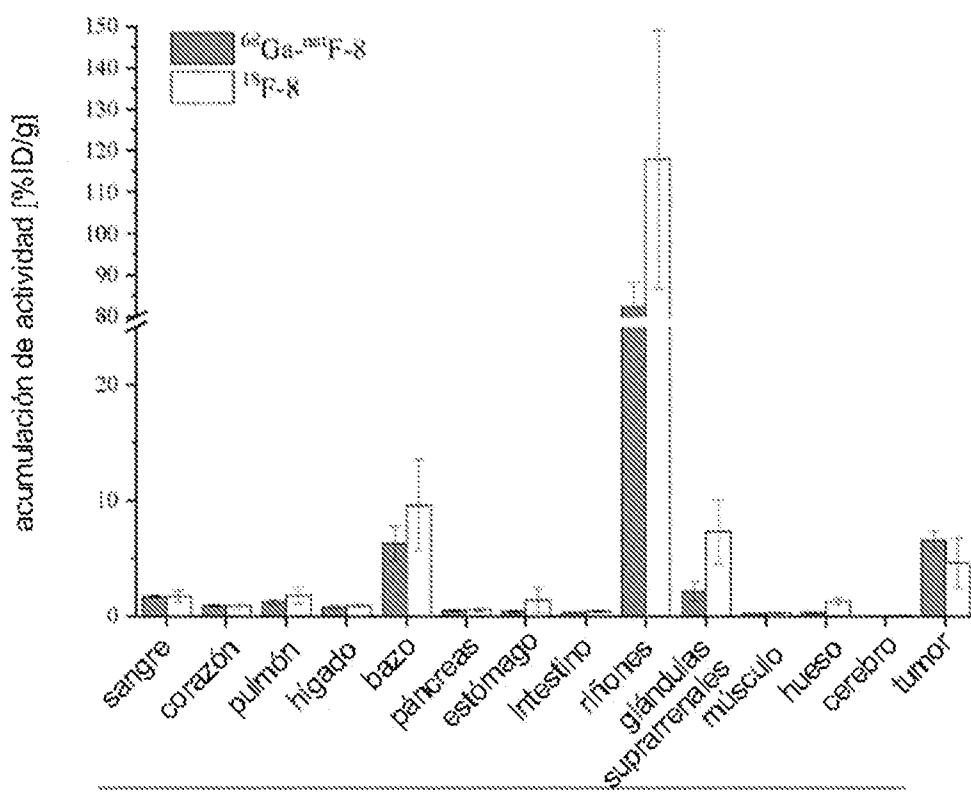


Figura 13



|               | <sup>68</sup> Ga- <sup>18</sup> F-F8 | <sup>18</sup> F-F8 |
|---------------|--------------------------------------|--------------------|
| sangre        | 1.7 ± 0.09                           | 1.7 ± 0.48         |
| corazón       | 0.93 ± 0.08                          | 0.92 ± 0.27        |
| pulmón        | 1.3 ± 0.23                           | 1.8 ± 0.70         |
| hígado        | 0.79 ± 0.17                          | 0.93 ± 0.17        |
| bazo          | 6.3 ± 1.5                            | 9.6 ± 4.0          |
| páncreas      | 0.48 ± 0.11                          | 0.55 ± 0.14        |
| estómago      | 0.42 ± 0.11                          | 1.4 ± 1.1          |
| intestino     | 0.35 ± 0.01                          | 0.42 ± 0.10        |
| riñones       | 82.3 ± 5.9                           | 118 ± 31.2         |
| suprarrenales | 2.2 ± 0.82                           | 7.3 ± 2.8          |
| músculo       | 0.24 ± 0.02                          | 0.30 ± 0.06        |
| hueso         | 0.32 ± 0.07                          | 1.3 ± 0.31         |
| cerebro       | 0.06 ± 0.003                         | 0.07 ± 0.01        |
| tumor         | 6.5 ± 0.84                           | 4.6 ± 2.2          |

