

DERIVADOS DE BISAMINOTIOL FUNCIONALIZADOS, COMPLEJOS CON ESTOS DERIVADOS DE BISAMINOTIOL Y USO DE DICHS COMPLEJOS COMO AGENTES DIAGNÓSTICOS Y TERAPÉUTICOS

- 5** La invención se refiere a derivados de bisaminotiol funcionalizados. Además, se refiere a complejos de estos derivados de bisaminotiol funcionalizados con metales, en particular con radiometales. Además, se relaciona con el uso de dichos complejos, en particular su uso en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades en las que está implicado el antígeno de membrana específico de próstata (PSMA).
- 10** En medicina personal, los agentes radioetiquetados que se utilizan para dirigirse a estructuras biológicas específicas de una enfermedad para su diagnóstico y posterior tratamiento se denominan teranósticos. Este enfoque se ha utilizado para localizar y posteriormente eliminar la enfermedad metastásica.

- 15** En comparación con las células epiteliales normales de la próstata, la expresión del antígeno de membrana específico de próstata (PSMA) está aumentada en los cánceres de próstata humanos y las neoplasias malignas metastásicas de los mismos. Esta expresión elevada y específica de PSMA en la superficie celular es una característica del cáncer de próstata tanto localizado como metastásico. Además, se observó la expresión de PSMA en la neovascularización de múltiples neoplasias malignas sólidas no prostáticas (Chang et al., *Clin Cancer Res* 1999, 5, 2674).
- 20**

- 25** Por lo tanto, el PSMA es un objetivo atractivo para el diagnóstico, la estadificación, la detección de recidivas y el tratamiento del cáncer de próstata (y otras enfermedades en donde el PSMA está regulado al alza) mediante el uso de compuestos radioetiquetados. Tales moléculas comprenden típicamente un farmacóforo para la unión al PSMA, una estructura enlazadora para la optimización de las propiedades farmacológicas, y un quelante o grupo prostético para incorporar un radionúclido apropiado. En los últimos años se han utilizado principalmente radioligandos etiquetados con ^{18}F y ^{68}Ga para la imagenología PET del cáncer de próstata, incluyendo ^{68}Ga -PSMA-11, ^{18}F -DCFPyL y ^{18}F -PSMA-1007.

- 30** $^{99\text{m}}\text{Tc}$ es un isótopo popular en medicina nuclear para la obtención de imágenes SPECT debido a su semivida más larga ($t_{1/2} = 6,01 \text{ h}$), su baja radiotoxicidad, así como a la amplia y no centralizada disponibilidad a partir de generadores de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$. Debido a las químicas de coordinación similares, el tecnecio y el renio representan un par teranóstico que

permite el uso del mismo PSMA-ligando para la imagenología SPECT cuando se etiqueta con ^{99m}Tc y para la terapia radioligando (RLT) cuando se etiqueta con ^{186}Re ($t_{1/2} = 89,25 \text{ h}$) o ^{188}Re ($t_{1/2} = 17,02 \text{ h}$).

5 Los primeros PSMA-ligandos etiquetados con ^{99m}Tc adolecían de una distribución lenta, una elevada captación hepática y una lenta eliminación del organismo. Las propiedades farmacocinéticas lentas de los trazadores etiquetados con ^{99m}Tc requieren puntos de tiempo de imagenología tardíos para lograr relaciones tumor-fondo suficientes (Werner et al., *EJNMMI Research* 2020, 10, 45; Vallabhajosula et al., *J Nucl Med* 2014, 55, 1791). Esto se traduce en un mayor tiempo de espera para el paciente entre la inyección del trazador y la adquisición de la imagen SPECT. En el caso de una aplicación terapéutica, una depuración lento puede dar lugar a una elevada captación en órganos inespecíficos y, por lo tanto, a efectos adversos debidos a la radiotoxicidad.

15 Los PSMA-ligandos conocidos con restos quelantes HÍNICOS requieren co-ligandos para estabilizar los complejos de tecnecio en sistemas biológicos y evitar la oxidación por el oxígeno. La elección del co-ligando puede influir en la geometría del complejo, en el número de PSMA-ligandos coordinados a un átomo de Tc y, en última instancia, en la biodistribución del compuesto radioetiquetado. El resto hidracina de HYNIC es un nucleófilo fuerte, lo que puede dar lugar a productos secundarios no deseados durante el radioetiquetado o cuando se aplica en sistemas biológicos. La formación de complejos estables de renio con HYNIC como quelante sigue siendo un reto (North et al., *Inorg. Chem.* 2017, 56, 9725; Philip J. Blower, *Int. J. Nucl. Medi. Res.* 2017, 39).

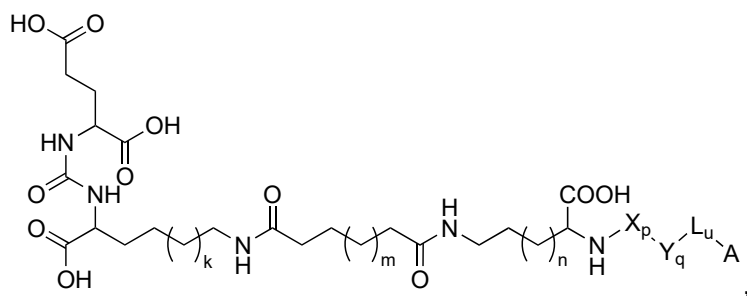
25 En conclusión los PSMA-ligandos etiquetados con ^{99m}Tc para imagenología SPECT de la técnica anterior son inferiores a los PSMA-ligandos actuales etiquetados con nucleidos PET en términos de radioetiquetado, estabilidad, farmacocinética y desempeño diagnóstico. De ahí que sea deseable desarrollar nuevos PSMA-ligandos etiquetados con ^{99m}Tc con propiedades farmacológicas optimizadas, utilizando al mismo tiempo un quelante que pueda formar también complejos estables con otros metales como el renio.

30 El problema de la invención es eliminar los inconvenientes de acuerdo con la técnica anterior. En particular, se proporcionarán derivados de bisaminotiol funcionalizados que permitan la formación de complejos estables con metales, en particular con renio y tecnecio. Además, se proporcionarán complejos que sirvan como ligandos para el antígeno de membrana específico de próstata (PSMA) y puedan utilizarse en el diagnóstico y el tratamiento de determinadas enfermedades en las que está implicado el PSMA.

Este problema se resuelve con las características de las reivindicaciones 1, 8, 10, 11, 13 y 14. Los desarrollos prácticos de las invenciones se derivan de las características de las reivindicaciones dependientes.

De acuerdo con la invención, se proporciona un compuesto de fórmula general I

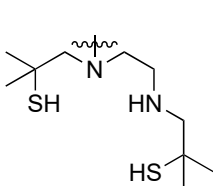
5



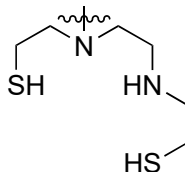
(fórmula I)

en donde

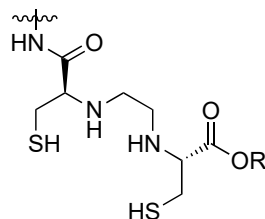
A es un quelante seleccionado del grupo que consiste en



A1,

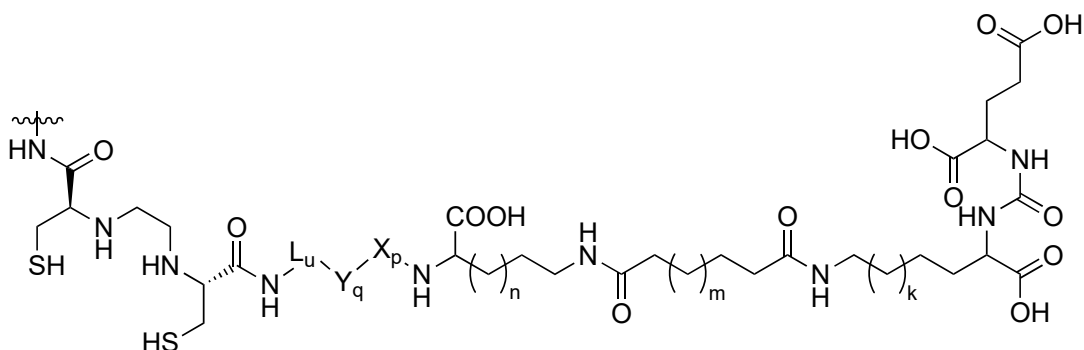


A2,



A3

y



A4,

k es independientemente en cada caso 0, 1, o 2;

m es independientemente en cada caso 1, 2, 3, 4 o 5;

n es independientemente en cada caso 0, 1, 2 o 3;

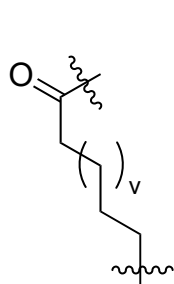
p es independientemente en cada caso 1, 2 o 3;

5 q es independientemente en cada caso 1, 2 o 3;

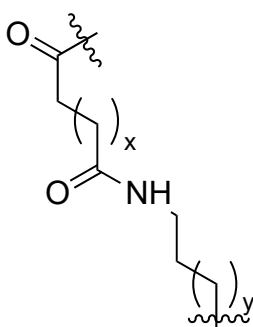
u es independientemente en cada caso 0 o 1;

X e Y son aminoácidos sustituidos o no sustituidos;

L es un enlazador bifuncional seleccionado del grupo que consiste en

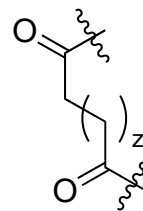


L1



L2

y



L3,

en donde v, x e y son independientemente entre sí 0, 1, 2 o 3, y z es 0, 1, 2 ,3, 4 o 5;

10 y

R es H, metilo o etilo.

Los compuestos de fórmula general I son derivados del bisaminotiol porque contienen el grupo A. En lo sucesivo, el grupo A también se denomina quelante N_2S_2 . Los compuestos de fórmula general I pueden formar complejos con metales, en particular con radiometales. El resto de bisaminotiol de un compuesto de fórmula general I permite la complejación de un metal, en particular un radiometal, con lo que se obtienen complejos. Debido al resto de bisaminotiol, un compuesto de fórmula general I es un ligando para la complejación de metales, en particular radiometales.

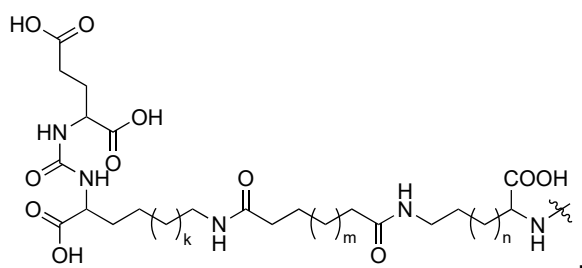
Los compuestos de fórmula general I son derivados de bisaminotiol funcionalizados

porque están funcionalizados por diferentes secuencias de aminoácidos como un enlazador y un grupo farmacóforo a base de urea.

Los complejos pueden utilizarse como ligandos que se unen al antígeno de membrana específico de próstata (PSMA). Específicamente, se ha descubierto que los complejos pueden utilizarse como inhibidores de PSMA. Por lo tanto, los complejos pueden utilizarse en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades en las que está implicado el PSMA. En particular, los complejos pueden utilizarse en el diagnóstico y tratamiento de ciertas enfermedades en donde el PSMA está regulado al alza. Por lo tanto, los complejos pueden utilizarse como medicamentos en el diagnóstico y la terapia del cáncer de próstata.

- 5** De acuerdo con la invención, el grupo X es un aminoácido ($p = 1$) o una secuencia de aminoácidos ($p = 2$ o 3). Si p es 1, preferiblemente el aminoácido se selecciona del grupo que consiste en un ácido glutámico sustituido o no sustituido, un ácido aspártico sustituido o no sustituido, una fenilalanina sustituida o no sustituida, una histidina sustituida o no sustituida y una serina sustituida o no sustituida. Preferiblemente, el aminoácido es fenilalanina sustituida o no sustituida o ácido glutámico sustituido o no sustituido, siendo particularmente preferible el ácido glutámico sustituido o no sustituido. Si p es 2 o 3, entonces preferiblemente cada uno de los aminoácidos que forman la secuencia de aminoácidos de forma independiente se selecciona del grupo que consiste en un ácido glutámico sustituido o no sustituido, un ácido aspártico sustituido o no sustituido, una fenilalanina sustituida o no sustituida, una histidina sustituida o no sustituida y una serina sustituida o no sustituida. Preferiblemente, cada uno de los aminoácidos de la secuencia de aminoácidos es fenilalanina sustituida o no sustituida, o ácido glutámico sustituido o no sustituido, siendo particularmente preferible el ácido glutámico sustituido o no sustituido.

- 25** Puede preverse que el grupo X esté unido al grupo Y mediante un primer enlace peptídico y al resto BM mediante un segundo enlace peptídico. El resto BM es un resto de fórmula general



en donde k , m y n tienen los medios dados en el contexto con la fórmula general I. Por

lo tanto, el compuesto de fórmula general I también puede representarse mediante la fórmula general



5 Si el grupo X tiene una secuencia de dos o tres aminoácidos los aminoácidos están unidos a cada uno por un enlace peptídico. El grupo BM es un grupo farmacóforo basado en la urea. Los grupos X e Y forman un enlazador entre el grupo BM, por un lado, y el resto L-A, por otro.

De acuerdo con la invención, el grupo Y es un aminoácido ($q = 1$) o una secuencia de aminoácidos ($q = 2$ o 3). Si q es 1, preferiblemente el aminoácido se selecciona del grupo que
10 consiste en ácido glutámico sustituido o no sustituido, un ácido aspártico sustituido o no sustituido, una fenilalanina sustituida o no sustituida, una histidina sustituida o no sustituida y una serina sustituida o no sustituida. Preferiblemente, el aminoácido es fenilalanina sustituida o no sustituida o ácido glutámico sustituido o no sustituido, siendo particularmente preferible el ácido glutámico sustituido o no sustituido. Si q es 2 o 3, entonces preferiblemente cada uno
15 de los aminoácidos que forman la secuencia de aminoácidos de forma independiente se selecciona del grupo que consiste en un ácido glutámico sustituido o no sustituido, un ácido aspártico sustituido o no sustituido, una fenilalanina sustituida o no sustituida, una histidina sustituida o no sustituida y una serina sustituida o no sustituida. Preferiblemente, cada uno de los aminoácidos de la secuencia de aminoácidos es fenilalanina sustituida o no sustituida, o
20 ácido glutámico sustituido o no sustituido, siendo particularmente preferible el ácido glutámico sustituido o no sustituido.

Puede preverse que el grupo Y esté unido al grupo X mediante un primer enlace peptídico y al resto $n \text{ L}_u$ mediante un segundo enlace peptídico. Si el grupo X tiene una secuencia de dos o tres aminoácidos los aminoácidos están unidos entre sí por un enlace peptídico.

25 Los grupos X e Y pueden ser iguales o diferentes. En una modalidad de la invención, el término “aminoácido sustituido” se refiere a un aminoácido que tiene un anillo fenilo, en donde el anillo fenilo tiene uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno e hidroxilo. El término “halógeno”, a menos que se indique lo contrario, se refiere al flúor, cloro, bromo o yodo. Preferiblemente, el halógeno es yodo. En
30 una modalidad preferida, el anillo de fenilo tiene dos sustituyentes, en donde uno de los sustituyentes es yodo y el otro sustituyente es hidroxilo.

De acuerdo con la invención, puede disponerse que L en los compuestos de fórmula I sea L1 o L2, en donde v, x e y son independientemente 1, 2 o 3. En una modalidad más preferida de la invención, el enlazador L puede ser L1 o L2, en donde v, x e y son independientemente entre sí 1. En una modalidad más preferida de la invención, el enlazador L es L1, en donde v es 1.

De acuerdo con la invención, se puede prever que A en los compuestos de fórmula I pueda ser A1 o A2. En una modalidad más preferida de la invención, A es A1.

