

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 487**

51 Int. Cl.:
A61K 51/04

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06734176 .8**

96 Fecha de presentación: **30.01.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1846043**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.10.2007**

54 Título: **COMPUESTOS RADIOMARCADOS EN CABEZA DE PUENTE Y MÉTODOS DE UTILIZACIÓN DE LOS MISMOS.**

30 Prioridad:
02.02.2005 EP 05075259

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.01.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.01.2012

73 Titular/es:
**MALLINCKRODT, INC.
675 MCDONNELL BOULEVARD P.O. BOX 5840
ST. LOUIS MISSOURI 63134, US**

72 Inventor/es:
**HERSCHEID, Jacobus Donatus, M. y
VERBEEK, Joost**

74 Agente: **Ungría López, Javier**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 371 487 T3

DESCRIPCIÓN

Compuestos radiomarcados en cabeza de puente y métodos de utilización de los mismos

- 5 La presente invención se relaciona con compuestos químicamente marcados y con el uso de dichos compuestos en diagnóstico y terapia.

10 Actualmente, raramente se realiza el diagnóstico de un paciente sin el uso de tecnología de imagen. Uno de los objetivos de la imagen es reducir la necesidad de métodos invasivos. No sólo es más cómoda y segura para el paciente, sino que la imagen permite vistas de anatomía y fisiología que no se pueden obtener por otros medios.

15 En general, la imagen puede dirigirse a dos cuestiones: estructura y función. Se puede o bien ver estructuras del cuerpo y anatomía de imagen, o bien ver procesos químicos y bioquímica de imagen. Las técnicas de imagen estructural incluyen los rayos x, la CT (Tomografía Computerizada) y la MRI (Imagen por Resonancia Magnética). Es actualmente la función de la imagen por SPECT (Tomografía Computerizada por Emisión de un Solo Fotón) y por PET (Tomografía por Emisión de Positrones) permitir la visualización de los procesos bioquímicos dentro del organismo.

20 PET y SPECT son técnicas de imagen en donde se introduce sintéticamente un radionúclido en una molécula de relevancia biológica potencial, también designada como trazador, y se administra a un paciente. Dependiendo de la naturaleza del así llamado producto radiofarmacéutico, se puede administrar éste en cualquiera de una serie de formas apropiadas, tales como, por ejemplo, por inhalación, ingestión o, más comúnmente, inyección intravenosa. Se mide la posterior captación de un radiotrazador en el tiempo y se usa para obtener información acerca del proceso fisiológico de interés. Debido a las emisiones de alta energía (rayos gamma) de los isótopos específicos
25 empleados y a la sensibilidad y sofisticación de los instrumentos utilizados para detectarlos, se puede inferir la distribución bidimensional de radiactividad en un corte desde el exterior del cuerpo. Así, la PET y la SPECT son técnicas tanto de emisión como tomográficas (del Griego tomos para corte). Ambas características distinguen estas modernas modalidades de imagen de métodos radiográficos más convencionales, como una radiografía de tórax, donde se transmite una fuente externa de radiación a través del sujeto para crear una silueta plana de los órganos y
30 cavidades del cuerpo. Mientras que la PET y la SPECT se basan en principios similares para producir sus imágenes, diferencias inherentes en sus físicas respectivas de emisión de fotones imponen importantes diferencias en cuanto a instrumentación, radioquímica y aplicaciones experimentales.

35 Los núclidos inestables que poseen un número en exceso de protones pueden adoptar una de dos aproximaciones en un esfuerzo por reducir su positividad nuclear neta. En un esquema de desintegración radiactiva, un protón se convierte en un neutrón y se emite una partícula llamada positrón (indicado como ϵ^+ o β^+). De idéntica masa, pero de carga opuesta, los positrones son el equivalente de antimateria de los electrones. Cuando se expulsa del núcleo, un positrón colisiona con un electrón, dando lugar a la aniquilación de ambas partículas y a la liberación de energía. Los principios de conservación de masa y de momento establecen que se produzcan dos fotones (rayos gamma), cada uno de energía equivalente y trayectoria exactamente opuesta (separadas en 180°). Por esta razón, a veces se hace referencia a la PET como tomografía por emisión de doble fotón. Entre los núclidos emisores de positrones más comúnmente usados en los procedimientos de PET están el carbono 11 (^{11}C), el nitrógeno 13 (^{13}N), el oxígeno 15 (^{15}O) y el flúor 18 (^{18}F).

45 La firma espacial única de los trayectos consecutivos de fotones es explotada por los escáneres PET en la localización de la fuente de un suceso de aniquilación, un método conocido como detección de coincidencia. Se puede conceptualizar un escáner PET como una cámara de tipo anular que rodea el cuerpo. En lugar de usar película fotográfica, sin embargo, los escáneres PET (y SPECT) emplean detectores de escintigrafía altamente sensibles hechos de materiales cristalinos densos (v.g., óxido de bismuto y germanio, yoduro de sodio o fluoruro de cesio), que capturan los rayos gamma de alta energía invisibles y los convierten en luz visible. Este breve destello de luz es convertido en un pulso eléctrico por un tubo fotomultiplicador inmediatamente adyacente (PMT). El cristal y el PMT constituyen conjuntamente un detector de radiación. Más que utilizar detectores individuales aisladamente, una cámara PET está construida de tal forma que detectores opuestos están electrónicamente conectados. Cuando coinciden sucesos de escintigrafía independientes en detectores emparejados, se supone que ha ocurrido un suceso
50 de aniquilación en algún punto a lo largo de una línea imaginaria entre los dos. Esta información es registrada por un ordenador y posteriormente utilizada para reconstruir imágenes usando los principios de tomografía computerizada. Por el contrario, se ignoran los sucesos únicos. Aunque se puede concebir que dos fotones no relacionados de sucesos de aniquilación espacialmente separados podrían alcanzar detectores opuestos al unísono, estas coincidencias accidentales son mucho menos frecuentes que las verdaderas. De hecho, la detección de coincidencia es una técnica muy eficiente y contribuye a las velocidades de muestreo y sensibilidad superiores de la PET.
60

Una limitación intrínseca de la PET deriva de la naturaleza de la desintegración de positrones y del principio de detección de coincidencia. Específicamente, la PET reconoce el sitio de aniquilación de positrones y no el sitio de desintegración radiactiva. Dado que un positrón debe generalmente llegar a reposar en tejidos antes de poder

colisionar con un electrón, la aniquilación se produce frecuentemente a alguna distancia del origen del positrón. La distancia que separa estos dos sucesos, desintegración y aniquilación, depende de la energía cinética media del positrón al salir del núcleo, y varía según el isótopo específico implicado. Para la desintegración del ^{11}C , este rango es de aproximadamente 2 mm. Además, si el positrón no está totalmente en reposo en la aniquilación, se emitirán fotones en un ángulo ligeramente diferente de 180° . Tomadas conjuntamente, la aniquilación positrónica remota y la no colinealidad fotónica ponen un límite teórico sobre la resolución espacial alcanzable con la PET, que se estima en 2-3 mm.

En un esquema alternativo a la emisión de positrones, ciertos radionúclidos ricos en protones pueden en cambio capturar un electrón en órbita, una vez más transformando un protón en un neutrón. El núcleo hijo resultante permanece frecuentemente residualmente excitado. Esta disposición metaestable se disipa a continuación, alcanzando así un estado de tierra y produciendo un solo fotón gamma en el proceso. Se usan isótopos que se desintegran por captura de electrones y/o emisión gamma en la SPECT e incluyen el yodo 123 (^{123}I , v.g., aplicaciones cerebrales), el núclido metaestable de larga vida m-tecnecio 99 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$, v.g., aplicaciones óseas, hepáticas y cerebrales) y Ga-67 (v.g., diversas aplicaciones tumorales). Dado que los rayos gamma son directamente emitidos por el sitio de desintegración, no existe ningún límite teórico comparable sobre la resolución espacial para la SPECT.

Sin embargo, la emisión de un solo fotón significa que la instrumentación en la SPECT debe ser intrínsecamente diferente de la de la PET. En lugar de detección de coincidencia, la SPECT utiliza una técnica conocida como colimación. Se puede pensar en un colimador como en un bloque de plomo que contiene muchos orificios pequeños que se interpone entre el sujeto y el detector de radiación. Los orificios son lo suficientemente largos y estrechos como para permitir que sólo fotones de trayectoria esencialmente paralela pasen a través del colimador y alcancen el detector. Conociendo la orientación de los orificios de un colimador, se extrapola linealmente el trayecto original de un fotón detectado. Contrariamente a los fotones paralelos, los rayos gamma, que se desvían ligeramente, son absorbidos por el plomo y permanecen sin detectar. Como podría imaginarse, la colimación es menos eficiente que la detección de coincidencia, ya que se filtran muchos fotones potencialmente informativos. Aunque la colimación es menos sensible que la PET, avances en el diseño y la detección de radiación de los colimadores han hecho que la SPECT sea suficientemente sensible para uso rutinario en casi todas las mismas aplicaciones.

