República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020001785-0 A2

(22) Data do Depósito: 30/07/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 29/09/2020

(54) Título: RADIOTRAÇADOR E COMPOSTOS RADIOTERAPÊUTICOS BIMODAIS

(51) Int. Cl.: A61K 51/04; A61K 51/08.

(30) Prioridade Unionista: 28/07/2017 EP 17183795.8.

(71) Depositante(es): TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN; TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN - KLINIKUM RECHTS DER ISAR.

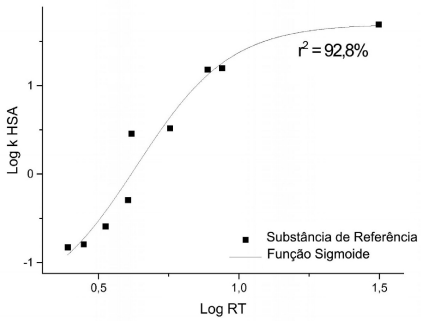
(72) Inventor(es): ALEXANDER JOSEF WURZER; HANS-JÜRGEN WESTER; MATTHIAS JOHANNES EIBER.

(86) Pedido PCT: PCT EP2018070533 de 30/07/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/020831 de 31/01/2019

(85) Data da Fase Nacional: 28/01/2020

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a um conjugado ligante-SIFA-quelante, o qual compreende, dentro de uma única molécula, três grupamentos distintos: (a) um ou mais ligantes que são capazes de ligar-se a uma molécula alvo relevante para uma doença, (b) um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de flúor, e (c) um ou mais grupos quelantes, contendo opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado.



"RADIOTRAÇADOR E COMPOSTOS RADIOTERAPÊUTICOS BIMODAIS"

CAMPO DA MATÉRIA REVELADA

[001] A presente invenção refere-se a um conjugado ligante-SIFA-quelante, o qual compreende, dentro de uma única molécula: (a) um ou mais ligantes que são capazes de ligar-se a uma molécula alvo relevante para uma doença, (b) um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de flúor e que pode ser marcado com ^{18}F pela troca isotópica de ^{19}F por ^{18}F ou que é marcado com ^{18}F, e (c) um ou mais grupos quelantes, contendo opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado.

[002]Neste relatório descritivo, vários documentos, inclusive pedidos de patente e manuais da fabricante, são citados. As revelações desses documentos, embora não tidas como relevantes para a patenteabilidade da presente invenção, incorporam-se ao presente documento por referência na íntegra. Mais especificamente, todos os documentos mencionados incorporam-se ao presente documento por referência como se cada documento individual fosse indicado específica e individualmente como incorporado por referência.

Câncer de próstata

[003]O câncer de próstata (PCa) permaneceu ao longo das últimas décadas como a doença maligna mais comum nos homens, com alta incidência de taxas de sobrevivência insatisfatórias. Por causa de sua superexpressão no câncer de próstata (Silver *et al.*, *Clinical Cancer Research* 3, 81-85 (1997)), o antígeno de membrana específico da próstata (PSMA), ou glutamato carboxipeptidase II (GCP II), provou sua aptidão como excelente alvo no desenvolvimento de agentes radiomarcados altamente sensíveis para a endorradioterapia e imagiologia do PCa (Afshar-Oromieh *et al.*, *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 42, 197-209 (2015); Benešová *et al.*, *Journal of Nuclear Medicine* 56, 914-920

(2015); Robu *et al.*, *Journal of Nuclear Medicine*, jnumed. 116.178939 (2016); Weineisen *et al.*; *Journal of Nuclear Medicine* 55, 1083-1083 (2014); Rowe *et al.*, *Prostate cancer and prostatic diseases* (2016); Maurer *et al.*, Nature Reviews Urology (2016)). O antígeno de membrana específico da próstata é uma hidrolase extracelular cujo centro catalítico compreende dois íons de zinco(II) com um ligante hidróxido fazendo a ponte. Ele é altamente suprarregulado em carcinomas de próstata metastáticos e refratários a hormônio, mas também há notícia de sua expressão fisiológica nos rins, glândulas salivares, intestino delgado, cérebro e, em menor medida, também no tecido saudável da próstata. No intestino, o PSMA facilita a absorção do folato pela conversão do pteroilpoli-α-glutamato em pteroilglutamato (folato). No cérebro, ele hidrolisa o N-acetil-L-aspartil-L-glutamato (NAAG) em N-acetil-L-aspartato e glutamato.

Antígeno de membrana específico da próstata (PSMA)

[004]O antígeno de membrana específico da próstata (PSMA) é uma glicoproteína transmembrana do tipo II que é altamente superexpressa nas células epiteliais no câncer de próstata. Apesar do nome, o PSMA também é expresso, em graus variados, na neovasculatura de uma ampla variedade de cânceres não prostáticos. Entre os cânceres não prostáticos mais comuns que exibem expressão do PSMA estão o carcinoma de mama, carcinoma de pulmão, carcinoma colorretal e carcinoma de células renais.

[005]As estruturas geralmente necessárias das moléculas que miram o PSMA compreendem uma unidade de ligação que abrange um grupo de ligação com zinco (tal como a ureia (Zhou *et al.*, *Nature Reviews Drug Discovery* 4, 1015-1026 (2005)), o fosfinato ou o fosforamidato) conectado a um grupamento glutamato P1', que garante alta afinidade e especificidade ao PSMA e tipicamente também está associado a uma funcionalidade efetora (Machulkin *et al.*, *Journal of drug targeting*, 1-15 (2016)). A parte efetora é mais flexível e, em alguma medida,

tolerante a modificações estruturais. O túnel de entrada acomoda dois outros traços estruturais proeminentes, que são importantes para a ligação do ligante. O primeiro é uma camada de arginina, uma área de carga positiva na parede do funil de entrada e a explicação mecanicista para a preferência por funcionalidades de carga negativa na posição P1 do PSMA. Esse parece ser o motivo para a incorporação preferencial de resíduos de carga negativa dentro do arcabouço do ligante. Uma análise aprofundada acerca do efeito das cargas positivas sobre ligantes do PSMA, até onde vai nosso conhecimento, ainda não foi concluída. Quando da ligação, o reposicionamento coordenado das cadeias laterais de arginina pode provocar a abertura de uma bolsa acessória hidrófoba S1, a segunda estrutura importante que provou acomodar um grupo iodo-benzila de vários inibidores à base de ureia, contribuindo assim para a alta afinidade pelo PSMA (Barinka *et al.*, *Journal of medicinal chemistry* 51, 7737-7743 (2008)).

[006]Zhang *et al.* descobriram um sítio de ligação remoto do PSMA, que pode ser usado para o modo de ligação bidentado (Zhang *et al.*, *Journal of the American Chemical Society* 132, 12711-12716 (2010)). O chamado sítio de ligação com arena é um motivo estrutural simples formado pelas cadeias de Arg463, Arg511 e Trp541 e faz parte do tampo de entrada para a GCPII. O engate ao sítio de ligação com arena por um grupamento inibidor distal pode resultar em um aumento significativo na afinidade do inibidor pelo PSMA devido a efeitos de avidez. O PSMA I&T foi desenvolvido com a intenção de interagir dessa maneira com o PSMA, embora nenhuma análise da estrutura cristalina do modo de ligação tenha sido disponibilizada. Um traço necessário, de acordo com Zhang *et al.*, é uma unidade ligante (ácido subérico no caso do PSMA I&T) que facilite uma configuração aberta do tampo de entrada para a GCPII e, com isso, permita a acessibilidade ao sítio de ligação com arena. Foi demonstrado ainda que a composição estrutural do ligante exerce impacto significativo sobre o direcionamento ao tumor e a atividade biológica,

bem como sobre o contraste na imagiologia e a farmacocinética (Liu *et al.*, *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 21, 7013-7016 (2011)), propriedades fundamentais para obter tanto alta qualidade na imagiologia quanto uma endorradioterapia direcionada eficaz.

[007]Duas categorias de inibidores direcionados ao PSMA são usadas atualmente nos ambientes clínicos. Por um lado, há traçadores com unidades quelantes para a complexação de radionuclídeos, tais como PSMA I&T ou compostos relacionados (Kiess *et al.*, *The quarterly journal of nuclear medicine and molecular imaging* 59, 241 (2015)). Por outro, há pequenas moléculas, que compreendem uma unidade de direcionamento e moléculas efetoras.

[008]Os agentes de uso mais frequente para a imagiologia seletiva do PSMA são 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)) e PSMA I&T (Weineisen *et al.*; *Journal of Nuclear Medicine* 55, 1083-1083 (2014)), que são predominantemente marcados com ^{68}Ga (88,9% de β^+, $E_{\beta+,\,max}$ = 1,89 MeV, $t_{½}$ = 68 min). Entre esses, o ^{68}Ga-PSMA-HBED-CC (também conhecido como ^{68}Ga-PSMA-11) é até agora considerado o padrão ouro para a imagiologia por PET do PCa.

Marcação com ^{18}F

[009]Recentemente, vários grupos vêm trabalhando no desenvolvimento de novos inibidores à base de ureia marcados com ^{18}F para o diagnóstico do PCa. À diferença do radiometal ^{68}Ga, que pode ser obtido por meio de geradores de radionuclídeos ^{68}Ge/^{68}Ga disponíveis na praça (^{68}Ge; $t_{½}$ = 270,8 d), o radioisótopo fluoreto-^{18}F (96,7% de β^+, $E_{\beta+,\,max}$ = 634 keV) requer um cíclotron *in loco* para sua produção. Apesar dessa limitação, o ^{18}F oferece, graças à sua meia-vida mais longa ($t_{½}$ = 109,8 min) e sua energia de pósitrons mais baixa, vantagens significativas em termos de manuseio rotineiro e qualidade das imagens. Além disso, existe a

possibilidade da produção em larga escala em um cíclotron, o que seria benéfico para o processamento de mais pacientes e uma redução nos custos de produção. O inibidor do PSMA à base de ureia marcado com ^{18}F ^{18}F-DCFPyl exibiu resultados promissores na detecção do PCa primário e metastático (Rowe *et al.*, Molecular Imaging and Biology, 1-9 (2016)) e superioridade em relação ao ^{68}Ga-PSMA-HBED-CC em um estudo comparativo (Dietlein *et al.*, Molecular Imaging and Biology 17, 575-584 (2015)). Com base na estrutura do PSMA-617, desenvolveu-se recentemente o análogo marcado com ^{18}F PSMA-1007, que exibiu razões tumor para órgão equiparáveis (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)) Um estudo comparativo com o ^{68}Ga-PSMA-HBED-CC revelou uma precisão diagnóstica semelhante em ambos os traçadores e uma depuração urinária reduzida do ^{18}F-PSMA-1007, permitindo uma melhor avaliação da próstata (Giesel *et al.*, *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 44, 678-688 (2017)).

[010]Uma abordagem atrativa para introduzir marcadores de ^{18}F é o uso de aceitantes de fluoreto de silício (SIFA). Os aceitantes de fluoreto de silício são descritos, por exemplo, em Lindner *et al.*, *Bioconjugate Chemistry* 25, 738-749 (2014). A fim de preservar a ligação silício-fluoreto, o uso de aceitantes de fluoreto de silício introduz a necessidade por grupos estericamente exigentes em torno do átomo de silicone. Isso, por sua vez, torna os aceitantes de fluoreto de silício altamente hidrófobos. Em termos de ligação com a molécula alvo, em especial quando a molécula alvo é o PSMA, o grupamento hidrófobo proporcionado pelo aceitante de fluoreto de silicone pode ser aproveitado com a finalidade de estabelecer interações do composto radiodiagnóstico ou radioterapêutico com a bolsa hidrófoba descrita em Zhang *et al.*, *Journal of the American Chemical Society* 132, 12711-12716 (2010). Ainda assim, antes da ligação, o grau mais alto de lipofilia

introduzido na molécula impõe um grave problema no que diz respeito ao desenvolvimento de compostos radiofarmacêuticos com biodistribuição *in vivo* adequada, isto é, baixa ligação não específica no tecido não mirado.

Falha em solucionar o problema da hidrofobia

[011]Apesar de muitas tentativas, o problema da hidrofobia causada pelos aceitantes de fluoreto de silício não foi solucionado de maneira satisfatória na técnica anterior.

[012]Melhor explicando, Schirrmacher E. *et al.* (Bioconjugate Chem. 2007, 18, 2085-2089) sintetizaram diferentes peptídeos marcados com ^{18}F usando o sínton marcador altamente eficaz p-(di-*terc*-butilfluorosilil)benzaldeído ([^{18}F]SIFA-A), que é um exemplo de aceitante de fluoreto de silício. A técnica do SIFA resultou em uma troca isotópica ^{19}F–^{18}F inesperadamente eficaz e produziu o ^{18}F-sínton em rendimentos quase quantitativos com atividades altamente específicas entre 225 e 680 GBq/µmol (6081–18 378 Ci/mmol) sem aplicar a purificação por HPLC. O [^{18}F]SIFA-benzaldeído foi enfim usado para marcar os peptídeos derivados do amino-óxi N-terminal (N-AO) AO-Tyr3-octreotato (AO-TATE), ciclo(fK(AO-N)RGD) e N-AO-PEG_2-[D-Tyr-Gln-Trp-Ala-Val-Ala-His-Thi-Nle-NH_2] (AO-BZH3, um derivado da bombesina) com altos rendimentos radioquímicos. Todavia, os peptídeos marcados são altamente lipófilos (como pode-se deduzir dos tempos de retenção na HPLC usando as condições descritas nesse artigo) e, portanto, são inadequados para uma avaliação mais aprofundada em modelos animais ou seres humanos.

[013]Em Wängler C. *et al.* (*Bioconjugate Chem.*, 2009, 20 (2), pp. 317-321), descreveu-se a primeira radiofluoretação com *kit* com base no SIFA de uma proteína (albumina sérica de rato, RSA). Como agente marcador, produziu-se o 4-(di-*terc*-butil[^{18}F]fluorosilil)benzenetiol (Si[^{18}F]FA-SH) por uma troca isotópica simples com rendimento radioquímico de 40% a 60% (RCY), com o produto acoplado diretamente à albumina sérica derivada da maleimida com um RCY geral de 12% dentro de 20 a

30 min. Esse procedimento de marcação tecnicamente simples não requer nenhum procedimento de purificação complicado e é um exemplo bastante direto de uma aplicação bem-sucedida do composto químico Si–^{18}F na imagiologia por PET *in vivo*. As curvas tempo-atividade e imagens por µPET de camundongos mostraram que a maior parte da atividade localizou-se no fígado, demonstrando assim que o agente marcador é muito lipófilo e direciona a sonda *in vivo* à excreção hepatobiliar e vasto metabolismo hepático.

[014]Wängler C. *et al.* (vide *Bioconjug Chem*. 15 de dezembro de 2010; 21(12):2289-96), posteriormente tentou superar a principal desvantagem da tecnologia SIFA, a alta lipofilia dos compostos radiofarmacêuticos resultantes, sintetizando e avaliando novos análogos de SIFA-octreotato (SIFA-Tyr3-octreotato, SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-Tyr3-octreotato e SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-PEG-Tyr3-octreotato). Nesses compostos, introduziram-se ligantes e modificadores farmacocinéticos hidrófilos entre o peptídeo e o grupamento SIFA, a saber, um carboidrato e um ligante PEG mais um carboidrato. Como medida da lipofilia dos conjugados, o log P(ow) foi determinado e revelou-se de 0,96 para o SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-PEG-Tyr^3-octreotato e de 1,23 para o SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-Tyr^3-octreotato. Esses resultados demonstram que, aplicando grupamentos hidrófilos, a alta lipofilia do grupamento SIFA só pode ser marginalmente compensada. Um primeiro estudo de imagiologia exibiu depuração/absorção hepática excessiva e, portanto, nunca foi transferido a um primeiro estudo humano.

[015]Bernard-Gauthier *et al.* (*Biomed Res Int*. 2014; 2014:454503) examinaram uma grande pletora de diferentes espécimes de SIFA que foram divulgados na literatura, variando de pequenos grupos protéticos e outros compostos de baixo peso molecular a peptídeos marcados e, mais recentemente, moléculas de aficorpo. Com base nesses dados, o problema da lipofilia dos grupos protéticos à base de SIFA ainda não foi solucionado; isto é, uma metodologia que reduza a

lipofilia geral de um peptídeo conjugado com SIFA a um Log D inferior a cerca de -2,0 ainda não foi descrita.

[016]Em Lindner S. *et al.* (*Bioconjug Chem*. 16 de abril de 2014; 25(4):738-49), descreve-se que derivados da bombesina PEGuilada (PESIN), como ligantes receptores de GRP, e peptídeos RGD (códigos de uma letra para arginina-glicina-ácido aspártico), como aglutinantes αvβ3 específicos, foram sintetizados e marcados com um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) Para compensar a alta lipofilia do grupamento SIFA, várias modificações à estrutura lipófila foram introduzidas, levando a valores de logD reduzidos. SIFA-Asn(AcNH-β-Glc)-PESIN, SIFA-Ser(β-Lac)-PESIN, SIFA-Cya-PESIN, SIFA-LysMe3-PESIN, SIFA-γ-carbóxi-d-Glu-PESIN, SIFA-Cya2-PESIN, SIFA-LysMe3-γ-carbóxi-d-Glu-PESIN, SIFA-(γ-carbóxi-d-Glu)2-PESIN, SIFA-RGD, SIFA-γ-carbóxi-d-Glu-RGD, SIFA-(γ-carbóxi-d-Glu)2-RGD, SIFA-LysMe3-γ-carbóxi-d-Glu-RGD, todos esses peptídeos – já aprimorados e derivatizados com o objetivo de reduzir a lipofilia – exibiram um valor logD na faixa entre +2 e -1,22.

[017]Em Niedermoser S. *et al.* (*J Nucl Med*. Julho de 2015; 56(7):1100-5), derivados recém-desenvolvidos do TATE modificados com ^{18}F-SIFA e ^{18}F-SIFAlin (SIFA = aceitante de fluoreto de silício) foram comparados ao padrão ouro clínico atual ^{68}Ga-DOTATATE quanto à imagiologia de alta qualidade de tumores com receptores da somatostatina. Com essa finalidade, o ^{18}F-SIFA-TATE e dois análogos um tanto complexos, ^{18}F-SIFA-Glc-PEG1-TATE e ^{18}F-SIFAlin-Glc-Asp2-PEG1-TATE, foram desenvolvidos. Nenhum dos agentes exibiu um logD ≤1,5.

[018]Em vista do disposto acima, o problema técnico subjacente à presente invenção pode ser sumarizado em propor compostos radiodiagnósticos e radioterapêuticos que contenham um aceitante de fluoreto de silicone e que sejam, ao mesmo tempo, caracterizados por propriedades *in vivo* favoráveis.

[019]Como transparecerá na descrição a seguir, a presente invenção

estabeleceu uma prova de conceito usando conjugados específicos que ligam-se com alta afinidade ao antígeno específico da próstata (PSMA) como alvo. Logo, outro problema técnico subjacente à presente invenção pode ser sumarizado em propor compostos radioterapêuticos e radiodiagnósticos aprimorados para a indicação médica do câncer, de preferência câncer de próstata.

[020]Esses problemas técnicos são satisfeitos pela matéria estipulada nas reivindicações. Logo, em um primeiro aspecto, a presente invenção refere-se a um conjugado ligante-SIFA-quelante, o qual compreende, dentro de uma única molécula: (a) um ou mais ligantes que são capazes de ligar-se a uma molécula alvo relevante para uma doença, (b) um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de flúor e que pode ser marcado com ^{18}F pela troca isotópica de ^{19}F por ^{18}F ou que é marcado com ^{18}F, e (c) um ou mais grupos quelantes, contendo opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado.

[021]O conjugado ligante-SIFA-quelante compreende três grupamentos distintos. Os três grupamentos distintos são (a) um ou mais ligantes que são capazes de ligar-se a uma molécula alvo relevante para uma doença, (b) um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de flúor, e (c) um ou mais grupos quelantes, contendo opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado.

[022]O átomo de flúor no grupamento SIFA pode ser ^{19}F ou ^{18}F.

[023]Embora certos ligantes capazes de ligar-se a uma molécula alvo relevante para uma doença possam ser peptídeos cíclicos, estes não são considerados grupos quelantes conforme estabelecido neste documento uma vez que o problema do grupamento SIFA hidrófobo não é resolvido na ausência de um grupo quelante adicional. Sendo assim, os compostos da invenção requerem um grupo quelante hidrófilo além dos ligantes capazes de ligar-se a uma molécula alvo

relevante para uma doença. O grupo quelante hidrófilo precisa reduzir a natureza hidrófoba dos compostos causada pela presença do grupamento SIFA.

[024]O ligante relacionado ao primeiro aspecto da invenção é definido em termos funcionais. É por isso que a presente invenção não se vale da natureza específica do ligante em termos estruturais. Em vez disso, um aspecto chave da invenção é a combinação, dentro de uma única molécula, de um aceitante de fluoreto de silício e de um quelante ou quelato. Esses dois elementos estruturais, SIFA e o quelante, exibem proximidade espacial. De preferência, a distância mais curta entre dois átomos dos dois elementos é menor ou igual a 25 Å, mais preferivelmente menor que 20 Å e, mais preferivelmente ainda, menor que 15 Å. Como alternativa, ou em aditamento, é preferível que não mais que 25 ligações covalentes separem um átomo do grupamento SIFA e um átomo do quelante, de preferência não mais que 20 ligações químicas e, mais preferivelmente ainda, não mais que 15 ligações químicas.

[025]O cátion de acordo com o item (c) do primeiro aspecto é um cátion radioativo ou não radioativo. Ele é, de preferência, um cátion de metal radioativo ou não radioativo e, mais preferivelmente, um cátion de metal radioativo. Exemplos são dados mais abaixo.

[026]Por conseguinte, enquadram-se nos termos do primeiro aspecto conjugados que são marcados radioativamente tanto no grupamento SIFA quanto no grupo quelante, moléculas que são marcadas radioativamente em apenas um dos dois lados, bem como moléculas que não são sequer radiomarcadas. No último caso, o grupo quelante pode ser ou um complexo de um íon frio (não radioativo) ou isento de qualquer íon.

[027]Para surpresa geral, os inventores da presente invenção descobriram que o posicionamento do aceitante de fluoreto de silício nas cercanias de um quelante hidrófilo, tal como, entre outros, DOTAGA ou DOTA, protege ou compensa

com eficácia a lipofilia do SIFA a tal ponto que muda a hidrofobia geral do composto radioterapêutico ou radiodiagnóstico em uma medida tal que torna o composto adequado para a administração *in vivo*.

[028]Além disso, a combinação do uso de um quelante e de uma troca isotópica no SIFA por meio do ^{18}F-fluoreto também resulta em traçadores diagnósticos "pareados" que podem ser usados como [^{18}F][^{nat}Íon]traçadores em centros com um cíclotron *in loco* ou em centros que obtêm ^{18}F-fluoreto por remessa de centros com um cíclotron, ao passo que, em centros que não têm acesso ao ^{18}F-fluoreto mas têm acesso a geradores de radioisótopos, tais como um gerador de Ge-68/Ga-68, as versões correspondentes, por exemplo, [^{nat}F][^{68}Ga]traçadores, podem ser usadas.

[029]Importantemente, em ambos os casos, o composto radiofarmacêutico quimicamente idêntico é injetado e, portanto, não espera-se nenhuma diferença no comportamento *in vivo*. Ao passo que, atualmente, devido a diferenças químicas, os dados clínicos de um composto marcado com ^{18}F obtidos de um coorte de pacientes em um sítio não podem ser comparados diretamente aos dados clínicos de um ^{68}Ga-análogo obtidos de outro grupo em outro local, os compostos radiofarmacêuticos e/ou diagnósticos de acordo com a invenção podem ser comparados diretamente e, portanto, permitirão o cruzamento desses dados (por exemplo, dados de um centro na Europa que trabalha com o F-18 e de outro centro, na Índia, que trabalha com o Ga-68).

[030]Além disso, quando selecionado adequadamente, o quelato também pode ser usado para marcar um isótopo terapêutico, tal como os isótopos beta-emissores Lu-177, Y-90 ou o isótopo alfa-emissor Ac-225, possibilitando assim expandir o conceito de traçadores "pareados" para abarcar compostos radiofarmacêuticos diagnósticos ([^{18}F][^{nat}Lu]traçadores) e terapêuticos ([^{nat}F][^{177}Lu]traçadores).

[031]Outra vantagem dos compostos, em especial dos compostos direcionados ao PSMA da presente invenção, é seu acúmulo surpreendentemente baixo nos rins de camundongos em comparação a outros compostos radiofarmacêuticos direcionados ao PSMA, tais como PSMA I&T. Sem nos prender a nenhuma teoria específica, parece que é a combinação do elemento estrutural SIFA com um quelante que produz a redução inesperada do acúmulo nos rins.

[032]Em termos de liofilia/hidrofilia, o valor de logP (por vezes também chamado de valor de logD) é uma medida consagrada na técnica.

[033]O termo "lipofilia" refere-se à força de dissolução, ou absorção, em soluções lipídicas ou de absorção em uma superfície ou matriz afim à lipídica. Ele indica a preferência por lipídios (literalmente) ou por líquidos orgânicos ou apolares ou por líquidos, soluções ou superfícies com um pequeno movimento bipolar em comparação à água. O termo “hidrofobia” é usado com sentido equivalente neste documento. Os adjetivos lipófilo e hidróbobo são usados com sentido correspondente aos substantivos descritos acima.

[034]O fluxo de massa de uma molécula na interface de dois solventes imiscíveis ou substancialmente imiscíveis é ditada por sua lipofilia. Quanto mais lipófila a molécula, mais solúvel ela é na fase orgânica lipófila. O coeficiente de partição de uma molécula observado entre a água e o n-octanol foi adotado como a medida padrão para a lipofilia. O coeficiente de partição P de uma espécie A é dado pela razão $P = [A]_{n\text{-octanol}} / [A]_{água}$. Um valor comumente divulgado é o valor de logP, que é o logaritmo do coeficiente de partição. Caso uma molécula seja ionizável, várias microespécies diferentes (formas ionizadas e não ionizadas da molécula) far-se-ão, em princípio, presentes em ambas as fases. A quantidade que descreve a lipofilia geral de uma espécie ionizável é o coeficiente de distribuição D, dado pela razão $D = [\text{soma das concentrações de todas as microespécies}]_{n\text{-octanol}} / [\text{soma das concentrações de todas as microespécies}]_{água}$. Análogo a logP, frequentemente o

logaritmo do coeficiente de distribuição, logD, é divulgado. Muitas vezes, um sistema tampão, tal como tampão fosfato-salino, é usado como alternativa à água na determinação de logP descrita acima.

[035]Se o caráter lipófilo de um substituinte em uma primeira molécula for avaliado e/ou determinado quantitativamente, pode-se avaliar uma segunda molécula correspondente a esse substituinte, em que a referida segunda molécula é obtida, por exemplo, quebrando a ligação que conecta o referido substituinte ao restante da primeira molécula e conectando a(s) valência(s) livre(s) assim obtida(s) ao(s) hidrogênio(s).

[036]Como alternativa, a contribuição do substituinte para o logP de uma molécula pode ser determinada. A contribuição π_{Xx} de um substituinte X para o logP de uma molécula R-X é dada por $\pi_{Xx} = \log P_{R-X} - \log P_{R-H}$, em que R-H é o composto-pai não substituído.

[037]Valores de P e D maiores que um, bem como valores de logP, logD e π_{Xx} maiores que zero, indicam um caráter lipófilo/hidrófobo, ao passo que valores de P e D menores que um, bem como valores de logP, logD e π_{Xx} menores que zero, indicam um caráter hidrófilo das respectivas moléculas ou substituintes.

[038]Os parâmetros descritos acima que caracterizam a lipofilia do grupo lipófilo ou da molécula inteira de acordo com a invenção podem ser determinados por meios experimentais e/ou previstos por métodos computacionais conhecidos na técnica (vide, por exemplo, Sangster, *Octanol-water Partition Coefficients: fundamentals and physical chemistry*, John Wiley & Sons, Chichester (1997)).

[039]Em uma modalidade preferida, o valor de logP dos compostos da invenção é entre -5 e -1,5. É particularmente preferível que o valor de logP seja entre -3,5 e -2,0.

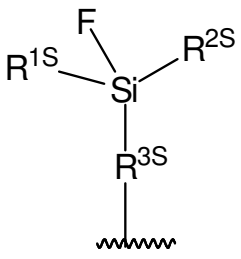
[040]Em uma modalidade preferida, um ligante de acordo com a invenção compreende ou consiste em um peptídeo, uma ureia peptidomimética ou uma ureia

substituída, os substituintes incluindo aminoácidos. Entende-se que um ligante que compreende um peptídeo ou peptideomimético também compreende uma parte não peptídica ou não peptídeomimética. Em termos de peso molecular, dá-se preferência a pesos moleculares abaixo de 15 kDa, abaixo de 10 kDa ou abaixo de 5 kDa. Logo, pequenas proteínas também são abrangidas pelo termo "ligante". As moléculas alvo não são particularmente limitadas e incluem enzimas, receptores, epítopos, transportadores, moléculas de superfície celular e proteínas da matriz extracelular. São preferíveis alvos que sejam relevantes à doença. São particularmente preferidos alvos que estejam causalmente envolvidos em dada doença, ou que sejam altamente superexpressos em dada doença e/ou cuja inibição poderia promover um efeito benéfico em um paciente que sofre de dada doença. Os ligantes são de preferência ligantes de alta afinidade com uma afinidade preferível, expressa por IC_{50}, abaixo de 50 nM, abaixo de 20 nM ou abaixo de 5 nM.

[041]São especialmente preferíveis os ligantes que ligam-se com alta afinidade a moléculas alvo relevantes para uma doença ou a biomoléculas relevantes para uma doença, inclusive, entre outros, a receptores de somatostatina, receptores de bombesina, receptores de quimiocina, receptores de integrina, receptores de colecistoquinina, receptores de melanocortina, receptores de peptídeos intestinais vasoativos, receptores de neurotensina, receptores de neuropeptídeos Y, receptores de neuroquinina, receptores do peptídeo semelhante ao glucacon 1, receptores Her2, PD-L1, PD-1, receptores do hormônio liberador de gonadotropina e antígenos de membrana específico da próstata (PSMA).

[042]O termo “relevante para uma doença” refere-se, de preferência, a um envolvimento causal na doença.

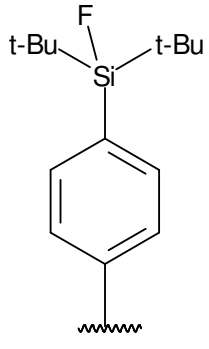
[043]De preferência, o grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) tem a estrutura representada pela fórmula (I):



(I),

em que R^{1S} e R^{2S} são independentemente um grupo alquila C_3 a C_{10} linear ou ramificado, de preferência R^{1S} e R^{2S} são selecionados dentre isopropila e *terc*-butila, e mais preferivelmente R^{1S} e R^{2S} são *terc*-butila; R^{3S} é um grupo de hidrocarbonetos C_1 a C_{20} que pode compreender uma ou mais unidades aromáticas e uma ou mais unidades alifáticas e/ou até 3 heteroátomos selecionados dentre O e S, de preferência R^{3S} é um grupo de hidrocarbonetos C_6 a C_{10} que compreende um anel aromático e que pode compreender uma ou mais unidades alifáticas; mais preferivelmente R^{3S} é um anel fenila, e mais preferivelmente ainda R^{3S} é um anel fenila em que o substituinte contendo Si e a ligação indicada por ~~~ encontram-se em uma para-posição, e em que o grupamento SIFA liga-se ao restante do conjugado através da ligação indicada por ~~~ .

[044]Mais preferivelmente, o grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) tem a estrutura representada pela fórmula (Ia):



(Ia),

em que t-Bu indica um grupo *terc*-butila.

[045]Um grupo quelante preferido compreende ao menos um dos itens (i), (ii) ou (iii) a seguir.

(i) Uma estrutura de anel macrocíclico com 8 a 20 átomos de anel, dos quais 2 ou mais, mais preferivelmente 3 ou mais, são selecionados dentre átomos de

oxigênio ou átomos de nitrogênio. De preferência, 6 ou menos átomos de anel são selecionados dentre átomos de oxigênio ou átomos de nitrogênio. É especialmente preferível que 3 ou 4 átomos de anel sejam átomos de nitrogênio ou átomos de oxigênio. Dentre os átomos de oxigênio e nitrogênio, dá-se preferência aos átomos de nitrogênio. Em combinação à estrutura de anel macrocíclico, o grupo quelante preferido pode compreender 2 ou mais, tal como de 2 a 6, mais preferivelmente de 2 a 4, grupos carboxila e/ou grupos hidroxila. Dentre os grupos carboxila e os grupos hidroxila, dá-se preferência aos grupos carboxila.

(ii) Uma estrutura quelante, acíclica e de cadeia aberta com 8 a 20 átomos na cadeia principal (*backbone*), dos quais 2 ou mais, mais preferivelmente 3 ou mais, são heteroátomos selecionados dentre átomos de oxigênio ou átomos de nitrogênio. De preferência, 6 ou menos átomos no *backbone* são selecionados dentre átomos de oxigênio ou átomos nitrogênio. Dentre os átomos de oxigênio e nitrogênio, dá-se preferência aos átomos de nitrogênio. Mais preferivelmente, a estrutura quelante de cadeia aberta é uma estrutura que compreende uma combinação de 2 ou mais, mais preferivelmente 3 ou mais, heteroátomos selecionados dentre átomos de oxigênio ou átomos de nitrogênio, e 2 ou mais, tal como de 2 a 6, de preferência de 2 a 4, grupos carboxila e/ou grupos hidroxila. Dentre os grupos carboxila e os grupos hidroxila, dá-se preferência aos grupos carboxila.

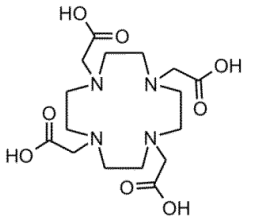
(iii) Uma estrutura quelante ramificada contendo um átomo de carbono quaternário. De preferência, o átomo de carbono quaternário é substituído com 3 grupos quelantes idênticos além do grupamento SIFA/ligante. Os grupos quelantes substituídos podem compreender uma amida. Os grupos quelantes substituídos podem compreender um grupo aromático. Os grupos quelantes substituídos podem compreender uma hidroxipiridinona.

[046]Em exemplos específicos preferidos, o grupo quelante é um resíduo de um agente quelante selecionado dentre bis(carboximetil)-1,4,8,11-

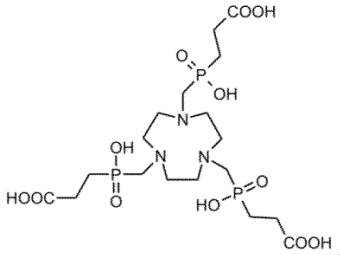
tetraazabiciclo[6.6.2]hexadecano (CBTE2a), ácido ciclohexil-1,2-diaminatetracético (CDTA), ácido 4-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradec-1-il)-metilbenzoico (CPTA), N'-[5-[acetil(hidróxi)amino]pentil]-N-[5-[[4-[5-aminopentil-(hidróxi)amino]-4-oxobutanoil]amino]pentil]-N-hidroxibutandiamida (DFO), 4,11-bis(carboximetil)-1,4,8,11-tetraazabiciclo[6.6.2]hexadecano (DO2A), ácido 1,4,7,10-tetraciclododecano-N,N',N'',N'''-tetracético (DOTA), ácido α-(2-carboxietil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetracético (DOTAGA), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-1,4,7,10-tetra(metileno)fosfônico (DOTMP), N,N'-dipiridoxiletilenodiamina-N,N'-diacetato-5,5'-bis(fosfato) (DPDP), ácido dietileno-triamina-N,N',N''-penta(metileno)fosfônico (DTMP), ácido dietilenotriaminapentacético (DTPA), ácido etilenodiamina-N,N'-tetracético (EDTA), ácido etilenoglicol-O,O-bis(2-aminoetil)-N,N,N',N'-tetracético (EGTA), ácido N,N-bis(hidroxibenzil)-etilenodiamina-N,N'-diacético (HBED), ácido hidroxietildiaminatriacético (HEDTA), 1-(p-nitrobenzil)-1,4,7,10-tetraazaciclodecan-4,7,10-triacetato (HP-DOA3), 6-hidrazinil-N-metilpiridina-3-carboxamida (HYNIC), quelantes de tetra-3-hidróxi-N-metil-2-piridinona (ácido 4-((4-(3-(bis(2-(3-hidróxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridina-4-carboxamido)etil)amino)-2-((bis(2-(3-hidróxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridina-4-carboxamido)etil)amino)metil)propil)fenil)amino)-4-oxobutanoico), abreviado Me-3,2-HOPO, ácido 1,4,7-triazaciclononano-1-succínico-ácido 4,7-diacético (NODASA), 1-(1-carbóxi-3-carboxipropil)-4,7-(carbóxi)-1,4,7-triazaciclononano (NODAGA), ácido 1,4,7-triazaciclononanotriacético (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-tetracético (TETA), tris(hidroxipiridinona) (THP), terpiridin-bis(ácido metilenoamintetracético (TMT), 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-tris[ácido metileno(2-carboxietil)fosfínico] (TRAP), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclotridecan-N,N',N'',N'''-tetracético (TRITA), ácido 3-[[4,7-bis[[2-carboxietil(hidróxi)fosforil]metil]-1,4,7-triazonan-1-il]metil-hidróxi-fosforil]propanoico, e

ácido trietilenotetraminahexacético (TTHA), cujo resíduo é obtido ligando covalentemente um grupo carboxila contido no agente quelante ao restante do conjugado através de uma ligação éster ou amida.

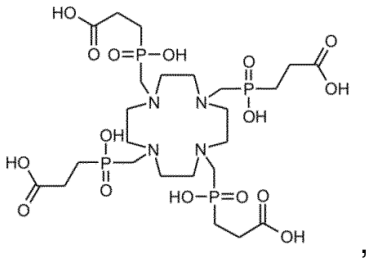
[047]Quelantes específicos são ilustrados abaixo.



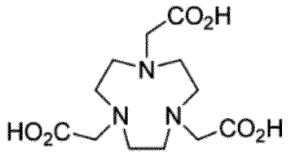
DOTA



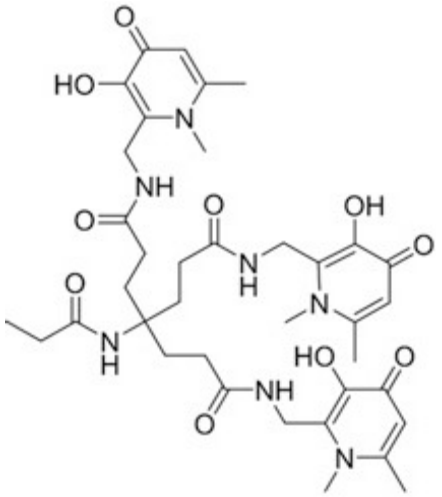
TRAP



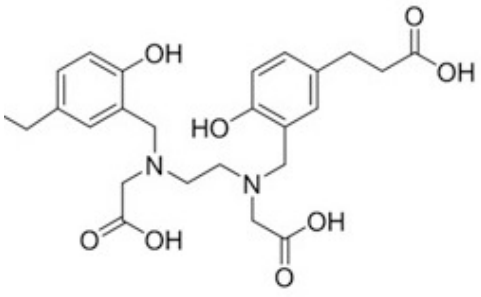
DOTPI



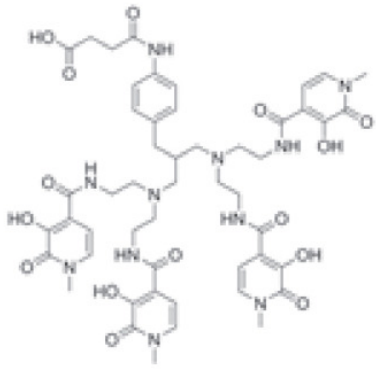
NOTA



THP



HBED



Me-3,2-HOPO

[048]Dentre os agentes quelantes exemplificativos acima, dá-se preferência particular a um agente quelante selecionado dentre TRAP, DOTA e DOTAGA.

[049]Compostos macrocíclicos e acíclicos quelantes de metais ou quelantes de cátions são bem conhecidos na técnica e disponibilizados por várias fabricantes. Embora o grupamento quelante de acordo com a presente invenção não seja particularmente restrito, entende-se que vários grupamentos disponíveis no mercado podem ser usados pelos versados na técnica sem problemas.

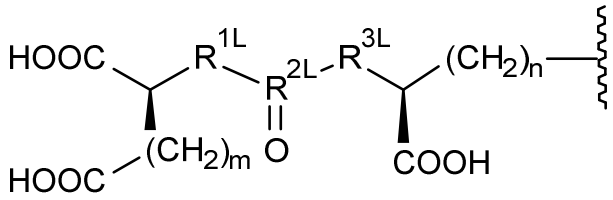
[050]O grupo quelante pode compreender um cátion quelado que pode ser radioativo ou não radioativo, de preferência um cátion de metal quelado que pode ser radioativo ou não radioativo. Mais preferido é um isótopo de metal radioativo quelado.

[051]Exemplos preferidos de cátions que podem ser quelados pelo grupo quelante são os cátions 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, <Tc, ^{99m}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, uma molécula catiônica compreendendo ^{18}F ou um cátion tal como ^{18}F-[AlF]$^{2+}$; mais preferivelmente cátions 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, ^{212}Bi, ^{213}Bi, ^{225}Ac e ^{227}Th ou uma molécula catiônica compreendendo ^{18}F.

[052]Ao usar aglutinantes de PSMA como exemplo, os inventores da presente invenção reduziram a invenção revelada acima à prática. Essa é a matéria de estudo dos aspectos e modalidades preferidos revelados a seguir. Ainda assim, a descoberta surpreendente feita pelos inventores da presente invenção – compensação da lipofilia do grupamento SIFA em grau surpreendente – não se limita a moléculas compreendendo um aglutinante de PSMA.

[053]Logo, o ligante é preferivelmente capaz de ligar-se ao antígeno de membrana específico da próstata (PSMA).

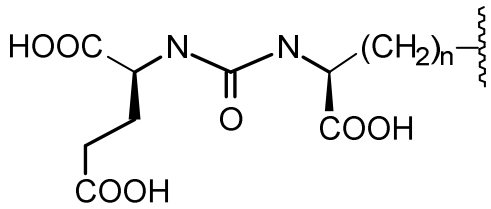
[054]Mais preferivelmente, o ligante tem a estrutura representada pela fórmula (II):



(II)

em que m é um número inteiro de 2 a 6, de preferência de 2 a 4, mais preferivelmente 2; n é um número inteiro de 2 a 6, de preferência de 2 a 4, mais preferivelmente 2 ou 3; R^{1L} é CH_2, NH ou O, de preferência NH; R^{3L} é CH_2, NH ou O, de preferência NH; R^{2L} é C ou P(OH), de preferência C; e em que o ligante liga-se ao restante do conjugado através da ligação indicada por ~~~~.

[055]O ligante pode ter a estrutura representada pela fórmula (IIa):

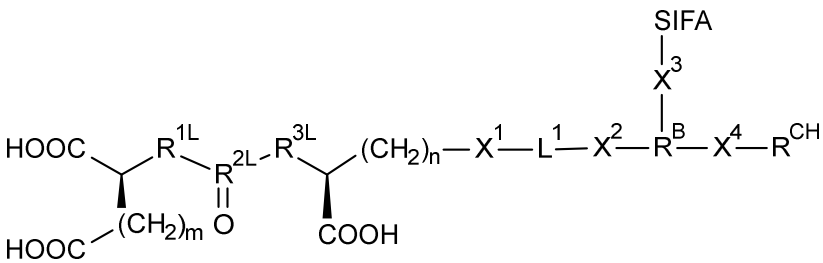


(IIa)

em que n é um número inteiro de 2 a 6; e em que o ligante liga-se ao restante do conjugado através da ligação indicada por ~~~~.

[056]Na técnica, há conhecimento de vários aglutinantes de PSMA que são todos adequados de acordo com a presente invenção. A modalidade preferida acima é uma definição estrutural de um grupo preferido de aglutinantes de PSMA.

[057]É particularmente preferido que o conjugado do primeiro aspecto seja um composto de fórmula (III):



(III)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

SIFA é um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de fluoreto e que pode ser marcado com ^{18}F pela troca isotópica de ^{19}F por ^{18}F ou que é marcado com ^{18}F; de preferência SIFA é o grupamento SIFA da fórmula (I) e, mais preferivelmente, da fórmula (Ia) definida acima;

m é um número inteiro de 2 a 6, de preferência 2 ou 3, mais preferivelmente 2;

n é um número inteiro de 2 a 6, de preferência 2 ou 3, mais preferivelmente 2 ou 4;

R^{1L} é CH_2, NH ou O, de preferência NH;

R^{3L} é CH_2, NH ou O, de preferência NH;

R^{2L} é C ou P(OH), de preferência C;

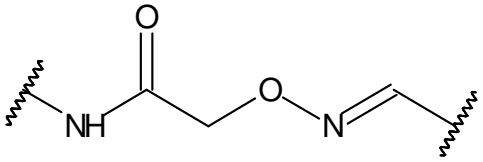
X^1 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia e uma ligação amina, de preferência uma ligação amida;

X^2 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia e uma ligação amina, de preferência uma ligação amida;

L^1 é um grupo ligante bivalente com uma estrutura selecionada dentre uma oligoamida, um oligoéter, um oligotioéter, um oligoéster, um oligotioéster, uma oligoureia, uma oligo(éter-amida), uma oligo(tioéter-amida), uma oligo(éster-amida), uma oligo(tioéster-amida), uma oligo(ureia-amida), um oligo(éter-tioéter), um oligo(éter-éster), um oligo(éter-tioéster), uma oligo(éter-ureia), um oligo(tioéter-éster), um oligo(tioéter-tioéster), uma oligo(tioéter-ureia), um oligo(éster-tioéster), uma oligo(éster-ureia) e uma oligo(tioéster-ureia), de preferência com uma estrutura selecionada dentre oligoamida e oligo(éster-amida).

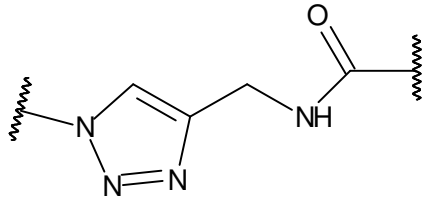
L^1 pode ser opcionalmente substituído com um ou mais substituintes selecionados independentemente dentre -OH, $-OCH_3$, -COOH, $-COOCH_3$, $-NH_2$ e $-NHC(NH)NH_2$.

X^3 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éster, um éter, uma amina e um grupo ligante de fórmula:

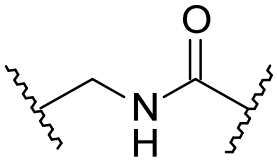


em que a ligação indicada por ~~~ no grupo NH liga-se a R^B e a outra ligação indicada por ~~~ liga-se a SIFA; de preferência X^3 é uma ligação amida; R^B é um grupo de acoplamento trivalente;

X^4 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia, uma ligação amina, um grupo ligante de fórmula:



em que a ligação amida indicada por ~~~ é formada pelo grupo quelante, e a outra ligação indicada por ~~~ liga-se a R^B; e um grupo ligante de fórmula:



em que a ligação indicada por ~~~ na extremidade carbonila é formada pelo grupo quelante, e a outra ligação indicada por ~~~ liga-se a R^B; de preferência X^4 é uma ligação amida;

R^{CH} é um grupo quelante que contém opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado, de preferência um cátion de metal radioativo ou não

radioativo, em que modalidades preferidas do referido grupo quelante e do cátion quelado opcional são conforme definidas acima.

[058]O termo “oligo”, conforme usado em oligoamida, oligoéter, oligotioéter, oligoéster, oligotioéster, oligoureia, oligo(éter-amida), oligo(tioéter-amida), oligo(éster-amida), oligo(tioéster-amida), oligo(ureia-amida), oligo(éter-tioéter), oligo(éter-éster), oligo(éter-tioéster), oligo(éter-ureia), oligo(tioéter-éster), oligo(tioéter-tioéster), oligo(tioéter-ureia), oligo(éster-tioéster), oligo(éster-ureia) e oligo(tioéster-ureia) é preferivelmente entendido como referindo-se a um grupo em que 2 a 20, mais preferivelmente 2 a 10, subunidades são ligadas pelos tipos de ligação especificados nos termos em questão. Conforme os leitores versados na técnica entenderão, quando dois tipos de ligação diferentes são indicados em colchetes, ambos os tipos de ligação são contidos no grupo aludido (por exemplo, em “oligo(éster-amida)”, são contidas ligações éster e ligações amida).

[059]É preferível que L^1 compreenda um total de 1 a 5, mais preferivelmente um total de 1 a 3, e mais preferivelmente ainda um total de 1 ou 2 ligações amida e/ou éster, de preferência ligações amida, dentro de seu *backbone*.

[060]O termo oligoamida, portanto, descreve um grupamento com uma cadeia de grupos CH_2 ou CHR intercalados com grupos selecionados dentre NHCO ou CONH. Cada ocorrência do grupamento R é um substituinte opcional selecionado dentre -OH, $-OCH_3$, -COOH, $-COOCH_3$, $-NH_2$ e $-NHC(NH)NH_2$.

[061]Também é preferível que $-X^1-L^1-X^2-$ represente uma das estruturas (L-1) e (L-2) a seguir:

$-NH-C(O)-R^6-C(O)-NH-R^7-NH-C(O)-$ (L-1)

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

em que R^6 a R^{10} são selecionados independentemente dentre alquileno C_2 a C_{10}, de preferência alquileno C_2 a C_{10} linear, cada um desses grupos alquileno

podendo ser substituído com um ou mais substituintes selecionados independentemente dentre -OH, -OCH_3, -COOH, -$COOCH_3$, -NH_2 e -NHC(NH)NH_2.

[062]É especialmente preferível que o número total de átomos de carbono em R^6 e R^7 seja de 4 a 20, mais preferivelmente de 4 a 16, sem átomos de carbono contidos nos substituintes opcionais. É especialmente preferível que o número total de átomos de carbono em R^8 a R^{10} seja de 6 a 20, mais preferivelmente de 6 a 16, sem átomos de carbono contidos nos substituintes opcionais.

[063]É particularmente preferível que -X^1-L^1-X^2- represente uma das estruturas (L-3) e (L-4) a seguir:

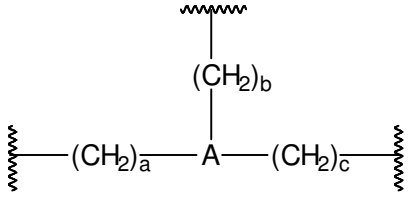
-NH-C(O)-R^{11}-C(O)-NH-R^{12}-CH(COOH)-NH-C(O)- (L-3)

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

em que R^{11} a R^{15} são selecionados independentemente dentre alquileno C_2 a C_8, de preferência alquileno C_2 a C_8 linear.

[064]É especialmente preferível que o número total de átomos de carbono em R^{11} e R^{12} ou R^{13} a R^{15} seja, respectivamente, de 8 a 18, mais preferivelmente de 8 a 12, mais preferivelmente ainda de 9 ou 10.

[065]De preferência, R^B tem a estrutura representada pela fórmula (IV):

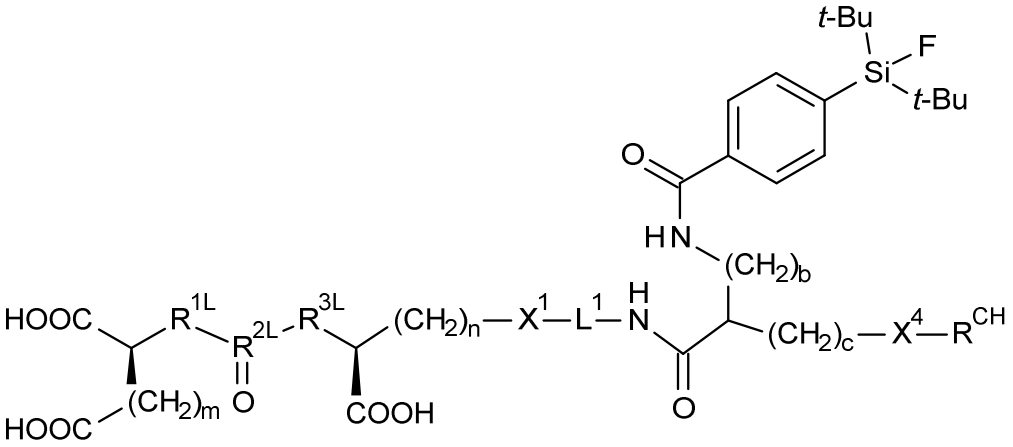


(IV)

em que: A é selecionado dentre N, CR^{16}, em que R^{16} é H ou alquila C_1-C_6, e um grupo carbocíclico ou heterocíclico de 5 a 7 membros; de preferência A é selecionado dentre N e CH, e mais preferivelmente A é CH; a ligação indicada por ~~~ em $(CH_2)_a$ é formada com X^2, e a é um número inteiro de 0 a 4, de preferência 0 ou 1, e mais preferivelmente ainda 0; a ligação indicada por ~~~ em $(CH_2)_b$ é formada com X^3, e b é um número inteiro de 0 a 4, de preferência de 0 a 2, e mais

preferivelmente 0 ou 1; e a ligação indicada por ~~~~ em $(CH_2)_c$ é formada com X^4, e c é um número inteiro de 0 a 4, de preferência de 0 a 2, e mais preferivelmente 0 ou 1.

[066]Ainda mais preferivelmente como um conjugado de acordo com a invenção é um composto de fórmula (IIIa):



(IIIa)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que m, n, R^{1L}, R^{2L}, R^{3L}, X^1, L^1, b, c, X^4 e R^{CH} são conforme definidos acima, incluindo todas as modalidades preferidas dos mesmos.

