

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 634 894**

51 Int. Cl.:

C07D 211/34	(2006.01)	C07D 213/61	(2006.01)
A61K 31/33	(2006.01)	C07D 213/74	(2006.01)
A61K 31/44	(2006.01)	A61K 51/04	(2006.01)
A61P 9/10	(2006.01)	C07C 275/16	(2006.01)
A61P 9/00	(2006.01)	C07F 7/22	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)	C07C 275/18	(2006.01)
C07D 213/82	(2006.01)		
C07C 275/00	(2006.01)		
A61K 51/00	(2006.01)		
A61K 9/127	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.07.2009 PCT/US2009/052456**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2010 WO10014933**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.07.2009 E 09803670 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.05.2017 EP 2318366**

54 Título: **Agentes de unión a PSMA y usos de los mismos**

30 Prioridad:

01.08.2008 US 85462 P
06.11.2008 US 111791 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.09.2017

73 Titular/es:

THE JOHNS HOPKINS UNIVERSITY (100.0%)
3400 N. Charles Street
Baltimore MD 21218, US

72 Inventor/es:

POMPER, MARTIN GILBERT;
MEASE, RONNIE CHARLES y
CHEN, YING

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 634 894 T3

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

DESCRIPCIÓN

Agentes de unión a PSMA y usos de los mismos

Antecedentes**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere de manera general a compuestos de unión a antígeno de membrana específico de próstata (PSMA, del inglés, *prostate specific membrane antigen*) marcados con radioisótopo, a precursores químicos de compuestos de unión a PSMA marcados con radioisótopo y a procedimientos de obtención de imágenes usando los compuestos marcados con radioisótopo.

Antecedentes

- 10 El cáncer de próstata (CaP) es la segunda causa que lleva a la muerte asociada con cáncer en hombres (1). Solo la mitad de los tumores debidos a CaP están clínicamente localizados en el momento del diagnóstico y la mitad de los tumores representan una diseminación extracapsular. La localización de esta diseminación así como la determinación de la carga corporal total del CaP tienen implicaciones importantes para la terapia, en particular, cuando aparecen disponibles nuevas terapias de combinación y focales. También se necesitan de manera crítica
15 agentes dirigidos que pueden proporcionar una lectura sobre la biología del tumor, con la capacidad de predecir qué tumores permanecerán latentes y cuales se volverán agresivos, con metástasis. El estándar clínico actual para localizar un cáncer (incluyendo CaP) está cambiando de las técnicas anatómicas tales como la obtención de imágenes por tomografía computarizada (TC) y resonancia magnética (RM) a procedimientos más relevantes desde un punto de vista fisiológico que emplean la obtención de imágenes moleculares, tales como espectroscopía por RM,
20 tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT, del inglés *single photon emission computed tomography*) la tomografía por emisión de positrones (PET, del inglés *positron emission tomography*) (2). Tales procedimientos novedosos que utilizan la obtención de imágenes moleculares pueden proporcionar la lectura biológica necesaria para el entendimiento de la fisiología del tumor, permitiendo un pronóstico más preciso y un control terapéutico. La obtención de imágenes moleculares puede proporcionar un modo no solo de detectar tumores
25 *in vivo*, sino también de proporcionar información referente a la biología de la lesión, si se usa un agente específico del mecanismo. Por ejemplo, se puede usar [¹⁸F]FDHT para estudiar el estado del receptor de andrógeno de tumores (3).

- A diferencia de otros muchos cánceres, el CaP es particularmente difícil de detectar usando los trazadores existentes de obtención de imágenes moleculares. Existen varios motivos para esto, incluyendo el crecimiento
30 relativamente lento y la tasa metabólica del CaP en comparación con otras neoplasias, así como el pequeño tamaño del órgano y su proximidad a la vejiga urinaria, en la que finalmente se excretan la mayoría de los radiofármacos.

- Debido al metabolismo relativamente bajo del CaP, la PET con [¹⁸F]fluorodesoxiglucosa (FDG-PET) ha resultado ser ineficaz para la obtención de imágenes de diagnóstico para esta enfermedad. Están apareciendo otros
35 radiofármacos experimentales prometedores para la obtención de imágenes del CaP, incluyendo los de la serie de colina (4)(5)(6), acetatos radiomarcados (7), ácido anti-1-amino-3-[¹⁸F]fluoroci-clobutil-1-carboxílico (anti[¹⁸F]F-FACBC) (8)(9), 1-(2-desoxi-2-[¹⁸F]fluoro-L-arabinofuranosil)-5-metiluracil ([¹⁸F]FMAU) (10) y [¹⁸F]fluorodihidrotestosterona ([¹⁸F]FDHT) (3). Cada uno tiene sus ventajas y sus inconvenientes, sin que exista un único agente ideal, es decir, fácil de sintetizar, poco metabolismo y que demuestre la capacidad de captación específica del tumor, en todos los fenotipos del CaP.

- 40 Sobreexpresada en la mayoría de la neovascularización tumoral sólida (11) así como en el cáncer de próstata, el antígeno de membrana específico de próstata (PSMA) se está convirtiendo en una diana para la obtención de imágenes de cáncer y la terapia (12)(13). Los agentes basados en PSMA pueden documentar la presencia de este marcador, que se reconoce cada vez más como un importante pronóstico determinado en CaP (14). También es la diana para una variedad de nuevas terapias de CaP (15). ProstaScint™ es un anticuerpo monoclonal marcado con
45 ¹¹¹In frente a PSMA que está disponible clínicamente para la obtención de imágenes de CaP. ProstaScint™ y las variedades radiomarcadas de este anticuerpo suponen largos tiempos en circulación y una diana pobre frente al contraste con tejidos que no son diana, limitando la utilidad de estos agentes (16)(17)(18).

- El documento WO 2008/058192 A2 desvela heterodímeros de ácido glutámico que tienen propiedades de diagnóstico y terapéuticas tales como el tratamiento y el manejo del cáncer de próstata y otras enfermedades
50 relacionadas con la inhibición de la NAALADasa, en los que se pueden incorporar radiomarcadores.

Chen Y. y col. (Radiohalogenated Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)-Based Ureas as Imaging Agents for Prostate Cancer, J. Med. Chem. 2008, vol. 51, 7933 - 7943) desvela el desarrollo de nuevos agentes de obtención de imágenes para PSMA mediante la utilización de Lys-C(O)-Glu para permitir la incorporación de radiomarcadores para tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT) y la tomografía por emisión de positrones (PET).

- 55 Maresca K. P. y col. (A Series of Halogenated Heterodimeric Inhibitors of Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) as Radiolabeled Probes for Targeting Prostate Cancer, J. Med. Chem. 2009, vol. 52, 347 - 357) desvelan el

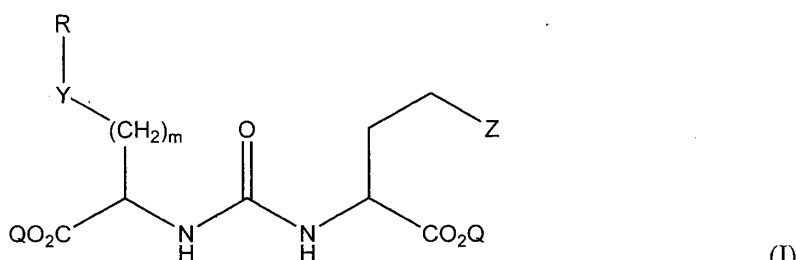
diseño y la síntesis de una serie de inhibidores heterodiméricos de glutamato - urea de PSMA.

El documento WO 2006/093991 A1 desvela compuestos que consisten en un ligando de PSMA, un grupo de unión y dos restos adicionales que juntos comprenden un fármaco o un agente de marcaje.

Sumario de la invención

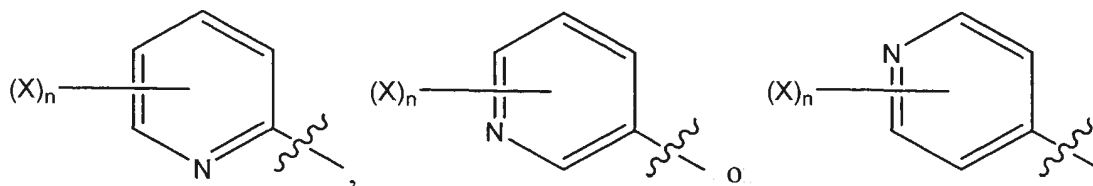
5 La presente invención satisface la necesidad a largo plazo e insatisfecha de nuevos compuestos específicos de tejidos para la obtención de imágenes de cáncer de próstata y angiogénesis. La presente invención, en particular, proporciona agentes de obtención de imágenes que difieren de la técnica anterior en modificaciones que no eran conocidas o sugeridas previamente. Además, la invención proporciona agentes de obtención de imágenes que ofrecen mejor contraste entre los tejidos diana y los tejidos que no son diana.

10 La invención se refiere a compuestos que tienen la estructura (I) que se muestra a continuación.



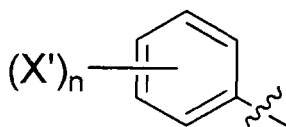
en la que Z es tetrazol o CO₂Q; cada Q se selecciona independientemente entre hidrógeno o un grupo protector.

En la Fórmula I, m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, o 6; R es un anillo de piridina con la estructura



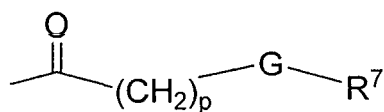
15 en la que X es flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), B(OH)₂, -NHNH₂, -NHN=CHR³, -NH-NH-CH₂R³; n es 1, 2, 3, 4, o 5; Y es O, S, N(R'), C(O), NR'C(O), C(O)N(R'), OC(O), C(O)O, NR'C(O)NR', NR'C(S)NR', NR'S(O)₂, S(CH₂)_p, NR'(CH₂)_p, O(CH₂)_p, OC(O)CHR⁸NHC(O), NHC(O)CHR⁸NHC(O), o un enlace covalente; en los que p es 1, 2, o 3, R' es H o alquilo C₁-C₆, y R⁸ es alquilo, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido; R² es alquilo C₁-C₆; y R³ es alquilo, alqueno, alquino, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂.

25 En algunas realizaciones de la divulgación de Fórmula I, (no de acuerdo con la invención) m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, o 6; Y es O, S, N(R'), C(O), NR'C(O), C(O)N(R'), OC(O), C(O)O, NR'C(O)NR', NR'C(S)NR', NR'S(O)₂, S(CH₂)_p, NR'(CH₂)_p, O(CH₂)_p, OC(O)CHR⁸NHC(O), NHC(O)CHR⁸NHC(O), o un enlace covalente; en los que p es 1, 2, o 3, R' es H o alquilo C₁-C₆, y R⁸ es alquilo, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido; R es



30 en la que X' se selecciona entre el grupo que consiste en NHNH₂, -NHN=CHR³ y -NHNH-CH₂R³; en los que R³ es alquilo, alqueno, alquino, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²) o B(OH)₂; y n es 1, 2, 3, 4, o 5.

En otras realizaciones de la divulgación de Fórmula I, (no de acuerdo con la invención) m es 4, Y es NR', y R es



5 en la que G es O, NR' o un enlace covalente; R' es H o alquilo C₁-C₆; p es 1, 2, 3, o 4, y R⁷ se selecciona entre el grupo que consiste en NH₂, N=CHR³, NH-CH₂R³, en los que R³ es alquilo, alqueno, alquino, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂.

Algunos compuestos de la presente invención interactúan con el antígeno de membrana específico de próstata (PSMA). Como resultado, cuando los compuestos comprenden un radioisótopo, pueden ser adecuados como agentes de obtención de imágenes, agentes de diagnóstico, y/o agentes terapéuticos.

10 En muchos casos, el radioisótopo usado en el compuesto es de vida corta. Por lo tanto, los compuestos marcados con radioisótopos se preparan inmediatamente o poco antes de su uso, o solo en cantidad suficiente para su administración. Por este motivo, la invención también incluye precursores de compuestos marcados con radioisótopos, que pueden convertirse químicamente en los compuestos marcados con radioisótopos de la invención.

Breve descripción de los dibujos

15 La **Figura 1** muestra una superposición de las mejores posiciones para **3** (no de acuerdo con la invención), **6** (no de acuerdo con la invención) y **8** con el ligando del cristal, es decir, **3** se cocrystaliza con PSMA, en la presencia de molécula de agua en el sitio activo de PSMA (DI de PDB: 3D7H). Esferas oscuras (iones de zinc), esfera clara (ion cloruro).

20 La **Figura 2** muestra una superposición de las mejores posiciones (**3** (no de acuerdo con la invención), **6** (no de acuerdo con la invención) y **8**) con el ligando del cristal (**3**) en la ausencia de molécula de agua en el sitio activo de PSMA. Esferas oscuras (iones de zinc), esfera clara (ion cloruro).

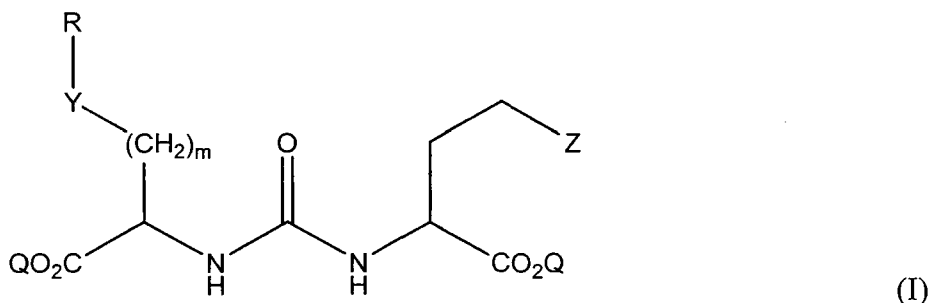
La **Figura 3** muestra la SPECT-CT de [¹²⁵I]**3** (no de acuerdo con la invención) en modelos de tumor de CaP (4 h postinyección). Nótese la absorción solo en el PSMA + tumor PIP. La absorción en los riñones se debe a una amplia medida a la unión específica de [¹²⁵I]**3** a la corteza renal.

25 La **Figura 4** muestra la PET de [¹⁸F]**6** (no de acuerdo con la invención) en modelos de tumor de CaP (~ 100 min postinyección). Nótese la absorción solo en el PSMA + tumor PIP. La absorción en los riñones se debe a una amplia medida a la unión específica de [¹²⁵I]**3** (no de acuerdo con la invención) a la corteza renal. Hay una absorción de tumor más intensa y menor en el hígado con este agente que con [¹²⁵I]**3**.

30 La **Figura 5** muestra la SPECT-CT de [¹²⁵I]**8** en PSMA + tumores LNCaP (4 h postinyección). Nótese la absorción intensa en el tumor. Se obtuvo un resultado similar para PSMA + PIP pero no en tumores PSMA-flu (datos no mostrados). Hay menos absorción renal y hepática con este agente que con los análogos halogenobenzilados, [¹²⁵I]**3** (no de acuerdo con la invención) y [¹⁸F]**6** (no de acuerdo con la invención), respectivamente.

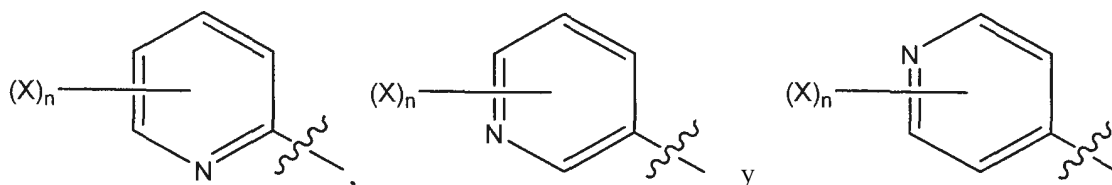
Descripción detallada de realizaciones ejemplares

35 Las realizaciones de la invención incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula I, mostrada a continuación:



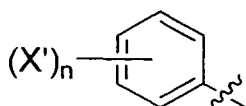
en la que Z es tetrazol o CO₂Q, y cada Q se selecciona independientemente entre hidrógeno o un grupo protector.

En la invención, m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, o 6, R es un anillo de piridina seleccionado entre el grupo que consiste en



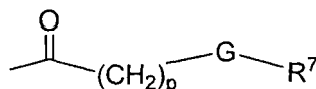
en la que X es flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), B(OH)₂, -NHNH₂, -NHN=CHR³, -NH-NH-CH₂R³; n es 1, 2, 3, 4, o 5; Y es O, S, N(R'), C(O), NR'C(O), C(O)N(R'), OC(O), C(O)O, NR'C(O)NR', NR'C(S)NR', NR'S(O)₂, S(CH₂)_p, NR'(CH₂)_p, O(CH₂)_p, OC(O)CHR⁸NHC(O), NHC(O)CHR⁸NHC(O), o un enlace covalente; p es 1, 2, o 3, R' es H o alquilo C₁-C₆, y R⁸ es alquilo, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido; R² es alquilo C₁-C₆; y R³ es alquilo, alquenoilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otras realizaciones de la divulgación, (no de acuerdo con la invención) m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, o 6; Y es O, S, N(R'), C(O), NR'C(O), C(O)N(R'), OC(O), C(O)O, NR'C(O)NR', NR'C(S)NR', NR'S(O)₂, S(CH₂)_p, NR'(CH₂)_p, O(CH₂)_p, OC(O)CHR⁸NHC(O), NHC(O)CHR⁸NHC(O), o un enlace covalente; p es 1, 2, o 3; R' es H o alquilo C₁-C₆; R⁸ es alquilo, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido; R es



en la que X' se selecciona entre el grupo que consiste en NHNH₂, -NHN=CHR³, y -NHNH-CH₂R³; en los que R³ es alquilo, alquenoilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina; NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂; R² es alquilo C₁-C₆; n es 1, 2, 3, 4, o 5; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otras realizaciones más de la divulgación, (no de acuerdo con la invención) m es 4; Y es NR'; y R es



en la que G es O, NR' o un enlace covalente; R' es H o alquilo C₁-C₆; p es 1, 2, 3, o 4, y R⁷ se selecciona entre el grupo que consiste en NH₂, N=CHR³, NH-CH₂R³, en los que R³ es alquilo, alquenoilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina; NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂; R² es alquilo C₁-C₆; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden tener uno o más centros o planos asimétricos. Los compuestos de la presente invención que tienen un átomo sustituido asimétricamente pueden aislarse en formas racémicas u ópticamente activas. En la técnica es bien sabido cómo preparar formas ópticamente activas, tales como por resolución de formas racémicas (racematos), por síntesis asimétrica, o por síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos. La resolución de racematos puede completarse, por ejemplo, procedimientos convencionales, tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo una columna de HPLC quiral. Muchos isómeros geométricos de olefinas, dobles enlaces C=N, y similares también pueden estar presentes en los compuestos descritos en el presente documento, y todos estos isómeros estables se contemplan en la presente invención. Los isómeros geométricos *cis* y *trans* de los compuestos de la presente invención se describen y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas. Se pretenden todas las formas quirales (enantioméricas y diastereoméricas) y racémicas, así como todas las formas isoméricas geométricas de una estructura, a menos que se indique específicamente la estereoquímica o formas isomérica específica.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden tener uno o más átomos cargados. Por ejemplo, los compuestos pueden ser zwitteriónicos, pero pueden ser neutros en total. Otras realizaciones pueden tener uno o más grupos cargados, dependiendo del pH y otros factores. En estas realizaciones, el compuesto puede asociarse con un contraión adecuado. Es bien conocido en la técnica cómo preparar sales o contraiones de intercambio. En general, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una

cantidad estequiométrica de la base adecuada (tal como Na, Ca, Mg, o hidróxido de K, carbonato, bicarbonato, o similares), o haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido adecuado. Tales reacciones se realizan típicamente en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Los contraiones pueden cambiarse, por ejemplo, mediante técnicas de intercambio iónico, tales como cromatografía de intercambio iónico. Se pretenden todos los zwitteriones, sales y contraiones, a menos que se indique específicamente el contraión o sal. En determinadas realizaciones, la sal o contraión puede ser farmacéuticamente aceptable, para su administración a un sujeto. Más tarde se describen sales farmacéuticamente aceptables.

Cuando cualquier variable aparece más de una vez en cualquier constituyente o fórmula para un compuesto, su definición en cada caso es independiente de su definición en cualquier otro caso. Por lo tanto, por ejemplo, si un grupo se muestra que está sustituido con (X)_n, donde n es 1, 2, 3, 4, o 5, entonces dicho grupo puede estar opcionalmente sustituido con hasta cinco grupos X y cada aparición se selecciona independientemente de la definición de X. También, se permiten combinaciones de sustituyentes y/o variables solo si dichas combinaciones dan como resultado compuestos estables.

Como se ha indicado anteriormente, diversos sustituyentes de las diversas fórmulas están "sustituidos" o "pueden estar sustituidos" siempre que se defina en las reivindicaciones. El término "sustituido", como se usa en el presente documento, significa que uno cualquiera o más hidrógenos en el átomo o grupo designado están reemplazados por un sustituyente, con la condición de que no se exceda la valencia normal del átomo designado, y de que la sustitución de como resultado un compuesto estable. Cuando un sustituyente es oxo (ceto, es decir, =O), entonces están reemplazados 2 hidrógenos en un átomo. La presente invención pretende incluir todos los isótopos (incluyendo radioisótopos) de átomos que aparecen en los presentes compuestos. Cuando los compuestos están sustituidos, estos pueden estar sustituidos así en una o más posiciones disponibles, típicamente 1, 2, 3 o 4 posiciones, con uno o más grupos adecuados, tales como los que se desvelan en el presente documento. Los grupos adecuados que pueden estar presentes en un grupo "sustituido" incluyen, por ejemplo, halógeno; ciano; hidroxilo; nitro; azido; amino; alcanóilo (tal como un grupo alcanóilo C₁-C₆, tal como acilo o similares); carboxamido; grupos alquilo (incluyendo grupos cicloalquilo, que tienen de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5, o 6 átomos de carbono); grupos alqueno y alquino (incluyendo grupos que tienen uno o más enlaces insaturados y de 2 a aproximadamente 8, tal como 2, 3, 4, 5 o 6, átomos de carbono); grupos alcoxi que tienen uno o más enlaces de oxígeno y de 1 a aproximadamente 8, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono; ariloxi, tal como fenoxi; grupos alquiltio incluyendo aquellos que tienen uno o más enlaces de tioéter y de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono; grupos alquilsulfino incluyendo aquellos que tienen uno o más enlaces de sulfino y de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, tal como 1, 2, 3, 4, 5, o 6 átomos de carbono; grupos alquilsulfonilo incluyendo aquellos que tienen uno o más enlaces de sulfonilo y de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, tal como 1, 2, 3, 4, 5, o 6 átomos de carbono; grupos aminoalquilo incluyendo grupos que tienen uno o más átomos de N y de 1 a aproximadamente 8, por ejemplo 1, 2, 3, 4, 5 o 6, átomos de carbono; arilo carbocíclico que tiene 4, 5, 6 o más carbonos y uno o más anillos, (por ejemplo, fenilo, bifenilo, naftilo, o similares, siendo cada anillo aromático sustituido o sin sustituir); arilalquilo que tiene de 1 a 3 anillos separados o condensados y de 6 a aproximadamente 18 átomos de carbono en el anillo, (por ejemplo, bencilo); arilalcoxi que tiene de 1 a 3 anillos separados o condensados y de 6 a aproximadamente 18 átomos de carbono en el anillo (por ejemplo, O-bencilo); o un grupo heterocíclico saturado, insaturado o aromático que tiene de 1 a 3 anillos separados o condensados con de 3 a aproximadamente 8 miembros por anillo y uno o más átomos de N, O o S, (por ejemplo, coumarinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, piridilo, pirazinilo, pirimidilo, furanilo, pirrolilo, tienilo, tiazolilo, triazinilo, oxazolilo, isoxazolilo, imidazolilo, indolilo, benzofuranilo, benzotiazolilo, tetrahidrofuranóilo, tetrahidropiranilo, piperidinilo, morfolinilo, piperazinilo, y pirrolidinilo). Tales grupos heterocíclicos pueden estar sustituidos adicionalmente, por ejemplo con hidroxilo, alquilo, alcoxi, halógeno y amino.