Figura 14

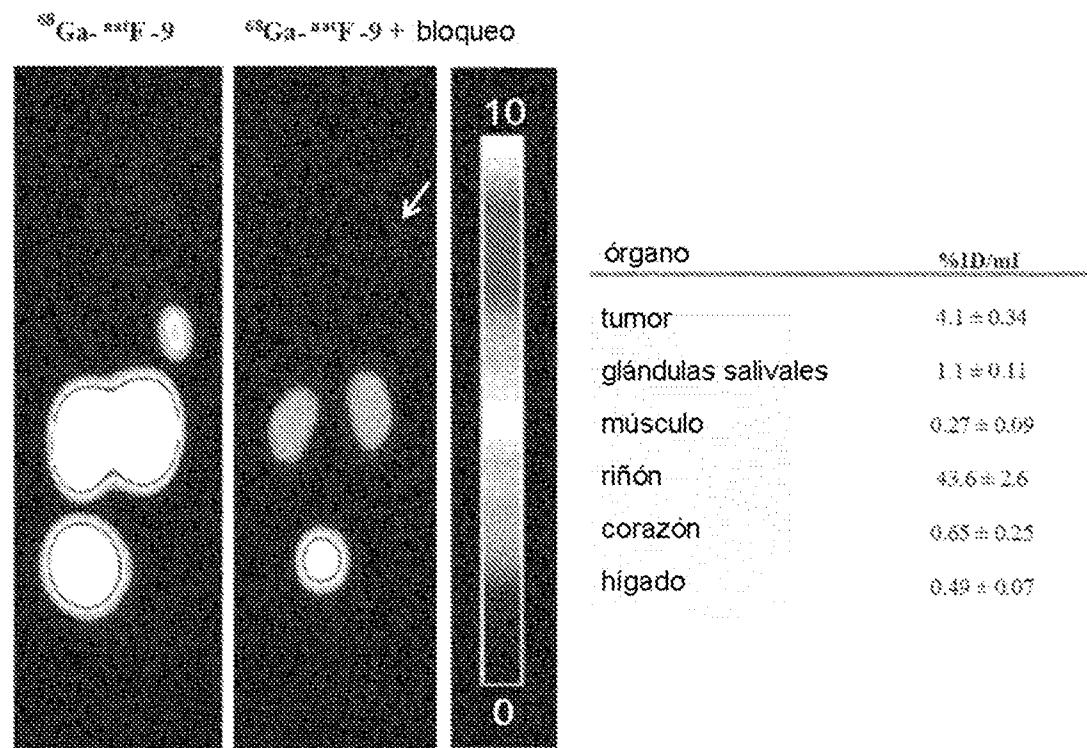


Figura 15

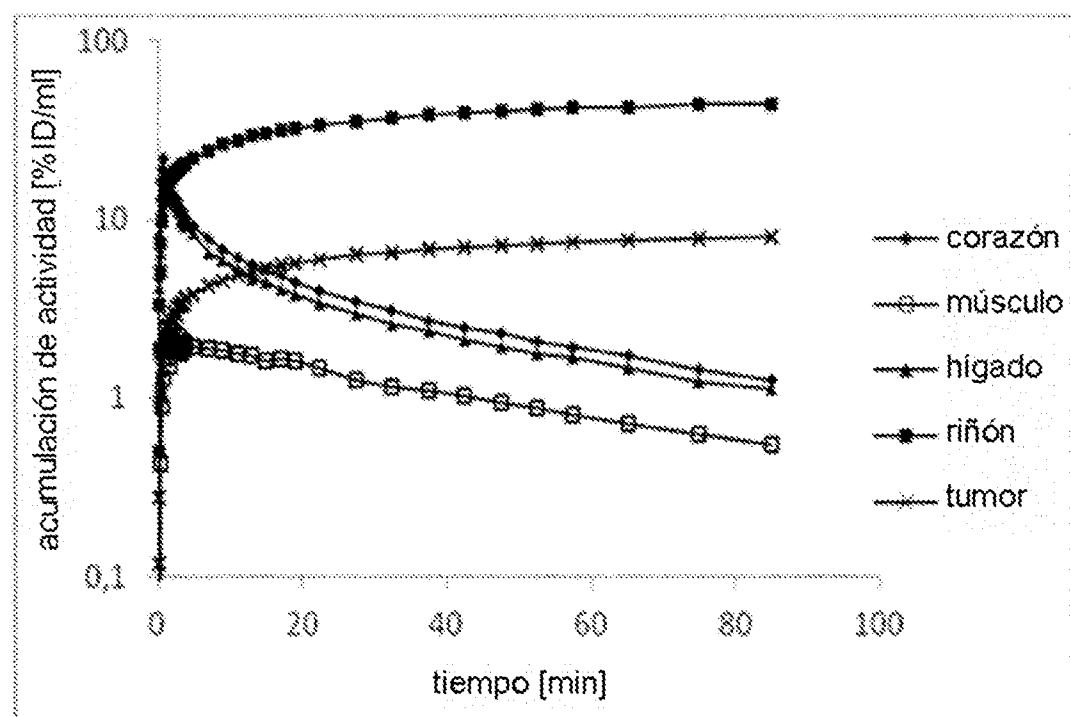
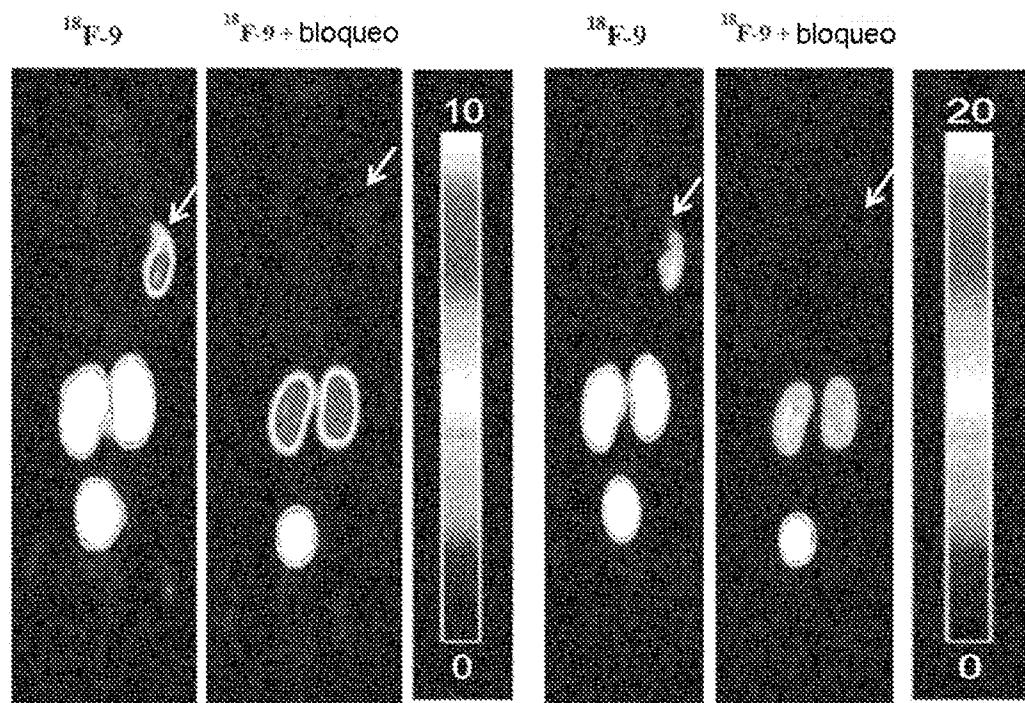


Figura 16  
Tomografía por emisión de positrones



| órgano              | %ID/mL      |
|---------------------|-------------|
| tumor               | 6.9 ± 0.34  |
| glándulas salivales | 1.5 ± 0.20  |
| músculo             | 0.56 ± 0.12 |
| riñón               | 40.3 ± 7.4  |
| corazón             | 1.1 ± 0.41  |
| hígado              | 1.6 ± 0.40  |

Figura 17

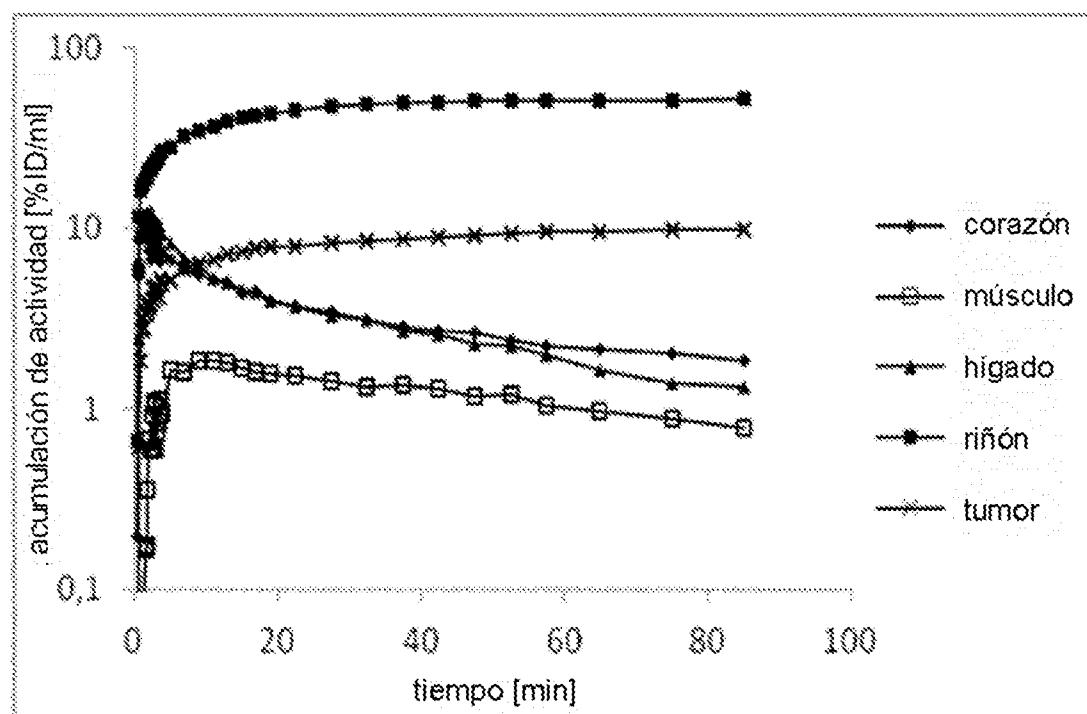
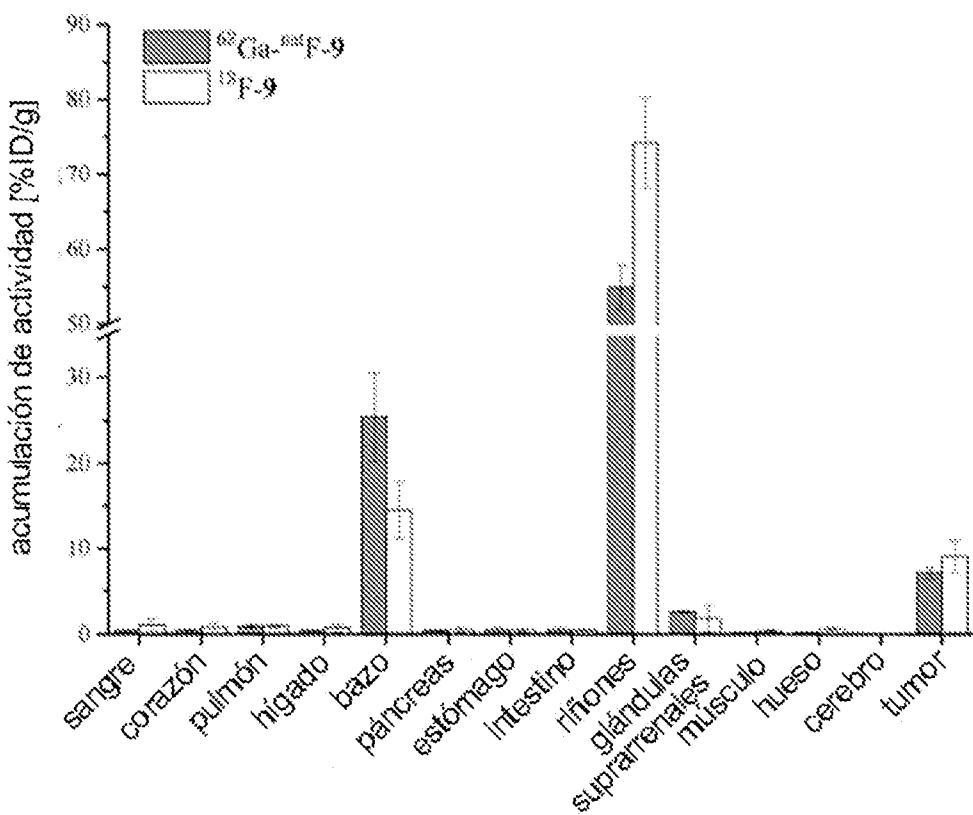


