

Señora

Directora de la Dirección de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.:Expediente No. **NC2020/0009625**

Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para: **“COMPUESTOS DERIVADOS DE N-(2-(2-CIANOPIRROLIDIN-1-IL)-2-OXOETIL)QUINOLIN-4-CARBOXAMIDA QUE SE UNEN A LA PROTEÍNA ACTIVADORA DE FIBROBLASTOS (FAP), CON UTILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO Y EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES NO MALIGNAS”** (nuevo título)

Solicitante: **UNIVERSITÄT HEIDELBERG**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio **No. 15905** notificado el 09 de septiembre de 2024, y para el cual solicité oportunamente prórroga el pasado 21 de noviembre de 2024, me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

1. Modificación a las Reivindicaciones

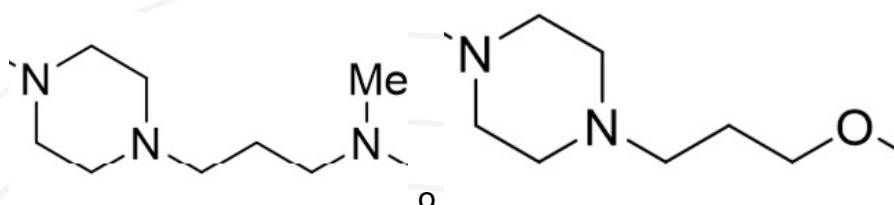
De acuerdo con lo establecido en el Artículo 34 de la Decisión 486 y en vista de las observaciones realizadas por el Examinador, se presenta en esta oportunidad un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 16 reivindicaciones. Las modificaciones introducidas son las siguientes:

- El alcance de la reivindicación 1 se ha restringido significativamente a los compuestos específicos más importantes de la presente invención, a saber, FAPI-46, FAPI-74 y FAPI-34, que se reivindican en las reivindicaciones dependientes 3, 6 y 9.

En particular,

- E en el enlazador se ha restringido a **propileno** (C₃H₆), y
- B a **piperazina**.

Es decir, el enlazador **A-E-B-D** de los compuestos según la reivindicación tiene una de las dos estructuras siguientes:



Además, se ha definido que R⁷ está unido a la **posición 6-quinolilo**.

Como se verá con más detalle a continuación, este enlazador y su posición **no se han elegido arbitrariamente**, sino que se han encontrado en varias pruebas y sorprendentemente muestran varias propiedades ventajosas.

- Los “Hidratos” y “Solvatos” no han sido incluidos en las nuevas reivindicaciones.
- Por último, R⁸ se ha limitado a un **agente quelante**.

El soporte para estas modificaciones se encuentra en los siguientes apartes:

Nuevas reivindicaciones	Soporte en la solicitud tal como se presentó inicialmente (anteriores reivindicaciones)
1	Anteriores reivindicaciones 1, 3 (definición de B), 4 (E es propileno), y 7 (R ⁷ está unido a la posición 6-quinolil)
2	Anteriores reivindicaciones 5, 6 y 19 (preferida R8 combinada)
3-12	Anteriores reivindicaciones 8- 17
13-16	Anteriores reivindicaciones 21-24

Estas modificaciones no amplían el objeto inicialmente solicitado y se encuentran debidamente soportadas en la Descripción, según se allegó inicialmente.

Teniendo en cuenta estas modificaciones, se anexa copia del recibo de pago por modificación de una solicitud en trámite.

2. Modificación al Título de la Solicitud

Conforme a la amable sugerencia del Examinador, el título de la solicitud ha sido modificado para indicar:

“COMPUESTOS DERIVADOS DE N-(2-(2-CIANOPIRROLIDIN-1-IL)-2-
OXOETIL)QUINOLIN-4-CARBOXAMIDA QUE SE UNEN A LA PROTEÍNA
ACTIVADORA DE FIBROBLASTOS (FAP), CON UTILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO
Y EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES NO MALIGNAS”

Por lo tanto, se refleja con mayor claridad el objeto de la presente solicitud.

3. Claridad y Concisión de las Reivindicaciones

En este sentido, se desea indicar que, con las modificaciones introducidas a las reivindicaciones, las objeciones formuladas por el Examinador en cuanto a la falta de claridad y concisión se ven superadas. Específicamente:

Considerando que R⁸ ha sido limitado a un **agente quelante**, según se define en todos los Ejemplos de la presente invención, se determina que la Descripción provee un amplio soporte a las modalidades de trabajo en donde R⁸ es un agente quelante. Por lo tanto, la objeción por falta de soporte para el radical R⁸ se ve superada.

De otro lado, los “Hidratos” y “Solvatos” no han sido incluidos en las nuevas reivindicaciones, atendiendo la sugerencia realizada por el Examinador.

Igualmente, se ha revisado el texto de las reivindicaciones, a fin de corregir los términos que se encontraban presentes en otro idioma, así como las dependencias de las reivindicaciones.

Teniendo en cuenta las anteriores aclaraciones, se establece que la presente invención cumple con los requerimientos del Artículo 30 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

4. Soporte en la Descripción

Teniendo en cuenta que las reivindicaciones ya no hacen referencia a los solvatos de los compuestos de la invención, esta objeción ya no es aplicable.

Por lo tanto, se establece que la presente invención cumple con los requisitos del Artículo 28 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

5. Nivel Inventivo

El Examinador se remitió a los siguientes documentos para la evaluación del nivel inventivo:

D2: WO 2011/158189 A1 y

D4: Dvoráková P. et al., J. Med. Chem. 2017, 60, 8385-8393.

El Examinador considera que **D4** es el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1, ya que divulga compuestos que son inhibidores de la proteína activadora de fibroblastos (FAP) y que tienen dentro de su estructura química una (4-quinolinoil)glicil-2-cianopirrolidina, dichos compuestos están conjugados para unirse a un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida) (HPMA). Además, estos compuestos están marcados con el fluoróforo ATTO 488, lo que permite su detección mediante microscopía confocal (Resultados, P. 8386-8387) para la orientación de FAP y potencialmente también para la administración dirigida de fármacos contra el cáncer (Resumen).

Según el Examinador, la diferencia existente entre la invención definida en la reivindicación 1 y el compuesto divulgado en **D4** consiste en la porción de R⁷ definida como R⁸ -D-B-E-A-, que actúa como espaciador. En particular, en la definición de B que en la solicitud puede ser una piperazina y en la definición de R⁸ que actúa como sección marcadora de los compuestos.

También se afirma que no hay pruebas que demuestren que la inclusión específica de un espaciador particular o de un marcador de unión covalente proporcione a un compuesto un efecto técnico diferente del que ya proporciona el objeto de **D4**, puesto que ese documento ya demuestra que los compuestos sintetizados en el mismo pueden utilizarse para la detección específica de FAP en diversas matrices biológicas, y para la orientación y visualización específicas de FAP y la inhibición de su actividad enzimática (Título; P. 8386, Col. derecha, Párr. 2, lin. 3-8 y Para. 4, lin. 2-10; P. 8387, Col. izquierda, Para. 2, lin. 1-5).

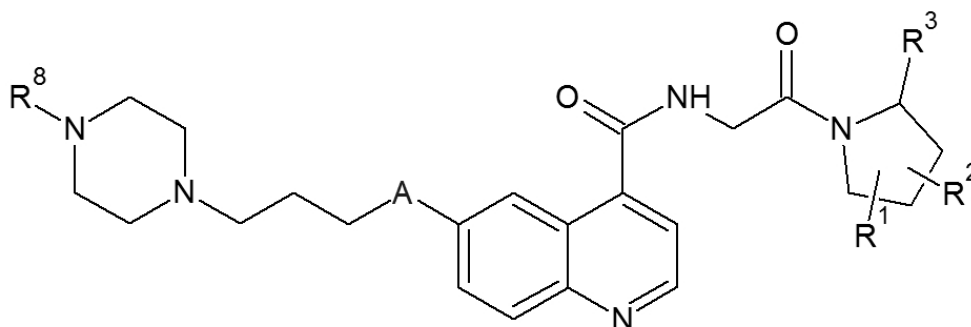
Por lo tanto, el problema técnico objetivo que se pretendía resolver con la presente invención debe formularse de la siguiente manera: *¿Cómo modificar el compuesto conocido en D4 para proporcionar otro compuesto alternativo?*

Según el Examinador, la inclusión de un espaciador como la piperazina y la elección de un marcador de unión covalente equivalente a los reivindicados por R^8 en la solicitud, ya se había divulgado en **D2**, que se refiere a compuestos orgánicos activables por rayos X y fotones gamma. Tales compuestos son derivados de quinoleína y están unidos mediante un espaciador que es una piperazina, a un agente quelante como el ácido 1,4,7,10-tetraaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTA) y derivados, o análogos del DOTA tales como el ácido 1,4,7-triazaciclononano- N,N',N'' -triacético (D03A) y derivados, el ácido dietilentriaminopentaacético (DTP A) en el que todos estos agentes quelantes comprenden un ion metálico (Descripción, P. 3, Lin. 11-17).

En consecuencia, el experto en la materia se vería motivado a incluir un espaciador como la piperazina y, a seleccionar un marcador que se una covalentemente como en **D2**, dentro del compuesto de **D4**, llegando así a la materia objeto de la reivindicación 1.

5.1. La presente invención

Los compuestos reivindicados tienen la siguiente estructura (teniendo en cuenta las definiciones de la nueva reivindicación 1):



En donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente del grupo formado por -H y fluoro;

R^3 es -CN;

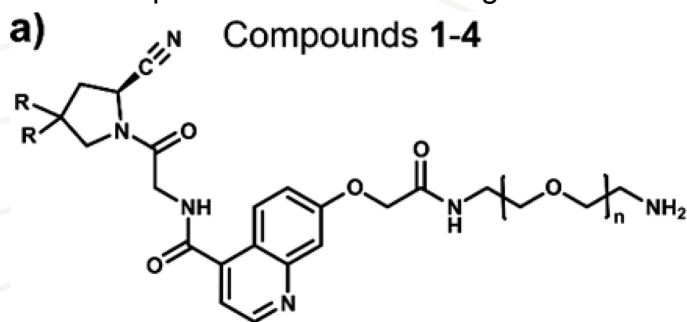
A es O o NCH_3 ; y

R^8 es un agente quelante.

