

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 491**

51 Int. Cl.:
C07D 471/04 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 51/00 (2006.01)
C07F 7/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07743357 .1**
96 Fecha de presentación: **15.05.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2019103**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.01.2009**

54 Título: **COMPUESTO QUE TIENE AFINIDAD POR AMILOIDE.**

30 Prioridad:
19.05.2006 JP 2006140044
30.11.2006 JP 2006324701

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.03.2012

73 Titular/es:
NIHON MEDI-PHYSICS CO., LTD.
3-4-10, SHINSUNA KOTO-KU
TOKYO 136-0075, JP

72 Inventor/es:
TANIFUJI, Shigeyuki;
NAKAMURA, Daisaku;
TAKASAKI, Shinya y
OKUMURA, Yuki

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 376 491 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuesto que tiene afinidad por amiloide.

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un compuesto para usar en el diagnóstico de una enfermedad degenerativa cerebral. Más específicamente, la invención se refiere a un compuesto útil para la detección de amiloide en sitios de lesión en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades con acumulación de amiloide.

Técnica anterior

10 Las enfermedades con la aparición de deposición de una proteína fibrosa llamada amiloide en diversos órganos o tejidos en cuerpos se refieren generalmente como amiloidosis. Una característica común a amiloidosis es que la proteína fibrosa llamada amiloide que está enriquecida con la estructura de láminas β se deposita en distintos órganos sistemáticamente o en sitios tópicamente de tal manera que se ponen en marcha anomalías funcionales en los órganos o tejidos.

15 La enfermedad de Alzheimer (de aquí en adelante referida como AD), que es una enfermedad de amiloidosis típica, se conoce como una enfermedad que causa demencia. Esta enfermedad es letal con deposición progresiva de amiloide en cerebro y así se dice que es una enfermedad que causa preocupación en la sociedad comparada con otras enfermedades de amiloidosis. En los últimos años, el número de pacientes de AD está aumentando rápidamente en países desarrollados con sociedades que envejecen, causando de este modo un problema social.

20 Desde el punto de vista patohistológico, AD se caracteriza por tres hallazgos patológicos en cerebro, a saber desarrollo de placas seniles, formación de marañas neurofibrilares y pérdida neuronal extensa. Las placas seniles tienen una estructura compuesta principalmente de amiloide y se dice que aparecen en la fase más temprana de aparición de AD y así se encuentra patológicamente en el cerebro aproximadamente 10 ó más años antes de la aparición de síntomas clínicos.

25 AD se diagnostica llevando a cabo diversas evaluaciones de funciones cognitivas (por ejemplo, escala Hasegawa, ADAS-JCog y MMSE) en combinación de manera auxiliar con diagnóstico de formación de imágenes tal como CT y MRI. Sin embargo, el procedimiento basado en tales evaluaciones de las funciones cognitivas es bajo en sensibilidad diagnóstica en la fase temprana de la aparición y es además problemático porque los resultados diagnósticos son susceptibles a las funciones cognitivas innatas de los individuos. En el presente, es prácticamente imposible establecer un diagnóstico definitivo de AD mientras que un paciente de AD aún está vivo, debido a que el diagnóstico definitivo requiere una biopsia de una lesión (Documento No de Patente 1).

30 Entretanto, un informe dice que el amiloide que constituye placas seniles es un agregado de la proteína β amiloide (de aquí en adelante referido como A β). Asimismo, numerosos informes dicen que el agregado de A β forma una estructura de lámina β que causa toxicidad celular nerviosa. En base a estos hallazgos, se propuso la así llamada "Hipótesis de Cascada de Amiloide", que sugiere que el depósito cerebral de A β activa los fenómenos más adelante en la cadena de acontecimientos, a saber, formación de marañas neurofibrilares y pérdida neuronal (Documento No de Patente 2).

35 En base a estos hechos, se han hecho recientemente intentos para detectar AD in vivo usando un compuesto que tiene afinidad alta con amiloide como un marcador. Muchas de tales sondas para diagnósticos de formación de imágenes de amiloide cerebral son compuestos de bajo peso molecular hidrófobos que son altos en afinidad con amiloide y altos en transferibilidad cerebral y están marcados con diversas especies radiactivas tales como ^{11}C , ^{18}F y ^{123}I . Por ejemplo, informes dicen que formas de compuestos marcadas con ^{11}C o con halógenos radiactivos incluyen diversos derivados de tioflavina tales como 6-yodo-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]benzotiazol (de aquí en adelante referido como TZDM) y 6-hidroxi-2-[4'-(N-metilamino)fenil]benzotiazol (de aquí en adelante referido como 6-OH-BTA-1) (Documento de Patente 1, Documento No de Patente 3); compuestos de estilbena tales como (E)-4-metilamino-4'-hidroxiestilbena (de aquí en adelante referido como SB-13) y (E)-4-dimetilamino-4'-yodoetilbena (de aquí en adelante referido como ml-SB) (Documento de Patente 2, Documento No de Patente 4, Documento No de Patente 5); derivados de benzoxazol tales como 6-yodo-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]benzoxazol (de aquí en adelante referido como IBOX) y 6-[2-(fluoro)etoxi]-2-[2-(2-dimetilaminotiazol-5-il)etenil]benzoxazol (Documento No de Patente 6, Documento No de Patente 7), derivados de DDNP tales como 2-(1-{6-[(2-fluoroetil)(metil)amino]-2-naftil}etilideno)malononitrilo (de aquí en adelante referido como FDDNP) (Documento de Patente 4, Documento No de Patente 8); y derivados de imidazopiridina tales como 6-yodo-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (de aquí en adelante referida como IMPY) (Documento de Patente 3, Documento No de Patente 9). Adicionalmente, algunas de estas sondas para diagnósticos de formación de imágenes se han estudiado en formación de imágenes en seres humanos y se ha comunicado que muestran una acumulación significativa en el cerebro de pacientes de AD comparados con personas normales (Documento No de Patente 10, Documento No de Patente 11, Documento No de Patente 12, Documento No de Patente 13).

[Documento de Patente 1] JP-T-2004-506723. [Documento de Patente 2] JP-T-2005-504055. [Documento de Patente 3] JP-T-2005-512945. [Documento de Patente 4] JP-T-2002-523383.

[Documento No de Patente 1] J. A. Hardy y G. A. Higgins, "Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis.", *Science*, 1992, 256, páginas 184-185.

5 [Documento No de Patente 2] G. McKhann y cols., "Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease.", *Neurology*, 1984, 34, páginas 939-944.

[Documento No de Patente 3] Z.-P. Zhuang y cols., "Radioiodinated Styrylbenzenes and Thioflavins as Probes for Amyloid Aggregates.", *J. Med. Chem.*, 2001, 44, páginas 1905-1914.

10 [Documento No de Patente 4] Masahiro Ono y cols., "11C-labeled stilbene derivatives as A β -aggregate-specific PET imaging agents for Alzheimer's disease.", *Nuclear Medicine and Biology*, 2003, 30, páginas 565-571. [Documento No de Patente 5] H. F. Kung y cols., "Novel Stilbenes as Probes for amyloid plaques.", *J. American Chemical Society*, 2001, 123, páginas 12740-12741.

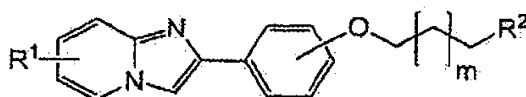
15 [Documento No de Patente 6] Zhi-Ping Zhuang y cols., "IBOX(2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-iodobensoxazole): a ligand for imaging amyloid plaques in the brain.", *Nuclear Medicine and Biology*, 2001, 28, página 887-894. [Documento No de Patente 7] Furumoto Y y cols., "[11C]BF-227: A New 11C-Labeled 2-Ethenylbenzoxazole Derivative for Amyloid- β Plaques Imaging.", *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2005, 32, Sup.1, P759.

[Documento No de Patente 8] Eric D. Agdeppa y cols., "2-Dialkylamino-6-Acylmalononitrile Substituted Naphthalenes (DDNP Analogs): Novel Diagnostic and Therapeutic Tools in Alzheimer's Disease.", *Molecular Imaging and Biology*, 2003, 5, páginas 404-417.

20 [Documento No de Patente 9] Zhi-Ping Zhuang y cols., "Structure-Activity Relationship of Imidazo[1,2-a] pyridines as Ligands for Detecting β -Amyloid Plaques in the Brain.", *J. Med. Chem.*, 2003, 46, páginas 237-243. [Documento No de Patente 10] W. E. Klunk y cols., "Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B.", *Ann. Neurol.*, 2004, 55, páginas 306-319. [Documento No de Patente 11] Nicolaas P. L. G. Verhoeff y cols., "In-Vivo Imaging of Alzheimer Disease β -Amyloid. Con [11C]SB-13 PET.", *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2004, 12, páginas 584-595.

[Documento No de Patente 12] Hiroyuki Arai y cols., "[11C]-BF-227 AND PET to Visualize Amyloid in Alzheimer's Disease Patients, Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association, 2006, 2, Sup. 1, S312. [Documento No de Patente 13] Christopher M. Clark y cols., "Imaging Amyloid with I123 IMPYSPECT", *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 2006, 2, Sup. 1, S342.

30 El documento EP 2 042 501 que es una solicitud de patente anterior con respecto a la presente solicitud, divulga un compuesto que tiene afinidad por amiloide representado por la siguiente fórmula:



35 o una sal de mismo, en el que R¹ es un grupo seleccionado a partir de hidrógeno, grupo hidroxilo, grupo carboxilo, grupo sulfato, grupo amino, grupo nitro, grupo ciano, un sustituyente alquilo con uno a 4 átomos de carbono o un sustituyente alcoxi con uno a 4 átomos de carbono; R² es un sustituyente halógeno radiactivo; y m es un número entero de 0 a 2. El documento US 4 727 145 revela imidazol[1,2-a]piridinas 2- o 3-acril-sustituidas que tienen propiedades anestésicas. El documento WO 02/092086 describe el uso de derivados de imidazo[1,2-a]piridina

40 especiales para la fabricación de medicamentos para el tratamiento o prevención de los trastornos mediados por receptores de mGluR5, tales como dolor agudo y/o trastornos neurológicos crónicos. El documento WO 2005/066177A1 revela compuestos de imidazol[1,2-b]piridazina útiles para controlar infestación con parásitos o helmintiasis en animales.

45 Sanfilippo, P. J. y cols.: "Synthesis of (Aryfoxy) alkylamines. 2. Novel. Imidazo-fused Heterocycles with Calcium Channel Blocking and Local Anesthetic Activity" revela una serie de heterociclos imidazo-condensados sustituidos con una cadena lateral de (ariloxi)alquilamina como modificaciones para butoprozina (I), que se encuentra que poseen actividad de bloqueo de canales de calcio en células musculares. Las imidazo[1,2-a]piridinas también se encuentra que son agentes anestésicos locales.

50 El documento WO 01/74813 describe el uso de imidopirimidinas 2- o 3-acrilsustituidas farmacéuticamente activas y de derivados para el tratamiento y/o prevención de las enfermedades y afecciones mediadas por el receptor de

histamina 3(H₃). Sin embargo, ninguno de los documentos mencionados anteriormente revela los compuestos de la presente invención.

Divulgación de la invención

Problemas a solucionarse por la invención

5 Como se describe anteriormente, se revelan diversos compuestos como sondas para diagnóstico de formación de imágenes y se investigan para aplicación clínica.

10 Experimento en ratones normales muestra que TZDM, IBOX y m-I-SB marcados con ¹²⁵I se transfieren todos dentro del cerebro 2 minutos después de administración. Sin embargo, estos compuestos son insuficientes en la eliminación a partir de los tejidos normales y tienden a acumularse gradualmente en el cerebro según pasa el tiempo después de la administración (documento JP-T-2005-512945; Zhi-Ping Zhuang y cols., Nuclear Medicine and Biology, 2001, 28, páginas 887-894; H. F. Kung y cols., J. Am. Chem. Soc., 2001, 123, páginas 12740-12741). Cuando la eliminación a partir de los tejidos normales es insuficiente, surge un problema porque no se puede obtener contraste suficiente en sitios de acumulación de amiloide. SB-13 marcado con [¹¹C] muestra una eliminación a partir de los tejidos normales en experimentos en ratas, sin embargo, no puede decirse que la eliminación sea suficientemente rápida (Masahiro Ono y cols., Nuclear Medicine and Biology, 2003, 30, página 565-571).

15 Entretanto, se mostró que compuestos que tienen esqueleto de imidazopiridina tales como IMPY tienen una propiedad de transferencia a cerebro y acumulación en amiloide después de administración y también tienen una excelente propiedad de eliminación rápida desde los tejidos normales a diferencia de los compuestos anteriormente descritos, como resultado de experimentos que usan compuestos marcados con ¹²⁵I. Sin embargo, IMPY es un compuesto positivo en prueba de mutación reversa. Con el fin de usar este compuesto como una sonda para diagnóstico magnético, se debe tomar suficiente cuidado sobre dosificación y manera de administración. (Folleto de Publicación Internacional WO03/106439).

20 Se comunica también que FDDNP es positivo en prueba de mutación reversa. (Folleto de Publicación Internacional WO03/106439)

25 Una sonda preferible que marque amiloide para diagnóstico de formación de imágenes sería un compuesto que fuese excelente en afinidad con amiloide y suficientemente rápido en eliminación a partir de tejidos normales como IMPY pero que esté suprimido en toxicidad tal como mutagenicidad. Sin embargo, no se ha divulgado ningún compuesto con tales propiedades.

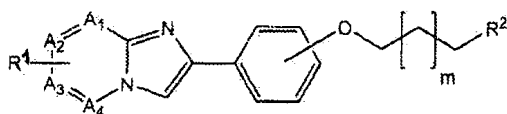
30 Además, de conformidad con los resultados de nuestros estudios (referidos al Ejemplo Comparativo II-6 descrito más adelante), se ha confirmado que IMPY se acumula inespecíficamente en la materia blanca u otros sitios donde no se deposita amiloide. Como un agente de diagnóstico de AD, debe usarse un compuesto que se suprima en acumulación inespecífica en sitios distintos que la deposición de amiloide, pero un compuesto tal no se ha divulgado.

35 La presente invención se ha hecho en tales circunstancias donde se han descrito diversos compuestos como sondas que tienen como objetivo amiloide para diagnóstico de formación de imágenes pero no hay ningún compuesto que se confirme que tenga una propiedad tolerable clínicamente y aspira a proporcionar un compuesto que tenga afinidad con amiloide, presente eliminación suficientemente rápida a partir de tejidos normales y adicionalmente esté suprimida en toxicidad tal como mutagenicidad.

Medios para resolver los problemas

40 Los autores han encontrado que un grupo de compuestos que satisfacen los requerimientos descritos anteriormente se pueden obtener a partir de un compuesto con un esqueleto de imidazopiridina-fenilo o con un esqueleto similar a éste cuyo grupo fenilo tenga un átomo de carbono al que se una un átomo de oxígeno y así han completado la presente invención.

45 Específicamente, de acuerdo con un aspecto de la presente invención, un compuesto representado por la siguiente fórmula (1):



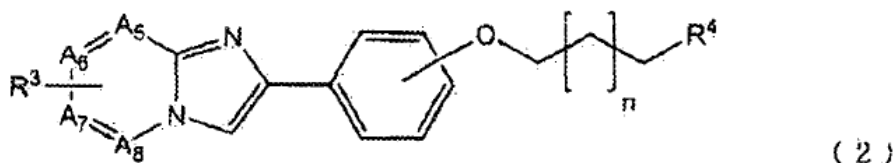
(1)

o una sal del mismo y se proporciona un agente de diagnóstico de baja toxicidad para enfermedad de Alzheimer que comprende un compuesto representado por la fórmula (1) anterior o una sal del mismo.

5 En la fórmula (1), R^1 y R^2 son sustituyentes halógenos y al menos uno de ellos es un sustituyente halógeno radiactivo. Se pueden usar diversos elementos como el halógeno y se pueden usar preferentemente flúor, bromo o yodo. Como el halógeno radiactivo, se pueden usar diversos elementos, preferentemente un halógeno seleccionado a partir de ^{18}F , ^{76}Br , ^{323}I , ^{124}I , ^{125}I o ^{131}I y más preferentemente un halógeno seleccionado a partir de ^{18}F , ^{123}I o ^{125}I .

A_1 , A_2 , A_3 y A_4 representan un carbono. En la fórmula (1), R^1 se une a un carbono representado por A_1 , A_2 , A_3 o A_4 . Además, m es un número entero de 0 a 2. Un sitio de unión de R^1 es preferentemente un carbono representado por A_3 , es decir, un carbono en posición 6.

10 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, un compuesto representado por la siguiente fórmula (2):



o una sal del mismo se proporciona.

15 En la fórmula (2), R^3 es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en un sustituyente halógeno no radiactivo, un sustituyente trialquilestannilo que tiene cadenas de alquilo con 1 a 4 átomos de carbono y un sustituyente trifenilestannilo. Como el sustituyente trialquilestannilo, se pueden usar diversos sustituyentes y se usan preferentemente el sustituyente trimetilestannilo y el sustituyente tributilestannilo.

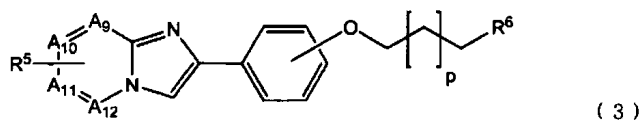
20 R^4 es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en un sustituyente halógeno no radiactivo, un sustituyente metanosulfonilo, un sustituyente trifluorometanosulfonilo y un sustituyente sulfonilo aromático. Como un sustituyente sulfonilo aromático, se pueden usar preferentemente ácido toluenosulfónico, ácido nitrobenzenosulfónico y ácido benzenosulfónico.

25 Como un sustituyente halógeno no radiactivo de R^3 y R^4 , se pueden usar diversos halógenos, pero preferentemente se puede usar un halógeno capaz de ser un objetivo de reacciones de sustituciones nucleofílicas que usan un flúor radiactivo o un halógeno capaz de ser un objetivo de reacciones de intercambio de isótopos con un yodo radiactivo y más preferentemente se pueden usar cloro, yodo o bromo. Al menos uno de R^3 y R^4 es preferentemente el sustituyente halógeno no radiactivo.