Figura 18



|               | $^{67}\text{Ga-}^{67}\text{F-9}$ | $^{18}\text{F-9}$ |
|---------------|----------------------------------|-------------------|
| sangre        | 0.46 ± 0.11                      | 1.1 ± 0.67        |
| corazón       | 0.48 ± 0.17                      | 0.81 ± 0.40       |
| pulmón        | 0.94 ± 0.29                      | 0.98 ± 0.13       |
| hígado        | 0.42 ± 0.07                      | 0.74 ± 0.45       |
| bazo          | 25.43 ± 5.2                      | 4.5 ± 3.3         |
| páncreas      | 0.39 ± 0.09                      | 0.48 ± 0.26       |
| estómago      | 0.48 ± 0.40                      | 0.46 ± 0.23       |
| intestino     | 0.44 ± 0.34                      | 0.41 ± 0.21       |
| riñones       | 54.9 ± 3.0                       | 74.3 ± 6.1        |
| suprarrenales | 2.7 ± 0.19                       | 1.9 ± 1.6         |
| músculo       | 0.19 ± 0.06                      | 0.32 ± 0.18       |
| hueso         | 0.18 ± 0.05                      | 0.60 ± 0.17       |
| cerebro       | 0.04 ± 0.01                      | 0.06 ± 0.04       |
| tumor         | 7.2 ± 0.63                       | 9.1 ± 1.9         |

Figura 19

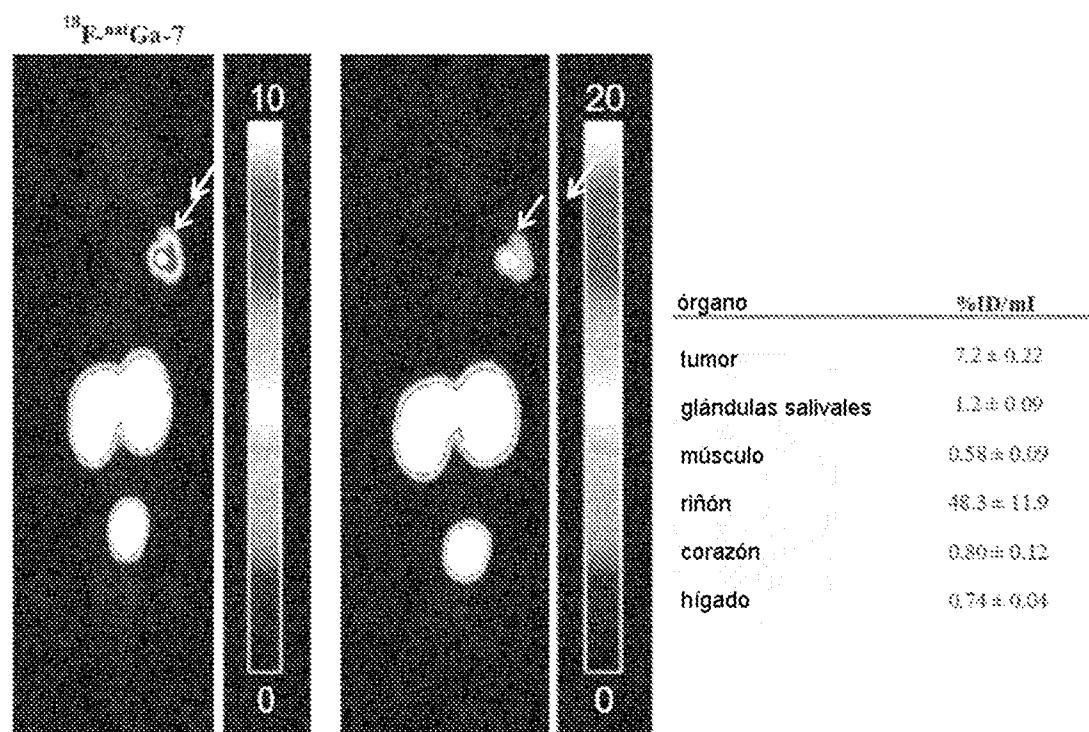
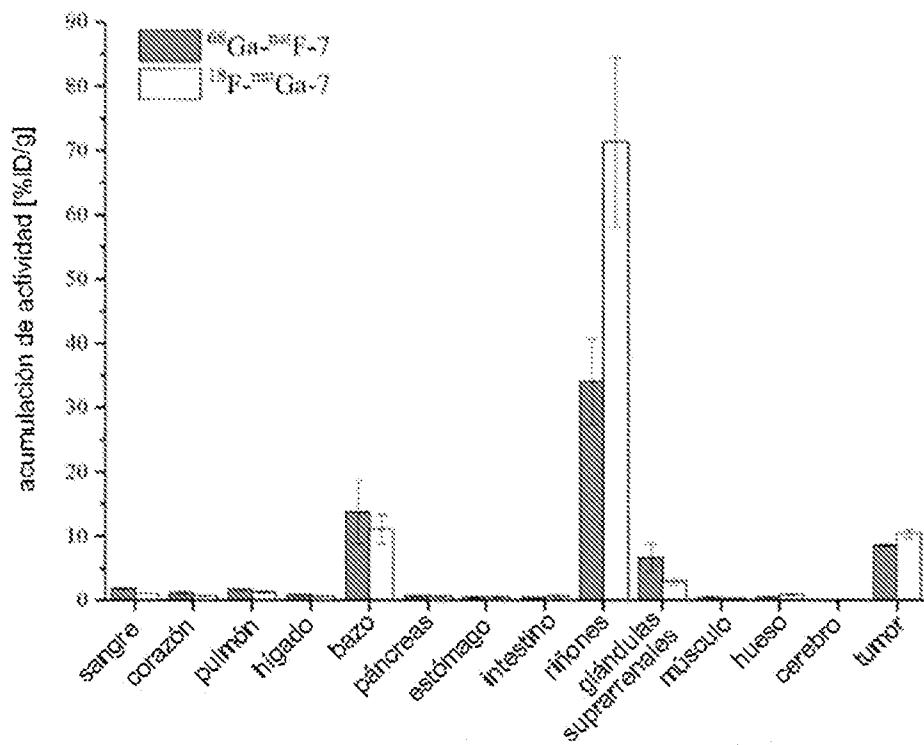


Figura 20



|               | $^{68}\text{Ga-}^{68}\text{F-7}$ | $^{18}\text{F-}^{68}\text{Ga-7}$ |
|---------------|----------------------------------|----------------------------------|
| sangre        | 1.9 ± 0.14                       | 1.1 ± 0.03                       |
| corazón       | 1.2 ± 0.27                       | 0.7 ± 0.07                       |
| pulmón        | 1.7 ± 0.16                       | 1.4 ± 0.17                       |
| hígado        | 0.77 ± 0.10                      | 0.67 ± 0.07                      |
| bazo          | 13.8 ± 3.0                       | 11.1 ± 2.3                       |
| páncreas      | 0.71 ± 0.11                      | 0.60 ± 0.10                      |
| estómago      | 0.51 ± 0.07                      | 0.49 ± 0.07                      |
| intestino     | 0.43 ± 0.07                      | 0.60 ± 0.27                      |
| riñones       | 34.1 ± 6.6                       | 71.3 ± 13.3                      |
| suprarrenales | 6.7 ± 2.2                        | 3.0 ± 0.45                       |
| músculo       | 0.42 ± 0.22                      | 0.36 ± 0.06                      |
| hueso         | 0.52 ± 0.11                      | 0.91 ± 0.11                      |
| cerebro       | 0.86 ± 0.01                      | 0.11 ± 0.08                      |
| tumor         | 8.6 ± 0.20                       | 10.4 ± 0.67                      |

