

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 700 348**

51 Int. Cl.:

C07D 243/24 (2006.01)

C07D 235/26 (2006.01)

A61K 36/55 (2006.01)

C07D 263/62 (2006.01)

C07D 277/62 (2006.01)

C07D 411/04 (2006.01)

A01N 43/52 (2006.01)

A01N 43/76 (2006.01)

A01N 43/78 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.01.2015 PCT/US2015/010129**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.07.2015 WO15103526**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.01.2015 E 15733272 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018 EP 3089965**

54 Título: **Trazadores radioetiquetados para poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1), métodos y usos para estos**

30 Prioridad:

05.01.2014 US 201461923759 P

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

15.02.2019

73 Titular/es:

WASHINGTON UNIVERSITY (100.0%)

**One Brookings Drive
St. Louis, MO 63130, US**

72 Inventor/es:

**MACH, ROBERT;
CHU, WENHUA;
ZHOU, DONG;
MICHEL, LOREN y
CHEN, DELPHINE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 700 348 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

Trazadores radioetiquetados para poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1), métodos y usos para estos.

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad en virtud del título 35 del Código de los Estados Unidos, artículo 119(e) de la solicitud provisional de los EE. UU. núm. de serie 61/923.759 presentada el 5 de enero de 2014.

Declaración sobre investigación o desarrollo subvencionado por el gobierno federal

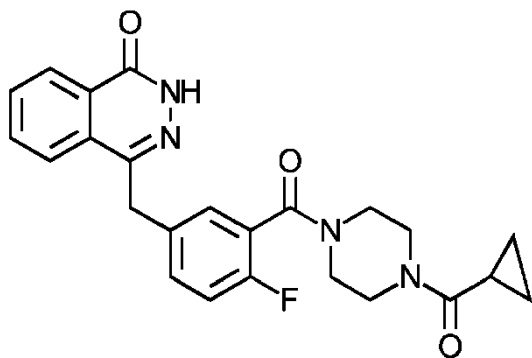
La presente invención se llevó a cabo con el apoyo de las subvenciones NIH P01 HL13851 y NIH R01 HL116389 del Instituto Nacional de Salud. El gobierno de los Estados Unidos de América puede tener ciertos derechos sobre este trabajo.

Campo técnico

Las presentes enseñanzas pertenecen al campo de los trazadores radioetiquetados para la obtención de imágenes de la distribución de PARP-1.

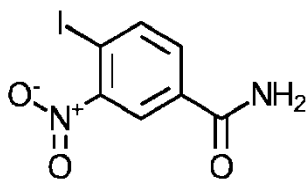
Introducción

La poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP-1) es uno de los miembros más abundantes de la familia PARP de enzimas nucleares.¹ Sus funciones mejor caracterizadas son detectar el daño en el ADN y facilitar la reparación del ADN, pero la PARP-1 también participa en muchos otros procesos celulares relacionados con el ADN, tales como la regulación de la apoptosis, la división celular, diferenciación, regulación de la transcripción y estabilización cromosómica.²⁻⁵ La PARP-1 también puede tener una función central en la regulación de las respuestas inflamatorias. La PARP-1, una proteína de 113 kD, tiene tres dominios estructurales únicos: el dominio de unión a ADN en el extremo N con dos dedos de cinc que se une específicamente a cortes de cadena de ADN dañado;^{1,6} el dominio de automodificación central; y el dominio catalítico en el extremo C que transfiere secuencialmente unidades de ADP-ribosa desde el dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD⁺, por sus siglas en inglés) a aceptores de proteína.⁷ Debido a su importante función en la reparación del ADN, la PARP-1 se ha convertido en una diana farmacológica activamente investigada en los últimos 20 años, con grandes esfuerzos de inversión para desarrollar diversas generaciones de inhibidores de PARP-1 (FIG. 1) con fines terapéuticos, especialmente en el área de la lesión por isquemia-reperfusión y el cáncer.^{5,8} Más recientemente, se ha demostrado que la inhibición de PARP1 es un método eficaz para inducir letalidad sintética en cánceres que dependen de la actividad de la PARP1 para la supervivencia.⁹ Además, los inhibidores de PARP o la ausencia de expresión de PARP en ratones transgénicos reduce el grado de inflamación presente y, por lo tanto, protege diversos órganos, incluidos los pulmones, de los efectos nocivos de la inflamación persistente. Por lo tanto, en la actualidad, varios inhibidores de PARP, incluidos olaparib (AZD2281



KU-59436), veliparib (ABT-888), rucaparib (PF-01367338, AG014699) y niraparib (MK4827) se están sometiendo a evaluación en ensayos clínicos como fármacos antineoplásicos¹⁰⁻¹⁴. Estos inhibidores de PARP inhiben eficazmente la actividad de PARP1, así como la actividad de otras enzimas similares a PARP tales como PARP2 y tanquirasa¹⁵. Otros inhibidores de PARP incluyen benzimidazol carboxamida (NU1085)²¹ y su derivado (AG014361).²²

Sin embargo, a pesar de los resultados prometedores de los ensayos clínicos relacionados con la supervivencia sin progresión, las diferencias en la capacidad de diversos inhibidores de PARP para suprimir la actividad tumoral de PARP no se pueden determinar con precisión mediante los ensayos actuales. Además, se descubrió recientemente que el mecanismo de acción de iniparib,



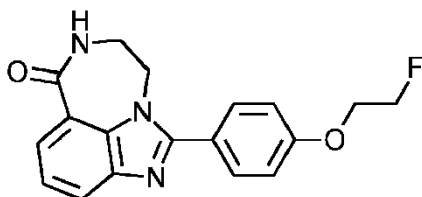
que se desarrolló inicialmente como inhibidor de PARP, probablemente no está relacionado con la inhibición de la actividad de PARP¹⁶. Por lo tanto, se necesitan métodos para cuantificar la actividad tumoral de PARP de manera no invasiva in vivo para demostrar la inhibición de PARP específica para el tumor, así como para evaluar la duración de la inhibición eficaz de PARP para guiar la toma de decisiones sobre dosificación.

La obtención de imágenes mediante tomografía por emisión de positrones (PET, por sus siglas en inglés) podría ser una estrategia eficaz para determinar de manera no invasiva los niveles de actividad de PARP. [¹¹C]PJ-34, un trazador dirigido a PARP-1, exhibió algún potencial en la obtención de imágenes de la expresión de PARP-1 en un modelo animal de diabetes.¹⁷ Recientemente, se sintetizó un derivado de olaparib/AZD2281 etiquetado con ¹⁸F mediante una estrategia de etiquetado de dos etapas usando una cicloadición [4 + 2] entre trans-cicloocteno y tetrazina y se usó en estudios celulares in vitro y en la obtención de imágenes de tumores mediante microPET.¹⁸⁻²⁰

Compendio

En diversas realizaciones, las presentes enseñanzas incluyen inhibidores de PARP-1 radioetiquetados para medir la expresión de PARP-1 y generar imágenes de la distribución de PARP-1 in vivo con PET. En diversas realizaciones, las presentes enseñanzas incluyen diversos compuestos que se unen a PARP-1 y se etiquetan con un radionúclido que emite positrones tal como ¹⁸F. En diversas realizaciones, también se describen los métodos de síntesis de los compuestos. Además, se describen las potencias de inhibición contra PARP-1 de los compuestos de las presentes enseñanzas.

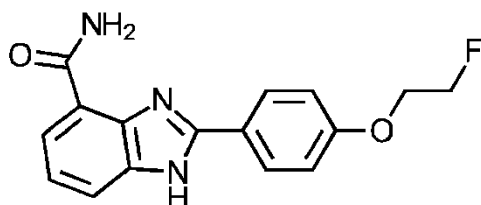
En algunas configuraciones, 2-[p-(2-Fluoroetoxi)fenil]-1.3.10-triazatriciclo[6.4.1.0^{4,13}]trideca-2,4(13),5,7-tetraen-9-ona



(**12**) ($Cl_{50} = 6,3 \pm 1,3$ nM) puede etiquetarse con ¹⁸F. En diversas configuraciones, el etiquetado con ¹⁸F puede hacerse en una etapa y puede proporcionar purzas química y radioquímica elevadas. En algunas configuraciones, la obtención de imágenes con microPET se puede usar para demostrar la captación aumentada de [¹⁸F]**12** en tumores MDA-MB-436. En algunas configuraciones, la captación aumentada se puede bloquear mediante **12** y olaparib/AZD2281.

En diversas realizaciones, se ha desarrollado un inhibidor de PARP-1 **12** ($Cl_{50} = 6,3$ nM). El [¹⁸F]**12** se puede sintetizar usando métodos de etiquetado convencionales con purzas elevada y actividad específica. Los estudios con microPET de [¹⁸F]**12** en ratones con tumores MBA-MD-436 demostraron la acumulación de la radioactividad en estos tumores que se sabe que sobreexpresan PARP-1. La captación tumoral se puede bloquear mediante el inhibidor de PARP-1 olaparib y mediante **12**, que respalda la especificidad de la captación de [¹⁸F]**12** para la actividad de PARP-1. Por lo tanto, el [¹⁸F]**12** puede ser útil como trazador en PET para generar imágenes de la expresión de PARP-1 in vivo.

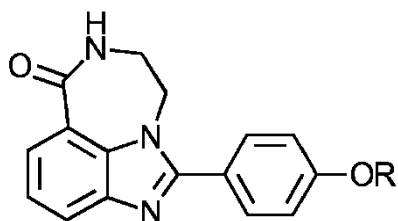
En diversas realizaciones, la incorporación del radionúclido se puede lograr a través de un grupo fluoroetoxi por medio de sustitución nucleófila²⁸ con [¹⁸F]fluoruro, o por medio de reacción clic catalizada por Cu(I) usando 2-[¹⁸F]fluoroetil azida.^{29,30} Los correspondientes análogos de 2-fluoroetoxi y 2-fluoroetil triazol de NU1085 y AG014361 se pueden sintetizar según los Esquemas 1 y 2, respectivamente, en apenas unas pocas etapas. Aunque los grupos propargil y triazol redujeron ligeramente la potencia de inhibición de los análogos, el más potente de estos fue **12** ($Cl_{50} = 6,3$ nM), con un grupo 2-fluoroetoxi, seguido por



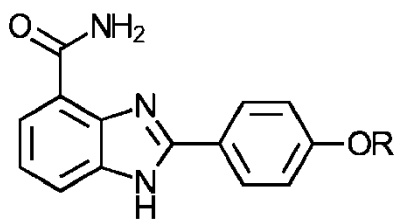
(8) ($Cl_{50} = 10,8$).

En algunas configuraciones, el etiquetado de una etapa de [^{18}F]**12** en condiciones típicas se puede automatizar para la producción clínica de este trazador. En algunas configuraciones, la dosis final para inyección puede tener purezas química y radioquímica elevadas y puede tener excelente actividad específica. En diversas configuraciones, la masa inyectada de [^{18}F]**12** en los estudios con microPET puede ser 0,0037-0,012 μ g/dosis (0,2 mCi/dosis), que puede ser mucho más baja que la dosis de bloqueo y las dosis terapéuticas. Esta cantidad de masa puede ser improbable para lograr un efecto farmacológico. Por lo tanto, el [^{18}F]**12** puede ser útil como trazador en PET para generar imágenes de la expresión de PARP-1 in vivo y de los tumores. En algunas configuraciones, un trazador de PARP-1 tal como [^{18}F]**12** también puede ser útil para identificar a pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas en quienes los tratamientos con el inhibidor de PARP podrían posiblemente retrasar la progresión de la enfermedad inflamatoria.

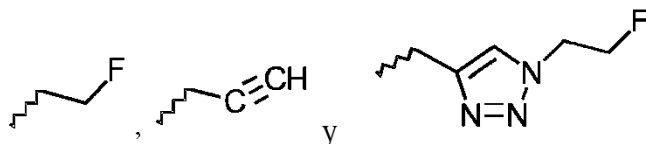
Por lo tanto, las presentes enseñanzas incluyen compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de estos, de la estructura



o de la estructura



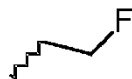
en donde R se puede seleccionar del grupo que consiste en



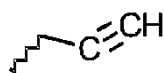
en donde



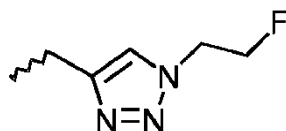
representa una unión. En algunas configuraciones, R puede ser



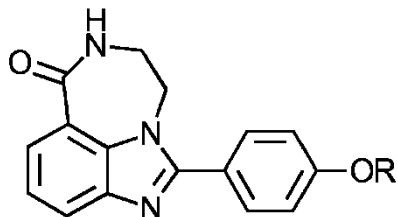
En algunas configuraciones, el F puede ser un ^{18}F . En algunas configuraciones, R puede ser



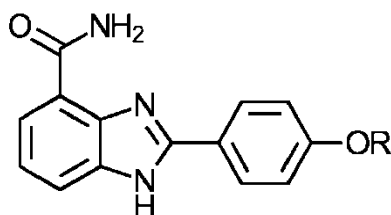
En algunas configuraciones, R puede ser



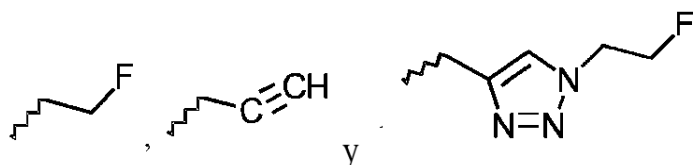
En algunas realizaciones, las presentes enseñanzas incluyen métodos para generar imágenes de un tumor en un sujeto, así como métodos para generar imágenes de inflamación en un sujeto. En diversas configuraciones, estos métodos pueden comprender administrar a un sujeto un compuesto de la estructura



5 o de la estructura



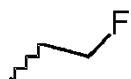
en donde R se puede seleccionar del grupo que consiste en



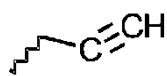
en donde

10

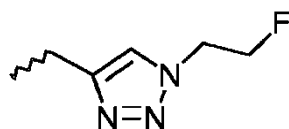
representa una unión. En algunas configuraciones, R puede ser



En algunas configuraciones, el F puede ser un ^{18}F . En algunas configuraciones, R puede ser



15 En algunas configuraciones, R puede ser



en donde el compuesto comprende un radionúclido emisor de positrones tal como ^{18}F . Los métodos pueden incluir, además, someter al sujeto a exploración por PET.

20 En diversas configuraciones de las presentes enseñanzas, un sujeto puede ser un ser humano que presenta, o se sospecha que presenta, un tumor o inflamación. Un sujeto puede ser también un animal que presenta, o se sospecha que presenta, un tumor o inflamación. El animal puede ser un mamífero, por ejemplo, un animal de compañía tal como, por ejemplo, un gato o perro, un animal de laboratorio tal como, por ejemplo, un ratón, cobayo, conejo o rata, o un animal grande, tal como, por ejemplo, un caballo, una oveja, una vaca o una cabra.

Breve descripción de los dibujos.

25 La Figura 1 ilustra ejemplos de inhibidores de PARP-1 (técnica anterior).

La Figura 2 ilustra la HPLC analítica de [^{18}F]**12** (WC-4-138), que muestra purzas química y radioquímica elevadas. (Parte superior: UV, Parte inferior: radioactividad; actividad específica = 11 500 mCi/ μmol).

