

INHIBIDOR DE FAP

La presente invención se refiere a un compuesto, una composición farmacéutica que comprende o consiste en dicho compuesto, un kit que comprende o consiste en dicho compuesto o composición farmacéutica y el uso del compuesto o composición farmacéutica en el diagnóstico o tratamiento de una enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de proteína activadora de fibroblastos (FAP, por sus siglas en inglés).

Antecedentes de la invención

El crecimiento y la diseminación de tumores no solo están determinados por las células cancerosas, sino también por los componentes no malignos de la lesión maligna, que se incluyen bajo el término estroma. El estroma puede representar más del 90 % de la masa tumoral en tumores con reacción desmoplástica, como el carcinoma de mama, colon y pancreático. Especialmente se sabe que una subpoblación de fibroblastos llamados fibroblastos asociados con el cáncer (CAF, por sus siglas en inglés) está involucrada en el crecimiento, la migración y la progresión del tumor. Por lo tanto, estas células representan un objetivo atractivo para el diagnóstico y la terapia antitumoral.

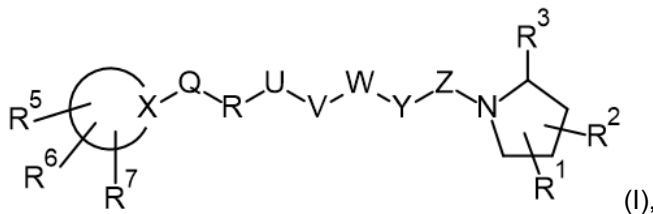
Una característica distintiva de los CAF es la expresión de seprasa o proteína activadora de fibroblastos α (FAP- α), una glucoproteína unida a membrana tipo II que pertenece a la familia de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4). FAP- α tiene actividad de dipeptidil peptidasa y endopeptidasa. La actividad endopeptidasa distingue a FAP- α de los otros miembros de la familia DPP4. Los sustratos identificados para la actividad endopeptidasa hasta ahora son el colágeno tipo I desnaturalizado, la α 1-antitripsina y varios neuropéptidos. FAP- α tiene un papel en los procesos normales de desarrollo durante la embriogénesis y en el modelado de tejidos. No se expresa, o solo lo hace a niveles insignificantes, en tejidos adultos normales. Sin embargo, se produce una alta expresión en la cicatrización de heridas, artritis, placas arterioscleróticas, fibrosis y en más del 90 % de los carcinomas epiteliales.

La aparición de FAP- α en los CAF en muchos tumores epiteliales y el hecho de que la sobreexpresión se asocia con un peor pronóstico en pacientes con cáncer llevaron a la hipótesis de que la actividad de FAP- α está involucrada en el desarrollo del cáncer, así como en la migración y propagación de células cancerosas. Por lo tanto, la elección como blanco de esta enzima para la obtención de imágenes y la endorradioterapia puede considerarse una estrategia prometedora para la detección y el tratamiento de tumores malignos. Los presentes inventores desarrollaron una molécula pequeña basada en un inhibidor específico de FAP- α y pudieron mostrar una captación específica, una internalización rápida y una imagen exitosa de tumores en modelos animales, así como en pacientes con tumor. Una comparación con el radiotrazador ^{18}F -fluorodeoxiglucosa (^{18}F -FDG) comúnmente utilizado reveló una clara superioridad del nuevo ligando de FAP- α en pacientes con adenocarcinoma de pulmón localmente avanzado. Por lo tanto, la presente invención proporciona, entre otras cosas: (i) detección de tumores primarios más pequeños y, por lo tanto, la posibilidad de un diagnóstico temprano, (ii) detección de metástasis más pequeñas y, por lo tanto, una mejor evaluación del estadio tumoral, (iii) orientación intraoperatoria precisa que facilita la

extirpación quirúrgica completa del tejido tumoral, (iv) una mejor diferenciación entre la inflamación y el tejido tumoral, (v) una estadificación más precisa de los pacientes con tumores, (vi) un mejor seguimiento de las lesiones tumorales después de la terapia antitumoral, (vii) la oportunidad de utilizar las moléculas como agentes terapéuticos para el diagnóstico y terapia. Además, las moléculas se pueden usar para el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades no malignas tales como inflamación crónica, aterosclerosis, fibrosis, remodelación de tejidos y trastornos queloides.

Breve descripción de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



en donde

Q, R, U, V, W, Y, Z están presentes individualmente o ausentes con la condición de que al menos tres de Q, R, U, V, W, Y, Z estén presentes;

Q, R, U, V, W, Y, Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en O, CH₂, NR⁴, C=O, C=S, C=NR⁴, HCR⁴ y R⁴CR⁴, con la condición de que dos O no sean directamente adyacentes entre sí;

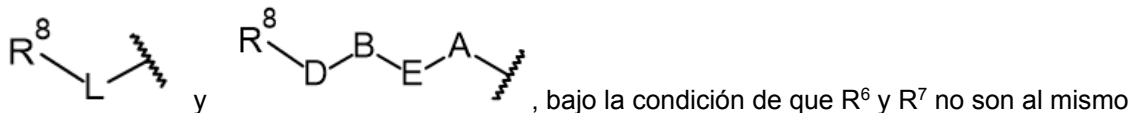
R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H, -OH, halo, alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, S-alquilo de C₁₋₆;

R³ se selecciona del grupo que consiste en -H, -CN, -B(OH)₂, -C(O)-alquilo, -C(O)-arilo-, -C=C-C(O)-arilo, -C=C-S(O)₂-arilo, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂, -PO₃H₂ y 5-tetrazolilo;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en -H, -alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, -S-alquilo de C₁₋₆, arilo y -aralquilo de C₁₋₆, cada uno de dicho -alquilo de C₁₋₆ están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH, oxo, halo y opcionalmente conectados a Q, R, U, V, W, Y o Z;

R⁵ se selecciona del grupo que consiste en -H, halo y alquilo de C₁₋₆;

R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H,



tiempo H,

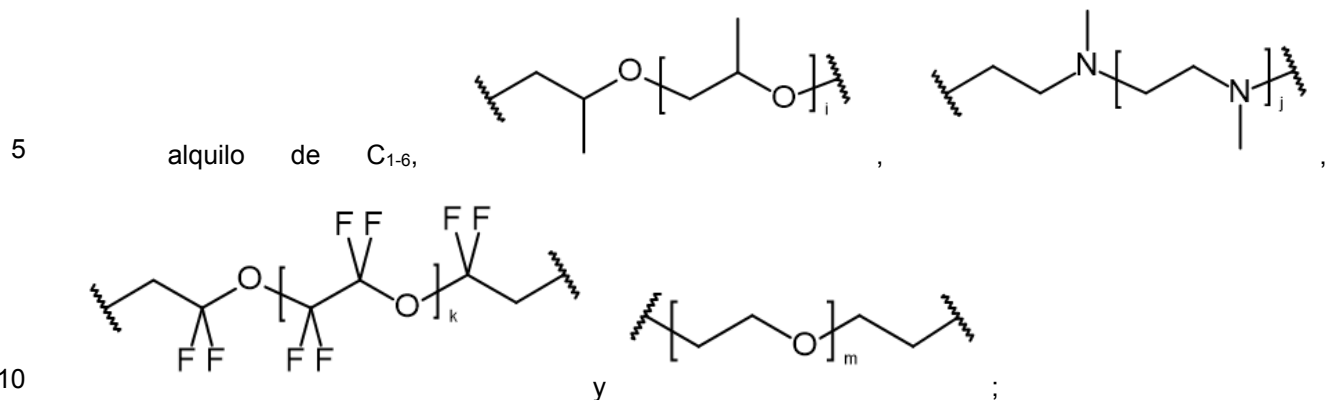
en donde L es un enlazador,

en donde D, A, E y B están presentes o ausentes individualmente, preferiblemente en donde están presentes al menos A, E y B, en donde cuando están presentes:

D es un enlazador;

A se selecciona del grupo que consiste en NR⁴, O, S y CH₂;

E se selecciona del grupo que consiste en



en donde i es 1, 2 o 3;

en donde j es 1, 2 o 3;

en donde k es 1, 2 o 3;

en donde m es 1, 2 o 3;

15 A y E juntos forman un grupo seleccionado de un cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, en donde A y E pueden ser mono, bi y multicíclicos, preferiblemente monocíclicos. Cada A y E están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 residuos del grupo que consiste en -H, -alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, -S-alquilo de C₁₋₆, alqueno, heteroalqueno, cicloalqueno, cicloheteroalqueno, alquino, arilo y -aralquilo de C₁₋₆, cada uno de dichos -alquilo de C₁₋₆ están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes

20 seleccionados de -OH, oxo, halo; y opcionalmente conectados a A, B, D, E o .

25 B se selecciona del grupo que consiste en S, NR⁴, NR⁴-O, NR⁴-alquilo de C₁₋₆, NR⁴-alquilo de C₁₋₆-NR⁴, y un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde NR⁴-alquilo de C₁₋₆-NR⁴ y el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C₁₋₆, arilo, aralquilo de C₁₋₆; y;

30 R⁸ se selecciona del grupo que consiste en una porción radiactiva, agente quelante, colorante fluorescente, un agente de contraste y combinaciones de los mismos;

35 es una porción 1-naftilo o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, en donde hay 2 átomos en el anillo entre el átomo de N y X; dicho heterociclo opcionalmente comprende además 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de O, N y S; y X es un átomo de C;

o un tautómero, racemato, hidrato, solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende o que consiste en al menos un compuesto del primer aspecto, y, opcionalmente, un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un tercer aspecto, la presente invención se refiere al compuesto del primer aspecto o la composición farmacéutica del segundo aspecto para usarse en el diagnóstico o tratamiento de una enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) en un animal o un sujeto humano.

En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere a un kit que comprende o que consiste en el compuesto del primer aspecto o la composición farmacéutica del segundo aspecto e instrucciones para el diagnóstico o tratamiento de una enfermedad.

Lista de figuras

A continuación, se describe el contenido de las figuras comprendidas en esta especificación. En este contexto, consulte también la descripción detallada de la invención anterior y/o más adelante.

Figura 1A a 1F: Caracterización *in vitro* de ^{125}I -FAP-01 y ^{177}Lu -FAP-02.

Figura 1A. Unión de FAPI-01 y FAPI-02 radiomarcados a diferentes líneas celulares de cáncer humano, así como a líneas celulares transfectadas con FAP- α humano (HT-1080-FAP), FAP- α murino (HEK-muFAP) y CD26 humano (HEK-CD26) después de 60 min de incubación. **Figura 1B.** Internalización de FAPI-01 y FAPI-02 radiomarcados en células HT-1080-FAP después de la incubación durante 10 min a 24 h. La proporción internalizada se muestra en gris y negro, respectivamente; la fracción unida extracelular está indicada por las barras blancas. **Figura 1C.** Unión competitiva de FAPI-01 y FAPI-02 radiomarcados a células HT-1080-FAP después de agregar concentraciones crecientes de FAPI-01 y Lu-FAPI-02 sin marcar. **Figura 1D.** Internalización de FAPI-02 en líneas celulares positivas y negativas de FAP- α . Azul: DAPI; verde: FAPI-02-Atto488. **Figura 1E+1F.** Cinética de eflujo de FAPI-01 y FAPI-02 después de 1 h de incubación de células HT-1080-FAP con compuestos radiomarcados seguido de incubación con medio libre de compuestos durante 1 a 24 h. Todos los valores se dan como porcentaje de la dosis total aplicada normalizada a 1 millón de células (% ID/1 mio células).

Figura 2A a 2E: Especificidad de unión y tasas de internalización relativas de derivados de FAPI.

Figura 2A a 2C. Tasas de unión e internalización de FAPI-03 a FAPI-15 en relación con FAPI-02 (definido como 100 %). Las tasas de internalización después de 1, 4 y 24 horas de incubación se representan en gris; la fracción unida extracelular está representada por las barras blancas. **Figura 2D.** Unión de derivados de FAPI seleccionados a células HEK que expresan FAP- α murino y CD26 humano después de 60 minutos de incubación. *Lado derecho:* Relación de unión de muFAP a CD26. **Figura 2E.** Unión competitiva de derivados de FAPI seleccionados a células HT-1080-FAP después de agregar concentraciones crecientes de compuesto no marcado.

Figura 3A a 3H: Imágenes de FAPI-02 y -04 en ratones con xenoinjertos tumorales humanos positivos para FAP (HT-1080-FAP) y negativos (Capan-2, SK-LMS-1).

Figura 3A+3C, Figura 3E+3G. La imagen PET de animales pequeños se realizó después de la administración intravenosa de 4 nmol de ^{68}Ga -FAPI-02 y -04 (10 MBq resp.) en los tiempos indicados. El radiotrazador se enriquece rápidamente dentro del tumor (indicado por la flecha roja) mientras no se acumula en el tejido no canceroso. Además, se observa una eliminación rápida a través de los riñones y la

vejiga. **Figura 3B+3D, Figura 3F+3H.** La cuantificación de las imágenes de PET demuestra una depuración sólida de ^{68}Ga -FAP-02 y -04 del sistema cardiovascular y una absorción constante en el tumor.

Figura 4A a 4F: Experimentos de bloqueo para el análisis de especificidad de unión *in vivo*

Figura 4A+4D. Bloqueo de la acumulación de tumores ^{68}Ga -FAP-02 y -04 mediante la administración conjunta de 30 nmol de compuesto no marcado en ratones con tumor HT-1080-FAP. **Figura 4B+4C, Figura 4E+4F.** Curvas de tiempo-actividad de ^{68}Ga -FAP-02 y -04 en órganos seleccionados después de la administración intravenosa con y sin compuesto no marcado como competidor.

Figura 5A a 5F: Distribución de órganos de ^{177}Lu -FAP-02 y -04 en ratones desnudos con tumor HT-1080-FAP

Figura 5A a 5C. La biodistribución de ^{177}Lu -FAP-02 y -04 se midió *ex vivo* en los tiempos indicados después de la administración intravenosa de 1 MBq a ratones que portaban xenoinjertos de tumor HT-1080 humano positivo para FAP; n=3 para cada punto de tiempo. Los valores indicados se expresan como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido (% ID/g). Se muestra que los radiotrazadores se acumulan dentro del tumor que expresa FAP, mostrando el mayor enriquecimiento después de 1 h para FAP-02 (4.5 % ID/g) y 2 h para FAP-04 (5.4 % ID/g). **Figura 5D a 5F.** Relaciones de tumor a tejido normal de ^{177}Lu -FAP-02 y -04, 1, 4 y 24 horas después de la administración intravenosa.

Figuras 6A a 9D: Imagen PET/CT de FAP-02 en pacientes con cáncer

Figura 6A a 6C. Proyecciones de máxima intensidad (MIP) de las exploraciones PET/CT en una paciente que padece cáncer de mama con metástasis. **Figura 6D.** Captación máxima de tejido de ^{68}Ga -FAP-02 10 min, 1 h y 3 h después de la administración intravenosa a una paciente con cáncer de mama con metástasis.

Figura 7. MIP de PET/CT en pacientes con cáncer de páncreas, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) y carcinoma de esófago y recto 1 h después de la administración de ^{68}Ga -FAP-02.

Figura 8. MIP de PET/CT en pacientes con carcinoma de nasofaringe y laringe 1 h después de la administración de ^{68}Ga -FAP-02.

Figura 9A+9B. Imagen PET/CT de cuerpo entero (MIP) 1 h después de la administración de ^{18}F -FDG y ^{68}Ga -FAP-02 a un paciente con adenocarcinoma de pulmón localmente avanzado. **9C+9D.** Vista transaxial del paciente con adenocarcinoma de pulmón 1 h después de la administración de ^{18}F -FDG y ^{68}Ga -FAP-02. FAP-02 se acumula selectivamente en el tejido que expresa FAP- α y muestra una captación significativamente mayor en las lesiones malignas en comparación con ^{18}F -FDG.

Figuras 10 a 16: Imagen PET/CT de FAP-04 en pacientes con cáncer

Figura 10 Proyecciones de intensidad máxima (MIP) de las exploraciones PET/CT en una paciente con cáncer de mama con metástasis 10 min, 1 y 3 h después de la administración de ^{68}Ga -FAP-04.

Figura 11 MIP de PET/CT en pacientes con carcinoma sigma, carcinoma de hipofaringe, tumores neuroendocrinos, colangio, carcinoma de ovario e intestino delgado 1 h después de la administración de ^{68}Ga -FAP-04.

Figura 12 MIP de PET/CT en un paciente con cáncer de pulmón 1 h después de la administración de ^{68}Ga -FAP-04.

Figura 13 MIP de PET/CT en un paciente con raquitismo oncogénico 1 h después de la administración de ^{68}Ga -FAPI-04.

Figura 14 Imágenes comparativas de un paciente con cáncer de próstata con metástasis. MIP de PET/CT 1 hora después de la aplicación de DOTATOC, PSMA y FAPI-04 radiomarcados.

5 **Figura 15** Proyección de máxima intensidad (MIP) y curvas de tiempo-actividad de una exploración dinámica PET/TC ^{68}Ga -FAPI-04 en un paciente con cáncer de páncreas.

Figura 16 Tasas de unión relativas de derivados de FAPI marcados con Lu-177 en comparación con FAPI-04 (ajustado al 100 %) después de incubación durante 1, 4 y 24 h en células HT-1080 que expresan FAP; n=3.

10 **Figura 17:** Unión competitiva de derivados de FAPI seleccionados a células HT-1080-FAP después de agregar concentraciones crecientes de compuesto no marcado (10^{-10} a 10^{-5} M, incubación durante 60 min, n=3).

Figura 18: Unión de derivados de FAPI a células HEK que expresan FAP murina y CD26 humano después de 60 minutos de incubación, n=3. Los valores se expresan como porcentaje de la dosis aplicada
15 (% ID) por 1 millón de células.

Figura 19: Biodistribución de derivados de FAPI seleccionados en xenotrasplantes HT-1080-FAP, 1, 4 y 24 h después de la administración intravenosa de los radiotrazadores, n=3. Los valores se expresan como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido (% ID/g).

Figura 20: Relación tumor-sangre de derivados de FAPI seleccionados en xenotrasplantes HT-1080-FAP, 1, 4 y 24 h después de la administración intravenosa de los radiotrazadores, n=3.
20

Figura 21: Imagen PET de Ga-68 marcado con FAPI-21 y FAPI-46 en ratones con tumor HT-1080-FAP; n=1.

Figura 22: Valores máximos de absorción estandarizados (SUV, por sus siglas en inglés) de derivados de FAPI seleccionados en ratones con tumor HT-1080-FAP; n=1.

25 **Figura 23:** Valores de absorción estandarizados máximos (SUV máx., figura 23 A) y medios (SUV medios, figura 23 B) de FAPI-02 y FAPI-04 marcados con Ga-68 en pacientes con cáncer; n=25.

Figura 24: Comparación intraindividual de 6 pacientes con 6 entidades tumorales diferentes sometidas a imágenes de FDG-PET y FAPI-PET en < 9 días.

Figura 25: Imagen PET/CT de FAPI-04 marcado con Ga-68 en pacientes con peritonitis
30 carcinomatosa (A), miocarditis (B) y artrosis de la articulación de la cadera (C) 1 h p.i.

Figura 26: Imagen PET/CT de GaAP-68 marcado con FAPI-21 en pacientes con cáncer 1 h p.i.

Figura 27: Imagen PET/CT de Ga-68 marcado con FAPI-46 1 h p.i. e imágenes intraterapéuticas de Sm-153 marcado con FAPI-46 30 min p.i. en pacientes con cáncer.

Figura 28: Imágenes intraterapéuticas de Sm-153 marcado con FAPI-46 hasta 20 h p.i.

35 **Figura 29:** 29A. Proyección de intensidad máxima (MIP) 1 h después de la administración intravenosa de ^{68}Ga -FAPI-46 a un paciente con carcinoma colorrectal metastásico. 29B. Imágenes de Bremsstrahlung 2 h después del tratamiento terapéutico con ^{90}Y -FAPI-46 del mismo paciente.

Figura 30: Imagen PET/CT de Ga-68 marcado con FAPI-46 1 h p.i. en pacientes con cáncer de

pulmón con fibrosis pulmonar idiopática. 30A, 30B. La absorción máxima del marcador en el tejido tumoral es significativamente mayor que en las lesiones fibróticas no exacerbadas. 30C. La absorción máxima del marcador en el tejido tumoral es ligeramente menor que en el tejido fibrótico exacerbado.

Figura 31: 31A. Unión de FAPI-19 marcado con Tc-99m a células HT-1080-FAP, n=3. 31B. Unión competitiva de FAPI-19 marcado con Tc-99m a células HT-1080-FAP después de agregar concentraciones crecientes de compuesto no marcado (10^{-10} a 10^{-5} M, incubación durante 60 min, n=3). 31C. Gammagrafía de Tc-99m marcado con FAPI-19 en HT-1080-FAP xenotransplantes, n=1.

Figura 32: 31A. Unión de FAPI-34 marcado con Tc-99m a células HT-1080-FAP, n=3. 32B. Gammagrafía de Tc-99m marcado con FAPI-34 en xenotransplantes HT-1080-FAP, n=1.

Figura 33: Gammagrafía de Tc-99m marcado con FAPI-34 en un paciente con carcinoma de páncreas metastásico.

Figura 34: 34A. Unión de derivados de FAPI marcados con Pb-203 a células HT-1080-FAP, n=3. 34B. Cinética de flujo de salida de derivados de FAPI marcados con Pb-203 después de la incubación de células HT-1080-FAP con compuesto radiomarcado durante 60 minutos y la incubación consiguiente con medio no radiactivo durante 1 a 24 horas, n=3. 34C. Unión competitiva de FAPI marcados con Pb-203 a células HT-1080-FAP después de agregar concentraciones crecientes de compuesto no marcado (10^{-10} a 10^{-5} M, incubación durante 60 min, n=3).

Figura 35: Gammagrafía de Pb-203 marcado con FAPI-04 y FAPI-46 en xenotrasplantes HT-1080-FAP, n=1.

Figura 36: Biodistribución de FAPI-04 y FAPI-46 marcados con Pb-203 en xenotrasplantes HT-1080-FAP 1, 4, 6 y 24 h después de la administración intravenosa de los radiotrazadores, n=3. Los valores se expresan como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido (% ID/g).

Figura 37: 37A. Unión de FAPI-42 y FAPI-52 marcados con Cu-64 a células HT-1080-FAP, n=3. 37B. Unión competitiva de FAPI-42 marcado con Cu-64 y FAPI-52 a células HT-1080-FAP después de agregar concentraciones crecientes de compuesto no marcado (10^{-10} a 10^{-5} M, incubación durante 60 min, n=3). 37C. Cinética de eflujo de FAPI-42 y FAPI-52 marcados con Cu-64 después de la incubación de células HT-1080-FAP con compuesto radiomarcado durante 60 minutos y la incubación consiguiente con medio no radiactivo durante 1 a 24 horas, n=3.

Figura 38: Imagen PET de FAPI-42 marcado con Cu-64 y FAPI-52 en ratones con tumor HT-1080-FAP; n=1.

Figura 39: Imagen PET de AIF-18 marcado con FAPI-42 y FAPI-52 en ratones con tumor HT-1080-FAP; n=1.

Figura 40: 40a. Imágenes de PET de animales pequeños de FAPI-02 marcado con ^{68}Ga en ratones desnudos con tumor U87MG hasta 140 minutos después de la administración intravenosa del radiotrazador. El tumor está indicado por la flecha roja. 40b. Biodistribución de FAPI-02 y FAPI-04 marcados con ^{177}Lu en ratones desnudos con tumor U87MG 1, 4 y 24 h después de la administración intravenosa de los radiotrazadores; n=3.

Figura 41: Relaciones de tumor a órgano de FAPI-02 y -04 marcado con ^{177}Lu en ratones con

tumor U87MG 1, 4 y 24 h después de la administración intravenosa.

Figura 42: Proyección de intensidad máxima (MIP) de exploraciones PET/CT en un paciente con glioblastoma 10 min, 1 y 3 h después de la administración de ^{68}Ga -FAPI-02.

Figura 43: Imágenes ejemplares (resonancia magnética potenciada en contraste T1, FAPI-PET e imágenes fusionadas de ambas modalidades) de glioblastomas IDH wt (silvestres), gliomas IDH mutantes OMS grado II y glioblastomas IDH mutantes.

Figura 44: Valores absolutos de SUVmax de los 18 gliomas.

Figura 45: Análisis estadístico de los valores de SUVmax/BG. Gráficos de caja de valores SUVmax/BG y curvas ROC correspondientes en GBM versus no GBM (45a, 45b), gliomas IDH mutantes versus IDH silvestres (45c, 45d) y gliomas grado II versus gliomas grado III/IV (45e, 45f).

Figura 46: Inhibición dependiente de la dosis de la actividad enzimática de FAP por FAPI-04 y Talabostat. A diferencia de Talabostat, un potente inhibidor de DPP4 con actividad marginal de FAP, FAPI-04 demuestra una inhibición de FAP robusta y dependiente de la dosis.

Figura 47: Reabsorción de ^{177}Lu marcado con FAPI-04 y FAPI-46 en células HT-1080-FAP. Después de la incubación de las células con los radiotrazadores durante 60 minutos a 37°C , los compuestos se eliminan y se añade medio no radiactivo con (+ Comp.) y sin compuesto no marcado (- Comp.) y se incuban durante 10 minutos a 6 h. Ya dentro de los primeros diez minutos de incubación, se produce una absorción renovada de los derivados de FAPI sin marcar, desplazando partes de la fracción radiomarcada, lo que resulta en valores de radiactividad significativamente más bajos en comparación con el medio puro sin competidor. Después de 6 h de incubación, se ha producido un desplazamiento casi completo de los FAPI radiomarcados. Estos hallazgos indican una recaptación continua de moléculas de FAP intactas de regreso a la membrana celular tras la internalización inicial, permitiendo una unión e internalización renovadas de los ligandos de FAP.

Figura 48: Distribución de órganos de FAPI-04 marcado con ^{177}Lu después de inyección única y múltiple en ratones desnudos con tumor HT-1080-FAP. La administración de dos dosis iguales de ^{177}Lu -FAPI-04 a intervalos de 4 h da como resultado un aumento de las actividades generales de los órganos, incluido el tumor, medidas 8 y 24 h después de la primera inyección. En contraste, la administración de tres dosis (dosis inicial más alta, dosis posteriores más bajas) no revela cambios en las actividades generales del órgano.

Figura 49: Unión de derivados de F-18-FAPI a células HT1080 que expresan FAP humana después de 10, 30, 60 y 90 minutos de incubación, $n=3$. Los valores se expresan como porcentaje de la dosis aplicada (% ID) por 1 millón de células.

Figura 50: Imagen PET de AIF-18 marcado con FAPI-74 y FAPI-52 en ratones con tumor HT-1080-FAP; $n=1$.

Figura 51: Biodistribución de FAPI-75 en xenotrasplantes HT-1080-FAP, 1, 4 y 24 h después de la administración intravenosa del radiotrazador, $n=3$. Los valores se expresan como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido (% ID/g).

Figura 52: Imagen PET del paciente con cáncer de pulmón no microcítico: Acumulación robusta

de FAPI-74 marcado con F18 en múltiples metástasis.

Figura 53: Las curvas de tiempo-actividad de la región del corazón (SUVpromedio) para FAPI-04 y -46 como ilustración de la eliminación rápida de la acumulación de sangre.

Figura 54: FAPI-02 y FAPI-04 en los diferentes puntos de tiempo de imagen (10 min, 1 h y 3 h p.i.) en dos pacientes con cáncer de mama con metástasis. La orientación rápida del tumor y la eliminación rápida de la sangre es seguida por una fase de meseta larga sin un cambio relevante en el contraste de la imagen (arriba). En comparación con FAPI-02, el ligando FAPI-04 se caracteriza por un tiempo de retención tumoral prolongado (parte inferior).

Figura 55: La dosis eficaz de FAPI-02 fue $1.80\text{E-}02$ mSv/MBq calculada con OLINDA ($1.82\text{E-}02$ con IDAC1/ICRP60, $1.79\text{E-}02$ con IDAC2/ICRP103). La dosis eficaz para FAPI-04 PET/CT fue $1.64\text{E-}02$ mSv/MBq calculada con OLINDA ($1.66\text{E-}02$ con IDAC1/ICRP60, $1.35\text{E-}02$ con IDAC2/ICRP103). Si la exploración retrasada a las 3 h p.i. se omite en la práctica clínica, la actividad de rutina para un examen FAPI podría reducirse a 200 MBq ^{68}Ga ; consecutivamente, la dosis de radiación de dicha exploración FAPI-PET/CT sería de 3-4 mSv.

Figura 56: A) ^{68}Ga -FAPI-04 después de 1 h postinyección en diferentes entidades tumorales en PET/CT. El SUV_{máx} promedio más alto (> 12) se encontró en sarcoma, esófago, mama, carcinoma colangiocelular y cáncer de pulmón. La absorción más baja de FAPI (SUV_{máx} promedio < 6) se observó en células renales, tiroides diferenciada, adenoide-quística, carcinoma gástrico y feocromocitoma. El SUV_{máx} promedio de carcinoma hepatocelular, carcinoma colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, carcinoma de ovario, carcinoma pancreático fue intermedio (SUV $6 < x < 12$). Dentro de todas las entidades tumorales se observó una alta variación interindividual. Debido a la baja actividad de fondo (SUV 2), las relaciones tumor-fondo son > 2 veces en el grupo intermedio y > 4 veces en el grupo de captación de alta intensidad. B) Las entidades tumorales primarias presentaron una captación de SUV similar en comparación con las entidades tumorales usando FAPI-04.

Figura 57: Imágenes ejemplares de PET de diferentes entidades tumorales que se han utilizado para las cuantificaciones mostradas en la figura 56A y 56B.

Descripción detallada de la invención

Antes de que la presente invención se describa en detalle a continuación, debe entenderse que esta invención no se limita a la metodología, protocolos y reactivos particulares descritos en este documento, ya que pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento tiene el propósito de describir modalidades particulares solamente, y no pretende limitar el alcance de la presente invención, que estará limitado solo por las reivindicaciones adjuntas. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen los mismos significados que los entendidos comúnmente por un experto en la materia.

Preferiblemente, los términos usados aquí se definen como se describe en *A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)*, Leuenberger, H.G.W, Nagel, B. y Kibl, H. eds. (1995), Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basilea, Suiza.

A lo largo de esta especificación y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que la palabra "comprende", y variaciones tales como "comprenden" y "que comprende", implican la inclusión de un número entero o paso o grupo de enteros o pasos, pero no la exclusión de ningún otro entero o paso o grupo de enteros o pasos. En los siguientes pasajes, se definen diferentes aspectos de la invención con más detalle. Cada aspecto así definido puede combinarse con cualquier otro aspecto o aspectos a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica indicada como opcional, preferida o ventajosa puede combinarse con cualquier otra característica o características indicadas como opcional, preferida o ventajosa.

Se citan varios documentos a lo largo del texto de esta especificación. Cada uno de los documentos aquí citados (incluidas todas las patentes, solicitudes de patentes, publicaciones científicas, especificaciones del fabricante, instrucciones, etc.), ya sea supra o infra, se incorpora por referencia en su totalidad. Nada en el presente documento debe interpretarse como una admisión de que la invención no tiene la facultad de anteceder a tal divulgación en virtud de previa invención. Algunos de los documentos citados aquí se caracterizan por estar "incorporados por referencia". En caso de conflicto entre las definiciones o enseñanzas de tales referencias incorporadas y definiciones o enseñanzas mencionadas en la presente especificación, el texto de la presente especificación tiene prioridad.

A continuación, se describirán los elementos de la presente invención. Estos elementos se enumeran con modalidades específicas; sin embargo, debe entenderse que pueden combinarse de cualquier manera y en cualquier número para crear modalidades adicionales. Los ejemplos y las modalidades preferidas descritos de diversas maneras no deben interpretarse para limitar la presente invención solo a las modalidades descritas explícitamente. Debe entenderse que esta descripción soporta y abarca modalidades que combinan las modalidades descritas explícitamente con cualquier número de los elementos divulgados y/o preferidos. Además, cualquier de las permutaciones y combinaciones de todos los elementos descritos en esta solicitud deben considerarse divulgados por la descripción de la presente solicitud a menos que el contexto indique lo contrario.

Definiciones

A continuación, se proporcionan algunas definiciones de términos utilizados con frecuencia en esta especificación. Estos términos tendrán, en cada caso de su uso, en el resto de la especificación el significado definido respectivamente y los significados preferidos.

Como se usa en esta especificación y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "uno", "una" y "el/la" incluyen referentes plurales, a menos que el contenido indique claramente lo contrario.

En las siguientes definiciones de los términos: alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, heteroaralquilo, alquenilo y alquinilo. Estos términos tendrán en cada caso de su uso en el resto de la especificación el significado definido respectivamente y los significados preferidos.

El término "alquilo" se refiere a una cadena de carbono saturada lineal o ramificada. Preferiblemente, la cadena comprende de 1 a 10 átomos de carbono, es decir, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, butilo, *iso*-butilo, *terc*-butilo, pentilo, hexilo, heptilo u octilo. Los grupos alquilo están opcionalmente sustituidos.

El término "heteroalquilo" se refiere a una cadena de carbono saturada lineal o ramificada. Preferiblemente, la cadena comprende de 1 a 9 átomos de carbono, es decir, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, butilo, *iso*-butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, que se interrumpe una o más veces, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, con el mismo o diferentes heteroátomos. Preferiblemente, los heteroátomos se seleccionan de O, S, y N, por ejemplo, -O-CH₃, -S-CH₃, -CH₂-O-CH₃, -CH₂-O-C₂H₅, -CH₂-S-CH₃, -CH₂-S-C₂H₅, -C₂H₄-O-CH₃, -C₂H₄-O-C₂H₅, -C₂H₄-S-CH₃, -C₂H₄-S-C₂H₅ etc. Los grupos heteroalquilo están opcionalmente sustituidos.

Los términos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo", por sí mismos o en combinación con otros términos, representan, a menos que se indique lo contrario, versiones cíclicas de "alquilo" y "heteroalquilo", respectivamente, con preferiblemente 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos que forman un anillo, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, etc. Los términos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo" también incluyen versiones bicíclicas, tricíclicas y policíclicas de los mismos. El término "heterocicloalquilo" se refiere preferiblemente a un anillo saturado que tiene cinco de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que opcionalmente contiene un O adicional o un N adicional; un anillo saturado que tiene seis miembros de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que opcionalmente contiene un O adicional o un N adicional o dos átomos de N adicionales; o un anillo bicíclico saturado que tiene nueve o diez miembros de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que opcionalmente contiene uno, dos o tres átomos de N adicionales. Los grupos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo" están opcionalmente sustituidos. Además, para el heterocicloalquilo, un heteroátomo puede ocupar la posición en la que el heterociclo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo, espiro[3,3]heptilo, espiro[3,4]octilo, espiro[4,3]octilo, espiro[3,5]nonilo, espiro[5,3]nonilo, espiro[3,6]decilo, espiro[6,3]decilo, espiro[4,5]decilo, espiro[5,4]decilo, biciclo[2.2.1]heptilo, biciclo[2.2.2]octilo, adamantilo y similares. Los ejemplos de heterocicloalquilo incluyen 1-(1,2,5,6-tetrahidropiridilo), 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-morfolinilo, 3-morfolinilo, 1,8-diazo-espiro-[4,5] decilo, 1,7-diazo-espiro-[4,5] decilo, 1,6-diazo-espiro-[4,5] decilo, 2,8-diazo-espiro[4,5] decilo, 2,7-diazo-espiro[4,5] decilo, 2,6-diazo-espiro[4,5] decilo, 1,8-diazo-espiro-[5,4] decilo, 1,7-diazo-espiro-[5,4] decilo, 2,8-diazo-espiro-[5,4] decilo, 2,7-diazo-espiro[5,4] decilo, 3,8-diazo-espiro[5,4] decilo, 3,7-diazo-espiro[5,4] decilo, 1-azo-7,11-dioxo-espiro[5,5] undecilo, 1,4-diazabiciclo[2.2.2]oct-2-ilo, tetrahidrofurano-2-ilo, tetrahidrofurano-3-ilo, tetrahidrotien-2-ilo, tetrahidrotien-3-ilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo y similares.

El término "arilo" se refiere preferiblemente a un anillo monocíclico aromático que contiene 6 átomos de carbono, un sistema de anillo bicíclico aromático que contiene 10 átomos de carbono o un sistema de anillo tricíclico aromático que contiene 14 átomos de carbono. Ejemplos son fenilo, naftilo o antracenilo. El grupo arilo está opcionalmente sustituido.

El término "aralquilo" se refiere a una porción alquilo, que está sustituido con arilo, en donde alquilo y arilo tienen el significado que se describe anteriormente. Un ejemplo es el radical bencilo. Preferiblemente, en este contexto, la cadena de alquilo comprende de 1 a 8 átomos de carbono, es decir, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, butilo, *iso*-butilo, *sec*-butenilo, *terc*-butilo,

pentilo, hexilo, heptilo, octilo. El grupo aralquilo está opcionalmente sustituido en la parte alquilo y/o arilo del grupo.

El término "heteroarilo" se refiere preferiblemente a un anillo monocíclico aromático de cinco o seis miembros en donde al menos uno de los átomos de carbono está reemplazado por 1, 2, 3 o 4 (para el anillo de cinco miembros) o 1, 2, 3, 4 o 5 (para el anillo de seis miembros) del mismo o de diferentes heteroátomos, preferiblemente seleccionados de O, N y S; un sistema de anillo bicíclico aromático en donde 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono de los 8, 9, 10, 11 o 12 átomos de carbono se han reemplazado con los mismos o diferentes heteroátomos, preferiblemente seleccionados de O, N y S; o un sistema de anillo tricíclico aromático en donde 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono de los 13, 14, 15 o 16 átomos de carbono se han reemplazado con el mismo o diferentes heteroátomos, preferiblemente seleccionado de O, N y S. Ejemplos son oxazolilo, isoxazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, 1,2,3-triazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, piridinilo, pirimidinilo, pirazinilo, 1,2,3-triazinilo, 1,2,4-triazinilo, 1,3,5-triazinilo, 1-benzofuranilo, 2-benzofuranilo, indoilo, isoindoilo, benzotiofenilo, 2-benzotiofenilo, 1H-indazolilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, indoxazinilo, 2,1-benzosoxazoilo, benzotiazolilo, 1,2-benzotiazilo, 2,1-benzotiazolilo, benzotriazolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, 1,2,3-benzotriazinilo o 1,2,4-benzotriazinilo.

El término "heteroaralquilo" se refiere a una porción alquilo, que está sustituido con heteroarilo, en donde alquilo y heteroarilo tienen el significado descrito anteriormente. Un ejemplo es el 2-alquilpiridinilo, 3-alquilpiridinilo o 2-metilpiridinilo. Preferiblemente, en este contexto, la cadena de alquilo comprende de 1 a 8 átomos de carbono, es decir, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, butilo, *iso*-butilo, *sec*-butenilo, *terc*-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo. El grupo heteroaralquilo está opcionalmente sustituido en la parte alquilo y/o heteroarilo del grupo.

Los términos "alquenilo" y "cicloalquenilo" se refieren a átomos de carbono olefínico insaturado que contienen cadenas o anillos con uno o más dobles enlaces. Ejemplos son propenilo y ciclohexenilo. Preferiblemente, la cadena de alquenilo comprende de 2 a 8 átomos de carbono, es decir, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, por ejemplo, etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, *iso*-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, *iso*-butenilo, *sec*-butenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 4-pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo. Preferiblemente, el anillo de cicloalquenilo comprende de 3 a 8 átomos de carbono, es decir, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, por ejemplo 1-ciclopropenilo, 2-ciclopropenilo, 1-ciclobutenilo, 2-ciclobutenilo, 1-ciclopentenilo, 2-ciclopentenilo, 3-ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo.

El término "alquinilo" se refiere a átomos de carbono insaturados que contienen cadenas o anillos con uno o más enlaces triples. Un ejemplo es el radical propargilo. Preferiblemente, la cadena alquinilo comprende de 2 a 8 átomos de carbono, es decir, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8, por ejemplo, etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 3-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-pentinilo, 4-pentinilo, hexinilo, heptinilo, octinilo.

En una modalidad, los átomos de carbono o átomos de hidrógeno en los radicales alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, alquenilo, cicloalquenilo, alquinilo pueden estar sustituidos independientemente uno de otro con uno o más elementos seleccionados del grupo que consiste en O, S,

No con grupos que contienen uno o más elementos seleccionados del grupo que consiste en O, S, N.

Las modalidades incluyen radicales alcoxilo, cicloalcoxilo, aricoxilo, aralcoxilo, alqueniloxilo, cicloalqueniloxilo, alquiniloxilo, alquiltio, cicloalquiltio, ariltio, aralquiltio, alqueniltio, cicloalqueniltio, alquiniltio, alquilamino, cicloalquilamino, arilamino, aralquilamino, alquenilamino, cicloalquenilamino, alquinilamino.

Otras modalidades incluyen radicales hidroxialquilo, hidroxicicloalquilo, hidroxiarilo, hidroxiaralquilo, hidroxialquenilo, hidroxicicloalquenilo, hidroxialinilo, mercaptoalquilo, mercaptocicloalquilo, mercaptoarilo, mercaptoaralquilo, mercaptoalquenilo, mercaptocicloalquenilo, mercaptoalquinilo, aminoalquilo, aminocicloalquilo, aminoarilo, aminoaralquilo, aminoalquenilo, aminocicloalquenilo, aminoalquinilo.

En otra modalidad, los átomos de hidrógeno en los radicales alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, alquenilo, cicloalquenilo, alquinilo pueden estar sustituidos independientemente uno del otro con uno o más átomos de halógeno. Un radical es el radical trifluorometilo.

Si dos o más radicales o dos o más residuos se pueden seleccionar independientemente uno del otro, entonces el término "independientemente" significa que los radicales o los residuos pueden ser iguales o diferentes.

Como se usa aquí, una redacción que define los límites de un rango de longitud tal como, por ejemplo, "de 1 a 6" significa cualquier número entero de 1 a 6, es decir, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. En otras palabras, cualquier rango definido por dos enteros mencionados explícitamente pretende comprender y divulgar cualquier número entero que defina dichos límites y cualquier número entero comprendido en dicho rango.

El término "halo", como se usa en el presente documento, se refiere a un residuo de halógeno seleccionado del grupo que consiste en F, Br, I y Cl. Preferentemente, el halógeno es F.

El término "enlazador" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier enlazador químicamente adecuado. Preferiblemente, el enlazador no se corta o solo lentamente en condiciones fisiológicas. Por lo tanto, se prefiere que el enlazador no comprenda secuencias de reconocimiento para proteasas o estructuras de reconocimiento para otras enzimas degradantes. Dado que se prefiere que los compuestos de la invención se administren sistémicamente para permitir un amplio acceso a todos los compartimentos del cuerpo y, posteriormente, el enriquecimiento de los compuestos de la invención en cualquier parte del cuerpo donde se encuentre el tumor, se prefiere que el enlazador se elija de tal manera que no se escinda o solo lentamente en la sangre. La escisión se considera lentamente, si menos del 50 % de los enlazadores se escinden 2 h después de la administración del compuesto a un paciente humano. Los enlazadores adecuados, por ejemplo, comprenden o consisten en alquilo opcionalmente sustituido, heteroalquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroarilo, alquenilo, heteroalquenilo, cicloalquenilo, cicloheteroalquenilo, alquinilo, sulfonilo, aminas, éteres, tioéteres, fosfinas, fosforamidatos, carboxamidas, ésteres, imidoésteres, amidinas, tioésteres, sulfonamidas, 3-tiopirrolidina-2,5-diona, carbamatos, ureas, guanidinas, tioureas, disulfuros, oximas, hidrazinas, hidrazidas, hidrazonas, enlaces diaza, triazoles, triazolinas, tetrazinas, complejos de platino y aminoácidos, o combinaciones de los mismos. Preferiblemente, el enlazador comprende o consiste en 1,4-piperazina, 1,3-propano y un éter

fenólico o combinaciones de los mismos.

La expresión "opcionalmente sustituido" se refiere a un grupo en el que uno, dos, tres o más átomos de hidrógeno pueden haber sido reemplazados independientemente entre sí por los sustituyentes respectivos.

5 Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" se refiere a cualquier ácido orgánico que contenga uno o más sustituyentes amino, por ejemplo, α -, β - o γ -amino, derivados de los ácidos carboxílicos alifáticos. En la notación de polipéptidos usada en este documento, por ejemplo, Xaa5, es decir, Xaa1Xaa2Xaa3Xaa4Xaa5, en donde Xaa1 a Xaa5 se seleccionan cada uno independientemente de los aminoácidos como se define, la dirección de la mano izquierda es la dirección del extremo amino y
10 la dirección de la mano derecha es la dirección del extremo carboxilo, de acuerdo con el uso y la convención estándar.

El término "aminoácido convencional" se refiere a los veinte aminoácidos naturales y abarca todas las isoformas estereoméricas, es decir, los aminoácidos D y L de los mismos. En el presente documento, estos aminoácidos convencionales también pueden denominarse por sus abreviaturas convencionales de
15 tres letras o una letra y sus abreviaturas siguen el uso convencional (véase, por ejemplo, *Immunology: A Synthesis*, 2da Edición, E. S. Golub y D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland Mass. (1991)).

El término "aminoácido no convencional" se refiere a aminoácidos no naturales o análogos químicos de aminoácidos, por ejemplo, α,α -aminoácidos disustituidos, N-alkil aminoácidos, homo-aminoácidos, deshidroaminoácidos, aminoácidos aromáticos (que no sean fenilalanina, tirosina y
20 triptófano) y ácido orto, meta o para-aminobenzoico. Los aminoácidos no convencionales también incluyen compuestos que tienen un grupo funcional amina y carboxilo separado en un patrón de sustitución 1,3 o mayor, como β -alanina, ácido γ -aminobutírico, lactama de Freidinger, el dipéptido bicíclico (BTD), ácido aminometilbenzoico y otros bien conocidos en la técnica. También se pueden usar isósteres similares a estatinas, isósteres de hidroxietileno, isósteres de enlace de amida reducidos, isósteres de tioamida,
25 isósteres de urea, isósteres de carbamato, isósteres de tioéter, isósteres de vinilo y otros isósteres de enlaces de amida conocidos en la técnica. El uso de análogos o aminoácidos no convencionales puede mejorar la estabilidad y la vida media biológica del péptido agregado, ya que son más resistentes a la descomposición en condiciones fisiológicas. El experto en la materia conocerá los tipos de sustitución similares que se pueden realizar. Una lista no limitante de aminoácidos no convencionales que pueden
30 usarse como bloques de construcción adecuados para un péptido y sus abreviaturas estándar (entre paréntesis) es la siguiente: ácido α -aminobutírico (Abu), L-N-metilalanina (Nmala), α -amino- α -metilbutirato (Mgabu), L-N-metilarginina (Nmarg), aminociclopropano (Cpro), L-N-metilasparagina (Nmasn), carboxilato de ácido L-N-metilaspártico (Nmasp), ácido anisobutírico (Aib), L-N-metilcisteína (Nmcs), aminonorbornilo (Norb), L-N-metilglutamina (Nmglu), ácido L-N-metilglutámico carboxilato (Nmglu),
35 ciclohexilalanina (Chexa), L-N-metilhistidina (Nmhis), ciclopentilalanina (Cpen), L-N-metilisoleucina (Nmile), L-N-metil leucina (Nmleu), L-N-metilisina (Nmlys), L-N-metilmetionina (Nmmt), L-N-metilnorleucina (Nmnl), L-N-metilnorvalina (Nmna), L-N-metilornitina (Nmorn), L-N-metilfenilalanina (Nmphe), L-N-metilprolina (Nmpro), L-N-metilserina (Nmser), L-N-metiltreonina (Nmthr), L-N-metiltriptófano

(Nmtrp), D-ornitina (Dorn), L-N-metiltirosina (Nmtyr), L-N-metilvalina (Nmval), L-N-metiletilglicina (Nmetg), L-N-metil-t-butilglicina (Nmtbug), L-norleucina (Nle), L-norvalina (Nva), α -metil-aminoisobutirato (Maib), α -metil- γ -aminobutirato (Mgabu), D- α -metilalanina (Dmala), α -metilciclohexilalanina (Mchexa), D- α -metilarginina (Dmarg), α -metilciclopentilalanina (Mcpen), D- α -metilasparagina (Dmasn), α -metil- α -naftilalanina (Manap), D- α -metilaspartato (Dmasp), α -metilpenicilamina (Mpen), D- α -metilcisteína (Dmcys), N-(4-aminobutil)glicina (Nglu), D- α -metilglutamina (Dmgln), N-(2-aminoetil)glicina (Naeg), D- α -metilhistidina (Dmhis), N-(3-aminopropil)glicina (Norn), D- α -metilisoleucina (Dmile), N-amino- α -metilbutirato (Nmaabu), D- α -metil leucina (Dmleu), α -naftilalanina (Anap), D- α -metil lisina (Dmlys), N-bencilglicina (Nphe), D- α -metilmetionina (Dmmet), N-(2-carbamiletil)glicina (Ngln), D- α -metilornitina (Dmorn), N-(carbamiletil)glicina (Nasn), D- α -metilfenilalanina (Dmphe), N-(2-carboxietil)glicina (Nglu), D- α -metilprolina (Dmpro), N-(carboximetil)glicina (Nasp), D- α -metilserina (Dmser), N-ciclobutilglicina (Ncbut), D- α -metiltreonina (Dmthr), N-cicloheptilglicina (Nchep), D- α -metilriptófano (Dmtrp), N-ciclohexilglicina (Nchex), D- α -metiltirosina (Dmty), N-ciclo-decilglicina (Ncdec), D- α -metilvalina (Dmval), N-cilcododecilglicina (Ncdod), D-N-metilalanina (Dnmala), N-ciclooctilglicina (Ncoct), D-N-metilarginina (Dnmarg), N-ciclopropilglicina (Ncpro), D-N-metilaspargina (Dnmasn), N-cicloudecilglicina (Ncund), D-N-metilaspargato (Dnmasp), N-(2,2-difeniletil)glicina (Nbhm), D-N-metilcisteína (Dnmcys), N-(3,3-difenilpropil)glicina (Nbhe), D-N-metilglutamina (Dnmgln), N-(3-guanidinopropil)glicina (Narg), D-N-metilglutamato (Dnmglu), N-(1-hidroxietyl)glicina (Ntbx), D-N-metilhistidina (Dnmhis), N-(hidroxietyl)glicina (Nser), D-N-metilisoleucina (Dnmile), N-(imidazoliletil)glicina (Nhis), D-N-metileucina (Dnmleu), N-(3-indoliletil)glicina (Nhtrp), D-N-metil lisina (Dnnilys), N-metil- γ -aminobutirato (Nmgabu), N-metilciclohexilalanina (Nmchexa), D-N-metilmetionina (Dnmmet), D-N-metilornitina (Dnmorn), N-metilciclopentilalanina (Nmcpen), N-metilglicina (Nala), D-N-metilfenilalanina (Dnmphe), N-metilaminoisobutirato (Nmaib), D-N-metilprolina (Dnmpro), N-(1-metilpropil)glicina (Nilo), D-N-metilserina (Dnmser), N-(2-metilpropil)glicina (Nleu), D-N-metiltreonina (Dnmthr), D-N-metilriptófano (Dnmtrp), N-(1-metiletil)glicina (Nval), D-N-metiltirosina (Dnmtyr), N-metilanaftilalanina (Nmanap), D-N-metilvalina (Dnmval), N-metilpenicilamina (Nmpen), ácido γ -aminobutírico (Gabu), N-(p-hidroxifenil)glicina (Nhtrp), L-/butilglicina (Tbug), N-(tiometil)glicina (Ncys), L-etilglicina (Etg), penicilamina (Pen), L-homofenilalanina (Hphe), L- α -metilalanina (Mala), L- α -metilarginina (Marg), L- α -metilasparagina (Masn), L- α -metilaspartato (Masp), L- α -metil-t-butilglicina (Mtbug), L- α -metilcisteína (Mcys), L-metiletilglicina (Metg), L- α -metilglutamina (Mgln), L- α -metilglutamato (Mglu), L- α -metilhistidina (Mhis), L- α -metilhomofenilalanina (Mhphe), L- α -metilisoleucina (Mile), N-(2-metiltioetil)glicina (Nmet), L- α -metil leucina (Mleu), L- α -metil lisina (Mlys), L- α -metilmetionina (Mmet), L- α -metilnorleucina (Mnle), L- α -metilnorvalina (Mnva), L- α -metilornitina (Morn), L- α -metilfenilalanina (Mphe), L- α -metilprolina (Mpro), L- α -metilserina (Mser), L- α -metiltreonina (Mthr), L- α -metilriptófano (Mtrp), L- α -metiltirosina (Mtyr), L- α -metilvalina (Mval), L-N-metilhomofenilalanina (Nmhphe), N-(N-(2,2-difeniletil)carbamiletil)glicina (Nnbhm), N-(N-(3,3-difenilpropil)-carbamiletil)glicina (Nnbhe), 1-carboxi-1-(2,2-difenil-etilamino)ciclopropano (Nmbc), L-O-metilserina (Omser), L-O-metilhomoserina (Omhsr).

El término "heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N", como se usa en

el presente documento, se refiere a un compuesto de hidrocarburo cíclico saturado o insaturado que contiene al menos un átomo de nitrógeno como constituyente de la cadena cíclica.

El término "porción radiactiva", como se usa en el presente documento, se refiere a un conjunto molecular que porta un nucleido radiactivo. El nucleido está unido por enlaces covalentes o coordinados que permanecen estables en condiciones fisiológicas. Ejemplos son el ácido [^{131}I] -3-yodobenzoico o ^{68}Ga -DOTA.

Un "isótopo fluorescente", como se usa en este documento, emite radiación electromagnética después de la excitación por radiación electromagnética de una longitud de onda más corta.

Un "radioisótopo", como se usa en el presente documento, es un isótopo radiactivo de un elemento (incluido por el término "radionucleido") que emite radiación α , β y/o γ .

El término "fármaco radiactivo" se usa en el contexto de la presente invención para referirse a un compuesto biológico activo que es modificado por un radioisótopo. Se pueden usar especialmente sustancias intercalantes para suministrar la radiactividad a la proximidad directa del ADN (por ejemplo, un derivado de Hoechst-33258 que porta ^{131}I).

El término "agente quelante" o "quelato" se usan indistintamente en el contexto de la presente invención y se refieren a una molécula, a menudo orgánica, y a menudo una base de Lewis, que tiene dos o más pares de electrones no compartidos disponibles para la donación a un ion metálico. El ion metálico generalmente está coordinado por dos o más pares de electrones al agente quelante. Los términos "agente quelante bidentado", "agente quelante tridentado" y "agente quelante tetradentado" se refieren a los agentes quelantes que tienen, respectivamente, dos, tres y cuatro pares de electrones fácilmente disponibles para la donación simultánea a un ion metálico coordinado por el agente quelante. Usualmente, los pares de electrones de un agente quelante forman enlaces coordinados con un solo ion metálico; sin embargo, en ciertos ejemplos, un agente quelante puede formar enlaces coordinados con más de un ion metálico, siendo posible una variedad de modos de unión.

El término "colorante fluorescente" se usa en el contexto de la presente invención para referirse a un compuesto que emite luz visible o infrarroja después de la excitación por radiación electromagnética de una longitud de onda más corta y adecuada. El experto en la materia entiende que cada colorante fluorescente tiene una longitud de onda de excitación predeterminada.

El término "agente de contraste" se usa en el contexto de la presente invención para referirse a un compuesto que aumenta el contraste de estructuras o fluidos en imágenes médicas. La mejora se logra mediante la absorción de radiación electromagnética o la alteración de los campos electromagnéticos.

El término "paramagnético", como se usa en el presente documento, se refiere al paramagnetismo inducido por electrones no apareados en un medio. Una sustancia paramagnética induce un campo magnético si se aplica un campo magnético externo. A diferencia del diamagnetismo, la dirección del campo inducido es la misma que el campo externo y, a diferencia del ferromagnetismo, el campo no se mantiene en ausencia de un campo externo.

El término "nanopartícula", como se usa en el presente documento, se refiere a partículas preferiblemente de forma esférica, con diámetros de tamaños entre 1 y 100 nanómetros. Dependiendo de

la composición, las nanopartículas pueden poseer cualidades magnéticas, ópticas o fisicoquímicas que pueden evaluarse. Además, la modificación de la superficie se puede lograr para muchos tipos de nanopartículas.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal del compuesto de la presente invención. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas del compuesto de la presente invención incluyen sales de adición de ácido que pueden, por ejemplo, formarse mezclando una solución de colina o derivado del mismo con una solución de un ácido farmacéuticamente aceptable tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico. Además, cuando el compuesto de la invención lleva una porción ácida, las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de la misma pueden incluir sales de metales alcalinos (por ejemplo, sales de sodio o potasio); sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, sales de calcio o magnesio); y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados (por ejemplo, amonio, amonio cuaternario y cationes amina formados usando contraaniones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquilsulfonato y arilsulfonato). Los ejemplos ilustrativos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a: acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, butirato, edetato de calcio, alcanfor, alcanforsulfonato, camsilato, carbonato, cloruro, citrato, clavulanato, ciclopentanopropionato, digluconato, diclorhidrato, dodecilsulfato, edetato, edisilato, estolato, esilato, etanosulfonato, formiato, fumarato, gluceptato, glucoheptonato, gluconato, glutamato, glicerofosfato, glicolilarsanilato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, yoduro, 2-hidroxietanosulfonato, hidroxinaftoato, yoduro, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, manilato, mesilato, metanosulfonato, metilsulfato, mucato, 2-naftalenosulfonato, napsilato, nicotinato, nitrato, sal de amonio de N-metilglucamina, oleato, oxalato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato/difosfato, picrato, pivalato, poligalacturonato, propionato, salicilato, estearato, sulfato, subacetato, succinato, tanato, tartrato, teoclato, tosilato, trietioduro, undecanoato, valerato y similares (véase, por ejemplo, Berge, S. M., et al, *Pharmaceutical Salts*, Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente descripción contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan en ya sea sales de adición de ácido o base.

Las formas neutras de los compuestos se pueden regenerar poniendo en contacto la sal con una base o ácido y aislando el compuesto de origen de la manera convencional. La forma original del compuesto difiere de las diversas formas de sal en ciertas propiedades físicas, como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a la forma original del compuesto para los fines de la presente invención.

Además de las formas de sal, la presente invención proporciona compuestos que están en forma de profármaco. Los profármacos de los compuestos descritos en el presente documento son aquellos compuestos que sufren fácilmente cambios químicos en condiciones fisiológicas para proporcionar un compuesto de fórmula (I). Un profármaco es un compuesto activo o inactivo que se modifica químicamente

a través de una acción fisiológica *in vivo*, tal como hidrólisis, metabolismo y similares, en un compuesto de esta invención después de la administración del profármaco a un paciente. Además, los profármacos pueden convertirse en los compuestos de la presente invención por métodos químicos o bioquímicos en un entorno *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos pueden convertirse lentamente en los compuestos de la presente invención cuando se colocan en un depósito de parche transdérmico con una enzima adecuada. Los expertos en la materia conocen bien la idoneidad y las técnicas implicadas en la fabricación y el uso de profármacos. Para una discusión general de los profármacos que involucran ésteres, ver Svensson y Tunek, *Drug Metabolism Reviews* 16.5 (1988) y Bundgaard, *Design of Prodrugs*, Elsevier (1985). Los ejemplos de un anión carboxilato enmascarado incluyen una variedad de ésteres, tales como alquilo (por ejemplo, metilo, etilo), cicloalquilo (por ejemplo, ciclohexilo), aralquilo (por ejemplo, bencilo, p-metoxibencilo) y alquilcarboniloxialquilo (por ejemplo, pivaloiloximetilo). Las aminas se han enmascarado como derivados sustituidos con arilcarboniloximetilo que se cortan por esterazas *in vivo* liberando el fármaco libre y el formaldehído (Bundgaard *J. Med. Chem.* 2503 (1989)). Además, los medicamentos que contienen un grupo ácido NH, como imidazol, imida, indol y similares, se han enmascarado con grupos N-aciloximetilo (Bundgaard *Design of Prodrugs*, Elsevier (1985)). Los grupos hidroxilo se han enmascarado como ésteres y éteres. EP 0 039 051 (Sloan and Little, Apr. 11, 1981) describe profármacos de ácido hidroxámico de base de Mannich, su preparación y uso.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden sintetizarse de acuerdo con uno o más de los siguientes métodos. Cabe señalar que los procedimientos generales se muestran en lo que se refiere a la preparación de compuestos que tienen estereoquímica no especificada. Sin embargo, tales procedimientos son generalmente aplicables a aquellos compuestos de una estereoquímica específica, por ejemplo, donde la estereoquímica sobre un grupo es (S) o (R). Además, los compuestos que tienen una estereoquímica (por ejemplo, (R)) a menudo se pueden utilizar para producir aquellos que tienen estereoquímica opuesta (es decir, (S)) utilizando métodos bien conocidos, por ejemplo, por inversión.

Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y están destinadas a ser abarcadas dentro del alcance de la presente invención. Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y están destinados a estar dentro del alcance de la presente invención.

Ciertos compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o dobles enlaces; los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos e isómeros individuales están todos comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen tales compuestos. Por ejemplo, los compuestos pueden estar radiomarcados con isótopos radiactivos, como por ejemplo tritio (^3H), yodo-125 (^{125}I) o carbono-14 (^{14}C). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, sean radiactivas o no, están incluidas dentro del alcance de la presente invención.

El término "composición farmacéutica" como se usa en la presente solicitud se refiere a una sustancia y/o una combinación de sustancias que se usan para la identificación, prevención o tratamiento de un estado o enfermedad del tejido. La composición farmacéutica está formulada para ser adecuada para la administración a un paciente con el fin de prevenir y/o tratar enfermedades. Además, una composición farmacéutica se refiere a la combinación de un agente activo con un vehículo, inerte o activo, que hace que la composición sea adecuada para uso terapéutico. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse para vías de aplicación oral, parenteral, tópica, inhalatoria, rectal, sublingual, transdérmica, subcutánea o vaginal de acuerdo con sus propiedades químicas y físicas. Las composiciones farmacéuticas comprenden sistemas terapéuticos transdérmicos (TTS) sólidos, semisólidos, líquidos. Las composiciones sólidas se seleccionan del grupo que consiste en comprimidos, comprimidos recubiertos, polvo, granulado, gránulos, cápsulas, comprimidos efervescentes o sistemas terapéuticos transdérmicos. También se incluyen composiciones líquidas, seleccionadas del grupo que consiste en soluciones, jarabes, infusiones, extractos, soluciones para aplicación intravenosa, soluciones para infusión o soluciones de los sistemas de vehículos de la presente invención. Las composiciones semisólidas que pueden usarse en el contexto de la invención comprenden emulsión, suspensión, cremas, lociones, geles, glóbulos, comprimidos bucales y supositorios.

"Farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o que figura en la Farmacopea de EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en humanos.

El término "vehículo", como se usa en el presente documento, se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el agente terapéutico. Dichos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, como soluciones salinas en agua y aceites, incluidos los de petróleo, origen animal, vegetal o sintético, como aceite de cacahuate, aceite de soya, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Una solución salina es un vehículo preferido cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también pueden emplearse como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche descremada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes amortiguadores de pH. Ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en *Remington's Pharmaceutical Sciences* de E. W. Martin.