Como se usa en el presente documento, "alquilo" pretende incluir grupos de hidrocarburo alifático saturado ramificados, de cadena lineal y cíclicos. Los ejemplos de alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, y *sec*-pentilo. En determinadas realizaciones, los grupos alquilo son grupos alquilo C₁-C₆ o grupos alquilo C₁-C₄. Son grupos alquilo particulares metilo, etilo, propilo, butilo, y 3-pentilo. La expresión "alquilo C₁-C₆" como se usa en el presente documento significa hidrocarburos C₁-C₆ de cadena lineal, ramificados o cíclicos que están completamente saturados e híbridos de los mismos, tales como (cicloalquil)alquilo. Los ejemplos de sustituyentes de alquilo C₁-C₆ incluyen metilo (Me), etilo (Et), propilo (incluyendo *n*-propilo (*n*-Pr, ⁿPr), *iso*-propilo (*i*-Pr, ⁱPr), y ciclopropilo (*c*-Pr, ^cPr)), butilo (incluyendo *n*-butilo (*n*-Bu, ⁿBu), *iso*-butilo (*i*-Bu, ⁱBu), *sec*-butilo (*s*-Bu, ^sBu), *terc*-butilo (*t*-Bu, ^tBu), o ciclobutilo (*c*-Bu, ^cBu)), etc. "Cicloalquilo" pretende incluir grupos de anillo saturado, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo. Los grupos cicloalquilo tendrán típicamente de 3 a aproximadamente 8 miembros de anillo. En el término "(cicloalquil)alquilo", cicloalquilo, y alquilo son como se han definido anteriormente, y el punto de unión está en el grupo alquilo. Este término abarca, pero sin limitación, ciclopropilmetilo, ciclopentilmetilo, y ciclohexilmetilo.

Como se usa en el presente documento, "alqueno" pretende incluir cadenas de hidrocarburo de configuración lineal o ramificada que comprenden uno o más enlaces insaturados carbono-carbono, que pueden aparecer en cualquier punto estable a lo largo de la cadena, tal como etenilo y propenilo. Los grupos alqueno tendrán típicamente de 2 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

Como se usa en el presente documento, "alquinilo" pretende incluir cadenas de hidrocarburo de configuración lineal o ramificada que comprenden uno o más triples enlaces carbono-carbono, que pueden aparecer en cualquier punto estable a lo largo de la cadena, tales como etinilo y propinilo. Los grupos alquinilo tendrán típicamente de 2 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

5 Como se usa en el presente documento, "haloalquilo" pretende incluir grupos de hidrocarburo alifático saturado tanto ramificados como de cadena lineal que tienen el número especificado de átomos de carbono, sustituidos con 1 o más átomos de halógeno. Los ejemplos de haloalquilo incluyen, pero sin limitación, mono-, di-, o tri-fluorometilo, mono-, di-, o tri-clorometilo, mono-, di-, tri-, tetra-, o pentafluoroetilo, y mono-, di-, tri-, tetra-, o penta-cloroetilo, etc. Los grupos haloalquilo típicos tendrán de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

10 Como se usa en el presente documento, "alcoxi" representa un grupo alquilo como se ha definido anteriormente unido a través de un puente de oxígeno. Los ejemplos de alcoxi incluyen, pero sin limitación, metoxi, etoxi, *n*-propoxi, *i*-propoxi, *n*-butoxi, 2-butoxi, *t*-butoxi, *n*-pentoxi, 2-pentoxi, 3-pentoxi, isopentoxi, neopentoxi, *n*-hexoxi, 2-hexoxi, 3-hexoxi, y 3-metilpentoxi. Los grupos alcoxi tienen típicamente de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

15 Como se usa en el presente documento, "haloalcoxi" representa un grupo haloalquilo como se ha definido anteriormente con el número indicado de átomos de carbono unidos a través de un puente de oxígeno. Los grupos haloalcoxi tendrán de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

20 Como se usa en el presente documento, "alquiltio" incluye aquellos grupos que tienen uno o más engarces de tioéter y típicamente de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

25 Como se usa en el presente documento, el término "alquilsulfínico" incluye aquellos grupos que tienen uno o más grupos de engarce de sulfóxido (SO) y típicamente de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

Como se usa en el presente documento, el término "alquilsulfónico" incluye aquellos grupos que tienen uno o más grupos de engarce de sulfonilo (SO₂) y típicamente de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

30 Como se usa en el presente documento, el término "alquilamino" incluye aquellos grupos que tienen uno o más grupos de amina primaria, secundaria y/o terciaria y típicamente de 1 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más típicamente de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

Como se usa en el presente documento, "Halo" o "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo, o yodo; y "contraión" se usa para representar una especie pequeña cargada negativamente, tal como cloruro, bromuro, hidróxido, acetato, sulfato, y similares.

35 Como se usa en el presente documento, "grupo carbocíclico" pretende indicar cualquier grupo estable monocíclico o bicíclico de 3 a 7 miembros o bicíclico o tricíclico de 7 a 13 miembros, cualquiera de los cuales puede ser saturado, parcialmente insaturado, o aromático. Además de los ilustrados en cualquier otra parte en el presente documento, los ejemplos de tales carbociclos incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, adamantilo, ciclooctilo, [3.3.0]bicyclooctanilo, [4.3.0]bicyclononanilo, [4.4.0]bicyclodecanilo, [2.2.2]bicyclooctanilo, fluorenilo, fenilo, naftilo, indanilo, y tetrahidronaftilo.

40 Como se usa en el presente documento, el término "arilo" incluye grupos que contienen de 1 a 3 anillos separados o condensados y de 6 a aproximadamente 18 átomos en el anillo, sin heteroátomos como miembros de anillo. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero sin limitación, fenilo, y naftilo, incluyendo 1-naftilo y 2-naftilo.

45 Como se usa en el presente documento, "grupo heterocíclico" pretende incluir grupos saturados, parcialmente insaturados o insaturados (aromáticos) que tienen de 1 a 3 anillos (posiblemente condensados) con de 3 a aproximadamente 8 miembros por anillo, un anillo conteniendo al menos un átomo seleccionado entre N, O o S. Los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados. El término o "heterocicloalquilo" se usa para referirse a grupos heterocíclicos saturados.

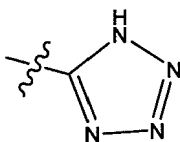
50 Un anillo heterocíclico puede estar unido a su grupo pendiente en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable. Los anillos heterocíclicos descritos en el presente documento pueden estar sustituidos en el carbono o en un átomo de nitrógeno si el compuesto resultante es estable. Un nitrógeno en el heterociclo puede estar opcionalmente cuaternizado.

55 Como se usa en el presente documento, el término "heteroarilo" pretende incluir cualquier sistema de anillos estable monocíclico de 5 a 7 miembros o aromático heterocíclico bicíclico de 10 a 14 miembros que comprende átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en N, O y S. En

realizaciones ejemplares, el número total de átomo de S y O en el heterociclo aromático no es mayor que 2, y típicamente no es mayor que 1.

Los ejemplos de heteroarilo incluyen, pero sin limitación, aquellos ilustrados en cualquier otra parte en el presente documento e incluyen adicionalmente acridinilo, azocinilo, benzoimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, benzoisoxazolilo, benzoisotiazolilo, benzoimidazolinilo, carbazolilo, NH-carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinnolinilo, decahidroquinolinilo, 2H.6HA, 5,2-ditiazinilo, dihidrofuro[2,3-b]tetrahydrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1H-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizínilo, indolilo, 3H-indolilo, isobenzofuranilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo; 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, 2H-pirrolilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 4H-quinolizínilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahydrofuranoilo, tetrahydroisoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiantrenilo, tiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiofenilo, triazinilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,5-triazolilo, 1,3,4-triazolilo, y xantenilo. Los grupos heteroarilo ejemplares incluyen, pero sin limitación, piridinilo, pirimidinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, pirrolidinilo, morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, e imidazolilo.

En determinadas realizaciones, Z es tetrazol o CO₂Q. Cuando Z es tetrazol, el anillo tetrazol está unido a través del átomo de carbono, como se muestra más adelante.



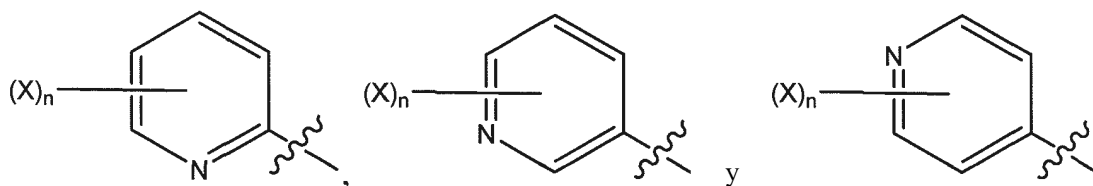
En determinadas realizaciones, Q es un grupo protector. Como se usa en el presente documento, un "grupo protector" es un sustituyente químico que puede retirarse mediante reactivos fácilmente disponibles que no atacan el grupo funcional regenerado u otros grupos funcionales en la molécula. Pueden encontrarse grupos protectores adecuados, por ejemplo en Wutz y col. ("Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, cuarta edición", Wiley-Interscience, 2007). En determinadas realizaciones se usan grupos protectores para la protección del grupo carboxilo, como se describe por Wutz y col. (páginas 533-643). En algunas realizaciones, el grupo protector puede retirarse por tratamiento con ácido. Los ejemplos específicos de grupos protectores incluyen, pero sin limitación, bencilo, p-metoxibencilo (PMB), butilo terciario (^tBu), metoximetilo (MOM), metoxietoximetilo (MEM), metiltiommetilo (MTM), tetrahidropiranilo (THP), tetrahydrofuranoilo (THF), benciloximetilo (BOM), trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES), t-butildimetilsililo (TBDMS), y trifenilmtilo (tritilo, Tr).

En algunas realizaciones, R⁸ es alquilo, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido. En determinadas realizaciones, R⁸ describe la cadena lateral de un α-aminoácido natural o sintético. Los ejemplos específicos de R⁸ incluyen hidrógeno, metilo (CH₃), isopropilo (CH(CH₃)₂), 2,2-dimetiletilo (CH₂CH(CH₃)₂), 2-metilpropilo (CH(CH₃)CH₂CH₃), fenilo, 4-hidroxifenilo, hidroximetilo (CH₂OH), carboximetilo (CH₂CO₂H), tiometilo (CH₂SH), imidazolilmetilo, indolilmetilo, etc.

Determinadas realizaciones incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula I donde Z es CO₂Q. En otras realizaciones, Q es hidrógeno. En algunas realizaciones específicas, Z es CO₂Q y Q es hidrógeno.

Determinadas realizaciones incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula I, donde m es 1, 2, 3, o 4.

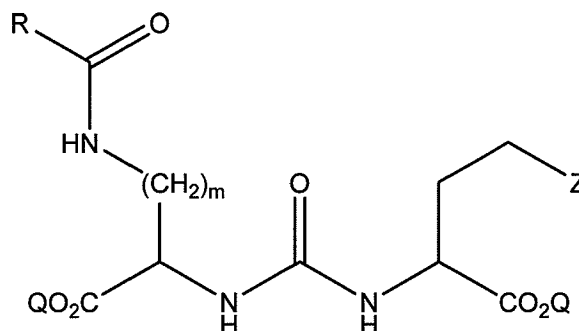
Otras realizaciones incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula I, en la que m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, o 6; R es un anillo de piridina seleccionado entre el grupo que consiste en



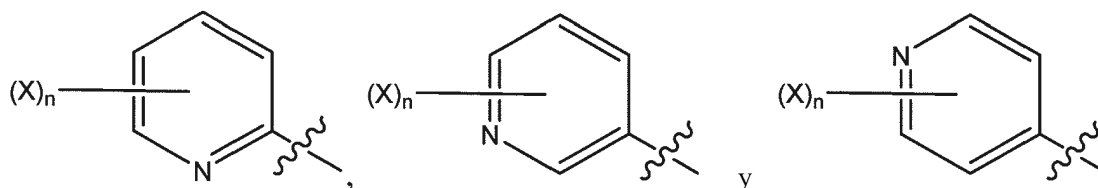
en la que X es flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), B(OH)₂, -NHNH₂, -NHN=CHR³, -NH-NH-CH₂R³. En determinadas realizaciones, n es 1. Cada Q se selecciona independientemente entre hidrógeno o un

5 grupo protector; Z es tetrazol o CO₂Q; Y es O, S, N(R¹), C(O), NR¹C(O), C(O)N(R¹), OC(O), C(O)O, NR¹C(O)NR¹, NR¹C(S)NR¹, NR¹S(O)₂, S(CH₂)_p, NR¹(CH₂)_p, O(CH₂)_p, OC(O)CHR⁸NHC(O), NHC(O)CHR⁸NHC(O), o un enlace covalente; en los que p es 1, 2, o 3, R¹ es H o alquilo C₁-C₆, y R⁸ es alquilo, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido; R² es alquilo C₁-C₆; y R³ es alquilo, alqueno, alquino, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina; NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂. En determinadas realizaciones, R³ es arilo, sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina.

Otras realizaciones incluyen compuestos que tienen la estructura



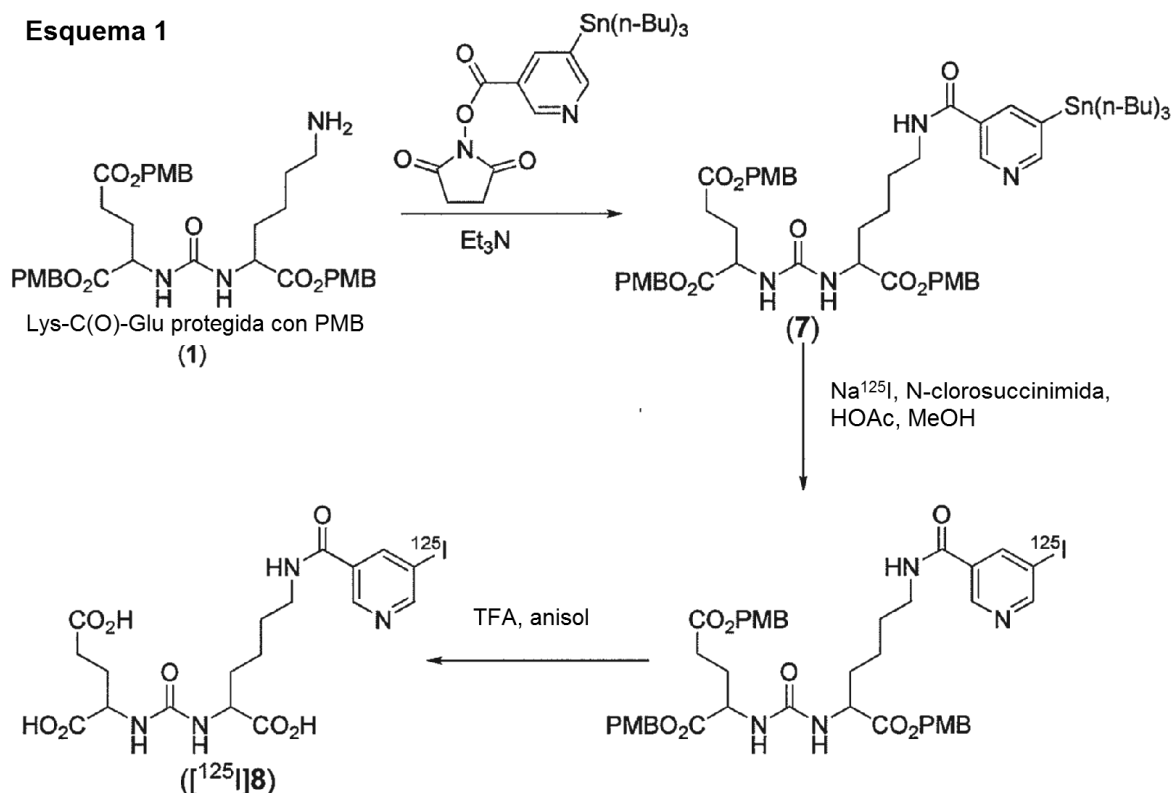
en la que m no es 0. R es un anillo de piridina seleccionado entre el grupo que consiste en



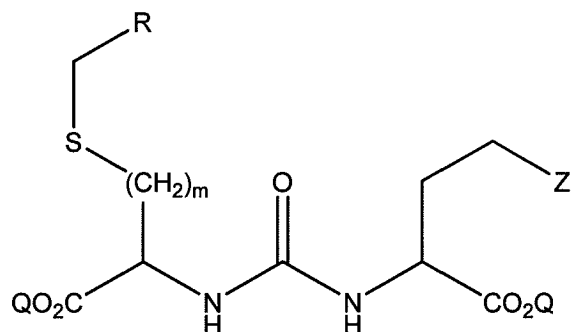
en la que X es flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), B(OH)₂, -NHNH₂, -NHN=CHR³, o -NHNH-CH₂R³. R² es alquilo C₁-C₆; y R³ es alquilo, alqueno, alquino, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina; NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂. En determinadas realizaciones, n es 1. Otras realizaciones específicas incluyen compuestos donde X es flúor, yodo, o un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina. En determinadas realizaciones, R³ es arilo, sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina. Las realizaciones específicas incluyen compuestos que tienen la estructura mostrada anteriormente, donde Z es CO₂Q, Q es hidrógeno, y m es 4.

Pueden prepararse compuestos de acuerdo con esta realización, por ejemplo, a partir de Lys-C(O)-Glu precursora protegida con p-metoxibencilo (PMB) de acuerdo con el Esquema 1 que se muestra más adelante.

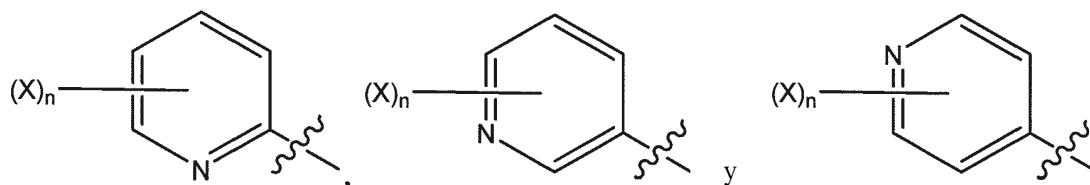
Esquema 1



Otras realizaciones incluyen compuestos que tienen la estructura



en la que m no es 0. R es un anillo de piridina seleccionado entre el grupo que consiste en



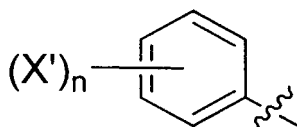
5

en la que X es flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), B(OH)₂, -NHNH₂, -NHN=CHR³, -NH-NH-CH₂R³. R² es alquilo C₁-C₆; y R³ es alquilo, alqueno, alquino, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina; NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂. En determinadas realizaciones, n es 1. Otras realizaciones específicas incluyen compuestos donde X es flúor, yodo, o un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina. En determinadas realizaciones, R³ es arilo, sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina. Las realizaciones específicas incluyen compuestos que tienen la estructura mostrada anteriormente, donde Z es CO₂Q, Q es hidrógeno, y m es 1, 2, o 3.

10

15

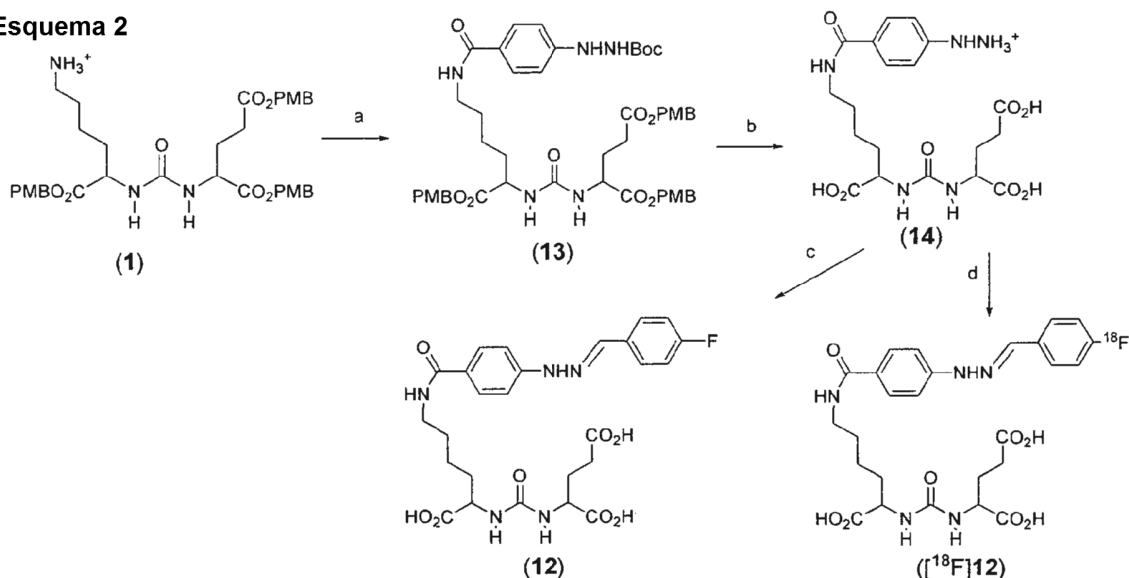
Otras realizaciones de la divulgación (no de acuerdo con la invención) incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula I, en la que R es la siguiente estructura



5 en la que X' se selecciona entre el grupo que consiste en -NHNH₂, -NHN=CHR³, -NHNH-CH₂R³. En tales realizaciones de la divulgación, R³ es alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina; NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), B(OH)₂. R² es alquilo C₁-C₆; y R³ es alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina; NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂. En determinadas realizaciones de la divulgación, R³ es arilo, sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina. Las realizaciones específicas de la divulgación incluyen compuestos donde n es 1.

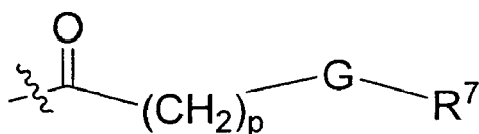
15 Los compuestos de acuerdo con esta realización de la divulgación pueden prepararse, por ejemplo, a partir de precursores de fenilo sustituido con hidrazina, seguido de derivatización con un reactivo de alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo, cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), y B(OH)₂ como se ilustra en el Esquema 2 siguiente.

Esquema 2



20 a. 4-[2-(*tert*-butoxicarbonil)hidrazino]benzoato de succinimidilo, trietilamina, DMF, CH₂Cl₂; b. TFA, CH₂Cl₂; c. 4-fluorobenzaldehído, KH₂PO₄ 50 mM, CH₃CN; d. 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehído, KH₂PO₄ 50 mM.