Las Figuras 3A-D ilustran imágenes de microPET de tumores MDA-MB-231 y MDA-MB-436 en ratones tras 60 min usando [^{18}F]**12** en condiciones iniciales y bloqueados con olaparib (i.p. 50 mg/kg 20 min pretratamiento) y **12** (i.p. 1 mg/kg 20 min pretratamiento). Hilera superior: Tumor MDA-MB-231 antes y después del tratamiento con olaparib (i.p. 50 mg/kg 20 min pretratamiento). Hilera inferior: Tumores MDA-MB-436 (derecha) y MDA-MB-231 (izquierda) antes y después de **12** (i.p. 1 mg/kg 20 min pretratamiento). La Figura 3A, y la Figura 3B y la Figura 3C representan los canales RGB rojo, verde y azul, respectivamente, cada uno reproducido en blanco y negro. La Figura 3D representa una combinación de los canales RGB representados en blanco y negro.

La Figura 4 ilustra la curva de tiempo-radioactividad de [^{18}F]**12** en tumores MDA-MB-436 en ratones en las condiciones iniciales y bloqueados con olaparib (i.p. 50 mg/kg 20 min pretratamiento) y **12** (i.p. 1 mg/kg 20 min pretratamiento, gráfico superior). El tumor MDA-MB-231 tratado con olaparib también demostró captación reducida de [^{18}F]**12** (gráfico inferior).

La Figura 5 ilustra el análisis de la captación de [^{18}F]WC-4-138 (**12**) y la actividad de PARP en líneas celulares de cáncer.

La Figura 6 ilustra la estabilidad metabólica del trazador [^{18}F]WC-4-138 según se evalúa en ratones adultos.

La Figura 7 ilustra ratones con tumores MDA/MB-231 (cáncer de mama) que se sometieron a obtención de imágenes dinámica durante 60 minutos después de la inyección del trazador [^{18}F]WC-4-138.

La Figura 8A-B ilustra ratones con tumores MDA/MB-231 (cáncer de mama) o SCC1 (HNSCC) que se sometieron a obtención de imágenes dinámica durante 60 minutos después de la inyección del trazador [^{18}F]WC-4-138.

Descripción detallada

Las presentes enseñanzas en diversas realizaciones incluyen trazadores que se pueden usar para la obtención de imágenes de tumores o de inflamación mediante exploración por PET. En diversos aspectos, los trazadores se pueden unir a PARP-1 con afinidad elevada. En diversas realizaciones, las presentes enseñanzas también incluyen métodos de síntesis de los trazadores. Los trazadores de las presentes enseñanzas, cuando se etiquetan con un radioisótopo emisor de positrones tal como ^{18}F , se pueden administrar a un sujeto por vía intravenosa u otros medios adecuados.

Los métodos descritos en la presente memoria usan técnicas de laboratorio conocidas para los expertos en la técnica y se puede encontrar orientación en manuales y libros de texto para laboratorio tales como Sambrook, J., et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3a ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001; Spector, D. L. et al., *Cells: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1998; Hedrickson et al., *Organic Chemistry* 3a edición, McGraw Hill, Nueva York, 1970; Carruthers, W., and Coldham, I., *Modern Methods of Organic Synthesis* (4a edición), Cambridge University Press, Cambridge, R. U., 2004; Curati, W.L., *Imaging in Oncology*, Cambridge University Press, Cambridge, R. U., 1998; Welch, M.J., and Redvanly, C.S., eds. *Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications*, J. Wiley, Nueva York, 2003. Los métodos de administración de sustancias farmacéuticas y regímenes de dosificación se pueden determinar según principios de farmacología estándares conocidos para los expertos en la técnica, usando métodos proporcionados por textos de referencia estándares tales como Remington: the Science and Practice of Pharmacy (Alfonso R. Gennaro ed. 19a ed. 1995); Hardman, J.G., et al., *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Novena edición, McGraw-Hill, 1996; y Rowe, R.C., et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Cuarta edición, Pharmaceutical Press, 2003.

En los experimentos descritos en la presente memoria, los reactivos y materiales se adquirieron a proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional, a menos que se indique lo contrario. Las sustancias químicas de adquirieron a Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EE. UU.) a menos que se indique lo contrario. Todas las reacciones se llevaron a cabo mediante técnicas estándares sin aire y sin humedad en una atmósfera de nitrógeno inerte con disolventes secos a menos que se indique lo contrario.

La cromatografía en columna rápida se puede llevar a cabo usando una variedad de métodos e instrumentos incluidos gel de sílice de Scientific Adsorbents, Inc., 60A, «40 Micron Flash» (32-63 μm). Los puntos de fusión se pueden determinar usando una variedad de métodos e instrumentos conocidos en la técnica, incluido el aparato MEL-TEMP 3.0. En algunas configuraciones, los datos de punto de fusión no están corregidos. Los espectros de RMN con ^1H y ^{13}C a 300 MHz se pueden registrar a través de una variedad de métodos de rutina en una variedad de instrumentos, incluido un espectrómetro Varian Mercury-VX. En algunas configuraciones, los desplazamientos químicos se pueden informar como partes por millón (ppm) a campo más bajo desde tetrametilsilano (TMS). Todas las constantes de acoplamiento (J) se proporcionan en Hertz (Hz). Los patrones de división típicamente se describen a saber: s, singlete; d, doblete; t, triplete; m, multiplete.

El análisis elemental (C, H, N) se puede determinar mediante una variedad de organizaciones de contrato comercial tales como Atlantic Microlab, Inc., Norcross, GA. La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés) se puede llevar a cabo con un detector ultravioleta y un detector de NaI (TI) de centelleo en pocillo y la electrónica asociada para la detección de la radioactividad. Se pueden usar una columna semipreparativa Grace Altima C18 250 × 10 mm 10 μ (A) y una columna analítica Altima C18 250 × 4,6 mm 10 μ (B) para la preparación y el análisis, respectivamente. El [¹⁸F]fluoruro se puede producir mediante la reacción de ¹⁸O(p,n)¹⁸F a través de irradiación de protones de agua enriquecida con [¹⁸O] (95 %) en el ciclotrón RDS111. La Radio-TLC se puede lograr usando un explorador generador de imágenes Bioscan AR-2000 (Bioscan, Inc., Washington, DC). Los métodos publicados se usaron para la síntesis del compuesto **5**²⁷ y **11**²². Todos los experimentos con animales se llevaron a cabo según los protocolos aprobados por el Comité de estudios con animales de la Washington University IACUC según las recomendaciones de la «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» («Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio») del Consejo de investigación nacional.

Ejemplos

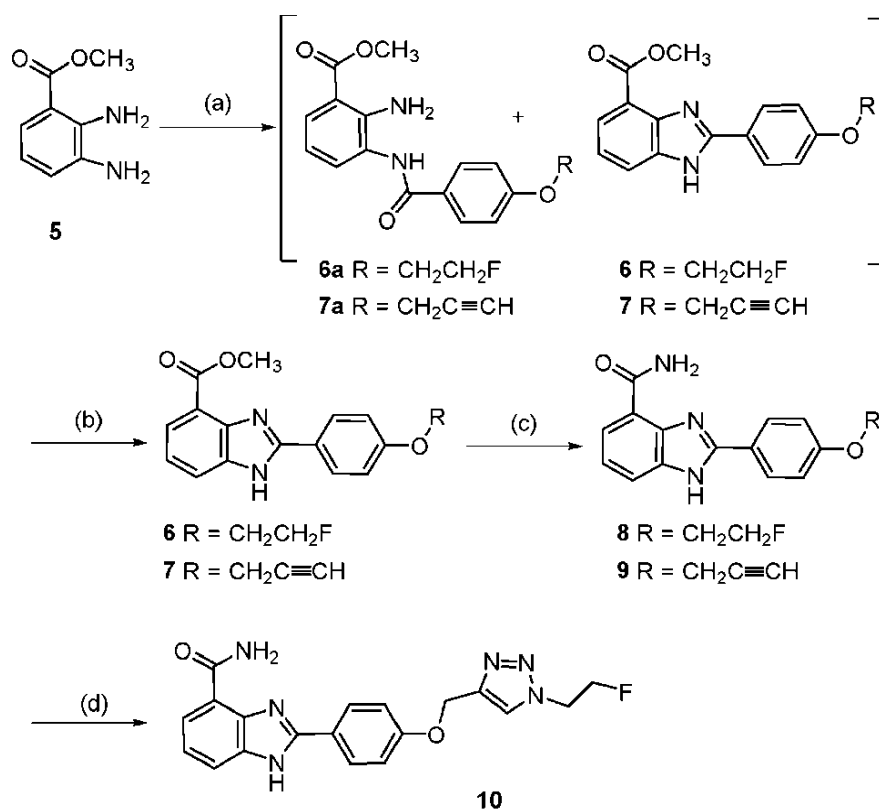
Las presentes enseñanzas incluidas las descripciones proporcionadas en los Ejemplos que no se pretende que limiten el alcance de ninguna reivindicación. A menos que se presente específicamente en pasado, un ejemplo puede ser profético o real. Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar adicionalmente las presentes enseñanzas.

Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra la síntesis de inhibidores de PARP-1. Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, infra.

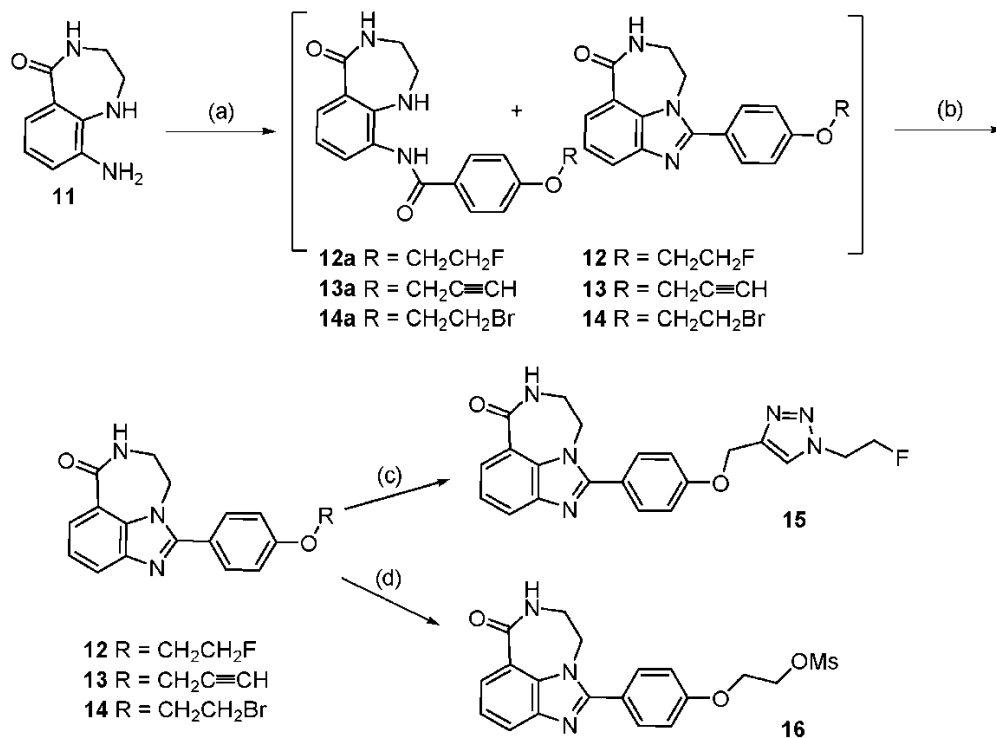
Las síntesis de los inhibidores de PARP-1 de las presentes enseñanzas se muestran en los Esquemas 1 y 2. Se hizo reaccionar 2,3-diaminobenzato de metilo (**5**) con cloruro de 4-(2-fluoroetoxi)benzoilo en piridina y diclorometano para proporcionar una mezcla del intermediario **6a** y el compuesto de benzimidazol **6**. Tras la evaporación del disolvente, la mezcla se sometió a reflujo con ácido metanosulfónico en metanol para proporcionar **6**. A continuación, el éster de metilo de **6** se convirtió en el compuesto de amida **8** usando amonio en metanol. De manera similar, el análogo de alquino **9** se sintetizó a partir de **5** y cloruro de 4-(prop-2-inilo)benzoilo. El compuesto de triazol **10** se preparó mediante la reacción clic catalizada por cobre(I) de 2-fluoroetilazida y **9** usando CuSO₄·5H₂O y ascorbato de sodio en DMF.

Los compuestos triciclo se sintetizaron a partir del intermediario de diamina **11**. El compuesto **11** se hizo reaccionar con cloruro de 4-(2-fluoroetoxi)benzoilo en piridina y diclorometano para proporcionar una mezcla del intermediario **12a** y el benzimidazol **12**. Tras la evaporación del disolvente, la mezcla se sometió a reflujo con ácido metanosulfónico en metanol para proporcionar **12**. De manera similar, se prepararon **13** y **14** a partir de los correspondientes cloruros de bencilo. El compuesto **15** se preparó mediante la reacción clic en la misma condición que para **10** usando 2-fluoroetilazida y **13**. El precursor de mesilato **16** para el etiquetado de **12** con ¹⁸F se sintetizó mediante reflujo de **14** y metanosulfonato de plata en acetonitrilo.



Esquema 1. Síntesis de derivados de NU1985 (2)

Reactivos y condiciones: (a) ROC₆H₄COCl (R = CH₂CH₂F para **6a** y **6**, R = CH₂C≡CH para **7a** y **7**) piridina, CH₂Cl₂; (b) CH₃SO₃H, MeOH; (c) NH₃, MeOH; (d) **9**, FCH₂CH₂N₃, CuSO₄, ascorbato de sodio, DMF.



Esquema 2. Síntesis de derivados de AG014361 (3)

Reactivos y condiciones: (a) $\text{ROC}_6\text{H}_4\text{COCl}$ ($\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ para **12a** y **12**, $\text{R} = \text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ para **13a** y **13**, $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ para **14a** y **14**), piridina, CH_2Cl_2 ; (b) $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, MeOH ; (c) **13**, $\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$, CuSO_4 , ascorbato de sodio, DMF ; (d) **14**, AgOMs , acetonitrilo.

Ejemplo 2

- 5 Este ejemplo ilustra la síntesis de 2-(4-(2-fluoroetoxi)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-4-carboxilato de metilo (**6**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

Se agitó una mezcla de 2,3-diaminobenzoato de metilo **5** (500 mg, 3 mmol) y cloruro de 4-(2-fluoroetoxi)benzoilo (638 mg, 3,15 mmol) en CH_2Cl_2 (10 mL) y piridina (10 mL) durante toda la noche a 23 °C. Tras retirar el disolvente a presión reducida, el residuo se disolvió en metanol (50 mL) y posteriormente se agregó $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ (1 mL). A continuación, la mezcla se sometió a reflujo durante 3 h, se retiró el metanol a presión reducida y el residuo se disolvió en acetato de etilo (75 mL). La disolución se lavó con Na_2CO_3 saturado (50 mL), agua (50 mL) y NaCl saturado (50 mL) y se secó sobre Na_2SO_4 . Tras la evaporación del disolvente, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con hexano-acetato de etilo (1 : 1) para proporcionar **6** como un sólido blanco (686 mg, 73 %), mp 134,2-134,6 °C. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 10,58 (s, 1H), 7,98 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,95 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,83 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,26 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 6,98 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 4,75 (dt, J = 47,1 Hz, 4,2 Hz, 2H), 4,22 (dt, J = 27,6 Hz, 4,2 Hz, 2H), 3,96 (s, 3H). ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 167,0, 160,2, 152,3, 144,8, 135,0, 128,2, 124,4, 124,2, 122,3, 121,7, 114,9, 113,0, 81,6 (d, J = 169,7 Hz), 67,1 (d, J = 20,6 Hz), 52,0.