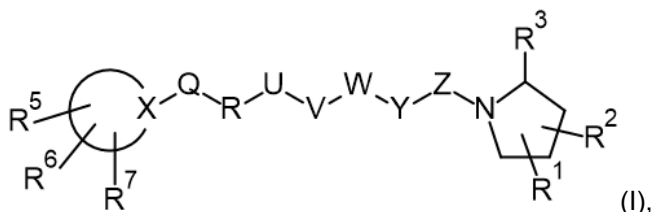
El término "proteína activadora de fibroblastos" (FAP, por sus siglas en inglés) como se usa en el presente documento también se conoce bajo el término "seprasa". Ambos términos pueden usarse indistintamente en el presente documento. La proteína activadora de fibroblastos es una proteína integral homodimérica con pliegue tipo dipeptidil peptidasa IV (DPPIV), que presenta un dominio alfa/beta-hidrolasa y un dominio de hélice beta de ocho palas.

Modalidades

A continuación, se definen diferentes aspectos de la invención con más detalle. Cada aspecto así

definido puede combinarse con cualquier otro aspecto o aspectos a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica indicada como preferida o ventajosa puede combinarse con cualquier otra característica o características indicadas como preferidas o ventajosas.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



10 en donde

Q, R, U, V, W, Y, Z están presentes individualmente o ausentes con la condición de que al menos tres de Q, R, U, V, W, Y, Z estén presentes;

Q, R, U, V, W, Y, Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en O, CH₂, NR⁴, C=O, C=S, C=NR⁴, HCR⁴ y R⁴CR⁴, con la condición de que dos O no sean directamente adyacentes entre sí; preferiblemente, cuatro de los seis grupos están presentes, de los cuales dos son C=O, uno es CH₂ y uno es NH; más preferiblemente están presentes cuatro grupos de los cuales dos son C=O, uno es CH₂ y uno es NH; lo más preferiblemente, V, W, Y y Z están presentes, de los cuales V y Z son C=O y W e Y se seleccionan independientemente de CH₂ y NH;

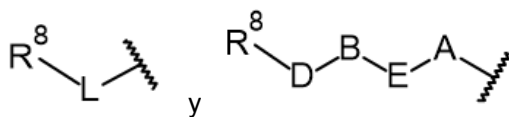
R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H, -OH, halo, alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, S-alquilo de C₁₋₆;

R³ se selecciona del grupo que consiste en -H, -CN, -B(OH)₂, -C(O)-alquilo, -C(O)-arilo-, -C=C-C(O)-arilo, -C=C-S(O)₂-arilo, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂, -PO₃H₂ y 5-tetrazolilo;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en -H, -alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, -S-alquilo de C₁₋₆, alqueno, heteroalqueno, cicloalqueno, cicloheteroalqueno, alquino, arilo y -aralquilo de C₁₋₆, estando cada uno de dichos -alquilo de C₁₋₆ opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH, oxo, halo y opcionalmente conectados a Q, R, U, V, W, Y o Z;

R⁵ se selecciona del grupo que consiste en -H, halo y alquilo de C₁₋₆;

R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H,



, bajo la condición de que R⁶ y R⁷ no son al mismo tiempo H, preferiblemente R⁶ está unido a la posición 7- u 8- quinolilo y R⁷ está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R⁶ está unido a la posición 7-quinolilo y R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo,

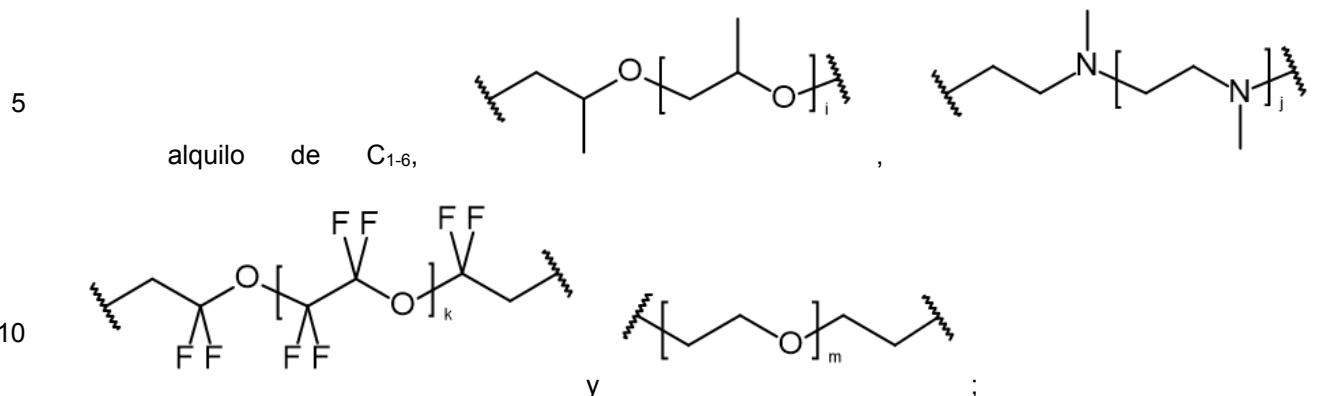
35 en donde L es un enlazador,

en donde D, A, E y B están presentes o ausentes individualmente, preferiblemente en donde están presentes al menos A, E y B, en donde cuando están presentes:

D es un enlazador;

A se selecciona del grupo que consiste en NR^4 , O, S y CH_2 ;

E se selecciona del grupo que consiste en



en donde i es 1, 2 o 3;

en donde j es 1, 2 o 3;

en donde k es 1, 2 o 3;

en donde m es 1, 2 o 3;

más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo de C_3 o C_4 ;

A y E juntos forman un grupo seleccionado de: un cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, preferiblemente heterocicloalquilo, en donde A y E pueden ser mono, bi y multicíclicos, preferiblemente monocíclicos. Cada A y E están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de -H, -alquilo de C_{1-6} , -O-alquilo de C_{1-6} , -S-alquilo de C_{1-6} , alqueno, heteroalqueno, cicloalqueno, cicloheteroalqueno, alquino, arilo y -aralquilo de C_{1-6} , cada uno de dichos -alquilo de C_{1-6} están opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH, oxo, halo; y opcionalmente

conectados a A, B, D, E o ;

B se selecciona del grupo que consiste en S, NR^4 , $\text{NR}^4\text{-O}$, $\text{NR}^4\text{-alquilo de } \text{C}_{1-6}$, $\text{NR}^4\text{-alquilo de } \text{C}_{1-6}\text{-NR}^4$, y un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde $\text{NR}^4\text{-alquilo de } \text{C}_{1-6}\text{-NR}^4$ y el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} ; y

R^8 se selecciona del grupo que consiste en una porción radiactiva, agente quelante, colorante fluorescente, un agente de contraste y combinaciones de los mismos;

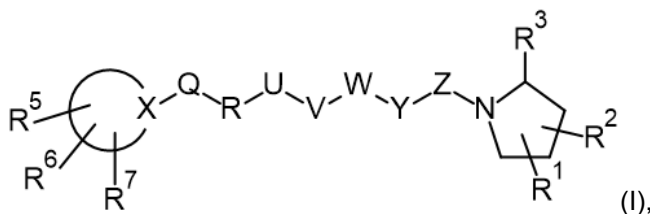
es una porción 1-naftilo o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, en donde hay 2 átomos en el anillo entre el átomo de N y X; dicho heterociclo opcionalmente comprende además 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de O, N y S; y X es un átomo de C;

o un tautómero, racemato, hidrato, solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

En una modalidad preferida, A y E juntos forman un grupo seleccionado del grupo que consiste en un heterocicloalquilo monocíclico de C₃, C₄, C₅, C₆, C₇ y C₈, preferiblemente monocíclico de C₅ o C₆, o bicíclico de C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ o C₁₂, preferiblemente bicíclico de C₇, C₈, C₉ y C₁₀, que comprende 1, 2, 3 o 4, preferiblemente 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O y S, preferiblemente N y O, lo más preferiblemente 1 o 2 N.

En una modalidad preferida del primer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I):



en donde

Q, R, U, V, W, Y, Z están presentes individualmente o ausentes con la condición de que al menos tres de Q, R, U, V, W, Y, Z estén presentes;

Q, R, U, V, W, Y, Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en O, CH₂, NR⁴, C=O, C=S, C=NR⁴, HCR⁴ y R⁴CR⁴, con la condición de que dos O no sean directamente adyacentes entre sí; preferiblemente, cuatro de los seis grupos están presentes, de los cuales dos son C=O, uno es CH₂ y uno es NH; más preferiblemente están presentes cuatro grupos de los cuales dos son C=O, uno es CH₂ y uno es NH; lo más preferiblemente, V, W, Y y Z están presentes, de los cuales V y Z son C=O y W e Y se seleccionan independientemente de CH₂ y NH;

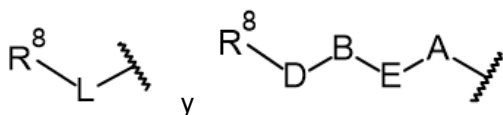
R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H, -OH, halo, alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, S-alquilo de C₁₋₆;

R³ se selecciona del grupo que consiste en -H, -CN, -B(OH)₂, -C(O)-alquilo, -C(O)-arilo-, -C=C-C(O)-arilo, -C=C-S(O)₂-arilo, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂, -PO₃H₂ y 5-tetrazolilo;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en -H, -alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, -S-alquilo de C₁₋₆, alqueno, heteroalqueno, cicloalqueno, cicloheteroalqueno, alquino, arilo y -aralquilo de C₁₋₆, estando cada uno de dichos -alquilo de C₁₋₆ opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH, oxo, halo y opcionalmente conectados a Q, R, U, V, W, Y o Z;

R⁵ se selecciona del grupo que consiste en -H, halo y alquilo de C₁₋₆;

R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H,



bajo la condición de que R⁶ y R⁷ no son al mismo tiempo H, preferiblemente R⁶ está unido a la posición 7- u 8- quinolilo y R⁷ está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R⁶ está unido a la posición 7-quinolilo y R⁷ está unido a la posición 6-

quinolilo,

en donde L es un enlazador,

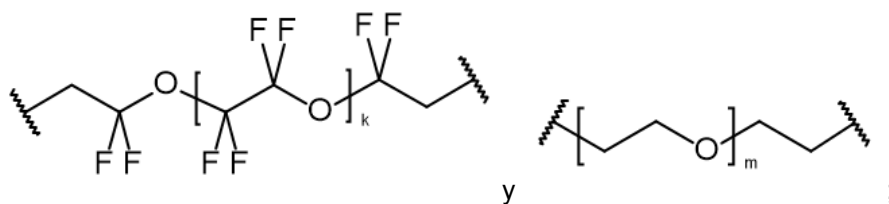
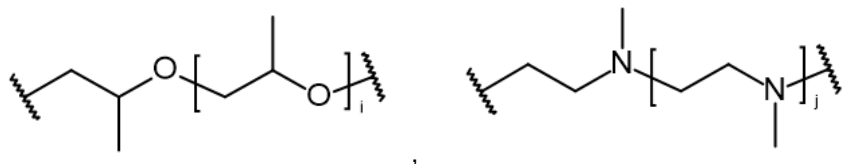
en donde D, A, E y B están presentes o ausentes individualmente, preferiblemente en donde están presentes al menos A, E y B, en donde cuando están presentes:

D es un enlazador;

A se selecciona del grupo que consiste en NR^4 , O, S y CH_2 ;

E se selecciona del grupo que consiste en

alquilo de C_{1-6} ,



en donde i es 1, 2 o 3;

en donde j es 1, 2 o 3;

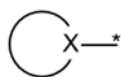
en donde k es 1, 2 o 3;

en donde m es 1, 2 o 3;

más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo de C_3 o C_4 ;

B se selecciona del grupo que consiste en S, NR^4 , $\text{NR}^4\text{-O}$, NR^4 -alquilo de C_{1-6} , NR^4 -alquilo de C_{1-6} - NR^4 , y un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde NR^4 -alquilo de C_{1-6} - NR^4 y el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} ; y

R^8 se selecciona del grupo que consiste en una porción radiactiva, agente quelante, colorante fluorescente, un agente de contraste y combinaciones de los mismos;



es una porción 1-naftilo o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, en donde hay 2 átomos en el anillo entre el átomo de N y X; dicho heterociclo opcionalmente comprende además 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de O, N y S; y X es un átomo de C;

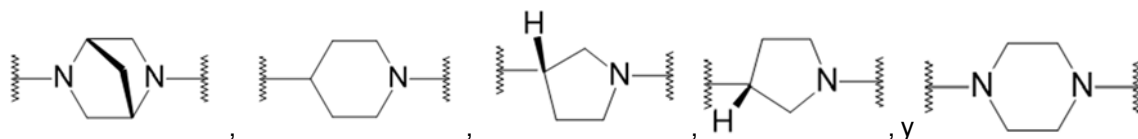
o un tautómero, racemato, hidrato, solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo y hexilo.

En otra modalidad preferida del primer aspecto de la presente invención, A y E juntos forman un

grupo que consiste en un heterocicloalquilo monocíclico de C₃, C₄, C₅, C₆, C₇ y C₈, preferiblemente monocíclico de C₅ o C₆, o bicíclico de C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ o C₁₂, preferiblemente bicíclico de C₇, C₈, C₉ y C₁₀, preferiblemente que comprende 1, 2, 3 o 4, más preferiblemente 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O y S, preferiblemente N y O, lo más preferiblemente 1 o 2 N. Los heterocicloalquilos monocíclicos preferidos se seleccionan del grupo que consiste en pirrolidinilo, piperidinilo, imidazolidinilo, 1,2-diazaciclohexanilo, 1,3-diazaciclohexanilo, piperazinilo, 1-oxo-2-azaciclohexanilo, 1-oxo-3-azaciclohexanilo, o morfolin piperidinilo, piperazinilo y pirrolidinilo. Los heterocicloalquilos bicíclicos preferidos se seleccionan del grupo que consiste en biciclo[2.2.1]2,5-diazaheptanilo, 3,6-diazabicyclo[3.2.1]octanilo, 3,6-diazabicyclo[3.2.2]nonilo, octahidropirrollo[2,3-b]pirrolilo, octahidropirrollo[3,2-b]pirrolilo, octahidropirrollo[3,4-b]pirrolilo, octahidropirrollo[3,4-c]pirrolilo, 9-metil-3,7,9-triazabicyclo[3.3.1]nonanilo.

El enlace entre el heterociclo formado por A y E y B por un lado y/o R⁶ o R⁷ por el otro es preferiblemente a través del heteroátomo, preferiblemente a través de N.

Particularmente, ejemplos preferidos del heterociclo formado por A y E son seleccionados del grupo que consiste en



En una modalidad preferida del primer aspecto de la presente invención, Q, R, U son CH₂ y están presentes o ausentes individualmente; preferiblemente, Q y R están ausentes;

V es CH₂, C=O, C=S o C=NR⁴; preferentemente, V es C=O;

W es NR⁴; preferentemente, W es NH;

Y es HCR⁴; preferiblemente, Y es CH₂; y

Z es C=O, C=S o C=NR⁴, preferentemente, Z es C=O.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

Q, R, U están ausentes;

V es CH₂;

W es NH;

Y es CH₂; y

Z es C=O.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H y halo; preferiblemente,

R¹ y R² son halo; más preferiblemente, R¹ y R² son F;

R³ se selecciona del grupo que consiste en -H, -CN y -B(OH)₂; preferiblemente, R³ es -CN o -B(OH)₂; más preferiblemente, R³ es -CN;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en -H y -alquilo de C₁₋₆, en donde el -alquilo de C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH. Preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆

se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

Q, R, U están ausentes;

V es CH₂;

W es NH;

Y es CH₂;

Z es C=O;

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H y halo; preferiblemente,

R¹ y R² son halo; más preferiblemente, R¹ y R² son F;

R³ se selecciona del grupo que consiste en -H, -CN y -B(OH)₂; preferiblemente, R³ es -CN o -B(OH)₂; más preferiblemente, R³ es -CN;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en -H y -alquilo de C₁₋₆, en donde el -alquilo de C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH. Preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆

se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

Q, R, U están ausentes;

V es CH₂;

W es CH₂;

Y es NH;

Z es C=O;

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H y halo; preferiblemente,

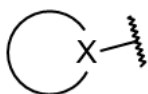
R¹ y R² son halo; más preferiblemente, R¹ y R² son F;

R³ se selecciona del grupo que consiste en -H, -CN y -B(OH)₂; preferiblemente, R³ es -CN o -B(OH)₂; más preferiblemente, R³ es -CN;

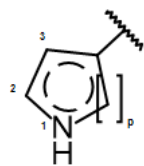
R⁴ se selecciona del grupo que consiste en -H y -alquilo de C₁₋₆, en donde el -alquilo de C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH. Preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆

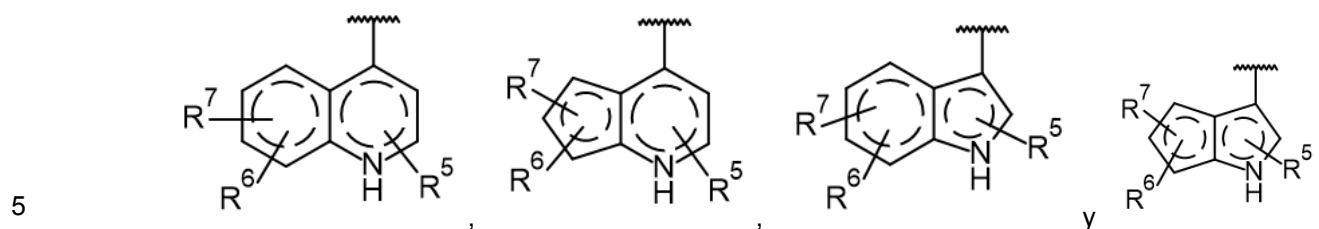
se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,



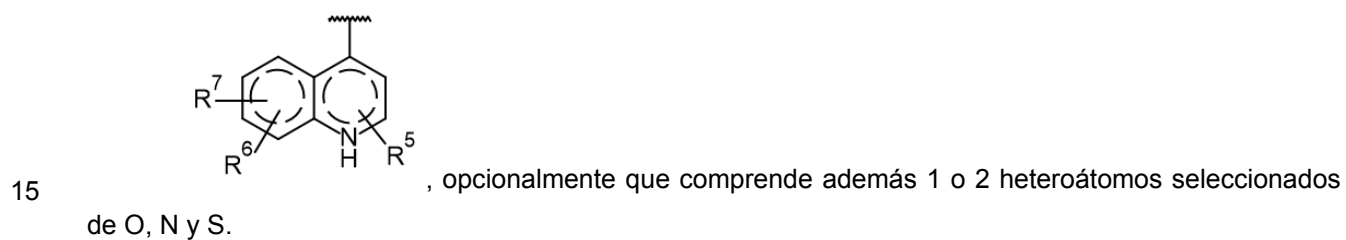
se selecciona del grupo que consiste en



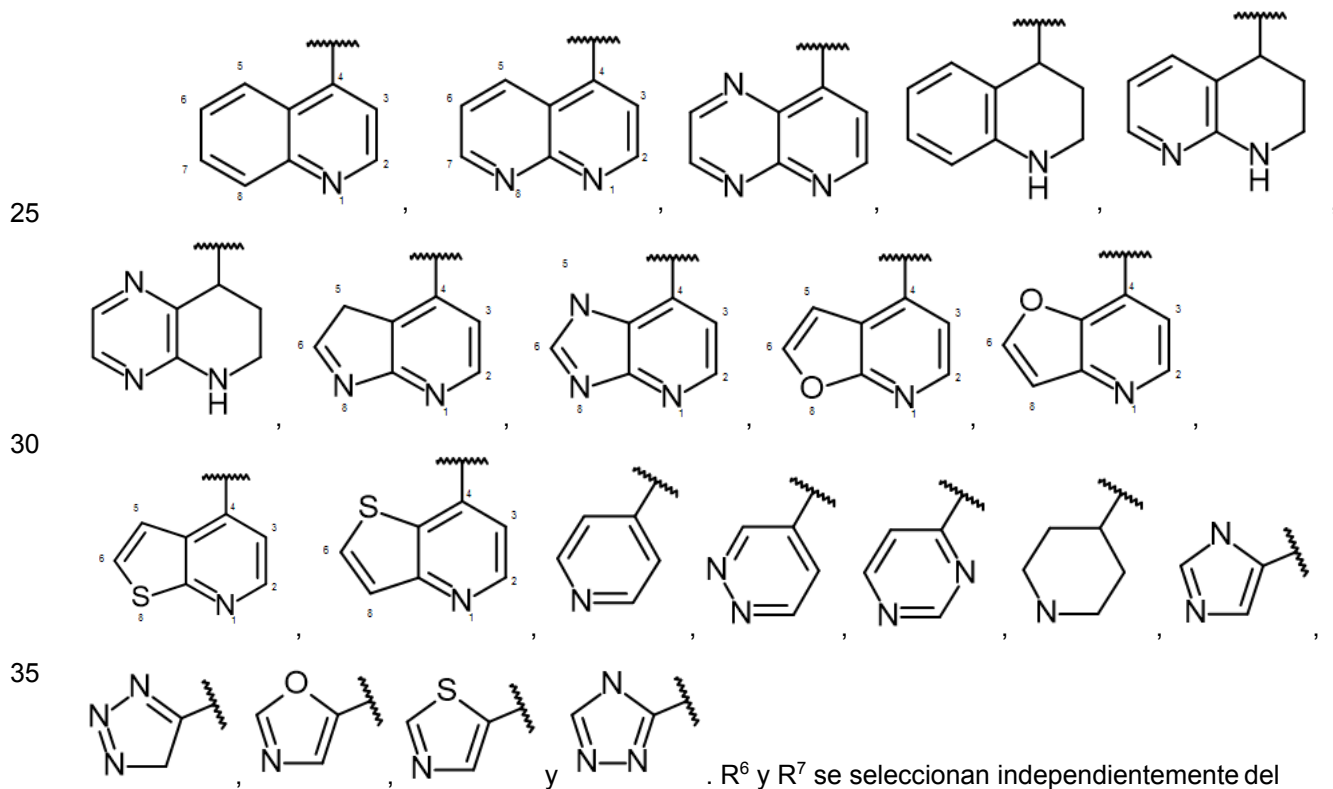
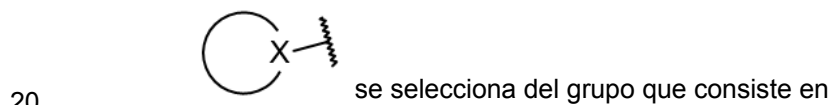


opcionalmente que comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

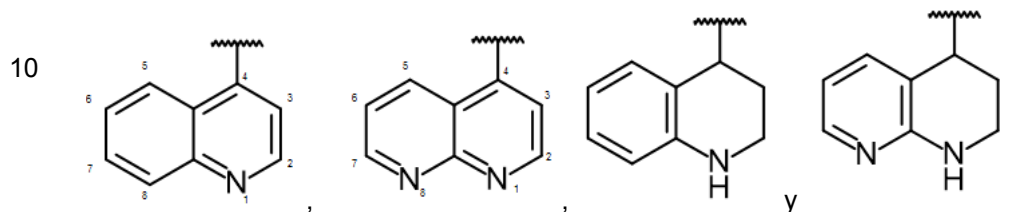


En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,



grupo que consiste en $-H$, R^8-L y $R^8-D-B-E-A$, con la condición de que R^6 y R^7 no sean al mismo tiempo H y preferiblemente R^6 y R^7 están unidos en las posiciones 5, 6 o 7.

En una modalidad preferida, $\bigcirc-X$ se selecciona del grupo que consiste en



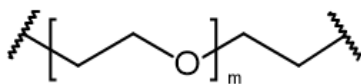
15 En otra modalidad preferida $\bigcirc-X$ es

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, R^5 y R^6 son H;

20 R^7 es $R^8-D-B-E-A$, preferiblemente R^7 está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D está ausente;

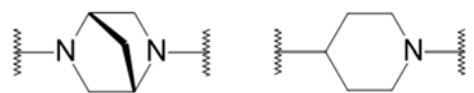
25 A es O, S, CH_2 , NH, NCH_3 ;

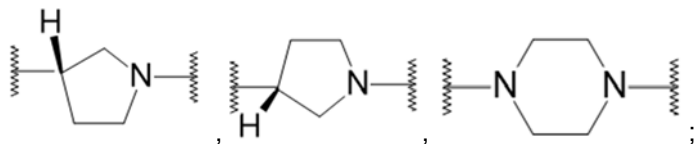


30 E es alquilo de C_{1-6} o C_{1-6} , en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo de C_3 o C_4 ;

o

35 A y E juntos forman un grupo seleccionado de:

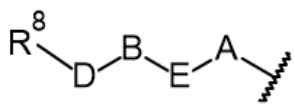




- 5 B es NR^4 -alquilo de C_{1-6} o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} . Preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que
- 10 consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

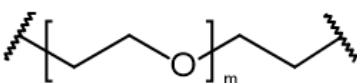
En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

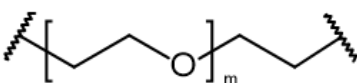
R^5 y R^6 son H;

- 15 R^7 es , preferiblemente R^7 está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D está ausente;

A es O;

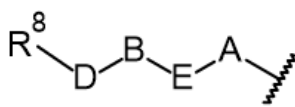
- 20 

E es alquilo de C_{1-6} o , en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo de C_3 o C_4 ;

- 25 B es NR^4 -alquilo de C_{1-6} o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} . Preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que
- 30 consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

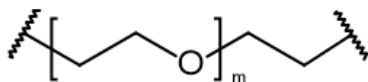
En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

R^5 y R^6 son H;

- 35 R^7 es , preferiblemente R^7 está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D está ausente;

A es S;



E es alquilo de C₁₋₆ o

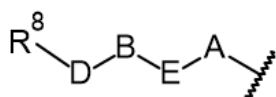
, en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente,

el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C₁₋₆, lo más preferiblemente, E es alquilo de C₃ o C₄;

B es NR⁴-alquilo de C₁₋₆ o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C₁₋₆, arilo, aralquilo de C₁₋₆. Preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

R⁵ y R⁶ son H;

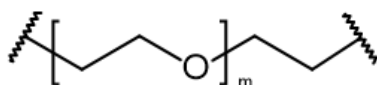


R⁷ es

, preferiblemente R⁷ está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D está ausente;

A es CH₂;



E es alquilo de C₁₋₆ o

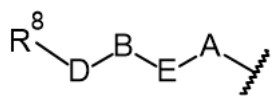
, en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente,

el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C₁₋₆, lo más preferiblemente, E es alquilo de C₃ o C₄;

B es NR⁴-alquilo de C₁₋₆ o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C₁₋₆, arilo, aralquilo de C₁₋₆. Preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

R⁵ y R⁶ son H;

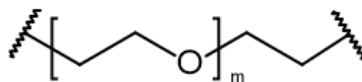


R⁷ es

, preferiblemente R⁷ está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D está ausente;

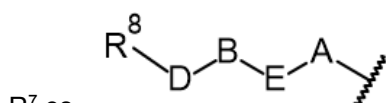
A es NH;



5 E es alquilo de C₁₋₆ o , en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C₁₋₆, lo más preferiblemente, E es alquilo de C₃ o C₄;

10 B es NR⁴-alquilo de C₁₋₆ o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C₁₋₆, arilo, aralquilo de C₁₋₆. Preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

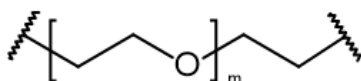
15 En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, R⁵ y R⁶ son H;



20 R⁷ es , preferiblemente R⁷ está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D es un aminoácido, preferiblemente que lleva una cadena lateral cargada;

A es O;



25 E es alquilo de C₁₋₆ o , en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C₁₋₆, lo más preferiblemente, E es alquilo de C₃ o C₄;

30 B es NR⁴-alquilo de C₁₋₆ o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C₁₋₆, arilo, aralquilo de C₁₋₆. Preferiblemente, el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

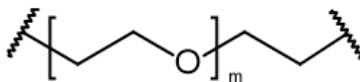
35 En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, R⁵ y R⁶ son H;

$$\begin{array}{c} R^8 \\ | \\ R^7 - D - B - E - A \end{array}$$
 , preferiblemente R^7 está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más

preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D es un aminoácido, preferiblemente que lleva una cadena lateral cargada;

A es S;



E es alquilo de C_{1-6} o , en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente,

el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo de C_3 o C_4 ;

B es NR^4 -alquilo de C_{1-6} o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} . Preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

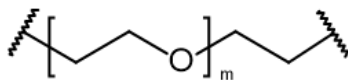
R^5 y R^6 son H;

$$\begin{array}{c} R^8 \\ | \\ R^7 - D - B - E - A \end{array}$$
 , preferiblemente R^7 está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más

preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D es un aminoácido, preferiblemente que lleva una cadena lateral cargada;

A es CH_2 ;



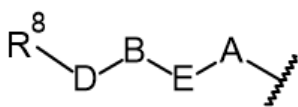
E es alquilo de C_{1-6} o , en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente, el

alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo de C_3 o C_4 ;

B es NR^4 -alquilo de C_{1-6} o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} . Preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

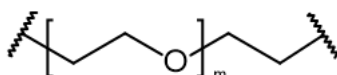
En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

R^5 y R^6 son H;

5 R^7 es , preferiblemente R^7 está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D es un aminoácido, preferiblemente que lleva una cadena lateral cargada;

A es NH;

10 

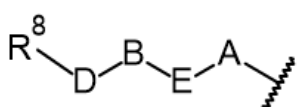
E es alquilo de C_{1-6} o , en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo de C_3 o C_4 ;

15 B es NR^4 -alquilo de C_{1-6} o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} . Preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que

20 consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

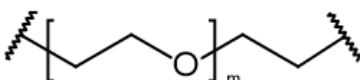
En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

R^5 y R^6 son H;

25 R^7 es , preferiblemente R^7 está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D está ausente;

A es O;

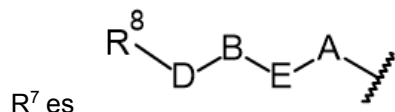
30 

E es alquilo C_{1-6} o , en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} y el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo C_3 o C_4 ;

35 B es un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

R^5 y R^6 son H;



, preferiblemente R^7 está unido a la posición 5- o 6- quinolilo; más preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

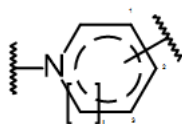
D está ausente;

A es O;

E es alquilo C_3 o C_4 ; más preferiblemente, E es propilo o butilo;

B es un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, el heterociclo que contiene N comprendido en B es un heterociclo monocíclico aromático o no aromático:



, en donde

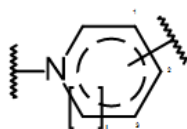
el heterociclo opcionalmente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, opcionalmente comprende además 1 nitrógeno;



está unido a la posición 1, 2 o 3, preferiblemente a la posición 2;

l es 1 o 2;

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, el heterociclo que contiene N comprendido en B es un heterociclo monocíclico aromático o no aromático:



, en donde

el heterociclo opcionalmente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, opcionalmente comprende además 1 nitrógeno;

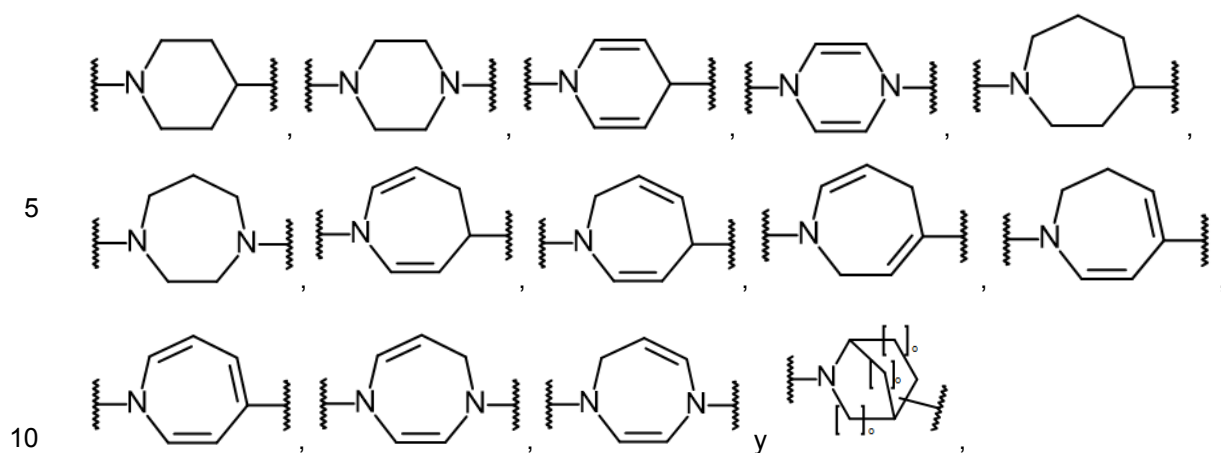


está unido a la posición 1, 2 o 3, preferiblemente a la posición 2;

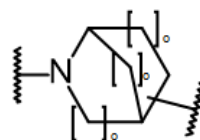
l es 1 o 2;

en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con un alquilo de C_{1-6} .

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, el heterociclo que contiene N comprendido en B se selecciona del grupo que consiste en:

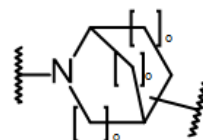


en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con un alquilo de C₁₋₆

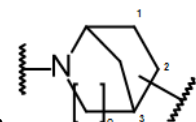


15 en donde si el heterociclo que contiene N comprendido en B es
el heterociclo opcionalmente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S,
opcionalmente comprende además 1 nitrógeno, opcionalmente comprende una o más cadenas laterales
(por ejemplo, derivadas de aminoácidos);

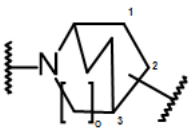
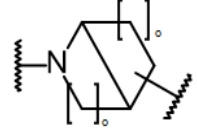
20  está unido a la posición 1, 2 o 3, preferiblemente a la posición 2;
o es 1 o 2;

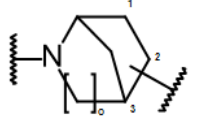


25 preferiblemente, si el heterociclo que contiene N comprendido en B es , el

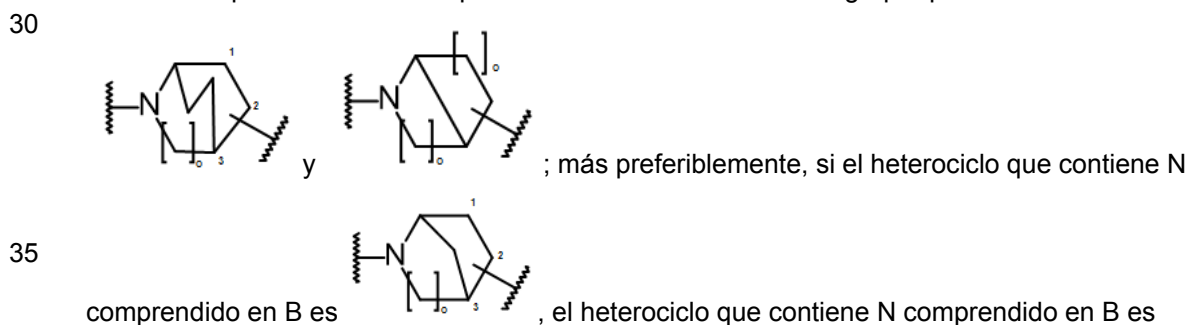
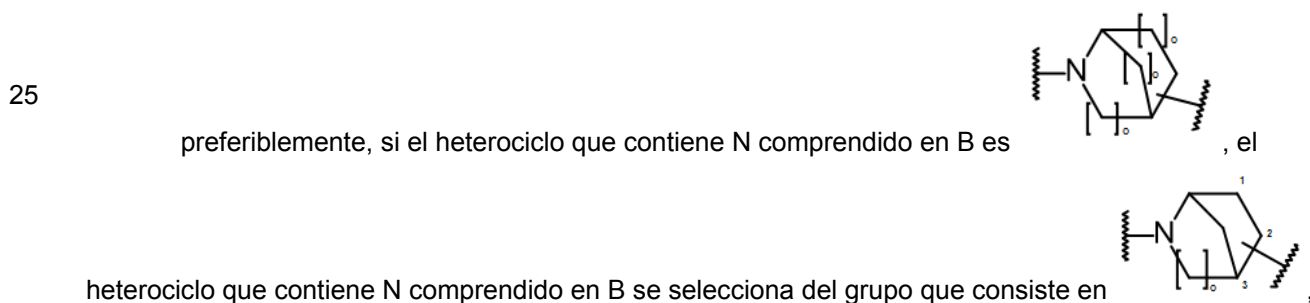
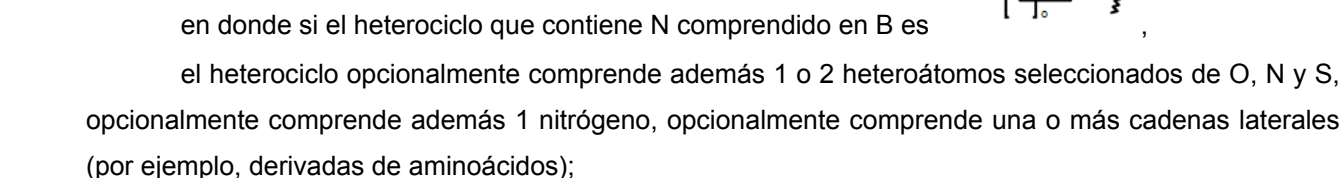


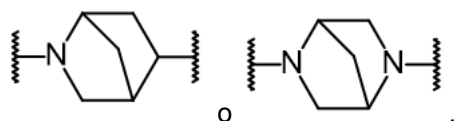
heterociclo que contiene N comprendido en B se selecciona del grupo que consiste en

30  y  ; más preferiblemente, si el heterociclo que contiene N comprendido

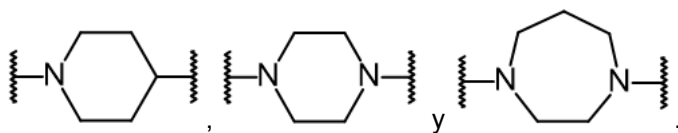
35 en B es  , el heterociclo que contiene N comprendido en B es  o



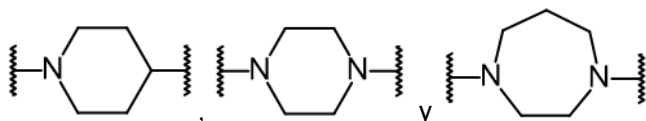




En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,
el heterociclo que contiene N comprendido en B se selecciona del grupo que consiste en:

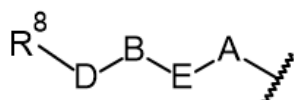


En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,
el heterociclo que contiene N comprendido en B se selecciona del grupo que consiste en:



, en donde B está sustituido con un alquilo de C₁₋₃.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,
R⁵ y R⁶ son H;

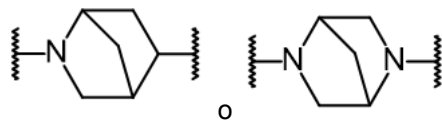


R⁷ es , preferiblemente R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo, en donde

D está ausente;

A es O;

E es propilo o butilo;



B es

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

Q, R, U están ausentes;

V es C=O;

W es NH;

Y es CH₂;

Z es C=O;

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H y halo; preferiblemente,

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H y F; más preferiblemente, R¹ y

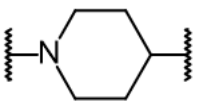
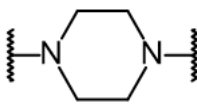
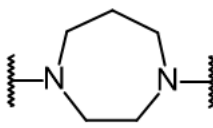
R² son iguales y se seleccionan del grupo que consiste en -H y F;

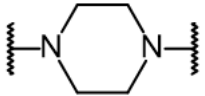
R³ es -CN;

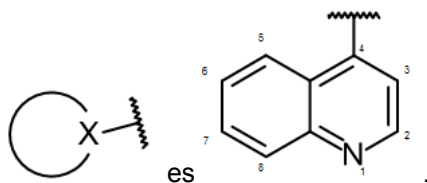
R⁵ y R⁶ son H;

$$\text{R}^8 - \text{D} - \text{B} - \text{E} - \text{A}$$
 , preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde D está ausente;
 A es O;

E es alquilo de C_{1-6} o $[\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}]_m$, en donde m es 1, 2 o 3; preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} ; preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; más preferiblemente, E es alquilo de C_{1-6} , lo más preferiblemente, E es alquilo de C_3 o C_4 ;

B es NH-alquilo de C_{1-6} , , ,  o ; preferiblemente, el alquilo de C_{1-6} se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo,

propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo; preferiblemente, B es ; y



En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, Q, R, U están ausentes;

V es $\text{C}=\text{O}$;

W es NH ;

Y es CH_2 ;

Z es $\text{C}=\text{O}$;

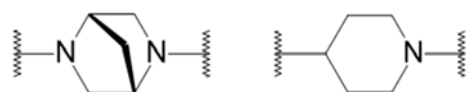
R^1 y R^2 son iguales y se seleccionan del grupo que consiste en $-\text{H}$ y F ;

R^3 es $-\text{CN}$;

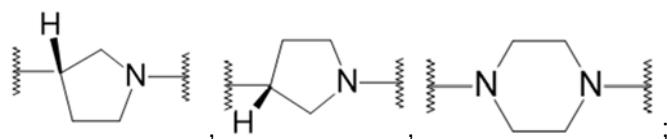
R^5 y R^6 son H ;

$$\text{R}^8 - \text{D} - \text{B} - \text{E} - \text{A}$$
 , preferiblemente R^7 está unido a la posición 6-quinolilo, en donde D está ausente;
 A es O, S, CH_2 , NH , NCH_3 ;

E es metilo, etilo, propilo o butilo;

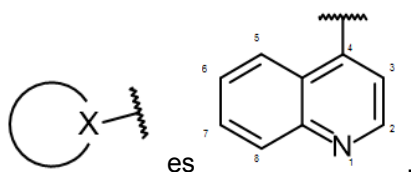


A y E juntos forman un grupo seleccionado de:



B es , opcionalmente B

está sustituido con un alquilo de C₁₋₃; preferiblemente, B es ; y



En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,

Q, R, U están ausentes;

V es C=O;

W es NH;

Y es CH₂;

Z es C=O;

R¹ y R² son iguales y se seleccionan del grupo que consiste en -H y F;

R³ es -CN;

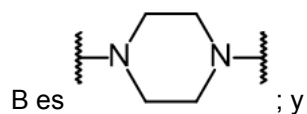
R⁵ y R⁶ son H;

R⁷ es , preferiblemente R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo, en donde D está ausente;

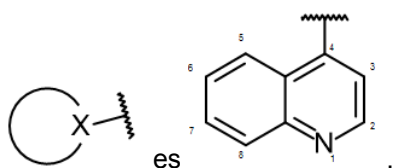
A es O;

E es metilo, etilo, propilo o butilo;

B es ; preferiblemente,



5



En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención,
Q, R, U están ausentes;

10

V es C=O;

W es NH;

Y es CH₂;

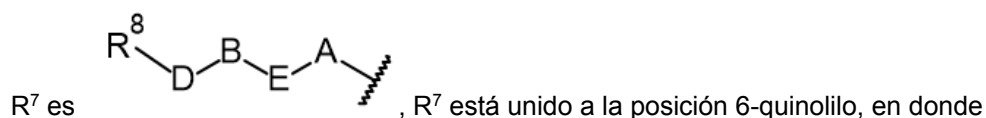
Z es C=O;

R¹ y R² son iguales y se seleccionan del grupo que consiste en -H y F;

15

R³ es -CN;

R⁵ y R⁶ son H;



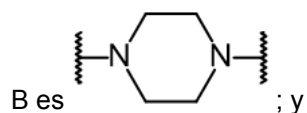
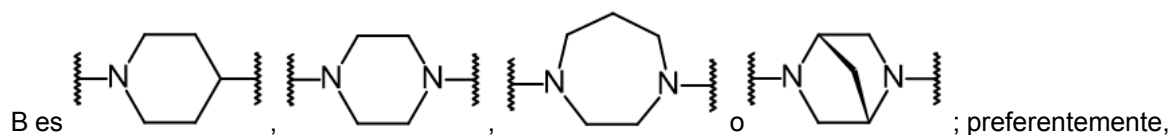
20

D está ausente;

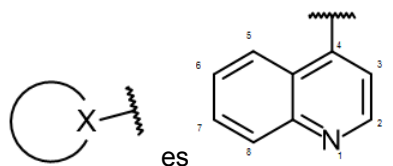
A es O;

E es metilo, etilo, propilo o butilo;

25



30



En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo.

35

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, el alquilo de C₁₋₃ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo e i-propilo.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, el aralkilo de

C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en bencilo, fenil-etilo, fenil-propilo y fenil-butilo.

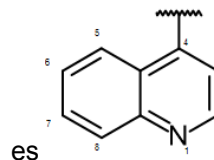
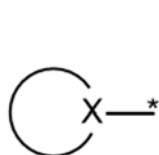
En una modalidad preferida del primer aspecto de la presente invención, el compuesto del primer aspecto de la invención se selecciona de los compuestos de la tabla 1. Más preferiblemente, el compuesto del primer aspecto de la invención se selecciona de los compuestos de la tabla 2. Más preferiblemente, el compuesto del primer aspecto de la invención se selecciona del grupo que consiste en FAPI-02 y FAPI-04.

En una modalidad preferida del primer aspecto de la presente invención, el compuesto del primer aspecto de la invención se selecciona de los compuestos de la tabla 1 y/o la tabla 3. Más preferiblemente, el compuesto del primer aspecto de la invención se selecciona de los compuestos de la tabla 2 y/o la tabla 4. Más preferiblemente, el compuesto del primer aspecto de la invención se selecciona del grupo que consiste en FAPI-02, FAPI-04, FAPI-46, FAPI-34, FAPI-42, FAPI-52, FAPI-69, FAPI-70, FAPI-71, FAPI-72 y FAPI-73.

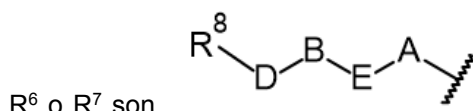
Tabla 1: Compuestos preferidos del primer aspecto de la invención.

§ compuestos fluorescentes; \$ ^{99m}Tc quelantes; * Quelantes de Pb; R¹ y R² están ubicados en

la posición 4-pirrolidina; Q, R, U están ausentes;



es , R⁵ es H; R⁶ está unido a la posición 7-quinolilo; R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo; '-' indica que R⁶ o R⁷ son H; '+' indica que



R⁶ o R⁷ son

; V es C=O; W es NH; Y es CH₂; Z es C=O; R³ es -CN; A es O (excepto FAPI-01: A está ausente, R⁷ está unido a la posición 5-quinolilo).

Nombr e	R ¹ /R ²	R ⁶	R ⁷	R ⁸	D	B	E
FAPI-01	H/H	-	+	I	-	-	-
FAPI-02	H/H	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-02 atto 488§	H/H	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-02 dy800C W§	H/H	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆

5

10

15

20

25

30

35

Nombr e	R ¹ /R ²	R ⁶	R ⁷	R ⁸	D	B	E
FAPI-03	H/H	-	+		-		<i>n</i> -C ₄ H ₈
FAPI-04	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-04 atto 488^s	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-05	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₄ H ₈
FAPI-06	H/H	-	+		-	NH	<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-07	F/F	-	+		-	NH	<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-08	H/H	+	-		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-09	F/F	+	-		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-10	F/F	-	+				<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-11	F/F	-	+		-		CH ₂

5

10

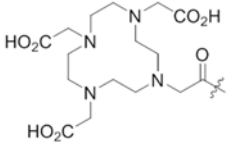
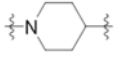
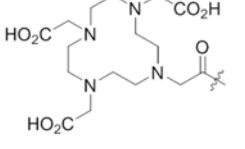
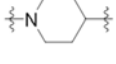
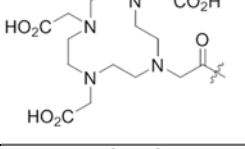
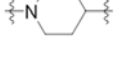
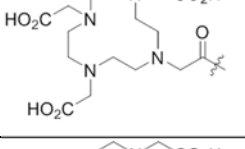
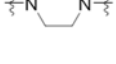
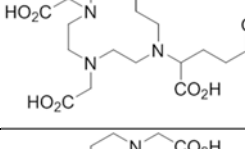
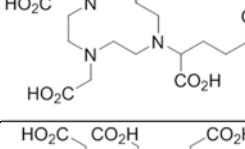
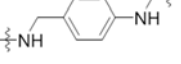
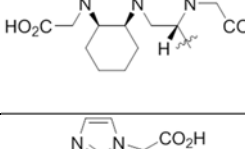
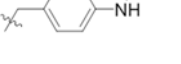
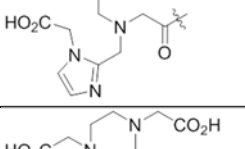
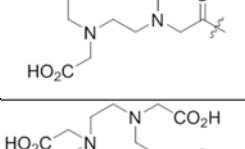
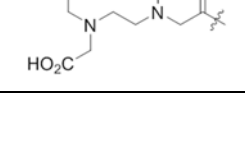
15

20

25

30

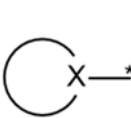
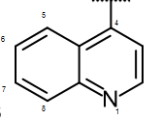
35

Nombr e	R ¹ /R ²	R ⁶	R ⁷	R ⁸	D	B	E
FAPI-12	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₂ H ₄
FAPI-13	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-14	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₄ H ₈
FAPI-15	F/F	-	+		-		(C ₂ H ₄ O) ₂ C ₂ H ₄
FAPI-16	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-17	F/F	-	+				<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-18	F/F	-	+				<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-19 ^s	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-20	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
FAPI-21	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆

	Nombr e	R ¹ /R ²	R ⁶	R ⁷	R ⁸	D	B	E
5	FAPI-22	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
	FAPI-23	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
10	FAPI-24	F/F	-	+		-		(C ₂ H ₄ O) ₃ C ₂ H ₄
15	FAPI-25	F/F	-	+				<i>n</i> -C ₃ H ₆
	FAPI-26	F/F	-	+		-		(C ₂ H ₄ O) ₂ C ₂ H ₄
20	FAPI-27 ^s	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
25	FAPI-28 ^s	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
30	FAPI-29 ^s	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
	FAPI-30	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆
35	FAPI-31	F/F	-	+		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆

	Nombr e	R ¹ /R ²	R ⁶	R ⁷	R ⁸	D	B	E
5	FAPI-32*	F/F	-	+		-		n-C ₃ H ₆
10	FAPI-33 ^s	F/F	-	+		-		(C ₂ H ₄ O) ₂ C ₂ H ₄
10	FAPI-34 ^s	F/F	-	+		-		n-C ₃ H ₆
15	FAPI-35	F/F	-	+		-		n-C ₃ H ₆
20	FAPI-36	F/F	-	+		-		n-C ₃ H ₆
20	FAPI-37	F/F	-	+				n-C ₃ H ₆
25	FAPI-38	F/F	-	+		D-Arg		n-C ₃ H ₆

Tabla 2: Compuestos de interés especial. Q, R, U, D están ausentes; R¹ y R² están ubicados en la

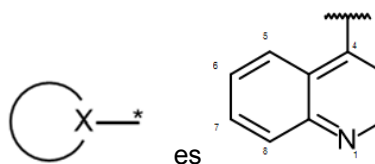
posición 4-pirrolidina;  es , R⁵, R⁶ son H; R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo; V es C=O; W es NH; Y es CH₂; Z es C=O; R³ es -CN; B es 1,4-piperazina; E es 1,3-propano; A es O.

Nombre	Propósito	R ¹ /R ²	R ⁸
⁶⁸ Ga-FAPI-02	PET	H/H	

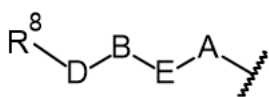
5	⁶⁸ Ga-FAPI-04	PET	F/F	
	Gd-FAPI-04	MRI (agente de contraste)	F/F	
10	⁹⁰ Y-FAPI-04	radioterapia (β ⁻)	F/F	
15	^{99m} Tc-FAPI-29	SPECT	F/F	
20	²⁰³ Pb-FAPI-32	SPECT	F/F	
25	¹⁸ F-FAPI-n.a.	PET	F/F	
30	¹⁸⁸ Re-FAPI-60	radioterapia (β ⁻)	F/F	
	Al ¹⁸ F-FAPI-42	PET	F/F	
35	¹⁸ F-FAPI-72	PET	F/F	

Tabla 3: Compuestos preferidos adicionales del primer aspecto de la invención.

§ compuestos fluorescentes; \$ ^{99m}Tc quelantes de Tc; * precursores para el marcado con ¹⁸F; Q, R, U están ausentes; R¹ y R² están ubicados en la posición 4-pirrolidina;



, R⁵ y R⁶ son H; R⁷ está unido a la posición 6-quinolilo y es



; V es C=O; W es NH; Y es CH₂; Z es C=O; R³ es -CN.

Nombre	R ¹ /R ²	R ⁸	D	B	E	A
FAPI-39	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	CH ₂
FAPI-40	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	S
FAPI-41	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NH
FAPI-42	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-43 ^{\$}	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-44 ^{\$}	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-45 ^{\$}	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O

5

10

15

20

25

30

35

Nombre	R ¹ /R ²	R ⁸	D	B	E	A
FAPI-46	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-47	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-48	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-49	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-50	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-51	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-52	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-53	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-54	F/F		-			
FAPI-55	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe

5

10

15

20

25

30

35

Nombre	R ¹ /R ²	R ⁸	D	B	E	A
FAPI-56	F/F		-			
FAPI-57	F/F		-			
FAPI-58	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-59	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-60^s	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-61^s	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-62^s	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-63	F/F		-			
FAPI-64	F/F		-			
FAPI-65	F/F		-			

5

10

15

20

25

30

35

Nombre	R ¹ /R ²	R ⁸	D	B	E	A
FAPI-66	F/F		-			
FAPI-67	F/F		-			
FAPI-68	F/F		-			
FAPI-69 ^s	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-70 ^s	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-71 ^s	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-72 [*]	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe
FAPI-73 [*]	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-74	H/H		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-75	F/F				<i>n</i> -C ₃ H ₆	O

Nombre	R ¹ /R ²	R ⁸	D	B	E	A
FAPI-76	F/F		-		<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-77	F/F				<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
Protegido con FAPI-77	F/F				<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-78	F/F				<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
Protegido con FAPI-78	F/F				<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-79	F/F				<i>n</i> -C ₃ H ₆	O
FAPI-80	F/F				<i>n</i> -C ₃ H ₆	NMe

10

2025

30

35

5	FAPI-42^{§, \$, €}
10	FAPI-46^{€,*}
15	FAPI-52^{§, \$, €}
20	FAPI-69[€]
25	FAPI-70[€]
30	FAPI-71[€]
35	FAPI-72[§]
	FAPI-73[§]

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, R⁸ es una porción radiactiva, en donde la porción radiactiva es un isótopo fluorescente, un radioisótopo, un fármaco radiactivo o combinaciones de los mismos. Preferiblemente, la porción radiactiva se selecciona del grupo que consiste en isótopos emisores de radiación alfa, isótopos emisores de radiación beta, isótopos emisores de radiación gamma, isótopos emisores de electrones Auger, isótopos emisores de rayos X, isótopos emisores de fluorescencia, como ¹¹C, ¹⁸F, ⁵¹Cr, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ¹¹¹In, ^{99m}Tc, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹³⁹La, ¹⁴⁰La, ¹⁷⁵Yb, ¹⁵³Sm, ¹⁶⁶Ho, ⁸⁸Y, ⁹⁰Y, ¹⁴⁹Pm, ¹⁶⁵Dy, ¹⁶⁹Er, ¹⁷⁷Lu, ⁴⁷Sc, ¹⁴²Pr, ¹⁵⁹Gd, ²¹²Bi, ²¹³Bi, ⁷²As, ⁷²Se, ⁹⁷Ru, ¹⁰⁹Pd, ¹⁰⁵Rh, ^{101m}Rh, ¹¹⁹Sb, ¹²⁸Ba, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹³¹I, ¹⁹⁷Hg, ²¹¹At, ¹⁵¹Eu, ¹⁵³Eu, ¹⁶⁹Eu, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ²¹²Pb, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ¹⁸⁸Re, ¹⁸⁶Re, ¹⁹⁸Au, ²²⁵Ac, ²²⁷Th y ¹⁹⁹Aq. Preferentemente ¹⁸F, ⁶⁴Cu, ⁶⁸Ga, ⁹⁰Y, ^{99m}Tc, ¹⁵³Sm, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁸Re.

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la presente invención, R⁸ es un agente quelante que forma un complejo con cationes metálicos divalentes o trivalentes. Preferiblemente, el agente quelante se selecciona del grupo que consiste en ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N,N'-tetraacético (DOTA), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-triacético (NOTA), trietilentetramina (TETA), ácido iminodiacético, ácido dietilentriamina-N,N,N',N',N''-pentaacético (DTPA), bis-(carboximetilimidazol)glicina y ácido 6-hidrazinopiridina-3-carboxílico (HYNIC).

En una modalidad preferida adicional del primer aspecto de la invención, R⁸ se selecciona de cualquier R⁸ de las tablas 1 a 5.

En un tercer aspecto, la presente invención se refiere al compuesto del primer aspecto o la

composición farmacéutica del segundo aspecto para usarse en el diagnóstico o tratamiento de una enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) en un animal o un sujeto humano. Preferiblemente, la enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) se selecciona del grupo que consiste en cáncer, inflamación crónica, aterosclerosis, fibrosis, remodelación de tejidos y trastorno queloide.

Preferiblemente, si la enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) es cáncer, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de intestino delgado, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de ovario, carcinoma hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de hipofaringe, cáncer de nasofaringe, cáncer de laringe, células de mieloma, cáncer de vejiga, carcinoma colangiocelular, carcinoma renal de células claras, tumor neuroendocrino, osteomalacia oncogénica, sarcoma, CUP (carcinoma de origen primario desconocido), carcinoma de timo, tumores desmoides, glioma, astrocitoma, carcinoma de cuello uterino y cáncer de próstata. Preferiblemente, el cáncer es glioma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de hígado o cáncer de páncreas. Más preferiblemente, el cáncer es glioma.

Preferiblemente, si la enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) es inflamación crónica, la inflamación crónica se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, osteoartritis y enfermedad de Crohn. Preferiblemente, la inflamación crónica es artritis reumatoide.

Preferiblemente, si la enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) es fibrosis, la fibrosis se selecciona del grupo que consiste en fibrosis pulmonar, tal como fibrosis pulmonar idiopática y cirrosis hepática.

Preferiblemente, si la enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) es la remodelación del tejido, la remodelación del tejido ocurre después del infarto de miocardio.

Preferiblemente, si la enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) es un trastorno queloide, el trastorno queloide se selecciona del grupo que consiste en formación de cicatrices, tumores queloides y cicatriz queloide.

En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere a un kit que comprende o que consiste en el compuesto del primer aspecto o la composición farmacéutica del segundo aspecto e instrucciones para el diagnóstico o tratamiento de una enfermedad. Preferiblemente, la enfermedad es una enfermedad como se especifica anteriormente.

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis de compuestos y radioquímica.

Basado en un inhibidor específico de FAP- α (Jansen et al., *ACS Med Chem Lett*, 2013) se sintetizaron dos radiotrazadores. El FAPI-01 marcado con radioyodo se obtuvo a través de un precursor estannilado de organoestaño, que se preparó mediante intercambio de bromo/estaño catalizado con paladio. FAPI-02 es un precursor para la quelación de radiometales que se sintetizó en cinco pasos.

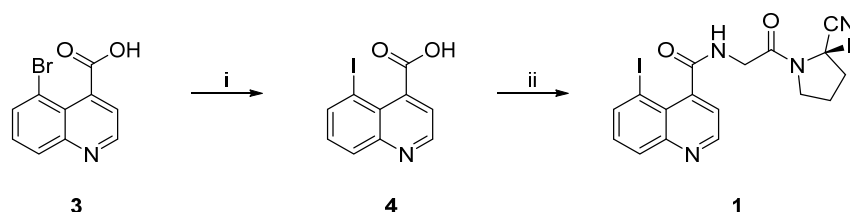
Mediante la aplicación de los mismos procedimientos o ligeramente modificados, se prepararon compuestos adicionales. Las estructuras de estos compuestos se enumeran en las tablas 1 y 2. Las radioyodaciones del precursor estannilado se realizaron con ácido peracético. Para la quelación con Lu-177 y Ga-68, el pH de la mezcla de reacción se ajustó con acetato de sodio y se calentó a 95 °C durante 10 min. La estabilidad en suero humano se analizó mediante precipitación y análisis por radio-HPLC del sobrenadante.

Reactivos

Todos los disolventes y reactivos no radiactivos se obtuvieron en grado reactivo de ABCR (Karlsruhe, Alemania), Sigma-Aldrich (München, Alemania), Acros Organics (Geel, Bélgica) o VWR (Bruchsal, Alemania) y se usaron sin purificación adicional. Atto 488 NHS-éster se obtuvo de AttoTec (Siegen, Alemania). Ácido 2,2',2''-(10-(2-(4-nitrofenil)oxi)-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclo-dodecan-1,4,7-triil)triácético (DOTA-PNP) fue sintetizado siguiendo el protocolo de Mier et al. (Mier et al., *Bioconjug Chem*, 2005). Los intermediarios ácido 6-metoxiquinolin-4-carboxílico (**7**), ácido 5-bromoquinolin-4-carboxílico (**3**) y 4-metilbencenosulfonato de (S)-1-(2-aminoacetil)pirrolidin-2-carbonitrilo se sintetizaron siguiendo los protocolos de Jansen et al. (Jansen et al., *ACS Med Chem Lett*, 2013). La sustancia (S)-N-(2-(2-cianopirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-5-bromoquinolin carboxamida se sintetizó mediante un protocolo de amidación de HBTU modificado.

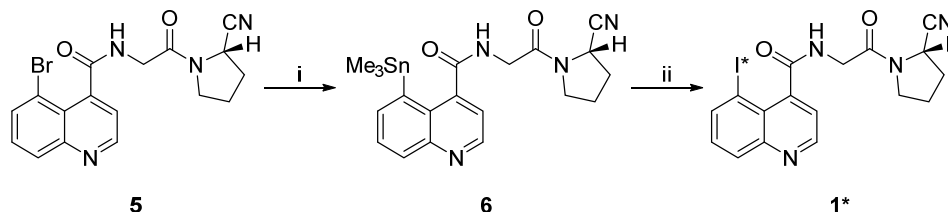
Síntesis de compuestos

El esquema 1 representa la síntesis inicial de FAPI-01 que se logró realizando un intercambio Br/Li con *n*-butil litio en ácido 5-bromoquinolin-4-carboxílico (**3**) y apagando con yodo elemental para obtener yodoquinolina **4**. Este compuesto se acopló al fragmento Gly-Pro-CN por activación HBTU/HOBt para proporcionar material de referencia no radiactivo de FAPI-01 (**1**).



