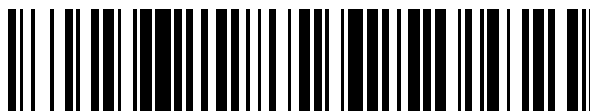


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 707 574**

51 Int. Cl.:

C07D 475/04 (2006.01)

C07B 59/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.04.2008** **PCT/EP2008/054408**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.10.2008** **WO08125617**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.04.2008** **E 08736121 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.10.2018** **EP 2150514**

54 Título: **Folatos marcados con ¹⁸F**

30 Prioridad:

11.04.2007 EP 07105987

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

04.04.2019

73 Titular/es:

MERCK & CIE (100.0%)

Im Laternenacker 5

8200 Schaffhausen, CH

72 Inventor/es:

AMETAMEY, SIMON MENSAH;

MOSER, RUDOLF;

ROSS, TOBIAS LUDWIG y

GROEHN, VIOLA

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 707 574 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

Folatos marcados con ^{18}F

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos radiofármacos ^{18}F -folato, en los que el flúor-18 está covalentemente unido al resto aminobenzoílo, que conecta el heterociclo de pirimidina condensado a la porción del aminoácido dentro de las estructuras de folato, un método para su preparación, así como su uso en el diagnóstico de una célula o población de células que expresan un receptor de folato y el seguimiento del cáncer y enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Antecedentes

El reconocimiento específico de células para la administración de restos efectores como agentes diagnósticos o terapéuticos es un campo en el que se ha investigado ampliamente, lo que ha llevado al desarrollo de aplicaciones médicas diagnósticas y/o terapéuticas no invasivas. En especial, en el campo de los procedimientos y tratamientos de medicina nuclear, en los que se emplean materiales radiactivos que emiten radiaciones electromagnéticas como rayos γ o radiación de emisión de partículas, es necesaria la localización selectiva de estos materiales radiactivos en células o tejidos diana para conseguir ya sea una alta intensidad de señal para la visualización de tejidos específicos, evaluar una enfermedad y/o controlar los efectos de los tratamientos, o bien una dosis de radiación elevada, para administrar dosis adecuadas de radiación ionizante a una localización específica de la enfermedad, sin el riesgo de lesiones por radiación en otros tejidos, por ejemplo tejidos sanos. Por tanto, es de crucial interés determinar y evaluar las estructuras específicas de células y, en particular, las estructuras que están presentes en caso de cáncer (es decir, tumores) o enfermedades inflamatorias y autoinmunes, como receptores, antígenos, haptenos y similares que pueden ser dianas específicas de los respectivos vehículos biológicos.

El receptor de folato (FR) se ha identificado como una de estas estructuras. El FR es una proteína asociada a membrana de alta afinidad ($K_D < 10^{-9}$ M). En tejidos y órganos normales, la expresión del FR se limita exclusivamente a unos pocos órganos (p. ej., riñón, pulmones, plexo coroideo y placenta), donde se encuentra principalmente en la superficie luminal de las células epiteliales y, por tanto, no recibe aporte de folato de la circulación. El FR alfa se sobreexpresa con frecuencia en una amplia variedad de tipos celulares específicos, como los tumores epiteliales (p. ej., de ovario, cuello uterino, endometrio, mama, colorrectal, riñón, pulmón, nasofaríngeo), mientras que el receptor FR beta se sobreexpresa con frecuencia en células leucémicas (aprox. el 70 % de las leucemias mieloides agudas [LMA] son positivos para FR beta). Por tanto, ambos pueden utilizarse como marcadores tumorales valiosos para el reconocimiento selectivo de tumores (Elnakat y Ratnam, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1067-84). Además, recientemente se ha descubierto que los macrófagos sinoviales activados (pero no en reposo) en pacientes diagnosticados de artritis reumatoide poseen un FR beta funcionalmente activo (Nakashima-Matsushita y cols., Arthritis & Rheumatism, 1999, 42(8): 1609-16). Por tanto, los macrófagos activados pueden ser reconocidos selectivamente con conjugados de folato en articulaciones artríticas, una capacidad que abre posibilidades para el diagnóstico y tratamiento de la artritis reumatoide (Paulos y cols. Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1205-17).

El término folatos se utiliza en este documento con un término genérico para una familia de compuestos químicamente similares implicados en diversas rutas de biosíntesis. Los folatos constan de tres unidades, que incluyen (i) una unidad de heterociclo de pirimidina condensado, que se une a través de un grupo metileno en la posición C-6 a (ii) una unidad de ácido p-aminobenzoico, que está unido a (iii) una o más unidades de aminoácido. Por ejemplo, en el caso de los derivados de ácido fólico, una unidad de heterociclo de pteridina se une a través de un grupo metileno en la posición C-6 a una unidad de ácido p-aminobenzoico, que está unida a un número variable de unidades de ácido glutámico. Cada una de estas unidades puede someterse a variación para crear una biblioteca de diversas estructuras de folato. Estas variaciones pueden incluir folatos que difieran en el estado de oxidación del anillo de pteridina, el tipo de sustituyente de carbono en las posiciones N5 y/o N10, el tipo y número de restos de aminoácido conjugados y el sustituyente.

El ácido fólico en sí como análogo sintético y miembro del grupo de folatos es la forma más oxidada, mientras que el dihidrofolato y el tetrahidrofolato son formas de folatos progresivamente más reducidas (como sus nombres indican).

Los folatos están implicados en la transferencia de unidades 1-C en rutas sintéticas clave de biomoléculas como la biosíntesis de metionina, purina y pirimidina. Adicionalmente, tienen un papel importante en la interconversión de serina y glicina, así como en el catabolismo de la histidina. Los folatos y sus derivados se han estudiado intensivamente durante los últimos 15 años como agentes de reconocimiento específico para la administración de agentes terapéuticos y/o diagnósticos a poblaciones de células portadoras de receptores de folato para conseguir una concentración selectiva de agentes terapéuticos y/o diagnósticos en dichas células en relación con las células normales.

Se han conjugado diversas sondas al ácido fólico que se han evaluado a nivel (pre)clínico, como radiofármacos de folato (Leamon y Low, *Drug Discov. Today* 2001; 6:44-51 y Jammaz y cols., *J. Label Compd Radiopharm* 2006; 49:125-137), conjugados folato de fármacos quimioterapéuticos (Leamon y Reddy, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56:1127-41; Leamon y cols., *Bioconjugate Chem.* 2005; 16:803-11), proteínas y toxinas proteicas (Ward y cols., *J. Drug Target.* 2000; 8:119-23; Leamon y cols., *J. Biol. Chem.* 1993; 268:24847-54; Leamon y Low, *J. Drug Target.* 1994; 2:101-12), oligonucleótidos complementarios (Li y cols., *Pharm. Res.* 1998; 15:1540-45; Zhao y Lee, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56:1193-204), liposomas (Lee y Low, *Biochim. Biophys. Acta-Biomembr.* 1995; 1233:134-44; Gabizon y cols., *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56:1177-92), moléculas de hapteno (Paulos y cols., *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56:1205-17), medios de contraste para RMN (Konda y cols., *Magn. Reson. Mat. Phys. Biol. Med.* 2001; 12:104-13) etc. Típicamente todas estas sondas se conjugan al ácido fólico a través de su porción glutamato, el cual se presta a una metodología conocida de acoplamiento de ácido carboxílico.

Los radiofármacos de folato pueden ser en particular muy útiles para mejorar el diagnóstico y la evaluación de la eficacia del tratamiento antineoplásico. Esto puede incluir la evaluación y/o predicción de una respuesta al tratamiento y, por consiguiente, la mejora de la dosimetría de radiación. En la técnica se conocen métodos de visualización típicos adecuados para el estudio por imagen que incluyen tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), cámaras gamma, centelleo y similares.

Tanto PET como SPECT utilizan radiotrazadores para actividades de obtención de imágenes, mapas y medidas de sitios diana de elección. Sin embargo, mientras que PET utiliza nucleidos que emiten positrones que requieren un ciclotrón próximo debido a las cortas semividas de los emisores de positrones, SPECT utiliza nucleidos que emiten un único fotón que están disponibles mediante sistemas generadores, lo que hace que se pueda utilizar independientemente de la cercanía de instalaciones como ciclotrones o reactores y, por tanto, es más cómodo. No obstante, SPECT proporciona menos sensibilidad que PET y además hay pocas estrategias sobre métodos de cuantificación. Por el contrario, PET muestra una sensibilidad mayor (más de 100 veces la de SPECT) y proporciona métodos de cuantificación bien elaborados. Además, PET es una de las tecnologías de estudio por imagen funcionales más sofisticadas para evaluar la captación regional y la afinidad de ligandos o sustratos metabólicos en el cerebro y en otros órganos y, por tanto, proporciona medidas de estudio por imagen basadas en la actividad metabólica. Esto se consigue, por ejemplo, administrando un nucleido emisor de positrones a un sujeto, y cuando se produce su desintegración radioactiva, los rayos gamma resultantes de la aniquilación de los positrones se detectan en el escáner de PET mediante un anillo de detectores que están conectados por parejas de manera coincidente.