Ejemplo 3

- 20 Este ejemplo ilustra la síntesis de 2-(4-(prop-2-iniloxi)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-4-carboxilato de metilo (**7**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

El compuesto **7** se preparó según el mismo procedimiento que para el compuesto **6** (Ejemplo 2), excepto que se usa el compuesto **5** (500 mg, 3 mmol) y cloruro de 4-(prop-2-iniloxi)benzoilo (613 mg, 3,15 mmol) como materiales de partida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con hexano-acetato de etilo (1 : 1) para proporcionar **7** como un sólido blanco (724 mg, 79 %), mp 176,0-176,8 °C. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 10,58, 8,03 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,98 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,29 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 4,76 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 4,00 (s, 3H), 2,57 (t, J = 2,4 Hz, 1H). ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 167,1, 159,4, 152,4, 144,9, 135,1, 128,2, 124,6, 124,3, 122,8, 121,8, 115,4, 113,0, 77,9, 76,0, 55,8, 52,1.

Ejemplo 4

- 30 Este ejemplo ilustra la síntesis de 2-(4-(2-Fluoroetoxi)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-4-carboxamida (**8**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

Una disolución de Compuesto **6** (315 mg, 1 mmol) en 7 N NH_3 en metanol (10 mL) se agitó durante 3 días a 23 °C. Tras la evaporación del disolvente, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con hexano-acetato de etilo (1 : 2) para proporcionar **8** como un sólido blanco (245 mg, 82 %), mp 195,8-197,4 °C. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,44 (s, 1H), 8,23 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,89 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,80 (s, 2H), 7,74 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,34 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,81 (dt, J = 47,7 Hz, 3,6 Hz, 2H), 4,37 (dt, J = 30,0 Hz, 3,9 Hz, 2H). ^{13}C RMN (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 166,4, 160,1, 152,0, 135,5, 128,6, 122,7, 122,0, 115,1, 82,1 (d, J = 166,2 Hz), 67,3 (d, J = 19,4 Hz). Calc. Anal. para $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{O}_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$: C, 62,33; H, 4,90; N, 13,63. Hallado: C, 62,54; H, 4,87; N, 13,67.

- 40 Ejemplo 5

Este ejemplo ilustra la síntesis de 2-(4-(Prop-2-iniloxi)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-4-carboxamida (**9**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

El compuesto **9** se preparó según el mismo procedimiento que para el compuesto **8**, excepto que se usa el compuesto **7** (460 mg, 1,5 mmol) como material de partida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con hexano-acetato de etilo (1 : 2) para proporcionar **9** como un sólido blanco (378 mg, 86 %), mp 183,4-183,9 °C. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,39 (s, 1H), 8,21 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,87 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,78 (s, 2H), 7,72 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,32 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 4,92 (d, J = 1,8 Hz, 2H), 3,63 (s, 1H). ^{13}C RMN (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 166,4, 159,0, 152,0, 128,5, 122,7, 122,3, 121,9, 115,4, 78,9, 78,6, 55,7. Calc. Anal. para $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$: C, 67,99; H, 4,70; N, 13,99. Observado: C, 67,97; H, 4,72; N, 13,71.

- 50 Ejemplo 6

Este ejemplo ilustra la síntesis de 2-(4-((1-(2-Fluoroetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-4-carboxamida (**10**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

Una mezcla de **9** (291 mg, 1,0 mmol), 1-azido-2-fluoroetano (1,68 mmol), ascorbato de sodio (990 mg, 5,0 mmol) y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (125 mg, 0,5 mmol) en DMF (10 mL) se agitó durante toda la noche a 23 °C. La mezcla de reacción se

diluyó con acetato de etilo (75 mL) y se lavó con agua (2 × 50 mL) y NaCl saturado (50 mL), se secó sobre Na₂SO₄. Tras la evaporación del disolvente, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo para proporcionar **10** como un sólido blanco (255 mg, 67 %), mp 256,4-257,3 °C. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 9,42 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,21 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,87 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,78 (s, 2H), 7,71 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,32 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,27 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 5,28 (s, 2H), 4,85 (dt, J = 46,8 Hz, 4,5 Hz, 2H), 4,76 (dt, J = 27,6 Hz, 4,2 Hz, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-d₆) δ 166,3, 159,9, 152,0, 142,5, 141,6, 135,3, 128,6, 125,1, 122,7, 122,1, 121,9, 115,3, 114,7, 99,5, 81,9 (d, J = 167,3 Hz), 61,3, 50,1 (d, J = 20,5 Hz). Calc. Anal. para C₁₉H₁₇FN₃O₂: C, 59,99; H, 4,50; N, 22,09. Observado: C, 60,10; H, 4,67; N, 21,49.

Ejemplo 7

- 10 Este ejemplo ilustra la síntesis de 5,6-Dihidro-2-(4-(2-fluoroetoxi)fenil)-imidazo[4,5,1-jk][1,4]benzodiazepin-7(4H)-ona (**12**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

El compuesto **12** (WC-4-138) se preparó según el mismo procedimiento que para el compuesto **6**, excepto que se usa el compuesto **11** (177 mg, 1 mmol) y cloruro de 4-(2-fluoroetoxi)benzoilo (213 mg, 1,05 mmol) como materiales de partida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo-metanol (10:1) para proporcionar **12** como un sólido blanco (247 mg, 76 %), mp 236,0-237,5 °C. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,44 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 7,89-7,80 (m, 4H), 7,34 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,79 (dt, J = 48,9 Hz, 3,6 Hz, 2H), 4,44 (m, 2H), 4,35 (dt, J = 31,2 Hz, 3,9 Hz, 2H), 3,53 (m, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-d₆) δ 167,8, 159,9, 154,1, 143,7, 132,9, 131,7, 125,5, 123,1, 122,5, 121,9, 118,1, 115,1, 82,5 (d, J = 165,0 Hz), 67,7 (d, J = 19,3 Hz), 50,9, 40,8. Calc. Anal. para C₁₈H₁₆FN₃O₂: C, 66,45; H, 4,96; N, 12,92. Observado: C, 66,43; H, 5,03; N, 12,92.

Ejemplo 8

Este ejemplo ilustra la síntesis de 5,6-Dihidro-2-(4-(prop-2-iniloxi)fenil)-imidazo[4,5,1-jk][1,4]benzodiazepin-7(4H)-ona (**13**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

El compuesto **13** se preparó según el mismo procedimiento que para el compuesto **6**, excepto que se usa el compuesto **11** (177 mg, 1 mmol) y cloruro de 4-(prop-2-iniloxi)benzoilo (204 mg, 1,05 mmol) como materiales de partida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo-metanol (10:1) para proporcionar **13** como un sólido blanco (268 mg, 84 %), mp 258,0-259,1 °C. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,47 (s, 1H), 7,85 (m, 4H), 7,34 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 4,93 (s, 2H), 4,46 (m, 2H), 3,64 (s, 1H), 3,54 (m, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-d₆) δ 167,4, 158,5, 153,6, 143,3, 132,5, 131,1, 125,1, 122,7, 122,4, 121,5, 117,7, 115,0, 79,0, 78,5, 55,6, 50,5. Calc. Anal. para C₁₉H₁₅N₃O₂: C, 71,91; H, 4,76; N, 13,24. Observado: C, 71,71; H, 4,82; N, 12,98.

Ejemplo 9

Este ejemplo ilustra la síntesis de 2-(4-(2-Bromoetoxi)fenil)-5,6-dihidro-imidazo[4,5,1-jk][1,4]benzodiazepin-7(4H)-ona (**14**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

El compuesto **14** se preparó según el mismo procedimiento que para el compuesto **6**, excepto que se usa el compuesto **11** (177 mg, 1 mmol) y cloruro de 4-(2-bromoetoxi)benzoilo (277 mg, 1,05 mmol) como materiales de partida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo-metanol (10 : 1) para proporcionar **14** como un sólido blanco (255 mg, 66 %), mp descompuesto 280 °C. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,44 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 7,87 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,85 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,82 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,34 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,16 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,44 (m, 4H), 3,86 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,53 (m, 2H). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ 167,8, 159,7, 154,1, 143,7, 132,9, 131,7, 125,5, 123,1, 122,6, 122,0, 118,1, 115,2, 68,4, 50,5, 40,8.

Ejemplo 10

Este ejemplo ilustra la síntesis de 5,6-Dihidro-2-(4-((1-(2-fluoroetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenil)-imidazo[4,5,1-jk][1,4]benzodiazepin-7(4H)-ona (**15**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

El compuesto **15** se preparó según el mismo procedimiento que para el compuesto **10**, excepto que se usa el compuesto **13** (159 mg, 0,5 mmol) como material de partida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo-metanol (10:1) para proporcionar **15** como un sólido blanco (147 mg, 72 %), mp 226,5-227,6 °C. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,46 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,89-7,81 (m, 4H), 7,34 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,25 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,28 (s, 2H), 4,85 (dt, J = 47,1 Hz, 4,2 Hz, 2H), 4,76 (dt, J = 27,6 Hz, 4,2 Hz, 2H), 4,45 (m, 2H), 3,54 (m, 2H). ¹³C RMN (75 MHz, DMSO-d₆) δ 167,4, 159,4, 143,3, 142,6, 131,2, 125,1, 125,0, 122,7, 122,0, 121,5, 117,7, 114,8, 81,9 (d, J = 167,3 Hz), 61,2, 50,5, 50,1 (d, J = 20,5 Hz), 40,4. Calc. Anal. para C₂₁H₁₉FN₆O₂·1,5H₂O: C, 58,19; H, 5,12; N, 19,39. Observado: C, 57,89; H, 4,54; N, 18,92

Ejemplo 11

Este ejemplo ilustra la síntesis de 5,6-Dihidro-2-(4-(2-(metilsulfonilo)etoxi)fenil)-imidazo[4,5,1-jk][1,4]benzodiazepin-7(4H)-ona (**16**). Los números de los compuestos se refieren a los Esquemas 1 y 2, supra.

Una mezcla de **14** (193 mg, 0,5 mmol) y AgOMs (508 mg, 2,5 mmol) se sometió a reflujo durante 8 h. Tras la evaporación del disolvente, el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo-metanol (10 : 1) para proporcionar **16** como un sólido blanco (129 mg, 64 %), mp 253,2-254,1 °C. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,97 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,76 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,40 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,59 (t, J = 4,0 Hz, 2H), 4,49 (t, J = 4,0 Hz, 2H), 4,35 (t, J = 4,0 Hz, 2H), 3,65 (m, 2H), 3,12 (s, 3H). ¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 160,2, 148,1, 142,7, 135,7, 132,2, 131,1, 131,0, 125,8, 122,6, 122,1, 121,4, 116,9, 114,6, 68,3, 66,0, 50,5, 40,6, 36,0.

Ejemplo 12

Este ejemplo ilustra ensayos de actividad de PARP-1.

Los inhibidores de PARP-1 recientemente sintetizados se evaluaron para determinar su capacidad para inhibir la PARP-1 usando el método descrito por Putt y Hergenrother.²³ Los resultados se muestran en la Tabla 1. Los compuestos triciclo benzimidazol tuvieron una potencia de inhibición más alta que sus respectivos análogos de benzimidazol (p. ej., **12** con respecto a **8**, **15** con respecto a **10**). En los análogos de benzimidazol y triciclo benzimidazol, los análogos con el sustituyente fluoroetoxi tuvieron potencias de inhibición tres veces más altas que los respectivos análogos con el grupo fluoroetil triazol (p. ej., **8** con respecto a **10**, **12** con respecto a **15**). Por lo tanto, el inhibidor más potente, **12**, se seleccionó para el etiquetado con ¹⁸F.

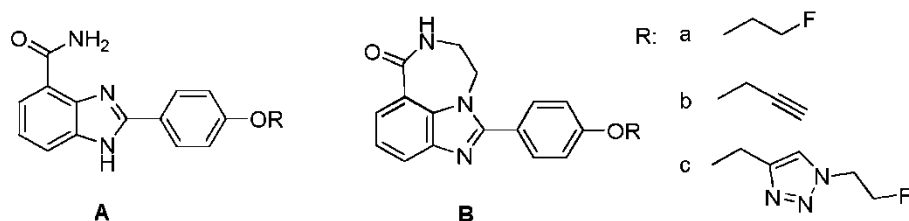


Tabla 1. Eficacia de inhibición de los inhibidores de PARP-1

Compuesto	Estructura	R	Cl ₅₀ (nM)
1 PJ34	/	/	170,2 ± 8,3 ^a
8	A	a	10,8 ± 0,4
9	A	b	25,8 ± 3,3
10	A	c	30,3 ± 5,6
12	B	a	6,3 ± 1,3
13	B	b	18,7 ± 2,7
15	B	c	22,1 ± 6,3
a. Valores informados: Cl ₅₀ = 20 nM, CE ₅₀ = 35 nm, ^{3,24}			

Ejemplo 13

Este ejemplo ilustra un ensayo de actividad enzimática de PARP-1.

Este ensayo se basa en la cuantificación química de NAD⁺, es decir, la cantidad de NAD⁺ consumida cuando el dominio catalítico del extremo C de PARP-1 activa transfiere secuencialmente subunidades de ADP-ribosa desde el dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD⁺) a los aceptores de proteína.⁷

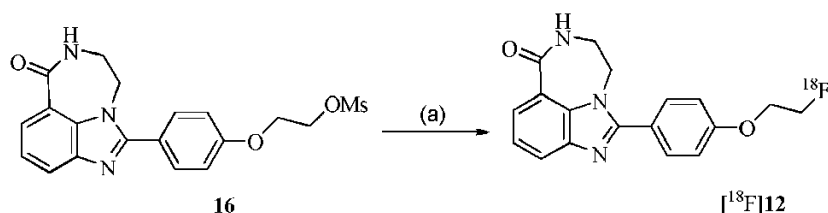
Se adquirieron PARP-1 de actividad específica elevada y ADN activado a Trevigen (Gaithersburg, MD). Todos los otros reactivos necesarios para este ensayo incluido el NAD⁺ se adquirieron a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). El

inhibidor de PARP-1 conocido PJ-34, se usó como testigo en estos experimentos y se sintetizó internamente. Para someter a prueba los compuestos para la inhibición de PARP-1, primero se preparó una disolución de 250 nM de NAD^+ en 50 mM de Tris-HCl, 2 mM de MgCl_2 , a pH 8,0 (tampón de ensayo con PARP) y se transfirieron 20 μL a cada pocillo de una placa de fluorescencia negra de 96 pocillos. Se preparó una disolución de 50 $\mu\text{g/mL}$ de ADN activado en tampón de ensayo con PARP y se agregaron 10 μL a cada pocillo. Se prepararon primero disoluciones concentradas de los compuestos de prueba en DMSO, se diluyeron hasta concentraciones variables en tampón de ensayo con PARP y se agregaron 10 μL a cada pocillo. Para iniciar la reacción, se agregaron 10 μL de 10 $\mu\text{g/mL}$ de enzima PARP-1 en tampón de ensayo con PARP a cada pocillo. El volumen total fue de 50 μL , que proporcionó concentraciones finales de 2 $\mu\text{g/mL}$ de enzima PARP-1, 10 $\mu\text{g/mL}$ de ADN activado y 100 nM de NAD^+ por pocillo. A continuación, la placa se incubó a temperatura ambiente durante 20 min. Después, se determinó la cantidad de NAD^+ presente al agregar primero 20 μL de 2 M KOH y posteriormente 20 μL de acetofenona al 20 % (en etanol) a cada pocillo. La placa se dejó incubar a 4 °C durante 10 min. A continuación, se agregaron 90 μL de ácido fórmico al 88 % que resultó en una concentración final de 222 mM de KOH, acetofenona 2,2 %, ácido fórmico al 44 % y concentraciones variables de NAD^+ . La placa se incubó a 100 °C durante 5 min., se dejó enfriar y a continuación se leyó en un fluorómetro de microplaca Perkin Elmer Victor (Waltham, MA) usando filtros de 360 nm de excitación y 450 nm de emisión. Se generaron curvas de dosis-respuesta usando GraphPad Prism versión 5.04 para Windows (San Diego, CA) donde los pocillos testigo que contenían solo NAD^+ se fijaron a 0 % de actividad de PARP y los pocillos testigos que contenían solo PARP-1 se fijaron a 100 % de actividad de PARP. Los valores de Cl_{50} se calcularon a partir de las curvas de dosis-respuesta generadas a partir de al menos tres experimentos independientes y se indicaron en la Tabla 1 como la media $\pm$ desviación típica (DT).