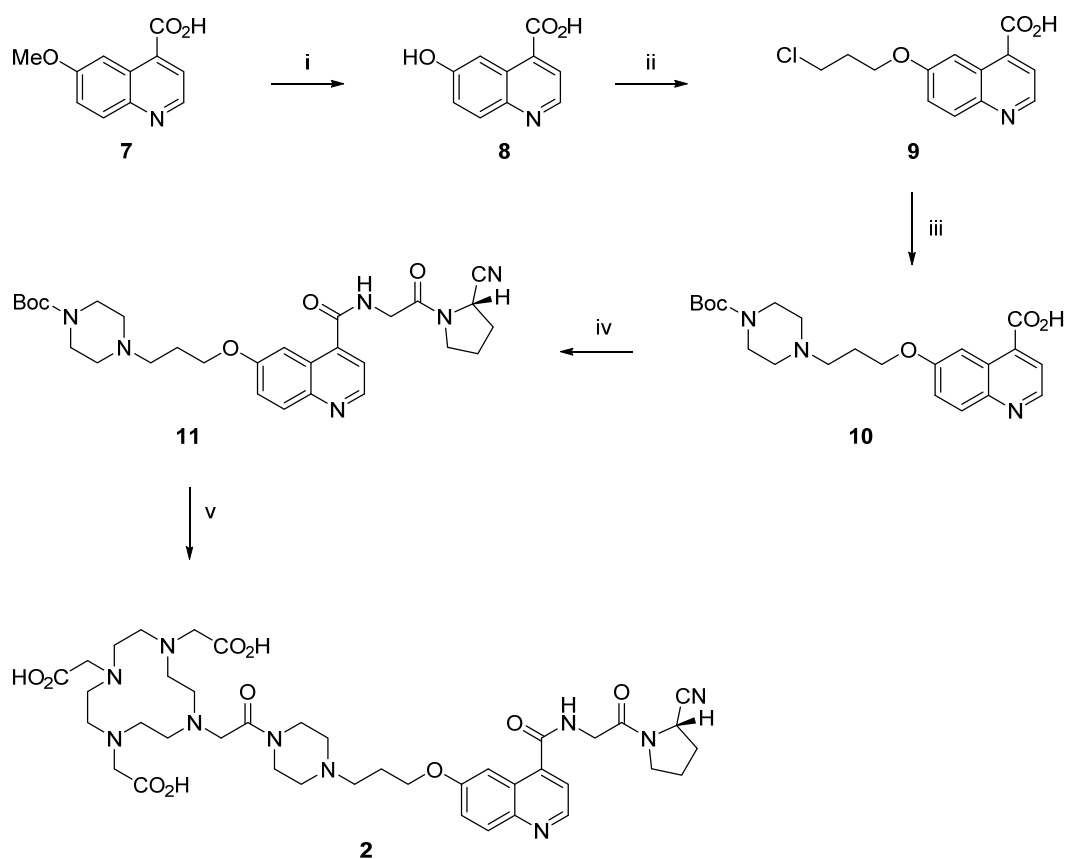
Esquema 1. Síntesis de FAPI-01 no radiactivo. i) *n*BuLi, luego I₂, THF; ii) HBTU/HOBt, DIPEA, H-Gly-Pro-CN, DMF.

Para la síntesis de FAPI-01 radiactivo (**1***), el precursor estannilado **6** se obtuvo por estanilación catalizada por paladio del inhibidor **5** en dioxano a 80 °C (esquema 2).



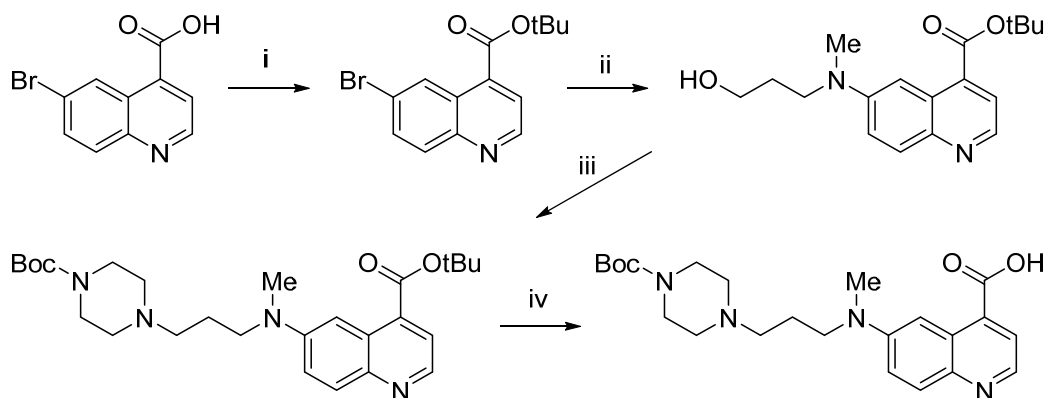
Esquema 2. Síntesis de FAPI-1 radiactivo a través del precursor estannilado **4**. i) (Me₃Sn)₂; (PPh₃)₂PdCl₂; dioxano a 80 °C; ii) I-125 o I-131; AcOOH; 1 M HCl; MeOH.

Para permitir el radiomarcaje mediante la incorporación de radiometales, el quelante DOTA se unió químicamente al armazón básico del inhibidor de FAP. Como se muestra por Jansen et al. (Jansen et al., *ACS Med Chem Lett*, 2013), las modificaciones en la posición 6 del ácido quinolin-4-carboxílico se toleran bien sin afectar la afinidad y la especificidad del blanco. Por lo tanto, se unió un conector bifuncional al grupo hidroxilo de **8** a través de un enlace éter, lo que condujo a la síntesis mostrada en el esquema 3. Se eligió el 1-bromo-3-cloropropano disponible para crear un espaciador, que no sufre daños durante la saponificación del enlace éster formado simultáneamente al final del proceso de un recipiente. El compuesto **9** se convirtió en el ácido quinolincarboxílico **10** protegido con *N*-Boc que se unió adicionalmente a H-Gly-Pro-CN por HBTU. Debido a la alta higroscopicidad de la amina libre, el compuesto **11** se convirtió directamente en FAPI-02 (**2**) después de la eliminación de Boc, el intercambio de disolvente y la neutralización del exceso de ácido *p*-toluenosulfónico.

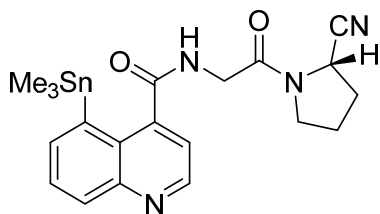


Esquema 3. Síntesis química de FAPI-02. i) HBr ac. 48 %, 130 °C; ii) 1-bromo-3-cloropropano, Cs₂CO₃, DMF y luego 6 M de NaOH; iii) 1-Boc-piperazina, KI, DMF; iv) HBTU/HOBt, DIPEA, H-Gly-Pro-CN, DMF; v) TosOH, MeCN, luego DOTA-PNP, DIPEA, DMF.

En el caso de compuestos que incorporan el grupo A ≠ O, los intermediarios de ácido quinolin-4-carboxílico se sintetizaron mediante un esquema de reacción diferente. El paso clave de este enfoque es una reacción de acoplamiento catalizada por paladio (por ejemplo, acoplamiento cruzado de Buchwald-Hartwig), que requiere protección adicional antes y desprotección de la función del ácido carboxílico después de la reacción de acoplamiento cruzado (esquema 4).



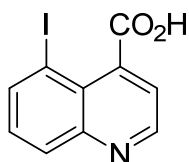
Esquema 4. Síntesis del componente básico del ácido 6-(3-(4-Boc-piperazin-1-il)propil-1-(metil)amino)quinolin-4-carboxílico para la síntesis de FAPI-46. i) DCC, tBuOH, CuCl; ii) 3-metilamino-1-propanol, Cs₂CO₃, Pd₂(dba)₃, BINAP; iii) MsCl, NEt₃, DCM y luego 1-Boc-piperazina, KI, DMF; iv) TFA luego Boc₂O, NEt₃, DMF.



(*S*)-*N*-(2-(2-cianopirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-5-trimetilestanilquinolin caboxamida (**6**)

3.88 mg (10.0 μmol) (*S*)-*N*-(2-(2-cianopirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-5-bromoquinolin caboxamida, 20 μL (32 mg; 96 μmol) de hexametildititina y 0.75 mg (1.07 μmol) de dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) en 1 mL de dioxano seco se agita a 80 °C durante la noche en una atmósfera inerte. Los volátiles se eliminan y el residuo se recoge en 2 mL de acetonitrilo al 50 %/agua y se filtra a través de un cartucho C18-ligero antes de la purificación por HPLC. Se obtienen 2.78 mg (5.90 μmol; 59 %) del producto después de la liofilización.

LC-MS R_t 14.77 min, m/z 473.0786 [M(¹²⁰Sn)+H]⁺

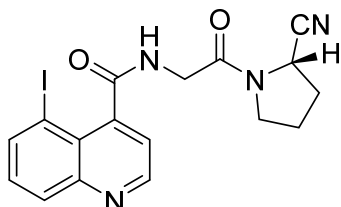


Ácido 5-yodoquinolin-4-carboxílico (**4**)

Se añaden 5.42 mg (136 μmol) de suspensión de hidruro de sodio (60 % en aceite mineral) a una solución de 30.27 mg (120 μmol) de ácido 5-bromoquinolin-4-carboxílico (**3**) en 3 mL de THF seco bajo Ar a 0 °C. El baño de hielo se retira y la mezcla de reacción se enfría a -78 °C antes de que se añadan gota a gota 100 μL (160 μmol) de nBuLi (1.6 m en hexano). Después de 15 minutos, se añaden gota a gota 64.71 mg (254 μmol) de yodo en 2 mL de THF y la reacción se agita durante 30 minutos a -78 °C antes de dejar que alcance la temperatura ambiente. Después de 1 h, la reacción se interrumpe mediante la adición de 1 mL de 0.5 M de NaHCO₃ y ca. 30 mg (170 μmol) de ditionito de sodio para eliminar el exceso de yodo.

Después de eliminar el THF a presión reducida, la mezcla se acidifica a pH 2 y se extrae tres veces con acetato de etilo (25 mL). Las fases orgánicas combinadas se evaporan a sequedad y se purifican por HPLC. Se obtienen 18.14 mg (60.7 μ mol; 45 %) del compuesto del título después de la liofilización.

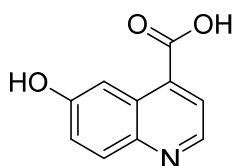
RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) 13.95 (br, 0.3H), 8.93 (s, 1H), 8.34 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.52 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H); **RMN ^{13}C** (125 MHz, DMSO- d_6) 168.8, 150.3, 148.8, 141.3, 130.6, 121.0, 109.5; **LC-MS** R_t 8.65 min, m/z 299.9383 $[\text{M}+\text{H}]^+$



(*S*)-*N*-(2-(2-cianopirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-5-trimetilestanilquinolin caboxamida (**1**; FAPI-01)

Se agregan 9.07 mg (23.9 μ mol) de HBTU en 50 μ L de DMF a una solución de 6.21 mg (20.8 μ mol) de ácido 5-yodoquinolin-4-carboxílico, 7.45 mg (55.2 μ mol) de HOBT y 10 μ L de DIPEA en 50 μ L de DMF. Después de 15 minutos se añade (29.9 μ mol) 4-metilbencenosulfonato de (*S*)-1-(2-aminoacetil)pirrolidin-2-carbonitrilo en 50 μ L de DMF. La reacción se apaga con 850 μ L de agua y se purifica por HPLC. La liofilización proporciona 6.86 mg (15.8 μ mol; 76 %) del producto.

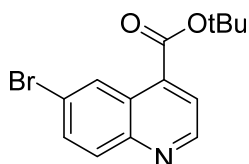
RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) 9.06, 8.97, 8.33, 8.13, 7.56, 7.51, 4.81, 4.34, 4.06, 3.74, 3.56, 2.21, 2.17, 2.09, 2.05; **RMN ^{13}C** (150 MHz, DMSO- d_6) 167.1, 150.2, 148.8, 145.3, 141.5, 130.7, 125.3, 121.9, 119.3, 92.0, 46.3, 45.4, 42.1, 29.5, 24.9; **LC-MS** R_t 11.95 min, m/z 435.0102 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Ácido 6-hidroxiquinolin-4-carboxílico (**8**)

Se disuelven 105 mg (477 μ mol) de ácido 6-metoxiquinolin-4-carboxílico crudo (**7**) en 3 mL de ácido bromhídrico al 48 % en agua. La solución se calienta a 130 $^{\circ}\text{C}$ durante 4 h. La solución se lleva a un pH ligeramente básico con NaOH 6 M después de alcanzar la temperatura ambiente. Después se obtienen 79.2 mg (419 μ mol; 88 %) del producto mediante purificación por HPLC y liofilización.

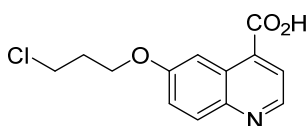
RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) 13.65 (br, 0.6H) 10.24 (s, 1H), 8.78 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 7.37 (dd, $J = 9.1, 2.6$ Hz, 1H), **RMN ^{13}C** (125 MHz, DMSO- d_6) 167.7, 156.9, 146.5, 144.1, 133.4, 131.2, 126.2, 122.3, 122.6, 106.5; **LC-MS** R_t 6.66 min, m/z 190.0415 $[\text{M}+\text{H}]^+$



terc-butyl 6-bromoquinolin-4-carboxilato

Se suspendieron 98.3 mg (390 μ mol) de ácido 6-bromoquinolin-4-carboxílico (crudo) en 5 mL de tetrahidrofurano y 25.0 μ L (18.3 mg; 181 μ mol) de trietilamina y se añadieron a *O*-*terc*-butil-N,N'-díciclohexilisourea (preparado el día anterior a partir de 426 mg (2.07 mmol) de díciclohexilcarbodiimida puro, 173 mg (2.33 mmol) de *terc*-butanol y 10.2 mg (103 μ mol) de cloruro de cobre(I)). La mezcla se calentó a 50 °C durante la noche. La mezcla se filtró, los solventes se evaporaron y el producto se aisló por HPLC. Se obtuvieron 49.7 mg (161 μ mol; 41 %) del compuesto del título después de la liofilización.

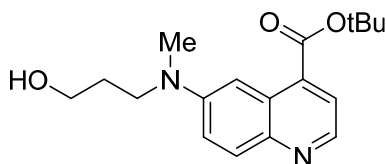
LC-MS R_t 20.40 min, m/z 251.9642 $[M-tBu]^+$



Ácido 6-(3-cloro-1-propoxi)quinolin-4-carboxílico (**9**)

Se añaden 42.4 μ L (67.4 mg; 430 μ mol) de 1-bromo-1-cloropropano a una suspensión de 23.2 mg (123 μ mol) de ácido 6-hidroxiquinolin-4-carboxílico (**8**) y 190 mg (1.38 μ mol) de carbonato de potasio en 250 μ L DMF y calentado a 60 °C durante la noche. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se diluye con 500 μ L de agua y 500 μ L de acetonitrilo antes de añadir 100 μ L de NaOH 6 M. La mezcla de reacción se purifica directamente mediante HPLC (5 a 40 %) después de que se completa la hidrólisis del éster. Se obtienen 26.45 mg (99.4 μ mol; 81 %) del producto después de la liofilización.

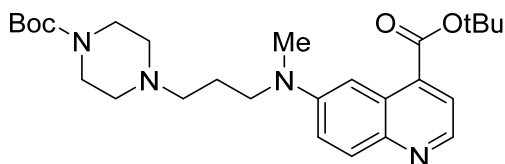
RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) 13.75 (br, 0.4H), 8.88 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 8.19 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.04 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 9.2, 2.0 Hz, 1H), 4.24 (t, J = 5.95 Hz, 2H), 3.85 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.27 (m, 2H); **RMN ^{13}C** (125 MHz, DMSO- d_6) 167.6, 157.5, 147.6, 144.8, 134.0, 131.2, 125.9, 122.7, 122.2, 104.5, 64.7, 41.9, 31.6; **LC-MS** R_t 11.46 min, m/z 266.0461 $[M+H]^+$



6-(3-hidroxipropilmetilamino)quinolin-4-carboxilato de *terc*-butilo

204.6 mg (664 μ mol) de *terc*-butil 6-bromoquinolin-4-carboxilato, 34.10 mg (54.7 μ mol) de BINAP, 21.51 mg (23.5 μ mol) de $Pd_2(dba)_3$ y 480.3 mg (1.47 mmol) de carbonato de cesio se disolvieron en 6 mL de tolueno y se agregaron 128.0 μ L (118 mg; 1.32 mmol) de *N*-metil-1,3-propanolamina. La mezcla se agitó a 90 °C durante la noche antes de eliminar los disolventes, el residuo se suspendió en agua/acetonitrilo 1:1 y se filtró antes de la purificación por HPLC. Se obtuvieron 172.7 mg (547 μ mol; 82 %) del compuesto del título después de la liofilización.

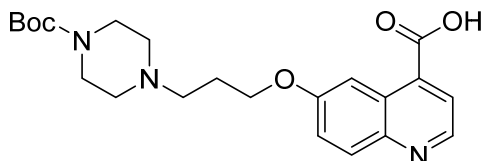
LC-MS R_t 13.41 min, m/z 261.1213 $[M-tBu+H]^+$



6-(3-(4-Boc-piperazin-1-il)propil-1-(metil)amino)quinolin-4-carboxilato de *terc*-butilo

Se disolvieron 62.8 mg (199 μmol) de 6-(3-hidroxipropilmetilamino)quinolin-4-carboxilato de *tert*-butilo en 5 mL de diclorometano y 90.0 μL (66.6 mg; 659 μmol) de trietilamina. Se añadieron 20.0 μL (29.6 mg; 258 μmol) de cloruro de metanosulfonilo a 0 °C y la mezcla reaccionó durante 60 minutos. Se añadieron 194.6 mg (1.05 mmol) de 1-Boc-piperazina antes de eliminar los volátiles. Se añadieron 500 μL de dimetilformamida y 47.4 mg (286 μmol) de yoduro de potasio al residuo. La mezcla se agitó a 60 °C durante 120 minutos antes de aislar el producto por HPLC. Se obtuvieron 81.05 mg (167 μmol ; 84 %) del compuesto del título después de la liofilización.

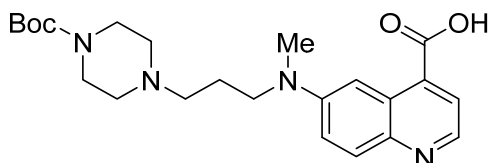
LC-MS R_t 13.99 min, m/z 485.3086 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Ácido 6-(3-(4-*tert*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxílico (**10**)

Se disuelven 15.13 mg (56.9 μmol) de ácido 6-(3-cloro-1-propoxi)quinolin-4-carboxílico (**9**), 55.43 mg (298 μmol) *N*-*tert*-butoxicarbonilpiperazina y 51.05 mg (30.8 μmol) de yoduro de potasio en 250 μL de DMF. La reacción se agita a 60 °C durante la noche. La suspensión resultante se diluye con 750 μL de agua antes de que el producto se purifique por HPLC. Después de la liofilización, se obtienen 28.73 mg (54.3 μmol ; 95 %) del producto como la sal de TFA correspondiente.

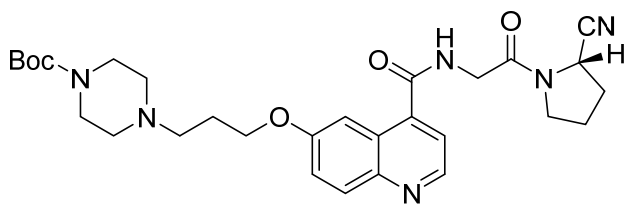
RMN ^1H (500 MHz, D_2O) 8.93 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 7.79 (dd, J = 9.3, 2.5 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 4.36 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 4.27 (d, J = 13.55 Hz, 2H), 3.67 (d, J = 11.95 Hz), 3.47 (t, J = 15.5 Hz, 2 H), 3.27 (t, J = 12.7 Hz), 3.12 (td, J = 12.2, 2.65 Hz), 2.37 (m2 H), 1.47 (s, 9H); **RMN ^{13}C** (125 MHz, D_2O) 155.5, 153.5, 149.0, 141.4, 134.4, 127.9, 126.6, 122.3, 118.4, 110.0, 105.1, 82.8, 65.5, 54.3, 51.5, 48.6, 40.7, 29.6, 27.4; **LC-MS** R_t 10.62 min, m/z 416.1997 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Ácido 6-(3-(4-Boc-piperazin-1-il)propil-1-(metil)amino)quinolin-4-carboxílico

100.12 mg (206 μmol) de 6-(3-(4-Boc-piperazin-1-il)propil-1-(metil)amino)quinolin-4-carboxilato de *tert*-butilo se trataron con 900 μL de ácido trifluoroacético, 25 μL de triisopropilsilano, 25 μL de agua y 50 μL de ácido trifluorometanosulfónico durante 60 min. El compuesto desprotegido se precipitó con éter dietílico, se secó y se hizo reaccionar con 60.83 mg (279 μmol) de di-*tert*-butildicarbonato y 50.0 μL (36.5 mg; 361 μmol) de trietilamina en 1 mL de dimetilformamida durante otros 60 minutos. Se obtuvieron 55.42 mg (129 μmol ; 65 % en 2 pasos) después de la purificación por HPLC y liofilización.

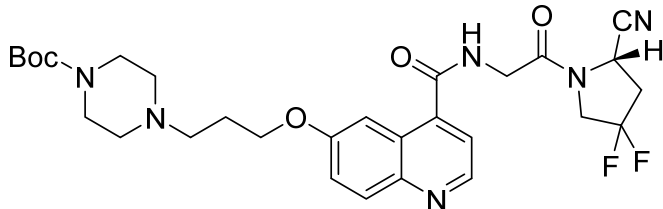
LC-MS R_t 10.52 min, m/z 429.2463 $[\text{M}+\text{H}]^+$



(S)-N-(2-(2-cianopirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-*terc*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida (**11**)

Se añaden 9.43 mg (24.9 μ mol) de HBTU en 50 μ L de DMF a una solución de 10.56 mg (19.9 μ mol) de ácido 6-(3-(4-*terc*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxílico (**10**), 5.38 mg (39.8 μ mol) de HOBt y 10 μ L de DIPEA en 50 μ L de DMF. Después de 15 minutos se añade (29.9 μ mol) 4-metilbencenosulfonato de (S)-1-(2-aminoacetil)pirrolidin-2-carbonitrilo en 50 μ L de DMF. La reacción se apaga con 850 μ L de agua y se purifica por HPLC. La liofilización proporciona 12.88 mg (19.4 μ mol; 97 %) del compuesto del título.

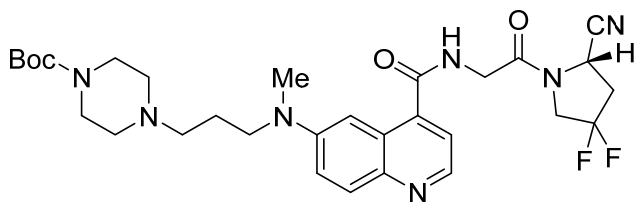
RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) 9.04 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 8.24 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 9.6, 2.3 Hz, 1H), 4.84 (t, J = 6 Hz, 1H), 4.46–4.36 (m, 4H), 4.26 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 3.83 (m, 1H), 3.67 (m, 3H), 3.47 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 3.27 (br, 2H), 3.11 (t, J = 11.5 Hz), 2.37 (m, 4H), 2.22 (m, 2H), 1.46 (s, 9H); **RMN ^{13}C** (125 MHz, DMSO- d_6) 168.6, 168.0, 159.4, 155.5, 147.7, 141.8, 135.1, 128.2, 127.5, 123.1, 120.0, 119.1, 104.7, 82.9, 66.0, 54.3, 51.5, 47.0, 46.3, 42.3, 29.4, 27.4, 24.7, 23.1; **LC-MS** R_t 11.81 min, m/z 551.2736 $[\text{M}+\text{H}]^+$



(S)-N-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-*terc*-butoxicarbonil-piperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida

Se obtuvieron 13.2 mg (22.4 μ mol; 75 %) siguiendo el protocolo anterior.

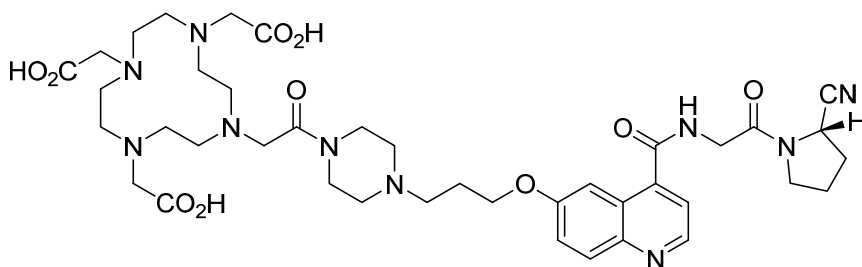
LC-MS R_t 11.84 min, m/z 605.2610 $[\text{M}+\text{H}]^+$



N-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-Boc-piperazin-1-il)propil-1-(metil)amino)quinolin-4-carboxamida

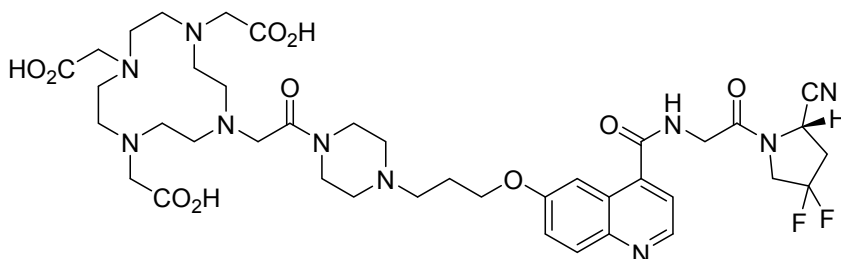
Se obtuvieron 1.17 mg (1.95 μ mol; 92 %) siguiendo el protocolo anterior.

LC-MS R_t 12.66 min, m/z 600.3057 $[\text{M}+\text{H}]^+$

FAPI-02 (**2**)

4.85 mg (8.80 mmol) de (*S*)-*N*-(2-(2-cianopirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-*tert*-butoxicarbonil-piperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida (**11**) se disuelven en 1 mL de acetonitrilo y se añaden 4.2 mg (22.0 μ mol) de monohidrato de ácido 4-metilbencenosulfónico. La reacción se agita a 45 °C durante la noche, antes de eliminar los volátiles a presión reducida. El residuo se recoge en 190 μ L de dimetilformamida y 10 μ L (7.3 mg; 72 μ mol) de trietilamina antes de agregar 6.77 mg (12.9 mmol) de éster de DOTA-*p*-nitrofenol. La mezcla de reacción se diluye con 1 mL de agua y se purifica por HPLC después de agitar durante dos horas. Se obtienen 5.04 mg (6.02 μ mol; 68 %) después de la liofilización.

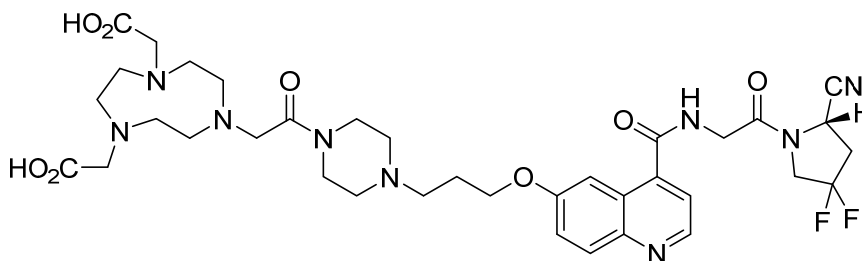
RMN ^1H (600 MHz, D_2O) 9.02, 8.23, 8.07, 7.87, 7.83, 4.85, 4.45, 4.41, 4.40, 4.39, 3.83, 3.67, 3.50, 3.49, 2.40, 2.38, 2.36, 2.26, 2.22, 2.16; **RMN ^{13}C** (150 MHz, D_2O) 167.9, 159.1, 147.2, 141.8, 135.4, 127.9, 127.2, 119.8, 119.0, 104.5, 65.8, 54.1, 46.8, 46.1, 42.1, 29.2, 24.5, 23.0; **LC-MS** R_t 8.37 min, m/z 837.3872 $[\text{M}+\text{H}]^+$



FAPI-04

Se obtuvieron 3.97 mg (4.55 μ mol; 57 %) siguiendo el protocolo anterior.

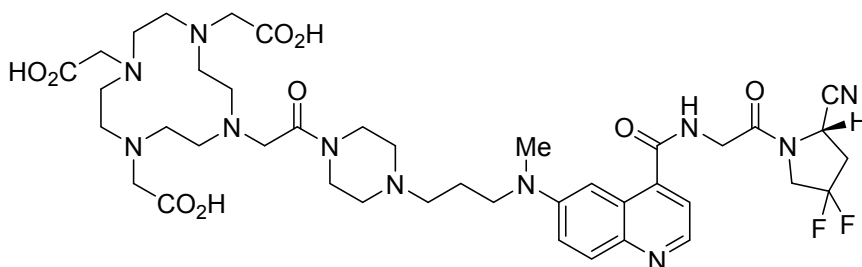
LC-MS R_t 8.80 min, m/z 873.3664 $[\text{M}+\text{H}]^+$



FAPI-42

Se obtuvieron 1.91 mg (2.47 μ mol; 88 %) siguiendo el protocolo anterior.

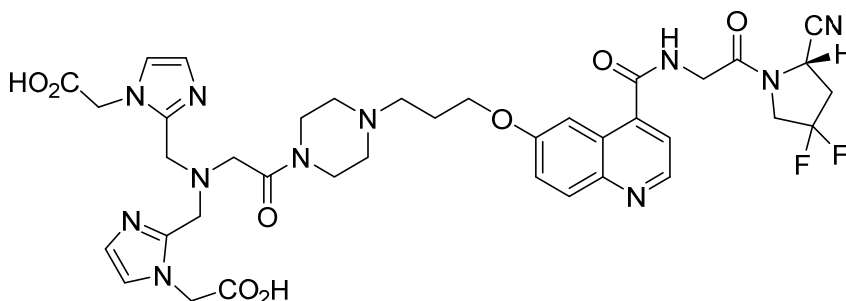
LC-MS R_t 9.37 min, m/z 386.6807 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$



FAPI-46

Se obtuvieron 39.21 mg (44.3 μmol ; 85 %) siguiendo el protocolo anterior.

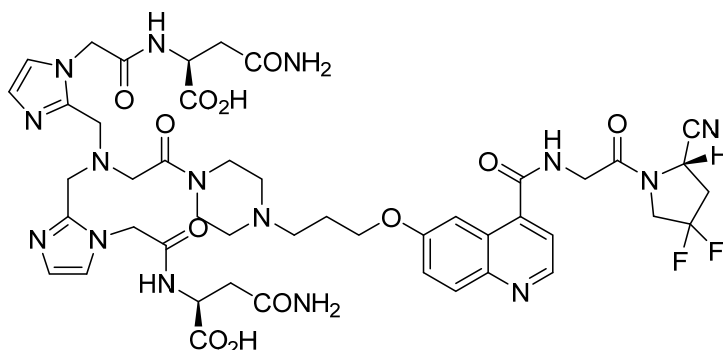
LC-MS R_t 9.03 min, m/z 443.7196 $[M+2H]^{2+}$



FAPI-19

1.09 mg (1.86 μmol) de (S)-N-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-terc-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida se desprotegeron con Boc mediante el método aplicado para FAPI-02 y se hicieron reaccionar con 2.74 mg (5.91 μmol) de bis((1-(2-(terc-butoxi)-2-oxoetil)-1H-imidazol-2-il)metil)glicina, que se preactivaron con 2.13 mg (5.62 μmol) de HBTU y 2.50 μL (1.85 mg; 14.3 μmol) de DIPEA. Después de la purificación por HPLC y la eliminación del disolvente, el residuo se trató con 200 μL de ácido trifluorometanosulfónico al 2.5 % en acetonitrilo/ácido trifluoroacético 1:1. Después de precipitación con éter dietílico y purificación por HPLC, se obtuvieron 1.06 mg (1.29 μmol ; 70 %) del compuesto del título.

LC-MS R_t 8.91 min, m/z 820.2933 $[M+H]^+$

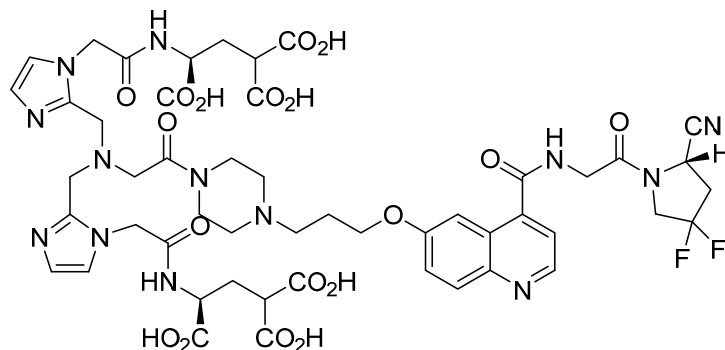


FAPI-28

Se agregaron 1.00 μL (0.74 mg; 5.73 μmol) de DIPEA a una solución de 0.95 mg (1.16 μmol) de FAPI-19, 0.42 mg (3.14 μmol) de HOBT y 1.10 mg (2.89 μmol) de HBTU en 50 μL de DMF. Después de 10 minutos, se añadieron 2.30 mg (5.34 μmol) de H-Asn(Trt)-OtBu y se hicieron reaccionar durante

120 minutos. Los grupos protectores de *terc*-butilo se eliminaron con TfOH al 2.5 % en TFA/acetonitrilo 8:2. Después de la purificación por HPLC y liofilización se obtuvieron 0.79 mg (0.75 μ mol; 65 %) del compuesto del título.

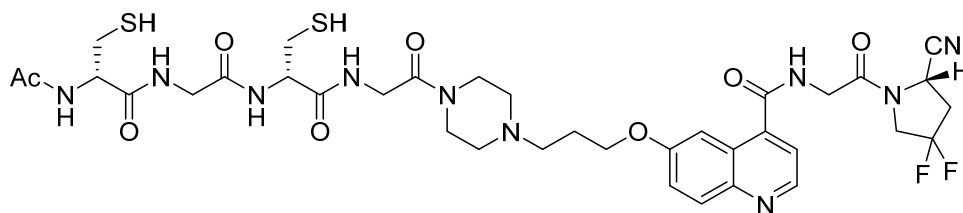
LC-MS R_t 9.23 min, m/z 524.7100 $[M+2H]^{2+}$



FAPI-34

Se obtuvieron 1.01 mg (0.87 μ mol; 52 %) siguiendo el protocolo anterior.

LC-MS R_t 8.87 min, m/z 583.6988 $[M+2H]^{2+}$



FAPI-60

3.91 mg (6.66 μ mol) de (S)-N-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-*terc*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida se desprotegieron durante 30 minutos con 50 μ L de acetonitrilo y 100 μ L de ácido trifluoroacético. Después de la evaporación de los disolventes y el lavado con éter dietílico, una mezcla preincubada de 10 minutos de 8.02 mg (9.27 μ mol) acetyl-Cys(Trt)-Gly-Cys(Trt)-Gly-OH, 4.31 mg (31.9 μ mol) HOBt y 4.47 mg (11.8 μ mol) de HBTU en 150 μ L de dimetilformamida y 2.50 μ L (1.85 mg; 14.3 μ mol) de DIPEA se añadió al residuo y se hizo reaccionar durante 120 minutos. Se obtuvieron 4.66 mg (3.49 μ mol; 52 %) del compuesto del título protegido con S-tritilo después de la purificación por HPLC y liofilización.

Se disolvieron 3.36 mg (2.52 μ mol) del compuesto protegido con tritilo en 50 μ L de acetonitrilo. Se añadieron 3 μ L de trietilsilano y se añadieron 100 μ L de ácido trifluoroacético y se hicieron reaccionar durante 30 minutos. Se obtuvieron 2.01 mg (2.36 μ mol; 94 %; 49 % en dos pasos) del compuesto del título después de la purificación por HPLC y liofilización.

LC-MS R_t 10.26 min, m/z 871.2703 $[M+Na]^+$



15

20

25

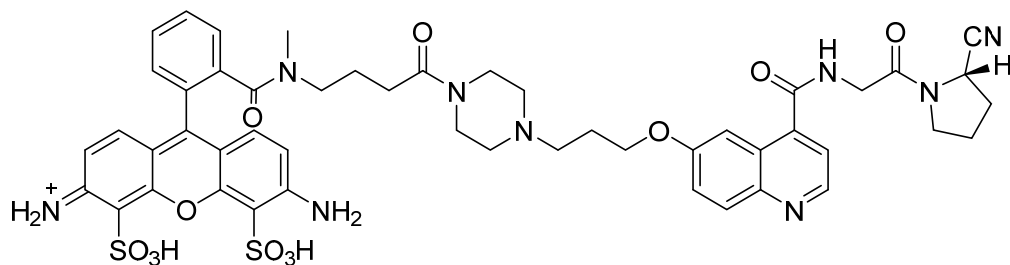


35

CC(=O)N[C@@H](CC(=O)O)C(=O)N[C@@H](CS)C(=O)N[C@@H](CC(=O)O)C(=O)N[C@@H](CS)C(=O)N[C@@H](CC(=O)O)C(=O)NCC(=O)N1CCN(CCCN1C)CN(C)c2ccc3nc(C(=O)NCC(=O)N4[C@H](C#N)CC(F)(F)C4)ccc3c2

1

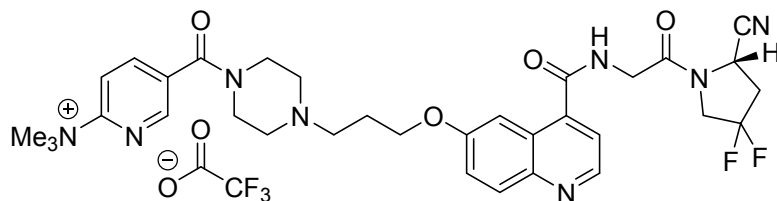
LC-MS R_t 10.17 min, m/z 596.7075 $[M+2H]^{2+}$



0.66 mg (1.20 μmol) de **11** se tratan con 1.33 mg (6.96 μmol) de monohidrato de ácido 4-pentenosulfónico en 250 μL de acetonitrilo a 45 °C durante 4 horas. Después de eliminar el disolvente, el residuo se disuelve en 95 μL de dimetilformamida y 5 μL (3.65 mg; 36.1 μmol) de trietilamina. Se añaden 0.54 mg (0.55 μmol) de Atto 488 NHS-éster en 25 μL de DMSO. Después de 60 minutos, se

aislaron 0.49 mg (0.43 μ mol; 78 %) del compuesto del título por HPLC y liofilización.

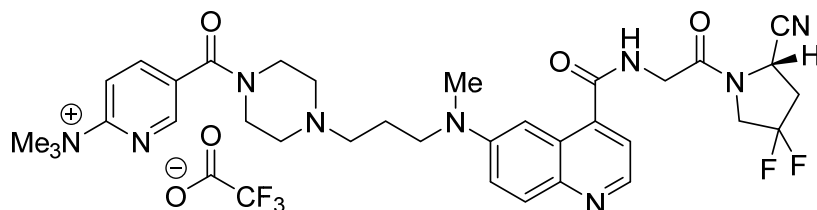
LC-MS R_t 10.19 min, m/z 1022.2706 $[M]^+$



FAPI-73

10.95 mg (18.7 μ mol) de (S)-N-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-*terc*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida se desprotegieron durante 30 minutos con 100 μ L de acetonitrilo y 200 μ L de ácido trifluoroacético. Después de la evaporación de los disolventes y el lavado con éter dietílico, se añadieron 15.02 mg (9.27 μ mol) de cloruro de N,N,N-trimetil-5-((2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)-carbonil)piridin-2-amino y la mezcla se disolvió en 200 μ L de dimetilformamida y 10.0 μ L (7.30 mg; 72.3 μ mol) de trietilamina. Después de 120 minutos, la mezcla se purificó por HPLC y se obtuvieron por liofilización 11.24 mg (14.7 μ mol; 79 %) del compuesto del título.

LC-MS R_t 9.37 min, m/z 649.2892 $[M-CF_3CO_2]^+$

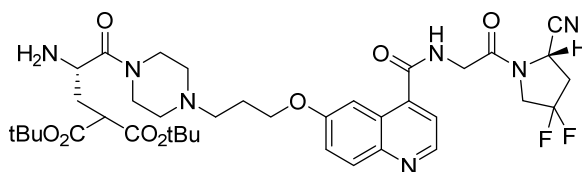


FAPI-72

Se obtuvieron 9.80 mg (12.6 μ mol; 70 %) siguiendo el protocolo anterior.

LC-MS R_t 9.28 min, m/z 662.3237 $[M-CF_3CO_2]^+$

Fijación general de aminoácidos Fmoc protegidos con cadena lateral

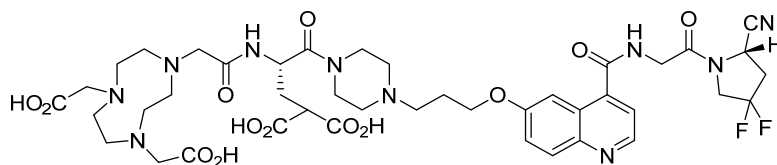


(S)-N-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-(γ,γ -di-*terc*-butil)-L-carboxi-glutamilpiperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida

Se disolvieron 14.04 mg (23.9 μ mol) de (S)-N-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(1-*terc*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida en 50 μ L de acetonitrilo y 100 μ L de ácido trifluoroacético. Después de 10 minutos, se eliminaron los volátiles; el residuo se lavó con éter dietílico. Se añadió una solución de 14.95 mg (28.4 μ mol) de Fmoc-L-Gla(tBu)₂-OH, 7.74 mg (57.4 μ mol) de HOBt, 13.46 mg (35.5 μ mol) de HBTU y 20.0 μ L (14.8 mg; 115 μ mol) de DIPEA en 200 μ L dimetilformamida al residuo seco. Después de 60 minutos, se añadieron 50.0 μ L (50.4 mg; 578 μ mol) de morfolina y el producto se aisló por HPLC después de 30 minutos. Se obtuvieron 15.95 mg (20.7 μ mol;

86 %) del compuesto del título después de liofilización.

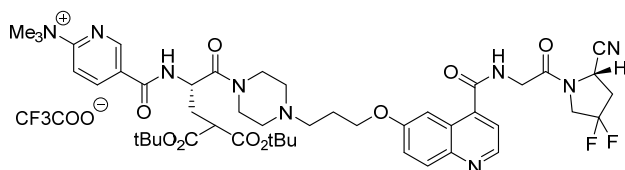
LC-MS R_t 12.85 min, m/z 772.3643 $[M+H]^+$



FAPI-75

3.37 mg (4.37 μ mol) de (S)-N-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(4-(γ,γ -di-*tert*-butil)-L-carboxyglutamylpiperazin-1-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida y 4.52 mg (10.7 μ mol) de NOTA-*p*-nitrofenol se disolvieron en 100 μ L de dimetilformamida y 10.0 μ L (7.30 mg; 72.3 μ mol) de trietilamina. Después de la purificación por HPLC y la liofilización, el compuesto intermediario se desprotegió mediante una incubación de 60 minutos en una solución de 50 μ L de acetonitrilo, 100 μ L de ácido trifluoroacético, 2.5 μ L de triisopropilsilano y 2.5 μ L de agua. Se obtuvieron 2.62 mg (2.77 μ mol; 63 %) después de la purificación por HPLC y liofilización.

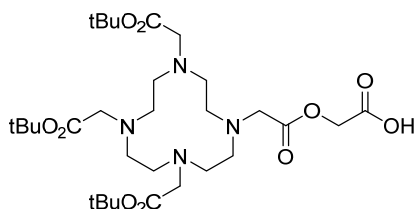
LC-MS R_t 9.38 min, m/z 945.3668 $[M+H]^+$



FAPI-77- precursor

Se obtuvieron 3.23 mg (3.06 μ mol; 73 %) siguiendo el protocolo general de modificación de éster activo. Nota: Los grupos protectores de *tert*-butilo se eliminaron después de radiofluoración, purificación por HPLC y evaporación de disolventes mediante tratamiento con TFA puro a 95 °C durante 3 minutos seguido de un tratamiento con SPE.

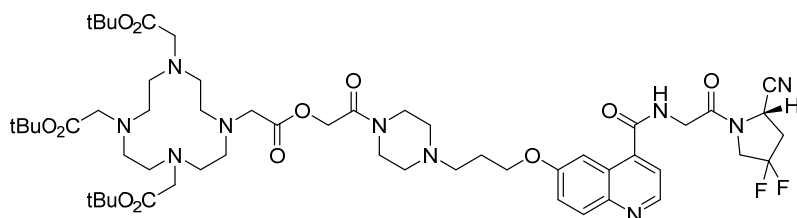
LC-MS R_t 16.02 min, m/z 1219.5858 $[M+H]^+$



Ácido 2-(2-(4,7,10-tris(2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il) acetoxi) acético

Se suspendieron 28.99 mg (50.6 μ mol) de tris-*t*Bu-DOTA, 90.65 (278 μ mol) de carbonato de cesio y 10.28 μ L (15.0 mg; 65.5 μ mol) de 2-bromoacetato de bencilo en 300 μ L de dimetilformamida y se agitaron durante 2 h. El producto se aisló por HPLC, se liofilizó y se disolvió en 25 mL de ácido acético al 10 % en metanol. Se añadieron 50 mg de Pd al 10 %/C e hidrógeno (presión ambiente). Después de 2 horas. Los disolventes se eliminaron y el compuesto del título se aisló por HPLC. Después de liofilizar, se obtuvieron 25.19 mg (39.9 μ mol; 79 %) del compuesto del título.

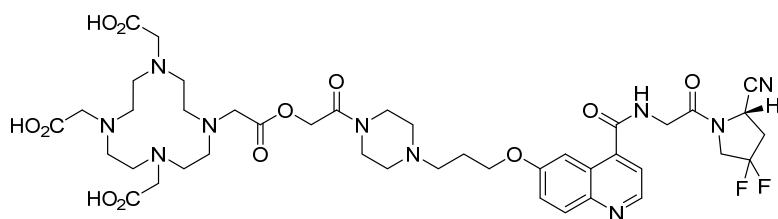
LC-MS R_t 14.14 min, m/z 631.4784 $[M+H]^+$



tBu-FAPI-79

Se disolvieron 2.00 mg (3.41 μmol) (*S*)-*N*-(2-(2-ciano-4,4-difluoropirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6-(3-(1-*tert*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)-1-propoxi)quinolin-4-carboxamida en 50 μL de acetonitrilo y 100 μL de ácido trifluoroacético. Después de 10 minutos, se eliminaron los volátiles; el residuo se lavó con éter dietílico. Se agregaron 4.20 mg (6.60 μmol) de ácido 2-(2-(4,7,10-tris(2-(*tert*-butoxi)-2-oxoetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il) acetoxi) acético y 3.35 mg (8.84 μmol) de HBTU disuelto en 100 μL de dimetilformamida y 10.0 μL (7.40 mg; 57.4 μmol) de DIPEA al residuo seco y reaccionaron durante 60 minutos. Se obtuvieron 2.26 mg (2.06 μmol ; 60 %) del compuesto del título después de la purificación por HPLC y liofilización.

LC-MS R_t 12.98 min, m/z 1099.7481 $[\text{M}+\text{H}]^+$



FAPI-79

Se disolvieron 2.26 mg (2.06 μmol) de tBu-FAPI-79 en 25 μL de acetonitrilo y 100 μL de ácido trifluoroacético y se agitaron a 35 $^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos. Después de la evaporación de los disolventes, el producto se aisló por HPLC. Se obtuvieron 1.58 mg (1.70 μmol ; 82 %) del compuesto del título después de la liofilización.

LC-MS R_t 8.84 min, m/z 466.2737 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$

Análisis del compuesto

La cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC) se realizó utilizando gradientes lineales de acetonitrilo en agua (acetonitrilo al 0 a 100 % en 5 minutos; TFA al 0.1 %; caudal de 2 mL/min) en una columna Chromolith Performance RP-18e (100 $\times$ 3 mm; Merck KGaA Darmstadt, Alemania). La absorbancia UV se detectó a 214 nm. Se usó un detector y adicional para el análisis por HPLC de compuestos radiactivos. La caracterización por HPLC-MS se realizó en un espectrómetro de masas ESI (Exactive, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) Conectado a un sistema HPLC Agilent 1200 con una columna Hypersil Gold C18 1.9 μm (200 $\times$ 2.1 mm; 0-100 % de acetonitrilo en 20 min; caudal 200 $\mu\text{L}/\text{min}$). La radio-HPLC analítica se realizó utilizando una columna Chromolith Performance RP-18e (100 $\times$ 3 mm; Merck; acetonitrilo al 0 a 30 % en 10 minutos; caudal de 2 mL/min). Las purificaciones por HPLC se realizaron en un sistema LaPrep P110 (Knauer, Berlín, Alemania) y una columna Reprosil Pur 120 (C18-aq 5 μm 250 $\times$ 25 mm; Dr. Maisch, Ammerbuch-Entringen, Alemania). El gradiente de

agua/acetonitrilo (15 o 25 min; 0.1 % TFA; caudal 20 mL/min) fue modificado para los productos individuales.

Radioquímica

Se adquirió radioyodo (I-125) de Hartmann Analytik (Gotinga, Alemania); se obtuvo lutecio radiactivo (Lu-177) de ITG (München, Alemania); el galio radiactivo (Ga-68) se eluyó de un generador Ge-68/Ga-68 comprado en Themba Labs (Somerset West, Sudáfrica). El Tc-99m se eluyó de un generador Mo-99/Tc-99m (Curium Pharma, Berlín, Alemania). Cu-64 fue proporcionado por UKT Tübingen (Tübingen, Alemania). Sm-153 fue proporcionado por DSD Pharma (Purkersdorf, Austria). Pb-203 fue proporcionado por Lantheus (N. Billerica MA, EE. UU.). El ZAG Zyklotron AG (Eggenstein, Alemania) proporcionó F-18-FDG y F-18-fluoruro. El kit CRS para tricarbonilo se obtuvo del Instituto Paul Scherrer (Villingen-PSI, Suiza).

Para las yodaciones, se diluyeron 10 µL del precursor de organoestaño de FAPI-01 (1 µmol/mL en etanol) con 10 µL de HCl 1 M y 10 µL de agua antes de agregar 1-20 MBq de yodo-125 en NaOH 0.05 M. La reacción se inició mediante la adición de 5 µL de una solución fresca de ácido peracético al 1.9 % en ácido acético glacial. Después de 60 s, se añadieron 15 µL de NaOH 1 M y la reacción se interrumpió mediante la adición de 5 µL de ácido ascórbico al 5 % en agua antes de la purificación por HPLC. La solución obtenida se usó directamente para experimentos *in vitro* o se evaporó a sequedad a presión reducida y se recogió en NaCl al 0.9 % (Braun, Melsungen, Alemania) en el caso de estudios en animales.

El marcado de Cu-64, Lu-177 y Pb-203 de los compuestos DOTA se realizó mediante la adición de 5 MBq del radionucleido a 100 µL de una solución de 10 µM del precursor individual en NaOAc 0.1 M (pH 5) e incubación a 95 °C durante 10 min. La solución se usa directamente para experimentos *in vitro* o se diluye con NaCl al 0.9 % (Braun, Melsungen, Alemania) en caso de estudios de biodistribución. Para estudios de imagen en ratones (gammagrafía, PET), el radiotrazador se trabajó mediante extracción en fase sólida (sep-pak light C18, Waters).

El marcado de Tc(I) fue precedido por la adición de 1 mL de Tc-99m-pertecnetato en solución salina al 0.9 % a un kit de CRS y la incubación durante 20 min. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió una mezcla de 25.0 µL del precursor (1 mM en agua), 150 µL de amortiguador de fosfato (0.4 M, pH 7.4) y 240 µL de ácido clorhídrico (1.0 M) y la mezcla final se ajustó a pH 5 si necesario. La reacción se realizó a 95 °C durante 20 minutos y se trató mediante extracción en fase sólida (sep-pak light C18, Waters). Para experimentos *in vivo* y estudios en animales, el marcado se realizó con una quinta parte de los reactivos y 200 µL de la solución del kit CRS después de la reducción de Tc(VII).

El marcado de Tc(V) fue precedido por la incubación de 30 µL de solución de SnCl₂ que contenía glucoheptonato de 200 mM con 200 µL de Tc-99m-pertecnetato en solución salina al 0.9 % durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 5.00 µL del precursor (1 mM en agua) y 3.75 µL de solución de hidróxido de sodio (0.1 M en agua) y la mezcla final se hizo reaccionar a 95 °C durante 20 min. Para los estudios de imagen en ratones (gammagrafía), el radiotrazador se trabajó mediante extracción en fase sólida (sep-pak light C18, Waters).

El marcado con Ga-68 para estudios en animales se realizó incubando 255 µL de eluato generador (HCl 0.6 M; aprox. 230 MBq) con una mezcla de 1 nmol de precursor de DOTA, 1 µL de ácido ascórbico al

20 % en agua y 72 μL de NaOAc (2.5 M) a 95 °C durante 10 min. La radiactividad libre restante se eliminó mediante dilución con 2 mL de agua, extracción en fase sólida (sep-pak light C18, Waters), lavado con 2 mL de agua y elución del producto con 1 mL de agua/etanol 1:1. La solución obtenida se evaporó hasta sequedad a presión reducida y el residuo se recogió en NaCl al 0.9 % (Braun).

5 Para la formación de los complejos AIF-NOTA, el fluoruro F-18 se atrapó en un cartucho de Sep-Pak QMA plus light de Waters (46 mg de sorbente; preconditionado con NaOAc 0.5 M, pH 3.9), se lavó con agua y se eluyó con 500 μL de NaOAc 0.1 M (pH 3.9). Para estudios en animales, se incubaron previamente 150 μL del eluato con 2 μL de una solución de AlCl_3 (10 mM en agua) y 50 μL de DMSO. Después de 5 minutos, la mezcla se añadió a 40 nmol de precursor de NOTA (10 μL de una solución a 10
10 4 mM en agua) y 1 μL de ácido ascórbico al 20 % en agua. La solución se hizo reaccionar a 95 °C durante 15 min. El producto se aisló por HPLC (acetonitrilo al 0 a 20 % en 10 minutos), se liberó de disolventes y se recogió en solución salina al 0.9 % antes de la inyección.

Para la formación de 6-fluoronicotinamidas, el fluoruro F-18 quedó atrapado en un cartucho de Sep-Pak QMA plus light de Waters (46 mg de sorbente; preconditionado con KHCO_3 de 0.5 M), se lavó con
15 agua, se secó y se eluyó con una mezcla de 7.50 mg (19.9 μmol) de cryptofix 222, 1.99 mg (1.99 μmol) de KHCO_3 en 450 μL de acetonitrilo y 50 μL de agua. Después de eliminar el disolvente, el residuo se secó por destilación azeotrópica con 3 x 1 mL de acetonitrilo. El residuo se recogió en 100 μL de *terc*-butanol/acetonitrilo 1:1 y se añadió a 1 mg (aproximadamente 1.3 μmol) de un precursor de trimetilpiridin-2-aminio. La solución se hizo reaccionar a 75 °C durante 10 min. El producto se aisló por HPLC (acetonitrilo
20 al 0 a 30 % en 10 minutos), se liberó de disolventes y se recogió en solución salina al 0.9 % antes de la inyección.

Alternativamente, se sintetizaron 6-fluoronicotinamidas atrapando flúor F-18 en un cartucho de Sep-Pak QMA plus light de Waters (46 mg de sorbente; preconditionado con KHCO_3 de 0.5 M), lavado con acetonitrilo, secado y eluido con 0.5 mg (ca. 0.4 - 0.6 μmol) del precursor de FAPI (protegido) en 0.5 mL
25 de metanol. El disolvente se eliminó al vacío (*in vacuo*) y el residuo se recogió en 100 μL de acetonitrilo/*terc*-butanol 1:4. Después de 20 minutos a 70 °C, la mezcla de reacción se diluyó con agua y los intermediarios protegidos se elaboraron mediante extracción en fase sólida (sep-pak light C18, Waters). Se eliminaron los disolventes y se añadieron al residuo 200 μL de ácido trifluoroacético. La mezcla se calentó a 95 °C durante 3 minutos, se secó al vacío (*in vacuo*) y se diluyó con agua antes de aislar el producto por HPLC, que se
30 realizó directamente con la mezcla de reacción diluida en el caso de compuestos que carecían de grupos protectores. Los productos se liberaron de disolventes y se tomaron en solución salina al 0.9 % antes de la inyección en caso de estudios en animales. (Rendimiento radioquímico sin corregir aprox. 25 %)

Para la determinación de la estabilidad en suero humano, los compuestos radiomarcados (aproximadamente 2.5 MBq para I-125 o 15 MBq para Lu-177) se purificaron (HPLC o extracción en fase
35 sólida) y se liberaron del disolvente. Los residuos se recogieron en 250 μL de suero humano (Sigma-Aldrich) y se incubaron a 37 °C. Las muestras se precipitaron con 30 μL de acetonitrilo y se analizaron por HPLC (acetonitrilo al 0 a 30 % en 10 min).

Ejemplo 2: Caracterización *in vitro* de derivados de FAPI

Los estudios de unión *in vitro* se realizaron utilizando las líneas celulares tumorales humanas BxPC3, Capan-2, MCF-7 (adquiridas de Sigma Aldrich Chemie GmbH) y SK-LMS-1 (compradas de ATCC), así como las líneas celulares FAP transfectadas de forma estable HT-1080-FAP, HEK-muFAP y la línea celular que expresa CD26 HEK-CD26 (obtenida de Stefan Bauer, NCT Heidelberg). Todas las células se cultivaron en medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) que contenía 10 % de suero de ternera fetal a 37 °C/5 % de dióxido de carbono. Para los experimentos de internalización de fluorescencia, las células se sembraron en cubreobjetos y se tiñeron con FAPI-02-Atto488 y DAPI para la tinción del núcleo celular. Las imágenes se adquirieron en un microscopio confocal de escaneo láser utilizando un objetivo de inmersión en aceite de 63x. Los estudios de unión a radioligandos se realizaron utilizando células HT-1080-FAP. El compuesto radiomarcado se añadió al cultivo celular y se incubó durante diferentes intervalos de tiempo que varían de 10 min a 24 h. Los experimentos de competencia se realizaron mediante exposición simultánea a compuestos no marcados (10^{-5} M a 10^{-9} M) y radiomarcados durante 60 minutos. Para los experimentos de eflujo, se retiró el medio radiactivo después de la incubación durante 60 minutos y se reemplazó por medio no radiactivo durante intervalos de tiempo que varían de 1 a 24 h. Para los experimentos de internalización, se eliminó la actividad unida a la superficie incubando las células con amortiguador de glicina-HCl 1 M durante 10 minutos. La radiactividad se midió usando un contador y, normalizado a 1 millón de células y calculado como porcentaje de la dosis aplicada (% ID).

Tinción celular y microscopía.

Para los experimentos de internalización, se sembraron células muFAP HT-1080-FAP y HEK en cubreobjetos no recubiertos en una placa de 24 pocillos y se cultivaron en medio de cultivo que contenía suero de ternera fetal al 10 % hasta una confluencia final de aprox. 80 a 90 %. El medio se retiró y las células se lavaron con 0.5 mL de PBS pH 7.4 por 2 veces. Se añadió FAPI-02-Atto488 (20 μ M en DMEM) a las células y se incubó durante 2 horas a 37 °C. Las células se lavaron con 0.5 mL de PBS pH 7.4 por 3 veces y se fijaron con paraformaldehído (2 % en PBS) durante 15 minutos. Los cubreobjetos con sobrecrecimiento se colocaron en portaobjetos de microscopio utilizando medio de montaje que contiene DAPI para la tinción del núcleo celular (Fluoroshield, Sigma-Aldrich). Las imágenes se obtuvieron en un microscopio confocal de escaneo láser (Zeiss LSM 700; Zeiss, Oberkochen, Alemania) utilizando el objetivo de inmersión Zeiss Plan-Apochromat 63x/1.4 Oil DIC III en configuraciones de píxeles xy de 0.099 x 0.099 μ m y un tamaño de agujero de la unidad Airy de 1 para cada fluoróforo utilizado (488 nm para FAPI-02-Atto488, 405 nm para DAPI). Las imágenes se procesaron de manera consistente utilizando el software ZEN 2008 e ImageJ.

Estudios de unión a radioligandos

Para los estudios de unión de radioligandos, las células se sembraron en placas de 6 pozos y se cultivaron durante 48 h hasta una confluencia final de aprox. 80 a 90 % (1.2 - 2 millones de células/pozo). El medio fue reemplazado por 1 mL de medio fresco sin suero de ternera fetal. El compuesto radiomarcado se añadió al cultivo celular y se incubó durante diferentes intervalos de tiempo que varían de 10 min a 24 h. Los experimentos de competencia se realizaron por exposición simultánea a productos no etiquetados (10^{-5} M a 10^{-9} M) y radiomarcados durante 60 minutos. Para los experimentos de eflujo, se retiró el medio radiactivo después de la incubación durante 60 minutos y se reemplazó por medio no radiactivo durante intervalos de tiempo que varían de 1 a 24 h. Para los experimentos de internalización, se eliminó la actividad unida a la superficie incubando las células con amortiguador de glicina-HCl 1 M durante 10 minutos. La radiactividad se midió usando un contador y, normalizado a 1 millón de células y calculado como porcentaje de la dosis aplicada (% ID).

^5M a 10^{-9}M) y compuesto radiomarcado durante 60 min. Para los experimentos de eflujo, se retiró el medio radiactivo después de la incubación durante 60 minutos y se reemplazó por medio no radiactivo durante intervalos de tiempo que varían de 1 a 24 h. En todos los experimentos, las células se lavaron con 1 mL de solución salina amortiguada con fosfato pH 7.4 durante 2 veces y posteriormente se lisaron con 1.4 mL de amortiguador de lisis (NaOH 0.3 M, SDS al 0.2 %). La radiactividad se determinó en un contador γ (Cobra II, Packard), se normalizó a 1 millón de células y se calculó como porcentaje de la dosis aplicada (% ID). Cada experimento se realizó 3 veces y se adquirieron 3 repeticiones por experimento independiente.

Para los experimentos de internalización, las células se incubaron con el compuesto radiomarcado durante 60 minutos a 37°C y 4°C . La absorción celular se terminó eliminando el medio de las células y lavando 2 veces con 1 mL de PBS. Posteriormente, las células se incubaron con 1 mL de glicina-HCl (1 M en PBS, pH 2.2) durante 10 minutos a temperatura ambiente para eliminar la actividad unida a la superficie. Las células se lavaron con 2 mL de PBS enfriado en hielo y se lisaron con 1.4 mL de amortiguador de lisis para determinar la fracción internalizada. Para las células incubadas a 4°C , todos los pasos de lavado y elución se llevaron a cabo utilizando amortiguadores enfriados con hielo. La radiactividad se midió usando un contador γ , normalizado a 1 millón de células y calculado como porcentaje de la dosis aplicada (% ID).

FAPI-01 se dirige selectivamente a FAP- α humana y murina.

Para analizar las propiedades de unión de FAPI-01 a su proteína blanco, se realizaron ensayos de unión a radioligandos utilizando diferentes líneas celulares de cáncer y líneas celulares transfectadas con FAP humana y murina, así como la proteína de membrana estrechamente relacionada CD26, también conocida como DPPIV. Tanto la FAP murina como la CD26 muestran una alta homología con la FAP- α humana (μFAP : 90 % de identidad y 94 % de similitud en el nivel de aminoácidos; CD26: 52 % de identidad y 71 % de similitud con alto parecido estructural) (Kelly T., *Drug Resist Updat*, 2005).

Como se muestra en la figura 1A, FAPI-01 no muestra una unión significativa a líneas celulares de cáncer negativas para FAP mientras se dirige a células que expresan FAP- α humana y murina con alta afinidad (IC_{50} FAP- α humana = 39.4 nM). Además, no se observó una unión sustancial a las células que expresan CD26 ($0.05 \pm 0.01\%$), lo que demuestra que FAPI-01 se dirige selectivamente a FAP- α . Esto es de particular importancia ya que CD26 se expresa altamente en una variedad de tejidos normales, incluidos los riñones, el hígado y el intestino delgado. Para evitar una señal de fondo alta debido a la unión inespecífica de CD26, la alta selectividad del ligando a FAP- α es de gran ventaja, lo que da como resultado una calidad de imagen óptima.