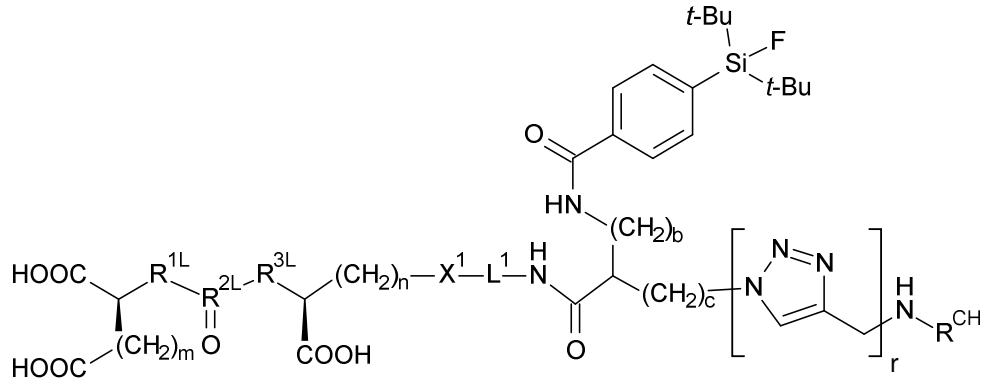
[067]É preferível para o composto de fórmula (IIIa) que $b + c \geq 1$.

[068]Também é preferível para o composto de fórmula (IIIa) que $b + c \leq 3$.

[069]É mais preferível para o composto de fórmula (IIIa) que b seja 1 e c seja 0.

[070]Também é preferível para o composto de fórmula (III) que $–X^4\text{-}R^{CH}$ represente um resíduo de um agente quelante selecionado dentre DOTA e DOTAGA ligado a um de seus grupos carboxílicos através de uma ligação amida com o restante do conjugado.

[071]Em uma modalidade preferida do composto de fórmula (III), o referido composto é um composto de fórmula (IIIb):



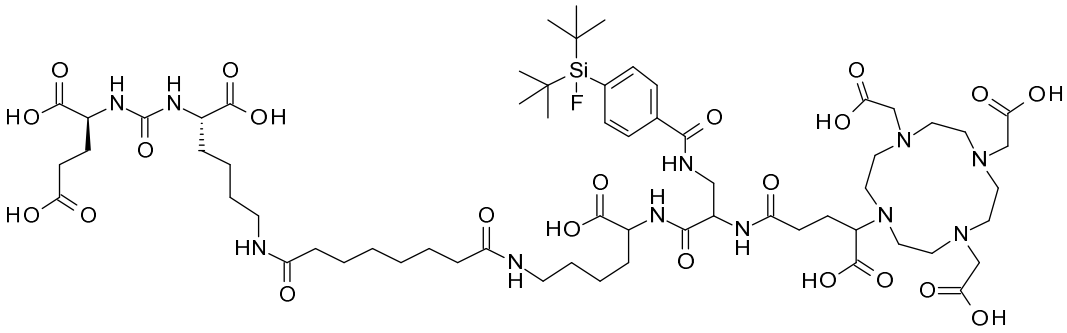
(IIIb)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que m, n, R^{1L}, R^{2L}, R^{3L}, X^1, L^1, b, c, X^4 e R^{CH} são conforme definidos acima; e r é 0 ou 1.

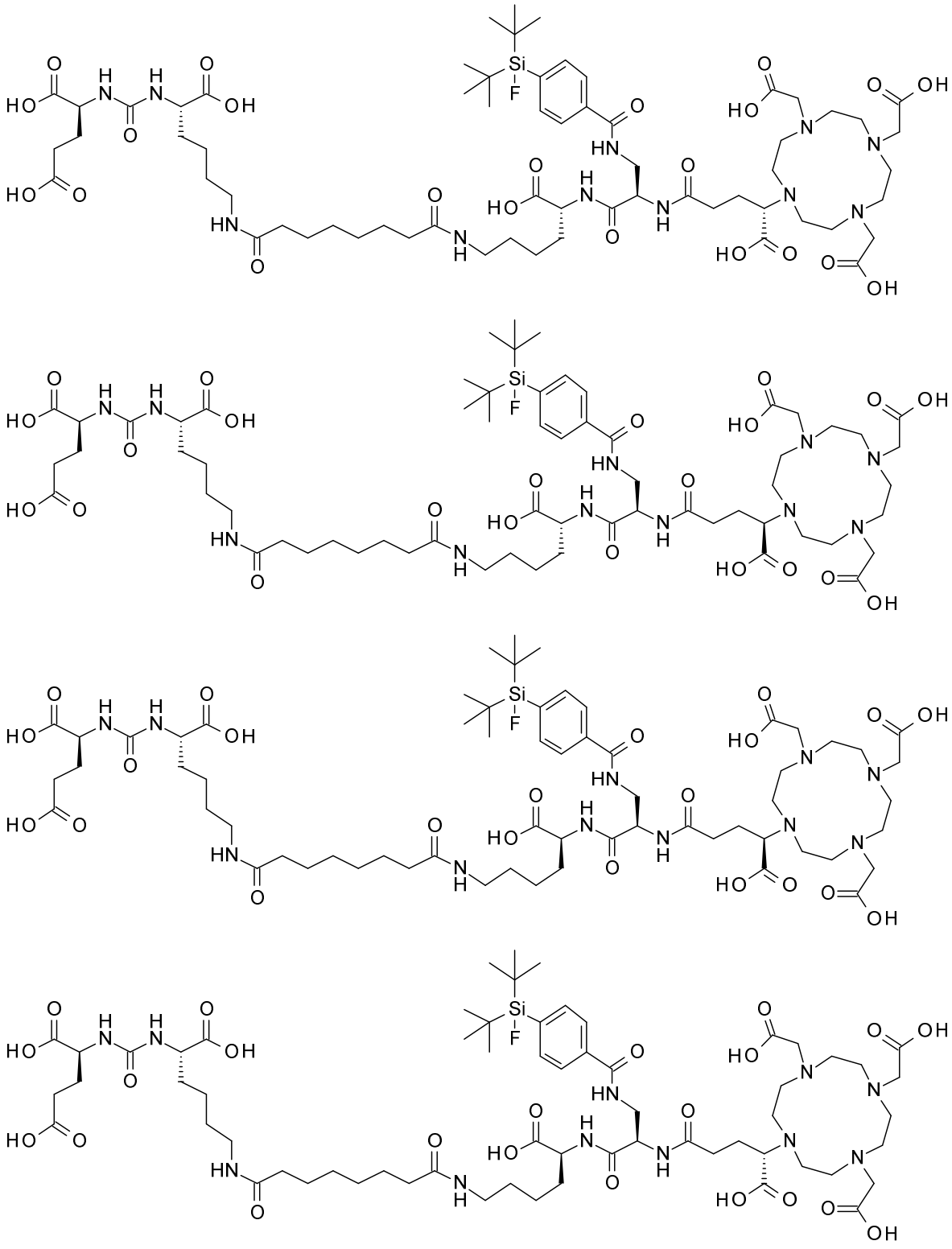
[072]É especialmente preferível que –N(H)-R^{CH} represente um resíduo de um agente quelante selecionado dentre DOTA e DOTAGA ligado a um de seus grupos carboxílicos através de uma ligação amida com o restante do conjugado.

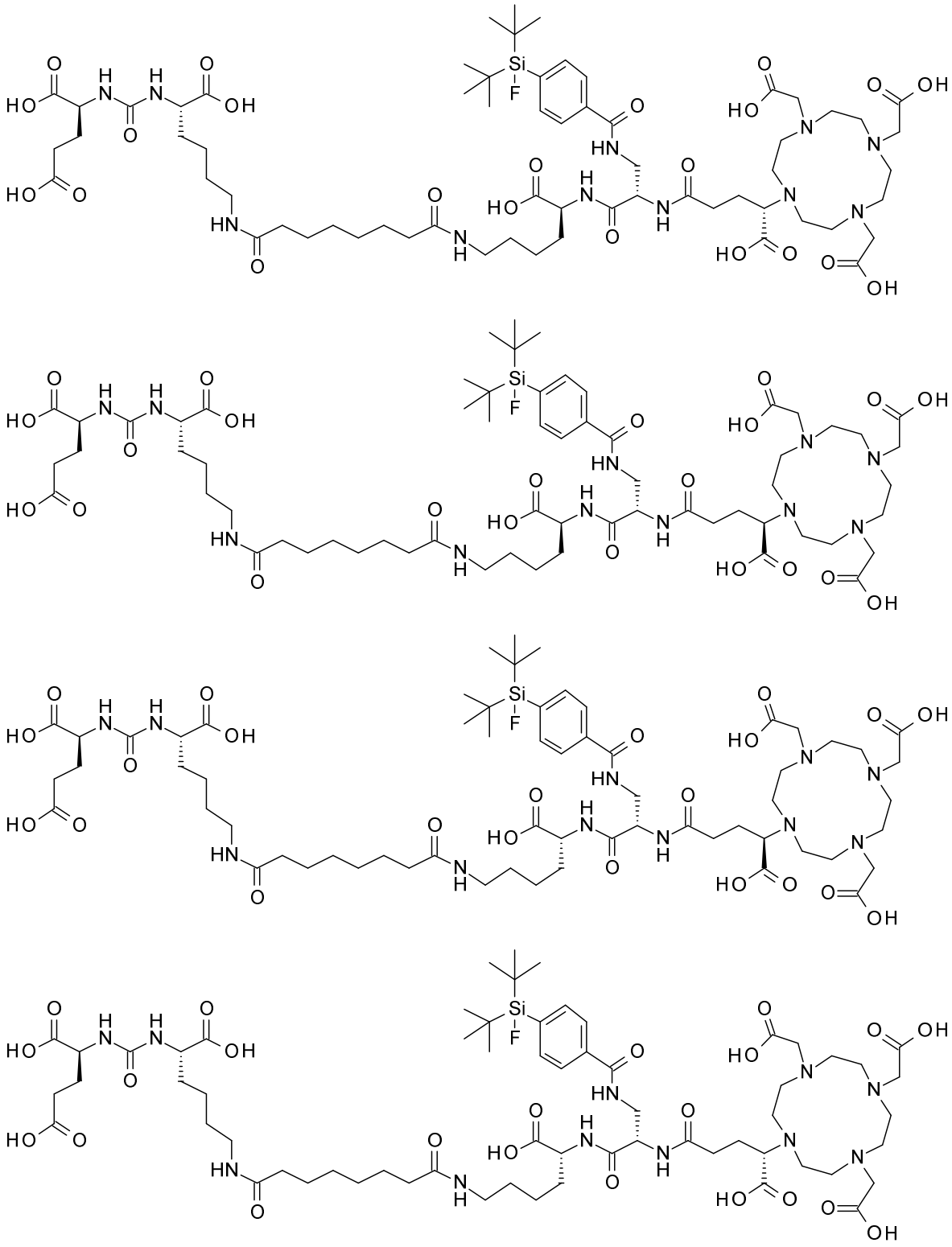
[073]Os compostos mais preferidos da invenção são os seguintes:

PSMA-SIFA1 (5)

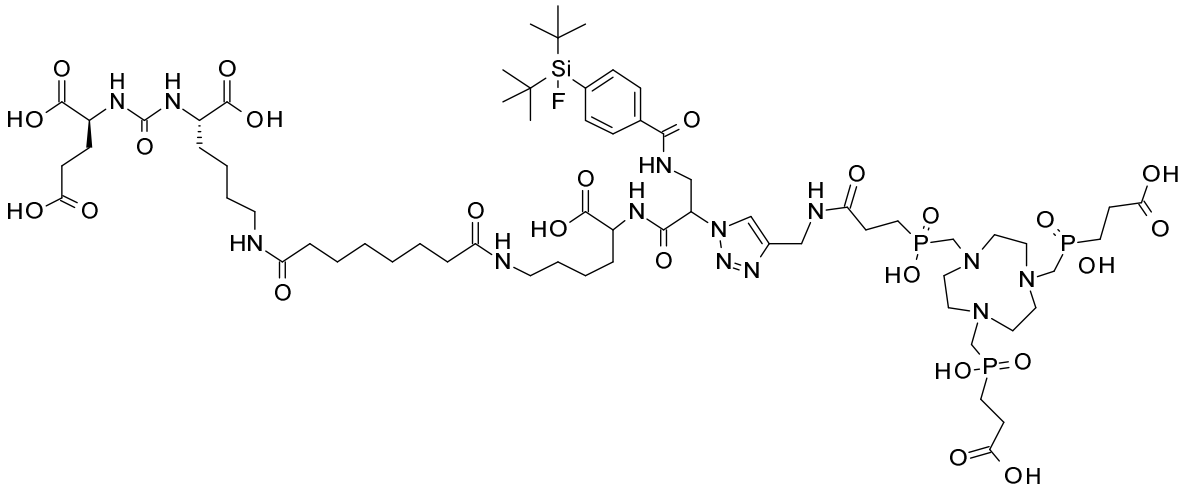


e isômeros do mesmo:

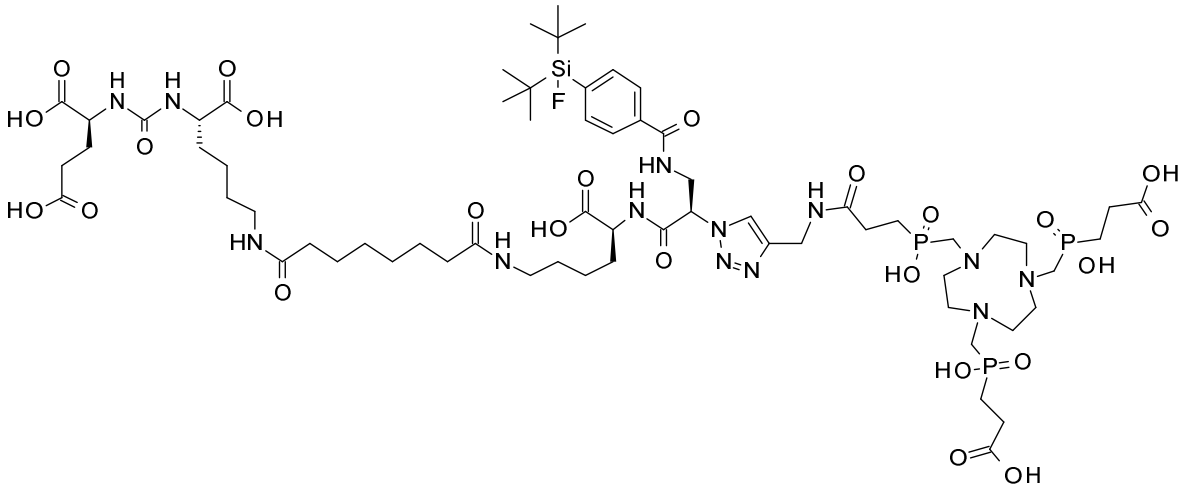


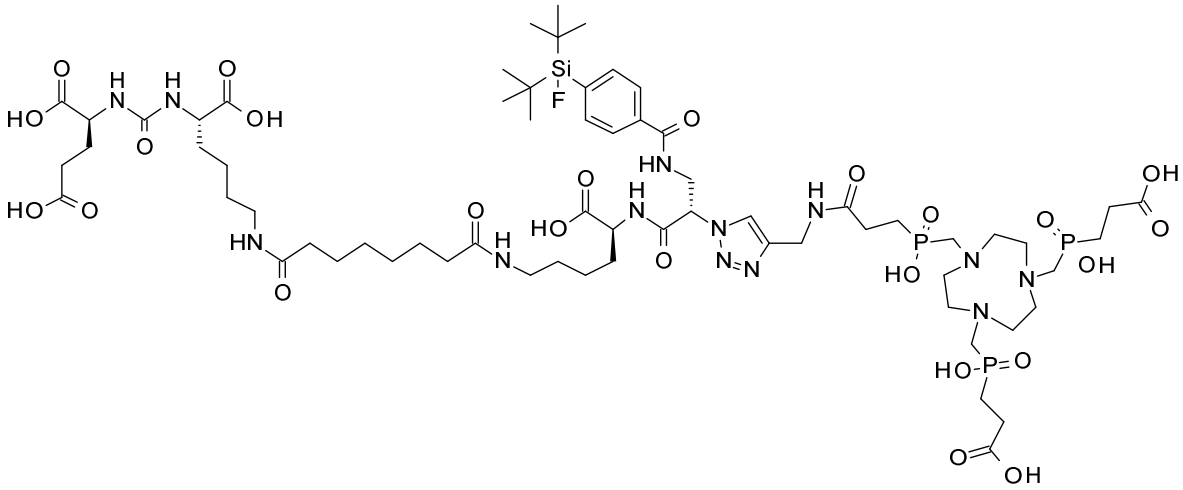


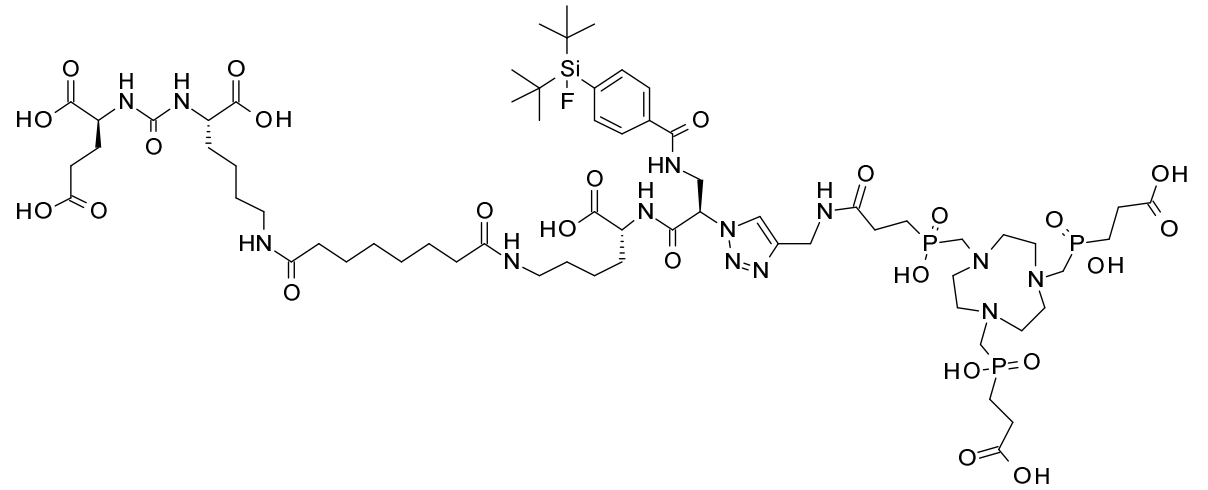
PSMA-SIFA2 (6)

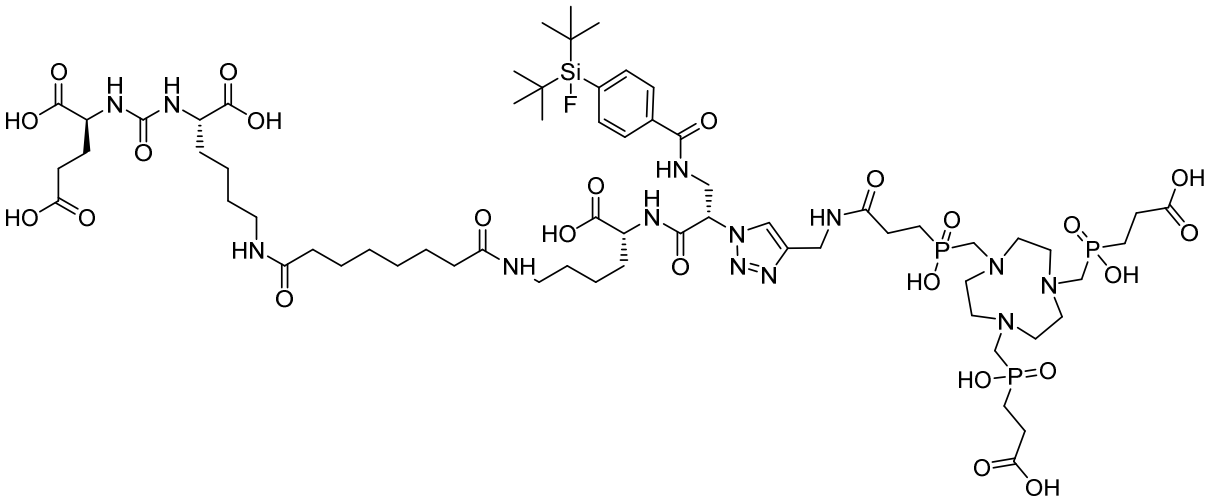


e isômeros do mesmo:

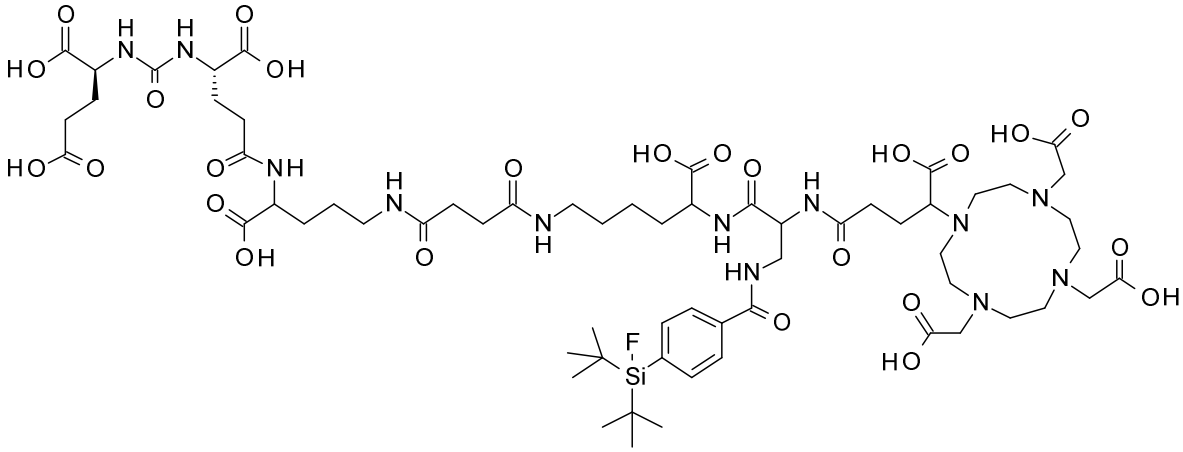




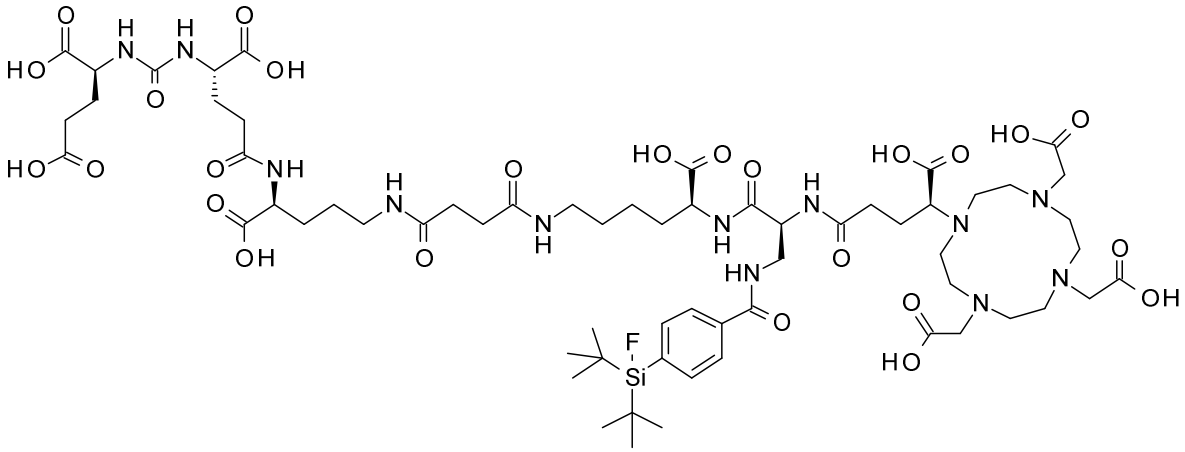


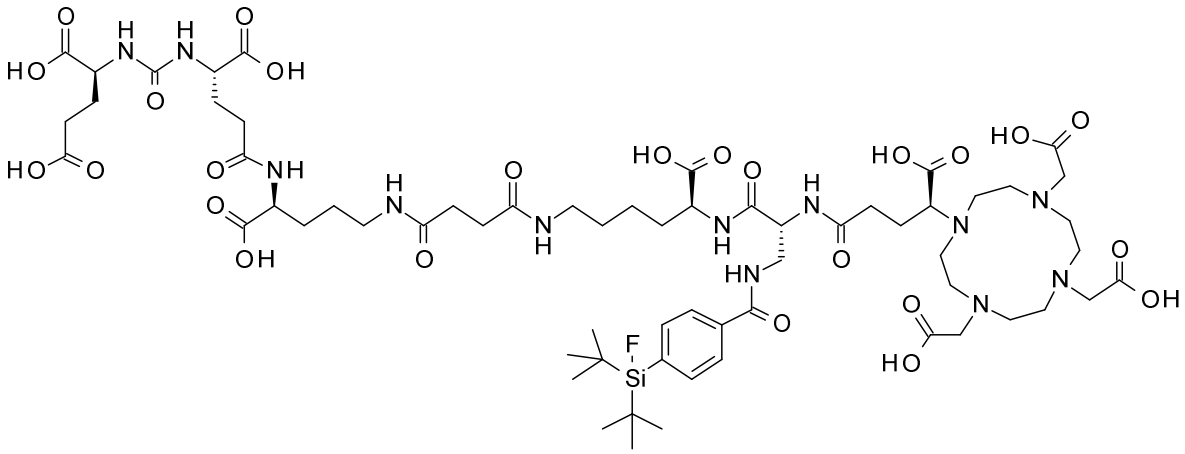


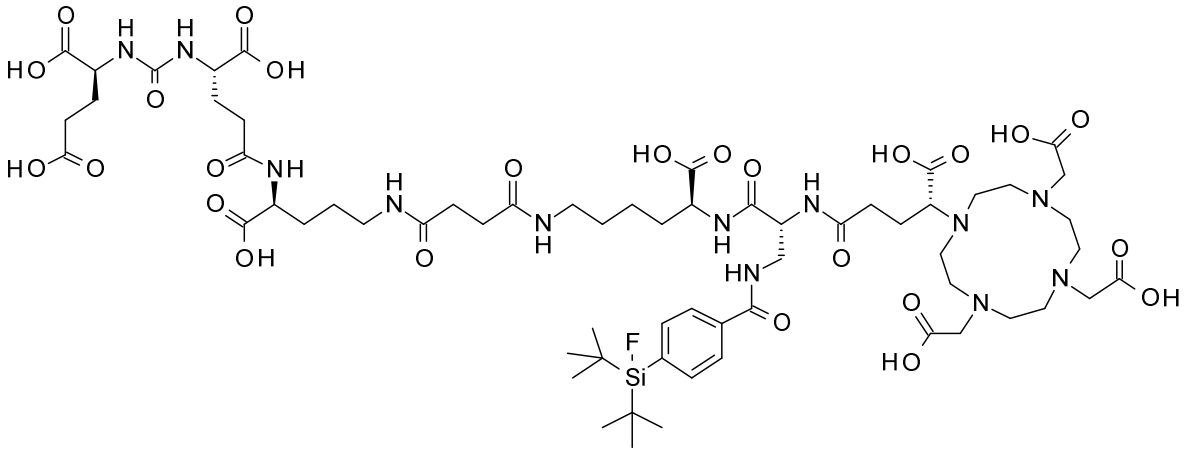
PSMA-SIFA3 (7)

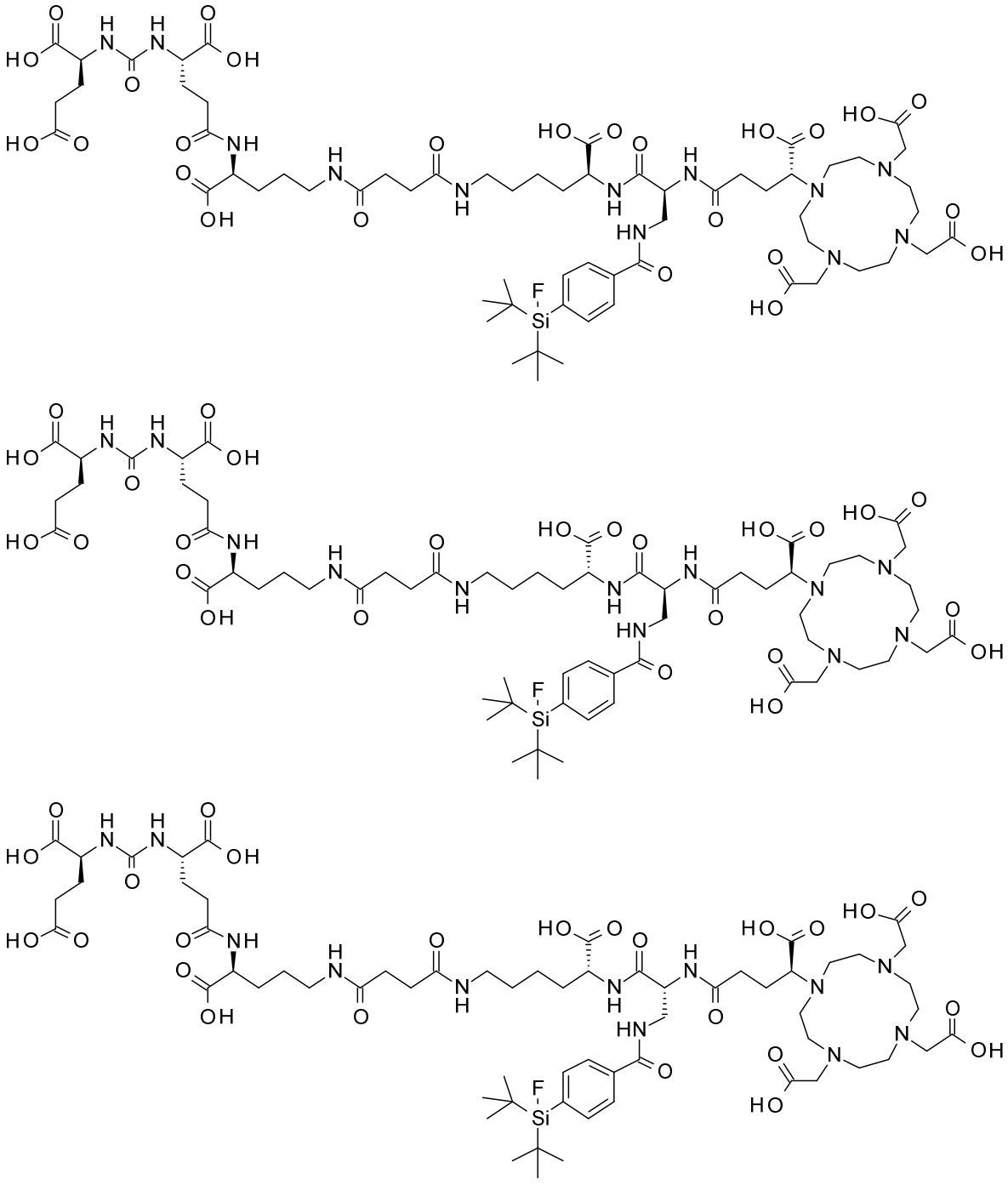


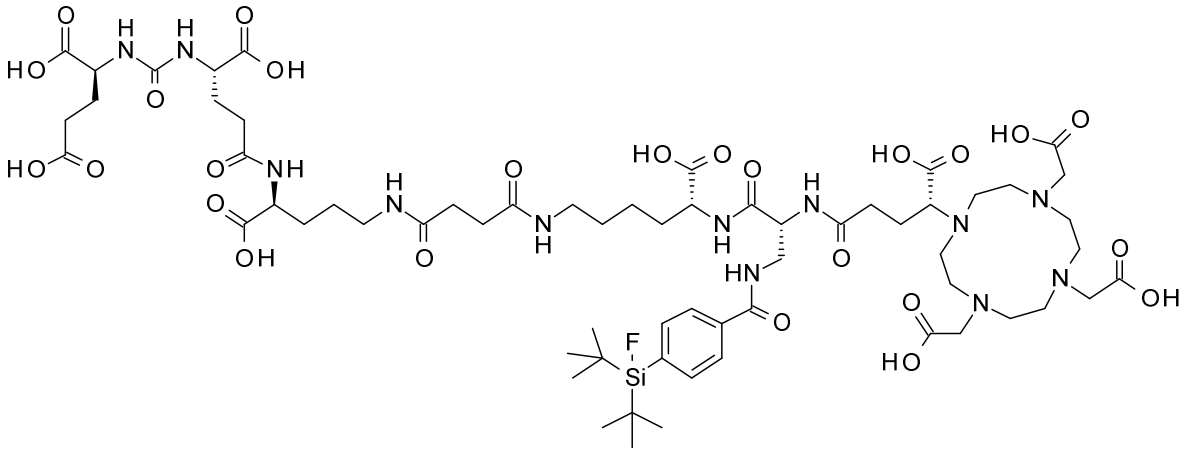
e isômeros do mesmo:

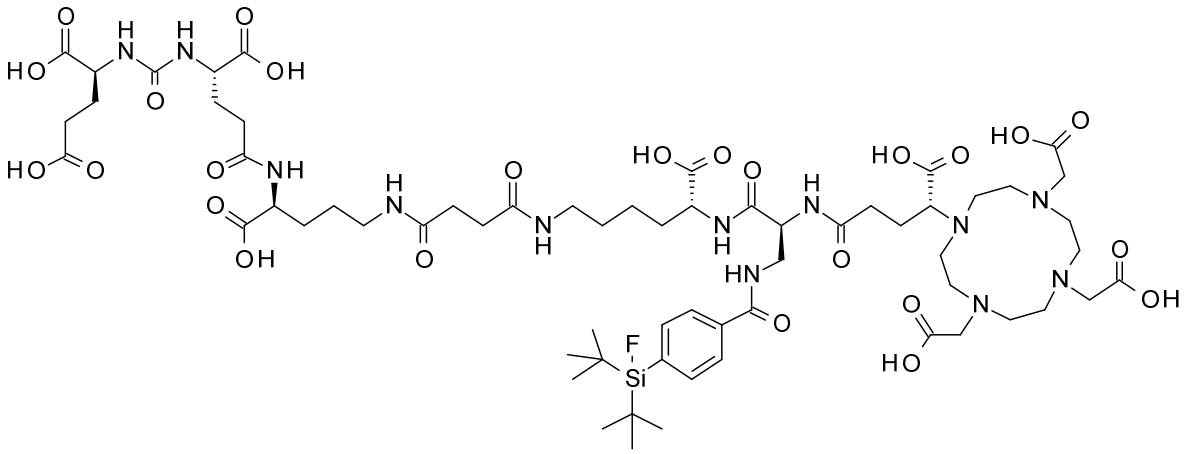


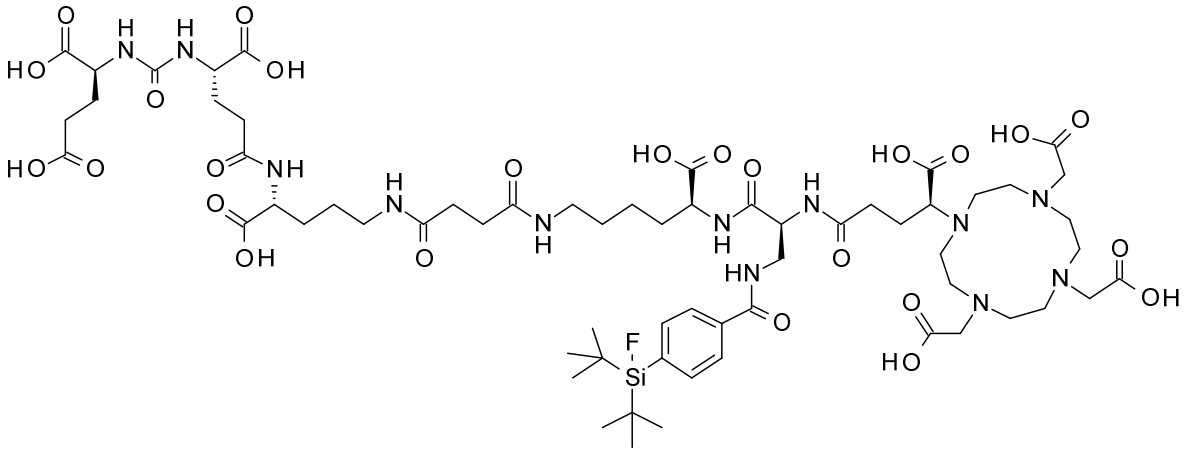


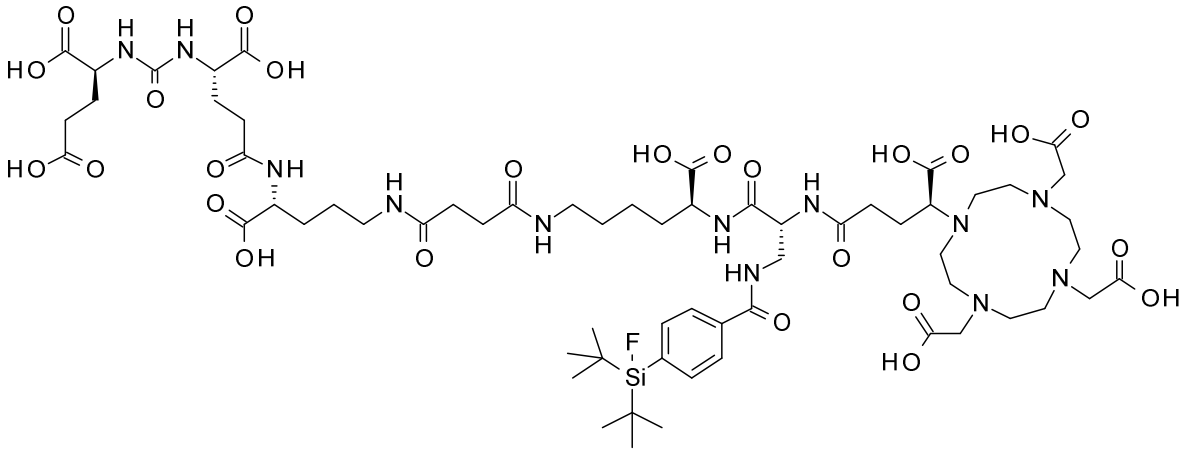


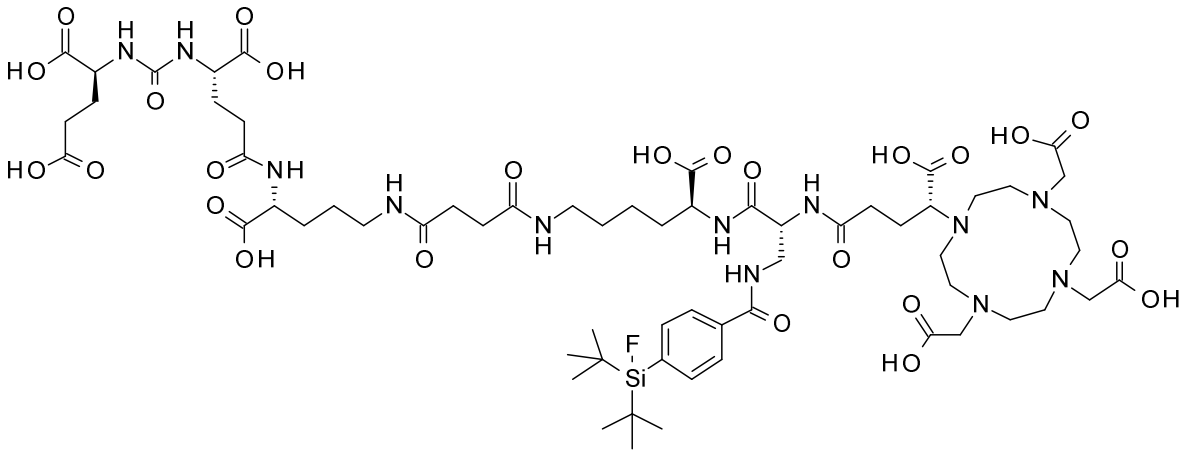


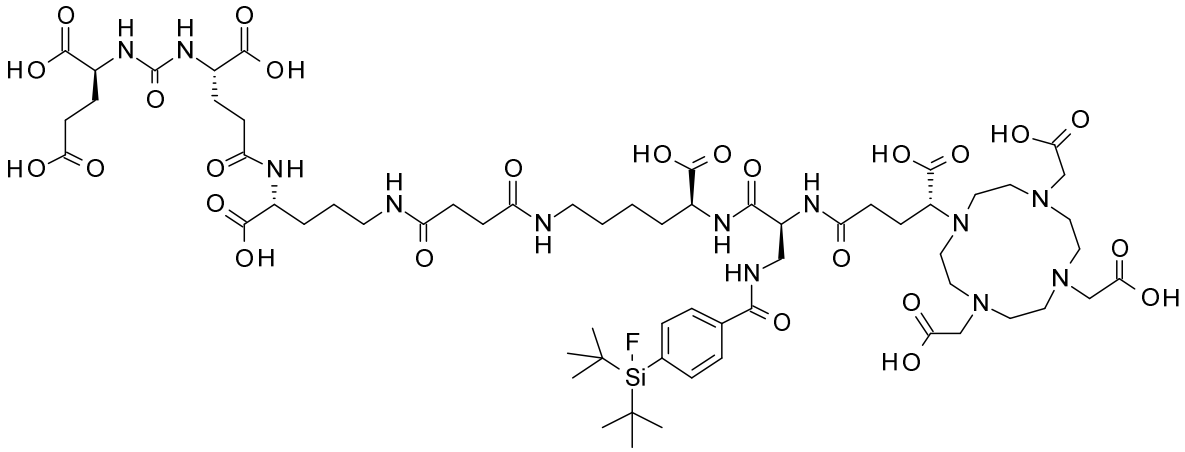


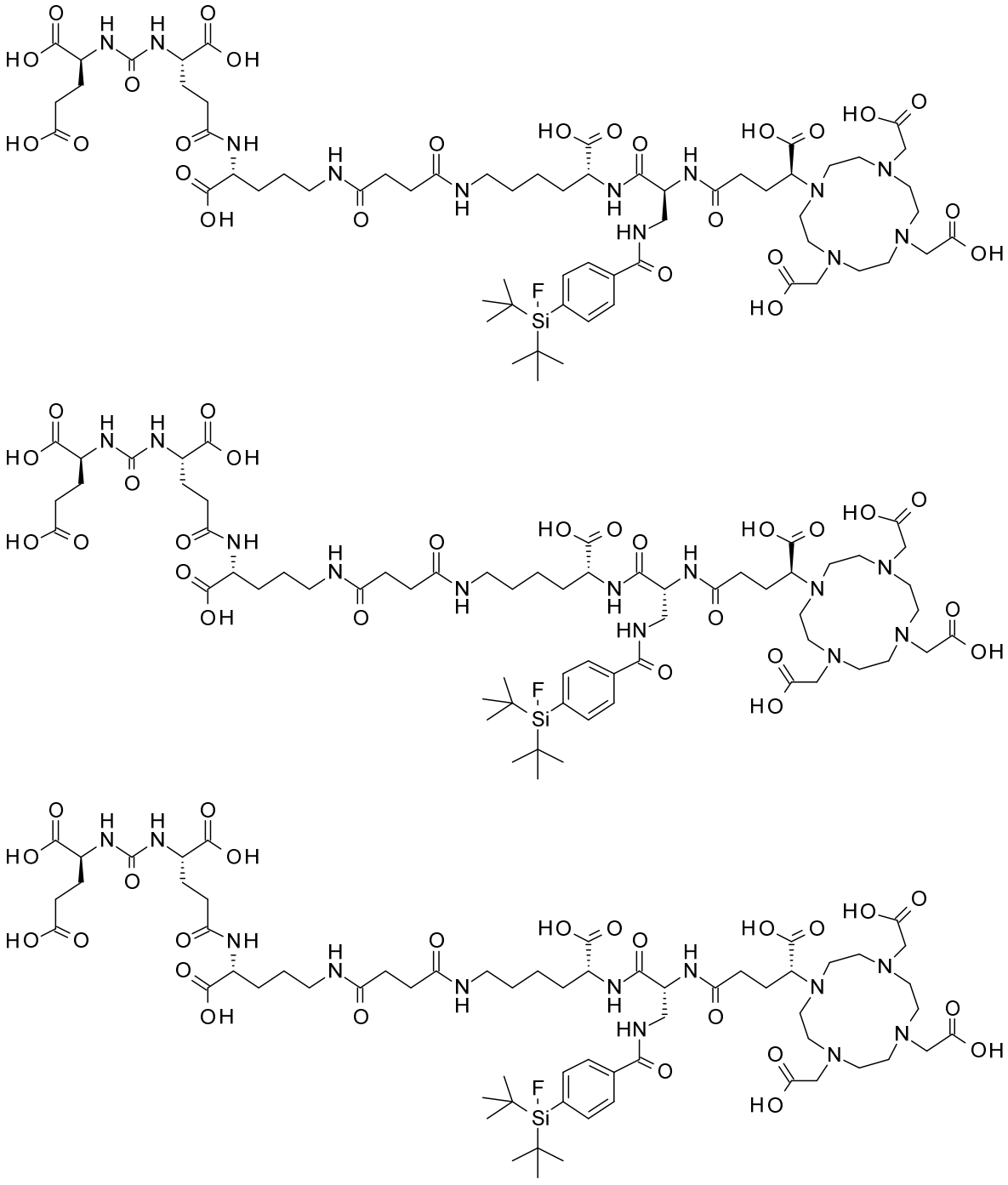


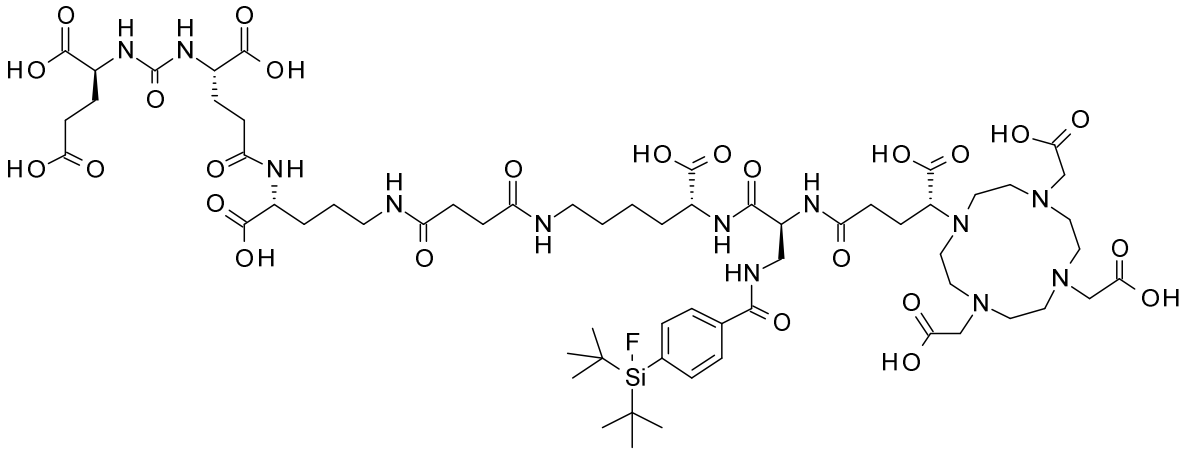




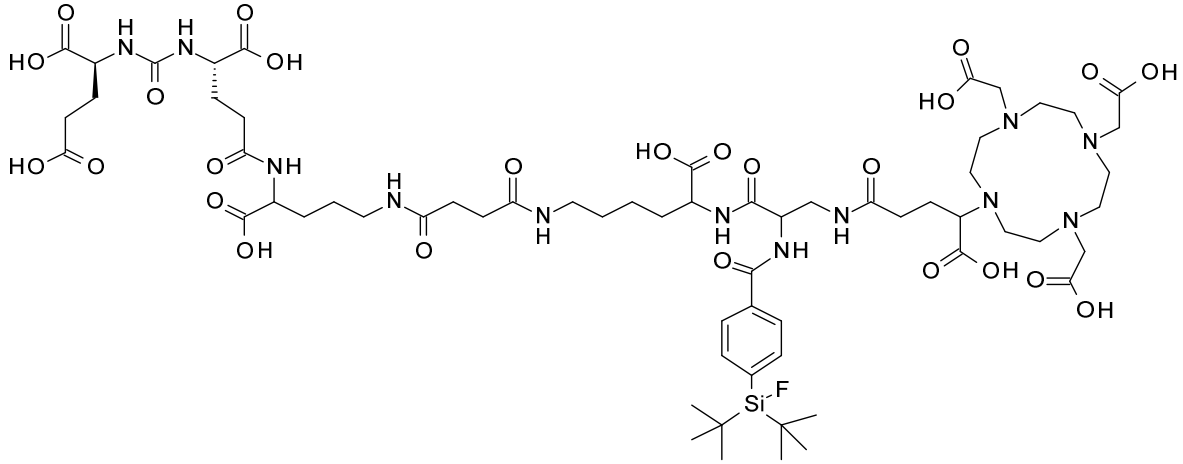




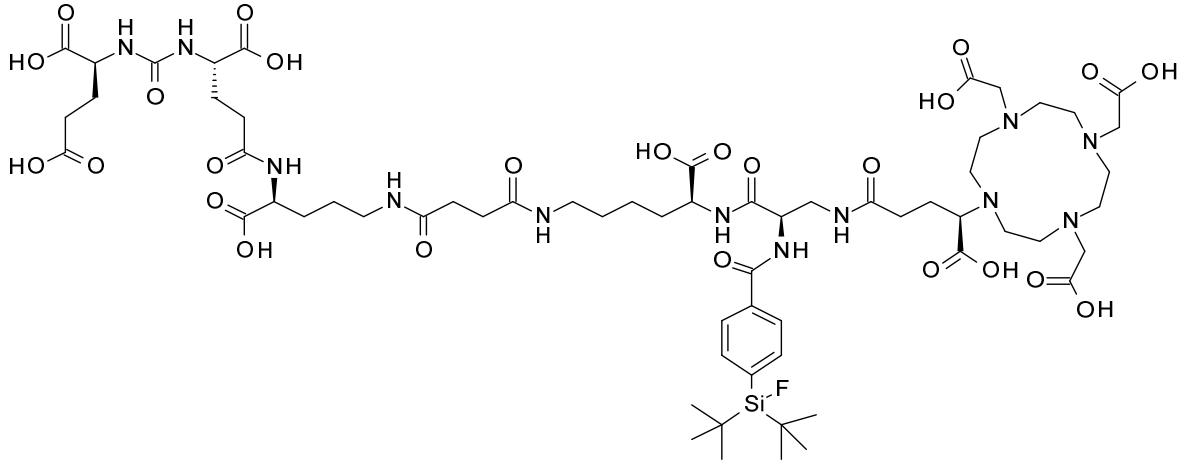


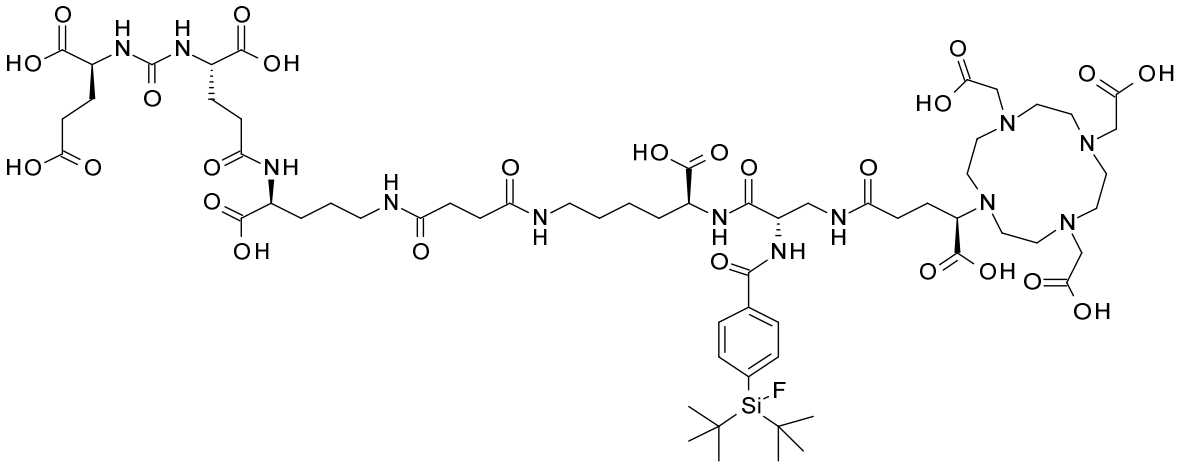


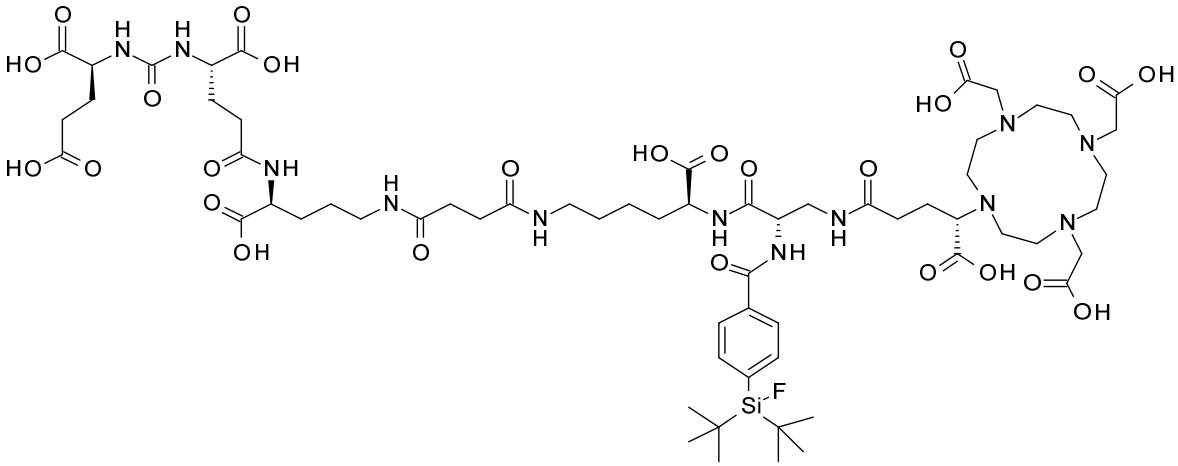
PSMA-SIFA4 (8)