Ejemplo 14

Este ejemplo ilustra la síntesis de inhibidores de PARP-1 radioetiquetados.

$[^{18}\text{F}]\mathbf{12}$ se sintetizó mediante la sustitución nucleófila del precursor mesilato **16** en condiciones convencionales ($\text{K}_{222}/\text{K}_2\text{CO}_3$) en DMF a 105 °C (Esquema 3), y se obtuvo $[^{18}\text{F}]\mathbf{12}$ con un rendimiento de 40-50 % (descomposición corregida) después de la purificación por HPLC en fase inversa y la extracción de la fase sólida (Figura 2). El tiempo de síntesis total fue de 90 min. La actividad específica de la dosis final en 10 % etanol/disolución salina fue de 5500-18000 mCi/ μmol .



Esquema 3. Radiosíntesis de $[^{18}\text{F}]\mathbf{12}$

Reactivos y condiciones: $[^{18}\text{F}]\text{KF}$, K_{222} , K_2CO_3 , DMF, 105 °C, 10 min.

Ejemplo 15

Este ejemplo ilustra, además, la síntesis del $[^{18}\text{F}]\text{Compuesto } 12$ (WC-4-138).

Se transfirió $[^{18}\text{F}]\text{fluoruro}$ (hasta 50 mCi en 100-500 μL de $[^{18}\text{O}]\text{agua}$) a un recipiente al vacío BD (13 $\times$ 75 mm, 5 mL, vidrio, sin aditivos) que contenía K_{222} (2,2 mg, 5,8 μmol) y K_2CO_3 (0,3 mg, 2,2 μmol). A continuación, la mezcla se secó mediante destilación azeotrópica a 105 °C usando acetonitrilo (3 $\times$ 1 mL) con un flujo suave de gas N_2 . Cuando el secado estaba casi terminado, el recipiente al vacío se retiró del baño de aceite y se retiró el residuo de disolvente (<100 μL) mediante un flujo de N_2 a temperatura ambiente. Se agregó una disolución de **16** (0,65 mg, 1,6 μmol) en DMF (300 μL) al recipiente al vacío y después se agitó y calentó a 105 °C durante 10 min. A temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con agua (2 mL) y después se cargó en una columna semipreparativa (A) para purificación (18 % de acetonitrilo/82 % de agua/0,1 % de TFA, 4 mL/min, 251 nm). Se recogió la fracción de HPLC que contenía $[^{18}\text{F}]\mathbf{12}$ y se obtuvo $[^{18}\text{F}]\mathbf{12}$ en etanol usando el método de extracción en fase sólida estándar. La dosis se diluyó hasta 10 % de etanol en disolución salina. Se usó una columna analítica (B) para analizar la dosis (32 % de acetonitrilo/68 % de 0,1 M tampón de formiato de amonio, pH = 4,5, 2 mL/min, 251 nm). El tiempo de síntesis total fue de 90 min, la descomposición corregida proporciona 40-50 %, la pureza radioquímica es de 100 % y la actividad específica varió de 5500 a 18000 mCi/ μmol al final de la síntesis.

Ejemplo 16

Este ejemplo ilustra la visualización del tejido tumoral en microPET en ratones.

Se visualizaron tumores en xenoinjertos de cáncer de mama humano MDA-MB-436 en ratones inmunodeficientes mediante PET usando $[^{18}\text{F}]\mathbf{12}$. Estos tumores demostraron una captación aumentada que se pudo distinguir del

fondo tras 60 min de la inyección del trazador (Figura 3). Los mismos ratones tratados con olaparib (50 mg/kg i.p.) o **12** (1 mg/kg i.p.) 20 min antes de la inyección de trazador disminuyeron la captación de [^{18}F]**12** en los tumores hasta los niveles de actividad de tejido de fondo (Figura 3). Las curvas de tiempo-radioactividad de [^{18}F]**12** en los tumores en los 0-60 min de los estudios de microPET confirmaron la evaluación visual de las imágenes de microPET (Figura 4), lo que demuestra la captación significativamente disminuida de [^{18}F]**12** como resultado del tratamiento con olaparib o **12**.

MDA-MB-436 es una línea celular de cáncer de mama humano con niveles innatamente elevados de actividad de PARP-1¹⁹ y se ha usado en modelos de ratón para evaluar la eficacia del derivado de olaparib etiquetado con ^{18}F para generar imágenes de la actividad de PARP-1 con microPET. El [^{18}F]**12** se acumuló progresivamente en el tumor durante la adquisición de 1 hora con microPET y la captación de [^{18}F]**12** se bloqueó en animales pretratados con olaparib o **12**. Tanto olaparib como **12** son inhibidores de PARP-1 competitivos con potencias de inhibición elevadas ($\text{CI}_{50} = 5 \text{ nM}^{31}$ y 6,3 nM, respectivamente). Por lo tanto, nuestros datos indican que la captación de [^{18}F]**12** en el modelo de ratón se debe a la expresión de PARP-1 y que [^{18}F]**12** es un trazador eficaz en PET para la obtención de imágenes in vivo de la expresión de PARP-1 específicamente.

Ejemplo 17

Este ejemplo ilustra la visualización del tejido tumoral en ratones usando PET.

Las células de cáncer de mama humano MDA-MB-436 y MDA-MB-231 se mantuvieron en cultivo celular en condiciones estándar con atmósfera con CO_2 al 5 % usando el medio esencial mínimo de Eagle (con la disolución de sal equilibrada de Earl y 2 mM de L-glutamina) complementado con 2 mM de L-glutamina, 1 mM de piruvato sódico, 0,1 mM de aminoácidos no esenciales 2 % de vitaminas para MEM y suero fetal bovino al 5 %. Las células en crecimiento exponencial se tripsinizaron y cosecharon para la implantación tumoral. Después del recuento, las células se resuspendieron en 1:1 de Matrigel y PBS helados para proporcionar la concentración deseada y se mantuvieron sobre hielo.

Se dejó que los ratones nu/nu atímicos hembra de Charles River Laboratories se aclimataran en una instalación de alojamiento acreditada por AALAC durante al menos 1 semana antes de la implantación tumoral para estos estudios de obtención de imágenes en serie. Se implantaron en los panículos adiposos mamarios (cerca de los ganglios linfáticos axilares) de ratones nu/nu hembra $\sim 8 \times 10^6$ de células de cáncer de mama MDA-MB-436 en $\sim 100 \mu\text{L}$ de 1:1 Matrigel:PBS. Los estudios de obtención de imágenes se llevaron a cabo 2-3 semanas después de la implantación.

Los ratones con tumores se colocaron en una cámara de inducción que contenía ~ 2 % de isoflurano/oxígeno y luego se sujetaron a un lecho doble habitual para la colocación de los catéteres en la vena de la cola; la anestesia se mantuvo a través de un cono nasal a ~ 1 % de isoflurano/oxígeno para el procedimiento de obtención de imágenes dinámica. Se inyectaron a los ratones 150-200 μCi de [^{18}F]**12** y se sometieron a exploración durante 0-60 min usando los exploradores Focus 220 y Inveon PET/CT. Los valores de captación estándares (SUV, por sus siglas en inglés) se generaron a partir de regiones dibujadas manualmente de interés para los tumores y el tejido de «fondo» circundante. La visualización de la captación específica se determinó mediante comparación de exploraciones iniciales con imágenes adquiridas por la inyección del trazador 20 minutos después del pretratamiento con los agentes bloqueadores olaparib (50 mg/kg, IP) o **12** (1 mg/kg, IP).

Ejemplo 18

Este ejemplo ilustra a captación de [^{18}F]WC-4-138 (Compuesto **12**) en ensayos de cultivo celular.

En estos experimentos, las líneas de carcinoma de células escamosas de las vías respiratorias y digestivas altas SCC1, SCC15 y SCC25 (ATCC) se propagaron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM, Gibco) complementado con suero fetal bovino al 10 % (FBS, por sus siglas en inglés, Gibco), Penicilina-estreptomycin al 1 % (P/S, Gibco) y 100 ng/ml de hidrocortisona (Sigma-Aldrich). Las líneas de cáncer pulmonar microcítico NCI-h69 y NCI-h82 (ATCC) se propagaron en medio RPMI (Gibco) complementado con FBS al 10 % y P/S al 1 %. La línea celular de cáncer de mama humano MDA-MB-231 (ATCC) se propagó en medio esencial mínimo de Eagle (Gibco) complementado con FBS al 5 %, vitaminas para MEM al 2 % (Gibco), 200 mM de L-glutamina al 1 % (Gibco), 10 mM de aminoácido no esencial al 1 % (NEAA, Gibco).

Para cada repetición experimental, se diluyó aproximadamente 1 μCi de [^{18}F]WC-4-138 en 1 ml de medio de cultivo celular y se agregó a 10^6 de células. Después de 5, 30 o 60 minutos, el medio se recogió y las células se lavaron dos veces en 0,7 ml de disolución salina tamponada con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés, Gibco). Las células adherentes se recogieron al raspar la placa de cultivo celular y transferirlas a un tubo de microcentrifugadora. La radioactividad se midió en el medio recogido, PBS o sedimentos celulares. La proteína del sedimento celular se cuantificó usando un kit PARP ELISA quimioluminiscente estándar (Trevigen n.º 4520-096-K). Todos los datos se corrigieron según la descomposición y se normalizaron hasta la cantidad de proteína total en el sedimento celular. Para los estudios de tratamiento con el fármaco, las células se incubaron con 10 μM de Olaparib o Iniparib veinte horas antes de la incubación con [^{18}F]WC-4-138.

Las líneas celulares de vías respiratorias y digestivas altas SCC1 y SCC25 absorben constitutivamente pequeñas cantidades del trazador, con un registro de 0,001-0,002 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ en el sedimento celular (Figura 5A). Las líneas celulares de pulmón NCI-h69 y NCI-h82 absorbieron [^{18}F]WC-4-138 con un registro de 0,004-0,006 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ en el sedimento celular (Figura 5A). Se midió la radioactividad en las líneas (SCC1 y SCC25) de cáncer de células escamosas de las vías respiratorias y digestivas altas (HNSCC) o las líneas (NCI-h69 y NCI-h82) de cáncer pulmonar microcítico (SCLC) después de la incubación con [^{18}F]WC-4-138 durante 5, 30 o 60 minutos ($n=3$ en cada punto de tiempo). Estas figuras representan 1-2 unidades de la actividad de PARP para las células SCC y aproximadamente 3,5 unidades de la actividad de Parp para las células NCI (Figura 5B). La actividad de PARP se midió en las células de HNSCC o SCLC pulmonar. (Figura 5C-D) La captación de [^{18}F]WC-4-138 se midió en las líneas celulares de HNSCC tratadas con olaparib o iniparib. Los datos son la media $\pm$ DT para la captación después de 30 o 60 min de incubación con el trazador ($*p<0,05$). Todos los datos se presentan como la media $\pm$ DT, $n=3$, a menos que se indique de cualquier otra manera.

Esta actividad se suprimió mediante Olaparib (Figura 5C), pero no mediante Iniparib (Figura 5D).

Ejemplo 19

Este ejemplo ilustra la estabilidad metabólica del Compuesto **12**([^{18}F]WC-4-138).

En estos experimentos, la estabilidad metabólica de [^{18}F]WC-4-138 se evaluó tras inyectar 400 μCi en las venas de la cola de ratones C57BL/6J macho adultos (Jackson Laboratory). Los ratones se sacrificaron mediante dislocación cervical 5 o 30 minutos después de la inyección. Se cortó la vena cava inferior y se recogió la sangre de la cavidad abdominal. El plasma se separó de los eritrocitos mediante centrifugación a 14000 rpm. El plasma (100 μl) se mezcló con acetonitrilo en una relación 1:1,5 y se centrifugaron a 14000 rpm. Se midió la radioactividad asociada al sedimento de eritrocitos, el plasma entero y las fracciones solubles e insolubles en acetonitrilo. También se recogió el hígado de cada animal en los tiempos indicados y se congeló sobre hielo seco. Los hígados se homogeneizaron en 2 ml de acetonitrilo y se centrifugó 1 ml del hígado homogeneizado a 14000 rpm. Se midió la radioactividad asociada al sobrenadante y al sedimento.

El sobrenadante de plasma o hígado soluble en acetonitrilo (100 μl) se mezcló en una relación 1:1 con agua y se separó mediante HPLC de fase inversa. El compuesto genitor también se separó mediante HPLC como referencia. Se midió la radioactividad asociada a cada fracción de HPLC. Se calculó el porcentaje del compuesto genitor de cada muestra como la porción de radioactividad asociada a las fracciones de HPLC que se esperaba que contuvieran el compuesto genitor.

El compuesto **12** ([^{18}F]WC-4-138) se metabolizó rápidamente en la sangre, con 50 % con respecto al compuesto de referencia presente 5 minutos después de la inyección y solo aproximadamente 10 % del compuesto con respecto al compuesto de referencia observado 30 minutos después de la inyección (Figura 6). En cambio, el compuesto tuvo una semivida mucho más extensa en el hígado, donde exhibió aproximadamente 80 % con respecto al compuesto de referencia 5 minutos después de la inyección y aproximadamente 70 % con respecto al compuesto de referencia 30 minutos después de la inyección (Figura 6).

Ejemplo 20

Este ejemplo ilustra la biodistribución del Compuesto **12**([^{18}F]WC-4-138) en ratones. Se inyectó [^{18}F]WC-4-138 a ratones lampiños, atímicos, hembra, de ocho semanas (Harlan) a través de la vena de la cola. Los ratones se sacrificaron mediante dislocación cervical 5 o 30 minutos después de la inyección IV de 30 μCi de trazador, 1 o 2 horas después de la inyección de 45 μCi , o 4 horas después de la inyección de 60 μCi de [^{18}F]WC-4-138. Las fracciones solubles en acetonitrilo de plasma o hígado y el compuesto genitor testigo se separaron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) en fase inversa y se cuantificó la radioactividad de cada fracción. Se calculó el porcentaje del compuesto genitor de cada muestra como la porción de radioactividad asociada a las fracciones de HPLC que contenían el compuesto genitor. Los datos se presentan como la media $\pm$ DT, $n=3$.