FAPI-01 se internaliza rápidamente en las células positivas para FAP pero muestra un flujo de salida dependiente del tiempo y una desyodación robusta.

Los ensayos de internalización basados en células demuestran una rápida absorción de FAPI-01 en las células (figura 1B). Después de 10 minutos de incubación, el 95 % de la fracción unida total se localiza intracelularmente (total $19.70 \pm 0.28\%$). En el transcurso de 4 h, solo se observa una disminución marginal de la actividad (total $17.00 \pm 0.40\%$, de los cuales se internalizó 94 %).

Los compuestos marcados con yodo a menudo muestran una desyodación enzimática dependiente del tiempo. Esto también se observó para FAPI-01 dando como resultado una baja radiactividad intracelular

de este compuesto después de tiempos de incubación más largos (3.25 ± 0.29 % después de 24 h). La desyodación se puede minimizar mediante la reducción de la actividad de la desyodinasa después de bajar la temperatura a 4°C , lo que resulta en un aumento de la radiactividad de 26.66 ± 1.59 % después de 24 h.

FAPI-02 muestra una mayor unión y absorción a FAP- α humano en comparación con FAPI-01.

5 Para evitar la pérdida rápida de actividad de FAPI-01 debido a la desyodación enzimática, se diseñó el derivado no halógeno FAPI-02 en el que la porción de unión a FAP está químicamente unida al quelante DOTA. Además de la estabilidad mejorada resultante, esta modificación ofrece la posibilidad de incorporar fácilmente radionucleidos diagnósticos o terapéuticos, permitiendo que FAPI-02 se use como un compuesto teranóstico. Similar a su análogo yodado, FAPI-02 se une específicamente a células que
10 expresan FAP- α humano y murino (IC_{50} FAP- α humano = 21 nM) sin abordar CD26 (% ID = 0.13 ± 0.01 %; figura 1A). FAPI-02 se internaliza rápidamente en células que expresan FAP- α (20.15 ± 1.74 % ID después de 60 min, de los cuales 96 % fue internalizado; figura 1B), mostrando tasas de absorción más estables y más altas en el transcurso del tiempo. En comparación con la unión de FAPI-01 después de 10 minutos de incubación, solo queda el 5 % de la actividad después de 24 h. En contraste, el 34 % de la radiactividad
15 inicial de FAPI-02 se detecta después de 24 h de incubación. Los experimentos de eflujo demuestran que FAPI-02 se elimina significativamente más lento que FAPI-01, mostrando una retención del 12 % de la radiactividad originalmente acumulada después de 24 h (FAPI-01 1.1 % ID después de 24 h; figura 1E).

La robusta internalización de FAPI-02 en células que expresan FAP- α humana y murina se confirmó mediante microscopía de exploración con láser de fluorescencia. Con este fin, las células HT-1080-FAP y
20 HEK-muFAP se tiñeron con un derivado FAPI-02 marcado con fluorescencia (FAPI-02-Atto488) durante 1 a 2 horas. Como se muestra en la figura 1D, el compuesto se internaliza completamente y se acumula en el interior de las células que expresan FAP- α , mientras que no se detecta absorción en las células HEK-CD26 negativas para FAP- α .

Diseño de derivados de FAPI con propiedades de unión y farmacocinética mejoradas.

25 Se diseñaron otras variantes de FAPI-02 para aumentar el tiempo de retención del tumor, con el objetivo de desarrollar un agente de direccionamiento teórico FAP. Las variantes FAPI-03 a FAPI-15 se han caracterizado con respecto a la unión al blanco, la tasa de internalización y la especificidad del blanco. Los resultados se muestran en la figura 2.

Ejemplo 3: PET y análisis de biodistribución en ratones

30 Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las leyes alemanas de protección animal y cumplieron con las regulaciones de la Comisión Europea para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Los ratones se anestesiaron mediante inhalación de isoflurano.

Para experimentos *in vivo*, se inocularon subcutáneamente ratones BALB/c *nu/nu* de 8 semanas (Charles River) en el tronco derecho con 5×10^6 con células HT-1080-FAP, Capan-2 o SK-LMS-1,
35 respectivamente. Cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 1 cm^3 , el compuesto radiomarcado se inyectó a través de la vena de la cola ($\sim 10 \text{ MBq}$ para imágenes PET de animales pequeños; $\sim 1 \text{ MBq}$ para distribución de órganos). La imagen PET se realizó hasta 140 minutos después de la inyección intravenosa de 1 MBq de compuesto marcado con Ga-68 por ratón utilizando el escáner

PET de animales pequeños Inveon PET (Siemens). Las imágenes se reconstruyeron iterativamente utilizando el método 3D-OSEM+MAP y se convirtieron en imágenes de valor de captación estandarizado (SUV, por sus siglas en inglés). La cuantificación se realizó utilizando una técnica de ROI y se expresó como la media de SUV. Para la distribución de órganos del compuesto marcado con Lu-177 (aproximadamente 10 MBq por ratón), los animales ($n = 3$ para cada punto de tiempo) se sacrificaron después de los puntos de tiempo indicados (de 30 min a 24 h). La radiactividad distribuida se midió en todos los órganos disecados y en sangre usando un contador γ (Cobra Autogamma, Packard). Los valores se expresan como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido (% ID/g).

Para el modelado farmacocinético, la constante de transporte K_1 y las constantes de velocidad k_2 – k_4 se calcularon utilizando un modelo de compartimento de dos tejidos implementado en el software PMOD [4], teniendo en cuenta la fracción vascular (vB), que está asociada con el volumen de sangre intercambiando con tejido en un VOI. Las constantes de velocidad que describen los flujos compartimentales incluyen k_1 (unión al receptor), k_2 (desprendimiento), así como k_3 (internalización) y k_4 (flujo de salida) en el tejido tumoral. En este modelo, el volumen fraccional de distribución ($DV=K_1/k_2$) es la proporción de la región de interés en la que se distribuye el agua marcada con ^{15}O .

Las variantes de FAPI se acumulan en xenoinjertos humanos que expresan FAP, así como en xenoinjertos sin expresión de FAP por reclutamiento y activación de fibroblastos de ratón.

La acumulación tumoral de FAPI-02 y -04 se evaluó mediante imágenes PET de animales pequeños de ratones que portaban xenoinjertos de células tumorales humanas positivas y negativas para FAP. En ambos casos, el radiotrazador se enriquece rápidamente dentro del tumor y se mantiene durante al menos 140 minutos (figura 3A, 3C, 3E, 3G). Al mismo tiempo, FAPI-02 y -04 muestran una unión inespecífica insignificamente baja y se eliminan rápidamente de la sangre principalmente a través de los riñones y la vejiga, lo que da como resultado un fondo bajo y relaciones beneficiosas de tumor a órgano. La administración simultánea de un compuesto no marcado como competidor resultó en una ausencia total de radiactividad en el tumor, lo que demuestra la especificidad del radiotrazador a su proteína blanco (figura 4). De manera interesante, se observó una alta absorción tumoral de FAPI-02 en ratones que portaban líneas celulares tumorales FAP- α positivas (HT-1080-FAP) y FAP- α negativas (Capan-2) debido al reclutamiento y activación de fibroblastos de ratón activados. Las características farmacocinéticas del radiotrazador, calculadas a partir de datos de PET usando un modelo de compartimento de dos tejidos de acuerdo con Burger et al., *Nucl Med*, 1997, se dan en la tabla 6.

Análisis farmacocinético de FAPI-02

	Unidad	Capan-2 - comp.	HT-1080-FAP - comp.	HT-1080-FAP + comp.
vB	l/l	0.08	0.04	0.04
k1	mL/cm ³ /min	0.08	0.07	0.10
k2	L/min	0.16	0.13	0.32
k3	L/min	0.08	0.10	0.04
k4	L/min	0.05	0.02	0.07
Vs	mL/cm ³	0.93	2.31	0.18
Vt	mL/cm ³	1.44	0.87	0.48
Flux	mL/cm ³ /min	0.03	0.03	0.01
Chi²	----	0.10	0.11	0.26

Tabla 6. Características farmacocinéticas de ⁶⁸Ga-FAPI-02, calculadas a partir de datos dinámicos de PET utilizando un modelo de compartimento de dos tejidos de acuerdo con Burger et al., Nucl Med, 1997. vB: fracción vascular, asociada con el volumen de intercambio de sangre con tejido en un VOI (volumen de interés); k1-k4: constantes de velocidad calculadas; Vs: relación de concentración de unión específica a progenitor total en equilibrio; Vt: volumen total de distribución.

Estas observaciones se confirmaron utilizando ¹⁷⁷Lu-FAPI-02 y -04 en un estudio de biodistribución, lo que demuestra la rápida acumulación en tumor en tumores humanos FAP-α positivos y negativos con muy baja actividad en todos los demás órganos (valores de absorción cuantificados, ver tabla 7), resultando en relaciones benéficas de tumor a órgano (figura 5D a 5F). Se obtuvieron resultados similares para ¹⁷⁷Lu-FAPI-04 en ratones con tumor HT-1080-FAP. En comparación con FAPI-02, FAPI-04 muestra una mayor absorción de tumores, especialmente después de 24 h (figura 5C). Un cálculo del área bajo la curva (ABC) se muestra en la tabla 8.

	FAPI-02 (Capan-2)	FAPI-02 (HT-1080-FAP)	FAPI-04 (HT-1080-FAP)
Sangre	0.83 ± 0.127	1.20 ± 0.178	1.70 ± 0.206
Cerebro	0.05 ± 0.010	0.06 ± 0.006	0.08 ± 0.010
Corazón	0.37 ± 0.031	0.56 ± 0.085	0.80 ± 0.089
Intestinos	0.30 ± 0.064	0.37 ± 0.046	0.66 ± 0.196
Riñones	1.45 ± 0.106	1.60 ± 0.075	2.28 ± 0.477
Hígado	0.36 ± 0.015	0.45 ± 0.074	0.73 ± 0.118
Pulmones	0.72 ± 0.021	1.02 ± 0.152	1.50 ± 0.151
Músculo	0.94 ± 0.168	1.17 ± 0.332	0.92 ± 0.020
Bazo	0.25 ± 0.015	0.38 ± 0.051	0.48 ± 0.072
Tumor	3.82 ± 0.390	4.51 ± 0.816	4.89 ± 0.817

Tabla 7. Cuantificación de los datos de biodistribución 1 h después de la administración intravenosa de FAPI-02 y -04 marcado con Lu-177 a ratones desnudos Balb/c portadores de tumor; n=3; valores reportados como % ID/g promedio ± DE.

%ID/g	1 h	4 h	24 h	ABC
FAPI-02	4.5 ± 0.82	4.0 ± 0.56	1.12 ± 0.13	64.0
FAPI-04	4.9 ± 0.82	5.4 ± 1.51	3.0 ± 0.23	99.4
FAPI-05	6.0 ± 0.90	5.8 ± 0.60	2.8 ± 0.40	103.3
FAPI-10	3.2 ± 0.72	2.9 ± 0.12	1.1 ± 0.04	49.3
FAPI-13	6.3 ± 0.57	8.7 ± 0.77	4.8 ± 1.71	157.5
FAPI-15	3.4 ± 1.13	4.6 ± 0.32	1.1 ± 0.25	68.0

Tabla 8. Captación tumoral de derivados FAPI seleccionados en ratones desnudos con tumor HT-1080-FAP, $n=3$. Los valores se informan como ID/g promedio $\pm$ DE).

Ejemplo 4: Estudios clínicos de PET/CT.

Las imágenes de diagnóstico de más de 100 pacientes se realizaron bajo las condiciones de la declaración actualizada de Helsinki, § 37 (intervenciones no comprobadas en la práctica clínica) y de acuerdo con la Ley de Productos Farmacéuticos Alemanes §13 (2b) por razones médicas utilizando ^{68}Ga -FAPI- 02 o -04, que se aplicó por vía intravenosa (20 nmol, 122-336 MBq), 10 min, 1 y 3 horas después de la administración del trazador. La variación de la actividad del radiotrazador inyectado se debe a la corta vida media de ^{68}Ga y a las eficiencias de elución variables obtenidas durante la vida útil del generador de $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. La obtención de imágenes FDG de un paciente se realizó 1 h después de la inyección intravenosa de 358 MBq ^{18}F -FDG. Las exploraciones PET/CT se realizaron con un escáner PET/CT Biograph mCT Flow™ (Siemens Medical Solution) utilizando los siguientes parámetros: espesor de corte de 5 mm, incremento de 3 a 4 mm, núcleo de reconstrucción de tejidos blandos, dosis de cuidado. Inmediatamente después de la exploración por CT, se adquirió un PET de cuerpo entero en 3D (matriz 200x200) en FlowMotion™ con 0.7 cm/min. Los datos de emisión fueron corregidos por aleatoriedad, dispersión y descomposición. La reconstrucción se realizó con un algoritmo de maximización de expectativa de subconjunto ordenado (OSEM, por sus siglas en inglés) con 2 iteraciones/21 subconjuntos y se filtró por Gauss a una resolución transaxial de 5 mm a la mitad del ancho máximo (FWHM, por sus siglas en inglés). La corrección de atenuación se realizó utilizando los datos de CT de dosis baja no mejorada. La evaluación cuantitativa de los valores de absorción estandarizados (SUV) se realizó utilizando una técnica de región de interés.

FAPI-02 y -04 se acumulan rápidamente en las metástasis de cáncer de mama, páncreas, pulmón, HNO, intestino delgado y ovario en humanos.

Se realizaron exploraciones PET/TC diagnósticas 1 h después de la administración intravenosa de ^{68}Ga -FAPI-02 y -04 en pacientes con cáncer de mama, pulmón, páncreas, HNO, intestino delgado y ovario en metástasis. En todos los pacientes se observó una acumulación robusta del marcador en el tumor primario, así como en las metástasis en los ganglios linfáticos y los huesos con valores máximos de SUV de 48.0. En contraste, la absorción del marcador en el tejido normal fue muy baja (figuras 6 a 14). La radiactividad se eliminó rápidamente del torrente sanguíneo y se excretó predominantemente a través de los riñones, lo que resultó en imágenes de alto contraste. Las imágenes comparativas en un paciente con adenocarcinoma de pulmón localmente avanzado revelaron una ventaja obvia de FAPI-02 en comparación con el trazador PET ^{18}F -FDG de uso común. Como se muestra en la figura 9, FAPI-02 muestra una mayor

absorción con una menor actividad de fondo que conduce a un mayor contraste con una mejor visibilidad de las lesiones metastásicas. A diferencia de FDG, que se acumula mucho en las células con alto consumo de glucosa, por ejemplo, en el cerebro, FAPI-02 se dirige selectivamente a los tejidos donde se expresa FAP- α . Las imágenes comparativas en un paciente con cáncer de próstata revelaron una ventaja obvia de FAPI-04 en comparación con los trazadores PET comúnmente utilizados ^{68}Ga -DOTATOC y ^{68}Ga -PSMA, lo que permite la detección de lesiones tumorales más pequeñas con acumulación reducida de marcadores en los riñones (figura 14).

Discusión

El diagnóstico confiable de tumores primarios, lesiones metastásicas y ganglios linfáticos afectados es de suma importancia para permitir una planificación efectiva y adecuada de la terapia, incluida la estadificación del tumor y la elección del tratamiento. Para este propósito, las técnicas de imagen representan herramientas indispensables para la evaluación de muchos tipos de cáncer. Debido a su alta precisión diagnóstica y la posibilidad de evaluar detalles anatómicos y fisiológicos, la PET/CT combinada es el método de elección para el diagnóstico moderno de tumores. Sin embargo, en contraste con las técnicas de imagen no invasivas, como MRT o CT solo, la combinación de PET/CT requiere el uso de radiotrazadores con una alta afinidad para atacar estructuras con expresión mejorada en tumores en comparación con tejidos normales. Un marcador ideal debe unirse específicamente a su proteína blanco para garantizar una diferenciación confiable de tejido canceroso y sano, así como señales de fondo bajas que den como resultado imágenes de alto contraste. La afinidad y la especificidad se vuelven aún más importantes si el radiotrazador representa un compuesto teranóstico, es decir, ofrece la posibilidad de cargarse con nucleidos diagnósticos o terapéuticos, lo que facilita y mejora el tratamiento dirigido y personalizado. Con respecto a una posible aplicación del marcador con fines terapéuticos, la alta especificidad de blanco asegura la reducción de los efectos secundarios, lo que es especialmente importante para la protección de los tejidos sensibles a la radiación, como la médula ósea, los órganos reproductivos y digestivos.

Con eso en mente, los inventores desarrollaron un marcador teranóstico dirigido a los fibroblastos asociados con el cáncer que forman un componente principal del estroma tumoral. Se sabe que juegan un papel crítico en el crecimiento, la migración y la progresión del tumor y son genéticamente más estables que las células cancerosas, por lo tanto, son menos susceptibles al desarrollo de resistencia a la terapia. A diferencia de los fibroblastos normales, los CAF expresan proteínas particulares que pueden usarse como marcadores específicos de tumor. Entre estos se encuentra la proteína de membrana FAP- α , que se expresa ampliamente en el microambiente de una variedad de tumores y, por lo tanto, permite la orientación de diferentes entidades tumorales, incluidos el páncreas, el cáncer de mama y de pulmón, que representan una gran parte de la totalidad de los tumores sólidos.

Basado en un inhibidor enzimático de molécula pequeña con alta afinidad a su proteína blanco, desarrollamos los radiotrazadores FAPI-01 a FAPI-73 mediante modificación química focalizada. Todos los compuestos muestran una unión específica al FAP- α humano y murino con una internalización rápida y casi completa sin abordar la proteína estrechamente relacionada CD26/DPP4. Como las moléculas

yodadas sufren una desyodación enzimática con salida de yodo libre, los tiempos de incubación más largos dan como resultado una baja radiactividad intracelular. Por este motivo, FAPI-02 y los compuestos posteriores se diseñaron con la porción de unión a FAP unida químicamente al quelante DOTA. Esto da como resultado un conjunto de compuestos teranósticos con propiedades farmacocinéticas y bioquímicas favorables, de los cuales FAPI-02, FAPI-04, FAPI-46, FAPI-34, FAPI-42, FAPI-52, FAPI-69, FAPI-70, FAPI-71, FAPI-72 y FAPI-73 representan los ligandos más favorecidos. FAPI-02 y FAPI-04 se eliminan significativamente más lentamente que FAPI-01, con una retención del 12 % (FAPI-02) y el 49 % (FAPI-04) de la radiactividad acumulada originalmente después de 24 h (FAPI-01 1.1 %) con los otros compuestos favorecidos que tienen una unión aún más fuerte (figura 16). Se internalizan rápidamente en células que expresan FAP- α y muestran altas tasas de absorción tumoral tanto en ratones portadores de tumor como en pacientes con carcinomas epiteliales metastatizados. Por el contrario, no hay acumulación en el tejido normal y la eliminación rápida del sistema sanguíneo, lo que resulta en imágenes de alto contraste. La internalización robusta en células que expresan FAP- α tanto humana como murina se confirmó por microscopía confocal usando FAPI-02 marcado con fluorescencia. A diferencia del anticuerpo de FAP F19 de primera generación, que tiene una alta afinidad con su proteína blanco sin ser internalizado, FAPI-02 muestra una captación intracelular completa después de 1 h de incubación. El mecanismo de internalización después de la unión de FAP ha sido estudiado por Fischer et al. utilizando fragmentos de anticuerpos FAP (Fabs) y un anticuerpo anti-ratón DyLight 549 en células SK-Mel-187. La incubación a 37 °C condujo a la internalización de los complejos FAP-anticuerpo. Al igual que con nuestra molécula pequeña, el proceso de internalización se produjo rápidamente con una internalización casi completa. La colocalización de los Fabs con un marcador para endosomas tempranos se observó después de 20 minutos y con un marcador para endosomas tardíos y lisosomas después de 40 minutos. La internalización de FAP- α mediada por Fab fue suprimida por un inhibidor de la endocitosis dependiente de la dinamina, lo que indica que la endocitosis ocurre por un mecanismo dependiente de la dinamina.

FAPI-02 y -04 se eliminan rápidamente del organismo mediante depuración renal sin ser retenidos en el parénquima renal. A diferencia del ^{18}F -FDG, que se acumula mucho en las células con alto consumo de glucosa, incluido el tejido inflamatorio o el cerebro, el FAPI-02 se enriquece selectivamente en los tejidos donde se expresa su proteína blanco. Esto abre nuevas perspectivas para la detección de lesiones malignas en estas regiones. Además, también se demostró que FAP- α se expresa por sinoviocitos reumatoides similares a miofibroblastos en pacientes con artritis reumatoide y osteoartritis, aterosclerosis, fibrosis, así como en el tejido cardíaco isquémico después del infarto de miocardio. Estas observaciones sugieren la aplicación de FAPI-02 y -04 como trazadores de imágenes para indicaciones adicionales.

El factor limitante para la detección de lesiones tumorales es el grado de expresión de FAP- α dentro del tumor. Esto depende en gran medida del número de fibroblastos activados, es decir, el porcentaje de contenido del estroma y/o el número de moléculas de FAP- α por fibroblastos que puede determinar el microambiente. Dado que el crecimiento tumoral que excede un tamaño de 1 a 2 mm requiere esencialmente la formación de un estroma de soporte, la visualización de pequeñas lesiones en el rango de 3 a 5 mm debería ser posible usando FAPI-PET/CT.

Como con cualquier otro enfoque dirigido, los derivados de FAPI solo logran resultados óptimos en tejidos con una expresión de FAP- α suficientemente alta que se sabe que es bastante heterogénea en diferentes tipos de cáncer y pacientes. Además del cáncer de mama, colon y páncreas, que son excelentes candidatos para la obtención de imágenes FAPI, otros análisis tienen que explorar si otras entidades tumorales como el cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de ovario o hepatomas representan objetivos favorables.

Además, la expresión de FAP- α se demostró en la cicatrización de heridas y el tejido fibrótico, lo que debe tenerse en cuenta al interpretar los hallazgos radiológicos. Estos hechos enfatizan la necesidad de evaluar adecuadamente qué pacientes probablemente se beneficiarán de una terapia FAPI potencial.

Dada la capacidad de utilizar nucleidos diagnósticos o terapéuticos, FAPI-02 y -04 permiten una estratificación simple de la cohorte de pacientes apropiada. De cualquier manera, ya está claro que ambos trazadores FAPI representan candidatos ideales para el desarrollo de un radiofármaco dirigido. Debido a su alta afinidad a blanco, la rápida internalización del tumor y la eliminación rápida del cuerpo, ya son ideales para la obtención de imágenes tumorales.

Ejemplo 5: Caracterización de FAPI *in vitro* e *in vivo*

Procedimientos experimentales y evaluación clínica.

Todos los experimentos *in vitro* e *in vivo*, así como la evaluación clínica de los derivados de FAPI se han realizado como se describió anteriormente y de acuerdo con Loktev *et al.*¹ y Lindner *et al.*² Se realizó una estimación preliminar de dosimetría para FAPI-02 y FAPI-04 basado en dos pacientes examinados a las 0.2 h, 1 h y 3 h después de la inyección del marcador utilizando el traje de software de dosimetría QDOSE. Se obtuvieron exploraciones PET/CT adicionales de pacientes con tumor 1 h después de la inyección de FAPI-02 (n=25) o FAPI-04 (n=25); para 6 pacientes, estaba disponible una exploración FDG intraindividual (también adquirida 1 h p.i.). Para el tejido normal de 16 órganos, se colocó un VOI esférico de 2 cm en el parénquima, para las lesiones tumorales se utilizó un VOI segmentado umbral para cuantificar SUV medio/max³.

Caracterización *in vitro* de derivados DOTA-FAPI

Para evaluar la tasa de unión e internalización blanco de los derivados DOTA-FAPI en comparación con FAPI-04, los compuestos marcados con Lu-177 se incubaron con células HT-1080 que expresan FAP durante 1, 4 y 24 h, respectivamente (figura 16). La fracción unida a la membrana se eliminó mediante elución ácida usando glicina-HCl pH 2.2 seguido de lisis de células alcalina para determinar la fracción internalizada. Como se muestra en la figura 16, todos los derivados demuestran una mayor unión celular en comparación con FAPI-04 con valores de unión de hasta 500 % del compuesto principal después de 1 h de incubación (hasta 750 % después de 4 h).

Para evaluar la afinidad y especificidad de blanco, se realizaron ensayos de unión competitiva utilizando concentraciones crecientes de compuesto no marcado como competidor del compuesto marcado con Lu-177 (figura 17; valores IC₅₀ respectivos enumerados en la tabla 9). La especificidad de la unión también se confirmó en un ensayo de unión a radioligando usando células HEK murinas que expresan FAP y CD26 (figura 18).

0.55	IC ₅₀ (nM)	Compuesto	IC ₅₀ (nM)
FAPI-04	6.5	FAPI-39	11.3
FAPI-05	17.2	FAPI-40	12.7
FAPI-10	19.9	FAPI-41	8.3
FAPI-13	4.5	FAPI-46	13.5
FAPI-15	9.1	FAPI-47	42.0
FAPI-20	7.2	FAPI-48	26.3

Tabla 9. Valores de IC₅₀ de derivados de FAPI seleccionados según lo determinado por ensayos de unión competitiva

Distribución de órganos de derivados de DOTA-FAPI en ratones con tumor

Para el análisis del perfil farmacocinético, así como la captación tumoral *in vivo*, se administraron derivados DOTA-FAPI marcados con Lu i.v. a ratones con tumor HT-1080-FAP. La distribución de órganos de los compuestos radiomarcados se determinó *ex vivo* en la sangre, tejidos sanos y el tumor. Como se muestra en la figura 19, la mayoría de los compuestos demuestran mayores tasas de absorción tumoral en comparación con FAPI-02 y FAPI-04, especialmente 24 h después de la administración. Debido al aumento de la lipofilia, algunos de los radiotrazadores muestran una mayor actividad sanguínea, así como una mayor retención en los riñones. La determinación de las proporciones de sangre-tumor revela aún una clara ventaja de los compuestos FAPI-21 y FAPI-46 que demuestran proporciones significativamente más altas que FAPI-04 en todo momento examinado (figura 20).

Imágenes de animales pequeños de derivados de DOTA-FAPI en ratones con tumor

Con base en estos hallazgos, se realizó una imagen PET de animales pequeños utilizando derivados DOTA-FAPI marcados con Ga-68 hasta 140 minutos después de la administración i.v. de los radiotrazadores en ratones con tumor HT-1080-FAP. Las relaciones benéficas tumor-sangre de FAPI-21 y FAPI-46 dan como resultado imágenes de alto contraste, lo que permite una excelente visualización de los tumores FAP-positivos (figura 21). Un análisis cuantitativo de la acumulación de marcadores en el tumor, los riñones, el hígado y el tejido muscular (dados como valores máximos de SUV) revela actividades musculares, renales y hepáticas ligeramente más bajas de FAPI-46 en comparación con FAPI-21 (figura 22).

Biodistribución y estimación de dosimetría de FAPI-02 y FAPI-04 en comparación con FDG en pacientes con cáncer

Muy similar a los valores de la literatura para F-18-FDG, Ga-68-DOTATATE o Ga-68-PSMA-11, un examen con 200 MBq Ga-68-FAPI-02 y -04 corresponde a una dosis equivalente de aprox. 3 a 4 mSv. Después de una eliminación rápida a través de los riñones, los órganos normales muestran una baja absorción del marcador con solo cambios mínimos entre 10 min y 3 h p.i. En FAPI-02, la captación tumoral de 1 h a 3 h p.i. disminuye en un 75 %, mientras que la retención tumoral se prolonga ligeramente con FAPI-04 (lavado al 50 %). A 1 h p.i. ambos rastreadores de FAPI tienen el mismo rendimiento (figura 23). En comparación con FDG, la captación tumoral es casi igual (SUV promedio máximo FDG 7.41; SUV máximo FAPI-02 7.37; n.s.); la captación de fondo en el cerebro (11.01 frente a 0.32), hígado (2.77 frente a 1.69) y mucosa oral/faríngea (4.88 frente a 2.57) es significativamente menor con FAPI-02; otros órganos

no fueron significativamente diferentes entre FDG y FAPI-02 (figura 24). Para información detallada y resultados ver Giesel *et al.* ³ que se incorpora aquí como referencia.

Imagen PET de FAPI-04 en pacientes con diversos tipos de cáncer, así como tumores malignos no cancerosos

Además de una rápida absorción de FAPI-04 marcado con Ga-68 en diferentes tipos de cáncer, incluidos los tumores de mama, páncreas, ovario y HNO, también se demostró la acumulación de marcadores en la peritonitis carcinomatosa (figura 25A), así como varias neoplasias inflamatorias como la miocarditis (figura 25B) y artrosis (figura 25C). Estos resultados indican una posible aplicación de FAPI marcados con Ga-68 para la detección de neoplasias no cancerosas que se caracterizan por un proceso de inflamación crónica que implica el reclutamiento de fibroblastos activados.

Imagen PET de FAPI-21 y FAPI-46 en pacientes con varios tipos de cáncer.

Como se muestra en la figura 26, se observó una acumulación robusta de FAPI-21 marcado con Ga-68 en diferentes tipos de cáncer, incluidos el carcinoma de ovario, recto y mucoepidermoide. Se observó una absorción tumoral similar para el FAPI-46 marcado con Ga-68 que se acumuló rápidamente en el carcinoma colangiocelular y colorrectal, el cáncer de pulmón y el sarcoma fibroso solitario (figura 27). Después de la examinación por PET/CT usando FAPI-46 marcado con Ga-68, se tomó un primer enfoque terapéutico usando el radiotrazador marcado con Sm-153 en dos pacientes con cáncer. Como se muestra en la figura 28, la acumulación tumoral robusta del marcador es detectable hasta 20 h después de la administración.

Las imágenes FAPI-46-PET/CT de tres pacientes con cáncer de pulmón con fibrosis pulmonar idiopática revelaron una clara diferencia en la acumulación de marcadores en las lesiones cancerosas versus fibróticas. Como se muestra en la figura 30, la captación tumoral de FAPI-46 marcado con Ga-68 fue significativamente mayor en dos pacientes (30A, 30B) pero ligeramente menor en un paciente (30C), en comparación con la actividad medida en el tejido fibrótico. El paciente que se muestra en la figura 30C padecía una fibrosis pulmonar exacerbada en comparación con los dos casos no exacerbados. Por lo tanto, el marcador es posiblemente útil para la diferenciación de pacientes con fibrosis con mal pronóstico de pacientes con un buen pronóstico.

Derivados de FAPI para radiomarcaje con radionucleidos alternativos, por ejemplo, Tc-99m, Pb-203, Cu-64 y F18

Para permitir el uso de radionucleidos alternativos, se ha diseñado y caracterizado una serie de derivados de FAPI con respecto a la afinidad, especificidad y farmacocinética de blanco. En algunos de estos compuestos, el quelante original DOTA ha sido reemplazado por diferentes porciones quelantes, que son ideales para la incorporación de Tc-99m (FAPI-19, -27, -28, -29, -33, -34, -43, -44, -45, -60, -61, -62). La afinidad de FAP *in vitro* y la biodistribución en ratones xenoinjertados HT-1080-FAP se muestran a modo de ejemplo para FAPI-19 y FAPI-34. Ambos compuestos demuestran una unión robusta a la FAP humana *in vitro* (IC₅₀ FAPI-19: 6.4 nM). A diferencia de FAPI-19, que muestra una absorción tumoral insuficiente *in vivo*, así como una acumulación rápida en el hígado debido a un cambio de la eliminación renal hacia la eliminación hepática, FAPI-34 se enriquece continuamente dentro del tumor y demuestra una absorción

hepática significativamente menor (figuras 31, 32). Una primera aplicación de diagnóstico de Tc-99m marcado con FAPI-34 en un paciente con cáncer de páncreas con metástasis hepática muestra una acumulación tumoral estable del marcador hasta 4 h después de la administración. Además, la actividad general de fondo es comparativamente baja, lo que resulta en imágenes de alto contraste (figura 33). Esto ofrece una aplicación generalizada para el diagnóstico mediante gammagrafía y terapia después del etiquetado con Re-188.

Los derivados de FAPI radiomarcados con Pb-203 (FAPI-04, -32, -46 y FAPI-04tcmc) muestran una unión celular comparable a las células HT-1080-FAP con FAPI-32 y FAPI-04tcmc alcanzando los valores de unión más altos después de 60 minutos de incubación (26.93 ± 0.846 y 21.62 ± 0.61 % ID/1 millón de células, figura 34A). Mientras que FAPI-32 se elimina rápidamente de las células tumorales tras la unión inicial ($t_{1/2} = 2$ h), FAPI-04tcmc muestra un flujo de salida de células considerablemente más lento ($t_{1/2} = 7$ h) pero también la afinidad más baja de FAP como se muestra en el ensayo de competencia ($IC_{50} = 5.7$ μ M, figura 34C). Por este motivo, FAPI-04 y FAPI-46, caracterizados por vidas medias óptimas y valores de IC_{50} , se seleccionaron para su posterior análisis *in vivo*. Como se muestra en la figura 35, ambos compuestos se enriquecen continuamente dentro del tumor al tiempo que muestran una unión despreciablemente baja al tejido sano. Los hallazgos escintigráficos se confirman en un estudio de biodistribución, donde ambos radiotrazadores demuestran una absorción tumoral robusta, actividades generales de órganos bajos, así como una rápida excreción renal (figura 36).

Para permitir el marcaje radiactivo con Cu-64, los derivados de NOTA FAPI-42 y FAPI-52 se han desarrollado y caracterizado con respecto a la afinidad, especificidad y farmacocinética de blanco. Como se muestra en la figura 37, ambos trazadores muestran una unión robusta a las células HT-1080-FAP hasta 24 h de incubación con valores de IC_{50} similares en el rango nanomolar inferior (figura 37A, 37B). Sin embargo, FAPI-42 se elimina significativamente más lento que FAPI-52, lo que resulta en una vida media *in vitro* calculada de 12 h (figura 37C). Estos resultados se confirman por imágenes de animales pequeños de ratones xenoinjertados HT-1080-FAP. Como se muestra en la figura 38, ambos compuestos demuestran una absorción tumoral robusta, así como una eliminación rápida del torrente sanguíneo *in vivo*. En particular, la excreción renal de FAPI-42 ocurre significativamente más rápido en comparación con FAPI-52, mientras que su actividad tumoral permanece ligeramente más alta en el transcurso de 2 a 24 h después de la administración.

Los derivados NOTA-FAPI-42 y FAPI-52 se han desplegado para la formación de complejos de fluoruro de aluminio para permitir la obtención de imágenes con F-18. Como se muestra en la figura 39, ambos compuestos demuestran una rápida absorción tumoral en imágenes de animales pequeños de ratones xenoinjertados HT-1080-FAP. Aunque ambos compuestos se excretan principalmente por la vía renal, también se observa una eliminación biliar. Si bien la excreción renal es más rápida para FAPI-52, la mayor acumulación de tumores, la mayor retención de tumores y la menor proporción de la vía biliar están a favor de FAPI-42.

Referencias

- 1 Loktev, A. et al. *A new method for tumor imaging by targeting cancer associated fibroblasts*. Journal

of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine, doi:10.2967/jnumed.118.210435 (2018).

2 Lindner, T. et al. *Development of quinoline based theranostic ligands for the targeting of fibroblast activation protein*. Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine, doi:10.2967/jnumed.118.210443 (2018).

3 Giesel, F. et al. *FAPI-PET/CT: biodistribution and preliminary dosimetry estimate of two DOTA-containing FAP-targeting agents in patients with various cancers*. Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine, doi:10.2967/jnumed.118.215913 (2018).

Ejemplo 6: Caracterización de FAPI *in vitro* e *in vivo*

Datos preclínicos

Con el objetivo de dirigirse selectivamente a los tumores cerebrales positivos para FAP, se realizaron experimentos iniciales en ratones portadores de tumores utilizando el modelo de xenoinjerto de glioblastoma humano U87MG. La acumulación de tumores y la distribución de órganos de FAPI-02 y -04 radiomarcados se analizaron mediante imágenes PET de animales pequeños, así como en un estudio de biodistribución. Como se muestra en las figuras 40 y 41, tanto FAPI-02 como -04 demuestran una rápida captación tumoral y actividades insignificantemente bajas en órganos sanos y en la sangre.

Datos clínicos

De acuerdo con la clasificación de la OMS de 2016, los gliomas se subdividen en gliomas de silvestres de IDH OMS grado I-IV y gliomas mutantes de IDH OMS grado II-IV. Los gliomas de grado IV de la OMS más frecuentes son los glioblastomas.

La obtención de imágenes PET clínica se realizó en 18 pacientes con glioma (5 gliomas mutantes de IDH, 13 glioblastomas silvestres de IDH; ver tabla 10). Como se muestra en las figuras 42 a 44, los glioblastomas silvestres de IDH y los gliomas mutantes de grado III/IV de grado III/IV, pero no los gliomas mutantes de IDH de grado II, mostraron una elevada absorción de trazadores. En los glioblastomas, se observaron manchas con una mayor captación en la proyección en las áreas que mejoran el contraste.

Conclusión

El aumento de la absorción del marcador en los glioblastomas silvestres de IDH y los astrocitomas mutantes de IDH de alto grado, pero no en los astrocitomas difusos, puede permitir una distinción no invasiva entre los gliomas mutantes de IDH de bajo grado y los gliomas de alto grado, y puede ser útil para los estudios de seguimiento. La captación heterogénea del marcador en los glioblastomas puede ser útil para la planificación de la biopsia.

Tabla 10: Características del paciente

	Número de paciente	Edad (años)	Estado de IDH	Diagnóstico	Grado OMS	Localización	Cirugía de biopsia	Pretratamiento
5	1	57	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	parietal derecho	Biopsia	Radioquimioterapia
	2	65	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	bifrontal	Biopsia	ninguna
	3	66	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	parieto-temporal izquierdo	Biopsia	ninguna
10	4	64	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	temporal derecho	Resección	Radioquimioterapia
	5	58	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	Esplenio	Biopsia	ninguna
	6	48	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	fronto-temporo-parietal izquierdo	Resección	Radioquimioterapia
15	7	20	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	Tálamo / temporal derecho	Biopsia	ninguna
	8	54	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	temporal izquierdo	Resección	ninguna
	9	56	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	ganglios basales	Resección parcial	ninguna
20	10	61	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	temporal derecho	Resección	ninguna
	11	86	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	Corona radiata izquierda	Biopsia	Quimioterapia
	12	68	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	Cuerpo calloso	Biopsia	ninguna
25	13	71	Tipo silvestre	Glioblastoma	IV	temporal izquierdo	Biopsia	ninguna
	14	29	Mutación IDH1 R132H	Glioblastoma	IV	temporo-parietal derecho	Resección	ninguna
	15	47	Mutación IDH1 R132H	Astrocitoma anaplásico	III	frontal derecho	Resección	ninguna
30	16	47	Mutación IDH1 R132H	Astrocitoma difuso	II	parietal izquierdo	Biopsia	ninguna
	17	47	Mutación IDH1 R132C	Astrocitoma difuso	II	frontal derecho	Resección	ninguna
	18	43	Mutación IDH1 R132H	Astrocitoma difuso	II	fronto-temporal izquierdo	Biopsia	Quimioterapia

Ejemplo 7: Caracterización de FAPI *in vitro* e *in vivo*

Experimentos de reabsorción

Para los experimentos de reabsorción, se agregaron FAPI-04 y -46 marcados con ^{177}Lu (5 MBq/nmol en DMEM) a las células HT-1080-FAP y se incubaron durante 60 minutos a 4 y 37 °C, respectivamente. Se retiró el medio radiactivo y las células se lavaron dos veces con solución salina amortiguada con fosfato (PBS) pH 7.4. Posteriormente, se añadió medio no radiactivo con y sin FAPI sin marcar (1 μM) durante intervalos de tiempo que varían de 10 min a 6 h. Las células se lavaron dos veces con PBS a pH 7.4. Para eliminar la actividad unida a la superficie, las células se incubaron con glicina-HCl (1 M en PBS, pH 2.2) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de lavar dos veces con PBS enfriado en hielo, las células se lisaron con 1.4 mL de amortiguador de lisis (NaOH 0.3 M, SDS al 0.2 %) para determinar la fracción internalizada. Para las células incubadas a 4 °C, todos los pasos de lavado y elución se llevaron a cabo utilizando amortiguadores enfriados con hielo. La radiactividad se midió utilizando un contador γ (Packard Cobra II), normalizado a 1 millón de células y calculado como porcentaje de la dosis aplicada (% AD; ver Fig. 47).

Ensayo de inhibición enzimática

Para determinar los posibles efectos inhibitorios de FAPI-04 sobre la actividad enzimática de FAP, se realizaron ensayos de inhibición enzimática utilizando proteína FAP humana recombinante (1 pmol/pozo) en una placa de 48 pozos. Después de la incubación de FAPI-04 o Talabostat (0 – 1000 nM/pozo) con FAP humana durante 30 minutos a 37 °C, se añadió el sustrato fluorógeno FAP Z-GP-AMC a una concentración final de 0 a 200 μM /pozo e incubado durante 60 minutos a 37 °C. La actividad enzimática de FAP se determinó midiendo la intensidad de fluorescencia del producto de reacción AMC a 360/460 nm utilizando el lector de placas SpectraMax M2 (Molecular Devices, San José, EE. UU.) (ver figura 46).

Administración múltiple de ratones portadores de tumores FAPI-04 a HT-1080-FAP

Para los experimentos de biodistribución, se inocularon subcutáneamente ratones BALB/c *nu/nu* de 8 semanas (Charles River) en el tronco derecho con 5 millones de células HT-1080-FAP, respectivamente. Cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 1 cm^3 , el compuesto radiomarcado se inyectó a través de la vena de la cola. Al primer grupo de animales se le administró una dosis única de ^{177}Lu -FAPI-04 (2 MBq por animal), mientras que el segundo grupo recibió dos dosis de 1 MBq cada una, con la segunda dosis administrada 4 h después de la primera inyección. Al tercer grupo se le administraron tres dosis en total, con una dosis inicial de 1 MBq por ratón, seguido de 0.5 MBq 2 h y 0.5 MBq adicionales 4 h después de la primera inyección. Los animales ($n = 3$ para cada punto de tiempo) fueron sacrificados 8 y 24 h después de la primera inyección. La radiactividad distribuida se midió en todos los órganos disecados y en sangre usando un contador γ (Cobra Autogamma, Packard). Los valores se expresan como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido (% ID/g) (ver figura 48).

Ejemplo 8: Caracterización de FAPI *in vitro* e *in vivo*

Procedimientos experimentales y evaluación clínica

Todos los experimentos *in vitro* e *in vivo*, así como la evaluación clínica de los derivados de FAPI

se han realizado como se describe en el documento inicial y de acuerdo con Loktev *et al.*¹ y Lindner *et al.*²

Resultados

Caracterización *in vitro* de derivados de F-18-FAPI

Todos los experimentos se llevaron a cabo de forma análoga a FAPI-42 (marcaje AIF-18) o FAPI-72 (marcaje de nicotinamida F-18).

Compuesto	IC ₅₀ (nM)	Compuesto	IC ₅₀ (nM)
FAPI-72	2.4	FAPI-74	9.2
FAPI-73	5.4	FAPI-75	2.9

Tabla 11. Valores de EC₅₀ de derivados de FAPI seleccionados según lo determinado por ensayos

de unión competitiva

Determinación de la eliminación de la acumulación de sangre

Para estimar la tasa de eliminación del compuesto, se calcularon los tiempos de vida media mediante una supuesta decadencia exponencial de dos fases a partir de los valores medios de SUV (0.375 a 60 min) del corazón como representación de la acumulación de sangre. Todos los compuestos seleccionados se eliminaron muy rápido con tiempos de vida media inferiores a 10 min. Los valores de meseta calculados, que fueron más altos para FAPI-13 marcado con Ga-68, -21, -36 y FAPI-74 marcado con AIF-18 corresponden teóricamente a una fracción mayor de compuesto que no se elimina debido a la unión inespecífica o al permanecer en circulación (tabla 12). Como ejemplo para la eliminación rápida, las curvas de actividad de tiempo para FAPI-04 y -46 entre 0 y 15 min se muestran en la figura 53.

Compuesto	Eliminación de la acumulación de sangre (T _{1/2} [min])	Valor de meseta (SUVmedio)
FAPI-04	7.1	0.21
FAPI-13	5.5	0.27
FAPI-21	5.1	0.31
FAPI-36	5.0	0.58
FAPI-46	5.3	0.19
FAPI-74	2.4	0.32

Tabla 12. La vida media de la acumulación de sangre y el valor hipotético de la meseta de derivados de FAPI seleccionados calculados a partir de valores medios de SUV por una supuesta decadencia exponencial de dos fases. Para mayor claridad, solo se enumeran los valores que determinan la vida media.

Imágenes de animales pequeños de derivados de F-18-FAPI en ratones portadores de tumores

Con base en estos hallazgos, se realizó una imagen PET de animales pequeños utilizando derivados FAPI marcados con NOTA y F-18-nicotinamida marcados con F-18 hasta 140 minutos después de administración i.v. de los radiotrazadores en ratones con tumor HT-1080-FAP. Los derivados de F-18-nicotinamida FAPI-72, -73 y -77 mostraron una acumulación desfavorable en el hígado, así como una excreción biliar, mientras que FAPI-78 se excretó por vía renal pero no mostró absorción tumoral. En el caso de los derivados NOTA marcados con AIF-18 FAPI-74 y -75, se observó una alta especificidad de blanco y un aclaramiento rápido, lo que dio como resultado imágenes de alto contraste, que permiten una excelente visualización de los tumores positivos para FAP (figura 50).

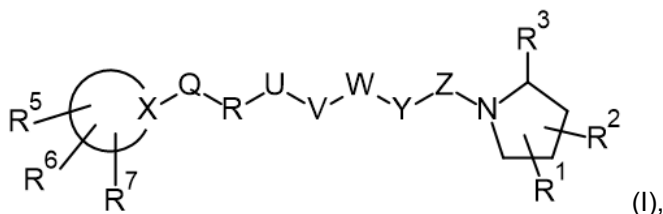
Distribución de órganos de derivados de F-18-FAPI en ratones portadores de tumores

Para el análisis del perfil farmacocinético, así como la captación tumoral *in vivo*, se administró i.v. FAPI-75 marcado con AlF-18 a ratones con tumor HT-1080-FAP. La distribución de órganos del compuesto radiomarcado se determinó *ex vivo* en la sangre, tejidos sanos y el tumor. Como se muestra en la figura 51, los compuestos demuestran una alta absorción tumoral, aunque en comparación con los derivados DOTA marcados con Ga-68, se observa una mayor acumulación en el tejido sano, mientras que el rendimiento en las imágenes PET fue igual.

Artículos

Los siguientes artículos representan modalidades preferidas de la presente invención.

1. Un compuesto de fórmula (I)



en donde

Q, R, U, V, W, Y, Z están presentes individualmente o ausentes con la condición de que al menos tres de Q, R, U, V, W, Y, Z estén presentes;

Q, R, U, V, W, Y, Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en O, CH₂, NR⁴, C=O, C=S, C=NR⁴, HCR⁴ y R⁴CR⁴, con la condición de que dos O no sean directamente adyacentes entre sí;

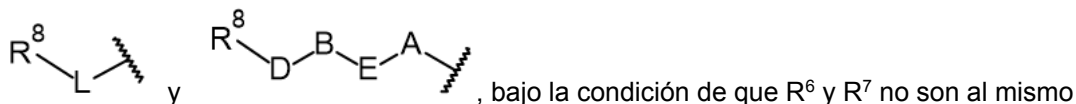
R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H, -OH, halo, alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, S-alquilo de C₁₋₆;

R³ se selecciona del grupo que consiste en -H, -CN, -B(OH)₂, -C(O)-alquilo, -C(O)-arilo-, -C=C-C(O)-arilo, -C=C-S(O)₂-arilo, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂, -PO₃H₂ y 5-tetrazolilo;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en -H, -alquilo de C₁₋₆, -O-alquilo de C₁₋₆, -S-alquilo de C₁₋₆, alquenilo, heteroalquenilo, cicloalquenilo, cicloheteroalquenilo, alquinilo, arilo y -aralquilo de C₁₋₆, estando cada uno de dichos -alquilo de C₁₋₆ opcionalmente sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH, oxo, halo y opcionalmente conectados a Q, R, U, V, W, Y o Z;

R⁵ se selecciona del grupo que consiste en -H, halo y alquilo de C₁₋₆;

R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H,



tiempo H,

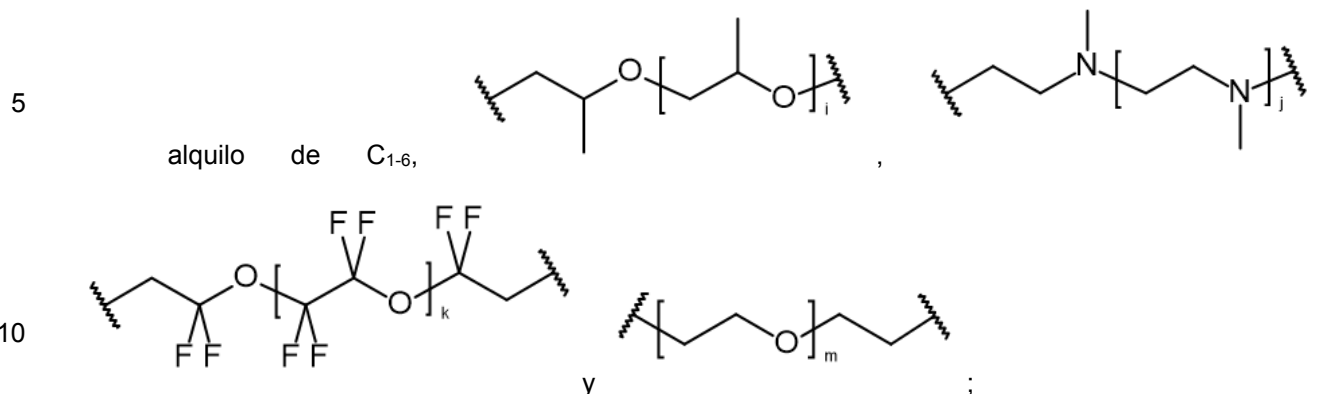
en donde L es un enlazador,

en donde D, A, E y B están presentes o ausentes individualmente, preferiblemente en donde están presentes al menos A, E y B, en donde cuando están presentes:

D es un enlazador;

A se selecciona del grupo que consiste en NR^4 , O, S y CH_2 ;

E se selecciona del grupo que consiste en



en donde i es 1, 2 o 3;

en donde j es 1, 2 o 3;

en donde k es 1, 2 o 3;

en donde m es 1, 2 o 3;

A y E juntos forman un grupo seleccionado de: un cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, preferiblemente heterocicloalquilo, en donde A y E pueden ser mono, bi y multicíclicos, preferiblemente monocíclicos; cada A y E están opcionalmente sustituidos con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de -H, -alquilo de C_{1-6} , -O-alquilo de C_{1-6} , -S-alquilo de C_{1-6} , alquenilo, heteroalquenilo, cicloalquenilo, cicloheteroalquenilo, alquinilo, arilo y -aralquilo de C_{1-6} , cada uno de dicho -alquilo de C_{1-6} está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH, oxo, halo; y opcionalmente



B se selecciona del grupo que consiste en S, NR^4 , $\text{NR}^4\text{-O}$, $\text{NR}^4\text{-alquilo de } \text{C}_{1-6}$, $\text{NR}^4\text{-alquilo de } \text{C}_{1-6}\text{-NR}^4$, y un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde $\text{NR}^4\text{-alquilo de } \text{C}_{1-6}\text{-NR}^4$ y el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} ; y;

R^8 se selecciona del grupo que consiste en una porción radiactiva, agente quelante, colorante fluorescente, un agente de contraste y combinaciones de los mismos;

es una porción 1-naftilo o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, en donde hay 2 átomos en el anillo entre el átomo de N y X; dicho heterociclo opcionalmente comprende además 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados de O, N y S; y X es un átomo de C;

o un tautómero, racemato, hidrato, solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de acuerdo con el artículo 1, en donde

(i) Q, R, U son CH₂ y están presentes o ausentes individualmente;

V es CH₂, C=O, C=S o C=NR⁴;

W es NR⁴;

Y es HCR⁴; y

Z es C=O, C=S o C=NR⁴; y/o

(ii) Q y R están ausentes;

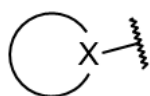
U es CH₂ y está presente o ausente;

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H y halo;

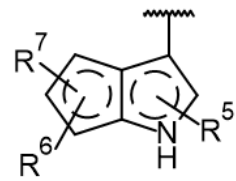
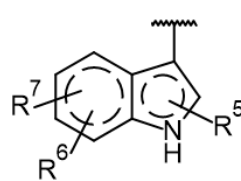
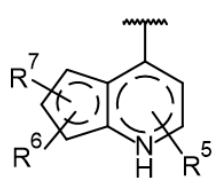
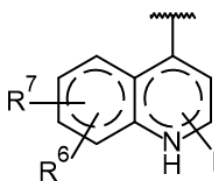
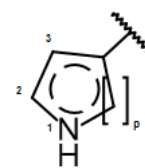
R³ se selecciona del grupo que consiste en -H, -CN y -B(OH)₂;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en -H y -alquilo de C₁₋₆, en donde el -alquilo de C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados de -OH.

3. El compuesto de acuerdo con los artículos 1 o 2, en donde

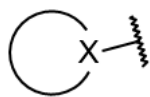


se selecciona independientemente del grupo que consiste en

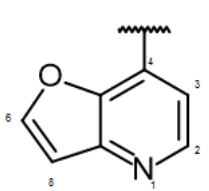
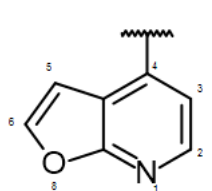
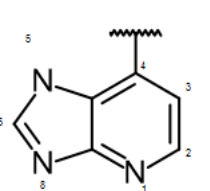
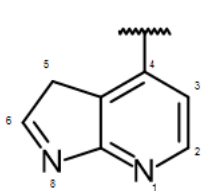
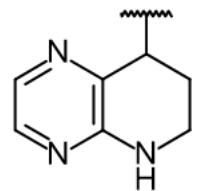
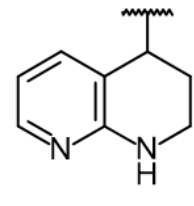
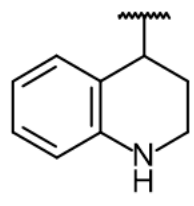
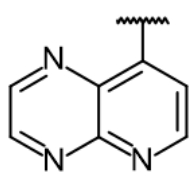
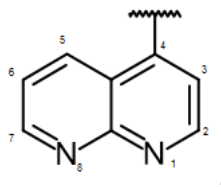
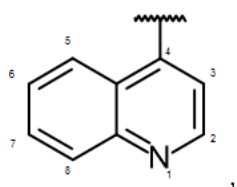


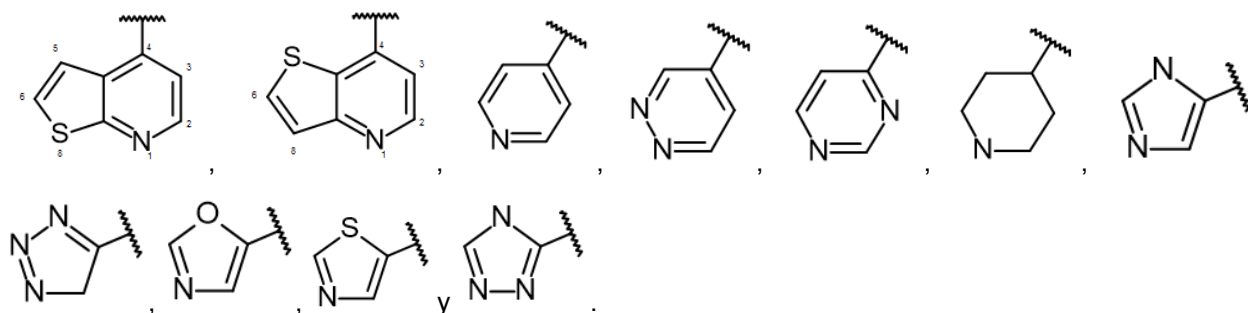
opcionalmente que comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S.

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos anteriores, en donde



se seleccionan del grupo que consiste en



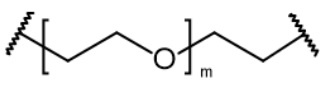


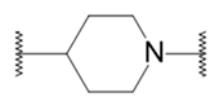
5. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos anteriores, en donde R^5 y R^6 son H;

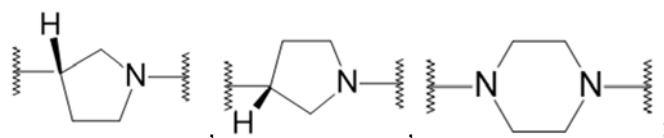
R^7 es $R^8-D-B-E-A$, en donde

D está ausente;

A es O, S, CH_2 , NH, NCH_3 ;

E es alquilo de C_{1-6} o , en donde m es 1, 2, o 3;

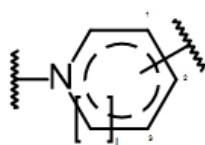
A y E juntos forman un grupo seleccionado de: , .



B es NR^4 -alquilo de C_{1-6} o un heterociclo mono o bicíclico aromático o no aromático que contiene N de 5 a 10 miembros, que preferiblemente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, preferiblemente que comprende además 1 o 2 átomos de nitrógeno, preferiblemente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo de C_{1-6} , arilo, aralquilo de C_{1-6} .

6. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos anteriores, en donde

(i) el heterociclo que contiene N comprendido en B es un heterociclo monocíclico aromático o no aromático:



, en donde

el heterociclo opcionalmente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, opcionalmente comprende además 1 nitrógeno;

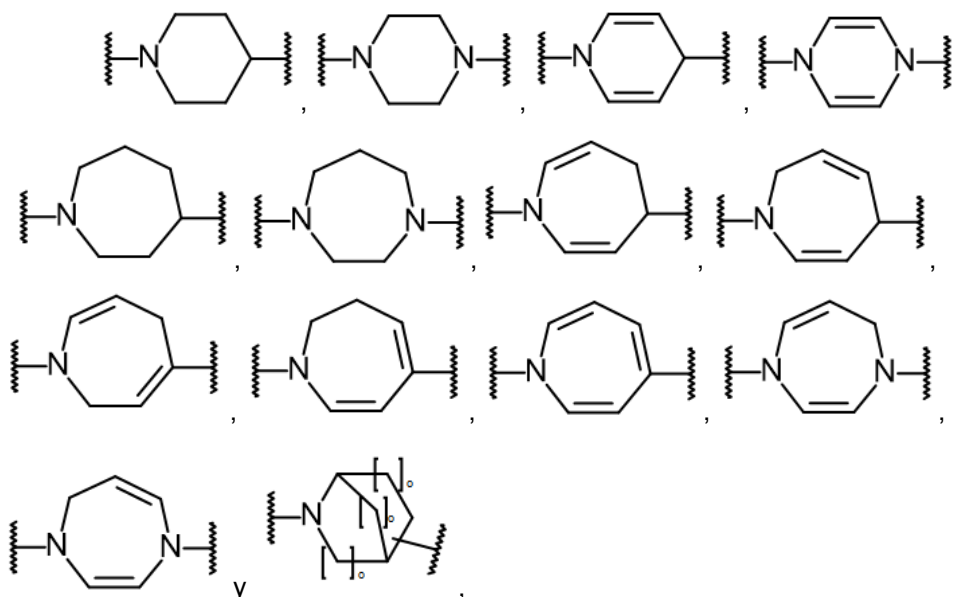
 está unido a la posición 1, 2 o 3, preferiblemente a la posición 2;

l es 1 o 2;

opcionalmente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con un alquilo de

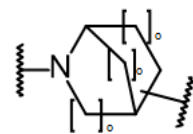
C₁₋₆; y/o

(ii) el heterociclo que contiene N comprendido en B se selecciona del grupo que consiste en:



opcionalmente en donde el heterociclo que contiene N está sustituido con un alquilo de

C₁₋₆;

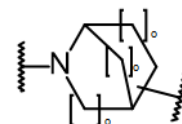


en donde si el heterociclo que contiene N comprendido en B es

el heterociclo opcionalmente comprende además 1 o 2 heteroátomos seleccionados de O, N y S, opcionalmente comprende además 1 nitrógeno, opcionalmente comprende una o más cadenas laterales (por ejemplo, derivadas de aminoácidos);

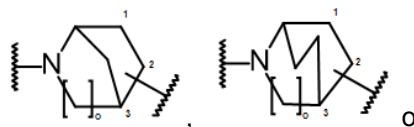
 está unido a la posición 1, 2 o 3, preferiblemente a la posición 2;

o es 1 o 2,



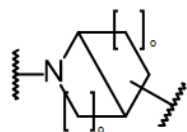
preferiblemente, si el heterociclo que contiene N comprendido en B es

el heterociclo que contiene N comprendido en B es

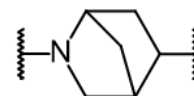
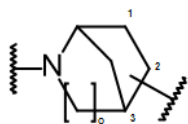


o

5



; más preferiblemente, si el heterociclo que contiene N comprendido en B es



10

, el heterociclo que contiene N comprendido en B es

o



7. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos anteriores, en donde

15

Q, R, U están ausentes;

V es C=O;

W es NH;

Y es CH₂;

Z es C=O;

20

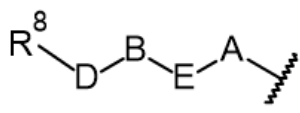
R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -H y halo:

R³ es -CN;

R⁵ y R⁶ son H;

25

R⁷ es



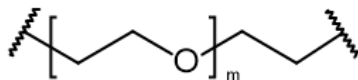
, en donde

D está ausente;

A es O, S, CH₂, NH, NCH₃;

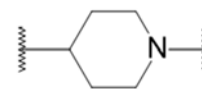
30

E es alquilo de C₁₋₆ o

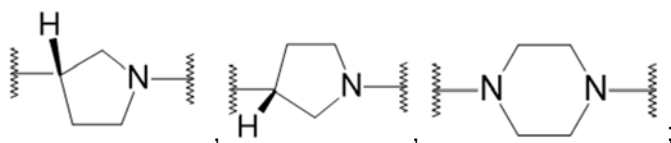


, en donde m es 1, 2, o 3; o

A y E juntos forman un grupo seleccionado de:



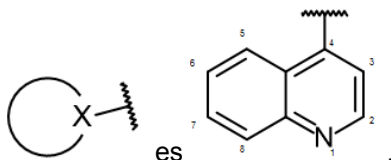
35



B es NH-alquilo de C₁₋₆,



, opcionalmente B está sustituido con un alquilo de C₁₋₃; y



8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos anteriores, en donde el alquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo y hexilo, y/o

en donde el aralquilo de C₁₋₆ se selecciona del grupo que consiste en bencilo, fenil-etilo, fenil-propilo y fenil-butilo.