A_5 , A_6 , A_7 y A_8 representan un carbono. En la fórmula (2), R^3 se une a un carbono representado por A_5 , A_6 , A_7 o A_8 . Además, n es un número entero de 0 a 2.

30 Adicionalmente, de acuerdo con la presente invención, se proporciona un compuesto con un esqueleto de imidazopiridina-fenilo en el que un átomo de carbono en posición 4' del grupo fenilo está unido por medio de un átomo de oxígeno a una cadena de alquilo que está sustituida o no sustituida en la parte terminal del mismo. Un sitio de unión de R^3 es preferentemente un carbono representado por A_7 , es decir, un carbono en la posición 6.

35 Específicamente, de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto representado por la siguiente fórmula (3):



40 o una sal de la misma y un agente de diagnóstico de baja toxicidad para la enfermedad de Alzheimer que comprende un compuesto representado por la fórmula anterior (3) o una sal del mismo. Específicamente, un compuesto representado por la fórmula (3) anterior o una sal del mismo proporciona un agente de diagnóstico de

baja toxicidad y altamente específico para enfermedad de Alzheimer. Un agente de diagnóstico de baja toxicidad y altamente específico para enfermedad de Alzheimer aquí hace referencia a un agente de diagnóstico que tiene una propiedad de acumulación en amiloide y difícilmente acumulación en otros sitios o de eliminación rápida en otros sitios incluso si se acumula allí y así muestra alta especificidad de formación de imágenes de amiloide en un cierto periodo de tiempo después de administración.

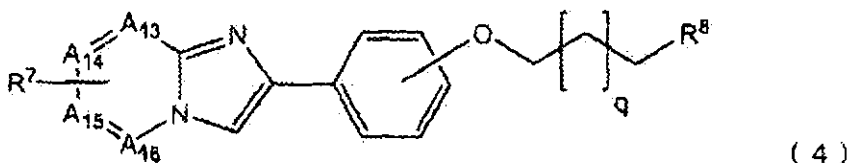
En la fórmula (3), R^5 es un sustituyente halógeno radiactivo. Como R^5 , se pueden usar diversos halógenos radiactivos, preferentemente un halógeno radiactivo seleccionado del grupo que consiste en ^{18}F , ^{76}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I y más preferentemente ^{18}F o ^{123}I .

R^6 es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en hidrógeno, grupo hidroxilo, grupo metoxi, grupo carboxilo, grupo amino, grupo N-metilamino, grupo N,N-dimetilamino y grupo ciano. R^6 es preferentemente hidrógeno, grupo hidroxilo, grupo carboxilo o grupo amino, más preferentemente hidrógeno o grupo hidroxilo y en particular preferentemente grupo hidroxilo.

A_9 , A_{10} , A_{11} y A_{12} representan un carbono. En la fórmula (3), R^5 se une a un carbono representado por A_9 , A_{10} , A_{11} o A_{12} . Además, un sitio de unión para R^5 es preferentemente un carbono representado por A_{11} , es decir, un carbono en la posición 6.

Adicionalmente, p es un número entero de 0 a 2.

De acuerdo con otro aspecto aún adicional de la presente invención, un compuesto representado por la siguiente fórmula (4):



o una sal del mismo se proporciona.

En la fórmula (4), R^7 es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en un sustituyente nitro, un grupo trialquilamonio que tiene cadenas de alquilo con 1 a 4 átomos de carbono, un sustituyente trialquilestannilo que tiene cadenas de alquilo con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo trifenilestannilo. Como un sustituyente trialquilestannilo, se pueden usar diversos sustituyentes y se usan preferentemente sustituyente trimetilestannilo y sustituyente tributylestannilo.

R^8 es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en hidrógeno, grupo hidroxilo, grupo metoxi, grupo carboxilo, grupo amino, grupo N-metilamino, grupo N,N-dimetilamino y grupo ciano. R^8 es preferentemente hidrógeno, grupo hidroxilo, grupo carboxilo o grupo amino, más preferentemente hidrógeno o grupo hidroxilo y en particular preferentemente grupo hidroxilo.

A_{13} , A_{14} , A_{15} y A_{16} representan un carbono. En la fórmula (4), R^7 se une a un carbono representado por A_{13} , A_{14} , A_{15} o A_{16} . Además, el sitio de unión de R^7 es preferentemente un carbono representado por A_{15} , es decir, un carbono en la posición 6. Adicionalmente, q es un número entero de 0 a 2.

35 Efectos de la invención

La presente invención proporciona un compuesto que tiene afinidad con amiloide y es suficientemente rápido en eliminación de los tejidos normales y está lo suficientemente suprimido en toxicidad tal como mutagenicidad así como es un agente de diagnóstico para enfermedad de Alzheimer con toxicidad baja y proporciona adicionalmente un compuesto que tiene alta afinidad con amiloide y es excelente en formación de imágenes de amiloide en un cuerpo viviente así como un agente de diagnóstico para enfermedad de Alzheimer alto en especificidad.

Mejor forma de llevar a cabo la invención.

I. Un procedimiento para síntesis de un compuesto de la fórmula (1) o (2) anterior.

(Un procedimiento para la síntesis de un compuesto precursor para un compuesto marcado con halógeno radiactivo).

De aquí en adelante, se describirá un procedimiento para síntesis de un compuesto precursor para un compuesto marcado con halógeno radiactivo de acuerdo con una realización de la presente invención, tomando el caso de 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

5 Primero, 4'-hidroxiacetofenona se deja reaccionar con bromuro cúprico para preparar 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-1, Etapa 1). En este caso, la reacción puede llevarse a cabo de acuerdo con procedimientos ordinarios, por ejemplo, el procedimiento descrito en una bibliografía, King, L. Carroll y Ostrum, G. Kenneth, Journal of Organic Chemistry, 1964, 29 (12), páginas 3459-3461.

10 Después, 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona según se prepara anteriormente se deja reaccionar con 2-amino-5-bromopiridina para preparar 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-1, Etapa 2). Esta etapa puede hacerse de acuerdo con el siguiente procedimiento.

15 Primero, 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 2-amino-5-bromopiridina se disuelven en un disolvente inactivo tal como acetonitrilo y se dejan reaccionar entre sí a temperatura de reflujo durante 2 a 6 horas para producir sal bromhidrato de 2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina en forma de precipitados blancos. El disolvente usado en este caso puede ser acetonitrilo u otro disolvente que se emplea normalmente en una reacción similar, por ejemplo, metanol y acetona. La temperatura de reacción puede ser una temperatura que permite someter a reflujo, por ejemplo, 90 °C cuando el disolvente es acetonitrilo. La cantidad del disolvente a usarse puede ser una cantidad suficiente para llevar a cabo la reacción, sin embargo, se debería destacar que si el disolvente es demasiado, llegará a ser difícil obtener precipitados de productos de reacción. Por ejemplo, cuando se usa 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona en una cantidad correspondiente a 10 mmol para la reacción, la cantidad de un disolvente a usarse puede ser de aproximadamente 40 a 50 ml.

25 A continuación, la solución de reacción se filtra para recuperar los precipitados. Los precipitados blancos están suspendidos en una solución mezclada de metanol/agua (1:1). Después, soluciones saturadas acuosas de hidrogenocarbonato de sodio se añaden a esto en una cantidad muy excesiva en relación a los precipitados suspendidos para liberar 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina como precipitados. Los precipitados generados recientemente se filtran para recuperar 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina como el compuesto objetivo en esta etapa (Fig. 1-1, Etapa 2). La cantidad de la solución mezclada de agua/metanol no está específicamente limitada en la medida en que sea suficiente para llevar a cabo la reacción. Sin embargo, se debería destacar que si la cantidad de la solución mezclada es demasiada, la precipitación de productos se dificultará. Por ejemplo, cuando se usa 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona en una cantidad correspondiente a 10 mmol, la solución mezclada de agua/metanol se puede usar en una cantidad de aproximadamente 40 a 100 ml. La cantidad de hidrogenocarbonato de sodio no está específicamente limitada en la medida en que es muy excesiva en relación a los precipitados anteriormente descritos como sustratos de reacción. Por ejemplo, cuando la reacción se lleva a cabo según las condiciones anteriormente descritas, la cantidad de una solución saturada acuosa de hidrogenocarbonato de sodio a añadirse a la solución de reacción puede ser aproximadamente 25 ml.

35 Después, la 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina preparada anteriormente se seca suficientemente, se disuelve en N,N-dimetilformamida y se añadieron a esto carbonato de potasio y 3-bromo-1-fluoropropano. La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda una noche para obtener 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-1, Etapa 3). La cantidad de carbonato de potasio a usarse puede ser una cantidad que pueda neutralizar ácido bromhídrico generado desde 3-bromo-1-fluoropropano durante la reacción y es típicamente aproximadamente el doble del otro reactivo 3-bromo-1-fluoropropano en proporción molar. El 3-bromo-1-fluoropropano puede usarse en una cantidad excesiva en relación al sustrato de la reacción y es típicamente aproximadamente 1,5 veces el sustrato de la reacción 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina en proporción molar.

45 La 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina obtenida se disuelve en dioxano y después de añadirse trietilamina, se añaden bis(tributylestaño) y una cantidad catalítica de tetraquis-trifenilfosfina de paladio. Esta mezcla de reacción se calienta a aproximadamente 90 °C y se hace reaccionar durante aproximadamente 24 horas y después un disolvente se retira por destilación y se lleva a cabo una purificación cromatográfica para obtener 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina como el compuesto objetivo (Fig. 1-1, Etapa 4). La cantidad de bis(tributylestaño) a usarse en este caso puede ser una cantidad que satisface una condición donde él está en exceso en relación al sustrato de la reacción, específicamente, él está aproximadamente 1,5 veces en proporción molar en relación al sustrato de reacción 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

55 Cuando se obtiene un compuesto con un sustituyente en la posición 6 que es un sustituyente trialquilestannilo distinto de un sustituyente tributylestannilo, se pueden usar diversos bis(trialquilestaños) que se ajustan a los propósitos en lugar de bis(tributylestaño) en la Etapa 4. Por ejemplo, cuando se sintetiza un compuesto que tiene un sustituyente trimetilestannilo como un sustituyente en la posición 6, se puede llevar a cabo una reacción similar a la anterior en la Etapa 4 usando bis(trimetilestaño).

Un compuesto con un anillo de imidazopiridina en el que el sitio de unión para el grupo funcional es un átomo de carbono distinto del carbono en la posición 6 se puede obtener usando un compuesto con un anillo de piridina al que está unido bromo en un sitio diferente en vez de 2-amino-5-bromopiridina usada en la Etapa 2. Por ejemplo, cuando

un sitio de unión para el grupo funcional es el carbono en la posición 8 en el anillo de imidazopiridina, se pueden usar 2-amino-3-bromopiridina en lugar de 2-amino-bromopiridina en la etapa 2.

Adicionalmente, un compuesto precursor con un sitio marcado con halógeno radiactivo que es un sustituyente alcoxifenilo unido a un átomo de carbono en posición 2 del anillo de imidazopiridina puede obtenerse usando 3-bromo-1-propanol en lugar de 3-bromo-1-fluoropropano y hacer reaccionar un compuesto resultante con cloruro de p-toluenosulfonilo o similar. Por ejemplo, se puede sintetizar 6-bromo-2-[4'-(3"-p-toluenosulfoniloxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina por el siguiente procedimiento.

Primero, 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina preparada anteriormente se disuelve en N,N-dimetilformamida y la solución está suplementada con carbonato de potasio y 3-bromo-1-propanol y se agita a temperatura ambiente durante toda una noche para obtener 6-bromo-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina. Esto se disuelve en piridina, se suplementa con cloruro de p-toluenosulfonilo en un baño de hielo y después se hace reaccionar a temperatura ambiente para obtener 6-bromo-2-[4'-(3"-p-toluenosulfoniloxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina como un compuesto objetivo. La cantidad del cloruro de p-toluenosulfonilo a usarse en este caso, puede ser excesiva en relación al sustrato de reacción y es típicamente aproximadamente el doble del sustrato de reacción 6-bromo-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina en proporción molar.

Un compuesto en que el sustituyente alcoxi unido al grupo fenilo que está unido a la posición 2 del anillo de imidazopiridina está unido a otra posición que la posición 4', por ejemplo, 6-tributylestannil-2-[3'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina que tiene un grupo fluoropropoxi en la posición 3', se puede sintetizar de acuerdo con la misma reacción que anteriormente salvo usando 3'-hidroxiacetofenona como un reactivo en vez de 4'-hidroxiacetofenona en la Etapa 1.

(Un procedimiento para la síntesis de un compuesto marcado con halógeno radiactivo).

A continuación, se describirá un procedimiento para la producción de un compuesto marcado con halógeno radiactivo de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, tomando el caso de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I.

Para la producción de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I, se obtiene primero una solución de yoduro de sodio ¹²³I que sirve para marcar. Un yodo radiactivo ¹²³I puede obtenerse por, por ejemplo, un procedimiento conocido en el que un gas xenón se usa como un objetivo y se expone a bombardeo de protones. Este yodo radiactivo ¹²³I se elabora dentro de una solución de yoduro de sodio ¹²³I usando procedimientos conocidos y se usa para el marcado.

Después, el precursor de marcado 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina se disuelve en un disolvente orgánico inerte y una solución de la mayor parte de yodo ¹²³I disuelto en agua, un ácido y un agente oxidante se añaden a esto y se dejan reaccionar para obtener 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-imidazo[1,2-a]piridina ¹²³I en forma de un compuesto objetivo. Según el disolvente orgánico inerte que disuelve el compuesto de precursor, diversos disolventes que no tienen ninguna reactividad con el precursor de marcado y la mayor parte de yodo ¹²³I se pueden usar y preferentemente se puede usar metanol.

Como el ácido, se pueden usar diversos ácidos y preferentemente ácido clorhídrico.

El agente oxidante no está particularmente limitado en la medida en que puede efectuar la oxidación de yodo en la solución de reacción y es preferentemente peróxido de hidrógeno o ácido peracético. La cantidad del agente oxidante a añadirse puede ser una cantidad suficiente para oxidar yodo en la solución de reacción.

Se puede sintetizar un compuesto marcado con un halógeno radiactivo distinto de yodo marcando un precursor de marcado que se ajusta a un propósito de síntesis con un halógeno radiactivo que se ajusta al propósito. Por ejemplo, con el fin de sintetizar 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-bromoimidazo[1,2-a]piridina ¹⁸F, el precursor de marcado 6-bromo-2-[4'-(3"-p-toluenosulfoniloxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina puede hacerse reaccionar con ión fluoruro ¹⁸F en presencia de un catalizador de transferencia de fase y carbonato de potasio.

II. Un procedimiento para síntesis de un compuesto de la fórmula (3) o (4) anterior.

(Un procedimiento para la síntesis de un compuesto precursor para un compuesto marcado con halógeno radiactivo).

De aquí en adelante, se describirá un procedimiento de síntesis de un compuesto precursor para un compuesto marcado con halógeno radiactivo de acuerdo con una realización de la presente invención, tomando el caso de 6-tributylestannil-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

Para la producción de 6-tributylestannil-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina, primero, se deja reaccionar 4'-hidroxi-acetofenona con bromuro cúprico para preparar 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 2-1, Etapa 1). En este caso, la reacción puede llevarse a cabo de acuerdo con procedimientos ordinarios, por ejemplo, el procedimiento

descrito en una bibliografía, King, L. Carroll y Ostrum, G. Kenneth, *Journal of Organic Chemistry*, 1964, 29 (12), páginas 3459-3461.

Después, 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona según se prepara anteriormente se deja reaccionar con 2-amino-5-yodopiridina para preparar 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-1, Etapa 2). Esta etapa puede hacerse de acuerdo con el siguiente procedimiento.

Primero, 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 2-amino-5-yodopiridina se disuelven en un disolvente inactivo tal como acetonitrilo y se dejan reaccionar entre sí a temperatura de reflujo durante 2 a 6 horas para producir sal bromhidrato de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina en forma de precipitados blancos. El disolvente usado en este caso puede ser acetonitrilo u otro disolvente que se emplea normalmente en una reacción similar, por ejemplo, metanol y acetona. La temperatura de reacción puede ser una temperatura que permite someter a reflujo, por ejemplo, 110 °C cuando el disolvente es acetonitrilo. La cantidad del disolvente a usarse puede ser una cantidad suficiente para llevar a cabo la reacción, sin embargo, se debería destacar que si el disolvente es demasiado, llegará a ser difícil obtener precipitados de productos de reacción. Por ejemplo, cuando se usa 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona en una cantidad correspondiente a 10 mmol para la reacción, la cantidad de un disolvente a usarse puede ser de aproximadamente 40 a 80 ml.

A continuación, la solución de reacción se filtra para recuperar los precipitados. Los precipitados blancos están suspendidos en una solución mezclada de metanol/agua (1:1). Después, una solución saturada acuosa de hidrogenocarbonato de sodio se añade a esto en una cantidad muy excesiva en relación a los precipitados suspendidos para liberar 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina como precipitados. Los precipitados generados recientemente se filtran para recuperar 2-(4'-hidroxifenil)-6-imidazo[1,2-a]piridina como el compuesto objetivo en esta etapa (Fig. 2-1, Etapa 2). La cantidad de la solución mezclada de metanol/agua no está específicamente limitada en la medida en que sea suficiente para llevar a cabo la reacción. Sin embargo, se debería destacar que si la cantidad de la solución mezclada es demasiada, la precipitación de productos se dificultará. Por ejemplo, cuando se usa 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona en una cantidad correspondiente a 10 mmol, la solución mezclada de metanol/agua se puede usar en una cantidad de aproximadamente 40 a 100 ml. La cantidad de hidrogenocarbonato de sodio no está específicamente limitada en la medida en que es muy excesiva en relación a los precipitados anteriormente descritos como sustratos de reacción. Por ejemplo, cuando la reacción se lleva a cabo según las condiciones anteriormente descritas, la cantidad de una solución saturada acuosa de hidrogenocarbonato de sodio a añadirse a la solución de reacción puede ser aproximadamente 50 ml.