Se sacrificaron cuatro ratones en cada punto de tiempo, con la excepción del punto de tiempo de 2 horas ($n=3$). Se recogieron la sangre, corazón, pulmón, músculo, hígado, bazo, grasa, glándulas suprarrenales, riñón, útero, ovarios, hueso, médula ósea, páncreas, estómago, intestino delgado e intestino grueso de cada animal. Todos los órganos se secaron para extraer el exceso de sangre, se pesaron y se contaron en un contador Beckmann 6000 gamma. Se determinó el porcentaje de dosis inyectada por gramo (% de DI/g) de tejido para cada órgano. Los resultados variaron de 0,5 a 15 % de dosis inyectada por gramo de tejido y se informaron en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2 Biodistribución orgánica de [^{18}F]WC-4-138 en ratones atómicos lampiños

	% ID/ g				
	5 min	30 min	60 min	120 min	240 min
Sangre	1,60 +/- 0,21	2,07 +/- 0,16	2,30 +/- 0,28	2,54 +/- 0,13	1,61 +/- 0,05
Corazón	6,57 +/- 0,45	3,44 +/- 0,30	2,88 +/- 0,23	2,68 +/- 0,09	1,67 +/- 0,06
Pulmón	11,89 +/- 0,89	5,33 +/- 0,48	3,99 +/- 0,29	3,17 +/- 0,28	2,03 +/- 0,43
Músculo	2,05 +/- 0,48	2,39 +/- 0,15	2,21 +/- 0,31	2,07 +/- 0,11	1,35 +/- 0,09
Hígado	12,50 +/- 1,08	8,24 +/- 0,62	6,50 +/- 0,52	4,58 +/- 0,29	2,43 +/- 0,25
Bazo	12,47 +/- 6,69	26,85 +/- 3,52	25,75 +/- 1,95	17,19 +/- 1,08	9,80 +/- 1,01
Grasa	1,16 +/- 0,49	1,22 +/- 0,25	1,16 +/- 0,45	1,07 +/- 0,11	0,62 +/- 0,44
Suprarrenales	11,80 +/- 0,46	5,18 +/- 0,94	3,51 +/- 1,08	2,69 +/- 0,44	1,74 +/- 0,34
Riñón	35,63 +/- 3,33	21,14 +/- 2,21	14,02 +/- 1,84	8,77 +/- 0,72	3,67 +/- 0,54
Útero	3,44 +/- 2,01	4,53 +/- 1,45	5,51 +/- 0,79	4,13 +/- 0,20	2,05 +/- 0,31
Ovarios	4,71 +/- 1,21	5,31 +/- 0,82	4,75 +/- 0,36	4,25 +/- 0,52	2,00 +/- 0,41
Hueso	3,40 +/- 0,74	4,49 +/- 0,34	5,21 +/- 0,40	6,56 +/- 0,80	9,29 +/- 1,17
Médula	0,06 +/- 0,02	0,11 +/- 0,02	0,13 +/- 0,04	0,07 +/- 0,01	0,04 +/- 0,01
Páncreas	9,67 +/- 1,98	10,27 +/- 1,28	9,18 +/- 1,37	5,37 +/- 0,64	2,75 +/- 0,44
Estómago	3,17 +/- 0,66	3,77 +/- 0,73	3,62 +/- 0,37	2,56 +/- 0,27	1,20 +/- 0,08
Intestino delgado	12,64 +/- 1,45	13,00 +/- 0,75	8,85 +/- 1,49	6,62 +/- 0,75	3,04 +/- 0,25
Intestino grueso superior	7,84 +/- 1,02	14,07 +/- 1,72	15,62 +/- 2,31	10,28 +/- 0,65	4,33 +/- 0,57
Intestino grueso inferior	4,17 +/- 0,42	7,43 +/- 0,59	10,53 +/- 1,45	13,35 +/- 0,87	7,17 +/- 0,50
Tiroides	4,18 +/- 1,18	4,03 +/- 0,28	3,32 +/- 0,19	3,46 +/- 0,10	3,23 +/- 0,49
Cerebro	0,55 +/- 0,16	1,03 +/- 0,11	1,24 +/- 0,13	1,58 +/- 0,19	1,17 +/- 0,05

%ID/g = Porcentaje de dosis inyectada por gramo de tejido.

Todos los datos son la media $\pm$ DT. n=4 para todos los grupos, con la excepción de n=3 a los 120 min.

Tabla 3. Dosimetría humana estimada a partir del estudio de biodistribución con ratón

Órgano	Macho (rad/mCi)	Hembra (rad/mCi)
Suprarrenales	0,043	0,052
Cerebro	0,019	0,022
Mamas		0,019
Pared de vesícula biliar	0,028	0,033
Pared de IGI	0,029	0,036
Intestino delgado	0,026	0,030
Pared del estómago	0,024	0,030
Pared de IGS	0,025	0,031
Pared del corazón	0,038	0,047
Riñones	0,083	0,093
Hígado	0,050	0,065
Pulmones	0,035	0,045
Músculo	0,026	0,035
Ovarios		0,045
Páncreas	0,055	0,064
Médula roja	0,061	0,069
Células osteogénicas	0,155	0,203
Piel	0,016	0,019
Bazo	0,110	0,133
Testículos	0,022	
Timo	0,020	0,026
Tiroides	0,033	0,038
Pared de vejiga urinaria	0,220	0,301
Útero		0,053
Cuerpo total	0,031	0,039

Órgano	Macho (rad/mCi)	Hembra (rad/mCi)
Equivalente de dosis eficaz	0,062	0,075
Dosis eficaz (rem/mCi)	0,047	0,057

Las estimaciones se obtuvieron a partir de los tiempos de residencia en órgano calculados a partir de los datos de biodistribución en ratón, que se muestran en la Tabla 2, usando metodología de MIRD estándar.

Ejemplo 21

- 5 Este ejemplo ilustra la captación del Compuesto **12** (^{18}F]WC-4-138) en ratones.

Se implantaron 10^6 de células SCC1 o 10^7 de células MDA-MB-231 en los panículos adiposos mamarios de ratones lampiños atímicos hembra maduros (Charles River Laboratories). Se obtuvieron imágenes de los ratones con tumores SCC1 a las 5 semanas y se obtuvieron imágenes de los ratones con células MDA-MB-231 2,5 semanas después del implante. Los ratones se anestesiaron con 2 % de isoflurano/oxígeno y se mantuvieron con 1 % de isoflurano/oxígeno a través de un cono nasal a lo largo del procedimiento de obtención de imágenes. Se adquirieron imágenes de microCT del animal entero en un explorador Inveon PET/CT. Se inyectaron $11,36 \pm 0,5$ MBq (307 ± 13 μCi) de ^{18}F]WC(4)-138 a los ratones a través de la vena de la cola y se sometieron a 60 minutos de exploración dinámica usando exploradores Focus 220 o Inveon PET/CT. Las imágenes de microPET y microCT se corregistraron usando el programa informático Integrated Research Workflow (Siemens). Se dibujaron regiones de interés sobre los tumores para determinar las curvas de tiempo-actividad. Para los estudios de tratamiento con fármaco, los animales recibieron inyecciones intraperitoneales de 50 mg/kg de olaparib o iniparib 30 minutos antes de la obtención de imágenes. Se obtuvieron imágenes de los ratones en el inicio o 30 minutos después de la inyección IP de olaparib o iniparib. Se muestran vistas transversales de los ratones con tumor MDA-MB-231 en la Figura 7. Las flechas indican la ubicación de los tumores, según se identificaron en la CT. El trazador se absorbe de forma abundante en los tumores y otras secciones del ratón en el inicio (Figura 7, parte superior de cada vista de canal, flechas, pero la captación tumoral de ^{18}F]12 se suprime mediante el tratamiento con olaparib (Figura 7, parte inferior izquierda de cada panel de canal, flechas), pero el trazador todavía está presente en otras áreas de la sección. En cambio, el tratamiento con iniparib no afecta la captación de ^{18}F]WC(4)-138 en las células tumorales, pero suprime dicha captación en otros tipos de células (Figura 7, parte inferior derecha de cada vista de canal, flechas).

Ejemplo 22

Este ejemplo ilustra un análisis cuantitativo que muestra disminuciones significativas en la dosis inyectada por ml entre el inicio y tratamiento con fármaco para los tumores MDA-MB-231 (Figura 8A) y los tumores SCC (Figura 8B). En la Figura 8, se obtuvieron imágenes de los ratones en el inicio o 30 minutos después de la inyección IP de olaparib o iniparib. (A) Se calculó el porcentaje de dosis inyectada por ml para cada tumor MDA-MB-231 en el inicio o después del tratamiento con el fármaco. La captación del trazador se redujo significativamente en ratones tratados con olaparib (* $p=0,0038$ según se determinó mediante una prueba de la t para datos emparejados, $n=6$ tumores). La captación del trazador se mantuvo inalterada en ratones tratados con iniparib ($p=0,1098$ según se determinó mediante una prueba de la t para datos emparejados, $n=6$ tumores). (B) Se calculó el porcentaje de dosis inyectada por ml para cada tumor SCC1 en el inicio o después del tratamiento con el fármaco. La captación del trazador se redujo significativamente en ratones tratados con olaparib (* $p=0,001$ según se determinó mediante una prueba de la t para datos emparejados, $n=8$ tumores). La captación del trazador se mantuvo inalterada en ratones tratados con iniparib ($p=0,7216$ según se determinó mediante una prueba de la t para datos emparejados, $n=5$ tumores).

Ejemplo 23

40 Un sujeto presenta síntomas de cáncer de mama posiblemente asociado a PARP-1. Un médico solicita una exploración PET y un técnico le administra una cantidad eficaz de ^{18}F]WC(4)-138 y lleva a cabo la exploración PET. El tumor exhibe una gran cantidad de captación de trazador en comparación con los tejidos circundantes del sujeto. El médico diagnostica cáncer asociado a PARP-1 y prescribe inhibidores de PARP-1 como parte del régimen de tratamiento.

Ejemplo 24

Un sujeto presenta inflamación anormal de los pulmones. Un médico solicita una exploración PET y un técnico le administra una cantidad eficaz de ^{18}F]WC(4)-138 y lleva a cabo la exploración PET. El tejido pulmonar exhibe grandes cantidades de captación del trazador con respecto al tejido pulmonar testigo y el médico diagnostica inflamación relacionada con PARP-1 y prescribe inhibidores de PARP-1 como parte del régimen de tratamiento.

50 Referencias

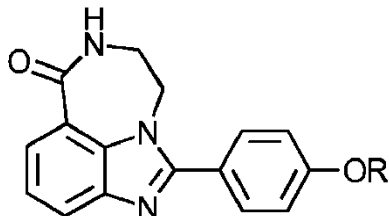
1. Hassa, P.O.; Hottiger, M. O. *Frontiers in Bioscience : a Journal and Virtual Library* 2008, 13, 3046.
2. d'Adda di Fagagna, F.; Hande, M. P.; Tong, W. M.; Lansdorp, P. M.; Wang, Z. Q.; Jackson, S. P. *Nature Genetics* 1999, 23, 76.
3. Jagtap, P.; Szabo, C. *Nature Reviews. Drug Discovery* 2005, 4, 421.
- 5 4. Schreiber, V.; Dantzer, F.; Ame, J. C.; de Murcia, G. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 2006, 7, 517.
5. Virag, L.; Szabo, C. *Pharmacological Reviews* 2002, 54, 375.
6. Gradwohl, G.; Menissier de Murcia, J. M.; Molinete, M.; Simonin, F.; Koken, M.; Hoeijmakers, J. H.; de Murcia, G. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1990, 87, 2990.
7. Kameshita, I.; Matsuda, Z.; Taniguchi, T.; Shizuta, Y. *The Journal of Biological Chemistry* 1984, 259, 4770.
- 10 8. Ferraris, D. V. *Journal of Medicinal Chemistry* 2010, 53, 4561.
9. Basu, B.; Sandhu, S. K.; de Bono, J. S. *Drugs* 2012, 72, 1579.
10. Sandhu, S. K.; Schelman, W. R.; Wilding, G.; Moreno, V.; Baird, R. D.; Miranda, S.; Hylands, L.; Riisnaes, R.; Forster, M.; Omlin, A.; Kreischer, N.; Thway, K.; Gevensleben, H.; Sun, L.; Loughney, J.; Chatterjee, M.; Toniatti, C.; Carpenter, C. L.; Iannone, R.; Kaye, S. B.; de Bono, J. S.; Wenham, R. M. *The Lancet Oncology* 2013, 14, 882.
- 15 11. Plummer, R.; Lorigan, P.; Steven, N.; Scott, L.; Middleton, M. R.; Wilson, R. H.; Mulligan, E.; Curtin, N.; Wang, D.; Dewji, R.; Abbattista, A.; Gallo, J.; Calvert, H. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2013, 71, 1191.
12. Gelmon, K. A.; Tischkowitz, M.; Mackay, H.; Swenerton, K.; Robidoux, A.; Tonkin, K.; Hirte, H.; Huntsman, D.; Clemons, M.; Gilks, B.; Yerushalmi, R.; Macpherson, E.; Carmichael, J.; Oza, A. *The Lancet Oncology* 2011, 12, 852.
- 20 13. Kummar, S.; Chen, A.; Ji, J.; Zhang, Y.; Reid, J. M.; Ames, M.; Jia, L.; Weil, M.; Speranza, G.; Murgo, A. J.; Kinders, R.; Wang, L.; Parchment, R. E.; Carter, J.; Stotler, H.; Rubinstein, L.; Hollingshead, M.; Melillo, G.; Pommier, Y.; Bonner, W.; Tomaszewski, J. E.; Doroshow, J. H. *Cancer Research* 2011, 71, 5626.
14. Javle, M.; Curtin, N. J. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 2011, 3, 257.
15. Wahlberg, E.; Karlberg, T.; Kouznetsova, E.; Markova, N.; Macchiarulo, A.; Thorsell, A. G.; Pol, E.; Frostell, A.; Ekblad, T.; Oncu, D.; Kull, B.; Robertson, G. M.; Pellicciari, R.; Schuler, H.; Weigelt, J. *Nature Biotechnology* 2012, 30, 283.
- 25 16. Liu, X.; Shi, Y.; Maag, D. X.; Palma, J. P.; Patterson, M. J.; Ellis, P. A.; Surber, B. W.; Ready, D. B.; Soni, N. B.; Lador, U. S.; Xu, A. J.; Iyer, R.; Harlan, J. E.; Solomon, L. R.; Donawho, C. K.; Penning, T. D.; Johnson, E. F.; Shoemaker, A. R. *Clinical Cancer Research : an Official Journal of the American Association for Cancer Research* 2012, 18, 510.
- 30 17. Tu, Z.; Chu, W.; Zhang, J.; Dence, C. S.; Welch, M. J.; Mach, R. H. *Nuclear Medicine and Biology* 2005, 32, 437.
18. Keliher, E. J.; Reiner, T.; Turetsky, A.; Hilderbrand, S. A.; Weissleder, R. *ChemMedChem* 2011, 6, 424.
19. Reiner, T.; Keliher, E. J.; Earley, S.; Marinelli, B.; Weissleder, R. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011, 50, 1922.
20. Reiner, T.; Lacy, J.; Keliher, E. J.; Yang, K. S.; Ullal, A.; Kohler, R. H.; Vinegoni, C.; Weissleder, R. *Neoplasia* 2012, 14, 169.
- 35 21. Delaney, C. A.; Wang, L. Z.; Kyle, S.; White, A. W.; Calvert, A. H.; Curtin, N. J.; Durkacz, B. W.; Hostomsky, Z.; Newell, D. R. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2000, 6, 2860.
22. Skaltzky, D. J.; Marakovits, J. T.; Maegley, K. A.; Ekker, A.; Yu, X. H.; Hostomsky, Z.; Webber, S. E.; Eastman, B. W.; Almasy, R.; Li, J.; Curtin, N. J.; Newell, D. R.; Calvert, A. H.; Griffin, R. J.; Golding, B. T. *Journal of Medicinal Chemistry* 2003, 46, 210.
- 40 23. Putt, K. S.; Hergenrother, P. J. *Analytical Biochemistry* 2004, 326, 78.
24. Jagtap, P.; Soriano, F. G.; Virag, L.; Liaudet, L.; Mabley, J.; Szabo, E.; Hasko, G.; Marton, A.; Lorigados, C. B.; Gallyas, F., Jr.; Sumegi, B.; Hoyt, D. G.; Baloglu, E.; VanDuzer, J.; Salzman, A. L.; Southan, G. J.; Szabo, C. *Critical Care Medicine* 2002, 30, 1071.
- 45 25. Ruf, A.; de Murcia, G.; Schulz, G. E. *Biochemistry* 1998, 37, 3893.