5.2. Sobre el documento D4

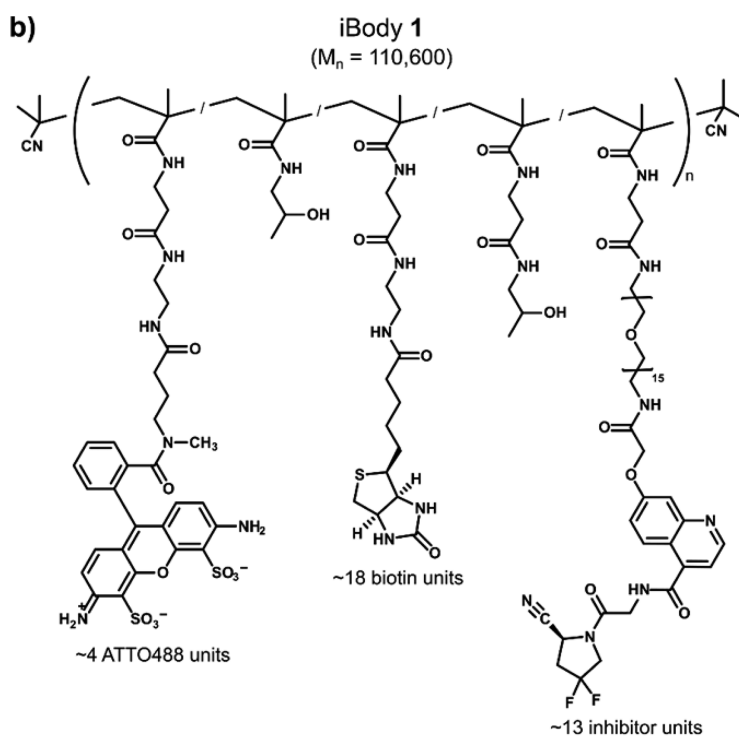
Argumentos sobre D4, en resumen:

D4 divulga los compuestos 1-4, que han de conjugarse en un polímero conjugado anti-FAP iBody 1. Los compuestos 1-4 tienen la siguiente estructura:



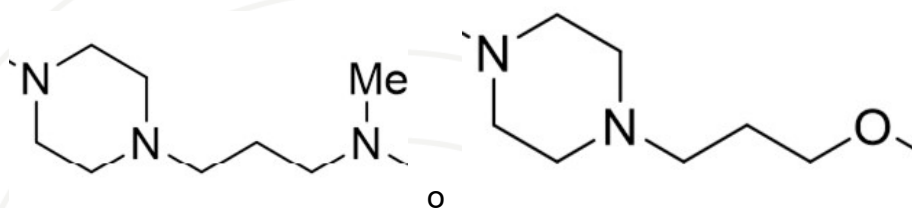
(1) R = F, n = 15	$IC_{50} = 0.23 \pm 0.02 \text{ nM}$
(2) R = F, n = 5	$IC_{50} = 0.28 \pm 0.05 \text{ nM}$
(3) R = H, n = 15	$IC_{50} = 0.37 \pm 0.04 \text{ nM}$
(4) R = H, n = 5	$IC_{50} = 4.8 \pm 0.6 \text{ nM}$

El polímero iBody 1 HPMA tiene la siguiente estructura:



Las características diferenciadoras entre **D4** y la presente invención son entonces las siguientes:

1. Los compuestos de la presente invención llevan un residuo R^8 , que se ha restringido a un **agente quelante**. Es decir, R^8 no puede ser un colorante como en **D4**.
2. El enlazador específico que lleva R^8 como se propone en la presente invención, a saber, es:



3. El enlazador se une a la **posición 6-quinolilo**.

Efecto de las diferencias:

Estas diferencias, como se explicará con más detalle a continuación, permiten que la molécula informadora R^8 sea absorbida eficazmente por la célula. Como se explica más adelante, esta absorción eficaz por la célula se debe en particular a estas tres diferencias estructurales.

Argumentos detallados sobre D4:

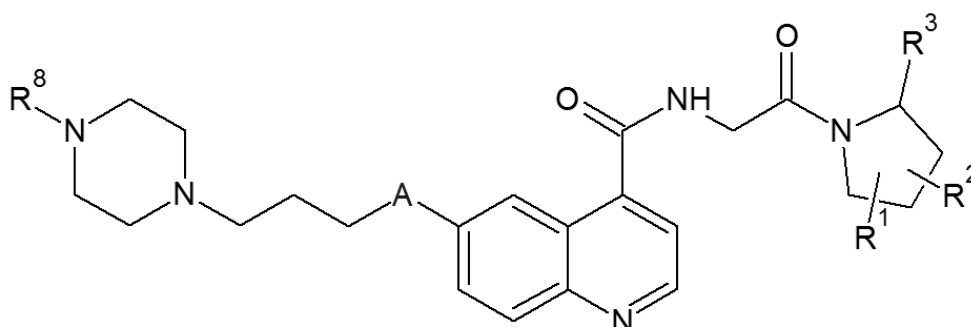
Según **D4**, para identificar el ligando más potente y específico para la FAP, se sintetizaron y caracterizaron cuatro inhibidores de la FAP basados en el andamiaje (4-quinolinoil)glicil-2-cianopirrolidina, conocido por su gran potencia y selectividad para la FAP. Los inhibidores se sintetizaron con enlazadores PEG de dos longitudes diferentes, ya que se había observado previamente que los enlazadores cortos impedían la unión de la proteína diana a la molécula inhibidora “inmovilizada” en la columna vertebral del polímero (**D4**, P. 8388, párrafo que une las columnas izquierda y derecha).

El iBody 1 polimérico obtenido se presenta como un ligante nanomolar bajo de FAP, que sigue siendo más que suficiente para una orientación eficaz *in vitro* e *in vivo* (**D4**, P. 8388, mitad de la columna derecha).

Sin embargo, contrariamente a ello, la presente invención se dirige a pequeñas moléculas que permiten que la porción informadora R^8 sea captada por la célula. Mientras que el objetivo principal de **D4** es acercar los colorantes fluorescentes, que

también están unidos al compuesto polimérico iBody 1, a las células que expresan FAP, los compuestos de la presente invención permiten una mayor captación y, por tanto, un mayor tiempo de retención de la porción informadora R^8 en la célula. Sólo la captación de la porción informadora permite la detección de la porción informadora a la concentración correspondiente en la célula de interés.

Contrariamente a tales compuestos poliméricos complejos, la presente invención se refiere a pequeñas moléculas que tienen la siguiente estructura (teniendo en cuenta las definiciones de la nueva reivindicación 1):



En donde

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente del grupo formado por -H y fluoro;

R^3 es -CN;

A es O o NCH_3 ; y

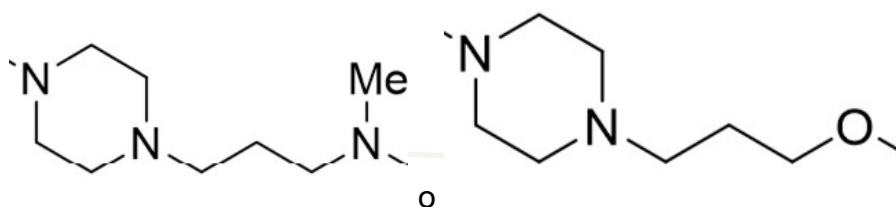
R^8 es un agente quelante.

De **D4** no se desprende que el experto pueda o deba usar la estructura de enlace específica de las presentes reivindicaciones para enlazar una fracción R^8 a la fracción X de quinoleína de un FAPI para conseguir cualquiera de las excelentes propiedades de los compuestos de la presente invención. Más bien, el experto sólo habría aprendido de **D4** cómo un colorante unido a una estructura polimérica se une a una célula que expresa FAP.

D4 no conduce al experto hacia el objeto de las presentes reivindicaciones.

En primer lugar, las reivindicaciones se han limitado en el sentido de que R^8 se ha restringido a un **agente quelante**. Es decir, R^8 ya no puede ser un colorante como en **D4**.

En segundo lugar, el **enlazador específico** propuesto en la presente invención, que no se menciona en **D4**, a saber



está unida **a la posición 6-quinolil**, mientras que **D4 divulga la unión a la posición 7-quinolil solamente**, cuya posición 6-quinolil permite que la fracción informadora R⁸ sea absorbida eficazmente por la célula, en lugar de ser escindida del compuesto.

El enlazador específico y su fijación en posición 6-quinolil, tal como se reivindica, no se eligen arbitrariamente, sino que se asocian a efectos específicos

El solicitante preparó una serie de compuestos que comprendían un inhibidor de FAP unido a un inhibidor de FAP basado en quinolina, tal como se resume en la Tabla 1 que figura en **la Prueba A** de los **ANEXOS** (ver documento de Anexos al presente memorial).

Se desea mencionar que lo que se expone a continuación también se ha publicado (en cierta medida) en Lindner et al, J Nucl Med 2018; 59:1415-1422; DOI: 10.2967/jnumed.118.210443. Las estructuras de varios compuestos también se muestran en la Figura 1 de este documento.

Todos los compuestos contenían un quelante DOTA unido a la quinoleína mediante diversos enlazadores.

Se probaron los siguientes compuestos, que difieren en una o más de las características reivindicadas:

- a)** FAPI-06 y FAPI-07 contienen un enlazador **alquileo** -simple con una amida conjugada con un quelante DOTA (en lugar de que B sea piperazina).
- b)** FAPI-02 a FAPI-05 son compuestos con un heterociclo de piperazina unido a la quinoleína con grupos alquileo **de tres** (como se reivindica, residuo E) o cuatro carbonos de longitud.
- c)** FAPI-15 posee un **espaciador de trietilenglicol** en lugar de un espaciador de 1,3-propileno (según la reivindicación, residuo E);

d) FAPI-08, y FAPI-09 mueven el enlazador a la **posición 7-quinolina** (en lugar de la posición 6-quinolilo como se reivindica).

Para evaluar las propiedades de unión e internalización de los derivados de FAPI, se realizaron ensayos de unión de radioligandos utilizando células HT-1080 que expresan FAP (instantánea de la Fig. 2A-C, que muestra la internalización relativa a FAPI-02, reproducida en **la Prueba B**). Todos los trazadores mostraron una internalización casi completa, con valores superiores al 90%.

Sin embargo, debido a la **unión insuficiente** a la PAF humana después de 24 h, los compuestos FAPI-06, FAPI-07 (que contienen un enlazador **alquileo** simple, punto a)), así como FAPI-08 y FAPI-09 (que tienen el enlazador en la **posición 7-quinolina**, punto d)) no se caracterizaron más.

Aunque mostraron una acumulación aceptable tras 24 h, no se prosiguió la evaluación de FAPI-11 y FAPI-12, con **enlazadores más cortos** que el grupo propilo (E) reivindicado entre la quinoleína y un heterociclo de piperidina en el enlazador, debido a su mal rendimiento tras 1 y 4 h de incubación. En otras palabras, FAPI-11 y FAPI-12 no son adecuados para la obtención de imágenes debido a su lenta captación inicial.

Para verificar la especificidad de la diana, también se realizaron ensayos de unión utilizando células de riñón embrionario humano que expresaban FAP murina y dipeptidil peptidasa 4 (CD26), que muestran una alta homología con la FAP humana (Fig. 2D, reproducida como Prueba C). En estos experimentos, FAPI-02 y FAPI-04 mostraron una fuerte unión a FAP murino, con valores significativamente más altos para FAPI-04, y ninguna unión a CD26. Sin embargo, FAPI-15 con un espaciador de trietilenglicol también presentaba una baja afinidad por CD26, pero también una menor unión a células HT-1080 en relación con FAPI-2 (Prueba B). El cálculo de la relación entre la unión a FAP murino y la unión a CD26 reveló valores de 45, 750 y 38 para FAPI-02, FAPI-04 y FAPI-15, respectivamente (Fig. 2D).