Aquí, se hacen reaccionar entre sí 2-bromoetanol y t-butildifenilclorosilano (TBDPSCI) para preparar 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano (Fig. 2-1, Etapa 3), por separado. En este ejemplo, la reacción se puede llevar a cabo de acuerdo con procedimientos importantes, por ejemplo, el procedimiento descrito en una bibliografía, *Organic Syntheses*, Coll. Vol. 10, página 170 (2004); Vol. 79, página 59 (2002).

Después, la 2-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina preparada anteriormente se seca suficientemente, se disuelve en N,N-dimetilformamida y se añadieron a esto carbonato de potasio y 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano. Después esta mezcla se agitó a aproximadamente 90 °C durante aproximadamente 2 horas, se añadió una solución de cloruro de sodio saturada, se extrajo con acetato de etilo, se concentró una fase de acetato de etilo y se llevó a cabo purificación de cromatograma para obtener 2-[4'-(2"-t-butildifenilsiloxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-1, Etapa 4). La cantidad de carbonato de potasio a usarse puede ser una cantidad que pueda neutralizar ácido bromhídrico generado a partir de 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano durante la reacción y es típicamente del doble al triple del otro reactivo 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano en proporción molar. Adicionalmente, el 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano se puede usar en una cantidad excesiva en relación al sustrato de reacción y es típicamente aproximadamente 1,5 veces el sustrato de reacción 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina en proporción molar.

Entonces, el grupo t-butildifenilsililo de la 2-[4'-(2"-t-butildifenilsiloxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina obtenida se desprotege usando fluoruro de tetrabutilamonio para obtener 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-1, Etapa 5). En este ejemplo, la reacción se puede llevar a cabo de acuerdo con procedimientos importantes, por ejemplo, el procedimiento descrito en una bibliografía, *Organic Syntheses*, Coll. Vol. 9, página 417 (1998); Vol. 74, página 248 (1997)).

La 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina obtenida se disolvió en dioxano y se añade a esto trietilamina. Después, bis(tributilestaño) y una cantidad catalítica de tetraquis-trifenilfosfina de paladio se añaden a esto. Esta mezcla de reacción se calienta a aproximadamente 90 °C y se hace reaccionar durante aproximadamente 24 horas y después se retira por destilación un disolvente y la purificación cromatográfica se lleva a cabo para obtener 6-tributilestannil-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina como el compuesto objetivo (Fig. 2-2, Etapa 1). La cantidad de bis(tributilestaño) a usarse en este caso puede ser una cantidad que satisface una condición donde él está en exceso en relación al sustrato de la reacción, específicamente, él está aproximadamente 1,5 veces en proporción molar en relación al sustrato de reacción 2-bromo-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina.

5 Cuando se obtiene un compuesto con un sustituyente en la posición 6 en el anillo de imidazopiridina que es un sustituyente trialquilestannilo distinto de un sustituyente tributilestannilo, se pueden usar diversos bis(trialquilestaños) que se ajustan a los propósitos en lugar de bis(tributilestaño) en la Fig. 2-2, Etapa 1. Por ejemplo, cuando se sintetiza un compuesto que tiene un sustituyente trimetilestannilo como un sustituyente en la posición 6, se puede llevar a cabo una reacción similar a la anterior en la Fig. 2-2, Etapa 1 usando bis(trimetilestaño).

10 Un compuesto con un anillo de imidazopiridina en el que el sitio de unión para el grupo funcional es un átomo de carbono distinto del carbono en la posición 6 se puede obtener usando un compuesto con un anillo de piridina al que está unido yodo en un sitio diferente en vez de 2-amino-5-bromopiridina usada en la Figura 2-1, Etapa 2. Por ejemplo, cuando un sitio de unión para el grupo funcional es el carbono en la posición 8 en el anillo de imidazopiridina, se puede usar 2-amino-3-bromopiridina en lugar de 2-amino-5 bromopiridina en la Figura 2-1, Etapa 2.

(Un procedimiento para la síntesis de un compuesto marcado con halógeno radiactivo).

15 A continuación, se describirá un procedimiento para producción de un compuesto marcado con halógeno radiactivo de acuerdo con otro aspecto de la presente invención, tomando el caso de compuestos marcados con yodo radiactivo.

20 La síntesis de compuestos marcados con yodo radiactivo se puede llevar a cabo disolviendo el compuesto precursor marcador preparado según el procedimiento anterior en un disolvente orgánico, añadiendo a esto una solución de yoduro de sodio ^{123}I obtenido por procedimientos conocidos, añadiendo un ácido y un agente oxidante a esto para efectuar la reacción. Según el disolvente orgánico inerte que disuelve el compuesto de precursor, diversos disolventes que no tienen ninguna reactividad con el precursor de marcado, yoduro de sodio ^{123}I y similares se pueden usar y preferentemente se puede usar metanol.

Como el ácido, se pueden usar diversos ácidos y preferentemente ácido clorhídrico.

25 El agente oxidante no está particularmente limitado en la medida en que puede efectuar la oxidación de yodo en la solución de reacción y es preferentemente peróxido de hidrógeno o ácido peracético. La cantidad del agente oxidante a añadirse puede ser una cantidad suficiente para oxidar yodo en la solución de reacción.

30 Se puede sintetizar un compuesto marcado con un halógeno radiactivo distinto de yodo marcando un precursor de marcado que se ajusta a un propósito de síntesis con un halógeno radiactivo que se ajusta al propósito. Por ejemplo, con el fin de sintetizar 6-fluoro-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina ^{18}F , el precursor de marcado 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-nitroimidazo[1,2-a]piridina puede hacerse reaccionar con ión fluoruro ^{18}F en presencia de un catalizador de transferencia de fase y carbonato de potasio.

(Procedimientos de preparar y usar un agente de diagnóstico de acuerdo con la presente invención)

35 El agente de diagnóstico de acuerdo con la presente invención puede prepararse como una solución que comprende el presente compuesto radiactivo marcado con halógeno mezclado en agua, una solución salina fisiológica o una solución de Ringer ajustada opcionalmente a un pH apropiado, como otros agentes diagnósticos radiactivos conocidos comúnmente. En este caso, la concentración del presente compuesto debería ajustarse a no más de la concentración a la que se asegura la estabilidad del presente compuesto. La dosificación del presente compuesto no está específicamente limitada en la medida en que sea suficiente para obtener una imagen de distribución de un agente administrado. Por ejemplo, en el caso de compuestos marcados con yodo-123 (^{123}I) y compuestos marcados con flúor-18 (^{18}F), pueden administrarse aproximadamente 50 a 600 MBq por cuerpo adulto de 60 kg de peso intravenosamente o localmente. Pueden obtenerse imágenes de la distribución de agentes administrados por procedimientos conocidos. Por ejemplo, se pueden obtener imágenes de compuestos marcados con yodo-123 (^{123}I) por un aparato SPECT mientras que se pueden obtener imágenes de compuestos marcados con flúor-18 (^{18}F) por un aparato PET.

Ejemplo

45 De aquí en adelante, la presente invención se describe a continuación en más detalle por medio de Ejemplos, Ejemplos Comparativos y Ejemplos de Referencia. Sin embargo, estos Ejemplos nunca limitan el alcance de la presente invención.

Ejemplo I

50 En los siguientes Ejemplos, los nombres de los compuestos individuales usados en el experimento se definen como se muestra en la Tabla 1-1.

Tabla 1-1

Nombre del compuesto	Nombre común
Compuesto I-1	6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina
Compuesto I-2	2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina
Compuesto I-3	6-bromo-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina
Compuesto I-4	2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina
Compuesto I-5	2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]pirimidina
Compuesto I-6	2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²⁵ I
Compuesto I-7	2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³ I
Compuesto I-8	6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina ¹⁸ F
Compuesto I-9	2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³ I

Ejemplo I-1: síntesis de 6-tributilestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina

5 Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-1, Etapa 1).

15 2,15 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 1,74 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-amino-5-bromopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 105 °C durante 6 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 20 ml de agua y 20 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 25 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 2,41 g (que corresponden a 8,32 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-1, Etapa 2).

25 290 mg (que corresponden a 1,0 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina que se secaron suficientemente eliminando humedad se disolvieron en 10 ml de N,N-dimetilformamida y se añadieron 413 mg (que corresponden a 3,0 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se suplementó con 138 µl (que corresponden a 1,5 mmol) de 1-bromo-3-fluoropropano y después se agitó a temperatura ambiente durante 20,5 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por HPLC preparativa de reciclaje (aparato de HPLC: LC-908 (con nombre comercial; elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase móvil: cloroformo), obteniéndose 302 mg (que corresponden a 0,866 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-1, Etapa 3).

35 85 mg (que corresponden a 0,24 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina se disolvieron en 10 ml de dioxano y se añadieron a esto 2 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 185 µl (que corresponden a 0,36 mmol) de bis(tributilestaño) y 20 mg (a una cantidad catalítica) de tetraquis-trifenilfosfina de paladio. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 24 horas, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por la TLC preparativa (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 6/4). Adicionalmente, el producto en bruto resultante se purificó por HPLC preparativa de reciclaje (aparato de HPLC: LC-908 (con nombre comercial; elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase

móvil: cloroformo), obteniéndose 42 mg (que corresponden a 74,2 μ mol) de 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-1, Etapa 4).

Los resultados de la medición de RMN de la 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

- 5 Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ^1H (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,01-7,93 (m, 1H), 7,91-7,87 (m, 2H), 7,75-7,74 (m, 1H), 7,63-7,58 (m, 1H), 7,20-7,11 (m, 1H), 7,00-6,95 (m, 2H), 4,67 (dt, $J_{\text{HF}} = 47,0$ Hz, $J = 6,0$ Hz, 2H), 4,15 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,20 (dqint., $J_{\text{HF}} = 26,1$ Hz, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,64-1,47 (m, 6H), 1,39-1,31 (m, 6H), 1,19-1,04 (m, 6H), 0,91 (t, $J = 7,2$ Hz, 9H).

10 **Ejemplo I-2: síntesis de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{125}I**

A 53 μ l de una solución de 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina en metanol (concentración: 1 mg/ml), se añadieron 100 μ l de ácido clorhídrico a 1 mol/l, yoduro de sodio ^{125}I de 11,1 MBq (20 μ l en volumen) y 10 μ l de peróxido de hidrógeno al 10 % (p/v). Después la solución mezclada se dejó reposar a temperatura ambiente durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones, obteniéndose fracción de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazol-piridina ^{125}I .

Condiciones de HPLC:

Columna: Phenomenex Luna C18 (nombre comercial; elaborada por Phenomenex Co.; tamaño: 4,6 x 150 mm). Fase móvil: ácido trifluoroacético al 0,1 %/acetonitrilo = 20/80 a 0/100 (17 minutos, gradiente lineal). Caudal: 1,0 ml/min.

- 20 Detector: absorciómetro ultravioleta visible (longitud de onda de detección: 282 nm) y contador de radiactividad (elaborado por Raytest: tipo STEFFI).

Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters: la cantidad envasada del agente de envasado: 130 mg) de tal forma que la columna adsorbe y recoge 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{125}I . La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar 1 ml de etanol a través de ella eluyendo 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazol[1,2-a]piridina ^{125}I . La cantidad de la radiactividad del compuesto obtenido fue 5,5 MBq (al final de la síntesis). Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las siguientes condiciones y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 96,0 %.

- 30 Condiciones de análisis de TLC:

Placa de TLC: RP-18F254 (nombre comercial; elaborado por Merck & Co., Inc.). Fase móvil: metanol/agua = 20/1.

Detector: Bio-imaging Analyzer, BAS-2500 (tipo: BAS-2500 elaborado por FUJIFILM Corporation)

Ejemplo I-3: síntesis de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I

- 35 A 70 μ l de una solución de 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina en metanol (concentración: 1 mg/ml), se añadieron 100 μ l de ácido clorhídrico a 1 mol/l, yoduro de sodio ^{123}I de 260-330 MBq (30-60 μ l en volumen), 20 ml de 1 mmol/l de solución de yoduro de sodio y 20 ml de peróxido de hidrógeno al 10 % (p/v). Después la solución mezclada se calentó a 50 °C durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones que en el Ejemplo I-2, obteniéndose 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I como una fracción.

- 40 Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters: la cantidad envasada del agente de envasado: 130 mg) de tal forma que la columna adsorbe y recoge 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I . La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar 1 ml de etanol a través de ella eluyendo 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazol[1,2-a]piridina ^{123}I . La cantidad de la radiactividad del compuesto obtenido fue 112-153 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las mismas condiciones que en el Ejemplo I-2 y como un resultado la pureza radioquímica del compuesto fue del 97,0 %.

Ejemplo I-4: síntesis de 6-bromo-2-[4'-(3"-p-toluenosulfoniloxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina

- 50 Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura

ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-2, Etapa 1).

2,15 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 1,74 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-amino-5-bromopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 105 °C durante 6 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 20 ml de agua y 20 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 25 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 2,41 g (que corresponden a 8,32 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-2, Etapa 2).

1,45 g (que corresponden a 5,0 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina que se secaron suficientemente eliminando humedad se disolvieron en 50 ml de N,N-dimetilformamida y se añadieron 2,07 g (que corresponden a 15,0 mol) de carbonato de potasio. La mezcla se suplementó con 680 µl (que corresponden a 7,5 mmol) de 3-bromo-1-propanol y después la solución se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se recrystalizó a partir de metanol obteniéndose 1,28 g (que corresponden a 3,67 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-2, Etapa 3).

177 mg (que corresponden a 0,5 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina se disuelven en 10 ml de piridina y se añadieron a esto 197 mg (que corresponden a 1,0 mmol) de cloruro de p-toluenosulfonilo en un baño de hielo. Después la solución de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por HPLC preparativa de reciclaje (aparato de HPLC: LC-908 (con nombre comercial: elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase móvil: cloroformo), obteniéndose 87 mg (que corresponden a 0,17 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-p-toluenosulfoniloxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-2, Etapa 4).

Los resultados de la medición de RMN de la 6-bromo-2-[4'-(3"-p-toluenosulfoniloxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ¹H (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,26-8,24 (m, 1H), 7,84-7,80 (m, 2H), 7,77-7,74 (m, 2H), 7,74 (s, 1H), 7,50 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,26-7,23 (m, 2H), 7,21 (dd, J = 9,7, 2,0 Hz, 1H), 6,84-6,80 (m, 2H), 4,26 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,98 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,35 (s, 3H), 2,13 (quint., J = 6,0 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 125 MHz): δ 158,67, 146,53,144,79, 144,08, 132,77, 129,80, 127,87, 127,81, 127,28, 126,20, 125,43, 117,87, 114,63, 107,40, 106,76, 66,97, 63,08, 28,85, 21,60.

Ejemplo I-5: síntesis de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina ¹⁸F

H₂¹⁸O que contiene ión fluoruro ¹⁸F (radiactividad: 4210 MBq, un valor convertido al principio de síntesis) se hizo pasar a través de un Sep-Pak Light QMA (con nombre comercial; elaborado por Waters) adsorbiendo y recogiendo iones fluoruro ¹⁸F. Después, una solución de carbonato de potasio (66,7 mmol/l, 0,3 ml) y 1,5 ml de una solución de 20 mg (que corresponde a 53,2 µmol) de Kryptofix 222 (con nombre comercial; elaborado por Merck Co., Ltd.) en acetonitrilo se hacen pasar a través de la columna eluyendo los iones fluoruro ¹⁸F.

El eluato se calentó en corriente de gas helio a 100 °C evaporando agua y se suplementó con acetonitrilo (0,3 ml x 2) y se destiló azeotrópicamente hasta sequedad. Para esto, 1,0 ml de una solución de 5 mg (que corresponden a 10,0 µmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-p-toluenosulfoniloxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina sintetizada anteriormente en el Ejemplo I-4 en dimetilformamida se añaden a esto y se calienta a 130 °C durante 10 minutos. Después de que la solución de la reacción se enfrió hasta 30 °C, se hizo pasar a través de un Sep-Pak Plus Silica (nombre comercial: Waters) cada vez la solución de la reacción se suplementó con éter (3,5 ml x 3). La solución de éter que se había hecho pasar se calentó a 60 °C en corriente de gas helio y se concentró. La solución concentrada se diluyó con 2 ml de una solución mezclada de metanol/agua/trietilamina = 800:200:1.

La solución resultante se purificó por HPLC (columna: Capcell PakC18 MG (15 mm de diámetro interno x 250 mm, elaborada por Shiseido Co., Ltd.); disolvente de elución: metanol/agua/trietilamina = 700/300/1). Una fracción de

eluat que contiene el compuesto objetivo se diluye con 100 ml de agua y después se hace pasar a través de un Plus C18 de Sep-Pak (nombre comercial, elaborado por Waters) adsorbiendo y recogiendo el compuesto objetivo. Después, 20 ml de agua se hicieron pasar a través de la columna lavándola. Después, se hicieron pasar 4 ml de etanol a través de la columna eluyendo una solución de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina ¹⁸F en etanol. El nivel de radiactividad obtenido fue 769 MBq (107 min. después del comienzo de síntesis). De acuerdo con el análisis de TLC sobre las condiciones siguientes, la pureza radioquímica de la misma fue del 95,9 %.

Condiciones de análisis de TLC:

Placa de TLC: Gel de Sílice 60 F₂₅₄ (nombre comercial; elaborado por Merck & Co., Inc.). Fase móvil: cloroformo/metanol/trietilamina = 500/10/0,5. Detector: Rita Star (nombre comercial; elaborado por Raytest)

10 **Ejemplo I-6: síntesis de 6-bromo-2-[4'-(2"-p-toluenosulfoniloxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina**

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-3, Etapa 1).