26. Kinoshita, T.; Nakanishi, I.; Warizaya, M.; Iwashita, A.; Kido, Y.; Hattori, K.; Fujii, T. FEBS letters 2004, 556, 43.
27. White, A. W.; Almassy, R.; Calvert, A. H.; Curtin, N. J.; Griffin, R. J.; Hostomsky, Z.; Maegley, K.; Newell, D. R.; Srinivasan, S.; Golding, B. T. Journal of Medicinal Chemistry 2000, 43, 4084.
28. Lasne, M. C.; Perrio, C.; Rouden, J.; Barre, L.; Roeda, D.; Dolle, F.; Crouzel, C. Top Curr Chem 2002, 222, 201.
- 5 29. Glaser, M.; Arstad, E. Bioconjugate chemistry 2007, 18, 989.
30. Zhou, D.; Chu, W.; Dence, C. S.; Mach, R. H.; Welch, M. J. Nuclear Medicine and Biology 2012.
31. Menear, K. A.; Adcock, C.; Boulter, R.; Cockcroft, X. L.; Copsey, L.; Cranston, A.; Dillon, K. J.; Drzewiecki, J.; Garman, S.; Gomez, S.; Javaid, H.; Kerrigan, F.; Knights, C.; Lau, A.; Loh, V. M., Jr.; Matthews, I. T.; Moore, S.; O'Connor, M. J.; Smith, G. C.; Martin, N. M. Journal of Medicinal Chemistry 2008, 51, 6581.
- 10 32. WO 01/16136 se refiere a diferente inhibidores tricíclicos de poli(ADP-ribosil)transferasa.
33. US2012/0171119 y US2009/0068105 describe radiotrazadores para obtención de imágenes con fines médicos.

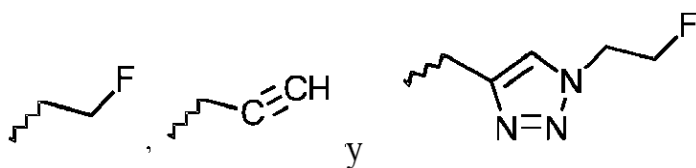
Según se usan en la presente memoria, se pretende que las formas singulares «un», «una» y «el/la» incluyan también las formas plurales, a menos que el contexto indique lo contrario.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este de la estructura



5 en donde R se selecciona del grupo que consiste en

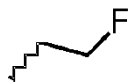


por el cual



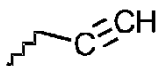
es una unión.

10 2. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 1, en donde R es

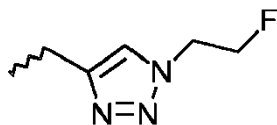


3. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 2, en donde F es un ¹⁸F.

4. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 1, en donde R es

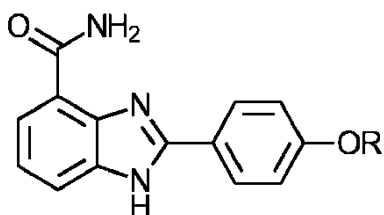


15 5. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 1, en donde R es

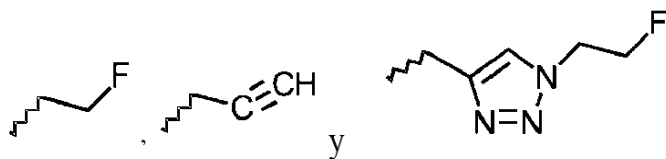


6. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 5, en donde F es un ¹⁸F.

7. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este de la estructura



20 en donde R se selecciona del grupo que consiste en

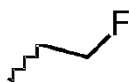


por el cual



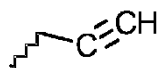
es una unión.

- 5 8. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 7, en donde R es

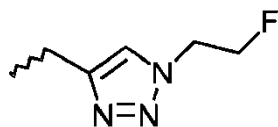


9. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 8, en donde F es un ^{18}F .

10. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 7, en donde R es



- 10 11. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 7, en donde R es



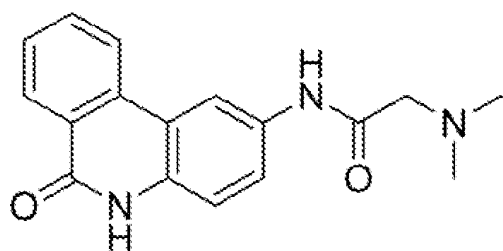
12. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este según la reivindicación 11, en donde F es un ^{18}F .

13. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para su uso en la obtención de imágenes de un tumor en un sujeto.

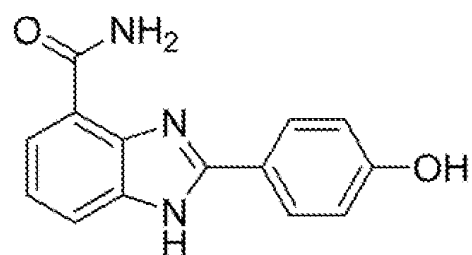
- 15 14. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para su uso en la obtención de imágenes de inflamación en un sujeto.

15. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de este de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para su uso en la obtención de imágenes de la distribución de PARP-1.

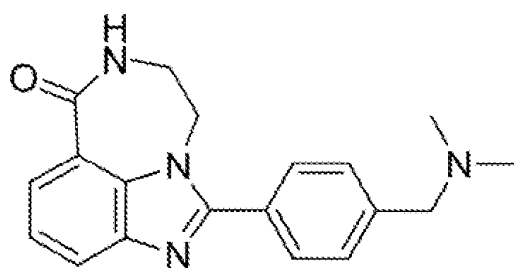
FIG. 1 (técnica anterior)



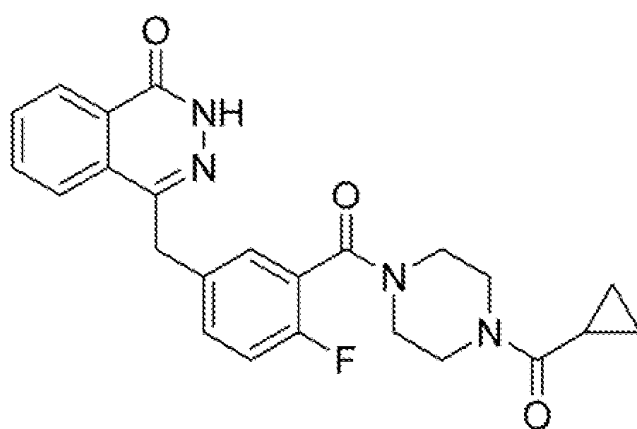
PJ-34 (1) ($CI_{50} = 20 \text{ nM}$)



NU1085 (2) ($K_i = 6 \text{ nM}$)



AG014361 (3) ($K_i = 5,8 \text{ nM}$)



AZD2281, olaparib (4) ($CI_{50} = 5 \text{ nM}$)