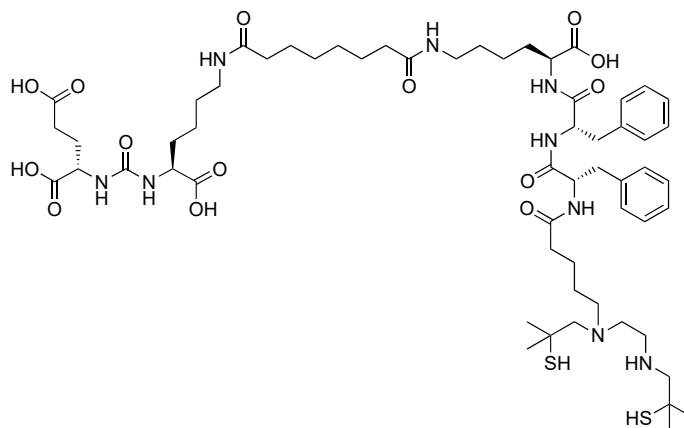
En una modalidad más preferida de acuerdo con la invención, se pueden proporcionar compuestos de fórmula general I, en donde k es 1, m es 3, n es 2, p es 1 o 2, q es 1 o 2 y u es 1, preferiblemente p y q son 1, X e Y independientemente son fenilalanina o ácido glutámico sustituidos o no sustituidos; L es L1 con v = 1 o L2 con x e y = 1, y A es A1 o A2.

En una primera modalidad de la invención, X es fenilalanina no sustituida e Y es fenilalanina sustituida o no sustituida. Preferiblemente, X es fenilalanina no sustituida e Y es fenilalanina sustituida, más preferiblemente X es fenilalanina no sustituida e Y es fenilalanina sustituida con yodo y OH en el anillo fenilo. En la primera modalidad, se prefiere que L sea L1 o L2, siendo particularmente preferible L1. Preferiblemente, L es L1 con v = 1 o L2 con x e y = 1. En la primera modalidad, se prefiere que A se seleccione del grupo que consiste en A1 a A4. A es preferentemente A1 o A2, siendo particularmente preferible A1. En la primera modalidad, se prefiere que k sea 1, m sea 3, n sea 2, p sea 1, q sea 1 y u sea 1.

En una segunda modalidad de la invención, X e Y son independientemente entre sí fenilalanina o ácido glutámico. Preferiblemente, X e Y son ambos ácido glutámico. En la segunda modalidad, se prefiere que L sea L1 o L2, siendo particularmente preferible L1. Preferiblemente, L es L1 con v = 1 o L2 con x e y = 1. En la primera modalidad, se prefiere que A se seleccione del grupo que consiste en A 1 bis A4. A es preferentemente A1 o A2, siendo particularmente preferible A1. En la primera modalidad, se prefiere que k sea 1, m sea 3, n sea 2, p sea 1, q sea 1 y u sea 1.

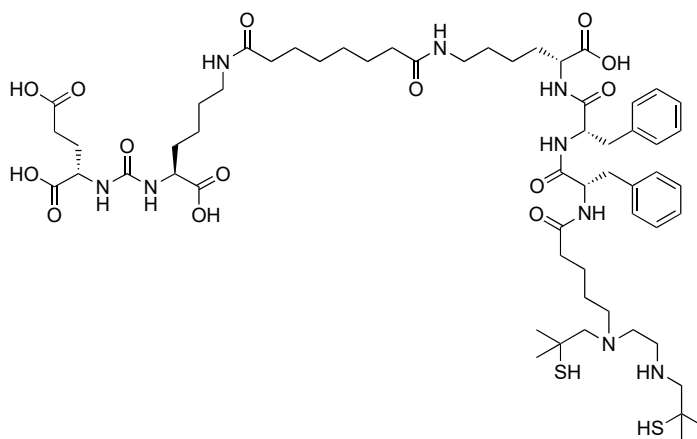
Si el resto A es A4, se prefiere que k, m, n, p, q, v, x, y y z, así como X, Y y L en A4 tengan el mismo significado que en el resto BM.

De acuerdo con la invención, se prefieren los siguientes compuestos **1, 2, 4, 5 y 6**.



1

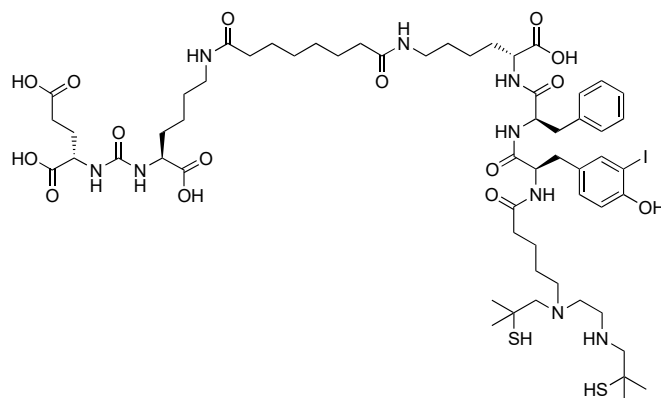
El compuesto **1** es un compuesto de fórmula general I, en donde k es 1, m es 3, n es 2, p, q y u son 1, X e Y son fenilalanina; L es L1 con v = 1, y A es A1.



5

2

El compuesto **2** es un compuesto de fórmula general I, en donde k es 1, m es 3, n es 2, p, q y u son 1, X e Y son fenilalanina; L es L1 con v = 1, y A es A1.



El compuesto **4** es un compuesto de fórmula general I, en donde k es 1, m es 3, n es 2, p, q y u son 1, X es fenilalanina no sustituida e Y es fenilalanina sustituida con yodo y OH en el anillo fenilo; L es L1 con v = 1 y A es A1.



El compuesto **5** es un compuesto de fórmula general I, en donde k es 1, m es 3, n es 2, p, q y u son 1, X e Y son ácido glutámico; L es L1 con v = 1 y A es A1.



El compuesto (6) es un compuesto de fórmula general I, en donde k es 1, m es 3, n es 2, p, q y u son 1, X e Y son ácido glutámico; L es L2 con x e y = 1, y A es A2.

15

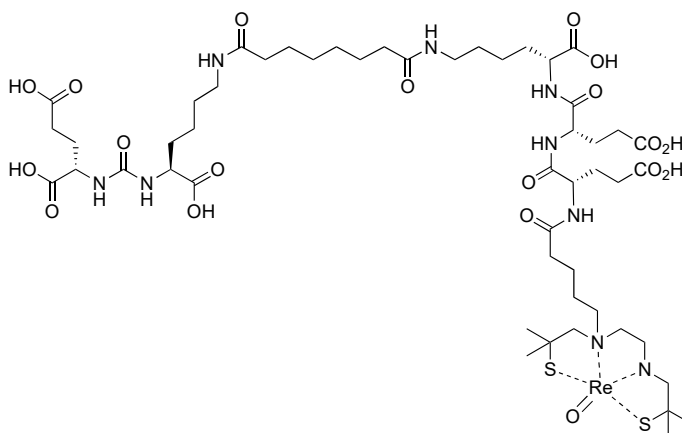
respectivas de un compuesto de fórmula general I. Los componentes estereoisoméricamente uniformes pueden aislarse de manera conocida a partir de dichas mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros.

- De acuerdo con la invención se proporciona además un complejo que comprende un
- 5** compuesto de fórmula general I como ligandos y un metal. Dicho complejo puede utilizarse como fármaco medicinal, en particular como fármaco medicinal para el diagnóstico y la terapia de enfermedades de la próstata. La complejación del metal tiene lugar preferentemente a través del resto quelante A. Los complejos son complejos de coordinación del metal correspondiente. El metal puede estar presente como un ion del metal o como un óxido del metal.
- 10** En el óxido metálico, el metal puede estar presente como un ion. En una modalidad, el complejo puede consistir en el compuesto de fórmula general I como ligandos y el ion metálico. En otra modalidad, el complejo puede consistir en el compuesto de fórmula general I como ligandos y el óxido metálico. El metal forma la partícula central del complejo inventivo.

- En una modalidad preferida de la invención, el metal se selecciona del grupo que consiste en un ion de renio, un ion de tecnecio y un ion de cobre. Preferiblemente, el metal es un
- 15** metal radiactivo. Por lo tanto, un complejo preferido es un complejo metálico que comprende un radionucleido y un compuesto de fórmula general I.

- Más preferiblemente, el metal es un isótopo seleccionado del grupo que consiste en ^{99m}Tc , ^{99}Tc , ^{94m}Tc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{64}Cu y ^{67}Cu . Aún más preferiblemente, el metal es un isótopo
- 20** seleccionado del grupo que consiste en ^{99m}Tc , ^{186}Re y ^{188}Re . En una modalidad más preferida de la invención, el isótopo es ^{99m}Tc .

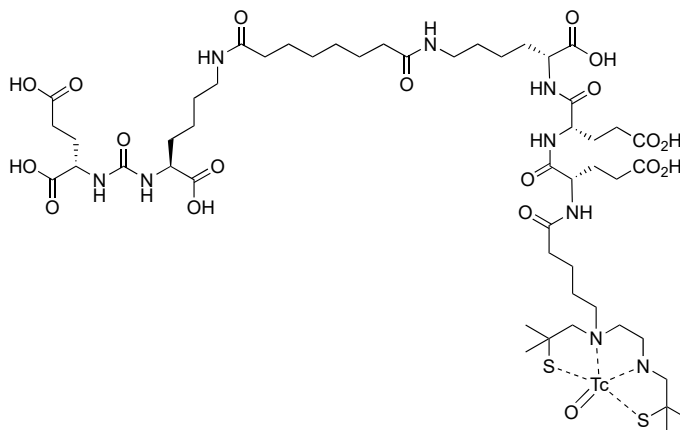
En una modalidad de la invención, el complejo es un compuesto de fórmula ReO-5:



ReO-5

en donde Re es un ion renio. Preferiblemente, el ion renio es ^{186}Re or ^{188}Re . El ion renio está presente como parte de ReO .

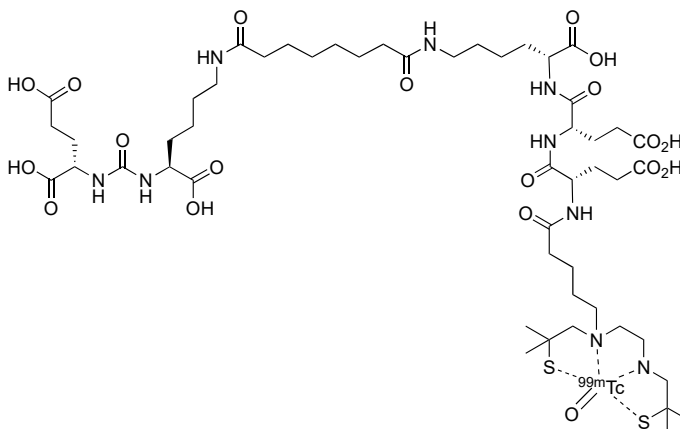
En una modalidad de la invención, el complejo es un compuesto de fórmula **TcO-5**:



5

TcO-5

en donde Tc es un ion tecnecio. Preferiblemente, el ion tecnecio es un isótopo seleccionado del grupo que consiste en ^{99m}Tc , ^{99}Tc , ^{94m}Tc . El ion tecnecio está presente como parte de TcO . De manera especialmente preferible, el ion tecnecio es el isótopo ^{99m}Tc . En una modalidad preferida de la invención, el complejo es un compuesto de fórmula $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-5}$:



10

$[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-5}$:

La formación de los complejos que contienen ^{99m}Tc y su suministro para su aplicación puede lograrse mediante la reacción del ligando respectivo, es decir, el compuesto respectivo de fórmula general I, con una disolución de $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{pertechnetato}$ de sodio en disolución salina, como la que proporcionan los generadores de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ disponibles en el mercado, con base

15

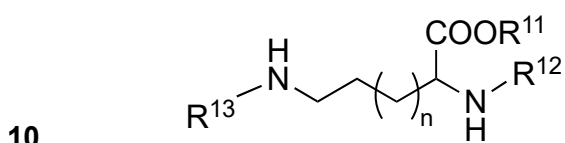
en los métodos descritos en la bibliografía (IAEA. *Labelling of small biomolecules using novel Technetium-99m Cores*; International Atomic Energy Agency: Viena, 2007.), que se aplicaron y adaptaron. Para permitir la reducción necesaria del $^{99m}\text{Tc(VII)}$, presente en el $[\text{}^{99m}\text{Tc}]$ pertecnetato de sodio, a $^{99m}\text{Tc(V)}$, presente como $^{99m}\text{Tc(V)O}$ en el complejo, se utiliza un agente reductor, preferentemente cloruro de estaño, en condiciones optimizadas, tal como su preparación en condiciones ácidas, utilizando preferiblemente ácido clorhídrico diluido bajo saturación por una corriente de un gas inerte, por ejemplo, helio, y por lo tanto exclusión de oxígeno. El paso de etiquetado se realiza en condiciones débilmente ácidas, tal como un rango de pH de 5 a 6,5. El volumen total de la disolución de reacción puede estar en el rango de 0,2-12 mL y la cantidad de (^{99m}Tc)pertecnetato de sodio puede estar en el rango de 0,1-50 GBq. Dependiendo del volumen de eluido del generador utilizado, la cantidad de ligando utilizado puede variar (10-200 μg). El paso de etiquetado puede realizarse a temperatura ambiente. Los parámetros de reacción utilizados en particular podrían requerir temperaturas elevadas de hasta 100 °C, preferiblemente 80 °C, para completar la reacción o minimizar el tiempo de reacción. Además, el calentamiento durante un cierto periodo de tiempo, por ejemplo, durante 20 min a 80 °C, resulta ventajoso debido a la descomposición resultante de las cantidades no reaccionadas de ligando en exceso y, por lo tanto, favorece las propiedades de imagenología del complejo. En caso de etiquetado incompleto, la disolución que contiene el complejo puede purificarse mediante procedimientos de extracción en fase sólida (SPE) o HPLC semipreparativa, por ejemplo, utilizando RP-C18 o Sephadex (G-25, superfino) como fases estacionarias. Pueden utilizarse materiales auxiliares que contribuyan a una conversión completa y a minimizar el tiempo de reacción, tales como sales de ácido glucónico o heptagluconico, preferiblemente heptagluconato de calcio. Se puede utilizar otros materiales auxiliares, tales como D-manosa, galactosa o ciclodextrinas, de los cuales se prefiere la D-manosa. Del mismo modo, es posible el uso de agentes estabilizadores y antioxidantes, tales como el ditiotreitól y el ácido ascórbico, respectivamente.

Los complejos de acuerdo con la invención pueden unirse al antígeno de membrana específico de próstata (PSMA). Por lo tanto, son ligandos del antígeno de membrana específico de próstata (PSMA). En lo sucesivo, los complejos de acuerdo con la invención también se denominarán ligandos o ligandos PSMA. Si el complejo tiene un metal radiactivo, entonces el complejo también se denomina radioligando o radioligando PSMA.

Los ligandos PSMA de acuerdo con la invención comprenden el grupo farmacóforo BM a base de urea, diferentes secuencias de aminoácidos en el enlazador -X-Y- y diferentes quelantes N_2S_2 . Se utilizó una estrategia de síntesis que no requiere productos intermedios que

contengan mercurio, lo que permitió la preparación de los ligandos PSMA inventivos libres de impurezas de mercurio potencialmente tóxicas. Las sales de mercurio se aplican comúnmente para escindir los grupos protectores tiol; véase Peter G.M. Wuts, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, Quinta edición, Wiley, **2014**).