2,15 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 1,74 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-amino-5-bromopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 105 °C durante 6 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 20 ml de agua y 20 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 25 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 2,41 g (que corresponden a 8,32 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-3, Etapa 2).

621 mg (que corresponden a 10,0 mmol) de etilenoglicol se disolvieron en 100 ml de cloruro de metileno. A esta solución sometida a un baño de hielo, se añadieron 3,49 g (que corresponden a 15,0 mmol) de óxido de plata, 350 mg (que corresponden a 2,1 mmol) de yoduro de potasio y 2,10 g (que corresponden a 11,0 mmol) de p-toluenosulfonilcloruro. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 2 horas. Se filtraron materias insolubles fuera de la mezcla de reacción y se lavaron con acetato de etilo. Los lavados se combinaron con el filtrado y la mezcla se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 1/1) obteniéndose 643 mg (que corresponden a 2,97 mmol) de 2-hidroxietil-p-toluenosulfonato (Fig. 1-3, Etapa 3).

A 10 ml de una solución de 639 mg (que corresponden a a 2,95 mmol) de 2-hidroxietil-p-toluenosulfonato en tetrahidrofurano, se añadieron 388 mg (que corresponden a 1,34 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina y 780 mg (que corresponden a 2,97 mmol) de trifetilfosfina. Adicionalmente, 6 ml de N,N-dimetilformamida se añadieron a esto disolviendo completamente los contenidos. A la mezcla de reacción, se añadieron 0,58 ml (que corresponden a 2,95 mmol) de diisopropilazodicarboxilato. Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas, la solución de reacción se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 65/35). La materia insoluble en cloroformo se filtró aparte de las fracciones que contienen un compuesto objetivo. Adicionalmente, el producto en bruto resultante se purificó por HPLC preparativa de reciclaje (aparato de HPLC: LC-908 (con nombre comercial; elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase móvil: cloroformo), obteniéndose 79,7 mg (que corresponden a 164 μmol) de 6-bromo-2-[4'-(2"-p-toluenosulfoniloxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-3, Etapa 4).

Los resultados de la medición de RMN de la 6-bromo-2-[4'-(2"-p-toluenosulfoniloxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina resultante se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ¹H (disolvente: dimetilformamida-d₇, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,73-8,71 (m, 1H), 8,19-8,17 (m, 1H), 7,81-7,77 (m, 2H), 7,73-7,70 (m, 2H), 7,41-7,38 (m, 1H), 7,39-7,36 (m, 2H), 7,20 (dd, J = 9,5, 1,9 Hz), 6,85-6,81 (m, 2H), 4,34-4,31 (m, 2H), 4,19-4,15 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (disolvente: dimetilformamida- d_7 , frecuencia de resonancia: 125 MHz): δ 158,32,145,91,145,24,143,84, 133,15, 130,18, 127,83, 127,54, 127,19, 127,15, 126,90, 117,56, 114,86, 108,73, 105,80, 69,28, 65,88, 20,69.

Ejemplos de Referencia I-1: síntesis de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (forma fluorada no radioactiva)

- 5 Como una muestra para evaluar afinidad con amiloide, solubilidad en grasas y mutagenicidad del presente compuesto, se sintetizó una forma fluorada no radiactiva de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-4, Etapa 1).

2,15 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 1,74 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-amino-5-bromopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 105 °C durante 6 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 20 ml de agua y 20 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 25 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 2,41 g (que corresponden a 8,32 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-4, Etapa 2).

290 mg (que corresponden a 1,0 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina que se secaron suficientemente eliminando humedad se disolvieron en 10 ml de N,N-dimetilformamida y se añadieron 413 mg (que corresponden a 3,0 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se suplementó con 138 μl (que corresponden a 1,5 mmol) de 1-bromo-3-fluoropropano y después se agitó a temperatura ambiente durante 20,5 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por HPLC preparativa de reciclaje (aparato de HPLC: LC-908 (con nombre comercial; elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase móvil: cloroformo), obteniéndose 302 mg (que corresponden a 0,866 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-4, Etapa 3).

Los resultados de la medición de RMN de la 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

- 40 Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ^1H (disolvente: cloroformo- d_1 , frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,23 (dd, $J = 1,9, 0,2$ Hz, 1H), 7,88-7,83 (m, 2H), 7,51-7,48 (m, 1H), 8,21 (dd, $J = 9,5, 1,9$ Hz, 1H), 6,99-6,95 (m, 2H), 4,67 (dt, $^2J_{\text{HF}} = 47,1$ Hz, $J = 5,9$ Hz, 2H), 4,15 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 2,19 (dqint., $^3J_{\text{HF}} = 25,9$ Hz, $J = 5,9$ Hz, 2H).

45 RMN de ^{13}C (disolvente: cloroformo- d_1 , frecuencia de resonancia: 125 MHz): δ 159,01, 146,61,144,07, 127,81, 127,38, 126,15, 125,41, 117,87, 114,78, 107,41, 106,71, 80,71 (d, $^1J_{\text{CF}} = 164,6$ Hz), 63,59 (d, $^3J_{\text{CF}} = 5,3$ Hz), 30,43 (d, $^2J_{\text{CF}} = 19,7$ Hz).

RMN de ^{19}F (disolvente: cloroformo- d_1 , frecuencia de resonancia: 470 MHz): δ -222,07 (dd, $^2J_{\text{HF}} = 47,1$ Hz, $^3J_{\text{HF}} = 25,9$ Hz).

- 50 **Ejemplo de Referencia I-2: síntesis de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma fluorada no radioactiva)**

Como una muestra para evaluar afinidad con amiloide, solubilidad en grasas y mutagenicidad de los presentes compuestos, se sintetizó una forma fluorada no radiactiva de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina.

55 Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la

mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-5, Etapa 1).

441 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 449 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-amino-5-yodopiridina se disolvieron en 15 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 110 °C durante 5 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 10 ml de agua y 10 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 10 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 526 mg (que corresponden a 1,56 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-5, Etapa 2).

673 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina que se secaron suficientemente eliminando humedad se disolvieron en 25 ml de N,N-dimetilformamida y se añadieron a esto 831 mg (que corresponden a 6,0 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se suplementó con 275 µl (que corresponden a 3,0 mmol) de 1-bromo-3-fluoropropano y después se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo) y adicionalmente por HPLC preparativa de reciclaje (aparato de HPLC: LC-908 (con nombre comercial; elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase móvil: cloroformo), obteniéndose 349 mg (que corresponden a 0,881 mmol) de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-5, Etapa 3).

Los resultados de la medición de RMN de la 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ¹H (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,37-8,35 (m, 1H), 7,88-7,84 (m, 2H), 7,72 (s, 1H), 7,42-7,39 (m, 1H), 7,32 (dd, J = 9,4, 1,6 Hz, 1H), 6,99-6,96 (m, 2H), 4,67 (dt, ²J_{HF} = 47,0 Hz, J = 6,0 Hz, 2H), 4,15 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,20 (dqint., ³J_{HF} = 25,9 Hz, J = 6,0 Hz, 2H).

RMN de ¹³C (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 125 MHz): δ 159,01, 146,23, 144,16, 132,36, 130,28, 127,42, 126,05, 118,31, 114,77, 106,90, 80,72 (d, ¹J_{CF} = 164,6 Hz), 74,80, 63,57 (d, ³J_{CF} = 5,3 Hz), 30,42 (d, ²J_{CF} = 20,2 Hz).

RMN de ¹⁹F (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 470 MHz): δ -222,09 (dd, ²J_{HF} = 47,0 Hz, ³J_{HF} = 25,9 Hz).

40 Ejemplo de Referencia I-3: síntesis de 6-bromo-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (forma fluorada no radioactiva)

Como una muestra para evaluar afinidad con amiloide, solubilidad en grasas y mutagenicidad de los presentes compuestos, se sintetizó una forma fluorada no radiactiva de 6-bromo-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-6, Etapa 1).

2,15 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 1,74 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-amino-5-bromopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 105 °C durante 6 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución

mezclada de 20 ml de agua y 20 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 25 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 2,41 g (que corresponden a 8,32 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-6, Etapa 2).

578 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina que se secaron suficientemente eliminando humedad se disolvieron en 20 ml de N,N-dimetilformamida y se añadieron 830 mg (que corresponden a 6,0 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se suplementó con 510 μ l (que corresponden a 3,0 mmol) de 2-fluoroetil-p-toluenosulfonato y después la solución se agitó a temperatura ambiente durante 44,5 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 100/1), reciclando HPLC preparativa (aparato de HPLC: LC-908 (con nombre comercial; elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase móvil: cloroformo) y adicionalmente por TLC preparativa (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 50:1) obteniéndose 446 mg (que corresponden a 1,33 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-6, Etapa 3).

Los resultados de la medición de RMN de la 6-bromo-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ^1H (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,23-8,21 (m, 1H), 7,87-7,84 (m, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,51-7,47 (m, 1H), 7,20 (dd, J = 9,5, 1,9 Hz, 1H), 7,01-6,97 (m, 2H), 4,84-4,71 (m, 2H), 4,30-4,21 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 125 MHz): δ 158,62, 146,46, 144,06, 127,85, 127,41, 126,58, 125,42, 117,87, 114,91, 107,49, 106,74, 81,86 (d, $^1J_{\text{CF}}$ = 170,8 Hz), 67,15 (d, $^2J_{\text{CF}}$ = 20,2 Hz).

RMN de ^{19}F (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 470 MHz): δ -223,80 (dd, $^2J_{\text{HF}}$ = 47,4 Hz, $^3J_{\text{HF}}$ = 27,6 Hz).

Ejemplo de Referencia I-4: Síntesis de 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma fluorada no radioactiva)

Como una muestra para evaluar afinidad con amiloide, solubilidad en grasas y de mutagenicidad de los presentes compuestos, se sintetizó una forma fluorada no radiactiva de 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina.

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-7, Etapa 1).

441 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 449 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-amino-5-yodopiridina se disolvieron en 15 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 110 °C durante 5 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 10 ml de agua y 10 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 10 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 526 mg (que corresponden a 1,56 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-7, Etapa 2).

368 mg (que corresponden a 1,1 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina que se secaron suficientemente eliminando humedad se disolvieron en 15 ml de N,N-dimetilformamida y se añadieron a esto 453 mg (que corresponden a 3,3 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se suplementó con 280 μ l (que corresponden a 1,6 mmol) de 2-fluoroetil-p-toluenosulfonato y después la solución se agitó a temperatura ambiente durante 22 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía

5 en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 1/1) y adicionalmente por HPLC preparativa de reciclaje (aparato de HPLC: LC- 908 (con nombre comercial; elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase móvil: cloroformo), obteniéndose 222 mg (que corresponden a 0,580 mmol) de 2-[4'-(2"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-7, Etapa 3).

Los resultados de la medición de RMN de la 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

10 Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ^1H (disolvente: cloroformo- d_1 , frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,35-8,33 (m, 1H), 7,88-7,84 (m, 2H), 7,70 (s, 1H), 7,39 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 7,31 (dd, $J = 9,4, 1,8$ Hz, 1H), 7,01-6,97 (m, 2H), 4,84-4,71 (m, 2H), 4,30-4,22 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (disolvente: cloroformo- d_1 , frecuencia de resonancia: 125 MHz): δ 158,62, 146,08, 144,16, 132,38, 130,30, 127,44, 126,52, 118,30, 114,91, 106,99, 81,86 (d, $^2J_{\text{CF}} = 170,8$ Hz), 74,82, 67,15 (d, $^3J_{\text{CF}} = 20,6$ Hz).

15 RMN de ^{19}F (disolvente: cloroformo- d_1 , frecuencia de resonancia: 470 MHz): δ -223,74 (dd, $^2J_{\text{HF}} = 47,4$ Hz, $^3J_{\text{HF}} = 27,7$ Hz).

Ejemplo de Referencia I-5: síntesis de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]pirimidina (forma fluorada no radioactiva)

20 Como una muestra para evaluar afinidad con amiloide, solubilidad en grasas y mutagenicidad de los presentes compuestos, se sintetizó una forma fluorada no radiactiva de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina.

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recristalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-8, Etapa 1).

30 646 mg (que corresponden a 3,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 668 mg (que corresponden a 3,0 mmol) de 2-amino-5-yodopirimidina se disolvieron en 20 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 110 °C durante 8 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 10 ml de agua y 10 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 15 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 3 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 737 mg (que corresponden a 2,19 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]pirimidina (Fig. 1-8, Etapa 2).

40 339 mg (que corresponden a 1,0 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]pirimidina que se secaron suficientemente eliminando humedad se disolvieron en 20 ml de N,N-dimetilformamida y se añadieron a esto 414 mg (que corresponden a 3,0 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se suplementó con 138 μl (que corresponden a 1,5 mmol) de 1-bromo-3-fluoropropano y después se agitó a temperatura ambiente durante 22 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se recristalizó a partir de N,N-dimetilformamida obteniéndose 236 mg (que corresponden a 0,594 mmol) de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]pirimidina (Fig. 1-8, Etapa 3).

50 Los resultados de la medición de RMN de la 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]pirimidina resultante (estándar interno: dimetilsulfóxido) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ^1H (disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 , frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 9,27 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 8,55 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,94-7,90 (m, 2H), 7,06-7,02 (m, 2H), 4,62 (dt, $^2J_{\text{HF}} = 47,2$ Hz, $J = 6,1, 2$ Hz), 4,14 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H), 2,13 (dq, $^3J_{\text{HF}} = 25,5$ Hz, $J = 6,1$ Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (disolvente: dimetilsulfóxido-d₆, frecuencia de resonancia: 125 MHz): δ 159,16, 154,12, 146,54, 146,26, 139,00, 127,60, 126,06, 115,21, 106,52, 81,15 (d, $^1\text{J}_{\text{CF}} = 161,7$ Hz), 74,43, 64,07 (d, $^3\text{J}_{\text{CF}} = 5,8$ Hz), 30,13 (d, $^2\text{J}_{\text{CF}} = 19,7$ Hz),

5 RMN de ^{19}F (disolvente: dimetilsulfóxido-d₆, frecuencia de resonancia: 470 MHz): δ -220,13 (tt, $^2\text{J}_{\text{HF}} = 47,2$ Hz, $^3\text{J}_{\text{HF}} = 25,5$ Hz).

Ejemplo de Referencia I-6: síntesis de IMPY ^{125}I

IMPY ^{125}I se sintetizó de acuerdo con las etapas siguientes para usar en Ejemplos Comparativos para evaluación en unión a amiloide.

10 De acuerdo con el procedimiento descrito en una bibliografía (Zhi-Ping Zhuang y cols., J. Med. Chem, 2003, 46, páginas 237-243), se sintetizó 6-tributylestannil-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]imidazo[1,2-a]piridina y se disolvió en metanol (concentración: 1 mg/ml). A 53 μl de la solución resultante, se añadieron 75 μl de ácido clorhídrico a 1 mol/l, 20 μl de yoduro de sodio ^{125}I de 13,5 MBq y 10 μl de peróxido de hidrógeno al 10 % (p/v). Después de que la solución mezclada se dejó reposar a 50 °C durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones que se describen en el Ejemplo I-2, obteniéndose fracción de IMPY ^{125}I .

15 Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters; la cantidad envasada del agente de envasado: 130 mg), de tal forma que la columna adsorbe y recoge la IMPY ^{125}I . La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar a través de ella 1 ml de etanol, eluyendo IMPY ^{125}I . La radiactividad obtenida fue 2,6 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las mismas condiciones según se describen en el Ejemplo I-2 y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 98,0 %.

Ejemplo de Referencia I-7: síntesis de IMPY ^{123}I

IMPY ^{123}I se preparó de acuerdo con las siguientes etapas para usar en Ejemplos Comparativos para evaluaciones en $\log P_{\text{octanol}}$ y acumulación en cerebro.

25 De acuerdo con el procedimiento descrito en una bibliografía (Zhi-Ping Zhuang y cols., J. Med. Chem., 2003, 46, páginas 237-243), se sintetizó 6-tributylestannil-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]imidazo[1,2-a]piridina y se disolvió en metanol (concentración: 1 mg/ml). A 53 μl de la solución resultante, se añadieron 100 μl de ácido clorhídrico a 1 mol/l, 20-50 μl de yoduro de sodio ^{123}I de 190-240 MBq, 10 μl de yoduro de sodio a 1 mmol/l y 10 μl de peróxido de hidrógeno al 10 % (p/v). Después de que la solución mezclada se dejó reposar a 50 °C durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones que se describen en el Ejemplo I-2, obteniéndose fracción de IMPY ^{123}I .

35 Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters; la cantidad envasada del agente de envasado: 130 mg), de tal forma que la columna adsorbe y recoge la IMPY ^{123}I . La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar a través de ella 1 ml de etanol, eluyendo IMPY ^{123}I . La radiactividad obtenida fue 47-56 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las mismas condiciones según se describen en el Ejemplo I-2 y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 98,0 %.

Ejemplo de Referencia I-8: síntesis de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{125}I

40 Con el fin de preparar fórmulas de cálculo para el cálculo de $\log P_{\text{HPLC}}$, se sintetizó 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{125}I de acuerdo con las siguientes etapas.

45 Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-9, Etapa 1).

55 2,15 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 1,74 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-amino-5-bromopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 105 °C durante 6 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución

mezclada de 20 ml de agua y 20 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 25 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 2,41 g (que corresponden a 8,32 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-9, Etapa 2).

138 mg (que corresponden a 0,476 mmol) de 6-bromo-2-[4'-hidroxifenil]imidazo[1,2-a]piridina se disuelven en 20 ml de dioxano y se añaden a esto 2 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 360 µl (que corresponden a 0,713 mmol) de bis(tributylestano) y 20 mg (una cantidad catalítica) de tetraquis-trifenilfosfina de paladio. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 22 horas, el disolvente se retiró por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por TLC preparativa (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 1/4). Adicionalmente, el producto en bruto resultante se purificó por HPLC preparativa de reciclaje (aparato de HPLC: LC-908 (con nombre comercial: elaborado por Japan Analytical Industry Co., Ltd.); columna: dos JAIGEL 2H (con nombre comercial; elaboradas por Japan Analytical Industry Co., Ltd.) conectadas conjuntamente; fase móvil: cloroformo), obteniéndose 47 mg (que corresponden a 94,9 µmol) de 6-tributylestannil-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-9, Etapa 3).