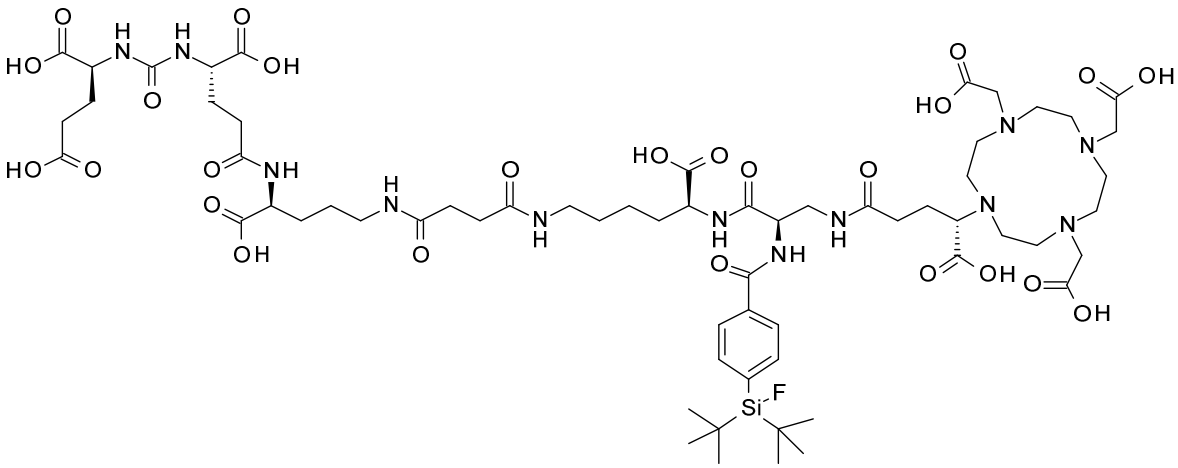


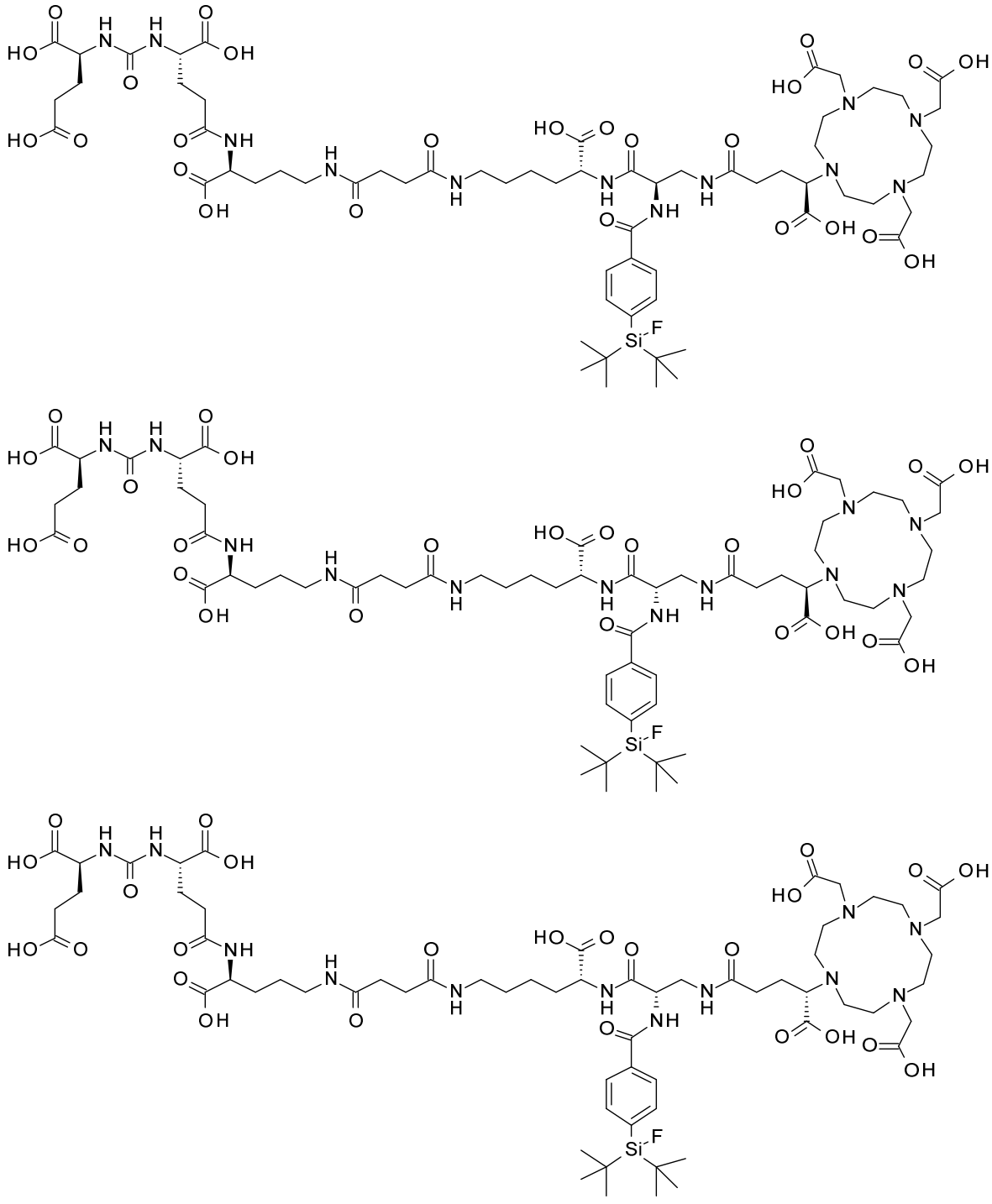
e isômeros do mesmo:

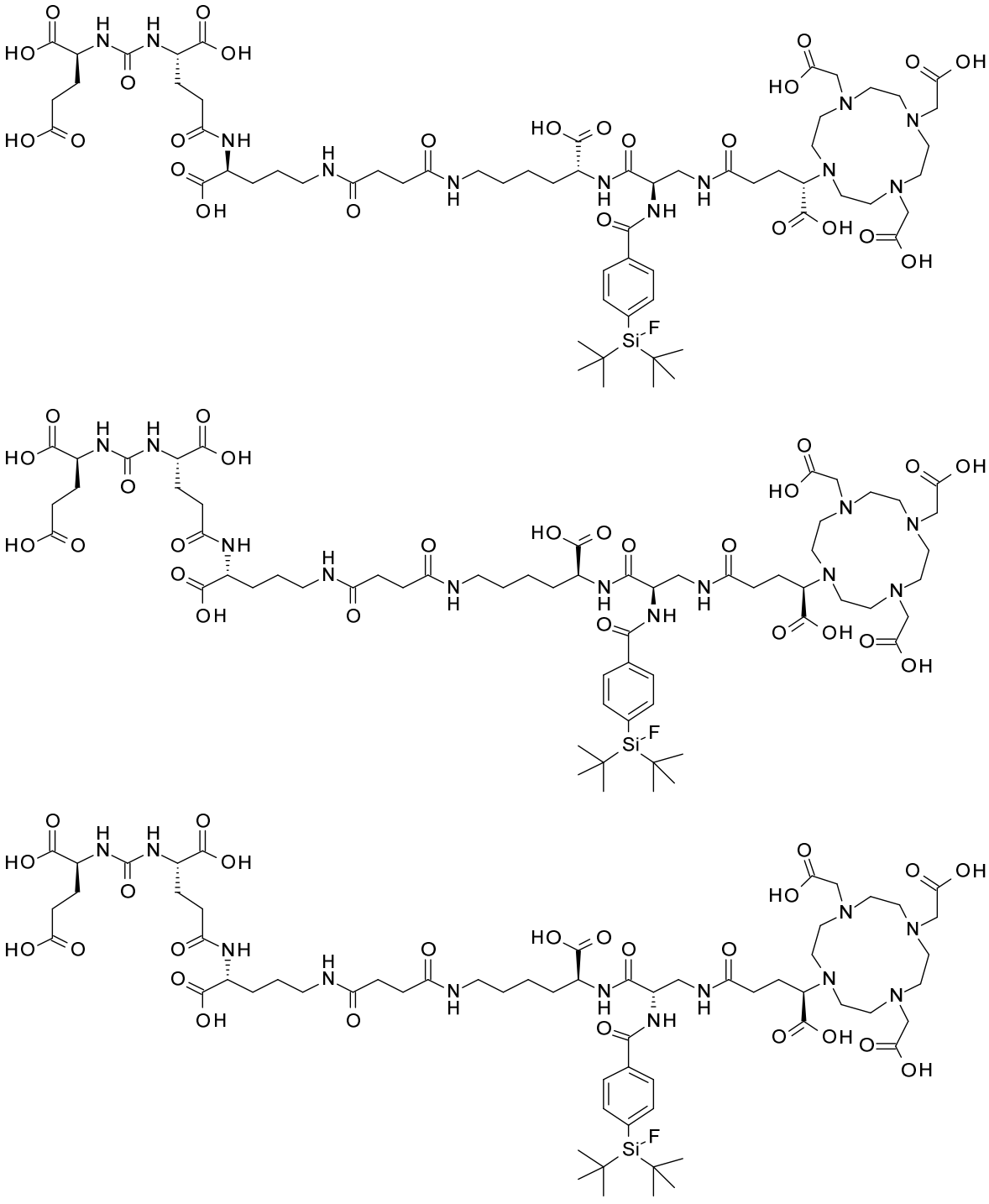


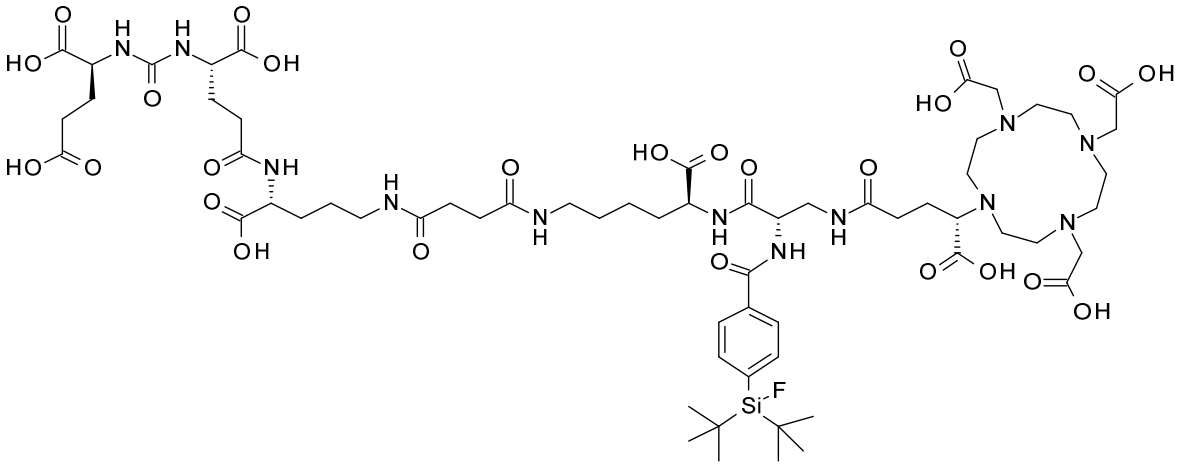


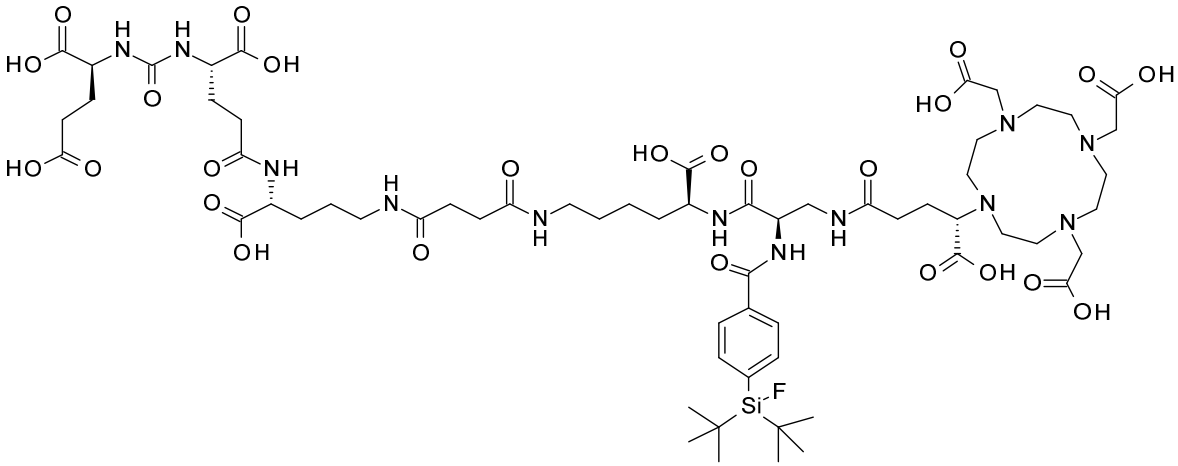


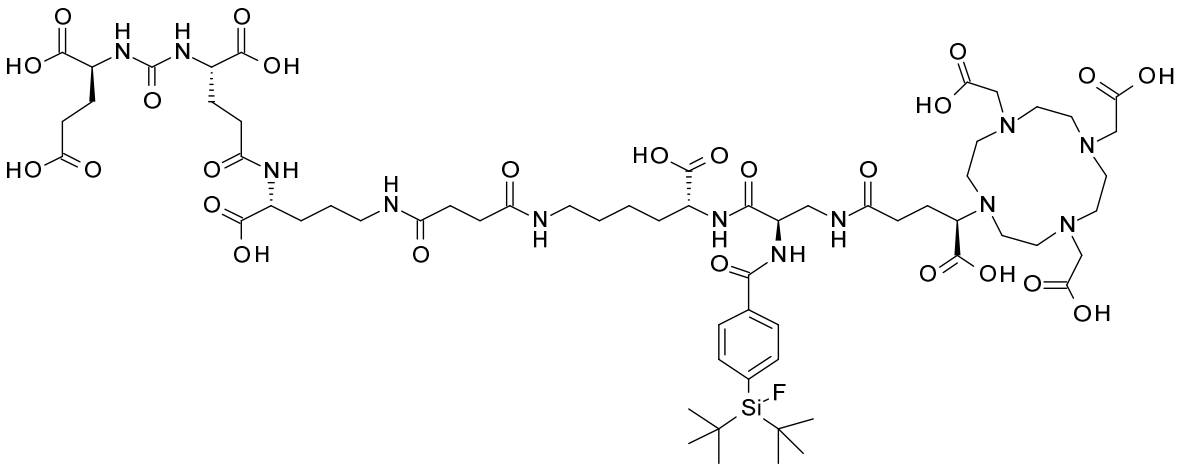


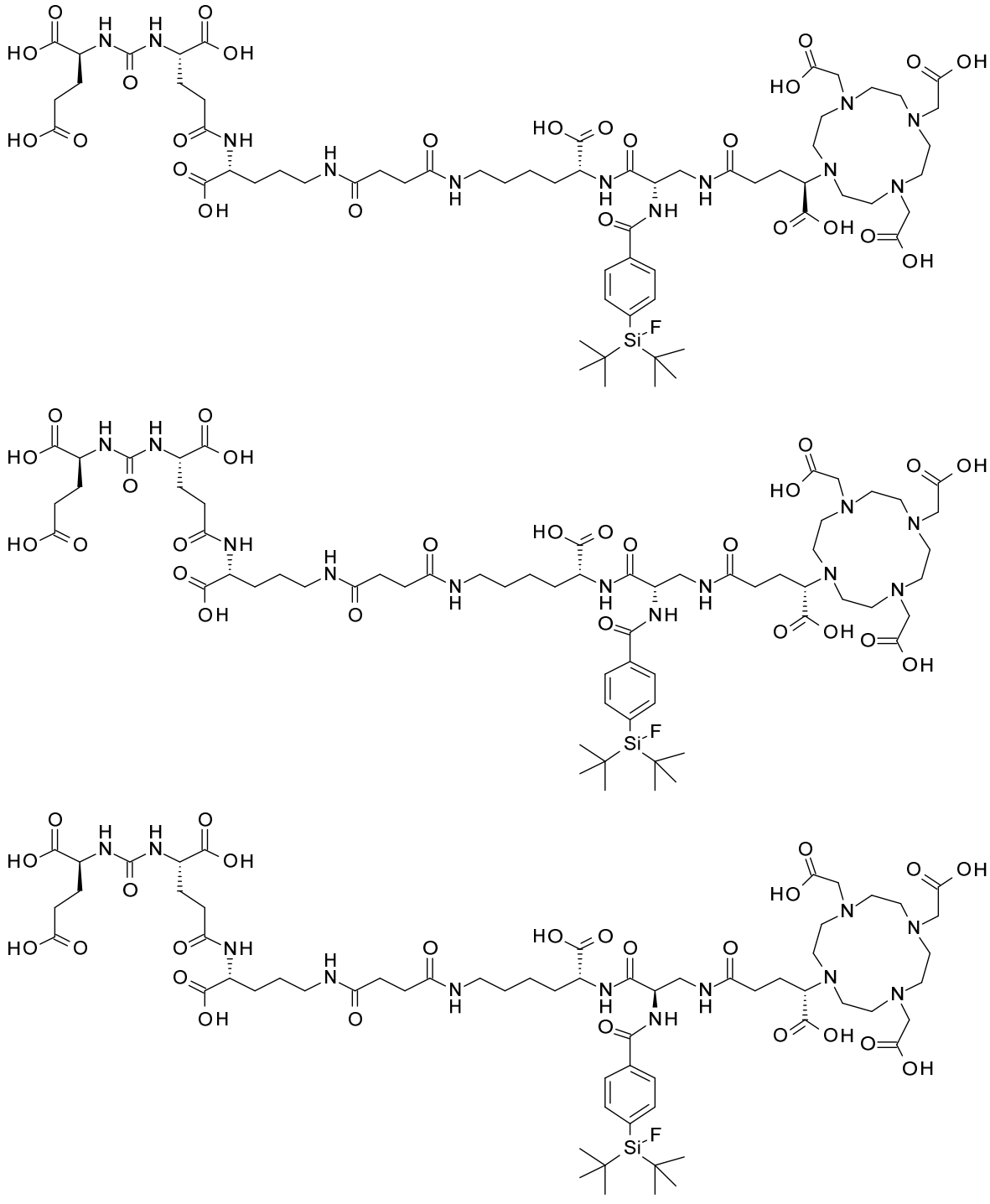




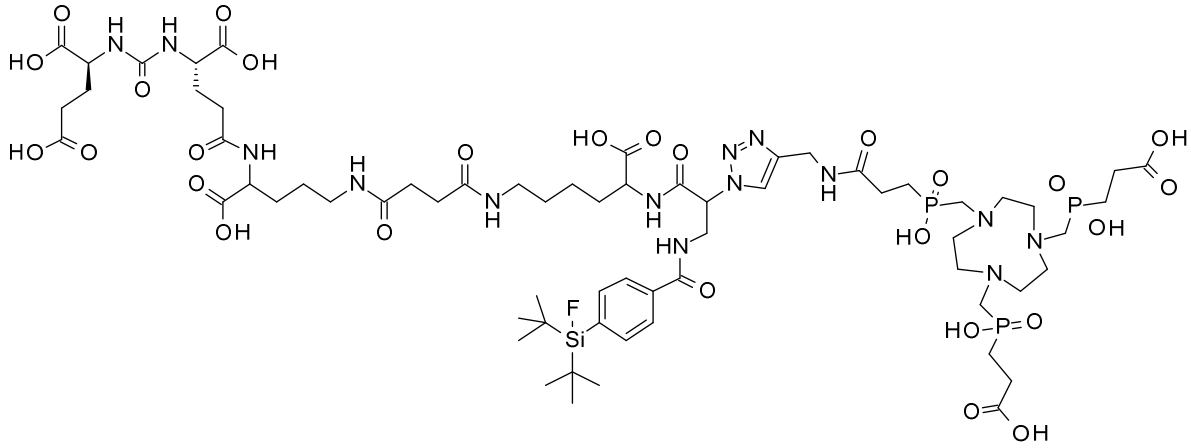




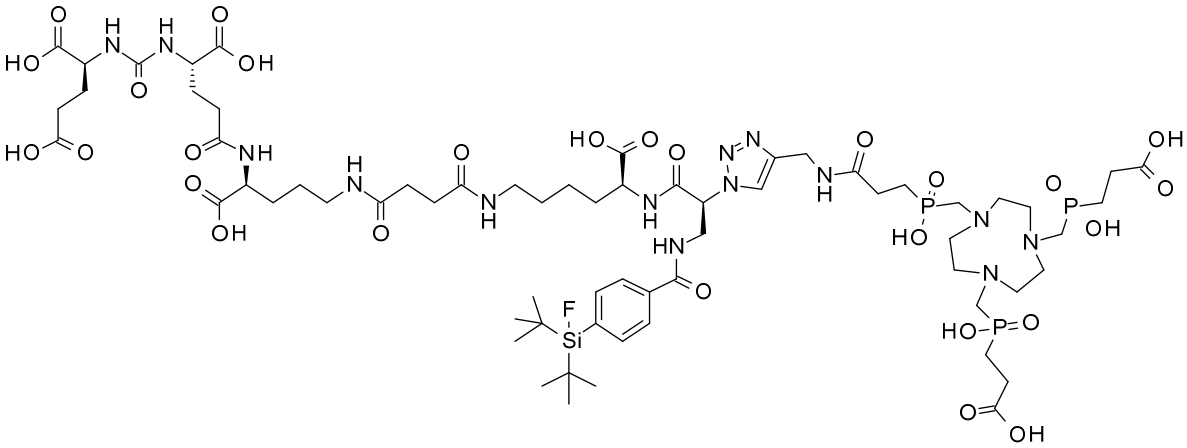


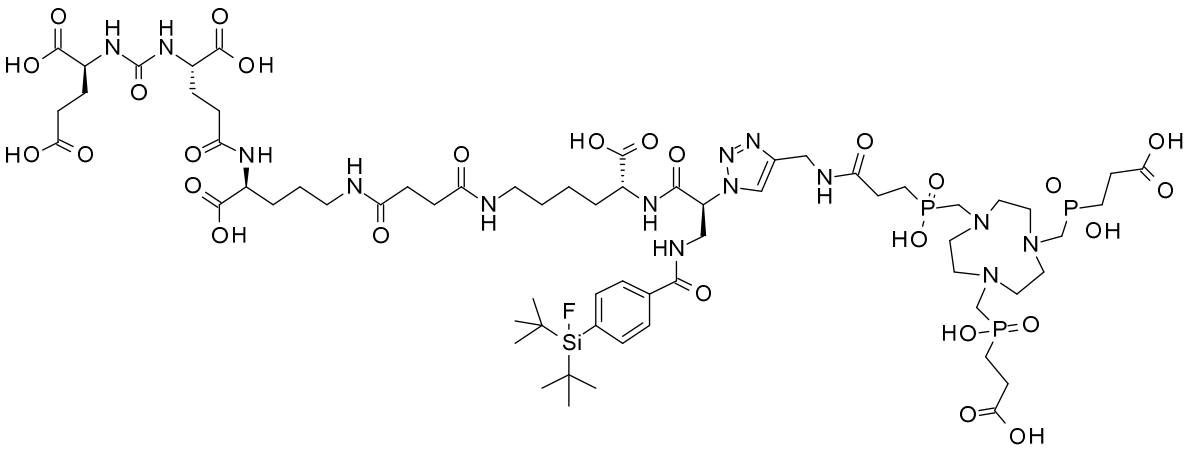


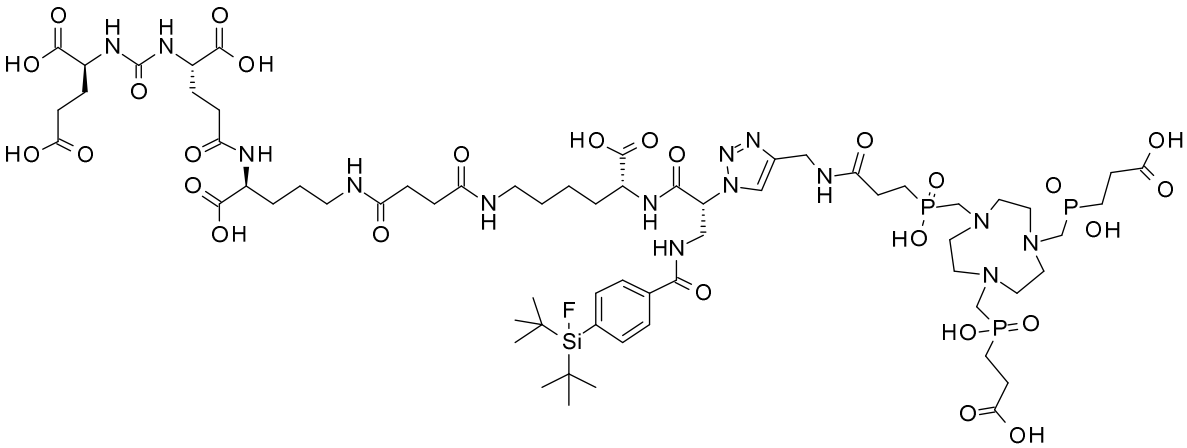
PSMA-SIFA5 (9)

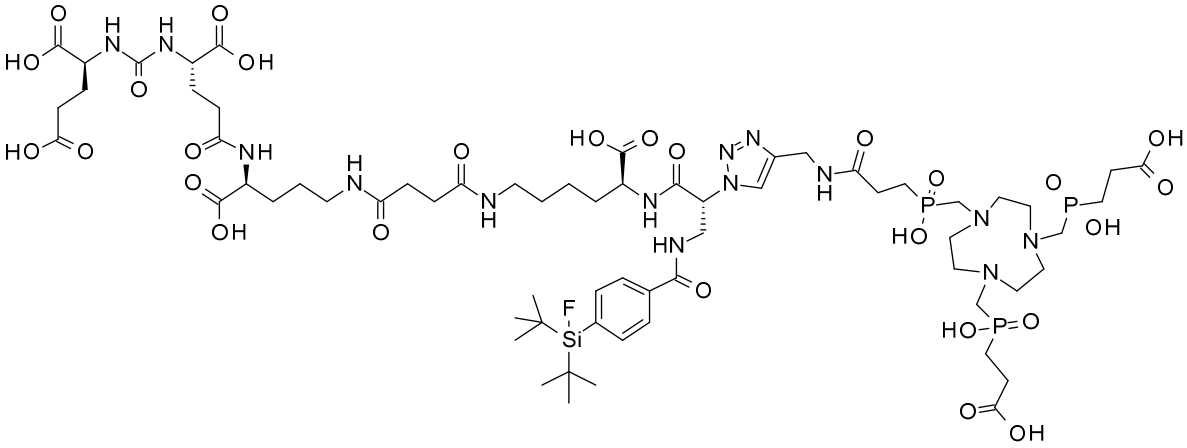


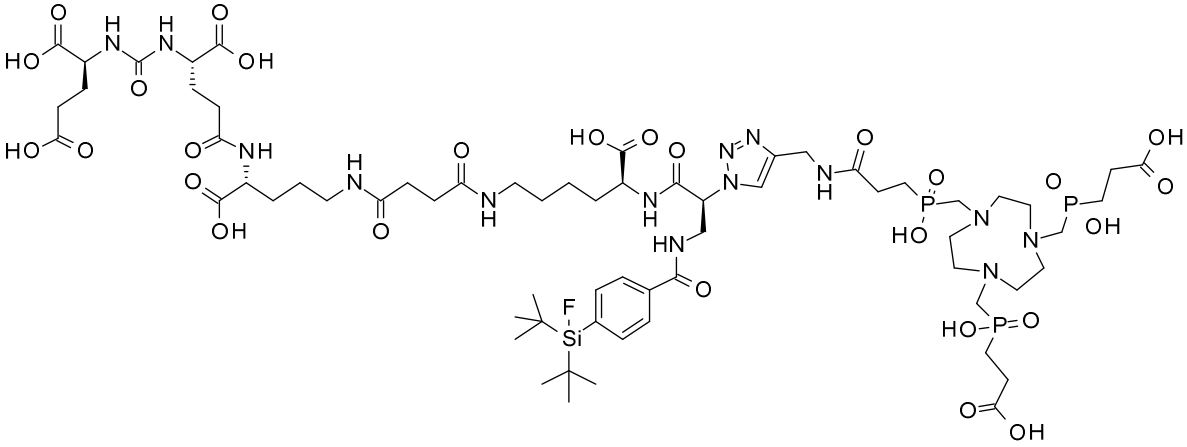
e isômeros do mesmo:

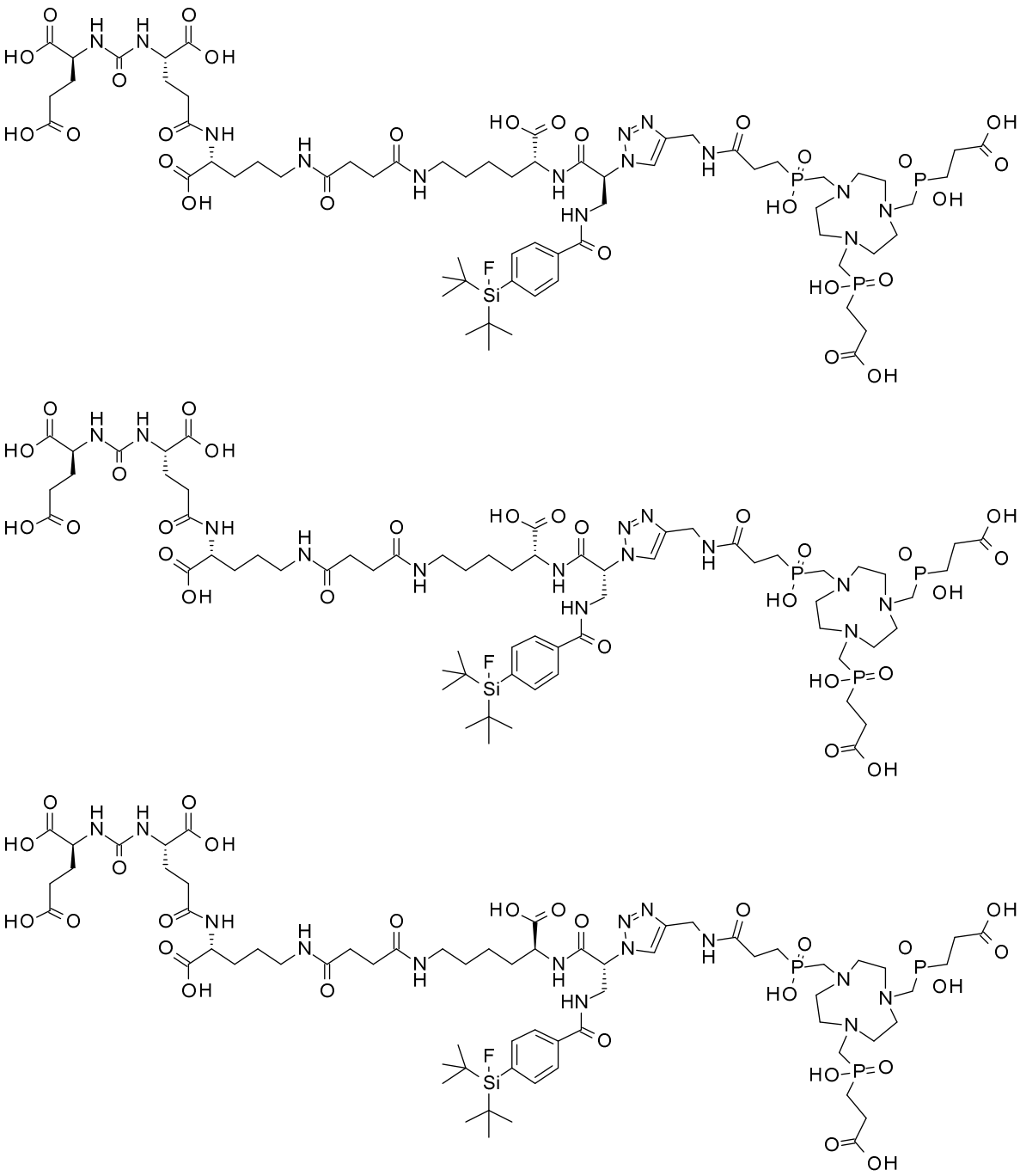




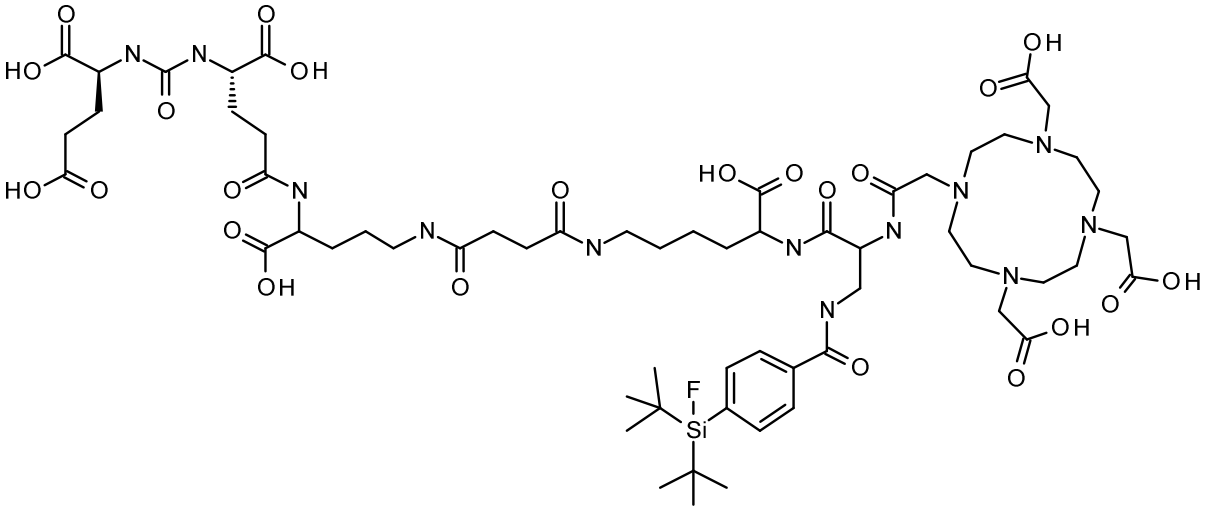




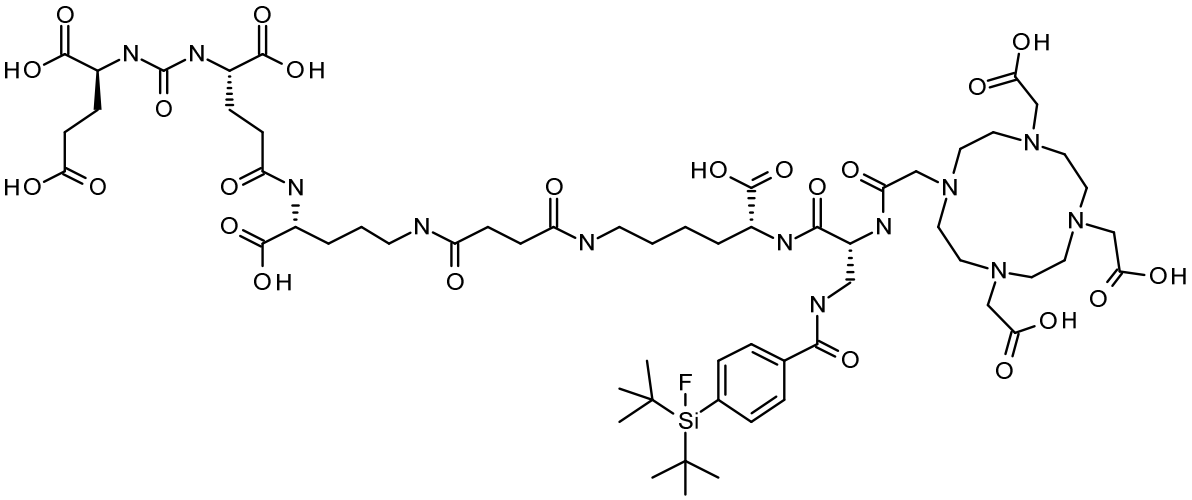


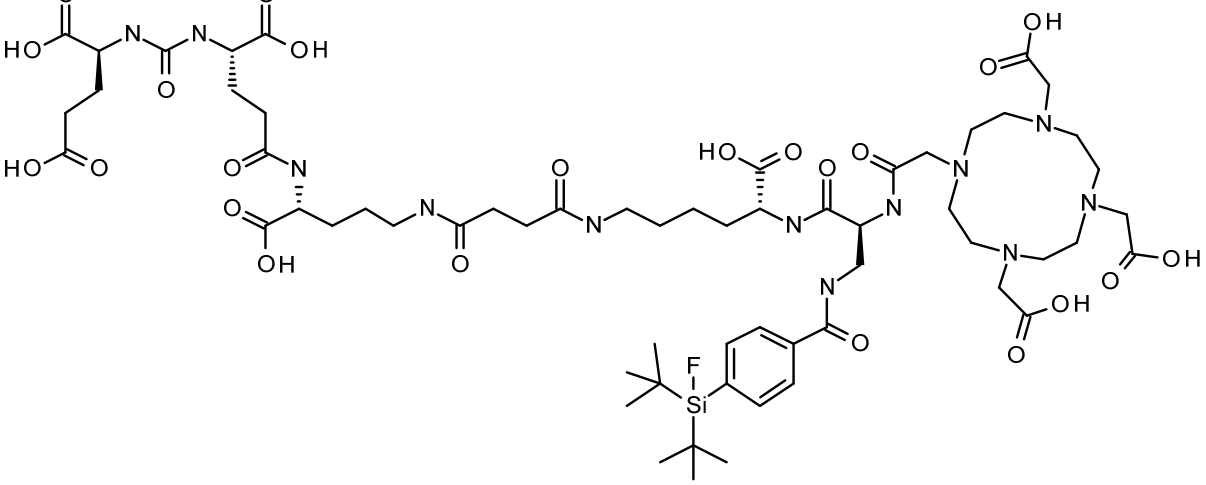


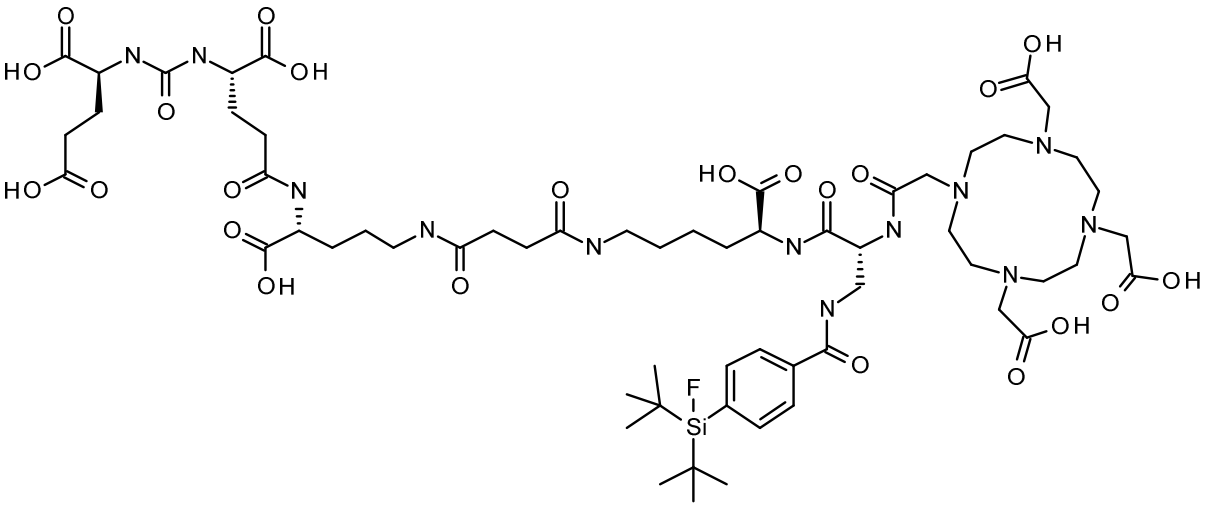
PSMA-SIFA (10)

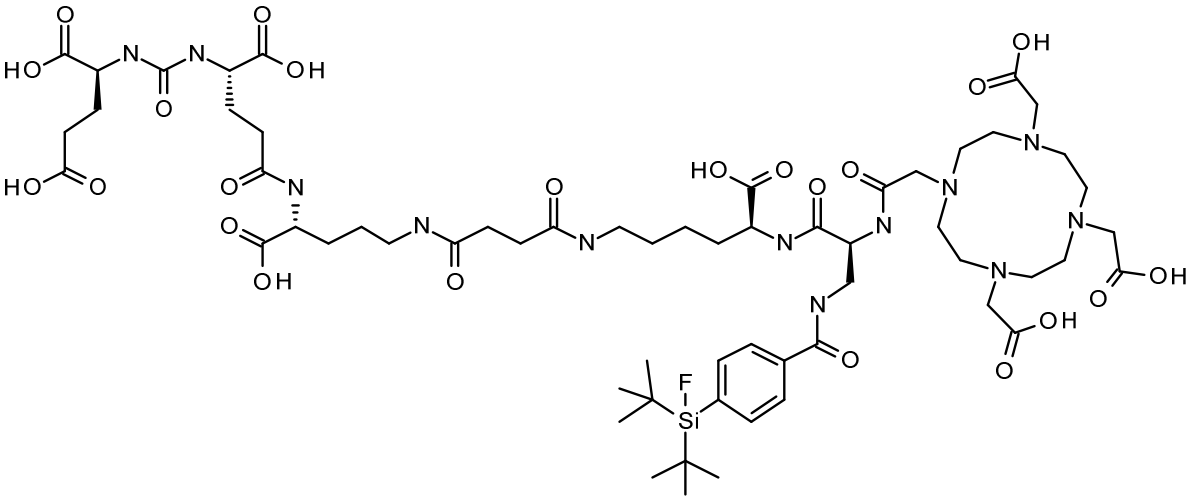


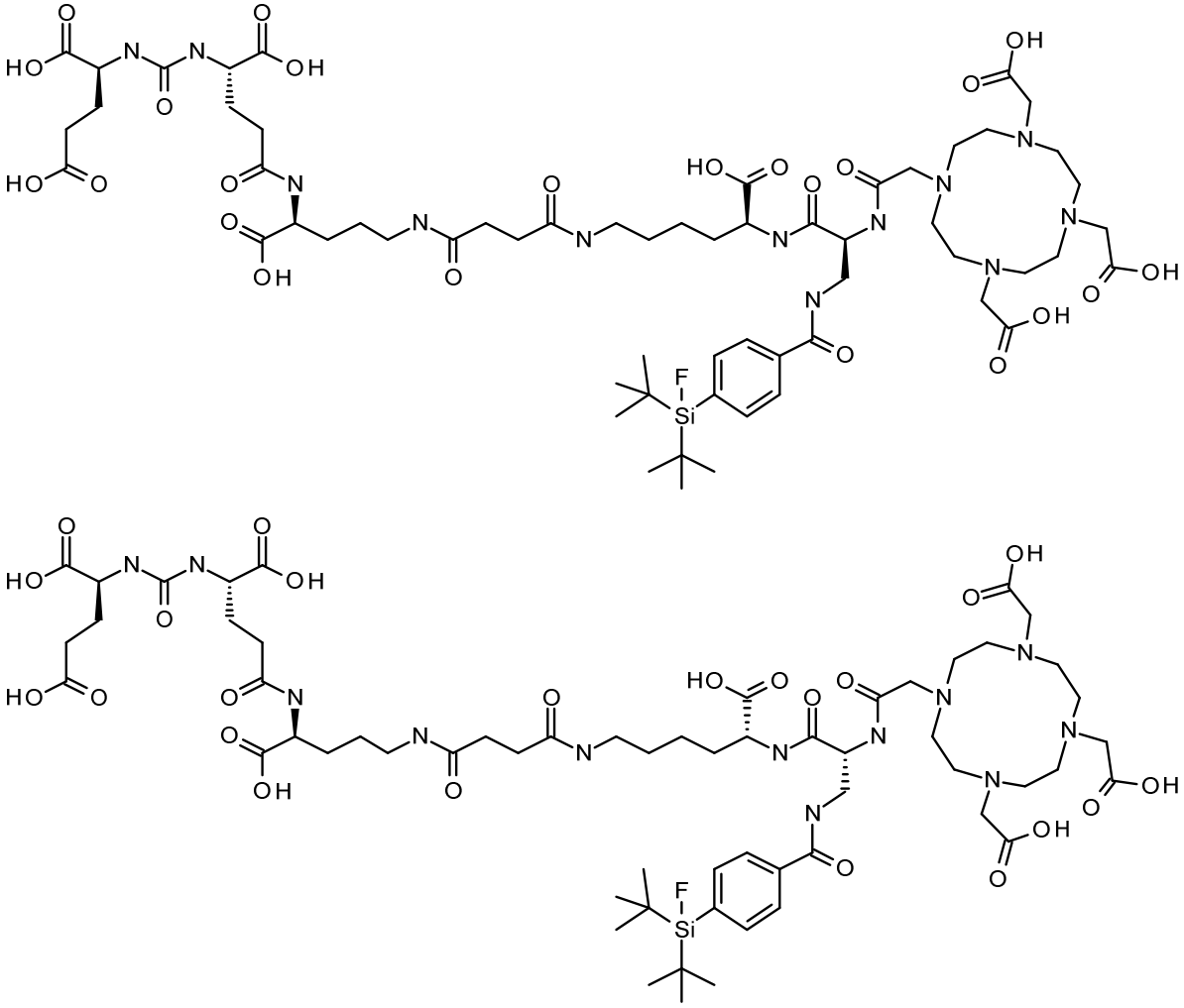
e isômeros do mesmo:

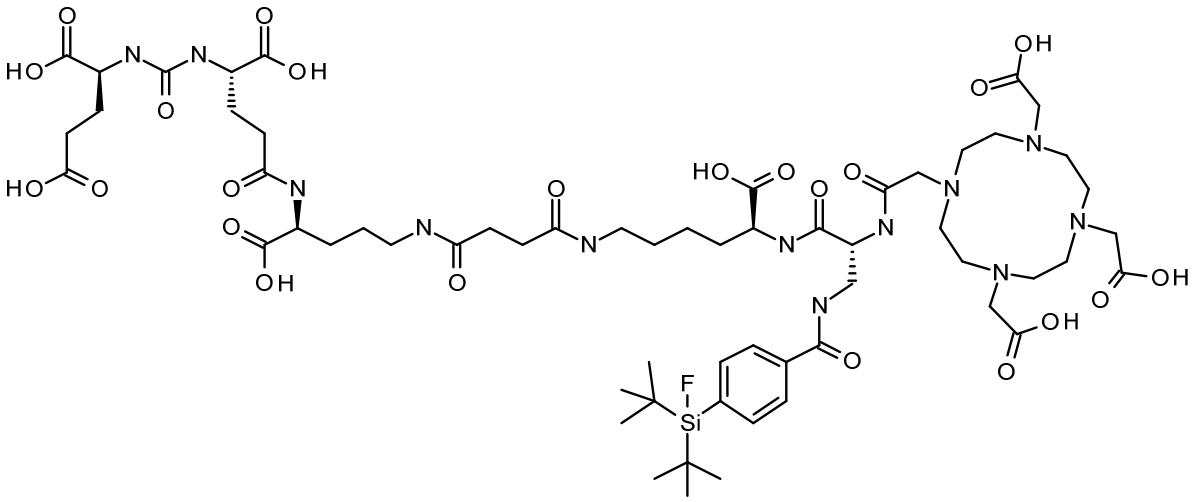


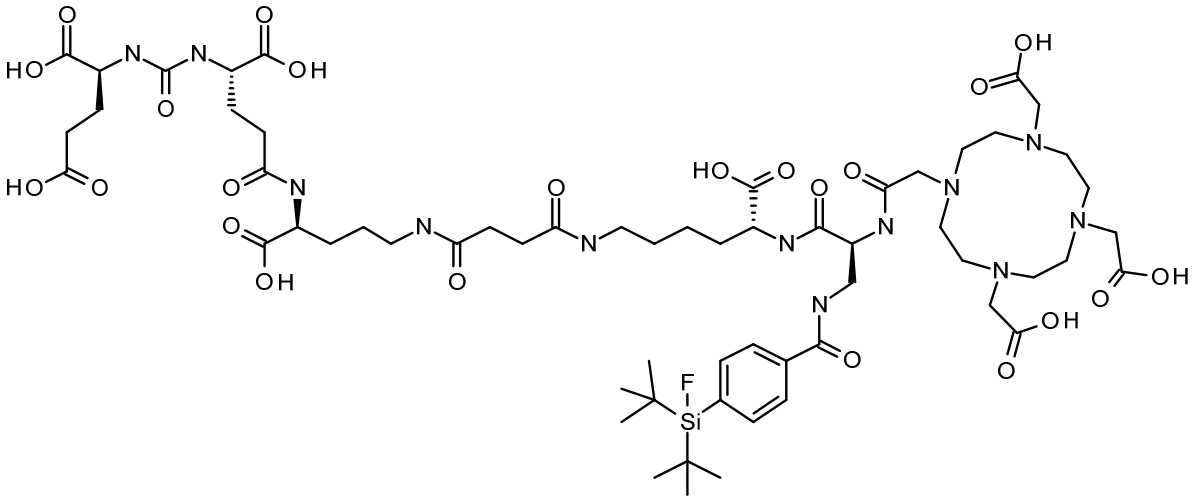




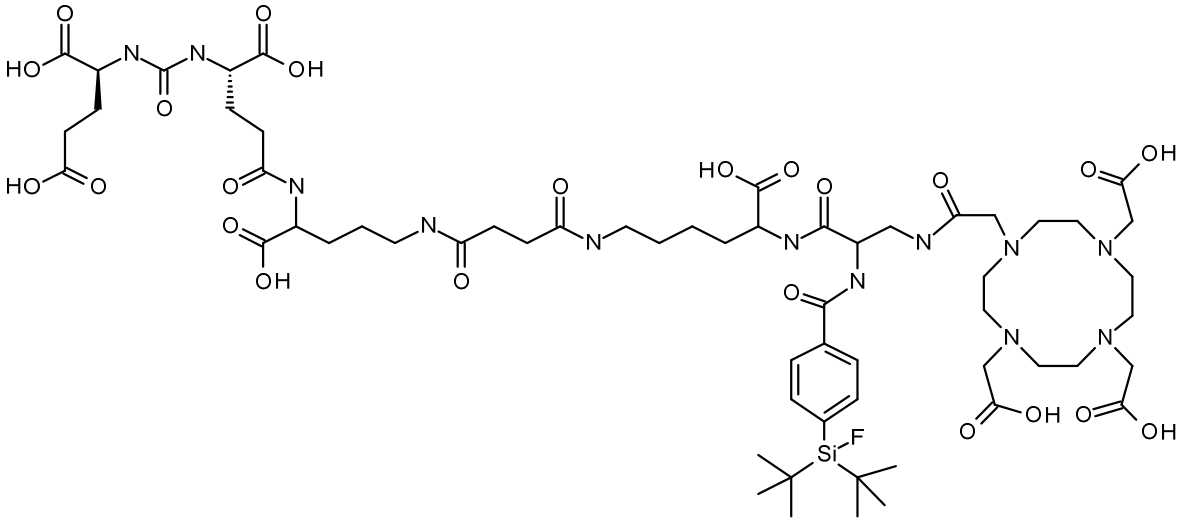




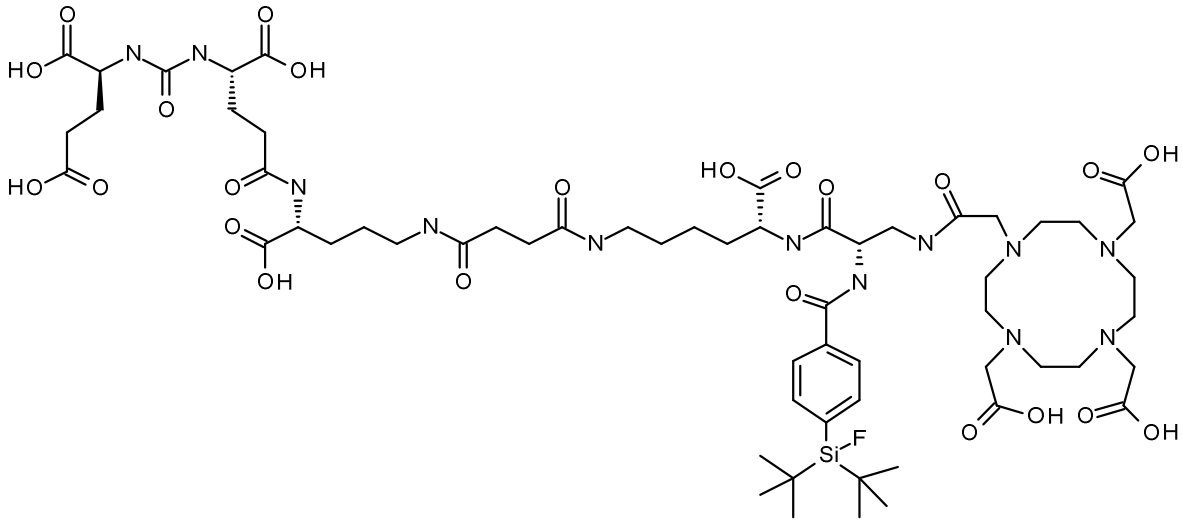


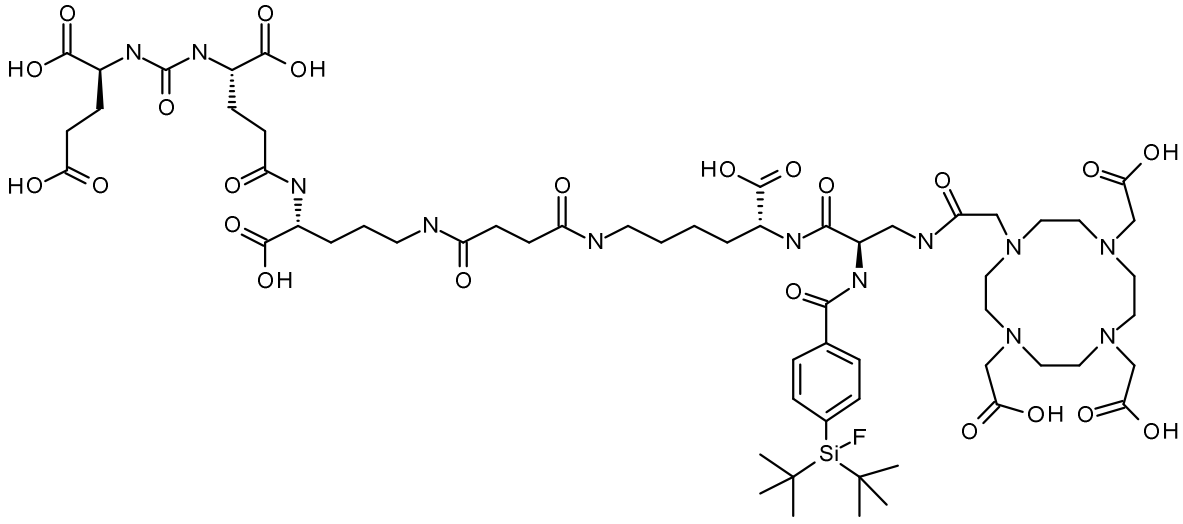


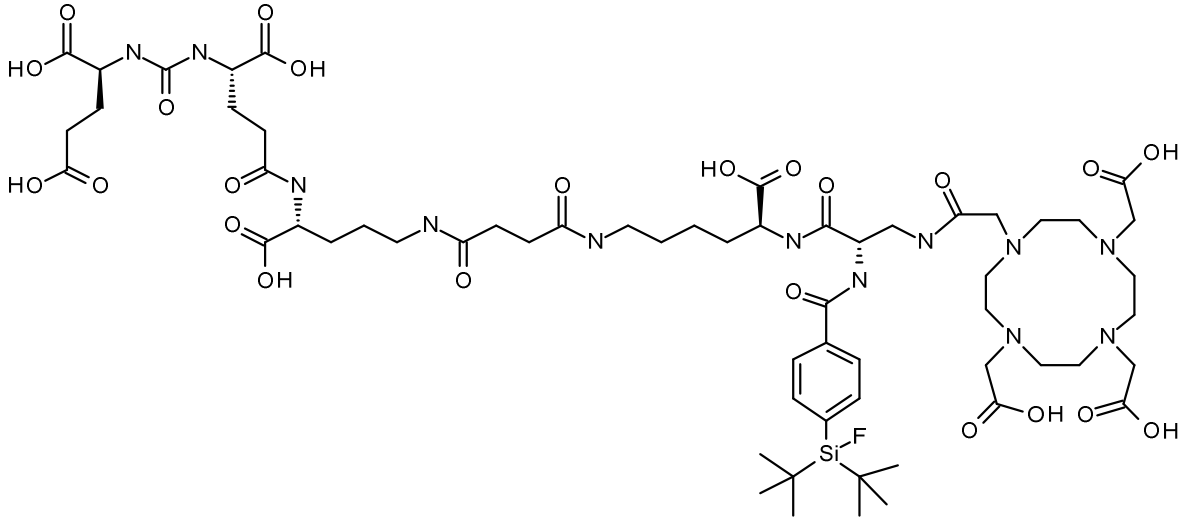
PSMA-SIFA (11)