Figura 21

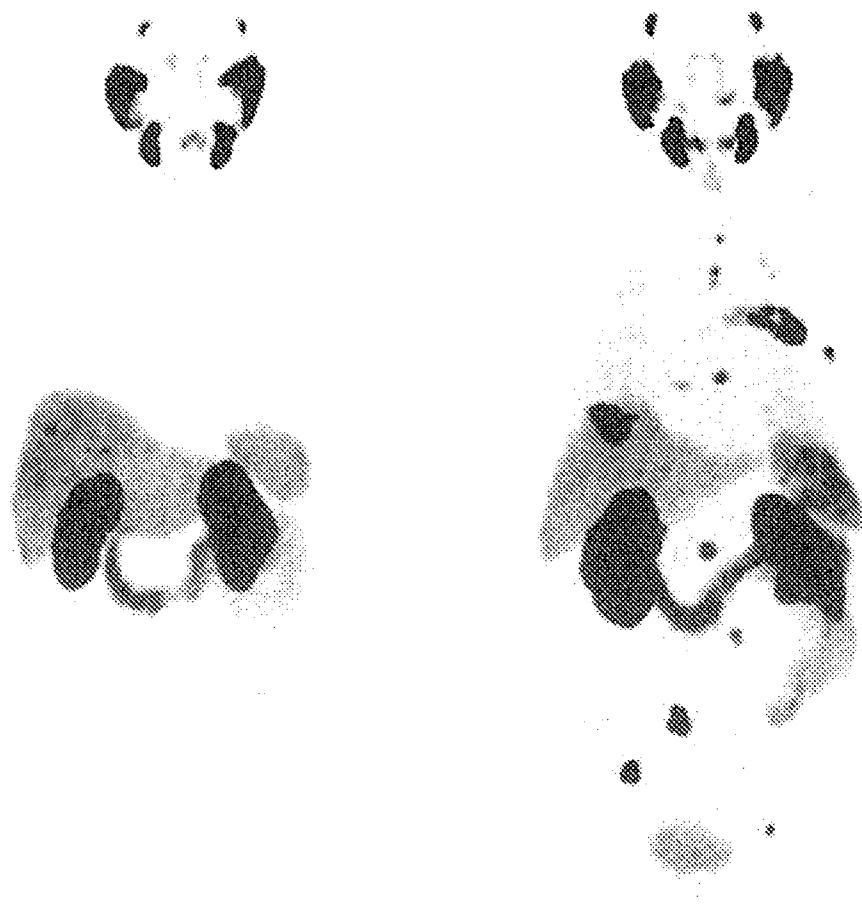


Figura 22

|                        | SUVmáx | media | min   | máx  | SUVmedia | media | min  | máx  |
|------------------------|--------|-------|-------|------|----------|-------|------|------|
| antecedente            | 1,0    | 0,6   | 1,3   | 6,6  | 0,4      | 0,4   | 1,2  | 1,2  |
| combinación de sangre  | 2,4    | 1,6   | 3,0   | 2,0  | 1,1      | 1,1   | 17,0 | 17,0 |
| glándula parótida      | 23,5   | 8,2   | 42,3  | 16,6 | 5,5      | 5,5   | 32,7 | 32,7 |
| glándula submandibular | 28,7   | 10,1  | 43,8  | 19,6 | 7,0      | 7,0   | 28,7 | 28,7 |
| pulmones               | 1,0    | 0,5   | 3,1   | 0,7  | 0,3      | 0,3   | 2,0  | 2,0  |
| hígado                 | 9,5    | 4,6   | 25,2  | 7,0  | 3,2      | 3,2   | 17,1 | 17,1 |
| bazo                   | 11,8   | 4,7   | 21    | 9,1  | 3,4      | 3,4   | 17,1 | 17,1 |
| páncreas               | 3,9    | 1,8   | 9,2   | 2,7  | 1,3      | 1,3   | 7,4  | 7,4  |
| duodeno                | 14,2   | 2,8   | 32,7  | 10,5 | 1,9      | 1,9   | 23,8 | 23,8 |
| hueso                  | 1,7    | 0,6   | 3,1   | 1,1  | 0,6      | 0,6   | 2,1  | 2,1  |
| riñón                  | 44,3   | 16,1  | 76,2  | 32,1 | 13,2     | 13,2  | 54,7 | 54,7 |
| vejiga                 | 8,3    | 0,8   | 112,0 | 6,1  | 0,3      | 0,3   | 85,7 | 85,7 |
| lesiones tumorales     | 28,6   | 4,0   | 98,4  | 18,2 | 2,7      | 2,7   | 71,7 | 71,7 |

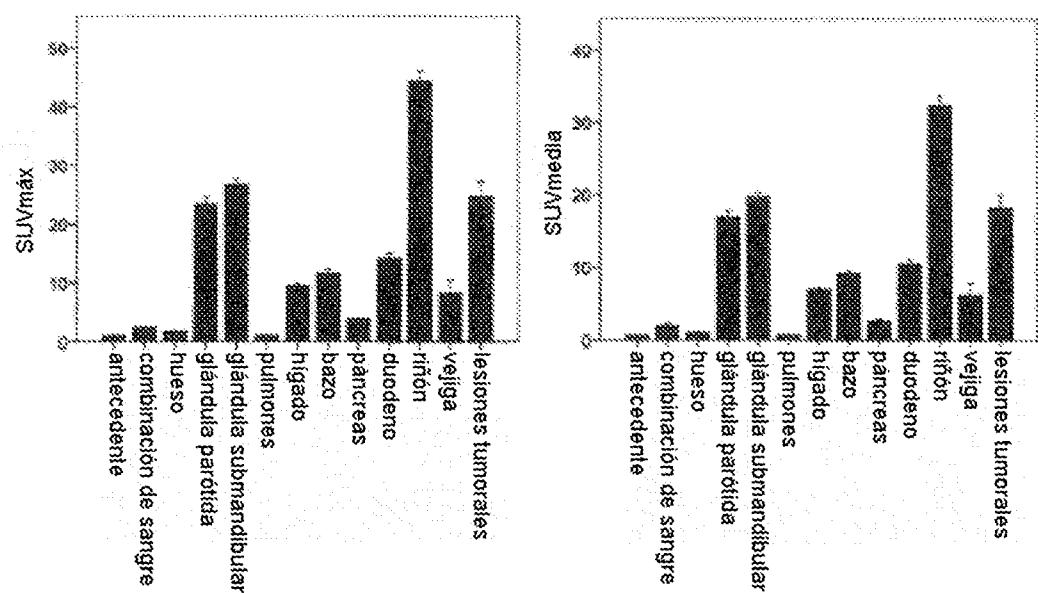


Figura 23

|                        | relación $SUV_{\text{máx}}/\text{fondo}$ |      |       | relación $SUV_{\text{media}}/\text{fondo}$ |      |       |
|------------------------|------------------------------------------|------|-------|--------------------------------------------|------|-------|
|                        | media                                    | min  | máx   | media                                      | min  | máx   |
| combinación de sangre  | 2,6                                      | 1,3  | 4,8   | 3,1                                        | 1,5  | 21,3  |
| glándula parótida      | 24,3                                     | 8,2  | 48,3  | 27,5                                       | 9,2  | 54,5  |
| glándula submandibular | 27,8                                     | 10,1 | 54,7  | 32,5                                       | 11,7 | 61,8  |
| pulmones               | 1,1                                      | 0,4  | 3,2   | 1,1                                        | 0,4  | 4,0   |
| hígado                 | 10,1                                     | 2,9  | 42,0  | 11,7                                       | 5,7  | 44,3  |
| bazo                   | 12,3                                     | 4,7  | 35,0  | 14,9                                       | 6,7  | 39,5  |
| páncreas               | 4,0                                      | 1,8  | 11,3  | 4,3                                        | 1,9  | 10,8  |
| duodeno                | 14,8                                     | 2,8  | 31,3  | 17,3                                       | 8,2  | 36,3  |
| hueso                  | 1,7                                      | 0,9  | 2,9   | 1,8                                        | 1,0  | 3,2   |
| riñón                  | 48,7                                     | 16,9 | 98,7  | 53,8                                       | 18,8 | 108,3 |
| vejiga                 | 8,3                                      | 0,6  | 112,0 | 9,8                                        | 0,6  | 142,8 |
| lesiones tumorales     | 28,6                                     | 6,0  | 83,4  | 31,9                                       | 6,4  | 83,2  |