Aunque los principios físicos relacionados con la emisión y detección de fotones son diferentes, los medios mediante los cuales la PET y la SPECT traducen la información sobre los trayectos de fotones en imágenes corporales de sección transversal son en gran medida los mismos. Como sólo se conoce información acerca de la dirección de un fotón, no de la profundidad, se requieren vistas de trayectorias de fotones desde múltiples ángulos alrededor de todo el cabezal. Se hace referencia a un conjunto de mediciones desde un ángulo o punto de vista dados como una proyección. En la PET, se obtienen múltiples proyecciones mediante un anillo de detectores de radiación esencialmente contiguos, mientras que las cámaras SPECT utilizan típicamente varios cabezales detectores que giran alrededor del sujeto en sincronía y recogen datos de 360° completos. Después de registrar muchos miles de trayectorias desde múltiples proyecciones, se crea una imagen de la distribución de radiactividad en un corte corporal dado volviendo a trazar o "retroproyectando" las trayectorias de los rayos gamma a través del campo de visión para cada ángulo de imagen. El método de retroproyección, aunque complejo, es conceptualmente análogo al simple puzzle en el que se infieren los números en una cuadrícula cuadrada a partir de sus sumas a lo largo de cada fila. Sin embargo, las imágenes PET y SPECT consisten en matrices mucho mayores (v.g., 128×128 o 256×256 elementos) de valores de densidad de radiación. Así, normalmente se usan coprocesadores informáticos rápidos y algoritmos matemáticos eficientes (transformaciones Fourier rápidas) para manejar las enormes cantidades de datos y los cálculos intensivos implicados. Una vez determinados sus valores de radiación, se asignan a elementos de matriz individuales matices correspondientes de color y se muestran como elementos de imagen o píxeles en un terminal de vídeo. De este modo, se produce una imagen PET o SPECT de la distribución de radiactividad dentro del cuerpo.

Actualmente, raramente se usa el método de simple retroproyección para reconstruir imágenes. Más bien se aplica casi universalmente una técnica modificada conocida como retroproyección filtrada. La razón para la filtración se relaciona con artefactos de imagen cuantitativos introducidos por el propio método de retroproyección, incluso en ausencia de otras fuentes de ruido estadístico. Al volver a trazar el trayecto de un fotón, el punto real de desintegración es indeterminado. Así, se fuerza al algoritmo de retroproyección a asumir una probabilidad igual de desintegración radiactiva, y de aquí valor de radiación, para cada punto a lo largo de la línea de trayectoria. Áreas del cuerpo que tienen altas concentraciones de radiactividad se destacarán, ya que se superponen muchas trayectorias de múltiples proyecciones y se sumen sus valores de probabilidad. Sin embargo, las áreas que no contienen radiactividad llevarán la impronta residual de la adivinación estadística del algoritmo, y se atribuyen valores pequeños, aunque finitos, a áreas en las que no debería existir ninguna. Aunque este problema disminuye con una mayor toma de muestras espacial y mayores números de proyecciones, aún se utiliza habitualmente un filtro para restaurar la exactitud cuantitativa restando valores falsos de las imágenes. Se han desarrollado múltiples técnicas de filtración y las consideraciones implicadas en la elección de una dependen de la aplicación específica requerida. El experto puede, por ejemplo, seleccionar una técnica de filtración en base a los compromisos entre

filtros, teniendo en cuenta su impacto relativo sobre la resolución espacial y la amplificación del ruido. Así, se puede determinar la selección del filtro por el contexto de imagen.

Resumiendo, tanto la SPECT como la PET usan la idea de un "trazador", que se refiere a un análogo de un compuesto biológicamente activo en donde uno de los átomos ha sido reemplazado por un sustituyente radiactivo (v.g., átomo radiactivo o una molécula que incluye un átomo radiactivo) para obtener la imagen de procesos químicos. Cuando se introduce el trazador en el organismo, se puede trazar su captación específica de sitio por medio de fotones (rayos gamma) emitidos por el átomo marcado.

En la SPECT, los átomos radiactivos de los trazadores son habitualmente Tc-99m (v.g., aplicaciones en hueso, hígado y cerebro), I-123 (v.g., aplicaciones en cerebro) y Ga-67 (v.g., diversas aplicaciones en tumores). En el organismo, cuando se desintegra uno de estos átomos radiactivos, se detectan los fotones emitidos por el aparato de imagen SPECT. La capacidad de la SPECT para obtener la imagen de algunos procesos químicos está obstaculizada por el hecho de que los isótopos tienden a ser átomos relativamente grandes que no resultan ideales para uso en el marcaje de algunos compuestos debido a razones estéricas.

La PET utiliza trazadores marcados con isótopos emisores de positrones (v.g., Flúor-18 y Carbono-11). Estos isótopos tienen una vida media relativamente corta, lo que reduce el tiempo de exposición para el paciente. En particular, el Flúor-18 exhibe una vida media de sólo menos de aproximadamente 2 horas, y el Carbono-11 exhibe una vida media de sólo aproximadamente 20 minutos. Una ventaja de la PET es la sensibilidad añadida.

Los usos clínicos de la imagen del cerebro por PET y SPECT pueden dividirse, en general, en mediciones de la actividad neuronal local, neuroquímica o farmacología *in vivo*. La actividad neuronal local se asocia al consumo de energía y puede medirse por el metabolismo de la glucosa, que a su vez se asocia habitualmente de manera positiva al flujo sanguíneo. Así, los trazadores PET para la medición de la actividad neuronal local pueden incluir [¹⁸F]FDG (metabolismo de la glucosa) y [¹⁵O]H₂O (flujo sanguíneo). Por otra parte, la SPECT no tiene un trazador comparable para el metabolismo de la glucosa, pero puede utilizar compuestos marcados con ^{99m}Tc y ¹²³I, así como ¹³³Xe, para proporcionar medidas del flujo sanguíneo.

Los usos clínicos de la imagen por PET y SPECT para medir la actividad neuronal local pueden ser empleados para determinar trastornos neurológicos e incluyen la localización tanto de la isquemia cerebral como del foco epiléptico y la distinción de la necrosis por radiación del crecimiento tumoral. En al menos las dos últimas condiciones, los resultados de la imagen pueden tener un impacto directo en el cuidado clínico. Por ejemplo, el tratamiento neuroquirúrgico de pacientes con epilepsia refractaria a la medicación depende de manera crítica de una localización precisa del foco convulsivo, que está con frecuencia distante de la superficie del cerebro y se localiza mal mediante un electroencefalograma (EEG) con electrodos en el cuero cabelludo. En el período interictal, el foco convulsivo es hipometabólico y tiene un flujo sanguíneo reducido. Se ha usado la imagen por PET y SPECT como un medio primario de localización o como confirmación de otras pruebas diagnósticas para seleccionar la porción del cerebro que se extirpa a continuación. En el período ictal, el foco convulsivo se asocia a un mayor metabolismo y un mayor flujo sanguíneo y puede tener una mayor probabilidad de mostrar una localización positiva que la imagen interictal.

Se ha combinado la imagen PET de una manera elegante con estudios de activación neuropsicológicos para localizar funciones cognitivas, incluyendo la lectura, el habla y las asociaciones de palabras. La corta vida media del ¹⁵O (T_{1/2} de 2 min.) permite múltiples (frecuentemente de 8 a 10) inyecciones en bolo del trazador en una sesión experimental. Así, se pueden repetir y promediar tanto los escáneres basales como los que siguen a las tareas neuropsicológicas.

Dos atributos importantes de la PET y la SPECT, la elevada sensibilidad y la estabilidad química, hacen que estos métodos sean particularmente bien adecuados para mediciones neuroquímicas *in vivo*. La sensibilidad de la PET y la SPECT para detectar radiotrazadores es de menos de 10⁻¹² M, que es órdenes de magnitud mayor que la sensibilidad de la MRI (de 10⁻³ a 10⁻⁵ M). De un modo exactamente análogo a los fármacos no radiactivos, se pueden desarrollar radiotrazadores para marcar sitios diana específicos en el cerebro. Estos trazadores específicos pueden, por lo tanto, proporcionar medidas de múltiples rutas neuroquímicas en el cerebro, incluyendo la síntesis y liberación de transmisores, receptores, sitios de recaptación, enzimas metabólicas y posiblemente incluso sistemas de segundos mensajeros.

Entre éstos, los estudios de receptores han recibido probablemente el mayor esfuerzo entre los diversos objetivos de la imagen neuroquímica. Si se altera selectivamente un receptor en una enfermedad específica, entonces la imagen de este sitio puede proporcionar información diagnóstica acerca del trastorno. Para el sistema de receptores DA, el grupo Johns Hopkins PET ha descrito que los pacientes esquizofrénicos que no habían recibido fármacos tienen una elevación de 2,5 veces en la densidad del receptor de dopamina D2 en el estriado usando el trazador virtualmente irreversible [¹¹C]N-metilespiperona y modelos cinéticos

Otro ejemplo de una aplicación diagnóstica que utiliza receptores es el uso de un trazador para la imagen de la densidad de los receptores de serotonina en el cerebro. El sistema de la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es una red importante de neurotransmisión implicada en la modulación de diversas funciones fisiológicas y del comportamiento, tales como la termorregulación, la función cardiovascular, el comportamiento agresivo y sexual, el humor, el apetito y el ciclo sueño-vigilia. La serotonina se sintetiza a partir del aminoácido L-triptófano por hidroxilación y descarboxilación secuenciales. Se almacena en vesículas presinápticas y se libera de los terminales nerviosos durante la descarga neuronal. Uno de los sitios de unión mejor caracterizados para la serotonina es el receptor 5-HT_{1A}. Los receptores 5-HT_{1A} funcionan como autorreceptores somatodendríticos en los núcleos del rafe, al igual que como receptores postsinápticos en los campos terminales.