FIG. 2

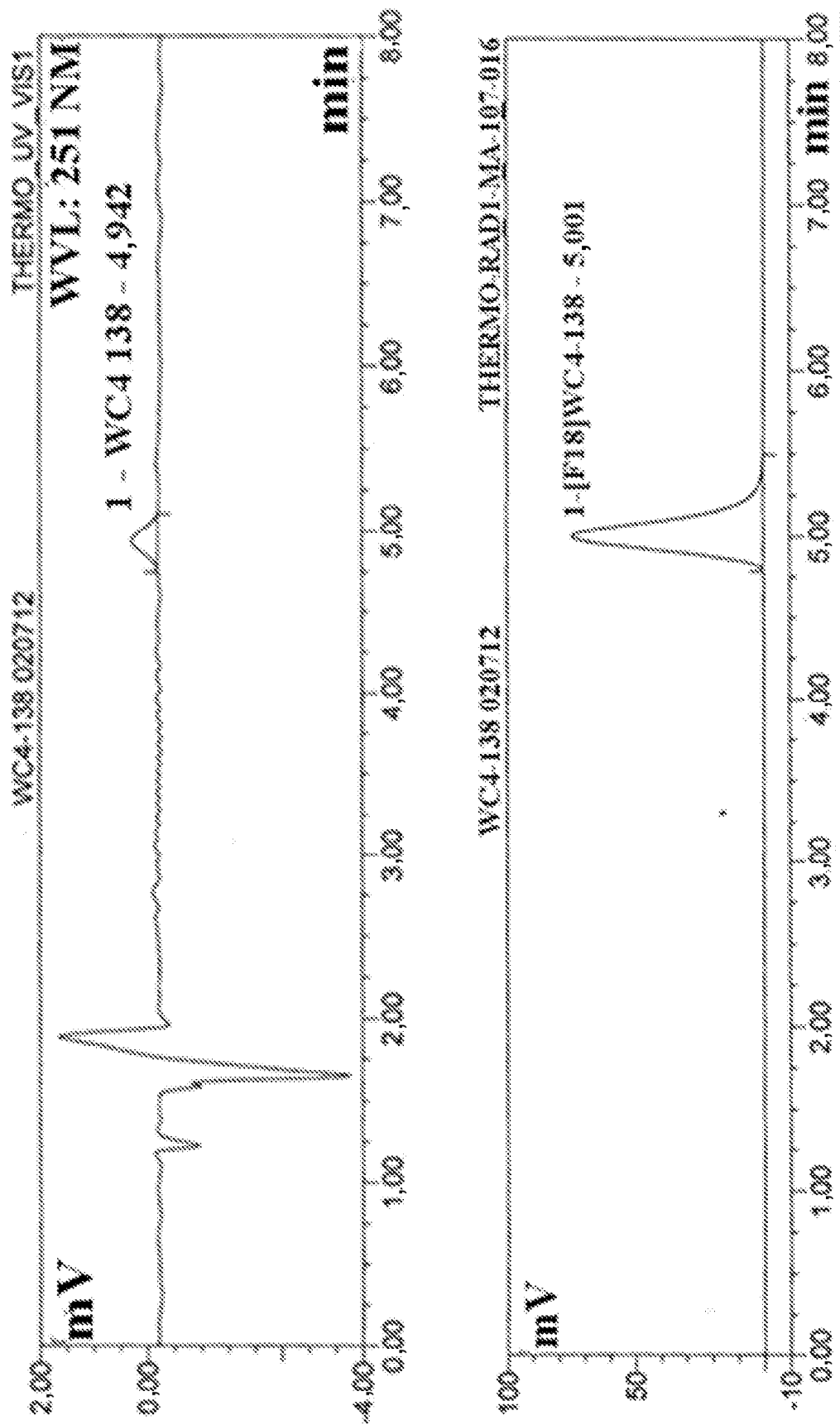


FIG. 3A Canal rojo

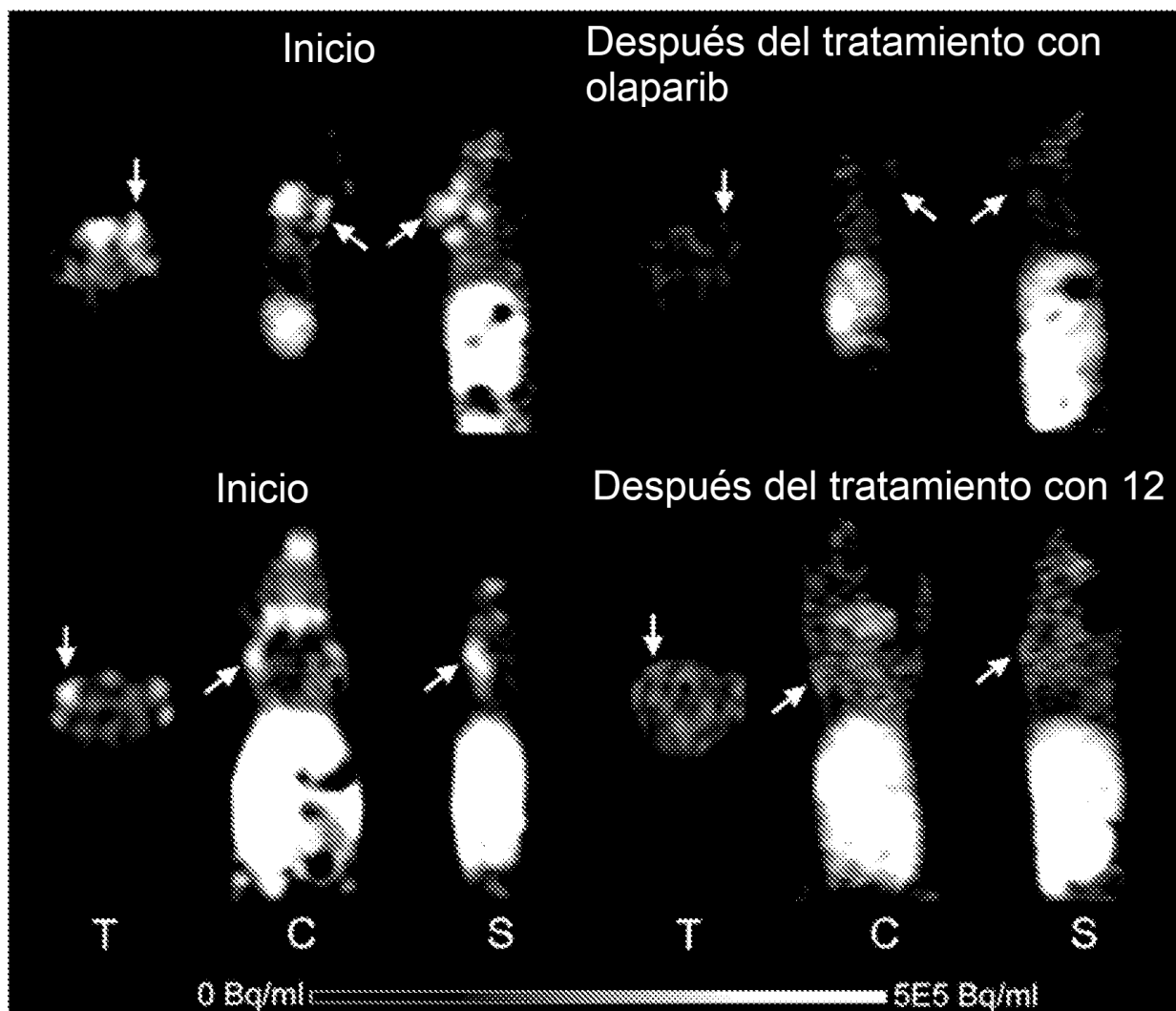


FIG. 3B Canal verde

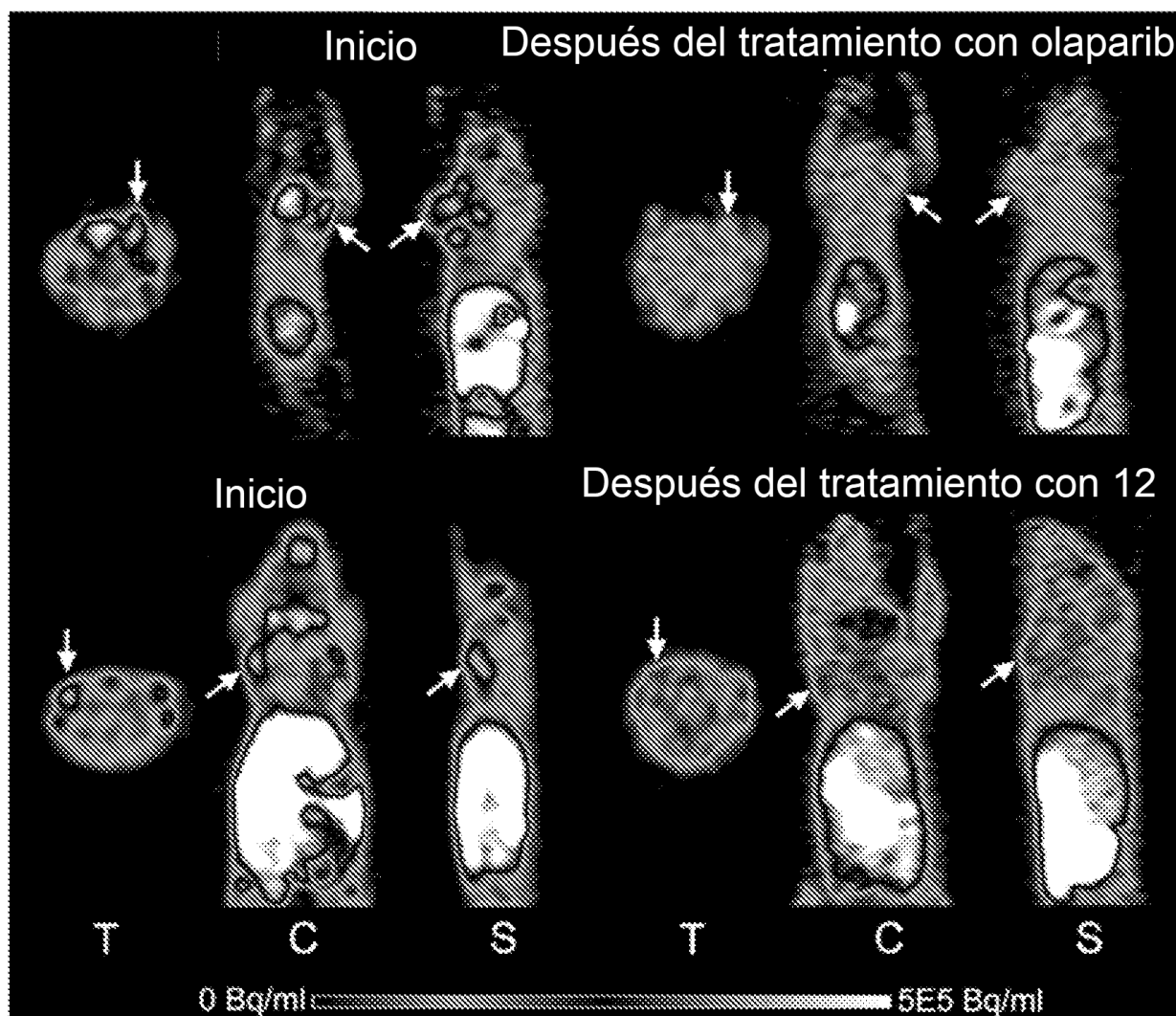


FIG. 3C Canal azul

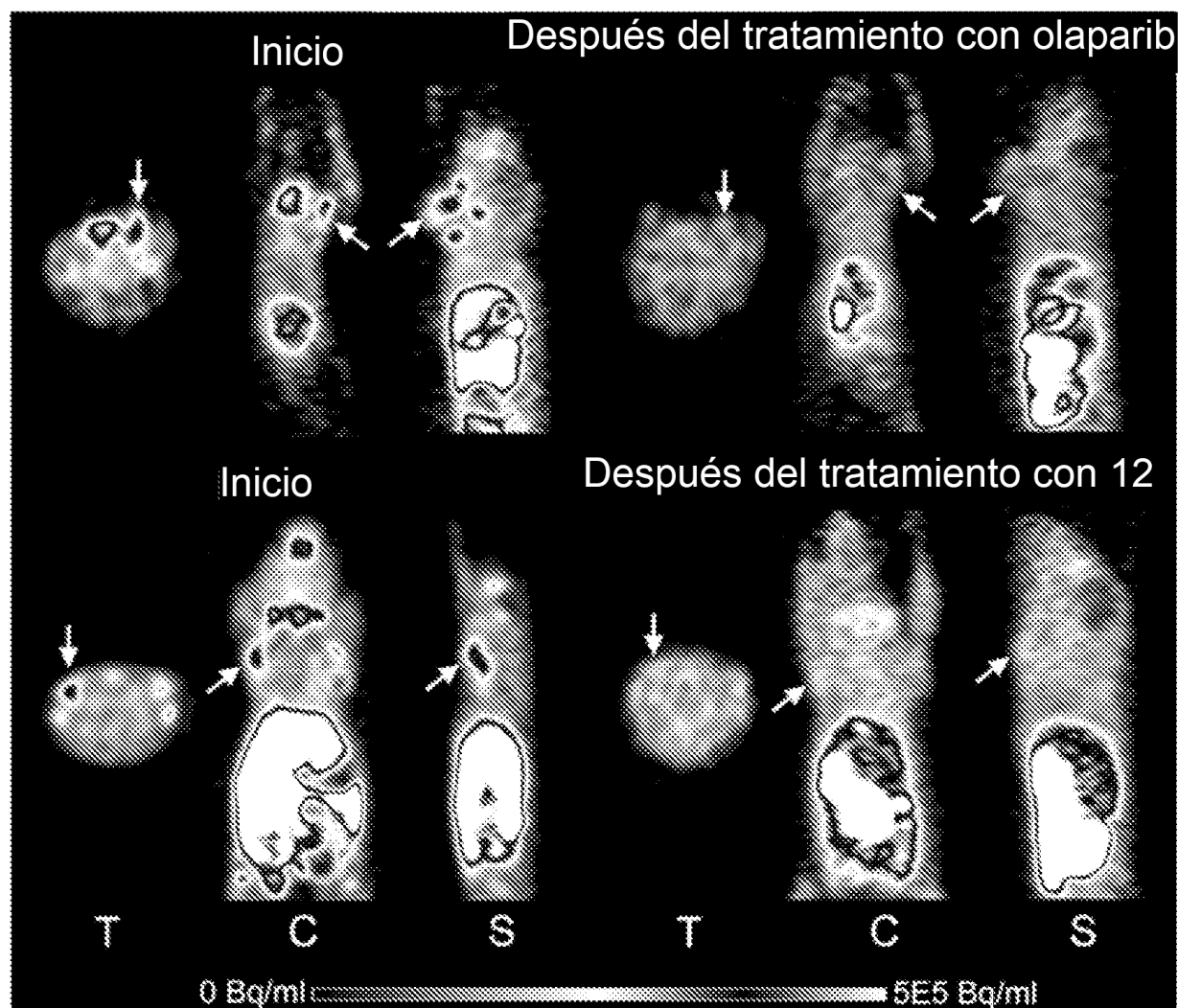


FIG. 3D Compuesto

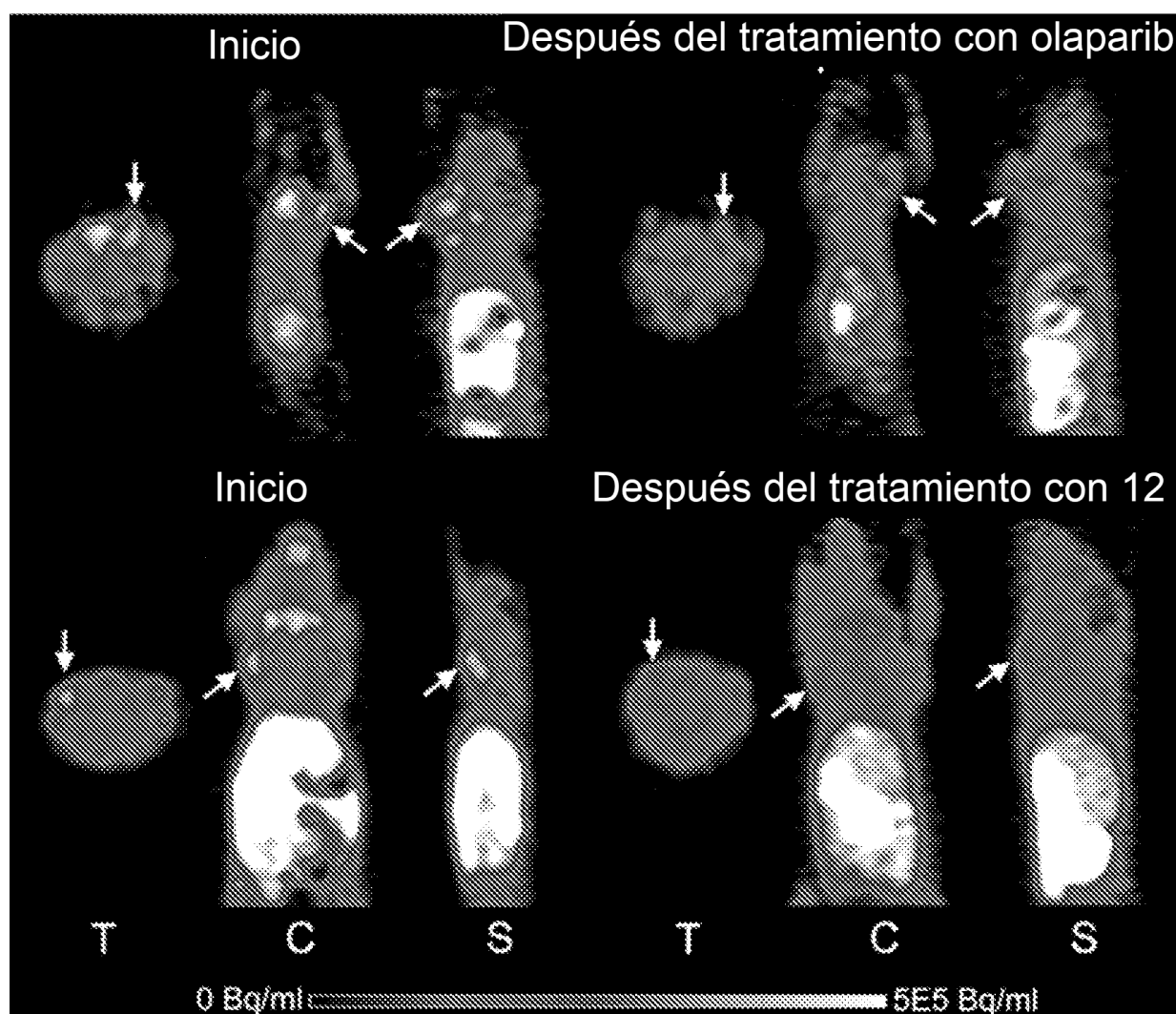


FIG. 4