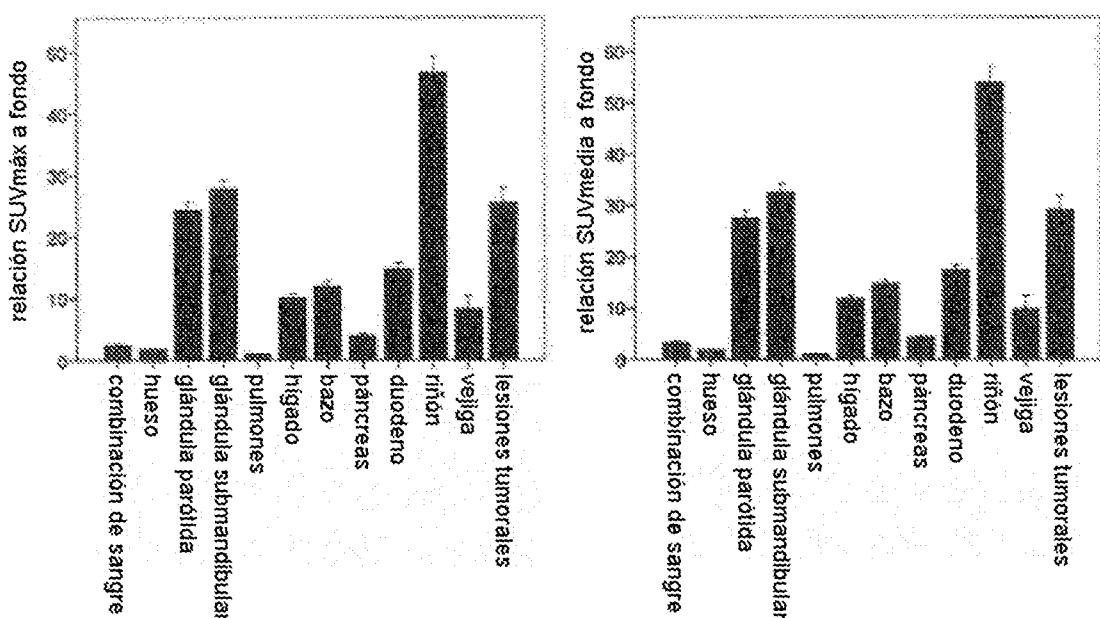


Figura 24

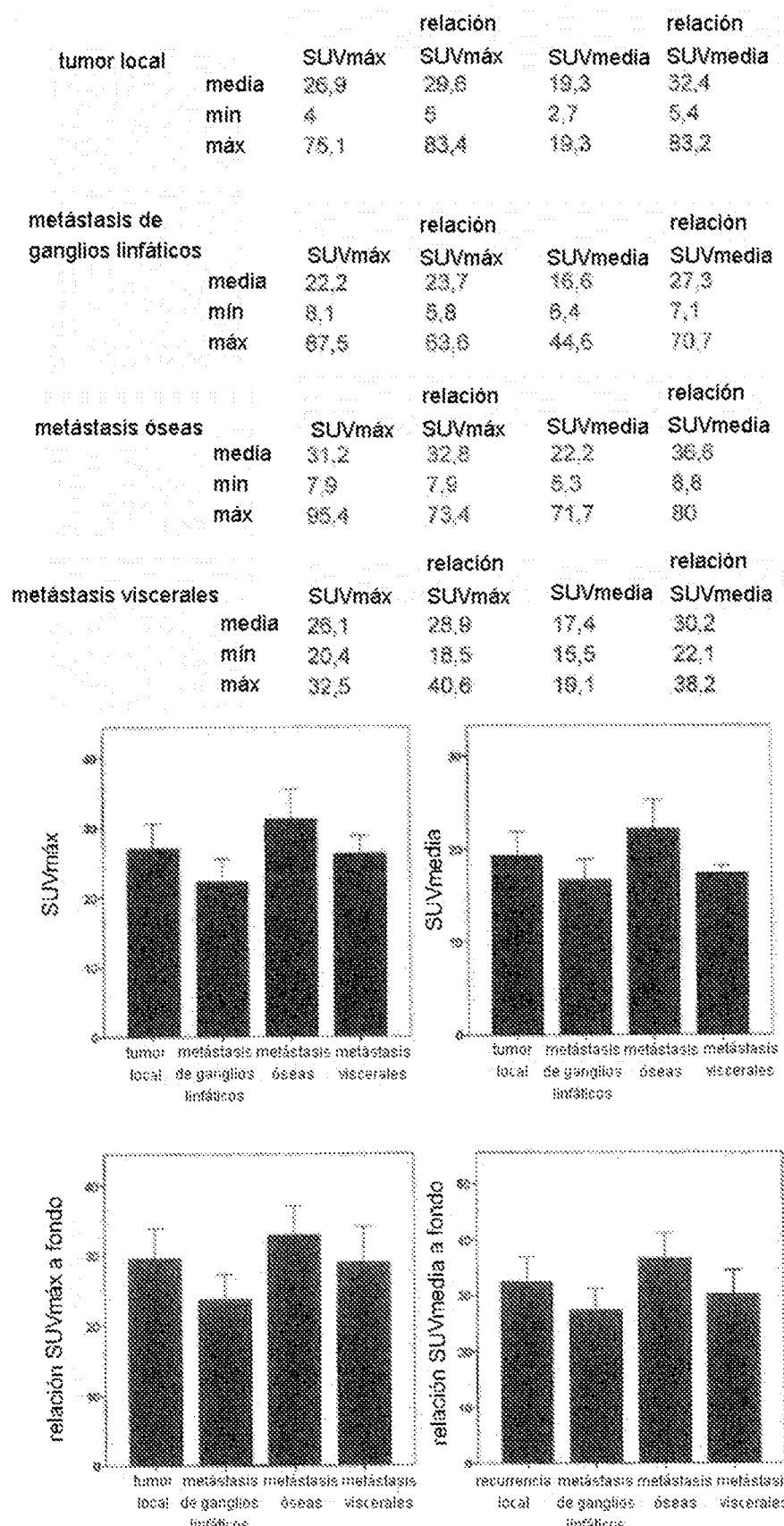


Figura 25

|                | SUVmáx | media | min | máx  | SUVmedia | media | min | máx  |
|----------------|--------|-------|-----|------|----------|-------|-----|------|
| con furosemida | 4,8    | 1,6   | 32  | 3,4  | 1,1      | 26,6  | 0,3 | 85,7 |
| sin furosemida | 13,9   | 0,8   | 112 | 10,5 | 0,3      | 85,7  | 0,3 | 85,7 |