El subtipo 5-HT_{1A} de receptores de serotonina ha sido implicado en la patogenia de la ansiedad, la depresión, el comportamiento alucinógeno, el mareo y los trastornos alimentarios y es, por lo tanto, un importante objetivo para la terapia con fármacos. Se cree que los tratamientos con fármacos antidepresivos implican la regulación a menos u otros cambios adaptativos de la subpoblación 5-HT_{1A} central.

También se ha propuesto que los antagonistas del receptor 5-HT_{1A} podrían mejorar los síntomas de la demencia facilitando la liberación de glutamato y así compensar en alguna medida la pérdida de neuronas de glutamato corticales, que se piensa ocurre en la enfermedad de Alzheimer. Se produce una pérdida gradual de receptores 5-HT_{1A} en el envejecimiento normal, mientras que es aparente una pérdida mucho más prominente en el cerebro de Alzheimer. Finalmente, varios laboratorios han descrito una elevada unión de receptores de 5-HT neocorticales (incluyendo el subtipo 5-HT_{1A}) en la esquizofrenia.

Muchos investigadores han tratado de desarrollar un radioligando capaz de determinar los cambios *in vivo* en los receptores de 5-HT_{1A} en sujetos deprimidos, personas con trastornos de ansiedad, pacientes con enfermedad de Alzheimer y esquizofrénicos. Las técnicas de imagen no invasivas podrían proporcionar una importante oportunidad de investigar el papel funcional de los receptores de 5-HT_{1A} centrales en voluntarios sanos, la relación del subtipo 5-HT_{1A} con diversas enfermedades neuropsiquiátricas y/o la ocupación de los receptores de 5-HT_{1A} en el cerebro humano por nuevos fármacos.

Se han preparado y evaluado varios trazadores para los receptores de 5-HT_{1A} con fines de imagen. Se vio que compuestos con similitud estructural con el antagonista de 5-HT_{1A}, la N-[2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil]etil]-N-(2-piridinil)ciclohexanocarboxamida (WAY-100635), eran los más prometedores. El propio WAY-100635 ha sido marcado con Carbono-11 en las posiciones a o b (véase la Fig. 1).

Como la ruta metabólica principal de WAY-100635 es la hidrólisis del enlace amida (véase la Fig. 1), se favorece un marcaje en el resto ciclohexanocarbonilo (posición b). Si no, el metabolito lipofílico (WAY-100634) lleva el marcaje y como este compuesto también entra en el cerebro y se une a otros receptores (α_1 y no específicos), interfiere con las mediciones tomográficas. Sin embargo, cuando el marcaje con carbono-11 ha de ser parte del resto ciclohexilo, la síntesis será más compleja. Una aproximación para simplificar el procedimiento de metilación es evitar que el compuesto sufra hidrólisis de la amida usando grupos más voluminosos (véase la Fig. 2) en lugar del ciclohexanocarbonilo, como en CPC-222 o Wilson-8 (AA Wilson et al. (1998), Derivatives of WAY 100635 as potential imaging agents for 5-HT_{1A} receptors: syntheses, radiosyntheses, and in vitro and in vivo evaluation, Nucl. Med. Biol. 25, 769-776). Aunque estos compuestos tienen una afinidad comparable con respecto a WAY-100635 y han mostrado ser estables hacia la hidrólisis, la corta vida media física del Carbono-11 aún impide el uso de estos compuestos en hospitales que no tienen su propia instalación de producción (v.g., un ciclotrón y un laboratorio de radioquímica que cumpla con las GMP).

Un isótopo de vida más larga permitirá el transporte a larga distancia y puede también tener una ventaja en dar mejores estadísticas de recuento en la etapa final de un escáner y en acompañar al análisis de metabolitos radiactivos en plasma.

Por lo tanto, la investigación se ha dirigido hacia derivados de WAY-100635 marcados con Flúor-18 ($t_{1/2}$ =110 min.) o Yodo-123 ($t_{1/2}$ =13,2 horas) (véase la Fig. 3). Sin embargo, para los derivados de WAY MPPF y MPPI, que contienen un resto aromático en la parte carboxamida, se vio que los potenciales de unión calculados eran 4-6 veces inferiores a los de WAY- 100635. Además, estos compuestos mostraron una menor selectividad debido a una bastante alta afinidad por los α_1 -adrenoceptores, mientras que también se metabolizaban rápidamente.

Utilizando un resto saturado (FCWAY, véase la Fig. 3), se ha solucionado este problema, pero la eliminación de H¹⁸F del anillo de ciclohexano conduce a una captación substancial por el cráneo de [¹⁸F], que asciende al doble de la media en la totalidad del cerebro a los 60 min., lo cual dificulta seriamente la aplicación clínica (Carson et al. (1998), Evaluation of a new F-18 labelled analog of the 5-HT_{1A} antagonist WAY-100635 for PET, J. Nucl. Med. 39, 135P, abstract 553). Por lo tanto, la búsqueda de nuevos ligandos fluorados es aún un desafío continuo.

Existe un problema al menos generalmente similar con respecto a los ligandos yodados para la SPECT. En este

momento, las cámaras de SPECT están más ampliamente distribuidas en hospitales que las cámaras de PET, que sólo están presentes en unos cuantos centros. Sin embargo, un inconveniente importante es que los compuestos yodados alifáticos son inherentemente inestables *in vivo*, lo cual está causado por el hecho de que son fácilmente susceptibles a la sustitución y eliminación nucleofílica. Por lo tanto, en los productos radiofarmacéuticos, el yodo siempre está hasta ahora unido a un átomo de carbono sp^2 en un resto aromático o vinílico. Como puede verse por MPPI (Fig. 3), esto reduce con frecuencia la afinidad de unión.

En la investigación que condujo a la presente invención, se desarrollaron nuevos compuestos biológicamente activos químicamente marcados. La invención es como se define en las reivindicaciones adjuntas. A propósito, un "átomo de carbono en cabeza de puente" (al que también se hace aquí referencia como un "cabeza de puente") es cualquier átomo del esqueleto de un sistema de anillo que se une a tres o más átomos del esqueleto (excluyendo el hidrógeno).

Se puede realizar la copulación de agentes diagnósticos y radioterapéuticos a biomoléculas por métodos bien conocidos en la técnica, tal como describen Hnatowich et al., *Radioactive Labeling of Antibody: A simple and efficient method*. Science, 1983, 220, 613-615; A. Pelegrin et al., *Photoimmunodiagnosis with antibody-fluorescein conjugates: in vitro and in vivo preclinical studies*. Journal of Cellular Pharmacology, 1992, 3, 141-145; y Pat. EE.UU. N° 5.714.342.

Por ejemplo, ácidos carboxílicos aril- o alquil-activados pueden reaccionar con grupos nucleofílicos, tales como aminas primarias o secundarias. Dichos ésteres activados incluyen, por ejemplo, ésteres de N-hidroxisuccinimida, ésteres de sulfo-N-hidroxisuccinimida y ésteres fenólicos (v.g., fenol, p-nitrofenol, tetrafluorofenol). Otros grupos reactivos con aminas incluyen imidatos de arilo y alquilo e isocianatos o isotiocianatos de alquilo o arilo.

El bromo o el yodo se copula a una cabeza de puente del sistema de anillo fusionado con puente (BFR). Poniendo el halógeno en la cabeza de puente (v.g., Fig. 4), se pueden obtener compuestos que tienen un lento metabolismo y una unión estable carbono-radioisótopo; ya no es posible ahora la sustitución S_N2 , mientras que se evita la eliminación, ya que ello conduce a un sistema altamente tenso. La formación de cationes es también bastante difícil, como puede deducirse por la Tabla 1 siguiente (PE Eaton (1992) *Cubane: Ausgangsverbindungen für die Chemie der neunziger Jahre und des nächsten Jahrhunderts* Angew. Chem. 1447-1462), por lo que la hidrólisis es también improbable.

En esta solicitud, se describen derivados WAY.

En algunas realizaciones, el BFR puede ser biciclooctano, norbornano o cubano. En algunas realizaciones, el BFR es cubano.

El marcaje de los compuestos de la invención puede ser realizado usando un halógeno radiactivo (es decir, radiohalógeno). Por ejemplo, en algunas realizaciones, el halógeno radiactivo es $^{123/124/131}I$ o $^{76/77/82}Br$.

Un compuesto de la invención es un derivado de WAY100635 en el que el grupo ciclohexilo está reemplazado con un sistema de anillo fusionado con puente, como se muestra en la Fig. 5, donde X es bromo o yodo. En una realización particularmente ventajosa, el sistema de anillo fusionado con puente es el cubano. Una ventaja de tener no sólo X, sino también el grupo que se dirige a la diana, tal como WAY100634, copulado a una cabeza de puente, es que los productos radiofarmacéuticos resultantes tienen un elemento de simetría, y por lo tanto (como es el caso con el uso de cubano) se puede evitar la adición de centros quirales extra.

Se muestra un procedimiento ejemplar para la síntesis de los compuestos de la invención en el Esquema 1 (Fig. 10). Aunque el cubano es el sistema de anillo fusionado con puente ilustrado, habría que indicar que el cubano puede ser substituido por otras estructuras con puente en otras realizaciones del procedimiento. Tal como se muestra, la bromo- o yodo-descarboxilación da lugar a un compuesto halogenado en cabeza de puente. La saponificación, la preparación del cloruro de acilo y la copulación al producto farmacéutico (WAY- 100634 en el Ejemplo de la figura) son sencillas y pueden realizarse de un modo conocido para quienes tienen conocimientos ordinarios en la técnica.