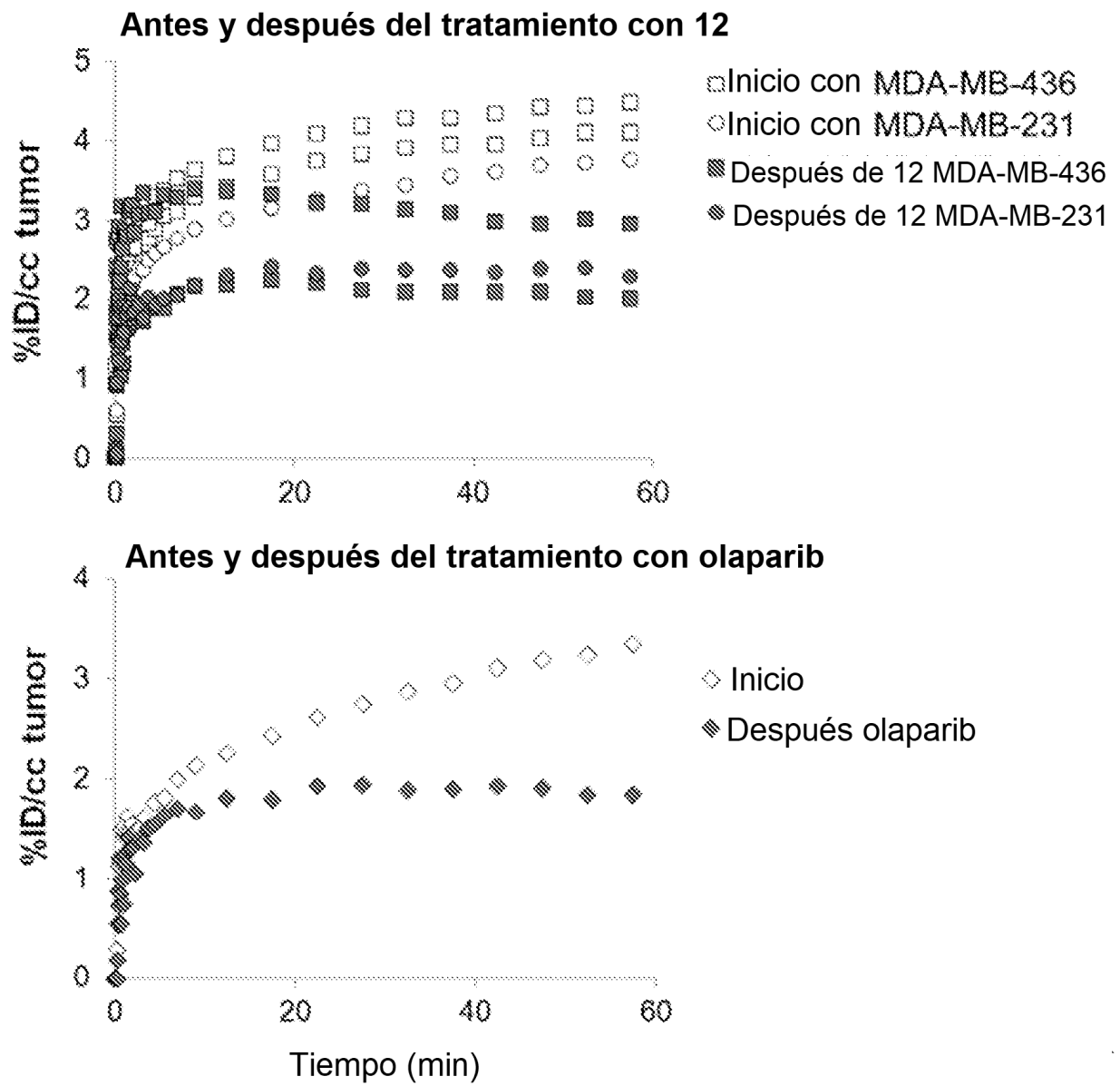


FIG. 5

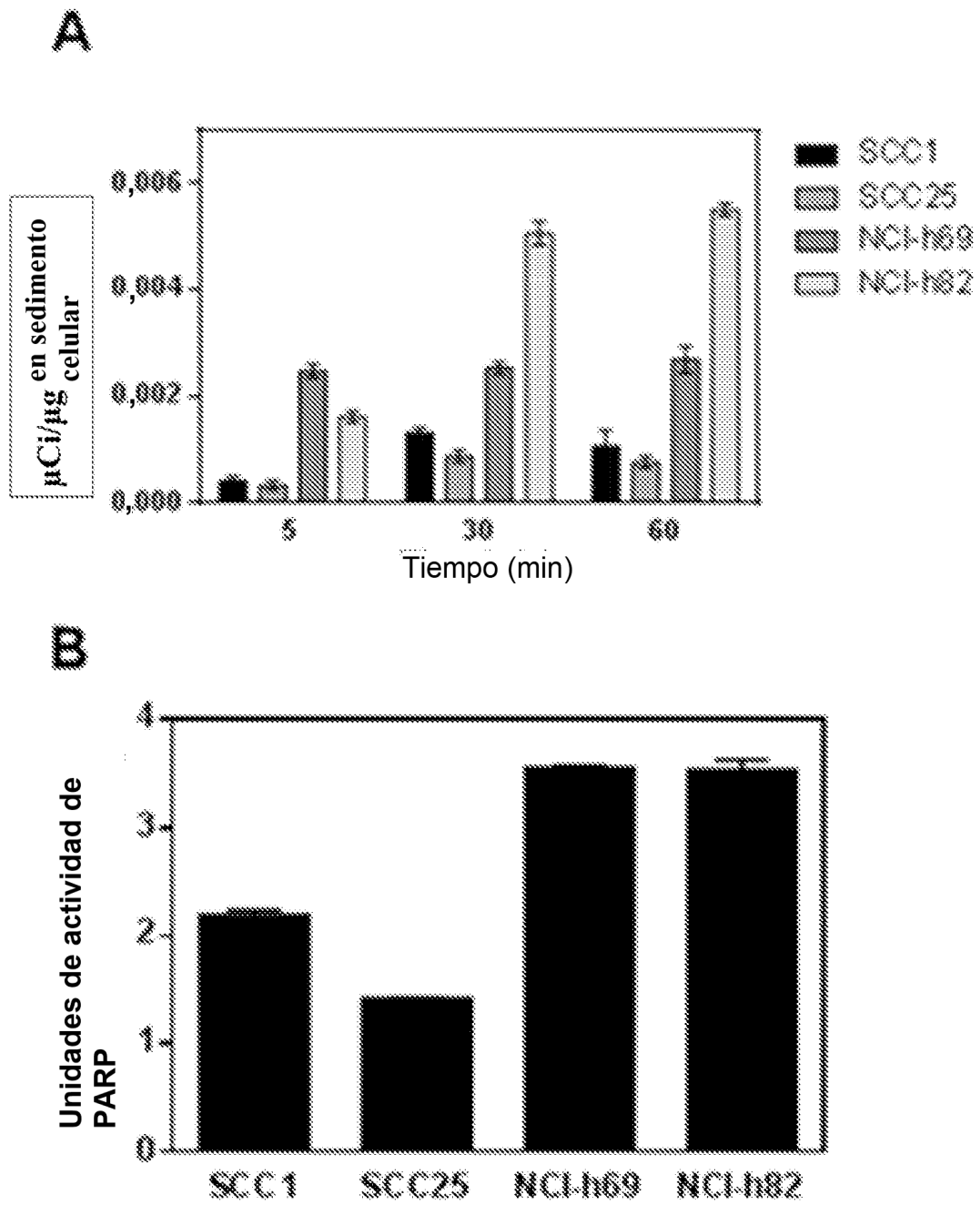


FIG. 5 continuación

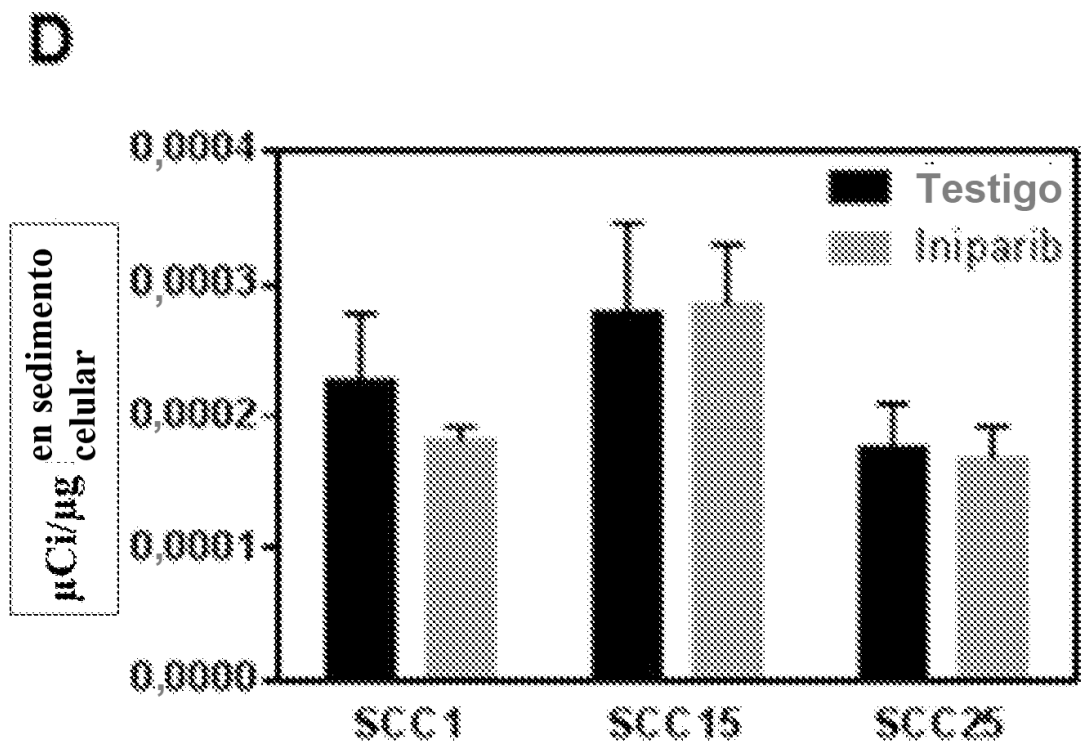
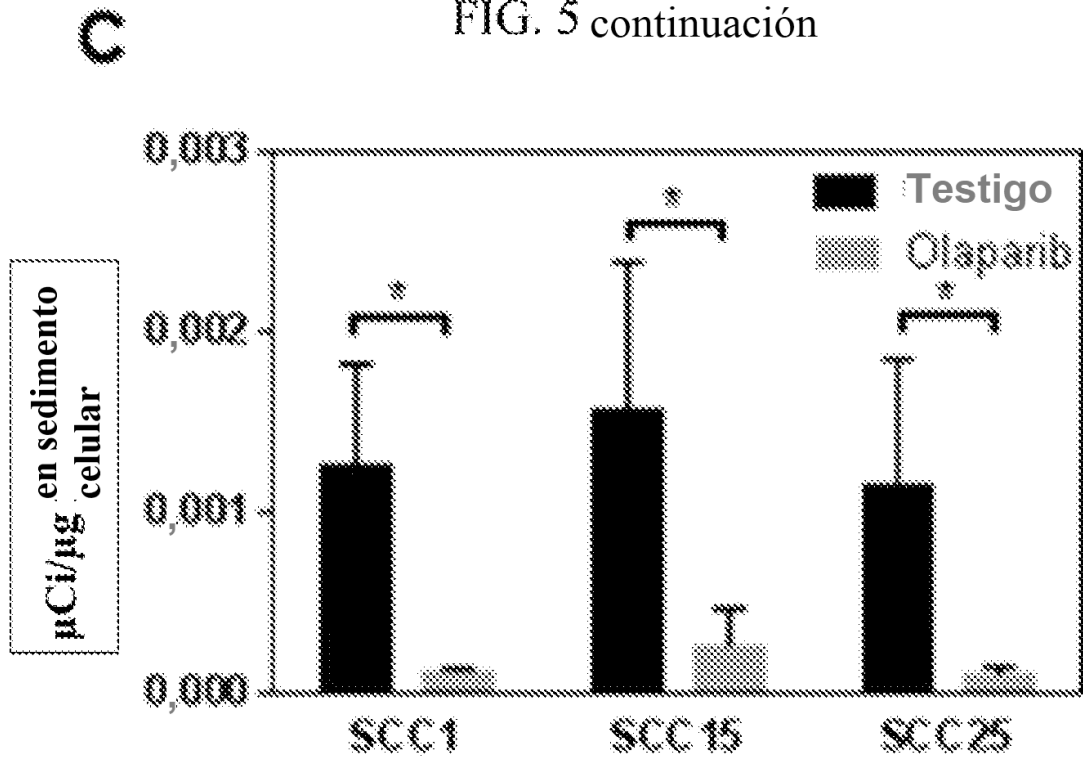


FIG. 6

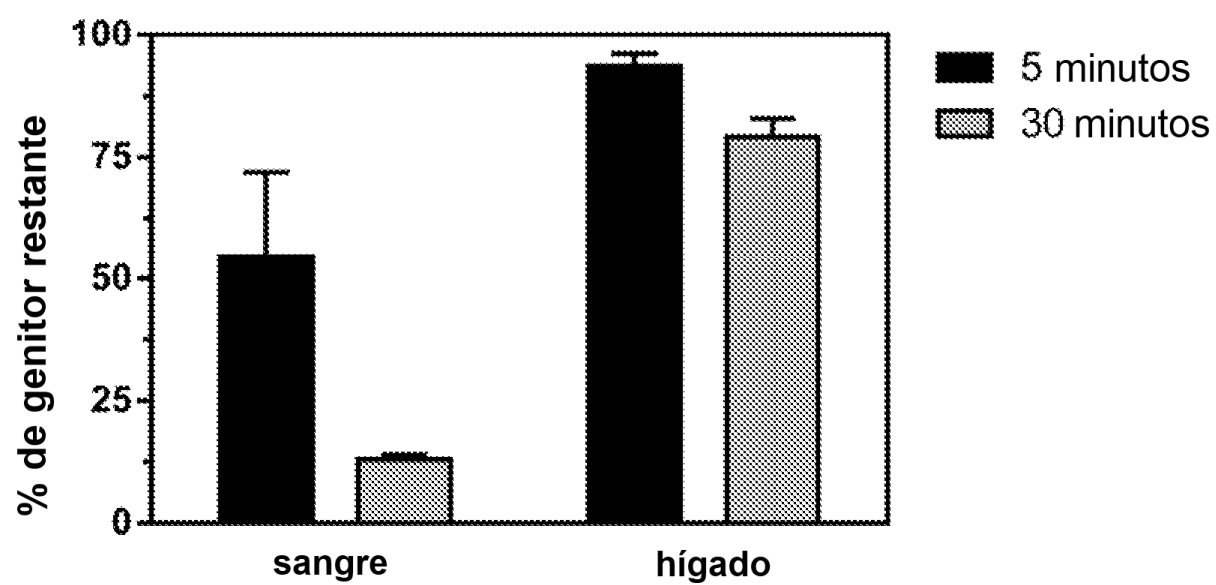


FIG. 7

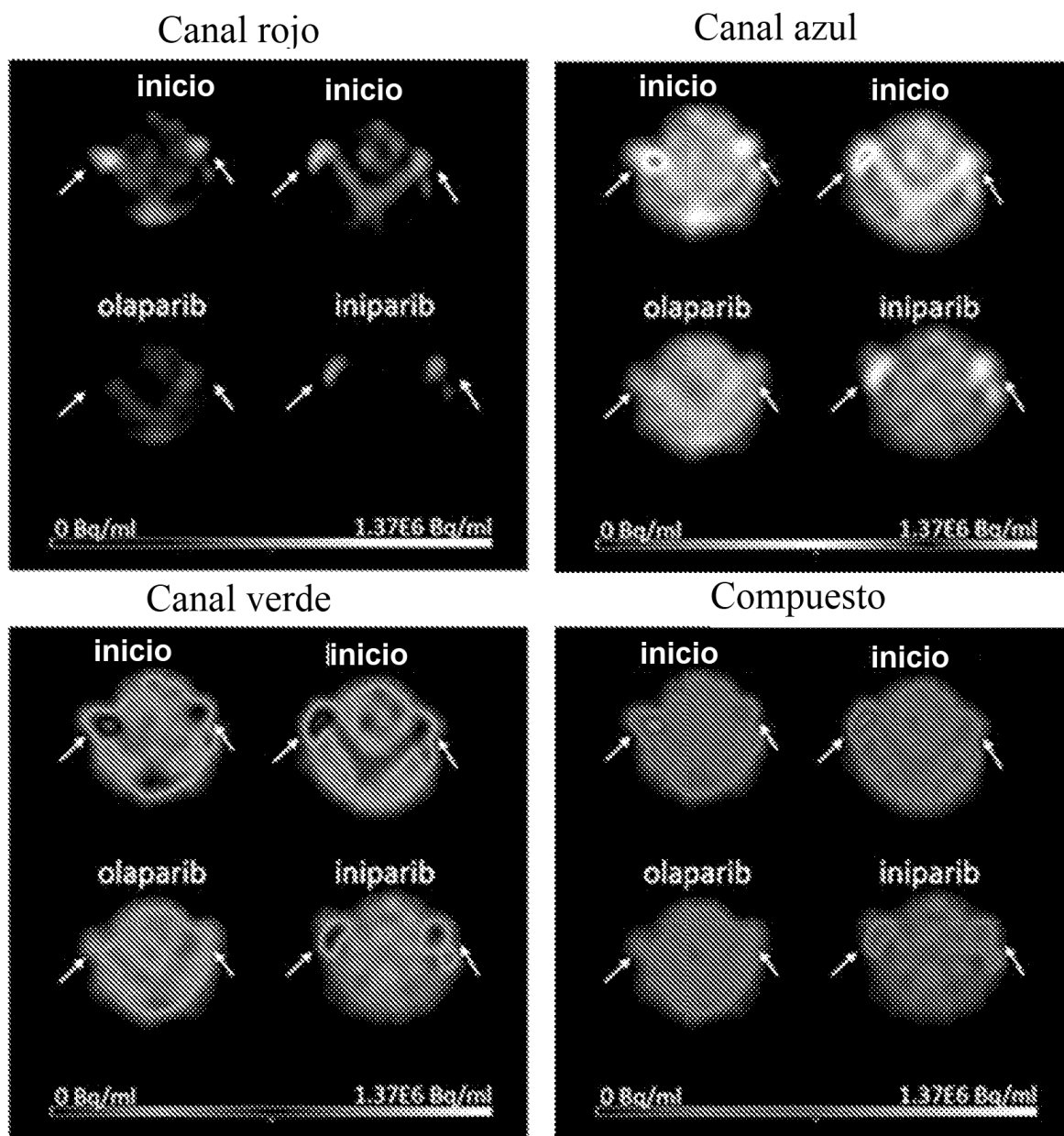


FIG. 8