Entre los factores necesarios que deben considerarse en la selección de un isótopo adecuado útil para PET se incluyen una semivida suficiente del isótopo emisor de positrones que permita la preparación de una composición diagnóstica opcionalmente en un vehículo farmacéuticamente aceptable antes de su administración al paciente, y semivida restante suficiente que rinda una actividad suficiente que permita su medición extracorpórea mediante un escáner de PET. Además, un isótopo adecuado debería tener una semivida suficientemente corta como para limitar la exposición del paciente a radiación innecesaria. Típicamente, un radiofármaco adecuado para PET puede estar basado en un isótopo metálico, como galio o cobre. No obstante, estos dos requieren un quelante para atrapar el metal, lo que puede afectar a sus propiedades estéricas y químicas. Alternativamente, un radiofármaco puede estar basado en un isótopo unido covalentemente que proporcione una alteración estructural mínima. Los radionucleidos utilizados para la unión covalente y adecuados para la exploración mediante PET típicamente son isótopos emisores de positrones con semividas cortas como ^{11}C (aprox. 20 min), ^{13}N (aprox. 10 min), ^{15}O (aprox. 2 min) y ^{18}F (aprox. 110 min).

Hasta la fecha, se han sintetizado diversos radiofármacos de folato a base de quelatos que se han evaluado con éxito como agentes diagnósticos para el estudio por imagen de tumores positivos para receptores de folato. Los derivados más ampliamente estudiados estaban marcados con ^{111}In y con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Siegel y cols., *J. Nucl. Med.* 2003, 44:700; Müller y cols., *J. Organomet. Chem.* 2004, 689:4712) o con ^{68}Ga (Mathias y cols., *Nucl. Med. Biol.* 2003, 30(7):725). Sin embargo, solo este último es un emisor de positrones y es adecuado para el estudio por imagen mediante PET, mientras que los dos anteriores son emisores de fotones únicos y se utilizan para SPECT. También todos los anteriores necesitan un agente quelante adecuado que típicamente se une al ácido fólico a través de su aminoácido, es decir, la porción glutamato.

Por tanto, sería de gran interés un radiofármaco de folato con un nucleido emisor de positrones unido covalentemente. En particular, un radiofármaco de folato unido a ^{18}F sería más adecuado para el estudio por imagen mediante PET debido a sus excelentes características de captación de imágenes que podrían cubrir todas las consideraciones mencionadas anteriormente. En comparación con otros radionucleidos adecuados (^{11}C , ^{13}N , ^{15}O), ^{18}F es muy útil debido a su semivida más larga de aproximadamente 110 minutos y a su desintegración mediante la emisión de positrones con una baja energía de positrón de 635 keV, lo que permite una resolución muy alta para las imágenes de PET. Asimismo, la semivida más larga del ^{18}F también permite síntesis que son más complejas y una distribución satélite a centros de PET sin instalaciones de ciclotrón y/o radioquímica. Además, el radio atómico del flúor es comparable al del H. Esto supone que los efectos estéricos de una sustitución de H por flúor difícilmente interferirán

con la unión del ligando al receptor. Solo la alta electronegatividad del flúor puede afectar a las propiedades bioquímicas de un ligando fluorado en comparación con el análogo no sustituido.

Sin embargo, la estructura de los folatos no se presta al radiomarcaje directo con ^{18}F . Por tanto hasta la fecha, se han publicado en la literatura solo escasos ejemplos de folatos marcados con ^{18}F (Bettio y cols. J. Nucl. Med., 2006, 47(7), 1153; documento WO 2006/071754). Además, estos sugieren el marcaje con ^{18}F a través de la conjugación con la porción glutamato de los folatos. Hasta la fecha no se conoce ningún folato marcado con ^{18}F o derivado del mismo, donde el flúor-18 esté unido al esqueleto de folato, como por ejemplo al resto benzoilamina. Además, la radiosíntesis actualmente publicada era muy costosa y proporcionaba solo bajos rendimientos radioquímicos de menos del 5 % (Bettio y col., J. Nucl. Med., 2006, 47(7), 1153) y, por tanto, no es adecuada para aplicaciones clínicas de rutina.

Por tanto, los folatos marcados con ^{18}F o sus derivados que se conocen en la actualidad no pueden cubrir las necesidades de radiofármacos específicos adecuados para el estudio por imagen metabólico de los tumores para mejorar el diagnóstico y tratamiento del cáncer y de las enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Los solicitantes han encontrado ahora que pueden obtenerse radiofármacos de folato marcados con ^{18}F donde el flúor-18 está unido al resto aminobenzoílo dentro del esqueleto del folato mediante, por ejemplo, radiomarcaje directo.

Por tanto, la presente invención se refiere a nuevos radiofármacos ^{18}F -folato, en los que el flúor-18 está covalentemente unido al resto aminobenzoílo, que une el heterociclo de pteridina a la porción del aminoácido dentro de las estructuras del folato, un método para su preparación, preferiblemente mediante radiomarcaje directo, así como su uso en el diagnóstico y seguimiento del cáncer y de enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Resumen de la invención

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a nuevos radiofármacos de ^{18}F -folato (también denominados en adelante compuestos de la invención), donde el flúor-18 está unido covalentemente al resto aminobenzoílo.

En una realización específica, los nuevos radiofármacos de folato están sustituidos con el flúor-18 en la posición 2' y/o 6' del resto aminobenzoílo, que opcionalmente comprende al menos un grupo de atracción de electrones adicional seleccionado entre $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, $-\text{SO}_3\text{R}'$, $-\text{COOR}'$, $-\text{COR}'$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{F}$, sales de yodonio $-\text{I}^+(\text{R}')_2$, dialquil/arilsilanos $-\text{SiOH}(\text{R}')_2$ y silanoles $-\text{SiH}(\text{R}')_2$, donde R' es independientemente un grupo alquilo $\text{C}_{(1-12)}$ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos.

En una realización preferida, la presente invención también se refiere a radiofármacos 2'- y 6'- ^{18}F -folato, que opcionalmente comprenden al menos un grupo de atracción de electrones.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para su preparación. En una realización preferida los radiofármacos de ^{18}F -folato de la invención se obtienen mediante el radiomarcaje con ^{18}F de precursores adecuados.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a radiofármacos de ^{18}F -folato de la invención para su uso en el diagnóstico de una célula o población de células que expresan un receptor de folato y al seguimiento del cáncer y su tratamiento *in vitro* o *in vivo* o al seguimiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes como artritis reumatoide.

En una realización, la presente invención se refiere a radiofármacos de ^{18}F -folato de la invención para su uso en el diagnóstico por imagen de una célula o población de células que expresan un receptor de folato.

Más específicamente, la presente invención incluye métodos para el diagnóstico por imagen de una célula o población de células que expresan un receptor de folato, que incluye por ejemplo, métodos para la detección *in vitro* de una célula que expresa el receptor de folato, por ejemplo una célula tumoral o un macrófago activado, en una muestra de tejido. Estos métodos también pueden llevarse a cabo *in vivo*.

Por tanto, en una realización adicional la presente invención se refiere a radiofármacos de ^{18}F -folato de la invención para su uso para la administración conveniente y eficaz a un sujeto que necesita un diagnóstico por imagen y/o el seguimiento del tratamiento del cáncer o de enfermedades inflamatorias y autoinmunes. El sujeto de los métodos de la presente invención es preferiblemente un mamífero, como un animal o un humano, preferiblemente un humano.

Estos métodos de la invención pueden realizarse en combinación con cualquier otro método de diagnóstico o tratamiento del cáncer o de enfermedades inflamatorias y autoinmunes que incluye métodos que usan otros agentes

diagnósticos y/o terapéuticos ya desarrollados y utilizando tomografía axial computarizada (TAC), resonancia magnética nuclear (RMN), resonancia magnética funcional (RMf), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), adquisición de imágenes óptica y ecografía.

- 5 Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de la misma y de las reivindicaciones.

Breve descripción de las figuras

- Figura 1.** Datos de estudios de biodistribución *ex vivo* usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico: captación específica en tejidos positivos para receptor de folato.
- 10 **Figura 2.** Imágenes de PET usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico (las flechas señalan la posición de los tumores derivados de xenoinjertos de células KB).
- Figura 3.** Imágenes de PET usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico (las flechas señalan los riñones).
- Figura 4.** Imágenes de PET *ex vivo* de tumores derivados de xenoinjertos de células KB usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico.

Descripción detallada de la invención

- 15 En un primer aspecto, la presente invención se refiere a nuevos radiofármacos de ¹⁸F-folato (también denominados en adelante compuestos de la invención), donde el flúor-18 está unido covalentemente al resto aminobenzoílo.

¹⁸F normalmente está disponible como [¹⁸F]F₂ electrófilo y, como generalmente se usa en este documento, como [¹⁸F]fluoruro nucleófilo. En forma de [¹⁸F]fluoruro, el flúor-18 se produce con mayor eficacia. Además, esta es la única posibilidad para preparar suficientemente radiotrazadores sin añadir vehículo.