A 53 µl de una solución de 6-tributylestannil-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina en metanol (concentración: 1 mg/ml), se añadieron 75 µl de ácido clorhídrico a 1 mol/l, 40 µl de yoduro de sodio ¹²⁵I de 136 MBq y 10 µl de peróxido de hidrógeno al 10 % (p/v). Después la solución mezclada se dejó reposar a 50 °C durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones que en el Ejemplo I-2, obteniéndose 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²⁵I como una fracción (Fig. 1-9, Etapa 4).

Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters: la cantidad envasada del agente de envasado: 130 mg) de tal forma que la columna adsorbe y recoge 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²⁵I. La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar 1 ml de etanol a través de ella para eluir 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²⁵I. La radiactividad obtenida fue 37,5 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las mismas condiciones que en el Ejemplo I-2 y como un resultado la pureza radioquímica del compuesto fue del 96,5 %.

Ejemplo de Referencia I-9: síntesis de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 1-10, Etapa 1).

441 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 449 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-amino-5-yodopiridina se disolvieron en 15 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 110 °C durante 5 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 10 ml de agua y 10 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 10 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 526 mg (que corresponden a 1,56 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-10, Etapa 2).

Los resultados de la medición de RMN de la 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: dimetilsulfóxido) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ¹H (disolvente: dimetilsulfóxido-d₆, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,86-8,84 (m, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,78-7,74 (m, 2H), 7,40-7,35 (m, 2H), 6,86-6,82 (m, 2H).

RMN de ¹³C (disolvente: dimetilsulfóxido-d₆, frecuencia de resonancia: 125 MHz): δ 158,08, 145,87, 143,87, 132,48, 131,72, 127,67, 124,99, 118,14, 116,14, 108,02, 75,85.

Ejemplos 1-7 y Ejemplos Comparativos I-1: medición de unión a amiloide

La afinidad de los presentes compuestos con amiloide se examinó por las siguientes pruebas de unión in vitro.

(1) A β ₁₋₄₀ (Peptide Institute INC.) se disolvió en tampón fosfato (pH 7,4) y se agitó a 37 °C durante 72 horas, obteniéndose una suspensión de 1 mg/ml (referida de aquí en adelante como suspensión amiloide en estos Ejemplos) de agregado A β (referido de aquí en adelante como amiloide en este Ejemplo).

5 (2) De acuerdo con el procedimiento descrito en una bibliografía (Naiki, H., y cols., Laboratory Investigation 74, páginas 374-383 (1996)), la suspensión amiloide se sometió a experimento cualitativo en base a procedimiento de fluorescencia espectrofotométrica usando Tioflavina T (elaborada por Fluka) para confirmar que el agregado A β adquirido en (1) fue amiloide (condiciones de medición: longitud de onda de excitación de 446 nm y longitud de onda de emisión de 490 nm).

10 (3) Una solución en etanol del compuesto I-6 sintetizada por un procedimiento descrito anteriormente en el Ejemplo I-2 (concentración radioactiva: 37 MBq/ml) se preparó y se diluyó con un tampón de fosfato conteniendo seroalbúmina bovina al 0,1 % (pH 7,4) preparando una solución correspondiente a 2 nmol/l como una cantidad total de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina.

15 (4) A cada pocillo de una microplaca de 96 pocillos, se añadieron 50 μ l de una solución (400 pM a una concentración final) preparada anteriormente en (3) y 50 μ l de una solución (la concentración de amiloide se puede ajustar de acuerdo con concentración de amiloide en una solución simple) donde la suspensión amiloide se disolvió en un tampón de fosfato conteniendo seroalbúmina bovina al 0,1 % (pH 7,4) y posteriormente se añadieron 150 μ l del mismo tampón para preparar una solución de amiloide a concentraciones finales de 2,5, 12,5, 25, 62,5, 125, 250, 625 y 1000 nmol/l.

20 (5) La microplaca se agitó a una velocidad dada (400 rpm) a 22 °C, durante 3 horas. Después, una solución mezclada de cada pocillo se filtró a través de un filtro de fibra de vidrio (nombre comercial: Mlutiscreen™-FC, elaborado por Millipore), separando el Compuesto I-6 unido a amiloide del Compuesto libre I-6.

(6) El filtro de fibra de vidrio usado para filtración de la solución mezclada se lavó con un tampón de fosfato conteniendo seroalbúmina bovina al 0,1 % (0,5 ml x 5) y después la radiactividad del filtro de fibra de vidrio se midió con un sistema Autowell Gamma (elaborado por Aloka, Tipo: ARC-301B).

25 (7) Se evaluó una relación entre la cantidad del Compuesto I-6 que se une a amiloide y la cantidad de amiloide añadido a partir de los resultados de medida de (6). La unión inespecífica se determinó usando una muestra a la que se añadió el Compuesto I-2 (compuesto no marcado por RI) hasta llegar a estar (a una concentración final de) 100 nM anteriormente en (4) (Ejemplo I-7).

30 (8) Usando IMPY ¹²⁵I sintetizada en el Ejemplo de Referencia anterior I-6, se llevó a cabo el mismo procedimiento según los anteriores (2) a (6) obteniéndose datos de control (Ejemplo Comparativo I-1).

35 Una relación entre la concentración de amiloide en la solución de muestra y el recuento radiactivo en el filtro de fibra de vidrio medido anteriormente en (6) se muestra en la Fig. 1-11. La radiactividad en la fibra de vidrio se incrementó proporcionalmente a la concentración (cantidad de adición) de amiloide (Ejemplo I-7). Sobre las condiciones del presente experimento, amiloide y el compuesto unido a amiloide se retienen en la fibra de vidrio. Por lo tanto, el recuento radiactivo en la fibra de vidrio es un valor que refleja la cantidad del compuesto unido a amiloide y la pendiente de la gráfica que traza el recuento radiactivo en relación a la concentración de amiloide es un valor que puede ser un índice que representa la intensidad de unión a amiloide. Dado que el valor del recuento radiactivo de Compuesto I-6 en la fibra de vidrio se incrementó con incremento de la concentración de amiloide, ello ha estado sugiriendo que el Compuesto es un compuesto que tiene una propiedad de unión a amiloide. La pendiente de la línea para el Compuesto I-6 fue mayor que la pendiente para IMPY ¹²⁵I en el mismo trazado y así se ha sugerido que la afinidad de Compuesto I-6 con amiloide es más fuerte que la de IMPY ¹²⁵I que se sabe que presenta una fuerte afinidad con amiloide.

Los resultados mencionados anteriormente han implicado que el Compuesto I-6 es altamente capaz de unión a amiloide.

45 **Ejemplos I-8 a I-12, Ejemplos Comparativos I-2 a I-6: medición de afinidad con amiloide**

La afinidad de los presentes compuestos con amiloide se examinó por las siguientes pruebas de unión in vitro.

(1) A β ₁₋₄₀ (Peptide Institute INC.) se disolvió en tampón fosfato (pH 7,4) y se agitó a 37 °C durante 62-72 horas, obteniéndose una suspensión de 1 mg/ml de agregado A β (referida de aquí en adelante como suspensión amiloide en este Ejemplo).

50 (2) De acuerdo con el procedimiento descrito en una bibliografía (Naiki, H., y cols., Laboratory Investigation 74, páginas 374-383 (1996)), la suspensión amiloide se sometió a experimento cualitativo en base a procedimiento de fluorescencia espectrofotométrica usando Tioflavina T (elaborada por Fluka) para confirmar que el agregado A β adquirido en (1) fue amiloide (condiciones de medición: longitud de onda de excitación de 446 nm y longitud de onda de emisión de 490 nm).

- 5 (3) De acuerdo con el procedimiento descrito en una bibliografía (Wang, Y., y cols., J. Labeled Compounds Radiopharmaceut. 44, S239 (2001)), 2-(3'-yodo-4'-aminofenil)benzotiazol ¹²⁵I (referido de aquí en adelante como [¹²⁵I]3'-I-BTA-0) se preparó a partir de un precursor de marcado 2-(4'-aminofenil)benzotiazol y se disolvió en etanol. Según Rojo Congo, Tioflavina T y 6-metil-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]benzotiazol (referido en el presente documento como 6-Me-BTA-2) fueron reactivos comercialmente disponibles se pesaron y usaron.
- (4) Se sintetizaron 2-(3'-yodo-4'-aminofenil)benzotiazol (referido en el presente documento como 3'-I-BTA-0) e IMPY de acuerdo con los procedimientos descritos en una bibliografía (Wang, Y., y cols., J. Labelled Compounds Radiopharmaceut. 44, S239 (2001)) y una bibliografía (Zhuang, Z. P., y cols., J. Med. Chem. 46, 237 (2003)), respectivamente.
- 10 (5) Se prepararon muestras en las que [¹²⁵I]3'-I-BTA-0, cada compuesto para evaluación y amiloide se disolvieron en un tampón fosfato que contiene seroalbúmina bovina al 0,1 % (pH 7,4) a concentraciones finales mostradas en la Tabla 1-2. Las muestras resultantes se cargaron en cada pocillo (aproximadamente 0,3 ml en volumen) de una microplaca de 96 pocillos.

15 Tabla 1-2: Concentraciones finales de cada compuesto en soluciones de muestra.

Experimento	Compuesto para evaluación	Concentración de compuesto para evaluación	Concentración de [¹²⁵ I]3'-I-BTA-0	Amiloide
Ejemplo Comparativo I-2	3'-I-BTA-0	Cada concentración de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100 y 1000 nmol/l	400 pmol/l	1 μmol/l
Ejemplo Comparativo I-3	Rojo Congo			
Ejemplo Comparativo I-4	Tioflavina T			
Ejemplo Comparativo I-5	6-Me-BTA-2			
Ejemplo Comparativo I-6	IMPY			
Ejemplo I-8	Compuesto I-1			
Ejemplo I-9	Compuesto I-2			
Ejemplo I-10	Compuesto I-3			
Ejemplo I-11	Compuesto I-4			
Ejemplo I-12	Compuesto I-5			

- (6) La microplaca cargada con las soluciones de muestra se agitó a una velocidad dada (400 rpm) a 22 °C durante 3 horas. Después, cada solución de muestra se filtró a través un filtro de fibra de vidrio (nombre comercial: Multiscreen TM-FC, elaborado por Millipore), separando el [¹²⁵I]3'-I-BTA-0 unido a amiloide a partir del [¹²⁵I]3'-I-BTA-0 libre.
- 20 (7) El filtro de fibra de vidrio usado para filtración de la solución mezclada se lavó con un tampón de fosfato (pH 7,4) conteniendo seroalbúmina bovina al 0,1 % (0,5 ml x 5) y la radiactividad del filtro de fibra de vidrio se midió con un sistema Autowell Gamma (elaborado por Aloka, Tipo: ARC-301B). La radiactividad se usa como el nivel de radiactividad de cada solución de muestra para calcular una proporción de inhibición (de aquí en adelante, A denota el nivel de radiactividad en una muestra con concentración cero (0) de cada compuesto para evaluación y B denota el nivel de radiactividad en una muestra con concentración de 0,001 nmol/l o mayor de cada compuesto para evaluación).
- 25 (8) Por separado, se preparó una solución conteniendo 15 μmol/l de 6-Me-BTA-2, 400 pmol/l de [¹²⁵I]3'-I-BTA-0 y 1 μmol/l de Aβ₁₋₄₀ y se sometió a los mismos procedimientos que se describen anteriormente en (6) y (7) para medir un nivel de radiactividad. El nivel de radiactividad medido se define como el nivel de radiactividad precedente y se usa en el cálculo de la proporción de inhibición (referida en el presente documento como BG).
- 30

(9) Usando los niveles de radiactividad medidos anteriormente en (7) y (8), se determinó la proporción de inhibición por la siguiente fórmula (1-1).

$$\frac{B - BG}{A - BG} \times 100 \quad (\%) \quad (1-1)$$

5

Una gráfica en la que se trazaron los valores convertidos por transformación de Probit a partir de las proporciones de inhibición obtenidas con respecto a logaritmos de concentraciones de compuestos para evaluación se preparó obteniéndose una línea recta aproximada por el procedimiento de mínimos cuadrados. Usando la línea, se determinó la concentración de cada compuesto para evaluación, a la que el nivel de radiactividad es la mitad del nivel de la muestra libre de cada compuesto para evaluación y se definió como una concentración de inhibición del 50 % de cada compuesto (referida en el presente documento como valor de $CI_{50\%}$). Usando el valor como un indicador, se evaluó la afinidad de cada compuesto para evaluación con amiloide (agregado $A\beta_{1-40}$).

El valor en % de CI_{50} de cada compuesto de evaluación se muestra en la Tabla 1-3. Los compuestos I-1 a I-5 mostraron todos valores en % de CI_{50} de menos de 100 y tuvieron afinidad más alta con amiloide (agregado $A\beta_{1-40}$) que Rojo Congo y Tioflavina T. Los resultados muestran que Compuestos I-1 a I-5 tienen buena afinidad con amiloide (agregado $A\beta_{1-40}$). En particular, los Compuestos I-1 a I-4 tenían afinidad más alta con amiloide (agregado $A\beta_{1-40}$) que 3'-I-BTA-0 y 6-Me-BTA-2 y tenían la afinidad comparable a IMPY.

Tabla 1-3: Valores $CI_{50\%}$ de los presentes compuestos.

Experimento	Compuesto para evaluación	Valores de $CI_{50\%}$ (nmol/l)
Ejemplo Comparativo I-2	3'-I-BTA-0	10,1
Ejemplo Comparativo I-3	Rojo Congo	>1000
Ejemplo Comparativo I-4	Tioflavina T	>1000
Ejemplo Comparativo I-5	6-Me-BTA-2	25,4
Ejemplo Comparativo I-6	IMPY	0,8
Ejemplo I-8	Compuesto I-1	1,4
Ejemplo I-9	Compuesto I-2	0,9
Ejemplo I-10	Compuesto I-3	1,8
Ejemplo I-11	Compuesto I-4	0,9
Ejemplo I-12	Compuesto I-5	55,4

20

Ejemplos I-13 a I-14, Ejemplo Comparativo I-7: medición de coeficiente de partición en base al procedimiento de extracción de octanol.

Se midieron los coeficientes de partición basados en el procedimiento de extracción de octanol (referidos de aquí en adelante como $\log P_{\text{octanol}}$), que se conocen generalmente como un indicador de permeabilidad de compuestos a través de la barrera hematoencefálica (referida de aquí en adelante como BBB).

A 2 ml de octanol, se añadieron 10 μ l de una solución que contiene Compuesto I-7 (Ejemplo I-13) y Compuesto I-8 (Ejemplo I-14) y 2 ml de tampón fosfato de 10 mmol/l (pH 7,4) y se agitaron durante 30 segundos. Después la mezcla se centrifugó con una centrifuga de baja velocidad (2000 rpm x 60 min.), se tomaron muestras de la fase de octanol y la fase de agua cada una en una cantidad de 1 ml y se sometieron a medida de recuento de radiactividad con un Sistema Autowell Gamma (elaborado por Aloka, Tipo: ARC-301B). Usando el recuento de radiactividad total obtenida, se calculó $\log P_{\text{octanol}}$ de acuerdo con la ecuación (1-2).

30

$$\log P_{\text{octanol}} = \log_{10} \left(\frac{\text{Recuento de radiactividad en la fase de octanol}}{\text{Recuento de radiactividad en la fase de agua}} \right) \dots (1-2)$$

- 5 Los resultados se muestran en Tabla 1-4. Ambos Compuestos -7 y I-8 mostraron valores de $\log P_{\text{octanol}}$ entre 1 y 3. Se sabe que compuestos permeables a BBB muestran un valor de $\log P_{\text{octanol}}$ entre 1 y 3 (Douglas D. Dischino y cols., J. Nucl. Med., (1983), 24, páginas 1030-1038). Así, ello implica que ambos compuestos tienen una permeabilidad BBB comparable a IMPY.

Tabla 1-4: valor de $\log P_{\text{octanol}}$ del presente compuesto

Experimento	Compuesto	Valor de $\log P_{\text{octanol}}$
Ejemplo Comparativo I-7	IMPY ¹²³ I	2,1
Ejemplo I-13	Compuesto I-7	2,1
Ejemplo I-14	Compuesto I-8	2,0

10 Ejemplos I-15 a I-19, Ejemplo Comparativo I-8: mediciones de coeficientes de partición basadas en HPLC

El coeficiente de partición por HPLC (referido de aquí en adelante como $\log P_{\text{HPLC}}$) se midió por el procedimiento siguiente. Se sabe que el $\log P_{\text{HPLC}}$ muestra el mismo valor numérico a un pH de 7,2 a 7,4 que el valor de $\log P_{\text{octanol}}$ que se conoce generalmente como un indicador de permeabilidad de compuestos a BBB (Franco Lombardo y cols., J. Med. Chem., (2000), 43, páginas 2922-2927).

- 15 Primero, se disolvieron compuestos para evaluación mostrada en la Tabla 1-5 a una concentración de 1 mg/ml en metanol que contienen dimetilsulfóxido al 10 % preparando soluciones de muestra. Un μl de la solución de muestra se sometió a análisis de HPLC en las siguientes condiciones determinando el tiempo de elución (para) del disolvente y el tiempo de elución (t_R) de cada compuesto.

20 Tabla 1-5 Compuestos para evaluación en experimentos

Experimento	Compuesto para evaluación
Ejemplo Comparativo I-8	IMPY
Ejemplo I-15	Compuesto I-1
Ejemplo I-16	Compuesto I-2
Ejemplo I-17	Compuesto I-3
Ejemplo I-18	Compuesto I-4
Ejemplo I-19	Compuesto I-5

Condiciones de HPLC:

Columna: Prodigy ODS (3) (nombre del producto; elaborado por Phenomenex; tamaño: 4,6 x 250 mm). Fase móvil: una solución mezclada de trietilamina fosfato 50 mM (pH 7,2)/acetonitrilo = 40/60. Caudal: 0,7 ml/min.