9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos anteriores, en donde R⁸ es una porción radiactiva, en donde la porción radiactiva es un isótopo fluorescente, un radioisótopo, un fármaco radiactivo o combinaciones de los mismos, preferiblemente en donde la porción radiactiva se selecciona del grupo que consiste en isótopos emisores de radiación alfa, isótopos emisores de radiación beta, isótopos emisores de radiación gamma, isótopos emisores de electrones Auger, isótopos emisores de rayos X, isótopos emisores de fluorescencia, como ¹¹C, ¹⁸F, ⁵¹Cr, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ¹¹¹In, ^{99m}Tc, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹³⁹La, ¹⁴⁰La, ¹⁷⁵Yb, ¹⁵³Sm, ¹⁶⁶Ho, ⁸⁸Y, ⁹⁰Y, ¹⁴⁹Pm, ¹⁶⁵Dy, ¹⁶⁹Er, ¹⁷⁷Lu, ⁴⁷Sc, ¹⁴²Pr, ¹⁵⁹Gd, ²¹²Bi, ²¹³Bi, ⁷²As, ⁷²Se, ⁹⁷Ru, ¹⁰⁹Pd, ¹⁰⁵Rh, ^{101m}Rh, ¹¹⁹Sb, ¹²⁸Ba, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹³¹I, ¹⁹⁷Hg, ²¹¹At, ¹⁵¹Eu, ¹⁵³Eu, ¹⁶⁹Eu, ²⁰¹Tl, ²⁰³Pb, ²¹²Pb, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ¹⁸⁸Re, ¹⁸⁶Re, ¹⁹⁸Au, ²²⁵Ac, ²²⁷Th y ¹⁹⁹Ag, preferiblemente ¹⁸F, ⁶⁴Cu, ⁶⁸Ga, ⁹⁰Y, ^{99m}Tc, ¹⁵³Sm, ¹⁷⁷Lu, ¹⁸⁸Re.

10. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los elementos 1 a 8, en donde R⁸ es un colorante fluorescente seleccionado del grupo formado por las siguientes clases de colorantes fluorescentes: Xantenos, acridinas, oxazinas, cininas, colorantes de estililo, cumarinas, porfinas, complejos de ligandos metálicos, proteínas fluorescentes, nanocristales, perilenos, dipirrometenos de boro y ftalocianinas, así como conjugados y combinaciones de estas clases de colorantes.

11. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos 1 a 8, en donde R⁸ es un agente quelante que forma un complejo con cationes metálicos divalentes o trivalentes, preferiblemente en donde el agente quelante se selecciona del grupo que consiste en ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N,N'-tetraacético (DOTA), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido 1,4,7-triazaciclononano-1,4,7-triacético (NOTA), trietilentetramina (TETA), ácido iminodiacético, ácido dietilentriamina-N,N',N',N''-pentaacético (DTPA), bis-(carboximetilimidazol)glicina y ácido 6-Hidrazinopiridin-3-carboxílico (HYNIC).

12. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos 1 a 8, en donde R⁸ es un agente de contraste que comprende o consiste en un agente paramagnético, preferiblemente, en donde el agente paramagnético comprende o consiste en nanopartículas paramagnéticas.

13. La composición farmacéutica que comprende o que consiste en al menos un compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos 1 a 12; y, opcionalmente, un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

14. El compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos 1 a 12 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13 para usarse en el diagnóstico o tratamiento de una enfermedad caracterizada por sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) en un animal o un sujeto humano, preferiblemente en donde la enfermedad caracterizada por la sobreexpresión de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) se selecciona del grupo que consiste en cáncer, inflamación crónica, aterosclerosis, fibrosis, remodelación de tejidos y trastorno queloide, preferiblemente en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de intestino delgado, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de ovario, carcinoma hepatocelular, cáncer de esófago, cáncer de hipofaringe, cáncer de nasofaringe, cáncer de laringe, células de mieloma, cáncer de vejiga, carcinoma de colangiocelular, carcinoma renal de células claras, tumor neuroendocrino, osteomalacia oncogénica, sarcoma, CUP (carcinoma de origen primario desconocido), carcinoma de timo, tumores desmoides, glioma, astrocitoma, carcinoma de cuello uterino y cáncer de próstata.

15. Un kit que comprende o consiste en el compuesto de acuerdo con cualquiera de los artículos 1 a 12 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13 e instrucciones para el diagnóstico o tratamiento de una enfermedad.

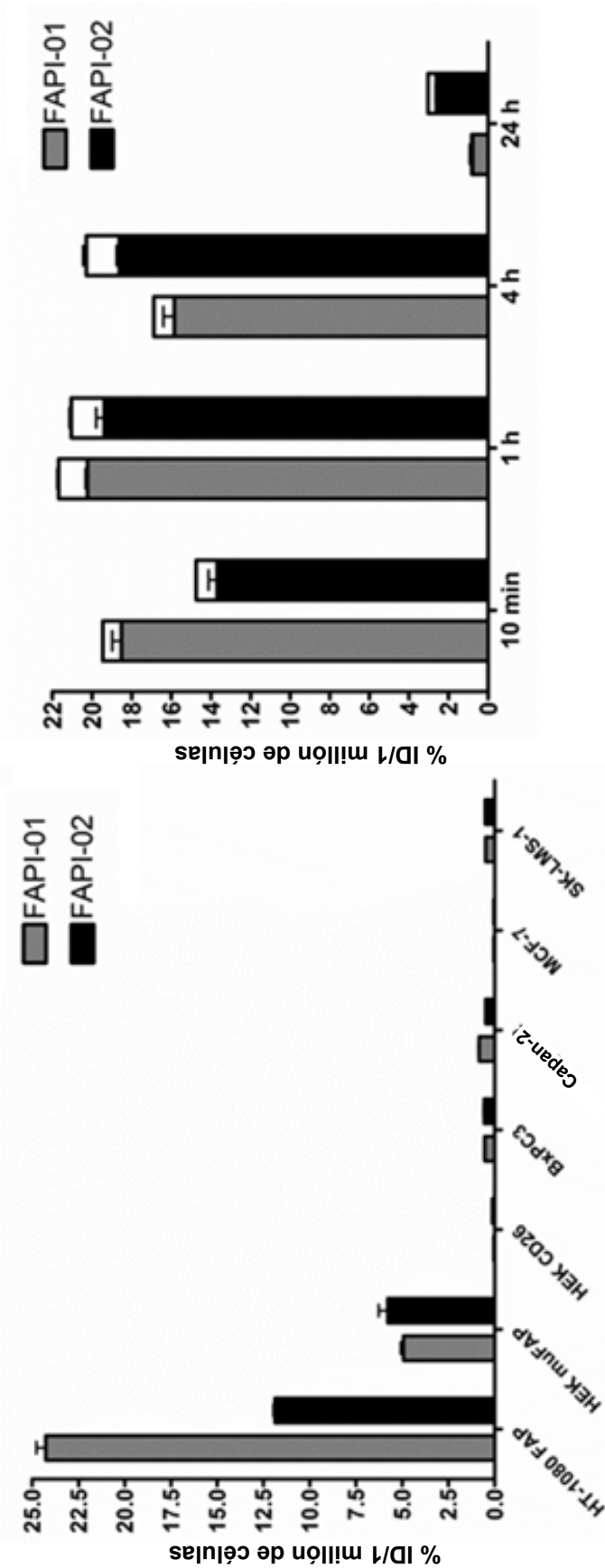


FIG. 1B

FIG. 1A

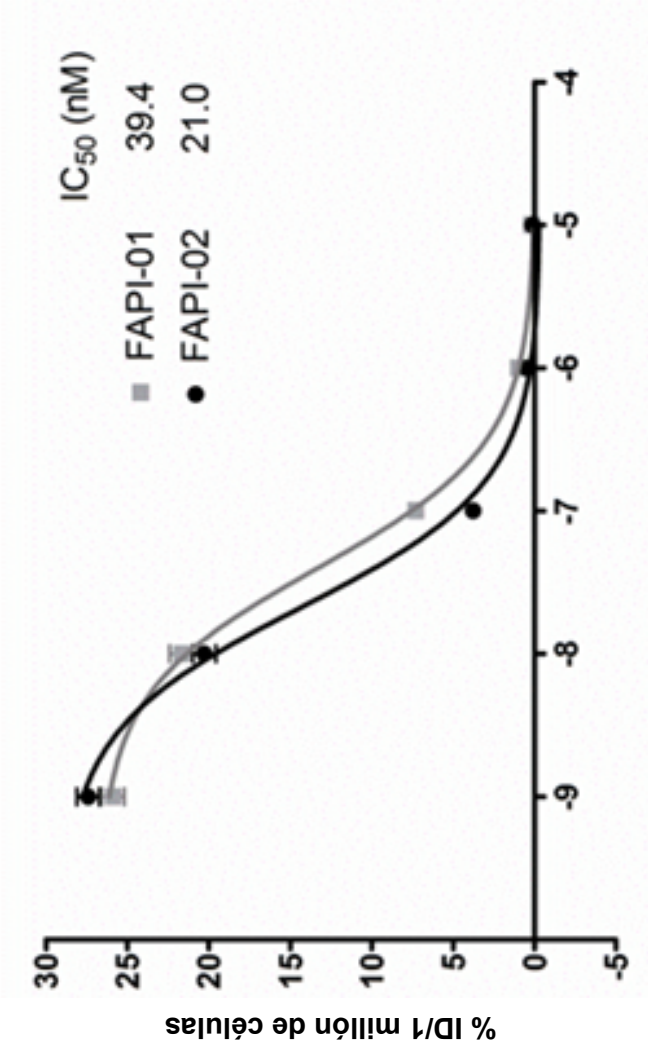


FIG. 1C

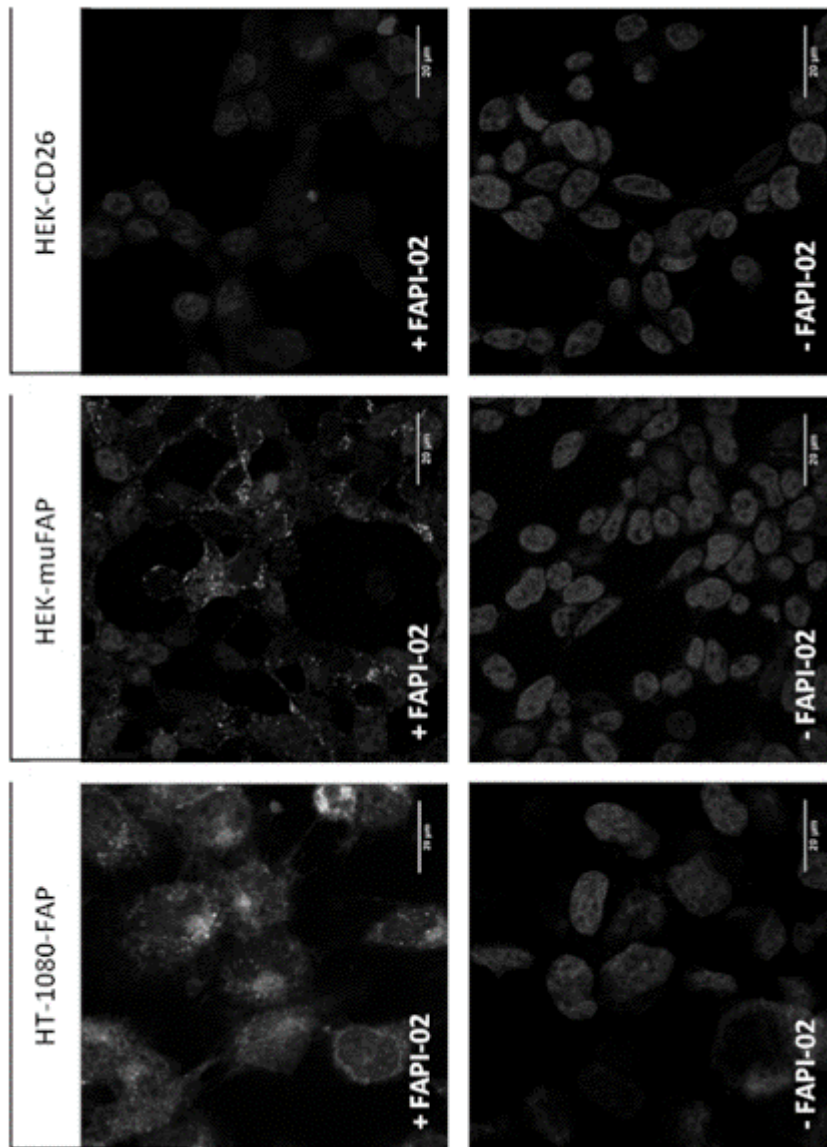


FIG. 1D

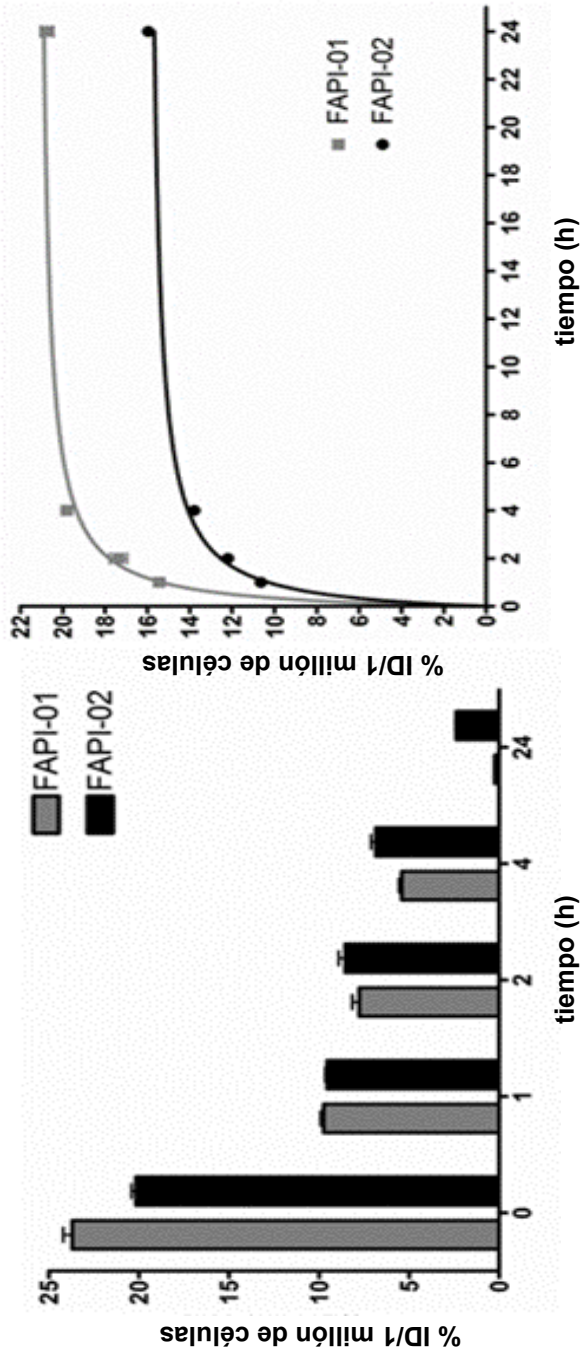


FIG. 1F

FIG. 1E

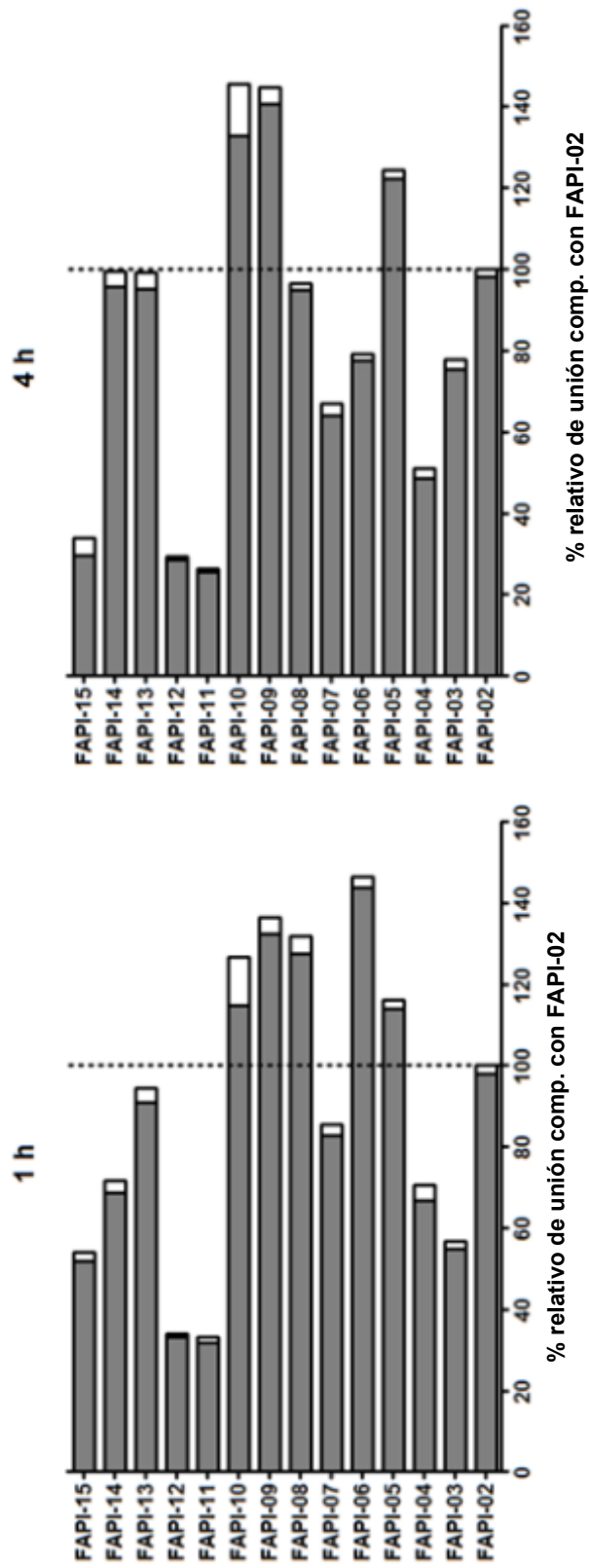


FIG. 2A

FIG. 2B

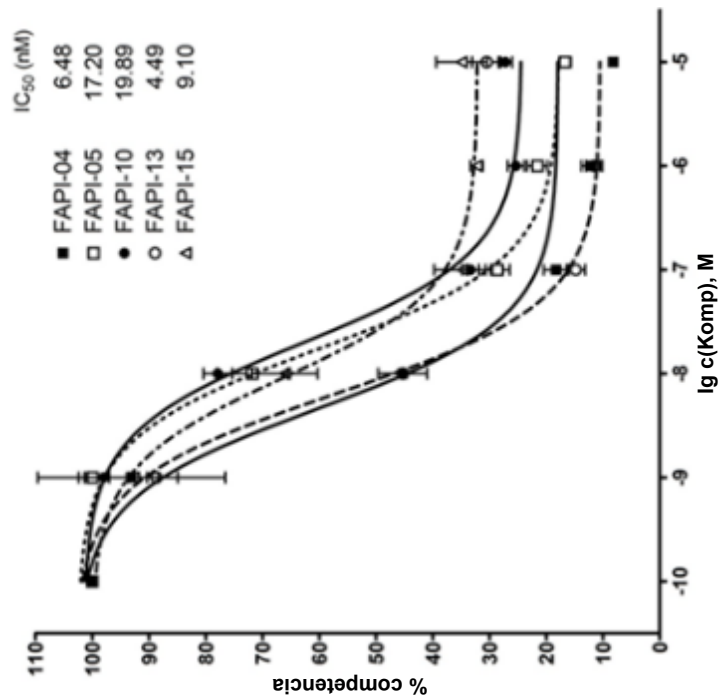


FIG. 2E

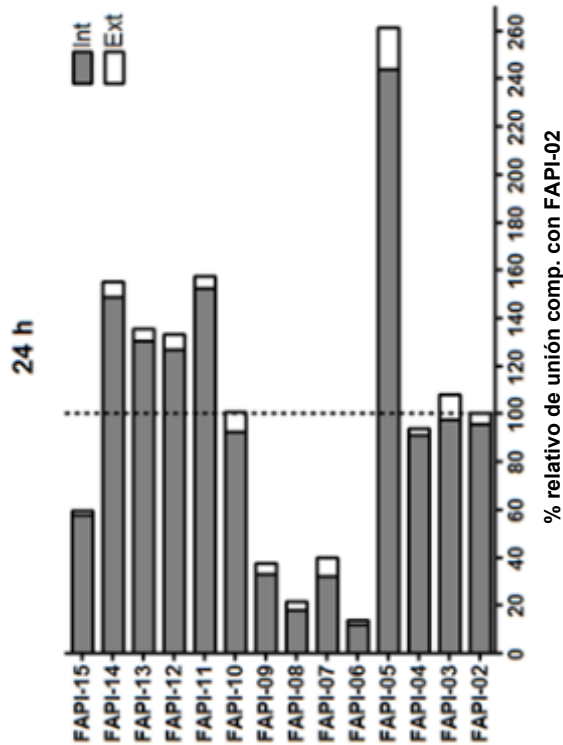


FIG. 2C

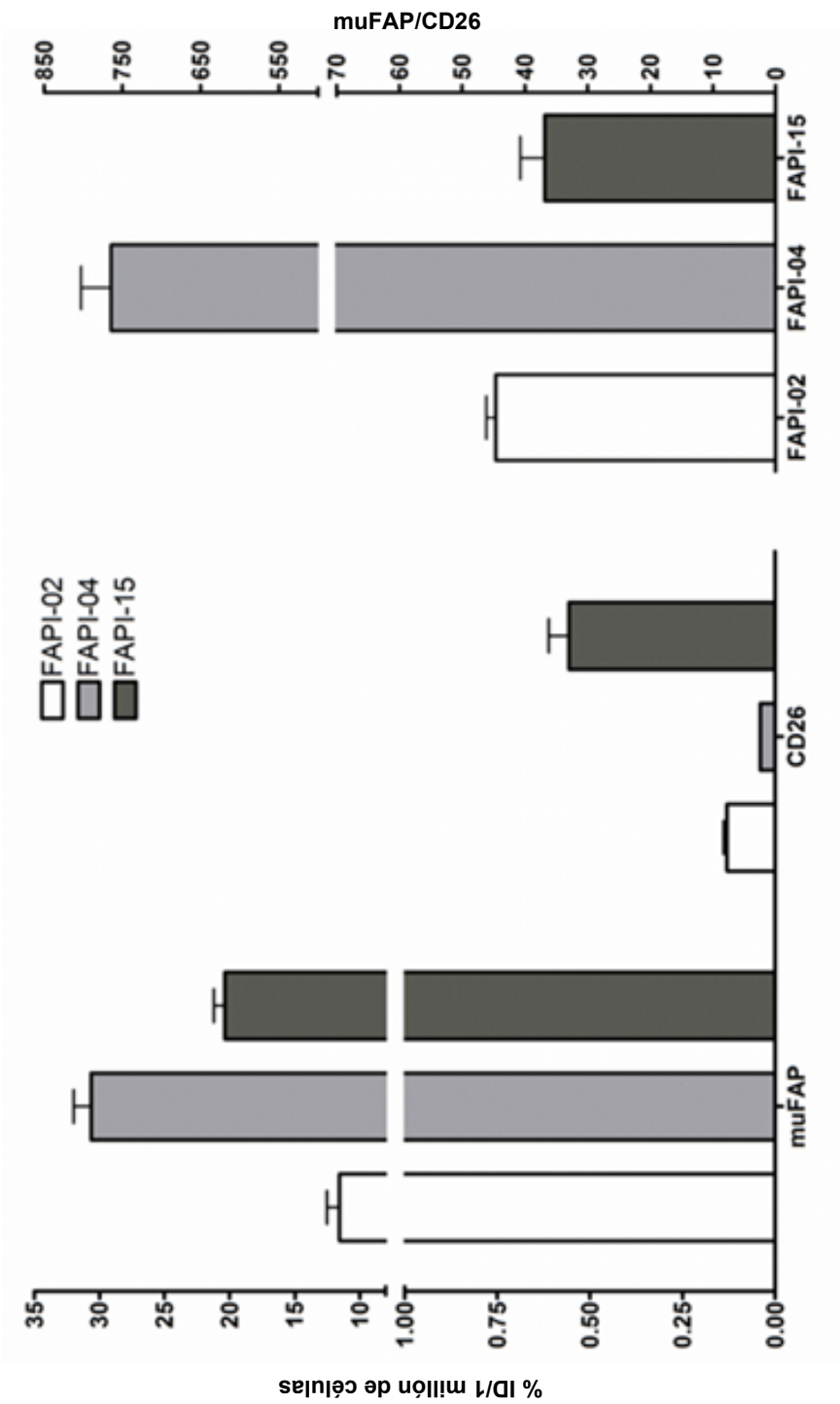
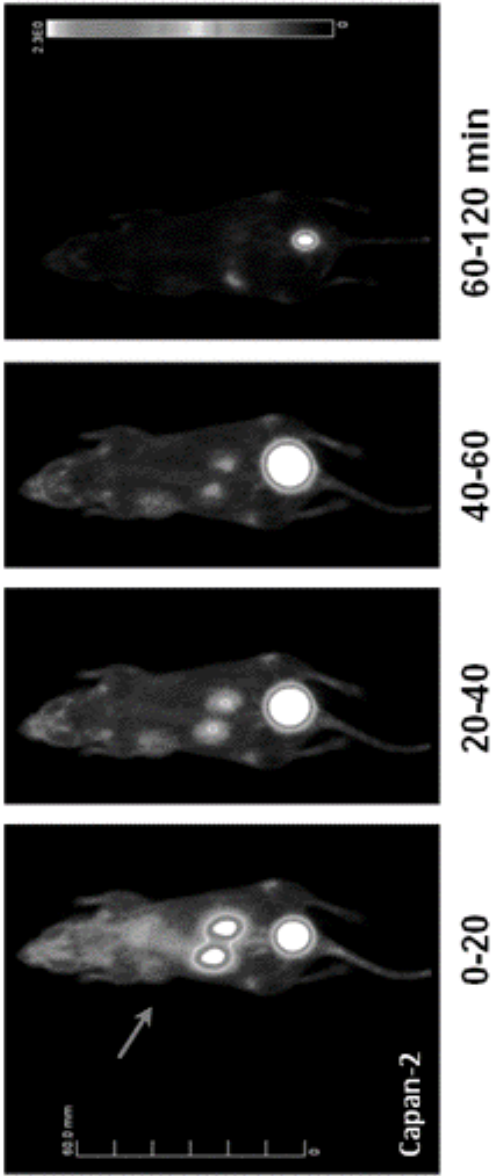


FIG. 2D



FAP1-02

FIG. 3A

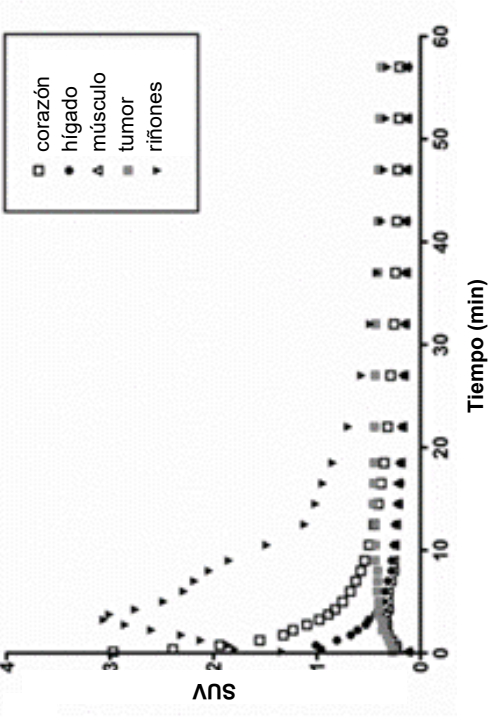


FIG. 3B

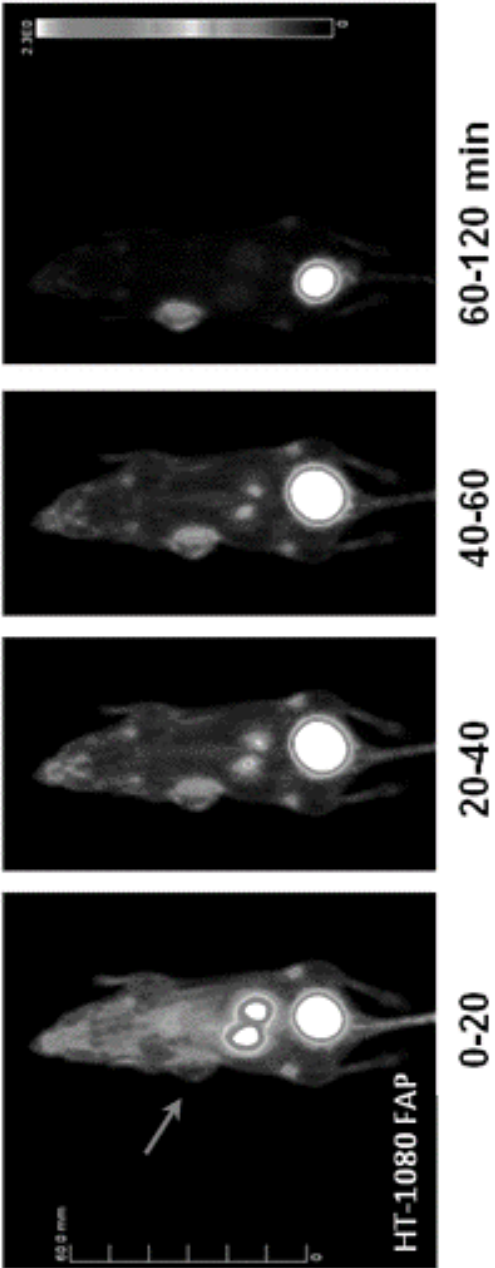


FIG. 3C

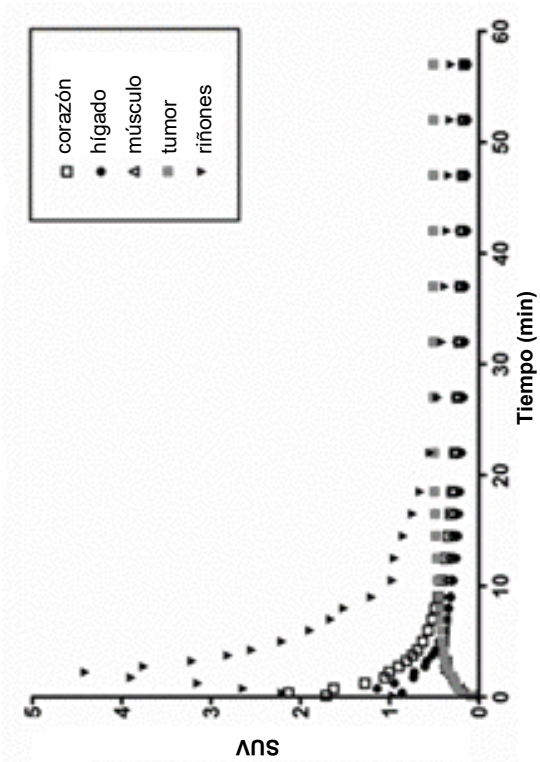


FIG. 3D

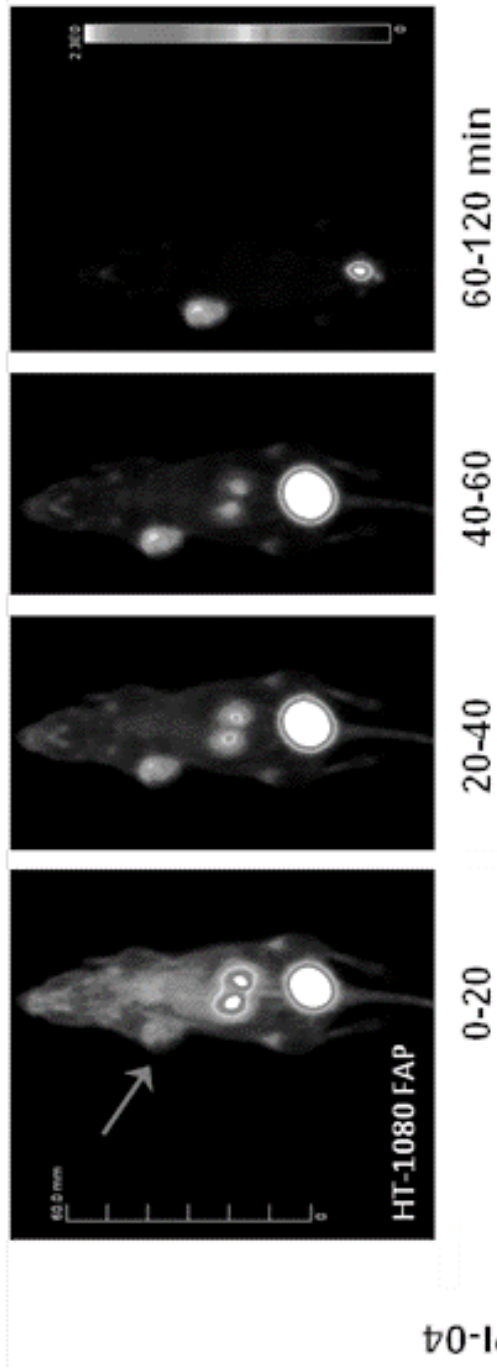


FIG. 3E

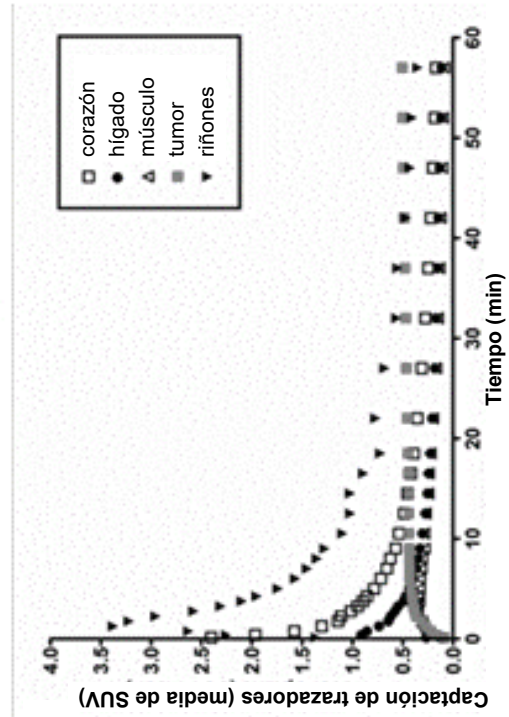


FIG. 3F

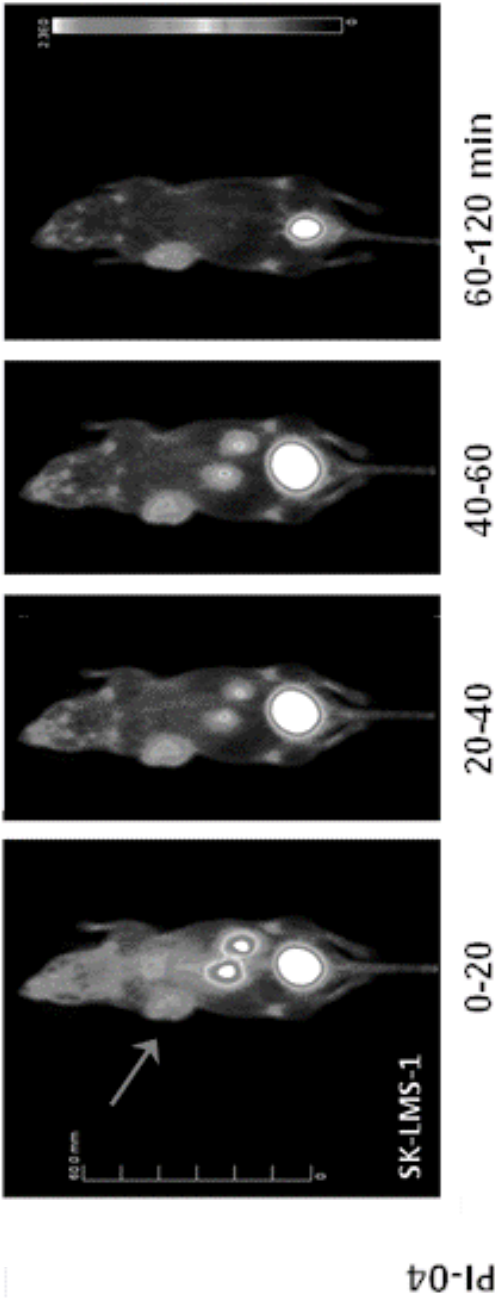


FIG. 3G

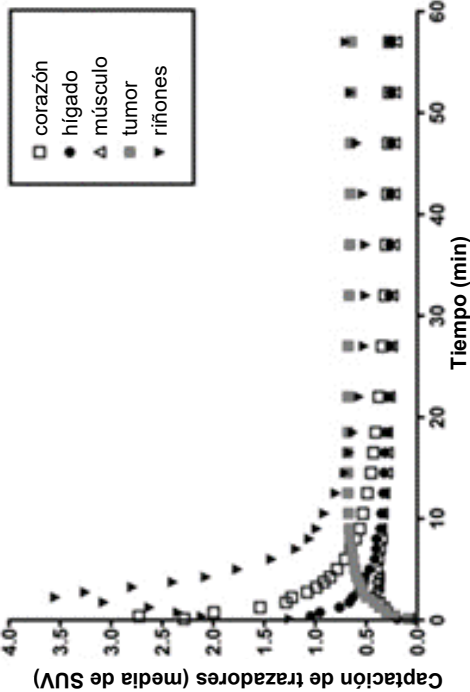


FIG. 3H

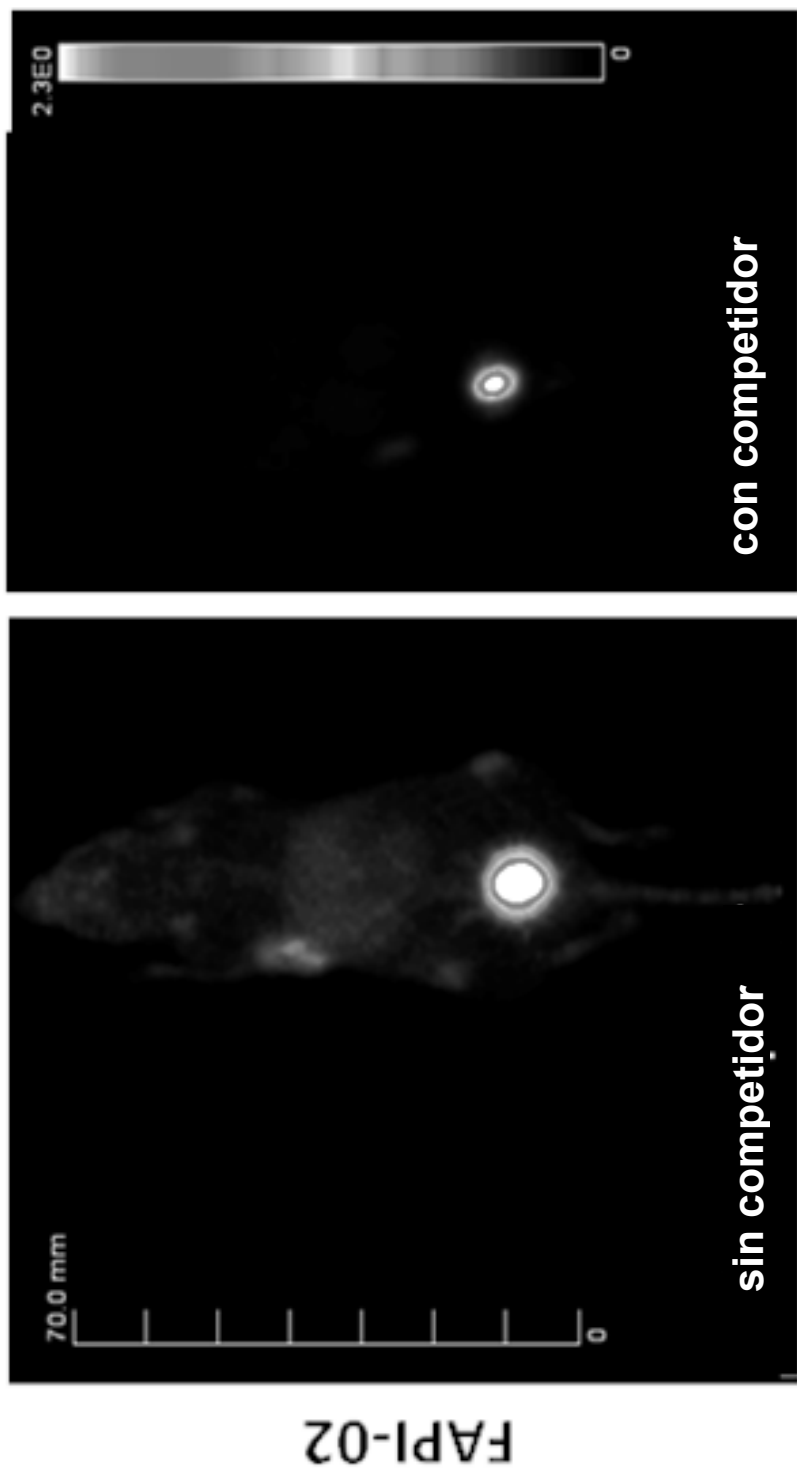
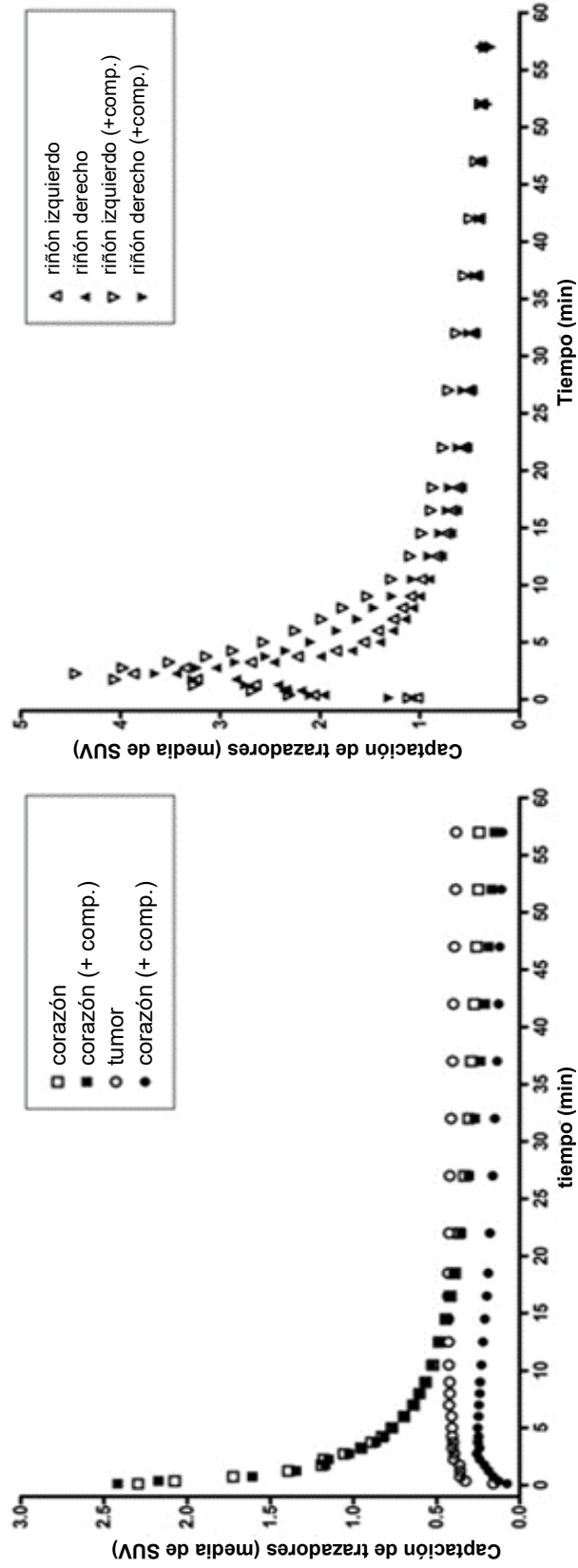


FIG. 4A



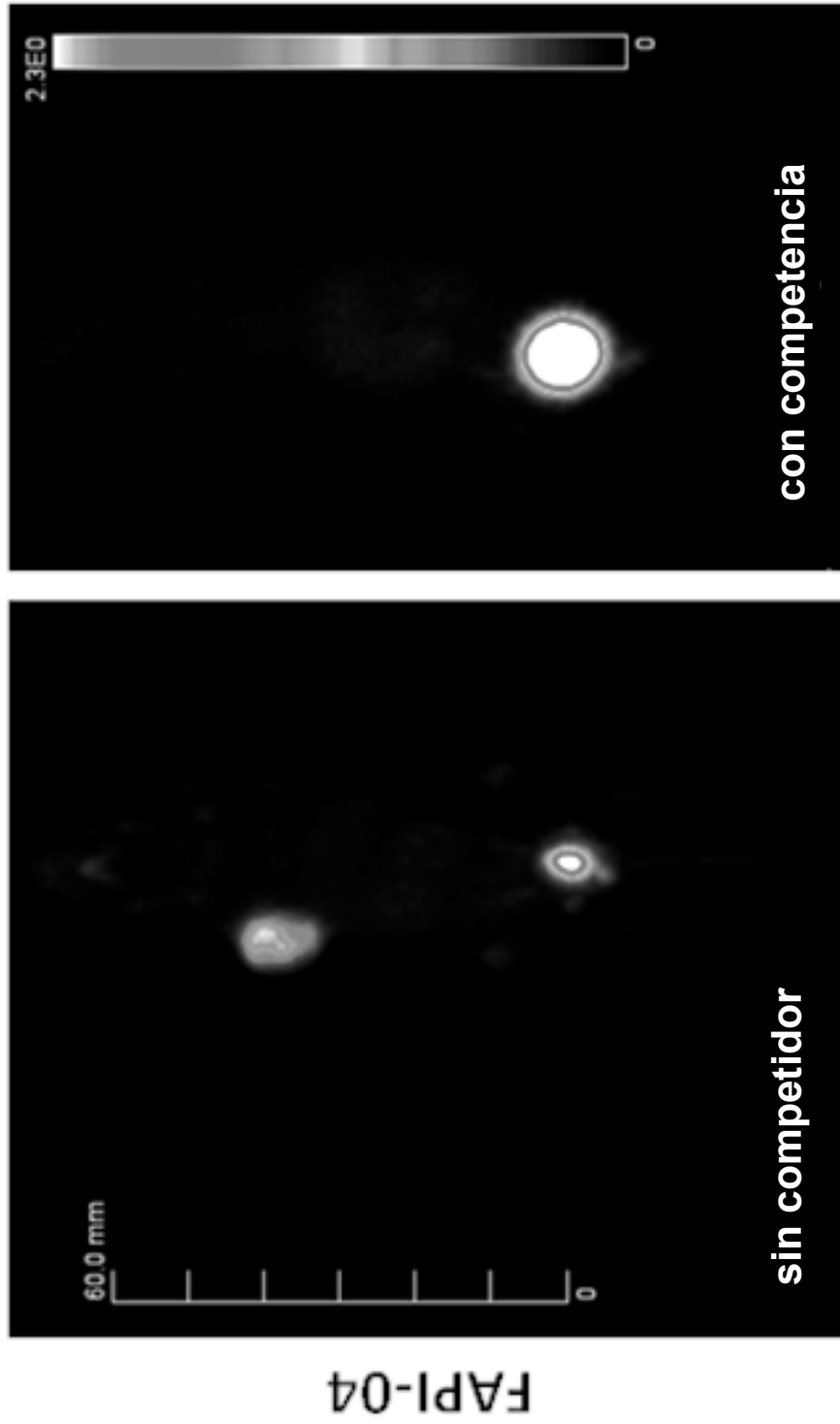


FIG. 4D

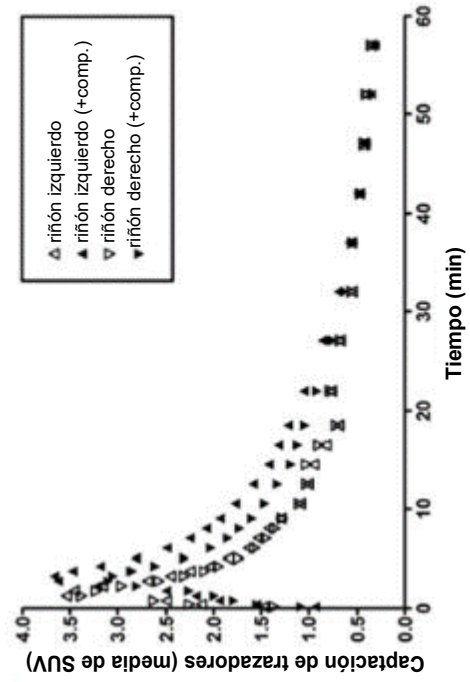


FIG. 4F

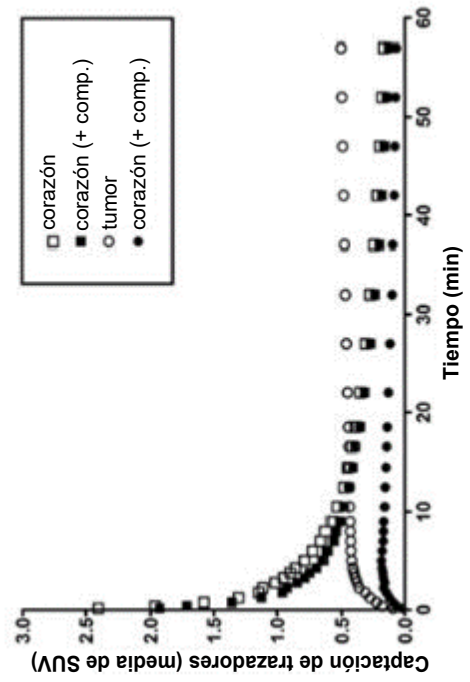


FIG. 4E

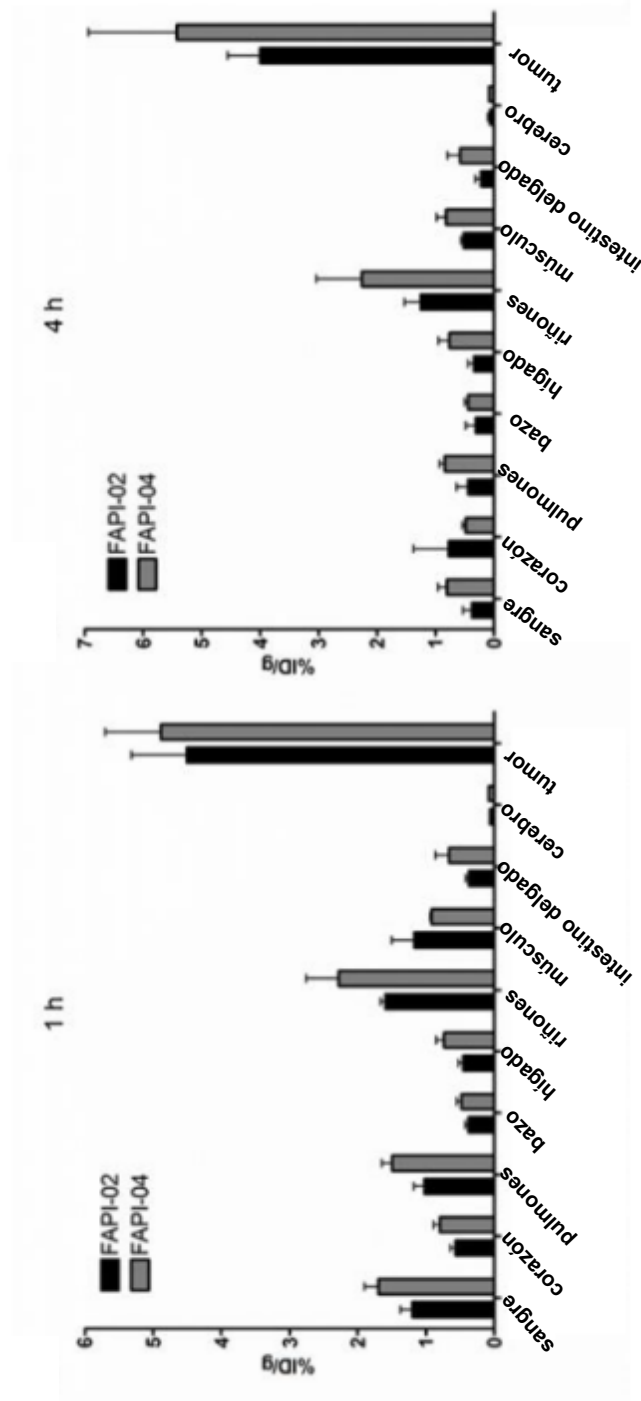


FIG. 5A

FIG. 5B

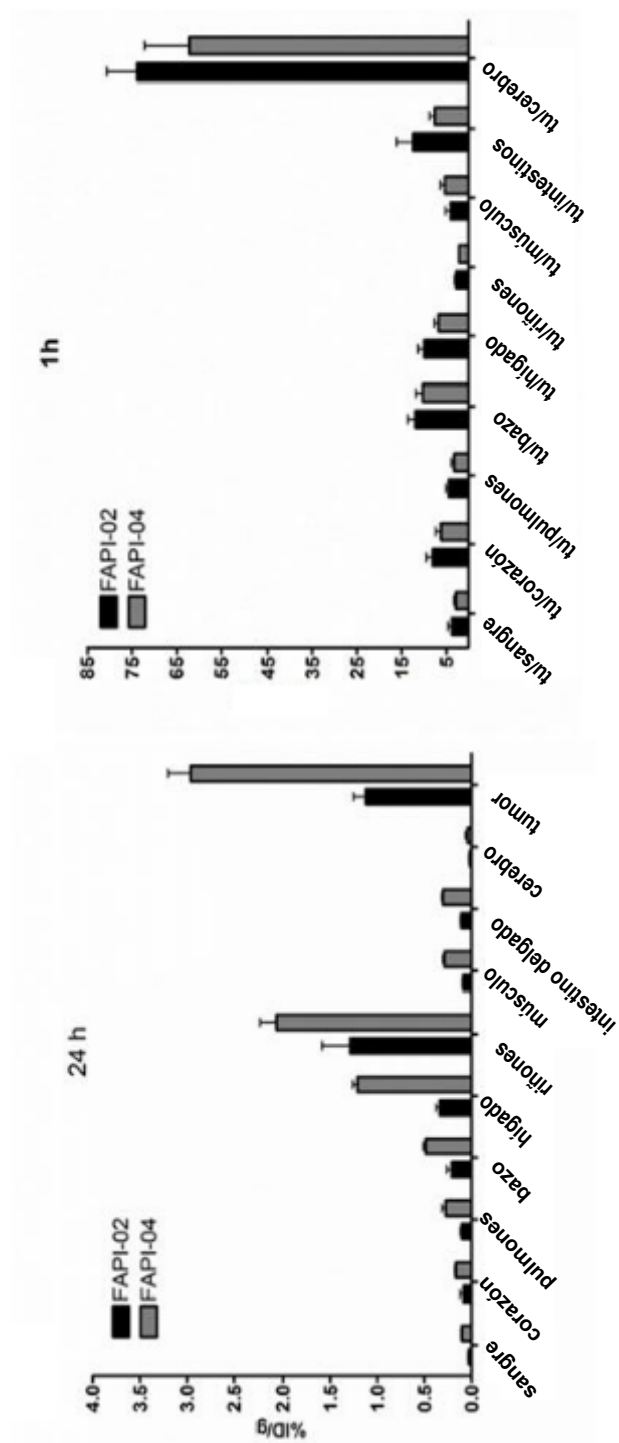


FIG. 5D

FIG. 5C

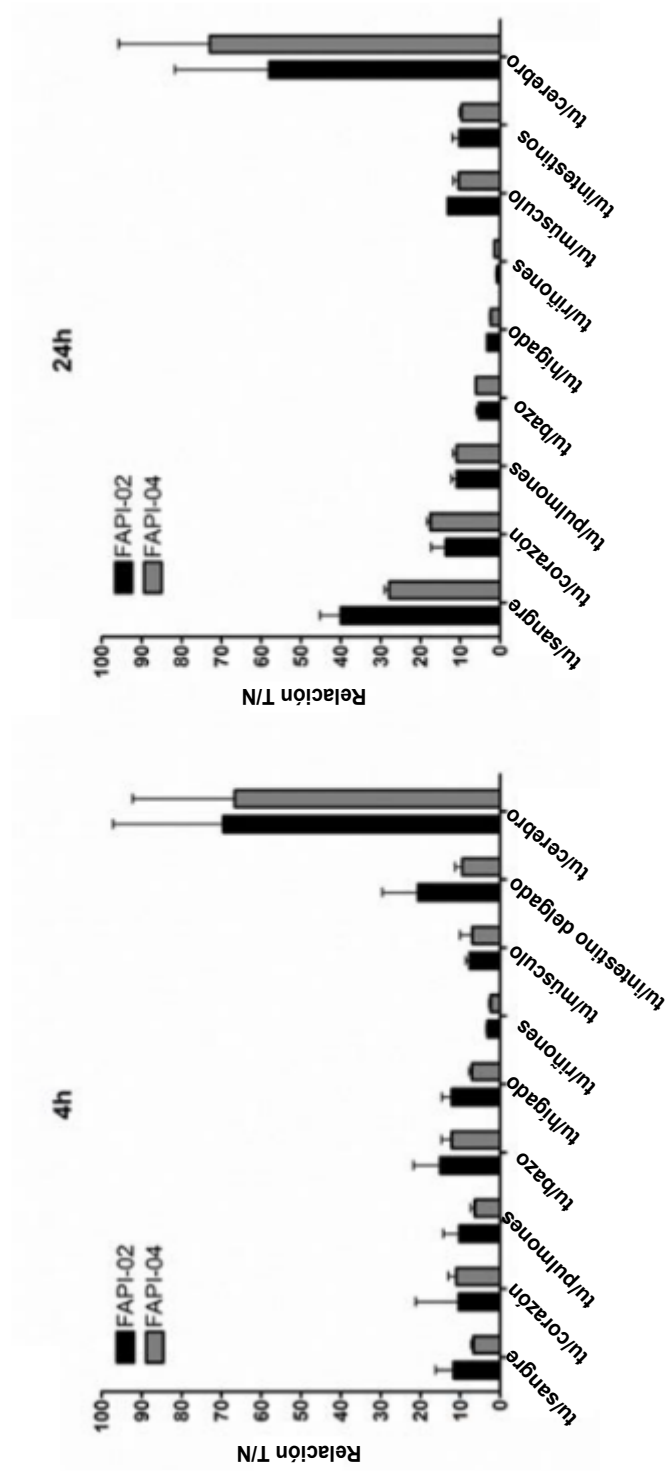
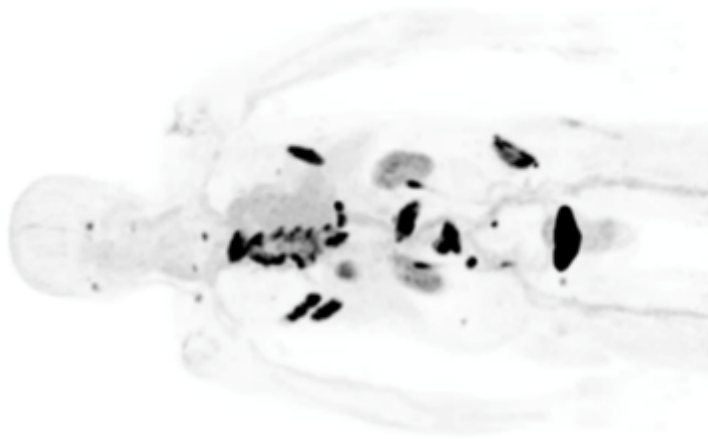