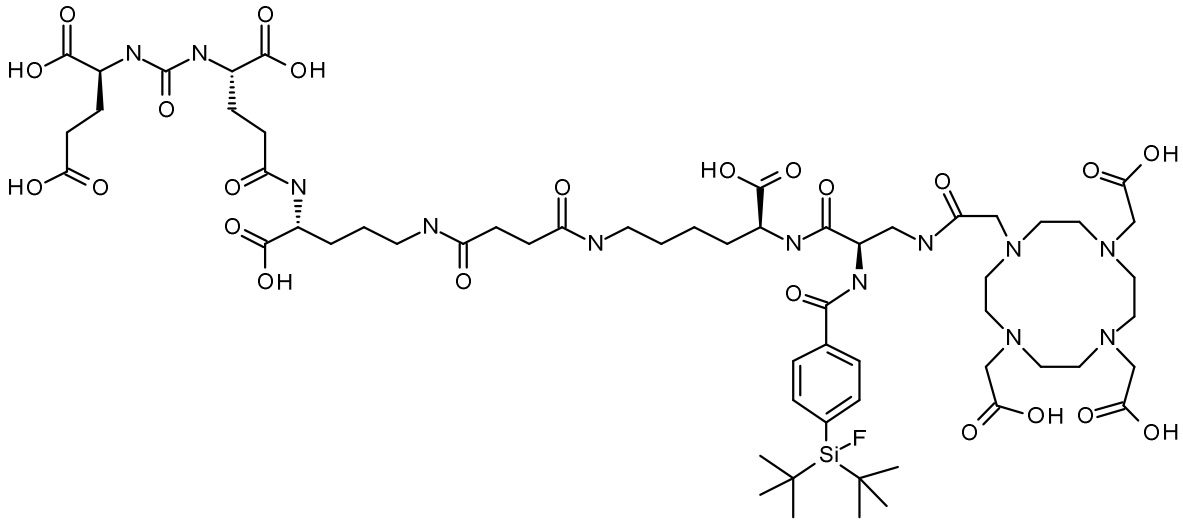


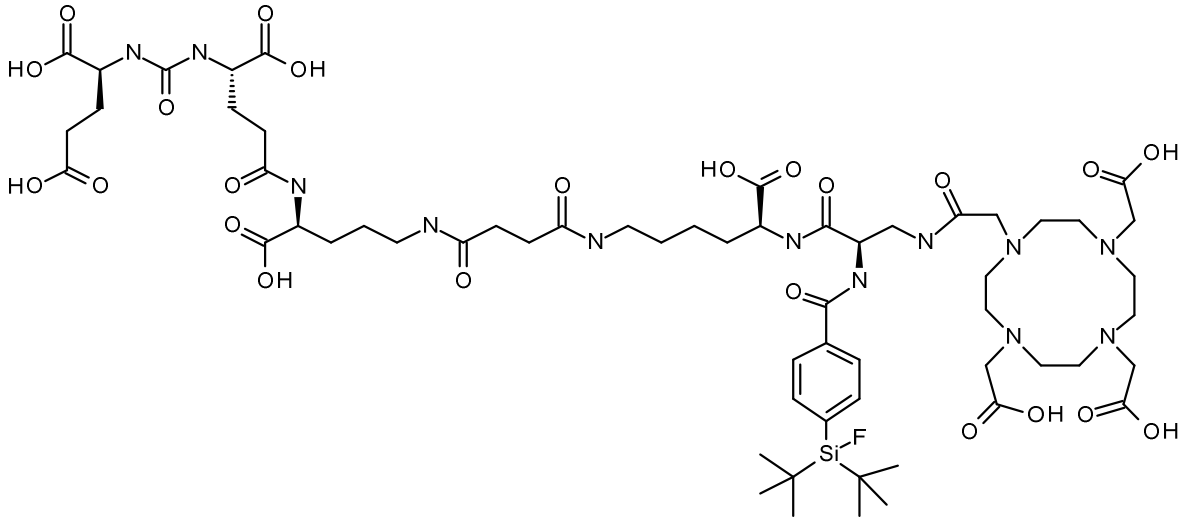
e isômeros do mesmo:

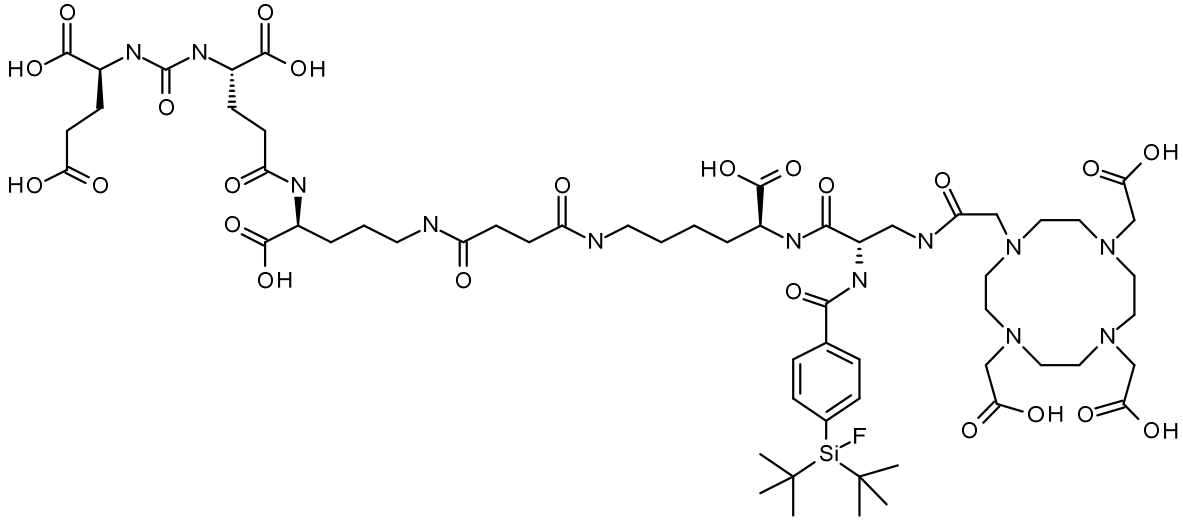


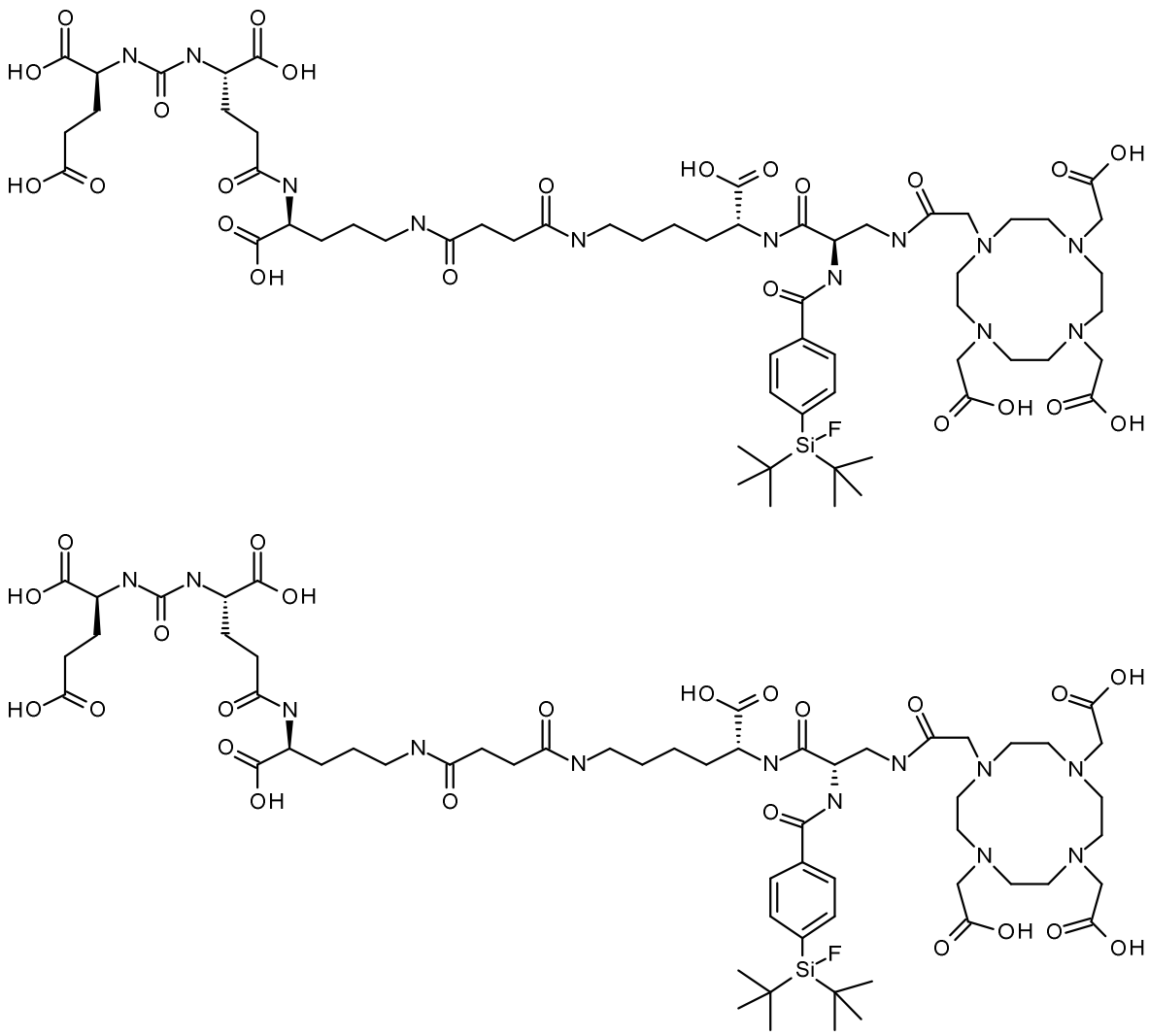












[074]Esquemas de marcação preferidos para esses compostos mais preferidos são conforme definidos acima.

[075]Em outro aspecto, a presente invenção propõe uma composição farmacêutica que compreende ou consiste em um ou mais conjugados ou compostos da invenção conforme revelados neste documento acima.

[076]Em outro aspecto, a presente invenção propõe uma composição diagnóstica que compreende ou consiste em um ou mais conjugados ou compostos da invenção conforme revelados neste documento acima.

[077]Em outro aspecto, a presente invenção propõe uma composição terapêutica que compreende ou consiste em um ou mais conjugados ou compostos da invenção conforme revelados neste documento acima.

[078]A composição farmacêutica pode compreender ainda veículos, excipientes e/ou diluentes farmaceuticamente aceitáveis. Exemplos de veículos, excipientes e/ou diluentes farmacêuticos adequados são bem conhecidos na técnica e incluem tampões fosfato-salinos, água, emulsões, tais como emulsões óleo/água, vários tipos de agentes umectantes, soluções estéreis etc. Composições compreendendo esses veículos podem ser formuladas por métodos convencionais consagrados. Essas composições farmacêuticas podem ser administradas ao paciente em uma dose adequada. A administração das composições adequadas pode ser feita de diversas maneiras, por exemplo, administração intravenosa, intraperitoneal, subcutânea, intramuscular, tópica, intradérmica, intranasal ou intrabrônquica. É particularmente preferível que a referida administração seja realizada por injeção e/ou distribuição, por exemplo, a um sítio no pâncreas ou a uma artéria cerebral ou diretamente ao tecido cerebral. As composições também podem ser administradas diretamente ao sítio almejado, por exemplo, por distribuição biolística a um sítio almejado externo ou interno, como o pâncreas ou o cérebro. O regime de dosagem será determinado pelo médico responsável e por fatores clínicos. Como é de conhecimento na medicina, as dosagens para qualquer paciente dependem de muitos fatores, inclusive das dimensões do paciente, da área da superfície corporal do paciente, da idade do paciente, do composto em específico que será administrado, do sexo do paciente, do horário e via de administração, da saúde geral do paciente e de outros fármacos administrados concorrentemente. A matéria farmaceuticamente ativa pode se fazer presente em quantidades entre 0,1 ng e 10 mg/kg do peso corporal por dose; porém, contemplam-se doses abaixo ou acima dessa faixa exemplificativa, em especial considerando os fatores supramencionados.

[079]Em outro aspecto, a presente invenção propõe um ou mais compostos da invenção conforme revelados neste documento acima para uso na medicina.

[080]Usos preferidos na medicina se dão na medicina nuclear, tal como imagiologia diagnóstica nuclear, também chamada de imagiologia molecular nuclear, e/ou radioterapia direcionada contra doenças associadas a superexpressão, de preferência de PSMA, no tecido enfermo.

[081]Em outro aspecto, a presente invenção propõe um composto da invenção conforme definido neste documento acima para uso em um método para diagnosticar e/ou definir o estágio do câncer, de preferência câncer de próstata. O câncer de próstata não é o único câncer que expressa o PSMA. Cânceres não prostáticos que exibem expressão do PSMA incluem o carcinoma de mama, carcinoma de pulmão, carcinoma colorretal e carcinoma de células renais. Sendo assim, qualquer composto descrito neste documento com um grupamento de ligação com PSMA pode ser usado no diagnóstico, imagiologia ou tratamento de um câncer com expressão do PSMA.

[082]Indicações preferidas são a detecção ou definição de estágio do câncer, tal como, entre outros, gliomas de grau avançado, câncer de pulmão e, em especial, câncer de próstata e câncer de próstata metastatizado, a detecção de uma doença metastática em pacientes com câncer de próstata primário de risco intermediário a alto risco, e a detecção de sítios metastáticos, mesmo com baixos valores de PSA no soro em pacientes com câncer de próstata bioquimicamente recorrente. Outra indicação preferida é a imagiologia e visualização da neoangiogênese.

[083]Em termos de indicações médicas para submissão a terapia, em especial radioterapia, o câncer é uma indicação preferida. O câncer de próstata é uma indicação particularmente preferida.

[084]Em outro aspecto, a presente invenção propõe um conjugado ou composto da invenção conforme definido neste documento acima para uso em um método para diagnosticar e/ou definir o estágio do câncer, de preferência câncer de

próstata.

[085]A presente invenção refere-se ainda aos itens a seguir.

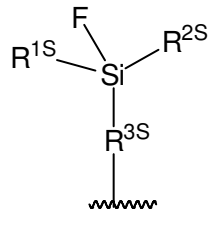
1. Conjugado ligante-SIFA-quelante, o qual compreende, dentro de uma única molécula:

um ou mais ligantes que são capazes de ligar-se a uma molécula alvo relevante para uma doença,

um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de fluoreto e que pode ser marcado com ^{18}F pela troca isotópica de ^{19}F por ^{18}F ou que é marcado com ^{18}F, e

um ou mais grupos quelantes, contendo opcionalmente um cátion não radioativo ou radioativo quelado.

2. Conjugado, de acordo com o item 1, em que o grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) tem a estrutura representada pela fórmula (I):



(I),

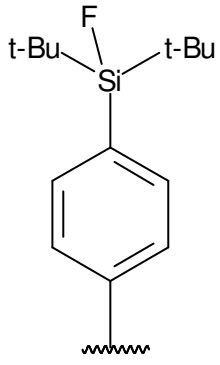
em que

R^{1S} e R^{2S} são independentemente um grupo alquila C_3 a C_{10} linear ou ramificado, de preferência R^{1S} e R^{2S} são selecionados dentre isopropila e *terc*-butila, e mais preferivelmente R^{1S} e R^{2S} são *terc*-butila;

R^{3S} é um grupo de hidrocarbonetos C_1 a C_{20} que pode compreender uma ou mais unidades aromáticas e uma ou mais unidades alifáticas e/ou até 3 heteroátomos selecionados dentre O e S, de preferência R^{3S} é um grupo de hidrocarbonetos C_6 a C_{10} que compreende um anel aromático e que pode compreender uma ou mais unidades alifáticas; mais preferivelmente R^{3S} é um anel fenila, e, mais preferivelmente, R^{3S} é um anel fenila em que o substituinte contendo Si e a ligação indicada por ~~~~ encontram-se em uma para-posição,

e em que o grupamento SIFA liga-se ao restante do conjugado através da ligação indicada por ~~~~ .

3. Conjugado, de acordo com o item 2, em que o grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) tem a estrutura representada pela fórmula (Ia):



(Ia),

em que t-Bu indica um grupo *terc*-butila.

4. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 1 a 3, em que o grupo quelante compreende ao menos um de

uma estrutura de anel macrocíclico com 8 a 20 átomos de anel, dos quais 2 ou mais, de preferência 3 ou mais, são selecionados dentre átomos de oxigênio e átomos de nitrogênio; e

uma estrutura quelante, acíclica e de cadeia aberta com 8 a 20 átomos na cadeia principal, dos quais 2 ou mais, de preferência 3 ou mais, são heteroátomos selecionados dentre átomos de oxigênio e átomos de nitrogênio.

5. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 1 a 3, em que o grupo quelante é um resíduo de um agente quelante selecionado dentre bis(carboximetil)-1,4,8,11-tetraazabiciclo[6.6.2]hexadecano (CBTE2a), ácido ciclohexil-1,2-diaminatetracético (CDTA), ácido 4-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradec-1-il)-metilbenzoico (CPTA), N'-[5-[acetil(hidróxi)amino]pentil]-N-[5-[[4-[5-aminopentil-(hidróxi)amino]-4-oxobutanoil]amino]pentil]-N-hidroxibutandiamida (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'''-tetracético (DOTA), N,N'-dipiridoxiletilenodiamina-N,N'-diacetato-5,5'-bis(fosfato) (DPDP), ácido dietilenotriaminapentacético (DTPA), ácido

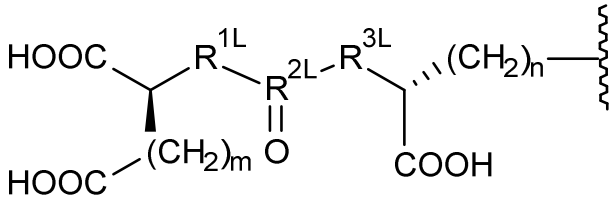
etilenodiamina-N,N'-tetracético (EDTA), ácido etilenoglicol-O,O-bis(2-aminoetil)-N,N,N',N'-tetracético (EGTA), ácido N,N-bis(hidroxibenzil)-etilenodiamina-N,N'-diacético (HBED), ácido hidroxietildiaminatriacético (HEDTA), 1-(p-nitrobenzil)-1,4,7,10-tetraazaciclodecan-4,7,10-triacetato (HP-DOA3), 6-hidrazinil-N-metilpiridina-3-carboxamida (HYNIC), ácido 1,4,7-triazaciclononano-1-succínico-ácido 4,7-diacético (NODASA), 1-(1-carbóxi-3-carboxipropil)-4,7-(carbóxi)-1,4,7-triazaciclononano (NODAGA), ácido 1,4,7-triazaciclononanotriacético (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-tetracético (TETA), terpiridin-bis(ácido metilenoamintetracético (TMT), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclotridecan-N,N',N'',N'''-tetracético (TRITA) e ácido trietilenotetraminahexacético (TTHA); cujo resíduo é obtido ligando de maneira covalente um grupo carboxila contido no agente quelante com o restante do conjugado através de uma ligação éster ou amida, de preferência uma ligação amida.

6. Conjugado, de acordo com o item 5, em que o agente quelante é selecionado dentre DOTA e DOTAGA.

7. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 1 a 6, em que o grupo quelante compreende um cátion quelado, de preferência um cátion radioativo quelado selecionado dentre ^{44}Sc, ^{47}Sc, ^{51}Cr, ^{52m}Mn, ^{58}Co, ^{52}Fe, ^{56}Ni, ^{57}Ni, ^{62}Cu, ^{64}Cu, ^{67}Cu, ^{66}Ga, ^{68}Ga, ^{67}Ga, ^{89}Zr, ^{90}Y, ^{89}Y, <Tc, ^{99m}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, ^{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, uma molécula catiônica compreendendo ^{18}F ou um cátion tal como ^{18}F-$[AlF]^{2+}$; mais preferivelmente, os cátions 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, ^{212}Bi, ^{213}Bi, ^{225}Ac e ^{227}Th ou uma molécula catiônica compreendendo ^{18}F.

8. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 1 a 8, em que o ligante é capaz de ligar-se ao PSMA.

9. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 1 a 8, em que o ligante tem a estrutura representada pela fórmula (II):



(II)

em que:

m é um número inteiro de 2 a 6, de preferência de 2 a 4, mais preferivelmente 2;

n é um número inteiro de 2 a 6, de preferência de 2 a 4, mais preferivelmente 2 ou 3;

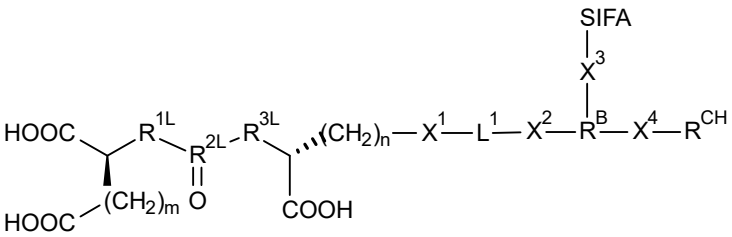
R^{1L} é CH_2, NH ou O, de preferência NH;

R^{3L} é CH_2, NH ou O, de preferência NH;

R^{2L} é C ou P(OH), de preferência C;

e em que o ligante liga-se ao restante do conjugado através da ligação indicada por ~~~~ .

10. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 1 a 9, o qual é um composto de fórmula (III):



(III)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

SIFA é um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de fluoreto e que pode ser marcado com ^{18}F pela troca isotópica entre ^{19}F e ^{18}F ou que é

marcado com ^{18}F; de preferência SIFA é o grupamento SIFA definido na reivindicação 2;

m é um número inteiro de 2 a 6, de preferência de 2 a 4, mais preferivelmente 2;

n é um número inteiro de 2 a 6, de preferência de 2 a 4, mais preferivelmente 2 ou 3;

R^{1L} é CH_2, NH ou O, de preferência NH;

R^{3L} é CH_2, NH ou O, de preferência NH;

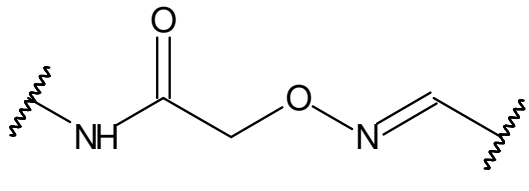
R^{2L} é C ou P(OH), de preferência C;

X^1 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia e uma ligação amina, de preferência uma ligação amida;

X^2 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia e uma ligação amina, de preferência uma ligação amida;

L^1 é um grupo ligante bivalente com uma estrutura selecionada dentre uma oligoamida, um oligoéter, um oligotioéter, um oligoéster, um oligotioéster, uma oligoureia, uma oligo(éter-amida), uma oligo(tioéter-amida), uma oligo(éster-amida), uma oligo(tioéster-amida), uma oligo(ureia-amida), um oligo(éter-tioéter), um oligo(éter-éster), um oligo(éter-tioéster), uma oligo(éter-ureia), um oligo(tioéter-éster), um oligo(tioéter-tioéster), uma oligo(tioéter-ureia), um oligo(éster-tioéster), uma oligo(éster-ureia) e uma oligo(tioéster-ureia), de preferência com uma estrutura selecionada dentre oligoamida e oligo(éster-amida);

X^3 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éster, um éter, uma amina e um grupo ligante de fórmula:

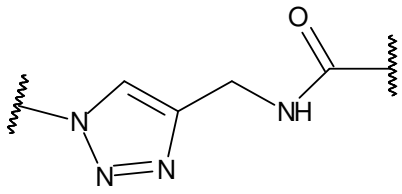


,

em que a ligação indicada por ~~~ no grupo NH liga-se a R^B e a outra ligação indicada por ~~~ liga-se a SIFA; de preferência X^3 é uma ligação amida;

R^B é um grupo de acoplamento trivalente;

X^4 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia, uma ligação amina e um grupo ligante de fórmula:



em que a ligação amida indicada por ~~~ é formada com o grupo quelante, e a outra ligação indicada por ~~~ liga-se a R^B; de preferência X^4 é uma ligação amida;

R^{CH} é um grupo quelante que contém opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado, de preferência um cátion de metal radioativo ou não radioativo, de preferência um grupo quelante conforme definido no item 4, mais preferivelmente um grupo quelante conforme definido no item 5, e mais preferivelmente ainda um grupo quelante conforme definido no item 6.

11. Conjugado, de acordo com o item 10, em que L^1 compreende um total de 1 a 5, mais preferivelmente um total de 1 a 3, e mais preferivelmente ainda um total de 1 ou 2 ligações amida e/ou éster, de preferência ligações amida, dentro de seu *backbone*.

12. Conjugado, de acordo com o item 10, em que $–X^1-L^1-X^2-$ representa uma das estruturas (L-1) e (L-2) a seguir:

$-NH-C(O)-R^6-C(O)-NH-R^7-NH-C(O)-$ (L-1)

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

em que

R^6 a R^{10} são selecionados independentemente dentre alquileno C_2 a C_{10}, de preferência alquileno C_2 a C_{10} linear, cada um desses grupos alquileno podendo ser substituído com um ou mais substituintes selecionados independentemente dentre -OH, -OCH_3, -COOH, -$COOCH_3$, -NH_2 e -NHC(NH)NH_2.

13. Conjugado, de acordo com o item 12, em que o número total de átomos de carbono em R^6 e R^7 ou R^8 a R^{10} é, respectivamente, de 8 a 20, mais preferivelmente de 8 a 14, sem átomos de carbono contidos em substituintes opcionais.

14. Conjugado, de acordo com o item 10, em que –X^1-L^1-X^2- representa uma das estruturas (L-3) e (L-4) a seguir:

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

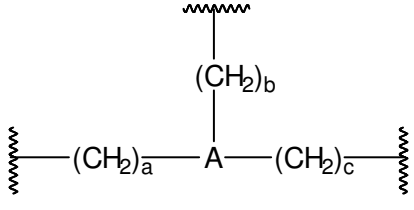
-C(O)-NH-CH(COOH)-R^{13}-NH-C(O)-R^{14}-C(O)-NH-R^{15}-CH(COOH)-NH-C(O)- (L-4)

em que

R^{11} a R^{15} são selecionados independentemente dentre alquileno C_2 a C_8, de preferência alquileno C_2 a C_8 linear.

15. Conjugado, de acordo com o item 14, em que o número total de átomos de carbono em R^{11} e R^{12} ou R^{13} a R^{15} é, respectivamente, de 8 a 18, mais preferivelmente de 8 a 12, mais preferivelmente ainda de 9 ou 10.

16. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 10 a 15, em que R^B tem a estrutura representada pela fórmula (IV):



(IV)

em que:

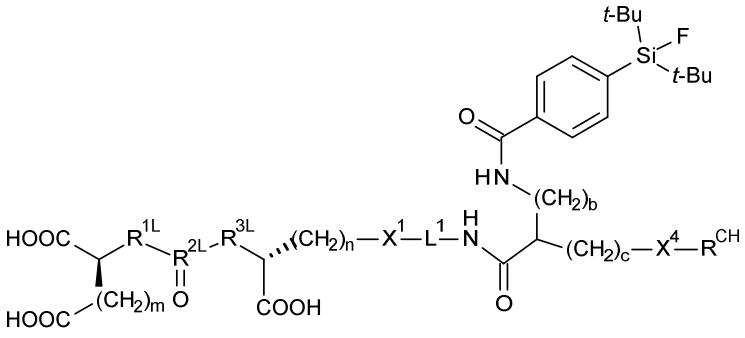
A é selecionado dentre N, CR^{16}, em que R^{16} é H ou alquila C_1-C_6, e um grupo carbocíclico ou heterocíclico de 5 a 7 membros; de preferência A é selecionado dentre N e CH, e mais preferivelmente A é CH;

a ligação indicada por ~~~ em $(CH_2)_a$ é formada com X^2, e a é um número inteiro de 0 a 4, de preferência 0 ou 1, e mais preferivelmente ainda 0;

a ligação indicada por ~~~ em $(CH_2)_b$ é formada com X^3, e b é um número inteiro de 0 a 4, de preferência de 0 a 2, e mais preferivelmente 0 ou 1; e

a ligação indicada por ~~~ em $(CH_2)_c$ é formada com X^4, e c é um número inteiro de 0 a 4, de preferência de 0 a 2, e mais preferivelmente 0 ou 1.

17. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 10 a 16, o qual é um composto de fórmula (IIIa):



(IIIa)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

em que m, n, R^{1L}, R^{2L}, R^{3L}, X^1, L^1, b, c, X^4 e R^{CH} são conforme definidos nos itens 10 a 16.

18. Conjugado, de acordo com o item 17, em que $b + c \geq 1$.

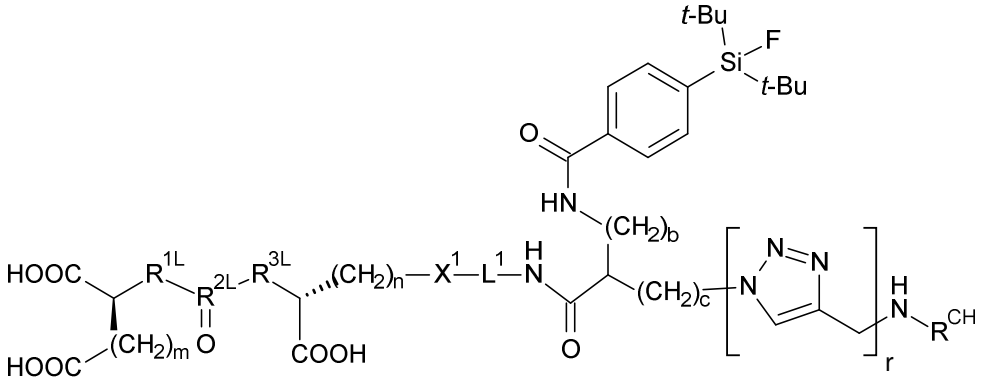
19. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 17 a 18, em que $b + c \leq 3$.

20. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 17 a 19, em que b é 1 e c é 0.

21. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 10 a 20, em que -X^4-R^{CH} representa um resíduo de um agente quelante selecionado dentre DOTA e DOTAGA ligado a um de seus grupos carboxílicos através de uma ligação amida

com o restante do conjugado.

22. Conjugado, de acordo com qualquer um dos itens 10 a 20, o qual é um composto de fórmula (IIIb):



(IIIb)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

em que

m, n, R^{1L}, R^{2L}, R^{3L}, X^1, L^1, b, c, X^4 e R^{CH} são conforme definidos nos itens 10 a 20; e

r é 0 ou 1.

23. Conjugado, de acordo com qualquer o item 22, em que -N(H)-R^{CH} representa um resíduo de um agente quelante selecionado dentre DOTA e DOTAGA ligado a um de seus grupos carboxílicos através de uma ligação amida com o restante do conjugado.

As Figuras ilustram:

[086]Figura 1: Correlação exemplificativa na determinação da ligação de nove substâncias de referência com a Albumina do Soro Humano (OriginPro 2016G)

[087]Figura 2: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{68}Ga-^{nat}F-5 em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados. Os dados são expressos por média + SD (n = 4). %ID/mL = % de dose injetada por mL. A posição do tumor é indicada por uma seta.

[088]Figura 3: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{68}Ga-^{nat}F-6 em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados. Os dados são expressos por média + SD (n = 4). %ID/mL = % de dose injetada por mL. A posição do tumor é indicada por uma seta.

[089]Figura 4: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{68}Ga-^{nat}F-7 e ^{68}Ga-^{nat}F-7 injetados junto com PMPA (8 mg/kg) em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados na varredura por PET sem bloqueio. Os dados são expressos por média + SD (n = 2). %ID/mL = % de dose injetada por mL. As posições dos tumores são indicadas por setas.

[090]Figura 5: Curvas tempo-atividade (TACs, representação logarítmica) em % de ID/mL derivadas dos dados de ^{68}Ga-^{nat}F-7 para o *pool* sanguíneo (coração), músculo, rins, fígado e xenoenxerto de tumor LNCaP obtidos por PET dinâmica (tempo de aquisição de 90 min, reconstrução por OSEM-3D) em um camungondo SCID com tumor LNCaP.

[091]Figura 6: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{18}F-7 (com quelato livre) em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados na varredura por PET sem bloqueio. Os dados são expressos por média + SD (n = 3). %ID/mL = % de dose injetada por mL. As posições dos tumores são indicadas por setas.

[092]Figura 7: Curvas tempo-atividade (TACs, representação logarítmica) em % de ID/mL derivadas dos dados de ^{18}F-7 (com quelato livre) para o *pool* sanguíneo (coração), músculo, rins, fígado e xenoenxerto de tumor LNCaP obtidos por PET dinâmica (tempo de aquisição de 90 min, reconstrução por OSEM-3D) em um camungondo SCID com tumor LNCaP.

[093]Figura 8: Biodistribuição (em % de ID/g) de ^{68}Ga-^{nat}F-7 (barras cinzas) e ^{18}F-7 (com quelato livre) (barras brancas) em 1 hora p.i. em camundongos SCID com tumor LNCaP. Os dados são expressos por média + SD (n = 3).

[094]Figura 9: Imagem por PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{68}Ga-^{nat}F-8 e ^{68}Ga-^{nat}F-8 injetados junto com PMPA (8 mg/kg) em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados na varredura por PET sem bloqueio. Os dados são expressos por média + SD (n = 2). %ID/mL = % de dose injetada por mL. As posições dos tumores são indicadas por setas.

[095]Figura 10: Curvas de atividade no tempo (TACs, representação logarítmica) em % de ID/mL derivadas dos dados de ^{68}Ga-^{nat}F-8 para o *pool* sanguíneo (coração), músculo, rins, fígado e xenoenxerto de tumor LNCaP obtidos por PET dinâmica (tempo de aquisição de 90 min, reconstrução por OSEM-3D) em um camungondo SCID com tumor LNCaP.

[096]Figura 11: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{18}F-8 (quelado livre) e ^{18}F-8 (quelado livre) injetados junto com PMPA (8 mg/kg) em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados na varredura por PET sem bloqueio. Os dados são expressos por média + SD (n = 3). %ID/mL = % de dose injetada por mL. As posições dos tumores são indicadas por setas. Atenção ao escalonamento diferente (0-10 à esquerda; 0-20 à direita)

[097]Figura 12: Curvas de atividade no tempo (TACs, representação logarítmica) em % de ID/mL derivadas dos dados de ^{18}F-8 para o *pool* sanguíneo (coração), músculo, rins, fígado e xenoenxerto de tumor LNCaP obtidos por PET dinâmica (tempo de aquisição de 90 min, reconstrução por OSEM-3D) em um camungondo SCID com tumor LNCaP.

[098]Figura 13: Biodistribuição (em % de ID/g) de ^{68}Ga-^{nat}F-8 (quelado livre) (barras cinzas) e ^{18}F-8 (barras brancas) em 1 hora p.i. em camundongos SCID com tumor LNCaP. Os dados são expressos por média + SD (n = 3).

[099]Figura 14: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{68}Ga- ^{nat}F-9 (quelado livre) e ^{68}Ga- ^{nat}F-9 (quelado livre) injetados junto com PMPA (8 mg/kg) em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados na varredura por PET sem bloqueio. Os dados são expressos por média + SD (n = 3). %ID/mL = % de dose injetada por mL. As posições dos tumores são indicadas por setas.

[0100]Figura 15: Curvas de atividade no tempo (TACs, representação logarítmica) em % de ID/mL derivadas dos dados de ^{68}Ga-^{nat}F-9 para o *pool* sanguíneo (coração), músculo, rins, fígado e xenoenxerto de tumor LNCaP obtidos por PET dinâmica (tempo de aquisição de 90 min, reconstrução por OSEM 3D) em um camungondo SCID com tumor LNCaP.

[0101]Figura 16: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{18}F-9 (quelado livre) e ^{18}F-9 (quelado livre) injetados junto com PMPA (8 mg/kg) em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados na varredura por PET sem bloqueio. Os dados são expressos por média + SD (n = 4). %ID/mL = % de dose injetada por mL. As posições dos tumores são indicadas por setas.

[0102]Figura 17: Curvas de atividade no tempo (TACs, representação logarítmica) em % de ID/mL derivadas dos dados de ^{18}F-9 (quelato livre) para o *pool* sanguíneo (coração), músculo, rins, fígado e xenoenxerto de tumor LNCaP obtidos por PET dinâmica (tempo de aquisição de 90 min, reconstrução por OSEM 3D) em um camungondo SCID com tumor LNCaP.

[0103]Figura 18: Biodistribuição (em % de ID/g) de ^{68}Ga-^{nat}F-9 (barras cinzas) e ^{18}F-9 (quelato livre) (barras brancas) em 1 hora p.i. em camundongos SCID com tumor LNCaP. Os dados são expressos por média + SD (n = 3).

[0104]Figura 19: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{18}F-^{nat}Ga-7 (quelado livre) e ^{18}F-^{nat}Ga-7 (quelado livre) injetados junto com PMPA (8 mg/kg) em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados na varredura por PET sem bloqueio. Os dados são expressos por média + SD (n = 3). %ID/mL = % de dose injetada por mL. As posições dos tumores são indicadas por setas.

[0105]Figura 20: Biodistribuição (em % de ID/g) de ^{18}F-^{nat}Ga-7 (quelado livre) (barras brancas) em comparação ao composto estruturalmente idêntico ^{68}Ga-^{nat}F-7 (quelato livre) (barras cinzas) em 1 hora p.i. em camundongos SCID com tumor LNCaP. Os dados são expressos por média + SD (n = 3).

[0106]Figura 21: A imagem à esquerda exibe a projeção de intensidade máxima (MIR) da PET de um paciente com biodistribuição normal (sem lesões tumorais detectáveis). As imagens foram obtidas 76 min após a injeção de 272 MBq de PSMA-SIFA3 marcado com 18F (7). A imagem à direita ilustra a projeção de intensidade máxima (MIP) da PET de um paciente com uma doença moderadamente avançada exibindo várias lesões tumorais com alta razão lesão para plano de fundo. As imagens foram obtidas 102 min após a injeção de 312 MBq de PSMA-SIFA3 marcado com 18F (7).

[0107]Figura 22: é uma representação gráfica da Tabela 6

[0108]Figura 23: é uma representação gráfica da Tabela 7

[0109]Figura 24: é uma representação gráfica da Tabela 8

[0110]Figura 25: é uma representação gráfica da Tabela 9

[0111]Figura 26: MIR (A) e imagens transaxiais (B-D) de um paciente de 70

anos de idade com recorrência bioquímica 1,5 ano após prostatectomia radical (Gleason 8, pT2c, pN1). Uma única lesão típica do câncer de próstata com 5 mm de diâmetro na pelve direita com alta absorção de PSMA-SIFA3 marcado com 18F (7) se faz presente. A natureza maligna da lesão foi averiguada por histopatologia.

[0112]Figura 27: Conjunto de imagens de um paciente de 80 anos de idade com câncer de próstata resistente à castração progressivo avançado (PSA 66,4 ng/ml). As imagens ilustram a alta absorção de PSMA-SIFA3 marcado com 18F (7) em diferentes classes de lesões de câncer próstata (tumor local, metastases nos linfonodos, metastases nos ossos, metastases no fígado). As lesões exibidas têm meros 2 mm (as setas indicam lesões tumorais representativas, mas não todas).

[0113]Figura 28: investigação de prova de conceito de um traçador PET à base de quelante substituído com SIFA marcado com ^{68}Ga.

[0114]Figura 29: Imagem PET representativa (projeção de intensidade máxima, quadro dorsal) de ^{18}F-^{nat}Lu-rh-7 em camundongos SCID com tumor LNCaP (1 h p.i., tempo de aquisição de 15 min) e quantificação da ROI de órgãos selecionados na varredura por PET sem bloqueio. Os dados são expressos por média + SD (n = 3). %ID/mL = % de dose injetada por mL. As posições dos tumores são indicadas por setas.

[0115]Figura 30: Curvas de atividade no tempo (TACs, representação logarítmica) em % de ID/mL derivadas dos dados de ^{18}F-^{nat}Lu-rh-7 para o *pool* sanguíneo (coração), músculo, rins, fígado e xenoenxerto de tumor LNCaP obtidos por PET dinâmica (tempo de aquisição de 90 min, reconstrução por OSEM 3D) em um camungondo SCID com tumor LNCaP.

[0116]Figura 31: Biodistribuição (em % de ID/g) de ^{177}Lu-^{nat}F-7, ^{177}Lu-^{nat}F-8 e ^{177}Lu-^{nat}F-10 em 24 horas p.i. em camundongos SCID com tumor LNCaP. Os dados são expressos por média + SD (n = 4).

[0117]Figura 32: Biodistribuição (em % de ID/g) de ^{177}Lu-^{nat}F-10 em 1 hora e

24 horas p.i. em camundongos SCID com tumor LNCaP. Os dados são expressos por média + SD (n = 4).

[0118]Figura 33: Biodistribuição comparativa (em % de ID/g) de ligantes do rhPSMA consagrados e novos em 24 horas p.i. em camundongos SCID com tumor LNCaP. Os dados são expressos por média + SD (n = 4-5).

[0119]Figura 34: Biodistribuição (em % de ID/g) de ^{177}Lu-^{nat}F-10 e ^{68}Ga-^{nat}F-10 em 1 hora p.i. em camundongos SCID com tumor LNCaP. Os dados são expressos por média + SD (n = 4).

[0120]Os Exemplos visam a ilustrar a invenção.

Exemplo 1: Materiais e Métodos

Considerações Gerais

[0121]Fmoc-(9-fluorenilmetoxicarbonil-) e todos os demais análogos de aminoácido protegidos foram adquiridos junto à Bachem (Bubendorf, Suíça) ou Iris Biotech (Marktredwitz, Alemanha). A resina de tritilcloreto poliestireno (TCP) foi obtida junto à PepChem (Tübingen, Alemanha). A Chematech (Dijon, França) forneceu os quelantes DOTAGA-anidrido e NOTA. O quelante TRAP *(*1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-tris[ácido metileno(2-carboxietil)fosfínico]*)* foi sintetizado conforme descrito previamente (Notni *et al.*, *Chemistry* (Weinheim an der Bergstrasse, Alemanha) 16), 7174-85 (2010)). A síntese do aceitante de fluoreto de silício SIFA-ácido benzoico foi realizada de acordo com um procedimento já publicado (Iovkova *et al.*, *Chemistry* (Weinheim an der Bergstrasse, Alemanha) 15, 2140-7 (2009)). Todos os solventes necessários e outros reagentes orgânicos foram adquiridos junto à Alfa Aesar (Karlsruhe, Alemanha), Sigma-Aldrich (Munich, Alemanha) ou VWR (Darmstadt, Alemanha). A síntese em fase sólida dos peptídeos foi realizada por operação manual usando um agitador de seringas Intelli-Mixer (Neolab, Heidelberg, Alemanha). As cromatografias de alta pressão em fase reversa analíticas e preparativas (RP-HPLC) foram realizadas usando sistemas de gradiente

Shimadzu (Shimadzu Deutschland GmbH, Neufahrn, Alemanha), cada uma equipada com um detector de UV/Vis SPD-20A (220 nm, 254 nm). Uma coluna Nucleosil 100 C18 (125 × 4,6 mm, tamanho das partículas de 5 µm) (CS GmbH, Langerwehe, Alemanha) foi usada para medições analíticas a uma vazão de 1 mL/min. Tanto os gradientes específicos quanto os tempos de retenção t_R correspondentes são dados no texto. A purificação por HPLC preparativa foi feita com uma coluna Multospher 100 RP 18 (250 × 10 mm, tamanho das partículas de 5 µm) (CS GmbH, Langerwehe, Alemanha) a uma vazão constante de 5 mL/min. *As* rádio-RP-HPLC analíticas e preparativas foram realizadas usando uma coluna Nucleosil 100 C18 (5 µm, 125 × 4,0 mm) (CS GmbH, Langerwehe, Alemanha). Os eluentes em todas as operações de HPLC foram água (solvente A) e acetonitrila (solvente B), ambas contendo ácido trifluoracético a 0,1%. Espectros de ionização-massas por eletropulverização para a caracterização das substâncias foram obtidos em um espectrômetro de massas CMS de expressão^{L} (Advion Ltd., Harlow, Reino Unido). A radioatividade foi detectada pela conexão da saída do fotômetro UV com um contador de cintilação do tipo poços de NaI(Tl) da EG&G Ortec (Munich, Alemanha). A cromatografia de permeação em gel (GPC) foi realizada em um Sephadex GP-10 (100 g, tamanho do leito de cerca de 30×3 cm) com água como eluente, separando o eluato em frações de 20 mL. Espectros de RMN foram registrados em espectrômetros Bruker AVHD-300 ou AVHD-400 a 300 K. Os valores de pH foram medidos com um medidor de pH SevenEasy (Mettler Toledo, Gießen, Alemanha).

Protocolos de síntese

1) Síntese de peptídeos em fase sólida após estratégia Fmoc

Carregamento de resina TCP

[0122]O carregamento da resina de tritilcloreto de poliestireno (TCP) com um aminoácido (AA) protegido por Fmoc foi realizado agitando uma solução da resina

TCP (1,95 mmol/g) e Fmoc-AA-OH (1,5 eq.) em DCM anidro com DIPEA (4,5 eq.) a temperatura ambiente por 2 h. O tritilcloreto remanescente foi capeado pela adição de metanol (2 mL/g resina) por 15 min. Depois disso, a resina foi filtrada, lavada com DCM (2 × 5 mL/g de resina), DMF (2 × 5 mL/g de resina) e metanol (5 mL/g de resina) e seca a vácuo. O carregamento final *l* de Fmoc-AA-OH foi determinado pela equação a seguir:

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

m_2 = massa da resina carregada [g]
m_1 = massa da resina descarregada [g]
M_w = peso molecular de AA [g/mol]
M_{HCl} = peso molecular de HCl [g/mol]

Formação de peptídeo sobre a resina

[0123]O respectivo Fmoc-AA-OH protegido pela cadeia lateral (1,5 eq.) foi dissolvido em DMF (8 mL/g de resina) e pré-ativado adicionando TBTU (1,5 eq.), HOBt (1,5 eq.) e DIPEA (4,5 eq.). A pré-ativação para SIFA-BA foi realizada analogamente. No caso de aminoácidos azido-substituídos (2,0 eq.), utilizaram-se HATU (3,0 eq.), HOAt (3,0 eq.) e DIPEA (6,0 eq.). Após ativação por 15 minutos, adicionou-se a solução ao peptídeo sem amina ligado à resina TCP-AA-NH_2 e agitou-se por 2 h a temperatura ambiente. Depois disso, a resina foi lavada com DMF (6 × 5 mL/g de resina) e, após desproteção do Fmoc, o aminoácido seguinte foi acoplado analogamente.

Desproteção de Fmoc sobre a resina

[0124]O Fmoc-peptídeo ligado à resina foi tratado com piperidina a 20% em DMF (v/v, 8 mL/g de resina) por 5 min e, subsequentemente, por 15 min. Depois disso, a resina foi lavada por inteiro com DMF (8 × 5 mL/g de resina).

Desproteção de Dde sobre a resina

[0125]O peptídeo protegido por Dde (1,0 eq.) foi dissolvido em uma solução de monoidrato de hidrazina a 2% em DMF (v/v, 5 mL/g de resina) e agitado por 15 min. No caso dos presentes grupos Fmoc, a desproteção de Dde foi realizada

adicionando uma solução de imidazol (0,46 g), cloridrato de hidroxilamina (0,63 g) em NMP (2,5 mL) e DMF (0,5 mL) por 3 h a temperatura ambiente. Após a desproteção, a resina foi lavada com DMF (6 × 5 mL/g de resina).

Desproteção de Alloc sobre a resina

[0126]O grupo protetor aliloxi foi removido pela adição de triisopropilsilano (TIPS) (50,0 eq.) e tetraquis(trifenilfosfina)paládio(0) ($Pd(PPh_3)_4$) (0,3 eq.) dissolvido em DCM (6 mL). Após 1,5 h a temperatura ambiente, a resina foi lavada com DMC (6 × 5 mL/g de resina).

Desproteção de tBu/Boc

[0127]A remoção dos grupos protetores *t*Bu/*t*Boc foi realizada dissolvendo o produto bruto em TFA e agitando por 40 min a TA. Depois de remover o TFA sob fluxo de nitrogênio, o resíduo foi dissolvido em uma mistura de *terc*-butanol e água. Após a liofilização, obteve-se o peptídeo bruto.

Clivagem do peptídeo a partir da resina

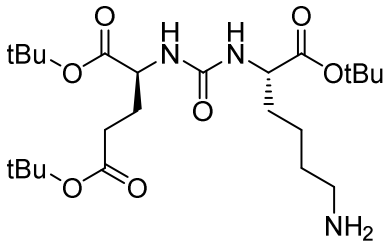
a) Preservação de grupos protetores lábeis a ácido: O peptídeo ligado à resina foi dissolvido em uma mistura de DCM/TFE/AcOH (v/v/v; 6/3/1, 8 mL/g de resina) e agitado por 30 min. A solução contendo o peptídeo totalmente protegido foi filtrada, e a resina foi tratada com outra porção da solução de clivagem por 30 min. Ambas as frações foram combinadas e o ácido acético removido sob pressão reduzida adicionando sucessivamente tolueno e água. Após a liofilização da água remanescente, obteve-se o peptídeo totalmente protegido bruto.

b) Desproteção de todos os grupos protetores lábeis a ácido: O peptídeo ligado à resina totalmente protegido foi dissolvido em uma mistura de TFA/TIPS/água (v/v/v; 95/2,5/2,5) e agitado por 30 min. A solução foi filtrada, e a resina foi tratada da mesma maneira por mais 30 min. Ambos os filtrados foram combinados e concentrados sob fluxo de nitrogênio. Depois de dissolver o resíduo

em uma mistura de *terc*-butanol e água e da liofilização subsequente, obteve-se o peptídeo bruto.

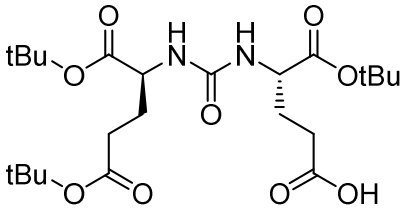
2) Síntese dos motivos de ligação

Lys-ureia-Glu ((tBuO)KuE(OtBu)$_2$) (1)



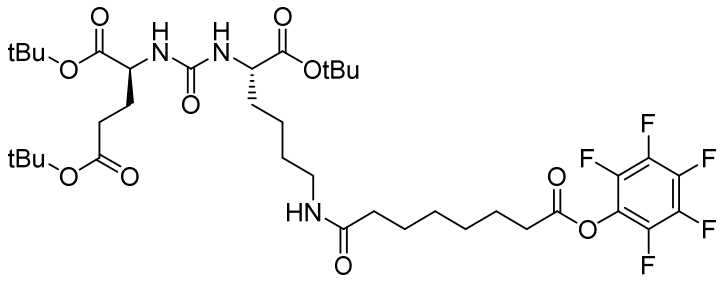
[0128]A síntese do motivo de ligação Lys-ureia-Glu protegido por tBu (EuK) foi realizada conforme descrito previamente pela síntese em fase de solução *(*Weineisen et al., EJNMMI research 4, 63 (2014)). O produto foi obtido na forma de um sólido ceráceo (91,5%). HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 12,6 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{24}H_{45}N_3O_7$): 487,6 encontrados: m/z = 488,3 $[M+H]^+$, 510,3 $[M+Na]^+$.