Cuando se estudiaron en cuanto a su afinidad por el 5-HT_{1A} humano (Ejemplo 5), de los compuestos que tienen yodobiciclooctilo, yodoadamantilo, yodonorbornilo y yodocubilo como resto .BFR-X, se encontró la mayor afinidad para el yodocubil-WAY, la cual está aún en el rango subnanomolar (véase la Fig. 6).

Se vio que, tanto en el intercambio isotópico (^{123}I para I) como en el no isotópico (^{123}I para Br), el rendimiento de marcaje para trazadores que incluyen cubano era significativa y sorprendentemente mayor que para aquellos trazadores que incluyen otras estructuras de anillo fusionado con puente. Por ejemplo, la Tabla 2 que se da más adelante, que resume los resultados experimentales obtenidos con el experimento de marcaje descrito en el Ejemplo 2, muestra que el rendimiento de un derivado de yodocubano (4) era sorprendentemente alto (en relación a los otros derivados) en condiciones libres de agua utilizando triflato de cobre dos como catalizador.

La Fig. 7 muestra cómo se obtiene una solución libre de agua (AH Braker et al. (2002), Adsorption of radioiodine on platinum: a fast and simple column method to obtain concentrated and pure radioiodide in either water or anhydrous solvents, Appl. Radiat. Isot. 57,475-482; y JDM Herscheid, FP Moet Process for the purification and concentration of radioiodide isotopes. PCT/US00/01824). Resumiendo, se acidifica la solución de recogida diana y se atrapa el yodo-123 en una minicolumna llena de platino. Se elimina el agua por aclarado con acetona, después de lo cual se puede recuperar el radioyodo en un pequeño volumen mediante una elución pulsada con eluyente (en este caso, acetonitrilo) e hidrógeno.

Se vio que los compuestos de yodo marcados en cabeza de puente eran muy estables. Se mantuvieron en solución durante más de seis meses sin descomposición. No se observó captación por el tiroides *in vivo*, lo que indica que no se formó yoduro libre. Esta ausencia de desyodación fue además confirmada por pruebas de estabilidad usando hepatocitos humanos (véase el Ejemplo 4).

Se pueden usar los compuestos de la invención para diagnóstico o terapia. La aplicación puede depender del radioisótopo usado. Las etapas implicadas en los métodos diagnósticos y terapéuticos de la invención son al menos generalmente conocidas para quienes tienen conocimientos ordinarios en la técnica. La porción de estos métodos diagnósticos y terapéuticos que no se conocía con anterioridad a esta descripción es el uso de uno o más compuestos de la invención en tales métodos diagnósticos y terapéuticos. Al menos en algunas aplicaciones, una diferencia entre los métodos terapéuticos de la invención y los métodos diagnósticos de la invención es el isótopo particular incluido en el compuesto que se administra al paciente. Por ejemplo, se pueden utilizar moléculas marcadas con ^{123}I para procedimientos diagnósticos, mientras que se pueden utilizar moléculas marcadas con ^{131}I para procedimientos terapéuticos.

Un método de realización de un procedimiento diagnóstico de la invención puede incluir la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la invención a un paciente. En la mayoría de los casos, se prefiere generalmente que el compuesto sea administrado al paciente como una formulación farmacéuticamente aceptable (v.g., el compuesto está en un excipiente biológicamente compatible). Por ejemplo, una formulación farmacéuticamente aceptable de administración parenteral puede incluir una solución o suspensión acuosa estéril del compuesto. Las formulaciones farmacéuticamente aceptables de la invención pueden contener uno o más tampones, emulsionantes, surfactantes y eventualmente electrolitos, tales como el cloruro de sodio, farmacéuticamente aceptables. Las formulaciones para administración enteral pueden variar ampliamente, como es bien sabido en la técnica. En general, dichas formulaciones son líquidas, que incluyen una cantidad efectiva de un compuesto según la presente invención en solución o suspensión acuosa. Dichas formulaciones enterales pueden eventualmente incluir uno o más tampones, surfactantes, emulsionantes o agentes tixotrópicos. Las formulaciones para administración oral pueden contener agentes saborizantes y otros ingredientes para aumentar sus cualidades organolépticas. Las formulaciones para administración tópica pueden contener excipientes líquidos o semisólidos para ayudar a la penetración de los compuestos según la presente invención. Los compuestos de la invención pueden ser administrados en un spray aerosol. En realizaciones preferidas del método diagnóstico, se deja que un compuesto de la invención se acumule en un área de interés (v.g., tejido particular) antes de realizar la imagen por PET o SPECT.

Algunos compuestos de la presente invención pueden ser usados como agentes terapéuticos. En un método terapéutico ejemplar de la invención, se puede administrar una cantidad efectiva de un compuesto de la invención a un paciente de un modo como el descrito con respecto al método anterior de realización de un procedimiento diagnóstico.

Los compuestos de la invención pueden ser formulados en compuestos diagnósticos o terapéuticos para administración enteral, parenteral, tópica, por aerosol, por inhalación o cutánea. La administración tópica o cutánea de los compuestos de la invención puede incluir formulaciones en aerosol, cremas, geles, soluciones, etc. Los compuestos de la invención son preferiblemente administrados en dosis efectivas para alcanzar el efecto diagnóstico o terapéutico deseado. Dichas dosis pueden variar ampliamente dependiendo de los compuestos particulares empleados en la formulación, de los órganos o tejidos que se han de examinar, del equipo empleado en el procedimiento clínico y de la eficacia del tratamiento alcanzada. Las formulaciones de la invención pueden contener una cantidad efectiva del/de los compuesto(s), junto con soportes y/o excipientes farmacéuticos convencionales apropiados para el tipo de administración contemplada. Estas formulaciones pueden también incluir uno o más agentes estabilizantes y/o agentes promotores de la penetración cutánea.

Otro aspecto de la invención se relaciona con el uso de una versión "fría" de los compuestos de la invención. En estos compuestos, X no es un radionúclido, sino su forma no radiactiva (v.g., I o Br no radiactivos).

La presente invención será además dilucidada en los Ejemplos siguientes. Estos Ejemplos son únicamente para fines ilustrativos y no están destinados de ninguna manera a limitar la invención en modo alguno.

Ejemplo 1

Síntesis de derivados WAY bromados y yodados con cabeza de puente

- 5 Se realizó la síntesis de derivados WAY con cabeza de puente como se representa en el Esquema 1 (Fig. 10).

Partiendo de los dicarboxilatos de dimetilo, que, o bien pueden ser adquiridos comercialmente, o bien sintetizados por los métodos de la literatura (EW Della y J Tsanaksidis (1985), Synthesis of bridgehead-bridgehead substituted bicycloalkanes, Aust. J. Chem., 38, 1705-18), se obtuvieron los ácidos monocarboxílicos 1 mediante una saponificación controlada (R Priefer et al. (2002), Effective synthetic routes to cubylcarbinol derivatives, Synthesis, 2671-2673). La bromo- o yodo-d Descarboxilación utilizando óxido de mercurio (a, b, c) (NJ Bunce (1972), A mercury salt pathway for the degradation of carboxylic acids to alkyl halides using halogen and mercuric oxide, J. Org. Chem. 37, 664-669) o diacetato de yodobenceno (d) (R Priefer (2002) *vide supra*) proporcionó los compuestos halogenados con cabeza de puente 2.

15 La posterior saponificación con NaOH en metanol, la preparación de los cloruros de acilo usando SO_2Cl_2 y la copulación a WAY-100634 fueron posteriormente realizadas utilizando química sencilla (véase, v.g., AA Wilson et al. (1968), Derivatives of WAY 100635 as potential imaging agents for 5-HT_{1A} receptors: syntheses, radiosyntheses, and in vitro and in vivo evaluation, Nucl. Med. Biol., 25, 769-776).

20 **Ejemplo 2**

Preparación de [^{123}I]yodocubano-WAY radiomarcado

- 25 Se disolvieron 2 mg de precursor bromocubano-WAY preparado según el Ejemplo 1 y 0,1 mg de triflato de Cu(II) en 100 μl de [^{123}I]yoduro anhidro en acetonitrilo. Se calentó esta mezcla en un vial cerrado durante 30 minutos a 140°C, obteniéndose un rendimiento en marcaje del 60-80%.

30 A continuación, se aisló el producto por HPLC, se atrapó en una SepPak C-18 y se recuperó en 500 microlitros de etanol. Se diluyó éste entonces con un tampón citrato y se esterilizó por filtración. El tiempo total de síntesis fue de aproximadamente 2,5 horas, con un rendimiento global del 40%. La pureza radioquímica fue del 99,5 por ciento, medida al día siguiente, y la actividad específica fue superior a 7,5 TBq por micromol. No se detectó ningún precursor ni otros compuestos traza en el cromatograma UV.

35 **Ejemplo 3**

Efecto del agua sobre el rendimiento de marcaje

- Con objeto de determinar el efecto del agua sobre el rendimiento de marcaje de [^{123}I]yodocubano-WAY, se añadieron cantidades crecientes de agua hasta el 10% a la mezcla de reacción como se describe en el Ejemplo 2. La Fig. 8 muestra que el agua disminuía el rendimiento de marcaje dramáticamente.

Ejemplo 4

Pruebas de estabilidad

- 45 Se vio que el [^{123}I]yodocubano-WAY era completamente estable en solución y en el plasma humano durante al menos 24 horas. En hepatocitos humanos, se observó una lenta hidrólisis ($t_{1/2} = 75 \text{ min.}$) del enlace amida, pero no se produjo ninguna desyodación. Esto estaba en contraste con el MPPF (véase la Fig. 3), para el cual se encontró una vida media de aproximadamente 15 minutos, junto con una elevada velocidad de desfluoración.