FIG. 5E

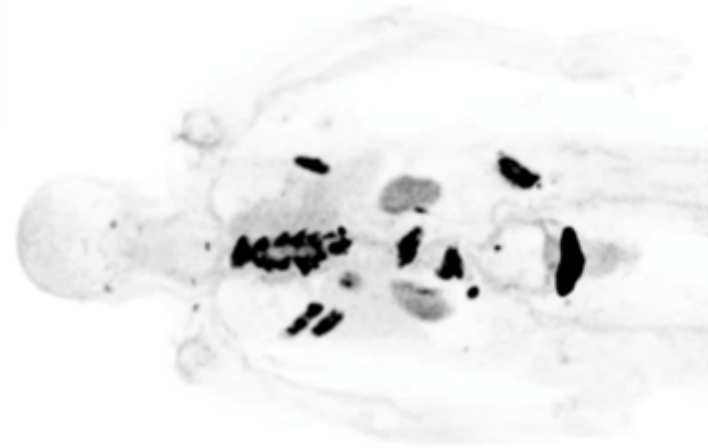
FIG. 5F

Cáncer de mama



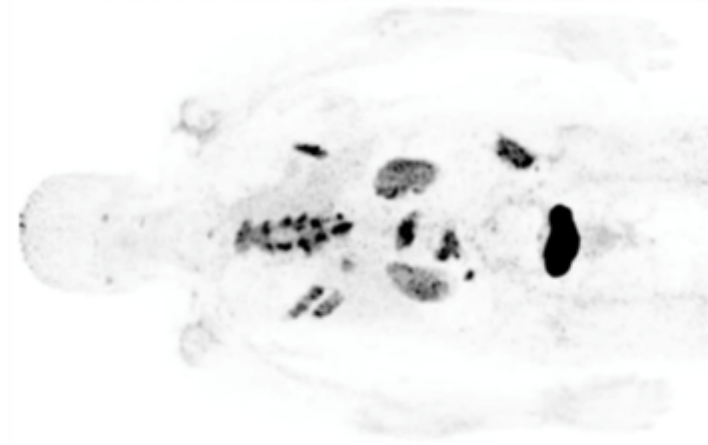
10 min

FIG. 6A



1 h

FIG. 6B



3 h

FIG. 6C

Cáncer de mama

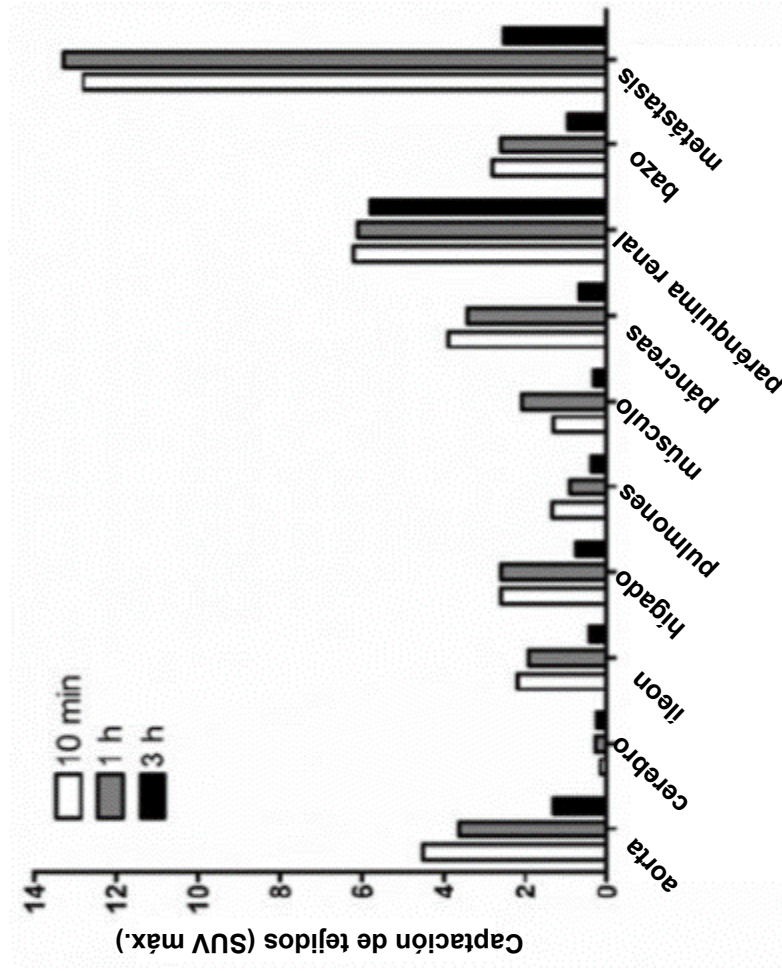


FIG. 6D

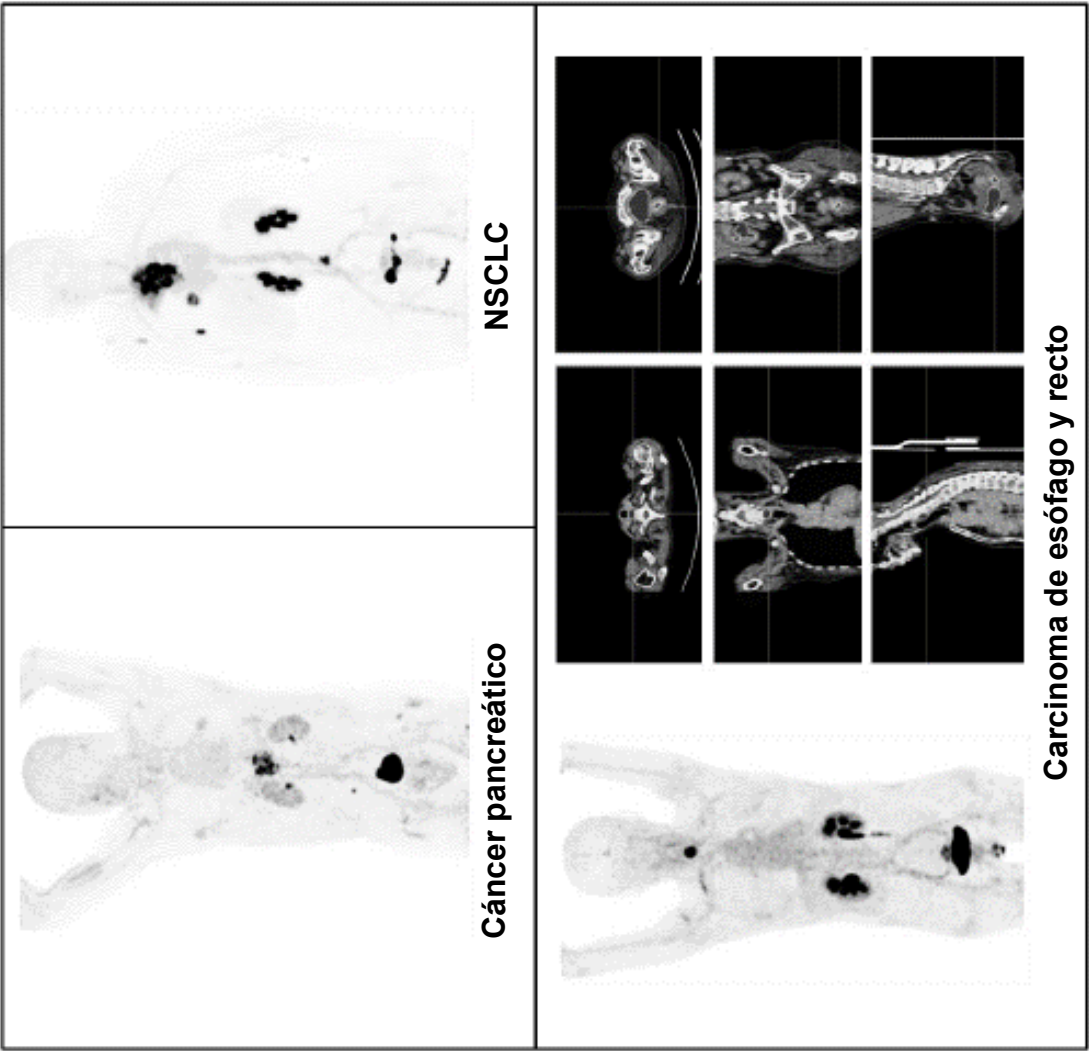


FIG. 7

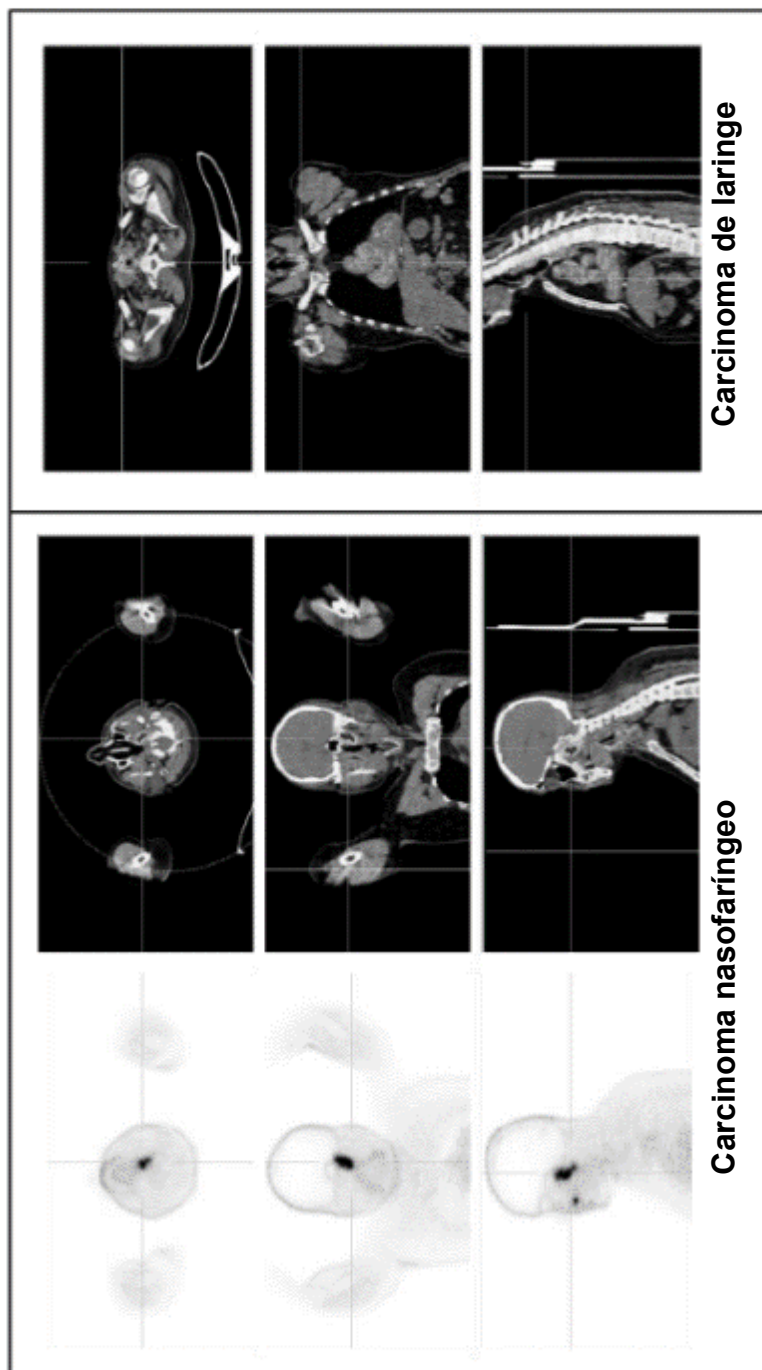


FIG. 8

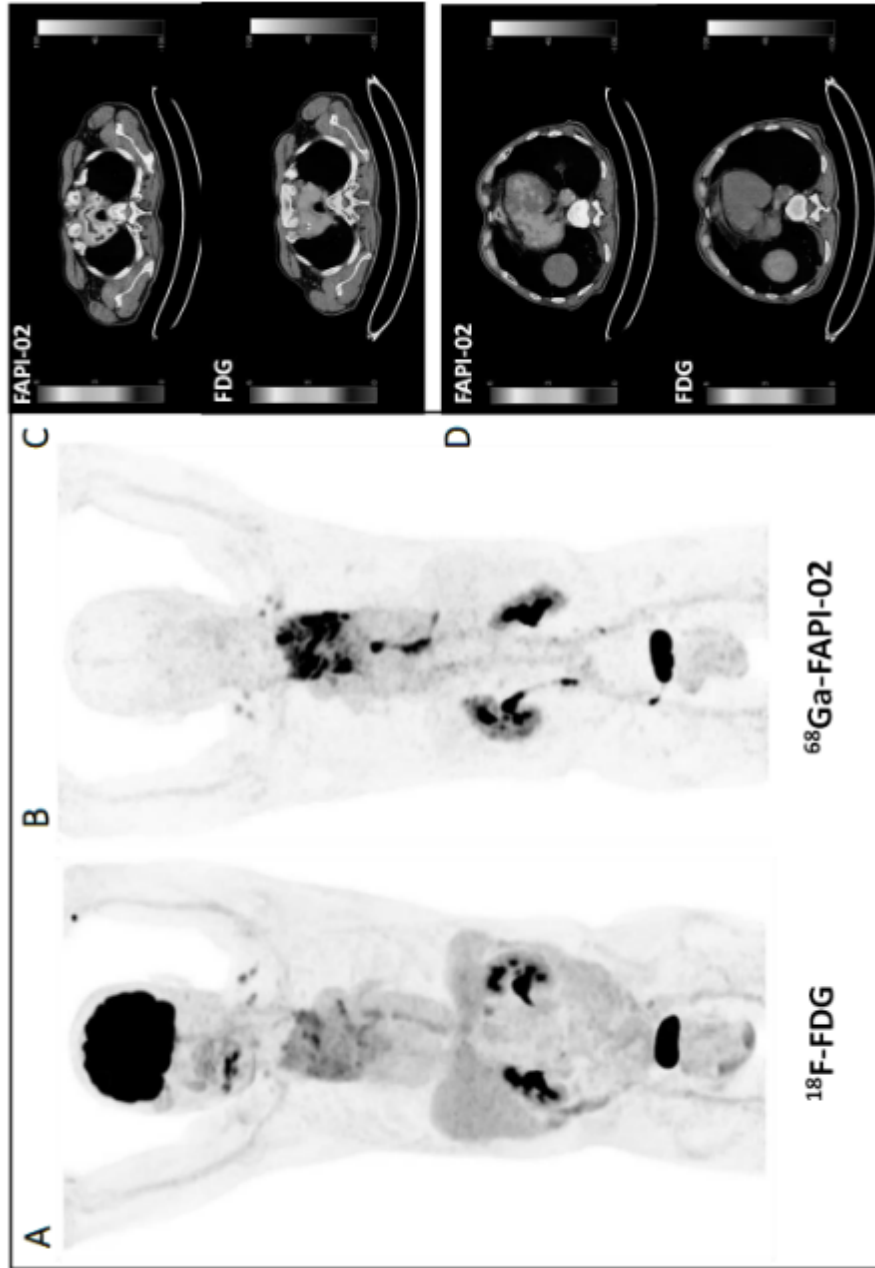


FIG. 9

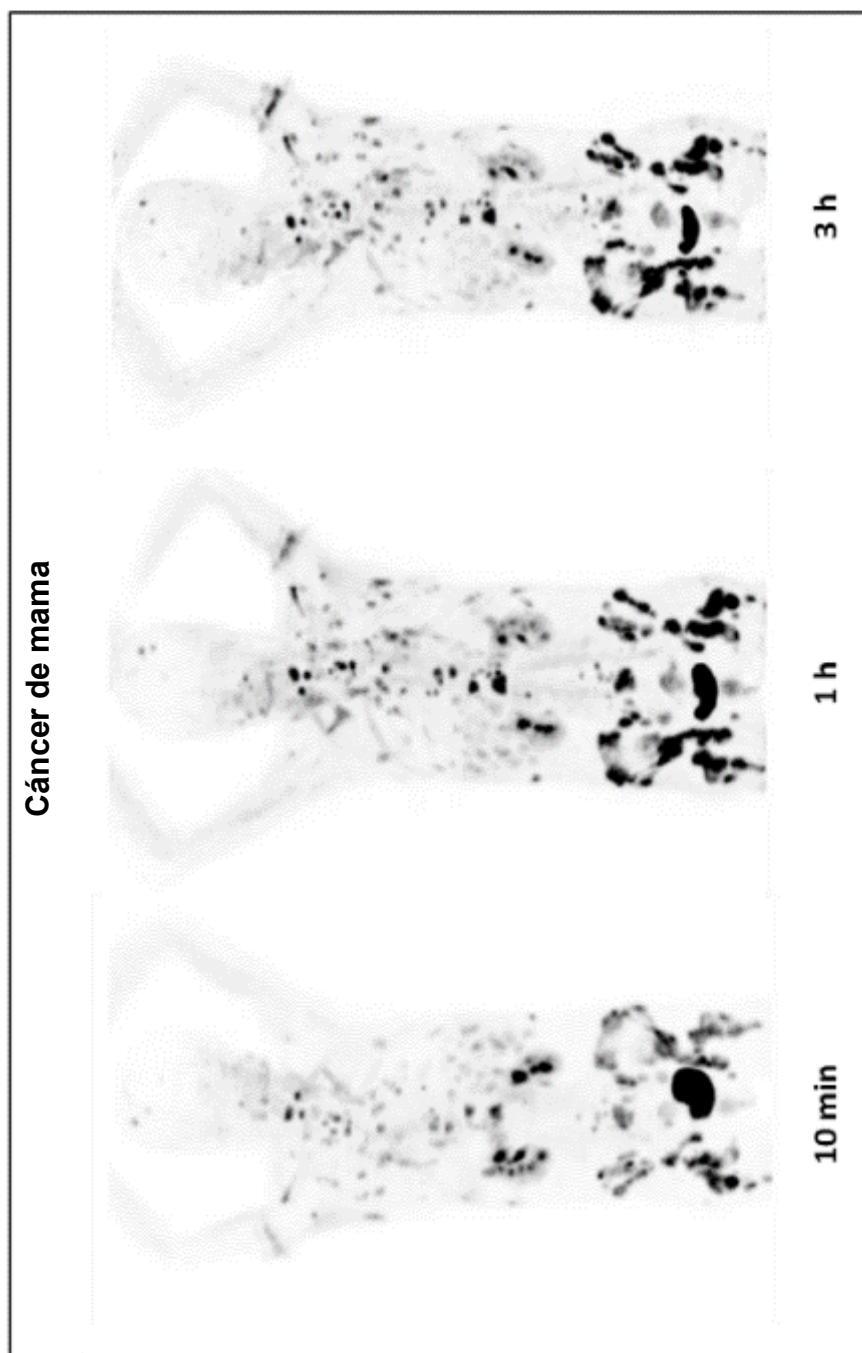


FIG. 10

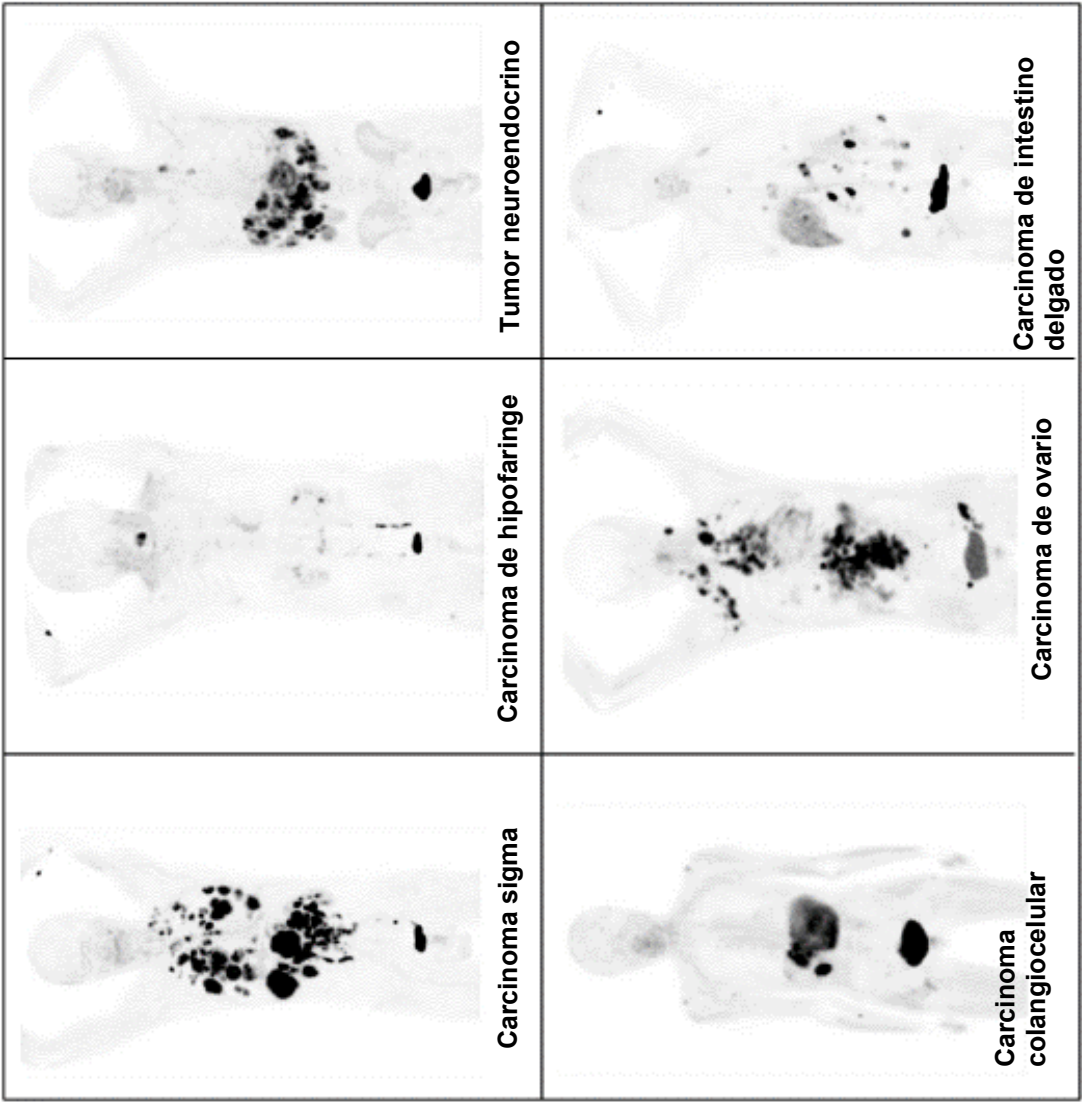
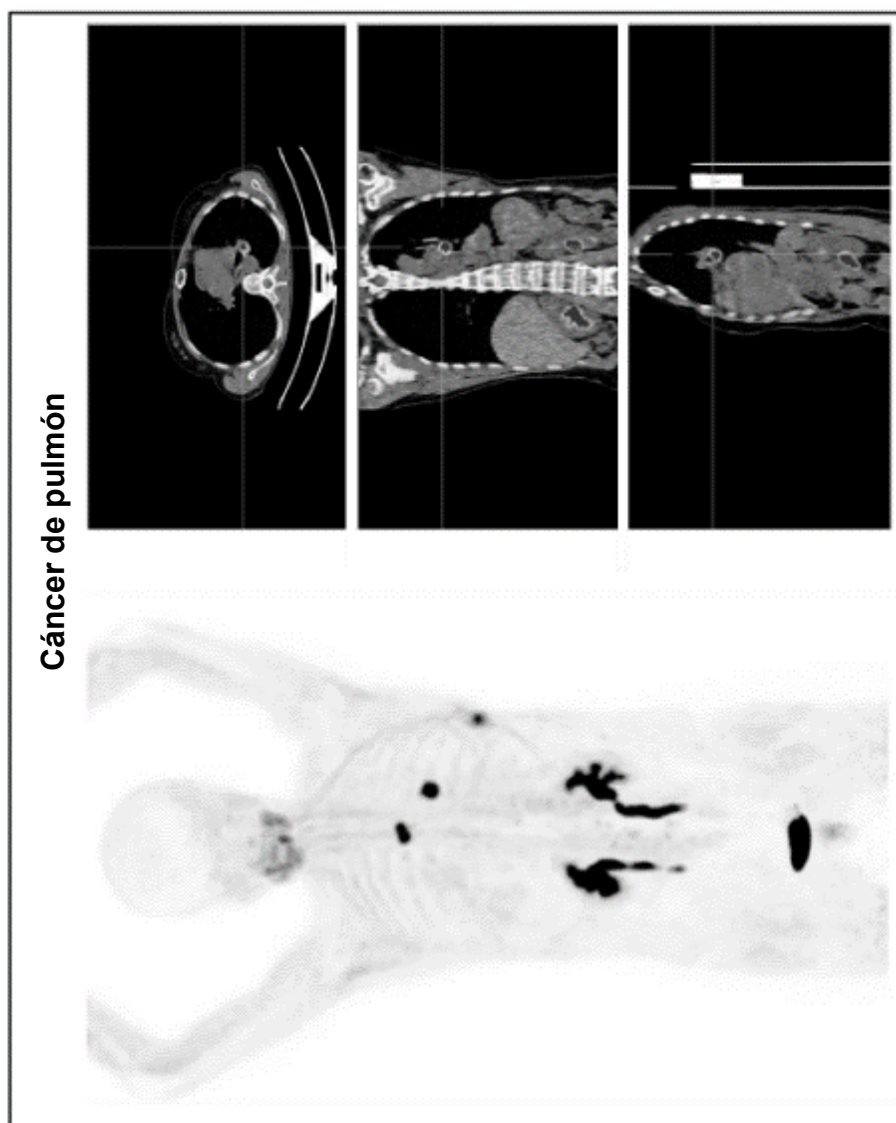


FIG. 11



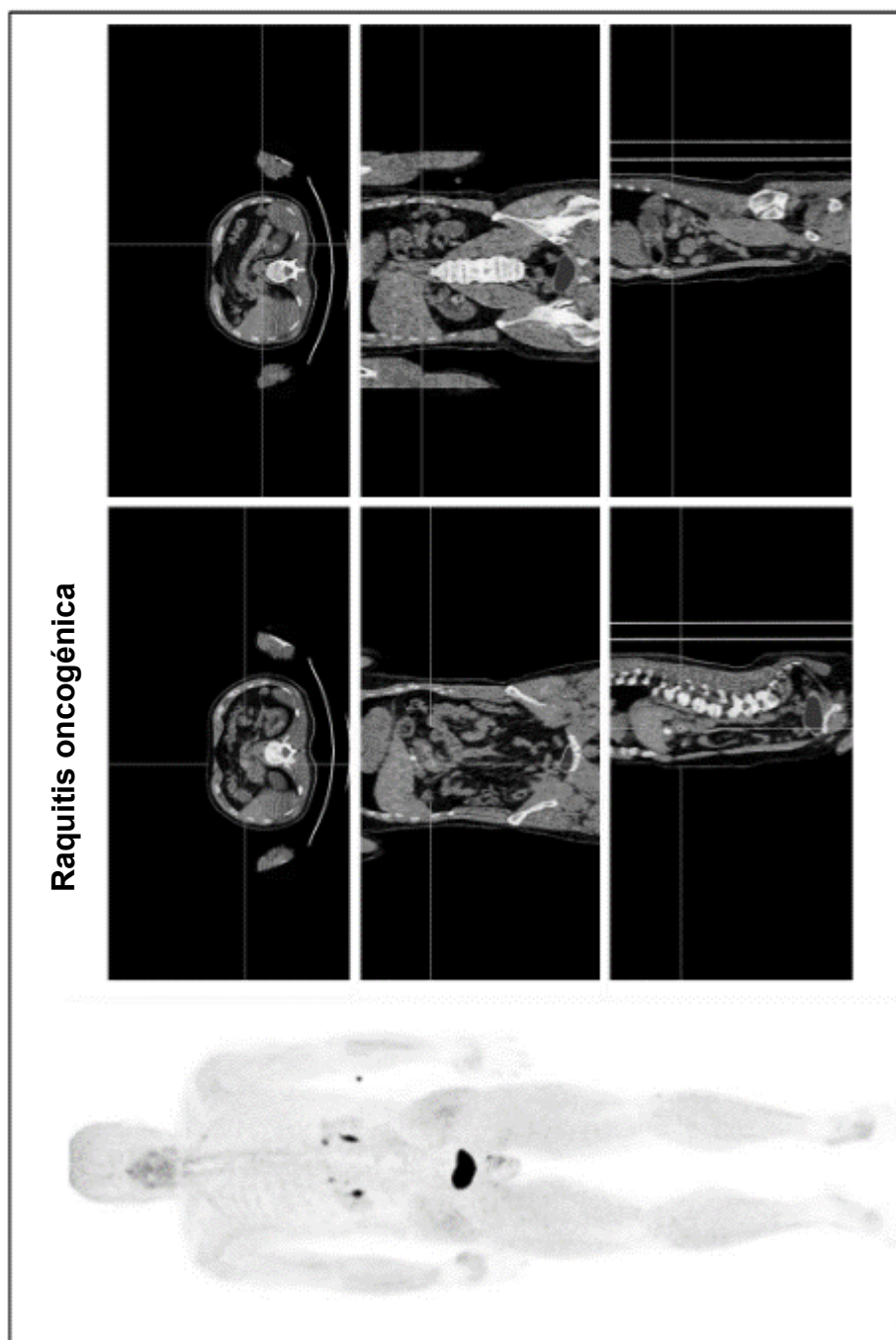


FIG. 13

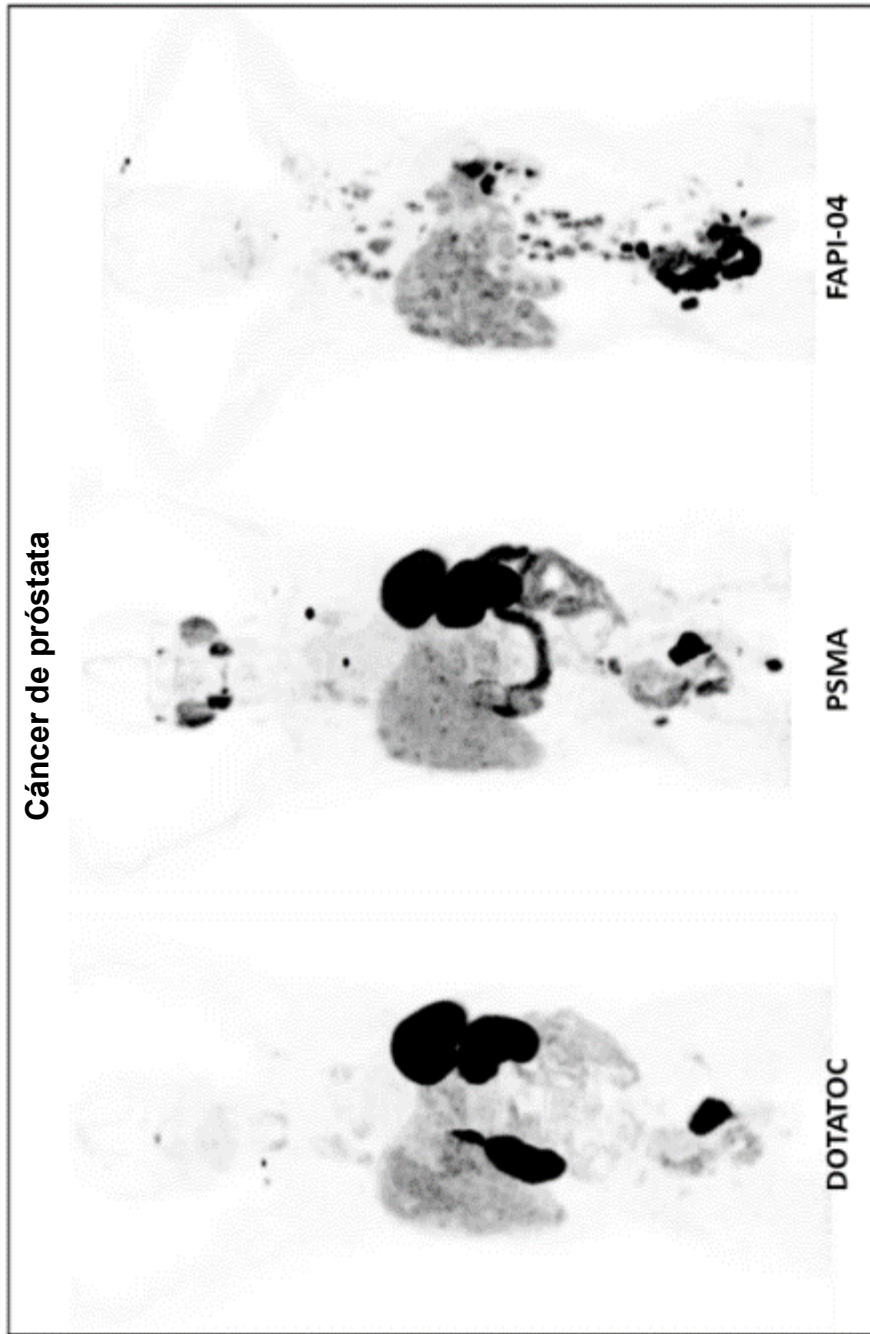


FIG. 14

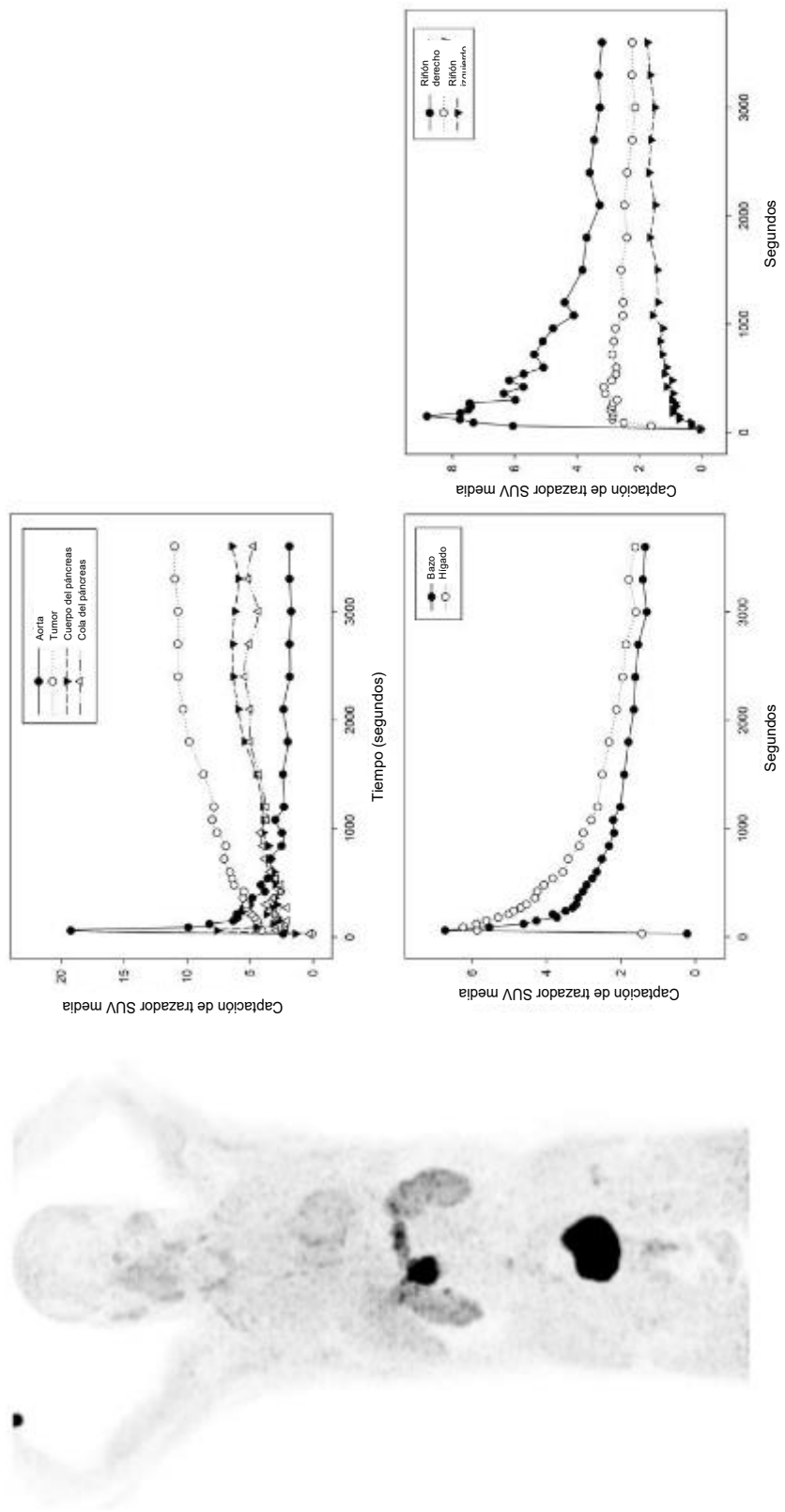


FIG. 15

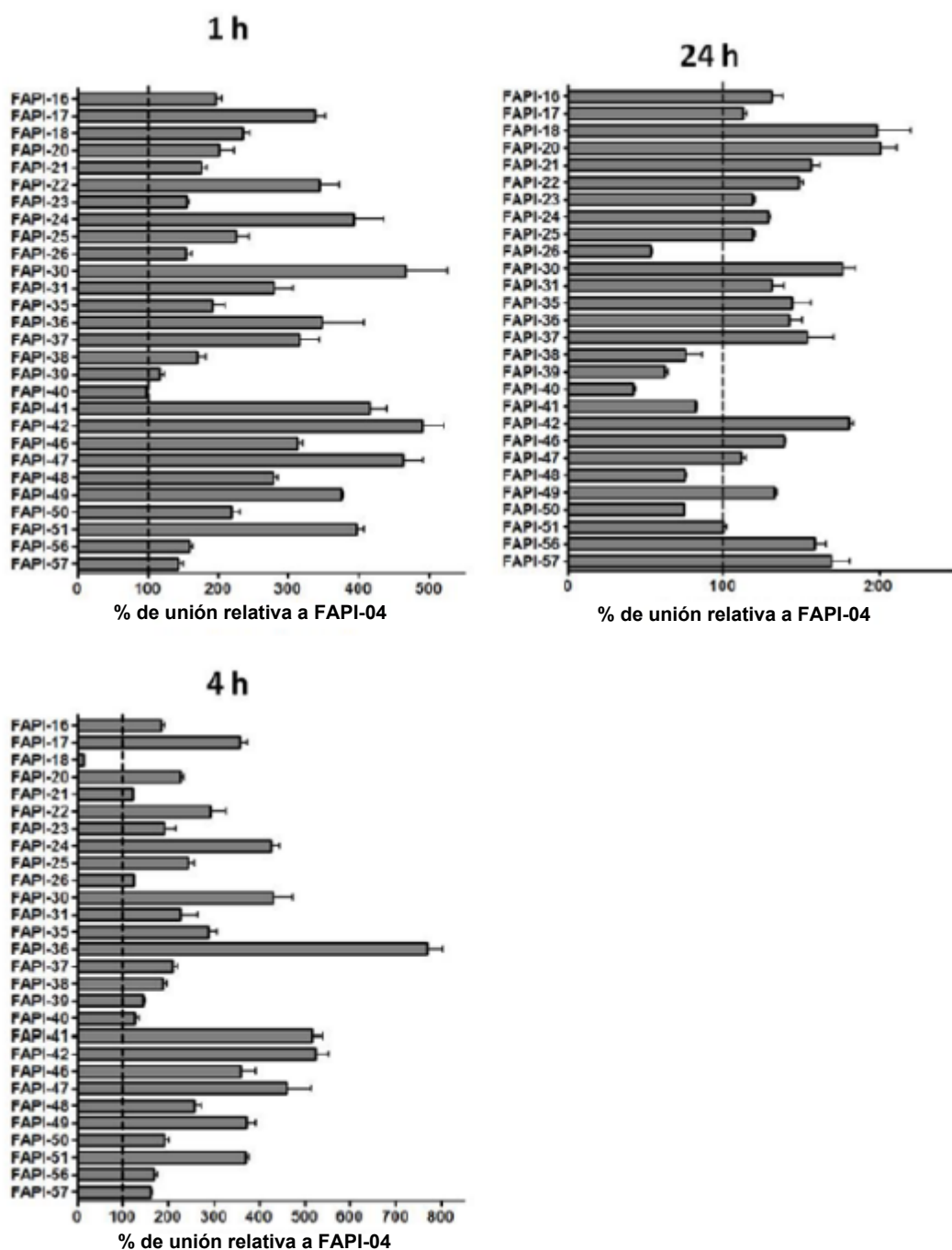


FIG. 16

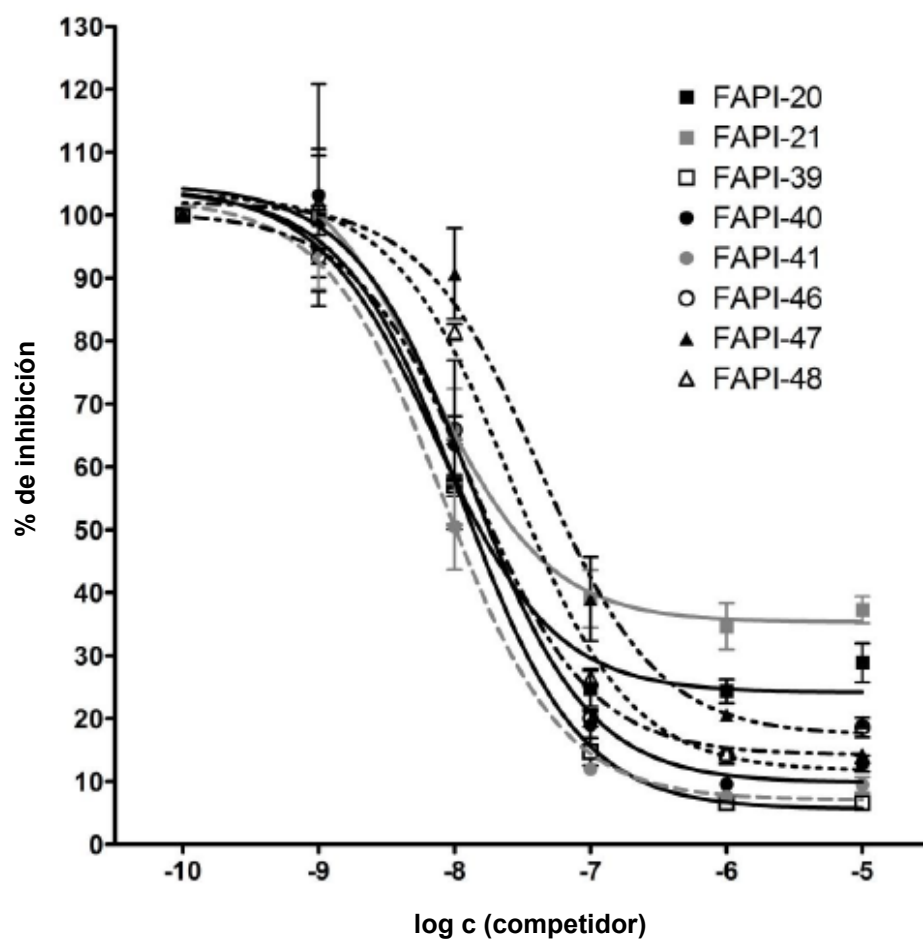


FIG. 17

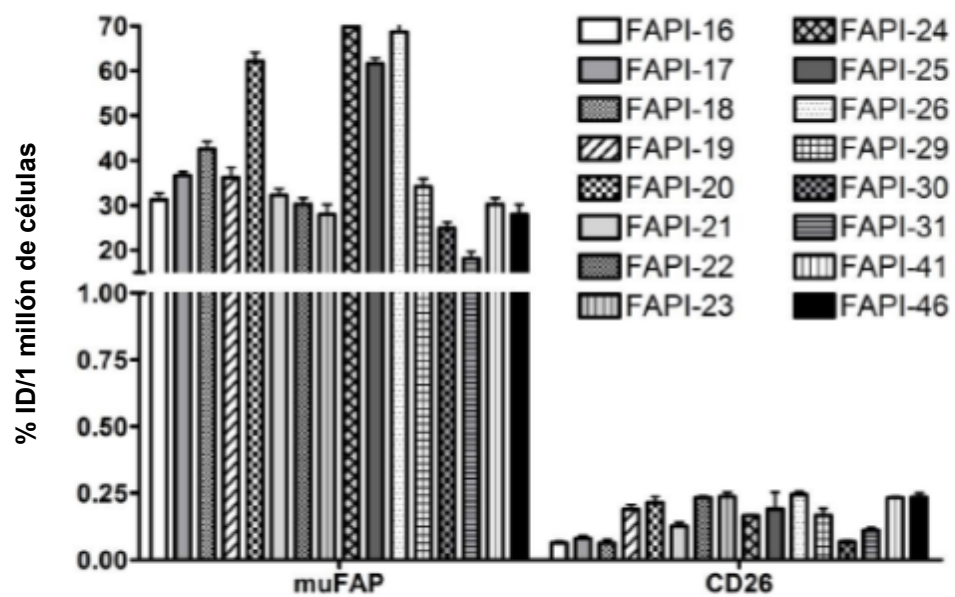


FIG. 18

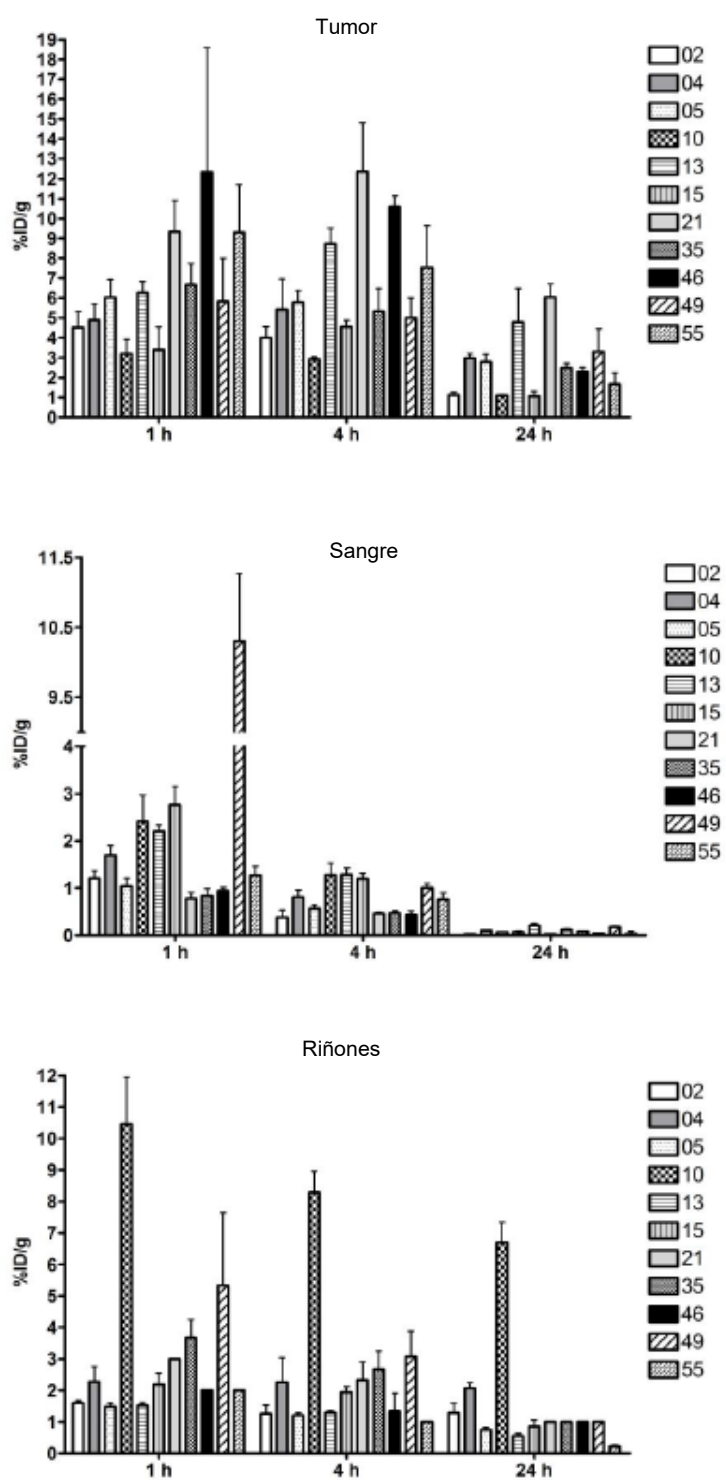


FIG. 19

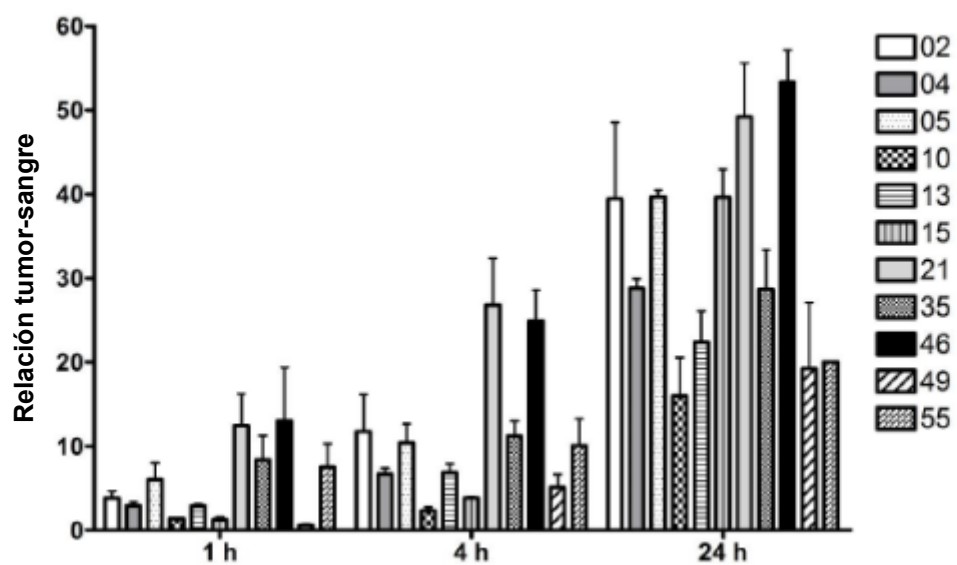


FIG. 20

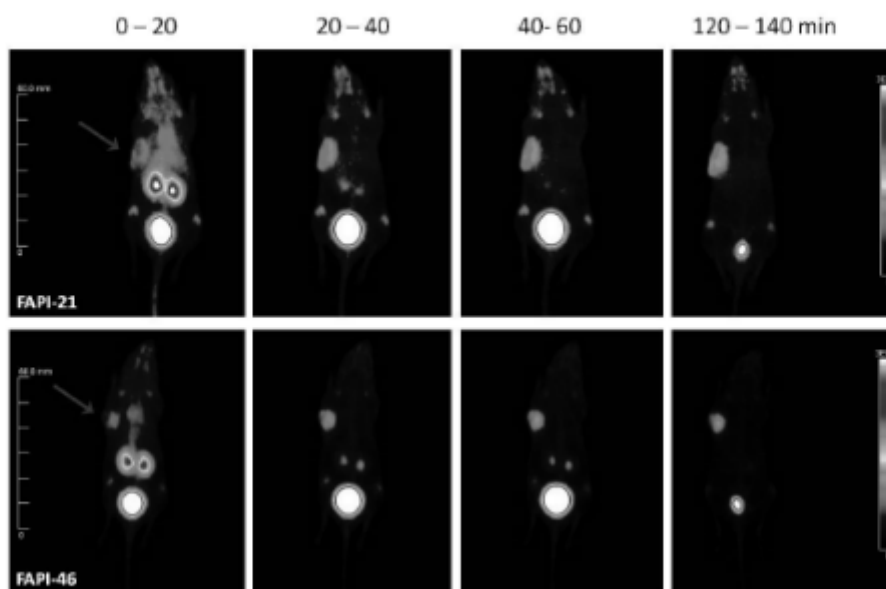


FIG. 21

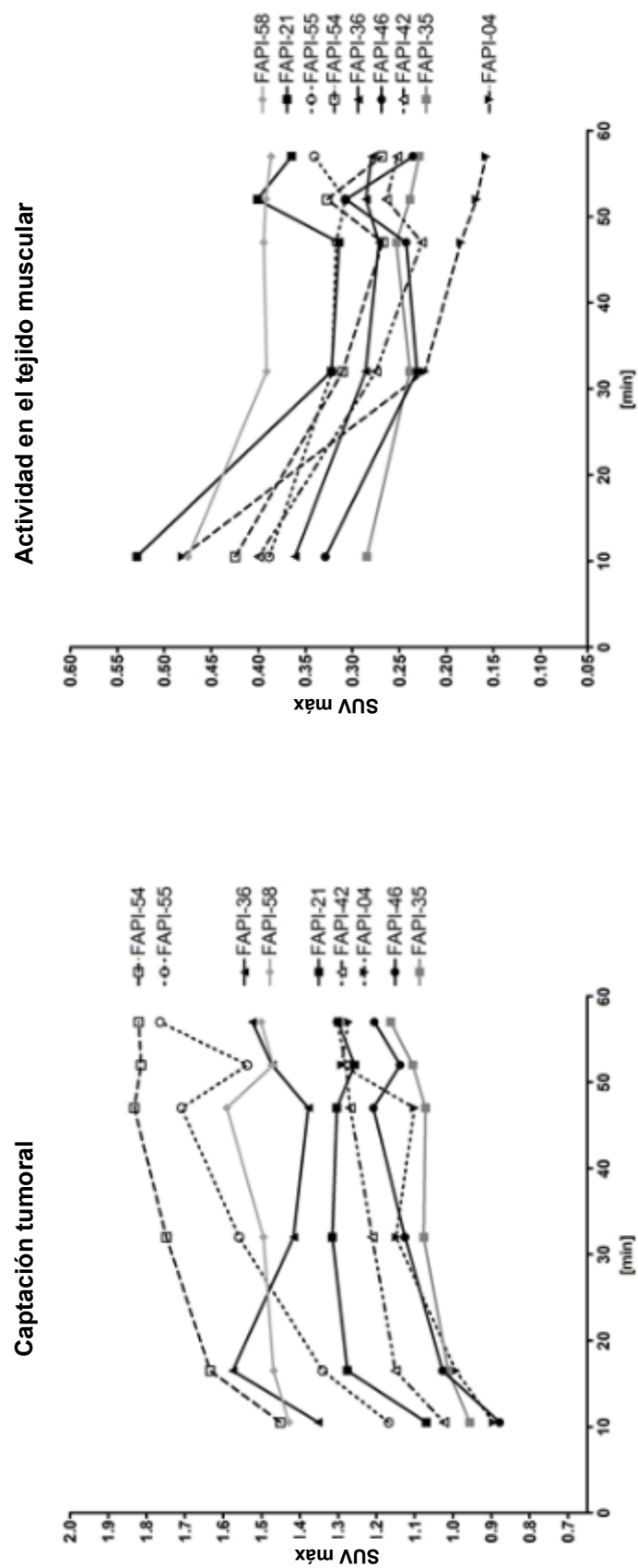
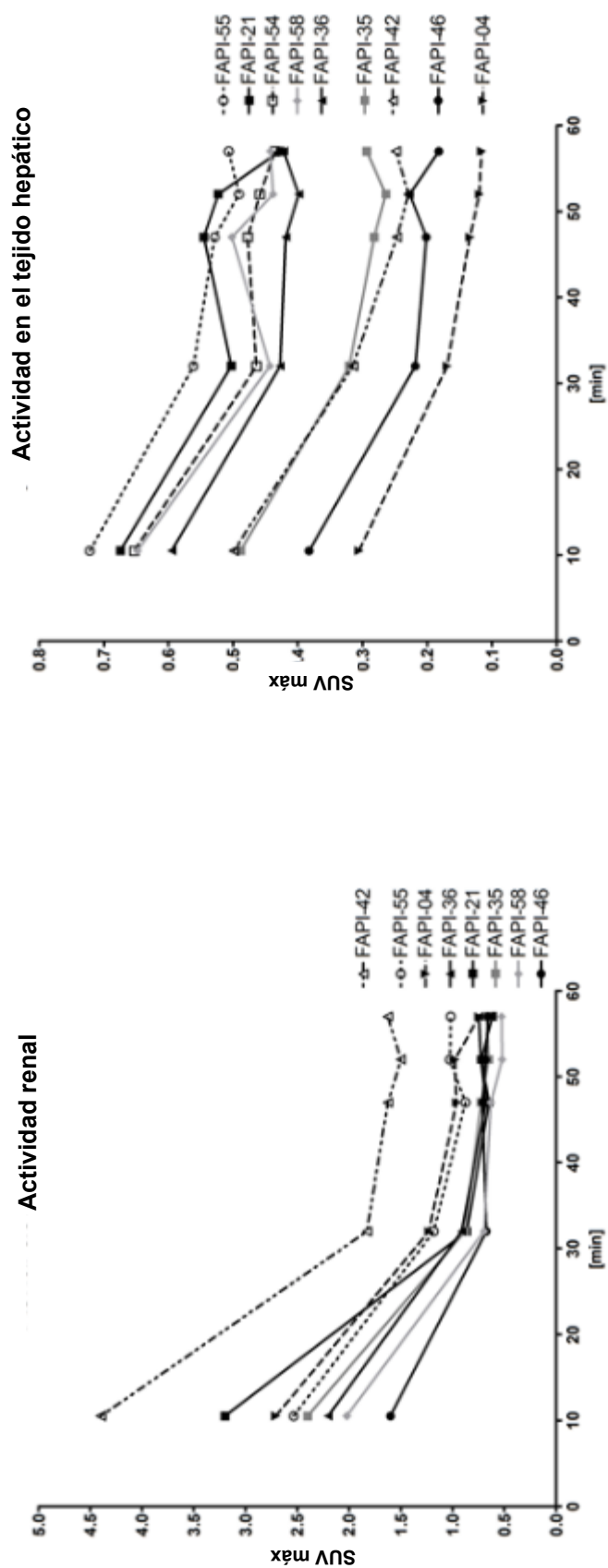