Otras realizaciones de la divulgación (no de acuerdo con la invención) incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula I, en la que m es 4, Y es NR', y R es

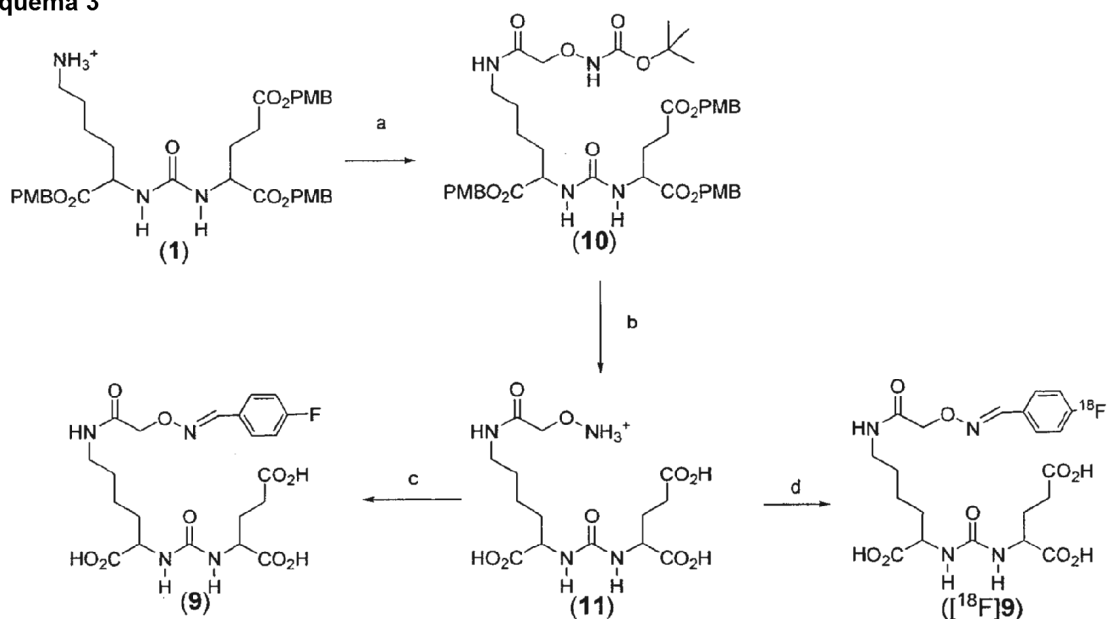


25 en la que G es O, NR' o un enlace covalente, R' es H o alquilo C₁-C₆, y p es 1, 2, 3, o 4. R⁷ puede seleccionarse entre NH₂, N=CHR³, y NH-CH₂R³, en los que R³ es alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo, cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂, donde R² es alquilo C₁-C₆. En determinadas realizaciones de la divulgación, R³ es arilo, sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un

radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina. En determinadas realizaciones de la divulgación, G es O o NR'.

- 5 Los compuestos de acuerdo con esta realización de la divulgación pueden prepararse, por ejemplo, por acilación de Lys-C(O)-Glu protegida con PMB con un agente de acilación que porta una amina libre o protegida, seguido de desprotección de la amina, si es necesario, y derivatización con un reactivo de alquilo, alqueno, alquínilo, arilo, o heteroarilo, cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²)₂, o B(OH)₂, como se ilustra mediante el Esquema 3 mostrado a continuación.

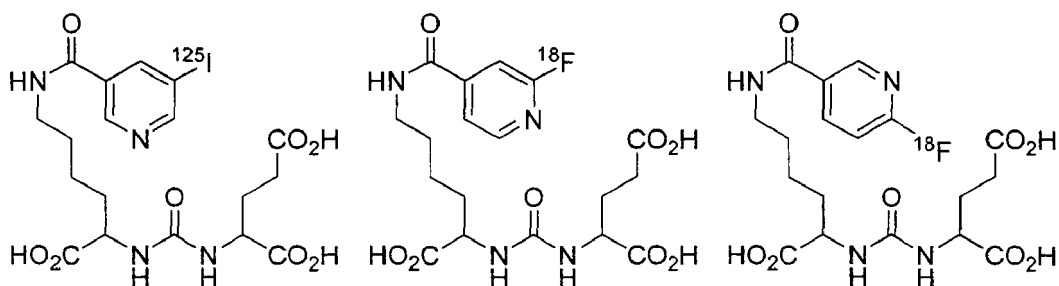
Esquema 3

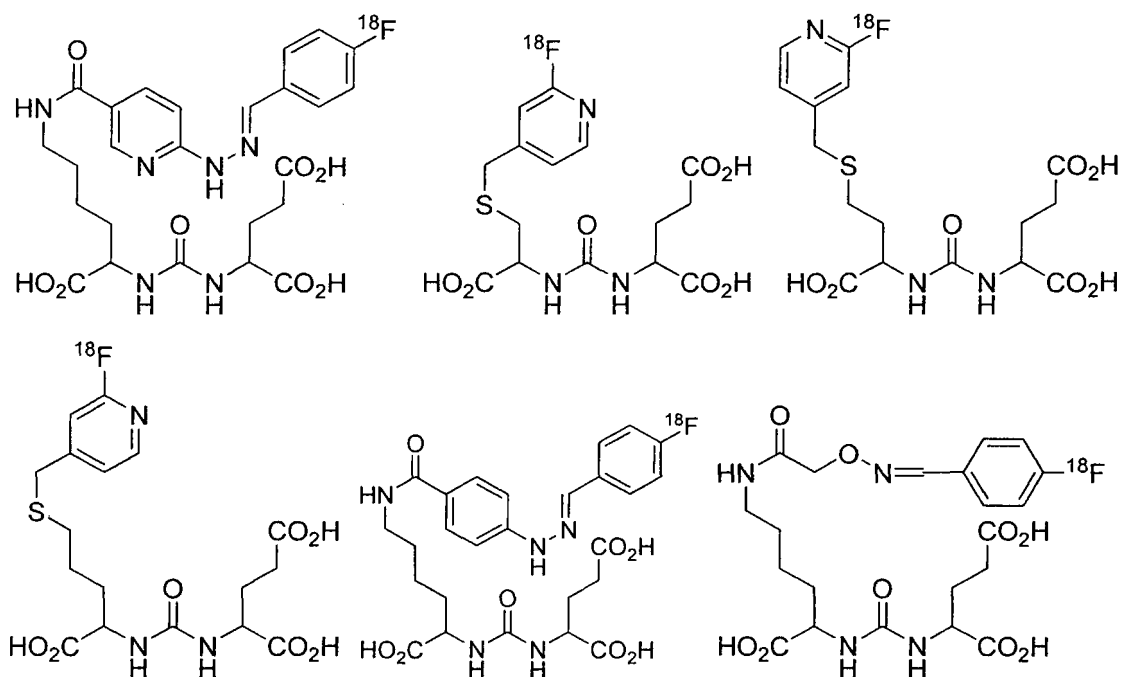


- 10 a. hidroxisuccinimidil éster de *N*-*tert*-butiloxycarbonil-*O*-(carboximetil)hidroxiamina, trietilamina, CH₂Cl₂; b. TFA, anisol; c. *p*-fluorobenzaldehído, trietilamina, metanol; d. *p*-[¹⁸F]fluorobenzaldehído, trietilamina, metanol.

- 15 Otras realizaciones de la invención incluyen compuestos de acuerdo con cualquiera de las realizaciones de la invención descrita en el presente documento, que comprenden un radioisótopo. Los radioisótopos ejemplares específicos incluyen ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹²⁶I, ¹³¹I, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷Br, ⁸⁰Br, ^{80m}Br, ⁸²Br, ⁸³Br y ²¹¹At. Los compuestos que contiene radioisótopo de cualquier realización de la presente invención pueden prepararse con un radiomarcador suficiente para usarse en aplicaciones de formación de imágenes. En otras palabras, los compuestos pueden prepararse con concentraciones de radioisótopo superiores a la abundancia natural, cuando un radioisótopo particular aparece de forma natural.

- 20 Los ejemplos específicos de compuestos de acuerdo con las realizaciones previas de la invención incluyen las estructuras que se muestran a continuación



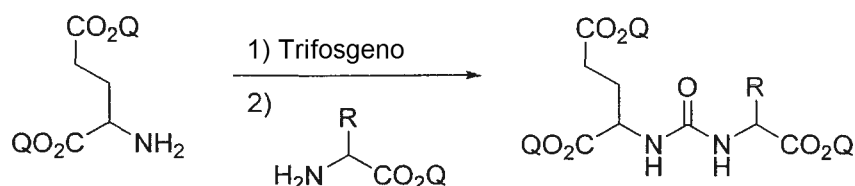


(las dos últimas no son parte de la invención).

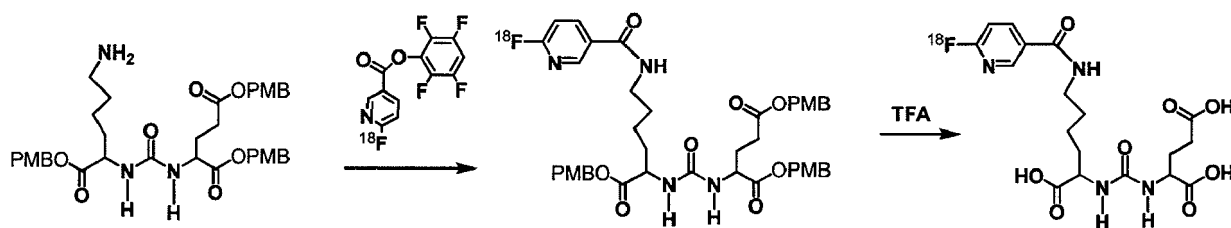
5 Otras realizaciones incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en las realizaciones previas.

Los compuestos de acuerdo con la invención, en particular diversos compuestos radiomarcados, pueden usarse para diagnóstico, formación de imágenes, o fines terapéuticos. Por ejemplo, algunos compuestos, por ejemplo los marcados con ^{125}I y ^{123}I , se diseñan para formación de imágenes SPECT, mientras que algunos compuestos, por ejemplo los marcados con ^{18}F y ^{124}I , se diseñan para formación de imágenes PET, y algunos compuestos marcados radioisotópicamente pueden usarse de un modo terapéutico. En general, la adecuabilidad de un radioisótopo particular para un fin particular es bien comprendida en la técnica. Otras realizaciones ejemplares son compuestos usados como precursores para compuestos radiomarcados, en los que un sustituyente puede intercambiarse directamente por un radioisótopo en una o más etapas. A menos que se describa lo contrario, los términos "convertido", "derivatizado", "intercambiado", o "reaccionado" están destinados a abarcar una o más etapas. Los ejemplos de sustituyentes que pueden intercambiarse por radioisótopos incluyen halógenos, NO_2 , $\text{N}^+(\text{R}^2)_3$, $\text{Sn}(\text{R}^2)_3$, $\text{Si}(\text{R}^2)_3$, $\text{Hg}(\text{R}^2)$, y $\text{B}(\text{OH})_2$. Otros compuestos son precursores que pueden hacerse reaccionar químicamente con un reactivo marcado radioisotópicamente para producir un compuesto marcado radioisotópicamente estable. Los compuestos que portan sustituyentes tales como halógeno, $-\text{NH}_2$, NHNH_2 , $\text{Sn}(\text{R}^2)_3$, y $\text{B}(\text{OH})_2$, por ejemplo, pueden convertirse en compuestos marcados radioisotópicamente mediante reacciones químicas conocidas para los expertos en la materia.

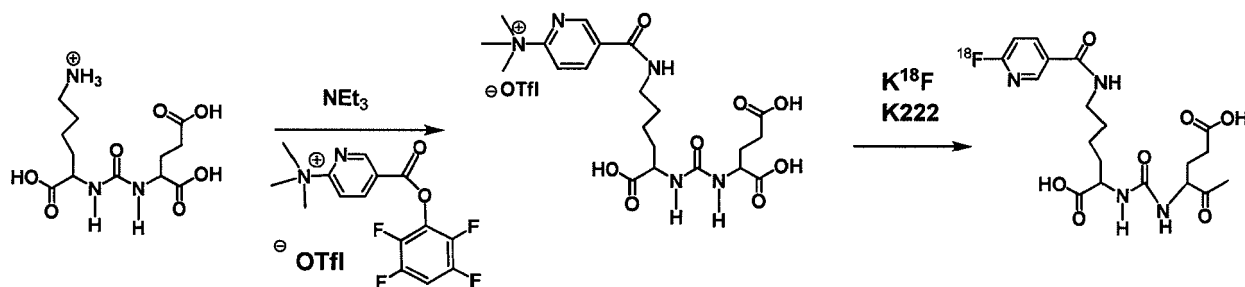
Los compuestos de la presente invención pueden prepararse por procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, las ureas asimétricas usadas como precursores pueden producirse mediante el esquema general que se muestra a continuación, donde R es la cadena lateral de un aminoácido natural o sintético, que porta un grupo que puede derivatizarse adicionalmente. Los ejemplos específicos de aminoácidos incluyen lisina, cisteína, homocisteína, serina, treonina, tirosina, fenilalanina y fenilalanina sustituida. La fenilalanina sustituida tiene la estructura de fenilalanina donde la cadena lateral de fenilo está sustituida con, por ejemplo, nitro, amino o halógeno.



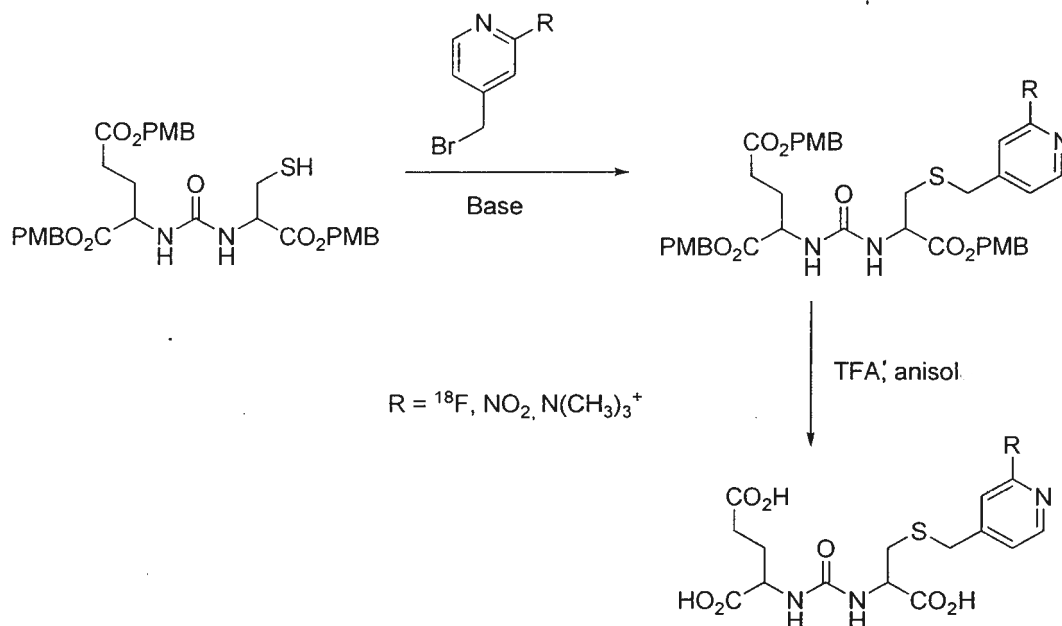
Los precursores protegidos de urea Cys-C(O)-Glu, y Lys-C(O)-Glu (mostrado más adelante), , donde Q es p-metoxibencilo (PMB) se usan para sintetizar compuestos ejemplares. La preparación de Cys-C(O)-Glu precursora se describe, por ejemplo, por Kozikowski y col. (29), mientras que la preparación de Lys-C(O)-Glu se describe, por ejemplo, por Banerjee y col. (19).



De forma análoga, puede prepararse un precursor, que después puede convertirse en un compuesto sustituido con ^{18}F . Por ejemplo, pueden prepararse compuestos de acuerdo con el esquema de más adelante.

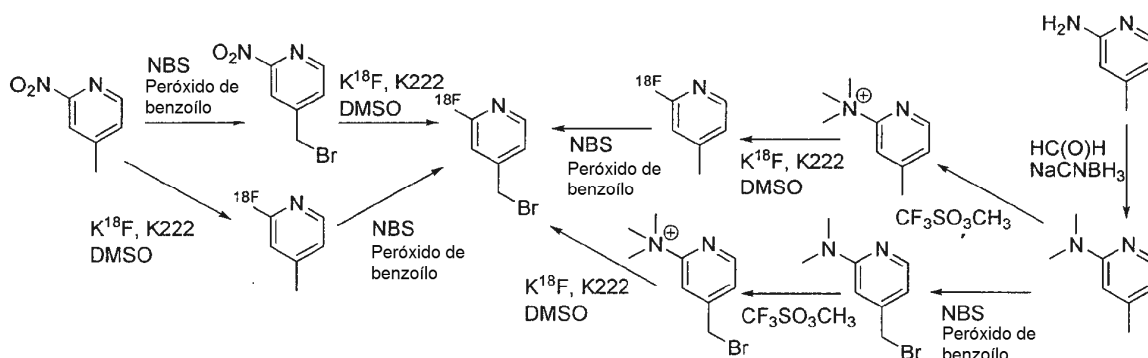


- 5 Pueden producirse otros compuestos a partir de un precursor protegido adecuado, tal como los descritos anteriormente, por reacción con sustituyentes de radioisótopo que portan compuestos de bromometil piridina, o sustituyentes que pueden convertirse en radioisótopos o derivatizarse con compuestos que contienen radioisótopos. Por ejemplo, el esquema siguiente muestra la preparación de un compuesto ejemplar a partir de Cys-C(O)-Glu precursora protegida con PMB.



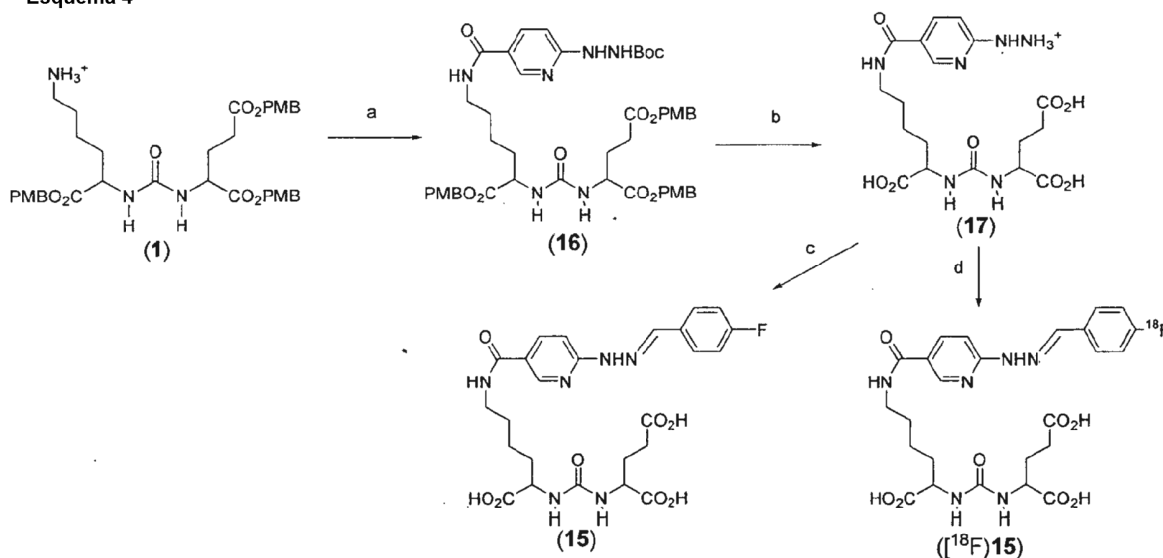
10

Los compuestos de bromometil piridina, tales como bromometil piridina sustituida con ^{18}F , NO_2 o $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$, adecuados para la preparación de compuestos de acuerdo con la presente invención pueden prepararse, por ejemplo, de acuerdo con el esquema que se muestra más adelante.



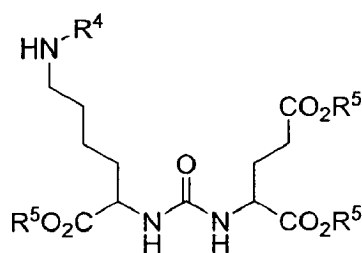
Otros compuestos pueden prepararse, por ejemplo, a partir de precursores de piridina sustituida con hidrazina (-NHNH₂), seguido de derivatización con un reactivo de alquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo, cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), y B(OH)₂. Por ejemplo, un reactivo de aldehído puede hacerse reaccionar con el sustituyente de hidrazina, como se ilustra en el Esquema 4 que se muestra más adelante. La imina resultante también puede reducirse, por ejemplo, mediante cianoborohidruro sódico u otro agente de reducción, para producir un compuesto reducido.

Esquema 4

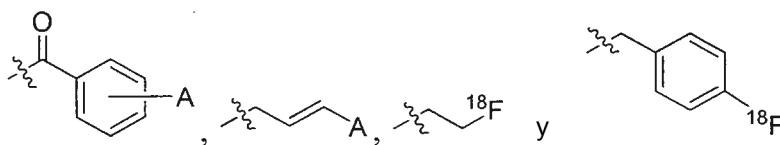


10 a. 6-(*N'*-*tert*-butoxicarbonil-hidrazino)-nicotinato de succinimidilo, trietilamina, CH₂Cl₂; b. TFA, CH₂Cl₂; c. 4-fluorobenzaldehído, KH₂PO₄ 50 mM, CH₃CN; d. 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehído. KH₂PO₄ 50 mM.

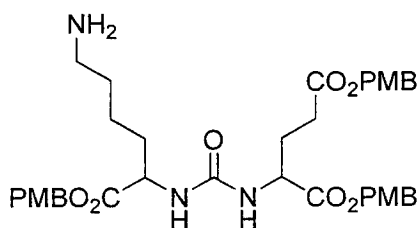
Otras realizaciones de la divulgación (no de acuerdo con la invención) incluyen compuestos que tienen la fórmula



en la que R⁵ es hidrógeno o *p*-metoxibencilo; R⁴ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno,

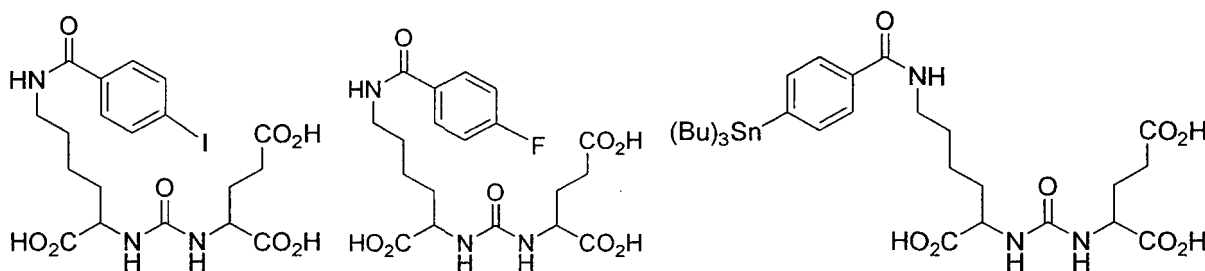


5 en los que A es flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, $\text{Sn}(\text{R}^2)_3$, $\text{Si}(\text{R}^2)_3$, o HgCl . Realizaciones adicionales de la divulgación incluyen compuestos de acuerdo con la estructura anterior, que comprenden un radioisótopo. Una realización específica de la divulgación incluye el compuesto que tiene la fórmula que se muestra más adelante, también conocida como Lys-C(O)-Glu protegida con PMB.