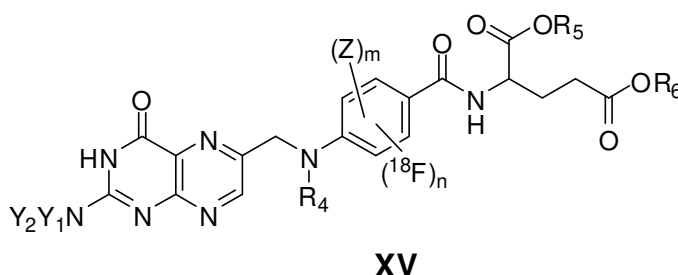
- 20 En una realización preferida, un folato (estructura) o su derivado, también denominado en adelante simplemente «folato» o «folatos», para su uso en la presente invención comprende compuestos basados en un heterociclo de pirimidina condensado, que está unido a un resto aminobenzoílo que porta en posición *para* una porción de aminoácido. Según se usa en este documento, un «heterociclo de pirimidina condensado» incluye una pirimidina fusionada con otro heterociclo de 5 o 6 átomos, como una pteridina o un biciclo pirrolopirimidina. Según se usa en este
- 25 documento el término «aminoácido» incluye compuestos tanto con un grupo amino (p. ej., NH₂ o NH₃⁺) como con un grupo ácido carboxílico (p. ej., COOH o COO⁻). En una realización específica, el aminoácido puede ser un α-aminoácido, un β-aminoácido, un D-aminoácido o un L-aminoácido. El aminoácido puede ser un aminoácido natural (p. ej., alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, triptófano, metionina, glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparragina, glutamina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina o histidina, etc.) o puede ser uno de sus derivados. Entre los ejemplos de derivados se incluyen aminoácidos opcionalmente sustituidos que, por ejemplo
- 30 tienen uno o más sustituyentes seleccionados entre CN, Hal y/o NO₂ (p. ej., ácido fluoroglutámico). El aminoácido también puede incluir cualquier otro aminoácido no natural, como por ejemplo, norleucina, norvalina, L o D-naftalanina, ornitina, homoarginina y otros bien conocidos en la técnica de péptidos (consultar por ejemplo M. Bodanzsky, "Principles of Peptide Synthesis," 1.^a y 2.^a edición revisada, Springer-Verlag, Nueva York, NY, 1984 y 1993, y Stewart
- 35 y Young, "Solid Phase Peptide Synthesis," 2.^a ed., Pierce Chemical Co., Rockford, IL, 1984). Los aminoácidos y análogos/derivados de aminoácido se pueden obtener en el mercado (Sigma Chemical Co.; Advanced Chemtech) o sintetizarse usando métodos conocidos en la técnica. En otra realización específica, el aminoácido también puede ser parte de un ácido poliamino (también denominado polipéptido) donde varios aminoácidos iguales o diferentes según se definió anteriormente en este documento están unidos covalentemente, es decir, unidos a través de enlaces
- 40 peptídicos convencionales o de otro tipo. Entre los aminoácidos preferidos se incluyen, por ejemplo, ácido glutámico, ácido aspártico, glutamina, asparragina, lisina, arginina, cisteína y sus derivados y entre los poliaminoácidos se incluyen homopolímeros y sus respectivos homopolímeros (es decir, ácido poliglutámico, ácido poliaspártico, etc.). Los más preferidos son ácido aspártico y glutámico opcionalmente sustituidos.

- 45 Los representantes de folatos preferidos según se usa en este documento se basan en un esqueleto de folato, es decir, ácido pteroil-glutámico o ácido N-[4(pteridin-6-ilmetilamino)benzoil]-glutámico, y sus derivados, e incluyen ácido fólico, ácido folínico, ácido pteropoliglutámico opcionalmente sustituidos, y pteridinas que se unen a receptores de folato como tetrahidropterinas, dihidrofolatos y tetrahidrofolatos. El ácido fólico es la estructura básica preferida utilizada para los compuestos de esta invención.

En una realización en particular, los nuevos radiofármacos de folato están marcados con flúor-18 en la posición 2', 3', 5' o 6' del resto aminobenzoílo, preferiblemente en la posición 2' o 6'. Los más preferidos son los radiofármacos 2'- y 6'-¹⁸F-folato. Opcionalmente, los nuevos radiofármacos de folato comprenden adicionalmente al menos un grupo de atracción de electrones seleccionado entre -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/arilsilanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos.

Más preferiblemente uno o dos grupos de atracción de electrones en la posición 2' y/o 6' del resto aminobenzoílo.

En una realización específica adicional, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula XV,



donde

Z es un grupo de atracción de electrones preferiblemente seleccionado entre -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/arilsilanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos,

R₅, R₆ son independientemente entre sí H o un alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificada, que no está sustituido o está sustituido por al menos uno de CN, Hal o NO₂, y donde uno o más de los grupos CH₂ no adyacentes embebidos pueden estar independientemente sustituidos por -O-, -CO-, -CO-O-, -CO-NR'-, -CH=CH-, -C≡C-,

Y₁, Y₂ se seleccionan independientemente entre sí a partir de H, alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada,

R₄ se selecciona entre H, nitroso, alquilo C₁-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂, alcanoílo C₁-C₁₂, alcanoílo C₁-C₁₂ halosustituido,

m es 0, 1, 2 o 3, y

n es 1.

Se entiende que las abreviaturas «N» y «C» son representativas de todos los grados de saturación posibles, es decir, N incluye enlaces -NH- y -N= y C incluye enlaces -CH₂- y -CH=.

En una realización preferida el flúor-18 está en la posición 2' o 6'.

En otra realización preferida

R' es H, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, alcanoílo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, carbonilo(alcoxi C₁-C₆) o carbonilo(alquilamino C₁-C₆).

En una realización incluso más preferida

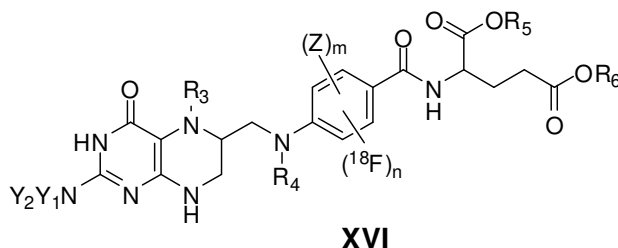
R' es H, metilo o etilo,

R₃, R₄ son independientemente entre sí H, metilo o formilo, y

R₅, R₆ son independientemente entre sí H, metilo, etilo o terc-butilo.

En otra realización específica, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula XV donde m es 1 o 2, de modo que más preferiblemente el grupo (o grupos) de atracción de electrones Z está en la posición 2' y/o 6'.

5 Por tanto, en una realización específica adicional, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula XVI,



donde

10 Z es un grupo de atracción de electrones preferiblemente seleccionado entre -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/arilsilanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos,

R₃, R₄ son independientemente entre sí H, formilo, iminometilo, nitroso, alquilo C₁-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂, alcanoilo C₁-C₁₂, alcanoilo C₁-C₁₂ halosustituido,

15 R₅, R₆ son independientemente entre sí H o un alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificada, que no está sustituido o está sustituido por al menos uno de CN, Hal o NO₂, y donde uno o más de los grupos CH₂ no adyacentes embebidos pueden estar independientemente sustituidos por -O-, -CO-, -CO-O-, -CO-NR'-, -CH=CH-, -C≡C-,

Y₁, Y₂ se seleccionan independientemente entre sí a partir de H, alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada,

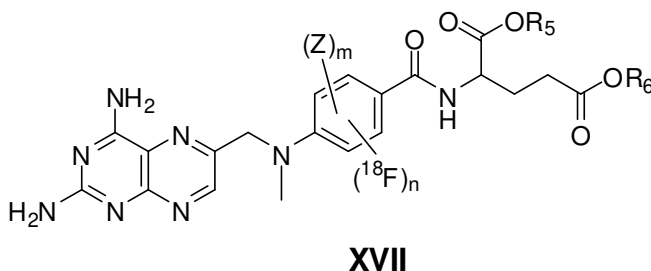
20 m es 0, 1, 2 o 3, y

n es 1.

Las realizaciones preferidas de los compuestos de fórmulas XV también se aplican a los compuestos de fórmula XVI.

Otras realizaciones son compuestos de fórmulas XV a XIV donde R₃ = R₅ = R₆ es H, R₄ es CH₃.

Por tanto, en una realización específica adicional, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula XVII,



donde

Z es un grupo de atracción de electrones preferiblemente seleccionado entre -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/arilsilanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos,

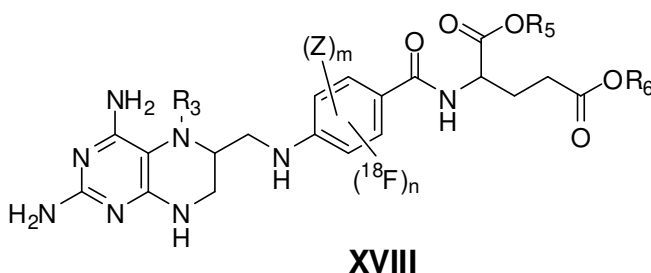
R₅, R₆ son independientemente entre sí H o un alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificada, que no está sustituido o está sustituido por al menos uno de CN, Hal o NO₂, y donde uno o más de los grupos CH₂ no adyacentes embebidos pueden estar independientemente sustituidos por -O-, -CO-, -CO-O-, -CO-NR'-, -CH=CH-, -C≡C-,

m es 0, 1, 2 o 3, y

n es 1.