Glu-ureia-Glu ((tBuO)EuE(OtBu)$_2$) (2)



[0129]O motivo de ligação Glu-ureia-Glu protegido por tBu (EuE) foi sintetizado de acordo com um procedimento já publicado (Weineisen et al., EJNMMI research 4, 63 (2014)). O produto foi obtido na forma de um sólido higroscópico (84%). HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 11,3 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{23}H_{49}N_2O_9$): 488,3; encontrados: m/z = 489,4 $[M+H]^+$, 516,4 $[M+Na]^+$.

PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)$_2$ (3)

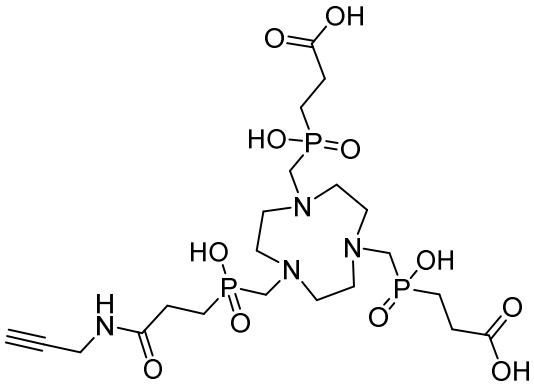


[0130]A conjugação de EuK com o espaçador ácido subérico foi realizada conforme descrito previamente (Weineisen et al., EJNMMI research 4, 63 (2014)). O produto foi obtido na forma de um óleo incolor (72%). HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 15,5 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{38}H_{56}F_5N_3O_{10}$): 809,4 encontrados: m/z = 810,6 $[M+H]^+$, 832,4 $[M+Na]^+$.

Conjugação do subgrupamento EuK (3) ao peptídeo

[0131]O peptídeo desprotegido N-terminal (1,0 eq.) foi adicionado a uma solução de 3 (1,2 eq.) em DMF, e adicionou-se TEA (8 eq.). Depois de agitar a solução por 2 h a temperatura ambiente, o DMF foi removido a vácuo. Para a clivagem dos tBu-ésteres, adicionou-se TFA e agitou-se a solução por 45 min a temperatura ambiente. Depois de remover o TFA sob fluxo de nitrogênio, o produto bruto foi purificado por RP-HPLC.

3) Síntese de propargil-TRAP (4)



[0132]A síntese de propargil-TRAP foi realizada conforme descrito previamente (Reich *et al.*, *Chemical communications* (Cambridge, Inglaterra) 53, 2586-2589(2017)). A purificação final foi realizada por HPLC preparativa, produzindo 60,2 mg (82,4 µmol, 46%) de propargil-TRAP na forma de um sólido incolor. HPLC

(2% a 40% de B em 20 min): t_R = 6,0 min. Massa monoisotópica calculada (*(*$C_{21}H_{39}N_4O_{11}P_3$): 616,5 encontrados: m/z = 617,5 $[M+H]^+$.

[0133]RMN de ^1H (300 MHz, D_2O, 300 K) δ = 1,96–2,08 (m, 6H, C(O)-CH_2), 2,46–2,55 (m, 2H, P^B-CH_2-C), 2,59–2,70 (m, 4H, P^A-CH_2-C), 3,36 (d, 2H, $^2J_{PH}$ = 6 Hz, P^B-CH_2-N), 3,41 (d, 4H, $^2J_{PH}$ = 6 Hz, P^A-CH_2-N), 3,47–3,48 (m, 12H, anel-CH_2), 3,95 (d, 2H, CH_2-C≡CH, $^4J_{HH}$ = 3 Hz) ppm*, RMN de $^{13}C\{^1H\}$ (101 MHz, D_2O, 300 K) δ = 24,61 (d, $^1J_{PP}$ = 95 Hz, P^B-C-C), 25,07 (d, $^1J_{PP}$ = 94 Hz, P^A-C-C), 26,71 (d, $^2J_{PP}$ = 4 Hz, P^B-C-C), 27,82 (d, $^2J_{PP}$ = 3 Hz, P^A-C-C), 28,89 (C-C≡C), 51,29 / 51,41 / 51,50 (três anéis-C diferentes), 53,66 (d, $^1J_{PP}$ = 91 Hz, N-C-P^A), 53,66 (d, $^1J_{PP}$ = 90 Hz, N-C-P^B), 71,79 (C-C≡C), 79,65 (C-C≡C), 174,46 (d, $^3J_{PP}$ = 14 Hz, N(H)-C=O^B), 177,24 (d, $^3J_{PP}$ = 13 Hz, C=O^A) ppm*. RMN de $^{31}P\{^1H\}$ (162 MHz, D_2O, 300 K) δ = 37,99 (P^A), 38,68 (P^B) ppm*. *: os índices ^{A} e ^{B} indicam átomos de P e O pertencentes ao braço lateral subdecorado^A e decorado^B, respectivamente.

Acoplamento de propargil-TRAP (4) com o peptídeo

[0134]Para a conjugação de peptídeos funcionalizados com azida a propargil-TRAP através da cicloadição de alcino-azida catalisada com cobre(I), empregou-se um procedimento previamente desenvolvido (Reich *et al*., *Chemical communications* (Cambridge, Inglaterra) 53, 2586-2589(2017)). Em suma, o propargil-TRAP (1,0 eq.) foi dissolvido em água (solução a 40 mM) e combinado a uma solução do peptídeo (1,1 eq.) em uma mistura 1:1 (v/v) de *t*BuOH e água. Subsequentemente, adicionou-se uma solução de ascorbato sódico (0,5 M, 50 eq.) em água. A fim de iniciar a reação, adicionou-se uma solução aquosa de $Cu(OAc)_2 \cdot H_2O$ (0,05 M, 1,2 eq.), que resultou em um precipitado marrom que dissolveu após agitação em uma solução verde-clara. Para a desmetalação do TRAP, adicionou-se uma solução aquosa de ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-triacético (NOTA, 8 mM, 12 eq.) e o pH foi ajustado para 2,2 com HCl aq. a 1 M.

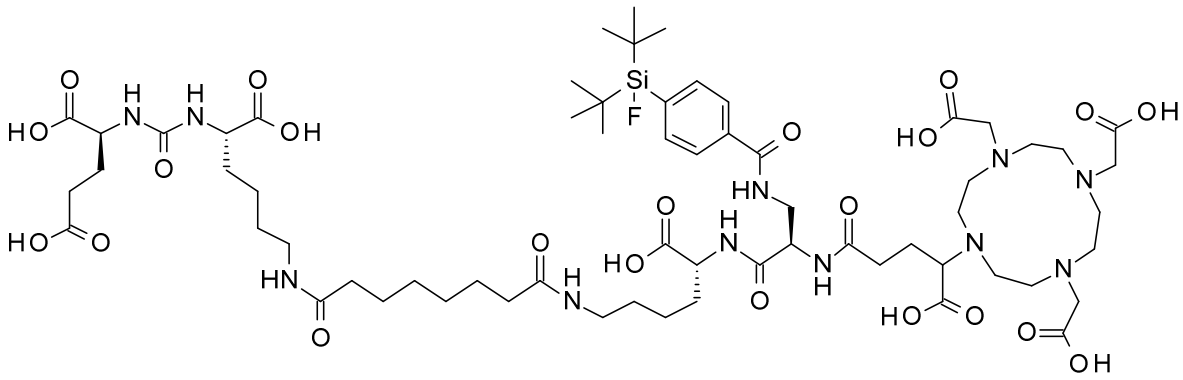
Depois de 1 h a 60° C ou 48 h a temperatura ambiente, a mistura foi submetida diretamente a purificação por HPLC preparativa.

4) Conjugação de DOTAGA

[0135]A condensação de peptídeos e o respectivo quelante DOTAGA-anidrido são descritos em várias publicações e sumarizados de acordo com o seguinte: o peptídeo desprotegido N-terminal (1,0 eq.) foi dissolvido junto com DOTAGA-anidrido (1,5 eq.) e DIPEA (10.0 eq.) em DMF seco. Depois de agitar a mistura de reação de um dia para o outro, o DMF foi removido a vácuo, gerando o produto bruto.

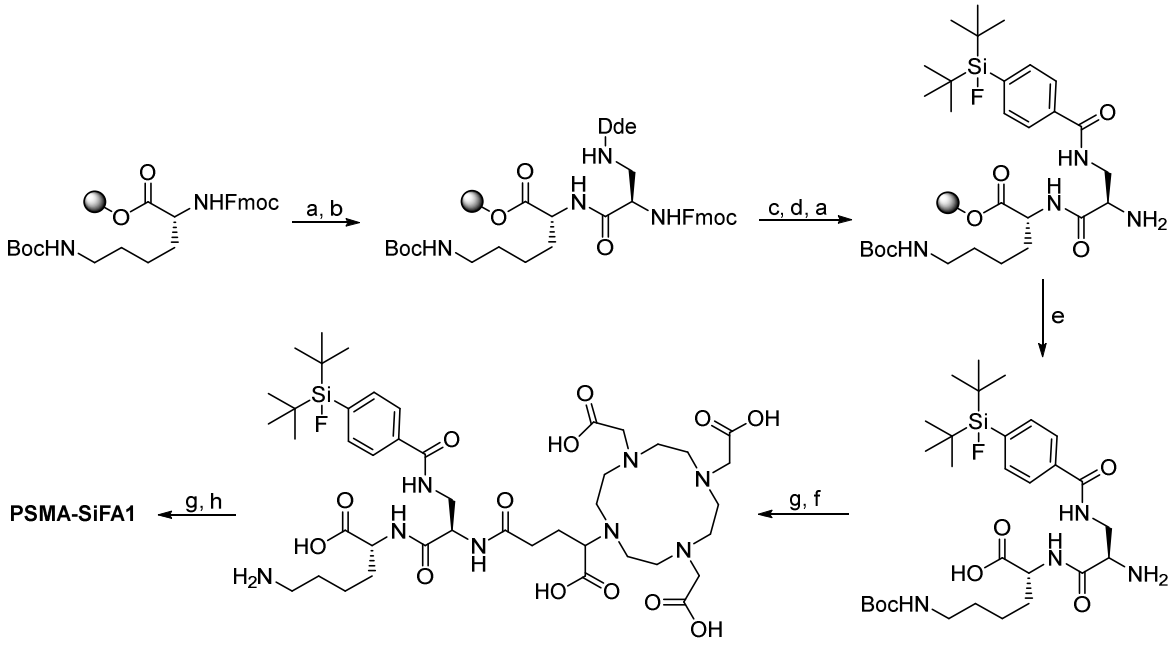
5) Síntese de inibidores do PSMA-SIFA à base de EuK

PSMA-SIFA1 (5)



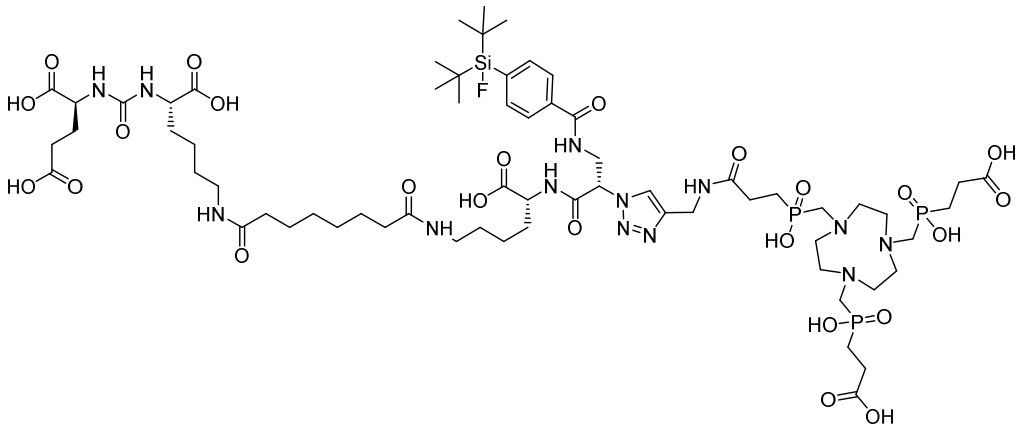
[0136]O PSMA-SIFA1 foi sintetizado de acordo com a síntese de Fmoc-peptídeos em fase sólida padrão (SPPS) sobre uma resina de tritilcloreto de poliestireno (TCP), aplicando os métodos supramencionados. Em suma, o Fmoc-D-Lys(Boc) ligado à resina foi desprotegido de Fmoc com piperidina a 20% em DMF, e o Fmoc-D-Dap(Dde)-OH (2,0 eq.) foi conjugado aplicando HOBt (2,0 eq.), TBTU (2,0 eq.) e DIPEA (6,0 eq.) em DMF. Após a desproteção de Dde ortogonal com imidazol e cloridrato de hidroxilamina em uma mistura de NMP e DMF*, o* SIFA-BA (1,5 eq.) foi conjugado analogamente. As subsequentes desproteção de Fmoc e clivagem branda a partir da resina com TFE e AcOH em DCM produziram o backbone peptídico protegido com Boc. A condensação de DOTAGA-anidrido (1,5 eq.) foi

realizada adicionando DIPEA (10 eq.) em DMF. Após a desproteção de Boc no TFA, adicionou-se o grupamento PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)$_2$ (1,2 eq.) em uma mistura de TEA (8 eq.) e DMF. A clivagem final dos tBu-ésteres em TFA e a purificação por RP-HPLC produziram PSMA-SIFA1 (70%) na forma de um sólido incolor. HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 9,1 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{63}H_{102}FN_{11}O_{22}Si$): 1411,7 encontrados: m/z = 1412,3 $[M+H]^+$, 706,8 $[M+2H]^{2+}$.

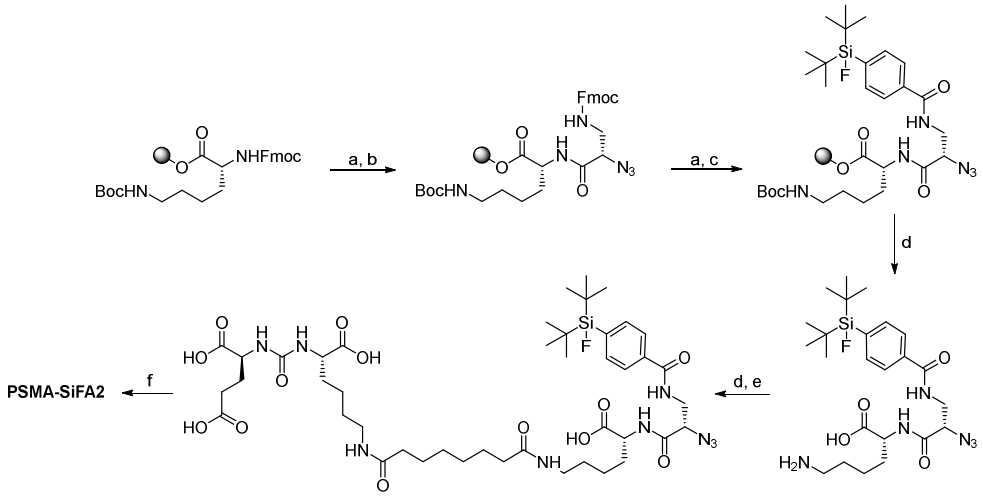


[0137]Esquema 1: Síntese de PSMA-SIFA1: a) piperidina a 20% (DMF); b) Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); c) imidazol, cloridrato de hidroxilamina (NMP, DMF); d) SIFA-BA, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); e) TFE, AcOH (DCM); f) DOTAGA-anidrido, DIPEA (DMF); g) TFA; h) PfpO-Sub-(tBuO)KuE(OtBu)$_2$, TEA (DMF).

PSMA-SIFA2 (6)



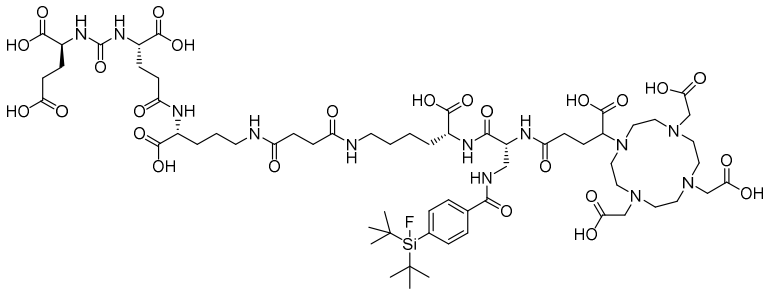
[0138]A síntese de PSMA-SIFA2 foi realizada aplicando os métodos e procedimentos gerais mencionados acima. Em poucas palavras, o Fmoc-D-Lys(Boc)-OH ligado à resina foi desprotegido de Fmoc com piperidina a 20% em DMF e conjugado a N_3-L-Dap(Fmoc)-OH (2,0 eq.) com HATU (3,0 eq.), HOAt (3,0 eq.) e DIPEA (6,0 eq.) em DMF. Após a clivagem do grupo Fmoc, adicionou-se SIFA-BA (1,5 eq.) com HOBt (1,5 eq.), TBTU (1,5 eq.) e DIPEA (4,5 eq.) em DMF. A subsequente clivagem a partir da resina com TFA produziu o backbone peptídico totalmente desprotegido. Para a conjugação do grupamento EuK, adicionou-se PfpO-Sub-(tBuO)KuE$(OtBu)_2$ (1,2 eq.) em uma mistura de TEA (8 eq.) e DMF. A clivagem dos tBu-ésteres foi realizada adicionando TFA. Em uma etapa final, o peptídeo purificado (1,1 eq.) foi reagido com propargil-TRAP (1,0 eq.) em uma cicloadição de alcino-azida catalisada com cobre(I), conforme mencionado acima. Após a purificação por RP-HPLC, adicionou-se PSMA-SIFA2 (4%) na forma de um sólido incolor. HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 8,5 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{65}H_{109}FN_{13}O_{24}P_3Si$): 1595,7 encontrados: m/z = 1596,5 $[M+H]^+$, 799,1 $[M+2H]^{2+}$.



[0139]Esquema 2: Síntese de PSMA-SIFA2: a) piperidina a 20% (DMF); b) N_3-L-Dap(Fmoc)-OH, HATU, HOAt, DIPEA (DMF); c) SIFA-BA, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); d) TFA; e) PfpO-Sub-(tBuO)-KuE(OtBu)$_2$, TEA (DMF); f) propargil-TRAP, Cu(OAc)$_2$·H$_2$O, ascorbato sódico (tBuOH, H$_2$O).

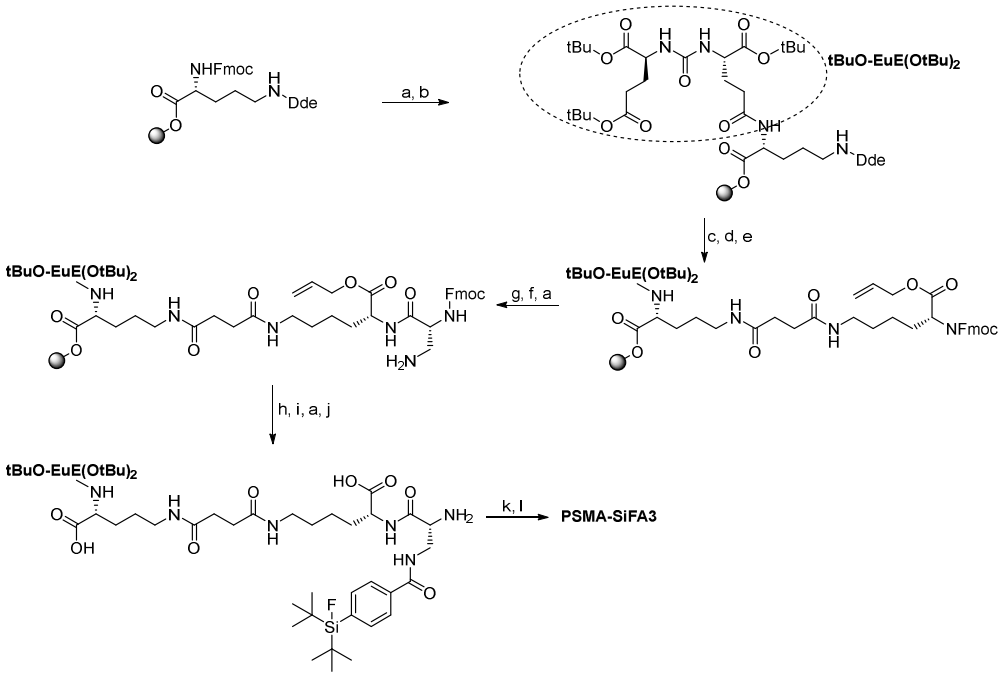
6) Síntese de inibidores do PSMA-SIFA à base de EuE

PSMA-SIFA3 (7)



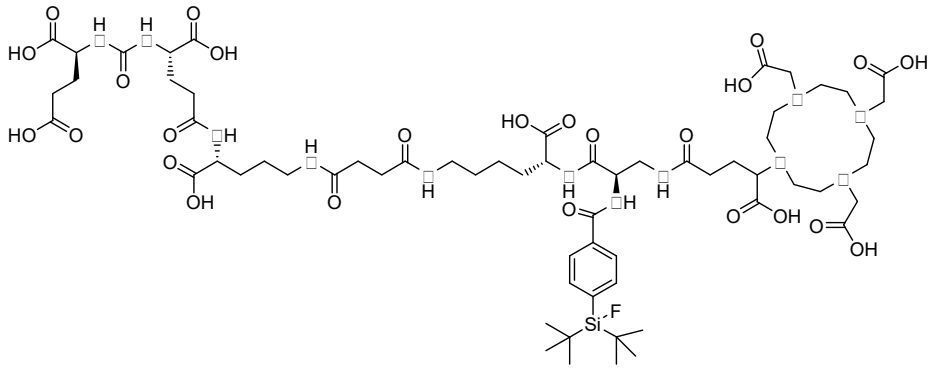
[0140]O PSMA-SIFA3 foi sintetizado aplicando o protocolo Fmoc-SPPS padrão descrito acima. Em suma, o Fmoc-D-Orn(Dde)-OH ligado à resina foi desprotegido de Fmoc com piperidina a 20% em DMF, e o (tBuO)EuE(OtBu)$_2$ (2,0 eq.) foi conjugado com HOBt (2,0 eq.), TBTU (2,0 eq.) e DIPEA (6,0 eq.) em DMF. Após a clivagem do grupo Dde com uma mistura de hidrazina a 2% em DMF, adicionou-se uma solução de anidrido succínico (7.0 eq.) e DIPEA (7.0 eq.) em DMF. A conjugação de Fmoc-D-Lys-OAll·HCl (1,5 eq.) foi obtida adicionando uma mistura de HOBt (1,5 eq.), TBTU (1,5 eq.) e DIPEA (4,5 eq.) em DMF. Após a clivagem do grupo Fmoc com piperidina a 20% em DMF, a amina livre foi conjugada a Fmoc-D-

Dap(Dde)-OH (2,0 eq.) após a pré-ativação do aminoácido em uma mistura de HOBt (2,0 eq.), TBTU (2,0 eq.) e DIPEA (6,0 eq.) em DMF. Depois disso, a desproteção de Dde ortogonal foi realizada usando imidazol e cloridrato de hidroxilamina dissolvidos em uma mistura de NMP e DMF. O SIFA-BA (1,5 eq.) foi reagido com a amina livre da cadeia lateral com HOBt (1,5 eq.), TBTU (1,5 eq.) e DIPEA (4,5 eq.) como reagentes de ativação em DMF. O grupo protetor alilóxi foi removido pela adição de TIPS (50,0 eq.) e $Pd(PPh_3)_4$ (0,3 eq.) dissolvidos em DCM. Após a desproteção de Fmoc com piperidina, o peptídeo foi clivado a partir da resina com a preservação dos grupos protetores lábeis a ácido usando uma mistura de TFE e AcOH em DCM. A condensação final de DOTAGA-anidrido (1,5 eq.) foi obtida com piperidina (10 eq.) em DMF. Após a clivagem dos *t*Bu-ésteres do grupamento EuE com TFA, o peptídeo bruto foi purificado por RP-HPLC, produzindo PSMA-SIFA3 (24%) como um sólido incolor. HPLC (10% a 70% de B em 15 min): t_R = 10,4 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{63}H_{99}FN_{12}O_{25}Si$): 1470,7 encontrados: m/z = 1471,8 $[M+H]^+$, 736,7 $[M+2H]^{2+}$.

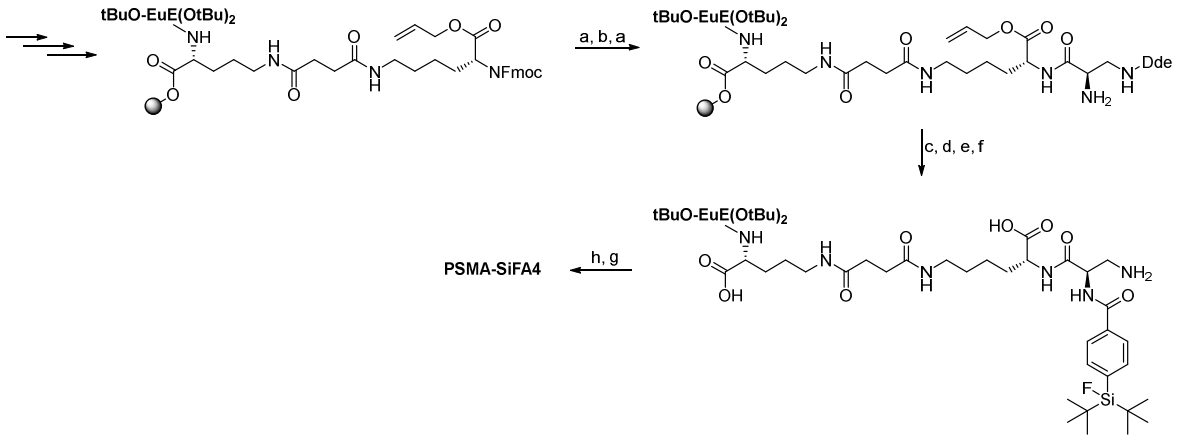


[0141]Esquema 3: Síntese de PSMA-SIFA3: *a) piperidina a* 20% (DMF); b) (tBuO)EuE(OtBu)$_2$, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); c) hidrazina a 2% (DMF); d) anidrido succínico, DIPEA (DMF); e) Fmoc-D-Lys-OAll·HCl, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); f) Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); g) imidazol, cloridrato de hidroxilamina (NMP, DMF); h) SIFA-BA, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); i) TIPS, Pd(PPh$_3$)$_4$, (DCM); j) TFE, AcOH (DCM); k) DOTAGA-anidrido, DIPEA (DMF); l) TFA.

PSMA-SIFA4 (8)

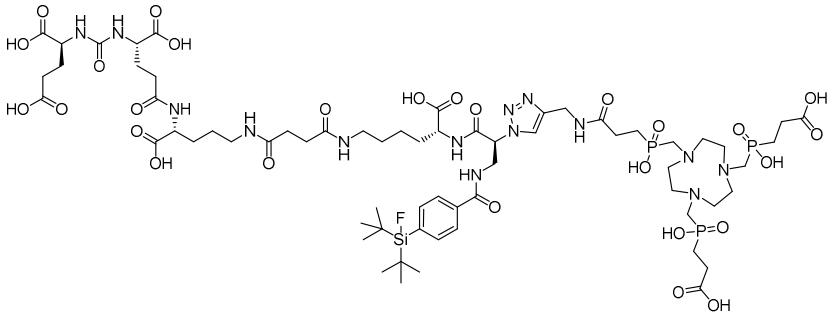


[0142]PSMA-SIFA4 foi sintetizado através de SPPS como o composto 7, com uma diferença: após a conjugação de Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, o grupo protetor Fmoc foi clivado primeiramente com piperidina a 20% em DMF e o SIFA-BA foi reagido com o terminal N livre do peptídeo. O grupo Dde remanescente foi clivado após remover o grupo protetor alilóxi usando imidazol e cloridrato de hidroxilamina dissolvidos em uma mistura de NMP e DMF. Depois disso, as etapas de reação foram idênticas às para PSMA-SIFA3. Após purificação por RP-HPLC, obteve-se PSMA-SIFA4 (11%) na forma de um sólido incolor. HPLC (10% a 70% de B em 15 min): t_R = 10,4 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{63}H_{99}FN_{12}O_{25}Si$): 1470,7 encontrados: m/z = 1471,7 $[M+H]^+$, 736,8 $[M+2H]^{2+}$.



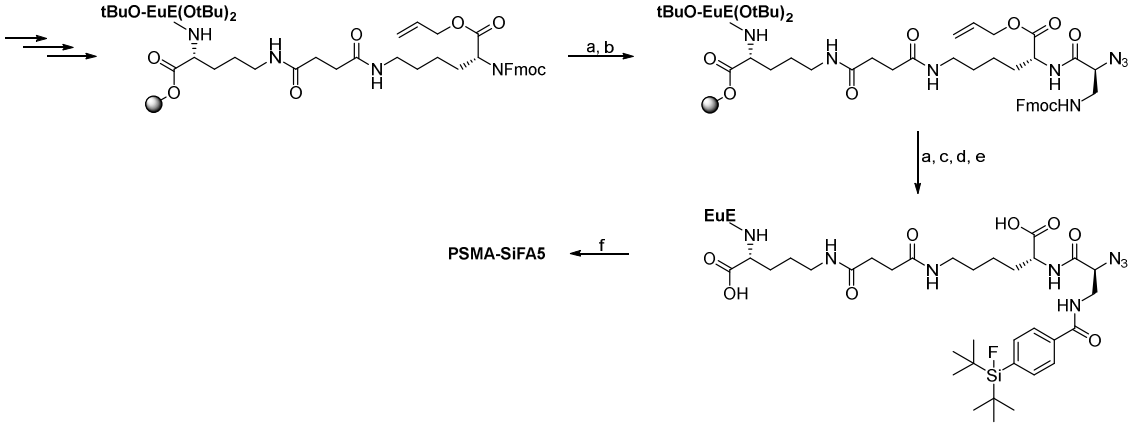
[0143]Esquema 4: Síntese de PSMA-SIFA4: a) piperidina a 20% (DMF); b) Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); c) SIFA-BA, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); d) TIPS, $Pd(PPh_3)_4$ (DCM); e) imidazol, cloridrato de hidroxilamina (NMP, DMF); f) TFE, AcOH (DCM); g) DOTAGA-anidrido, DIPEA (DMF); h) TFA.

PSMA-SIFA5 (9)



[0144]O *backbone* peptídico de PSMA-SIFA5 foi preparado analogamente aos ligantes 7 e 8. Uma diferença foi o uso de N_3-L-Dap(Fmoc)-OH em vez de Fmoc-D-Dap(Dde)-OH, que foi necessário para a reação click final com propargil-TRAP. O aminoácido azido-substituído (2,0 eq.) foi conjugado com HATU (3,0 eq.), HOAt (3,0 eq.) e DIPEA (6,0 eq.) em DMF. Após a desproteção de Fmoc de sua cadeia lateral com piperidina a 20%, o SIFA-BA (1,5 eq.) foi reagido conforme mencionado acima. Até a conjugação do grupamento quelante, todas as etapas de reação remanescentes foram idênticas às para os peptídeos 7 e 8. Após a clivagem a partir da resina com TFA sob desproteção concorrente de todos os grupos protetores lábeis a ácido, o conjugado EuE-azido purificado (1,1 eq.) foi reagido com propargil-TRAP (1,0 eq.) em uma cicloadição de alcino-azida catalisada com cobre(I). A

purificação por RP-HPLC produziu PSMA-SIFA5 (9%) na forma de um sólido incolor. HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 8,7 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{65}H_{106}FN_{14}O_{27}P_3Si$): 1654,6 encontrados: m/z = 1655,6 $[M+H]^+$, 828,4 $[M+2H]^{2+}$.



[0145]Esquema 5: Síntese de PSMA-SIFA5: a) piperidina a 20% (DMF); b) N_3-L-Dap(Fmoc)-OH, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); c) SIFA-BA, HOBt, TBTU, DIPEA (DMF); d) TIPS, $Pd(PPh_3)_4$ (DCM); e) TFA; f) propargil-TRAP, $Cu(OAc)_2 \cdot H_2O$, ascorbato sódico (*t*BuOH, H_2O).

Experimentos de Complexação

[0146]Síntese de complexos de ^{nat}Ga-TRAP: Combinaram-se 500 µL de uma solução-estoque a 2 mM do precursor de PSMA em DMSO a 750 µL de uma solução de $Ga(NO_3)_3$ a 2 mM em água. A complexação ocorreu instantaneamente a temperatura ambiente. A conclusão da reação foi controlada por RP-HPLC e pela espectrometria de massas subsequente.

[0147]^{nat}Ga-PSMA-SIFA2: HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 9,5 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{65}H_{106}FGaN_{13}O_{24}P_3Si$): 1661,6 encontrados: m/z = 1663,9 $[M+H]^+$, 832,6 $[M+2H]^{2+}$.

[0148]^{nat}Ga-PSMA-SIFA5: HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 9,0 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{65}H_{103}FGaN_{14}O_{27}P_3Si$): 1720,5 encontrados: m/z = 1720,8 $[M+H]^+$, 861,1 $[M+2H]^{2+}$.

[0149]Síntese de complexos de ^{nat}Ga-DOTAGA: Combinaram-se 500 µL de uma solução-estoque a 2 mM do precursor de PSMA em DMSO a 1.500 µL de uma

solução de $Ga(NO_3)_3$ a 2 mM em água. A mistura de reação foi aquecida por 30 min a 60º C. O resultado da reação foi monitorado por RP-HPLC e pela espectrometria de massas subsequente. Para a marcação radioativa dos ligantes de [^{nat}Ga]PSMA-SIFA com ^{18}F, o composto complexado foi purificado por RP-HPLC antes da reação de marcação.

[0150][^{nat}Ga]-PSMA-SIFA1: HPLC (10% a 90% de B em 15 min): t_R = 9,1 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{63}H_{99}FGaN_{11}O_{22}Si$): 1477,6 encontrados: m/z = 1479,5 $[M+H]^+$, 740,2 $[M+2H]^{2+}$.

[0151][^{nat}Ga]-PSMA-SIFA3: HPLC (10% a 70% de B em 15 min): t_R = 10,4 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{63}H_{96}FGaN_{12}O_{25}Si$): 1536,6 encontrados: m/z = 1539,4 $[M+H]^+$, 770,3 $[M+2H]^{2+}$.

[0152][^{nat}Ga]-PSMA-SIFA4: HPLC (10% a 70% de B em 15 min): HPLC (10% a 70% de B em 15 min): t_R = 10,4 min. Massa monoisotópica calculada ($C_{63}H_{96}FGaN_{12}O_{25}Si$): 1536,6 encontrados: m/z = 1539,1 $[M+H]^+$, 770,5 $[M+2H]^{2+}$.

[0153][^{nat}Lu]-complexação: Os $^{nat}Lu^{III}$-complexos correspondentes foram preparados a partir de uma solução aquosa a 2 mM do inibidor de PSMA com um excesso molar de $LuCl_3$ (solução a 20 mM) de 2,5 aquecida a 95° C por 30 min. Após resfriá-la, a formação de $^{nat}Lu^{III}$-quelato foi confirmada por HPLC e MS. As soluções aquosas a 1 mM dos ^{nat}Lu-complexos resultantes foram então diluídas e usadas nos estudos de *IC_{50} in vitro* sem novo processamento.

Radiomarcação

[0154][^{68}Ga]-marcação: A ^{68}Ga-marcação foi realizada usando um sistema automatizado (GallElut$^+$ da Scintomics, Alemanha) conforme descrito previamente (Notni *et al.*, *EJNMMI research*, 28 (2012)). Em suma, o gerador de ^{68}Ge/^{68}Ga com matriz de SnO_2 (IThemba LABS) foi eluído com HCl aquoso a 1,0 M, do qual uma fração (1,25 mL) de cerca de 80% da atividade (500-700 MBq) foi transferida a uma ampola de reação (ALLTECH, 5 mL). O reator foi carregado antes da eluição com 2

a 5 nmol do respectivo conjugado quelante em uma solução de HEPES a 2,7 M (conjugados DOTAGA: 900 µL, conjugados TRAP: 400 µL). Depois da eluição, a ampola foi aquecida por 5 minutos a 95° C. A purificação foi realizada passando a mistura de reação sobre um cartucho de extração em fase sólida (C 8 light, SepPak), que foi purgado com água (10 mL), e o produto foi eluído com etanol aquoso a 50% (2 mL), tampão fosfato-salino (PBS, 1 mL) e água (1 mL) novamente. Depois de remover o etanol a vácuo, a pureza dos compostos radiomarcados foi determinada por rádio-TLC (papel de cromatografia ITLC-SG, fase móvel: citrato de trissódio a 0,1 M e mistura 1:1 (v/v) de acetato de amônio a 1 M e metanol).

[0155]Marcação com ^{18}F: Para a marcação com ^{18}F, empregou-se um procedimento já publicado (Wangler *et al.*, *Nat Protoc 7*, 1946-55 (2012)), que foi levemente modificado. Em suma, o $^{18}F^-$ aquoso foi passado através de um cartucho SAX (Sep-Pak Accell Plus QMA Carbonate light), que foi pré-condicionado com 10 mL de água. Depois de secar com 10 mL de ar, a água foi removida, enxaguando o cartucho com 10 mL de acetonitrila anidra, seguidos por 20 mL de ar. O ^{18}F foi eluído com 100 µmol de $[K^+\subset 2.2.2]OH^-$ dissolvidos em 500 µL de acetonitrila anidra. Antes da marcação, adicionaram-se 25 µmol de ácido oxálico em acetonitrila anidra (1 M, 25 µL). Essa mistura foi usada por inteira ou como uma alíquota para a fluoração de 10 a 25 µmol de PSMA-SIFA (1 M em DMSO anidro). A mistura de reação resultante foi incubada por 5 minutos a temperatura ambiente. Para a purificação do traçador, usou-se um cartucho Sep-Pak C18 light, pré-condicionado com 10 mL de EtOH, seguidos por 10 mL de H_2O. A mistura de marcação foi diluída com 9 mL de tampão de HEPES a 0,1 M (pH 3) e passada através do cartucho, seguidos por 10 mL de H_2O. O peptídeo foi eluído com 500 µL de uma mistura 4:1 (v/v) de EtOH em água. A pureza radioquímica do composto marcado foi determinada por rádio-RP-HPLC e rádio-TLC (Sílica-gel 60 RP-18 F_{254}s, fase móvel:

mistura 3:2 (v/v) de MeCN em H_2O suplementada com 10% de solução de NaOAc a 2 M e 1% de TFA).

[0156]Marcação com ^{125}I: O ligante de referência para estudos *in vitro* ([^{125}I]I-BA)KuE foi preparado de acordo com um procedimento já publicado (Weineisen *et al.*, *EJNMMI research*, 4, 63 (2014)). Em suma, dissolveu-se 0,1 mg do precursor estanilado ($SnBu_3$-BA)(OtBu)KuE$(OtBu)_2$ em uma solução contendo 20 µL de ácido peracético, 5,0 µL (21 MBq) de [^{125}I]NaI (74 TBq/mmol, 3,1 GBq/mL, NaOH a 40 mM, Hartmann Analytic, Braunschweig, Alemanha), 20 µL de MeCN e 10 µL de ácido acético. A solução de reação foi incubada por 10 min a TA, carregada sobre um cartucho e enxaguada com 10 mL de água (cartucho C18 Sep Pak Plus, pré-condicionado com 10 mL de MeOH e 10 mL de água). Após eluição com 2,0 mL de uma mistura 1:1 (v/v) de EtOH/MeCN, a solução radioativa foi evaporada à secura sob fluxo suave de nitrogênio e tratada com 200 µL de TFA por 30 min com a evaporação subsequente de TFA. O produto bruto de ([^{125}I]I-BA)KuE foi purificado por RP-HPLC (20% a 40% de B em 20 min): t_R = 13,0 min.

[0157]Marcação com ^{177}Lu: A um volume de reação de 10 µL de tampão de NH_4OAc a 1,0 M com pH = 5,9, adicionou-se de 0,75 a 1,0 nmol de traçador (7,5 a 10 µL), 10 a 40 MBq de $^{177}LuCl_3$ (Atividade Específica (A_S) > 3.000 GBq/mg, 740 MBq/mL, HCl a 0,04 M, ITG, Garching, Alemanha) e, enfim, preencheu-se até 100 µL com água trace-pure (Merck, Darmstadt, Alemanha). A mistura de reação foi aquecida por 30 min a 95° C, e a pureza radioquímica foi determinada por rádio-TLC (Sílica-gel 60 RP-18 F_{254}s, mistura 3:2 (v/v) de MeCN em H_2O suplementada com 10% de solução de NaOAc a 2 M e 1% de TFA, R_f = 0,5).

Experimentos *in vitro*

Determinação de IC_{50}

[0158]Células LNCaP PSMA-positivas foram cultivadas em meio Eagle modificado de Dublecco/Mistura Nutritiva F-12 com Glutamax-I (1:1) (Invitrigon),

suplementadas com soro fetal bovino a 10% e mantidas a 37° C em atmosfera de CO_2 a 5%. Para determinar a afinidade com o PSMA (IC_{50}), células foram coletadas 24 ± 2 horas antes do experimento e semeadas em placas com 24 poços ($1,5 \times 10^5$ células em 1 mL/poço). Após a remoção do meio de cultura, as células foram tratadas uma vez com 500 µL de HBSS (solução salina balanceada de Hank, Biochrom, Berlim, Alemanha, com adição de albumina do soro bovino a 1% (BSA)) e deixadas 15 min em gelo para equilíbrio em 200 µL de HBSS (BSA a 1%). A seguir, 25 µL por poço de soluções, contendo ou HBSS (BSA a 1%, controle) ou o respectivo ligante em concentração crescente (10^{-10} a 10^{-4} M) em HBSS, foram adicionados com a adição subsequente de 25 µL de ([^{125}I]I-BA)KuE (2,0 nM) em HBSS (BSA a 1%). Todos os experimentos foram realizados ao menos três vezes para cada concentração. Após 60 min de incubação em gelo, o experimento foi encerrado pela remoção do meio e enxágue consecutivo com 200 µL de HBSS. Os meios de ambas as etapas foram combinados em uma fração e representam a quantidade de radioligante livre. Depois disso, as células foram lisadas com 250 µL de NaOH a 1 M e unidas aos 200 µL de HBSS da etapa de lavagem seguinte. A quantificação dos radioligantes ligados e livres foi realizada em um contador γ.

Internalização

[0159]Para estudos de internalização, células LNCaP foram coletadas 24 ± 2 horas antes do experimento e semeadas em placas com 24 poços ($1,25 \times 10^5$ células em 1 mL/poço). Após a remoção do meio de cultura, as células foram lavadas uma vez com 500 µL de DMEM-F12 (BSA a 5%) e permitidas equilibrar por ao menos 15 min a 37° C em 200 µL de DMEM-F12 (BSA a 5%). Cada poço foi tratado com 25 µL de DMEM-F12 (BSA a 5%) ou com uma solução de PMPA a 100 µM para bloqueio. Em seguida, adicionaram-se 25 µL do inibidor de PSMA marcado com ^{68}Ga/^{18}F (5,0 nM), e a as células foram incubadas a 37° C por 60 min. O experimento foi encerrado colocando a placa de 24 poços em gelo por 3 min e

removendo consecutivamente o meio. Cada poço foi enxaguado com 250 µL de HBSS, e as frações dessas duas primeiras etapas foram combinadas, representando a quantidade de radioligante livre. A remoção da atividade ligada à superfície foi consumada por incubação das células com 250 µL de solução gelada de PMPA (10 µM em PBS) por 5 min e enxágue novamente com mais 250 µL de PBS gelado. A atividade internalizada foi determinada pela incubação das células em 250 µL de NaOH a 1 M, e combinação com a fração de uma etapa de lavagem subsequente com 250 µL de NaOH a 1,0 M. Cada experimento (controle e bloqueio) foi realizado em triplicata. As atividades livre, ligada à superfície e internalizada foram quantificadas em um contador γ. Todos os estudos de internalização foram acompanhados por estudos de referência usando ([^{125}I]I-BA)KuE (c = 0,2 nM), os quais foram realizados analogamente. Os dados foram corrigidos para a internalização não específica e normalizados para a internalização específica observada para o composto de referência não radioiodado.

Coeficiente de partição octanol-água

[0160]Cerca de 1 MBq do traçador marcado foi dissolvido em 1 mL de uma mistura 1:1 (em volume) de tampão fosfato-salino (PBS, pH 7,4) e *n*-octanol em um tubo de Eppendorf. Após mistura vigorosa da suspensão por 3 minutos a temperatura ambiente, a ampola foi centrifugada a 15.000 g por 3 minutos (Biofuge 15, Heraus Sepatech, Osterode, Alemanha) e alíquotas de 100 µL de ambas as camadas foram medidas em um contador gama. O experimento foi repetido por ao menos seis vezes.

Ligação com HSA

[0161]Para a determinação da ligação com HSA, uma coluna de HSA Chiralpak (50 x 3 mm, 5 µm, H13H-2433) foi usada a uma vazão constante de 0,5 mL/min. A fase móvel (A: NH_4OAc, 50 mM em água, pH 7 e B: isopropanol) foi recém-preparada para cada experimento e só usada por um dia. A coluna foi

mantida a temperatura ambiente e cada rodada foi interrompida após a detecção do sinal para reduzir o tempo de aquisição. Todas as substâncias foram dissolvidas a uma concentração de 0,5 mg/ml em 50% de 2-propanol e 50% de tampão de acetato de amônio a 50 mM com pH 6,9. As substâncias de referência escolhidas exibem uma faixa de ligação com HSA de 13% a 99%, visto que uma ampla variedade de ligação com albumina em se tratando dos peptídeos foi pressuposta. Todas as nove substâncias de referência (vide a Tabela 1) foram injetadas consecutivamente para estabelecer uma regressão não linear com OriginPro 2016G; vide a Figura 1.

Tabela 1: Substâncias de referência (Yamazaki et al., Journal of pharmaceutical sciences 93, 1480-94 (2004)) usadas para a calibração da coluna de HSA.

Referência	t_R	Log t_R	% de Lit. HSA	Log *K* HSA
Álcool p-benzílico	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

[0162]O tempo de retenção é dado como exemplo para um experimento realizado; t_R – tempo de retenção; Lit. HSA – valor da ligação com a albumina do soro humano na literatura em [%]; Log K HSA – K logarítmico da ligação com a albumina do soro humano.

Experimentos in vivo

[0163]Todos os experimentos com animais foram realizados de acordo com as regulamentações gerais para o bem-estar de animais na Alemanha e com as diretrizes institucionais para o tratamento e uso de animais. Para estabelecer xenoenxertos de tumor, células LNCaP (10^7 células / 200 µL) foram suspensas em uma mistura 1:1 (v/v) de meio Eagle modificado de Dulbecco / Mistura Nutritiva F-12 com Glutamax-I (1:1) e Matrigel (BD Biosciences, Alemanha), e inoculadas subcutaneamente no ombro direito de camundongos CB17-SCID de 6 a 8 semanas de idade (Charles River, Sulzfeld, Alemanha). Os camundongos foram usados quando os tumores cresceram a um diâmetro de 5 a 8 mm (3 a 4 semanas após a inoculação).

Imagiologia µPET

[0164]Estudos de imagiologia foram realizados em um sistema PET para animais pequenos Siemens Inveon. Os dados foram reconstruídos na forma de quadros simples empregando um algoritmo de maximização da expectativa de subconjuntos ordenados tridimensional (OSEM-3D), ao que seguiu-se a análise dos dados (quantificação baseada na ROI) usando o software Inveon Research Workplace. Nos estudos por PET, os camundongos foram anestesiados com isoflurano e receberam uma injeção de 0,15 a 0,25 nmol (2 a 20 MBq) do traçador marcado com ^{68}Ga ou ^{18}F na veia caudal. A imagiologia dinâmica foi realizada após a injeção no leito por 90 minutos. Imagens estáticas foram registradas uma hora após a injeção com um tempo de aquisição de 15 minutos. Para o bloqueio, administraram-se 8 mg/kg de PMPA diretamente antes da injeção do traçador.

Biodistribuição

[0165]Cerca de 2 a 20 MBq (0,2 nmol) dos inibidores de PSMA marcados com ^{68}Ga ou ^{18}F foram injetados na veia caudal de camundongos CB-17 SCID machos com tumor LNCaP, que foram sacrificados 1 h após a injeção (n = 3). Órgãos selecionados foram removidos, pesados e medidos em um contador γ.

Experimentos em seres humanos

[0166]Uma avaliação de prova de conceito sobre o uso em seres humanos foi realizada sob uso compassivo. O agente foi aplicado de acordo com o Ato sobre Produtos Medicinais da Alemanha, AMG §13 2b, e de acordo com o órgão de regulamentação responsável (Gorverno de Oberbayern).

[0167]Todos os pacientes foram examinados em um varredor Biograph mCT (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Alemanha) ou varredor Biograph mMR (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Alemanha). Todas as varreduras por PET foram obtidas em modo 3D com um tempo de aquisição de 2 a 4 min por posição no leito. Os dados de emissão foram corrigidos para aleatoriedades, tempo morto, espalhamento e atenuação e reconstruídos iterativamente por um algoritmo de maximização da expectativa de subconjuntos ordenados (quatro iterações, oito subconjuntos), seguido por um filtro gaussiano de regularização pós-reconstrução (5 mm de largura total em uma metade máxima). As imagens de 53 pacientes com câncer de próstata foram obtidas após a injeção de uma média de 324 (faixa de 236 a 424) MBq de PSMA-SIFA3 (7) marcado com 18F a uma média de 84 (faixa de 42 a 166) min após a injeção. Quarenta e sete pacientes foram submetidos a imagiologia em um PET/CT, 6 pacientes em um varredor PET/MR. Em 33 pacientes, aplicou-se furosemida quando da injeção do traçador, a 20 pacientes não foi dada furosemida.

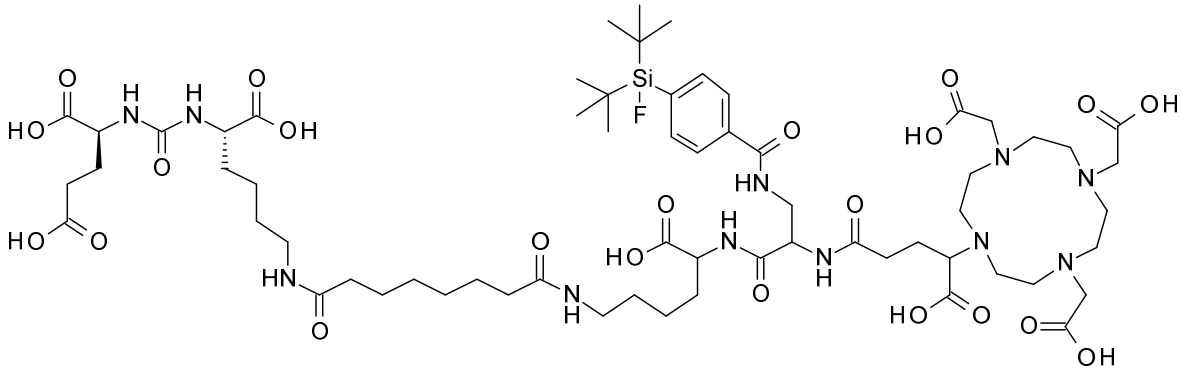
[0168]Os valores de absorção padronizados médio e máximo ($SUV_{médio}/SUV_{máx.}$) das glândulas parótidas, glândulas submandibulares, pulmões, *pool* sanguíneo mediastinal, fígado, baço, pâncreas, cabeça, duodeno, rins, bexiga e osso não enfermo foram analisados. Para o cálculo do SUV, regiões de interesse circulares foram traçadas em torno de áreas com absorção focalmente maior em fatias transaxiais e automaticamente adaptadas para um volume tridimensional de interesse (VOI) em um isocontorno de 50%. Contabilizaram-se as lesões que foram consideradas visualmente indicativas de reincidência ou metastase do câncer de

próstata. Uma ou duas lesões do mesmo tipo (tumor local, metastase nos linfonodos, metastase nos ossos, metastase nas viscerais) foram analisadas por paciente usando $SUV_{máx.}$ e $SUV_{médio}$ conforme descrito acima. O músculo glúteo serviu como plano de fundo.