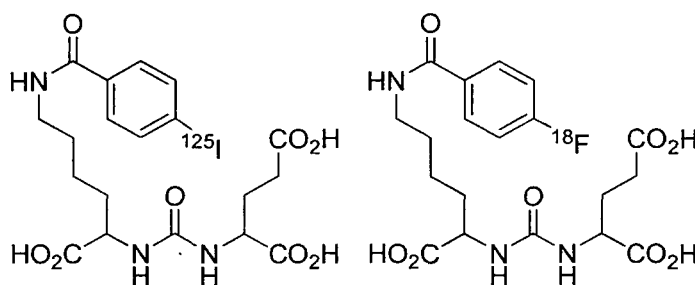


22

10 en la que PMB es p-metoxibencilo. Otra realización específica de la divulgación incluye el compuesto ácido 2-[3-(5-amino-1-carboxi-pentil)-ureido]-pentanodioico, también conocido como Lys-C(O)-Glu. Otras realizaciones ejemplares de la divulgación incluyen los compuestos que se muestran más adelante.



Los compuestos que contiene radioisótopo ejemplares de la divulgación incluyen los compuestos que se muestran más adelante.



15 Otras realizaciones de las invenciones incluyen los compuestos de la invención para su uso en procedimientos de obtención de imágenes de una o más células, órganos o tejidos que comprenden la exposición de células a o la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto con un marcador isotópico adecuado para la obtención de imágenes. En algunas realizaciones, los uno o más órganos o tejidos incluyen tejido de próstata, tejido del riñón, tejido del cerebro, tejido vascular o tejido tumoral.

20 En otra realización, los compuestos de la invención para su uso en el procedimiento de obtención de imágenes son adecuados para estudios de obtención de imágenes de inhibidores de PSMA, por ejemplo, mediante el estudio de la unión competitiva de inhibidores no radiomarcados. En otra realización más, los compuestos de la invención para su uso en el procedimiento de obtención de imágenes son adecuados para la obtención de imágenes de cáncer, tumor o neoplasia. En una realización adicional, el cáncer se selecciona del cáncer de ojo u ocular, cáncer rectal, cáncer de colon, cáncer de cuello de útero, cáncer de próstata, cáncer de mama o cáncer de vejiga, cáncer oral, tumores benignos y malignos, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cuerpo

uterino, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer testicular, cáncer renal, cáncer cerebral (por ejemplo, gliomas), cáncer de garganta, melanoma de piel, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena aguda, sarcoma de Ewing, sarcoma de Kaposi, carcinoma de células basales y carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, coriocarcinoma, rhabdomyosarcoma, angiosarcoma, hemangioendotelioma, tumor de Wilms, neuroblastoma, cáncer de boca/faringe, cáncer esofágico, cáncer de laringe, linfoma, neurofibromatosis, esclerosis tuberosa, hemangiomas, y linfangiogénesis.

Los compuestos de la invención para su uso en procedimientos de obtención de imágenes son adecuados para la obtención de imágenes de cualquier proceso fisiológico o síntoma en el que está implicado el PSMA. Típicamente, los compuestos de la invención para su uso en procedimientos de obtención de imágenes son adecuados para la identificación de áreas de tejidos o dianas que expresan altas concentraciones de PSMA. Las aplicaciones típicas incluyen la obtención de imágenes de neurotransmisión glutamaterica, neurotransmisión glutamaterica presináptica, tumores malignos o cánceres que expresan PSMA, cáncer de próstata (incluyendo cáncer de próstata metastatizado), y angiogénesis. Esencialmente, todos los tumores sólidos expresan PSMA en la neovasculatura. Por lo tanto, los compuestos de la invención para su uso en estos procedimientos se pueden usar para obtener imágenes de casi todos los tumores sólidos incluyendo de pulmón, célula renal, glioblastoma, páncreas, vejiga, sarcoma, melanoma, mama, colon, célula germinal, feocromocitoma, esófago y estómago. Asimismo, de ciertas lesiones benignas y tumores que incluyen el de endometrio, schwannoma y esófago de Barrett se pueden obtener imágenes mediante compuestos de acuerdo con la presente invención.

Los compuestos de la invención para su uso en procedimientos de obtención de imágenes de angiogénesis son adecuados para su uso en la obtención de imágenes de una variedad de enfermedades y trastornos en los que tiene lugar la angiogénesis. Los ejemplos ilustrativos, no limitantes incluyen tumores, enfermedad vascular del colágeno, cáncer, accidente cerebrovascular, malformaciones vasculares, retinopatía. Los compuestos de la invención para su uso en procedimientos de obtención de imágenes de angiogénesis también son adecuados para su uso en el diagnóstico y la observación del desarrollo de tejido normal.

El PSMA se expresa normalmente en células endoteliales de vasos capilares en zonas peritumorales y endotumorales de diversas neoplasias, de manera que los compuestos de la invención y los procedimientos de obtención de imágenes usando los mismos son adecuados para la obtención de imágenes de tales neoplasias.

En determinadas realizaciones, el compuesto radiomarcado es estable *in vivo*.

En determinadas realizaciones, el compuesto radiomarcado se detecta mediante la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía computarizada de emisión monofotónica (SPECT).

En una realización, la invención proporciona los compuestos de la invención para su uso en un procedimiento en el que el sujeto es un ser humano, una rata, un ratón, un gato, un perro, un caballo, una oveja, una vaca, un mono, un ave, o un anfibio. En otra realización, la célula está *in vivo* o *in vitro*. Los sujetos típicos a los que se pueden administrar los compuestos de la invención serán mamíferos, particularmente primates, especialmente humanos. Para aplicaciones veterinarias, son adecuadas una amplia variedad de sujetos, por ejemplo, ganado tal como vacas, ovejas, cabras, vacas, cerdos y similares; aves de corral tales como pollos, patos, gansos, pavos, y similares; y animales domésticos, particularmente mascotas tales como perros y gatos. Para aplicaciones de diagnóstico o de investigación, una amplia variedad de mamíferos serán sujetos adecuados, incluyendo roedores (por ejemplo, ratones, ratas, hámsteres), conejos, primates, y cerdos tales como cerdos consanguíneos y similares. Asimismo, para las aplicaciones *in vitro*, tales como las aplicaciones de diagnóstico *in vitro* e investigación, los fluidos corporales y las muestras celulares de los sujetos anteriores serán adecuadas para su uso, tales como mamíferos, particularmente primates tales como el ser humano, sangre, orina o muestras de tejido, o sangre, orina o muestras de tejido de los animales mencionados para aplicaciones veterinarias.

En determinados procedimientos, los compuestos de la invención para su uso en estos procedimientos se secretan de tejidos de cuerpo rápidamente para prevenir una exposición prolongada a la radiación del compuesto radiomarcado administrado al paciente. Típicamente, los compuestos de la invención se eliminan del cuerpo en menos de aproximadamente 24 horas. Más típicamente, los compuestos de la invención se eliminan del cuerpo en menos de aproximadamente 16 horas, 12 horas, 8 horas, 6 horas, 4 horas, 2 horas, 90 minutos, o 60 minutos. Los compuestos ejemplares se eliminan entre aproximadamente 60 minutos y aproximadamente 120 minutos.

En algunas realizaciones, los compuestos se unen fuertemente a la proteína del PSMA, por ejemplo, incorporando características estructurales que radican en un sitio de unión accesorio. Por ejemplo, en el compuesto 3, el grupo de 4-iodobenzoilo radica en un hueco hidrofóbico accesorio para el sitio de unión de S1 (39).

En determinadas realizaciones, los compuestos de la invención son estables *in vivo* de manera que, sustancialmente todos, por ejemplo, más de aproximadamente el 50 %, el 60 %, el 70%, el 80%, o el 90 % del compuesto inyectado no se metaboliza por el cuerpo antes de la excreción. Los sujetos típicos a los que se pueden administrar los compuestos de la invención serán mamíferos, particularmente primates, especialmente humanos. Para aplicaciones veterinarias, son adecuadas una amplia variedad de sujetos, por ejemplo, ganado tal como vacas, ovejas, cabras, vacas, cerdos y similares; aves de corral tales como pollos, patos, gansos, pavos, y similares; y animales

domésticos, particularmente mascotas tales como perros y gatos. Para aplicaciones de diagnóstico o de investigación, una amplia variedad de mamíferos serán sujetos adecuados, incluyendo roedores (por ejemplo, ratones, ratas, hámsteres), conejos, primates, y cerdos tales como cerdos consanguíneos y similares. Asimismo, para las aplicaciones *in vitro*, tales como las aplicaciones de diagnóstico *in vitro* e investigación, los fluidos corporales y las muestras celulares de los sujetos anteriores serán adecuadas para su uso, tales como mamíferos, particularmente primates tales como el ser humano, sangre, orina o muestras de tejido, o sangre, orina o muestras de tejido de los animales mencionados para aplicaciones veterinarias.

Otras realizaciones de la invención proporcionan los compuestos de la invención para su uso en procedimientos de tratamiento de tumores que comprenden la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la presente invención que comprende un radioisótopo terapéuticamente eficaz. En determinadas realizaciones, las células tumorales pueden expresar PSMA, tal como las células de tumor de próstata o las células de tumor de próstata metastatizadas. En otras realizaciones, se puede tratar un tumor direccionando a las células adyacentes o cercanas que expresen PSMA. Por ejemplo, se pueden direccionar células vasculares sometidas a angiogénesis asociada con un tumor. Esencialmente, todos los tumores sólidos expresan PSMA en la neovasculatura. Por lo tanto, los compuestos de la invención para su uso en estos procedimientos se pueden usar para tratar casi todos los tumores sólidos incluyendo de pulmón, célula renal, glioblastoma, páncreas, vejiga, sarcoma, melanoma, mama, colon, célula germinal, feocromocitoma, esófago y estómago. Asimismo, ciertas lesiones benignas y tumores que incluyen el de endometrio, schwannoma y esófago de Barrett se pueden tratar mediante compuestos de acuerdo con la presente invención. Los ejemplos de radioisótopos terapéuticamente eficaces incluyen ^{131}I y ^{211}At .

Otras realizaciones proporcionan kits que comprenden un compuesto de acuerdo con la invención. En determinadas realizaciones, el kit proporciona composiciones farmacéuticas envasadas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica envasada comprenderá los precursores de reacción necesarios para generar el compuesto de la invención tras la combinación con un precursor radiomarcado. Otras composiciones farmacéuticas envasadas proporcionadas por la presente invención comprenden adicionalmente indicios que comprenden al menos uno de: instrucciones para la preparación de compuestos de acuerdo con la invención a partir de precursores suministrados, instrucciones para usar la composición para obtener imágenes de células o tejidos que expresan PSMA, o instrucciones para usar la composición para obtener imágenes de neurotransmisión glutamatérgica en un paciente que padece un trastorno relacionado con el estrés, o instrucciones para usar la composición para obtener imágenes de cáncer de próstata.

En determinadas realizaciones, un kit de acuerdo con la invención contiene desde aproximadamente 1 a aproximadamente 30 mCi del agente de obtención de imágenes marcado con radionucleido descrito anteriormente, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El agente de obtención de imágenes y el vehículo se pueden proporcionar en solución o en forma liofilizada. Cuando el agente de obtención de imágenes y el vehículo del kit están en forma liofilizada, el kit puede contener de manera opcional un medio de reconstitución estéril y fisiológicamente aceptable tal como agua, solución salina, solución salina tamponada, y similares. El kit puede proporcionar un compuesto de la invención en solución o en forma liofilizada, y estos componentes del kit de la invención pueden contener opcionalmente estabilizantes tales como NaCl, silicato, tampones de fosfato, ácido ascórbico, ácido genticónico, y similares. La estabilización adicional de los componentes del kit se pueden proporcionar en esta realización, por ejemplo, proporcionando el agente reductor en una forma resistente a la oxidación. La determinación y la optimización de tales estabilizantes y procedimientos de estabilización son bien conocidos a nivel de los expertos en la materia.

En determinadas realizaciones, un kit proporciona un precursor no radiomarcado para combinarse con un reactivo radiomarcado en el sitio. Los ejemplos de reactivos radiactivos incluyen $\text{Na}[^{125}\text{I}]$, $\text{Na}[^{131}\text{I}]$, $\text{Na}[^{123}\text{I}]$, $\text{Na}[^{124}\text{I}]$, $\text{K}[^{18}\text{F}]$, $\text{Na}[^{76}\text{Br}]$, $\text{Na}[^{75}\text{Br}]$, $\text{Na}[^{211}\text{At}]$. Otros reactivos radiomarcados incluyen compuestos de benzoilo radiomarcados, carboxilatos de piridina radiomarcados, compuestos de bromometil piridina radiomarcados, y aldehídos radiomarcados tratados anteriormente.

Los agentes de obtención de imágenes de la invención se pueden usar de acuerdo con los procedimientos de la divulgación por un experto en la materia. Las imágenes se pueden generar en virtud de diferencias en la distribución espacial de los agentes de obtención de imágenes que se acumulan en un sitio cuando se ponen en contacto con PSMA. La distribución espacial se puede medir usando cualquier medio adecuado para el marcador particular, por ejemplo, una cámara gamma, un aparato de PET, un aparato de SPECT, y similares. El grado de acumulación del agente de obtención de imágenes se puede cuantificar usando procedimientos conocidos para cuantificar emisiones radiactivas. Una estrategia de obtención de imágenes particularmente útil emplea más de un agente de obtención de imágenes para realizar estudios simultáneos.

En general, una cantidad eficaz detectable del agente de obtención de imágenes de la invención se administra a un sujeto. De acuerdo con esta invención, "una cantidad eficaz detectable" del agente de obtención de imágenes de la invención se define como una cantidad suficiente para producir una imagen aceptable usando un equipo que está disponible para uso clínico. Una cantidad eficaz detectable del agente de obtención de imágenes de la invención se puede administrar en más de una inyección. La cantidad eficaz detectable del agente de obtención de imágenes de

la invención puede variar de acuerdo con factores tales como el grado de susceptibilidad del individuo, la edad, el sexo, y peso del individuo, las respuestas idiosincráticas del individuo, y la dosimetría. Las cantidades eficaces detectables del agente de obtención de imágenes de la invención también pueden variar de acuerdo con el instrumento y los factores relacionados con la película. La optimización de tales factores es bien conocida a nivel del experto en la materia. La cantidad de agente de obtención de imágenes usadas con fines de diagnóstico y la duración del estudio de obtención de imágenes dependerá del radionucleido usado para marcar el agente, de la masa corporal del paciente, de la naturaleza y gravedad de la afección que se está tratando, de la naturaleza de los tratamientos terapéuticos a los que se ha sometido el paciente, y de las respuestas idiosincráticas del paciente. Por último, el médico a cargo del tratamiento decidirá la cantidad de agente de obtención de imágenes a administrar a cada paciente individual y la duración del estudio de mediante obtención de imágenes.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a una solución biocompatible, teniendo debidamente en cuenta la esterilidad, p [Eta], isotonicidad, estabilidad y similares y puede incluir cualquiera y todos los disolventes, diluyentes (incluyendo solución salina estéril, inyección de cloruro sódico, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro sódico, inyección de Ringer lactada y otras soluciones de tampón acuosas), medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, y similares. El vehículo farmacéuticamente aceptable también puede contener estabilizantes, conservantes, antioxidantes, u otros aditivos, que son bien conocidos por el experto en la materia, u otros vehículos que se conocen en la materia.

Tal como se usa en el presente documento, las "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a derivados de los compuestos desvelados en los que el compuesto parental se modifica creando sales de ácidos no tóxicos o de bases de los mismos. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales minerales o de ácidos orgánicos de restos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales convencionales no tóxicas o las sales de amonio cuaternario del compuesto parental formado, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, las sales de ácidos no tóxicos convencionales incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamóico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, mesílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluensulfónico, metanosulfónico, etano disulfónico, oxálico, isetiónico, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ en el que n es 0-4, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir de un compuesto parental que contiene un resto básico o ácido mediante procedimientos químicos convencionales. Generalmente, tales sales se pueden preparar mediante formas ácidas de estos compuestos que reaccionan libremente con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como Na, hidróxido de Ca, Mg o K, carbonato, bicarbonato, o similares), o mediante formas básicas de estos compuestos que reaccionan libremente con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Tales reacciones típicamente se llevan a cabo en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Generalmente, cuando es posible, se usan medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Se puede encontrar un listado de sales adicionales adecuadas, por ejemplo, en Pharmaceutical Sciences, de Remington, 17ª edición, Mack Publishing Company, Easton, PA, p. 1418 (1985).

La invención y la manera y el procedimiento para fabricarla y usarla se describen en términos completos, claros, concisos y exactos para permitir a cualquier persona experta en la técnica a la que pertenece, hacer y usar la misma.

Debe entenderse que lo anterior describe realizaciones ejemplares de la presente invención y que se pueden hacer modificaciones en ella sin apartarse del alcance de la presente invención como se expone en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos que no deben interpretarse como limitantes de ningún modo. La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales, que están dentro de la habilidad de la técnica. Tales técnica se ilustran por completo en la bibliografía.

Síntesis

Procedimientos generales. Todos los reactivos y disolventes se adquirieron tanto de Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI) como de Fisher Scientific (Pittsburgh, PA). La sal tosilato de Lys-C(O)-Glu protegida con PMB (compuesto 1) se preparó de acuerdo con un procedimiento indicado (19). Se obtuvieron espectros de RMN ^1H en un espectrómetro Varian Mercury 400 MHz o un Bruker Avance 400 MHz. Se obtuvieron espectros de masas de IEN en un sistema API 150EX™ o un Bruker Esquire 3000 plus. Se realizaron espectros de masas de alta resolución (HRMS) en un espectrómetro de masas JEOL JMS-AX505HA en las instalaciones de espectrometría de masas de la Universidad de Notre Dame. Se realizó purificación de HPLC de compuestos de referencia en un sistema Waters 625 LC con un detector UV/Vis de múltiples longitudes de onda Waters 490E (Milford, MA).

Se adquirió [¹²⁵I]NaI de MP Biomedicals (Costa Mesa, CA). Se produjo [¹⁸F]Fluoruro mediante bombardeo de protones de 18 MeV de un objetivo de [¹⁸O]H₂O de alta presión usando un ciclotrón biomédico General Electric PETtrace (Milwaukee, WI). Se adquirieron cartuchos de extracción en fase sólida (C₁₈ plus, Sep-Pak) de Waters Associates. La radiactividad se midió en un calibrador de dosis Capintec CRC-10R (Ramsey, NJ). La radiactividad específica se calculó como la radiactividad eluyendo en el tiempo de retención de producto durante la purificación de HPLC semi-preparativa dividido entre la masa correspondiente al área bajo la curva de la absorción de UV.

Ejemplo 1 (no parte de la invención)

Bis-(4-metoxi-bencil) éster del ácido 2-{3-[5-(4-yodo-benzoilamino)-1-(4-metoxi-benciloxicarbonil)-pentil]-ureido}-pentanodioico (2). A una solución de **1** (0,126 g, 0,148 mmol) en CH₂Cl₂ (4 ml) se añadió trietilamina (0,1 ml, 0,712 mmol), seguido de 4-yodobenzoato de *N*-hidroxisuccinimidilo (**24**) (0,073 g, 0,212 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, el disolvente se evaporó en un rotavapor. El material en bruto se purificó en una columna de sílice usando metanol/cloruro de metileno (5:95) para proporcionar 0,127 g (94 %) de **2**. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,69 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,49 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,17-7,26 (m, 6H), 6,77-6,86 (m, 7H), 5,37-5,46 (m, 2H), 4,93-5,09 (m, 6H), 4,32-4,40 (m, 2H), 3,76-3,77 (m, 9H), 3,30-3,33 (m, 2H), 2,30-2,36 (m, 2H), 2,07-2,12 (m, 1H), 1,84-1,92 (m, 1H), 1,70-1,79 (m, 1H), 1,49-1,57 (m, 3H), 1,25-1,33 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₄₃H₄₈I_N₃O₁₁Na [M + Na]⁺ 932,2, encontrado 932,7.

Ejemplo 2 (no parte de la invención)

Ácido 2-{3-[1-carboxi-5-(4-yodo-benzoilamino)-pentil]-ureido}-pentanodioico (3). Una solución de anisol al 3 % en TFA (15 ml) se añadió a **2** (0,117 g, 0,129 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y después se concentró en un rotavapor. El material en bruto se purificó por HPLC (Econosil C18, 10 μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (70/30/0,1), 4 ml/min, **3** eluyendo a 11 min) para proporcionar 0,040 g (57 %) de **3**. RMN ¹H (400 MHz, D₂O:CD₃CN = 1:1 (v/v)) δ 7,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,46 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 4,08-4,16 (m, 2H), 3,26 (m, 2H), 2,35 (m, 2H), 2,00-2,03 (m, 1H), 1,72-1,84 (m, 2H), 1,52-1,62 (m, 3H), 1,34-1,36 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₁₉H₂₄I_N₃O₈Na [M + Na]⁺ 572,1, encontrado 572,0. FAB-HRMS calc. para C₁₉H₂₅I_N₃O₈ [M + H]⁺ 550,0686, encontrado 550,0648.

Ejemplo 3 (no parte de la invención)

Bis-(4-metoxi-bencil) éster del ácido 2-{3-[1-(4-metoxi-benciloxicarbonil)-5-(4-tributylestanilbenzoilamino)pentil]-ureido}-pentanodioico (4). A una solución de **1** (0,120 g, 0,148 mmol) en CH₂Cl₂ (6 ml) se añadió trietilamina (0,1 ml, 0,712 mmol), seguido de 4-tributylestanilbenzoato de *N*-hidroxisuccinimidilo (**24**) (0,075 g, 0,147 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se condensó en un rotavapor. El material en bruto se purificó en una columna de sílice usando metanol/cloruro de metileno (5:95) para proporcionar 0,130 g (86%) de **4**. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,49 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,18-7,24 (m, 6H), 6,80-6,85 (m, 6H), 6,47 (m, 1H), 5,44-5,47 (m, 2H), 4,95-5,09 (m, 6H), 4,41-4,45 (m, 2H), 3,76-3,77 (m, 9H), 3,32-3,38 (m, 2H), 2,35-2,37 (m, 2H), 2,08-2,16 (m, 1H), 1,90-1,94 (m, 1H), 1,70-1,79 (m, 1H), 1,45-1,64 (m, 9H), 1,24-1,30 (m, 8H), 1,01-1,06 (m, 6H), 0,85-0,87 (m, 9H). Masa de IEN calc. para C₅₅H₇₅N₃O₁₁SnNa [M + Na]⁺ 1096,4, encontrado 1096,7.