En otra serie de experimentos, se analizaron los análogos de difluoroprolina FAPI-04 y FAPI-05 para investigar la influencia de la presencia de flúor y **la diferencia entre un enlace propileno y un enlace butileno** (punto b)) de los componentes de piperazina y quinoleína de los radiotrazadores. Para ello, se determinó la concentración media máxima efectiva (CE_{50}) para cada FAPI mediante un ensayo de competencia, que demostró una mayor especificidad de diana para el FAPI-04 (6,5 nM) que para el FAPI-05 (17,2 nM); véase la Figura 3, Prueba D. Los experimentos

de flujo mostraron que el FAPI-04 y el FAPI-05 se excretaban considerablemente más despacio que el FAPI-02 (1,7 h), lo que se traducía en unas semividas mayores de 3,0 y 2,8 h, respectivamente (Figura 4).

La Figura 5 de la Prueba F muestra los resultados de los ensayos de biodistribución realizados con radiotrazadores FAPI seleccionados en experimentos con animales. FAPI-13, con un anillo de piperidina en lugar de piperazina, se caracterizó con más detalle debido a su parecido con el compuesto FAPI-04 y mostró la CE₅₀ más baja en el ensayo de competencia *in vitro* (4,5 nM).

La Tabla 2 muestra la captación tumoral de estos derivados de FAPI en ratones nude portadores de tumores HT-1080-FAP, *n*=3. Los valores se expresan como porcentaje de la dosis inyectada. Los valores se expresan como porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido (%ID/g; media $\pm$ DE). **FAPI-05, con un enlazador de 4 carbonos en lugar de uno de 3 carbonos (punto b)), se descart  ** en comparación con los derivados FAPI-04 y FAPI-13, de mejor rendimiento. Como se ha señalado anteriormente, FAPI-04 tenía una mayor especificidad de diana que FAPI-05. La captación del trazador en la mayoría de los tejidos normales fue ligeramente superior para FAPI-04 que para FAPI-02 y aumentó aún más para FAPI-13. La acumulación tumoral fue superior para FAPI-04 que para FAPI-13. La acumulación tumoral fue mayor para FAPI-04 y FAPI-13 que para FAPI-02, especialmente después de 24 h. En la Tabla 2 se muestran las áreas calculadas bajo la curva (AUC). Los valores para FAPI-02, FAPI-04, FAPI-15 y FAPI-13 fueron 64, 99,4, 68 y 157,5, respectivamente. Sin embargo, la relación tumor-sangre favoreció a FAPI-04 frente a FAPI-13 (Prueba G, Fig. 6).

Tabla 2

%ID/g	1 h	4 h	24 h	AUC
FAPI-02	4,5 $\pm$ 0.82	4,0 $\pm$ 0.56	1,12 $\pm$ 0.13	64,0
FAPI-04	4,9 $\pm$ 0.82	5,4 $\pm$ 1.51	3,0 $\pm$ 0.23	99,4
FAPI-05	6,0 $\pm$ 0.90	5,8 $\pm$ 0.60	2,8 $\pm$ 0.40	103,3
FAPI-13	6,3 $\pm$ 0.57	8,7 $\pm$ 0.77	4,8 $\pm$ 1.71	157,5
FAPI-15	3,4 $\pm$ 1.13	4,6 $\pm$ 0.32	1,1 $\pm$ 0.25	68,0

Para caracterizar mejor los FAPI restantes, se realizaron estudios PET en animales pequeños con ratones HT-1080 FAP xenoinjertados (Figs. 4 y 5). ⁶⁸Ga-FAPI-02 y ⁶⁸Ga-FAPI-04 mostraron la mayor captación tumoral 1 h después de la inyección (SUV_{max}, 0,88 y 1,2, respectivamente), sin disminución significativa en 2 h (SUV, 0,71 y 1,1, respectivamente). Por el contrario, la acumulación tumoral de ⁶⁸Ga-FAPI-13

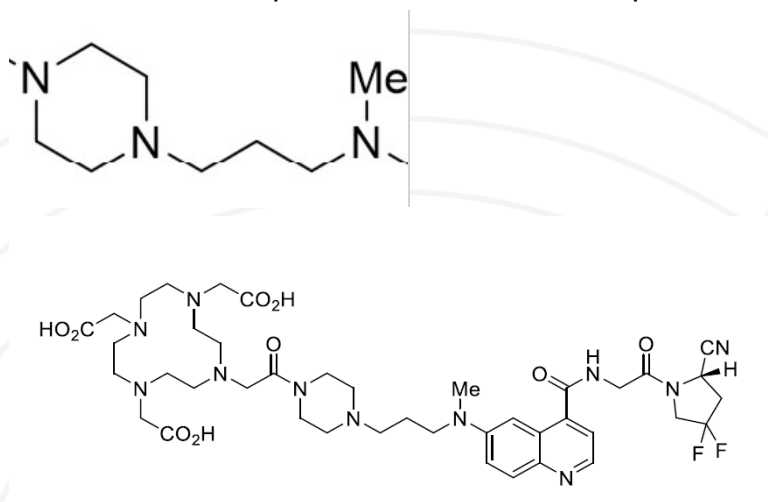
aumentó de forma constante hasta 2 h después de la inyección (SUV a 1 h, 0,93; a 2 h, 0,97). La captación fue mayor en el fondo, la médula espinal y el hueso (Prueba H, Figura 7). La visualización del tumor (flecha roja) fue mejor para FAPI-04 que para FAPI-13 hasta 140 min p.i. Además, se demostró con éxito la aplicabilidad de ^{68}Ga -FAPI-04 en un segundo modelo de xenoinjerto, SK-LMS-1 (Fig. 8). Igualmente, se dilucidó la especificidad de la diana mediante un experimento de bloqueo en un xenoinjerto de PAF HT-1080. Como se muestra en la Figura 9, la acumulación en el tumor se suprimió eficazmente mediante la coadministración de un compuesto no marcado.

A partir de los datos presentados, se analizó la relación estructura-actividad de las modificaciones del segmento heterocíclico y la posición del enlazador para este conjunto de compuestos. Los derivados simples 3-amino-1-propileno FAPI-06 y FAPI-07 mostraron una unión celular adecuada a 1 y 4 h, pero fueron casi eliminados tras 24 h, lo que **demuestra que un segmento heterocíclico que contenga nitrógeno, como una piperazina (punto a)), es necesario para una retención suficiente en las células tumorales. Los compuestos 7-quinolil-ligados FAPI-08 y FAPI-09** revelaron el mismo perfil farmacocinético en el curso de la incubación, como podría explicarse por la eliminación de la fracción radiomarcada. Esto indica que la **posición 6 del enlazador en la fracción de quinoleína (punto d)) es principalmente deseable.**

La unión a la albúmina o a otras proteínas plasmáticas con un mayor tiempo de retención en la circulación se considera un criterio de exclusión para posibles teranósticos y la razón por la que ^{177}Lu -FAPI-13 no se consideró para un mayor desarrollo a pesar de tener la CE_{50} más baja y la mayor acumulación tumoral de los compuestos comparados en animales portadores de tumores.

De todos los derivados analizados en este primer estudio, **FAPI-04 fue el más adecuado para su posible aplicación como trazador teranóstico.** Tanto FAPI-02 como FAPI-04 mostraron una rápida internalización en tumores FAP-positivos y una rápida eliminación del organismo, lo que dio como resultado una acumulación muy rápida en las zonas tumorales (10 minutos después de la administración del trazador) y proporciones comparables entre tumores y órganos, indicando que el enlazador 6-oxipropilene-piperazinilo de la reivindicación 54 proporciona el mejor equilibrio de propiedades para la captación tumoral, la selectividad tumoral sobre órganos no diana y el eflujo.

También se estudió el enlazador con O sustituido por N-Me, como se ilustra a continuación, y los resultados se resumen en la Prueba I. FAPI-46 es un ejemplo notable de un compuesto con el enlazador que contiene metilamino.



FAPI-46:

FAPI-46 mostró proporciones sustancialmente mejores de captación tumoral respecto a la sanguínea, hepática, muscular e intestinal (Anexo I, Tabla 2). Una primera aplicación diagnóstica en pacientes con cáncer reveló una elevada captación intratumoral de los radiotrazadores ya 10 minutos después de su administración.

Aunque la inserción del grupo metilamino para FAPI-46 en lugar de O en el enlazador no tuvo una influencia significativa en las concentraciones inhibitorias semimáximas, se observaron fuertes efectos para la cinética de eflujo *in vitro* (Fig. 10). En la unión competitiva de los derivados de FAPI a las células HT-1080-FAP tras añadir concentraciones crecientes de compuesto no marcado, FAPI-04 exhibió un IC₅₀ de 6,5 nM y FAPI-46 exhibió un IC₅₀ de 13,5 nM. Tras la incubación durante 4 h, sólo el 25% de la actividad inicial de FAPI-04 permaneció dentro de las células. En cambio, FAPI-46 se eliminó mucho más lentamente de las células que expresaban FAP, con un 65% de la actividad inicial todavía detectable después de 4 h.

En particular, como muestran dichos datos (Anexo I, Tabla 2), la modificación de la región de enlace entre la fracción de quinoleína y el quelante dio lugar a un aumento de la captación tumoral y a una mejora de las propiedades farmacocinéticas de los aminoderivados resultantes, que representan una nueva clase de radiotrazadores. En particular, FAPI-46 demostró una mejor relación tumor-órgano, lo que se tradujo en un mayor contraste de imagen para la obtención de imágenes PET. Dependiendo del tipo de tumor, la acumulación tumoral podría prolongarse significativamente con el trazador FAPI-46.

En cuanto a los compuestos específicos de las reivindicaciones 3, 7 y 10, todos contienen las cuatro características esenciales **a) a d)** identificadas en la discusión anterior. Los compuestos de estas reivindicaciones se seleccionaron y evaluaron para determinar su idoneidad en diferentes protocolos de obtención de imágenes.

La reivindicación 3 cubre el compuesto FAPI-46 (discutido anteriormente) incluye el enlazador con A = NMe y tenía un excelente IC₅₀, captación tumoral y relación tumor-sangre.

La reivindicación 6 cubre el compuesto FAPI-74, con un enlazador donde A = O y el quelante es NOTA (véase también la reivindicación 2). Los estudios con este compuesto se resumen en la Prueba J. En experimentos de captación de derivados de FAPI marcados con ¹⁸F con HT-1080-FAP y líneas celulares de control, FAPI-74 exhibió una CE₅₀ de 4,2 nM, mostrando una excelente captación.

Los estudios PET en animales pequeños con [¹⁸F]AIF-FAPI-74 mostraron una rápida eliminación y captación tumoral, encontrándose sólo trazas de actividad en el intestino. Las imágenes de [¹⁸F]AIF-FAPI-74 ofrecieron muy buenas relaciones tumor/fondo (Fig. 11). Las imágenes PET en animales pequeños con [¹⁸F]AIF-FAPI-74 revelaron una buena acumulación tumoral y un contraste comparable a ⁶⁸Ga-FAPI-04.

De acuerdo con los resultados de la PET, la biodistribución fue estable hasta 1 h p.i. y después empezó a disminuir lentamente. El compuesto mostró una buena eliminación de todos los órganos no diana, lo que dio lugar a unas proporciones tumor/fondo muy buenas (Fig. 12). Los prometedores resultados de la PET en animales pequeños se confirmaron mediante experimentos de biodistribución *ex vivo*. [¹⁸F]AIF-FAPI-74 mostró una captación tumoral temprana y buena de aproximadamente 7%ID/g.