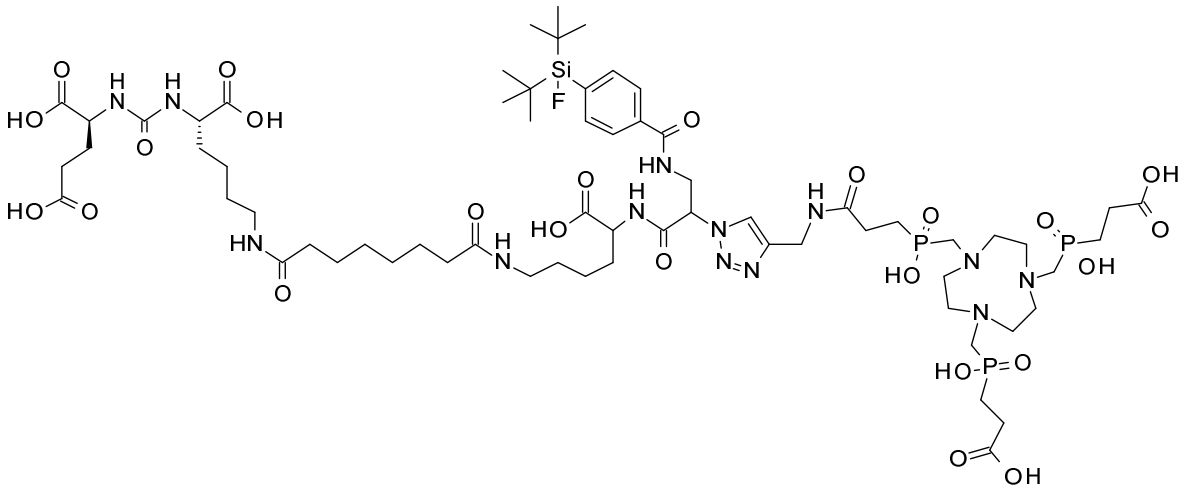
Exemplo 2: Resultados

Panorama dos ligantes de PSMA-SIFA sintetizados

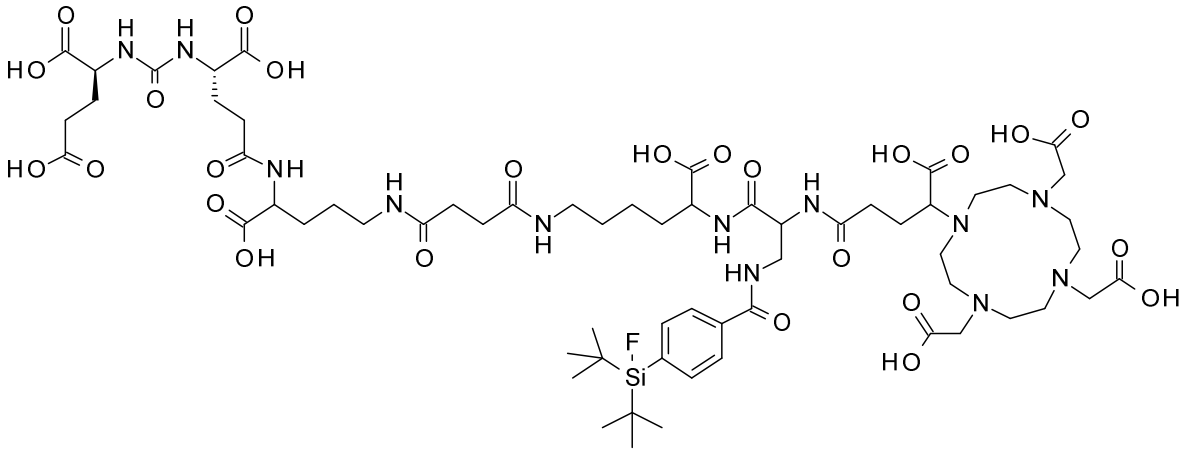
PSMA-SIFA1 (5)



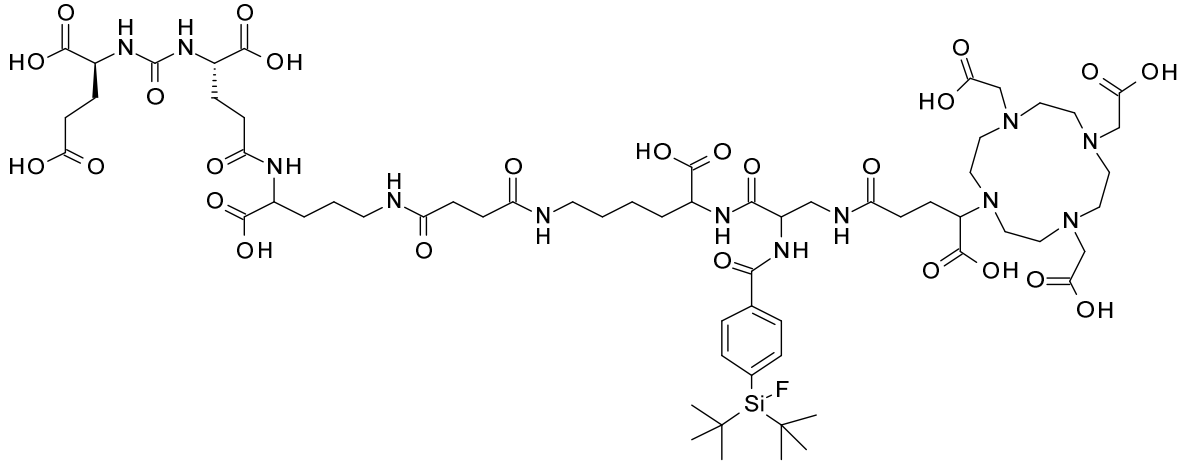
PSMA-SIFA2 (6)



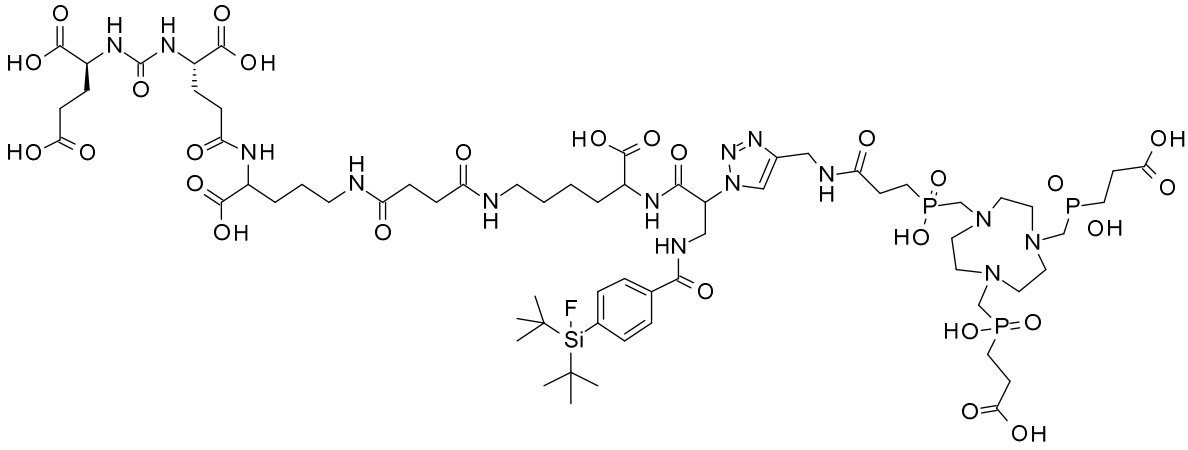
PSMA-SIFA3 (7)



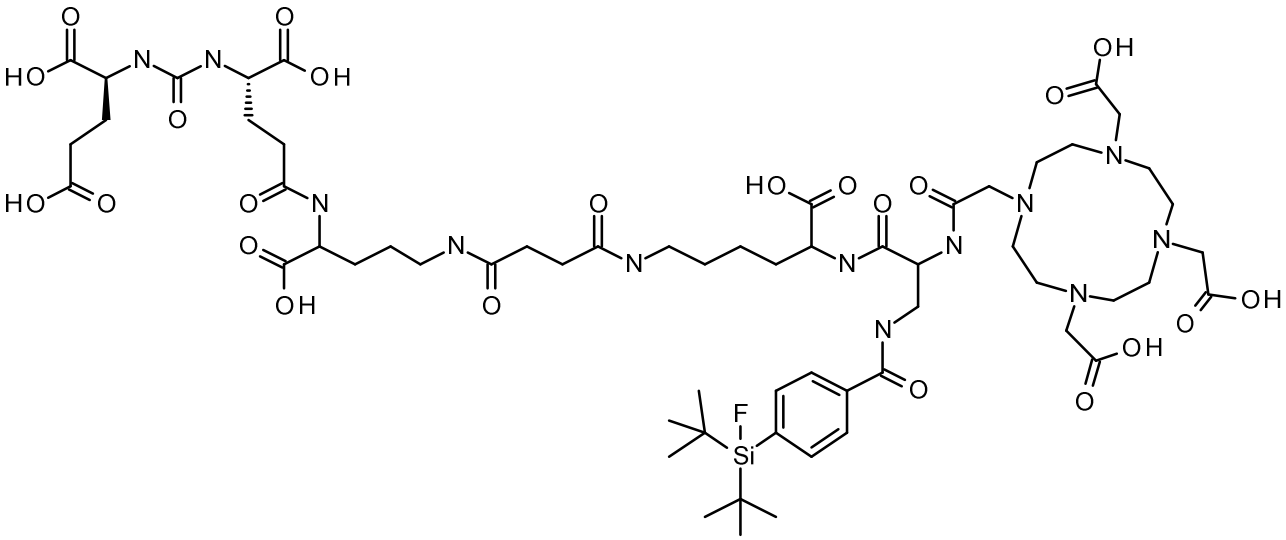
PSMA-SIFA4 (8)



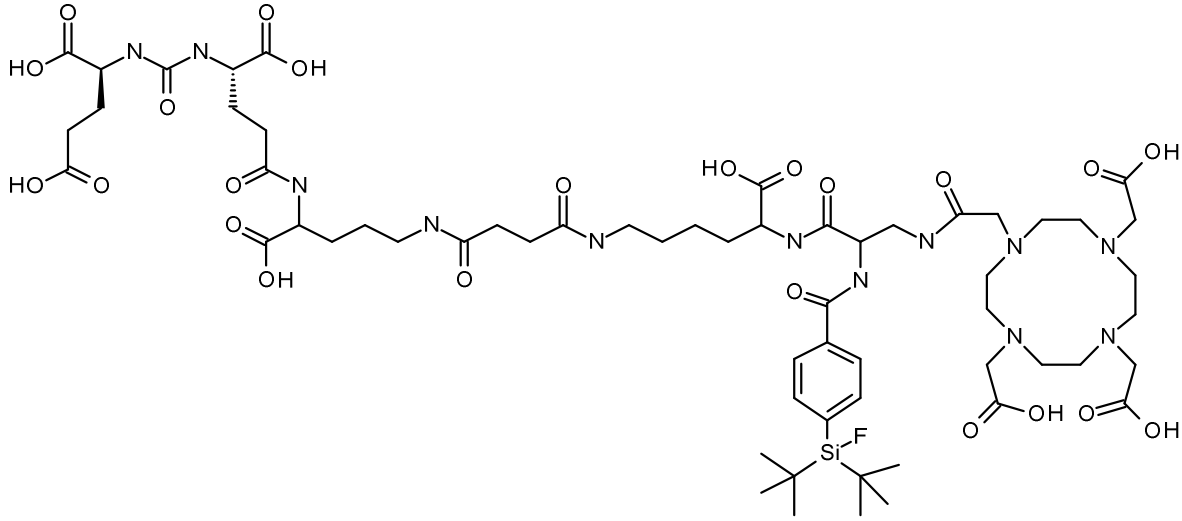
PSMA-SIFA5 (9)



PSMA-SIFA (10)



PSMA-SIFA (11)



Lipofilias

[0169]Os coeficientes de partição octanol/água determinados (log D) dos compostos marcados com ^{68}Ga ou ^{18}F são dados na Tabela 2. Dentre os inibidores à base de EuK marcados com ^{68}Ga, o composto funcionalizado com TRAP (5) provou-se mais hidrófilo que 6 quando DOTAGA foi usado como quelante. Esse resultado também foi observado para os agentes à base de EuE marcados com ^{68}Ga quando o derivado de TRAP (9) exibiu a liofilia mais alta. Todos os compostos marcados com ^{18}F exibiram hidrofilias mais baixas em comparação aos traçadores marcados com ^{68}Ga.

Tabela 2: Valores log *D* dos ligantes de PSMA-SIFA radiomarcados sintetizados (n = 6).

ligante	log *D* ^{68}Ga-^{nat}F-L	log *D* ^{18}F-L	log *D* ^{177}Lu-^{nat}F-L
5	- 2,75 ± 0,07	nd	
6	- 3,00 ± 0,09	nd	
7	- 3,18 ± 0,05	- 1,98 ± 0,04	- 4,20 ± 0,09
	- 2,59 ± 0,04		
8		- 2,25 ± 0,07	- 3,75 ± 0,06
9	- 3,26 ± 0,06	- 2,23 ± 0,07	
10			- 3,59 ± 0,05
11			-3,62 ± 0,06

Determinação das afinidades com o PSMA

[0170]Os compostos sintetizados com um motivo de ligação EuE (7, 8, 9) exibiram afinidades com o PSMA mais altas em comparação aos agentes à base de EuK (5, 6). Os compostos com um TRAP-quelante (6 e 9) exibiram afinidades levemente menores em comparação a seus análogos DOTAGA (5 e 7, respectivamente). Dentre os agentes complexados com ^{nat}Ga e o respectivo composto não complexado, não foram observadas diferenças significativas no que diz respeito às afinidades com o PSMA (Tabela 3).

Tabela 3: Afinidades de ligação (IC_{50} em nM) dos ligantes de PSMA-SIFA para com o PSMA. As afinidades foram determinadas usando células LNCaP (15.0000 células/poço) e ([^{125}I]I-BA)KuE (c = 0,2 nM) como o radioligante (1 h, 4° C, HBSS + BSA a 1%). Os dados são expressos por média + SD (n = 3, em diferentes experimentos).

referências:	(I-BA)KuE	IC_{50} = 7,1 ± 2,4 nM
	DCFPyL	IC_{50} = 12,3 ± 1,2 nM
	PSMA-1007	IC_{50} = 4,2 ± 0,5 nM

ligante	IC_{50} [nM] ^{nat}Ga-^{nat}F-L	IC_{50} [nM] ^{nat}F-L	IC_{50} [nM] ^{nat}Lu-^{nat}F-L
5	7,3 ± 0,2	6,4 ± 0,2	
6	10,8 ± 2,5	8,5 ± 1,7	
7	3,0 ± 0,7	3,5 ± 0,2	3,9 ± 0,5
8	3,8 ± 0,7	2,5 ± 0,2	3,0 ± 0,2
9	4,5 ± 0,3	4,3 ± 0,2	
10			2,8 ± 0,7
11			4,8 ± 0,7

Internalização

[0171]Em analogia às afinidades de ligação, os compostos à base de EuE (7, 8, 9) exibiram valores de internalização significativos mais altos em comparação aos peptídeos com um motivo de ligação EuK (5, 6). No que diz respeito à influência do quelante, TRAP demonstrou exercer efeito positivo sobre a internalização (5 e 9, em comparação a 6 e 7, respectivamente), embora as afinidades de ligação fossem mais altas para os análogos DOTAGA (Tabela 3). Todos os compostos marcados com ^{18}F exibiram valores de internalização mais altos em comparação aos respectivos traçadores marcados com ^{68}Ga (Tabela 4).

Tabela 4: Síntese da atividade internalizada (c = 0,5 nM) em 1 hora dada pela % do ligante de referência ([^{125}I]I-BA)KuE (c = 0,2 nM), determinada em células LNCaP (37° C, DMEM F12 + BSA a 5%, 125.000 células/poço). Os dados são corrigidos para a ligação não específica (10 µmol de PMPA) e expressos pela média ± SD (n = 3).

referências:	DCFPyL	118 ± 5	
[%]	PSMA-1007	118 ± 4	
ligante	Internalização [%] ^{68}Ga-^{nat}F-L	Internalização [%] ^{18}F-L	Internalização [%] ^{177}Lu-^{nat}F-L
5	33,0 ± 2,1	nd	
6	43,0 ± 3,4	nd	
7	126,0 ± 13,1	164,8 ± 4,5	185,8 ± 4,5
8	98,2 ± 12,4	130,3 ± 5,5	165,9 ± 8,5
9	176,9 ± 11,7	211,6 ± 5,3	
10			184,1 ± 16
11			134,5 ± 18,5

Ligação com a albumina do soro humano

Tabela 5: Ligação com a HSA dos ligantes de PSMA-SIFA sintetizados determinada em uma coluna de HSA Chiralpak (50 x 3 mm, 5 µm, H13H-2433).

ligante	Ligação com HSA [%] ^{nat}Ga-^{nat}F-L	Ligação com HSA [%] ^{nat}Lu-^{nat}F-L
7	95,7	97,7
8	96,5	97,7
9	95,1	
10		94,0
11		92,4

Imagiologia PET e biodistribuição em animais pequenos

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

Vide a Figura 2.

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

Vide a Figura 3.

3. PSMA-SIFA3 (7)

a) imagiologia ^{68}Ga-PET estática

Vide a Figura 4.

b) imagiologia ^{68}Ga-PET dinâmica

Vide a Figura 5.

c) imagiologia ^{18}F-PET estática

Vide a Figura 6.

d) imagiologia ^{18}F-PET dinâmica

Vide a Figura 7.

e) estudos de biodistribuição

Vide a Figura 8.

4. PSMA-SIFA4 (8)

a) imagiologia ^{68}Ga-PET estática

Vide a Figura 9.

b) imagiologia ^{68}Ga-PET dinâmica

Vide a Figura 10.

c) imagiologia ^{18}F-PET estática

Vide a Figura 11.

d) imagiologia ^{18}F-PET dinâmica

Vide a Figura 12.

e) estudos de biodistribuição

Vide a Figura 13.

5. PSMA-SIFA5 (9)

a) imagiologia ^{68}Ga-PET estática

Vide a Figura 14.

b) imagiologia ^{68}Ga-PET dinâmica

Vide a Figura 15.

c) imagiologia ^{18}F-PET estática

Vide a Figura 16.

d) imagiologia ^{18}F-PET estática

Vide a Figura 17.

e) estudos de biodistribuição

Vide a Figura 18.

6. Estudos de prova de conceito de ^{nat}Ga-PSMA-SIFA3 (^{nat}Ga-7)

a) imagiologia ^{18}F-PET estática

Vide a Figura 19.

b) estudos de biodistribuição

Vide a Figura 20.

7. Imagiologia PET em animais pequenos usando ligantes do rhPSMA com Lu.

a) Imagiologia PET estática: ^{18}F-^{nat}Lu-rh-7

Vide a Figura 29.

b) Imagiologia PET dinâmica: ^{18}F-^{nat}Lu-rh7

Vide a Figura 30.

c) estudos de biodistribuição de ^{177}Lu-^{nat}F-7, ^{177}Lu-^{nat}F-8 e ^{177}Lu-^{nat}F-10 em 24 h

Vide a Figura 31.

d) biodistribuição de ^{177}Lu-^{nat}F-10 em 1 h e 24 h.

Vide a Figura 32.

e) Biodistribuição comparativa de ligantes do rhPSMA consagrados e novos em 24 h.

Vide a Figura 33.

f) Biodistribuição comparativa de ^{177}Lu-^{nat}F-rhPSMA-10 e ^{68}Ga-^{nat}F-rhPSMA-10 em 1 h.

Vide a Figura 34.

Biodistribuição e absorção do PSMA-SIFA3 humano (7) em lesões tumorais

[0172]Não notou-se nenhum evento adverso ou efeito farmacológico clinicamente detectável.

[0173]A Figura 21 demonstra a projeção de intensidade máxima (MIR) da PET de um paciente com biodistribuição normal (sem lesões tumorais detectáveis). As imagens foram obtidas 76 min após a injeção de 272 MBq de PSMA-SIFA3 marcado com 18F (7). A imagem à direita ilustra a projeção de intensidade máxima (MIP) da PET de um paciente com uma doença moderadamente avançada exibindo várias lesões tumorais com alta razão lesão para plano de fundo. As imagens foram obtidas 102 min após a injeção de 312 MBq de PSMA-SIFA3 marcado com 18F (7).

[0174]Os parâmetros de absorção refletem a expressão de PSMA no plano de fundo para diferentes tipos de tecido. A absorção significativa de radiotraçadores só foi discernida para as glândulas salivares, rins, fígado, baço e duodeno. A absorção no tecido de plano de fundo foi baixa. A absorção na lesão tumoral foi substancialmente mais alta do que no tecido expressando baixo PSMA.

Tabela 6: Média do $SUV_{máx.}$ (esquerda) e $SUV_{médio}$ (direita) em diferentes tecidos (tecidos/órgãos: n = 53, lesões tumorais: n = 72) com seu erro padrão. Vide a figura 22 para a representação gráfica.

	$SUV_{máx.}$			$SUV_{médio}$		
	média	mín.	máx.	média	mín.	máx.
plano de fundo	1,0	0,6	1 9	0,6	0,4	1,2
pool sanguíneo	2,4	1,6	39	2,0	1.1	17,0
glândula parótida	23,5	8,2	42,3	16,8	5,5	32,7
submandibular glândula	26,7	10,1	43,8	19,6	7,0	29,7
pulmões	1,0	0,5	3,1	0,7	0,3	2,0

fígado	9,5	4,5	25,2	7,0	3,2	17,7
baço	11,8	4,7	21	9,1	3,4	17,1
pâncreas	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
osso	1.7	0,8	3,1	1.1	0,6	2,1
rim	44,3	19,1	75,2	32,1	13,2	54,7
bexiga	8,3	0,5	112,0	6,1	0,3	85,7
lesões tumorais	26,6	4,0	95,4	19,2	2,7	71,7

[0175]Como a baixa razão de atividade no plano de fundo SUV para o plano de fundo de órgãos e lesões tumorais é favorável para a imagiologia clínica, as lesões tumorais são exibidas com alto contraste em comparação ao plano de fundo.

Tabela 7: Média da razão $SUV_{máx.}$ (esquerda) e $SUV_{médio}$ (direita) com seu erro padrão em diferentes tecidos (tecidos/órgãos: n = 53, lesões tumorais: n = 72) com seu erro padrão. Vide a Figura 23 para a representação gráfica.

	razão $SUV_{máx.}$ para o plano de fundo			razão $SUV_{médio}$ para o plano de fundo		
	média	mín.	máx.	média	mín.	máx.
pool sanguíneo	2,5	1,3	4,8	3.1	1,5	21,3
glândula parótida	24,3	8,2	45,3	27,5	9,2	54,5
submandibular glândula	27,8	10,1	54,7	32,5	11,7	61,8
pulmões	1,1	0,4	3,3	1,1	0,4	4,0
fígado	10,1	2,9	42,0	11,7	3,7	44,3
baço	12,3	4,7	35,0	14,9	5,7	39.5
pâncreas	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
osso	1,7	0,9	2,9	1,8	1,0	3,2

rim	46,7	16,9	98 7	53,8	19,8	109,3
bexiga	8,3	0,6	112,0	9,8	0,5	142,8
lesões tumorais	28,6	5,0	83,4	31,9	5,4	83,2

[0176]A absorção em lesões tumorais e o contraste ao plano de fundo foram relativamente iguais entre diferentes tipos de tumores (tumor local [n=24], metastase nos linfonodos [n=23], metastase nos ossos [n=21], metastase nas vísceras [n=4]).

Tabela 8: Média do $SUV_{máx.}$, $SUV_{médio}$, razão $SUV_{máx.}$ para o plano de fundo e razão $SUV_{médio}$ para o plano de fundo em diferentes tipos de tumor com seu erro padrão. Vide a Figura 24 para a representação gráfica.

			razão		razão
tumor local		$SUV_{máx.}$	$SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	$SUV_{médio}$
	média	26,9	29,6	19,3	32,4
	mín.	4	5	2,7	5,4
	máx.	75,1	83,4	19,3	83,2
metastase nos			razão		razão
linfonodos		$SUV_{máx.}$	$SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	$SUV_{médio}$
	médio	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
			razão		razão
metastase nos ossos		$SUV_{máx.}$	$SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	$SUV_{médio}$
	médio	31,2	32,8	22,2	36,6
	mín.	7,9	7,9	5,3	8,8
	máx.	95,4	73,4	71,7	80
metastase nas			razão		razão
vísceras		$SUV_{máx.}$	$SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	$SUV_{médio}$
	médio	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

Retenção de traçadores do PSMA-SIFA3 (7) humanos na bexiga

[0177]A retenção de traçadores no sistema excretor urinário é uma inconveniente comum na imagiologia do ligante de PSMA. O PSMA-SIFA3 marcado com ^{18}F (7), como possível composto principal do agente de PET à base de quelante substituído com SIFA, é excretado através do sistema excretor urinário mas a um grau muito mais baixo que a maioria dos outros agentes de PET. Além disso, sua retenção na bexiga pode ser influenciada significativamente pela aplicação de furosemida quando da injeção do traçador. O teste T 8 revelou uma retenção de traçadores estatística significativamente mais baixa quando a furosemida foi aplicada ($p = 0,018$ tanto para $SUV_{máx.}$ quanto para $SUV_{médio}$).

Tabela 9: Média do $SUV_{máx}$ (esquerda) e $SUV_{média}$ (direita) de retenção dos traçadores na bexiga em pacientes com e sem a administração de furosemida com seu erro padrão. Vide a figura 25 para a representação gráfica.

	$SUV_{máx.}$			$SUV_{médio}$		
	média	mín.	máx.	média	mín.	máx.
com furosemida	4,8	1,6	32	3,4	1,1	26,6
com furosemida	13,9	0,5	112	10,5	0,3	85,7

Resultados clínicos para a detecção por PSMA-SIFA3 (7) de lesões tumorais e validação histopatológica

[0178]Os pacientes tiveram imagens tiradas para determinar o estágio primário (n = 6) recorrência (n = 47) da doença. Lesões indicativas de câncer de próstata foram detectadas em 39 pacientes. Foram analisadas 72 lesões. Vinte e uma de 72 lesões não tiveram correlato na imagiologia morfológica. Quatorze de 72 lesões medidas exibiram tamanho igual ou menor que 5 mm na imagiologia morfológica. Ambas comprovaram o alto valor clínico do PSMA-SIFA3 marcado com

^{18}F (7)_para a detecção de lesões do contrário ocultas na imagiologia morfológica. Os parâmetros de absorção das 35 lesões sem correlato ou de tamanho pequeno na imagiologia morfológica provaram-se parâmetros de absorção favoráveis.

Tabela 10: Média do $SUV_{máx.}$, $SUV_{médio}$, razão $SUV_{máx.}$ para o plano de fundo e razão $SUV_{médio}$ para o plano de fundo em tumores de câncer de próstata com seu erro padrão.

	$SUV_{máx.}$	razão $SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	razão $SUV_{médio}$
médio	16,7	18,3	13,3	22,9
mín.	9,2	5,8	6,4	7,1
máx.	25	43,8	28,3	56,6

[0179]Os exemplos de imagiologia exibiram características favoráveis. Tanto as pequenas lesões, da ordem de subcentímetros, quanto a doença metastática difusa envolvendo diferentes tipos de tecido são exibidas.

[0180]A Figura 26 ilustra: MIR (A) e imagens transaxiais (B-D) de um paciente de 70 anos de idade com recorrência bioquímica 1,5 ano após prostatectomia radical (Gleason 8, pT2c, pN1). Uma única lesão típica do câncer de próstata com 5 mm de diâmetro na pelve direita com alta absorção de PSMA-SIFA3 marcado com 18F (7) se faz presente. A natureza maligna da lesão foi averiguada por histopatologia.

[0181]A Figura 27 ilustra: Conjunto de imagens de um paciente de 80 anos de idade com câncer de próstata resistente à castração progressivo avançado (PSA 66,4 ng/ml). As imagens ilustram a alta absorção de PSMA-SIFA3 marcado com 18F (7) em diferentes classes de lesões de câncer próstata (tumor local, metastases nos linfonodos, metastases nos ossos, metastases no fígado). As lesões exibidas têm meros 2 mm (as setas indicam lesões de tumor representativas, mas não todas).

Aplicação clínica do PSMA-SIFA3 marcado com ^{68}Ga (7)

[0182]Como uma investigação de prova de conceito de um traçador à base de quelante substituído com SIFA marcado com ^{68}Ga, um paciente com recorrência bioquímica após prostatectomia radical (PSA a 0,44 ng/ml, pT2c, pNO, Gleason 7b)

foi submetido a PET/MR 66 min após a injeção de 144 MBq de PSMA-SIFA3 marcado com ^{68}Ga (7). A absorção típica para o câncer de próstata recorrente é exibida em um linfonodo de 2 mm.

[0183]A Figura 28 ilustra a investigação de prova de conceito de um traçador de PET à base de quelante substituído com SIFA marcado com ^{68}Ga.

Estudos de PSMA-SIFA3 (7) em seres humanos

1. Biodistribuição e absorção em lesões tumorais

(a) Proteção de intensidade máxima da PET de um paciente com biodistribuição normal.

Vide a Figura 21.

(b) Média dos valores de absorção padronizados em diferentes tecidos

Vide a Figura 22.

(c) Razão média dos valores de absorção padronizados em diferentes tecidos

Vide a Figura 23.

(d) Média dos valores de absorção padronizados em diferentes tipos de tumor

Vide a Figura 24.

2. Retenção de traçadores na bexiga urinária

Média dos valores de absorção padronizados da retenção de traçadores na bexiga

Vide a Figura 25.

Resultados clínicos para a detecção de lesões tumorais e validação histopatológica

Vide as Figuras 26 e 27.

Aplicação clínica do PSMA-SIFA3 marcado com ^{68}Ga (7)

Vide a Figura 28.

REIVINDICAÇÕES

1. Conjugado ligante-SIFA-quelante **CARACTERIZADO** por compreender, dentro de uma única molécula, três grupamentos distintos:

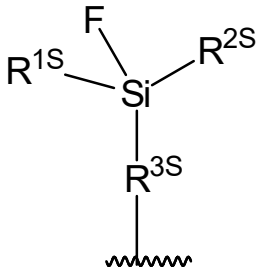
(a) um ou mais ligantes que são capazes de ligar-se a uma molécula alvo relevante para uma doença,

(b) um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de flúor, e

(c) um ou mais grupos quelantes, contendo opcionalmente um cátion não radioativo ou radioativo quelado.

2. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o ligante é capaz de ligar-se ao antígeno de membrana específico da próstata (PSMA).

3. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) tem a estrutura representada pela fórmula (I):



(I),

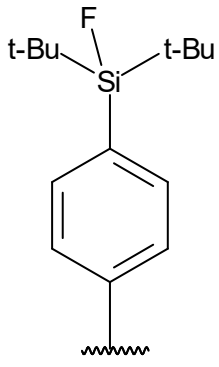
em que

R^{1S} e R^{2S} são independentemente um grupo alquila C_3 a C_{10} linear ou ramificado;

R^{3S} é um grupo de hidrocarbonetos C_1 a C_{20} que compreende uma ou mais unidades aromáticas e/ou alifáticas e/ou até 3 heteroátomos selecionados dentre O e S;

e em que o grupamento SIFA liga-se ao restante do conjugado através da ligação indicada por ~~~~ .

4. Conjugado, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) tem a estrutura representada pela fórmula (Ia):



(Ia),

em que t-Bu indica um grupo *terc*-butila.

5. Conjugado, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o grupo quelante compreende ao menos um de

(i) uma estrutura de anel macrocíclico com 8 a 20 átomos de anel, dos quais 2 ou mais são heteroátomos selecionados dentre átomos de oxigênio e átomos de nitrogênio;

(ii) uma estrutura quelante, acíclica e de cadeia aberta com 8 a 20 átomos na cadeia principal, dos quais 2 ou mais são heteroátomos selecionados dentre átomos de oxigênio e átomos de nitrogênio; ou

(iii) uma estrutura quelante ramificada contendo um átomo de carbono quaternário.

6. Conjugado, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o grupo quelante é selecionado dentre bis(carboximetil)-1,4,8,11-tetraazabiciclo[6.6.2]hexadecano (CBTE2a), ácido ciclohexil-1,2-diaminatetracético (CDTA), ácido 4-(1,4,8,11-tetraazaciclotetradec-1-il)-metilbenzoico (CPTA), N'-[5-[acetil(hidróxi)amino]pentil]-N-[5-[[4-[5-aminopentil-(hidróxi)amino]-4-oxobutanoil]amino]pentil]-N-hidroxibutandiamida (DFO), 4,11-bis(carboximetil)-1,4,8,11-tetraazabiciclo[6.6.2]hexadecano (DO2A), ácido 1,4,7,10-tetraciclododecano-N,N',N'',N'''-tetracético (DOTA), ácido α-(2-carboxietil)-1,4,7,10-

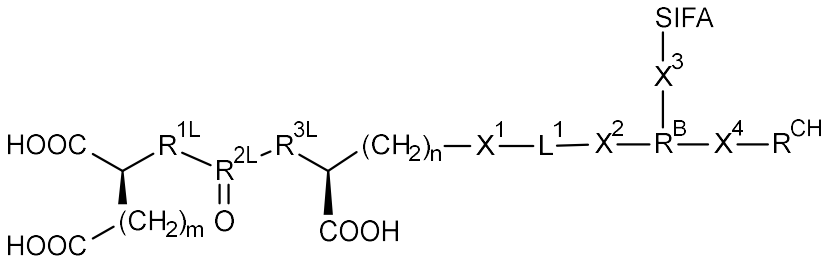
tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetracético (DOTAGA), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-1,4,7,10-tetra(metileno)fosfônico (DOTMP), N,N'-dipiridoxiletilenodiamina-N,N'-diacetato-5,5'-bis(fosfato) (DPDP), ácido dietileno-triamina-N,N',N''-penta(metileno)fosfônico (DTMP), ácido dietilenotriaminapentacético (DTPA), ácido etilenodiamina-N,N'-tetracético (EDTA), ácido etilenoglicol-O,O-bis(2-aminoetil)-N,N,N',N'-tetracético (EGTA), ácido N,N-bis(hidroxibenzil)-etilenodiamina-N,N'-diacético (HBED), ácido hidroxietildiaminatriacético (HEDTA), 1-(p-nitrobenzil)-1,4,7,10-tetraazaciclodecan-4,7,10-triacetato (HP-DOA3), 6-hidrazinil-N-metilpiridina-3-carboxamida (HYNIC), quelantes de tetra-3-hidróxi-N-metil-2-piridinona (ácido 4-((4-(3-(bis(2-(3-hidróxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridina-4-carboxamido)etil)amino)-2-((bis(2-(3-hidróxi-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridina-4-carboxamido)etil)amino)metil)propil)fenil)amino)-4-oxobutanoico), abreviado Me-3,2-HOPO, ácido 1,4,7-triazaciclononano-1-succínico -4,7-ácido diacético (NODASA), 1-(1-carbóxi-3-carboxipropil)-4,7-(carbóxi)-1,4,7-triazaciclononano (NODAGA), ácido 1,4,7-triazaciclononanotriacético (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-tetracético (TETA), tris(hidroxipiridinona) (THP), terpiridin-bis(ácido metilenoamintetracético (TMT), 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-tris[ácido metileno(2-carboxietil)fosfínico] (TRAP), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclotridecan-N,N',N'',N'''-tetracético (TRITA), ácido 3-[[4,7-bis[[2-carboxietil(hidróxi)fosforil]metil]-1,4,7-triazonan-1-il]metil-hidróxi-fosforil]propanoico, e ácido trietilenotetraminahexacético (TTHA).

7. Conjugado, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o grupo quelante é ácido 1,4,7,10-tetraciclododecan-N,N',N'',N'''-tetracético (DOTA), ácido α-(2-carboxietil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetracético (DOTAGA) ou 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-tris[ácido metileno(2-carboxietil)fosfínico] (TRAP).

8. Conjugado, de acordo com a reivindicação 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o quelante contém um cátion quelado selecionado dentre os cátions de ^{43}Sc, ^{44}Sc, ^{47}Sc, ^{64}Cu, ^{67}Cu, ^{67}Ga, ^{68}Ga, ^{90}Y, ^{111}In, ^{149}Tb, ^{152}Tb, ^{155}Tb, ^{161}Tb, ^{166}Ho, ^{177}Lu, ^{186}Re, ^{188}Re,^{212}Pb, ^{212}Bi, ^{213}Bi, ^{225}Ac e ^{227}Th ou uma molécula catiônica compreendendo ^{18}F.

9. Conjugado, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o átomo de flúor de SIFA é ^{18}F.

10. Conjugado, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 9, **CARACTERIZADO** por ser um composto de fórmula (III):



(III)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

SIFA é um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de flúor;

m é um número inteiro de 2 a 6;

n é um número inteiro de 2 a 6;

R^{1L} é CH_2, NH ou O;

R^{3L} é CH_2, NH ou O;

R^{2L} é C ou P(OH);

X^1 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia e uma ligação amina;

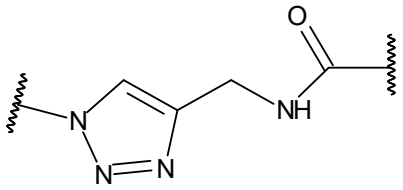
X^2 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia e uma ligação amina;

L^1 é um grupo ligante bivalente com uma estrutura selecionada dentre uma oligoamida, um oligoéter, um oligotioéter, um oligoéster, um oligotioéster, uma oligoureia, uma oligo(éter-amida), uma oligo(tioéter-amida), uma oligo(éster-amida), uma oligo(tioéster-amida), oligo(ureia-amida), um oligo(éter-tioéter), um oligo(éter-éster), um oligo(éter-tioéster), uma oligo(éter-ureia), um oligo(tioéter-éster), um oligo(tioéter-tioéster), uma oligo(tioéter-ureia), um oligo(éster-tioéster), uma oligo(éster-ureia) e uma oligo(tioéster-ureia), em que L^1 é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes selecionados independentemente dentre –OH, $-OCH_3$, -COOH, $–COOCH_3$, $-NH_2$ e $-NHC(NH)NH_2$;

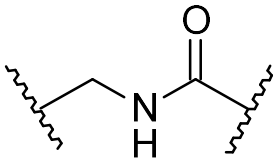
X^3 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éster, um éter e uma amina;

R^B é um grupo de acoplamento trivalente;

X^4 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia, uma ligação amina, um grupo ligante de fórmula:



em que a ligação amida indicada por ~~~ é formada pelo grupo quelante, e a outra ligação indicada por ~~~ liga-se a R^B, e um grupo ligante de fórmula:



em que a ligação indicada por ~~~ na extremidade carbonila é formada pelo grupo quelante, e a outra ligação indicada por ~~~ liga-se a R^B;

R^{CH} é um grupo quelante contendo opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado.

11. Conjugado, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo fato de que $–X^1-L^1-X^2-$ representa uma das estruturas (L-1) e (L-2) a seguir:

$-NH-C(O)-R^6-C(O)-NH-R^7-NH-C(O)-$ (L-1)

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

em que

R^6 a R^{10} são selecionados independentemente dentre alquileno C_2 a C_{10}, cada um desses grupos alquileno podendo ser substituído com um ou mais substituintes selecionados independentemente dentre -OH, $-OCH_3$, -COOH, $-COOCH_3$, $-NH_2$ e $-NHC(NH)NH_2$

ou pelo fato de que $-X^1-L^1-X^2-$ representa uma das estruturas (L-3) e (L-4) a seguir:

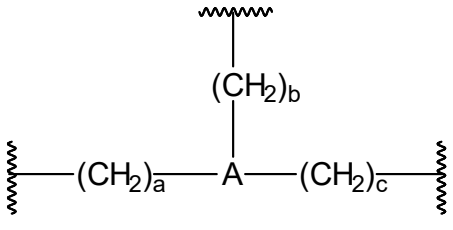
$-NH-C(O)-R^{11}-C(O)-NH-R^{12}-CH(COOH)-NH-C(O)-$ (L-3)

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

em que

R^{11} a R^{15} são selecionados independentemente dentre alquileno C_2 a C_8.

12. Conjugado, de acordo com qualquer a reivindicação 10 ou reivindicação 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R^B tem a estrutura representada pela fórmula (IV):



(IV)

em que:

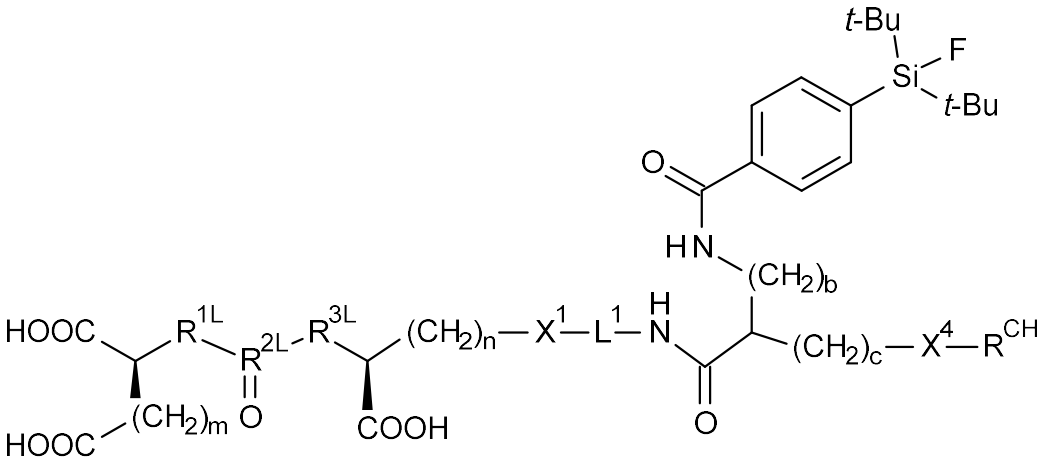
A é selecionado dentre N, CR^{16}, em que R^{16} é H ou alquila C_1-C_6, e um grupo carbocíclico ou heterocíclico de 5 a 7 membros;

a ligação indicada por ~~~~ em $(CH_2)_a$ é formada com X^2, e a é um número inteiro de 0 a 4;

a ligação indicada por ~~~~ em $(CH_2)_b$ é formada com X^3, e b é um número inteiro de 0 a 4; e

a ligação indicada por ~~~~ em $(CH_2)_c$ é formada com X^4, e c é um número inteiro de 0 a 4.

13. Conjugado, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 10 a 12, **CARACTERIZADO** por ser um composto de fórmula (IIIa):



(IIIa)

ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

m é um número inteiro de 2 a 6;

n é um número inteiro de 2 a 6;

b é um número inteiro de 0 a 4;

c é um número inteiro de 0 a 4;

R^{1L} é CH_2, NH ou O;

R^{3L} é CH_2, NH ou O;

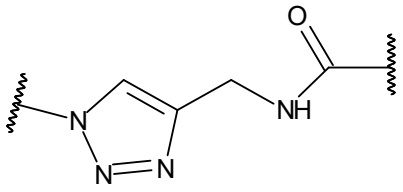
R^{2L} é C ou P(OH);

X^1 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia e uma ligação amina;

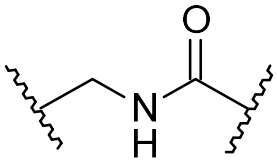
L^1 é um grupo ligante bivalente com uma estrutura selecionada dentre uma oligoamida, um oligoéter, um oligotioéter, um oligoéster, um oligotioéster, uma oligoureia, uma oligo(éter-amida), uma oligo(tioéter-amida), uma oligo(éster-amida),

uma oligo(tioéster-amida), oligo(ureia-amida), um oligo(éter-tioéter), um oligo(éter-éster), um oligo(éter-tioéster), uma oligo(éter-ureia), um oligo(tioéter-éster), um oligo(tioéter-tioéster), uma oligo(tioéter-ureia), um oligo(éster-tioéster), uma oligo(éster-ureia) e uma oligo(tioéster-ureia), em que L^1 é opcionalmente substituído com um ou mais substituintes selecionados independentemente dentre –OH, -OCH_3, -COOH, -$COOCH_3$, -NH_2 e -NHC(NH)NH_2;

X^4 é selecionado dentre uma ligação amida, uma ligação éter, uma ligação tioéter, uma ligação éster, uma ligação tioéster, uma ponte de ureia, uma ligação amina, um grupo ligante de fórmula:



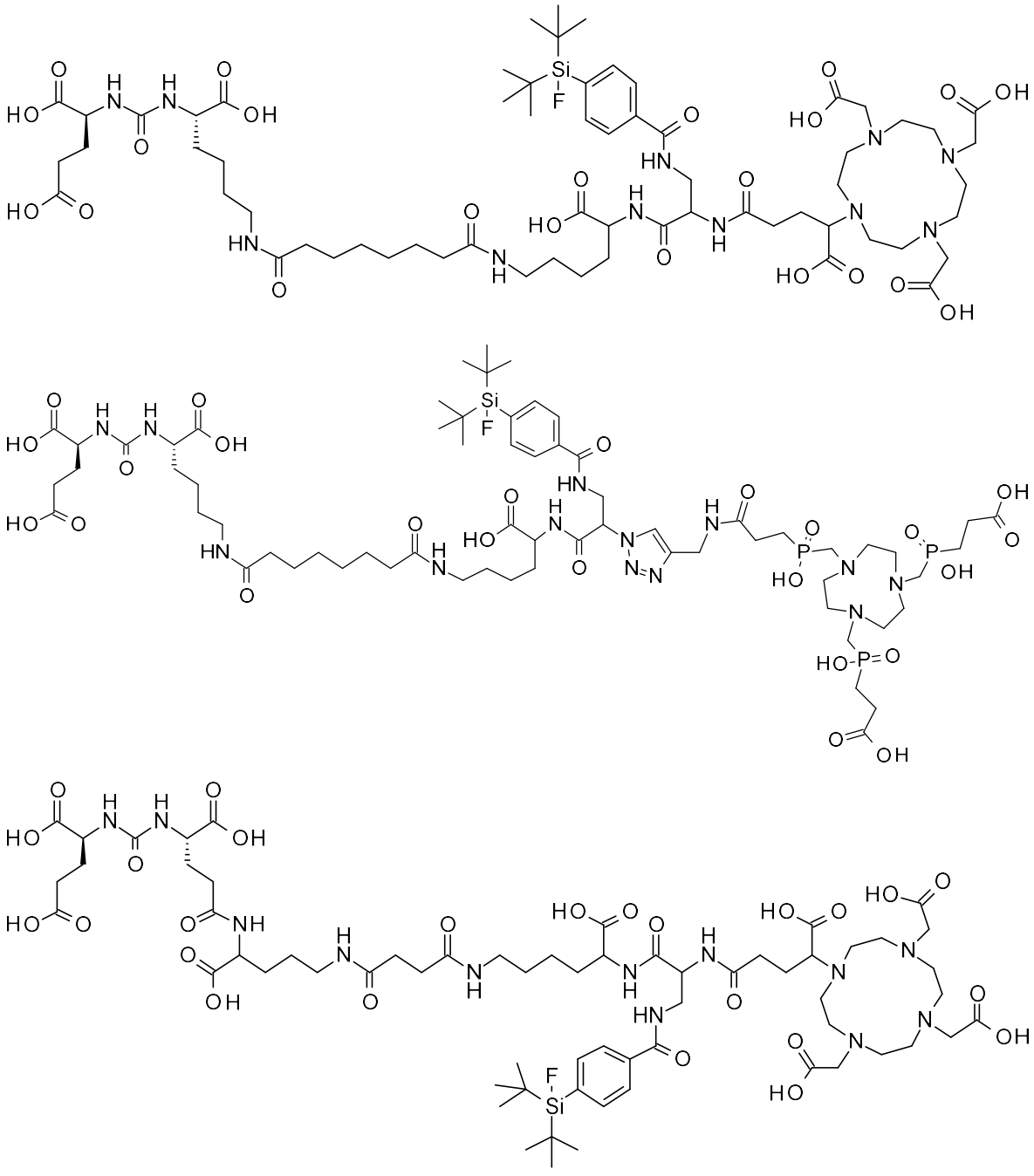
em que a ligação amida indicada por ~~~ é formada com o grupo quelante, e um grupo ligante de fórmula:

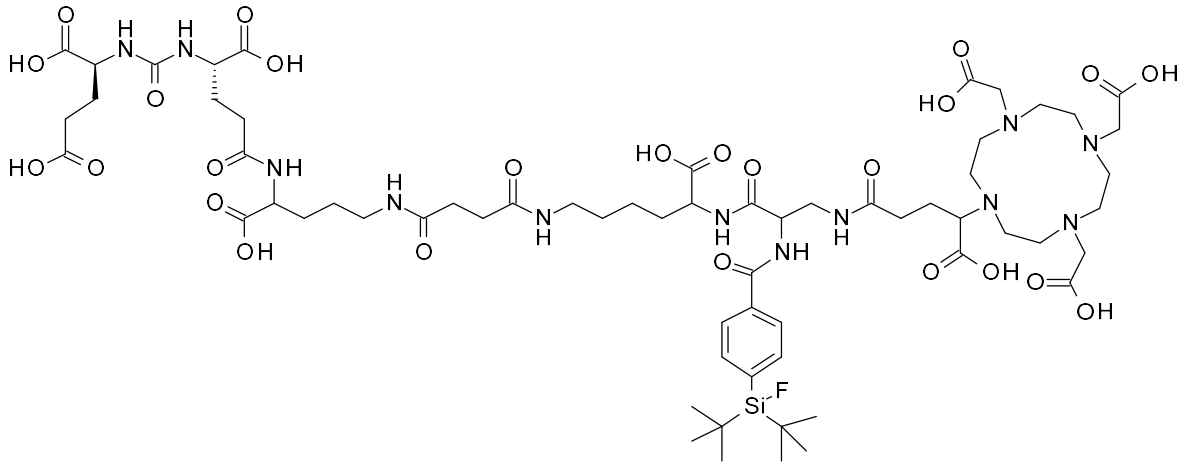


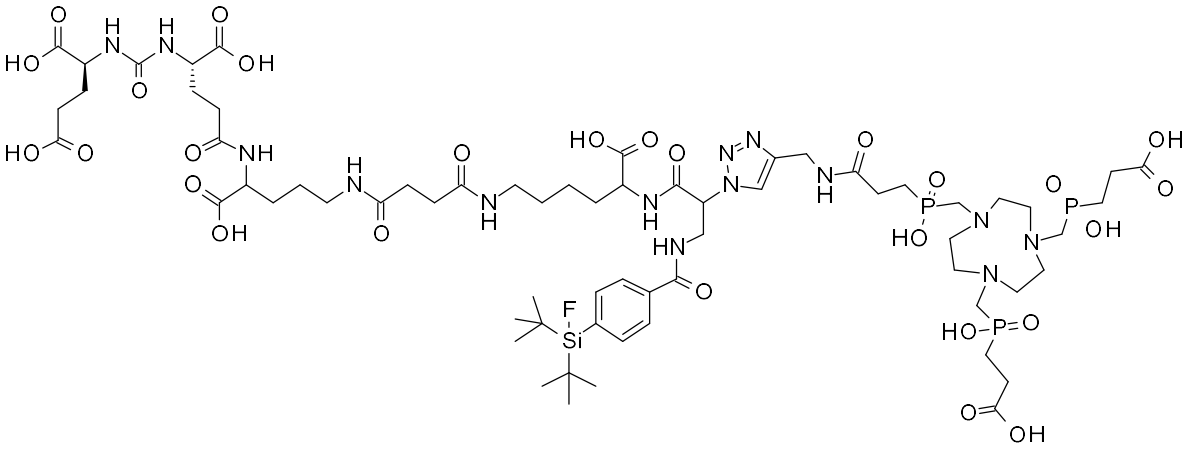
em que a ligação indicada por ~~~ na extremidade carbonila é formada com o grupo quelante; e

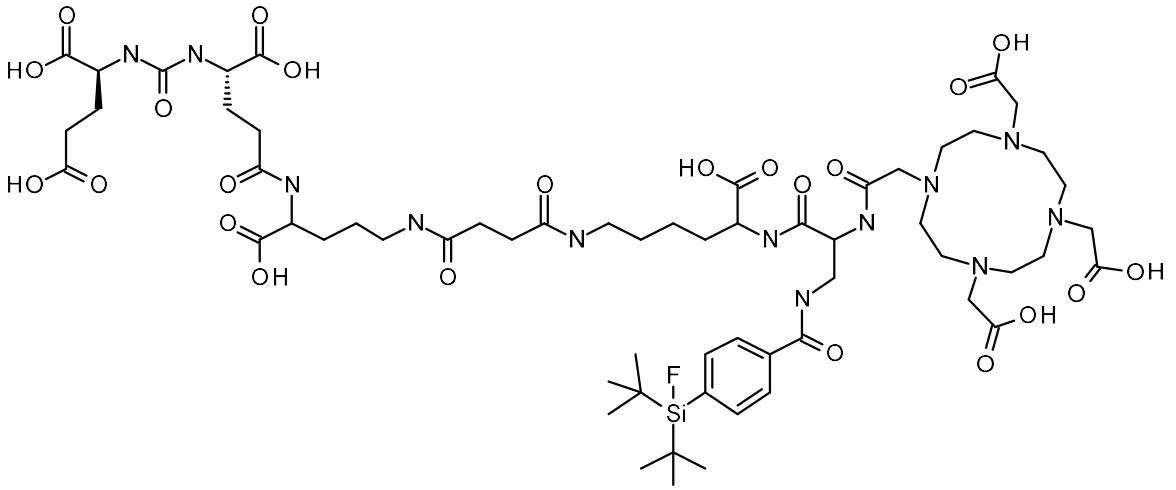
R^{CH} é um grupo quelante contendo opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado.

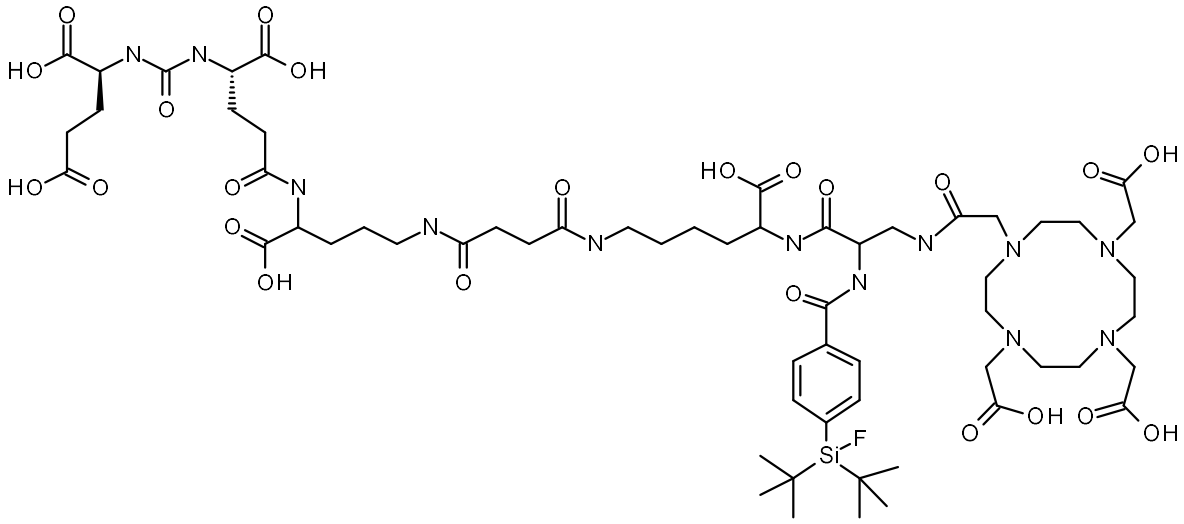
14. Conjugado, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 13, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o conjugado é um composto selecionado dentre o grupo composto por:











e sais farmaceuticamente aceitáveis e isômeros individuais do mesmo, opcionalmente contendo um cátion não radioativo ou radioativo quelado e em que o átomo de flúor é opcionalmente ^{18}F.