Ejemplo 4 (no parte de la invención)

Bis-(4-metoxi-bencil) éster del ácido 2-{3-[5-(4-fluoro-benzoilamino)-1-(4-metoxi-benciloxicarbonil)-pentil]-ureido}-pentanodioico (5). A una solución de **1** (0,120 g, 0,164 mmol) en CH₂Cl₂ (4 ml) se añadió trietilamina (0,1 ml, 0,712 mmol), seguido de 4-fluorobenzoato de *N*-hidroxisuccinimidilo (**22**) (0,043 g, 0,181 mmol). Después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente, el disolvente se evaporó en un rotavapor. El material en bruto se purificó mediante una columna de sílice usando metanol/cloruro de metileno (5:95) para proporcionar 0,120 g (91 %) de **5**. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,78 (m, 2H), 7,16-7,24 (m, 6H), 7,01 (m, 2H), 6,80-6,85 (m, 7H), 5,51-5,64 (m, 2H), 4,93-5,09 (m, 6H), 4,34-4,40 (m, 2H), 3,75-3,77 (m, 9H), 3,28-3,34 (m, 2H), 2,26-2,38 (m, 2H), 2,04-2,15 (m, 1H), 1,82-1,91 (m, 1H), 1,68-1,74 (m, 1H), 1,44-1,57 (m, 3H), 1,25-1,33 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₄₃H₄₈FN₃O₁₁Na [M + Na]⁺ 824,3, encontrado 824,7.

Ejemplo 5 (no parte de la invención)

Ácido 2-{3-[1-carboxi-5-(4-fluoro-benzoilamino)-pentil]-ureido}-pentanodioico (6). Una solución de anisol al 3 % en TFA (15 ml) se añadió a **5** (0,081 g, 0,1 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min y después se concentró en un rotavapor. El material en bruto se purificó por HPLC (Econosil C18, 10 μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (75/25/0,1), 4 ml/min, con **6** purificado eluyendo a aproximadamente 9 min) para proporcionar 0,035 g (79 %) de **6**. RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ 7,66-7,69 (m, 2H), 7,11-7,16 (m, 2H), 4,12-4,19 (m, 2H), 3,28-3,31 (m, 2H), 2,39-2,43 (m, 2H), 2,07-2,09 (m, 1H), 1,79-1,90 (m, 2H), 1,55-1,69 (m, 3H), 1,39-1,40 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₁₉H₂₄FN₃O₈Na [M + Na]⁺ 464,1, encontrado 464,4. FAB-HRMS calc. para C₁₉H₂₅FN₃O₈ [M + H]⁺ 442,1626, encontrado 442,1646.

Ejemplo 6

Bis-(4-metoxi-bencil) éster del ácido 2-(3-{1-(4-metoxi-benciloxicarbonil)-5-[(5-tributilestananil-piridin-3-carbonil)-amino]-pentil}-ureido)-pentanodioico (7). A una solución de **1** (0,120 g, 0,148 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) se añadió trietilamina (0,1 ml, 0,712 mmol), seguido de 5-(tri-*n*-butilestanil)-3-piridincarboxilato de *N*-hidroxisuccinimidilo (**25**) (0,075 g, 0,147 mmol). Después de agitar durante 30 min a temperatura ambiente, el material en bruto se purificó en una columna de sílice usando metanol/cloruro de metileno (5:95) para proporcionar 0,115 g (76 %) de **7**. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,85 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,19-7,24 (m, 6H), 6,81-6,85 (m, 6H), 6,65 (m, 1H), 5,32-5,35 (m, 1H), 5,22-5,25 (m, 1H), 4,96-5,10 (m, 6H), 4,40-4,47 (m, 2H), 3,70-3,77 (m, 9H), 3,34 (m, 2H), 2,35-2,39 (m, 2H), 2,10-2,15 (m, 1H), 1,90-1,94 (m, 1H), 1,72-1,79 (m, 1H), 1,46-1,59 (m, 9H), 1,27-1,36 (m, 8H), 1,02-1,25 (m, 6H), 0,84-0,87 (m, 9H). Masa de IEN calc. para C₅₄H₇₅IN₄O₁₁Sn [M + H]⁺ 1075,4, encontrado 1075,5.

Ejemplo 7

Ácido 2-(3-{1-carboxi-5-[(5-yodo-piridin-3-carbonil)-amino]-pentil}-ureido)-pentanodioico (8). A una solución de **7** (0,025 g, 0,023 mmol) en 2 ml de metanol se añadieron 0,020 ml de ácido acético y yoduro sódico (0,017 g, 0,113 mmol), seguido de *N*-clorosuccinimida (0,025 g, 0,187 mmol). Después de 20 min a temperatura ambiente, el disolvente se retiró en una corriente de nitrógeno. Después, se añadió una solución de TFA en CH₂Cl₂ (1:1,2 ml) al residuo. Después de 1 h a temperatura ambiente, se aisló **8** (0,008 g, 62 %) mediante HPLC (Econosphere C18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (85/15/0,1), 4 ml/min, pico de producto eluyendo en 10 min). RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ 9,00-9,15 (m, 3H), 4,18-4,24 (m, 2H), 3,40-3,41 (m, 2H), 2,45-2,49 (m, 2H), 2,12-2,13 (m, 1H), 1,85-1,97 (m, 2H), 1,64-1,73 (m, 3H), 1,44 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₁₈H₂₄IN₄O₈ [M + H]⁺ 551,1, encontrado 551,0. FAB-HRMS calc. para C₁₈H₂₄IN₄O₈ [M + H]⁺ 551,0639, encontrado 551,0607.

Ejemplo 8 (no parte de la invención)

Ácido 2-{3-[1-carboxi-5-(4-[¹²⁵I]yodo-benzoilamino)-pentil]-ureido)-pentanodioico ([¹²⁵I]3). Se preparó [¹²⁵I]3 mediante yododesestaniación del precursor de tri-*n*-butilestanil **4** correspondiente, seguido de desprotección. A una solución de **4** (1 mg, 0,932 μmol) en 0,1 ml de metanol se añadieron 0,001 ml de ácido acético y [¹²⁵I]NaI, seguido de *N*-clorosuccinimida (0,25 mg, 0,187 μmol) en 0,025 ml de metanol. Después de agitar a temperatura ambiente durante 20 min, el disolvente se retiró en una corriente de N₂. Después, se añadió una solución de anisol al 3 % en TFA (0,1 ml) al residuo. Después de 5 min a temperatura ambiente, se aisló [¹²⁵I]3 mediante HPLC (Econosil C18 10μ, 250 x 4,6 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (72/28/0,1), 1 ml/min). Se realizó purificación de radio-HPLC de fase inversa de [¹²⁵I]3 usando una bomba Waters 510, un detector UV/Vis de longitud de onda variable Waters 490E a 254 nm y un detector de radiactividad Bioscan Flow Count PMT (Washington, DC). Los rendimientos de esta reacción fueron 65-80 % (tres determinaciones separadas). La radiactividad específica fue siempre > 700 Ci/mmol (25,9 GBq/μmol).

Ejemplo 9 (no parte de la invención)

4-[¹⁸F]Fluorobenzoato de *N*-hidroxisuccinimidilo [¹⁸F]SFB. Se preparó 4-[¹⁸F]yodobenzoato de *N*-hidroxisuccinimidilo ([¹⁸F]SFB) mediante un procedimiento bibliográfico (23) y se purificó por HPLC (Econosphere C18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (75/25/0,1), 5 ml/min, pico de producto eluyendo en 19 min).

Ácido 2-(3-[1-carboxi-5-(4-[¹⁸F]fluoro-benzoilamino)-pentil]-ureido)-pentanodioico ([¹⁸F]6). En un vial que contenía 2 mg de **1** y 0,002 ml de Et₃N se añadió [¹⁸F]SFB en CH₂Cl₂. La mezcla de reacción se calentó a 45 °C durante 20 min, y después el disolvente se retiró en una corriente de nitrógeno. Después se añadió 0,1 ml de anisol al 3 %/TFA y la mezcla de reacción se calentó a 45 °C durante 5 min. El producto final ([¹⁸F]6) se obtuvo después de purificación de HPLC (Econosphere C18 10μ., 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA [80/20/0,1], 4 ml/min). Los rendimientos corregidos por desintegración de [¹⁸F]6 fueron 30-35 %, basado en el [¹⁸F]fluoruro de partida (tres determinaciones separadas). El tiempo de síntesis medio fue 180 min desde el momento de la adición de [¹⁸F]fluoruro. Partiendo de [¹⁸F]fluoruro 40 mCi, la radiactividad específica de [¹⁸F]6 se encontró que era 250-300 Ci/mmol (9,1 - 11,1 GBq/μmol).

Ejemplo 10

Ácido 2-(3-{1-carboxi-5-[(5-[¹²⁵I]yodo-piridin-3-carbonil)-amino]-pentil}-ureido)pentanodioico ([¹²⁵I]8). Se preparó [¹²⁵I]8 usando yododesestaniación del precursor de tri-*n*-butilestanil **7** correspondiente, seguido de desprotección. A una solución de **7** (0,05 mg, 0,047 μmol) en 0,05 ml de metanol se añadieron 0,002 ml de ácido acético, [¹²⁵I]NaI, seguido de *N*-clorosuccinimida (0,1 mg, 0,749 μmol) en 0,010 ml de metanol. Después de 20 min a temperatura ambiente, el disolvente se retiró en una corriente de nitrógeno. Después, se añadió una solución de anisol al 3 % en TFA (0,1 ml) al residuo. Después de 5 min a temperatura ambiente, se aisló [¹²⁵I]8 mediante HPLC (Econosil C18 10μ, 250 x 4,6 mm, H₂O/CH₃CN/TFA [85/15/0,1], 1 ml/min). Se realizó purificación de radio-HPLC de fase inversa de [¹²⁵I]8 usando una bomba Waters 510, un detector UV/Vis de longitud de onda variable Waters 490E a 354 nm y un detector de radiactividad Bioscan Flow Count PMT (Washington DC). Los rendimientos de esta reacción fueron 59-75% (tres determinaciones separadas). La radiactividad específica fue > 2.000 Ci/mmol (74,0 GBq/μmol) en cada caso.

Ejemplo 11 (no parte de la invención)

Síntesis de ácido 2-(3-{1-carboxi-5-[2-(4-fluoro-bencilidenoaminooxi)-acetilamino]-pentil}-ureido)-pentanodioico (9). A una solución del compuesto 1 (0,062 g, 0,073 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) se añadió trietilamina (0,045 ml, 0,320 mmol), seguido de hidroxisuccinimidil éster de *N-terc*-butiloxicarbonil-O-(carboximetil)hidroxiamina (0,025 g, 0,087 mmol, *Bioconjugate Chemistry* 1993, 4, 515-20). Después de agitar durante 30 min a temperatura ambiente, el disolvente se evaporó. El material en bruto se purificó mediante una columna de sílice usando metanol/cloruro de metileno (5:95) para proporcionar 0,055 g (89 %) del compuesto 10. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,98 (s a, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,25-7,27 (m, 6H), 6,85-6,88 (m, 6H), 5,56-5,63 (m, 2H), 5,01-5,11 (m, 6H), 4,47-4,53 (m, 1H), 4,27-4,38 (m, 3H), 3,79 (m, 9H), 3,30-3,38 (m, 1H), 3,15-3,21 (m, 1H), 2,36-2,41 (m, 2H), 2,10-2,15 (m, 1H), 1,89-1,95 (m, 1H), 1,74-1,81 (m, 1H), 1,23-1,61 (m, 14H). Masa de IEN calc. para C₄₃H₅₇N₄O₁₄ [M + H]⁺ 853,4, encontrado 853,5.

Una solución de anisol al 3 % en TFA (1 ml) se añadió el compuesto 10 (0,031 g, 0,036 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, después se concentró en un rotavapor. El material en bruto se purificó por HPLC (Econosil C18, 10 μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (90/10/0,1), 4 ml/min) para proporcionar 0,009 g (49 %) del compuesto 11. RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ 4,68 (s, 2H), 4,28-4,35 (m, 2H), 3,34 (m, 2H), 2,58 (m, 2H), 2,24 (m, 1H), 1,78-2,13 (m, 3H), 1,62 (m, 2H), 1,49 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₁₄H₂₅N₄O₉ [M]⁺ 393,2, encontrado 393,3.

A una solución del compuesto 11 (0,005 g, 0,010 mmol) en metanol (0,3 ml) se añadió trietilamina (0,0075 ml, 0,05 mmol), seguido de 4-fluorobenzaldehído (0,0017 ml, 0,016 mmol). Después de 30 min a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se purificó por HPLC (Econosil C18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (75/25/0,1) y se obtuvo el compuesto 9 (0,002 g, 41 %). RMN ¹H (400 MHz, D₂O; CD₃CN = 1:1) δ 8,26 (s, 1H), 7,56-7,80 (m, 2H), 7,10-7,14 (m, 2H), 4,53 (s, 2H), 4,13-4,17 (m, 1H), 3,96-4,00 (m, 1H), 3,16 (m, 2H), 2,10-2,16 (m, 1H), 1,80-1,88 (m, 2H), 1,65 (m, 1H), 1,54 (m, 1H), 1,42 (m, 1H), 1,28 (m, 1H). Masa de IEN calc. para C₂₁H₂₇F₄O₉Na [M + Na]⁺ 521,2, encontrado 521,3. FAB-HRMS calc. para C₂₁H₂₈FN₄O₉ [M + H]⁺ 499,1840, encontrado 499,1869.

Ejemplo 12 (no parte de la invención)

Síntesis de ácido 2-(3-{1-carboxi-5-[2-(4-[¹⁸F]fluoro-bencilidenoaminooxi)-acetilaminol-pentil]-ureido)-pentanodioico ([¹⁸F]9). Se sintetizó 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehído usando un procedimiento bibliográfico (*Nuclear Medicine and Biology* 19 (1992) 275-281) y se purificó por HPLC (H₂O/CH₃CN/TFA 70/30/0,1). El eluyente de HPLC de 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehído se diluyó con H₂O, se pasó a través de un C18 Sep Pak, eluyendo con 2 ml de metanol. A una solución del compuesto 11 (1 mg) en metanol (0,05 ml) se añadió [¹⁸F]4-fluorobenzaldehído en 2 ml de metanol. Después de agitar 30 min a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se purificó por HPLC para dar el compuesto [¹⁸F]9. El rendimiento radioquímico (desintegración corregida y basada en [¹⁸F]fluoruro de partida, n = 2) fue 6-9 %. La actividad específica del compuesto final se encontró que era 350-1300 mCi/μmol.

Ejemplo 13 (no parte de la invención)

Síntesis de ácido 2-[3-(1-carboxi-5-{4-[N'-(4-fluoro-bencilideno)-hidrazino]-benzoilamino}-pentil)-ureido]-pentanodioico (12). A una solución del compuesto 1 (0,030 g, 0,035 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) se añadió trietilamina (0,020 ml, 0,142 mmol), seguido de 4-[2-(*terc*-butoxicarbonil)hidrazino benzoato de succinimidilo (0,020 g, 0,057 mmol, *Bioconjugate Chem.* 1991, 2, 333-336) en DMF (0,2 ml). Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, el disolvente se evaporó. El material en bruto se purificó mediante una columna de sílice usando metanol/cloruro de metileno (5:95) para proporcionar 0,025 g (78%) del compuesto 13. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,63 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,19-7,23 (m, 6H), 6,81-6,85 (m, 6H), 6,68 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,61 (s, 2H), 6,15 (s a, 1H), 5,68 (m, 2H), 4,95-5,07 (m, 6H), 4,34-4,45 (m, 2H), 3,74 (m, 9H), 3,25 (m, 2H), 2,31 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,84 (m, 1H), 1,19-1,74 (m, 14H). Masa de IEN calc. para C₄₈H₅₉N₅O₁₃Na [M + Na]⁺ 936,4, encontrado 935,9.

Una solución de TFA/CH₂Cl₂ 1:1 (2 ml) se añadió al compuesto 13 (0,025 g, 0,027 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, después se concentró en un rotavapor. El material en bruto se purificó por HPLC (Econosphere C18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (92/8/0,1), 4 ml/min) para proporcionar 0,010 g (64%) del compuesto 14. RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ 7,72 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,02 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,15-4,23 (m, 2H), 3,35 (m, 2H), 2,46 (m, 2H), 2,10-2,17 (m, 1H), 1,80-1,95 (m, 2H), 1,59-1,74 (m, 3H), 1,45 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₁₉H₂₈N₅O₈ [M + H]⁺ 454,2, encontrado 453,9.

A una solución del compuesto 14 (0,004 g, 0,009 mmol) en agua (0,030 ml) se añadieron 0,1 ml de KH₂PO₄ 50 mM, seguido de 4-fluorobenzaldehído (0,0011 g, 0,009 mmol) en 0,05 ml de acetonitrilo. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 10 min, después se purificó por HPLC (Econosphere C18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (65/35/0,1) y se obtuvo el compuesto 12 (0,003 g, 76%). RMN ¹H (400 MHz, D₂O; CD₃CN = 3:2) δ 7,82 (s, 1H), 7,64 (m, 4H), 7,11 (m, 4H), 4,14 (m, 2H), 3,24 (m, 2H), 2,01 (m, 2H), 1,94 (m, 1H), 1,80 (m, 2H), 1,52-1,63 (m, 3H), 1,35 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₂₆H₃₁FN₅O₈ [M + H]⁺ 560,2, encontrado 560,1.

Ejemplo 14 (no parte de la invención)

Síntesis de ácido 2-[3-(1-carboxi-5-{4-[N'-(4-[¹⁸F]fluoro-bencilideno)-hidrazino]-benzoilamino}-pentil)-ureido]-

pentanodioico (¹⁸F)12). Se sintetizó 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehído usando un procedimiento conocido (Nuclear Medicine and Biology 33 (2006) 677-683). A la solución en DMSO en bruto de 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehído se añadieron 1-2 mg del compuesto **14**, 0,2 ml de KH₂PO₄ 50 mM. El vial se cerró y se calentó a 90 °C durante 15 min. Después, la mezcla de reacción se purificó por HPLC (Ecomosphere C 18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA [70/30/0,1], 4 ml/min). El rendimiento radioquímico (desintegración corregida y basada en [¹⁸F]fluoruro de partida, n = 2) fue 30-55%. El compuesto **12** se descompuso tan pronto como se preparó. La actividad específica del compuesto final no se determinó.

Ejemplo 15 (no parte de la invención)

Síntesis de ácido 2-{3-[1-carboxi-5-{{6-(N'-(4-fluoro-bencilideno)-hidrazino)-piridin-3-carbonil}-amino)-pentil]-ureido}-pentanodioico (15). A una solución del compuesto **1** (0,040 g, 0,047 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) se añadió trietilamina (0,020 ml, 0,14 mmol), seguido de 6-(N'-terc-butoxicarbonil-hidrazino)-nicotinato de succinimidilo (0,020 g, 0,057 mmol, Bioconjugate Chem. 1991, 2, 333-336). Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, el disolvente se evaporó. El material en bruto se purificó mediante una columna de sílice usando metanol/cloruro de metileno (10:90) para proporcionar 0,032 g (74 %) del compuesto **16**. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,54 (s, 1H), 7,90 (m, 1H), 7,17-7,23 (m, 6H), 6,90-7,05 (m, 3H), 6,79-6,84 (m, 6H), 6,55 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 5,79 (m, 2H), 4,94-5,07 (m, 6H), 4,38-4,45 (m, 2H), 3,74 (m, 9H), 3,26 (m, 2H), 2,33 (m, 2H), 2,07 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,68 (m, 1H), 1,18-1,55 (m, 13H). Masa de IEN calc. para C₄₇H₅₉N₆O₁₃ [M + H]⁺ 915,4, encontrado 914,9.

Una solución de TFA/CH₂Cl₂ 1:1 (2 ml) se añadió al compuesto **16** (0,032 g, 0,035 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, después se concentró en un rotavapor. El material en bruto se purificó por HPLC (Econosphere C18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (92/8/0,1), 4 ml/min) para proporcionar 0,009 g (45%) del compuesto **17**. RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ 8,07-8,40 (m, 2H), 7,00-7,13 (m, 1H), 4,18-4,24 (m, 2H), 3,38 (m, 2H), 2,48 (m, 2H), 2,14 (m, 1H), 1,86-1,98 (m, 2H), 1,62-1,65 (m, 3H), 1,44 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₁₈H₂₇N₆O₈ [M + H]⁺ 455,2, encontrado 455,0.

A una solución del compuesto **17** (0,005 g, 0,0011 mmol) en agua (0,030 ml) se añadieron 0,1 ml de KH₂PO₄ 50 mM, seguido de 4-fluorobenzaldehído (0,002 g, 0,0016 mmol) en 0,05 ml de acetonitrilo. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 10 min, después se purificó por HPLC (Econosphere C18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA (80/20/0,1) y se obtuvo el compuesto **15** (0,002 g, 41 %). RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ 8,38 (m, 1H), 8,22 (m, 2H), 7,83 (m, 2H), 7,20 (m, 3H), 4,26 (m, 2H), 3,41 (m, 2H), 2,52 (m, 2H), 2,11 (m, 1H), 1,92 (m, 2H), 1,73 (m, 3H), 1,47 (m, 2H). Masa de IEN calc. para C₂₅H₃₀FN₆O₈ [M + H]⁺ 561,2, encontrado 560,9.

Ejemplo 16 (no parte de la invención)

Síntesis de ácido 2-{3-[1-carboxi-5-{{6-[N'-(4-[¹⁸F]fluoro-bencilideno)-hidrazino]-piridin-3-carbonil}-amino)-pentil]-ureido}-pentanodioico ([¹⁸F]15)

Se sintetizó 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehído usando un procedimiento conocido (Nuclear Medicine and Biology 33 (2006) 677-683). A la solución en DMSO en bruto de 4-[¹⁸F]fluorobenzaldehído se añadieron 1-2 mg del compuesto **16**, 0,2 ml de KH₂PO₄ 50 mM. El vial se cerró y se calentó a 90 °C durante 15 min. Después, la mezcla de reacción se purificó por HPLC (Ecomosphere C18 10μ, 250 x 10 mm, H₂O/CH₃CN/TFA [80/20/0,1], 4 ml/min). El rendimiento radioquímico (desintegración corregida y basada en [¹⁸F]fluoruro de partida, n = 1) fue 49 %.

Ejemplo 17

Unión in vitro.

Ensayo de NAALADasa. La hidrólisis de NAAG se realizó esencialmente tal como se describe anteriormente (26/27). Brevemente, los extractos de células LNCaP se prepararon mediante ultrasonido en tampón NAALADasa (Tris 50 mM[pH 7,4] y Triton X-100 al 0,5 %). Los lisados celulares se incubaron con o sin inhibidor a 37 °C durante 10 minutos. Tras la incubación, el sustrato radiomarcado N-acetil-L-aspartil-L-(3,4-³H)glutamato (NEN Life Science Products, Boston, MA) se añadió a una concentración final de 30 nM a 37 °C durante 10-15 minutos. La reacción se detuvo mediante la adición de un volumen igual de fosfato de sodio 100 mM enfriado con hielo y EDTA 2 mM. Los productos se separaron mediante cromatografía de intercambio aniónico en resina de formato AG 1-X8 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA), se eluyeron con formiato de sodio 1 M, y se cuantificaron mediante conteo por centelleo líquido. Las curvas de inhibición se determinaron usando gráficos semilogarítmicos y los valores de CI₅₀ se determinaron a la concentración a la cual la actividad enzimática se inhibió al 50 %. Los ensayos se realizaron por triplicado repitiendo por completo el estudio de inhibición al menos una vez para confirmar la afinidad y el modo de inhibición. Los datos se recogieron durante la fase lineal de la hidrólisis (es decir, < del 20 % de escisión de sustrato total). Las constantes de inhibición enzimática (valores K_i) se generaron usando la conversión Cheng-Prusoff (28). El análisis de datos se realizó usando GraphPad Prism versión 4.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California).