- 25 Detector: absorciómetro ultravioleta visible (longitud de onda de detección: 282 nm)

Usando lo obtenido para ello y t_R , se determinó el factor de retención (referido en el presente documento como valor de K'_{HPLC}) de cada compuesto para evaluación de acuerdo con la siguiente fórmula de cálculo (1-3).

$$K'_{\text{HPLC}} = (t_R - t_0)/t_0 \dots (1 - 3)$$

5 Por separado, 10 µl de cada una de una solución de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²⁵I (37 MBq/ml en concentración de radiactividad) sintetizada anteriormente en Referencia I-8 y de una solución de Compuesto I-6 (37 MBq/ml en concentración de radiactividad) se añadieron a 2 ml de octanol preparados por separado y se añadieron adicionalmente 2 ml de tampón fosfato a 10 mmol/l (pH 7,4) a las soluciones respectivas. Después de que las soluciones individuales se agitaron durante 30 segundos, las soluciones se centrifugaron a 2.000 rpm durante 60 minutos. 1 ml de cada una de la fase de octanol y de la fase de agua se fraccionaron y la radiactividad se midió por un sistema Autowell Gamma (elaborado por Aloka Co., Ltd.: Tipo ARC-301B). En base a la radiactividad obtenida, se calcularon los valores de logP_{octanol} de acuerdo con la ecuación anterior (1-2).

Adicionalmente, una solución de Compuesto I-2 y 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina preparada anteriormente en Referencia I-9 se sometió cada una a análisis de HPLC de la misma manera que se describe anteriormente para determinar valores de K'_{HPLC} en los compuestos respectivos.

15 Se preparó una gráfica, en la que los valores de logP_{octanol} de Compuesto I-6 y 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²⁵I están trazados respectivamente en relación a los valores del log₁₀K'_{HPLC} de Compuesto I-2 y 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina, de tal forma que se determinaron la pendiente y la intercepción en el eje Y de la línea recta. Usando estos valores, la siguiente fórmula (1-4) se determinó, a condición de que el valor de logP_{octanol} sea igual al valor de logP_{HPLC} a un pH de 7,2 a 7,4.

$$20 \quad \log P_{\text{HPLC}} = 0,96(\log_{10} K'_{\text{HPLC}}) + 1,59 \dots (1 - 4)$$

Usando K'_{HPLC} obtenido para cada compuesto para evaluación, el valor de logP_{HPLC} de cada compuesto para evaluación se determinó de acuerdo con la fórmula (1-4) de cálculo anterior.

25 Los resultados se muestran en la Tabla 1-6. Como se indica en la Tabla, los valores de logP_{HPLC} de Compuestos I-1 a I-5 están todos entre 1 y 3. Como se menciona anteriormente, se sabe que los compuestos permeables para BBB tienen un valor de logP_{octanol} entre 1 y 3 (Douglas D. Dischino y cols., J. Nucl. Med., (1983), 24, páginas 1030-1038). Adicionalmente, como se menciona anteriormente, se sabe que el logP_{HPLC} muestra el mismo valor a un pH de 7,2 a 7,4 que el logP_{octanol} (Franco Lombardo y cols., J. Med. Chem., (2000), 43, páginas 2922-2927). Los resultados mencionados anteriormente implican que los Compuestos I-1 a I-5 tienen una propiedad de BBB-permeable.

30

Tabla 1-6: Valor de logP_{HPLC} del presente compuesto

Experimento	Compuesto	Valor de logP _{HPLC}
Ejemplo Comparativo I-8	IMPY	2,1
Ejemplo I-15	Compuesto I-1	2,0
Ejemplo I-16	Compuesto I-2	2,1
Ejemplo I-17	Compuesto I-3	1,9
Ejemplo I-18	Compuesto I-4	1,9
Ejemplo I-19	Compuesto I-5	1,8

Ejemplos I-20 a I-21, Ejemplo Comparativo I-9: medición de transferibilidad dentro del cerebro y eliminación.

35 Usando Compuesto I-7 (Ejemplo I-20) y Compuesto I-8 (Ejemplo I-21), se midió un cambio en el curso del tiempo de acumulación radiactiva en el cerebro de ratas Winstar macho (de 7 semanas de edad).

40 Se inyectaron 0,05 ml (20-30 MBq/ml en concentración radiactiva) de una solución de Compuesto I-7 (Ejemplo I-20) en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml, una solución de Compuesto I-8 (Ejemplo I-21) en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml y una solución de IMPY ¹²³I (Ejemplo Comparativo I-9) preparada anteriormente en Ejemplo de Referencia I-7 en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml de cada una dentro de la vena del rabo de las ratas con anestesia de

tiopental. Las ratas se sacrificaron por sangrado a partir de la arteria abdominal y los cerebros se retiraron y se sometieron a medida de radiactividad (referida de aquí en adelante como A en este Ejemplo) con un sistema de Autowell Gamma (Tipo: ARC-301B elaborado por Aloka Co., Ltd.) y adicionalmente se sometieron a medición de masa de cerebros 2, 5, 30 y 60 minutos después de inyección. Además, la radiactividad (referida en el presente documento como B en este Ejemplo) de 0,05 ml de una solución diluida 1000 veces a partir de la solución inyectada se midió de la misma manera que anteriormente. Usando estos resultados de medición, la distribución radiactiva por unidad de peso de cerebro (% ID/g) en los puntos temporales respectivos se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula (1-5).

$$\%ID/g = \frac{A}{B \times 1000 \times \text{peso cerebral}} \times 100 \dots (1-5)$$

Se usaron tres animales para Experimento I-20 y para Experimento Comparativo I-9 y se usaron dos animales para Experimento I-21 en los puntos temporales respectivos.

Los resultados se muestran en la Tabla 1-7. Como se muestra en la Tabla 1-7, los Compuestos I-7 y I-8 mostraron una acumulación más alta que IMPY ¹²³I en el punto temporal de dos minutos después de la inyección y después mostraron una tendencia a eliminarse rápidamente en 60 minutos. Estos resultados sugieren que los Compuestos I-7 y I-8 poseen transferibilidad excelente al cerebro y eliminación rápida del cerebro comparable a IMPY ¹²³I.

Tabla 1-7: Distribución radiactiva en el cerebro del presente compuesto después de inyección intravenosa (ratas)

Compuesto		Distribución radiactiva por unidad de peso (% ID/g)			
		Después de 2 min.	Después de 5 min.	Después de 30 min.	Después de 60 min.
Ejemplo I-20	Compuesto I-7	1,10	0,75	0,12	0,05
Ejemplo I-21	Compuesto I-8	1,20	0,75	0,18	0,12
Ejemplo Comparativo I-9	IMPY ¹²³ I	1,02	0,99	0,20	0,08

Ejemplo I-22: confirmación de formación de imágenes de amiloide en cerebro

El siguiente experimento se llevó a cabo con el fin de examinar si se pueden obtener imágenes de amiloide en el cerebro mediante el compuesto de la presente invención.

(1) Aβ₁₋₄₀ (reproducibile por Peptide Institute, INC.) se disolvió en tampón fosfato (pH 7,4) y se agitó a 37 °C durante 72 horas, obteniéndose 1 mg/ml de una suspensión de agregado Aβ (de aquí en adelante referida como suspensión amiloide en este Ejemplo).

(2) 25 µl (que corresponden a 25 µg) de la suspensión amiloide se inyectaron en un núcleo amigdaloides en un costado de una rata Wistar macho (7 semanas de edad). Como un control, 25 µl de solución salina fisiológica tamponada con fosfato (pH 7,4) se inyectaron en un núcleo amigdaloides en el otro costado de la rata. Las ratas se examinaron 1 día después de la inyección de la suspensión amiloide y la solución salina fisiológica tamponada con fosfato (pH 7,4).

(3) El compuesto I-7 se disolvió en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml obteniéndose una solución de muestra (32 MBq/ml en concentración de radiactividad). Esta solución se inyecta en la rata a través de la vena del rabo (dosificación: 0,5 ml, radiactividad dosificada: equivalente a 16 MBq).

(4) El cerebro se retiró 60 minutos después de la inyección para preparar un corte de cerebro de 10 µm de grosor con un microtomo (tipo: CM3050S, elaborado por LEICA). El corte del cerebro se expuso en una placa de formación de imágenes durante 20 horas y después el análisis de imágenes se llevó a cabo por uso de un Analizador Bio-imaging (tipo: BAS-2500; elaborado por FUJIFILM Corporation).

(5) Después de la finalización del análisis de imágenes usando el Analizador Bio-imaging, se llevó a cabo la tinción patológica con Tioflavina T para llevar a cabo formación de imágenes por el uso de un microscopio de fluorescencia (elaborado por NIKON Corporation; tipo: modelo TE2000-U; longitud de onda de excitación: 400-440 nm; longitud de onda de detección: 470 nm). Así, se confirmó que amiloide estaba depositado en el corte (Fig. 1-12b).

- 5 Fig. 1-12 muestra imágenes por autorradiograma y tinción con Tioflavina T del corte de cerebro de la rata a la que se inyectó amiloide intracerebralmente. Como se muestra en la figura, se observó en el núcleo amigdalóide una acumulación marcada de la radiactividad en el costado en que se inyectó la suspensión amiloide. A partir del resultado de tinción de Tioflavina T en el sitio donde se acumula la radiactividad, se confirmó que el amiloide está presente en el sitio de acumulación. Por otro lado, no se observó ninguna acumulación de radiactividad en el núcleo amigdalóide en el costado en el que se inyectó la solución salina fisiológica, en comparación con los otros sitios.

Estos resultados sugieren que el Compuesto I-7 posee una propiedad de acumulación en amiloide intracerebral y una capacidad de formación de imágenes de amiloide intracerebral.

Ejemplos I-23 a I-26: prueba de mutación reversa

- 15 Con el fin de examinar mutagenicidad de Compuesto I-1, I-2, I-4 y I-5, se llevó a cabo prueba de mutación reversa usando *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100 (de aquí en adelante referida como prueba de Ames).

La prueba se llevó a cabo sin adición de S9mix y con adición de S9mix. Dimetilsulfóxido se usó como un control negativo. Un control positivo fue 2-(2-furil)-3-(5-nitro-2-furil)acrilamida en el caso en que S9mix no se añadió y 2-aminoantraceno en el caso en que S9mix se añadió.

- 20 La cantidad de cada muestra a añadirse a la placa de ensayo fue 7 dosificaciones (proporción geométrica 4) con la dosis máxima siendo 1250 µg/placa para Compuestos I-1 y I-5 y 7 dosificaciones (proporción geométrica 3) con la dosis máxima siendo 5000 µg/placa para Compuestos I-2 y I-4. Después de una muestra a examinarse y una cepa (TA98 o TA100), o una muestra a examinarse, S9mix y la cepa se mezclaron conjuntamente, la mezcla se dispuso en forma de multifase usando agar blando en un medio de una placa de pruebas y después se incubó a 37 °C durante 48 horas. Se realizó juicio contando el número de colonias de mutación reversa en la placa después de la incubación y cuando el número de colonias de mutación reversa fue no menos de dos veces el número en control negativo y mostró incremento dependiente de la concentración, se determinó que la mutagenicidad era positiva.

- 25 Los resultados se muestran en la Tabla 1-8. El número de colonias de mutación reversa de las cepas respectivas en el grupo tratado con Compuestos I-1, I-2, I-4 y I-5 fueron menores que dos veces el número en el grupo tratado con el control negativo, independientemente de la adición de S9mix y de la cantidad de adición de una muestra a examinarse. Desde los resultados mencionados anteriormente, se juzga que los Compuestos I-1, I-2, I-4 y I-5 son negativos en la prueba de Ames y no tienen ninguna mutagenicidad.

Tabla 1-8: Resultados de la prueba de Ames

	Compuesto	Mutagenicidad			
		Sin adición de S9mix		Con adición de S9mix	
		TA98	TA100	TA98	TA100
Ejemplo I-23	Compuesto I-1	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ejemplo I-24	Compuesto I-2	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ejemplo I-25	Compuesto I-4	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Ejemplo I-26	Compuesto I-5	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

35 Ejemplo I-27: síntesis de 6-tributylestannil-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina

- 88 mg (que corresponden a 0,260 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina obtenidos en el Ejemplo de Referencia I-3 se disuelven en 10,0 ml de dioxano y se añadieron a esto 2,0 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 0,20 ml (que corresponden a 0,39 mmol) de bis(tributylestaño) y 20,1 mg (una cantidad catalítica) de tetraquis-trifenilfosfina de paladio. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 9 horas, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 4/1) obteniéndose 71,6 mg (que corresponden a 0,131 mmol) de 6-tributylestannil-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 1-13, Etapa 1).

Los resultados de medición de RMN de la 6-tributylestannil-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

5 Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (preparado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ^1H (disolvente: cloroformo-dl; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 7,97 (s, 1H), 7,90 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,58 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,77, (dt, J = 47,2, 4,1 Hz, 2H), 3,99 (dt, J = 28,0, 4,1 Hz, 2H), 1,59-1,53 (m, 6H), 1,39-1,32 (m, 6H), 1,13-1,10 (m, 6H), 0,92 (t, J = 7,3 Hz, 9H).

RMN de ^{13}C (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 158,3,145,6,144,9,131,2,130,0,127,4, 121,9, 116,9, 114,9, 106,4, 82,6, 81,3, 67,2, 29,0, 27,3, 13,6, 9,8.

Ejemplo 1-28: síntesis de 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I

10 A 35 μl de una solución de 6-tributylestannil-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina en metanol (concentración: 1 mg/ml), 100 μl de ácido clorhídrico a 1 mol/l, se añadieron yoduro de sodio ^{123}I de 614 MBq (100 μl en volumen), 10 μl de solución de yoduro de sodio y 20 μl de peróxido de hidrógeno al 10% (p/v). Después de que la solución mezclada se calentó a 50 $^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones que en el Ejemplo I-2, obteniéndose 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I .

15 Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters: la cantidad envasada del agente de envasado: 130 mg) de tal forma que la columna adsorbe y recoge 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I . La columna se aclaró con 1 ml de agua y después 1 ml de etanol se hizo pasar a su través para eluir 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I . La cantidad de radiactividad del compuesto obtenido fue 64 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las siguientes condiciones y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 97,0 %.

Condiciones de análisis de TLC:

Placa de TLC: Gel de Sílice 60 F₂₅₄ (nombre comercial; elaborado por Merck & Co., Inc.)

Fase móvil: cloroformo/metanol/trietilamina = 100/1/2. Detector: Rita Star (nombre comercial; elaborado por Raytest)

25 Ejemplo I-29, Ejemplo Comparativo I-10: medición de coeficiente de partición en base al procedimiento de extracción de octanol.

Una solución de éter dietílico del Compuesto I-9 preparada en el Ejemplo I-28 (Ejemplo I-29) y una solución de éter dietílico de IMPY ^{123}I (Ejemplo Comparativo I-10) se diluyeron cada una con una solución salina fisiológica conteniendo ácido ascórbico a 10 mg/ml y concentración radiactiva ajustada para ser 20-30 MBq/ml. A 2 ml de octanol, se añadieron 10 μl de cada una de las soluciones de muestra preparadas y se añadieron adicionalmente 2 ml de un tampón fosfato a 10 mmol/l (pH 7,4), seguido por agitación durante 30 segundos. Después la mezcla se centrifugó con una centrifuga de velocidad baja (2000 rpm x 60 minutos), se tomaron muestras de la fase de octanol y la fase de agua cada una en una cantidad de 1 ml y se sometieron a medida de recuento de radiactividad con un sistema de Autowell Gamma (Tipo: ARC-301B, elaborado por Aloka). Usando el recuento de radiactividad obtenido, se calculó $\log P_{\text{octanol}}$ de acuerdo con la ecuación (1-6).

$$\log P_{\text{octanol}} = \log_{10} \left(\frac{\text{Recuento de radiactividad en la fase de octanol}}{\text{Recuento de radiactividad en la fase de agua}} \right) \dots (1-6)$$

Los resultados se muestran en la Tabla 1-9. El Compuesto I-9 mostró también un valor de $\log P_{\text{octanol}}$ entre 1 y 3. Se sabe que compuestos permeables a BBB muestran un valor de $\log P_{\text{octanol}}$ entre 1 y 3 (Douglas D. Dischino y cols., J. Nucl. Med., (1983), 24, páginas 1030-1038). Así, está implicado que el Compuesto I-9 tiene una permeabilidad a BBB comparable a IMPY.

Tabla I-9: valor de $\log P_{\text{octanol}}$ del presente compuesto

Experimento	Compuesto	Valor de $\log P_{\text{octanol}}$
Ejemplo I-10	IMPY ^{123}I	2,1
Ejemplo I-29	Compuesto I-9	2,1

Ejemplo I-30, Ejemplo Comparativo I-11: medición de transferibilidad en cerebro y eliminación (2)

Usando Compuesto I-9, se midió un cambio en el curso del tiempo de acumulación radiactiva en el cerebro de ratas Wistar macho (7 semanas de edad).