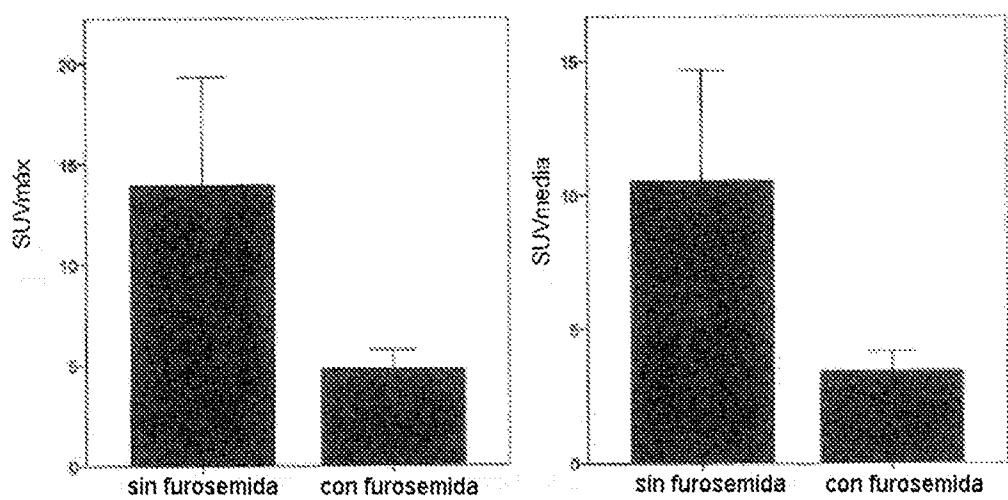


Figura 26

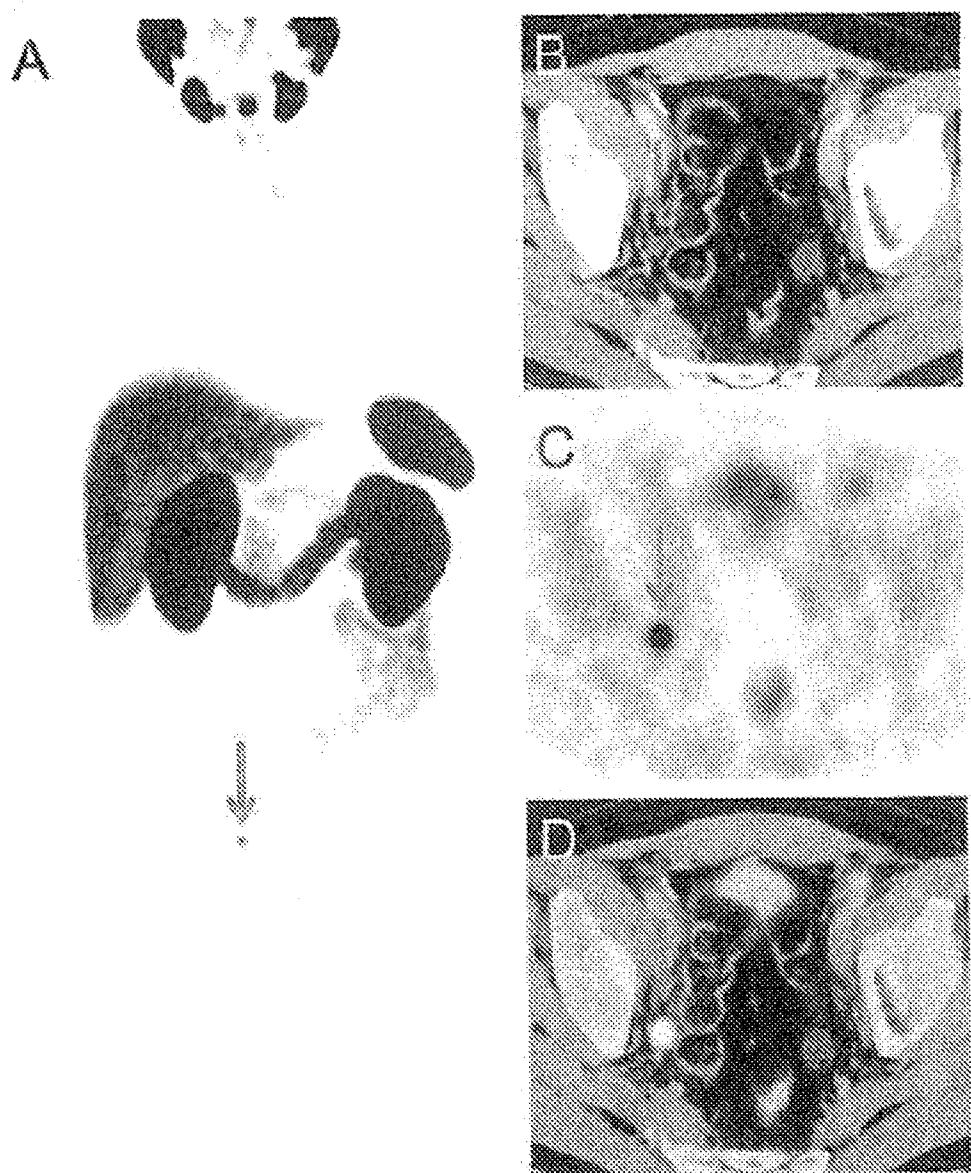
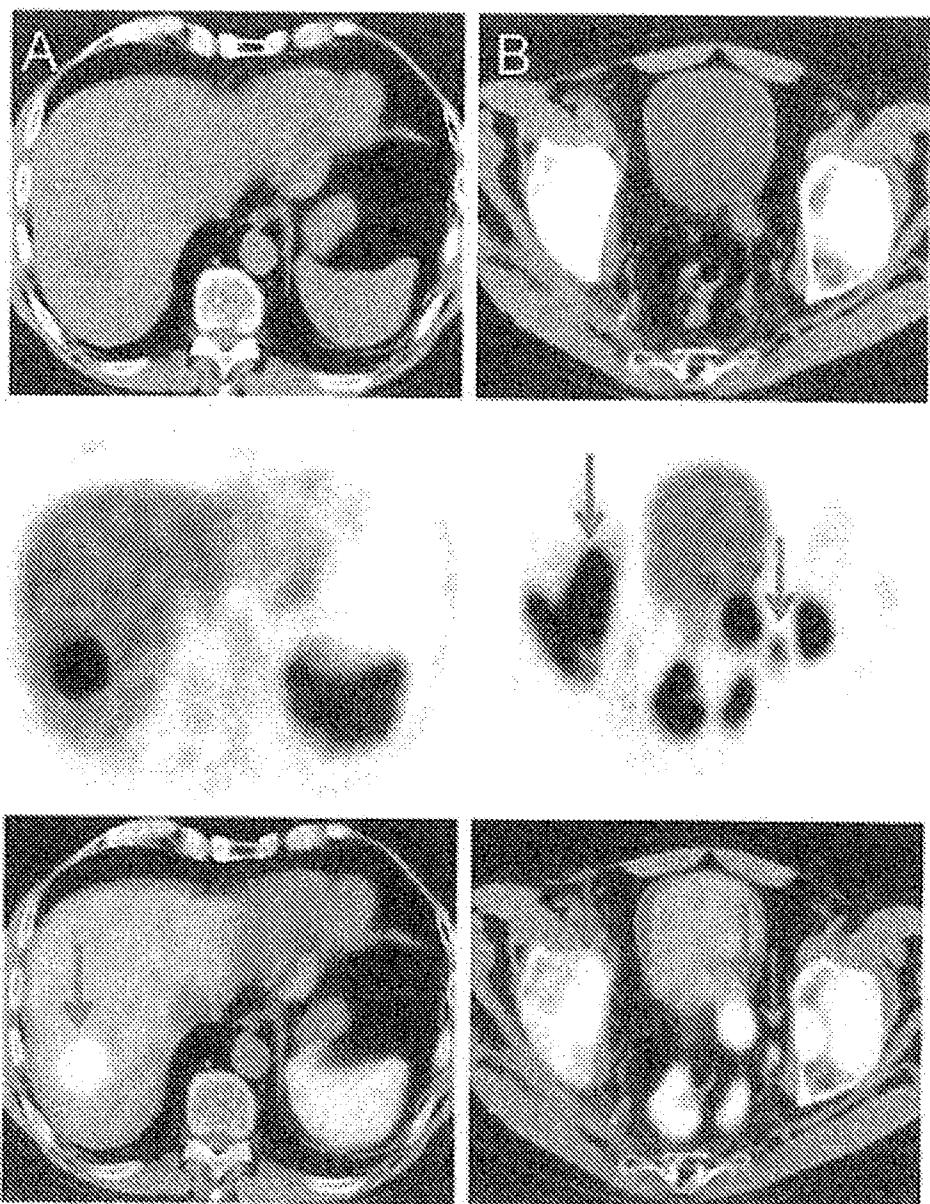