La actividad de PSMA también se determinó usando un ensayo basado en fluorescencia de acuerdo con un procedimiento comunicado anteriormente (29). Brevemente, los lisados de extractos de células LNCaP se incubaron con inhibidor en presencia de NAAG 4 μM. La cantidad de glutamato reducido se midió mediante incubación con una

solución de trabajo del kit de ácido glutámico Amplex Red (Molecular Probes Inc., Eugene, OR, EE.UU). La fluorescencia se determinó leyendo con un lector de placas multimarcaador VICTOR3V (Perkin Elmer Inc., Waltham, MA, EE.UU) con excitación a 490 nm y emisión a 642 nm.

5 El ensayo de inhibición de NAALADasa se realizó para determinar el valor K_i para **3**, **6** y **8** (26). La concentración de cada compuesto varió desde 0,01 nM hasta 1000 nM frente a una cantidad fijada de [^3H]NAAG (30 nM). La NAALADasa (PSMA) se preparó a partir de lisados de células LNCaP. El porcentaje de producto de escisión enzimático, [^3H]glutamato, producido se midió mediante conteo por centelleo y se representó frente a la concentración logarítmica del compuesto bajo estudio. La regresión lineal de los datos resultantes se resolvió para el 50 % de la producción de [^3H]glutamato (inhibición al 50 %) y dio como resultado valores de K_i de 0,010 nM para **3**, 0,256 nM para **6** y 0,351 nM para **8** (Tabla 1). Ese resultado se mantiene para otros compuestos de esta clase (30).
10 Cuando se evaluaron estos compuestos mediante un ensayo de inhibición basado en fluorescencia como un segundo control de la afinidad, los valores K_i de **3**, **6**, y **8** fueron 0,010, 0,194, y 0,557 nM, respectivamente.

Tabla 1. Actividades de inhibición *in vitro* de PSMA y valores ClogD calculados

comp	K_i [nM] ^a	SD ^b	K_i [nM] ^c	SD ^b	ClogD
3*	0,010	0,003	0,010	0,004	-5,16
6*	0,256	0,038	0,194	0,134	-5,64
8	0,351	0,257	0,557	0,265	-5,88

^aobtenido del ensayo (radiométrico) de la NAALADasa. ^bintervalo de confianza del 95 %. ^cobtenido de un ensayo basado en fluorescencia.
* no es parte de la invención

Ejemplo 18 - Modelización de inhibidores en el sitio activo del PSMA

15 **Preparación de la proteína.** Las coordenadas 3-D de GCPII para estudios de acoplamiento se prepararon como estructuras cristalinas de GCPII en complejo con 2-PMPA (PDB ID: 2PVW) o compuesto **3** (no parte de la invención) (PDB ID: 3D7H) mediante un procedimiento de limpieza implementado en Discovery Studio 2.0 (DS 2.0), que puede corregir el desorden estructural, fijar el orden de enlace y la conectividad de los restos de aminoácidos. El campo de fuerza CHARMM que se aplicó a la proteína y el sitio de unión para los estudios de acoplamiento se obtuvo
20 mediante un procedimiento automatizado usando la opción de encontrar sitios de las cavidades del receptor. Se nombraron dos iones de zinc y un ion cloruro en el sitio activo como Zn^{2+} y Cl^- , con cargas formales de +2 y -1, respectivamente.

Estudios de acoplamiento con CDOCKER. Se realizaron estudios de acoplamiento de los compuestos **3** (no parte de la invención), **6** (no parte de la invención) y **8** con dos conformaciones de 2PVW que usan el módulo implementado CDOCKER en DS 2.0 mediante modificación de las configuraciones por defecto (Top hits: 20, random conformations: 20, random conformation dynamics steps: 1000, random conformations dynamics target temperature: 1000, orientation to refine: 20, maximum bad orientations: 800, orientation vdW energy threshold: 300, simulation heating steps: 2000, heating target temperature: 700, cooling steps: 5000, cooling target temperature: 300, Grid extension: 8, ligand partial charge: CHARMM). La mejor posición de cada ligando con CDOCKER de alta energía se
30 usó para generar las estructuras de solapamiento (Figura 1 y 2) con ligando cristalino **3** (mostrado en color más claro) del complejo GCPII (PDB ID: 3D7H). Se incluyeron siete moléculas de agua en 3Å del ligando cristalino **3** para los estudios de acoplamiento con 3D7H.

Se resolvió la estructura cristalina de PSMA acoplada con **3** (no es parte de la invención) que se depositó en el banco de datos de proteínas (PDB ID: 3D7H). Los detalles de PSMA cocrystalizado con **3** así como con otros inhibidores de PSMA basados en urea tales como DCIT, DCMC y DCFBC, se describen por Barinka y col. (39). Como se predijo a partir de los estudios de modelización, solo se descubrió la conformación de unión de la región del parche de arginina en el complejo PSMA con **3**. Para elucidar los posibles modos de unión de los otros dos compuestos (**6** (no es parte de la invención) y **8**), se llevaron a cabo estudios de acoplamiento que usan las coordenadas en 3-D de 3D7H en presencia o ausencia de moléculas de agua en el sitio activo. Las mejores
40 posiciones de **3**, **6** y **8** de los estudios de acoplamiento que usan el módulo CDOCKER se muestran en la Figura 1, superpuestas con el ligando cristalino, es decir, el compuesto tal como se cocrystaliza con PSMA, de **3**. Tal como se muestra en la Figura 1, todos los restos que llevan radionucleidos (4-iodofenilo, 4-fluorofenilo, y 5-iodo-3-piridilo) se localizaron en el parche de arginina del sitio de unión S1. Los grupos 4-iodofenilo y 4-fluorofenilo protruyeron profundamente en la subcavidad en comparación con el resto 5-iodo-3-piridilo. Las puntuaciones CDOCKER de las tres posiciones están ordenadas: **3** (80,63) > **6** (72,39) > **8** (69,78). Los anillos aromáticos de **3**, **6**, y **8** proporciona interacciones π - π con las funciones de guanidina de Arg 463 y Arg 534, que llevan a la estabilización del ligando en la subcavidad. En el caso de **8**, el nitrógeno del anillo de piridina permite la interacción electrostática con el carboxilato de Asp 465 y el enlace de hidrógeno con una molécula de agua. Los resultados del acoplamiento de PSMA sin moléculas de agua en el sitio activo mostraron que los restos de **6** y **8** que llevaban radionucleidos
50 estaban fuera de la subcavidad y proyectados en la región del túnel (Figura 2) mientras que el grupo 4-iodofenilo de

3 estaba proyectado en la subcavidad. Basado en las actividades inhibitoras de PSMA *in vitro* y en los estudios de modelización molecular, parece que la interacción del ligando con la subcavidad del sitio de unión de S1 contribuye más a la afinidad de unión que la interacción con la región del túnel.

No es sorprendente que, **3**, **6** y **8** adoptan conformaciones similares en el sitio activo de PSMA. Los restos que llevan radionucleidos se encuentran en la región del parche de arginina del sitio de unión de S1' en cada caso, sin embargo, la de **8** no es tan profunda en la cavidad (Figura 1). El compuesto **3** se ha cocrystalizado con PSMA, y la conformación de unión para este compuesto muestra un apilamiento de π - π con Arg 463 y Arg 534 de la enzima, mientras que el resto de piridina de **8** no es capaz de formar una interacción π - π productiva similar. Sin embargo, a diferencia de **3** o **6**, **8** es capaz de interactuar con Asp 465 (mediante el nitrógeno de piridina), con Asp 453 (mediante el oxígeno de carbonilo) y una molécula de agua, porque el grupo carbonilo del resto que lleva radionucleido apunta hacia la subcavidad SI. Estas interacciones adicionales probablemente compensan la geometría de la unión π - π menos productiva de **8**, proporcionando una interacción de alta afinidad y un agente de obtención de imágenes que da una clara delineación del tumor (Figura 5). Mientras **6** adopta una conformación muy similar a **3** en el sitio activo, se une con una afinidad significativamente menor, probablemente debido a las interacciones adicionales del yodo en el parte de arginina cargado positivamente para **3**. En total, las afinidades de **3**, **6** y **8** (Tabla 1) siguen las predicciones basadas en el modelado molecular.

Biodistribución y obtención de imágenes

Líneas celulares y modelos de ratón: Las líneas celulares PC-3 PIP (PSMA⁺) y PC-3 flu (PSMA⁻) se obtuvieron del Dr. Warren Heston (Clínica de Cleveland) y se mantuvieron como se ha descrito anteriormente (19). Todas las células se cultivaron al 80-90 % de confluencia antes de la tripsinización y la formulación en solución equilibrada con sal de Hank (HBSS, Sigma, St. Louis, MO) para su implantación en ratones.

Todos los estudios animales se llevaron a cabo en total conformidad con las directrices institucionales relacionadas con la realización de experimentos animales. A los ratones de inmunodeficiencia combinada severa (SCID) (Charles River Laboratories, Wilmington, MA) se les implantó de forma subcutánea con $1-5 \times 10^6$ células por delante de cada hombro. Las células PC-3 PIP se implantaron detrás del hombro izquierdo y las células PC-3 flu se implantaron detrás del hombro derecho. Se obtuvieron imágenes de los ratones o se usaron en ensayos de bioconstrucción cuando los xenoinjertos del tumor alcanzaron 3-5 mm de diámetro.

Bioconstrucción y obtención de imágenes *Ex vivo*

Ejemplo 19 (no es parte de la invención)

Compuesto ^{125}I 3. Los ratones SCID que portan un xenoinjerto se inyectaron mediante la vena de la cola con 74 KBq (2 μCi) de ^{125}I 3. Se sacrificaron cuatro ratones mediante dislocación cervical a los 30, 60, 120, 300 min, 12, 24 y 48 horas p.i. Rápidamente se extirparon el corazón, los pulmones, el hígado, el estómago, el páncreas, el bazo, el tejido adiposo, el músculo, los intestinos delgado y grueso, la vejiga urinaria y los tumores PIP y flu. También se recogió una muestra de 0,1 ml de sangre. Se pesaron los órganos y se midió la radiactividad del tejido con un contador de gamma automatizado (1282 Compugamma CS, Pharmacia/LKB Nuclear, Inc, Gaithersburg, MD). El porcentaje de dosis inyectada por gramo de tejido (% DI/g) se calculó mediante comparación con muestras de una dilución patrón de la dosis inicial. Se corrigieron los decaimientos de todas las mediciones.

La Tabla 2 describe los resultados de distribución de tejido de roedor *ex vivo* de ^{125}I 3. La sangre, el riñón, la vejiga urinaria, el bazo y el tumor PSMA⁺ PC-3 PIP presentan una elevada absorción en el punto temporal de los 30 minutos iniciales postinyección (p.i.). A los 60 minutos p.i., la vejiga urinaria presenta la absorción más alta, mientras que la absorción en el tumor PSMA⁺ PC-3 PIP también alcanza su valor absoluto más alto. El riñón alcanza su absorción máxima a las 24 h p.i. Los valores observados en el riñón se deben en gran medida a la unión específica más que a la eliminación renal, debido a la expresión de altas cantidades de PSMA en el túbulo renal proximal (31)(32). La absorción en la vejiga urinaria representa la excreción en todos los puntos temporales, es decir, no hay unión específica en la pared de la vejiga. La absorción en tumor demuestra un alto grado de especificidad representado por la proporción PIP:flu de 10:1 a los 60 minutos y el aumento a 140:1 a las 48 horas. La absorción del radiofármaco en el tumor relacionada con otros órganos también aumenta con el tiempo. No se realizaron estudios de bloqueo específicos del sitio, ya que se percibieron como redundantes a la luz del uso de tumores modificados (PC-3 PIP y PC-3) para determinar la especificidad de unión.

Tabla 2. Biodistribución *ex vivo* de ^{125}I 3 en ratones portadores de tumor ^{a,b}

Órgano	30 min	60 min	2 h	5 h	12 h	24 h	48 h
sangre	0,9 ± 0,8 (10)	0,6 ± 0,2 (22)	0,3 ± 0,1 (36)	0,4 ± 0,2 (31)	0,1 ± 0,03 (125)	ND	ND
corazón	2,7 ± 0,9 (3)	1,9 ± 0,3 (7)	1,4 ± 0,7 (8)	0,9 ± 0,2 (14)	0,5 ± 0,2 (25)	0,5 ± 0,2 (28)	0,1 ± 0,1 (100)

(continuación)

Órgano	30 min	60 min	2 h	5 h	12 h	24 h	48 h
pulmón	5,8 ± 2,4 (1,5)	4,5 ± 0,5 (3)	3,6 ± 2,8 (3)	3,5 ± 0,6 (3,5)	2,6 ± 0,8 (5)	1,1 ± 0,8 (12)	0,5 ± 0,04 (22)
hígado	7,7 ± 3,1 (1)	7,5 ± 0,8 (2)	5,9 ± 3,5 (2)	4,5 ± 1,0 (3)	1,4 ± 0,2 (9)	1,4 ± 0,6 (9)	0,7 ± 0,1 (16)
estómago	1,5 ± 0,9 (6)	1,5 ± 0,3 (9)	1,6 ± 1,5 (8)	0,8 ± 0,03 (15)	0,3 ± 0,06 (39)	0,7 ± 0,6 (18)	0,4 ± 0,2 (25)
páncreas	2,0 ± 0,3 (4)	2,3 ± 0,3 (6)	2,0 ± 0,7 (6)	1,6 ± 0,5 (8)	0,6 ± 0,2 (21)	1,2 ± 0,7 (11)	1,1 ± 0,6 (10)
bazo	83 ± 8 (0,1)	141 ± 14 (0,1)	104 ± 43 (0,1)	119 ± 9 (0,1)	69 ± 39 (0,2)	39 ± 6 (0,3)	22 ± 8,6 (0,5)
tejido adiposo	4,5 ± 1,1 (2)	5,6 ± 1,0 (2)	6,2 ± 0,8 (2)	6,8 ± 1,3 (2)	3,8 ± 0,8 (3)	1,6 ± 1,9 (8)	2,8 ± 0,7 (4)
riñón	119 ± 15 (0,1)	121 ± 17 (0,1)	111 ± 34 (0,1)	132 ± 12 (0,1)	169 ± 29 (0,1)	234 ± 140 (0,1)	101 ± 30 (0,1)
músculo	2,7 ± 2,4 (3)	0,8 ± 0,2 (17)	0,6 ± 0,2 (21)	0,4 ± 0,1 (31)	1,0 ± 0,1 (12,5)	0,4 ± 0,1 (33)	0,25 ± 0,03 (44)
intestino delgado	4,9 ± 1,9 (2)	3,8 ± 0,4 (3,5)	1,5 ± 0,3 (8)	1,5 ± 0,2 (8)	1,0 ± 0,4 (12,5)	0,25 ± 0,1 (54)	0,1 ± 0,1 (110)
intestino grueso	1,4 ± 0,6 (6)	1,0 ± 0,2 (13,5)	0,6 ± 0,1 (21)	0,7 ± 0,6 (17)	0,6 ± 0,2 (21)	1,6 ± 1,9 (9)	0,15 ± 0,1 (73)
vejiga	5,2 ± 1,7 (2)	6,1 ± 0,8 (2)	4,0 ± 2,6 (3)	3,0 ± 1,7 (4)	0,8 ± 0,3 (16)	0,2 ± 0,2 (64)	0,3 ± 0,04 (37)
PC-3 PIP	8,8 + 4,7	13,5 + 2,1	11,8 + 5,6	12,4 + 6,4	12,5 + 4,8	13,4 + 5,1	11,0 + 0,2
PC-3 flu	1,8 + 1,0	1,2 + 0,3	0,7 + 0,3	0,6 + 0,05	0,3 + 0,1	0,1 + 0,06	0,08 + 0,06
PIP:flu	5	11	18	19	48	131	140

a. Los valores están en % de DI/g ± DS; ND = no determinado; n = 4 excepto a las 48 h, donde n = 3. Int. =intestino.b. las proporciones Tumor Pip:órgano están entre paréntesis

Ejemplo 20 (no es parte de la invención)

Compuesto [¹⁸F]6. La biodistribución *ex vivo* procedió como para [¹²⁵I]3 con las siguientes excepciones: a los ratones se les inyectó 3,7 MBq (100 [μCi]) de [¹⁸F]6 y los tiempos de absorción fueron 30, 60, 120 y 300 minutos p.i.

- 5 La Tabla 3 ilustra la absorción en tejido de [¹⁸F]6. Este radiofármaco también presentó una absorción rápida y específica en los tumores PSMA⁺ PIP (8,58 ± 3,09 % DI/g a los 30 min. p.i.) y en el riñón (72,05 ± 3,19 % DI/g a los 30 min. p.i.). La absorción y lavado de tejidos no específicos fue baja y rápida, respectivamente. Solo el hígado y el bazo presentaron unos valores de absorción que rivalizan los vistos en el tumor PIP. El bazo presenta la absorción más alta de cualquier tejido no específico (12,67 ± 0,36 % DI/g a 30 min. p.i.), quizás debido a la presencia de GCPIII, un homólogo cercano de GCPII/PSMA (33). Se especula que [¹⁸F]6 se puede unir a GCPIII así como a GCPII, como han demostrado que hacen otros muchos ligandos de PSMA (34).
- 10

Tabla 3. Biodistribución *ex vivo* de [¹⁸F]6 en ratones portadores de tumor ^{a,b}

Órgano	30 min	60 min	2 h	5 h
sangre	2,5 ± 1,7 (3)	0,7 ± 0,5 (9)	0,4 ± 0,2 (9)	0,03 ± 0,00 (117)
corazón	0,8 ± 0,1 (11)	0,2 ± 0,02 (35)	0,15 ± 0,05 (25)	0,03 ± 0,01 (117)
pulmón	1,7 ± 0,3 (5)	0,5 ± 0,1 (13)	1,0 ± 0,9 (4)	0,1 ± 0,1 (35)
hígado	8,7 ± 1,8 (1)	5,8 ± 0,6 (1)	11,7 ± 7,0 (0,3)	1,0 ± 0,6 (3,5)
estómago	0,8 ± 0,1	0,25 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,04 ± 0,02
	(11)	(26)	(13)	(88)
páncreas	0,8 ± 0,1 (11)	0,3 ± 0,1 (21)	0,15 ± 0,03 (25)	0,05 ± 0,03 (70)
bazo	12,7 ± 0,4 (0,7)	7,2 ± 1,6 (1)	4,4 ± 1,2 (1)	1,0 ± 0,6 (3,5)
riñón	72 ± 3 (0,1)	48 ± 5 (0,1)	29 ± 12 (0,1)	14 ± 9 (0,3)
músculo	2,4 ± 3,1 (4)	0,5 ± 0,7 (13)	0,2 ± 0,1 (19)	0,1 ± 0,1 (35)
intestino delgado	1,7 ± 0,7 (5)	0,6 ± 0,2 (11)	0,3 ± 0,2 (12)	0,1 ± 0,04 (35)
intestino grueso	1,2 ± 0,8 (7)	0,5 ± 0,1 (13)	0,2 ± 0,1 (19)	0,6 ± 0,6 (6)
vejiga	6,8 ± 3,5 (1)	17 ± 21 (0,4)	11 ± 8 (0,3)	5,2 ± 8,9 (0,7)
PC-3 PIP	8,6 ± 3,1	6,4 ± 0,9	3,7 ± 1,2	3,5 ± 2,3
PC-3 flu	0,8 ± 0,3	0,3 ± 0,05	0,25 ± 0,1	0,1 ± 0,1
PIP:flu	11	21	15	35
a. Los valores están en % de DI/g ± DS, n = 4, int. = intestino. b. las proporciones tumor Pip:órgano están entre paréntesis.				

Ejemplo 21

Compuesto [¹²⁵I]8. Los ratones SCID que portan un xenoinjerto PC-3 PIP y PC-3 flu se inyectaron mediante la vena de la cola con 74 KBq (2 µCi) de [¹²⁵I]8. Se sacrificaron cuatro ratones mediante dislocación cervical a los 30, 60, 240 min, 8 y 24 horas p.i. Rápidamente se extirparon el corazón, los pulmones, el hígado, el estómago, el páncreas, el bazo, el tejido adiposo, el músculo, los intestinos delgado y grueso, la vejiga urinaria y los tumores PIP y flu. También se recogió una muestra de 0,1 ml de sangre. Se pesaron todos los órganos y se midió la radiactividad del tejido con un contador de gamma automatizado (1282 Compugamma CS, Pharmacia/LKB Nuclear, Inc, Gaithersburg, MD). El % de DI/g se calculó mediante comparación con muestras de una dilución patrón de la dosis inicial. Se corrigieron los decaimientos de todas las mediciones.

La Tabla 4 describe los resultados de distribución de tejido de roedor *ex vivo* de [¹²⁵I]8. El hígado, bazo, riñón y tumor PSMA⁺ PC-3 PIP presentaron una alta absorción en el punto temporal de los 30 min p.i. iniciales. A los 60 minutos p.i., el riñón presentó la absorción más alta mientras que la del tumor PSMA⁺ PC-3 PIP permaneció estable, mostrando un valor similar al de a los 30 min. A las 24 h, hubo una eliminación completa de la radiactividad de los órganos no diana del individuo. Los valores observados en el riñón se deben en gran medida a la unión específica más que a la eliminación renal, como para los otros radiofármacos tratados anteriormente. La absorción en la vejiga urinaria representa la excreción en todos los puntos temporales, es decir, no hay unión específica en la pared de la vejiga, mientras que la absorción del tumor demostró un alto grado de especificidad representado por la proporción de absorción PIP:flu de 18:1 a 30 min, aumentado hasta 48:1 a 24 h. Como para [¹²⁵I]3, la absorción de radiofármaco en el tumor relativo a otros órganos aumenta con el tiempo.

Tabla 4. Biodistribución *ex vivo* de [¹²⁵I]8 en ratones portadores de tumor ^{a,b}

Órgano	30 min	60 min	4 h	8 h	24 h
sangre	2,5 ± 1,4 (6)	1,1 ± 0,5 (11)	0,25 ± 0,2 (17)	0,06 ± 0,01 (23)	0,00 ± 0,00
corazón	0,9 ± 0,2 (16)	0,4 ± 0,3 (30)	0,06 ± 0,02 (20)	0,02 ± 0,01 (70)	0,00 ± 0,00
pulmón	2,7 ± 3,2 (5)	2,3 ± 1,0 (5)	0,3 ± 0,1 (14)	0,1 ± 0,05 (12)	0,01 ± 0,00 (9)
hígado	8,2 ± 1,2 (2)	9,7 ± 1,2 (1)	4,8 ± 0,9 (1)	1,6 ± 0,4 (1)	0,04 ± 0,03 (2)

(continuación)

Órgano	30 min	60 min	4 h	8 h	24 h
estómago	0,8 ± 0,3 (18)	0,5 ± 0,3 (23)	0,1 ± 0,05 (42)	0,06 ± 0,02 (23)	0,01 ± 0,01 (9)
páncreas	0,9 ± 0,2 (15)	0,8 ± 0,3 (16)	0,3 ± 0,3 (14)	0,03 ± 0,00 (47)	0,00 + 0,00
bazo	26 ± 12 (0,5)	13,0 ± 6,8 (1)	1,25 ± 0,4 (3)	0,5 ± 0,2 (3)	0,03 ± 0,02 (3)
tejido adiposo	3,5 ± 0,2 (4)	1,4 ± 0,5 (8)	0,04 ± 0,1 (105)	0,2 ± 0,2 (7)	0,00 + 0,01
riñón	160 ± 27 (0,1)	205 ± 46 (0,06)	71 ± 27 (0,06)	24 ± 10 (0,06)	0,97 ± 0,94 (0,1)
músculo	1,9 ± 2,4 (7)	0,9 ± 0,7 (13)	0,2 ± 0,3 (21)	0,1 ± 0,1 (14)	0,00 + 0,00
intestino delgado	0,8 ± 0,2 (18)	1,1 ± 1,3 (11)	0,2 ± 0,05 (21)	0,1 ± 0,02 (14)	0,01 ± 0,01 (9)
intestino grueso	0,9 ± 0,4 (16)	0,6 ± 0,3 (21)	0,2 ± 0,1 (21)	0,1 ± 0,1 (14)	0,00 + 0,00
vejiga	1,9 ± 0,4 (8)	4,8 ± 4,9 (2,5)	7,0 ± 3,6 (0,6)	2,8 ± 2,1 (0,5)	0,05 ± 0,01 (2)
PC-3 PIP	14,2 + 9,5	12,1 + 4,9	4,2 + 1,5	1,4 + 0,4	0,09 + 0,04
PC-3 flu	0,8 + 0,1	0,6 + 0,25	0,1 + 0,02	0,03 + 0,01	0,00 + 0,00
PIP:flu	18	20	42	47	

a. Los valores están en % de DI/g ± DS; n = 4; int. = intestino.
b. las proporciones tumor Pip:órgano están entre paréntesis.