Otras realizaciones son compuestos de fórmulas XV a XIV donde R₄ = R₅ = R₆ es H, R₃ es CH₃ o formilo.

Por tanto, en una realización específica adicional la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula XVIII,



donde

Z es un grupo de atracción de electrones preferiblemente seleccionado entre -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/arilsilanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos,

R₃ es H, metilo o formilo,

R₅, R₆ son independientemente entre sí H o un alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificada, que no está sustituido o está sustituido por al menos uno de CN, Hal o NO₂, y donde uno o más de los grupos CH₂ no adyacentes embebidos pueden estar independientemente sustituidos por -O-, -CO-, -CO-O-, -CO-NR'-, -CH=CH-, -C≡C-,

m es 0, 1, 2 o 3, y

n es 1.

El término «alquilo», cuando se utiliza de manera individual o en combinación, se refiere a grupos alquilo lineales o ramificados que contienen de 1 a 12, preferiblemente de 1 a 8, más preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono, como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo y similares.

Según se usa en este documento, el término «alqueno» (es decir, un grupo alquilo como se define anteriormente que tiene al menos un enlace doble), de manera individual o en combinación con otros grupos, se refiere a grupos alqueno de cadena lineal o ramificada que contienen de 2 a 12 átomos de carbono, como metileno, etileno, propileno,

isopropileno, butileno, t-butileno, sec-butileno, isobutileno, amileno, isoamileno, pentileno, isopentileno, hexileno y similares. Los grupos alqueno preferidos contienen de 2 a 8 átomos de carbono.

5 El término «alquinilo» (es decir, un grupo alquilo como se define anteriormente con al menos un enlace triple) según se usa en este documento se refiere a una cadena lineal o ramificada de átomos de carbono con uno o más enlaces triples carbono-carbono. Los grupos alquinilo preferidos contienen de 2 a 12, más preferiblemente de 2 a 8 átomos de carbono.

El término «alcoxi» según se usa en este documento se refiere a un alquilo, como se define anteriormente, sustituido con oxígeno, como metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, terc-butoxi y similares.

10 El término «alcanoílo» según se usa en este documento se refiere a formilo, o un alquilo, como se define anteriormente, sustituido en el extremo terminal con un carbonilo como acetilo, propanoílo, butanoílo, pentanoílo y similares.

El término «alquilamino» según se usa en este documento se refiere a un alquilo, como se definió anteriormente, sustituido con nitrógeno, que incluye tanto monoalquilamino, tales como metilamino, etilamino, propilamino, terc-butilamino y similares, como dialquilamino, tales como dimetilamino, dietilamino, metilpropilamino y similares.

15 El término «halo» según se usa en este documento se refiere a cualquier elemento del grupo 17 e incluye flúor, cloro, bromo, yodo y astato(o).

La expresión «opcionalmente sustituido» preferiblemente incluye sustitución con hidroxilo, alcoxi, (di)alquilamino, alquilsulfonilo, alquilcarbonilo, alquilcarboniloxi, alcocarbonilo, carboxilo, Hal, CN, NO₂.

20 La expresión «grupo carbocíclico y heterocíclico que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos y similares» preferiblemente incluye fenilo, naftilo, azetidino, pirrolidino, imidazolilo, indolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxatriazolilo, tiatriazolilo, piridazinilo, morfolinilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridilo, quinolinilo, isoquinolinilo, piperidinilo, pirazolilo, imidazopiridinilo y piperazinilo, más preferiblemente fenilo, naftilo, pirrolidino, imidazolilo, triazolilo, pirimidinilo, piridilo, piperidinilo y pirazolilo, más preferiblemente fenilo, piridilo y naftilo.

25 El término «grupo de atracción de electrones» o «grupo Z» según se usa en este documento se refiere a una funcionalidad que puede actuar como grupo saliente y, por tanto, puede intercambiarse por un [¹⁸F]fluoruro entrante o también puede actuar como un activador para la introducción de [¹⁸F]fluoruro. Entre los grupos de atracción de electrones adecuados se incluyen -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/aryl silanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos y similares, preferiblemente -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, más preferiblemente -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃.

En una realización preferida R₃ y R₄ son independientemente entre sí H, metilo o formilo.

En una realización preferida R₅ y R₆ son independientemente entre sí H, metilo, etilo o terc-butilo.

En una realización preferida R' es H, metilo o etilo.

En una realización preferida R'' es H, metilo o etilo.

35 En un aspecto adicional de la presente invención se proporciona un método de síntesis de un compuesto de la invención. Los solicitantes han encontrado que los radiofármacos de folato de la invención pueden obtenerse mediante radiomarcado directo con [¹⁸F]fluoruro.

40 Más específicamente, un método de producción de la invención comprende los pasos de proporcionar un precursor de fórmula XV donde n = 0 y hacer reaccionar dicho precursor con [¹⁸F]fluoruro activado mediante catalizadores de transferencia de fase como carbonato de tetrabutilamonio o aminopolíéters (p. ej., Kryptofix® 2.2.2) en combinación con carbonato u oxalato de potasio para formar un compuesto de fórmula XV que incluye un grupo [¹⁸F]fluoruro. En una realización preferida, los radiofármacos de folato se obtuvieron en un método de marcado directo basado en un intercambio de nitrógeno por flúor.

45 En una reacción típica se añadió un solvente orgánico adecuado a ¹⁸F-fluoruro-criptato seco y la solución resultante se añadió a un precursor protegido adecuado, que se proporcionó en un recipiente de reacción sellado con una base como DIEA, TEA o piridina. La mezcla resultante se calentó a 140-145 °C durante 20-25 min. Tras la purificación en

un cartucho corto, se llevó a cabo la desprotección en condiciones básicas o ácidas y se calentó suavemente durante 5–10 min. La solución de producto sin procesar se neutralizó e inyectó en un sistema de HPLC semipreparativa. Se recogió el producto radiactivo y los solventes de HPLC se eliminaron mediante una corriente de nitrógeno, vacío y calentamiento suave. Para la formulación, el producto seco se redisolvió con solución fisiológica y se transfirió a un vial estéril usando un filtro estéril.

En un aspecto adicional la presente invención proporciona radiofármacos de folato de la invención para su uso para la administración conveniente y eficaz a un sujeto que necesita un diagnóstico por imagen.

Por tanto, la presente invención proporciona un método para el diagnóstico por imagen de una célula o población de células que expresan un receptor de folato, comprendiendo dicho método los pasos de administrar al menos un radiofármaco de folato de la invención en una cantidad para diagnóstico por imagen, y obtener una imagen diagnóstica de dicha célula o población de células.

Dicho estudio por imagen puede realizarse sobre una célula o población de células que expresan un receptor de folato *in vitro* o *in vivo*.

Por tanto, la presente invención proporciona un método para la detección *in vitro* de una célula que expresa el receptor de folato en una muestra de tejido que incluye poner en contacto dicha muestra de tejido con al menos un radiofármaco de folato de la invención en cantidades eficaces y durante tiempo suficiente y condiciones que permitan que se produzca la unión y detectar dicha unión mediante el estudio por imagen como autorradiografía y similares.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona radiofármacos de folato de la presente invención para su uso para la administración conveniente y eficaz a un sujeto que necesita un diagnóstico por imagen o para el seguimiento del tratamiento del cáncer o de enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un radiofármaco de folato de la presente invención para su uso en un método para el diagnóstico y tratamiento simultáneos, que comprende los pasos de administrar a un sujeto que lo necesita al menos un radiofármaco de folato de la presente invención en una cantidad eficaz para el diagnóstico en combinación con un compuesto terapéuticamente activo, y obtener una imagen diagnóstica de dichos tejidos para seguir la evolución del tratamiento.

El sujeto de los métodos de la presente invención es preferiblemente un mamífero, como un animal o un humano, preferiblemente un humano.

La dosis depende de la naturaleza del efecto deseado, tal como la forma de diagnóstico o tratamiento, de la clase y frecuencia del tratamiento, de la instrumentación diagnóstica, de la forma de aplicación de la preparación y de la edad, peso, nutrición y estado del paciente receptor y tipo de tratamiento concomitante, si lo hubiera.

No obstante, la dosis más preferida puede adaptarse al sujeto individual, según entienda y puede determinar un experto en la materia, sin necesidad de experimentación. Normalmente, esto supone el ajuste de una dosis estándar, por ejemplo, reducción de la dosis si el paciente tiene bajo peso corporal.

El tratamiento puede iniciarse con una cantidad más pequeña, por debajo de la cantidad óptima, la cual puede aumentarse para conseguir el efecto óptimo.

Los radiofármacos de folato de la presente invención pueden administrarse como dosis repetidas o preferiblemente como una única dosis. Por ejemplo, los radiofármacos de folato de esta invención pueden administrarse a un sujeto mediante inyección en bolo intravenoso. Entre las formas adecuadas para la inyección se incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles de los radiofármacos de folato de la presente invención mencionados anteriormente.

En el caso de una solución inyectable, la dosis unitaria preferida es de aproximadamente 0,01 ml a aproximadamente 10 ml. Tras, por ejemplo, la administración intravenosa, el estudio por imagen del órgano o del tumor *in vivo* puede realizarse, si se desea, de 30 min a 4 horas, después de la administración al sujeto del reactivo radiomarcado. Típicamente, se acumulará una cantidad suficiente de la dosis administrada en la zona objetivo.