La reivindicación 9 cubre el compuesto FAPI-34, con un enlazador donde A = O y el quelante es no cíclico y basado en una fracción de bis-imidazolilo. Los estudios con este compuesto se resumen en la Prueba K.

El ^{99m}Tc-FAPI-34 reveló proporciones de captación de hasta el 41,86% ± 1,07% en células HT-1080-FAP. Además, se observaron tasas de internalización superiores al 95% y una alta afinidad por FAP, con un valor IC₅₀ de 6,9 nM para FAPI-34.

Se realizaron experimentos de biodistribución en ratones HT-1080-FAP-xenotransplantados. ^{99m}Tc -FAPI-34 mostró la menor captación en el hígado, la glándula biliar y el intestino y una captación significativa en las lesiones tumorales de los ratones entre los compuestos del estudio (Fig. 13A, que se evitó mediante la inyección simultánea del análogo no marcado y confirmó la especificidad de diana del compuesto (Fig. 13B).

De acuerdo con estos resultados, los experimentos de biodistribución con ^{99m}Tc -FAPI-34 revelaron una captación tumoral de $5,4 \pm 2,05$ y $4,3 \pm 1,95$ %ID/g y una captación hepática de $0,91 \pm 0,25$ y $0,73 \pm 0,18$ %ID/g a 1 y 4 h, respectivamente, tras la inyección del trazador (Fig. 14A). Excepto en los riñones, se detectó menos del 1 %ID/g de la actividad de FAPI-34 en la sangre y en los órganos de los xenoinjertos, lo que corresponde a proporciones tumor-tejido superiores a 1 (Fig. 14B). ^{99m}Tc -FAPI-34 proporcionó la mejor farmacocinética en xenoinjertos entre los compuestos ensayados en el estudio.

FAPI-34 es un buen candidato para la obtención de imágenes gammagráficas debido a su alto contraste obtenido por la rápida captación tumoral y la rápida eliminación del resto del cuerpo. Dado que el quelante permite el marcaje con ^{188}Re , el trazador también puede ser aplicable para la endorradioterapia de tumores desmoplásicos con alta expresión de FAP. La nueva variante FAPI-34 resulta prometedora para la visualización gammagráfica y la endorradioterapia de tumores FAP positivos.

En resumen, lo anterior muestra que **las cuatro características a) a d)** según la reivindicación 1 son deseables para llegar a la excelente captación y el mayor tiempo de retención de la porción informadora R^8 en la célula. En los estudios descritos, todos los compuestos que contienen estas características mostraron una elevada captación y tiempo de retención.

5.3. La presente invención no es obvia con respecto a D4

Si bien **D4** puede proporcionar un polímero complejo “iBody” adecuado que podría utilizarse para la detección específica de FAP en matrices biológicas y para la focalización y visualización específicas de FAP, contrariamente, a través de pequeñas moléculas que llevan el enlazador específico según se reivindica, los compuestos de la presente invención permiten una captación mejorada y un tiempo de retención más largo de la porción informadora R^8 en la célula. Sólo la captación de la fracción informadora permite la detección de la porción informadora a esta concentración en la célula de interés.

Es decir, a partir de **D4**, **no hay indicio alguno** de que el experto pueda o deba usar la estructura enlazadora específica de las presentes reivindicaciones para enlazar una fracción R⁸ a la posición 6-quinolil de la fracción X de quinoleína de un FAPI para conseguir cualquiera de las excelentes propiedades de los compuestos de la presente invención.

Más bien, el experto sólo habría aprendido de **D4** que para unir un colorante a FAP es necesaria **una estructura polimérica compleja**.

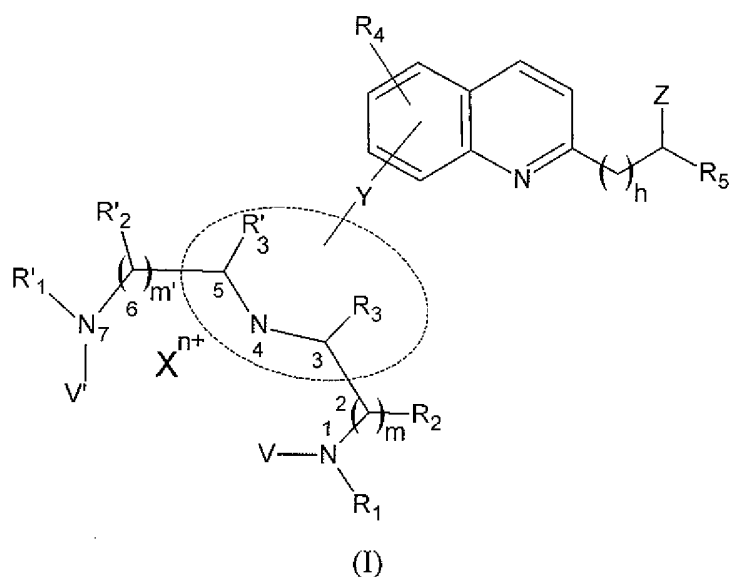
Además, **D4** sugiere que la unidad FAPI de los compuestos 1-4 tiene que comprender un enlazador largo de hasta 15 unidades de etilenglicol. En particular, como se enseña en D4, en la frase que une las páginas 8386 y 8387, *“Para experimentos posteriores, elegimos el compuesto 1 para evitar problemas estéricos después de la conjugación (enlazador largo) y asegurar las mejores propiedades inhibitorias...”*. Es decir, **D4** dirige hacia enlazadores largos de aproximadamente 15 unidades de etilenglicol para una unión eficiente. Esto se aleja de los enlazadores específicos, significativamente más cortos, utilizados en los compuestos de la presente invención.

Por consiguiente, **D4** no conduce al experto hacia el objeto de las presentes reivindicaciones.

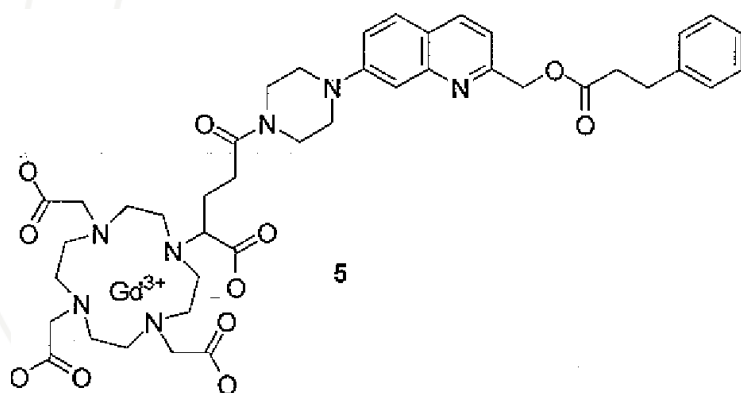
5.4. La presente invención no es obvia con respecto a D4 en combinación con D2

Los defectos de **D4** no son subsanados por **D2**.

Los compuestos divulgados en **D2** tienen la siguiente estructura general (véase, por ejemplo, la reivindicación 1):

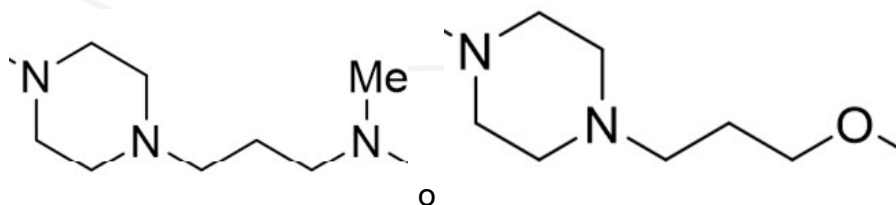


El examinador hace referencia al ejemplo específico del compuesto del esquema 3 de **D2**:



Así pues, las características diferenciadoras entre la presente invención y **D2** son también:

1. El **enlazador** específico que lleva R^8 como se propone en la presente invención, a saber



2. El enlazador se une a la **posición 6-quinolilo** en la presente invención.

Como se ha mencionado anteriormente, estas características de los compuestos de la presente invención permiten que la fracción reportera R⁸ se absorba eficazmente en la célula.

En particular, **D2** divulga **estructuras de enlace que pueden utilizarse para liberar** moléculas biológicamente activas, irradiando estos compuestos. Este principio es fundamentalmente diferente al de los compuestos de la presente invención, que se basan en la internalización del compuesto y no en la liberación de una fracción informadora. Más bien, la combinación de **D2** y **D4** enseña a un experto común que un inhibidor FAP se liberaría de un grupo portador como se describe en **D4** tras la irradiación (página 3, líneas 7-10). Esto es lo contrario del propósito de los compuestos reivindicados, que es combinar una fracción marcada con una fracción inhibidora de FAP para que permanezca intacta y se dirija a un locus específico en un cuerpo para visualizar o tratar una región enferma de un cuerpo humano o para diagnosticar una enfermedad.

Además, los compuestos de **D2** tienen propiedades estructurales diferentes y no hay incentivo alguno en absoluto para combinar dichos enlazadores, en caso de que efectivamente se divulguen en **D2**, con los compuestos de **D4** y esperar cualquiera de las propiedades de los compuestos de la presente invención.

Por lo tanto, se establece que la presente invención es inventiva, cumpliendo con los requerimientos del Artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

6. Conclusión

En vista de las modificaciones introducidas en esta oportunidad y los argumentos que se presentan, es posible establecer que las reivindicaciones cumplen con los requerimientos de la Decisión 486.

7. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 16 reivindicaciones.
- Copia del recibo por concepto de modificaciones a las reivindicaciones.
- Anexos experimentales.

Señora Directora,



Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. **39.779.654** de Bogotá

T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.