- 5 Se elaboró una solución de Compuesto I-9 (Ejemplo I-30) y una solución de IMPY ¹²³I (Ejemplo Comparativo I-11) anteriormente preparada en cada uno de los Ejemplos de Referencia en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml (20-31 MBq/ml en concentración radioactiva). 0,05 ml de cada una de estas soluciones se inyectaron dentro de la vena del rabo de las ratas Wistar (de 7 semanas de edad) respectivas con anestesia de tiopental. Las ratas se sacrificaron por sangrado de la arteria abdominal y los cerebros se retiraron y sometieron a medición de masa de los cerebros y se sometieron adicionalmente a medición de radiactividad (referida de ahora en adelante como A en este Ejemplo) con un analizador de canal individual (tipo de detector: SP-20 elaborado por OHYO KOKEN KOGYO Co., Ltd.) 2, 5, 30 y 60 minutos después de la inyección. Además, la radiactividad (referida de aquí en adelante como B en este Ejemplo) del resto del cuerpo se midió de la misma manera que anteriormente. Usando estos resultados de medición, la distribución radiactiva por unidad de peso de cerebro (% ID/g) en los puntos temporales respectivos se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula (1-7).
- 10
- 15 Se usaron tres animales para experimento en los puntos temporales respectivos.

$$\%ID/g = \frac{A}{B \times 1000 \times \text{peso cerebral}} \times 100 \dots (1-7)$$

- 20 Los resultados se muestran en la Tabla 1-10. Como se muestra en la Tabla 1-10, el Compuesto I-9 mostró una acumulación radiactiva significativa como IMPY ¹²³I en el punto temporal de dos minutos después de la inyección y después mostró una tendencia a eliminarse rápidamente en 60 minutos. Estos resultados sugieren que el Compuesto I-9 posee excelente transferibilidad a cerebro y rápida eliminación desde cerebro como IMPY ¹²³I.

Tabla 1-10: distribución radiactiva en el cerebro del presente compuesto después de inyección intravenosa (ratas).

Compuesto		Distribución radiactiva por unidad de peso (% ID/g)			
		Después de 2 min.	Después de 5 min.	Después de 30 min.	Después de 60 min.
Ejemplo I-30	Compuesto I-9	0,72	0,49	0,07	0,02
Ejemplo Comparativo I-11	IMPY ¹²³ I	1,19	0,97	0,23	0,09

- 25
- Ejemplo I-31: confirmación de formación de imágenes de amiloide en cerebro**
- (1) Aβ₁₋₄₂ (Wako) se disolvió en tampón fosfato (pH 7,4) y se agitó a 37 °C durante 72 horas, obteniéndose 1 mg/ml de una suspensión de agregado Aβ (de aquí en adelante referida como suspensión amiloide en este Ejemplo).
- 30 (2) 2,5 μl (que corresponden a 25 μg) de la suspensión amiloide se inyectaron en un núcleo amigdaloides en un costado de una rata Wistar macho (7 semanas de edad). Como un control, se inyectaron 2,5 μl de solución salina de tampón fosfato (pH 7,4) dentro de un núcleo amigdaloides en el otro costado de la rata. Las ratas se examinaron 1 día después de la inyección de la suspensión amiloide y la solución salina fisiológica tamponada con fosfato (pH 7,4).
- 35 (3) El Compuesto I-9 se disolvió en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml obteniéndose una solución de muestra (21 MBq/ml en concentración de radiactividad en una solución de muestra, Ejemplo I-31). Esta solución se inyectó dentro de la rata con anestesia de tiopental a través de la vena del rabo (dosificación: 0,5 ml, radiactividad dosificada: equivalente a 11-15 MBq).

(4) El cerebro se retiró 60 minutos después de la inyección preparando un corte de cerebro de 10 μm de grosor con un microtomo (tipo: CM3050S, elaborado por LEICA). El corte del cerebro se expuso en una placa de formación de

imágenes durante 20 horas y después el análisis de imágenes se llevó a cabo por uso de un Analizador Bio-imaging (tipo: BAS-2500; elaborado por FUJIFILM Corporation).

5 (5) Después de la finalización del análisis de imágenes usando el Analizador Bio-imaging, se llevó a cabo la tinción patológica con Tioflavina T llevando a cabo la formación de imágenes por el uso de un microscopio de fluorescencia (elaborado por NIKON Corporation; tipo: modelo TE2000-U; longitud de onda de excitación: 400-440 nm; longitud de onda de detección: 470 nm). Así, se confirmó que amiloide estaba depositado en el corte (Fig. 1-14).

10 Fig. 1-14 muestra imágenes por autorradiograma y tinción con Tioflavina T del corte de cerebro de la rata a la que se inyectó amiloide intracerebralmente. Como se muestra en esta figura, una acumulación marcada de la radiactividad en el espécimen al que se inyecta Compuesto I-9 también se observó en el núcleo amiloide en el costado al que se inyectó la suspensión amiloide. Por otro lado, no se observó ninguna acumulación de radiactividad en el núcleo amigdaloides en el costado en el que se inyectó la solución salina fisiológica, en comparación con los otros sitios. Sobre el autorradiograma, se observó pequeña acumulación de radiactividad en sitios distintos de los sitios en los que se inyectó amiloide. A partir del resultado de tinción de Tioflavina T, se confirmó que el amiloide estuvo presente en el sitio donde se acumuló radiactividad (Fig. 1-14). Estos resultados implican que el Compuesto I-9 posee una propiedad de acumulación en amiloide intracerebral y una capacidad de formación de imágenes de amiloide intracerebral.

Ejemplo I-32: prueba de aberración cromosómica

20 Con el fin de examinar si el Compuesto I-4 puede inducir aberración cromosómica, el ensayo de aberración cromosómica se llevó a cabo usando línea celular fibroblástica de hámster chino (célula CHL/UI) en un sistema de cultivo con o sin adición de S9 por procedimiento de tratamiento y en un sistema de cultivo de 24 horas por procedimiento de tratamiento continuo. La cantidad de adición de una muestra a probarse se establece en 1,2, 0,6, 0,3 y 0,15 mg/ml para todos los sistemas de cultivo respectivos.

25 Cuando la frecuencia de aparición de células con aberración cromosómica se incrementó aparentemente comparada con grupo control negativo y se observó dosodependencia, o cuando la frecuencia de aparición aparentemente se incrementó a una dosis única y se observó reproducibilidad, se dio determinación positiva y de lo contrario se dio determinación negativa.

30 Como los resultados del ensayo, la frecuencia de aparición de las células que tienen aberración estructural o aberración numérica (diploide) en todos los sistemas de cultivo tratados con Compuesto I-4 fue comparable a aquella del grupo control negativo. Por otro lado, el grupo de control positivo para los sistemas de cultivo respectivos mostró un incremento marcado de la frecuencia de aparición de células que tienen aberración estructural. A partir de los resultados anteriores, la capacidad de inducir aberración cromosómica de Compuesto I-4 se juzgó que era negativa según las condiciones de prueba.

Ejemplo I-33: prueba de micronúcleos

35 Con el fin de estudiar mutagenicidad (*in vivo*) del Compuesto I-4, se examinó la inducción de eritrocito policromático micronucleado (referido de aquí en adelante como MNPCE) usando células de la médula ósea de ratón macho Crlj:CD1(ICR).

40 Se fijaron como dosis para la prueba 0 mg/kg (grupo de control negativo), 250, 500, 1000 y 2000 mg/kg (grupo de muestras de prueba). Se sacrificaron ratones 24 y 48 horas después de administración oral única y se preparó y observó frotis de médula ósea. Adicionalmente, una dosis única de MMC a 2 mg/kg se administró abdominalmente en el grupo de control positivo, los ratones se sacrificaron 24 horas después de la administración y después se preparó y observó frotis de médula ósea.

45 Cuando la frecuencia de aparición de MNPCE en cada grupo de administración mostró un aumento dependiente de dosis o un incremento estadísticamente significativo en comparación con grupo de control negativo, se dio determinación positiva y de lo contrario se dio determinación negativa. Como análisis estadístico, se llevaron a cabo pruebas de significancia por prueba de suma de rangos de Wilcoxon para la frecuencia de aparición de MNPCE y la proporción de eritrocitos policromáticos (referidos en el presente documento como PCE) frente a las células rojas totales (de aquí en adelante referida como RBC) en cada grupo de administración con respecto a la prueba de ensayo y grupos de control positivos en relación al grupo de control negativo y con respecto a estos grupos en relación a los otros donde el nivel de significancia se fijó a menos del 5 % y a menos del 1 %, respectivamente.

50 A partir de los resultados del ensayo, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de aparición de MNPCE y la proporción de PCE a RBC para el grupo de muestra de ensayo comparado con el grupo control negativo. Por otro lado, se observó un incremento significativo en la frecuencia de aparición de MNPCE para el grupo control positivo comparado con el grupo control negativo. En base a estos resultados, la mutagenicidad (*in vivo*) del ensayo de muestra se considera que es negativa debido a que no se observó ninguna inducción de micronúcleos en las células de la médula ósea en las condiciones de prueba anteriores usando Compuesto I-4.

Ejemplo II

En los siguientes Ejemplos, los nombres de los compuestos individuales usados en el experimento se definen como se muestra en la Tabla 2-1.

5

Tabla 2-1

Nombre del compuesto	Nombre común
Compuesto II-1	2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³ I
Compuesto II-2	2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³ I
Compuesto II-3	2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina
Compuesto II-4	2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³ I
Compuesto II-5	2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina
Compuesto II-6	2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³ I
Compuesto II-7	2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina

Ejemplo II-1: síntesis de 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma yodada no radiactiva)

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 2-1, Etapa 1).

441 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 449 mg (que corresponden a 2,0 mmol) de 2-amino-5-yodopiridina se disolvieron en 15 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 110 °C durante 5 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 10 ml de agua y 10 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 10 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 526 mg (que corresponden a 1,56 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-1, Etapa 2).

Por separado, 2,50 g (que corresponden a 20,0 mmol) de 2-bromoetanol y 2,72 g (que corresponden a 40,0 mmol) de imidazol se disolvieron en 10 ml de dimetilformamida (DMF) y se enfriaron a 0 °C. Después, se añadieron a esto 5,50 g (que corresponden a 20,0 mmol) de t-butildifenilclorosilano (TBDPSC1). Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, se añadió una solución de cloruro de sodio y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 10/1) obteniéndose 7,04 g (que corresponden a 19,4 mmol) de 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano (Fig. 2-1, Etapa 3).

Se disolvieron 200 mg (que corresponden a 0,595 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina en 3,0 ml de dimetilformamida y 247 mg (que corresponden a 1,79 mmol) de carbonato de potasio. Después, se añadieron 259 mg (que corresponden a 0,714 mmol) de 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 2 horas, se añadió una solución de cloruro de sodio y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 2/1) obteniéndose 368 mg (que corresponden a 0,595 mmol) de 2-[4'-(2"-t-butildifenilsiloxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-1, Etapa 4).

Se disolvieron 368 mg (que corresponden a 0,595 mmol) de 2-[4'-(2"-t-butildifenilsiloxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina en 1,0 ml de tetrahidrofurano (THF) y se añadieron a esto 0,70 ml de solución en tetrahidrofurano de fluoruro de tetrabutilamonio a 1,0 mol/l (TBAF). Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se añadió la solución de cloruro de amonio, seguida por la adición de 5,0 ml de agua y 2,0 ml de acetonitrilo. Después, se filtraron los precipitados. Los precipitados filtrados se lavaron con agua y acetonitrilo en este orden, obteniéndose 226 mg (que corresponden a 0,595 mmol) de 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig.2-1, Etapa 5).

Los resultados de la medición de RMN de la 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

10 Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL))

RMN de ^1H (disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 ; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,95 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,87 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,54-7,46 (m, 2H), 7,04 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,04 (t, $J = 4,6$ Hz, 2H), 3,73 (t, $J = 4,6$ Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 , frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 158,9, 143,0, 142,4, 133,5, 131,5, 127,1, 124,4, 116,7, 114,8, 108,1, 76,7, 69,5, 59,4.

15 Ejemplo II-2: síntesis de 6-tributilestannil-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina

100 mg (que corresponden a 0,263 mmol) de 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina obtenidos en el Ejemplo II-1 se disolvieron en 4,0 ml de dioxano y se añadieron a esto 2,0 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 0,20 ml (que corresponden a 0,39 mmol) de bis(tributilestano) y 20,1 mg (una cantidad catalítica) de tetraquis-trifenilfosfina de paladio. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 21 horas, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 1/2) obteniéndose 75,3 mg (que corresponden a 0,139 mmol) de 6-tributilestannil-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-2, Etapa 1).

Los resultados de medición de RMN de la 6-tributilestannil-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

25 Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL))

RMN de ^1H (disolvente: cloroformo- d_1 ; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 7,98 (s, 1H), 7,89 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,56 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,15 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 6,98 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 4,13 (t, $J = 4,6$ Hz, 2H), 3,99 (t, $J = 4,6$ Hz, 2H), 2,63 (s, 3H), 1,64-1,51 (m, 6H), 1,36 (sexteto, $J = 7,3$ Hz, 6H), 1,19-1,06 (m, 6H), 0,92 (t, $J = 7,3$ Hz, 9H).

30 RMN de ^{13}C (disolvente: cloroformo- d_1 , frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 158,6, 145,7, 145,0, 131,2, 130,0, 127,4, 127,2, 121,9, 116,9, 114,8, 106,4, 69,3, 61,4, 29,0, 27,3, 13,7, 9,8.

Ejemplo II-3: síntesis de 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I

A 60 ml de una solución mezclada de 6-tributilestannil-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (concentración: 1 mg/ml) en metanol/dimetilsulfóxido (proporción de mezclado: 9/1), se añadieron 150 μl de ácido clorhídrico a 1 mol/l, 15 μl de yoduro de sodio a 1 mmol/l, 250 μl de yoduro de sodio ^{123}I de 274 MBq y 15 μl de peróxido de hidrógeno al 10% (p/v). Después la solución mezclada se dejó reposar a 50 °C durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones, obteniéndose fracción de 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazol-piridina ^{123}I .

Condiciones de HPLC:

40 Columna: Phenomenex Luna C18 (nombre comercial; elaborada por Phenomenex Co.; tamaño: 4,6 x 150 mm). Fase móvil: ácido trifluoroacético al 0,1 %/acetonitrilo = 20/80 a 0/100 (17 minutos). Caudal: 1,0 ml/min.

Detector: absorciómetro ultravioleta visible (longitud de onda de detección: 282 nm) y contador de radiactividad (elaborado por Raytest: tipo STEFFI).

45 Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters: la cantidad envasada del agente de envasado: 145 mg) de tal forma que la columna adsorbe y recoge 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I . La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar a través de ella 1 ml de éter dietílico eluyendo 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ^{123}I . La cantidad de radiactividad del compuesto obtenido fue 22 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las siguientes condiciones y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 97 %.

Condiciones de análisis de TLC:

Placa de TLC: Gel de Sílice 60 F₂₅₄ (nombre comercial; elaborado por Merck & Co., Inc.). Fase móvil: cloroformo/metanol/trietilamina = 100/1/2. Detector: Rita Star (nombre comercial; elaborado por Raytest)

Ejemplo II-4: síntesis de 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma yodada no radiactiva)

5 Se añadieron 30 ml de acetato de etilo a 2,72 g (que corresponden a 12,2 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió 1,00 g (que corresponde a 6,09 mmol) de 4'-etoxiacetofenona. Después, la mezcla se sometió a reflujo. Después de 3 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. Después, el filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 10/1), obteniéndose 1,20 g (que corresponden a 4,94 mmol) de 2-bromo-4'-etoxiacetofenona (Fig. 2-3, Etapa 1).

15 Se disolvieron 1,20 g (que corresponden a 4,94 mmol) de 2-bromo-4'-etoxiacetofenona y 1,09 g (que corresponden a 4,95 mmol) de 2-amino-5-yodopiridina en 20 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 110 °C durante 1,5 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron. Después, los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 10 ml de agua y 5 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 20 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 10 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 1,64 g (que corresponden a 4,50 mmol) de 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-3, Etapa 2).

20 Los resultados de la medición de RMN de la 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL))

25 RMN de ¹H (disolvente: dimetilsulfóxido-d₆; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 9,06 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,86 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,77-7,57 (m, 2H), 7,06 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,10 (c, J = 6,9 Hz, 2H), 1,36 (t, J = 6,9 Hz, 3H).

RMN de ¹³C (disolvente: dimetilsulfóxido-d₆, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 159,3, 141,1, 140,3, 135,9, 132,0, 127,3, 122,1, 115,3, 114,9, 108,5, 78,6, 63,2, 14,5.

Ejemplo II-5: síntesis de 6-tributilestannil-2-(4'-etoxifenil)imidazo[1,2-a]piridina

30 364 mg (que corresponden a 1,00 mmol) de 2-(4'-(2"-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina obtenidos en el Ejemplo II-4 se disolvieron en 4,0 ml de dioxano y se añadieron a esto 2,0 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 0,76 ml (que corresponden a 1,5 mmol) de bis(tributilestano) y 76,3 mg (una cantidad catalítica) de tetraquis-trifenilfosfina de paladio. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 23 horas, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 5/1), obteniéndose 331 mg (que corresponden a 0,628 mmol) de 6-tributilestannil-2-(4'-etoxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-4, Etapa 1).

35 Los resultados de medición de RMN de la 6-tributilestannil-2-(4'-etoxifenil)imidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

40 Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de ¹H (disolvente: cloroformo-dl; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 7,96 (s, 1H), 7,88 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,74 (s, 1H), 7,58 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,07 (c, J = 6,9 Hz, 2H), 1,63-1,49 (m, 6H), 1,43 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 1,39-1,31 (m, 6H), 1,18-1,04 (m, 6H), 0,90 (t, J = 7,3 Hz, 9H).

RMN de ¹³C (disolvente: cloroformo-dl, frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 159,0, 145,7, 145,2, 131,2, 130,1, 127,4, 126,7, 121,9, 117,0, 114,8, 106,4, 63,6, 29,1, 27,4, 15,0, 13,8, 9,9.

45 **Ejemplo II-6: síntesis de 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I**

A 60 ml de una solución mezclada de 6-tributilestannil-2-(4'-etoxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (concentración: 1 mg/ml) en metanol/dimetilsulfóxido (proporción de mezclado: 9/1), se añadieron 90 µl de ácido clorhídrico a 2 mol/l, 15 ml de yoduro de sodio a 1 mmol/l, 250 ml de yoduro de sodio ¹²³I de 436 MBq y 15 µl de peróxido de hidrógeno al 10% (p/v). Después la solución mezclada se dejó reposar a 50 °C durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones, obteniéndose fracción de 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I.