En relación con la biodistribución *ex vivo*, **3** (no es parte de la invención) demuestra solo aproximadamente dos veces el consumo del tumor a 1 h p.i. que **6** (no es parte de la invención), mientras su afinidad es aproximadamente veinticinco veces más alta. La proporción diana frente a no diana (PIP:flu) para **6**, sin embargo, es mayor que para **3**, reflejando una unión no específica más baja. Aquellas proporciones de diana frente a no diana aumentan a aproximadamente 140 a las 48 horas p.i. para **3** y a 31 a las 5 horas p.i. para **6**. El compuesto **8** se diferencia del **3** en que el anillo aromático es una piridina y el yodo se sustituye en la posición tres. A una hora p.i., **8** demostró una absorción en el tumor similarmente elevada ($12,05 \pm 4,92$ % DI/g) en comparación con **3**, pero tenía una proporción diana frente a no diana mucho (PIP:flu) mucho mayor a ese tiempo (22), que se elevó a 48,3 a las 24 h p.i. De manera interesante, la afinidad de **8** es la más baja entre los tres compuestos ensayados (Tabla 1), sin embargo, proporciona la mayor proporción diana frente a no diana a 1 h p.i. Como se demostró en un trabajo anterior con compuestos de esta serie marcados con ^{99m}Tc , se muestra de nuevo que no hay una clara relación entre la afinidad y la selectividad de absorción en tumor *in vivo*. De manera notable, todas estas afinidades son bastante altas y los tumores están claramente delineados (**Figuras 3-5**).

15 Biodistribución y obtención de imágenes *in vivo*

Ejemplo 22 (no es parte de la invención)

Compuesto ^{125}I 3. A un único ratón SCID implantado con xenoinjerto tanto de PC-3 PIP como de PC-3 flu se le inyectó por vía intravenosa con 37 MBq (1 mCi) de ^{125}I 3 en solución salina. A las 4 y a las 6 h p.i., se anestesió al ratón con isoflurano y se mantuvo al 1 % de isoflurano en oxígeno. Se colocó al ratón en el portal del X-SPECT (Gamma Medica, Northridge, CA) y se escaneó usando dos colimadores de orificios de alta resolución a baja energía (Gamma Medica) que rotan a lo largo de 360° con aumentos de 6° durante 45 segundos por aumento. Todas las imágenes de gamma se reconstruyeron usando el software Lunagem (Gamma Medica, Northridge, CA). Inmediatamente después de la adquisición de la SPECT, los ratones se escanearon después mediante CT (X-SPECT) sobre un campo de visión de 4,6 cm usando un haz de 600 μA y 50 kV. Los datos de SPECT y CT se registraron conjuntamente usando el software del proveedor (Gamma Medica, Northridge, CA) y se presentaron usando AMIDE (<http://amide.sourceforge.net/>). Los datos se reconstruyeron usando el algoritmo subconjuntos ordenados-esperanza de maximización (OS-EM, del inglés *Ordered Subsets-Expectation Maximization*).

La **Figura 3** muestra una imagen de SPECT-CT de absorción de radiofármaco a las 4 h p.i. Nótese la absorción intensa en el PC-3 PIP y la ausencia de absorción en el tumor PC-3 flu. La absorción tiroidea del radiotrazador indica la presencia de yoduro ^{125}I libre debido a la desiodación por dehalogenasas (35)(36). La cantidad de yoduro ^{125}I libre, sin embargo, es pequeña en comparación con la cantidad absorción en tumor PC-3 PIP (tiroides:músculo = 2; tumor PIP:tiroides = 12,5). La pequeña cantidad de absorción de radiofármaco vista en el hígado, sin absorción gastrointestinal concurrente, se debe probablemente a la naturaleza hidrofílica de ^{125}I 3 (ClogD = -5,16 a pH 7,4).

Ejemplo 23 (no es parte de la invención)

Compuesto [¹⁸F]6. PET-CT *in vivo*: Un ratón SCID que lleva xenoinjertos subcutáneos PC-3 PIP y PC-3 se anestesió usando isoflurano al 3 % en oxígeno para la inducción e isoflurano al 1,5 % en oxígeno en un flujo de 0,8 l/min para el mantenimiento y se colocó boca abajo en el portal de un escáner GE PET eXplore Vista para animales pequeños (GE Healthcare, Milwaukee, WI). Al ratón se le inyectó por vía intravenosa con 7,4 MBq (200 µCi) de [¹⁸F]6 seguido de una adquisición de imagen usando el siguiente protocolo: Las imágenes se adquirieron como un escaneo pseudodinámico, es decir, una secuencia de imágenes del cuerpo completo adquiridas en tres posiciones de cama durante un total de 90 min. El tiempo de permanencia en cada posición fue de 5 minutos, de manera que una posición de cama dada (u órgano del ratón) se revisaba cada 15 min. Se usó una ventana energética de 250 - 700 keV. Las imágenes se reconstruyeron usando el procedimiento FORE/2D-OSEM (2 iteraciones, 16 subconjuntos) y las correcciones incluidas para el decaimiento radiactivo, el tiempo muerto del escáner y la radiación dispersada.

La **Figura 4** muestra los resultados promedios del escáner dinámico a partir de 94-120 min p.i. El patrón de absorción para [¹⁸F]6 es muy similar al visto para [¹²⁵I]3: observado fácilmente en tumor PIP, ninguno en tumor flu, alta absorción en riñón y un grado modesto de absorción en hígado. Ese resultado se esperó debido a valores ClogD similares para [¹⁸F]6 (-5,64 a pH 7,4) y [¹²⁵I]3. Como para [¹²⁵I]3, la vejiga urinaria se visualiza debido a la presencia de acumulación continua de orina radiactiva, sin embargo, la unión específica a la pared de la vejiga no se ha demostrado.

Ejemplo 24

Compuesto [¹²⁵I]8. A un único ratón SCID implantado con un xenoinjerto de LNCaP se le inyectó por vía intravenosa con 37 MBq (1 mCi) de [¹²⁵I]8 en solución salina. A las 4 h p.i., se anestesió al ratón con isoflurano y se mantuvo al 1 % de isoflurano en oxígeno. Se colocó al ratón en el portal del X-SPECT (Gamma Medica, Northridge, CA) y se escaneó usando dos colimadores de orificios de alta resolución a baja energía (Gamma Medica) que rotan a lo largo de 360° con aumentos de 6° durante 45 segundos por aumento. Todas las imágenes de gamma se reconstruyeron usando el software Lunagem (Gamma Medica, Northridge, CA). Inmediatamente después de la adquisición de la SPECT, los ratones se escanearon después mediante CT (X-SPECT) sobre un campo de visión de 4,6 cm usando un haz de 600 µA y 50 kV. Los datos de SPECT y CT se registraron conjuntamente usando el software del proveedor (Gamma Medica, Northridge, CA) y se presentaron usando AMIDE (<http://amide.sourceforge.net/>). Los datos se reconstruyeron usando el algoritmo subconjuntos ordenados-esperanza de maximización (OS-EM, del inglés *Ordered Subsets-Expectation Maximization*).

La **Figura 5** muestra una imagen de SPECT-CT de absorción de radiofármaco a las 4 h p.i. La absorción y retención en el tumor fue alta, con un lavado lento, mientras que el lavado de [¹²⁵I]8 del tejido no diana fue rápido.

Datos comparativos para las proporciones diana/no diana para el fenilo frente a los análogos de piridina.

Se dan las proporciones diana/no diana para el compuesto **3** (derivado de 4-iodobenzoilo) (no es parte de la invención) a 5 horas tras la inyección y el compuesto **8** (derivado del 3-iodo-5-carboxilo-piridilo) a 4 horas tras la inyección. Las proporciones diana/no diana se muestran en la Tabla 5, a continuación.

Table 5

Tumor (T)/órgano	Comp. 3 (5 horas post inyección)	Comp. 8 (4 horas post inyección)
T/sangre	31	17
T/corazón	14	20
T/pulmón	3,5	14
T/hígado	3	1
T/estómago	15	42
T/Páncreas	8	14
T/Bazo	0,1	3
T/tejido adiposo	2	105
T/riñón	0,1	0,1
T/músculo	31	21
T/intestino delgado	8	21
T/intestino grueso	17	21

Parece que las proporciones diana/no diana mejoradas para **8** frente a **3** se deben a una eliminación de no diana más rápida de **8** incluso aunque la eliminación en sangre de cada uno es comparable y **3** tiene mayor retención tumoral, especialmente en puntos temporales más tardíos. El compuesto **3** es más lipofílico que el **8** y tiene una mayor absorción en el tejido adiposo. La retención de **3** en el tejido adiposo podría proporcionar una liberación lenta de **3** para la absorción en tumores y órganos normales.

La absorción alta y prolongada absorción en tumor y riñón (PSMA rico en ratones) de **3** se debe a la estrecha unión de estos compuestos al PSMA. El resto de 4-iodofenilo reside en una cavidad hidrofóbica accesoria para el sitio de unión a S1 y proporciona interacciones hidrofóbico-hidrofóbico adicionales (39). Los análogos de piridina son más polares que **3**, de manera que deberían tener interacciones hidrofóbico-hidrofóbico reducidas en este sitio de unión.

El compuesto **6** (no es parte de la invención) tiene incluso mejores proporciones diana/no diana que el compuesto **8**. Por lo tanto, la eliminación de fondo del análogo de piridina más polar de **6** debería dar incluso mejores proporciones de tumores no diana.

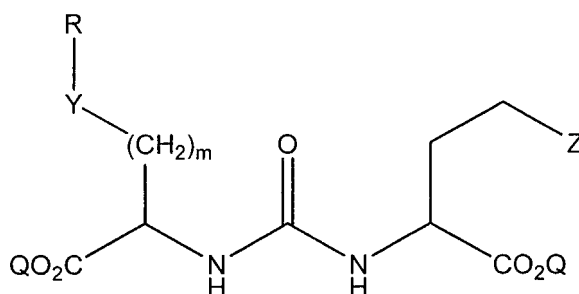
Referencias

1. Jemal, A., Murray, T., Samuels, A., Ghafoor, A., Ward, E., and Thun, M. J. (2003) Cancer statistics, 2003. *CA Cancer J Clin* 53, 5-26.
2. Geus-Oei, L. F., and Oyen, W. J. (2008) Predictive and prognostic value of FDG-PET. *Cancer Imaging* 8, 70-80
3. Larson, S. M., Morris, M., Gunther, I., Beattie, B., Humm, J. L., Akhurst, T. A., Finn, R. D., Erdi, Y., Pentlow, K., Dyke, J., Squire, O., Bornmann, W., McCarthy, T., Welch, M., and Scher, H. (2004) Tumor localization of 16beta-18F-fluoro-5alpha-dihydrotestosterone versus 18F-FDG in patients with progressive, metastatic prostate cancer. *J Nucl Med* 45, 366-373
4. Scher, B., Seitz, M., Albinger, W., Tiling, R., Scherr, M., Becker, H. C., Souvatzoglou, M., Gildehaus, F. J., Wester, H. J., and Dresel, S. (2007) Value of 11C-choline PET and PET/CT in patients with suspected prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 34, 45-53
5. Reske, S. N., Blumstein, N. M., Neumaier, B., Gottfried, H. W., Finsterbusch, F., Kocot, D., Moller, P., Glatting, G., and Perner, S. (2006) Imaging prostate cancer with 11C-choline PET/CT. *J Nucl Med* 47, 1249-1254
6. Vees, H., Buchegger, F., Albrecht, S., Khan, H., Husarik, D., Zaidi, H., Soloviev, D., Hany, T. F., and Miralbell, R. (2007) 18F-choline and/or 11C-acetate positron emission tomography: detection of residual or progressive subclinical disease at very low prostate-specific antigen values (<1 ng/ml) after radical prostatectomy. *BJU Int* 99, 1415-1420
7. Ponde, D. E., Dence, C. S., Oyama, N., Kim, J., Tai, Y. C., Laforest, R., Siegel, B. A., and Welch, M. J. (2007) 18F-fluoroacetate: a potential acetate analog for prostate tumor imaging—in vivo evaluation of 18F-fluoroacetate versus 11C-acetate. *J Nucl Med* 48, 420-428
8. Schuster, D. M., Votaw, J. R., Nieh, P. T., Yu, W., Nye, J. A., Master, V., Bowman, F. D., Issa, M. M., and Goodman, M. M. (2007) Initial experience with the radiotracer anti-1-amino-3-18F-fluorocyclobutane-1-carboxylic acid with PET/CT in prostate carcinoma. *J Nucl Med* 48, 56-63
9. Oka, S., Hattori, R., Kurosaki, F., Toyama, M., Williams, L. A., Yu, W., Votaw, J. R., Yoshida, Y., Goodman, M. M., and Ito, O. (2007) A preliminary study of anti-1-amino-3-18F-fluorocyclobutyl-1-carboxylic acid for the detection of prostate cancer. *J Nucl Med* 48, 46-55
10. Tehrani, O. S., Muzik, O., Heilbrun, L. K., Douglas, K. A., Lawhorn-Crews, J. M., Sun, H., Mangner, T. J., and Shields, A. F. (2007) Tumor imaging using 1-(2'-deoxy-2'-18F-fluoro-beta-D-arabinofuranosyl)thymine and PET. *J Nucl Med* 48, 1436-1441
11. Chang, S. S., Reuter, V. E., Heston, W. D., Bander, N. H., Grauer, L. S., and Gaudin, P. B. (1999) Five different anti-prostate-specific membrane antigen (PSMA) antibodies confirm PSMA expression in tumor-associated neovasculature. *Cancer Res* 59, 3192-3198.
12. Zhou, J., Neale, J. H., Pomper, M. G., and Kozikowski, A. P. (2005) NAAG peptidase inhibitors and their potential for diagnosis and therapy. *Nat Rev Drug Discov* 4, 1015-1026
13. Chang, S. S. (2004) Overview of prostate-specific membrane antigen. *Rev Urol* 6 Suppl 10, S13-18
14. Murphy, G. P., Kenny, G. M., Ragde, H., Wolfert, R. L., Boynton, A. L., Holmes, E. H., Misrock, S. L., Bartsch, G., Klocker, H., Pointner, J., Reissigl, A., McLeod, D. G., Douglas, T., Morgan, T., and Gilbaugh, J., Jr. (1998) Measurement of serum prostate-specific membrane antigen, a new prognostic marker for prostate cancer. *Urology* 51, 89-97.
15. Galsky, M. D., Eisenberger, M., Moore-Cooper, S., Kelly, W. K., Slovin, S. F., DeLaCruz, A., Lee, Y., Webb, I. J., and Scher, H. I. (2008) Phase I trial of the prostate-specific membrane antigen-directed immunoconjugate MLN2704 in patients with progressive metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol* 26, 2147-2154
16. Lange, P. H. (2001) PROSTASCINT scan for staging prostate cancer. *Urology* 57, 402-406.
17. Haseman, M. K., Rosenthal, S. A., and Polascik, T. J. (2000) Capromab Pendetide imaging of prostate cancer. *Cancer Biother Radiopharm* 15, 131-140.
18. Rosenthal, S. A., Haseman, M. K., and Polascik, T. J. (2001) Utility of capromab pendetide (ProstaScint) imaging in the management of prostate cancer. *Tech Urol* 7, 27-37.
19. Banerjee, S. R., Foss, C. A., Mease, R. C., Fox, J., Kozikowski, A. P., and Pomper, M. G. (2008) Synthesis and evaluation of 99mTc/Re labeled PSMA inhibitors. *J Med Chem* 51, 4504-4517.
20. Vaidyanathan, G., and Zalutsky, M. R. (1994) Improved synthesis of N-succinimidyl 4-[18F]fluorobenzoate and its application to the labeling of a monoclonal antibody fragment. *Bioconjug Chem* 5, 352-356

21. Vaidyanathan, G., and Zalutsky, M. R. (2006) Synthesis of N-succinimidyl 4-[18F]fluorobenzoate, an agent for labeling proteins and peptides with 18F. *Nature protocols* 1, 1655-1661
22. Vaidyanathan, G., and Zalutsky, M. R. (1992) Labeling proteins with fluorine-18 using N-succinimidyl-4-[18F]fluorobenzoate. *Int J Rad Appl Instrum Part B* 19, 275-281
- 5 23. Chen, X., Park, R., Shahinian, A. H., Tohme, M., Khankaldyyan, V., Bozorgzadeh, M. H., Bading, J. R., Moats, R., Laug, W. E., and Conti, P. S. (2004) 18F-labeled RGD peptide: initial evaluation for imaging brain tumor angiogenesis. *Nucl Med Biol* 31, 179-189
24. Dekker, B., Keen, H., Shaw, D., Disley, L., Hastings, D., Hadfield, J., Reader, A., Allan, D., Julyan, P., Watson, A., and Zweit, J. (2005) Functional comparison of annexin V analogues labeled indirectly and directly with iodine-124. *Nucl Med Biol* 32, 403-413
- 10 25. Garg, S., Garg, P. K., and Zalutsky, M. R. (1991) N-succinimidyl 5-(trialkylstannyl)-3-pyridinecarboxylates: a new class of reagents for protein radiiodination. *Bioconjug Chem* 2, 50-56
26. Lupold, S. E., Hicke, B. J., Lin, Y., and Coffey, D. S. (2002) Identification and characterization of nuclease-stabilized RNA molecules that bind human prostate cancer cells via the prostate-specific membrane antigen. *Cancer Res* 62, 4029-4033
- 15 27. Robinson, M. B., Blakely, R. D., Couto, R., and Coyle, J. T. (1987) Hydrolysis of the brain dipeptide N-acetyl-L-aspartyl-L-glutamate. Identification and characterization of a novel N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase activity from rat brain. *J Biol Chem* 262, 14498-14506
28. Cheng, H. C. (2001) determination of KB or Ki from IC50. A closer look at the Cheng-Prusoff equation, the Schild plot and related power equations. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 46, 61-71
- 20 29. Kozikowski, A. P., Nan, F., Conti, P., Zhang, J., Ramadan, E., Bzdega, T., Wroblewska, B., Neale, J. H., Pshenichkin, S., and Wroblewski, J. T. (2001) Design of remarkably simple, yet potent urea-based inhibitors of glutamate carboxypeptidase II (NAALADase). *J Med Chem* 44, 298-301.
30. Kozikowski, A. P., Zhang, J., Nan, F., Petukhov, P. A., Grajkowska, E., Wroblewski, J. T., Yamamoto, T., Bzdega, T., Wroblewska, B., and Neale, J. H. (2004) Synthesis of urea-based inhibitors as active site probes of glutamate carboxypeptidase II: efficacy as analgesic agents. *J Med Chem* 47, 1729-1738
- 25 31. Slusher, B. S., Tsai, G., Yoo, G., and Coyle, J. T. (1992) Immunocytochemical localization of the N-acetyl-aspartyl-glutamate (NAAG) hydrolyzing enzyme N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase (NAALADase). *J Comp Neurol* 315, 217-229
- 30 32. Silver, D. A., Pellicer, I., Fair, W. R., Heston, W. D., and Cordon-Cardo, C. (1997) Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. *Clin Cancer Res* 3, 81-85
33. Bzdega, T., Crowe, S. L., Ramadan, E. R., Sciarretta, K. H., Olszewski, R. T., Ojeifo, O. A., Rafalski, V. A., Wroblewska, B., and Neale, J. H. (2004) The cloning and characterization of a second brain enzyme with NAAG peptidase activity. *J Neurochem* 89, 627-635
- 35 34. Hlouchova, K., Barinka, C., Klusak, V., Sacha, P., Mlcochova, P., Majer, P., Rulisek, L., and Konvalinka, J. (2007) Biochemical characterization of human glutamate carboxypeptidase III. *J Neurochem* 101, 682-696
35. Bakker, W. H., Krenning, E. P., Breeman, W. A., Koper, J. W., Kooij, P. P., Reubi, J. C., Klijn, J. G., Visser, T. J., Docter, R., and Lamberts, S. W. (1990) Receptor scintigraphy with a radioiodinated somatostatin analogue: radiolabeling, purification, biologic activity, and in vivo application in animals. *J Nucl Med* 31, 1501-1509
- 40 36. Bakker, W. H., Krenning, E. P., Breeman, W. A., Kooij, P. P., Reubi, J. C., Koper, J. W., de Jong, M., Lameris, J. S., Visser, T. J., and Lamberts, S. W. (1991) In vivo use of a radioiodinated somatostatin analogue: dynamics, metabolism, and binding to somatostatin receptor-positive tumors in man. *J Nucl Med* 32, 1184-1189.
37. Garg, S., Garg, P.K., Zhao, X-G., Friedman, H.S., Bigner, D.D., and Zalutsky, M.R., Radioiodination of a monoclonal antibody using N-succinimidyl 5-iodo-3-pyridinecarboxylate *Nucl. Med. Biol.* 20: 835-842 (1993);
- 45 38. Ghirmai, S., Mume, E., Tolmachev, V., and Sjoberg, S., Synthesis and radioiodination of some daunorubicin and doxorubicin derivatives *Carbohydrate Research* 340 15-24 (2005).
39. Barinka, C., Byun, Y., Dusich, C.L., Banerjee, S.R., Chen, Y., Castanares, M., Kozikowski, A.P., Mease, R.C., Pomper, Martin G., and Lubkowski, J., Interactions between human glutamate carboxypeptidase II and urea-based inhibitors: Structural Characterizations. *J. Med. Chem.* 51: 7737-7743 (2008).