Calle 117 No. 5A-35 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.
MCA/jms
P5454



**Superintendencia de
Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

**Radicado: NC2020/0009625
Recibo: 24-107073
Fecha: 31/12/2024**

**CASTELLANOS & CO
NI: 8.001.746.411
Consignación No: 1060414**

Patente PCT
INHIBIDOR DE FAP

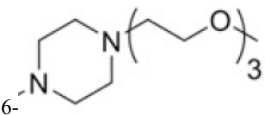
Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 214,000	\$ 214,000
TOTAL					\$ 214,000

ANEXOS

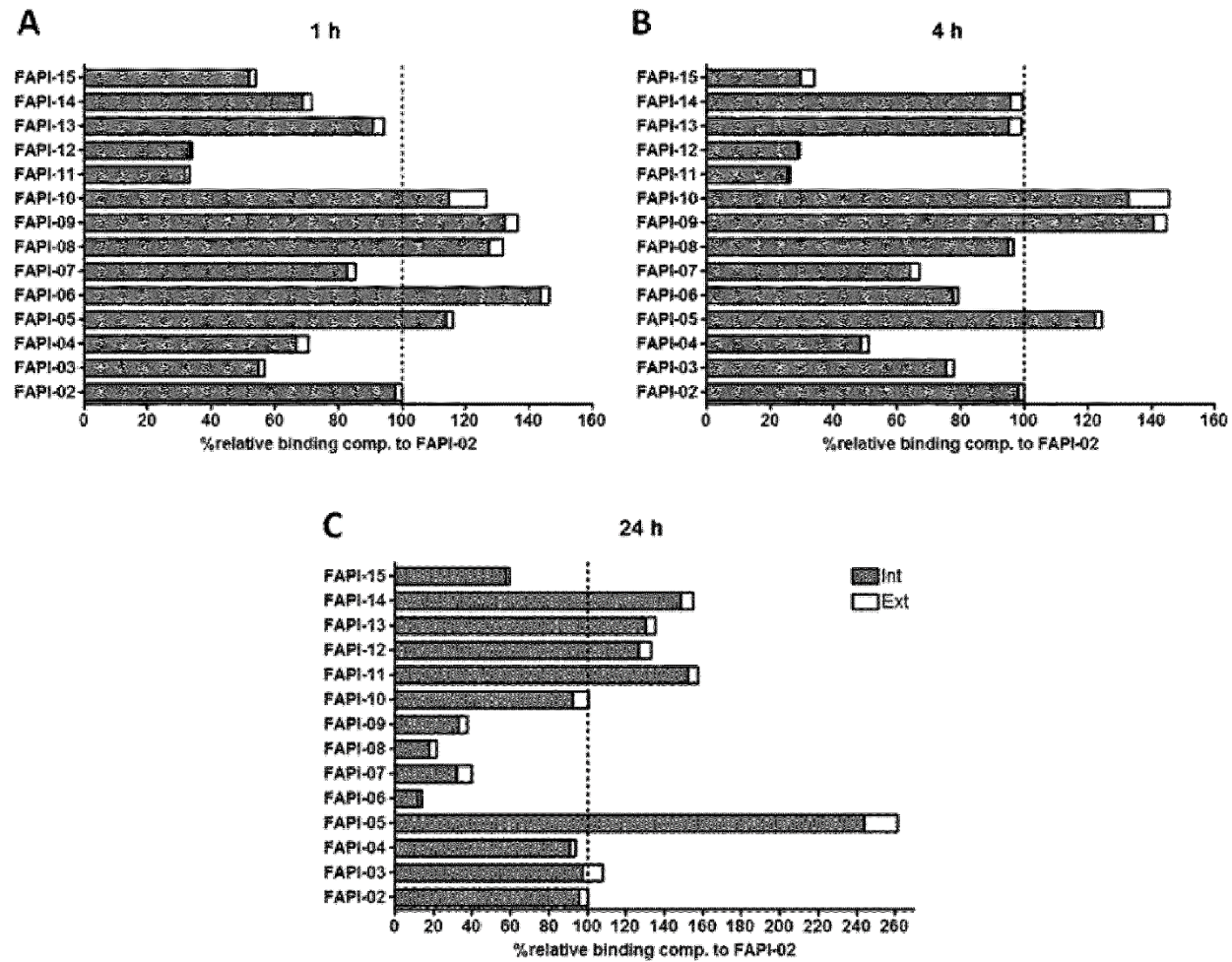
Anexo A

Tabla 1

Compuesto	Estructura	Actividad	Unión FAP	CE ₅₀	Relación FAP:CD26	Eflujo ½-vida	Acumulación tumoral AUC
Quelante DOTA para todos los compuestos							
	Enlazador	R"					
FAP1-06	6-oxipropilenoamino	H	Insuficiente	--			
FAP1-07	6-oxipropilenoamino	F	Insuficiente	--			
FAP1-08	6-oxipropilene piperazinilo	H	Insuficiente				
FAP1-09	6-oxipropilene piperazinilo	F	Insuficiente				
FAP1-11	6-oximetilenopiperidinilo	F	Malo tras una incubación corta	--			
FAP1-12	6-oxietilenpiperidinilo	F	Malo tras una incubación corta	--			
FAP1-13	6-oxipropilene piperidinilo	F		4.5			157
FAP1-14	6-oxibutilenpiperidinilo	H		--			
FAP1-02	6- oxipropileno piperazinilo	H		21	45	1.7	64
FAP1-04	6-oxipropilene piperazinilo	F		6.5	750	3.0	99
FAP1-03	6-oxibutilenpiperazinilo	H		--			
FAP1-05	6-oxibutilenpiperazinilo	F		17		2.8	103
FAP1-15				9.1	38		68

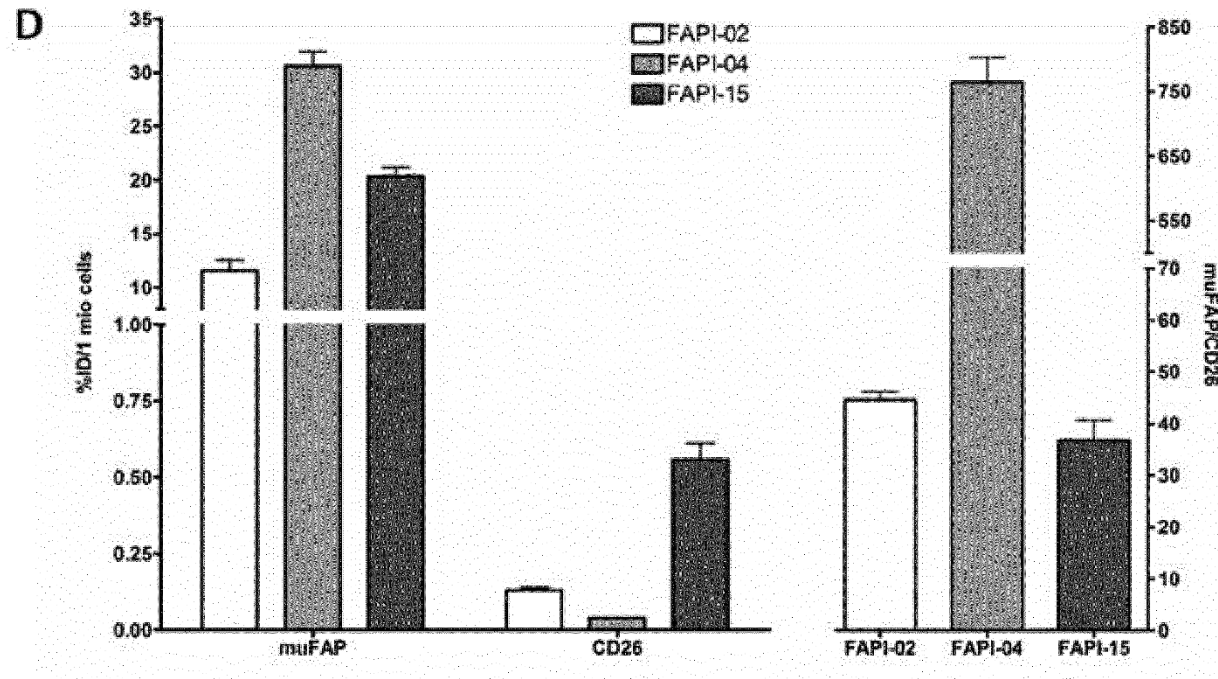
Anexo B

Figure 2



Anexo C

Figure 2 continued



Anexo D

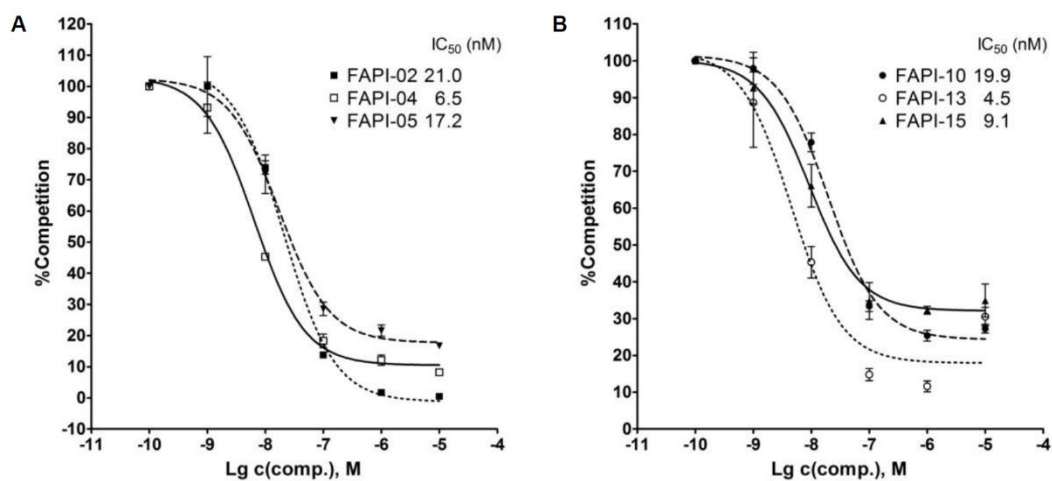


FIGURA 3. Unión competitiva de derivados de FAPI seleccionados a células HT-1080-FAP tras añadir concentraciones crecientes de compuesto no marcado.

Anexo E

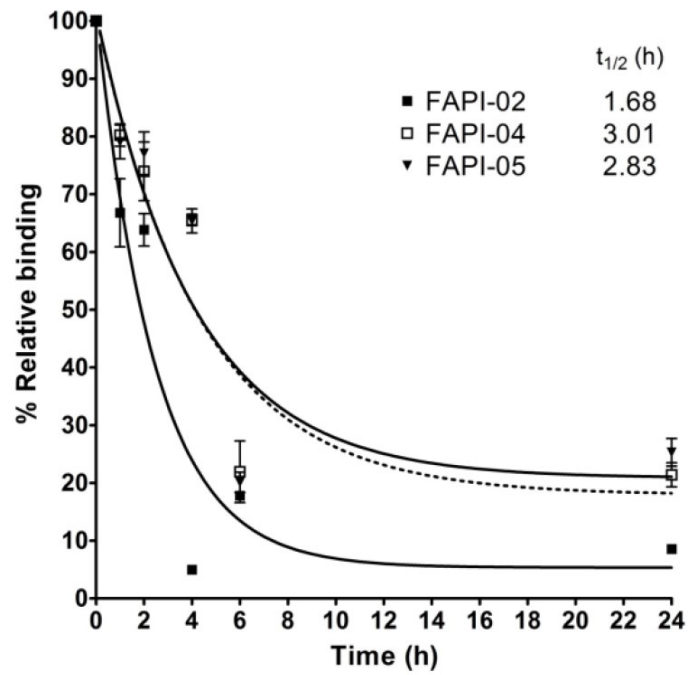


Figura 4. Cinética de eflujo de derivados de FAPI seleccionados tras la incubación de células HT-1080-FAP con compuesto radiomarcado durante 60 min y la consiguiente incubación con medio no radiactivo durante 1 a 24 horas.