FIG. 22



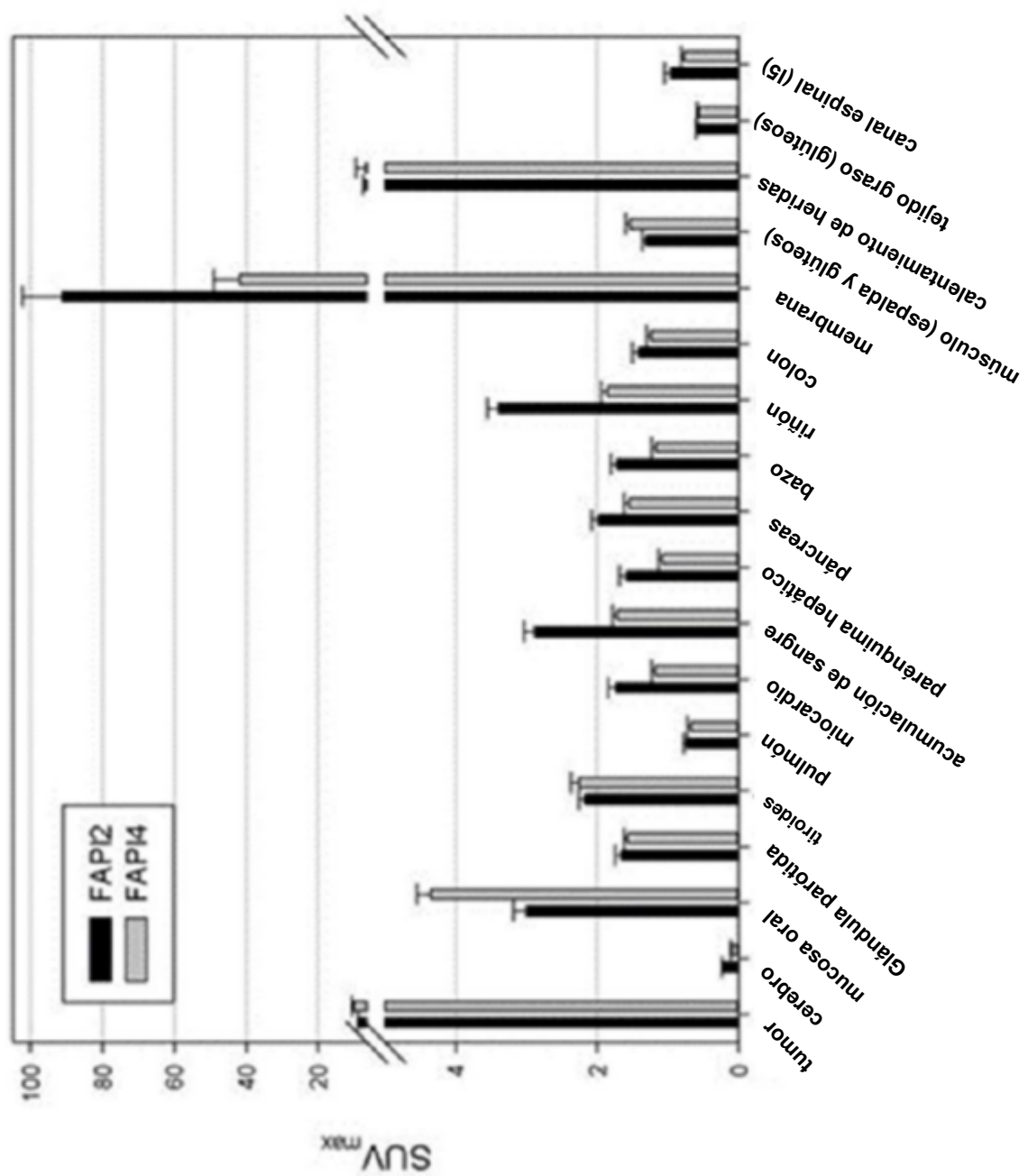


FIG. 23A

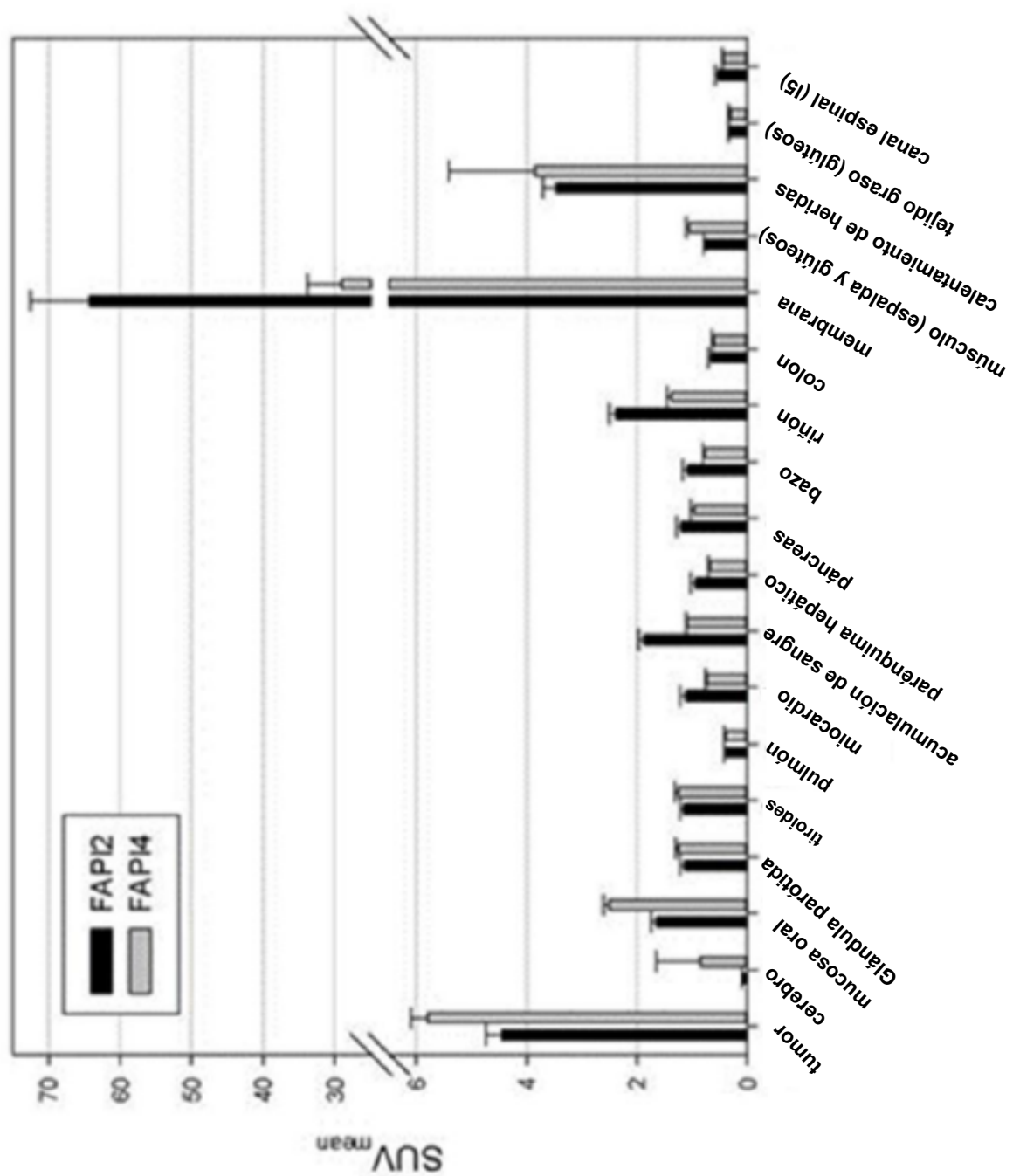


FIG. 23B

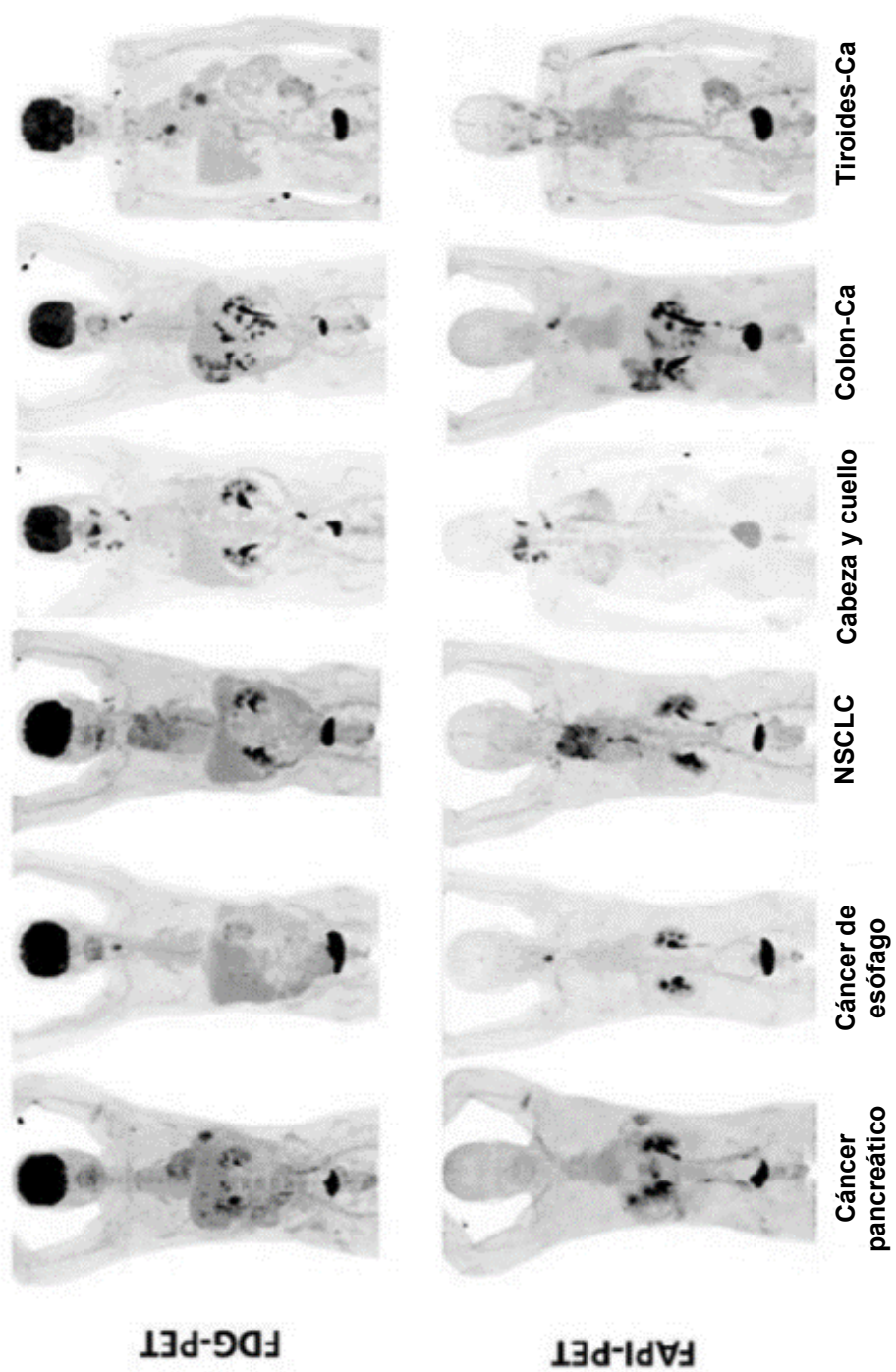


FIG. 24

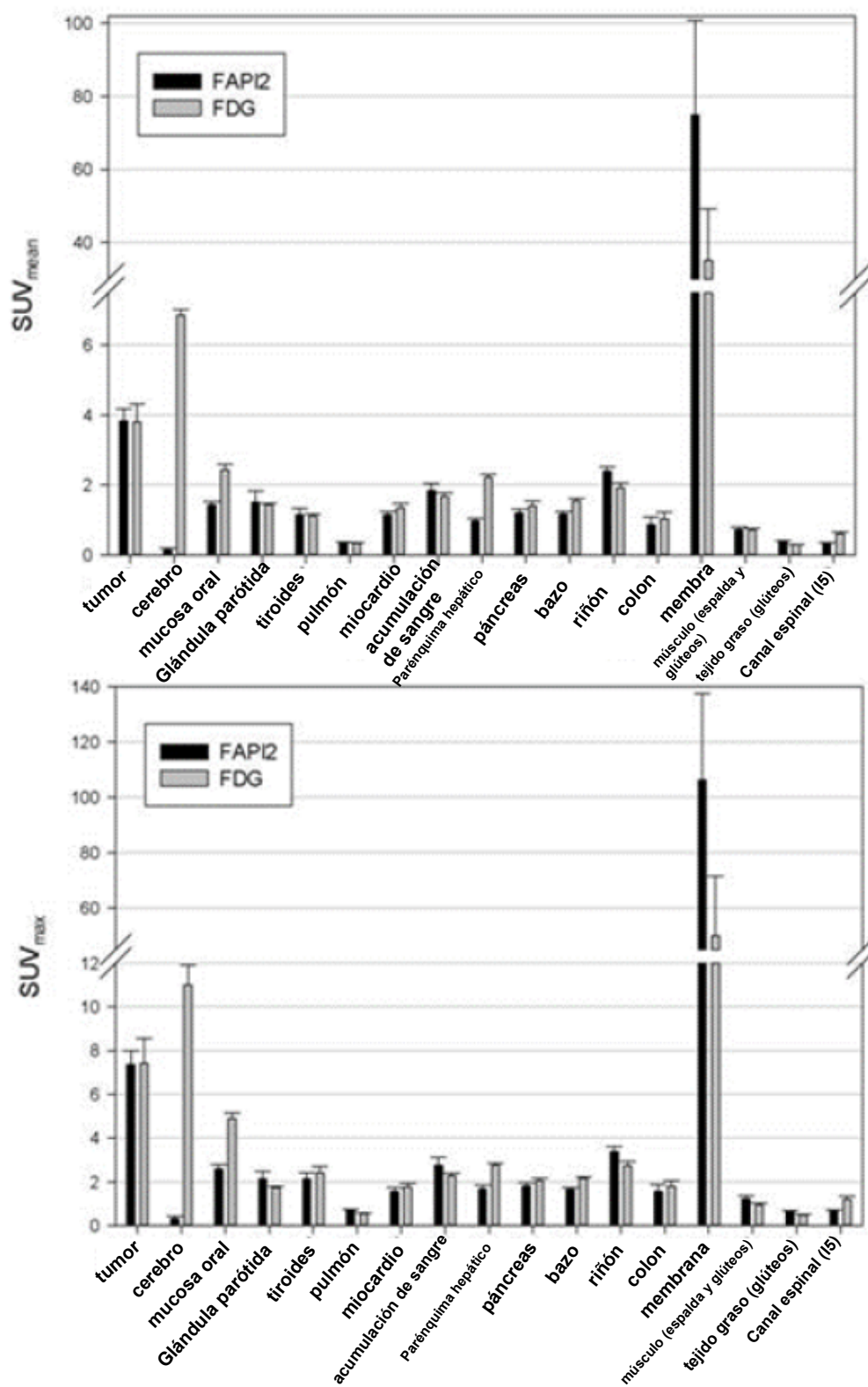
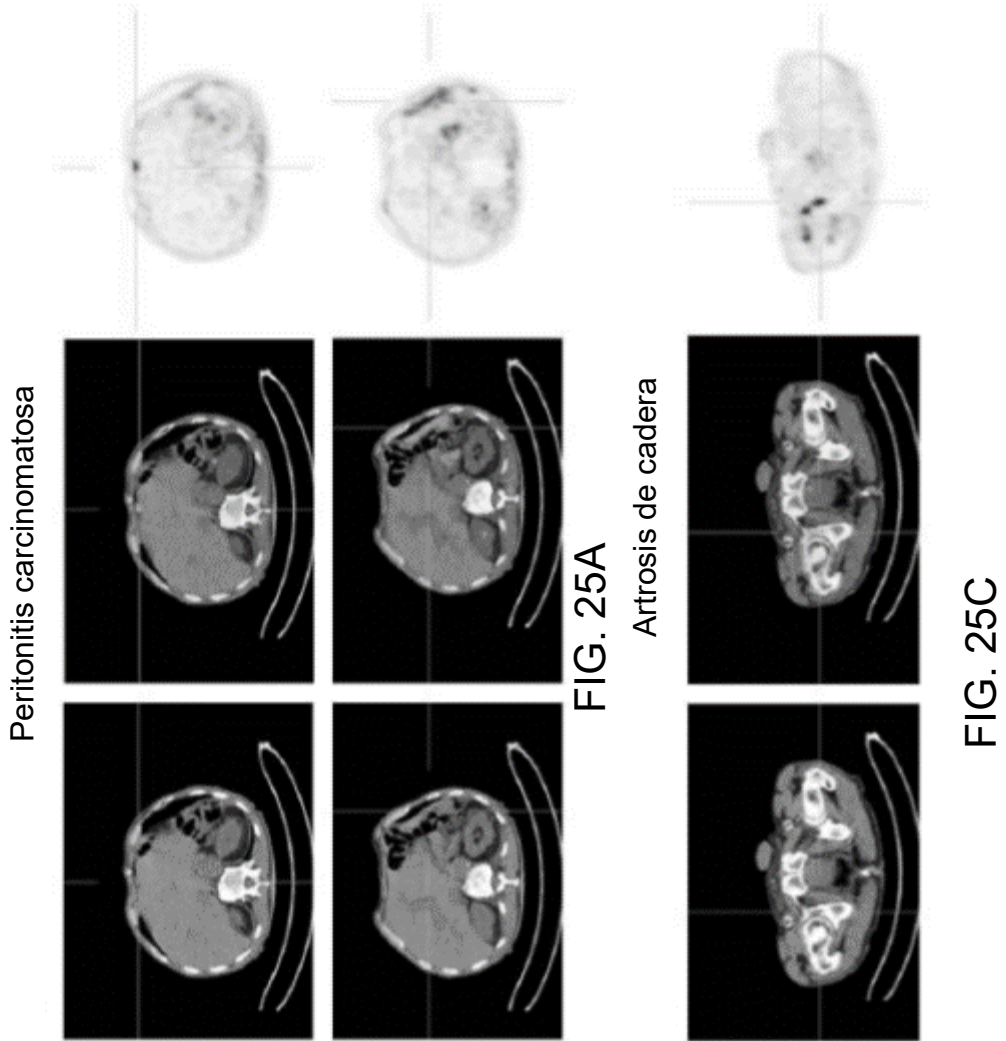
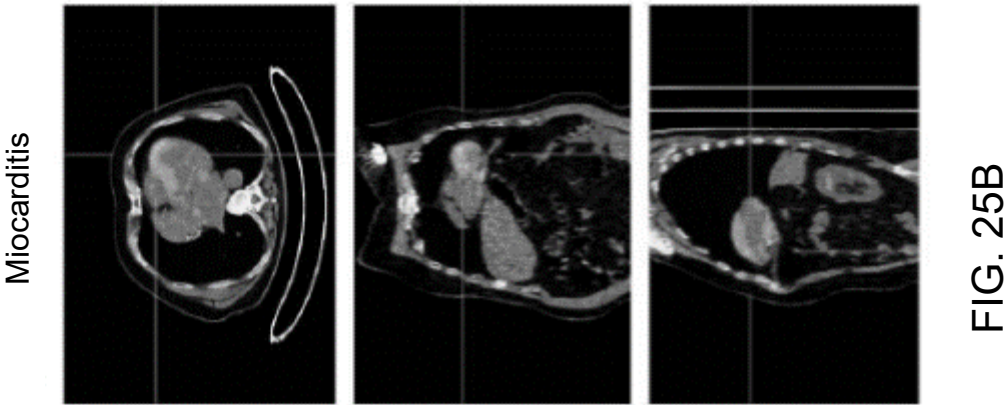


FIG. 24 CONTINUACIÓN



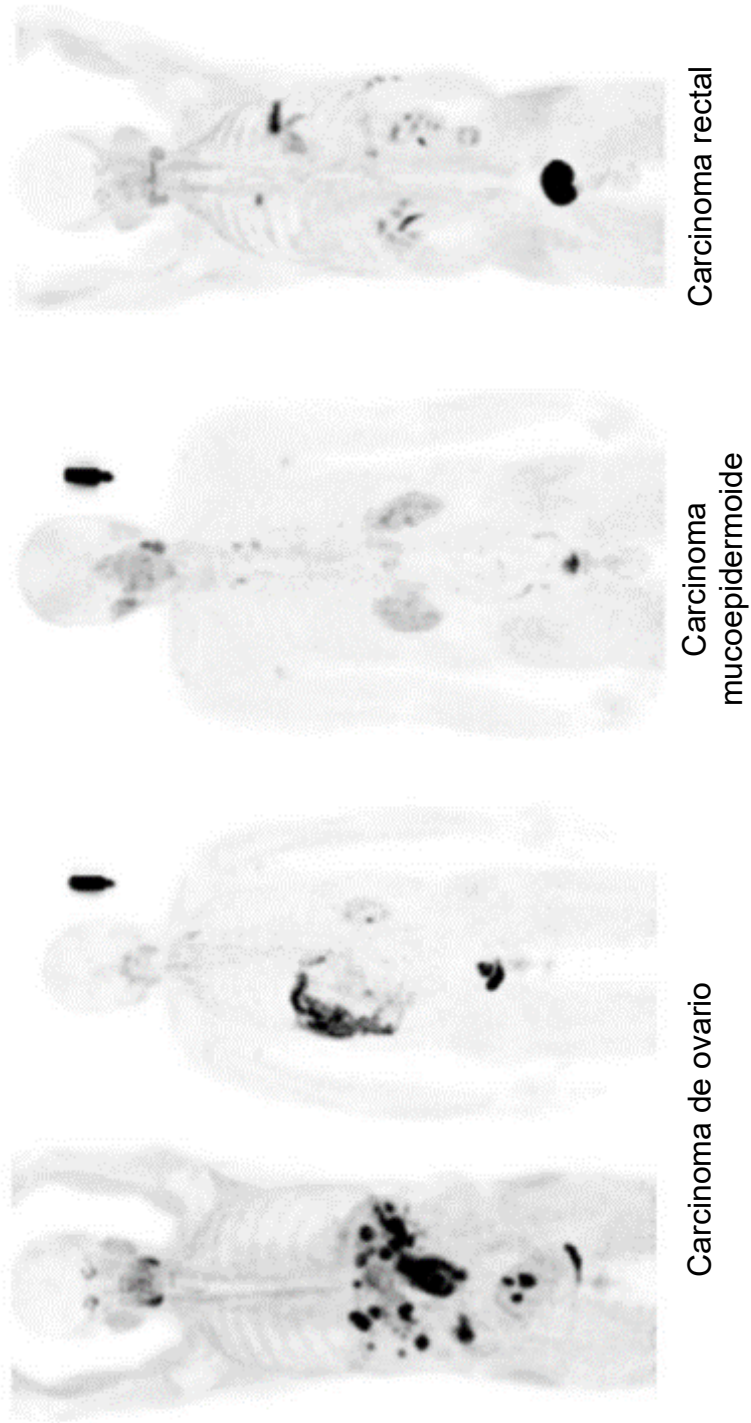


FIG. 26

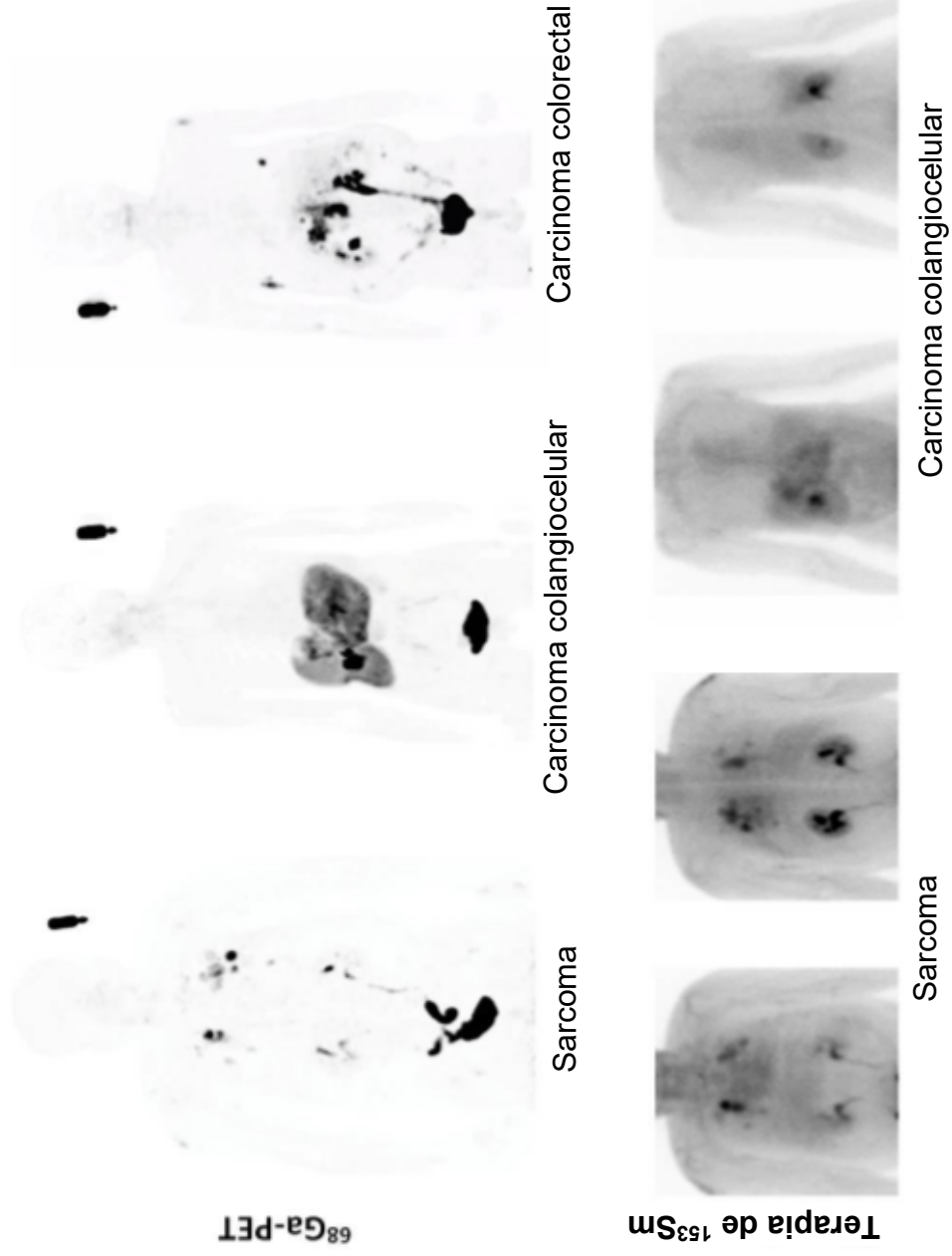


FIG. 27

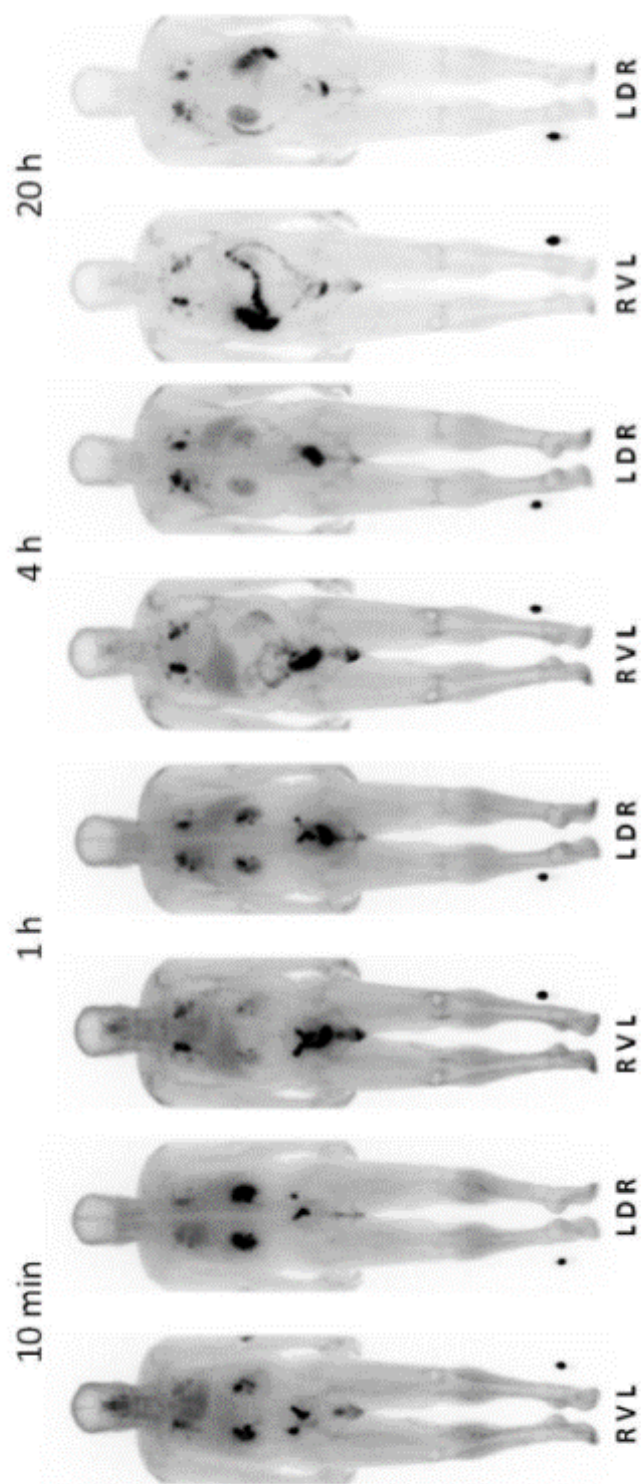


FIG. 28

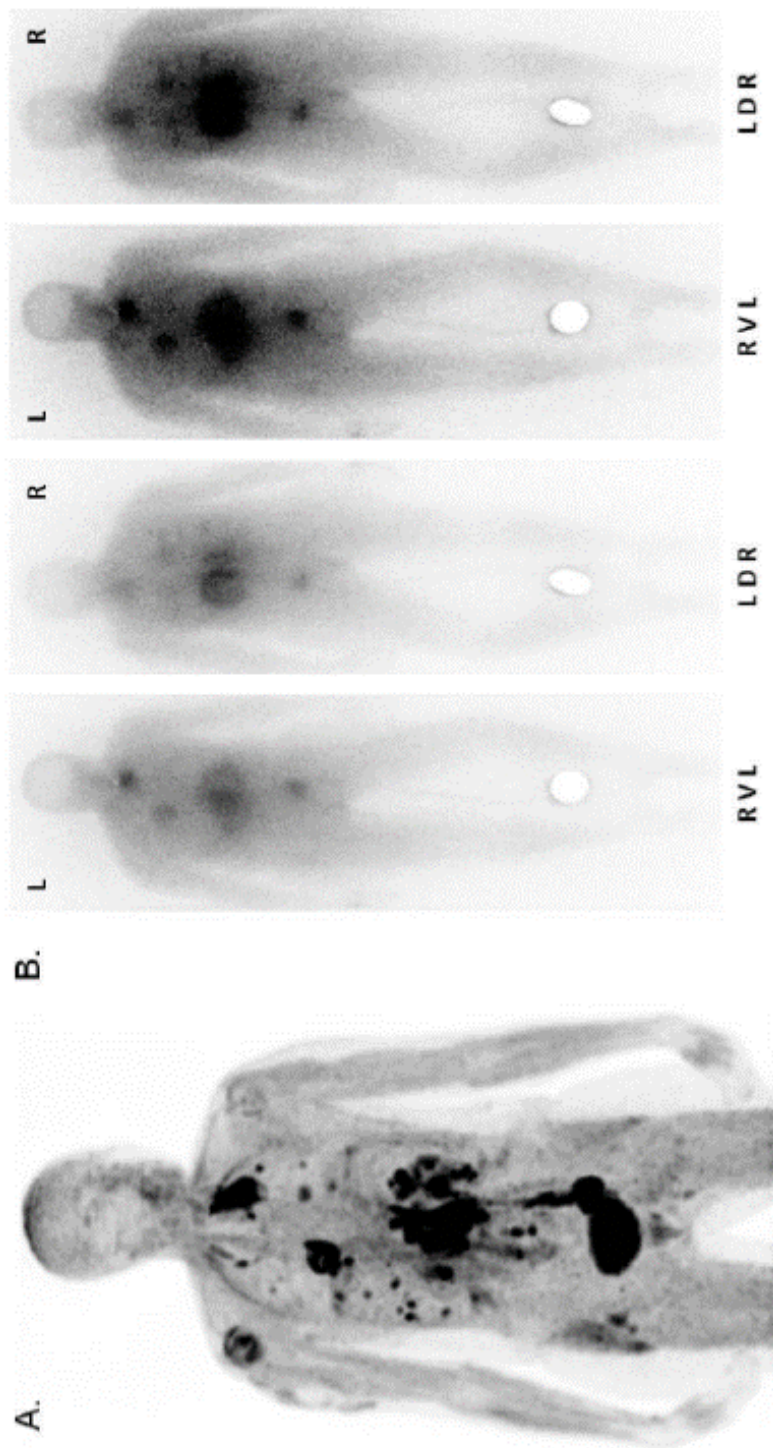


FIG. 29

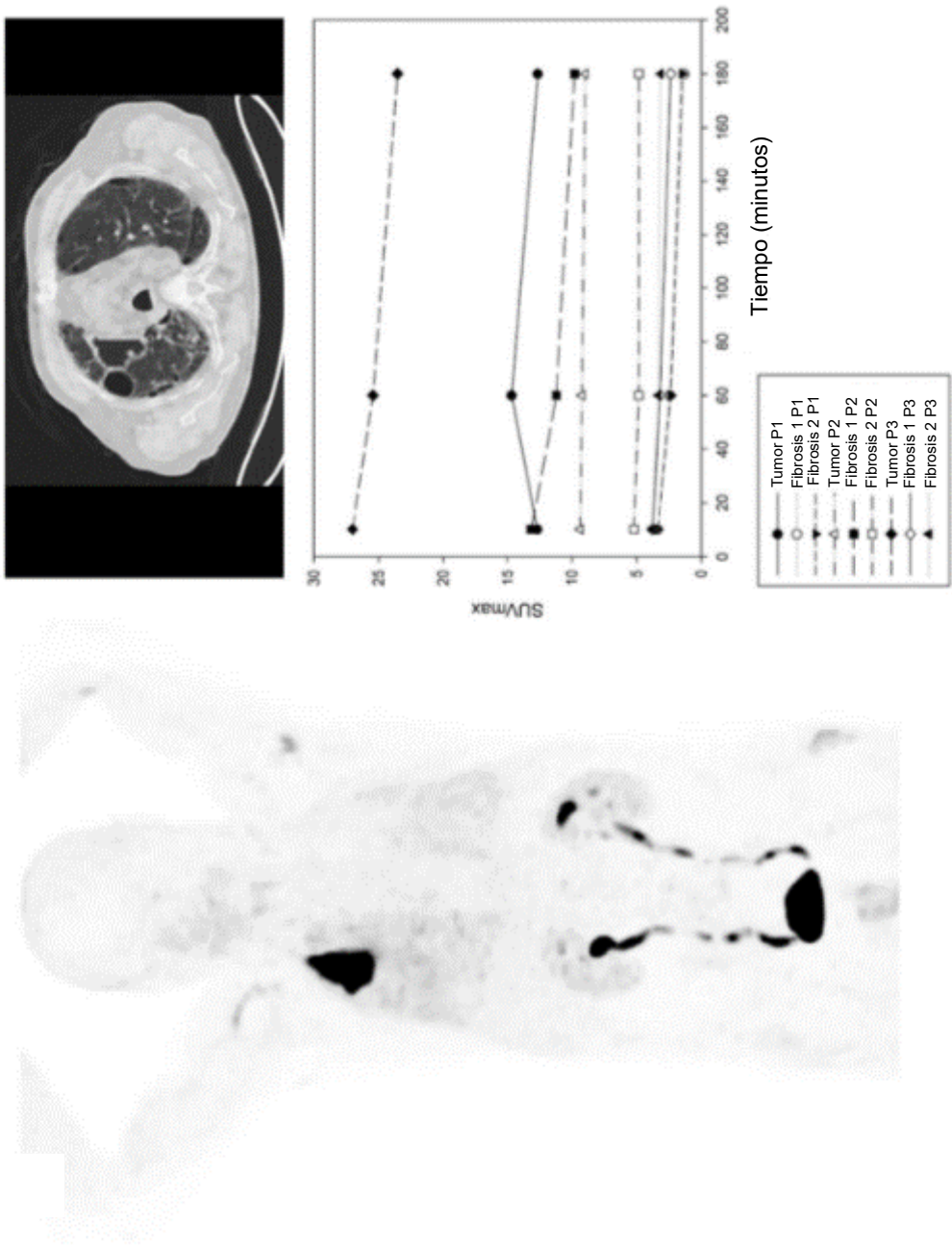


FIG. 30A

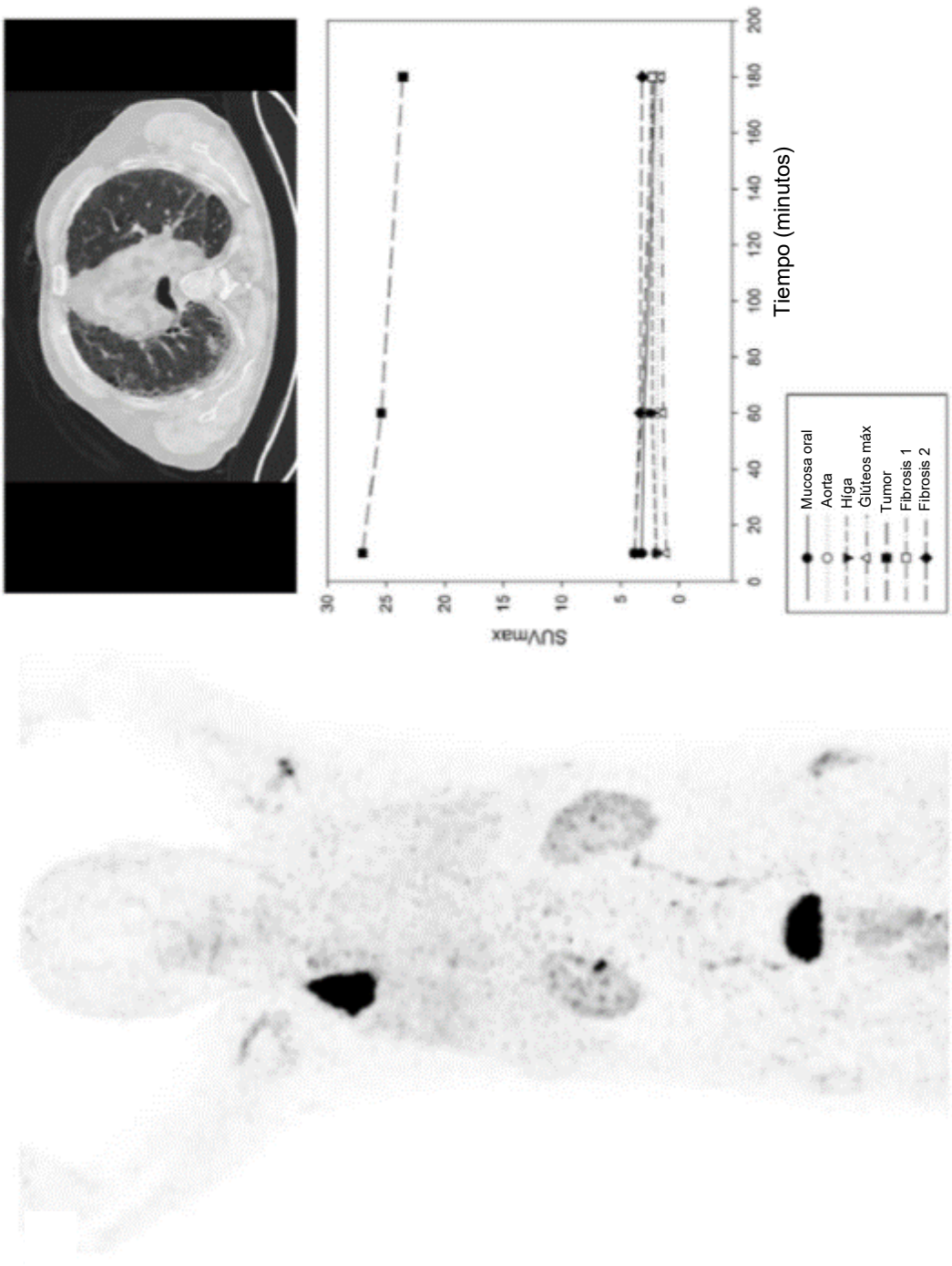


FIG. 30B

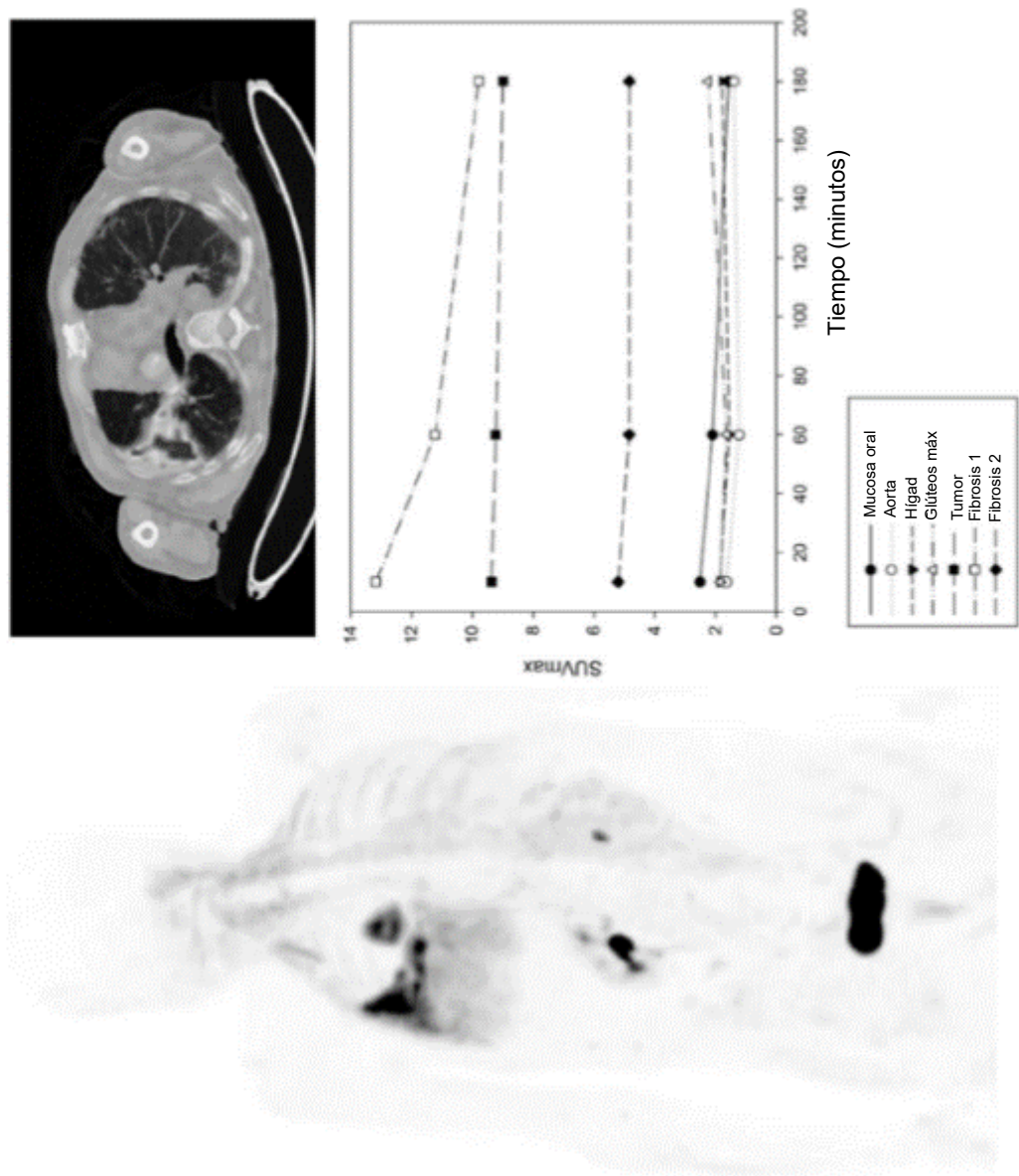


FIG. 30C

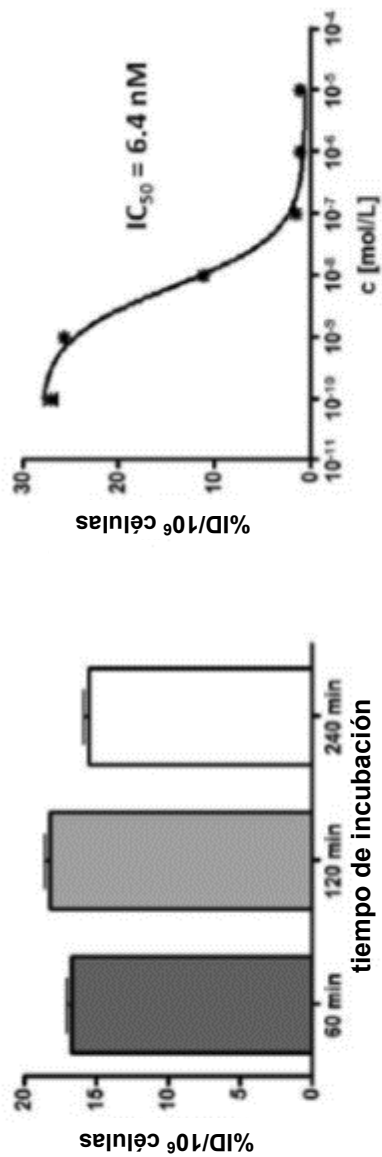


FIG. 31B

FIG. 31A

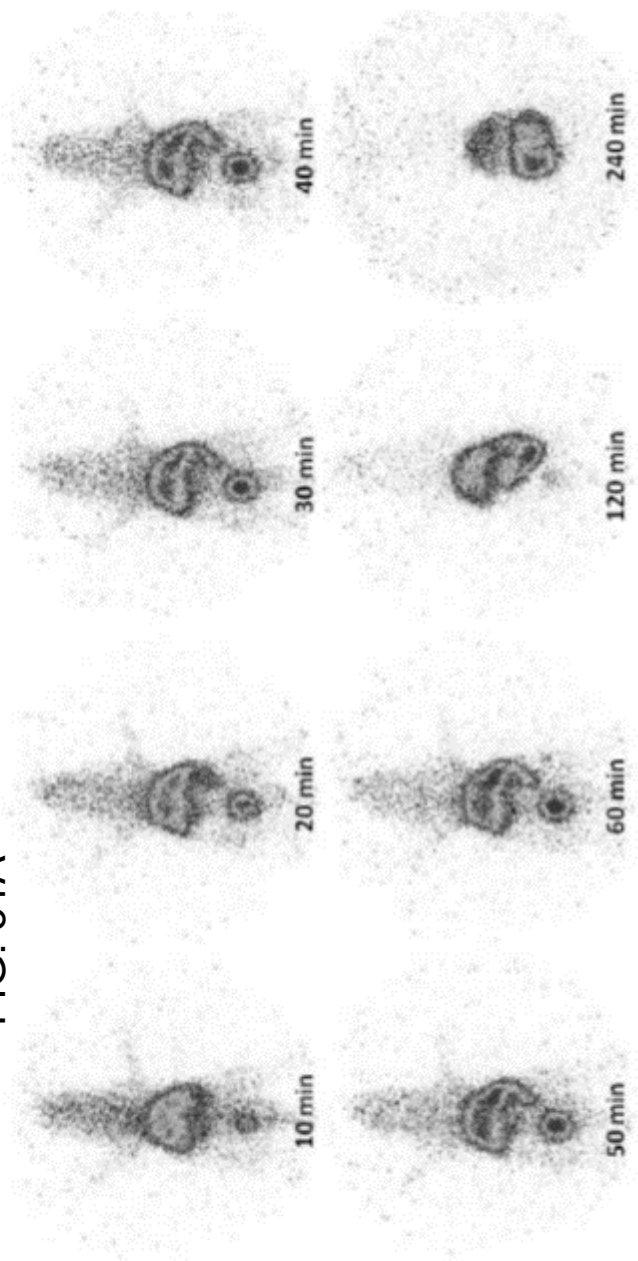


FIG. 31C

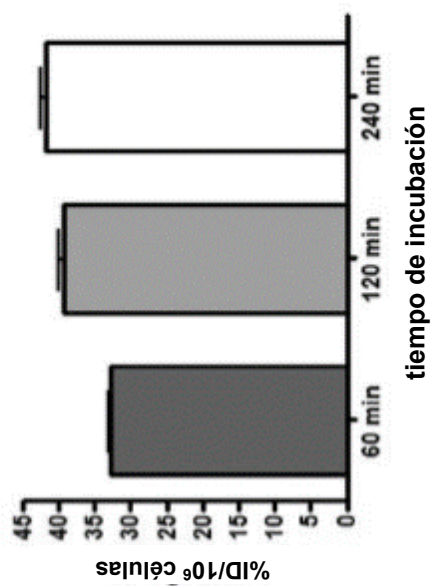


FIG. 32A

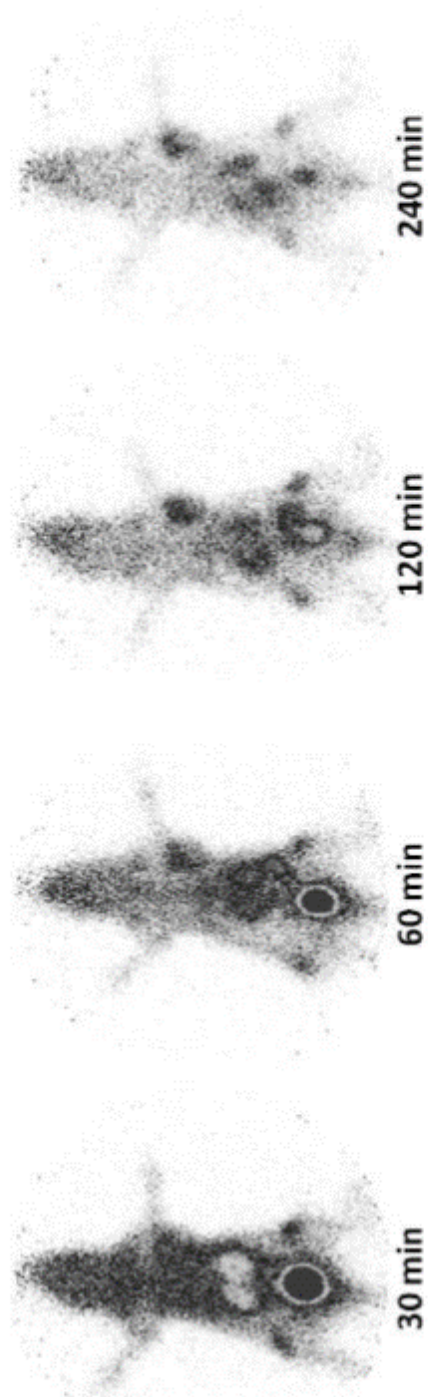


FIG. 32B

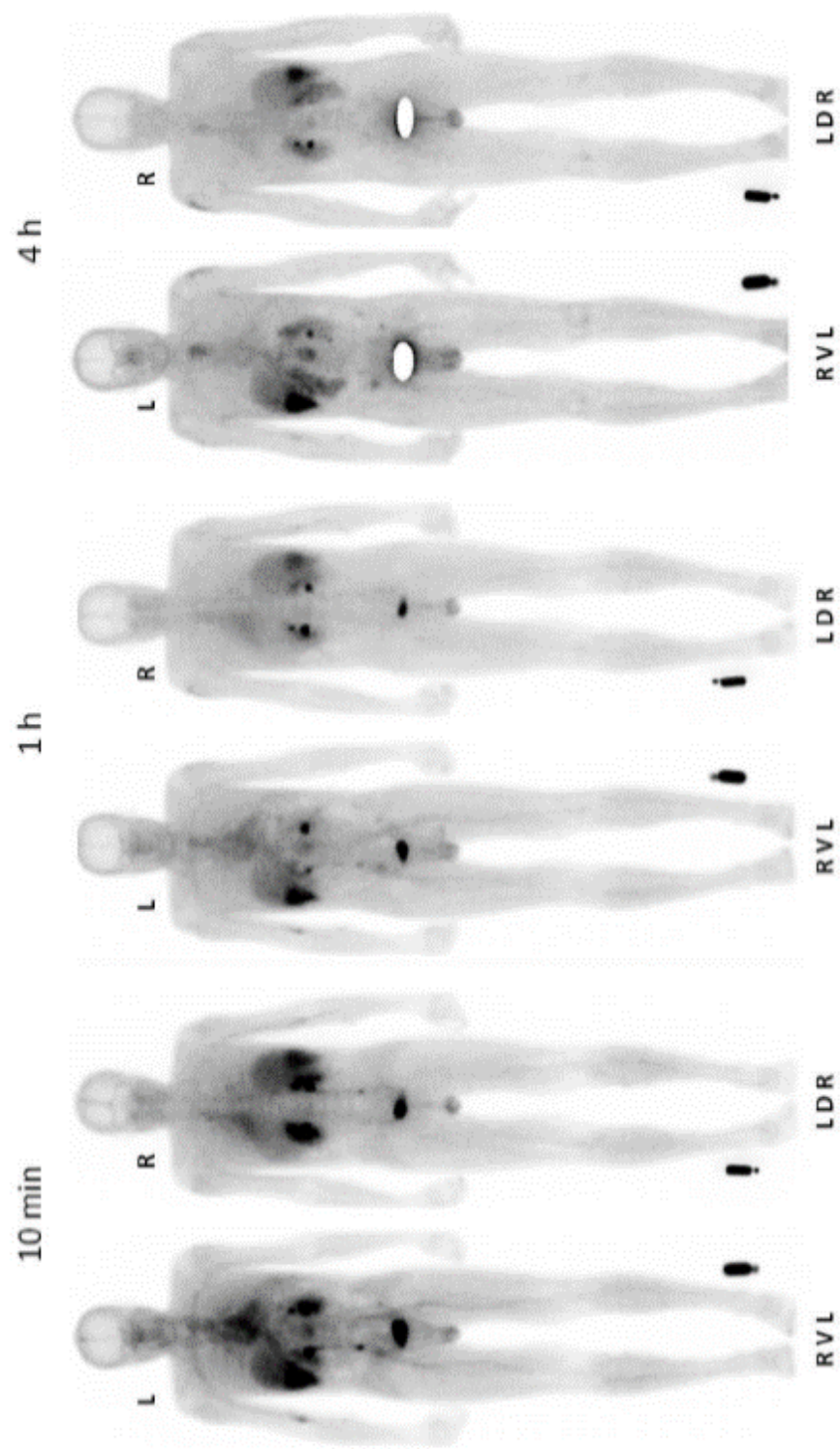


FIG. 33

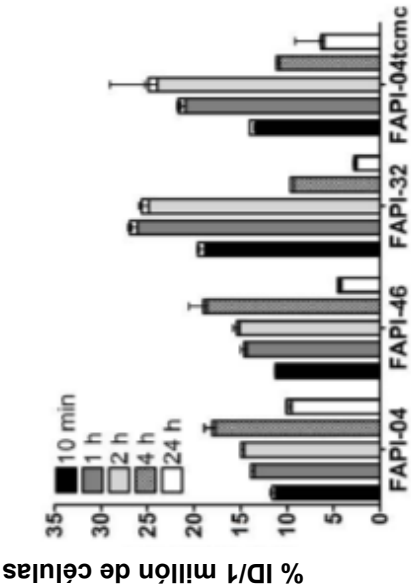


FIG. 34A

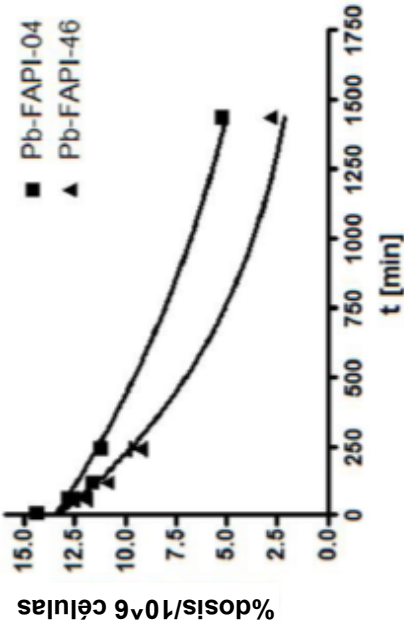


FIG. 34B

	IC ₅₀	t _{1/2}
▼ Pb-FAPI-04	10.8 nM	8 h
◆ Pb-FAPI-46	8.3 nM	6 h
▲ Pb-FAPI-32	9.1 nM	2 h
■ Pb-FAPI-04tcmc	5.7 μM	7 h

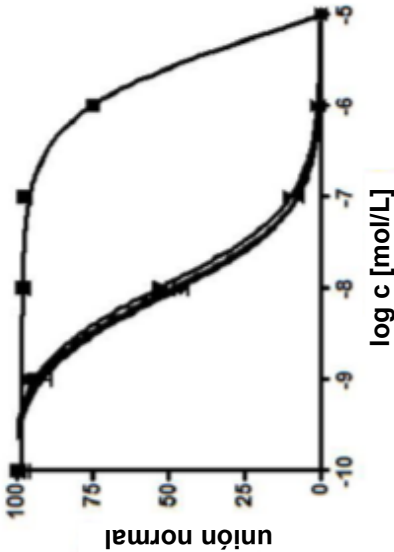


FIG. 34C

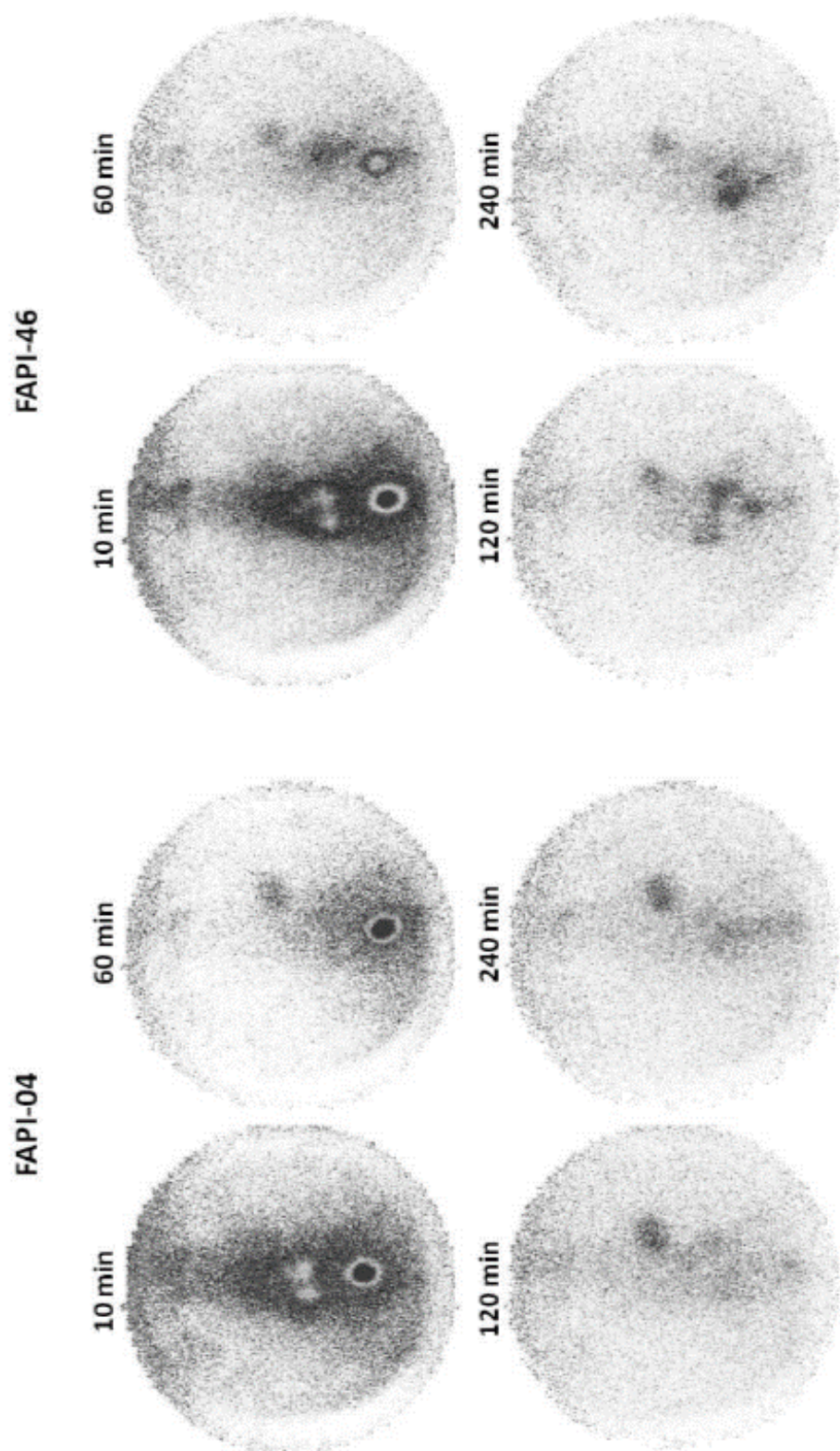


FIG. 35

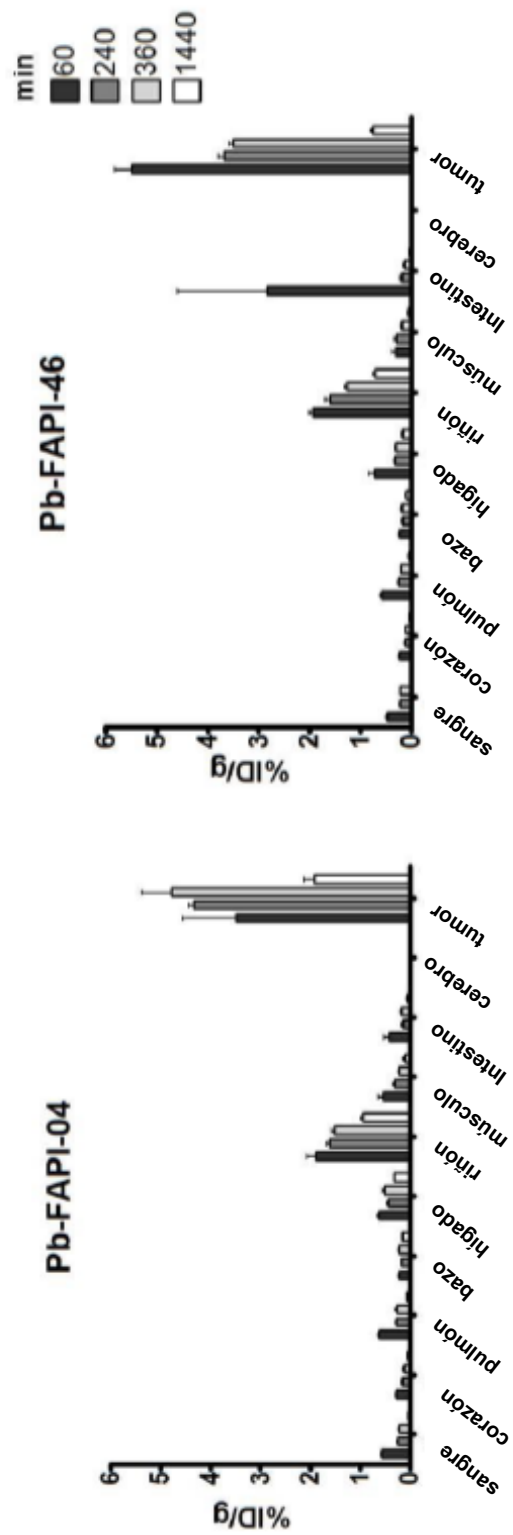


FIG. 36

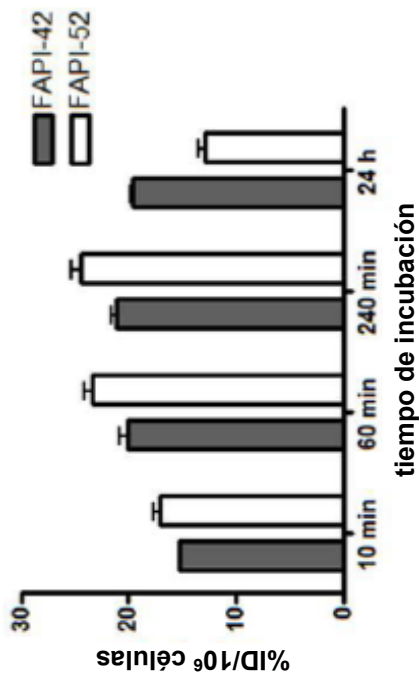


FIG. 37A

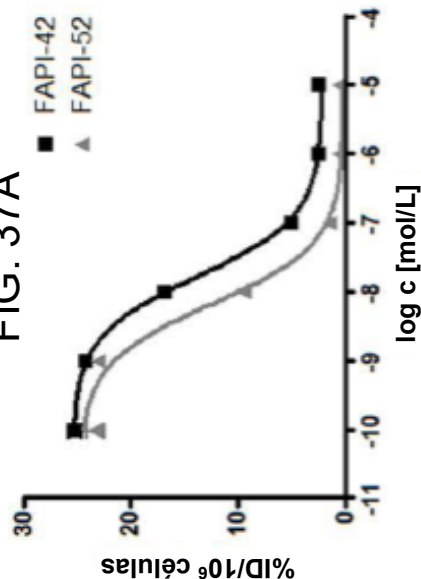


FIG. 37B

	IC ₅₀ [nM]	t _{1/2} [h]
FAPI-42	16.8	12
FAPI-52	6.6	4

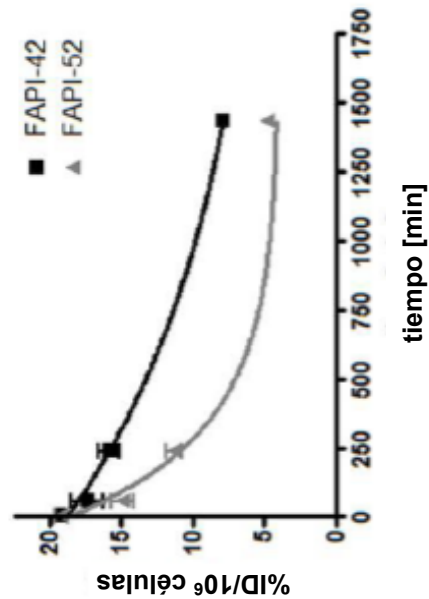


FIG. 37C

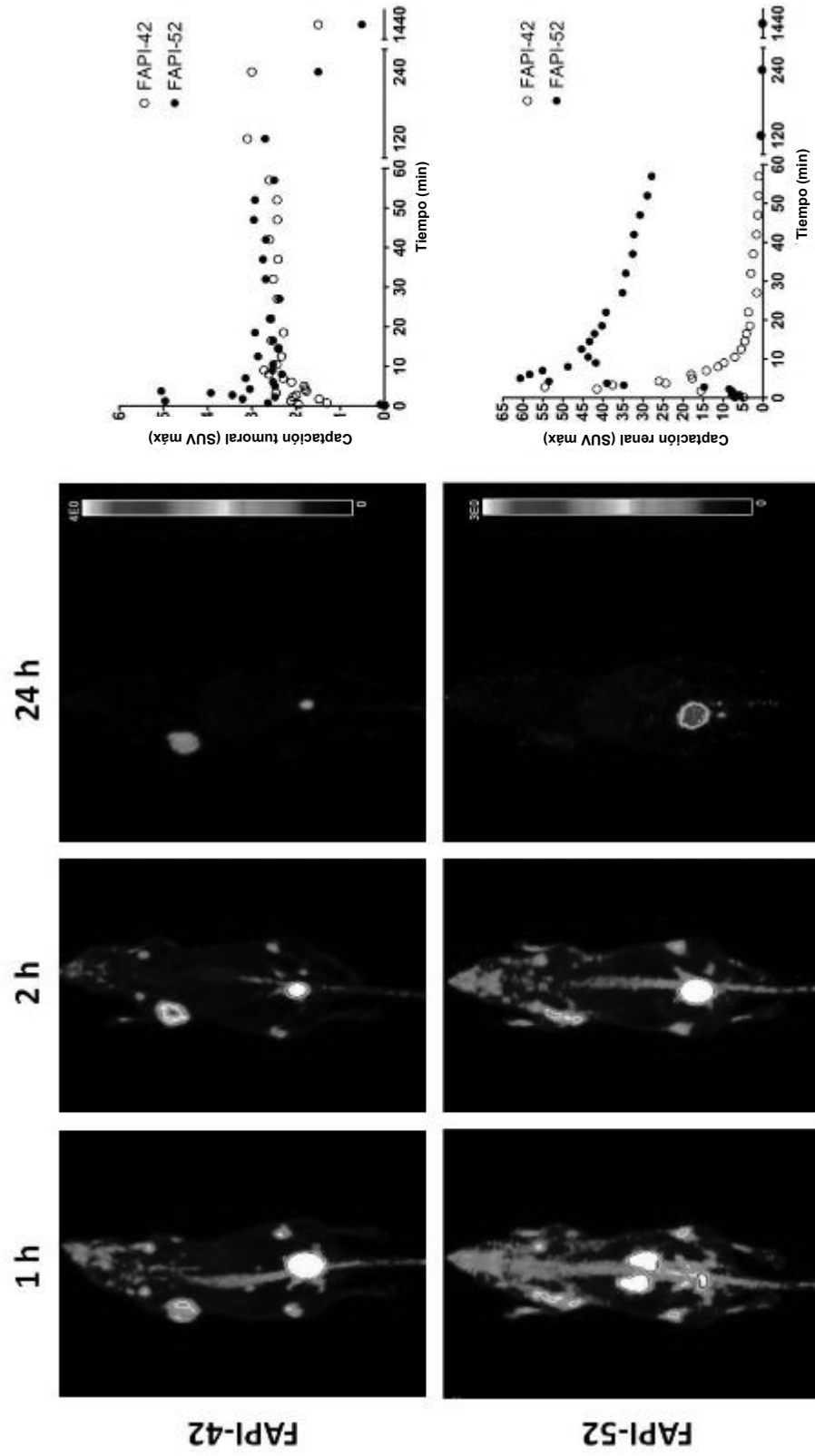


FIG. 38

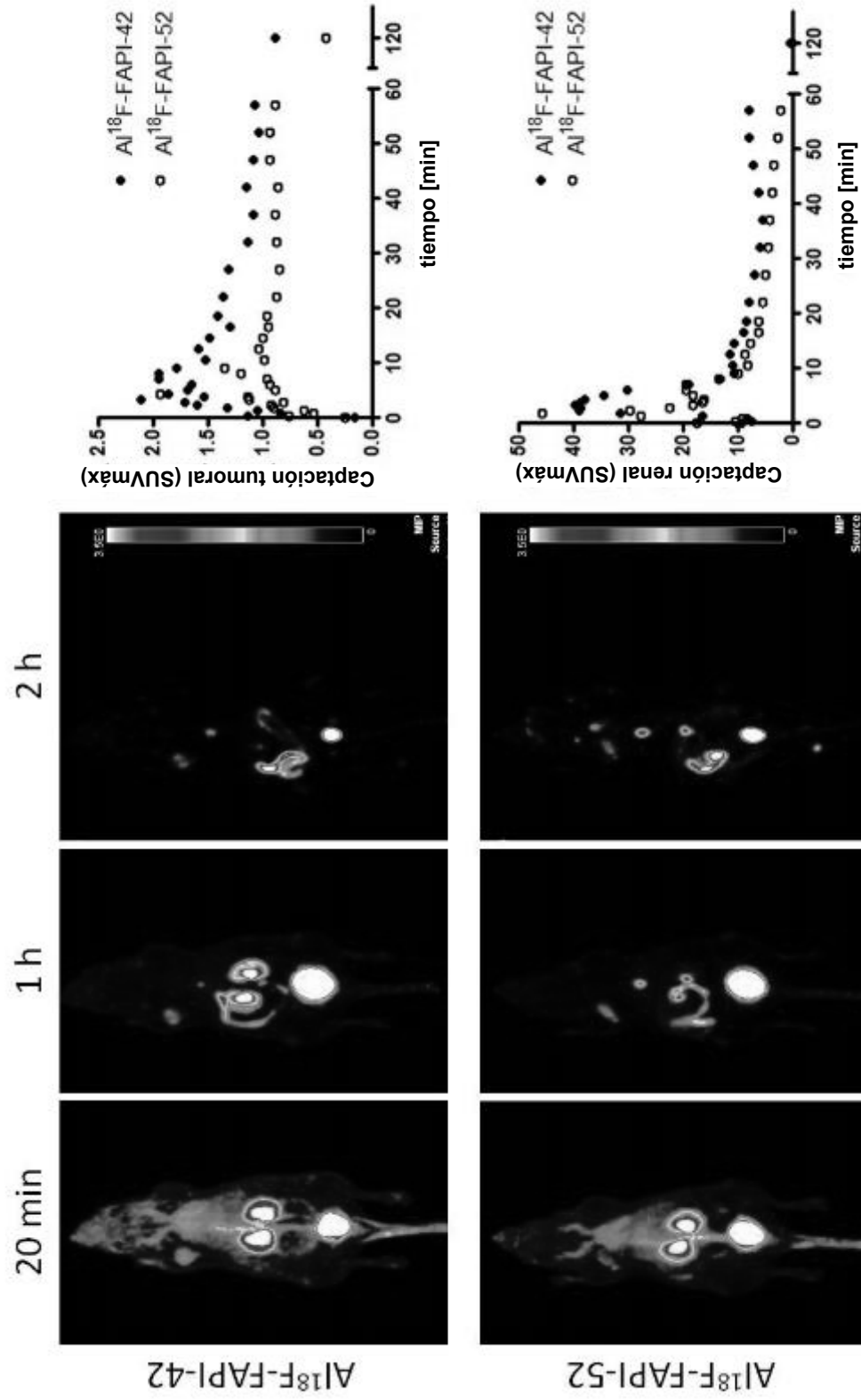


FIG. 39

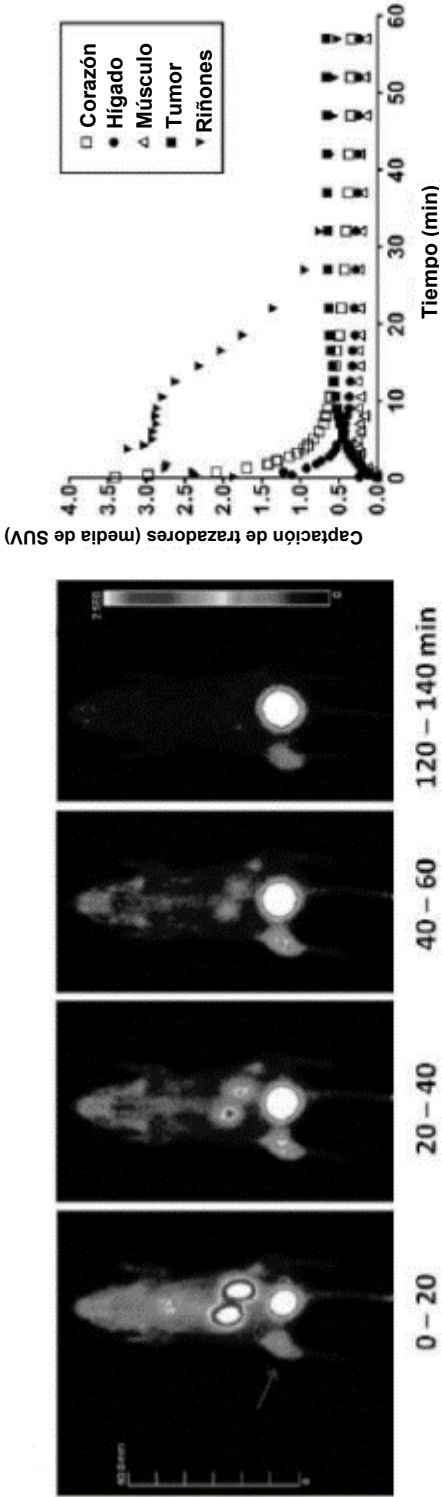
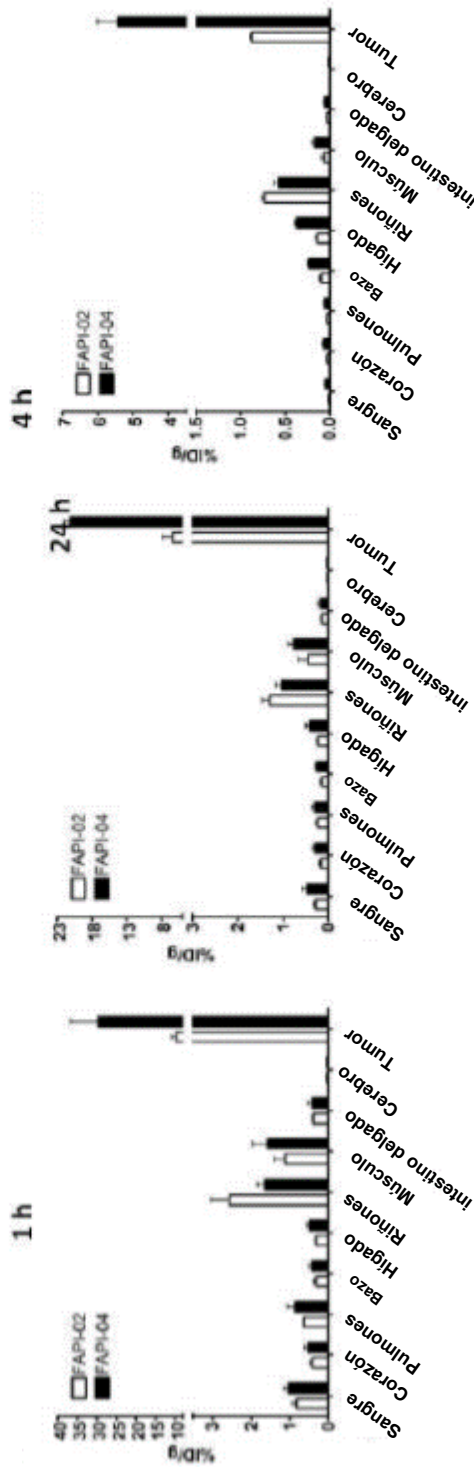