Figura 27



**Figura 28**

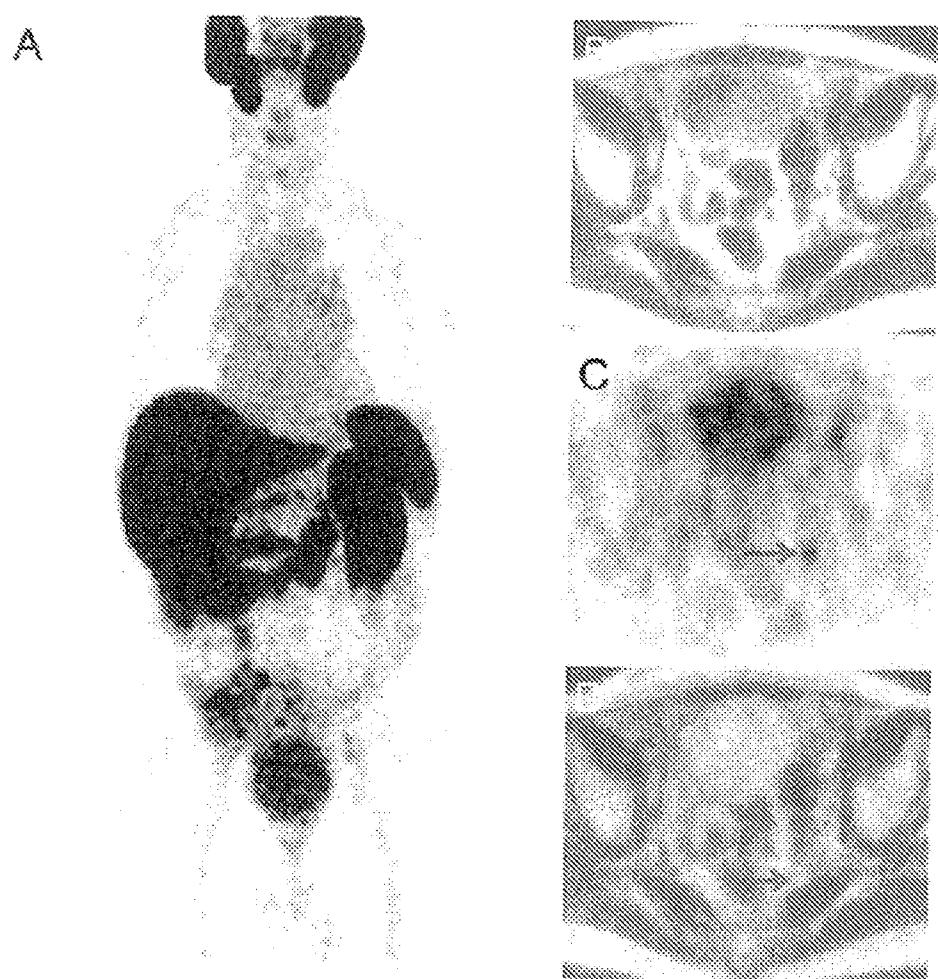


Figura 29  
Análisis de la biodistribución

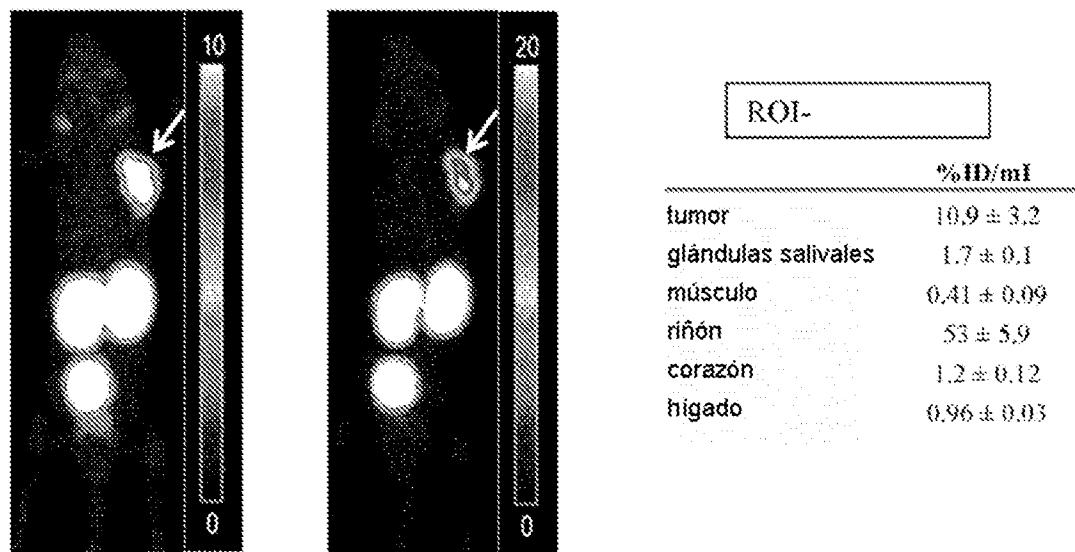


Figura 30

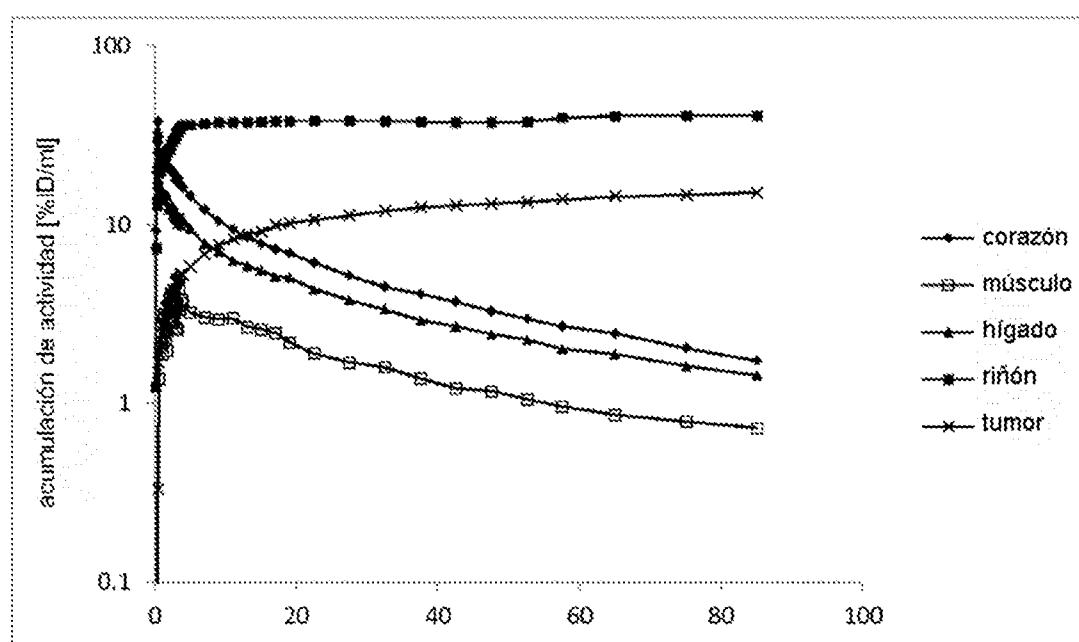
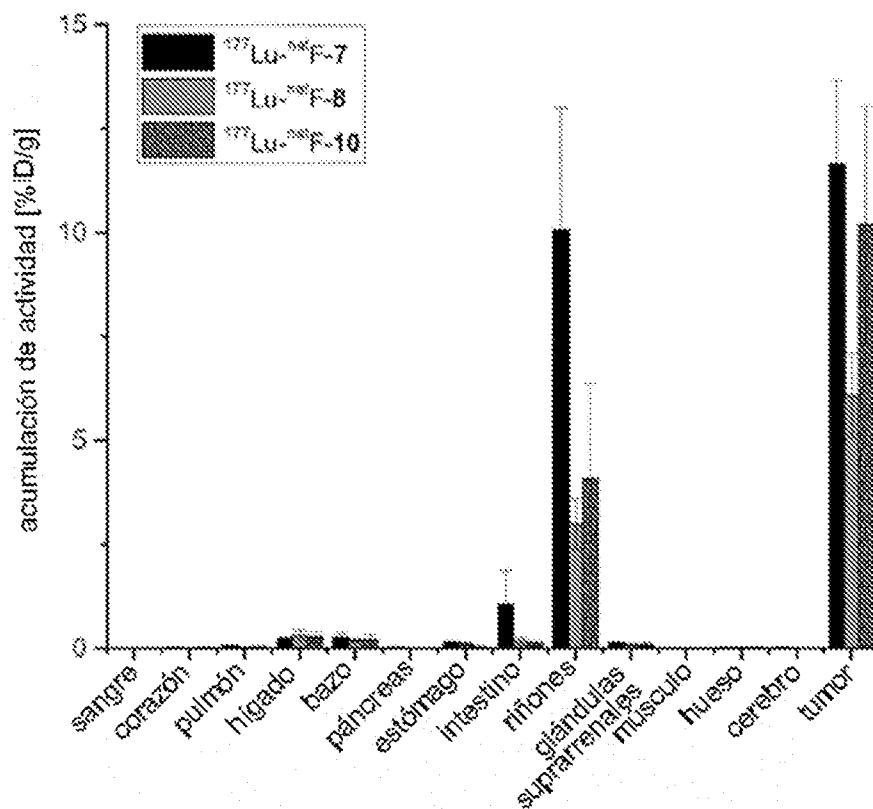
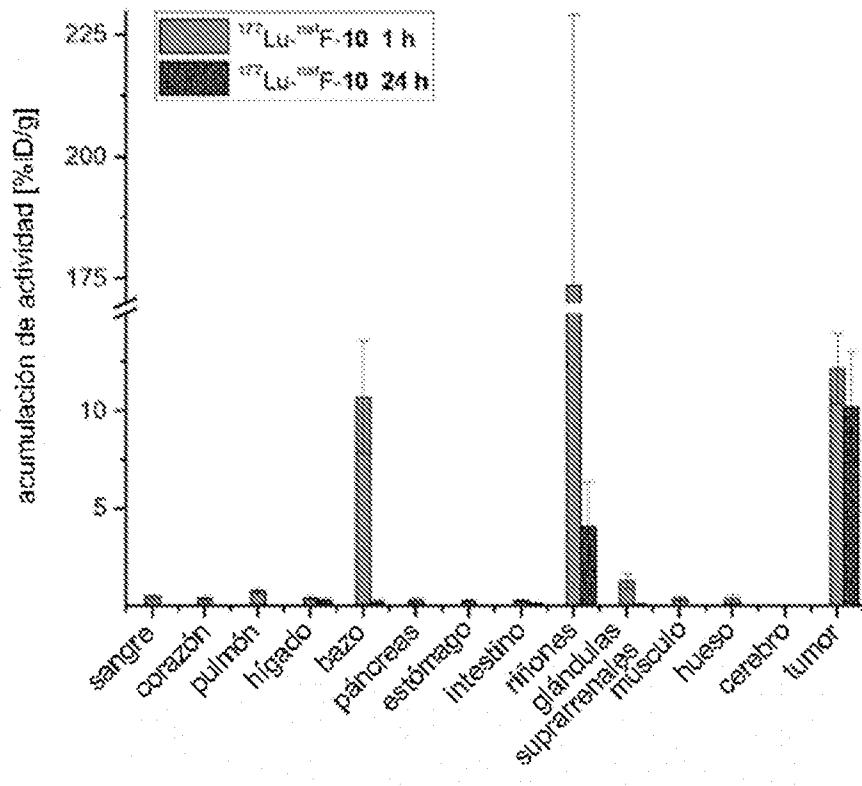