50 Resumiendo, se descongelaron hepatocitos humanos crioconservados rápidamente y se diluyeron lentamente con medio de cultivo celular. Después de lavar, la concentración celular fue ajustada a 1 millón por mL. Se añadió [^{123}I]yodocubano-WAY (50 MBq) o [^{18}F]MPPF (50 MBq). Después de 15, 60 y 150 minutos, se tomó una muestra de 200 microlitros, se añadió a 200 microlitros de metanol, se sonicó y se centrifugó. Se analizaron los metabolitos en el sobrenadante por HPLC. En la siguiente Tabla 4 se muestran los resultados.

Ejemplo 5

Pruebas de afinidad

- 60 Se determinaron las afinidades de unión relativas de los trazadores candidatos de los receptores 5-HT_{1A} en ensayos de unión competitiva (n=4 por trazador) usando [^3H]8-OH-DPAT (Perkin Elmer, Boston, EE.UU.) como referencia. Se obtuvo una suspensión de membranas de células HEK-293 EBNA que expresaban el subtipo de receptor 5-HT_{1A} recombinante humano de Perkin Elmer (Boston, EE.UU.). La concentración de proteína de la suspensión original era

de 36,8 mg/mL.

Se incubaron alícuotas de estas membranas diluidas (factor 1:20) en microplacas durante 120 min. a 37°C en la oscuridad. Se usaron ensayos de 200 µL, que contenían 20 µL de membranas diluidas, una concentración estable de [³H]8-QH-DPAT y trazadores candidatos en concentraciones crecientes (rango de 10⁻¹² a 10⁻⁵). El tampón de incubación contenía 50 mM de TRIS-HCl y 5 mM de MgSO₄ (pH a 7,4 a 25°C). Se usó el [³H]8-OH-DPAT en una concentración final de 1,1 nM. La constante de disociación en equilibrio (K_D) en nM de [³H]8-OH-DPAT para el subtipo de receptor 5-HT_{1A} fue proporcionada por el fabricante (2,4 nM). Se determinó la unión no específica usando 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina) como competidor en una concentración de 10 µM.

Tras el período de incubación, se finalizó rápidamente la reacción por filtración a vacío sobre filtros de fibra de vidrio GF/C que se incorporaron a las microplacas y que se preempaparon en polietilenimina al 0,5% (Sigma-Aldrich, Munich, Alemania), y se lavó 5 veces con tampón TRIS-HCl helado. Se añadieron a cada pocillo 25 µL de fluido de centelleo (MicroScint™, Perkin Elmer, Boston, EE.UU.), después de lo cual se contaron las microplacas en un contador de centelleo líquido (Topcount, Packard).

Para cada trazador candidato, se calculó la constante de inhibición (K_i) a partir de la CE₅₀ para el receptor 5-HT_{1A} con ajuste de curva de regresión no lineal usando el programa informático Graphpad Prism® (versión 3.02). Los cálculos para el subtipo de receptor se basaron en la K_D de [³H]8-OH-DPAT.

En la Fig. 6 se muestran los resultados. Se halló la mayor afinidad para yodo-cubil-WAY.

Ejemplo 6

Biodistribución

Se inyectó [¹²³I]yodocubano-WAY (15 MBq) en la vena de la cola de ratas Wistar machos (n=4) con o sin bloqueo del receptor HT_{1A} con una predosis de WAY-100635 no marcado. A los 45 minutos p.i., se mató a las ratas por dislocación cervical, se extirpó el tejido de interés y se contó la radiactividad.

La Tabla 3 muestra que, aunque la captación en el cerebelo era aún relativamente alta, dando lugar a bajas proporciones para el córtex y el hipocampo, los estudios de bloqueo proporcionaron claramente una reducción en las regiones ricas en serotonina-1A, ya que todas las proporciones volvieron a la unidad. Más aún, no se encontró captación de radiactividad en el tiroides.

Tabla 1

Tasa relativa de hidrólisis		
X = Tosilato	calc.	exp.
<i>terc</i> -Butilo	1	1
1-Adamantilo	10 ⁻⁴	10 ⁻³
1-Biciclo[2.2.2]octilo	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷
1-Norbornilo	10 ⁻¹⁴	10 ⁻¹³
Cubilo	<10 ⁻²⁵	10 ⁻¹⁰

Tabla 2

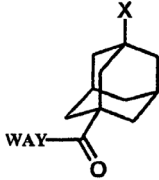
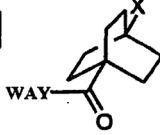
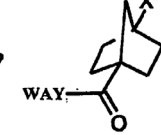
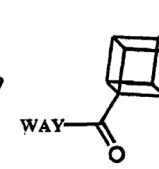
Tabla 2			1	2	3	4
						
Precursor		Producto X= ¹²³ I		Rendimiento radioquímico		
1 X=I		1		40%		
2 X=I		2		0%		
3 X=I		3		1%		
4 X=I		4		85%		
1 X=Br		1		10%		
2 X=Br		2		0%		
3 X=Br		3		0%		
4 X=Br		4		70%		

Tabla 3 Captación cerebral de [¹²³I]cubano-WAY en ratas

5

Tejido	No bloqueado				Bloqueado ¹			
	Captación ² +/- SEM		Razón ³ +/- SEM		Captación ² +/- SEM		Razón ³ +/- SEM	
Estriado	9,4	0,8	0,91	0,02	9,2	0,6	0,86	0,02
Córtex	13,6	2,1	1,31	0,05	10,5	1,1	0,97	0,07
Hipocampo	25,2	5,0	2,49	0,31	11,9	1,7	1,08	0,07
Cerebelo	10,5	0,8			10,9	0,8		

1) Bloqueado con 0,4 mg de WAY-100635, 1 minuto antes de la inyección de [¹²³I]cubano-WAY

2) Porcentaje de dosis inyectada * veces peso corporal/por gramo de tejido a los 45 minutos

3) La razón indica la captación del tejido indicado dividida por la captación del cerebelo

Tabla 4

	t=0	t=15	t=60	t=150
Yodocubano-WAY	99,9%	90,7%	60,1%	24,9%
Ácido yodocubanocarboxílico	-	9,0%	39,7%	74,9%
Yoduro libre	0,1%	0,3%	0,2%	0,2%
Compuestos no identificados	0%	0%	0%	0%
MPPF	99,2%	45,2%	22,7%	8,4%
Ácido fluorobenzoico	-	24,8%	41,8%	50,1%
Fluoruro libre	-	19,6%	31,2%	40,6%
Compuestos no identificados	0,8%	11,4%	4,3%	0,9%

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un derivado de WAY-100635, en donde el grupo ciclohexilo está reemplazado por un sistema de anillo fusionado con cabeza de puente seleccionado entre adamantano, biciclooctano, norbornano y cubano, donde el sistema de anillo fusionado con cabeza de puente tiene un átomo de bromo o de yodo unido a un átomo de carbono de cabeza de puente.
- 10 2. Un derivado según la reivindicación 1, donde el sistema de anillo fusionado de cabeza de puente es seleccionado entre biciclooctano, norbornano y cubano.
3. Un derivado según se reivindica en la reivindicación 1 ó 2, donde el átomo de bromo o de yodo es ¹²³I.
- 15 4. Un derivado según se reivindica en cualquier reivindicación precedente, donde el sistema de anillo fusionado de cabeza de puente es el cubano.
5. Un derivado según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para uso en al menos uno de diagnóstico médico y terapia médica.