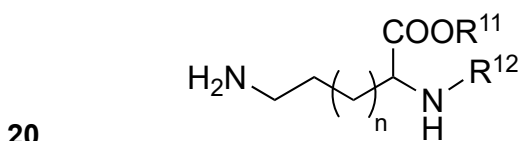
- 5** Los compuestos de fórmula general I pueden sintetizarse de diferentes maneras mediante rutas de síntesis conocidas, por ejemplo, utilizando la síntesis de Merrifield (véase Robert Bruce Merrifield, Solid phase peptide synthesis, Journal of the American Chemical Society, Volumen 85, número 14 p. 2149-2154). En una forma, se proporciona un compuesto de fórmula general II



(fórmula II),

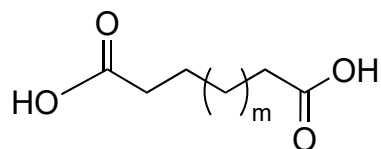
- en donde R¹¹ representa un soporte sólido, preferentemente resina 2-CTC, R¹² y R¹³ representan grupos protectores ortogonales y n tiene los significados dados en el contexto con la fórmula general I. En una modalidad preferida, R¹² es Fmoc y R¹³ es Dde. En otra modalidad preferida, R¹² es Dde y R¹³ es Fmoc.
- 15**

Si R¹² es Dde y R¹³ es Fmoc, puede utilizarse una primera ruta de síntesis. En la primera ruta de síntesis, se realiza una desprotección con Fmoc del compuesto de fórmula general II en un primer paso mediante el que un primer producto de reacción de fórmula general III



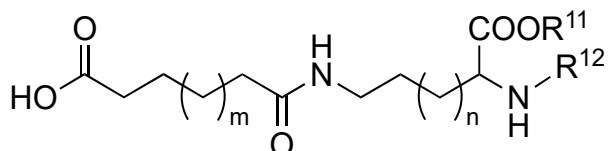
(fórmula III)

se obtiene. En un segundo paso, un acoplamiento amida entre el primer producto de reacción de fórmula general III y un compuesto de fórmula general IV



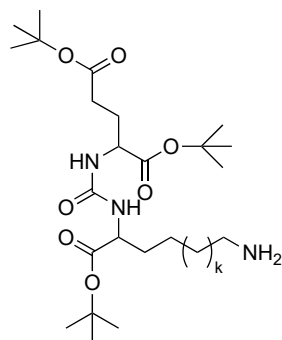
(fórmula IV),

con lo que se obtiene un segundo producto de reacción de fórmula general V



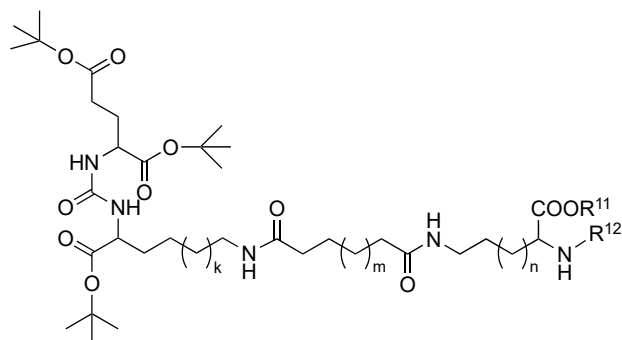
5 (fórmula V)

se obtiene. En un tercer paso, se realiza un acoplamiento amida entre el segundo producto de reacción de fórmula general V y un compuesto de fórmula general VI



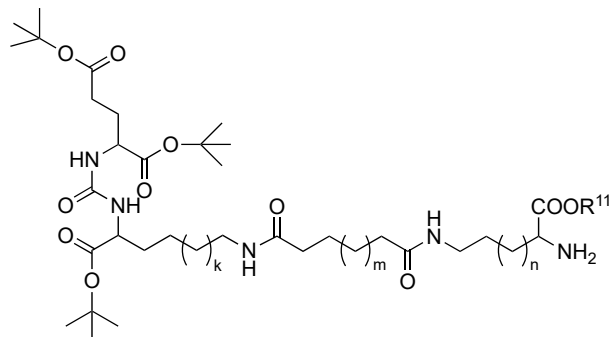
(fórmula VI),

10 con lo que se obtiene un tercer producto de reacción de fórmula general VII



(fórmula VII)

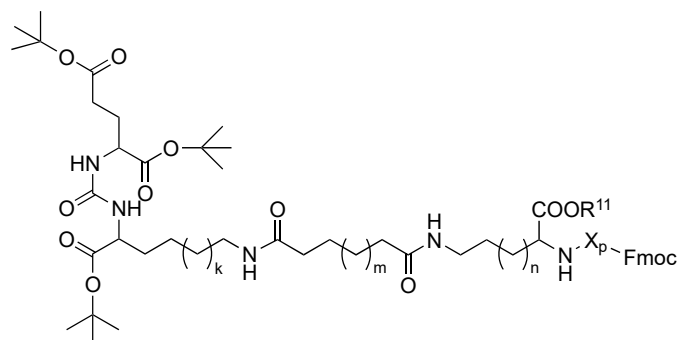
se obtiene. En un cuarto paso, se lleva a cabo una escisión con Dde del compuesto de fórmula general VII mediante la cual se obtiene un cuarto producto de reacción de fórmula general VIII



5 (fórmula VIII)

se obtiene.

En un quinto paso, un quinto producto de reacción de fórmula general IX



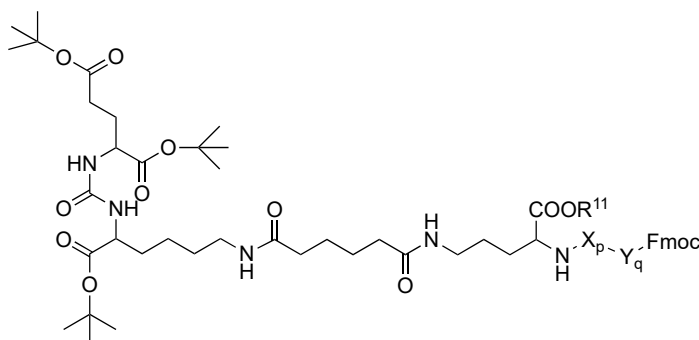
(fórmula IX)

- 10 se sintetiza. El resto X_p corresponde al resto X_p de la fórmula general I con la disposición de que las cadenas laterales reactivas pueden protegerse mediante grupos protectores. Por ejemplo, $-COOH$ puede protegerse como $-COOtBu$. Para sintetizar un producto de reacción de fórmula general IX, se realiza un acoplamiento amida entre el cuarto producto de reacción de fórmula general VIII y un compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH, si $p = 1$. Si
- 15 $p = 2$, se realiza un primer acoplamiento amida entre el cuarto producto de reacción de fórmula general VIII y un primer compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH, con lo que se obtiene un intermedio, y, tras la desprotección con Fmoc del intermedio, se realiza un segundo acoplamiento amida entre el intermedio desprotegido Fmoc y un segundo compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH. Si $p = 3$, se realiza un primer acoplamiento amida entre el cuarto

producto de reacción de fórmula general VIII y un primer compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH, con lo que se obtiene un primer intermedio y, tras la desprotección con Fmoc del primer intermedio, se realiza un segundo acoplamiento amida entre el primer intermedio desprotegido con Fmoc y un segundo compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH, con lo que se obtiene un

5 segundo intermedio, y, tras la desprotección con Fmoc del segundo intermedio, se realiza un tercer acoplamiento amida entre el segundo intermedio desprotegido con Fmoc y un tercer compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH.

En un sexto paso, un sexto producto de reacción de fórmula general X



10 (fórmula X)

se sintetiza. El resto Y_q corresponde al resto Y_q de la fórmula general I con la disposición de que las cadenas laterales reactivas pueden protegerse mediante grupos protectores. Por ejemplo, $-COOH$ puede protegerse como $-COOtBu$. Para sintetizar un producto de reacción de fórmula general X, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general IX y después un acoplamiento amida entre el producto de reacción desprotegido con Fmoc de fórmula general IX y un compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH, si

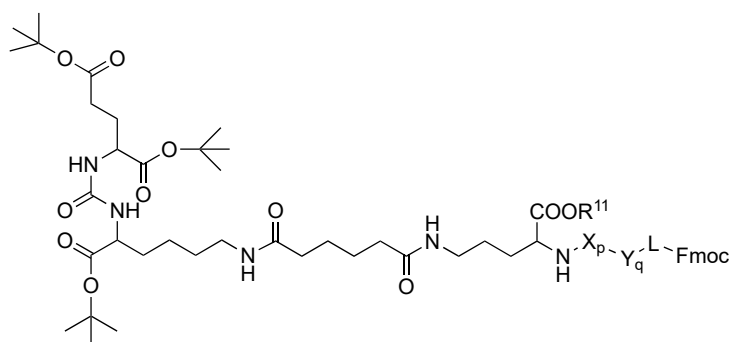
15 $q = 1$. Si $q = 2$, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general IX y, a continuación, un primer acoplamiento amida entre el producto de reacción desprotegido con Fmoc de fórmula general IX y un primer compuesto de fórmula general

20 Fmoc-Y-OH, con lo que se obtiene un intermedio, y, tras la desprotección con Fmoc del intermedio, se realiza un segundo acoplamiento amida entre el intermedio desprotegido con Fmoc y un segundo compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH. Si $q = 3$, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general IX y, a continuación, un primer acoplamiento amida entre el producto de reacción desprotegido con Fmoc de fórmula general

25 IX y un primer compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH, con lo que se obtiene un primer intermedio y, tras la desprotección con Fmoc del primer intermedio, se realiza un segundo acoplamiento amida entre el primer intermedio desprotegido con Fmoc y un segundo

compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH, con lo que se obtiene un segundo intermedio, y, tras la desprotección con Fmoc del segundo intermedio, se realiza un tercer acoplamiento amida entre el segundo intermedio desprotegido con Fmoc y un tercer compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH.

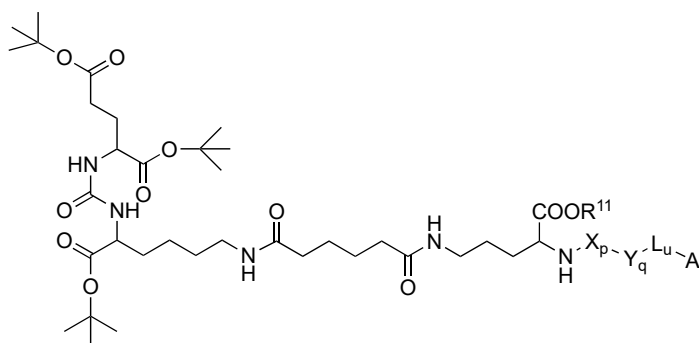
- 5 Si $u = 1$, en un séptimo paso, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general X y, a continuación, un acoplamiento amida entre el producto de reacción obtenido y un compuesto de fórmula general Fmoc-L-OH, con lo que se obtiene un producto de reacción de fórmula general XI



- 10 (fórmula XI)

se obtiene. El resto L corresponde al resto L de la fórmula general I con la disposición de que las cadenas laterales reactivas pueden protegerse mediante grupos protectores.

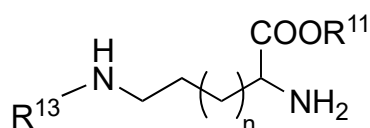
- En un octavo paso, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general XI, si $u = 1$, o del producto de reacción de fórmula general X, si $u = 0$, y a continuación un acoplamiento amida entre el producto de reacción obtenido y un compuesto de fórmula general A-OH, con lo que se obtiene un producto de reacción de fórmula general XII
- 15



- (fórmula XII)

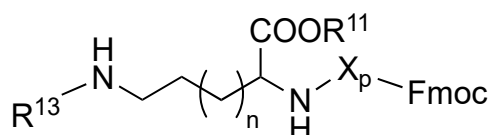
se obtiene. El resto A corresponde al resto A de la fórmula general I con la disposición de que las cadenas laterales reactivas pueden protegerse mediante grupos protectores. Por ejemplo, -COOH puede protegerse como -COOtBu y los grupos protectores PMB pueden estar en los grupos tiol de A. En un siguiente paso, el producto de reacción de fórmula general XII se escinde de la resina 2-CTC y se desprotege eliminando todos los grupos protectores, con lo que se obtiene el compuesto de fórmula general I. En las fórmulas II a XII, los índices k, m, n, p, q, u, v, x, y y z tienen los significados dados en el contexto de la fórmula general I.

- Si R¹² es Fmoc y R¹³ es Dde, puede utilizarse una segunda ruta de síntesis. En la segunda ruta de síntesis, se realiza una desprotección con Fmoc del compuesto de fórmula general II en un primer paso mediante el que un primer producto de reacción de fórmula general XIII



(fórmula XIII)

- se obtiene. En un segundo paso, un segundo producto de reacción de fórmula general XIV



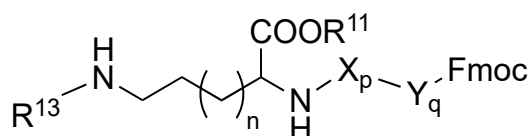
(fórmula XIV)

- se sintetiza. El resto X_p corresponde al resto X_p de la fórmula general I con la disposición de que las cadenas laterales reactivas pueden protegerse mediante grupos protectores. Por ejemplo, -COOH puede protegerse como -COOtBu. Para sintetizar un producto de reacción de fórmula general XIV, se realiza un acoplamiento amida entre el primer producto de reacción de fórmula general XIII y un compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH, si p = 1. Si p = 2, se realiza un primer acoplamiento amida entre el primer producto de reacción de fórmula general XIII y un primer compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH, con lo que se obtiene un intermedio, y, tras la desprotección con Fmoc del intermedio, se realiza un segundo acoplamiento amida entre el intermedio desprotegido Fmoc y un segundo compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH. Si p = 3, se realiza un primer acoplamiento amida entre el primer

producto de reacción de fórmula general XIII y un primer compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH, con lo que se obtiene un primer intermedio y, tras la desprotección con Fmoc del primer intermedio, se realiza un segundo acoplamiento amida entre el primer intermedio desprotegido con Fmoc y un segundo compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH, con lo que se obtiene un

5 segundo intermedio, y, tras la desprotección con Fmoc del segundo intermedio, se realiza un tercer acoplamiento amida entre el segundo intermedio desprotegido con Fmoc y un tercer compuesto de fórmula general Fmoc-X-OH.

En un tercer paso, un tercer producto de reacción de fórmula general XV



10 (fórmula XV)

se sintetiza. El resto Y_q corresponde al resto Y_q de la fórmula general I con la disposición de que las cadenas laterales reactivas pueden protegerse mediante grupos protectores. Por ejemplo, $-\text{COOH}$ puede protegerse como $-\text{COOtBu}$. Para sintetizar un producto de reacción de fórmula general XV, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción

15 de fórmula general XIV y después un acoplamiento amida entre el producto de reacción desprotegido con Fmoc de fórmula general XIV y un compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH, si $q = 1$. Si $q = 2$, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general XIV y, a continuación, un primer acoplamiento amida entre el producto de reacción desprotegido con Fmoc de fórmula general XIV y un primer compuesto de fórmula general

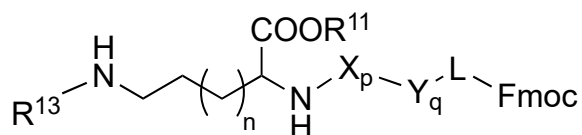
20 Fmoc-Y-OH, con lo que se obtiene un intermedio, y, tras la desprotección con Fmoc del intermedio, se realiza un segundo acoplamiento amida entre el intermedio desprotegido con Fmoc y un segundo compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH. Si $q = 3$, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general XIV y, a continuación, un primer acoplamiento amida entre el producto de reacción desprotegido con Fmoc de fórmula general

25 XIV y un primer compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH, con lo que se obtiene un primer intermedio y, tras la desprotección con Fmoc del primer intermedio, se realiza un segundo acoplamiento amida entre el primer intermedio desprotegido con Fmoc y un segundo compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH, con lo que se obtiene un segundo intermedio, y, tras la desprotección con Fmoc del segundo intermedio, se realiza un tercer acoplamiento amida

30 entre el segundo intermedio desprotegido con Fmoc y un tercer compuesto de fórmula general Fmoc-Y-OH.

Si $u = 1$, en un cuarto paso, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general XV y, a continuación, un acoplamiento amida entre el producto de reacción obtenido y un compuesto de fórmula general Fmoc-L-OH, con lo que se obtiene un producto de reacción de fórmula general XVI

5

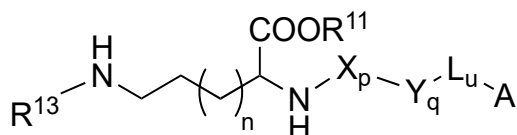


(fórmula XVI)

se obtiene. El resto L corresponde al resto L de la fórmula general I con la disposición de que las cadenas laterales reactivas pueden protegerse mediante grupos protectores.