ANEXO F

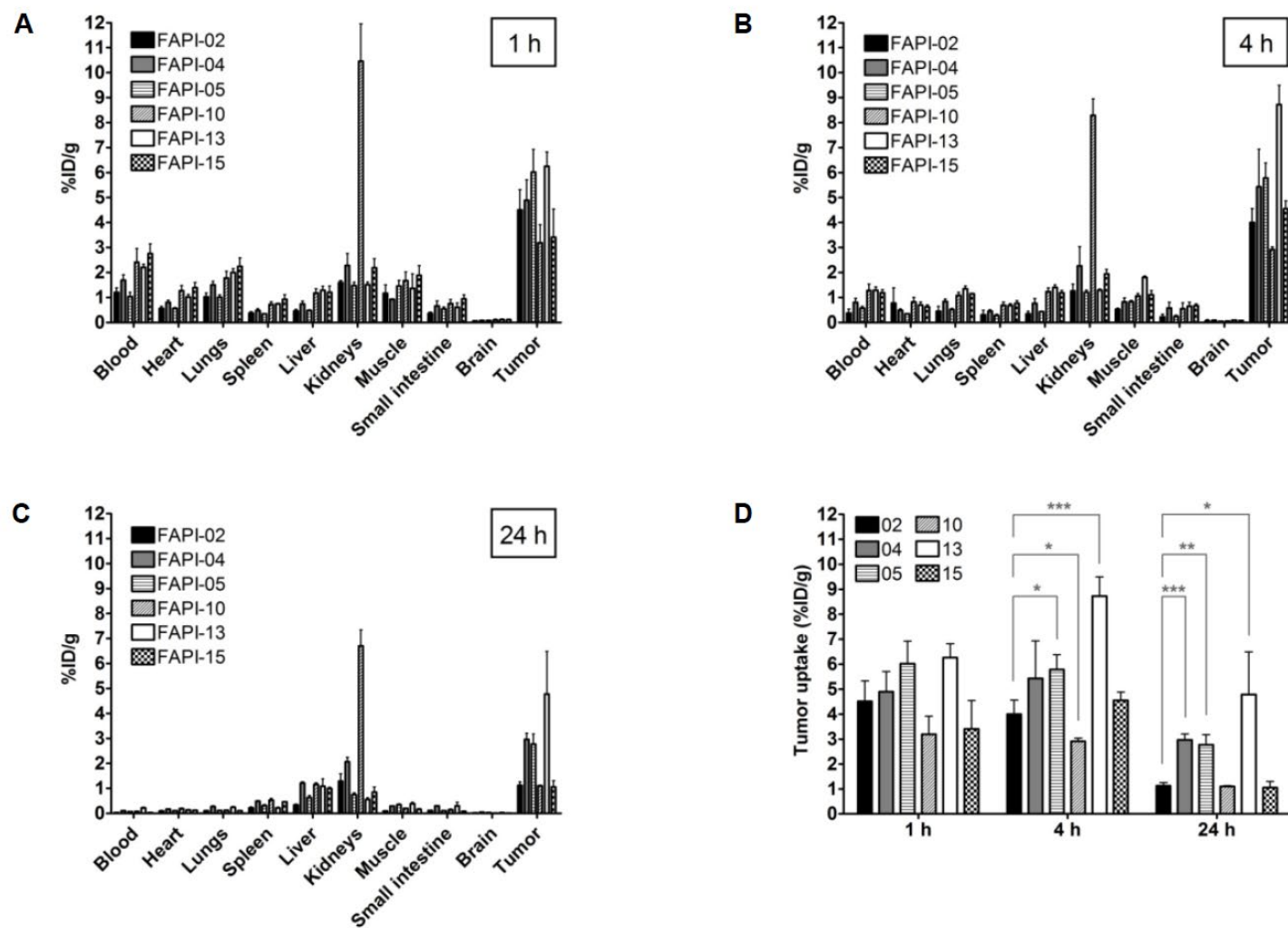


FIGURA 5. Biodistribución de los derivados de FAPI en xenotrasplantes HT-1080-FAP 1 (A), 4 (B) y 24 h (C) después de la administración intravenosa de los radiotrazadores. D. Captación tumoral de los compuestos seleccionados.

Prueba G

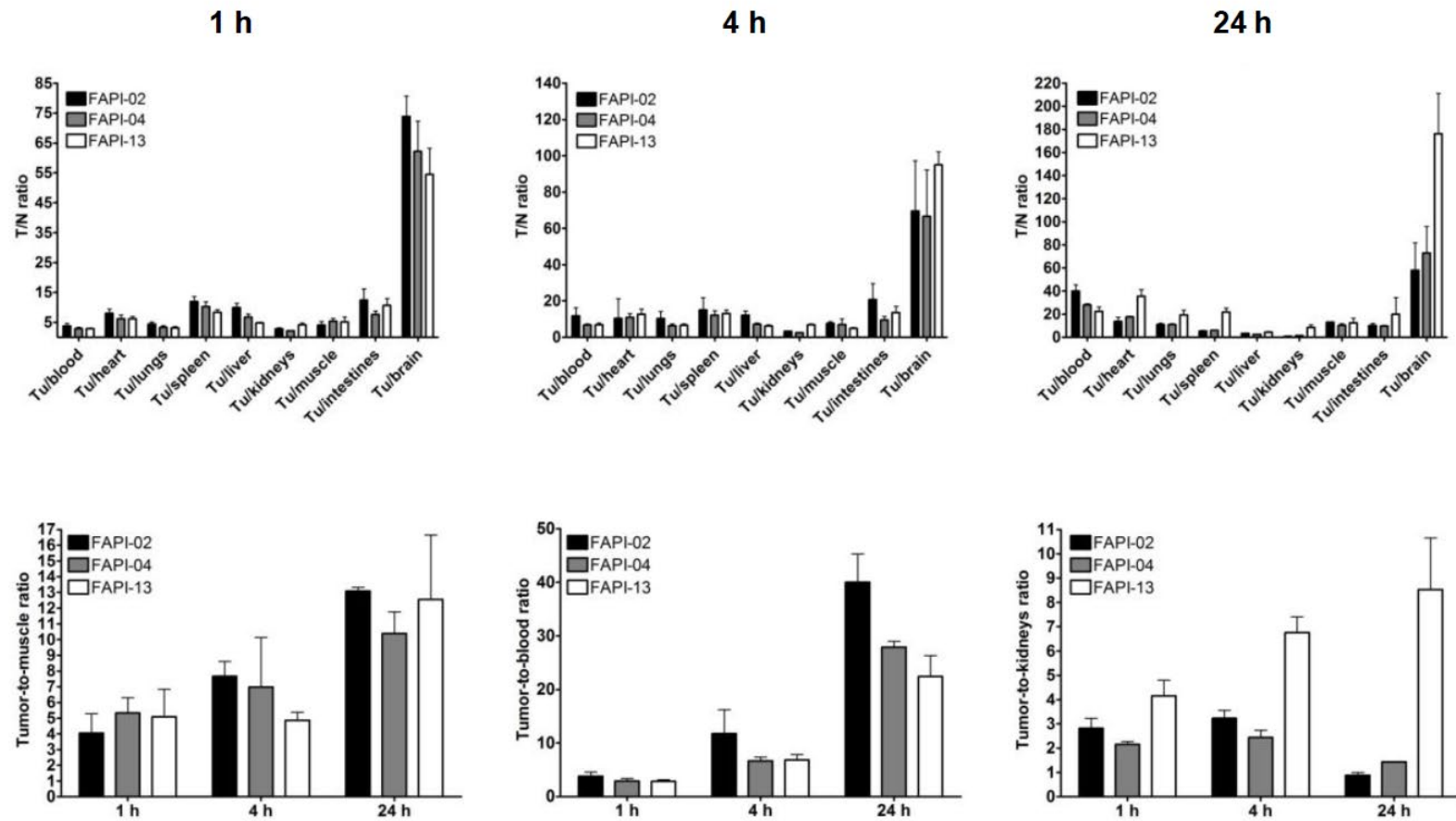


FIGURA 6. Relaciones tumor-órgano 1, 4 y 24 h después de la inyección intravenosa de derivados de FAPI seleccionados a ratones nude portadores de tumores HT-1080-FAP, $n = 3$.

Prueba H

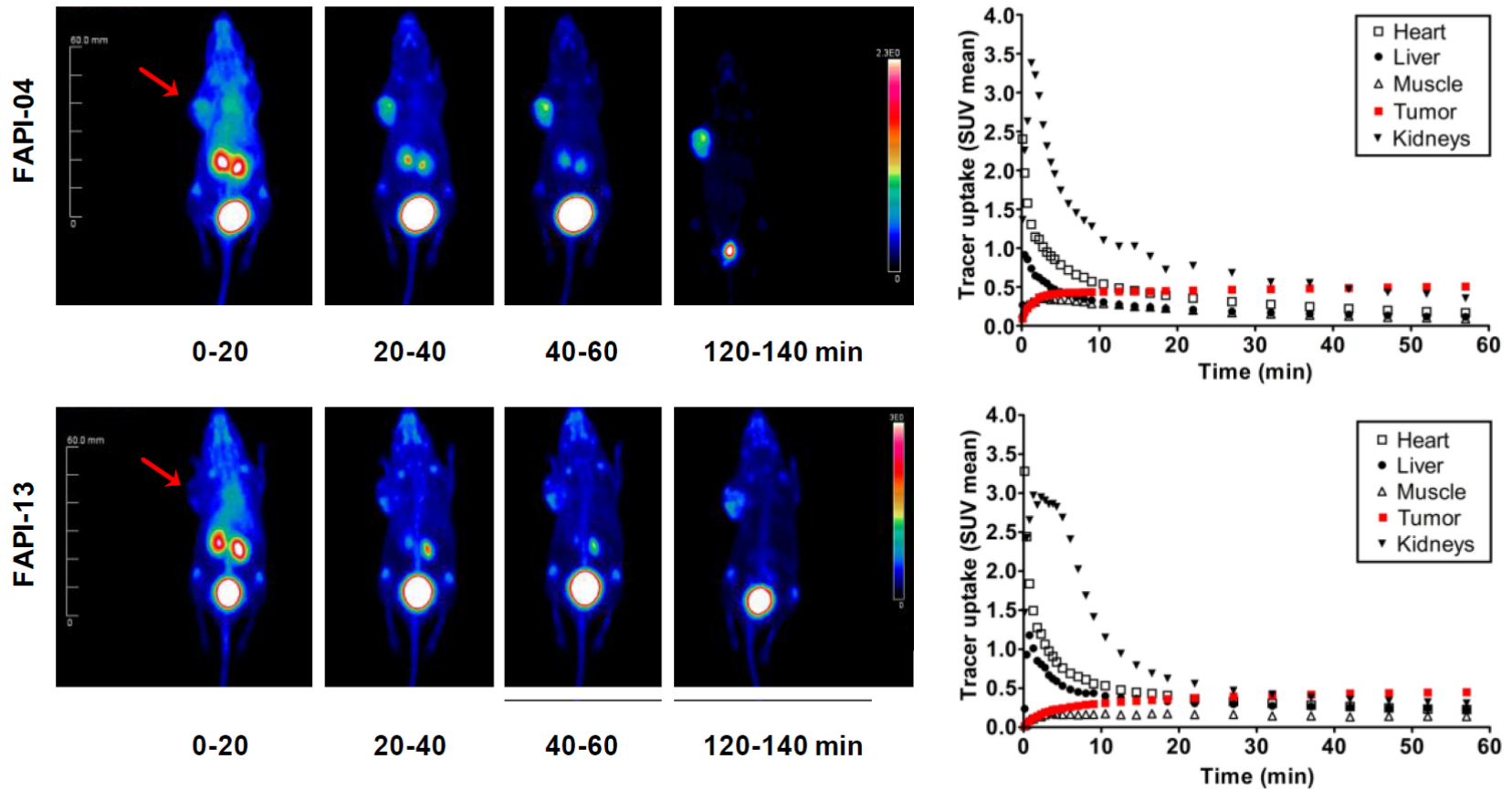


FIGURA 7. Imágenes PET de FAPI-04 y -13 en ratones portadores de tumores HT-1080-FAP, junto con las correspondientes curvas de tiempo-actividad.