15. Composição farmacêutica ou diagnóstica **CARACTERIZADA** por compreender ou consistir em um ou mais conjugados ou compostos de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 14.

16. Conjugado, composto ou composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, **CARACTERIZADA** por ser usada como um agente diagnóstico do câncer ou agente de imagiologia do câncer .

17. Método para gerar imagens e/ou diagnosticar o câncer **CARACTERIZADO** por compreender administrar um conjugado, composto ou composição de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15 a um paciente que dele necessita.

18. Conjugado, composto ou composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, **CARACTERIZADA** por ser usada no tratamento contra o câncer .

19. Conjugado, composto ou composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 15, **CARACTERIZADA** por ser usada no diagnóstico, imagiologia ou prevenção da neoangiogênese/angiogênese.

20. Conjugado, composto ou composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 2 a 15, **CARACTERIZADO** por ser usada como um agente diagnóstico do câncer ou agente de imagiologia do câncer ou por ser usada no tratamento contra o câncer, em que o câncer é carcinoma de próstata, carcinoma de mama, carcinoma de pulmão, carcinoma colorretal ou carcinoma de células renais.

Figura 1

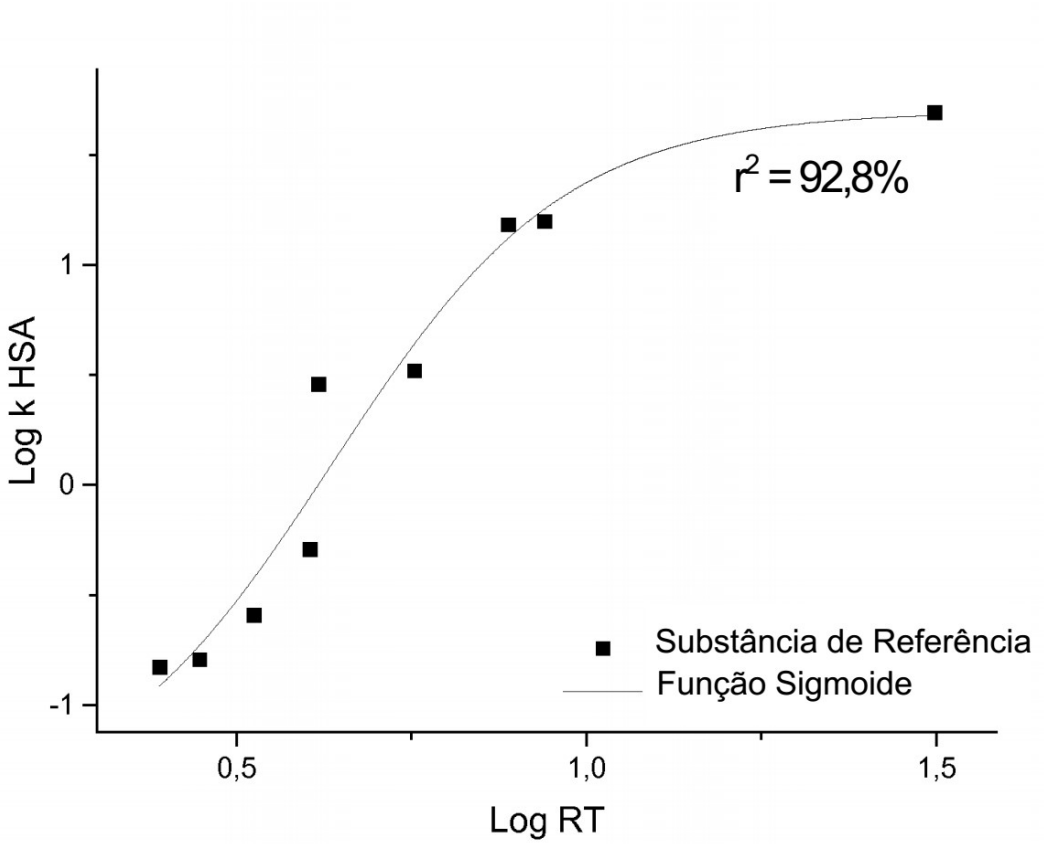
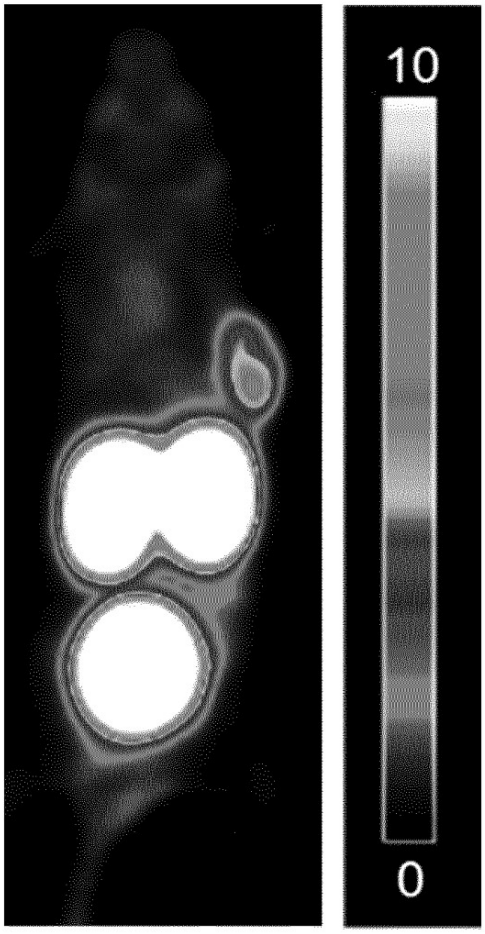
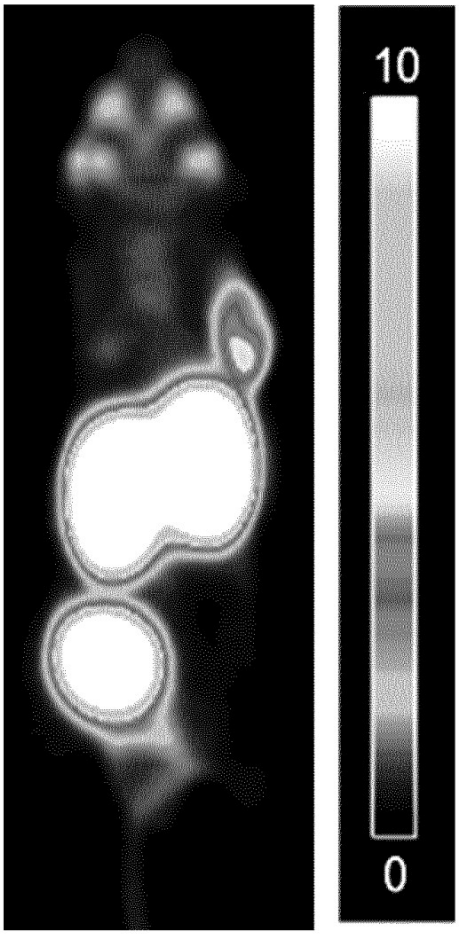

r² = 92,8%
Log k HSA
1
0
-1
0,5
1,0
1,5
Log RT
Substância de Referência
Função Sigmoide

Figura 2



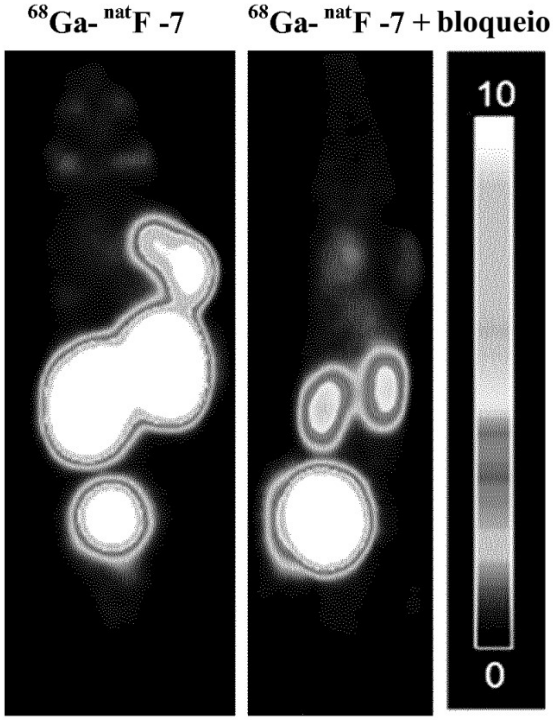
órgão	% de ID/mL
tumor	4,8 ± 1,3
glândulas salivares	1,4 ± 0,17
músculo	0,58 ± 0,01
rim	35,4 ± 7,9
coração	1,5 ± 0,11
fígado	1,4 ± 0,12

Figura 3



órgão	% de ID/mL
tumor	4,0 ± 0,18
glândulas salivares	2,1 ± 0,25
músculo	0,57 ± 0,17
rim	46,2 ± 6,1
coração	1,4 ± 0,29
fígado	1,3 ± 0,27

Figura 4



órgão	% de ID/mL
tumor	8,3 ± 2,3
glândulas salivares	0,89 ± 0,12
músculo	0,29 ± 0,03
rim	40,7 ± 2,3
coração	0,77 ± 0,05
fígado	0,64 ± 0,02

Figura 5

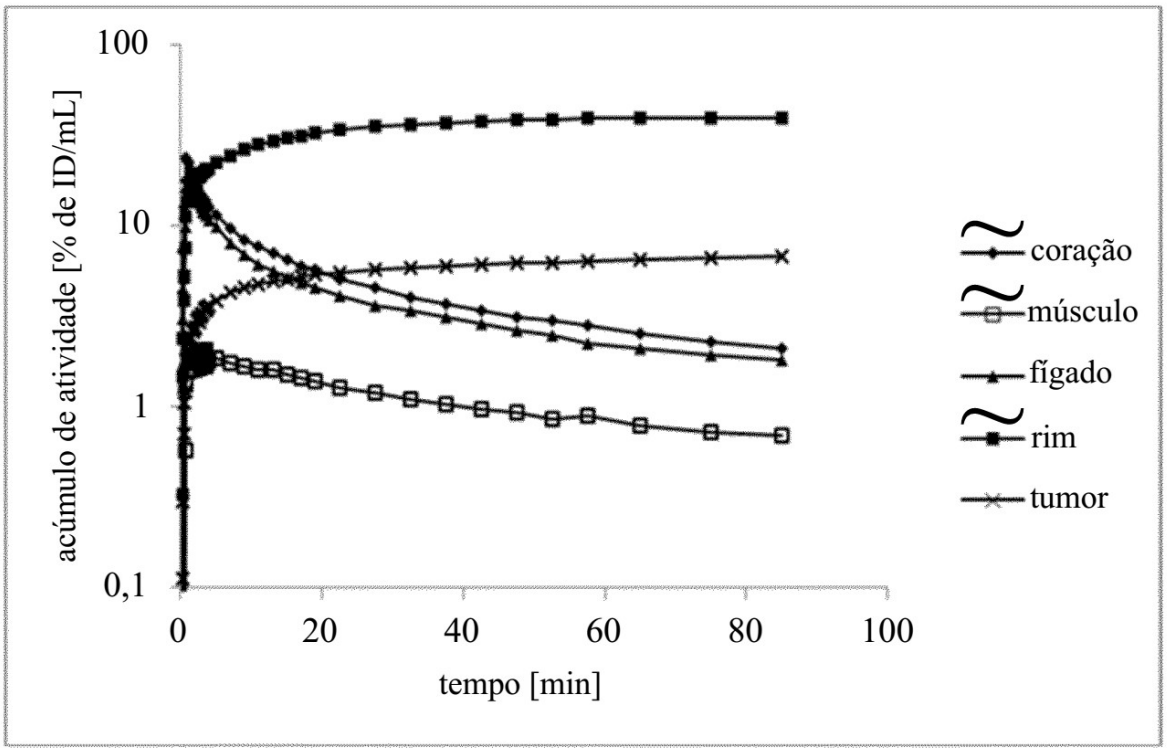
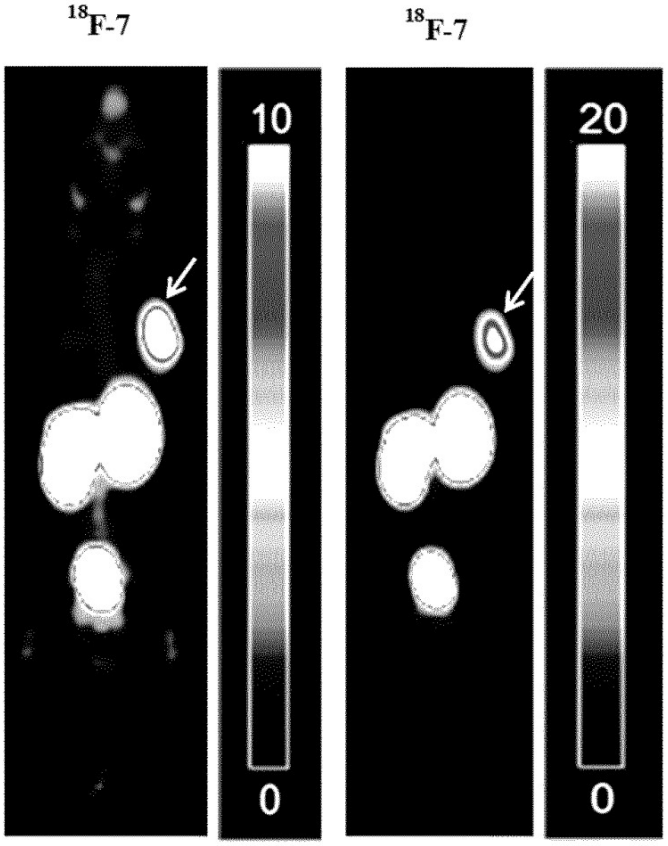

100
10
1
0,1
acúmulo de atividade [% de ID/mL]
0
20
40
60
80
100
tempo [min]
coração
músculo
fígado
rim
tumor

Figura 6



órgão	% de ID/mL
tumor	11,0 ± 4,1
glândulas	2,0 ± 1,4
músculo	0,68 ± 0,05
rim	46,3 ± 13,1
coração	1,6 ± 0,17
fígado	1,3 ± 0,17

Figura 7

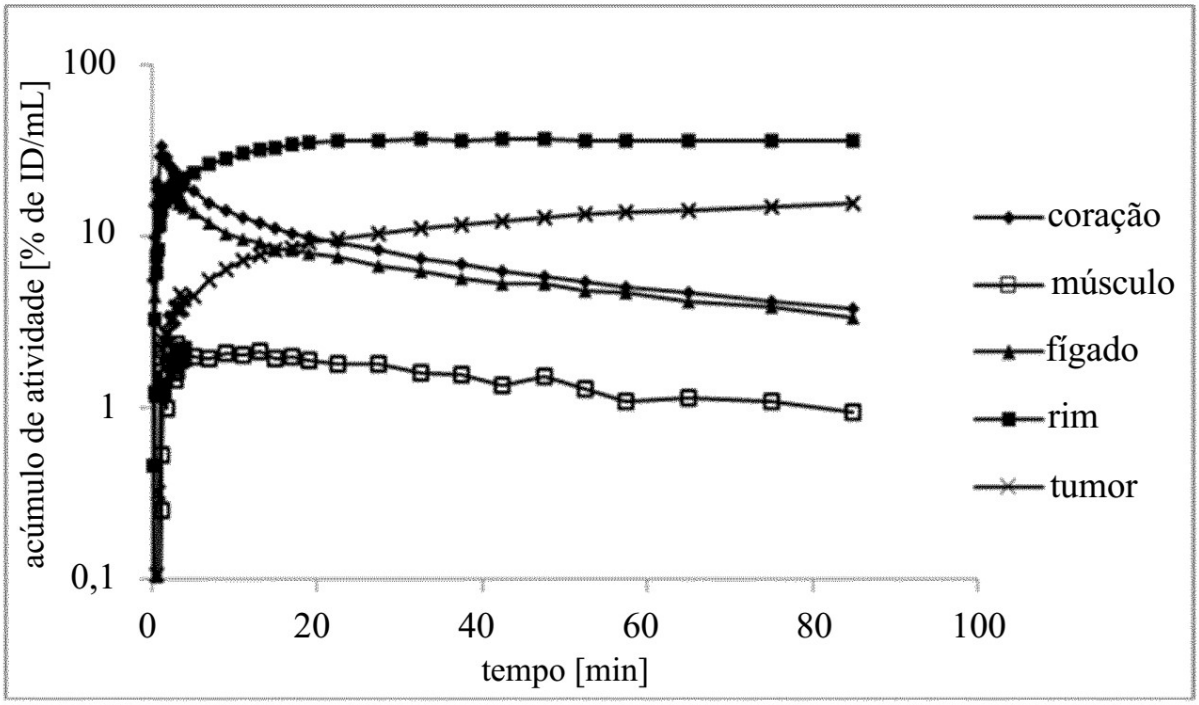
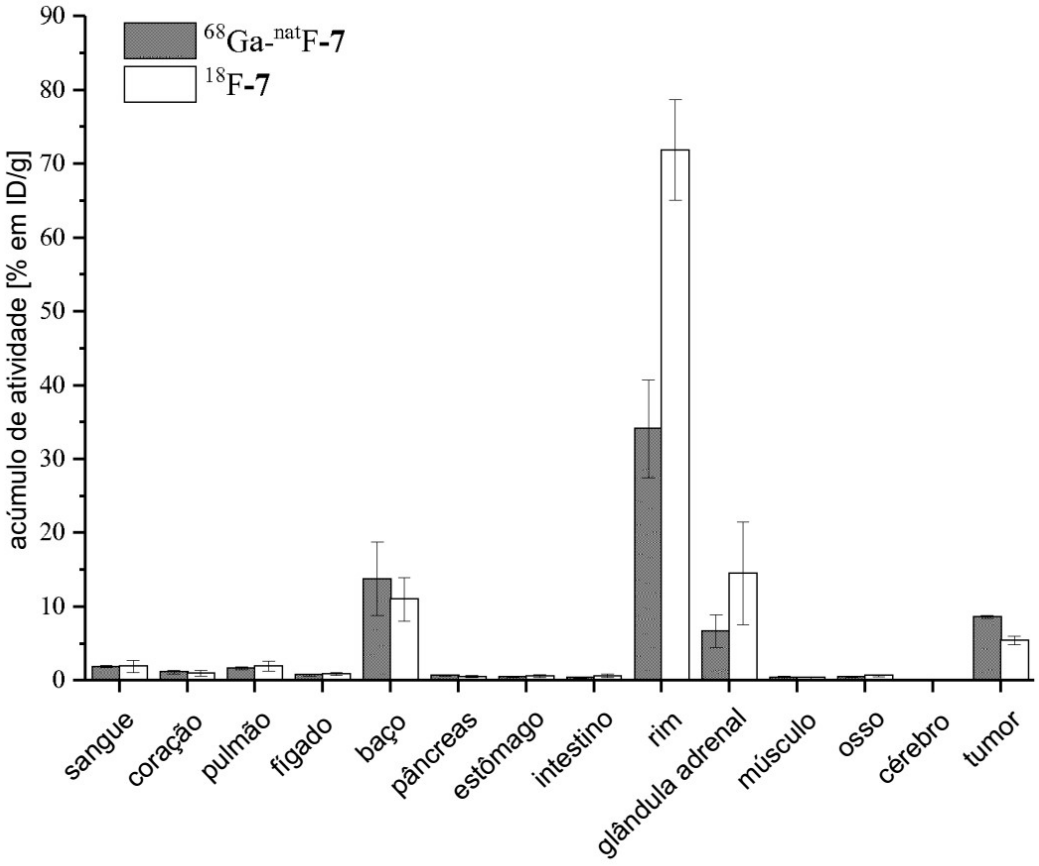
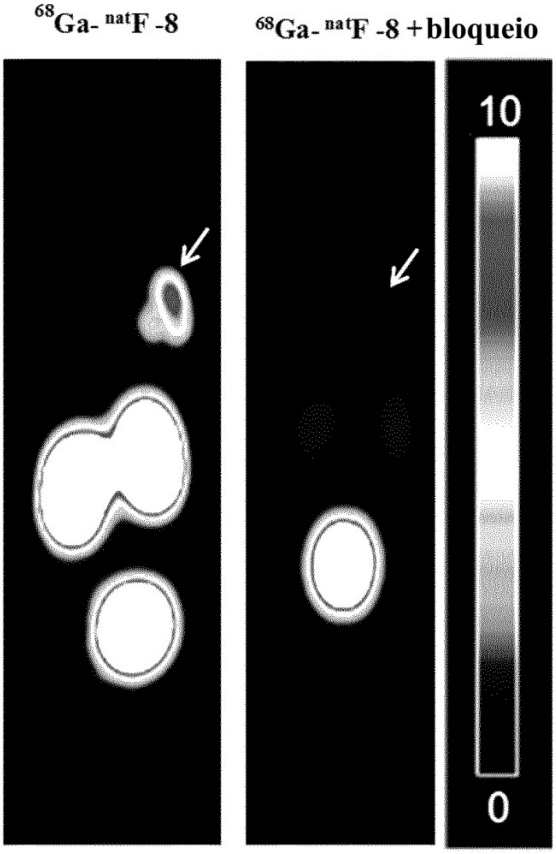

100
10
1
0,1
acúmulo de atividade [% de ID/mL]
0
20
40
60
80
100
tempo [min]
coração
músculo
fígado
rim
tumor

Figura 8



	^{68}Ga-^{nat}F-7	^{18}F-7
sangue	1,9 ± 0,14	1,9 ± 0,81
coração	1,2 ± 0,27	1,0 ± 0,40
pulmão	1,7 ± 0,16	2,0 ± 0,68
fígado	0,77 ± 0,10	0,91 ± 0,21
baço	13,8 ± 5,0	11,0 ± 2,9
pâncreas	0,71 ± 0,11	0,55 ± 0,18
estômago	0,51 ± 0,07	0,66 ± 0,18
intestino	0,43 ± 0,07	0,67 ± 0,23
rins	34,1 ± 6,6	71,9 ± 6,8
adrenais	6,7 ± 2,2	14,6 ± 7,0
músculo	0,42 ± 0,22	0,37 ± 0,14
osso	0,52 ± 0,11	0,70 ± 0,14
cérebro	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,02
tumor	8,6 ± 0,20	5,5 ± 0,56

Figura 9



orgão	% de ID/mL
tumor	5,3 ± 0,45
glândulas salivares	0,96 ± 0,15
músculo	0,26 ± 0,02
rim	23,5 ± 5,4
coração	0,82 ± 0,12
fígado	0,54 ± 0,05

Figura 10

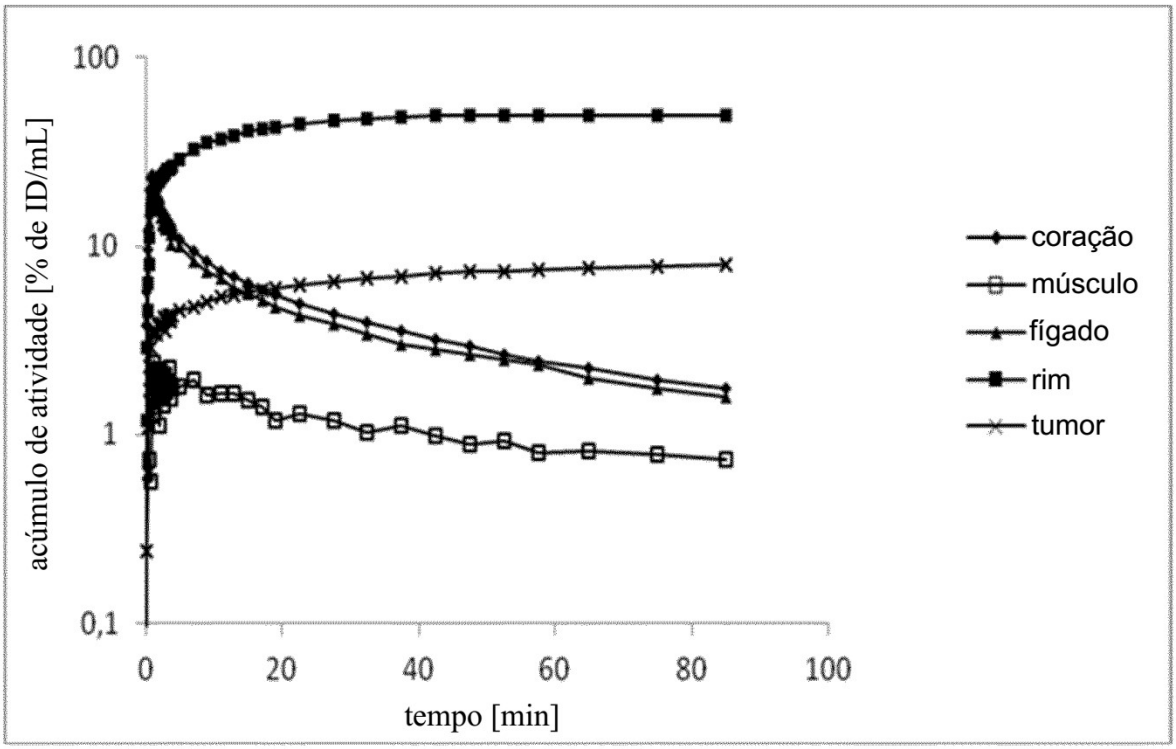
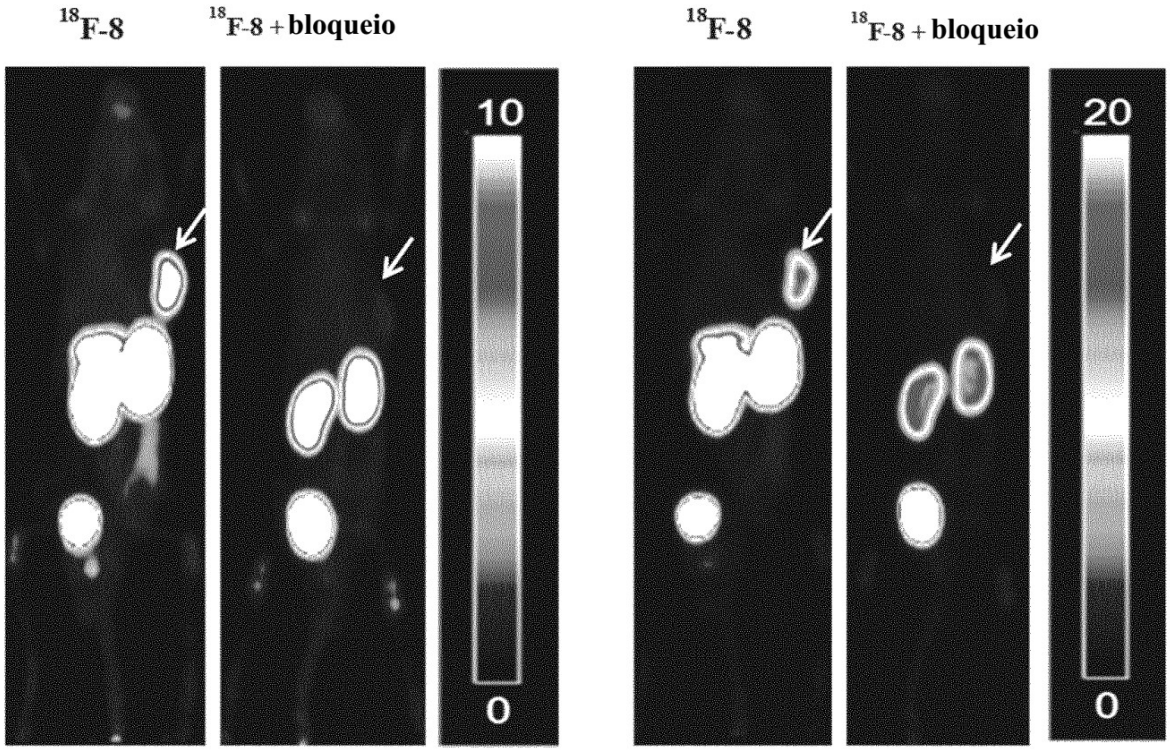

100
10
1
0,1
acúmulo de atividade [% de ID/mL]
0
20
40
60
80
100
tempo [min]
coração
músculo
fígado
rim
tumor

Figura 11



orgão	% de ID/mL
tumor	11,2 ± 3,3
glândulas salivaes	2,0 ± 0,37
músculo	0,59 ± 0,06
rim	46,2 ± 7,7
coração	1,7 ± 0,33
fígado	1,5 ± 0,24

Figura 12

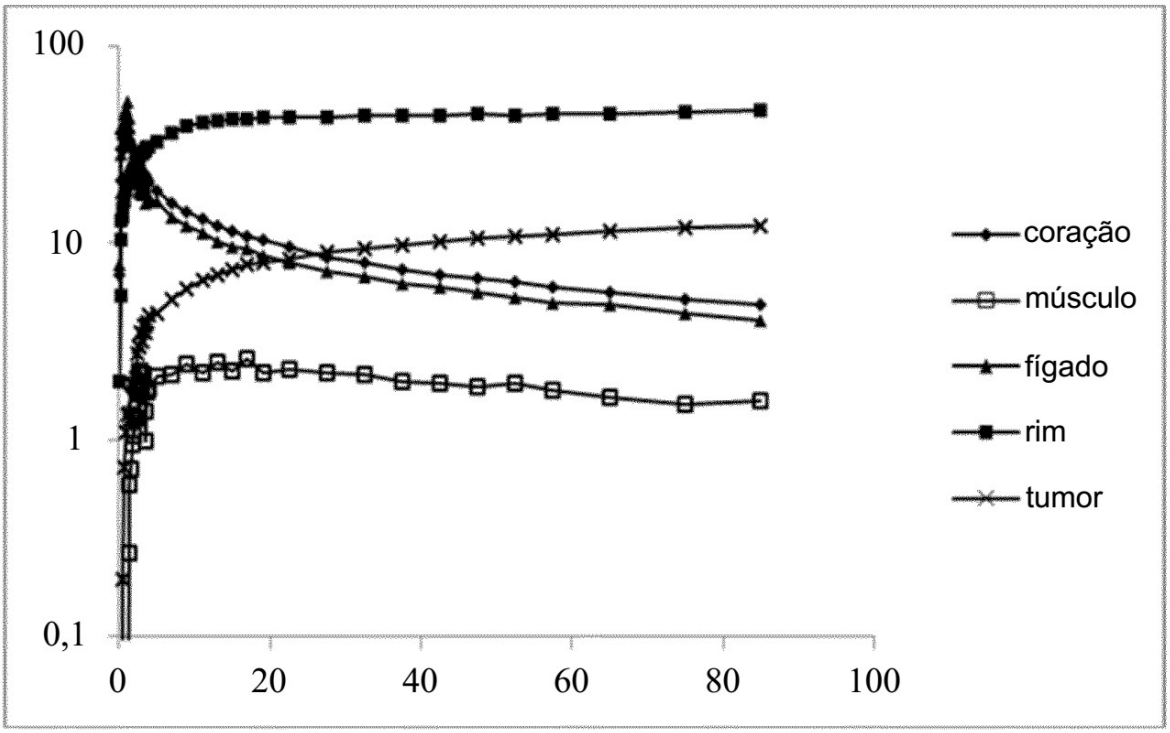
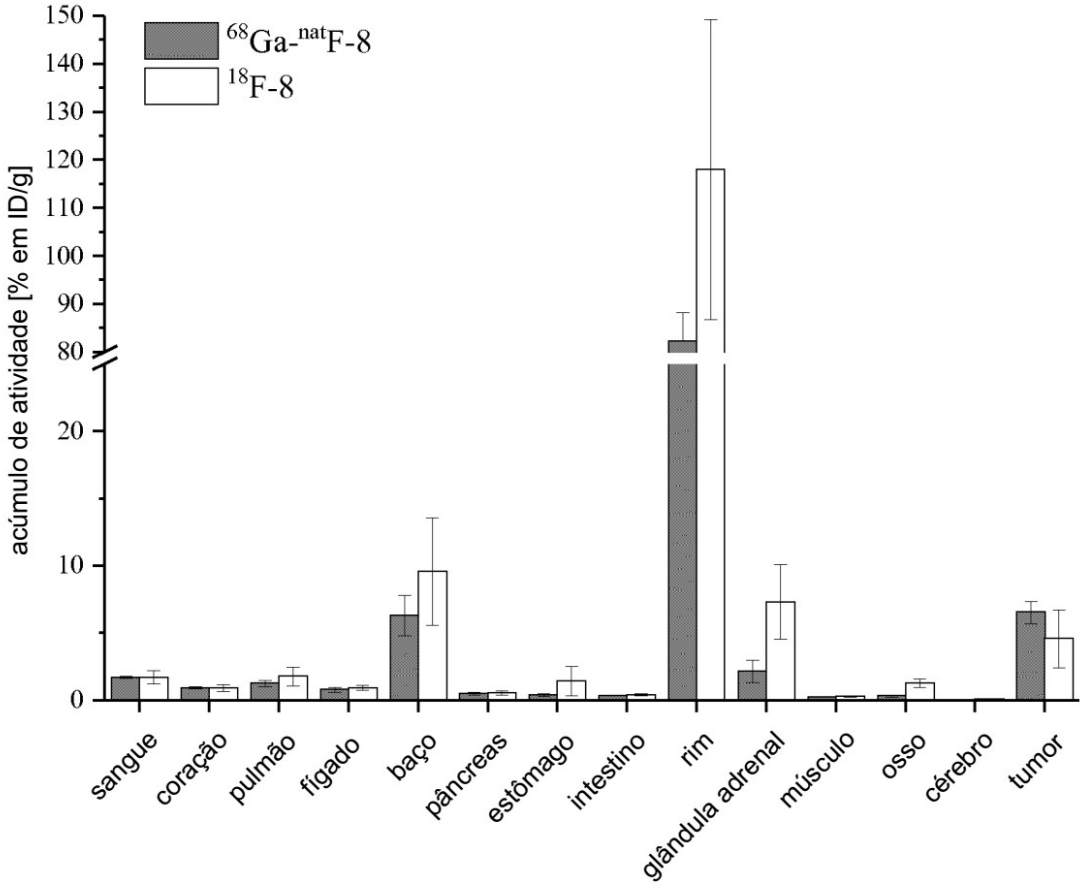
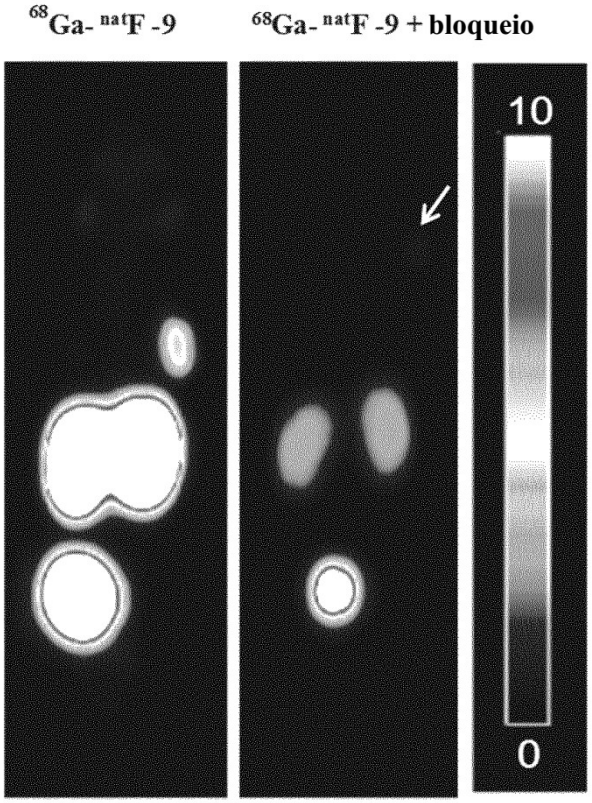


Figura 13



	^{68}Ga-^{nat}F-8	^{18}F-8
sangue	1,7 ± 0,09	1,7 ± 0,48
coração	093 ± 0,08	0,92 ± 0,27
pulmão	1,3 ± 0,23	1,8 ± 0,70
fígado	0,79 ± 0,17	1,8 ± 0,70
baço	6,3 ± 1,5	9,6 ± 4,0
pâncreas	0,48 ± 0,11	0,55 ± 0,14
estômago	0,42 ± 0,11	1,4 ± 1,1
intestino	0,35 ± 0,01	0,42 ± 0,10
rins	82,3 ± 5,9	118 ± 31,2
adrenais	2,2 ± 0,82	7,3 ± 2,8
músculo	0,24 ± 0,02	0,30 ± 0,06
osso	0,32 ± 0,07	1,3 ± 0,31
cérebro	0,06 ± 0,003	0,07 ± 0,01
tumor	6,5 ± 0,84	4,6 ± 2,2

Figura 14



orgão	% de ID/mL
tumor	4,1 ± 0,34
glândulas salivares	1,1 ± 0,11
músculo	0,27 ± 0,09
rim	43,6 ± 2,6
coração	0,65 ± 0,25
fígado	0,49 ± 0,07

Figura 15

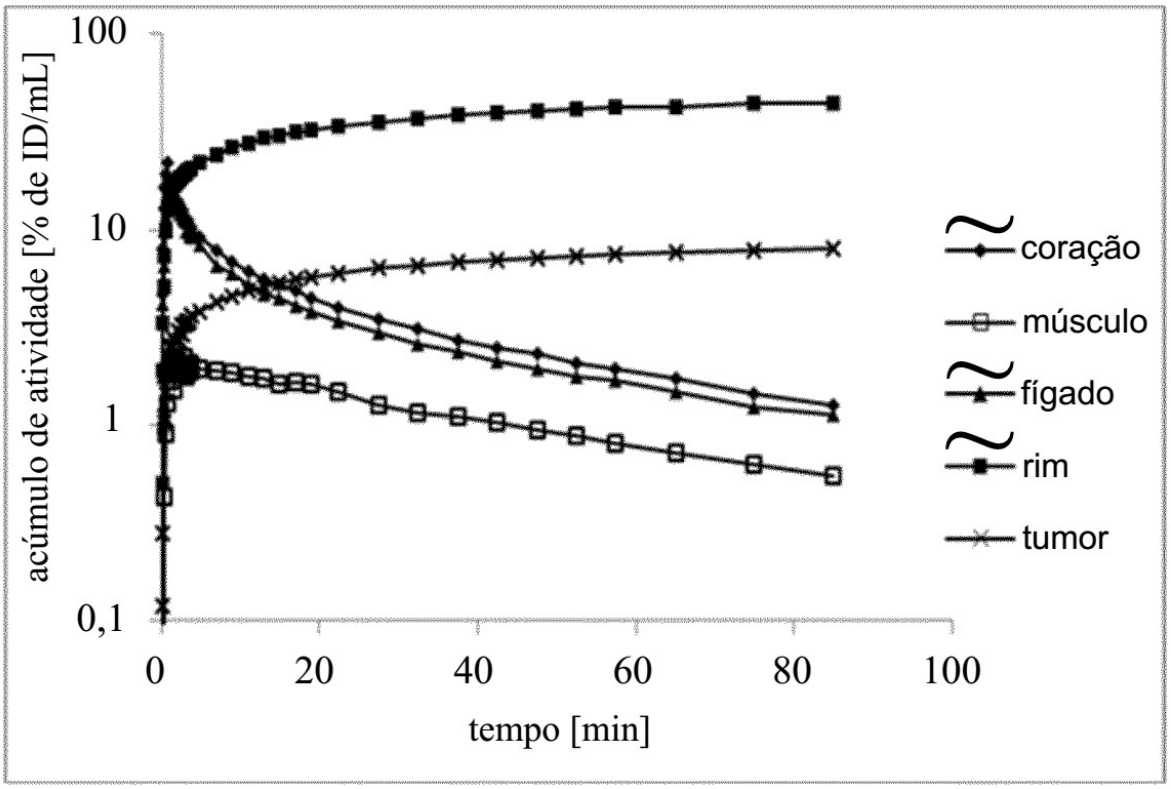
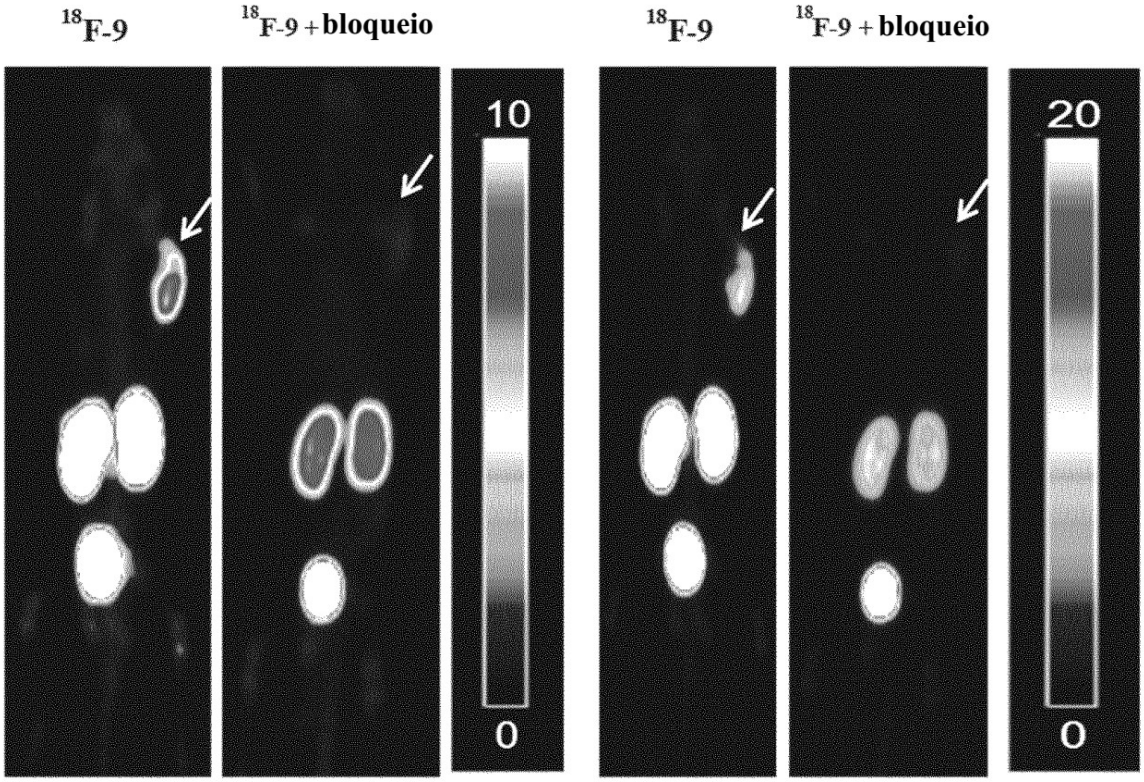

100
10
1
0,1
acúmulo de atividade [% de ID/mL]
0
20
40
60
80
100
tempo [min]
coração
músculo
fígado
rim
tumor

Figura 16



orgão	% de ID/mL
tumor	6,9 ± 0,34
glândulas salivares	1,5 ± 0,20
músculo	0,46 ± 0,12
rim	40,3 ± 7,4
coração	1,1 ± 0,41
fígaro	1,0 ± 0,40

Figura 17

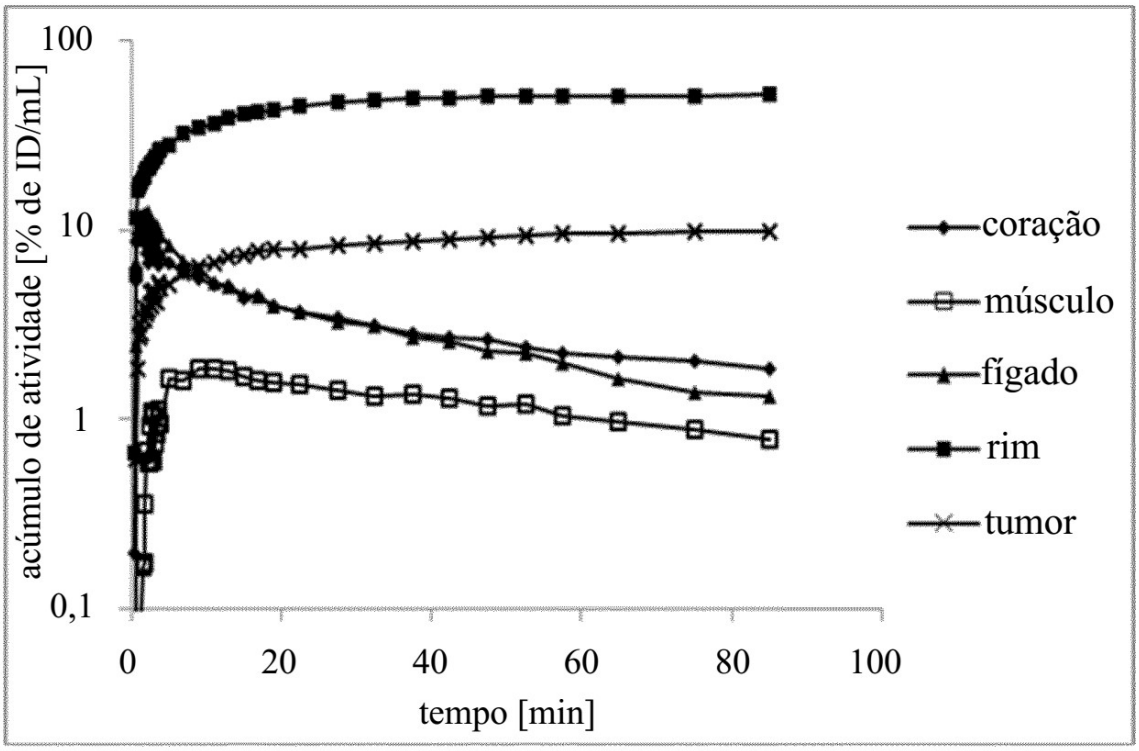
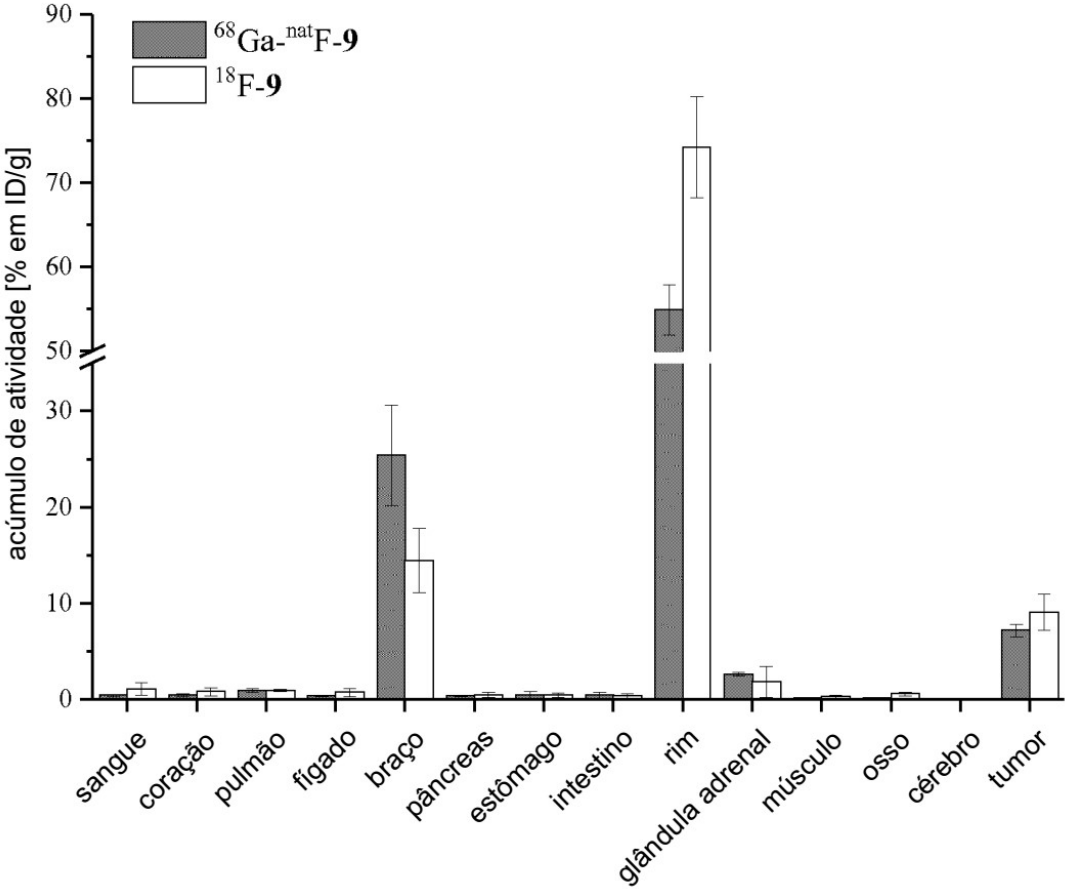
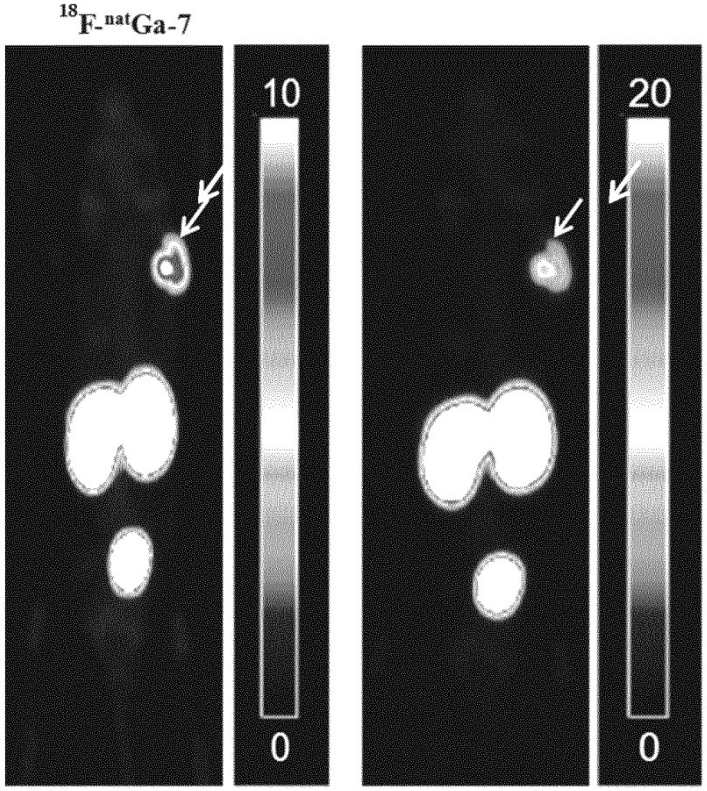

100
10
1
0,1
acúmulo de atividade [% de ID/mL]
0
20
40
60
80
100
tempo [min]
coração
músculo
fígado
rim
tumor

Figura 18



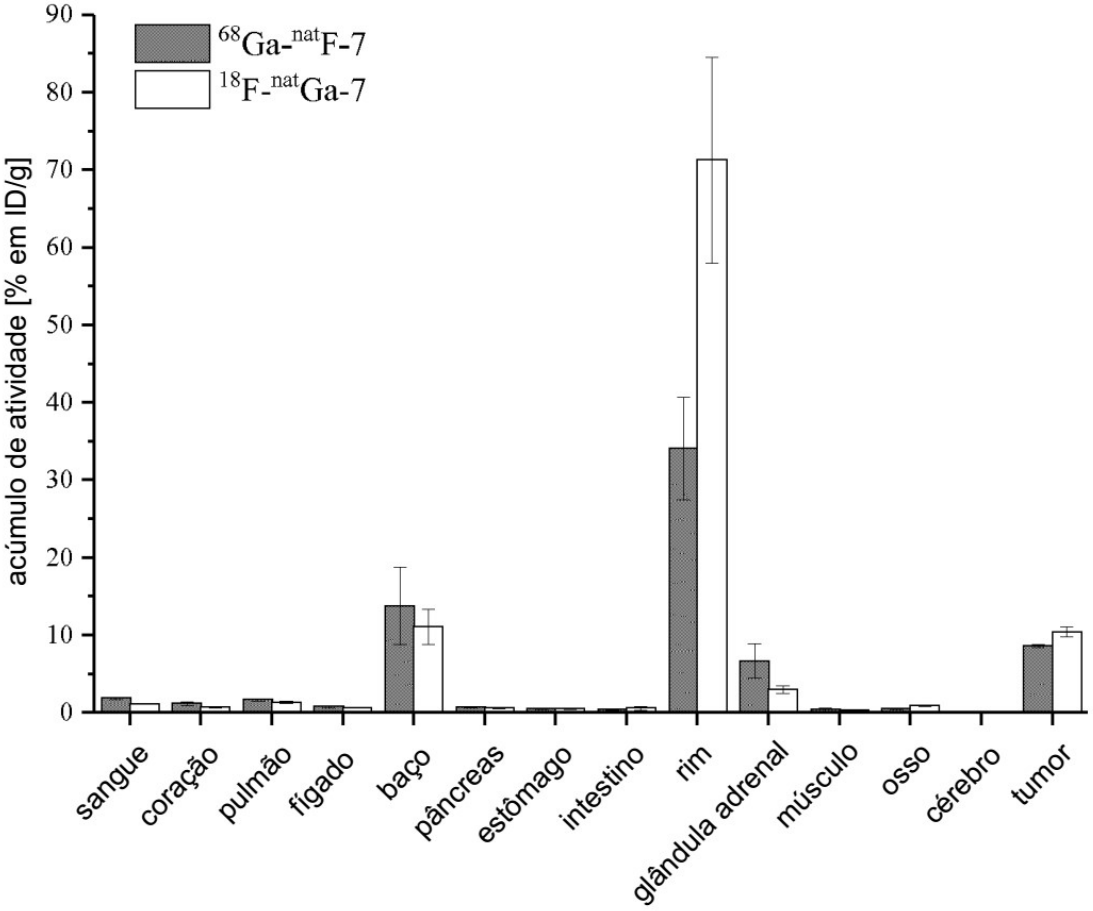
	^{68}Ga-^{nat}F-9	^{18}F-9
sangue	0,46 ± 0,11	1,1 ± 0,67
coração	0,48 ± 0,17	0,81 ± 0,40
pulmão	0,94 ± 0,20	0,98 ± 0,12
fígado	0,42 ± 0,07	0,74 ± 0,45
baço	25,43 ± 5,2	14,5 ± 3,3
pâncreas	0,39 ± 0,09	0,48 ± 0,26
estômago	0,48 ± 0,40	0,46 ± 0,23
intestino	0,44 ± 0,34	0,41 ± 0,21
rins	54,9 ± 3,0	74,3 ± 6,1
adrenais	2,7 ± 0,19	1,9 ± 1,6
músculo	0,19 ± 0,06	0,32 ± 0,18
osso	0,18 ± 0,05	0,60 ± 0,17
cérebro	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,04
tumor	7,2 ± 0,63	9,1 ± 1,9