10

En un quinto paso, se realiza una desprotección con Fmoc del producto de reacción de fórmula general XVI, si $u = 1$, o del producto de reacción de fórmula general XV, si $u = 0$, y a continuación un acoplamiento amida entre el producto de reacción obtenido y un compuesto de fórmula general A-OH, con lo que se obtiene un producto de reacción de fórmula general XVII



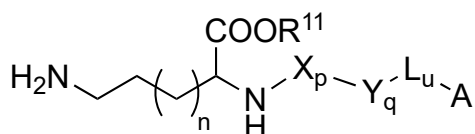
15

(fórmula XVII)

se obtiene. El resto A corresponde al resto A de la fórmula general I con la disposición de que las cadenas laterales reactivas pueden protegerse mediante grupos protectores. Por ejemplo, -COOH puede protegerse como -COOtBu y los grupos protectores PMB pueden estar en los grupos tiol de A.

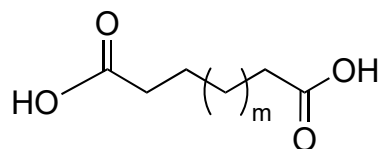
20

En un sexto paso, se lleva a cabo una escisión con Dde del compuesto de fórmula general XVII mediante la cual se obtiene un producto de reacción de fórmula general XVIII



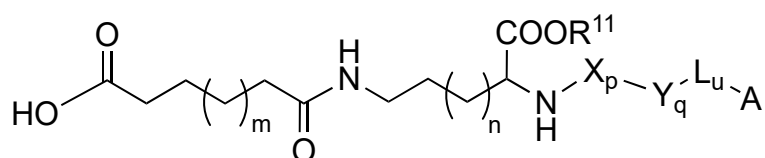
(fórmula XVIII)

se obtiene. En un séptimo paso, un acoplamiento amida entre el producto de reacción de fórmula general XVIII y un compuesto de fórmula general IV



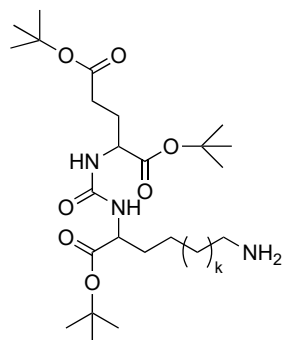
5 (fórmula IV),

con lo que se obtiene un producto de reacción de fórmula general XIX



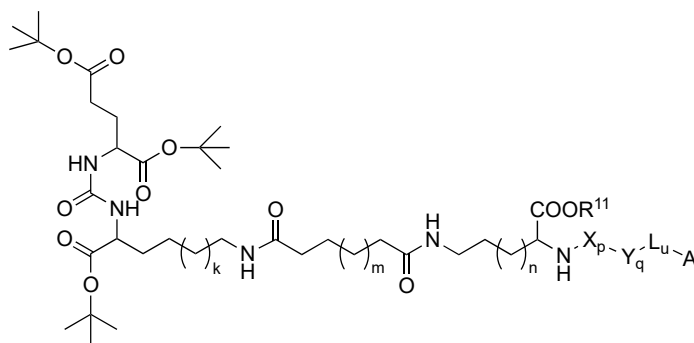
(fórmula XIX)

10 se obtiene. En un octavo paso, se realiza un acoplamiento amida entre el producto de reacción de fórmula general XIX y un compuesto de fórmula general VI



(fórmula VI),

con lo que se obtiene un producto de reacción de fórmula general XII



(fórmula XII)

se obtiene. En un siguiente paso, el producto de reacción de fórmula general XII se escinde de la resina 2-CTC y se desprotege eliminando todos los grupos protectores, con lo que se obtiene el compuesto de fórmula general I. En las fórmulas XII a XIX, los índices k, m, n, p, q, u, v, x, y y z tienen los significados dados en el contexto de la fórmula general I.

La síntesis de los compuestos de fórmula general I se describe con más detalle en la sección de ejemplos.

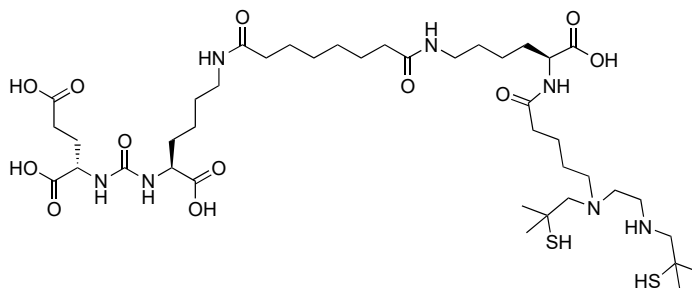
El quelante N₂S₂ incorporado en los compuestos de fórmula general I puede utilizarse para etiquetar estos ligandos PSMA con diferentes metales mediante la formación de complejos. Los complejos son de utilidad como agentes de diagnóstico y terapéutica de enfermedades en las que está implicado el PSMA, tal como el cáncer de próstata. Los complejos son de utilidad como agentes de diagnóstico y terapéutica de ciertas enfermedades en donde el PSMA está regulado al alza. Un ejemplo de enfermedad en donde el PSMA está regulado al alza es el cáncer de próstata.

Sorprendentemente, se ha descubierto en un modelo de xenoinjerto de LNCaP que, en particular, el compuesto **5** presenta unas propiedades farmacocinéticas más rápidas y una distribución en órganos más favorable (alta captación tumoral, captación de baja a moderada en órganos no objetivo como los riñones) que los conocidos en la técnica anterior. Se alcanzan relaciones elevadas de tumor-músculo y de tumor-riñón tan pronto como 1 hora después de la inyección, lo que permite la obtención de imágenes en puntos de tiempo tempranos. Se observó un aumento adicional de la relación tumor-músculo y tumor-riñón con el paso del tiempo. Estos resultados sugieren una mejor visualización del tumor en comparación con los compuestos conocidos de la técnica anterior.

Para demostrar la influencia de los motivos X e Y de los compuestos inventivos, los

inventores han sintetizado un compuesto comparativo de la fórmula general BM-L_u-A, en donde BM, L, A y u tienen los significados dados en el contexto de la fórmula general I. El compuesto de la fórmula general BM-L_u-A es un compuesto de la fórmula general I en donde p es 0 y q es 0. Un ejemplo de compuesto comparativo BM-L_u-A es el compuesto comparativo

5 3



3.

Una comparación del compuesto **5** con el compuesto **3** reveló que las propiedades ventajosas de los compuestos de fórmula general I podrían ser el resultado de la presencia de los aminoácidos X e Y en el compuesto de fórmula general I. Sin desear limitarse a una explicación, los inventores creen que las propiedades farmacocinéticas más rápidas y una distribución en órganos más favorable (alta captación tumoral, captación de baja a moderada en órganos no objetivo como los riñones) del compuesto **5** en comparación con el compuesto comparativo **3** podrían explicarse por la presencia de los restos X e Y en los compuestos de fórmula general I.

En comparación con el agente para la imagenología del cáncer de próstata ⁶⁸Ga-PSMA-11, aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), bien estudiado y ampliamente utilizado, que es un trazador de PET, se encontró sorprendentemente que los complejos de ^{99m}Tc y los compuestos de fórmula general I tenían propiedades similares en los experimentos *in vivo* e *in vitro* descritos en la presente. El compuesto de la presente invención mostró una afinidad similar por el PSMA, una mayor internalización en las células tumorales LNCaP y valores comparables de captación tumoral en un modelo de xenoinjerto LNCaP cuando se comparó 1 hora después de la inyección del compuesto respectivo. Dado que el tecnecio y el renio representan un par teranóstico, los inventores esperan propiedades similares para los complejos de ¹⁸⁶Re y los compuestos de fórmula general I y los complejos de ¹⁸⁸Re y los compuestos de fórmula general I.

Por lo tanto, los complejos de acuerdo con la invención pueden utilizarse como un

medicamento, en particular como un medicamento para enfermedades en las que está implicado PSMA. Asimismo, una sal farmacéuticamente aceptable de un complejo de acuerdo con la invención puede utilizarse como un medicamento, en particular como un medicamento para enfermedades en las que está implicado PSMA. En una modalidad, los complejos de acuerdo con la invención pueden utilizarse como medicamento en el diagnóstico y la terapia de enfermedades en las que está implicado el PSMA. Asimismo, una sal farmacéuticamente aceptable de un complejo de acuerdo con la invención puede utilizarse como un medicamento en el diagnóstico y la terapia de enfermedades en las que está implicado el PSMA. Las enfermedades en las que está implicado el PSMA, por ejemplo, son enfermedades en las que el PSMA está regulado al alza. Un ejemplo de enfermedad en donde el PSMA está regulado al alza es el cáncer de próstata.

Por lo tanto, de acuerdo con la invención se proporciona el uso de un complejo de acuerdo con la invención como medicamento. Se proporciona además el uso de un complejo de acuerdo con la invención como un medicamento en el diagnóstico y la terapia de enfermedades en las que está implicado el PSMA. El medicamento puede ser un radiofármaco. Preferiblemente, el medicamento es un radiofármaco para la imagenología médica nuclear. Por ejemplo, el medicamento es un radiofármaco para la imagenología médica nuclear mediante tomografía computarizada por emisión monofotónica (SPECT) o mediante tomografía por emisión de positrones (PET). También preferiblemente, el medicamento es un radiofármaco para la terapia con radioligandos. En una modalidad preferida, un complejo inventivo que comprende un metal seleccionado del grupo que consiste en ^{99m}Tc , ^{186}Re , ^{188}Re y ^{67}Cu se utiliza como radiofármaco para la imagenología médica nuclear mediante tomografía computarizada por emisión monofotónica (SPECT). En otra modalidad preferida, un complejo inventivo que comprende ^{94m}Tc o ^{64}Cu se utiliza como radiofármaco para la imagenología médica nuclear mediante tomografía por emisión de positrones (PET). En otra modalidad preferida, un complejo inventivo que comprende un metal seleccionado del grupo que consiste en ^{186}Re , ^{188}Re , ^{64}Cu y ^{67}Cu se utiliza como radiofármaco para la terapia con radioligandos. En lugar de un medicamento que contenga un compuesto de fórmula general I de acuerdo con la invención puede utilizarse una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto. Debido a su larga vida media de 211.000 años, el complejo inventivo que comprende ^{99}Tc puede utilizarse para la elucidación estructural de la geometría de los complejos inventivos.

De acuerdo con la invención, se proporciona además un método para preparar un complejo que comprende un compuesto de fórmula general I como ligando y un metal. El método comprende el paso de poner en contacto el compuesto de fórmula general I con el

metal. En una modalidad preferida, el compuesto de fórmula general I se pone en contacto con el metal a una temperatura de reacción en el rango de 20 a 100 °C. Preferiblemente, el compuesto de fórmula general I de acuerdo con la invención se pone en contacto con el metal a temperatura ambiente. Preferiblemente, el compuesto de fórmula general I se pone en contacto con el metal a presión ambiente. Puede preverse que la relación molar del compuesto de fórmula general I a un ion metálico no radiactivo en la disolución sea de 1 : 1. Preferiblemente, el método de acuerdo con la invención se lleva a cabo con un disolvente prótico, por ejemplo, agua. El valor del pH puede elegirse en función del metal utilizado.

10 A continuación, la invención se explica con más detalle con la ayuda de ejemplos que no pretenden limitar la invención con respecto a los dibujos. Aquí

La FIGURA 1 muestra la imagenología funcional de xenoinjertos tumorales LNCaP subcutáneos en ratones utilizando [^{99m}Tc]TcO-5 [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474] en comparación con compuestos de referencia;

15 La FIGURA 2A y la FIGURA 2B muestran diagramas que ilustran la cinética tumor-fondo de [^{99m}Tc]TcO-5 [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474] en comparación con compuestos de referencia en ratones portadores de tumores LNCaP; y

La FIGURA 3 muestra un diagrama que ilustra la captación tumoral de radioligandos etiquetados con [^{99m}Tc] en ratones portadores de tumores LNCaP;

20 La FIGURA 4 muestra diagramas que ilustran la cinética tumor-fondo de [^{99m}Tc]TcO-5 [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474] en comparación con compuestos de referencia en ratones portadores de tumores LNCaP; y

La FIGURA 5 muestra un diagrama que ilustra las proporciones tumor-fondo de los radioligandos etiquetados con [^{99m}Tc] en ratones portadores de tumores LNCaP.

EJEMPLOS

25 Método general para la síntesis de los compuestos 1, 2, 4, 5 y 6

Los compuestos 1, 2, 4, 5 y 6 se sintetizaron mediante síntesis peptídica en fase sólida (SPPS) sobre resina de 2-clorotritilo.

El análisis de las moléculas sintetizadas se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (RP-HPLC; Ascentis Express C18, 150x4,6 mm; Supelco,

Alemania) con un gradiente lineal A-B (5 % B a 100 % B en 10 min) a una tasa de flujo de 1,5 mL/min (análisis). La purificación se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (RP-HPLC; Gemini-NX C18, 250x50 mm; Phenomenex, Alemania) con un gradiente lineal A-B a una tasa de flujo de 100 mL/min. El disolvente A consistió en TFA acuoso al 0,1 % y el disolvente B fue TFA al 0,1 % en ACN.

5

El sistema HPLC (Dionex Ultimate 3000; Thermo-Fisher, Alemania) estaba equipado con un detector UV. La absorbancia UV se midió a 200, 210 y 230 nm. La espectrometría de masas se realizó con un sistema LC-MS (Dionex 3000, Thermo-Fisher, Alemania).

Ejemplos 1 a 4

10 Síntesis de intermedios

Para preparar los compuestos **1** a **6** se han preparado los siguientes intermedios.

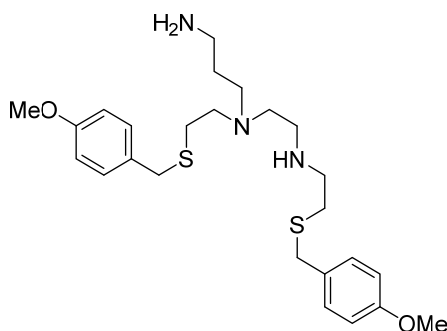
Ejemplo 1

Síntesis de intermedio **101**: Glu-CO-Iml ((di-terc-butil (1H-imidazol-1-carbonil)-L-glutamato))

15 H-Glu(OtBu)-OtBu (29,59 g, 1 eq. 100 mmol) se disolvió en 400 ml de DCM. Se añadió lentamente trietilamina (25,3 g, 2,5 eq., 250 mmol). Se añadió carbonildiimidazol (17,84 g, 1,1 eq., 110 mmol) en pequeñas porciones. La reacción se dejó agitando durante 4 horas. La disolución se lavó con agua, NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó al vacío para dar el compuesto **101** objetivo en forma de aceite.

20 Ejemplo 2

Síntesis de intermedio **103**: N'-[2-(4-metoxi-bencilulfanil)-etil]-N'-{2-[4-metoxi-bencilulfanil)-etilamino]-etil}-propan-1,3-diamina



La síntesis del intermedio **103** se realizó de forma análoga a WO 2012/022812 A1.

Paso 1: 2-(4-Metoxi-bencilsulfani)-etilamina (compuesto **104**)

Se añadió sodio (4,5 g, 196 mmol) a metanol (150 ml, seco) agitado enérgicamente.

- 5** Cuando el sodio se disolvió por completo, se añadió clorhidrato de 2-aminoetanotiol (10,8 g 95,0 mmol). A continuación, se añadió cloruro de p-metoxibencilo (14,9 g, 95,5 mmol) a través de un embudo cuentagotas. La mezcla se calentó a reflujo a 70 °C durante 30 minutos. Posteriormente, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. El sólido se eliminó por filtración y la torta de filtración se lavó con metanol (3 veces con 25 ml). Los extractos orgánicos se combinaron y los volátiles se eliminaron a presión reducida. Este residuo se volvió a disolver en DCM (75 ml), se extrajo con agua (75 ml x 3), se secó (MgSO₄), se filtró y se disolvió para dejar el compuesto **104** como un aceite incoloro. Rendimiento de 18,5 g (99 %).