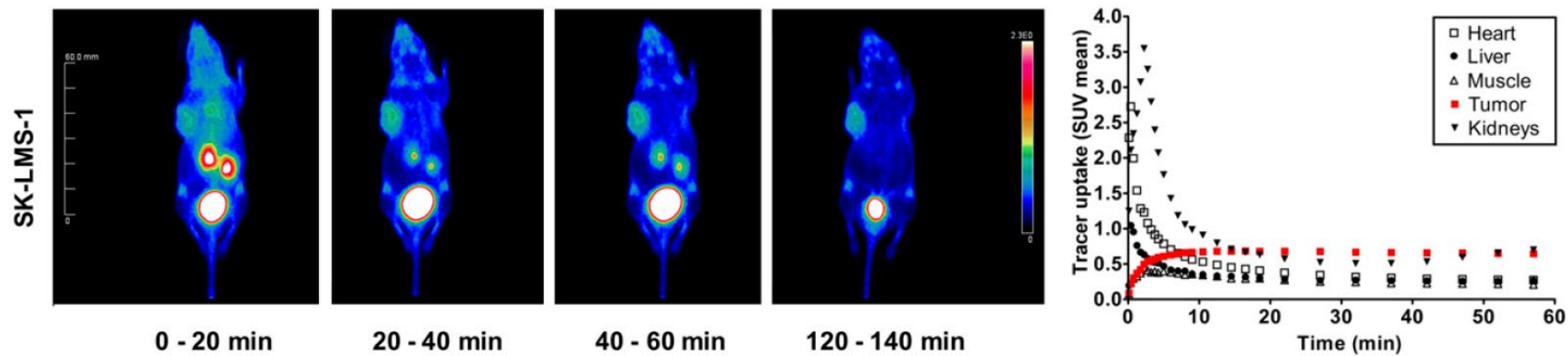


FIGURA 8. Imágenes PET de FAPI-04 en ratones portadores de tumores SK-LMS.

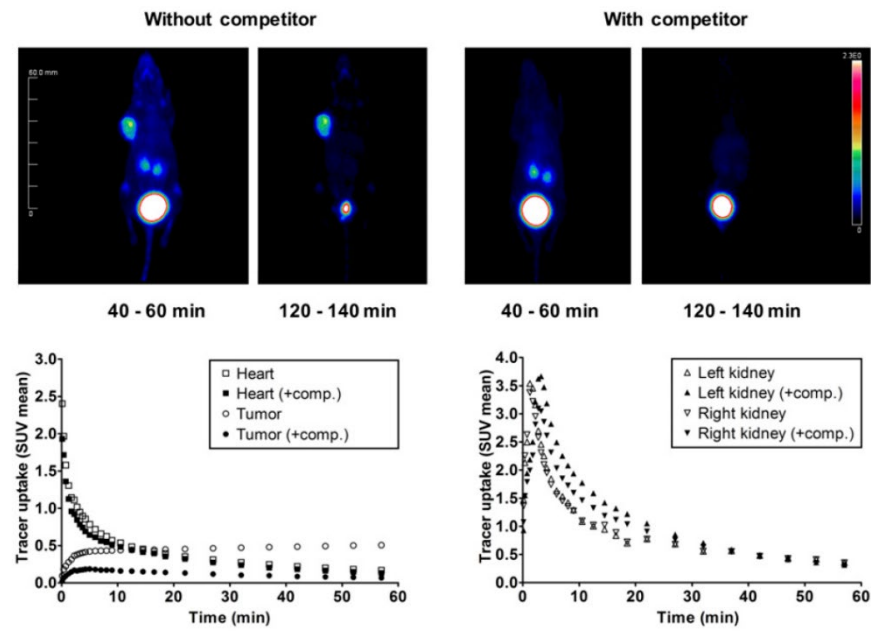


FIGURA 9. Imágenes PET de FAPI-04 en ratones HT-1080 portadores de tumores FAP con y sin inyección simultánea de FAPI-04 no marcado como competidor, junto con las correspondientes curvas de tiempo-actividad.

ANEXO I

Tabla 2

AUC* y relación tumor-órgano normal** para derivados de FAPI marcados con ^{68}Ga

Derivado	Tumor	AUC				Proporción**		
		Sangre	Riñón	Hígado	Músculo	Del tumor a la sangre	Del tumor al músculo	Del tumor al hígado
FAPI-04	58.02	29.54	62.84	19.02	14.57	1.96	3.98	3.05
FAPI-46	79.63	27.22	39.67	17.82	15.80	2.93	5.04	4.47

*Calculado a partir de la media SUV 0-2 h después de la administración intravenosa

**Calculado a partir de AUC 0-2h

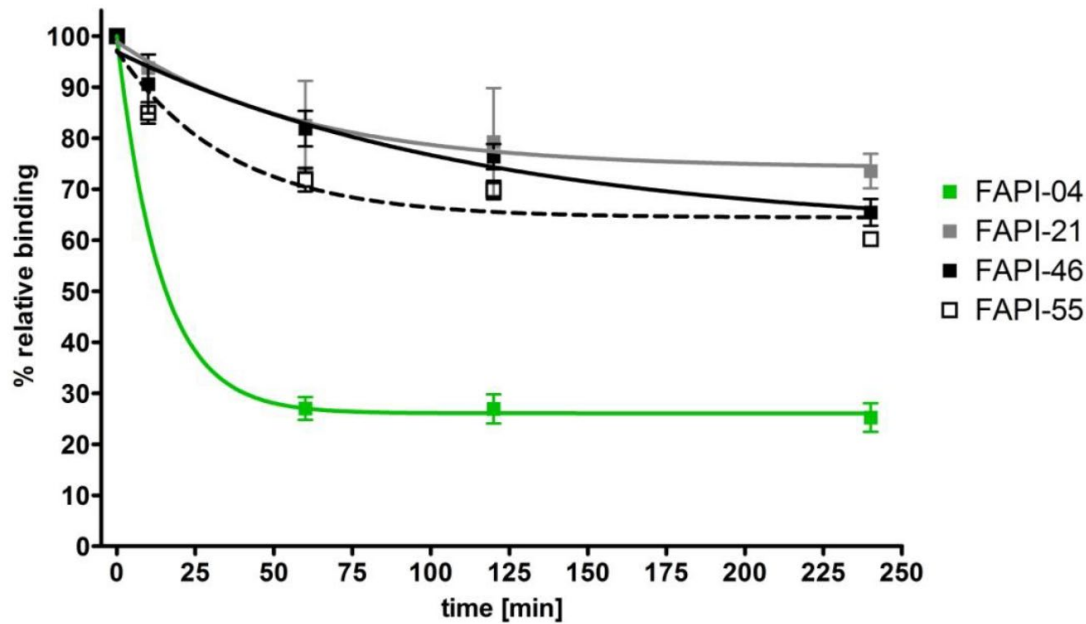


Figura 10. Cinética de eflujo de derivados de FAPI seleccionados tras la incubación de células HT-1080-FAP con compuesto radiomarcado durante 60 min y la consiguiente incubación con medio no radiactivo durante 1 a 4 horas.

ANEXO J

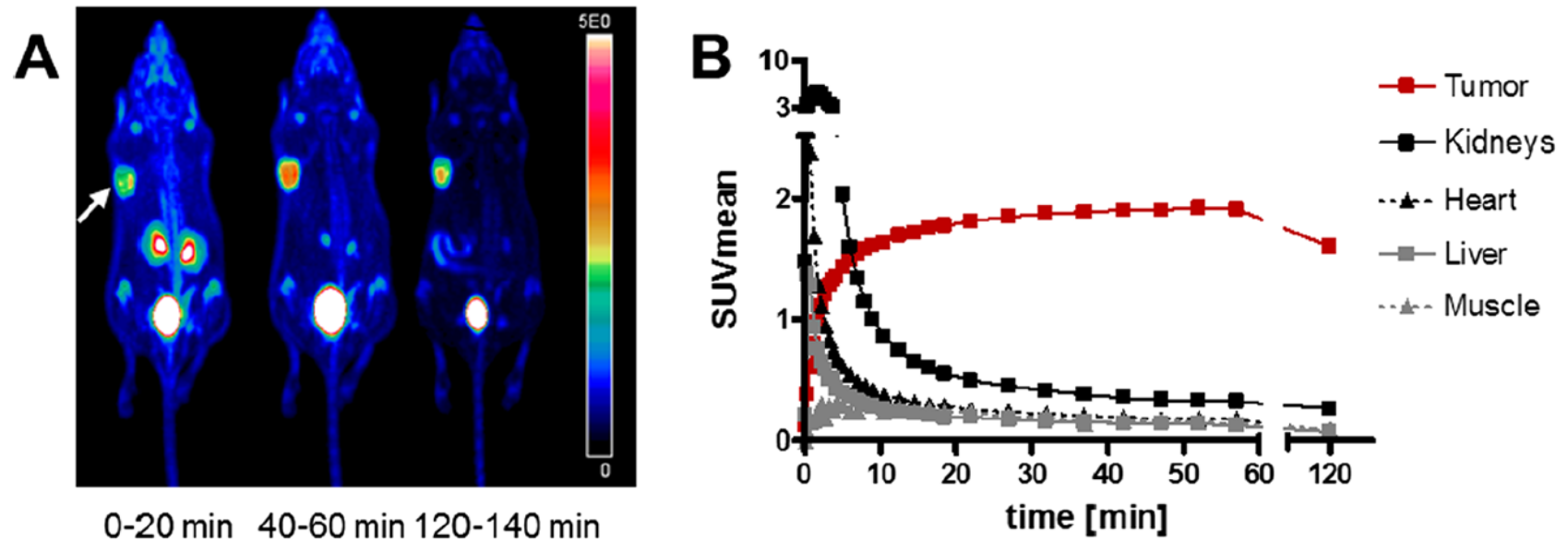


Fig. 11 Imágenes PET en animales pequeños. La flecha blanca indica el lugar del tumor xenotrasplantado. Se muestran las proyecciones de intensidad máxima (A) y las curvas de tiempo-actividad (B) de órganos seleccionados en el caso de $[^{18}\text{F}]$ AIF-FAPI-74. Los experimentos se realizaron en ratones desnudos trasplantados con células HT-1080-FAP y las imágenes se adquirieron en los periodos de tiempo indicados tras la administración del trazador.