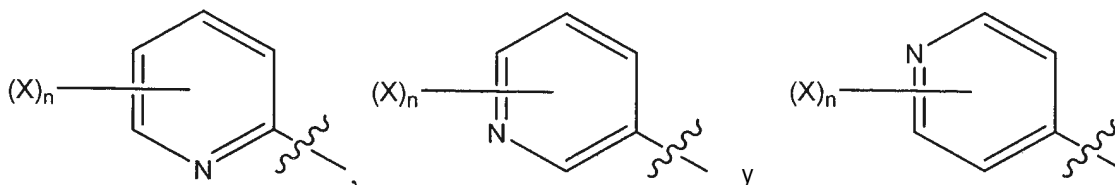
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura



en la que

- 5 Z es tetrazol o CO₂Q;
 cada Q se selecciona independientemente entre hidrógeno o un grupo protector; y en la que
 m es 0, 1, 2, 3, 4, 5, o 6;
 R es un anillo de piridina seleccionado entre el grupo que consiste en



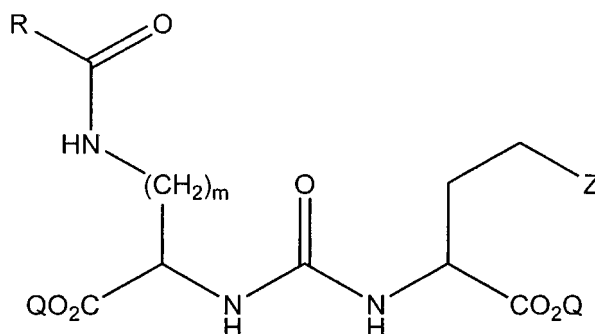
- 10 en la que X es flúor, yodo, un radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, un radioisótopo de astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), B(OH)₂, -NHNH₂, -NHN=CHR³, -NHNH-CH₂R³;
 n es 1, 2, 3, 4, o 5;
 Y es O, S, N(R'), C(O), NR'C(O), C(O)N(R'), OC(O), C(O)O, NR'C(O)NR', NR'C(S)NR', NR'S(O)₂, S(CH₂)_p,
 15 NR'(CH₂)_p, O(CH₂)_p, OC(O)CHR⁸NHC(O), NHC(O)CHR⁸NHC(O), o un enlace covalente; en los que p es 1, 2,
 o 3, R' es H o alquilo C₁-C₆, y R⁸ es hidrógeno, alquilo, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar
 sustituido;
 R² es alquilo C₁-C₆; y
 20 R³ es alquilo, alquenoilo, alquinoilo, arilo, o heteroarilo cada uno de los cuales está sustituido con flúor, yodo, un
 radioisótopo de flúor, un radioisótopo de yodo, cloro, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de
 astatina, NO₂, NH₂, N⁺(R²)₃, Sn(R²)₃, Si(R²)₃, Hg(R²), o B(OH)₂; o una sal farmacéuticamente aceptable del
 mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Z es CO₂Q.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que Q es hidrógeno.

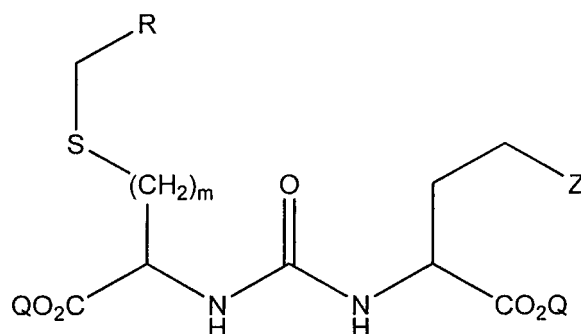
25 4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que m es 1, 2, 3, o 4.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la estructura



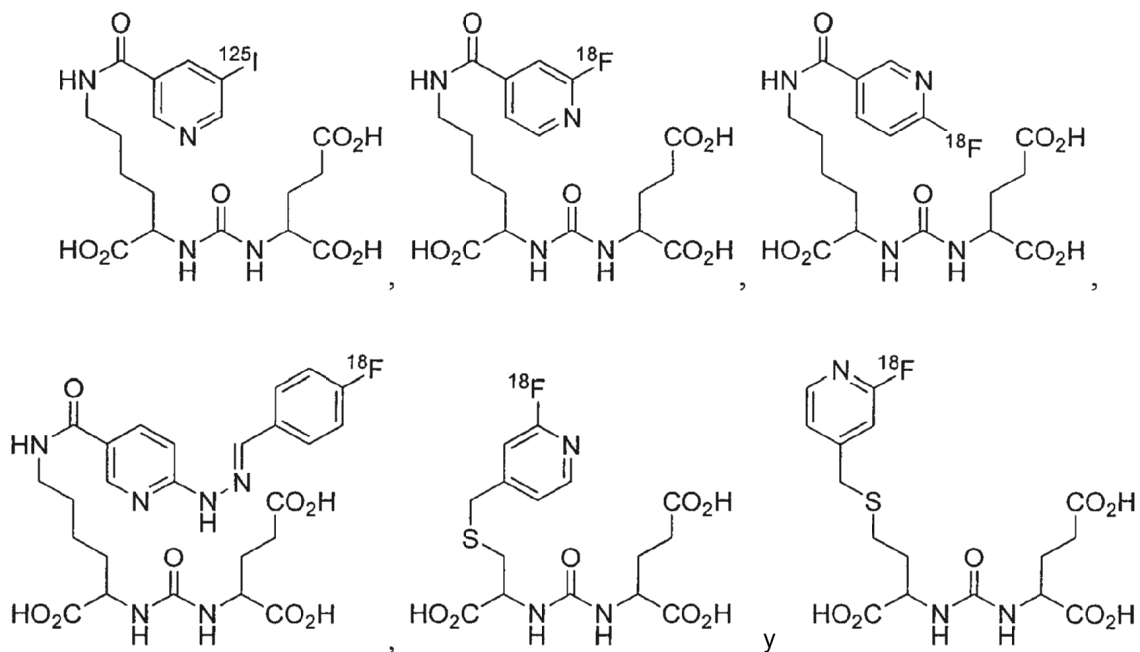
en la que m no es 0.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en el que Z es CO₂Q, Q es hidrógeno, y m es 4.
 7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la estructura



en la que m no es 0.

- 5 8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en el que Z es CO₂Q, Q es hidrógeno, y m es 1, 2, o 3.
 9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que n es 1.
 10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que X es flúor, yodo, o un radioisótopo de flúor o yodo, bromo, un radioisótopo de bromo, o un radioisótopo de astatina.
 10 11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que X es flúor, yodo, o un radioisótopo de flúor o yodo.
 12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que R comprende un radioisótopo.
 13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el radioisótopo se selecciona entre el grupo que consiste en ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹²⁶I, ¹³¹I, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷Br, ⁸⁰Br, ^{80m}Br, ⁸²Br, ⁸³Br y ²¹¹At.
 15 14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado entre el grupo que consiste en



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15. La composición de la reivindicación 1 o 14, en la que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de sodio, sal de potasio, sal de calcio, sal de magnesio, o una sal de amonio cuaternario.
 20 16. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12-14 para su uso en un procedimiento de

obtención de imágenes de una o más células, órganos o tejidos.

17. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, en el que el uno o más órganos o tejidos incluye tejido de próstata, tejido del riñón, tejido cerebral, tejido vascular o tejido tumoral.

5 18. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 que comprende un radioisótopo terapéuticamente eficaz para su uso en un procedimiento de tratamiento tumoral.

19. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 14 para su uso en un procedimiento para tratar un tumor.

20. Un kit que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14.

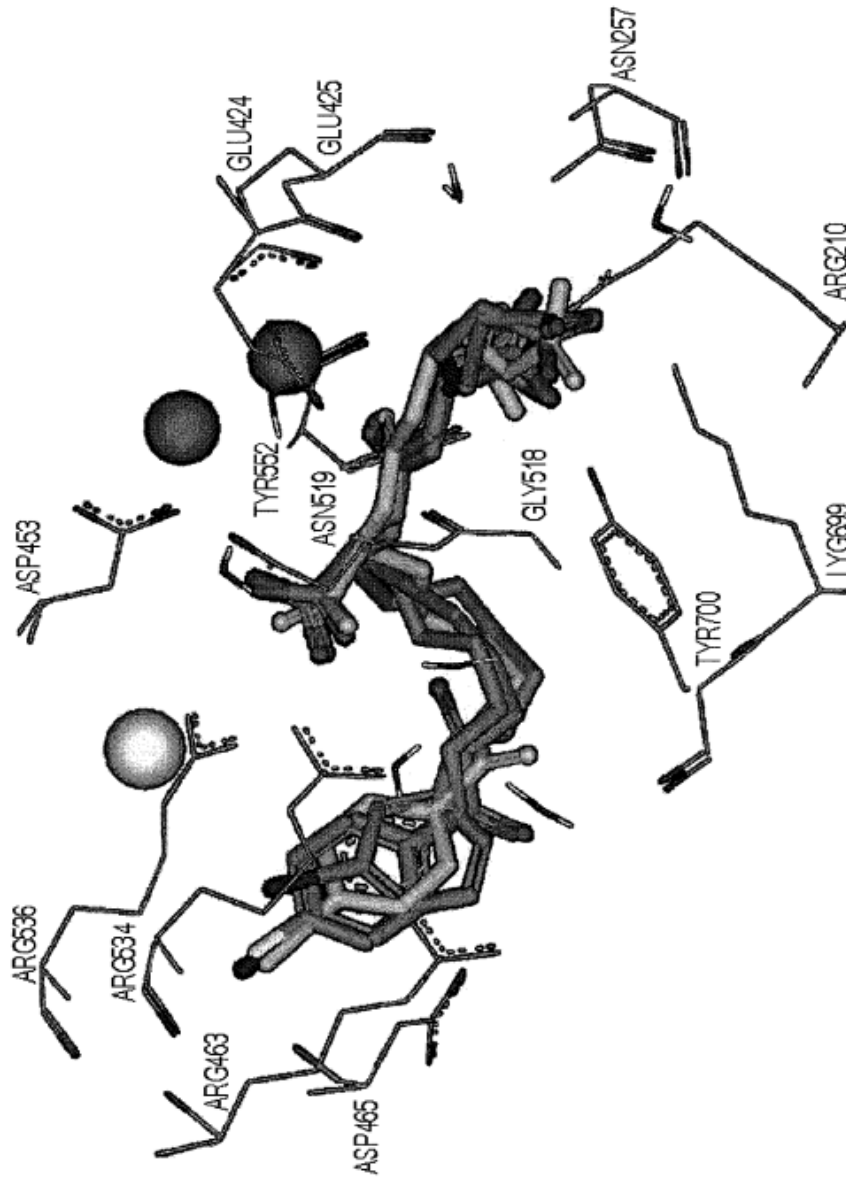


FIG 1

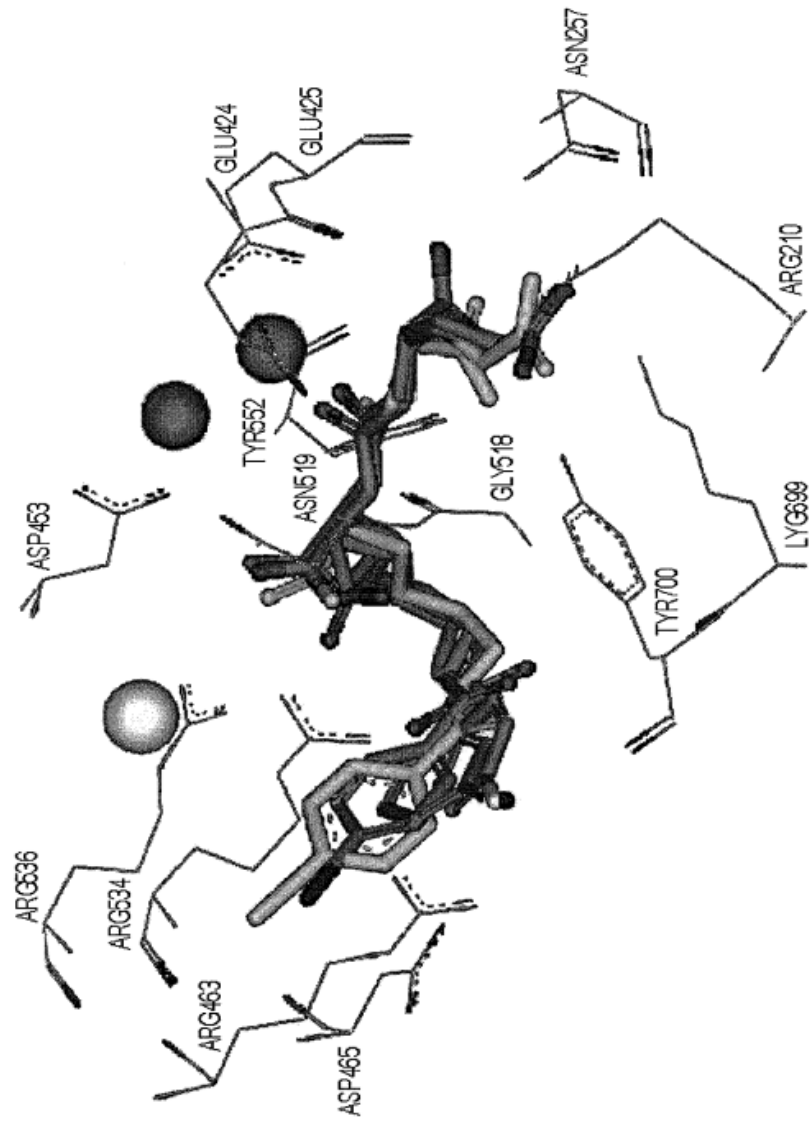


FIG 2

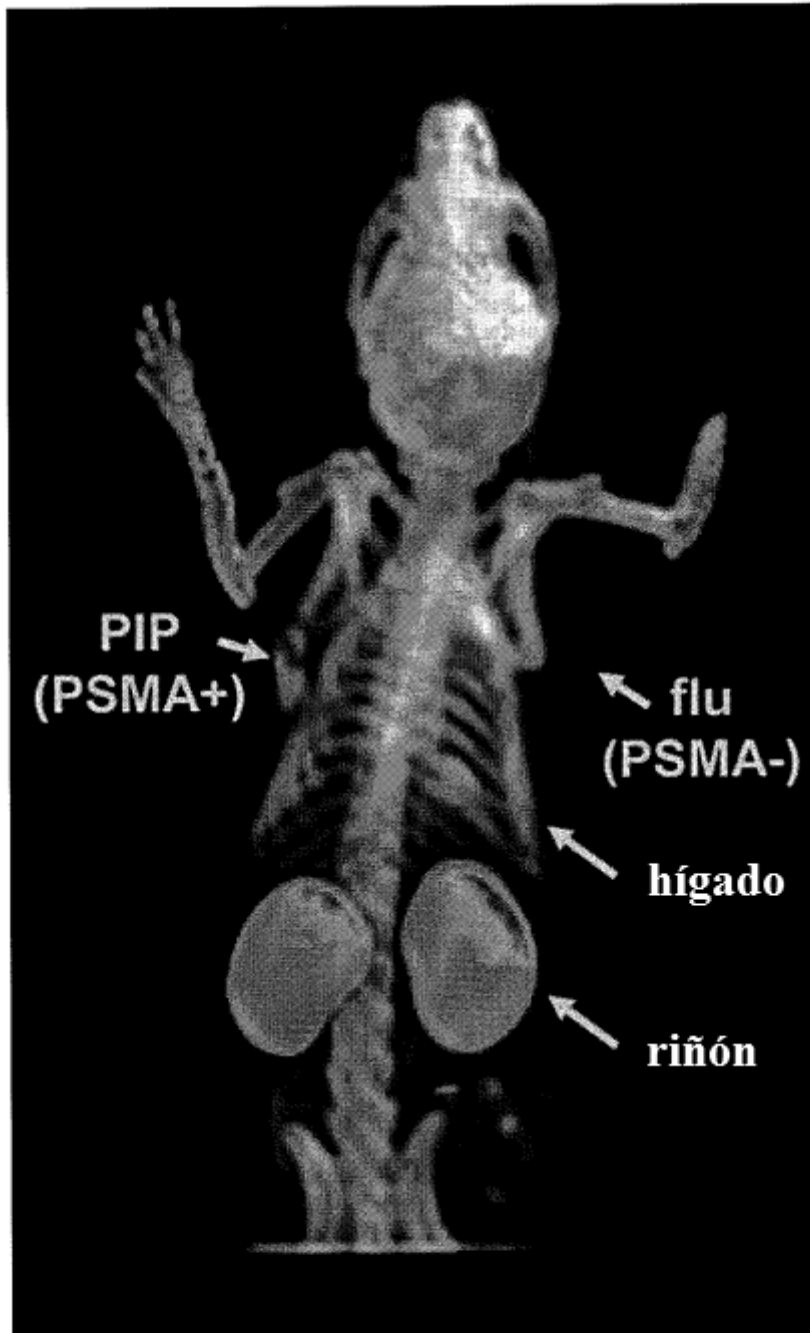


FIG 3

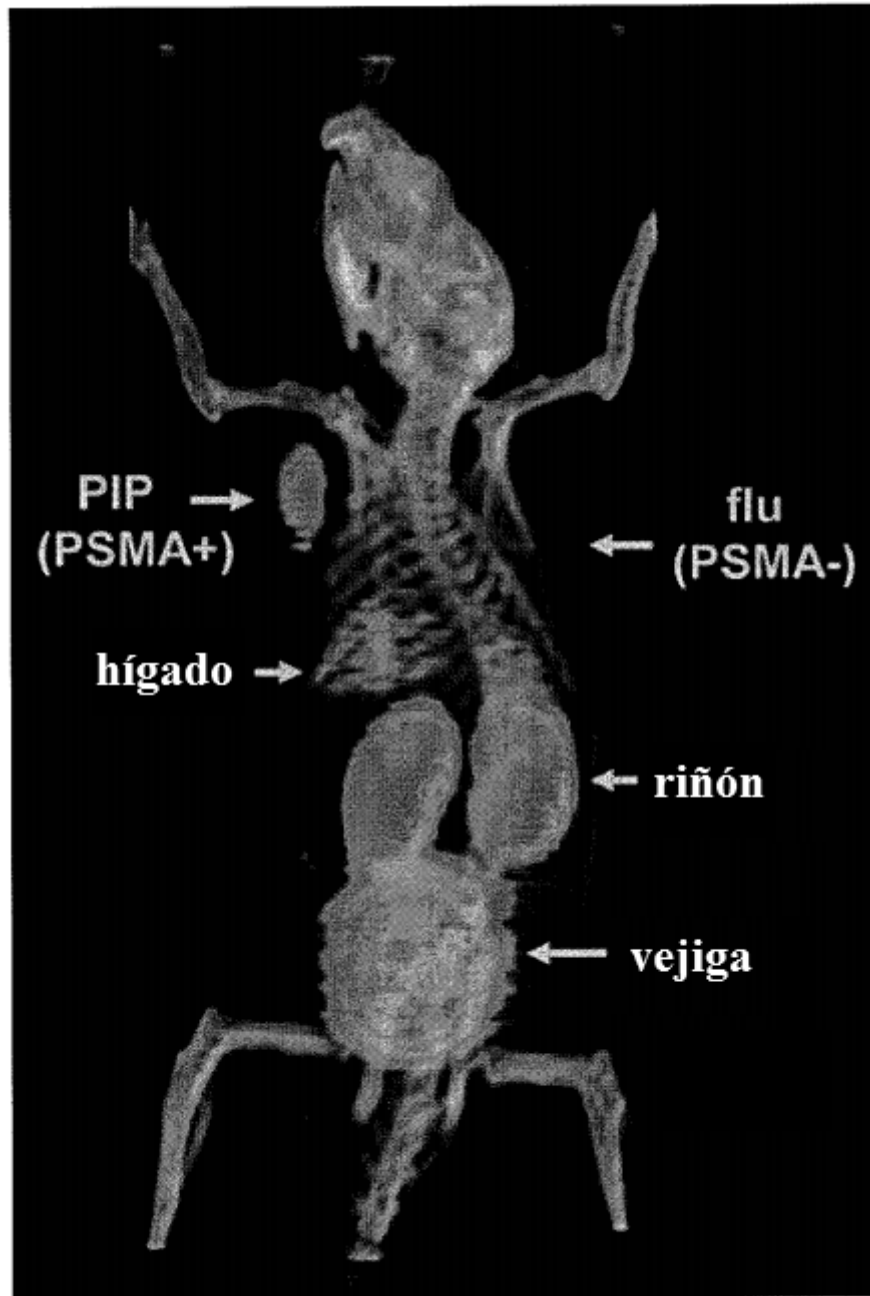


FIG 4

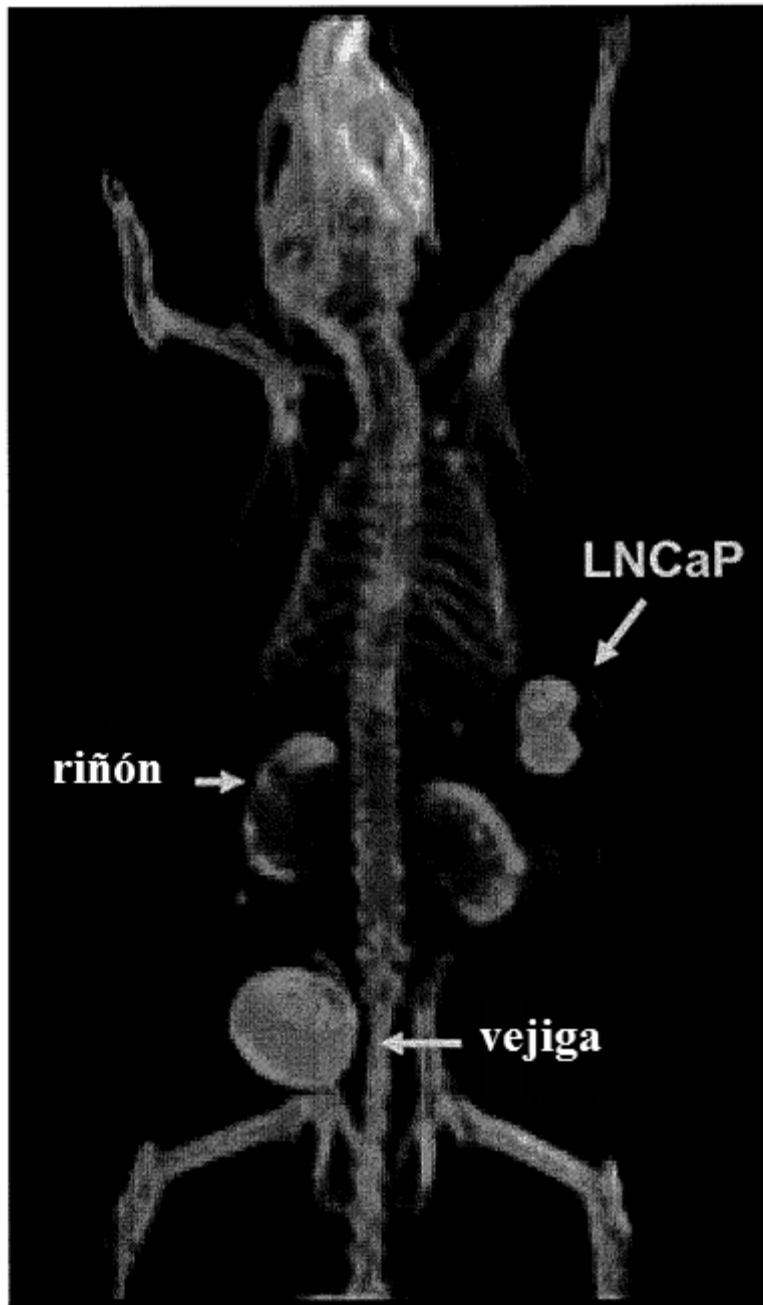


FIG 5