Paso 2: N-[(4-Metoxi-bencilsulfanil)-etil]-2-cloroacetamida (compuesto **105**)

Se añadió cloruro de cloroacetilo (4,24 ml, 53,2 mmol) en DCM seco (50 ml) gota a gota durante 90 minutos con agitación a una disolución enfriada en baño de hielo (0 °C) de 2-(4-metoxi-bencilsulfanil)-etilamina **104** (9,4 g, 47,5 mmol) y trietilamina (8,0 ml) en DCM seco (200 ml). Tras la adición, se retiró el baño de enfriamiento y se continuó agitando durante 60 minutos. La disolución se extrajo con agua (2 x 250 ml), se secó (MgSO₄), se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida para dejar el compuesto **105** como un sólido de color.

- 20** Rendimiento de 12,93 g (99 %).

Paso 3: 3-[(4-Metoxi-bencilsulfanil)-etilamino]-propanoato de metilo (compuesto **106**)

Se añadió acrilato de metilo (4,46 ml, 49,2 mmol) en metanol (10 ml) a una disolución agitada de 2-(4-metoxi-bencilsulfanil)-etilamina **104** (8,85 g, 48,3 mmol) en metanol (50 ml). La disolución incolora se dejó agitar a TA durante 6 horas. Los volátiles se eliminaron por evaporación rotatoria para dejar el compuesto **106** como aceite viscoso incoloro. Rendimiento de 1,35 g (97 %).

- 25**

Paso 4: 3-[2-(4-Metoxibencilsulfanil)-etilamino]-propanamida (compuesto **107**)

El 3-[(4-metoxi-bencilsulfanil)-etilamino]propanoato de metilo **106** (10,65 g 37,6 mmol), el metanol (120 ml) y la disolución de amoníaco (200 ml) se agitaron a TA durante 24 horas.

- 30** Los volátiles se eliminaron a presión reducida para dar el compuesto **107** como un sólido casi

blanco. Rendimiento de 9,98 g (99 %).

Paso 5: 3-([2-(4-Metoxi-bencilsulfani)-etil]-[2-(4-metoxi-bencilsulfani)-etilcarbamoil]-metil)-amino)-propionamida (compuesto **108**)

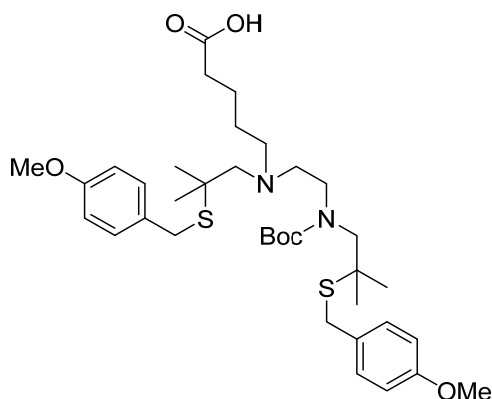
5 La 3-[2-(4-metoxibencilsulfanil)-etilamino]propenamida **106** (10,33 g, 38,5 mmol), la N-[(4-metoxibencilsulfanil)-etil]-2-cloroacetamida **105** (10,54 g, 38,5 mmol), la trietilamina (6,5 ml) y el acetonitrilo (80 ml) se calentaron a 70 °C durante la noche. Posteriormente, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar un residuo marrón que se purificó sobre sílice eluyendo con DCM/Metanol 20:1 para dar el compuesto **108** como aceite incoloro (rendimiento 8,3 g, 43 %).

10 Paso 6: N'-[2-(4-Metoxi-bencilsulfanil)-etil]-N'-[2-[4-metoxi-bencilsulfanil)-etilamino]-etil]-propan-1,3-diamina (compuesto **109**)

Se añadió borano 1,0 M en THF (102 ml, 102 mmol) mediante una jeringa bajo atmósfera de argón a 3-([2-(4-metoxi-bencilsulfanil)-etil]-[2-(4-metoxibencilsulfanil)-etilcarbamoil]-metil)-amino)-propionamida **108** (3,8 g, 7,5 mmol). La disolución incolora resultante se calentó a reflujo a 70 °C durante toda la noche. Tras enfriar a TA se añadió gota a gota agua (40 ml). El disolvente se eliminó a presión reducida para dejar un sólido ceroso que se diluyó con HCl (0,5 N, 400 ml). La mezcla se calentó a reflujo a 100 °C durante 3 horas. Tras enfriar a TA se añadió hidróxido de sodio hasta obtener un pH de 10-11. Esta mezcla se extrajo con DCM (4 x 200 ml) y las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron (MgSO₄) y se filtraron. El disolvente se evaporó para dejar un sólido ceroso, que se purificó sobre sílice eluyendo con DCM/Metanol/NH₄OH= 9:1:0,1 para obtener el compuesto **109** como un aceite incoloro. Rendimiento de 1,29 mg (36 %).

Ejemplo 3

25 Síntesis de intermedio 4: N-Boc-N'-(5-carboetoxipentil)-N,N'-bis-(2-(4-metoxibenciltio)-2-metilpropil)-etilendiamina (compuesto **110**)



110

La síntesis del intermedio **110** se realizó de forma análoga a US 5 776 428 A.

Paso 1: 2,2'-Ditiobis(2-metilpropanal) (compuesto **111**)

5 Al 2-metilpropanal (28,8 g, 0,4 mol) en tetracloruro de carbono (30 ml) se añadió monoclóruo de azufre (27 g, 0,2 mol). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 16 horas. Tras enfriar a temperatura ambiente, los volátiles se evaporaron al vacío y el residuo se purificó por destilación al vacío (bp a 0,5 Torr: 98 - 102 °C) para obtener 22,7 g (55 %) de 2,2'-ditiobis(2-metilpropanal) **111**.

10 Paso 2: 3,3,10,10-tetrametil-6,7-dihidro-1,2,5,8-ditiadiazecina (compuesto **112**)

A una disolución agitada de 2,2'-ditiobis(2-metilpropanal) **111** (5 g) en cloroformo (20 mL) se añadieron 1,8 g de etilendiamina. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Tras la eliminación del disolvente, el residuo se trituró con agua hasta que empezaron a formarse cristales. Los cristales blancos se recolectaron por filtración y se lavaron con etanol para obtener 4,8 g (86 %) de 3,3,10,10-tetrametil-6,7-dihidro-1,2,5,8-ditiadiazecina **112**.

Paso 3: N,N'-Bis(2-mercapto-2-metilpropil)etilendiamina (compuesto **113**)

20 A 4,1 g (18 mmol) de 3,3,10,10-tetrametil-6,7-dihidro-1,2,5,8-ditiadiazecina **112**, disuelta en 70 ml de THF seco se añadieron con agitación (atmósfera de argón) 1,35 g de LiAlH₄ (0,36 mmol). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 4 horas y posteriormente se hidrolizó mediante la adición prudente de una disolución saturada de tartrato de NaK (20 ml) y, a continuación, se añadió éter dietílico (100 ml). El lodo se separó por decantación o filtración (Celite) y se lavó bien con éter. El disolvente se eliminó al vacío para obtener 0,8 g (20

%) del compuesto **113**.

Paso 4: N,N'-bis-(2-(4-metoxibenciltio)-2-metilpropil)-etilendiamina (compuesto **114**)

Una disolución de N,N'-bis(2-mercapto-2-metilpropil)etilendiamina **113** (1,1 g, 4,65 mmol) en metanol (50 mL) se enfrió en baño de hielo/agua y después se saturó con amoníaco gaseoso durante 30 min. A esto se añadió cloruro de 4-metoxibencilo (1,9 g, 12,3 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante toda la noche con agitación bajo argón. El metanol se evaporó al vacío y el residuo se particionó entre éter dietílico (50 mL) y KOH 0,5 M (40 mL). La capa acuosa se extrajo de nuevo con éter dietílico (2x25 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución de NaCl y se concentraron al vacío para dar un aceite incoloro claro. El aceite se disolvió en éter dietílico (200 mL) y después se acidificó con HCl 4,0 M en dioxano. El precipitado blanco se recolectó por filtración y se lavó con éter dietílico. Las sales de HCl se particionaron entre KOH 1M (30 mL) y acetato de etilo (30 mL). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 30 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución de NaCl, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para dar el compuesto puro **114** (base libre) como un aceite amarillo claro (0,99 g). 45 % de rendimiento).

Paso 5: N-(5-carboetoxipentil)-N,N'-bis-(2-(4-metoxibenciltio)-2-metilpropil)-etilendiamina (compuesto **115**)

A la N,N'-Bis-(2-(4-metoxibenciltio)-2-metilpropil)-etilendiamina **114** (921 mg, 1,93 mmol) en acetonitrilo (15 mL) se añadió K₂CO₃ (270 mg) seguido de 5-bromovalerato de etilo (807 mg). La reacción se agitó a reflujo durante toda la noche y posteriormente se concentró al vacío. El residuo se dividió entre acetato de etilo (50 mL) y KOH 0,5 M (50 mL). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x50 mL) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para dar un aceite amarillo, que se purificó sobre sílice eluyendo con DCM/Metanol = 20:1 para dar el compuesto deseado **115** como un aceite amarillento. Rendimiento de 635 mg (54 %).

Paso 6: N-Boc-N'-(5-carboetoxipentil)-N,N'-bis-(2-(4-metoxibenciltio)-2-metilpropil)-etilendiamina (compuesto **116**)

A la N-(5-carboetoxipentil)-N,N'-bis-(2-(4-metoxibenciltio)-2-metilpropil)etilendiamina **115** (635 mg, 1,05 mmol) en THF (40 mL) se añadió agua (30 mL) y KOH 1M (2,5 mL, 2,5 mmol). La disolución homogénea se sometió a reflujo durante toda la noche. A continuación,

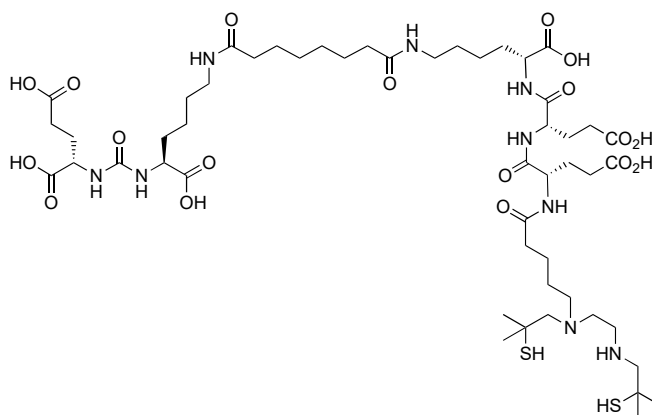
la disolución se enfrió a temperatura ambiente y el THF se eliminó al vacío. El residuo se diluyó con 50 mL de agua y el pH se ajustó a 2-3 por adición de HCl 1M. La disolución se extrajo con acetato de etilo (3x50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para dar 575 mg de intermedio bruto.

El intermedio bruto se disolvió en ACN (50 mL) y se añadió Boc₂O (326 mg) seguido de trietilamina (0,280 mL). La disolución homogénea se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche bajo argón. La disolución se concentró al vacío y posteriormente se particionó entre acetato de etilo (25 mL) y KH₂PO₄ 1M (25 mL). La fase orgánica se lavó con ácido cítrico al 5 % (2x25 mL) y salmuera (25 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar un aceite amarillo (890 mg). La purificación mediante cromatografía en columna sobre sílice eluyendo con DCM/Metanol = 20:1 produjo el compuesto **116** como un aceite amarillento. Rendimiento de 455 mg (64 %).

Ejemplo 4

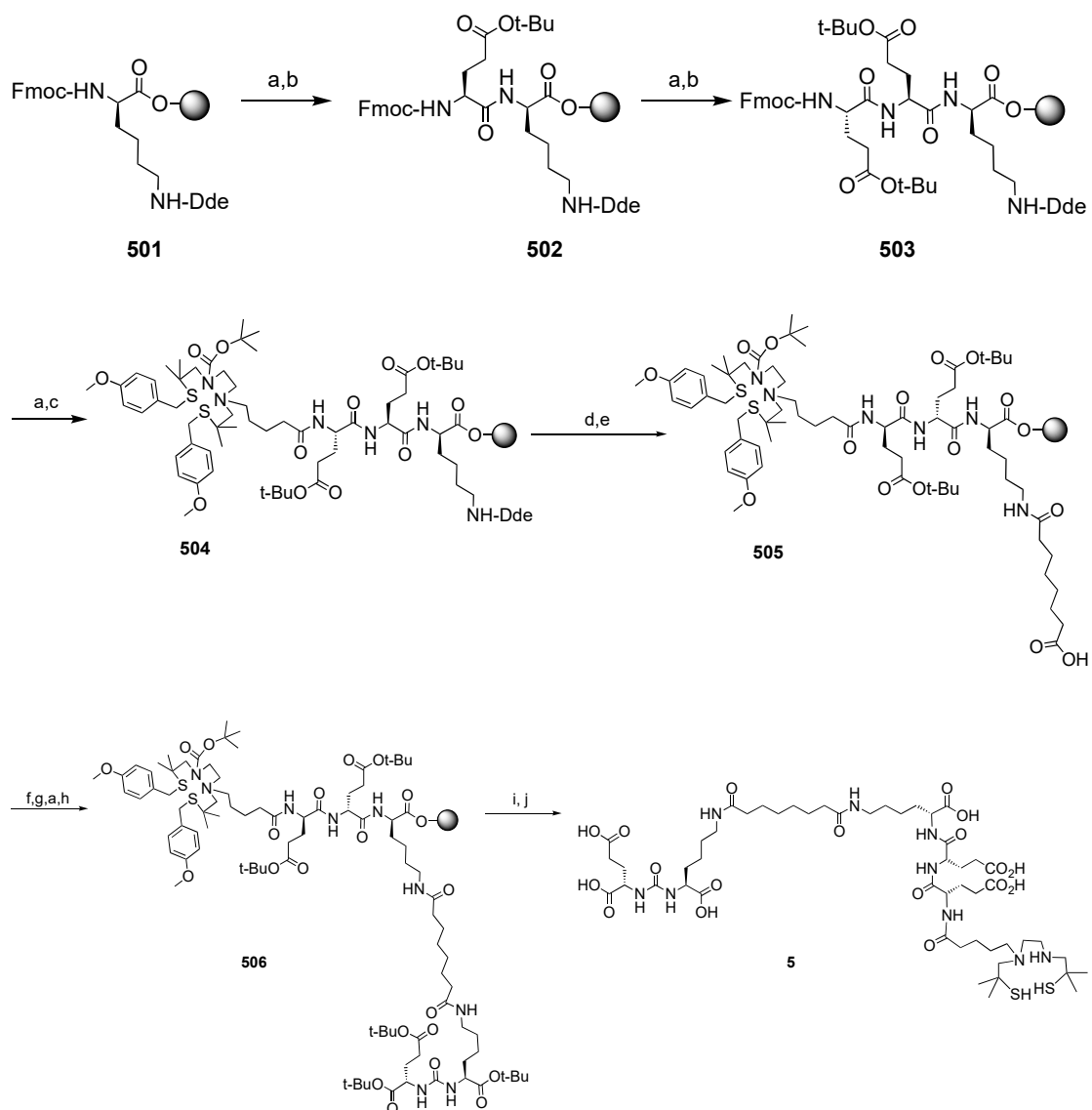
Síntesis del compuesto 5 [ABX 474]

La síntesis del compuesto inventivo **5**



5

se muestra en el Esquema EX-1.