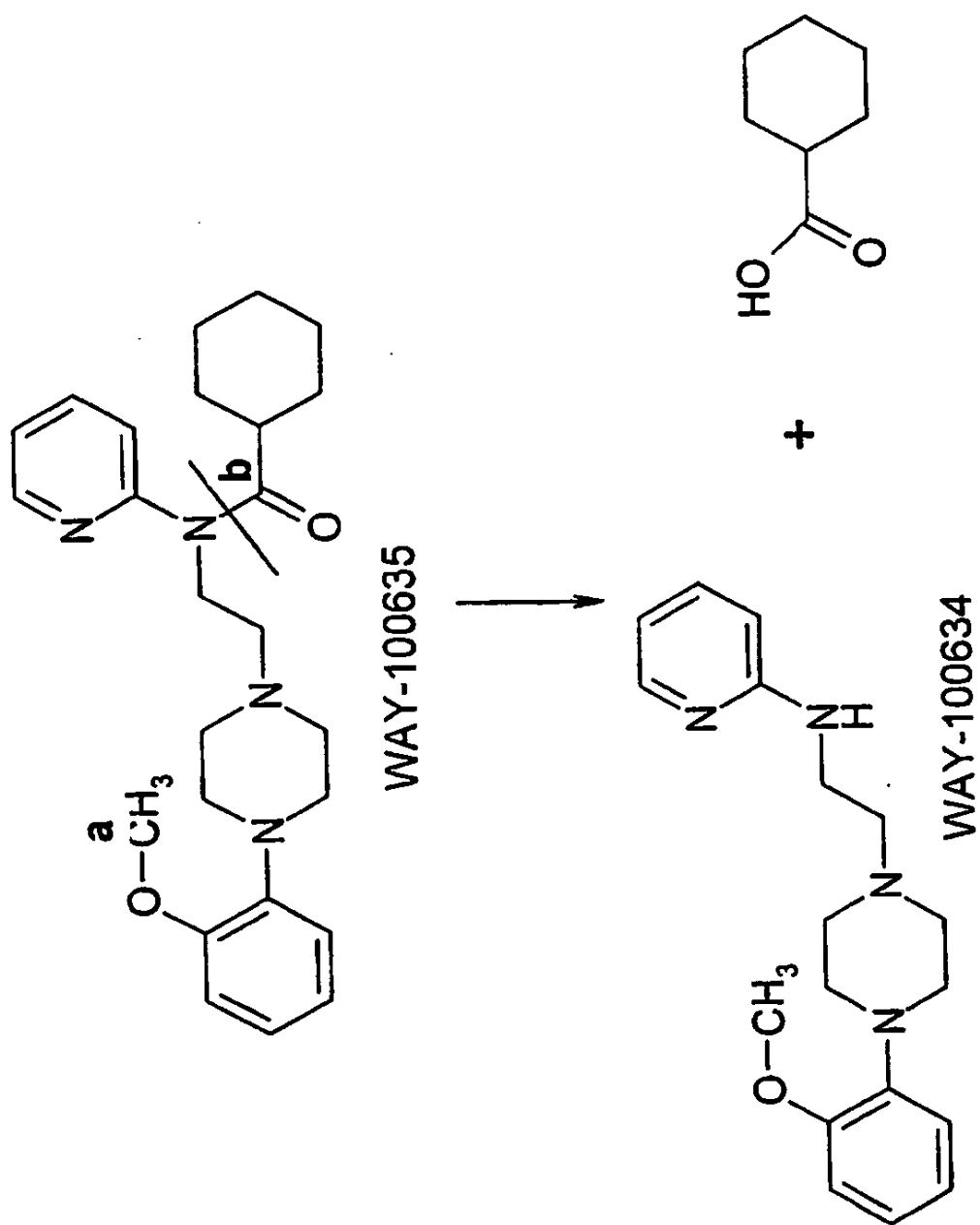


Fig. 1

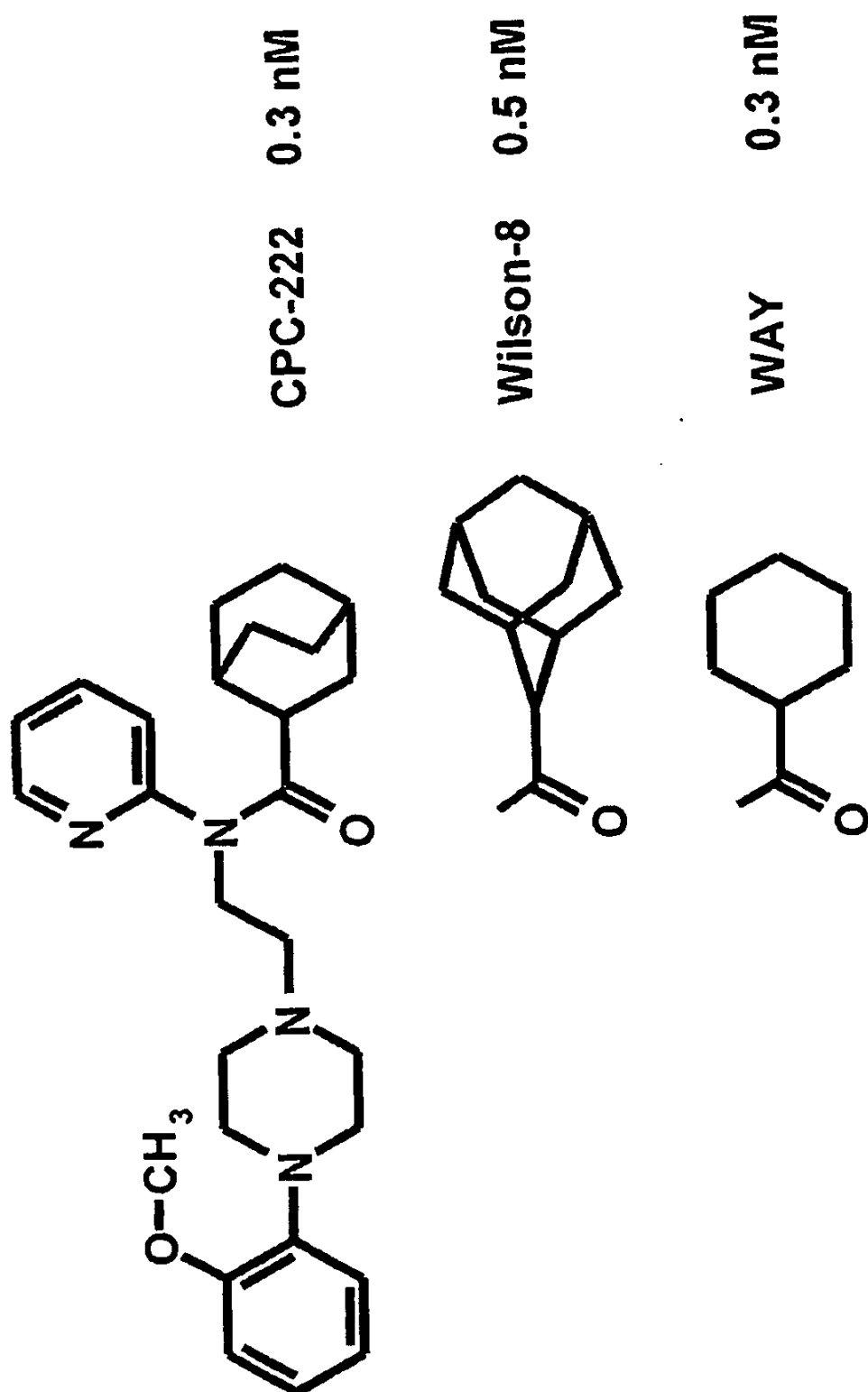


Fig. 2

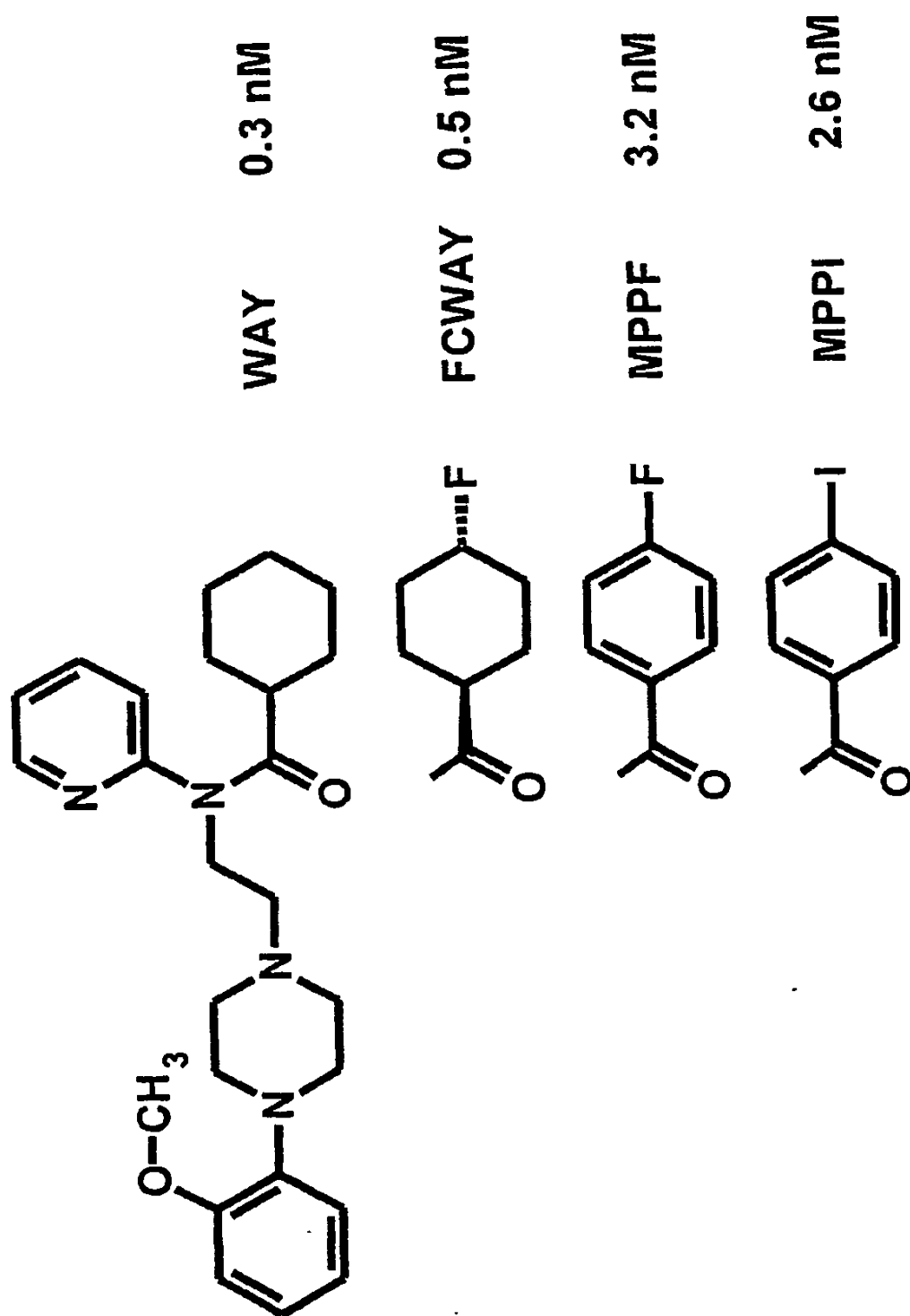
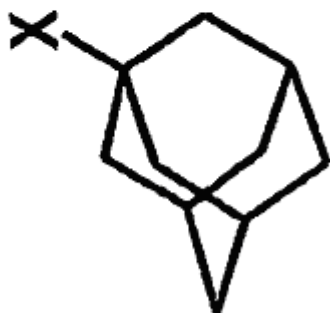
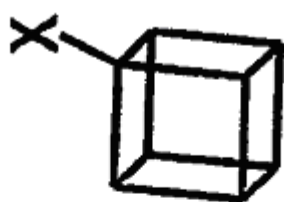