Los radiofármacos de folato se purifican preferiblemente mediante HPLC. Tras eliminar los solventes de la purificación por HPLC, los productos se disolvieron preferiblemente en soluciones fisiológicas como NaCl al 0,9 % o una solución de tampón fosfato 0,15 M, antes de la aplicación, el radiofármaco formulado se transfiere a un vial estéril a través de un filtro estéril.

Los radiofármacos de folato de la invención pueden también utilizarse para la detección *in vitro* de una célula que expresa el receptor de folato en una biopsia de tejido obtenido de un sujeto. Por tanto, en una realización adicional, la presente invención proporciona un método para la detección *in vitro* de una célula que expresa el receptor de folato, por ejemplo, una célula tumoral o un macrófago activado, en una muestra de tejido que incluye poner en contacto
 5 dicha muestra de tejido con un radiofármaco de folato de la presente invención en cantidades eficaces y durante tiempo suficiente y condiciones que permitan que se produzca la unión y detectar dicha unión mediante técnicas de estudio por imagen.

Las muestras pueden recogerse mediante procedimientos conocidos por un experto, por ejemplo, realizando una biopsia de tejido, recogiendo un líquido corporal o aspirando muestras de tráquea o pulmonares y similares.

Entre las muestras de tejido que se analizan se incluyen aquellas de cualquier tejido sospechoso de contener una célula que expresa un receptor de folato, como células tumorales, células epiteliales, riñones, gastrointestinales o del sistema hepatobiliar, macrófagos activados, monocitos y otros. Las muestras pueden cortarse, por ejemplo, con un microtomo, para facilitar su examen y observación microscópica. Las muestras también pueden fijarse con un medio de fijación adecuado antes o después de la incubación con uno de los radiofármacos de folato de la presente invención
 10 para mejorar la calidad histológica de los tejidos de la muestra. El tiempo y condiciones suficientes para la unión del radiofármaco de folato de la presente invención a un receptor de folato en la célula incluyen condiciones de cultivo tisular estándar, es decir, las muestras pueden cultivarse *in vitro* e incubarse con uno de los compuestos o composiciones de la presente invención en medios fisiológicos. Estas condiciones son bien conocidas por el experto. Alternativamente, las muestras pueden fijarse y, a continuación, incubarse con un radiofármaco de folato de la presente invención en un tampón isotónico o fisiológico.

Para todas las aplicaciones es conveniente preparar los compuestos o composiciones de la presente invención en el lugar, o cerca del sitio donde se van a utilizar.

Todos los compuestos y/o métodos descritos y reivindicados en este documento pueden hacerse y ejecutarse sin excesiva experimentación a la luz de la presente memoria descriptiva. Será aparente para los expertos en la materia que pueden aplicarse variaciones a la presente invención sin alejarse del alcance de la misma.
 25

Ejemplos

Material y métodos

Producción de [¹⁸F]fluoruro s.v.a. El [¹⁸F]fluoruro se obtuvo mediante la reacción nuclear de ¹⁸O(p,n)¹⁸F en un ciclotrón *Cyclone 18/9* (IBA, Bélgica). Se irradió [¹⁸O]agua isotópicamente enriquecida al 97 % mediante un haz de protones de
 30 16 MeV usando un objetivo líquido de 2,1 ml. La solución de [¹⁸F]fluoruro/[¹⁸O]agua se transfirió del objetivo a un manipulador equipado con célula caliente para síntesis usando una corriente de helio. El [¹⁸F]fluoruro (~20–30 GBq) estaba atrapado en un cartucho de intercambio aniónico (Sep-Pak® Light Accell Plus QMA, Waters AG), preacondicionado con 5 ml de una solución de carbonato potásico 0,5 M y 5 ml de agua mientras que el [¹⁸O]agua se recuperó para su reciclaje.

Espectros de RMN ¹H: Los espectros de RMN ¹H se registraron en un espectrómetro Varian Mercury Plus 200 (200 MHz). Los desplazamientos químicos se documentaron usando TMS (tetrametilsilano) como patrón interno. Los espectros de masa de ionización por electropulverización se documentaron en un espectrómetro Agilent XCT.

HPLC: Para el análisis mediante HPLC de los precursores y el ácido 2'-fluorofólico se usó el siguiente método de HPLC: el eluyente A era NaH₂PO₄ acuoso 0,05 M que se ajustó a pH 7,0 mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido sódico al 32 %. El eluyente B era una mezcla 1:1 de solvente A y metanol. La columna utilizada era RP
 40 18, Nucleosil, el gradiente era de eluyente A al 100 % a eluyente B al 100 % en 30 min, se disolvieron 20 mg de la muestra en un tampón compuesto por 20 g de NaHCO₃ y 20 g de KHCO₃ en 1000 ml de agua.

Para todos los demás compuestos intermedios se utilizó el siguiente método de HPLC: el mismo método que el descrito anteriormente, pero el eluyente B estaba compuesto por 800 ml de metanol y 200 ml de NaH₂PO₄ 0,05 M.

La purificación mediante HPLC semipreparativa del ácido 2'-fluorofólico se realizó en una columna RP 18, Gemini 5 µ C18, 250 x 10 mm, usando el siguiente gradiente. Solvente A = solución de tampón fosfato 0,05 M, B = metanol, 0-30 min: A: 99 % → 40 %, 30-40 min: A: 40 % → 10 %, 40-45 min: A: 40 % → 99 %.
 45

Ejemplo 1: Síntesis de ácido 2'-nitrofólico

(a) Síntesis de ácido 4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzoico

A una suspensión de 1 g de ácido 4-amino-2-nitro-benzoico en 10 ml de agua se añadieron 0,69 g de solución acuosa de hidróxido sódico (32 %) seguido de una solución de 1,2 g de di-terc-butil-dicarbonato en 12 ml de dioxano. Después de 29 horas a temperatura ambiente se añadieron 0,24 g de di-terc-butil-dicarbonato y la mezcla se agitó durante 2 horas más a temperatura ambiente.

La mezcla de reacción se lavó tres veces con metil-terc-butiléter. La capa acuosa se trató con una solución acuosa de ácido cítrico al 10 % hasta que se obtuvo un pH = 3. La suspensión resultante se enfrió hasta 0 °C. El producto se aspiró, se lavó con agua y se secó al vacío a 40 °C para obtener 0,72 g de ácido 4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzoico.

(b) Síntesis de di-terc-butil-N-(4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato

A una mezcla de ácido 4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzoico en 60 ml de diclorometano se añadieron 4,8 g de N,N,N',N'-tetrametil-O-(1H-benzotriazol-1-il)-uronio-hexafluorofosfato. Tras agitar durante 15 min, se añadió una mezcla de 3,8 g de clorhidrato de di-terc-butiléster del ácido glutámico en 60 ml de diclorometano y 3 ml de trietilamina gota a gota. Tras agitar durante 20 horas a temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el filtrado se lavó cinco veces con ácido cítrico acuoso al 10 %, cuatro veces con una solución acuosa de carbonato sódico al 5 % y dos veces con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para obtener 6,3 g de di-terc-butil N-(4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato como una espuma de color amarillo. Este se utilizó directamente en el ejemplo 3.

(c) Sal del ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico x ácido trifluoroacético

A una solución de di-terc-butil-N-(4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato en 53 ml de diclorometano se añadieron 53 ml de ácido trifluoroacético a 0 °C bajo atmósfera de argón. Tras 1 hora a temperatura ambiente la mezcla se concentró a sequedad para obtener 3,54 g de ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico como una espuma de color amarillo.

(d) Síntesis del ácido 2'-nitrofólico

A una solución de 3,5 g de sal del ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico x ácido trifluoroacético en 50 ml de dimetilacetamida se añadieron 2,31 g de bromhidrato de 2-amino-4-oxo-6-bromometil-pteridina bajo atmósfera de nitrógeno. La suspensión se agitó a 60 °C durante 5 horas y, a continuación, durante 20 horas a temperatura ambiente. Los sólidos se eliminaron mediante filtración y se lavó con dimetilacetamida. El filtrado se añadió gota a gota durante 10 min a 321 ml de ácido clorhídrico acuoso 0,1 M a temperatura ambiente. La suspensión resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El producto se aspiró, se lavó con 24 ml de ácido clorhídrico acuoso 0,1 M y 24 ml de agua, se secó a 40 °C al vacío para obtener 1,54 g de ácido 2'-nitrofólico sin procesar que se purificó mediante recristalización a partir de agua para obtener 1,04 g de ácido 2'-nitrofólico puro. (Pureza en HPLC: 98,1% del área, m/z = 487 [M+1]⁺, RMN ¹H (200 MHz, DMSO-d₆) [ppm]: 8,65 (s, C(7)-H, 1H); 7,75 (t, N(8')-H, 1H, intercambiable con D₂O); 7,51 (t, C(3')-H, 1H); 7,20 (t, N(10)-H, 1H, intercambiable con D₂O); 7,03 (sa, NH₂, 2H, intercambiable con D₂O); 6,50 (m, C(5')-H, (C(6')-H, 2H); 4,48 (d, C(6)H₂, 2H); 4,29 (m, C(α)-H, 1H); 2,28 (m, C(β)-H₂, 2H); 1,96 (m, C(γ)-H₂, 2H).