FIG. 40A



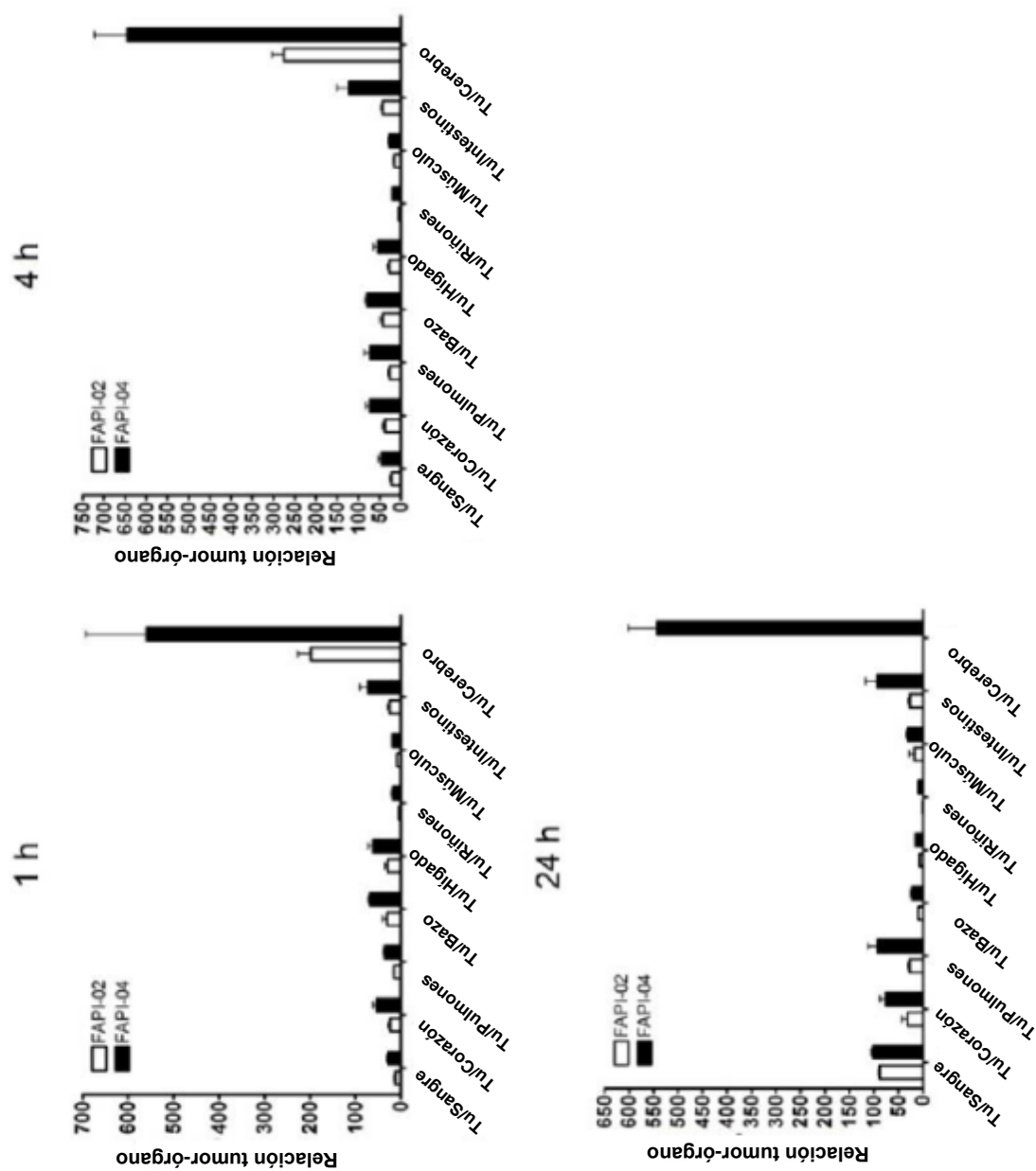


FIG. 41

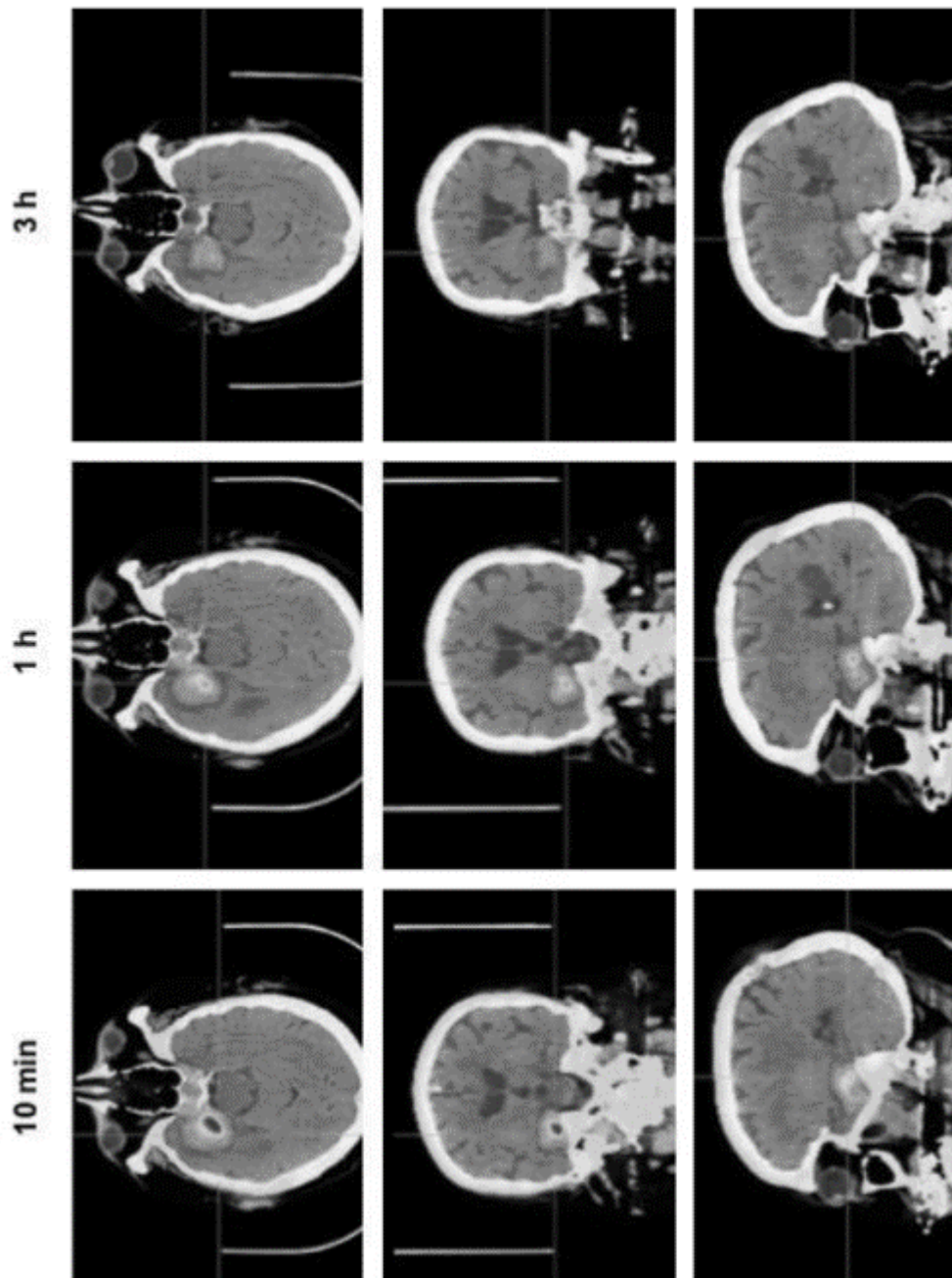


FIG. 42

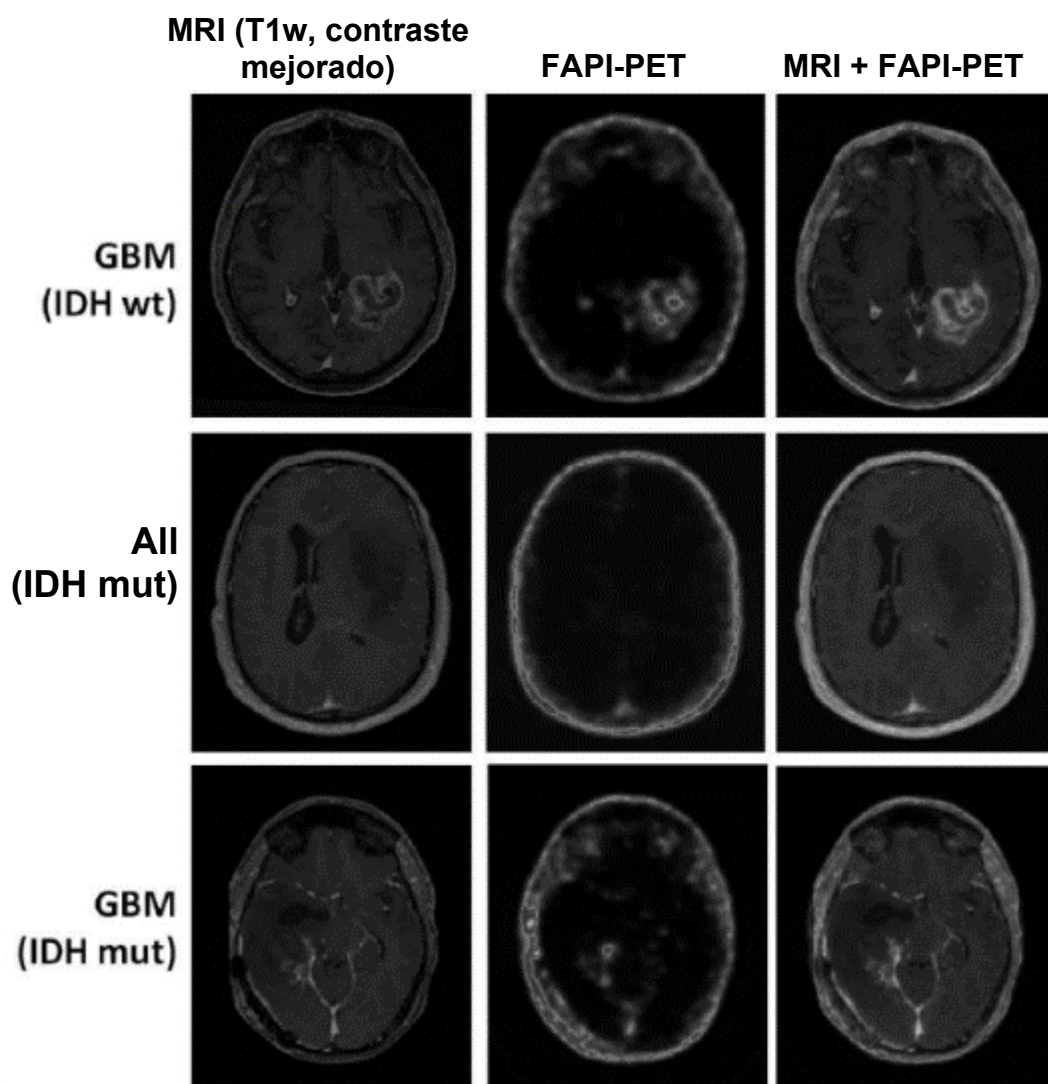


FIG. 43

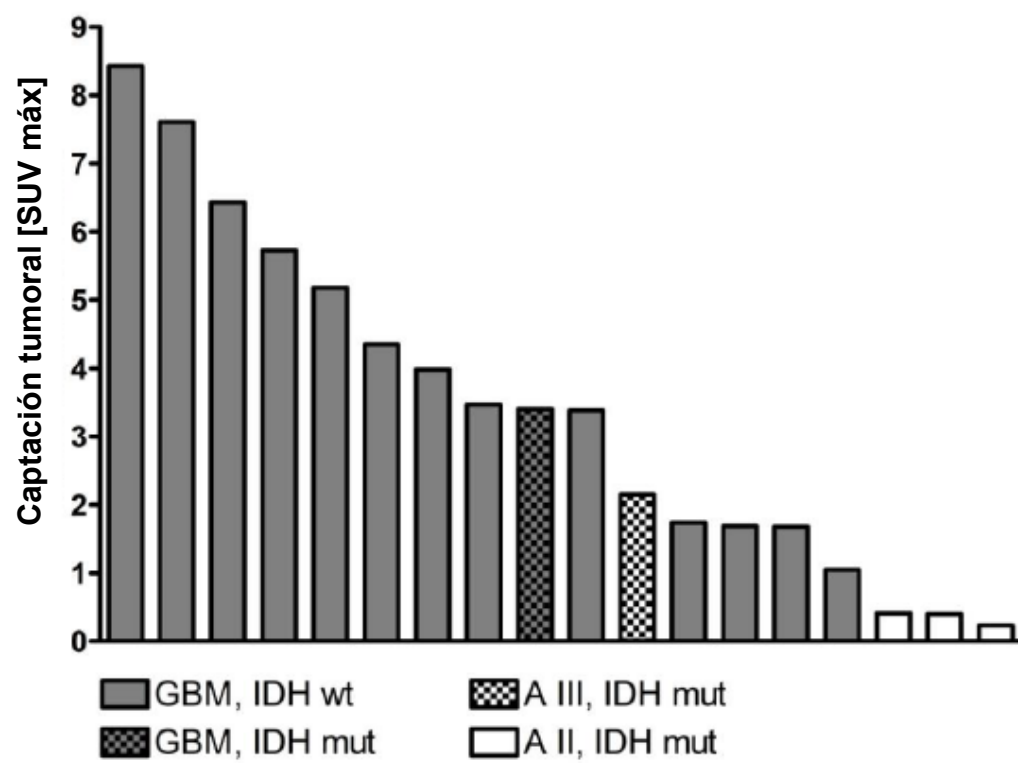


FIG. 44

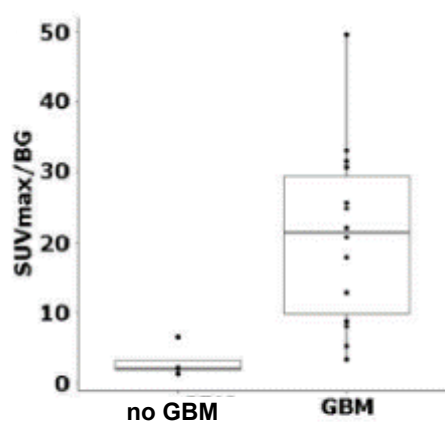


FIG. 45A

SUVmáx/BG para la predicción de GBM

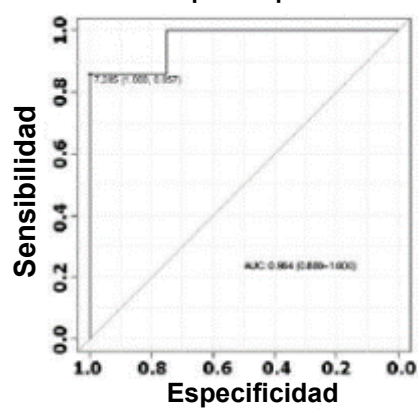


FIG. 45B

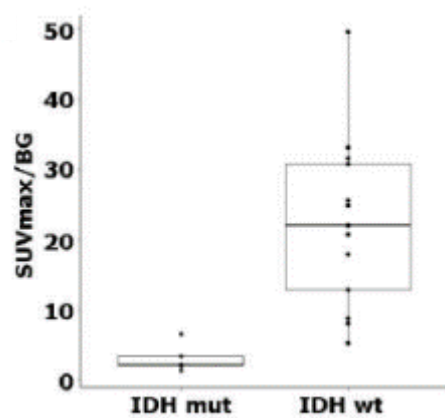


FIG. 45C

SUVmáx/BG para la predicción de IDH wt

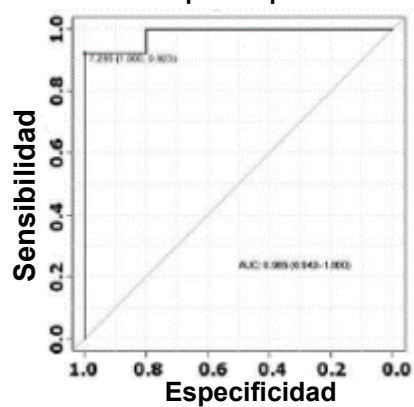


FIG. 45D

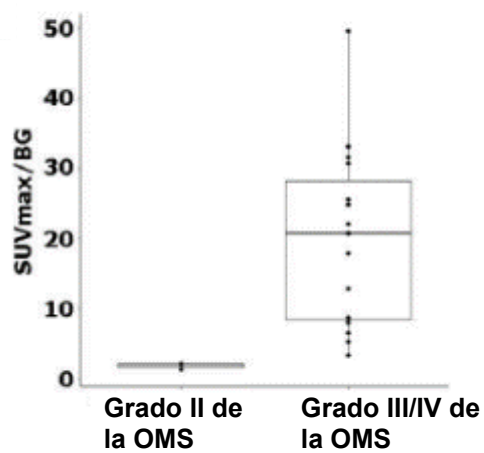


FIG. 45E

SUVmáx/BG para la predicción del grado III/IV de la OMS

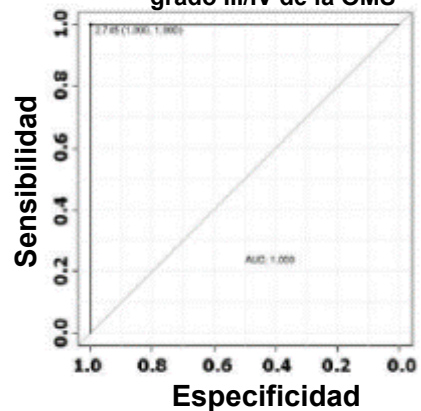


FIG. 45F

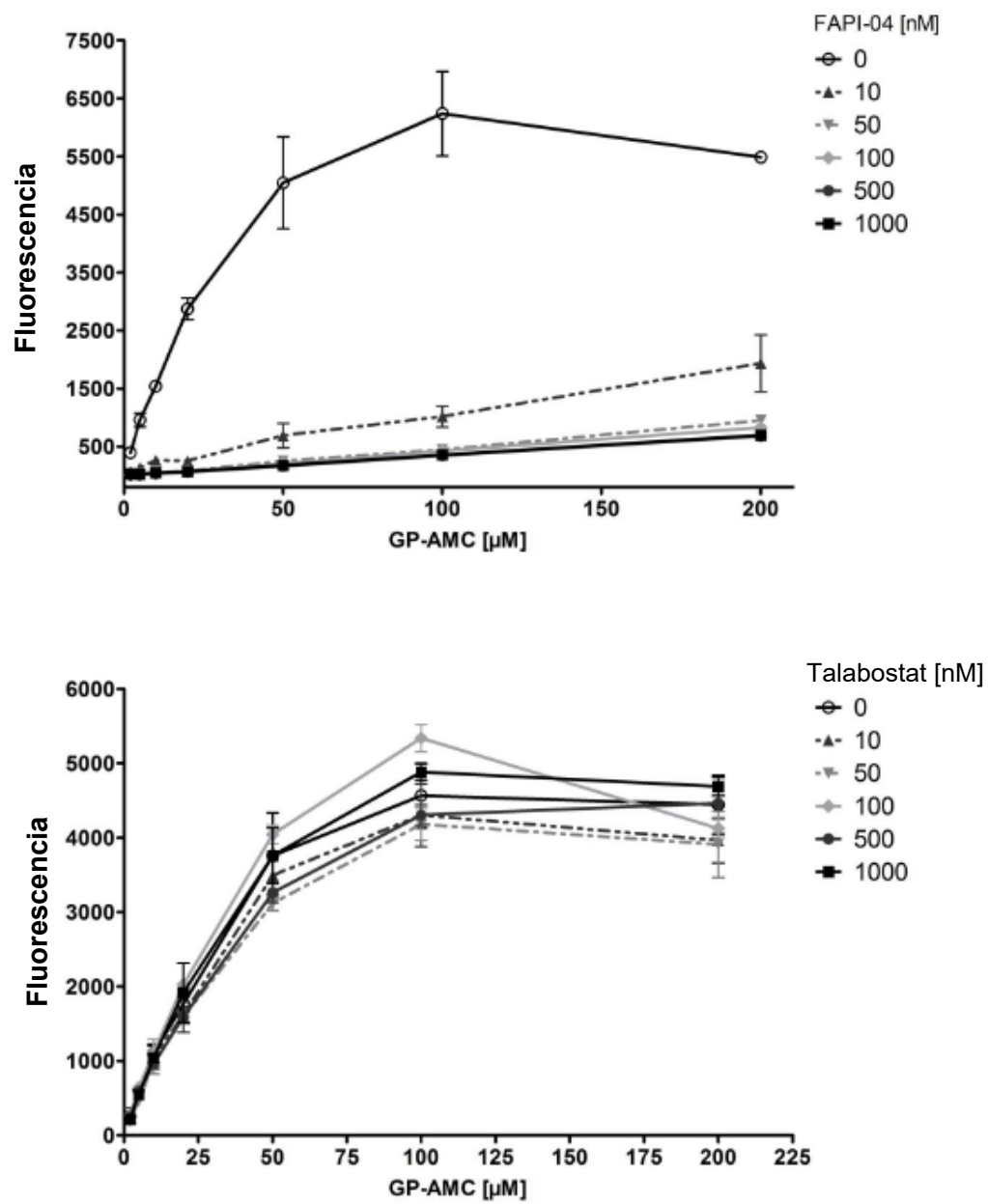


FIG. 46

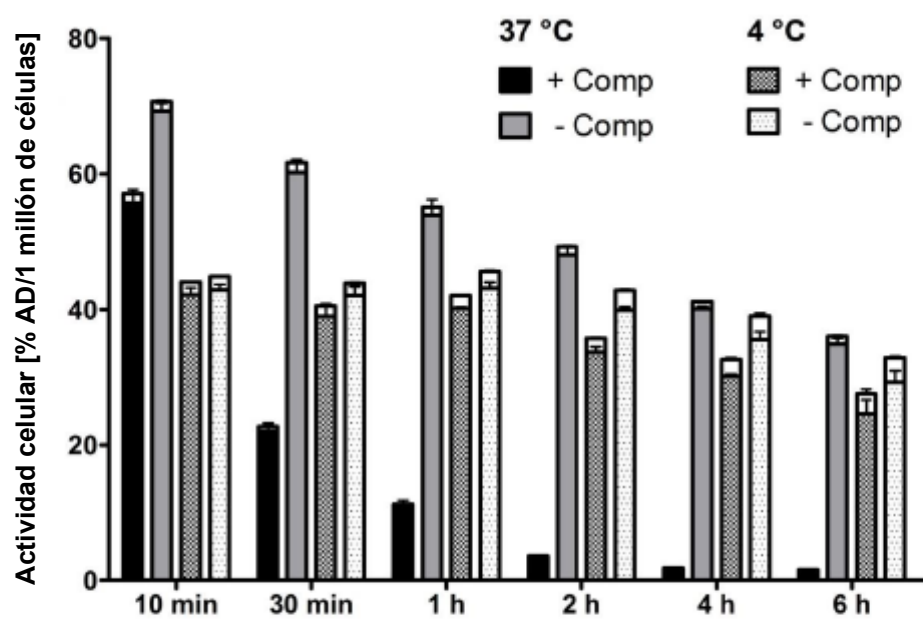
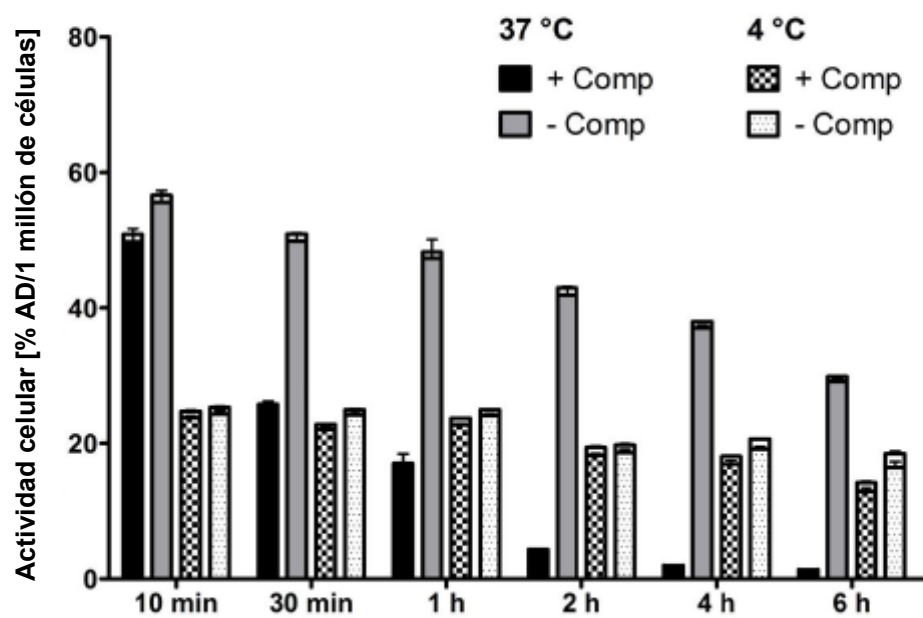
FAP1-04**FAP1-46**

FIG. 47

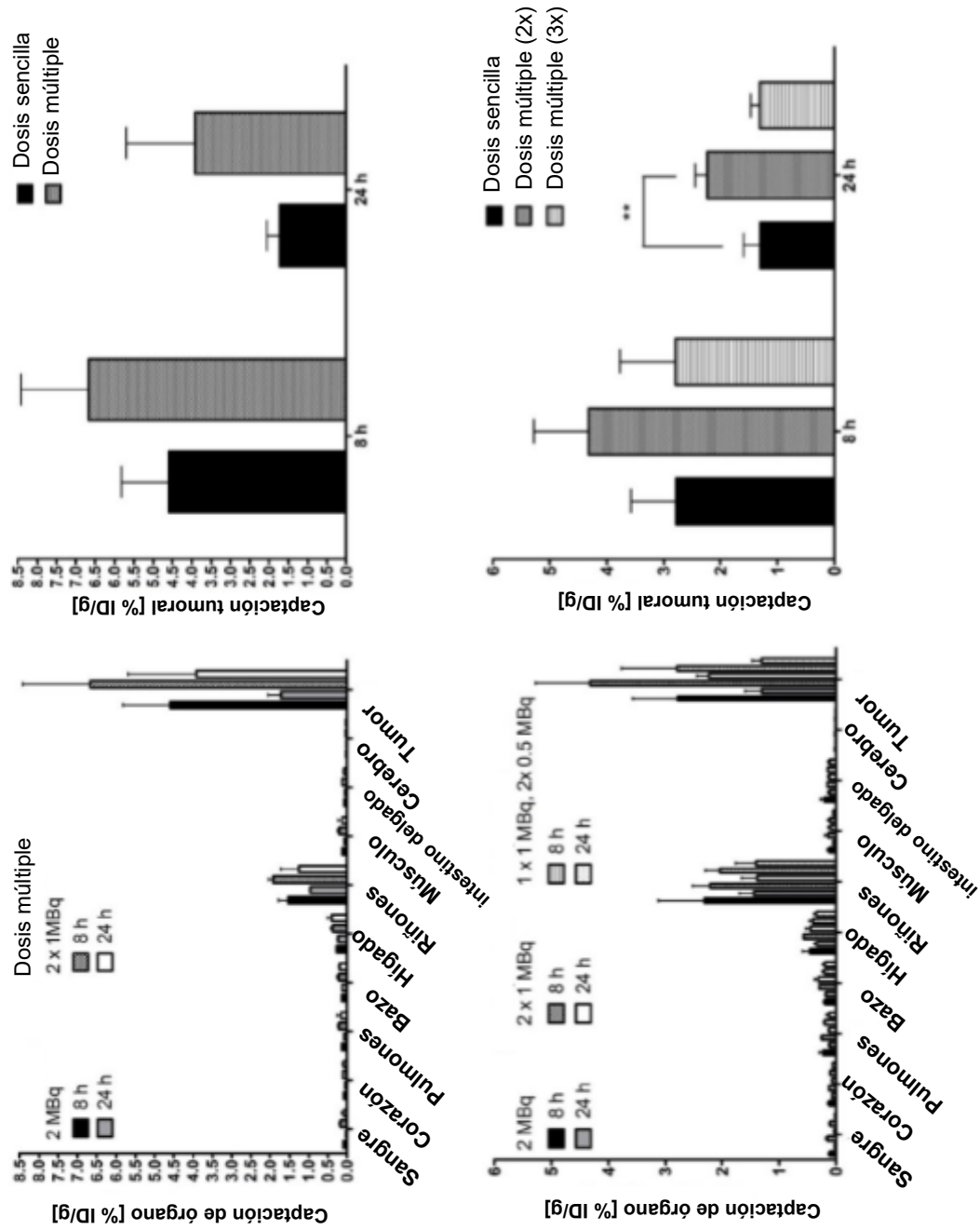


FIG. 48

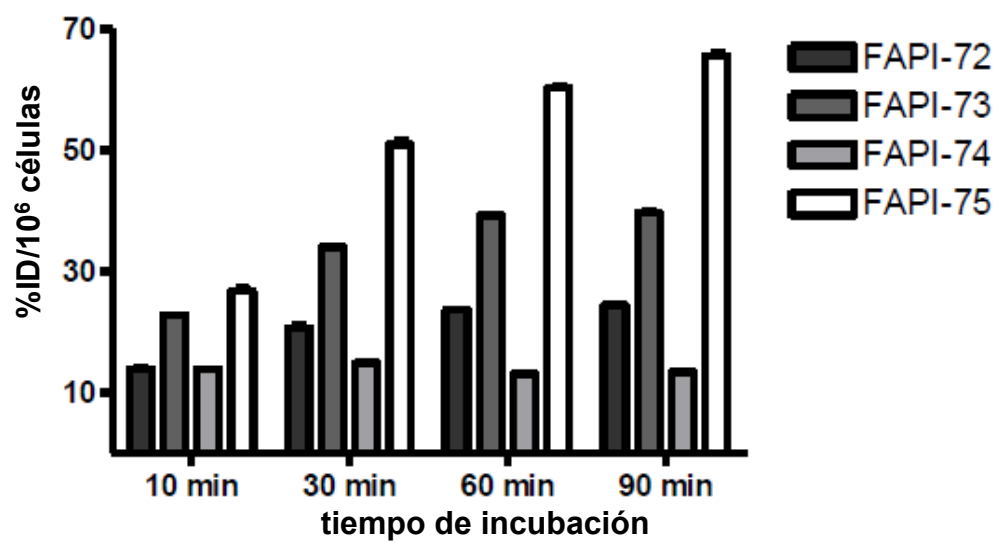


FIG. 49

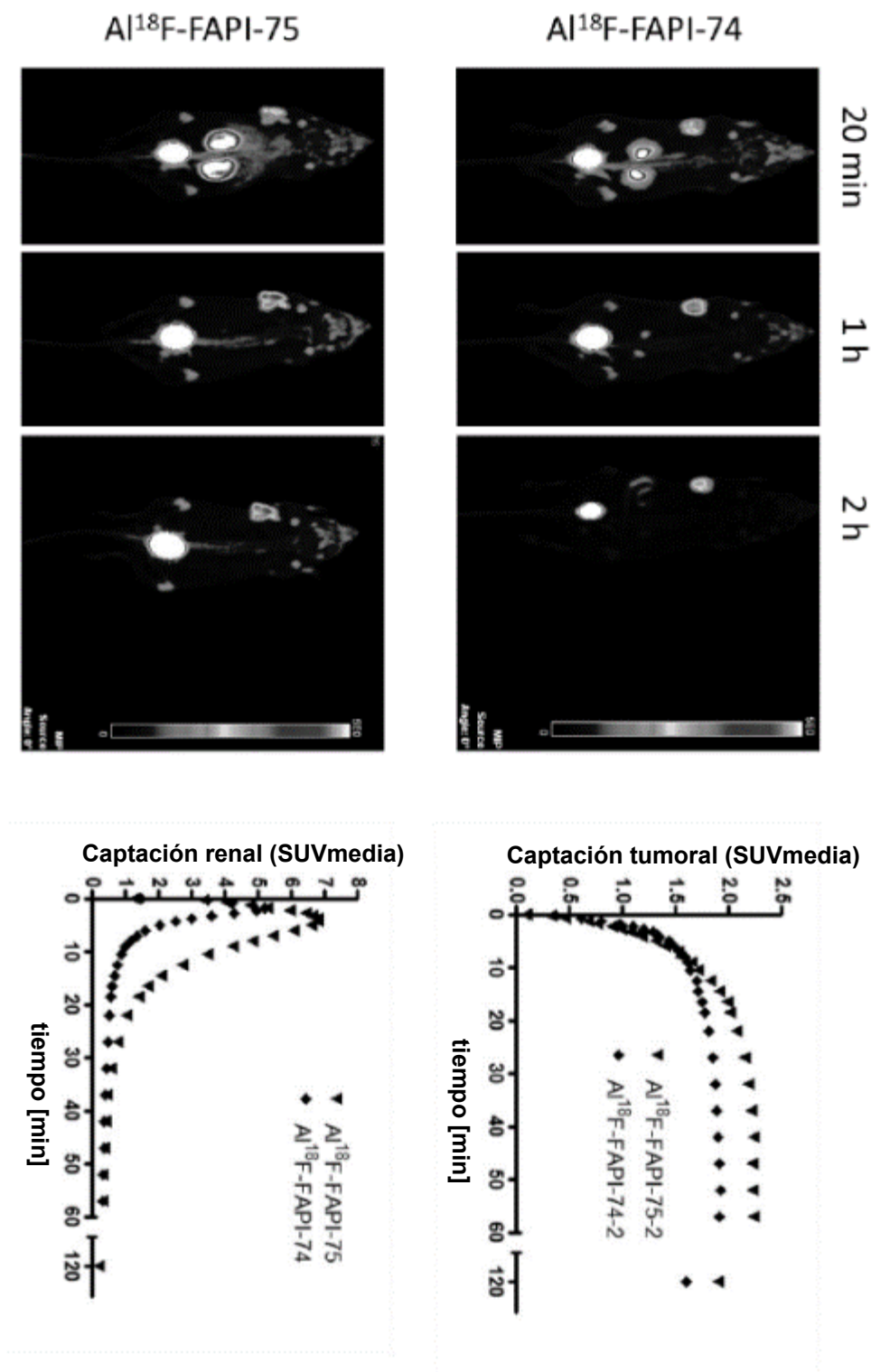


FIG. 50

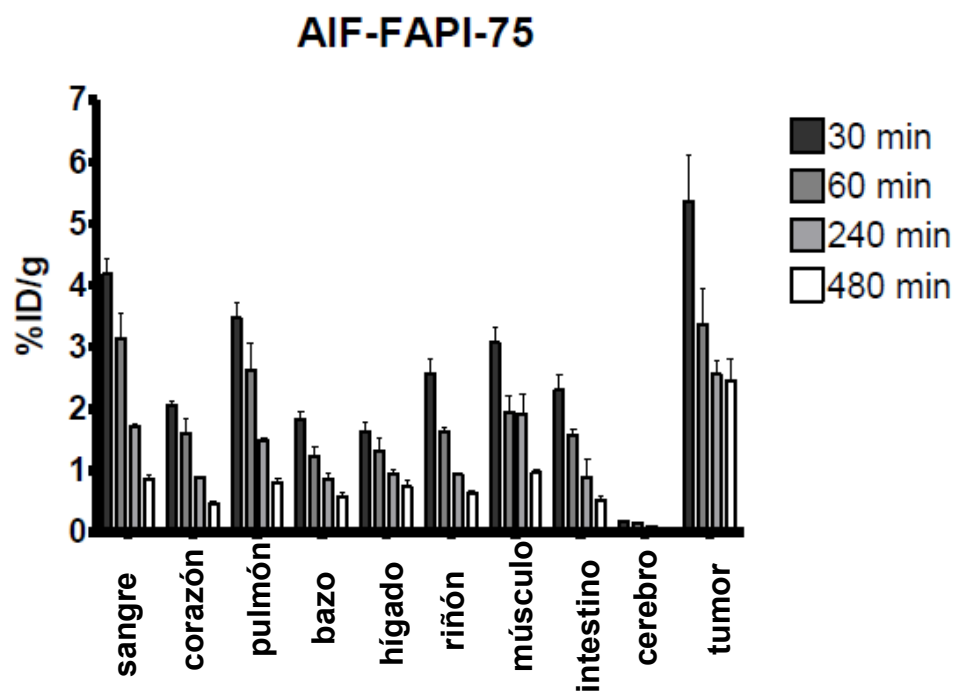


FIG. 51

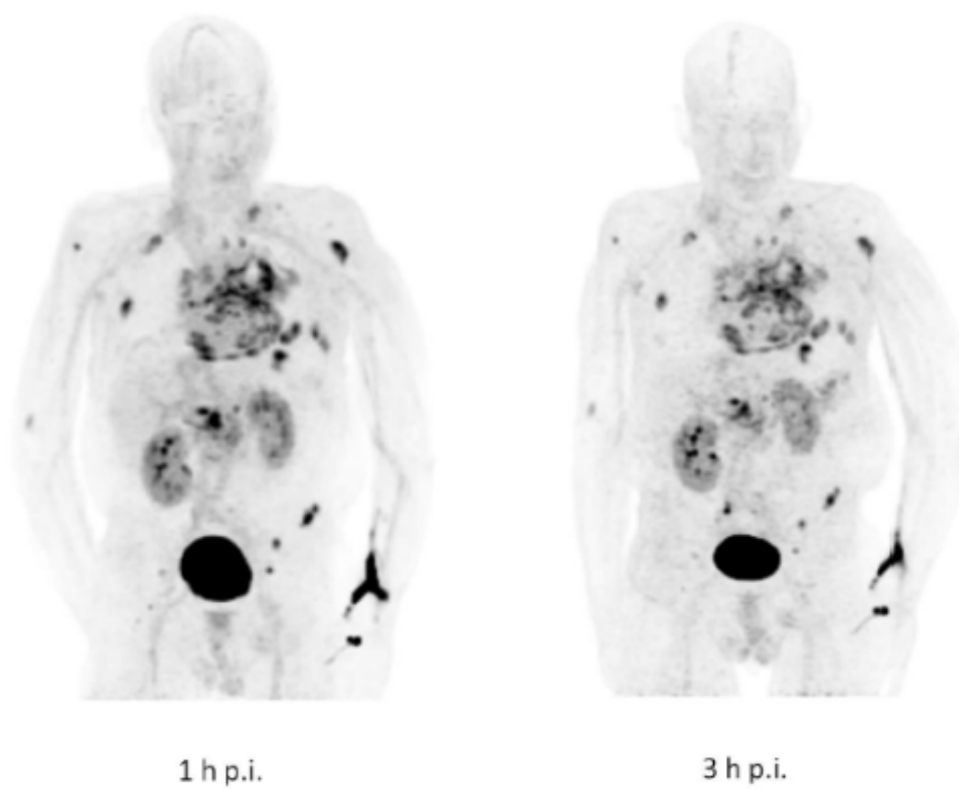


FIG. 52

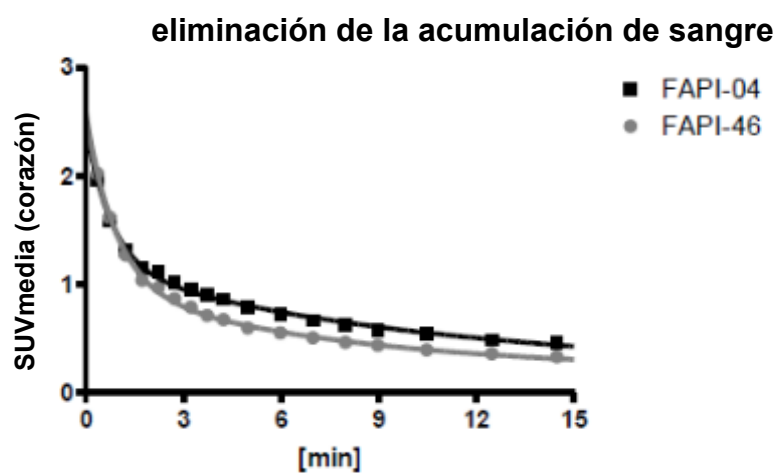


FIG. 53

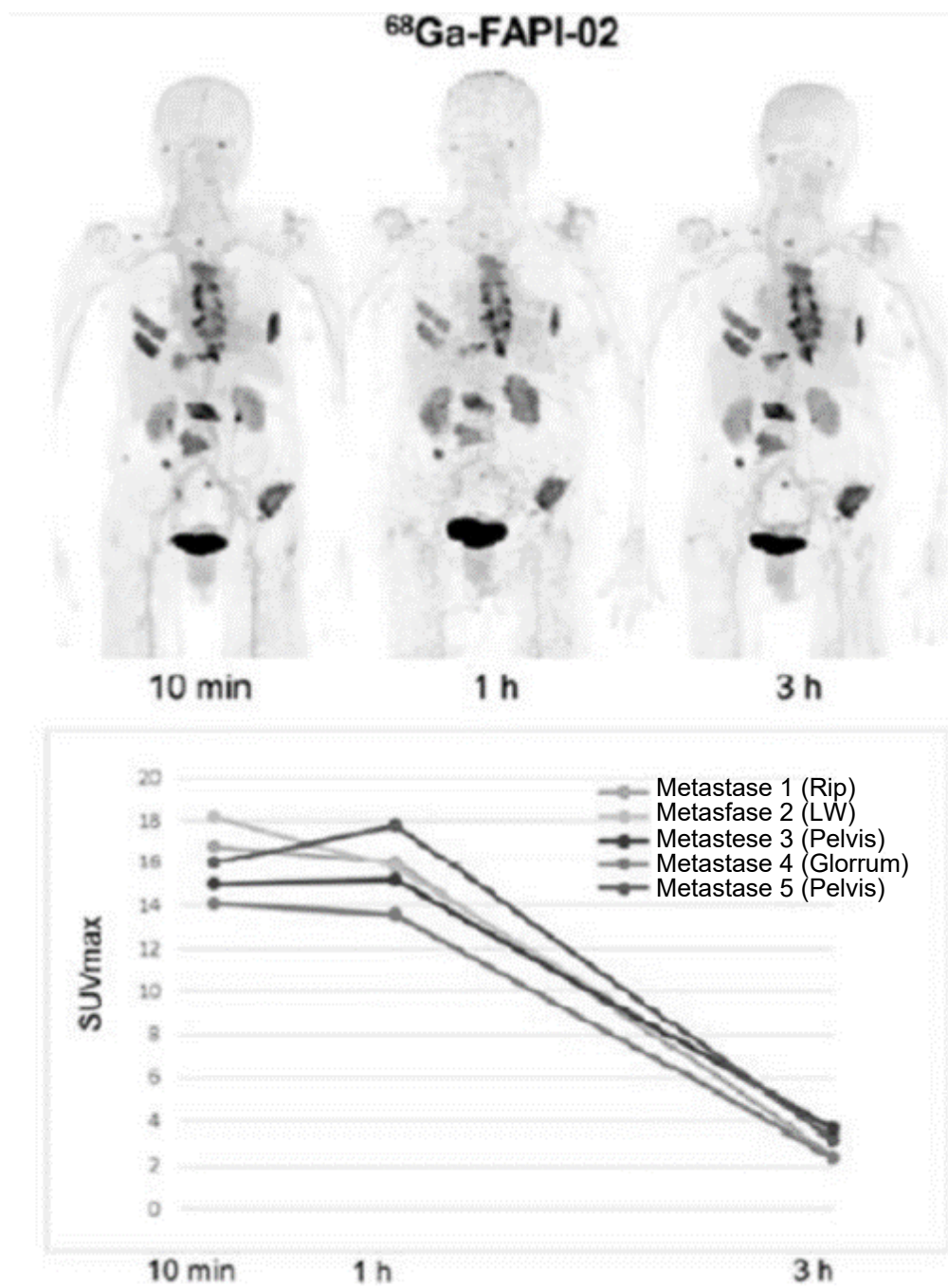


FIG. 54

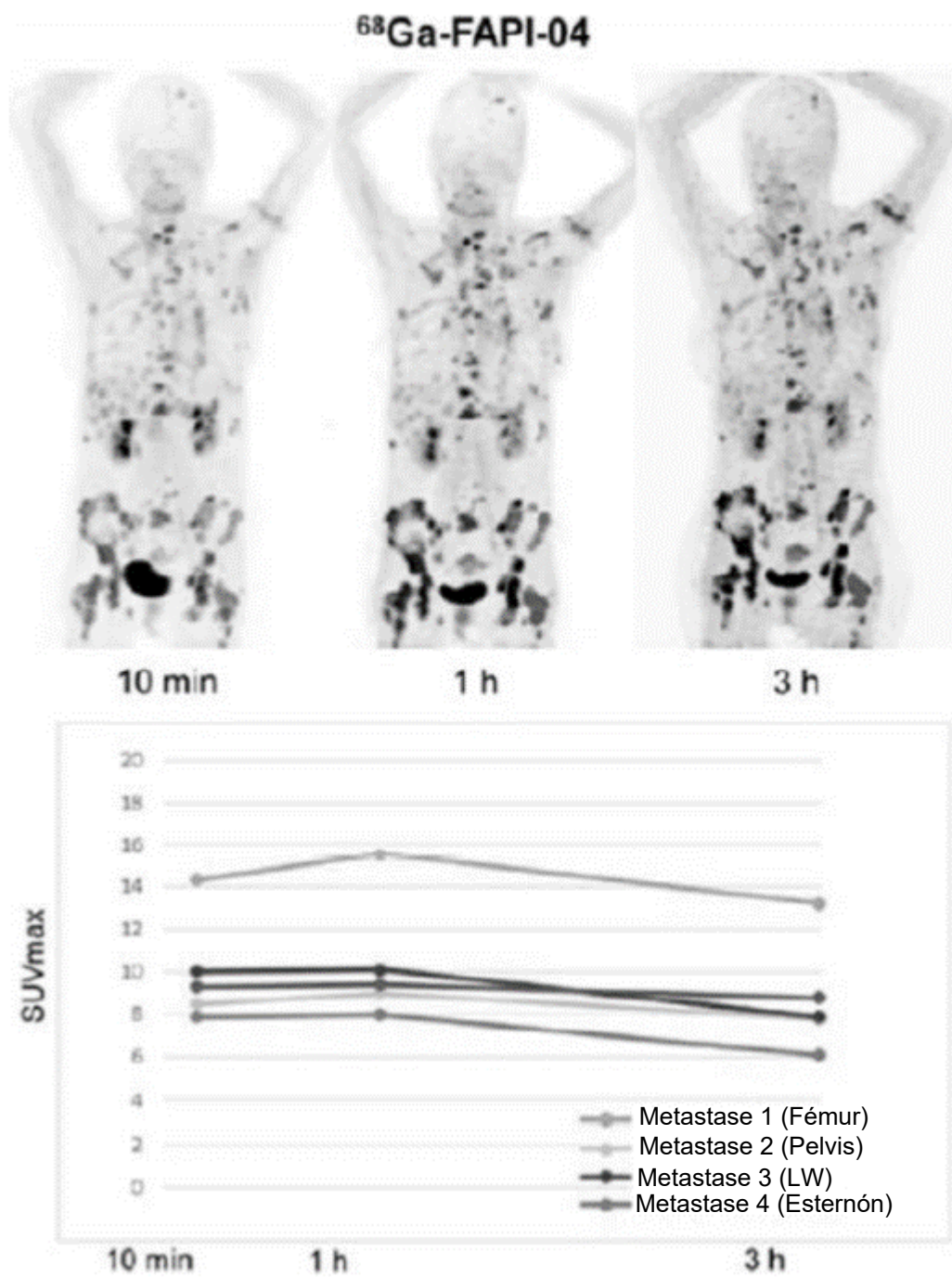


FIG. 54
CONTINUACIÓN

	FAP1-2	FAP1-4
Adrenales	1.23E-02	1.12E-02
Cerebro	9.54E-03	9.11E-03
Senos	9.58E-03	8.88E-03
Pared de la vesícula biliar	1.19E-02	1.13E-02
Pared de LLI	1.23E-02	1.17E-02
Intestino delgado	1.19E-02	1.13E-02
Pared del estómago	1.13E-02	1.06E-02
Pared de ULI	1.17E-02	1.11E-02
Pared del corazón	4.73E-02	2.02E-02
Riñones	4.45E-02	4.43E-02
Hígado	1.51E-02	1.46E-02
Pulmones	1.09E-02	9.89E-03
Músculo	1.04E-02	9.91E-03
Ovarios	1.24E-02	1.19E-02
Páncreas	1.23E-02	1.13E-02
Médula roja	3.28E-02	2.08E-02
Células osteogénicas	2.94E-02	2.16E-02
Piel	9.01E-03	8.63E-03
Bazo	2.62E-02	1.05E-02
Testículos	1.04E-02	1.01E-02
Timo	1.15E-02	1.01E-02
Tiroides	1.03E-02	9.82E-03
Pared de la vejiga urinaria	8.89E-02	9.91E-02
Útero	1.33E-02	1.30E-02
Cuerpo entero	1.19E-02	1.09E-02
Dosis eficaz (mSv/MBq)	1.80E-02	1.64E-02

FIG. 55

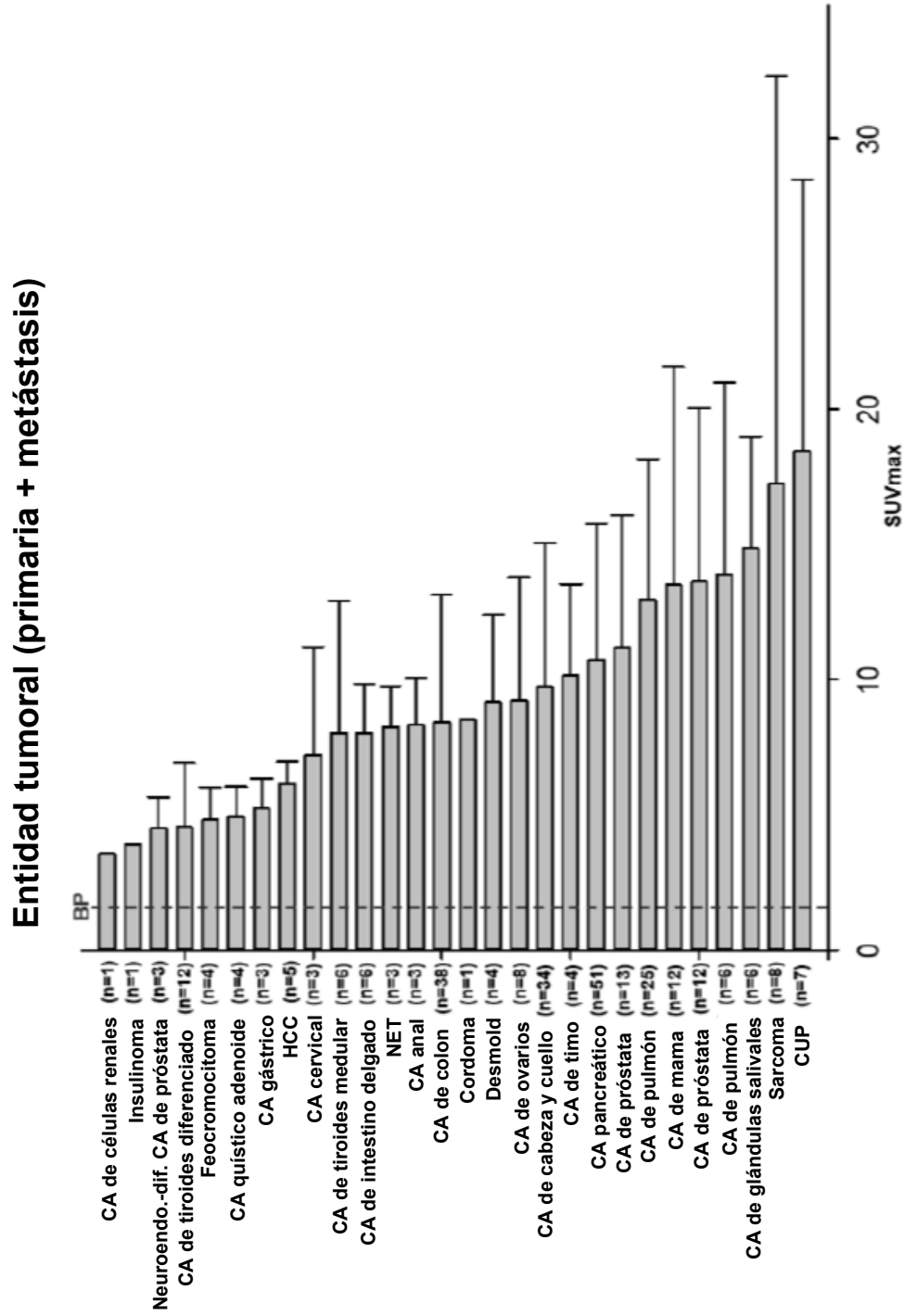


FIG. 56A

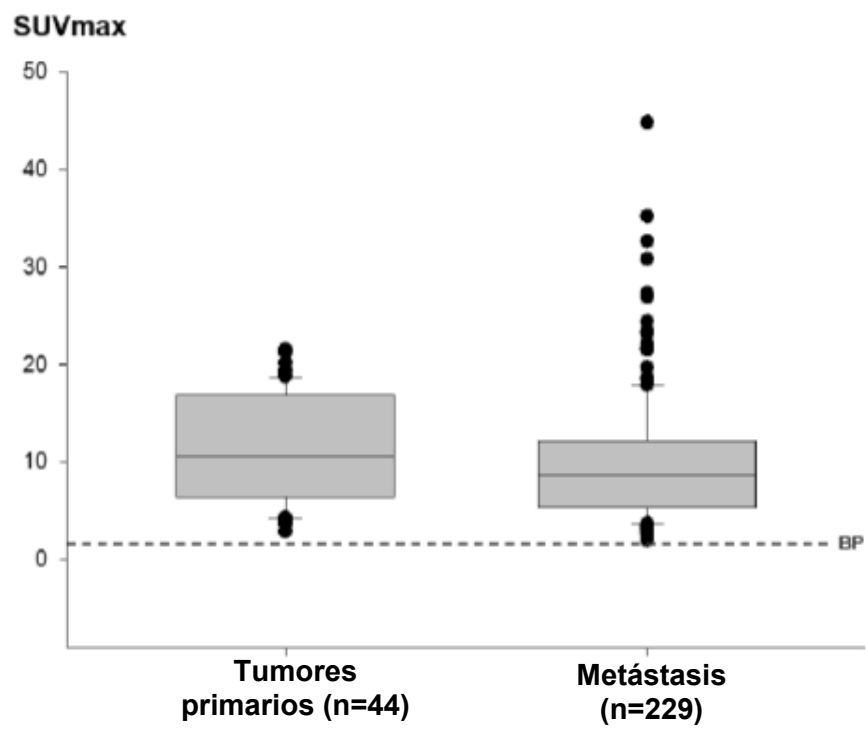


FIG. 56B

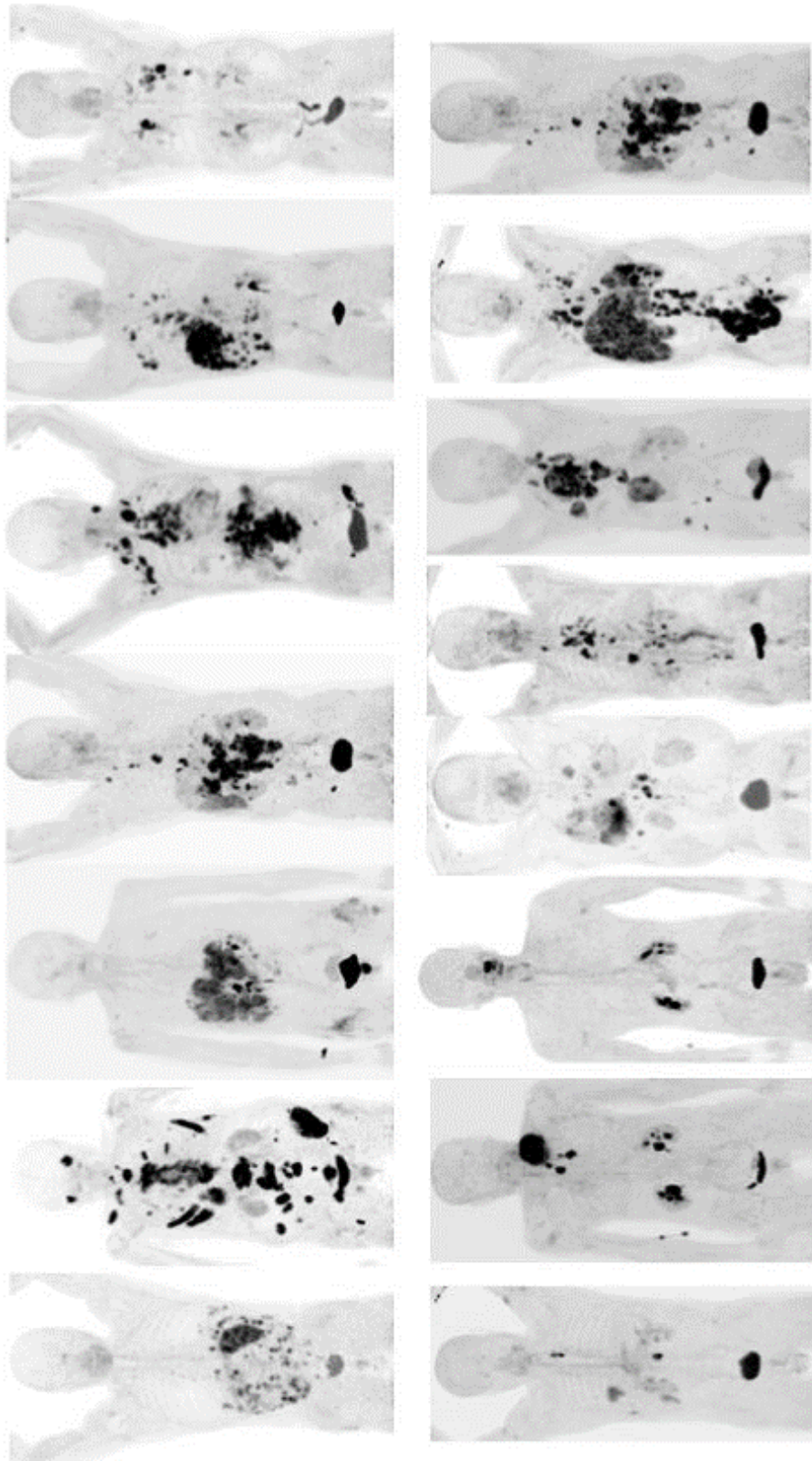


FIG. 57