Esquema EX-1

- 5** En el esquema EX-1, la letra a) indica el uso de Piperidina al 20 % en DMF; la letra b) el uso de Fmoc-Glu(OtBu)-OH, HATU, HOAt, DIPEA y DMF; la letra c) el uso de Intermedio **110**, PyBOP, DIPEA y DMF; la letra d) el uso de $N_2H_2 \cdot H_2O$ al 2 % en DMF; la letra e) el uso de Sub-NHS, DIPEA y DMF; la letra f) el uso de TSTU, DIPEA y DMF; la letra g) el uso de Fmoc-Lys-OtBu, DIPEA y DMF; la letra h) el uso de Glu-CO-Im, NMM y DMF; la letra i) el uso de TFA:TIS:H₂O:EDT (92,5:2,5:2,5:2,5); y la letra j) el uso de TFMSA al 10 %.
- 10**

Para la síntesis del compuesto **501**, el Fmoc-D-Lys(Dde)-OH se cargó en resina 2-CTC (en el esquema EX-1, la resina está representada por un círculo) y el Fmoc se desprotegió con piperidina al 20 % en DMF. A continuación, para sintetizar los compuestos **502** y **503**, se activó Fmoc-Glu(OtBu)-OH (2 eq.) con HATU (2 eq.), HOAt (2 eq.) y DIPEA (5,6 eq.) en DMF

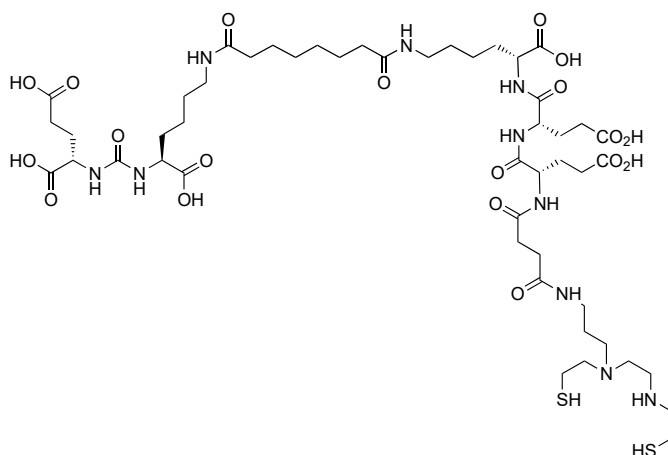
y se añadió a la resina. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente (TA). La desprotección con Fmoc se realizó con piperidina al 20 % en DMF. Para sintetizar el compuesto **504**, el intermedio **110** se conjugó con la secuencia peptídica utilizando PyBOP (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) en DMF durante 2 h a TA. La desprotección con Dde se llevó a cabo utilizando monohidrato de hidracina al 2 % en DMF. Después, para sintetizar el compuesto **505**, se disolvieron éster de ácido subérico-mono-NHS (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) en DMF (1 mL) y se dejaron reaccionar con el péptido unido a la resina durante 2 h a TA. A continuación, para la conformación del compuesto **506**, el ácido carboxílico libre se trató con TSTU (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) en DMF (10 mL/g de resina) a TA durante 1 h. Tras la formación del éster NHS, el péptido unido a la resina se trató con Fmoc-Lys-OtBu (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) en DMF (2 mL) durante 2 h a TA. El Fmoc se escindió utilizando piperidina al 20 % en DMF y después la amina libre se trató con Glu-CO-Im (Intermedio **101**, 3 eq.), y NMM (3 eq.) en DMF durante 2 h a TA. Tras el acoplamiento final, la resina se lavó con DMF (3 x 5 mL), DCM (3 x 5 mL), IPA (3 x 5 mL), y Et₂O (3 x 5 mL). Para sintetizar el compuesto **5**, la escisión de la resina y la desprotección final se realizaron mediante tratamiento con TFA/TIS/EDT/agua (v/v/v/v; 92,5/2,5/2,5/2,5) a 0 °C y posterior adición gota a gota de TFMSA al 10 %.

El péptido bruto se precipitó en éter dietílico helado y se purificó mediante RP-HPLC. Tras la purificación por RP-HPLC, el compuesto **4** [ABX 474] (sal TFA) se obtuvo como un sólido entre blanco y blanquecino (rendimiento aislado del 38 %). Masa monoisotópica calculada (C₅₁H₈₉N₉O₁₈S₂): 1179,58; encontrado: m/z = 1180,5[M+H]⁺, 590,79 [M+2H]²⁺.

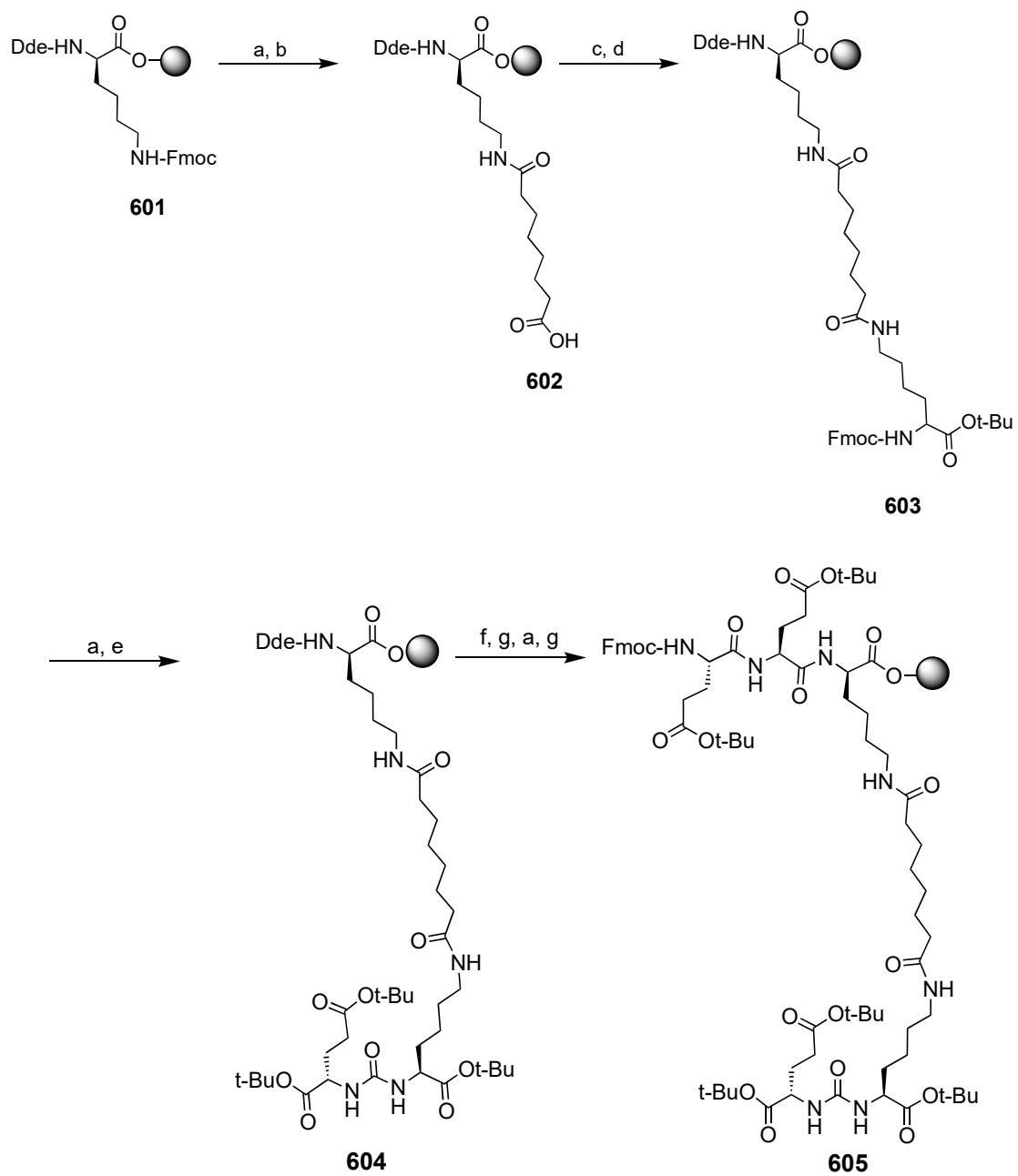
Ejemplo 5

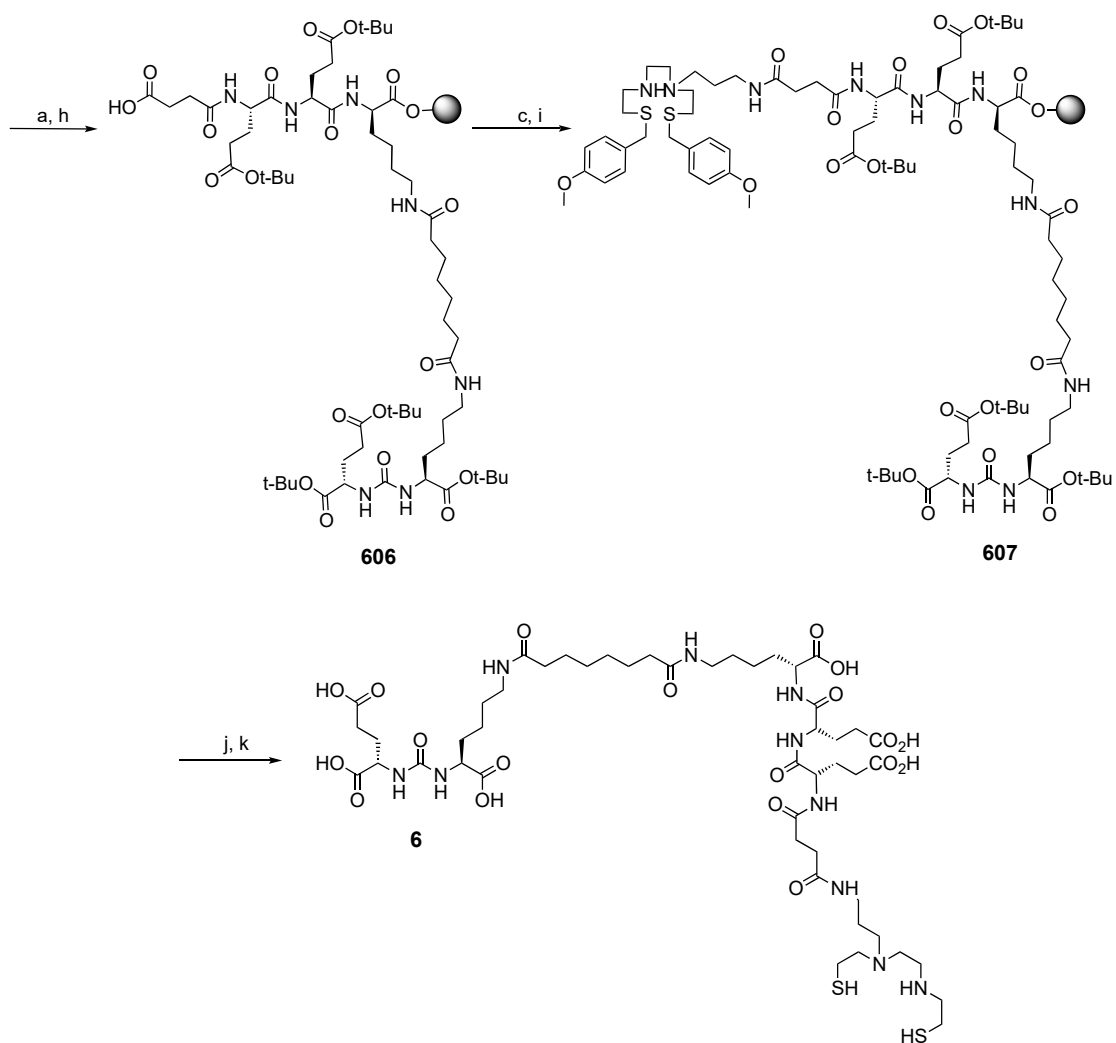
Síntesis del compuesto **6** [ABX 490]

La síntesis del compuesto inventivo **6**



se muestra en el Esquema EX-2.





Esquema EX-2

- En el esquema EX-2, la letra a) indica el uso de piperidina al 20 % en DMF; la letra b) el uso de Sub-NHS, DIPEA y DMF; la letra c) el uso de TSTU, DIPEA y DMF y un tiempo de reacción de 1 h; la letra d) el uso de Fmoc-Lys-OtBu, DIPEA y DMF; la letra e) el uso de Glu-CO-Im, NMM y DMF; la letra f) el uso de $N_2H_2 \cdot H_2O$ al 2 % en DMF; la letra g) el uso de Fmoc-Glu(OtBu)-OH, PyBop, HOBt, DIPEA y DMF; la letra h) el uso de anhídrido succínico, DIPEA y DMF; la letra i) el uso del intermedio **103**, DIPEA y DMF; la letra j) el uso de TFA:TIS:H₂O:EDT (92,5:2,5:2,5:2,5); y la letra k) el uso de TFMSA al 10 %.

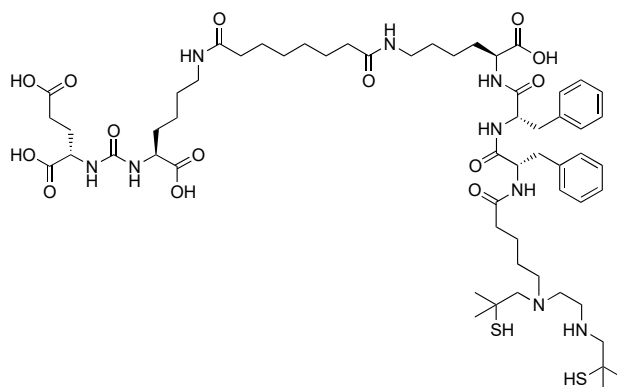
Para sintetizar el compuesto **601**, se cargó Dde-D-Lys(Fmoc)-OH en la resina 2-CTC (en el esquema EX-2, la resina está representada por un círculo) y se desprotegió el Fmoc con piperidina al 20 % en DMF. Después, para sintetizar el compuesto **602**, se disolvieron éster de ácido subérico-mono-NHS (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) en DMF (1 mL) y se dejaron reaccionar con el péptido unido a resina durante 2 h a TA. A continuación, para sintetizar el

- compuesto **603**, el ácido carboxílico libre se trató con TSTU (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) disueltos en DMF (2 mL) y se hizo reaccionar durante 1 h a tTA. Tras la formación del éster NHS, el péptido unido a la resina se trató con Fmoc-Lys-OtBu (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) en DMF (1 mL) durante 2 h a TA. Para sintetizar el compuesto **604**, el Fmoc se escindió utilizando piperidina al 20 % en DMF y después la amina libre se trató con Glu-CO-Im **101** (3 eq.), y NMM (3 eq.) en DMF durante 2 h a TA. La desprotección con Dde se llevó a cabo utilizando monohidrato de hidracina al 2 % en DMF. Después, para sintetizar el compuesto **605**, se activó Fmoc-Glu(OtBu)-OH (2 eq.) con PyBOP (2 eq.), HOBt (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) en DMF y se añadió a la resina. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a TA. Para sintetizar el compuesto **606**, se desprotegió el Fmoc con piperidina al 20 % en DMF. Se añadieron anhídrido succínico (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) disueltos en DMF (2 mL) al péptido unido a la resina y se agitó durante 2 h a TA. A continuación, el ácido carboxílico libre se activó con TSTU (2 eq.) y DIPEA (2 eq.) disueltos en DMF (2 mL) y se hizo reaccionar durante 1 h a TA. Tras la formación del éster NHS, el péptido unido a la resina se trató con el intermedio **103** (1 eq.) y DIPEA (2 eq.) en DMF (2 mL) durante 2 h para sintetizar el compuesto **607**. Una vez completada la reacción, la resina se lavó con DMF (3 x 5 mL), DCM (3 x 5 mL), IPA (3 x 5 mL), y Et₂O (3 x 5 mL). Para sintetizar el compuesto **6**, la escisión de la resina y la desprotección final se realizaron mediante tratamiento con TFA/TIS/EDT/agua (v/v/v/v; 92,5/2,5/2,5/2,5) a 0 °C y posterior adición gota a gota de TFMSA al 10 %.
- El péptido bruto se precipitó en éter dietílico helado y se purificó mediante RP-HPLC preparativa. Tras la purificación por RP-HPLC, el compuesto **6** [ABX 490] (sal TFA) se obtuvo como un sólido entre blanco y blanquecino (rendimiento: 12 %). Masa monoisotópica calculada (C₄₉H₈₄N₁₀O₁₉S₂): 1180,54; encontrado: m/z = 1181,38 [M+H]⁺, 591,27 [M+2H]²⁺.