Ejemplo 2: Síntesis de bencenosulfato de dimetiléster del ácido 2'-nitrofólico

La esterificación del ácido 2'-nitrofólico se realizó de forma análoga al método descrito para la esterificación del ácido fólico en el documento WO 2001/04121.

Ejemplo 3: Síntesis de di-terc-butiléster del ácido N²,N,N-dimetilaminometilen-2'-nitrofólico

(a) Síntesis de ácido 4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-2-nitrobenzoico

A una solución de 11,4 g de ácido 4-amino-2-nitro-benzoico en 228 ml de agua que contenía 6,63 g de carbonato sódico se añadieron 17,0 g de 9-fluorenilmetil-cloroformiato y 20 ml de dioxina gota a gota. Tras agitar durante 20 horas bajo atmósfera de nitrógeno, la mezcla se filtró y el filtrado se lavó cinco veces con metil-terc-butiléter. El metil-terc-butiléter residual se eliminó de la fase acuosa mediante evaporación al vacío. A la fase acuosa se añadieron 456 g de agua enfriada a 0 °C. La mezcla se ajustó a pH = 3 mediante la adición de 31 ml de ácido clorhídrico acuoso 2 M. El precipitado se aspiró, se lavó con 513 ml de agua, se secó a 40 °C al vacío para obtener 17,0 g de ácido 4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-2-nitrobenzoico como cristales blanquecinos.

(b) Síntesis de di-terc-butil-N-(4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato

A una suspensión de 17,2 g de ácido 4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-2-nitrobenzoico en 222 ml de diclorometano se añadieron 17,7 g de N,N,N',N'-tetrametil-O-(1H-benzotriazol-1-il)-uronio-hexafluoro-fosfato. Tras agitar durante 15 min a temperatura ambiente se añadió una solución de 13,8 g de clorhidrato de di-terc-butiléster del ácido L-glutámico en 172 ml de diclorometano y 12,9 ml de trietilamina gota a gota durante 30 min. La mezcla se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 20 horas. Tras la adición de 860 ml de metil-terc-butiléter, la mezcla se lavó cinco veces con bicarbonato sódico acuoso (5 %), 5 veces con ácido cítrico acuoso (5 %) y dos veces con salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó a sequedad al vacío para obtener 27,9 g de di-terc-butil 2-(4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato sin procesar como una espuma de color amarillo. El producto sin procesar se purificó mediante cromatografía ultrarrápida utilizando gel de sílice 60 y una mezcla de etilacetato/n-heptano (45:55) como eluyente. Tras la evaporación de las fracciones del producto se obtuvieron 23,8 g de di-terc-butil-N-(4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato como una espuma de color amarillo (HPLC, pureza: 99,9 % del área).

(c) Síntesis de di-terc-butiléster del ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico

A una mezcla de 10 g de di-terc-butil N-(4-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato en 200 ml de N,N-dimetilformamida se añadieron 1,34 ml de pirrolidina. La mezcla se agitó durante 30 min a temperatura ambiente y, a continuación, se evaporó a sequedad al vacío. Tras la adición de 200 ml de diisopropiléter y agitar durante 15 min, la suspensión resultante se mantuvo a 0 °C durante toda la noche. El producto se aspiró, se lavó con 60 ml de diisopropiléter y, a continuación, se secó al vacío para obtener 4,3 g de di-terc-butiléster del ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico como agujas de color amarillo (HPLC, ensayo 99,7 % del área).

(d) Síntesis de di-terc-butiléster del ácido 2'-nitrofólico

A una solución de 1 g de di-terc-butiléster del ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico en 100 ml de dimetilacetamida se añadieron 2,1 g de bromhidrato de 2-amino-4-oxo-6-bromometil-pteridina. La mezcla se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a 60 °C durante 13 horas. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el filtrado se añadió gota a gota a 700 ml de agua. Los cristales se aspiraron, se lavaron con 70 ml de agua y se secaron a 35 °C al vacío para obtener 1,12 g de di-terc-butiléster del ácido 2'-nitrofólico.

(e) Síntesis de di-terc-butiléster del ácido N²,N,N-dimetilaminometilen-2'-nitrofólico

A una solución de 1 g de di-terc-butiléster del ácido 2'-nitrofólico en 150 ml de dimetilformamida seca se añadieron 3,5 ml de diisopropildimetilacetato. La mezcla se agitó bajo atmósfera de nitrógeno durante 20 horas a temperatura ambiente y, a continuación, se evaporó a sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando gel de sílice 60 y diclorometano/metanol (95:5) como eluyente para obtener 0,62 g de di-terc-butiléster del ácido N²,N,N-dimetilaminometilen-2'-nitrofólico.

Ejemplo 4: Síntesis de dimetiléster del ácido N²,N,N-dimetilaminometilen-2'-nitrofólico

(a) Síntesis de dimetil-N-(4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato

La síntesis se realizó de forma análoga al ejemplo 2 utilizando clorhidrato de dimetiléster del ácido L-glutámico en lugar de clorhidrato del di-terc-butiléster del ácido L-glutámico. Partiendo de 14,8 g de ácido 4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzoico se obtuvieron 27,4 g de dimetil-N-(4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato sin procesar que se purificaron dos veces mediante cromatografía ultrarrápida usando gel de sílice 60 y etilacetato/n-heptano (65:35) como eluyente. Tras la purificación, se obtuvieron 17,38 g de dimetil-N-(4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato.

(b) Síntesis de la sal de dimetiléster del ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico x ácido trifluoroacético

La síntesis se realizó de forma análoga al ejemplo 3. Partiendo de 17 g de dimetil-N-(4-(terc-butoxicarbonilamino)-2-nitrobenzamido)-L-glutamato se obtuvieron 19,5 g de sal de dimetiléster del ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico x ácido trifluoroacético que se utilizaron directamente en el ejemplo 4(c).

(c) Síntesis de dimetiléster del ácido 2'-nitrofólico

La síntesis se realizó de forma análoga al ejemplo 8 partiendo de 5 g de la sal de dimetiléster del ácido N-(4-amino-2-nitrobenzamido)-L-glutámico x ácido trifluoroacético. El proceso se modificó del siguiente modo. Tras la filtración de la

mezcla de reacción, el filtrado se añadió gota a gota a 3,5 l de ácido clorhídrico acuoso 0,1 M. La mezcla se mantuvo a 0 °C durante toda la noche y el producto se aspiró, se lavó con 50 ml de ácido clorhídrico acuoso 0,1 M, 300 ml de agua y, a continuación, se secó a 40 °C al vacío para obtener 2,14 g de dimetiléster del ácido 2'-nitrofólico sin procesar. A partir de la solución madre se obtuvieron 0,82 g más de dimetiléster del ácido 2'-nitrofólico sin procesar. Se

5 recrystalizaron 2,9 g de dimetiléster del ácido 2'-nitrofólico sin procesar a partir de DMAC para obtener 2,28 g de dimetiléster del ácido 2'-nitrofólico puro.

(d) Síntesis de dimetiléster del ácido N²,N,N-dimetilaminometilen-2'-nitrofólico

Esta se realizó de forma análoga al ejemplo 3(e).

Ejemplo 5: Síntesis de ácido 2'-fluorofólico

10 La síntesis se realizó de forma análoga a la síntesis del ácido 2'-nitrofólico siguiendo los ejemplos 1 a 4. En el ejemplo 1 se utilizó ácido 4-amino-2-fluoro-benzoico en lugar de ácido 4-amino-2-nitro-benzoico. (Pureza en HPLC: 97,5 % del área, m/z = 460 [M+1]⁺, RMN ¹H (200 MHz, DMSO-d₆) [ppm]: 8,65 (s, C(7)-H, 1H); 7,75 (t, N(8')-H, 1H, intercambiable con D₂O); 7,51 (t, C(3')-H, 1H); 7,20 (t, N(10)-H, 1H, intercambiable con D₂O); 7,03 (sa, NH₂, 2H, intercambiable con D₂O); 6,50 (m, C(5')-H, (C(6')-H, 2H); 4,48 (d, C(6)H₂, 2H); 4,31 (m, C(α)-H, 1H); 2,28 (m, C(β)-H₂, 2H); 1,96 (m, C(γ)-H₂, 2H).

15 H₂, 2H).

Ejemplo 6: Ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico usando ácido 2'-nitrofólico:

El [¹⁸F]fluoruro que estaba atrapado en un cartucho de intercambio aniónico se eluyó directamente en un recipiente de reacción de 10 ml sellado usando una solución de carbonato de potasio (1 mg) y Kryptofix[®] 2.2.2 (5 mg) en una mezcla de 1,5 ml de acetonitrilo/agua (4:1). A 85-90 °C los solventes se eliminaron mediante vacío y una corriente de nitrógeno. Posteriormente se añadió 1 ml de acetonitrilo seco tres veces y se evaporó a sequedad.

20 Al complejo [¹⁸F]fluoruro-criptato seco se añadió el precursor di-terc-butiléster del ácido N²,N,N-dimetilaminometilen-2'-nitrofólico (5,2 mg) en 0,2 ml de DMF. La mezcla se calentó a 140-145 °C durante 20 min.