Fig. 3



$X = I^*, F^*, O, CH_2F^*$

Fig. 4

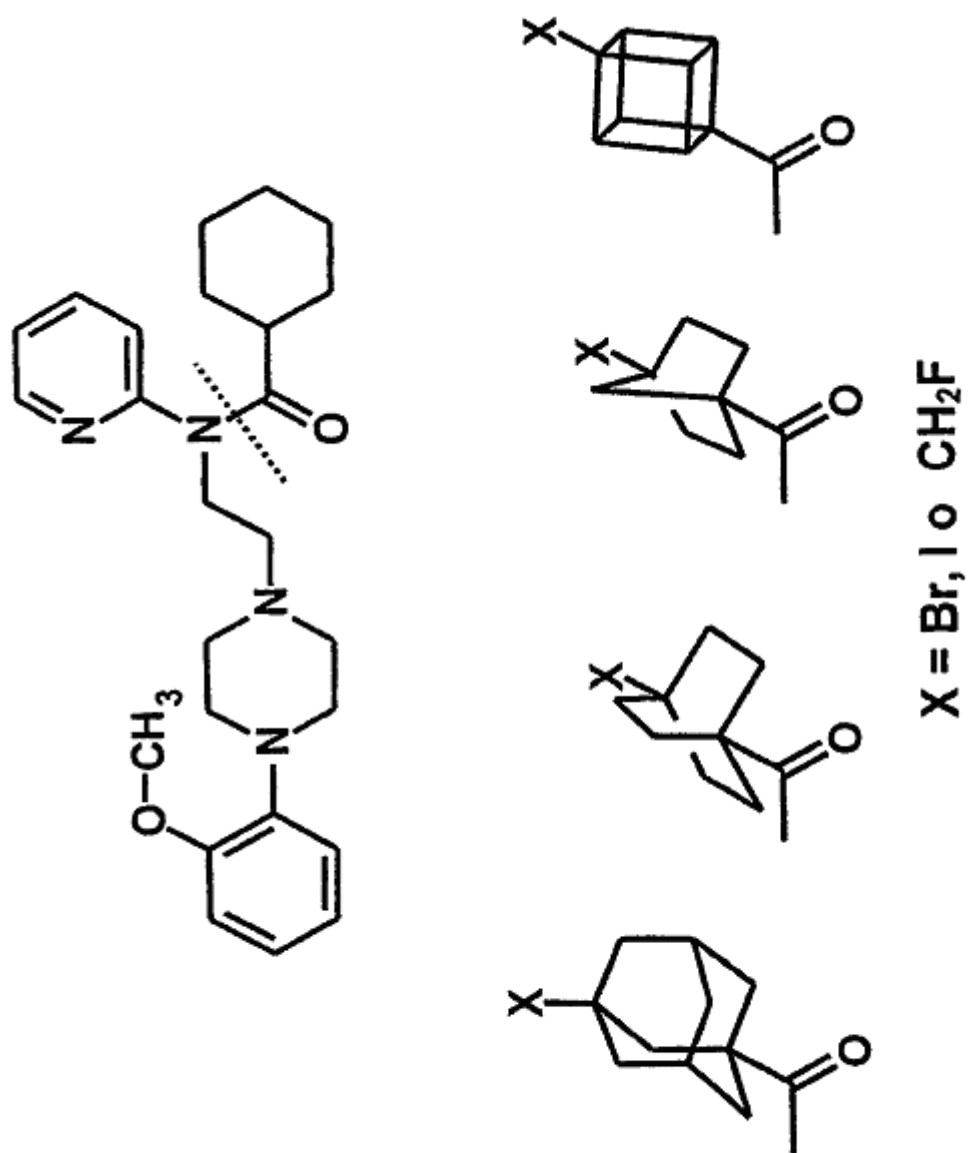


Fig 5.