Ejemplo 6

Síntesis del compuesto **1** [ABX 408]

Compuesto inventivo **1**



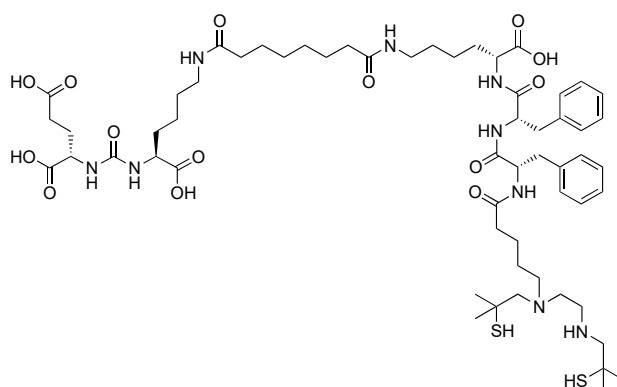
1

se sintetizó mediante el procedimiento descrito en el ejemplo 4, salvo por el uso de Fmoc-L-Lys(Dde)-OH en lugar de Fmoc-D-Lys(Dde)-OH y Fmoc-Phe-OH en lugar de Fmoc-Glu(OtBu)-OH. El péptido bruto se purificó mediante RP-HPLC preparativa con lo que se obtuvo el compuesto 4. Masa monoisotópica calculada ($C_{59}H_{93}N_9O_{14}S_2$): 1215,63; encontrado: $m/z = 1214,73 [M-H]^-$.

Ejemplo 7

Síntesis del compuesto 2 [ABX 451]

10 Compuesto inventivo 2



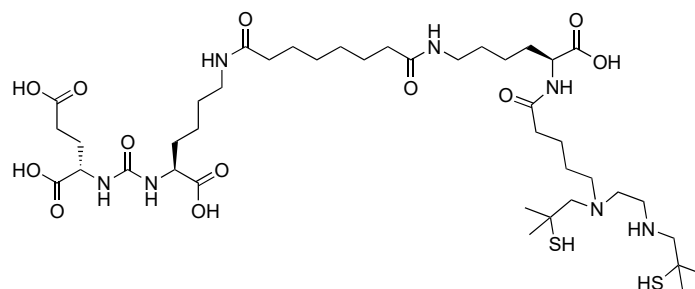
2

se sintetizó mediante el procedimiento descrito en el Ejemplo 4, salvo por el uso de Fmoc-Phe-OH en lugar de Fmoc-Glu(OtBu)-OH. El péptido bruto se purificó mediante RP-HPLC preparativa. Masa monoisotópica calculada ($C_{59}H_{93}N_9O_{14}S_2$): 1215,63; encontrado: $m/z = 1216,70 [M+H]^+$.

Ejemplo comparativo 1

Síntesis del compuesto 3 [ABX 455]

Compuesto comparativo 3



5

3

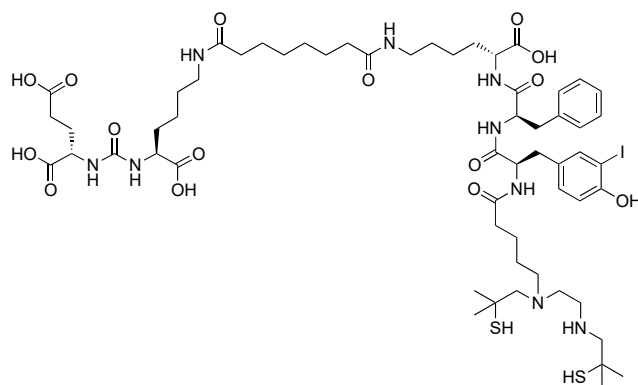
se sintetizó mediante el procedimiento descrito en el Ejemplo 4, salvo la omisión del Fmoc-Glu(OtBu)-OH. El péptido bruto se purificó mediante RP-HPLC preparativa. Masa monoisotópica calculada ($C_{41}H_{75}N_7O_{12}S_2$): 921,49; encontrado: $m/z = 922,45 [M+H]^+$.

Ejemplo 8

10

Síntesis del compuesto 4 [ABX 456]

Compuesto inventivo 4



4

15 se sintetizó mediante el procedimiento descrito en el Ejemplo 4, salvo por el uso de Fmoc-D-Phe-OH y Fmoc-D-Tyr(3I)-OH en lugar de Fmoc-Glu(OtBu)-OH. El péptido bruto se purificó mediante RP-HPLC preparativa. Masa monoisotópica calculada ($C_{59}H_{92}IN_9O_{15}S_2$):

1357,52; encontrado: $m/z = 1356,70 [M-H]^-$.

Ejemplo 9

Síntesis de complejos ^{nat}Re

- 5** Los compuestos **1**, **3** y **5** se utilizaron para sintetizar complejos con isótopos de Re abundantes de forma natural (^{nat}Re). Estos complejos sintetizados pueden utilizarse como ligandos de PSMA.

- 10** 0,06 mmol del correspondiente compuesto **1**, **3** o **5** se disolvieron en 2 ml de metanol. Posteriormente, se añadieron 1 ml de una disolución de NaOAc 1 N y 0,06 mmol de oxotri-cloro[(dimetilsulfuro)-óxido de trifetilfosfina]-renio(V). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El producto bruto se precipitó con éter dietílico helado y se purificó mediante RP-HPLC preparativa. La Tabla Ex-1 muestra los resultados del análisis LC-MS de los complejos de renio sintetizados.

Tabla EX-1

	masa monoisotópica calculada	encontrado
$^{nat}ReO-1$ [= $^{nat}ReO-ABX408$]	1415,55	$m/z = 1416,53 [M+H]^+$
$^{nat}ReO-3$ [= $^{nat}ReO-ABX455$]	1121,42	$m/z = 1122,58 [M+H]^+$
$^{nat}ReO-5$ [= $^{nat}ReO-ABX474$]	1379,50	$m/z = 690,92 [M+2H]^{2+}$, 1380,08 $[M+H]^+$

- 15** Los complejos ^{nat}Re de los compuestos **1**, **3** y **5** pueden utilizarse como patrones para la radiosíntesis de ligandos PSMA etiquetados con ^{186}Re y ^{188}Re . De forma análoga, los complejos ^{nat}Re de los compuestos **2**, **4** y **6** pueden utilizarse como patrones para la radiosíntesis de ligandos PSMA etiquetados con ^{186}Re y ^{188}Re .

Ejemplo 10

Radioetiquetado de los compuestos **1** a **6** con ^{99m}Tc

- 20** Los compuestos **1** a **6** se utilizaron para sintetizar complejos con ^{99m}Tc . Estos complejos sintetizados pueden utilizarse como radioligandos de PSMA.

El compuesto correspondiente **1**, **2**, **3**, **4**, **5** o **6** (50 μg), el manitol (1 mg) y el heptagluconato de calcio (10 μg) se agitaron en 1-1,5 mL de disolución salina / pertecnetato de sodio

(procedente de un generador comercial de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$, 0,2-4 GBq) a TA durante 10 min. Tras añadir cloruro de estaño (1 μg en 100 μL de HCl 0,01 N; disolución saturada de helio) la disolución se mantuvo a TA durante 20 min y finalmente a 80 °C durante otros 20 min. Tras enfriarse, el producto estaba listo para su uso posterior. El producto es un complejo de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ y el compuesto **1**, **2**, **3**, **4**, **5** o **6** correspondiente. Estos complejos se suministraron como una disolución de los complejos respectivos.

El control de calidad del producto se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase invertida por radio (CP-HPLC-RP por radio) utilizando una columna Poroshell 120 EC-C18 (3,5 μm , 100 $\times$ 3 mm; Agilent Technologies Deutschland, Waldbronn, Alemania) y un sistema disolvente formado por agua (0,1 % de TFA) y ACN (0,1 % de TFA). Los análisis se realizaron utilizando dos métodos diferentes de elución en gradiente: a) 0-0,5 min 0 %, 0,5–3 min 0-100 %, 3-5 min 100 %, 5-8 min 0 % ACN (0,1 % TFA); tasa de flujo: 0-0,5 min 0,4 mL/min, 0,5-8 min 0,7 mL/min, y b) 0-1,5 min 0 %, 1,5–10 min 0-100 %, 10-12 min 100 %, 12-15 min 0 % ACN (0,1 % TFA); tasa de flujo: 0,7 mL/min, así como métodos de elución isocrática utilizando un porcentaje determinado de ACN (0,1 % de TFA) apropiado para el radioligando respectivo. Además, para determinar la posible formación de coloides $^{99\text{m}}\text{Tc}/^{99}\text{Tc}$, se realizó cromatografía en capa fina (radio-TLC) sobre placas de TLC de gel de sílice (POLYGRAM SIL G UV254, Macherey-Nagel, Düren, Alemania) utilizando metanol /acetato de amonio (2 M) 1:1. La Tabla 2 muestra la pureza radioquímica y el tiempo de retención t_R de los complejos obtenidos.

Tabla EX-2

Radioligando	Pureza radioquímica*	t_R^*
$^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-1}$ [= $^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-ABX408}$]	92,2 %	3,64 min
$^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-2}$ [= $^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-ABX451}$]	93,0 %	3,45 min
$^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-3}$ [= $^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-ABX455}$]	93,6 %	3,34 min
$^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-4}$ [= $^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-456}$]	94,5 %	3,46 min
$^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-5}$ [= $^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-ABX474}$]	96,7 %	4,16 min
$^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-6}$ [= $^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO-ABX490}$]	94,3 %	3,65 min

* determinado por radio-RP-HPLC, método a)

Ejemplo 11

Determinación de los valores logD

Los valores de logD se determinaron para diferentes medios por el método de matraz agitado (Andrés, A.; Rosés, M.; Ràfols, C.; Bosch, E.; Espinosa, S.; Segarra, V.; Huerta, J. M. 5 Setup and validation of shake-flask procedures for the determination of partition coefficients (logD) from low drug amounts. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2015, 76, 181–191.). En la preparación, el octanol se saturó con cada una de las disoluciones amortiguadoras utilizadas y viceversa. A 3 mL de octanol, junto con 3 mL de disolución amortiguadora se añadieron 200-300 µL del radioligando etiquetado con ^{99m}Tc (15-25 MBq, muestras por triplicado) y se agitaron enérgi- 10 camente durante 30 min. Tras la centrifugación a 9.000 rpm durante 15 min, se tomaron muestras de ambas fases separadas y se midieron mediante contador gamma. Los valores LogD se calcularon como la relación entre la radiactividad determinada en octanol y en fase acuosa. La Tabla EX-3 muestra los valores LogD determinados de los complejos de ^{99m}Tc en fosfato de Na, disolución amortiguadora TRIS y PBS.

15 Tabla EX-3

Radioligando	LogD (matraz agitado, octanol / medio)		
	Na-fosfato* pH 7,4	Disolución amortiguadora TRIS 0,1 M pH 7,4	PBS 0,1 M pH 7,4
[^{99m} Tc]TcO-1 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX408]	- 2,18 ± 0,002	- 2,18 ± 0,01	- 1,62 ± 0,01
[^{99m} Tc]TcO-2 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX451]	- 2,08 ± 0,01	- 2,16 ± 0,02	- 2,16 ± 0,03
[^{99m} Tc]TcO-3 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX455]	- 1,93 ± 0,01	- 2,08 ± 0,02	- 2,07 ± 0,01
[^{99m} Tc]TcO-5 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX474]	- 2,41 ± 0,08	- 1,98 ± 0,032	- 2,52 ± 0,03

* 4,4 mM Na₂HPO₄, 2,2 mM NaH₂PO₄

Ejemplo 12

Estudios de estabilidad

Se determinó la estabilidad de los complejos de ^{99m}Tc con los compuestos 1 a 6 en 20 diferentes medios.

En resumen, la disolución de radioligando etiquetado con ^{99m}Tc recién producida (10-

20 MBq, 20-100 µL) se añadió al medio respectivo (200-400 µL), se agitó en vórtex rápidamente y se agitó suavemente a la temperatura respectiva mencionada a continuación. En determinados puntos de tiempo, se tomaron muestras, se diluyeron y se midieron por radio-RP-HPLC. De este modo, la investigación de las muestras de plasma incluyó la precipitación de las proteínas con el volumen cuádruple de una mezcla helada de metanol/agua (4/1, v/v), agitación intensiva (5 min) y centrifugación (14.000 rpm, 10 min), antes de la inspección del sobrenadante. Además, se calculó la recuperación de la actividad extraída tras la medición de la actividad del sobrenadante y del residuo mediante un contador gamma.

5

Tabla EX-4: Estabilidad del producto a temperatura ambiente

Radioligando	Fracción de radioligando* en el punto de tiempo indicado tras la preparación (sin adición de ningún medio)			
	0 h	2 h	4 h	6 h
[^{99m} Tc]TcO-3 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX455]	96 %	93 %	92 %	91 %
[^{99m} Tc]TcO-5 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX474]	94 %	91 %	95 %	94 %
[^{99m} Tc]TcO-6 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX490]	89 %	87 %	88 %	85 %

10 * determinado por radio-RP-HPLC, método a

Tabla EX-5: Estabilidad del producto en DPBS y disolución salina fisiológica

Radioligando	Fracción de radioligando* en el punto de tiempo indicado en DPBS# a 25 °C			
	1 h	2 h	4 h	20 h
[^{99m} Tc]TcO-1 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX408]	101,5 ± 0,6 %	99,5 ± 0,8 %	100,2 ± 1,0 %	93,5 ± 1,8 %
[^{99m} Tc]TcO-2 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX451]	89,9 ± 2,3 %	97,7 ± 2,3 %	80,7 ± 12,0 %	89,2 ± 2,7 %
[^{99m} Tc]TcO-3 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX455]	98,2 ± 1,9 %	97,3 ± 3,6 %	98,4 ± 1,0 %	89,1 ± 7,4 %
[^{99m} Tc]TcO-4 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX456]	88,4 ± 14,8 %	100 ± 1,8 %	105,5 %	98,0 ± 1,0 %
[^{99m} Tc]TcO-5 [= [^{99m} Tc]TcO-ABX474]	101,8 ± 0,03 %	100,6 ± 0,3 %	100,3 ± 1,0 %	96,7 ± 2,1 %

$[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-6}$ [= $[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-ABX490}$]	75,9 ± 0,2 %	74,4 ± 0,1 %	72,3 ± 0,9 % ^{&}	18,7 %
--	--------------	--------------	-------------------------------	--------

* indicada como media ± DE (n= 2-4), determinada mediante radio-RP-HPLC, método a) como se describe en el Ejemplo 10, y normalizada con respecto a la fracción de radioligando determinada inmediatamente después de la preparación

DPBS (disolución salina amortiguada con fosfato de Dulbecco, modificada: + Ca²⁺, +Mg²⁺)

5 & después de 6 h en lugar de 4 h

Tabla EX-6: Estabilidad del producto en plasma de ratón (*in vitro*)

Radioligando	Fracción de radioligando* después de 6 h en plasma de ratón a 37 °C
$[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-1}$ [= $[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-ABX408}$]	96,8 ± 0,3 %
$[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-2}$ [= $[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-ABX451}$]	98,3 ± 1,1 %
$[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-3}$ [= $[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-ABX455}$]	98,5 ± 0,8 %
$[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-5}$ [= $[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-ABX474}$]	96,7 ± 1,3 %

* indicada como media ± DE (n= 3-4), determinada mediante radio-RP-HPLC, método a) como se describe en el Ejemplo 10, y normalizada con respecto a la fracción de radioligando determinada inmediatamente después de la preparación; Recuperación de la actividad tras la precipitación plasmática: 93,3 ± 0,6 % (media ± DE; n= 9)

10

Tabla EX-7: Estabilidad del producto en plasma humano (*in vitro*)

Radioligando	Fracción de radioligando* en el punto de tiempo indicado en plasma humano a 37 °C				
	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h
$[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-5}$ [= $[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO-ABX474}$]	95,8 %	91,1 ± 0,6 %	91,2 ± 0,2 %	91,1 ± 0,8 %	91,7 ± 0,3 %

* indicado como media ± DE (n= 5), determinado mediante radio-RP-HPLC, método a) como se describe en el Ejemplo 10; Recuperación de la actividad tras la precipitación del plasma: 92,4 % ± 0,9 (media ± DE; n= 20)

15

Ejemplo 11

Ensayos *in vitro*

En el Ejemplo 11 se describen los ensayos *in vitro* que se realizaron para determinar las propiedades de los compuestos **1, 2, 3, 4, 5 y 6**. Por esta razón, se prepararon complejos del compuesto **1, 2, 3, 4, 5 o 6** con ^{99m}Tc tal como se describe en el Ejemplo 10 y complejos **5** del compuesto **1, 2, 3, 4, 5 o 6** con $^{\text{nat}}\text{Re}$ tal como se describe en el Ejemplo 9.

a) Cultivo celular

Los ensayos de competencia, saturación e internalización se valoraron utilizando la línea celular de carcinoma de próstata humano LNCaP (ATCC® CRL-1740) con alta expresión de PSMA. Las células se cultivaron en monocapa a 37 °C en una atmósfera humidificada con **10** un 5 % de CO₂ y un 95 % de aire en medio RPMI que incluía un 10 % de FCS (Merck KGaA, Alemania). Tras lavar las células confluentes dos veces con disolución salina tamponada con fosfato (PBS) y desprenderlas con tripsina/EDTA (0,05 %/0,02 %), las células se suspendieron en medio y se contaron (Casy TT, Omni Life Science, Alemania).

b) Etiquetado con ^{68}Ga -labeling de PSMA-11

15 Se adquirió un generador de ^{68}Ga en iThemba LABS (República de Sudáfrica). PSMA-11 (2-4 µg = 2,11-4,21 nmol) se etiquetó con ^{68}Ga (100 a 200 MBq) en una mezcla de acetato de amonio (2 M) y HCl a un pH de 4,5. La mezcla de reacción se incubó durante 10 min a 90 °C. El control de calidad del PSMA-11 radioetiquetado se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con una columna C-18 de fase inversa (Zorbax 300SB-C18 **20** semipreparativa, 9,4 x 250 mm 5 µm; Agilent Technologies, EE. UU.). El rendimiento radioquímico fue >97 % para [^{68}Ga]Ga-PSMA-11 a actividades molares entre 30 y 60 GBq/µmol.

c) Determinación de la afinidad de unión competitiva y directa (Competencia y Saturación)

25 Para la competición se sembraron monocapas de células LNCaP, 1×10^5 células/pozo en placas de 24 pozos dos días antes del ensayo. El día de la competición, tras aspirar el medio, se pipetearon en los pozos 100 µl de PBS y, para la competición, 100 µL de diferentes concentraciones del compuesto de prueba en PBS (10⁻¹² a 10⁻⁶ M), simultáneamente a 400 µL de medio que incluían 1 nM de [^{68}Ga]Ga-PSMA-11.