Tras enfriar, se añadieron 8 ml de agua y la mezcla se pasó a través de un cartucho de fase inversa (Sep-Pak[®] C18 plus, Waters AG). El cartucho se lavó tres veces con 8 ml de agua y se secó 2 min mediante una corriente de nitrógeno. El compuesto protegido marcado con ¹⁸F se eluyó con 2,5 ml de acetonitrilo en otro recipiente de reacción sellado de 10 ml. El volumen de acetonitrilo se redujo a 0,3 ml a presión reducida, con una corriente de nitrógeno y calentando ligeramente de 80-90 °C.

25 El compuesto protegido marcado con ¹⁸F se eluyó con 2,5 ml de acetonitrilo en otro recipiente de reacción sellado de 10 ml. El volumen de acetonitrilo se redujo a 0,3 ml a presión reducida, con una corriente de nitrógeno y calentando ligeramente de 80-90 °C.

Para la hidrólisis, se añadieron 0,5 ml de solución de HCl 4 M y la mezcla se calentó a 60 °C durante 5-10 min. Tras enfriar, la mezcla se neutralizó con 0,5 ml de solución de NaOH 4 M. Se añadieron 0,5 ml de solución de tampón fosfato 0,15 M y la mezcla se completó con solvente A de HPLC hasta un volumen de 5 ml.

30 fosfato 0,15 M y la mezcla se completó con solvente A de HPLC hasta un volumen de 5 ml.

La purificación mediante HPLC semipreparativa se realizó en una columna RP 18 (Phenomenex[®] Gemini 5 μ C18, 250 × 10 mm) usando el siguiente gradiente. Solvente A = solución de tampón fosfato 0,05 M, B = metanol, 0-30 min. A: 99 % → 40 %, 30-40 min: A: 40 % → 10 %, 40-45 min: A: 40 % → 99 %.

El solvente de HPLC de la fracción de producto se evaporó a presión reducida y con una corriente de nitrógeno a 100 °C. Para la formulación se añadieron agua y solución de tampón fosfato 0,15 M al producto seco y la mezcla se esterilizó mediante filtración.

35 El solvente de HPLC de la fracción de producto se evaporó a presión reducida y con una corriente de nitrógeno a 100 °C. Para la formulación se añadieron agua y solución de tampón fosfato 0,15 M al producto seco y la mezcla se esterilizó mediante filtración.

Ejemplo 7: Estudios *in vivo* y *ex vivo* usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico

El ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico se aplicó en estudios de biodistribución *ex vivo* usando ocho ratones desnudos portadores de tumores derivados de xenoinjertos de células KB. Se inyectaron ~2 MBq del radiotrazador a cada animal. En un grupo de bloqueo se inyectaron 200 μg de ácido fólico natural 10 min antes del radiotrazador. Los animales se sacrificaron 90 min después de la inyección. Los tumores KB positivos para receptores del folato muestran una alta captación específica del radiotrazador con una proporción del 86,6 % de bloqueo específico. Adicionalmente, también se encontró una alta captación específica del 95,5 % de bloqueo específico en los riñones, que se sabe expresan el receptor de folato.

45 En la figura 1 se muestra la alta captación específica del ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico en los tejidos positivos para receptores de folato.

Se realizó un estudio por imagen mediante PET *in vivo* usando el ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico en ratones desnudos portadores de tumores derivados de xenoinjertos de células KB. Se inyectaron apróx. 10 MBq del radiotrazador a cada animal. En el grupo de bloqueo se inyectaron 200 µg de ácido fólico natural 10 min antes del radiotrazador. Las exploraciones mediante PET se realizaron de 30 a 90 min después de la inyección.

5 Los estudios mediante PET usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico proporcionaron excelentes imágenes de los tumores KB. Adicionalmente, la captación es altamente específica y se bloquea con ácido fólico natural. También se encontró una alta captación específica del radiotrazador en la corteza renal, mientras que no se encontró captación en la médula renal. Este patrón coincide con la distribución de los receptores de folato e indica la alta especificidad del ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico.

10 En la figura 2 se muestran imágenes de PET usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico, las flechas señalan la posición de los tumores derivados de xenoinjertos de células KB.

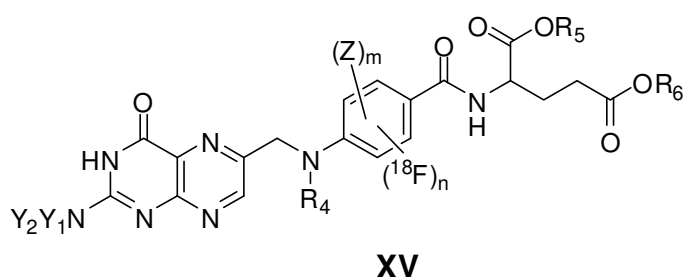
En la figura 3 se muestran imágenes de PET usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico, las flechas señalan los riñones.

En la figura 4 se muestran imágenes de PET *ex vivo* de tumores derivados de xenoinjertos de células KB usando ácido 2'-[¹⁸F]fluoro-fólico.

15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un folato con un resto aminobenzoílo, donde el resto aminobenzoílo está sustituido con un flúor-18.
2. El compuesto de la reivindicación 1, donde el resto aminobenzoílo está sustituido con flúor-18 en la posición 2' o en la posición 6'.
3. El compuesto de las reivindicaciones 1 o 2, donde el resto aminobenzoílo está adicionalmente sustituido con al menos un grupo de atracción de electrones seleccionado entre $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, $-\text{SO}_3\text{R}'$, $-\text{COOR}'$, $-\text{COR}'$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{F}$, sales de yodonio $-\text{I}^+(\text{R}')_2$, dialquil/arilsilanos $-\text{SiOH}(\text{R}')_2$ y silanoles $-\text{SiH}(\text{R}')_2$, donde R' es independientemente un grupo alquilo $\text{C}_{(1-12)}$ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos.
4. El compuesto de la reivindicación 1 de fórmula XV,



donde

Z es un grupo de atracción de electrones seleccionado entre $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, $-\text{SO}_3\text{R}'$, $-\text{COOR}'$, $-\text{COR}'$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{F}$, sales de yodonio $-\text{I}^+(\text{R}')_2$, dialquil/arilsilanos $-\text{SiOH}(\text{R}')_2$ y silanoles $-\text{SiH}(\text{R}')_2$, donde R' es independientemente un grupo alquilo $\text{C}_{(1-12)}$ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos,

R_5 , R_6 son independientemente entre sí H o un alquilo $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ de cadena lineal o ramificada, que no está sustituido o está sustituido por al menos uno de CN , Hal o NO_2 , y donde uno o más de los grupos CH_2 no adyacentes embebidos pueden estar independientemente sustituidos por $-\text{O}-$, $-\text{CO}-$, $-\text{CO-O}-$, $-\text{CO-NR}'-$, $-\text{CH=CH}-$, $-\text{C}\equiv\text{C}-$,

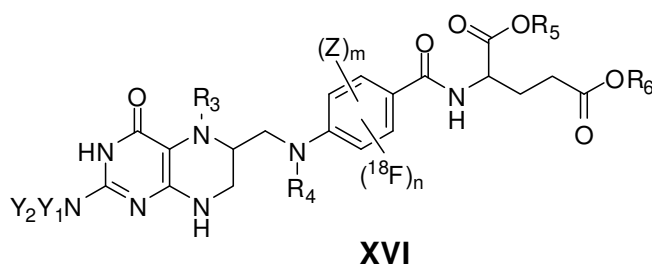
Y_1 , Y_2 se seleccionan independientemente entre sí a partir de H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ de cadena lineal o ramificada,

R_4 se selecciona entre H, nitroso, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_{12}$, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_{12}$, alcanóilo $\text{C}_1\text{-C}_{12}$, alcanóilo $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ halosustituido,

m es 0, 1, 2 o 3, y

n es 1.

5. El compuesto de la reivindicación 1 de fórmula XVI,



donde

Z es un grupo de atracción de electrones seleccionado entre -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/arilsilanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos,

R₃, R₄ son independientemente entre sí H, formilo, iminometilo, nitroso, alquilo C₁-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂, alcanoílo C₁-C₁₂, alcanoílo C₁-C₁₂ halosustituido,

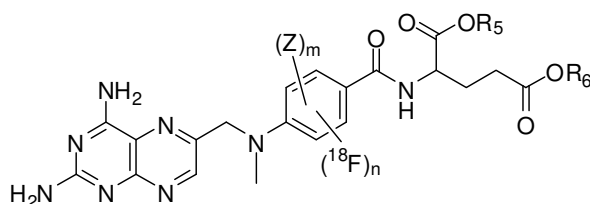
R₅, R₆ son independientemente entre sí H o un alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificada, que no está sustituido o está sustituido por al menos uno de CN, Hal o NO₂, y donde uno o más de los grupos CH₂ no adyacentes embebidos pueden estar independientemente sustituidos por -O-, -CO-, -CO-O-, -CO-NR'-, -CH=CH-, -C≡C-,

Y₁, Y₂ se seleccionan independientemente entre sí a partir de H, alquilo C₁-C₆ de cadena lineal o ramificada,

m es 0, 1, 2 o 3, y

n es 1.