Figura 19



órgão	% de ID/mL
tumor	7,2 ± 0,22
glândulas salivares	1,2 ± 0,09
músculo	0,68 ± 0,09
rim	48,3 ± 11,9
coração	0,80 ± 0,12
fígado	0,74 ± 0,04

Figura 20



	^{68}Ga-^{nat}F-7	^{18}F-7
sangue	1,9 ± 0,14	1,1 ± 0,03
coração	1,2 ± 0,27	0,7 ± 0,07
pulmão	1,7 ± 0,16	1,4 ± 0,17
fígado	0,77 ± 0,10	0,67 ± 0,07
baço	13,8 ± 5,0	11,1 ± 2,3
pâncreas	0,71 ± 0,11	0,60 ± 0,10
estômago	0,51 ± 0,07	0,49 ± 0,07
intestino	0,43 ± 0,07	0,60 ± 0,27
rins	34,1 ± 6,6	71,3 ± 13,3
adrenais	6,7 ± 2,2	3,0 ± 0,45
músculo	0,42 ± 0,22	0,36 ± 0,06
osso	0,52 ± 0,11	0,91 ± 0,11
cérebro	0,06 ± 0,01	0,11 ± 0,08
tumor	8,6 ± 0,20	10,4 ± 0,67

Figura 21

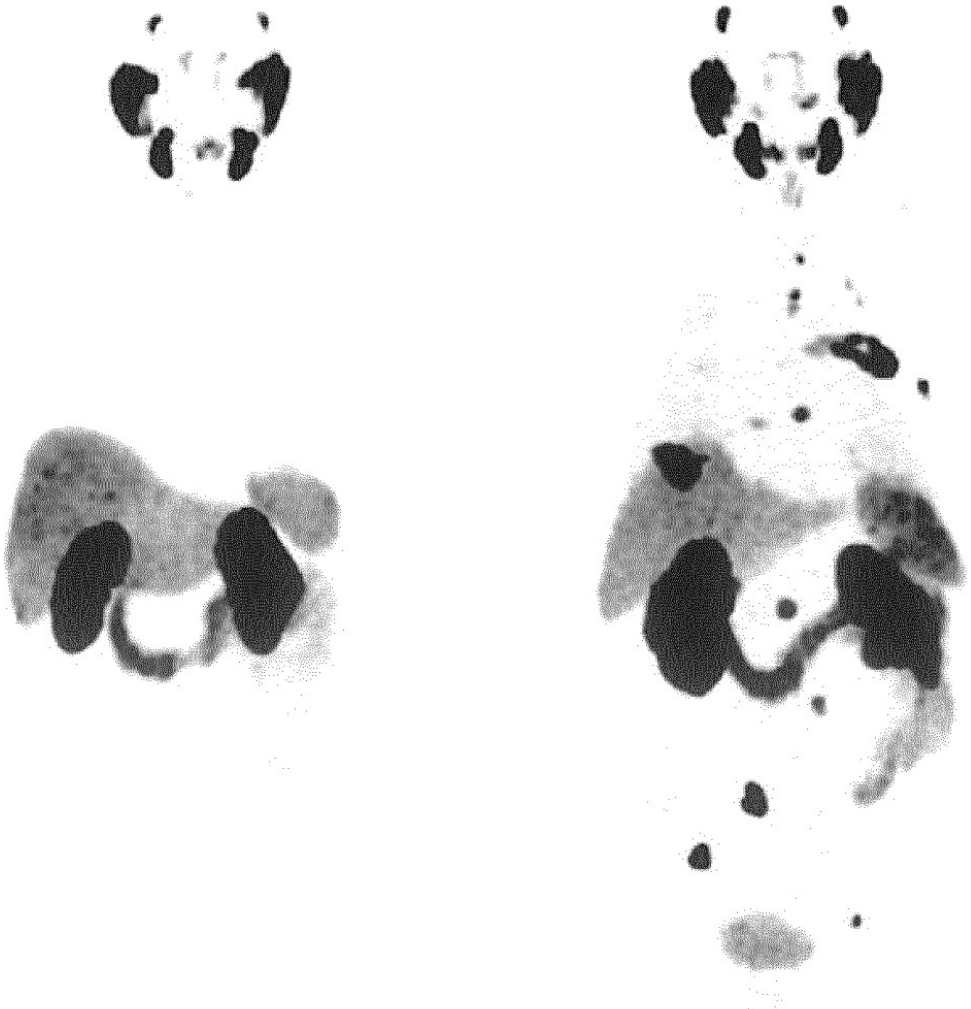


Figura 22

	$SUV_{máx.}$			$SUV_{médio}$		
	média	mín.	máx.	média	mín.	máx.
plano de fundo	1,0	0,6	1 9	0,6	0,4	1,2
pool sanguíneo	2,4	1,6	39	2,0	1.1	17,0
glândula parótida	23,5	8,2	42,3	16,8	5,5	32,7
glândula submandibular	26,7	10,1	43,8	19,6	7,0	29,7
pulmões	1,0	0,5	3,1	0,7	0,3	2,0
fígado	9,5	4,5	25,2	7,0	3,2	17,7
baço	11,8	4,7	21	9,1	3,4	17,1
pâncreas	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
osso	1.7	0,8	3,1	1.1	0,6	2,1
rim	44,3	19,1	75,2	32,1	13,2	54,7
bexiga	8,3	0,5	112,0	6,1	0,3	85,7
lesões tumorais	26,6	4,0	95,4	19,2	2,7	71,7

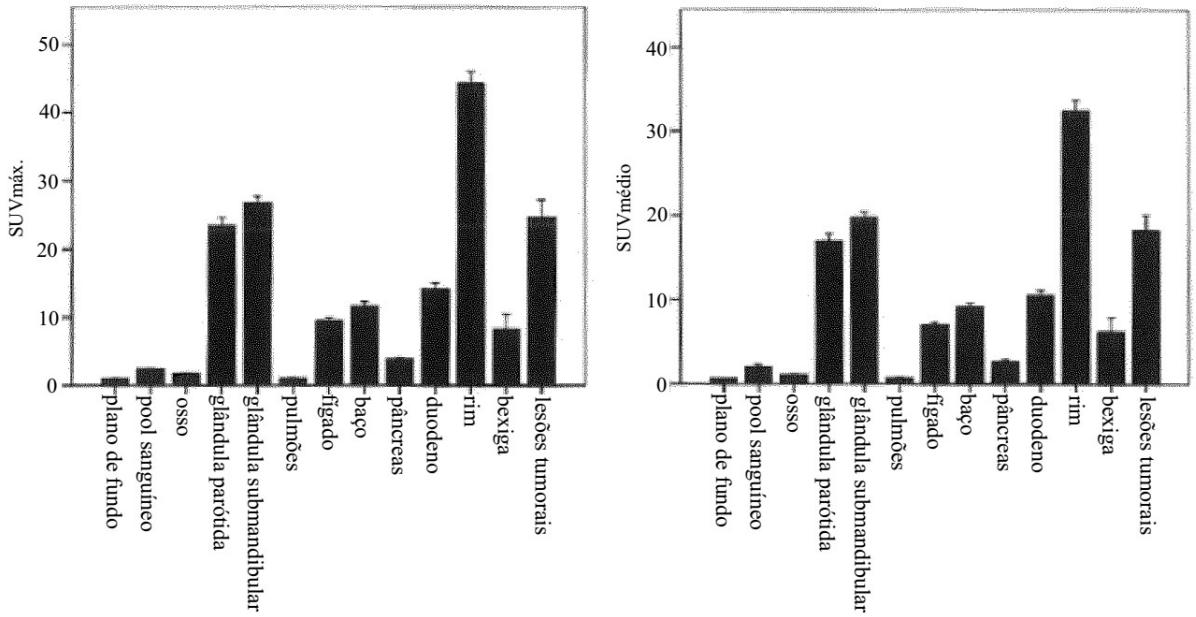


Figura 23

	razão $SUV_{máx.}$ para o plano de fundo			razão $SUV_{médio}$ para o plano de fundo		
	média	mín.	máx.	média	mín.	máx.
pool sanguíneo	2,5	1,3	4,8	3.1	1,5	21,3
glândula parótida	24,3	8,2	45,3	27,5	9,2	54,5
submandibular glândula	27,8	10,1	54,7	32,5	11,7	61,8
pulmões	1,1	0,4	3,3	1,1	0,4	4,0
fígado	10,1	2,9	42,0	11,7	3,7	44,3
baço	12,3	4,7	35,0	14,9	5,7	39.5
pâncreas	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
osso	1,7	0,9	2,9	1,8	1,0	3,2
rim	46,7	16,9	98 7	53,8	19,8	109,3
bexiga	8,3	0,6	112,0	9,8	0,5	142,8
lesões tumorais	28,6	5,0	83,4	31,9	5,4	83,2

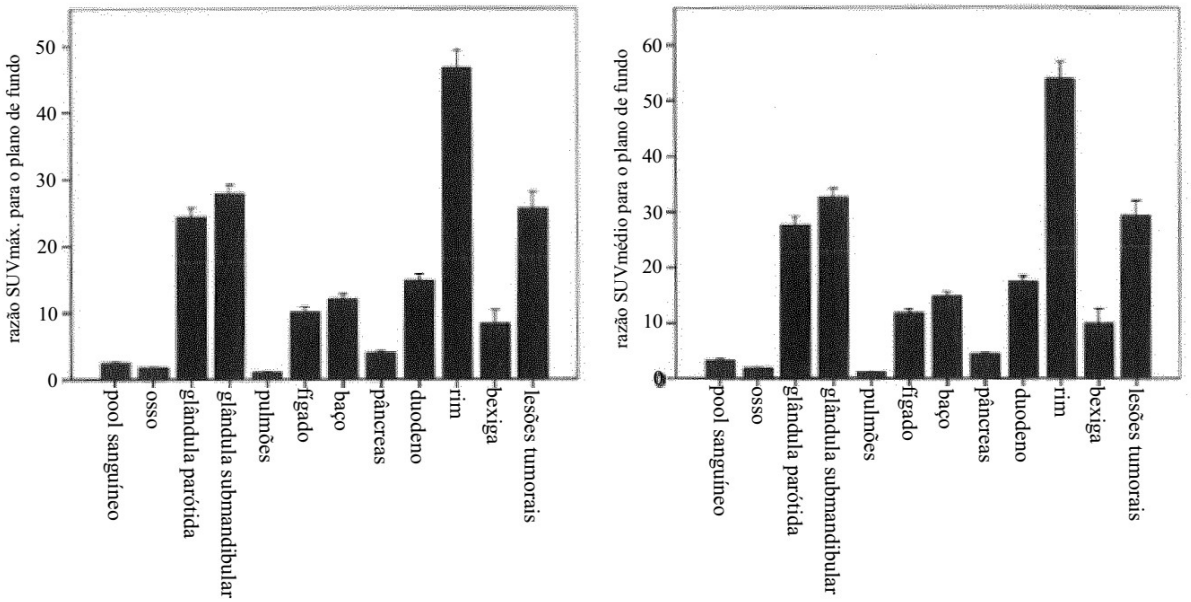
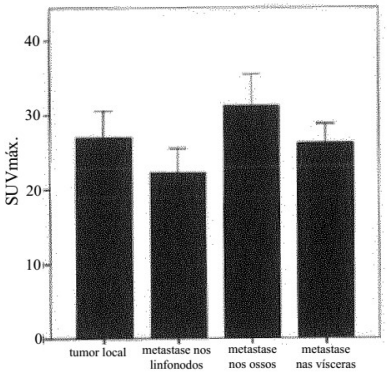
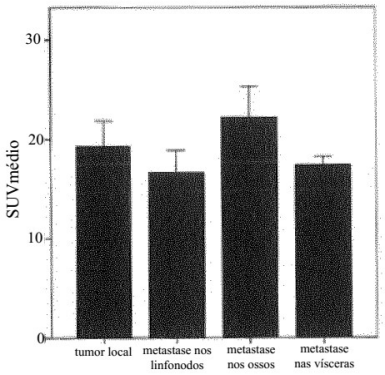
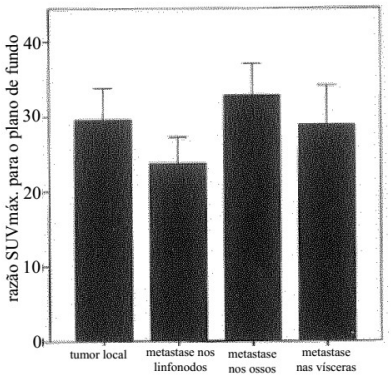


Figura 24

tumor local		$SUV_{máx.}$	razão $SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	razão $SUV_{médio}$
	médio	26,9	29,6	19,3	32,4
	mín.	4	5	2,7	5,4
	máx.	75,1	83,4	19,3	83,2
metastase nos linfonodos		$SUV_{máx.}$	razão $SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	razão $SUV_{médio}$
	médio	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
metastase nos ossos		$SUV_{máx.}$	razão $SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	razão $SUV_{médio}$
	médio	31,2	32,8	22,2	36,6
	mín.	7,9	7,9	5,3	8,8
	máx.	95,4	73,4	71,7	80
metastase nas vísceras		$SUV_{máx.}$	razão $SUV_{máx.}$	$SUV_{médio}$	razão $SUV_{médio}$
	médio	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







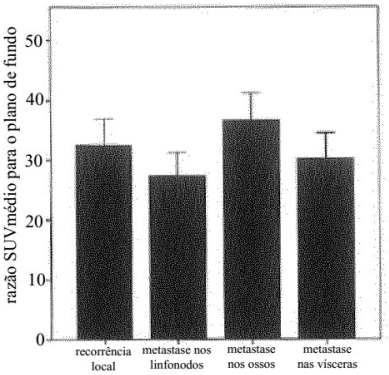


Figura 25

	$SUV_{máx.}$			$SUV_{médio}$		
	médio	mín.	máx.	médio	mín.	máx.
com furosemida	4,8	1,6	32	3,4	1,1	26,6
com furosemida	13,9	0,5	112	10,5	0,3	85,7

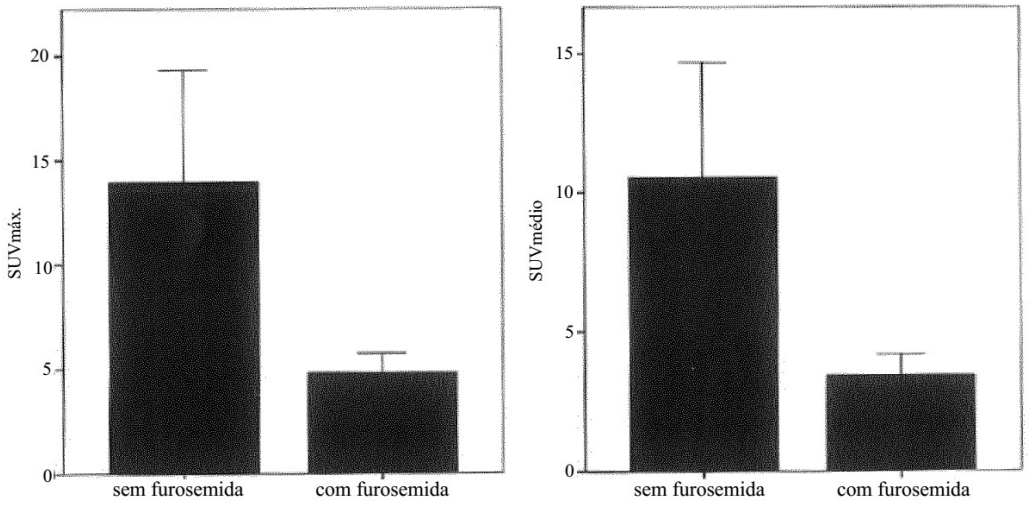


Figura 26

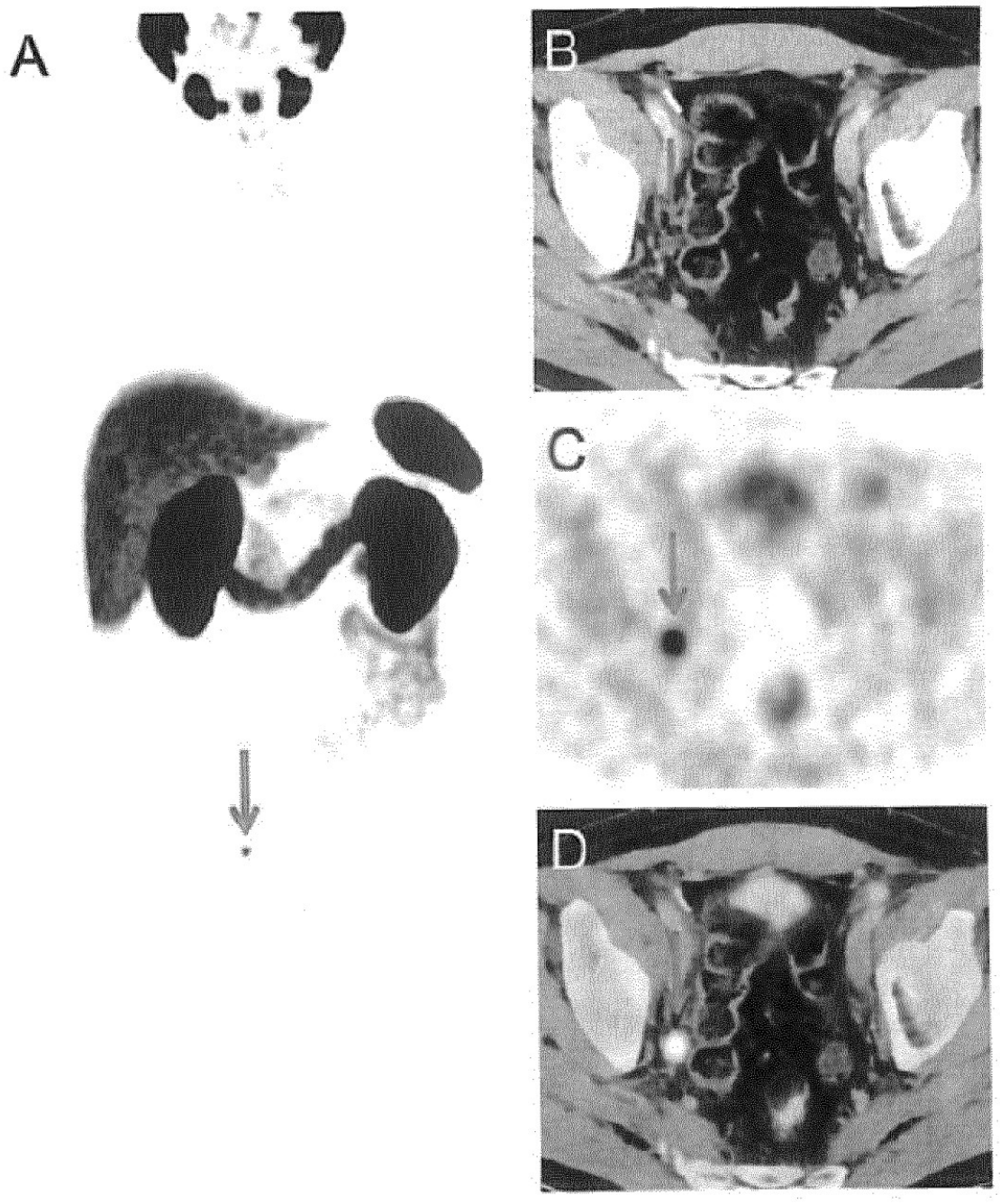


Figura 27

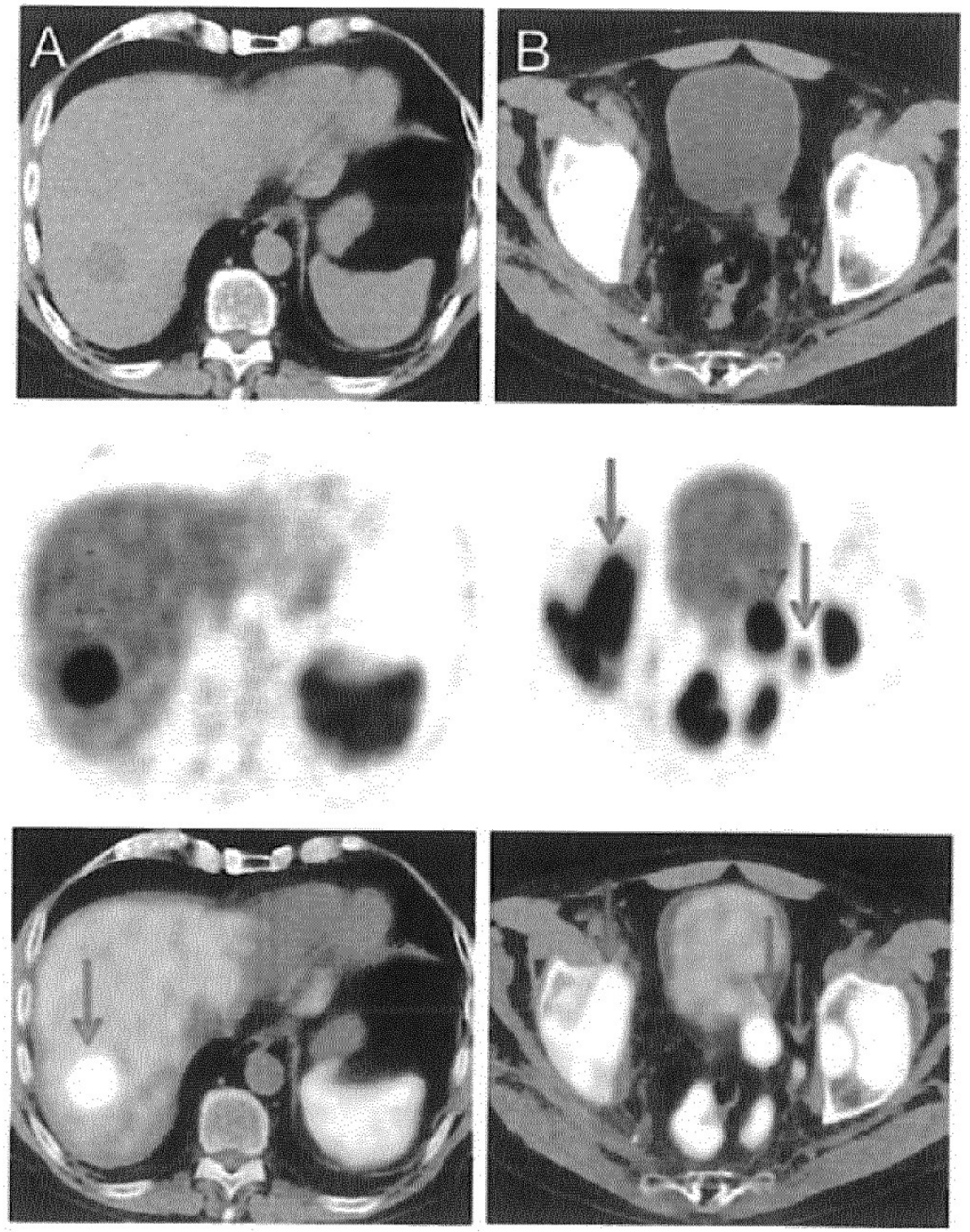


Figura 28

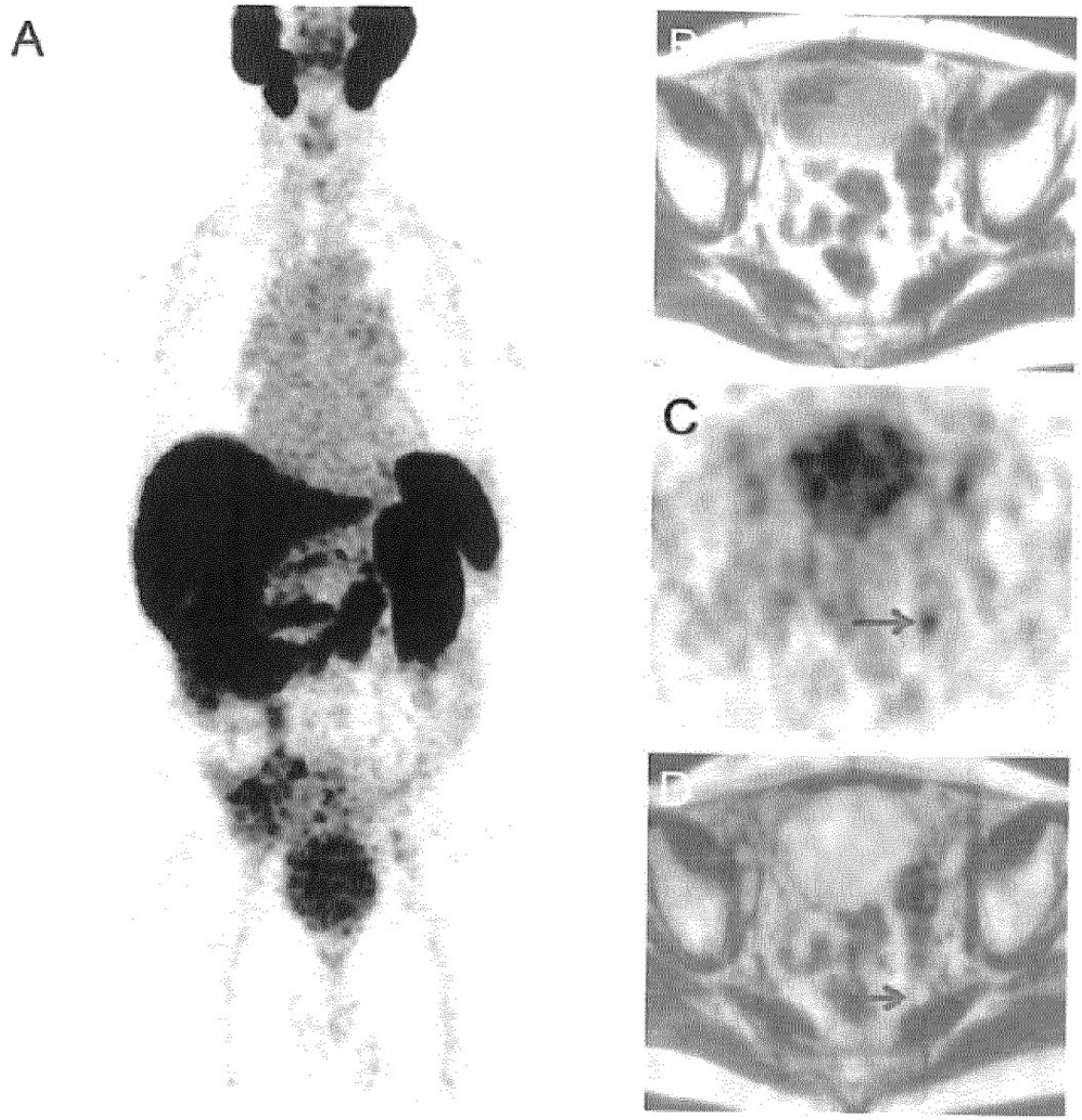
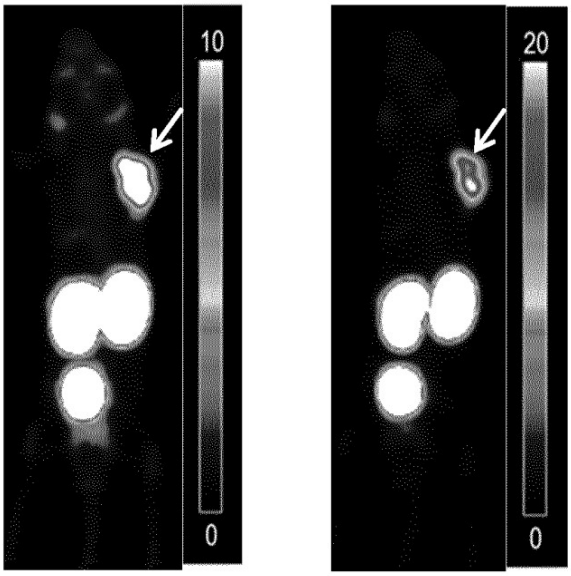


Figura 29



ROI-

	% de ID/mL
tumor	10,9 ± 3,2
glândulas salivares	1,7 ± 0,1
músculo	0,41 ± 0,09
rim	53 ± 5,9
coração	1,2 ± 0,12
fígado	0,96 ± 0,03

Figura 30

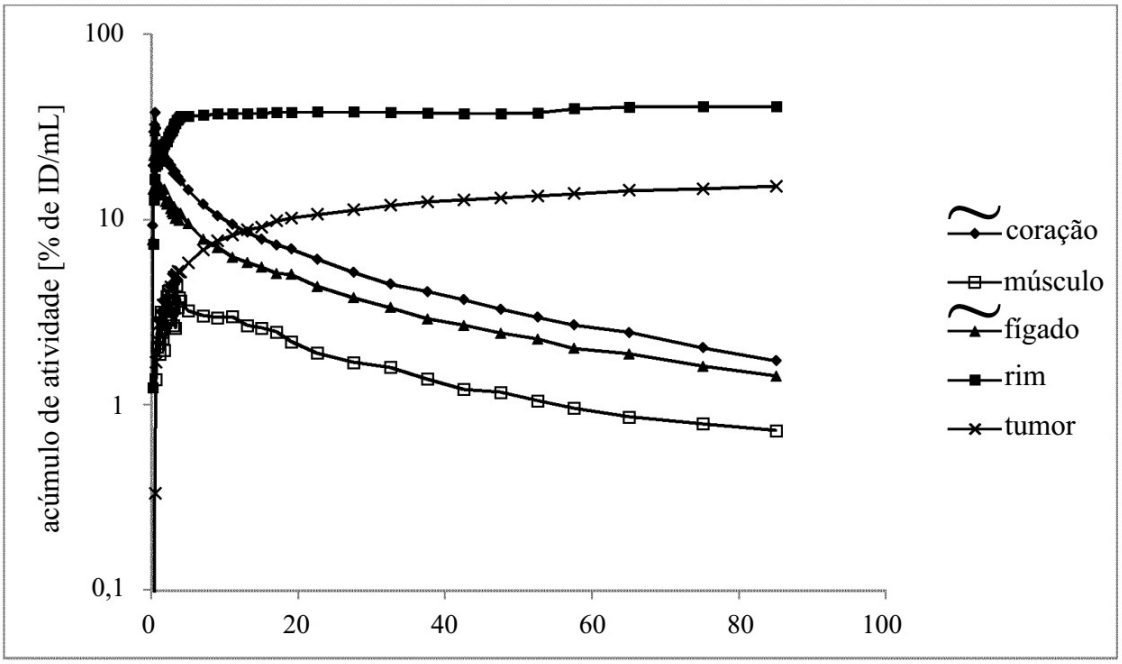
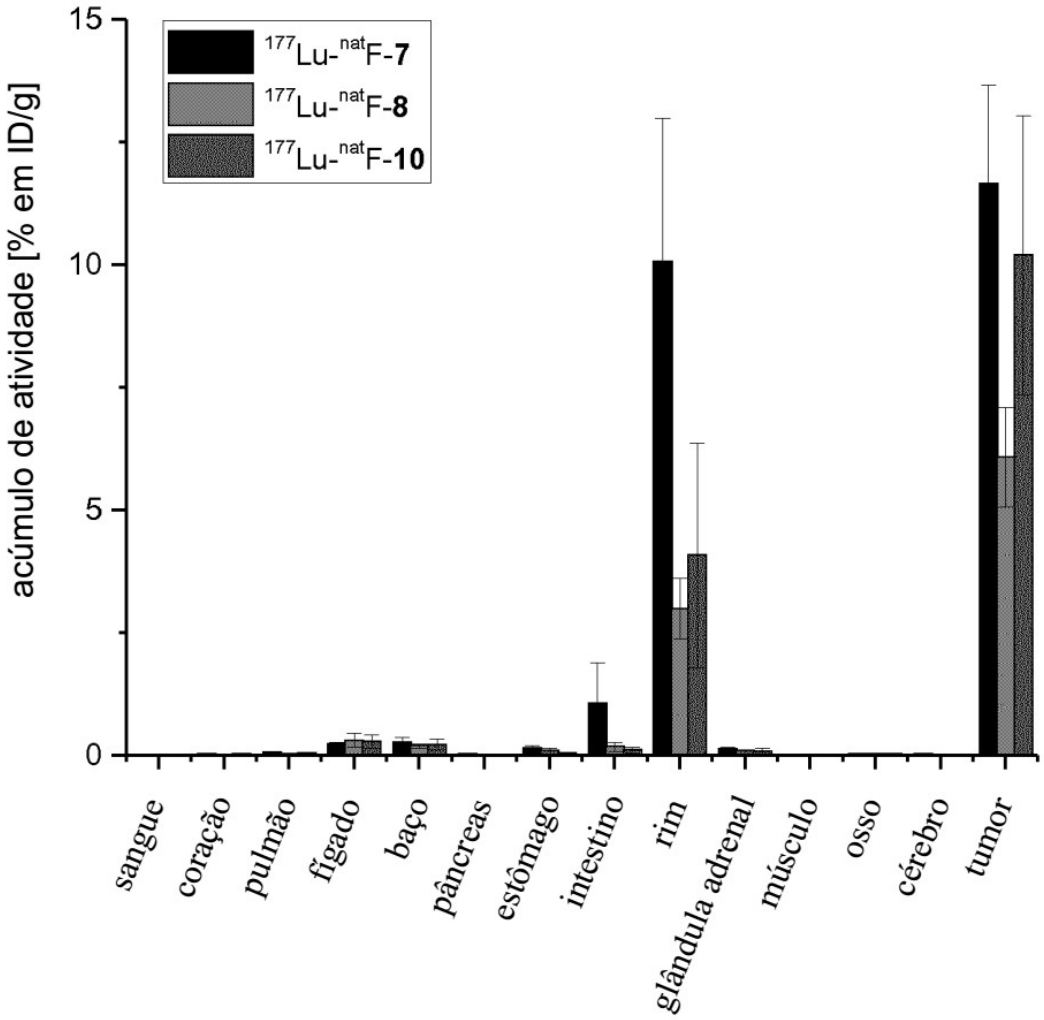
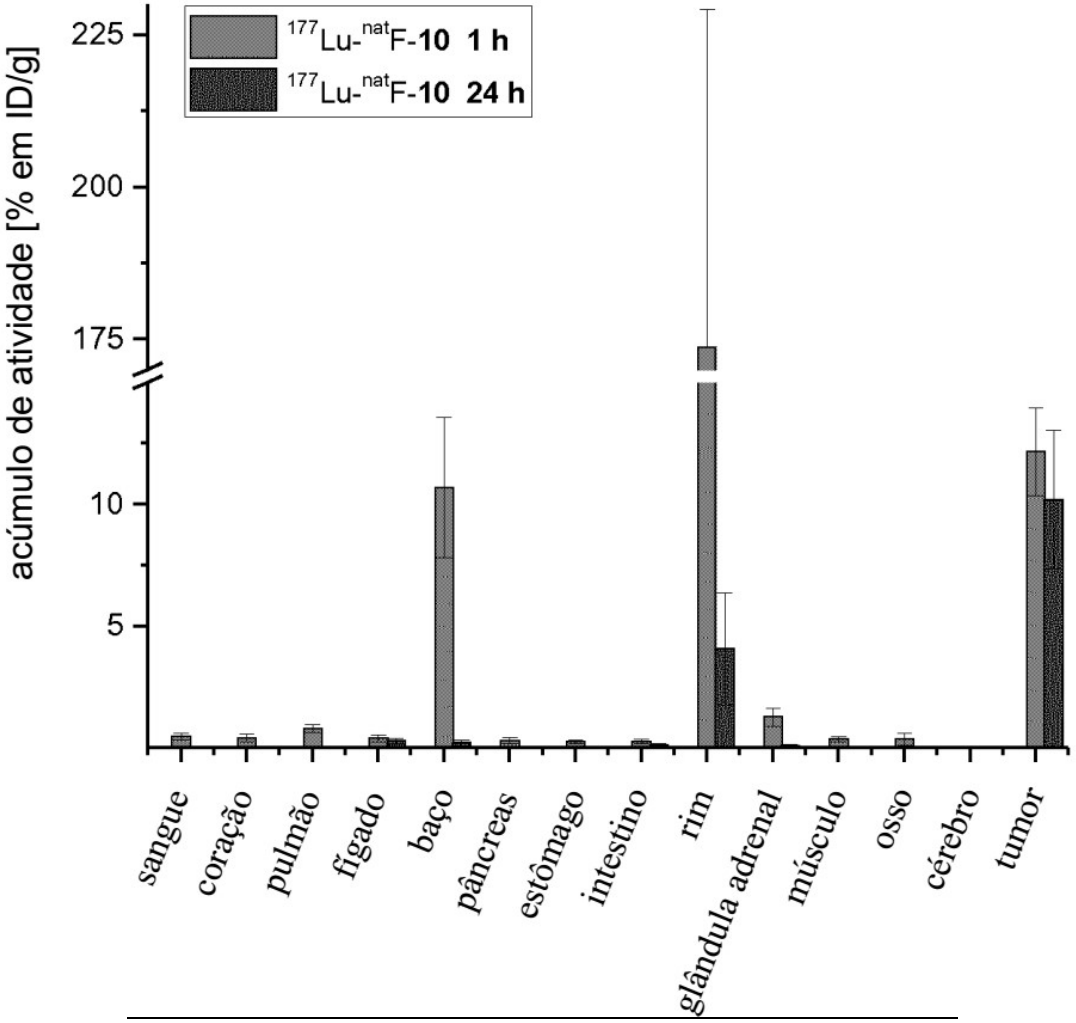

100
10
1
0,1
acúmulo de atividade [% de ID/mL]
0
20
40
60
80
100
coração
músculo
fígado
rim
tumor

Figura 31



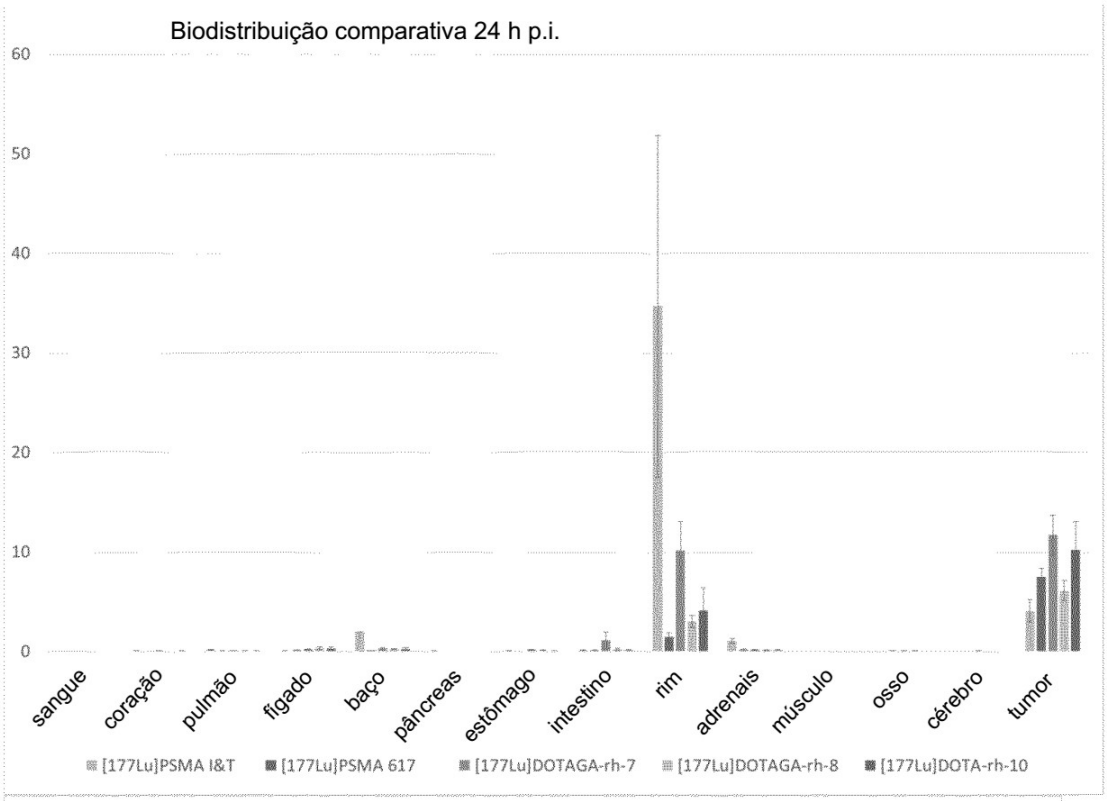
	^{177}Lu-rh-7	^{177}Lu-rh-8	^{177}Lu-rh-10
sangue	0,006 ± 0,001	0,002 ± 0,0004	0,004 ± 0,001
coração	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,007	0,03 ± 0,007
pulmão	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,007
fígado	0,23 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,007
baço	0,23 ± 0,03	0,31 ± 0,14	0,28 ± 0,13
pâncreas	0,02 ± 0,007	0,02 ± 0,005	0,02 ± 0,001
estômago	0,15 ± 0,05	0,11 ± 0,04	0,04 ± 0,001
intestino	1,1 ± 0,82	0,18 ± 0,09	0,11 ± 0,06
rins	10,1 ± 2,9	3,0 ± 0,62	4,1 ± 2,3
adrenais	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
osso	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,007	0,02 ± 0,01
cérebro	0,03 ± 0,02	0,009 ± 0,002	0,01 ± 0,003
tumor	11,7 ± 2,0	6,08 ± 1,01	10,2 ± 2,8

Figura 32



	1 h	24 h
sangue	0,48 ± 0,15	0,004 ± 0,001
coração	0,42 ± 0,15	0,03 ± 0,007
pulmão	0,80 ± 0,16	0,05 ± 0,007
fígado	0,40 ± 0,13	0,28 ± 0,13
baço	10,7 ± 2,9	0,22 ± 0,11
pâncreas	0,31 ± 0,12	0,02 ± 0,001
estômago	0,26 ± 0,08	0,04 ± 0,008
intestino	0,28 ± 0,10	0,11 ± 0,06
rins	173 ± 55,5	4,1 ± 2,3
adrenais	1,3 ± 0,37	0,09 ± 0,06
músculo	0,36 ± 0,10	0,01 ± 0,003
osso	0,37 ± 0,24	0,02 ± 0,01
cérebro	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,003
tumor	12,2 ± 1,8	10,2 ± 2,8

Figura 33


Biodistribuição comparativa 24 h p.i.
60
50
40
30
20
10
0
sangue
coração
pulmão
figado
baço
pâncreas
estômago
intestino
rim
adrenais
músculo
osso
cérebro
tumor
[177Lu]PSMA I&T
[177Lu]PSMA 617
[177Lu]DOTAGA-rh-7
[177Lu]DOTAGA-rh-8
[177Lu]DOTA-rh-10

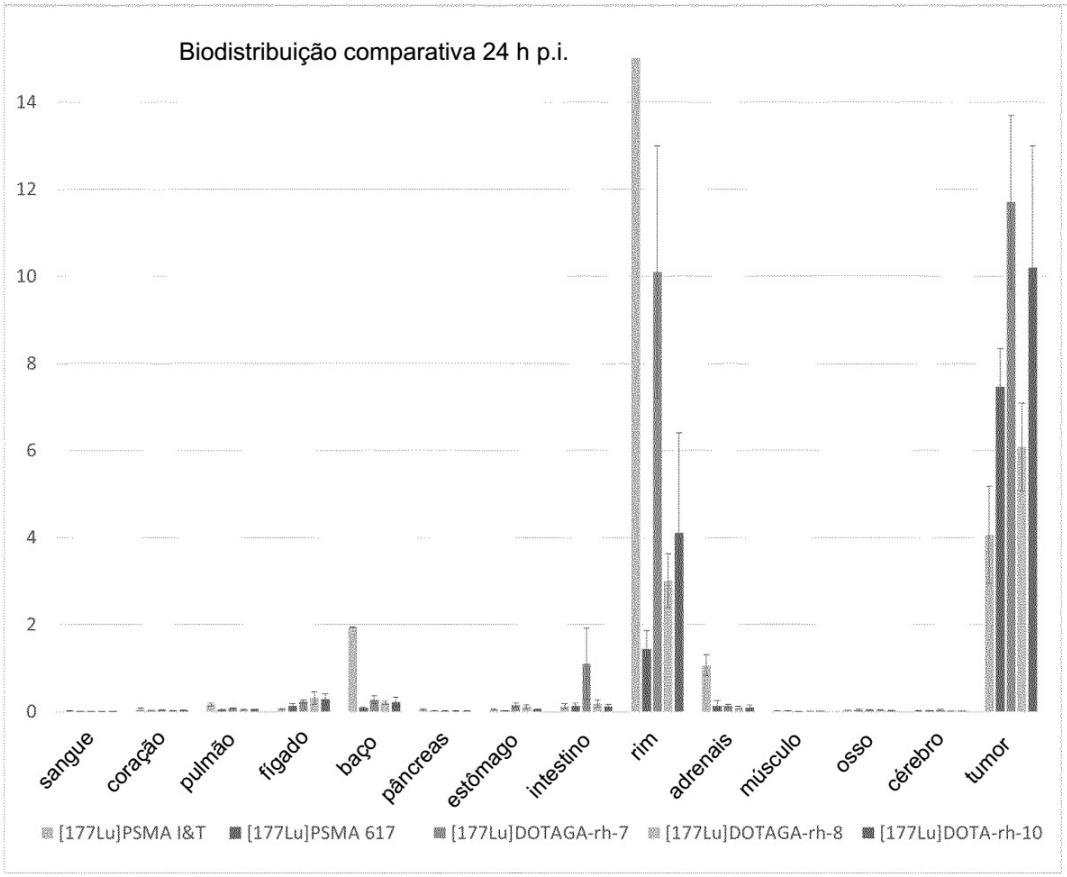
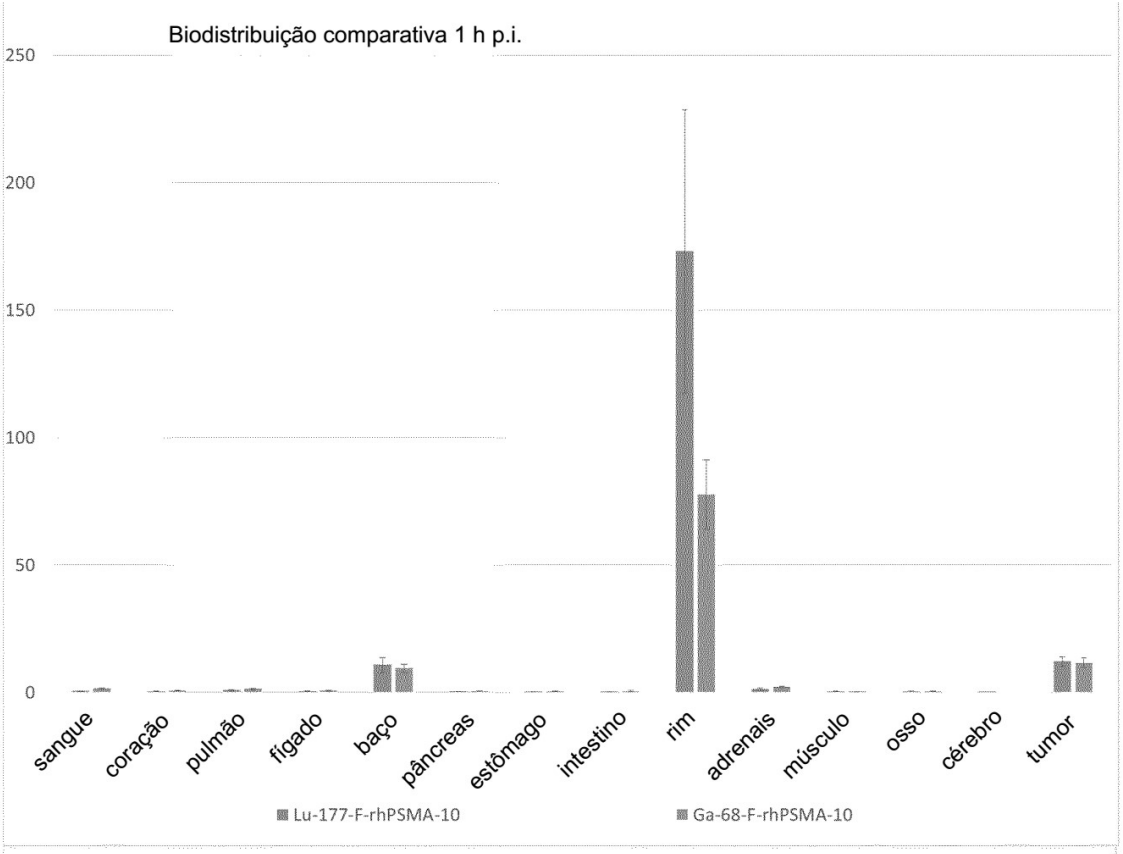
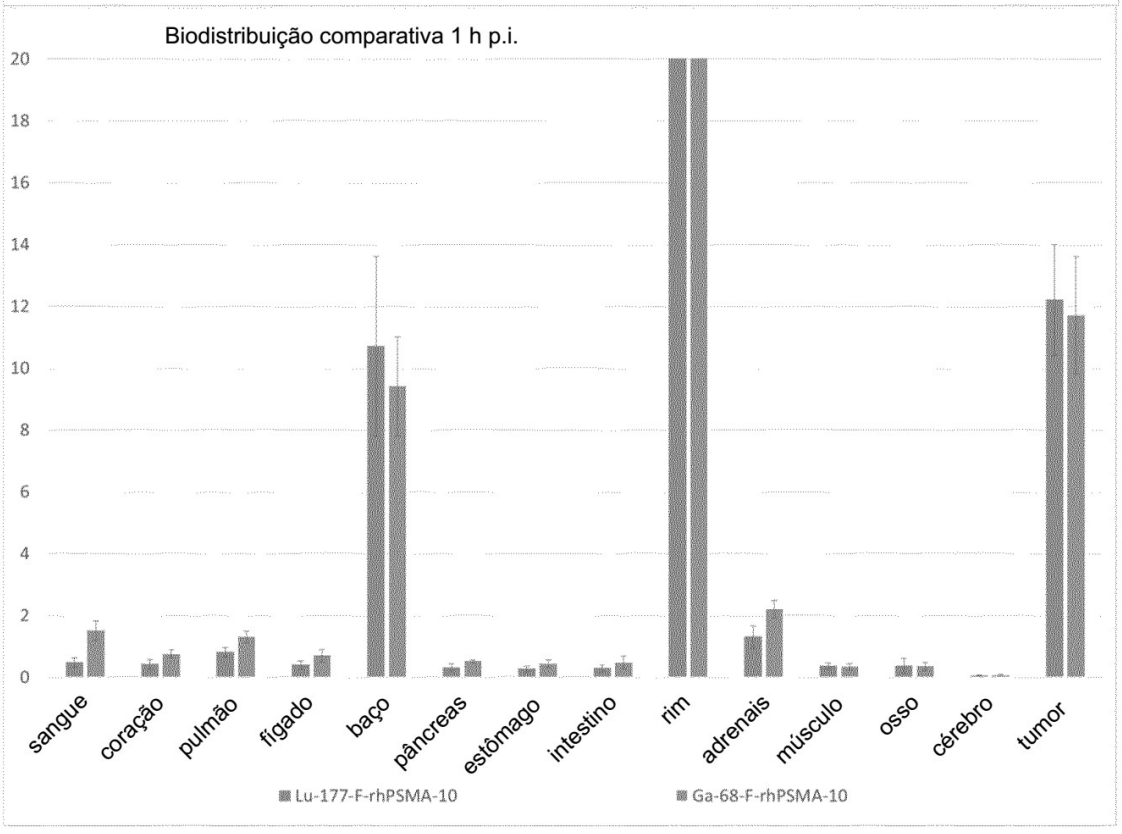

Biodistribuição comparativa 24 h p.i.
14
12
10
8
6
4
2
0
sangue
coração
pulmão
figado
baço
pâncreas
estômago
intestino
rim
adrenais
músculo
osso
cérebro
tumor
[177Lu]PSMA I&T
[177Lu]PSMA 617
[177Lu]DOTAGA-rh-7
[177Lu]DOTAGA-rh-8
[177Lu]DOTA-rh-10

Figura 34


Biodistribuição comparativa 1 h p.i.
250
200
150
100
50
0
sangue
coração
pulmão
fígado
baço
pâncreas
estômago
intestino
rim
adrenais
músculo
osso
cérebro
tumor
Lu-177-F-rhPSMA-10
Ga-68-F-rhPSMA-10


Biodistribuição comparativa 1 h p.i.
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
sangue
coração
pulmão
fígado
baço
pâncreas
estômago
intestino
rim
adrenais
músculo
osso
cérebro
tumor
Lu-177-F-rhPSMA-10
Ga-68-F-rhPSMA-10

RESUMO

"RADIOTRAÇADOR E COMPOSTOS RADIOTERAPÊUTICOS BIMODAIS"

A presente invenção refere-se a um conjugado ligante-SIFA-quelante, o qual compreende, dentro de uma única molécula, três grupamentos distintos: (a) um ou mais ligantes que são capazes de ligar-se a uma molécula alvo relevante para uma doença, (b) um grupamento aceitante de fluoreto de silício (SIFA) que compreende uma ligação covalente entre um átomo de silício e um átomo de flúor, e (c) um ou mais grupos quelantes, contendo opcionalmente um cátion radioativo ou não radioativo quelado.