30 Para la saturación se sembraron monocapas de células LNCaP, 5×10^4 células/pozo en placas de 48 pozos dos días antes del ensayo. El día de la saturación, tras aspirar el medio,

se pipetearon 160 μL de medio (para el radioligando etiquetado con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ y D-manitol (1 mg/mL)) por pozo, para las muestras de unión inespecífica que incluían 100 μM de 2-PMPA. Tras una preincubación de 5 min, se añadieron 40 μL de actividad ($[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ o disolución de radioligando etiquetado con $^{99\text{m}}\text{Tc}$) (volumen total / pozo: 200 μL). Ocho concentra-

5 ciones oscilaron entre 0,3 y 40 nM.

Tras 1 hora de incubación a 37 °C tanto para las muestras de competición como para las de saturación, se aspiraron los sobrenadantes y se lavaron las células dos veces con PBS frío. El césped celular se lisó con 500 μL de NaOH/SDS (0,1 M/1 %) agitando durante 3 a 5 minutos. Tras transferir los lisados a tubos de medición, se midió la actividad de las muestras

10 en un contador gamma (2480 Automatic Gamma Counter Wizard 2, Perkin Elmer, EE. UU.).

Las concentraciones inhibitorias semimáximas (IC_{50}) y las constantes de disociación (K_d) se calcularon ajustando los datos mediante un programa de ajuste de curvas no lineal (GraphPad Prism 9). Con el valor K_d de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ en LNCaP y la concentración conocida de $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-PSMA-11}$ en el ensayo de competición se determinaron también las

15 constantes de inhibición (K_i) con el programa de ajuste de curvas. Los valores K_i de los complejos $^{\text{nat}}\text{Re}$ y los valores K_d de los complejos $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}$ se muestran en la tabla EX-8.

Tabla EX-8

compuesto	K_i [nM]* de complejo $^{\text{nat}}\text{Re}$	K_d [nM]* de los complejos $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}$
1 [ABX408]	4,8 $\pm$ 3,4	15,5 $\pm$ 3,2
2 [ABX451]	n.d.	32,1 $\pm$ 24,3
3 [ABX455]	7,3 $\pm$ 1,6	15,8 $\pm$ 9,1
4 [ABX456]	n.d.	4,7 $\pm$ 3,2
5 [ABX474]	9,3 $\pm$ 0,9	7,2 $\pm$ 1,7
6 [ABX490]	n.d.	7,3
$^{\text{nat}}\text{Ga-PSMA-11}$	8,5 $\pm$ 0,9	12,4 $\pm$ 2,1

* media $\pm$ EEM; n.d. = no determinado

d) Determinación de la internalización

Para la internalización se sembraron células LNCaP y PC3, 1×10^5 células/pozo en placas de 24 pozos dos días antes del ensayo. El día de la internalización, tras aspirar el medio, se pipetearon en los pozos 100 μ l de PBS y, para las muestras de unión inespecífica, 100 μ l de 2-PMPA (100 μ M), seguidos de 400 μ l de medio con actividad incluida. La concentración de los radioligandos etiquetados con ^{99m}Tc fue de 25 nM. Tras 1 h de incubación a 37 °C y las placas de pozos adyacentes a 4 °C, se eliminó el sobrenadante y se lavaron las células con PBS frío. La actividad unida a la superficie se eliminó con disolución amortiguadora de lavado ácido frío a 4 °C (glicina 0,2 M, pH 2,8) durante 5 min. La disolución amortiguadora de lavado ácido se transfirió de los pozos de la placa a tubos de medición, al igual que la disolución amortiguadora PBS después de lavar una vez (unión en la superficie). La actividad citosólica se determinó tras el tratamiento con amortiguador de lisis celular (NaOH 0,1 M/1 % SDS). La superficie celular y la actividad citosólica se midieron por separado en un contador gamma. La determinación del contenido proteico del lisado celular se realizó con un espectrofotómetro (NanoDrop, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) a una absorbancia de 280 nm. Los resultados se muestran en la Tabla EX-9.

Tabla EX-9

% DA/mg proteína	^{99m}Tc TcO- 3 [= ^{99m}Tc TcO-ABX455]	^{99m}Tc TcO- 4 [^{99m}Tc TcO-ABX456]	^{99m}Tc TcO- 5 [= ^{99m}Tc TcO-ABX474]	^{99m}Tc TcO- 6 [= ^{99m}Tc TcO-ABX490]	^{68}Ga -PSMA1 1
Unión*, 37°C	1,8 $\pm$ 0,3	2,9 $\pm$ 0,5	3,2 $\pm$ 1,0	4,7 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2
Internalización*, 37 °C	1,0 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,9	2,8 $\pm$ 0,8	2,9 $\pm$ 0,2	0,5 $\pm$ 0,2
Unión*, 4°C	2,1 $\pm$ 1,2	2,2 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,4	0,3 $\pm$ 0,4
Internalización*, 4 °C	0,7 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0
% de internalización, 37 °C	35,8	39,2	46,6	38,5	40,3

* media $\pm$ EEM

En comparación con el compuesto comparativo **3**, la adición de los aminoácidos X e Y sustituidos o no sustituidos conduce a un aumento del % DA/mg de proteína internalizada.

20 Ejemplo 12

Imagenología SPECT/CT y PET/CT

Todos los experimentos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con los lineamientos de la Normativa Alemana de Bienestar Animal y han sido aprobados por el Comité Ético de Experimentos con Animales local.

Se generó un modelo de xenoinjerto de cáncer de próstata mediante la inyección subcutánea de células LNCaP humanas en el hombro derecho de ratones desnudos macho de 8-12 semanas de edad (Rj:NMRI-*Foxn1*^{nu/nu}, Janvier Labs, Le Genest-Saint-Isle, Francia). Se realizaron estudios de imagenología cuando los tumores alcanzaron un diámetro > 6 mm. Se indujo y mantuvo la anestesia general con la inhalación de 10 % (v/v) de desflurano en 30/10 % (v/v) de oxígeno/aire. Durante la anestesia, los animales se mantuvieron continuamente a 37 °C.

La tomografía computarizada por emisión monofotónica (SPECT) de pequeños animales se realizó con el escáner nanoSPECT/CT (Mediso Medical Imaging Systems) equipado con una apertura APT63 que consiste en cuatro colimadores M3 multiagujero. Cada animal recibió 30 MBq de compuestos etiquetados con ^{99m}Tc administrados en 0,2 mL de disolución salina amortiguada con fosfato de Dulbecco como inyección intravenosa única a través de un catéter en la vena de la cola. La emisión de fotones se registró utilizando tiempos de fotografías de 60 s (exploración de 1 h: 40-70 min), 90 s (exploración de 4 h, 3,5-4,5 h), y 320 s (exploración de 20 h, 18,5-21,5 h), y se categorizaron simultáneamente dentro de la ventana de energía del 20 % del pico fotónico de 140,5 keV. Con cada exploración SPECT se registró una imagen de CT correspondiente que se utilizó para la referenciación anatómica y la corrección de la atenuación. Las imágenes SPECT se reconstruyeron utilizando el algoritmo tridimensional (3D) Tera-Tomo™ en rango normal con un tamaño de vóxel de 0,4 mm y aplicando correcciones para la atenuación de la dispersión y el decaimiento.

La tomografía por emisión de positrones (PET) de pequeños animales se realizó con el escáner nanoPET/CT (Mediso Medical Imaging Systems). Cada animal recibió 10 MBq del compuesto de referencia radioetiquetado [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 administrado en disolución salina amortiguada con fosfato de Dulbecco en una única inyección intravenosa a través de un catéter en la vena de la cola. La emisión de los fotones de aniquilación de 511 keV se registró de forma continua en un modo de coincidencia de 1:5 durante 60 min tras la inyección del radiotrazador. Con cada exploración PET se registró una imagen de CT correspondiente que se utilizó para la referenciación anatómica y la corrección de la atenuación. Los datos del modo de lista tridimensional se dividieron en cubos utilizando la ventana de energía de 400-600 keV. Las imágenes PET del intervalo temporal de 40-60 min se reconstruyeron utilizando

el algoritmo tridimensional (3D) Tera-Tomo™ con un tamaño de vóxel de 0,4 mm y aplicando correcciones para eventos aleatorios, dispersión, atenuación y decaimiento.

Todas las imágenes se posprocesaron y analizaron con ROVER (ABX) y se mostraron como proyecciones de intensidad máxima a la escala indicada. Se crearon VOI tridimensionales aplicando umbrales fijos para la delimitación del tumor (30 %), el músculo (0 %) y los riñones (39 %). Se determinaron los valores de captación estandarizados ($SUV = [MBq \text{ de actividad detectada/mL de tejido}] / [MBq \text{ de actividad inyectada/g de peso corporal}]$, ml/g) y se comunicaron como SUV máximo (VOI-máximo). Se generaron curvas tiempo-actividad y se analizaron posteriormente con Prism (GraphPad Software, San Diego CA, EE. UU.).

La captación tumoral de radioligandos etiquetados con $[^{99m}Tc]$ en ratones portadores de tumores LNCaP se muestra en la FIGURA 3 ($SUV =$ valor de captación normalizado; las barras de error representan el EEM de los valores medidos). En contraste con la internalización en cultivo celular (Ejemplo 11), no pudo observarse un aumento significativo de la captación tumoral para X y/o Y representados por fenilalanina o fenilalanina sustituida. Sorprendentemente, para X e Y representados por el ácido glutámico se ha encontrado un aumento marcado o significativo de la captación tumoral (la captación más alta para A = A1, la segunda más alta para A = A2).

La FIGURA 5 muestra las proporciones tumor-músculo y tumor-hígado de radioligandos etiquetados con $[^{99m}Tc]$ en ratones portadores de tumores LNCaP después de 1 h y 4 h ($SUV =$ valor de captación normalizado). En particular para X e Y representados por ácido glutámico ($[^{99m}Tc]TcO-5 [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474]$ y $[^{99m}Tc]TcO-6 [= [^{99m}Tc]TcO-ABX490]$), se observó un aumento marcado o significativo de las relaciones tumor-músculo y tumor-hígado, lo que indica que, en particular, $[^{99m}Tc]TcO-5 [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474]$ proporciona la visualización tumoral más favorable de los radioligandos etiquetados con $[^{99m}Tc]$ de la presente invención.

La FIGURA 1 muestra la imagenología funcional de xenoinjertos tumorales LNCaP subcutáneos en ratones utilizando $[^{99m}Tc]TcO-5 [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474]$ en comparación con compuestos de referencia (proyecciones de intensidad máxima; (SUV) valor de captación normalizado).

La FIGURA 2 muestra la cinética tumor-fondo de $[^{99m}Tc]TcO-5 [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474]$ en comparación con compuestos de referencia en ratones portadores de tumores LNCaP ((SUV) valor de captación normalizado, (RT) radiotrazador).

[^{99m}Tc]TcO-**5** [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474] mostró una captación similar en los tumores y una captación menor en los riñones en comparación con los compuestos de referencia, junto con un mayor contraste en comparación con [^{99m}Tc]TcO-PSMA-I&S y una mayor resolución de imagen en comparación con [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 (véase la FIGURA 1). En consecuencia,

5 [^{99m}Tc]TcO-**5** [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474] mostró relaciones tumor-músculo y tumor-riñón más elevadas en comparación con los compuestos de referencia [^{99m}Tc]TcO-PSMA-I&S y [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 dentro de las 4 h iniciales tras la inyección (véase la FIGURA 2). Estos resultados indican que [^{99m}Tc]TcO-**5** [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474] proporciona una mejor visualización del tumor en comparación con los compuestos de referencia. El bloqueo de la captación

10 del radiotrazador en los tumores mediante la administración conjunta de 1,5 mg 2-PMPA confirmó la unión específica del PSMA (véase la FIGURA 2).

En la FIGURA 4 se muestra que [^{99m}Tc]TcO-**5** [= [^{99m}Tc]TcO-ABX474] mostró también relaciones tumor-hígado superiores en comparación con los compuestos de referencia [^{99m}Tc]TcO-PSMA-I&S and [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-11 dentro de la 1 h inicial tras la inyección.

15 **Lista de abreviaturas**

Ac acetato

ACN acetonitrilo

DA Dosis aplicada

Boc *terc*-butoxicarbonilo

20 Boc₂O dicarbonato de di-*terc*-butilo

Bp punto de ebullición

CT tomografía computarizada

2-CTC cloruro de 2-clorotritilo

DCM diclorometano

25 Dde *N*-(1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)etil)

DIPEA *N,N*-diisopropiletilamina

DMF dimetilformamida

DPBS Disolución salina amortiguada con fosfato de Dulbecco

EDT 1,2-etanoditol

EDTA ácido etilendiaminotetraacético

5 Et₂O éter dietílico

FCS suero fetal de ternera

Fmoc fluorenilmetoxycarbonilo

HATU hexafluorofosfato de (1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio-3-óxido

10 HOAt 1-hidroxi-7-azabenzotriazol

HYNIC ácido hidrazinonicotínico

IPA 2-propanol

LNCaP Carcinoma ganglionar de próstata, una línea celular humana de cáncer de próstata

15 logD coeficiente de distribución

NaOAc acetato de sodio

NMM 4-metilmorfolina

NHS *N*-hidroxisuccinimida

PBS Disolución salina amortiguadora de fosfatos

20 PC3 una línea celular humana de cáncer de próstata

PET tTomografía por emisión de positrones

2-PMPA ácido 2-(fosfonometil)pentanodioico

PSMA antígeno de membrana específico de próstata

PyBOP hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidino fosfonio

RLT terapia con radioligandos

TA temperatura ambiente

RP-HPLC cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa

5 RPMI RPMI es un medio de crecimiento para el cultivo celular

RT radiotrazador

SDS dodecil sulfato de sodio

EEM error estándar de la media

SPECT tomografía computarizada por emisión monofotónica

10 SPPS síntesis peptídica en fase sólida

Sub ácido suberico

SUV valor de captación normalizado

tBu *terc*-butilo

TFA ácido trifluoroacético

15 TFMSA ácido trifluorometanosulfónico

THF tetrahidrofurano

TIS triisopropilsilano

TRIS tris(hidroximetil)aminometano

TSTU tetrafluoroborato de *O*-(*N*-succinimidil)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio

20 VOI volumen de interés