6. El compuesto de la reivindicación 1 de fórmula XVII,



XVII

donde

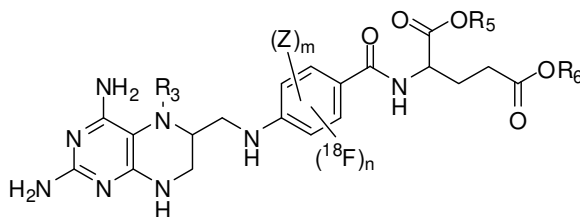
Z es un grupo de atracción de electrones seleccionado entre -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/arilsilanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos,

R₅, R₆ son independientemente entre sí H o un alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificada, que no está sustituido o está sustituido por al menos uno de CN, Hal o NO₂, y donde uno o más de los grupos CH₂ no adyacentes embebidos pueden estar independientemente sustituidos por -O-, -CO-, -CO-O-, -CO-NR'-, -CH=CH-, -C≡C-,

m es 0, 1, 2 o 3, y

n es 1.

7. El compuesto de la reivindicación 1 de fórmula XVIII,



XVIII

donde

Z es un grupo de atracción de electrones preferiblemente seleccionado entre -NO₂, -CN, -N⁺(CH₃)₃, -SO₃R', -COOR', -COR', -Cl, -Br, -F, sales de yodonio -I⁺(R')₂, dialquil/arilsilanos -SiOH(R')₂ y silanoles -SiH(R')₂, donde R' es independientemente un grupo alquilo C₍₁₋₁₂₎ de cadena lineal o ramificada o un grupo carbocíclico y heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende sistemas de anillo de cinco, seis o diez átomos,

R₃ es H, metilo o formilo,

R₅, R₆ son independientemente entre sí H o un alquilo C₁-C₁₂ de cadena lineal o ramificada, que no está sustituido o está sustituido por al menos uno de CN, Hal o NO₂, y donde uno o más de los grupos CH₂ no adyacentes embebidos pueden estar independientemente sustituidos por -O-, -CO-, -CO-O-, -CO-NR'-, -CH=CH-, -C≡C-,

m es 0, 1, 2 o 3, y

n es 1.

8. Un método de producción de un compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 que comprende el paso de radiomarcaje directo con [¹⁸F]fluoruro del resto aminobenzoílo.

9. Compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en diagnóstico por imagen de una célula o población de células que expresan un receptor de folato *in vitro* o *in vivo*.

10. Compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en la administración conveniente y eficaz a un sujeto que necesita un diagnóstico por imagen.

11. Compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el diagnóstico por imagen de una célula o población de células que expresan un receptor de folato *in vitro*, comprendiendo dicho método los pasos de administrar al menos un compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 en una cantidad para diagnóstico por imagen, y obtener una imagen diagnóstica de dicha célula o población de células.

12. Método para la detección *in vitro* de una célula que expresa el receptor de folato en una muestra de tejido que incluye poner en contacto dicha muestra de tejido con un compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 en cantidades efectivas y durante tiempo suficiente y condiciones que permitan que se produzca la unión y detectar dicha unión mediante técnicas como autorradiografía y similares.

13. Compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el diagnóstico por imagen o seguimiento de un sujeto que comprende los pasos de (i) administrar al menos un compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 en una cantidad para diagnóstico por imagen y (ii) realizar un diagnóstico por imagen usando PET mediante la detección de una señal procedente de dicho al menos un compuesto.

14. Compuesto según las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el seguimiento del tratamiento del cáncer o de enfermedades inflamatorias y autoinmunes en un sujeto que comprende los pasos de (i) administrar a un sujeto que lo necesita al menos un compuesto según las reivindicaciones 1 a 8 en una cantidad para diagnóstico por imagen en combinación con un compuesto terapéuticamente activo y (ii) realizar un diagnóstico por imagen usando PET mediante la detección de una señal procedente de dicho al menos un compuesto para seguir la evolución del tratamiento del cáncer o de enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

15. Compuesto según las reivindicaciones 14 o 15 para su uso en combinación con cualquier otro método de diagnóstico o tratamiento del cáncer o de enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Figura 1.

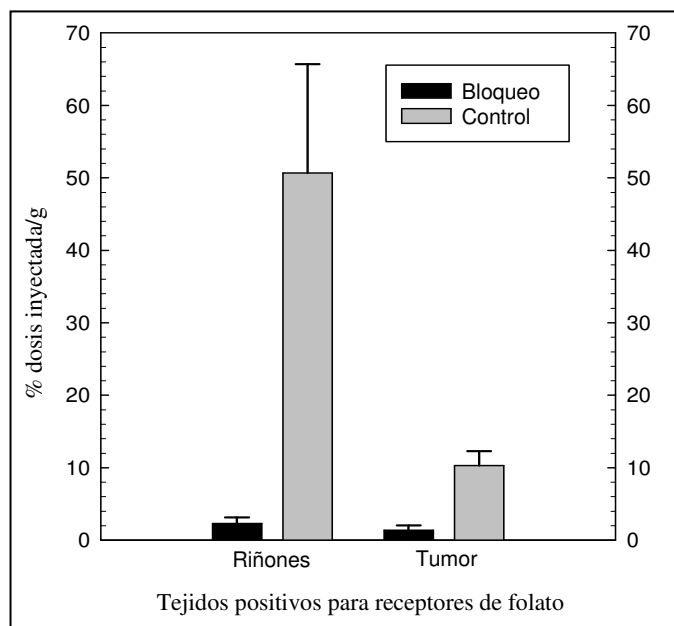


Figura 2.

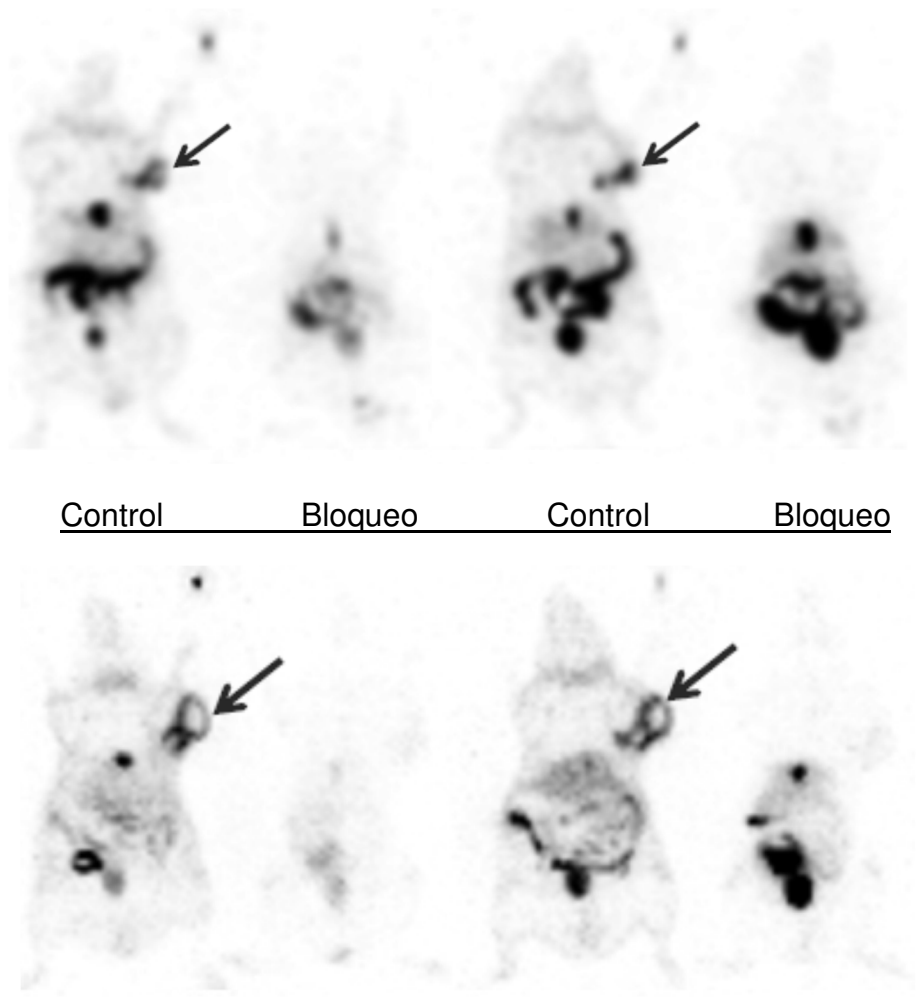


Figura 3.

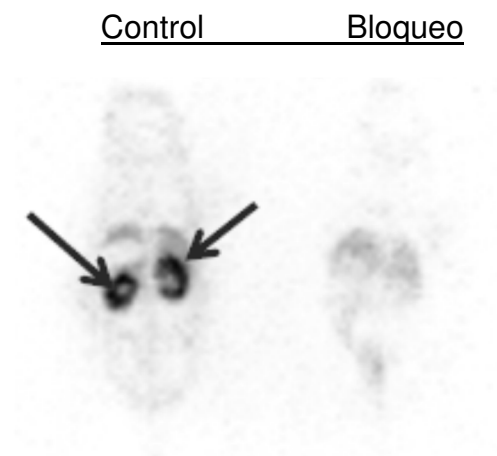


Figura 4.