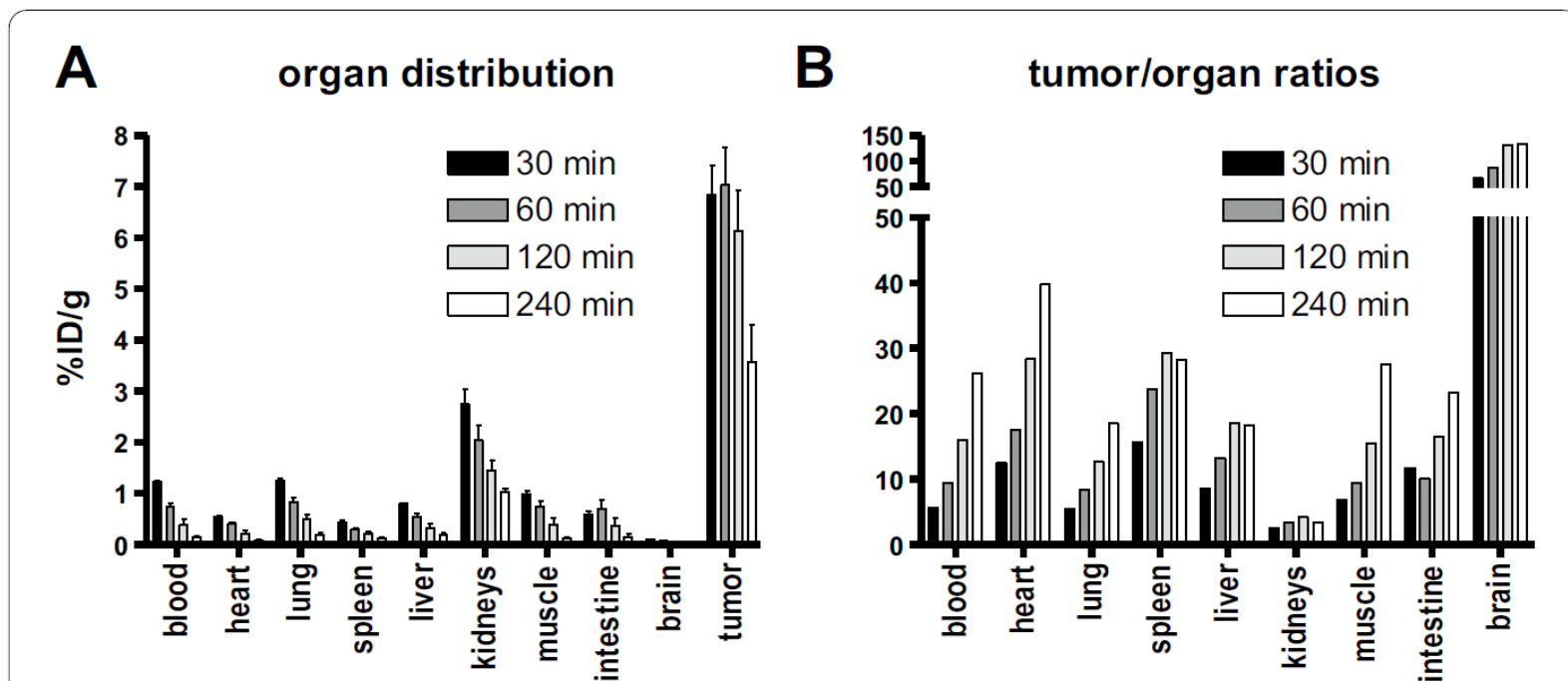


Fig. 12 Estudio de biodistribución de $[^{18}\text{F}]\text{AIF-FAPI-74}$. Acumulación en diferentes tejidos (A) y relación tumor-órgano (B) en ratones Balb/c nu/nu portadores de HT-1080-FAP 30, 60, 120 y 240 min después de la inyección.

ANEXO K

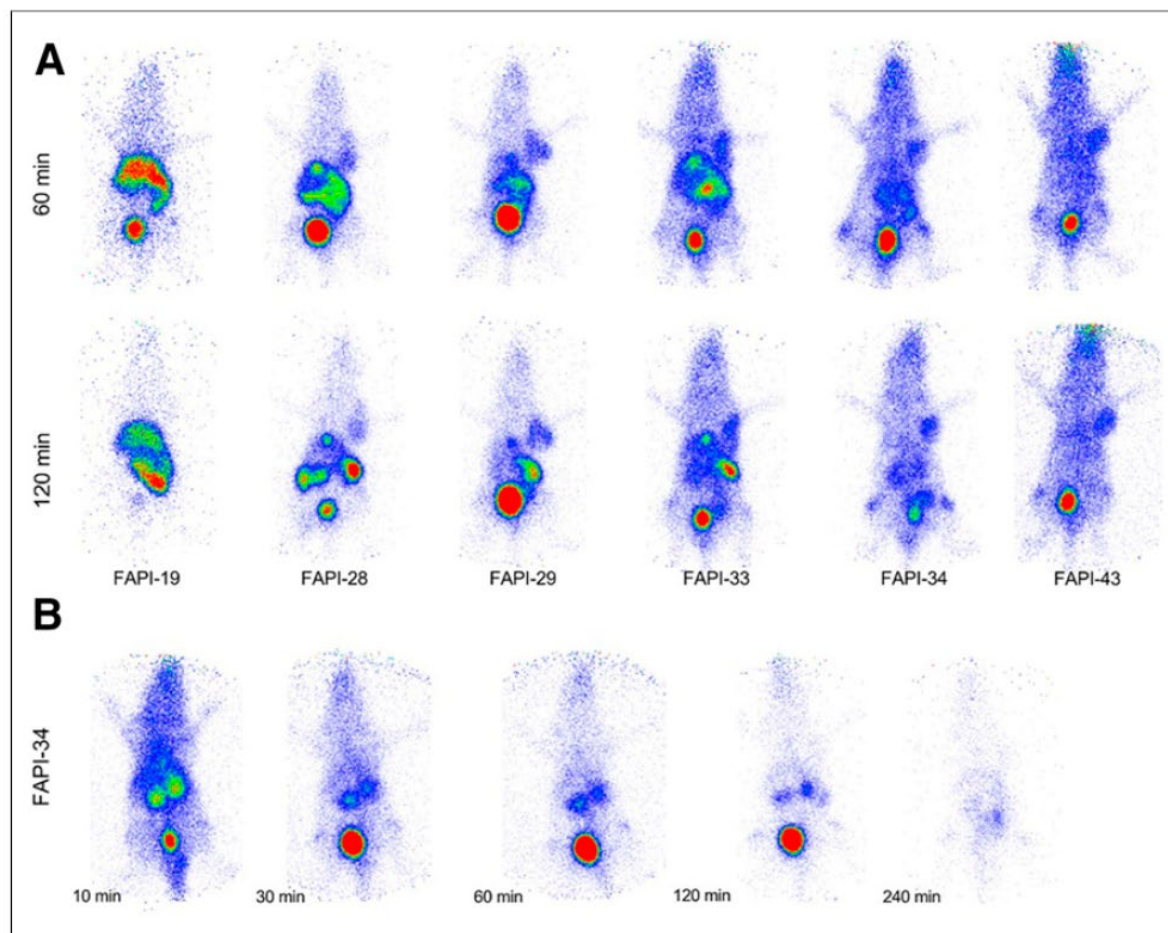


FIGURA 13. Gammagrafía planar de ratones desnudos portadores de tumores HT-1080-FAP a los 60 y 120 min tras la aplicación de derivados de FAPI marcados con ^{99m}Tc (A) y a los 10 min, 30 min, 1 h, 2 h y 4 h tras la inyección simultánea de 30 nmol de FAPI-34 no marcado utilizado como competidor y ^{99m}Tc -FAPI-34 (B). Las imágenes se recogen durante 10 min en puntos temporales individuales.

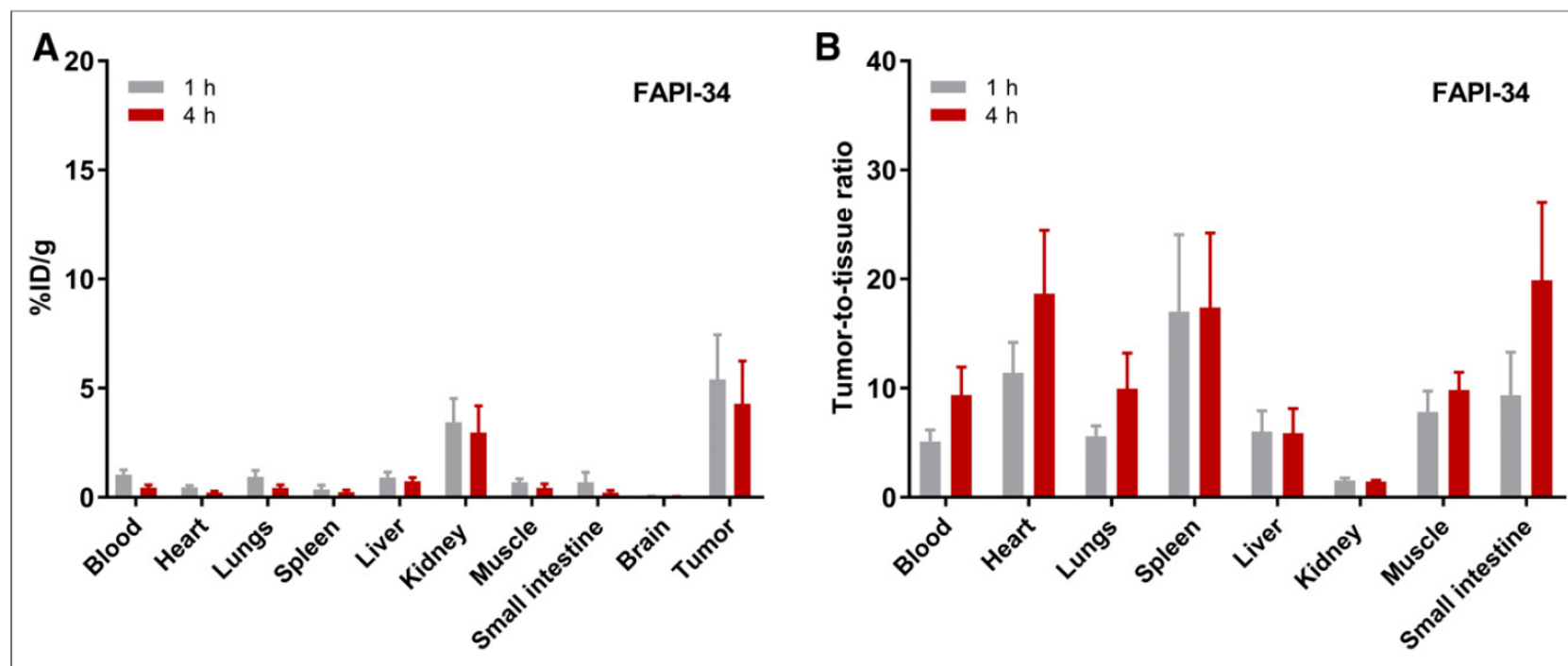


FIGURA 14. Biodistribución de ^{99m}Tc -FAPI-34 en ratones HT-1080-FAP-xenotransplantados (A) y proporciones tumor/tejido 1 y 4 h después de la aplicación del radiotrazador (B). n 5 6 para cada punto temporal.