Figura 31



|               | <sup>177</sup> Lu-rh-7 | <sup>177</sup> Lu-rh-8 | <sup>177</sup> Lu-rh-10 |
|---------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| sangre        | 0.006 ± 0.001          | 0.002 ± 0.0004         | 0.004 ± 0.001           |
| corazón       | 0.03 ± 0.01            | 0.02 ± 0.007           | 0.03 ± 0.007            |
| pulmón        | 0.07 ± 0.01            | 0.04 ± 0.01            | 0.05 ± 0.007            |
| hígado        | 0.23 ± 0.03            | 0.31 ± 0.14            | 0.28 ± 0.13             |
| bazo          | 0.27 ± 0.09            | 0.20 ± 0.04            | 0.22 ± 0.11             |
| páncreas      | 0.02 ± 0.007           | 0.02 ± 0.005           | 0.02 ± 0.001            |
| estómago      | 0.15 ± 0.05            | 0.11 ± 0.04            | 0.04 ± 0.008            |
| intestino     | 1.1 ± 0.82             | 0.18 ± 0.09            | 0.11 ± 0.06             |
| riñones       | 10.1 ± 2.9             | 3.0 ± 0.62             | 4.1 ± 2.3               |
| suprarrenales | 0.13 ± 0.04            | 0.09 ± 0.03            | 0.09 ± 0.06             |
| músculo       | 0.01 ± 0.006           | 0.01 ± 0.003           | 0.01 ± 0.003            |
| hueso         | 0.03 ± 0.01            | 0.03 ± 0.007           | 0.02 ± 0.01             |
| cerebro       | 0.03 ± 0.02            | 0.009 ± 0.002          | 0.01 ± 0.003            |
| LNCaP         | 11.7 ± 2.0             | 6.08 ± 1.01            | 10.2 ± 2.8              |

Figura 32



|               | 1 h         | 24 h          |
|---------------|-------------|---------------|
| sangre        | 0.48 ± 0.15 | 0.004 ± 0.001 |
| corazón       | 0.42 ± 0.15 | 0.03 ± 0.007  |
| pulmón        | 0.80 ± 0.16 | 0.05 ± 0.007  |
| hígado        | 0.40 ± 0.13 | 0.28 ± 0.13   |
| bazo          | 10.7 ± 2.9  | 0.22 ± 0.11   |
| páncreas      | 0.31 ± 0.12 | 0.02 ± 0.001  |
| estómago      | 0.26 ± 0.08 | 0.04 ± 0.008  |
| intestino     | 0.28 ± 0.10 | 0.11 ± 0.06   |
| riñones       | 173 ± 55.5  | 4.1 ± 2.3     |
| suprarrenales | 1.3 ± 0.37  | 0.09 ± 0.06   |
| músculo       | 0.36 ± 0.10 | 0.01 ± 0.003  |
| hueso         | 0.37 ± 0.24 | 0.02 ± 0.01   |
| cerebro       | 0.05 ± 0.01 | 0.01 ± 0.003  |
| LNCaP         | 12.2 ± 1.8  | 10.2 ± 2.8    |

Figura 33

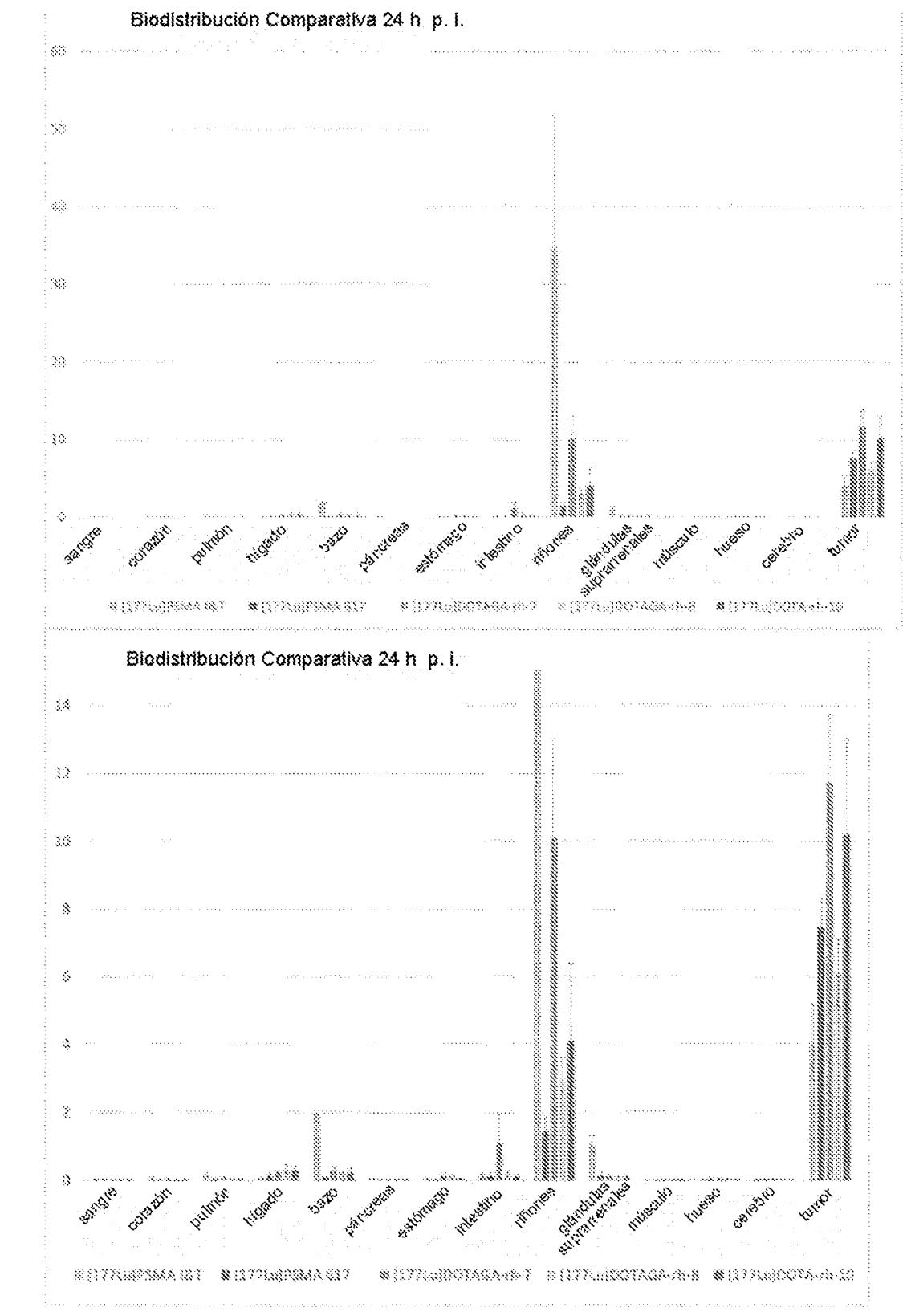


Figura 34