ACTIVIDAD IN VITRO DE DERIVADOS WAY

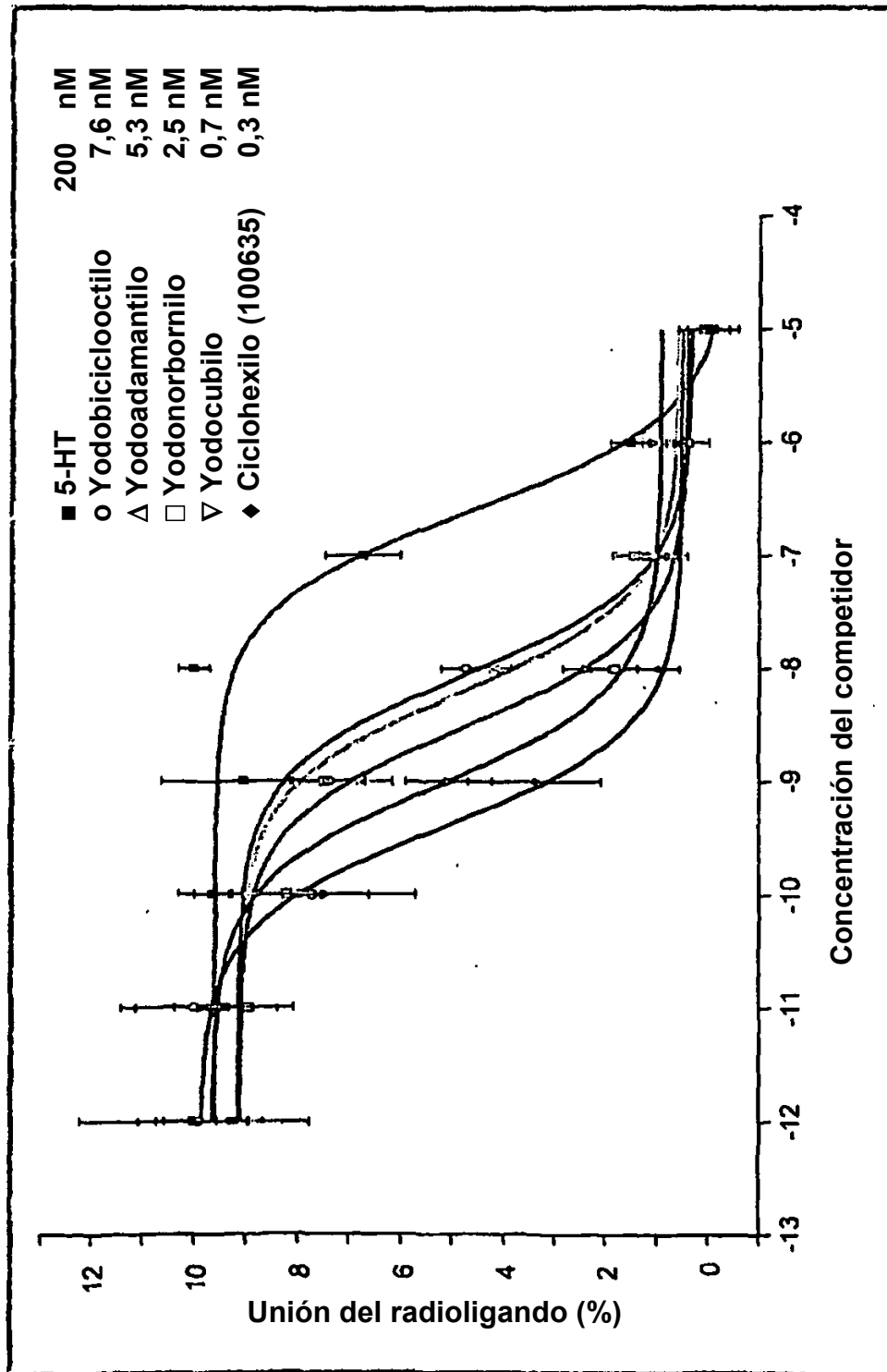


Fig. 6

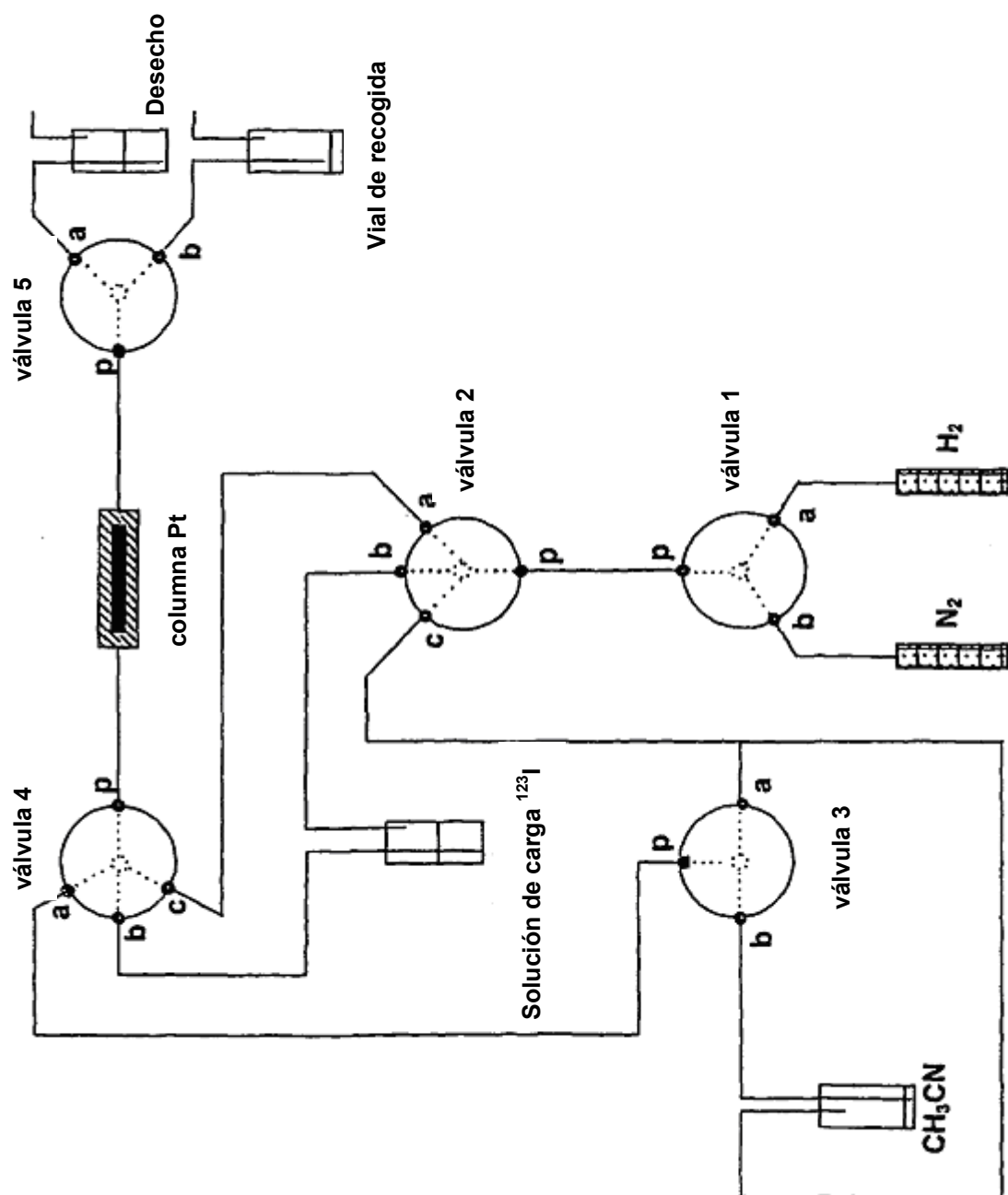


Fig. 7

EFFECTO DEL AGUA SOBRE EL RENDIMIENTO DE MARCAJE

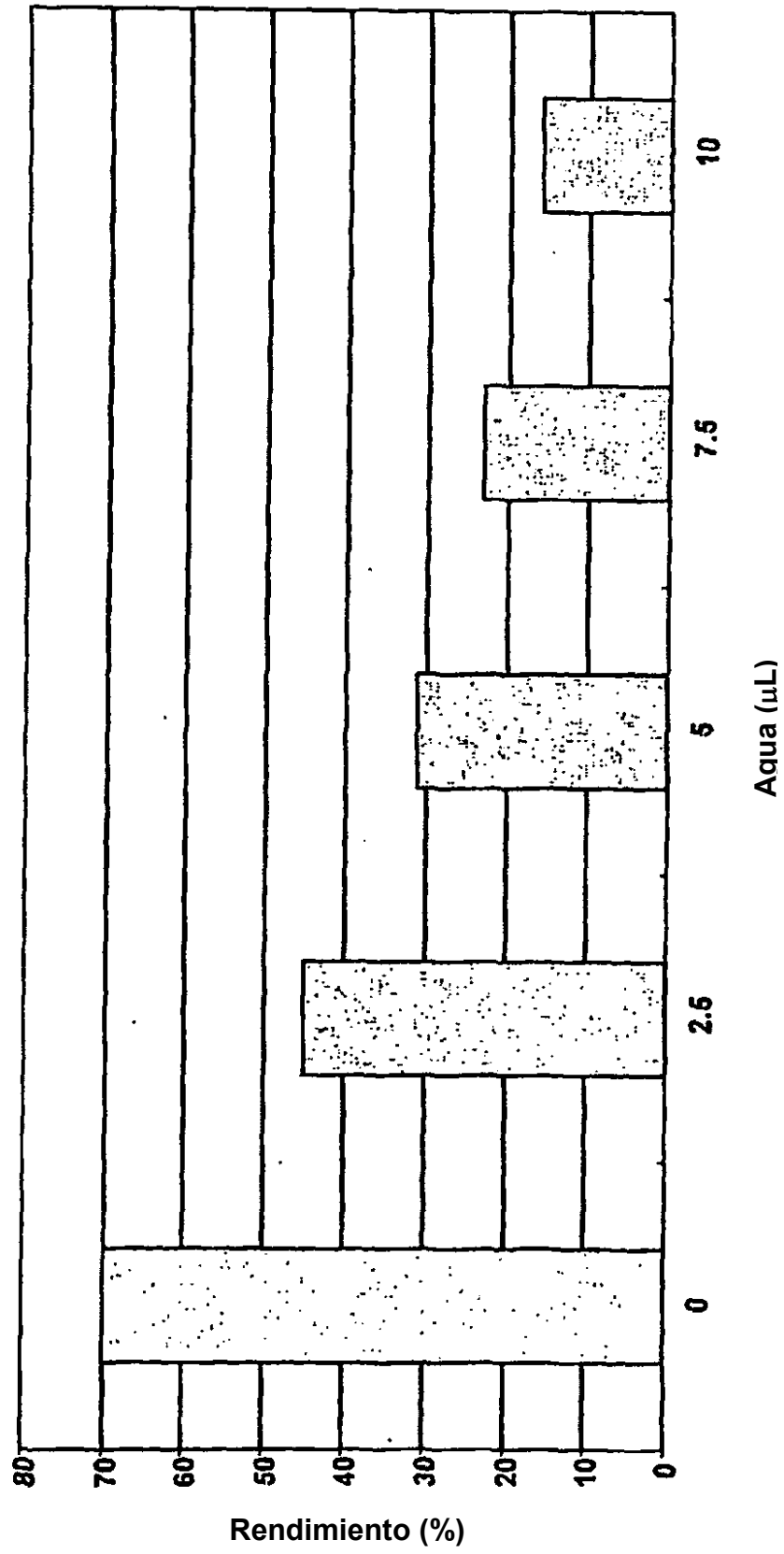
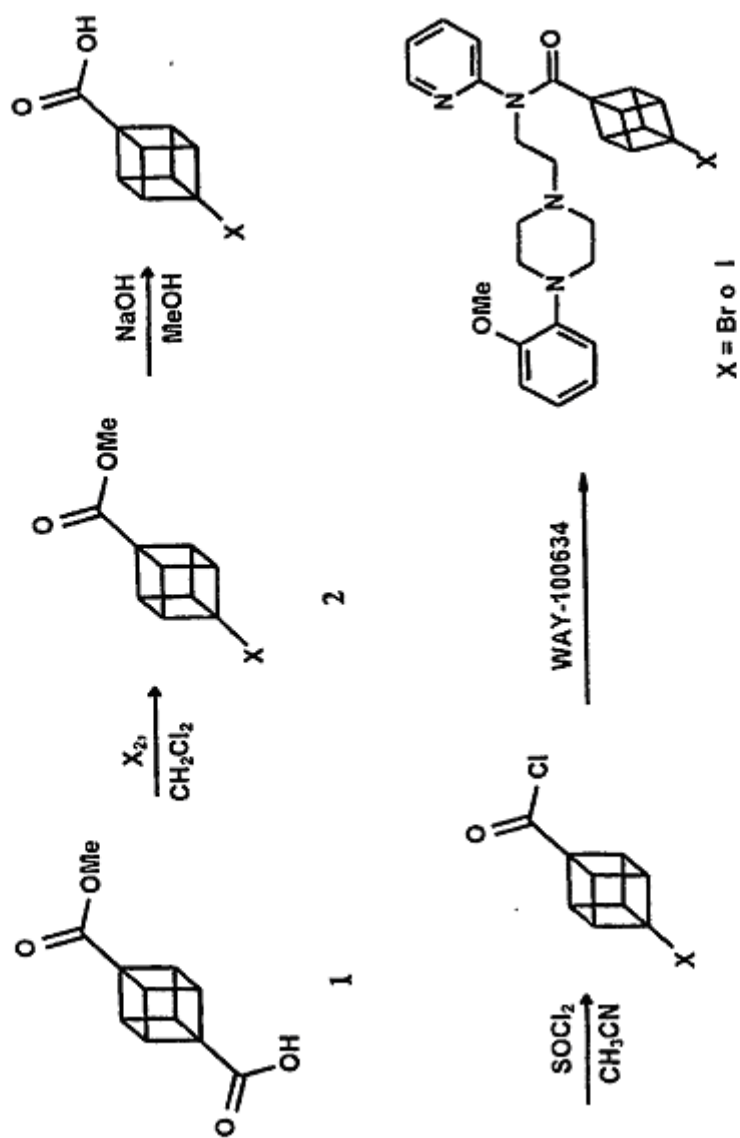


Fig. 8

SÍNTESIS GENERAL



Esquema 1

Fig. 10