Condiciones de HPLC:

Columna: Phenomenex Luna C18 (nombre comercial; elaborada por Phenomenex Co.; tamaño: 4,6 x 150 mm). Fase móvil: ácido trifluoroacético al 0,1 %/acetonitrilo = 20/80 a 0/100 (17 minutos). Caudal: 1,0 ml/min.

5 Detector: absorciómetro ultravioleta visible (longitud de onda de detección: 282 nm) y contador de radiactividad (elaborado por Raytest: tipo STEFFI).

10 Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters: la cantidad envasada del agente de envasado: 145 mg) de tal forma que la columna adsorbe y recoge 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I. La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar a través de ella 1 ml de éter dietílico para eluir 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I. La cantidad de radiactividad del compuesto obtenido fue 88 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las siguientes condiciones y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 98 %.

Condiciones de análisis de TLC:

Placa de TLC: Gel de Sílice 60 F₂₅₄ (nombre comercial; elaborado por Merck & Co., Inc.)

15 Fase móvil: cloroformo/metanol/trietilamina = 100/1/2. Detector: Rita Star (nombre comercial; elaborado por Raytest)

Ejemplo de Referencia II-1: síntesis de IMPY ¹²³I

IMPY ¹²³I se sintetizó de acuerdo con las siguientes etapas para usar en Ejemplos Comparativos para evaluaciones en medida de logP_{octanol} y acumulaciones en el cerebro.

20 De acuerdo con el procedimiento descrito en una bibliografía (Zhi-Ping Zhuang y cols., J. Med. Chem, 2003, 46, páginas 237-243), se sintetizó 6-tributylestannil-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]imidazo[1,2-a]piridina y se disolvió en metanol (concentración: 1 mg/ml). A 53 ml de la solución resultante, se añadieron 75 ml de ácido clorhídrico a 1 mol/l, 60-70 ml de yoduro de sodio ¹²³I de 224-253 MBq, 10 µl de yoduro de sodio a 1 mmol/l y 15 ml de peróxido de hidrógeno al 10 % (p/v). Después la solución mezclada se dejó reposar a 50 °C durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC en las mismas condiciones que se describen en el Ejemplo II-3, obteniéndose fracción de IMPY ¹²³I.

25 Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C8 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters; la cantidad envasada del agente de envasado: 145 mg), de tal forma que la columna adsorbe y recoge la IMPY ¹²³I. La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar a través de ella 1 ml de etanol, eluyendo IMPY ¹²³I. La radiactividad obtenida fue 41-57 MBq al final de la síntesis. Además, el análisis de TLC se llevó a cabo en las mismas condiciones según se describen en el Ejemplo II-3 y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 93 %.

Ejemplo II-7, Ejemplo Comparativo II-1 a II-3: medición de afinidad con amiloide

La afinidad de los presentes compuestos con amiloide se examinó por las siguientes pruebas de unión *in vitro*.

35 (1) Se disolvió A₁₋₄₂ (Wako) en tampón fosfato (pH 7,4) y se agitó a 37 °C durante 72 horas, obteniéndose 1 mg/ml de una suspensión (de aquí en adelante referida como suspensión amiloide en este Ejemplo) de A agregada (de aquí en adelante referida como amiloide en este Ejemplo).

40 (2) De acuerdo al procedimiento descrito en una bibliografía (Naiki, H., y cols., Laboratory Investigation 74, páginas 374-383 (1996)), la suspensión amiloide se sometió a experimento cualitativo en base a procedimiento de fluorescencia espectrofotométrica usando Tioflavina T (elaborada por Fluka) confirmando que el agregado Aβ obtenido en (1) fue amiloide (condiciones de medición: longitud de onda de excitación de 446 nm y longitud de onda de emisión de 490 nm).

45 (3) De acuerdo con el procedimiento descrito en una bibliografía (Wang, Y., y cols., J. Labeled Compounds Radiopharmaceut. 44, S239 (2001)), 2-(3'-yodo-4'-aminofenil)benzotiazol ¹²⁵I (referido de aquí en adelante como [¹²⁵I]3'-I-BTA-0) se preparó a partir de un precursor de marcado 2-(4'-aminofenil)benzotiazol y se disolvió en etanol. Según Rojo Congo, Tioflavina T y 6-metil-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]benzotiazol (referido en el presente documento como 6-Me-BTA-2) fueron reactivos comercialmente disponibles se pesaron y usaron.

(4) IMPY se sintetizó de acuerdo con el procedimiento descrito en una bibliografía (Zhuang, Z.P., y cols., J. Med. Chem. 46, 237 (2003)).

50 (5) Cada compuesto para la evaluación o solución en etanol de los mismos, una solución de etanol de [¹²⁵I]3'-I-BTA-0 preparada anteriormente en (3) y suspensión amiloide preparada anteriormente en (1) se disolvieron en seroalbúmina bovina que contiene fosfato al 1% (pH 7,4) y se prepararon muestras a concentraciones finales de cada compuesto para evaluación, respectivamente [¹²⁵I]3'-I-BTA-0 y amiloide mostrados en la Tabla 2-2 .

Tabla 2-2: concentraciones finales de cada compuesto en soluciones de muestra.

Experimento	Compuesto para evaluación	Concentración de compuesto para evaluación	Concentración de $[^{125}\text{I}]\text{3}'\text{-I-BTA-0}$	Amiloide
Ejemplo Comparativo II-1	Rojo Congo	Cada concentración de 0, 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100, 1000 nmol/l.	400 $\mu\text{mol/l}$	1 $\mu\text{mol/l}$
Ejemplo Comparativo II-2	Tioflavina T			
Ejemplo Comparativo II-3	IMPY			
Ejemplo II-7	Compuesto II-3			

5 (6) Cada solución de muestra preparada anteriormente en (5) se cargó en cada pocillo (aproximadamente 0,3 ml en volumen) de una microplaca de 96 pocillos. La microplaca cargada con las soluciones de muestra se agitó a una velocidad dada (400 rpm) a 22 °C durante 3 horas. Después, cada solución de muestra se filtró a través un filtro de fibra de vidrio (nombre comercial: Multiscreen TM-FC, elaborado por Millipore), separando el $[^{125}\text{I}]\text{3}'\text{-I-BTA-0}$ unido a amiloide a partir del $[^{125}\text{I}]\text{3}'\text{-I-BTA-0}$ libre.

10 (7) El filtro de fibra de vidrio usado para filtración de la solución mezclada se lavó con tampón de fosfato (pH 7,4) conteniendo seroalbúmina bovina al 0,1 % (0,5 ml x 5) y la radiactividad del filtro de fibra de vidrio se midió con un sistema Autowell Gamma (elaborado por Aloka, Tipo: ARC-301B) (en el presente documento, A denota el nivel de radiactividad en una muestra con concentración cero (0) de cada compuesto para evaluación y B denota la radiactividad en una muestra con 0,001 nmol/l o mayor concentración de cada compuesto para evaluación).

15 (8) Por separado, se preparó una solución conteniendo 15 $\mu\text{mol/l}$ de 6-Me-BTA-2, 400 pmol/l de $[^{125}\text{I}]\text{3}'\text{-I-BTA-0}$ y 1 $\mu\text{mol/l}$ de amiloide y se sometió a los mismos procedimientos que se describen anteriormente en (7) y (8) midiendo un nivel de radiactividad. El nivel de radiactividad medido se define como el nivel de radiactividad precedente y se usa en el cálculo de la proporción de inhibición (referida en el presente documento como BG).

(9) Usando los niveles de radiactividad medidos anteriormente en (7) y (8), se determinó la proporción de inhibición por la siguiente fórmula (2-1).

$$\frac{B - BG}{A - BG} \times 100 \quad (\%) \quad (2-1)$$

20 Una gráfica en la que se trazaron los valores convertidos por transformación de Probit a partir de las proporciones de inhibición obtenidas con respecto a logaritmos de concentraciones de compuestos para evaluación se preparó obteniéndose una línea recta aproximada por el procedimiento de mínimos cuadrados. Utilizando la línea, se determinó una concentración de inhibición del 50 % de cada compuesto para evaluación (a partir de aquí referida como valor de % CI_{50}). Usando el valor como un indicador, se evaluó la afinidad de cada compuesto por evaluación con amiloide.

30 El valor de $\text{CI}_{50\%}$ de cada compuesto para evaluación se muestra en la Tabla 2-3. Los compuestos II-3 mostraron valores de $\text{CI}_{50\%}$ de menos de 100 y tuvieron mayor afinidad que Rojo Congo y Tioflavina T que se sabe generalmente que tienen afinidad con amiloide. Los resultados muestran que los Compuestos II-3 tienen buena afinidad con amiloide como IMPY.

Tabla 2-3: valores $CI_{50\%}$ de los presentes compuestos.

Experimento	Compuesto para evaluación	Valores de $CI_{50\%}$ (nmol/l)
Ejemplo Comparativo II-1	Rojo Congo	>1000
Ejemplo Comparativo II-2	Tioflavina T	>1000
Ejemplo Comparativos II-2	IMPY	25,8
Ejemplo II-7	Compuesto II-3	66,9

5 **Ejemplo II-8 a II-9, Ejemplo Comparativo II-4: medición de coeficiente de partición en base al procedimiento de extracción de octanol.**

Se midieron los coeficientes de partición basados en el procedimiento de extracción de octanol (referidos de aquí en adelante como $\log P_{\text{octanol}}$), que se conocen generalmente como un indicador de permeabilidad de compuestos a través de la barrera hematoencefálica (referida de aquí en adelante como BBB).

10 Una solución de éter dietílico de Compuesto II-1 preparada en el Ejemplo II-3 (Ejemplo II-8), una solución de éter dietílico de Compuesto II-2 preparada en el Ejemplo II-6 (Ejemplo II-9) y una solución en éter dietílico de IMPY ¹²³I preparada en el Ejemplo de Referencia II-1 (Ejemplo Comparativo II-2) se diluyeron cada una con solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml y se ajustaron a concentración radiactiva de 20-30 MBq/ml. A 2 ml de octanol, se añadieron 10 ml de cada una de las soluciones de muestra preparadas, se añadieron 2 ml de tampón fosfato a 10 mmol/l (pH 7,4), seguido por agitación durante 30 segundos. Después la mezcla se centrifugó con una centrífuga de velocidad baja (2000 rpm x 60 minutos), se tomaron muestras de la fase de octanol y la fase de agua cada una en una cantidad de 1 ml y se sometieron a medida de recuento de radiactividad con un sistema de Autowell Gamma (Tipo: ARC-301B, elaborado por Aloka). Usando el recuento de radiactividad total obtenida, se calculó $\log P_{\text{octanol}}$ de acuerdo con la ecuación (2-2).

20
$$\log P_{\text{octanol}} = \log_{10} \left(\frac{\text{Recuento de radiactividad en la fase de octanol}}{\text{Recuento de radiactividad en la fase de agua}} \right) \dots (2-2)$$

Los resultados se muestran en la Tabla 2-4. Todos los compuestos mostraron valor de $\log P_{\text{octanol}}$ entre 1 y 3. Se sabe que compuestos permeables a BBB muestran un valor de $\log P_{\text{octanol}}$ entre 1 y 3 (Douglas D. Dischino y cols., J. Nucl. Med., (1983), 24, páginas 1030-1038). Así, está implicado que ambos compuestos tienen una permeabilidad de BBB como IMPY.

Tabla 2-4: valor de $\log P_{\text{octanol}}$ del presente compuesto

Experimento	Compuesto	valor de $\log P_{\text{octanol}}$	Experimento
Ejemplo Comparativo II-4	IMPY ¹²³ I	1,9	Ejemplo Comparativo II-4
Ejemplo II-8	Compuesto II-1	1,8	Ejemplo II-8
Ejemplo II-9	Compuesto II-2	2,1	Ejemplo II-9

30 **Ejemplo II-10 a II-11, Ejemplo Comparativo II-5: medición de transferibilidad dentro del cerebro y eliminación.**

Usando Compuesto II-1 (Ejemplo II-10) y Compuesto II-2 (Ejemplo II-11), se midió un cambio en el curso del tiempo de acumulación radiactiva en el cerebro de ratas Winstar macho (de 7 semanas de edad).

Una solución de éter dietílico de Compuesto II-1 (Ejemplo II-10) preparada en el Ejemplo II-3 , una solución de éter dietílico de Compuesto II-2 (Ejemplo II-9) preparada en el Ejemplo II-6 y una solución en éter dietílico de IMPY ¹²³I (Ejemplo Comparativo II-5) preparada en el Ejemplo de Referencia II-1 se diluyeron cada una con solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml y se ajustaron a concentración radiactiva de 8-12 MBq/ml. 0,05 ml de cada una de las soluciones de muestra preparadas se inyectaron dentro de la vena del rabo de las ratas con anestesia de tiopental. Las ratas se sacrificaron por sangrado de la arteria abdominal y los cerebros se retiraron y sometieron a medición de masa de los cerebros y se sometieron adicionalmente a medición de radiactividad (referida de ahora en adelante como A en este Ejemplo) con un analizador de canal individual (tipo de detector: SP-20 elaborado por OHYO KOKEN KOGYO Co., Ltd.) 2, 5, 30 y 60 minutos después de la inyección. Adicionalmente, el nivel de radiactividad del resto del cuerpo entero se midió de la misma manera que anteriormente (referido en el presente documento como B en este Ejemplo). Usando estos resultados de medición, la distribución radiactiva por unidad de peso de cerebro (% ID/g) en los puntos temporales respectivos se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula (2-3).

Se usaron tres animales para el experimento en los puntos temporales respectivos.

$$\%ID/g = \frac{A}{B \times 1000 \times \text{peso cerebral}} \times 100 \dots (2-3)$$

Los resultados se muestran en la Tabla 2-5. Como se muestra en la Tabla 2-5, los Compuestos II-1 y II-2 mostraron una acumulación radiactiva significativa como IMPY ¹²³I en el punto temporal de dos minutos después de la inyección y después mostraron una tendencia a eliminarse rápidamente en 60 minutos. Estos resultados sugieren que ambos Compuestos II-1 y II-2 poseen excelente transferibilidad a cerebro y eliminación rápida desde cerebro como IMPY ¹²³I.

Tabla 2-5: distribución radiactiva en el cerebro del presente compuesto después de inyección intravenosa (ratas).

Compuesto		Distribución radiactiva por unidad de peso (% ID/g)			
		Después de 2 min.	Después de 5 min.	Después de 30 min.	Después de 60 min.
Ejemplo II-10	Compuesto II-1	0,90	0,52	0,06	0,01
Ejemplo II-11	Compuesto II-2	0,89	0,66	0,13	0,04
Ejemplo Comparativo II-5	IMPY ¹²³ I	1,19	0,97	0,23	0,09

Ejemplo Comparativo II-6: autorradiograma ex vivo de IMPY ¹²³I usando ratas de modelo de inyectado con amiloide

(1) Aβ₁₋₄₀ (reproducible por Peptide Institute, INC.) se disolvió en tampón fosfato (pH 7,4) y se agitó a 37 °C durante 72 horas, obteniéndose 1 mg/ml de una suspensión de agregado Aβ (de aquí en adelante referida como suspensión amiloide en este Ejemplo).

(2) 2,5 µl (que corresponden a 25 mg) de la suspensión amiloide se inyectaron en un núcleo amigdaloides en un costado de una rata Wistar macho (7 semanas de edad). Como un control, se inyectaron 2,5 µl de solución salina de tampón fosfato (pH 7,4) dentro de un núcleo amigdaloides en el otro costado de la rata. Las ratas se examinaron 1 día después de la inyección de la suspensión amiloide y la solución salina fisiológica tamponada con fosfato (pH 7,4).

(3) IMPY ¹²³I se disolvió en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml obteniéndose una solución de muestra (29 MBq/ml en concentración de radiactividad en la solución de muestra). Esta solución se inyectó dentro de la rata con anestesia de tiopental a través de la vena del rabo (dosificación: 0,5 ml, radiactividad dosificada: equivalente a 14,5 MBq).

(4) El cerebro se retiró 60 minutos después de la inyección preparando un corte de cerebro de 10 mm de grosor con un microtomo (tipo: CM3050S, elaborado por LEICA). El corte del cerebro se expuso en una placa de formación de imágenes durante 20 horas y después el análisis de imágenes se llevó a cabo por uso de un Analizador Bio-imaging (tipo: BAS-2500; elaborado por FUJIFILM Corporation).

5 (5) Después de la finalización del análisis de imágenes usando el Analizador Bio-imaging, se llevó a cabo la tinción patológica con Tioflavina T llevando a cabo la formación de imágenes por el uso de un microscopio de fluorescencia (elaborado por NIKON Corporation; tipo: modelo TE2000-U; longitud de onda de excitación: 400-440 nm; longitud de onda de detección: 470 nm). Así, se confirmó que amiloide estaba depositado en el corte (Fig. 2-5b).

10 Fig. 2-5 muestra imágenes por autorradiograma y tinción con Tioflavina T del corte de cerebro de la rata a la que se inyectó amiloide intracerebralmente. Como se muestra en esta figura, se observó una acumulación marcada de la radiactividad en el núcleo amigdaloides en el costado en el que la suspensión amiloide se inyectó, pero también se observó acumulación no específica en la materia blanca donde no se inyectó amiloide.

Ejemplo II-12: confirmación de formación de imágenes de amiloide en cerebro

15 El siguiente experimento se llevó a cabo con el fin de examinar si se pueden obtener imágenes de amiloide en el cerebro mediante el compuesto de la presente invención.

(1) A β ₁₋₄₂ (Wako) se disolvió en tampón fosfato (pH 7,4) y se agitó a 37 °C durante 72 horas, obteniéndose 1 mg/ml de una suspensión de agregado A β (de aquí en adelante referida como suspensión amiloide en los Ejemplos).

20 (2) 2,5 ml (que corresponden a 25 μ g) de la suspensión amiloide se inyectaron en un núcleo amigdaloides en un costado de una rata Wistar macho (7 semanas de edad). Como un control, se inyectaron 2,5 μ l de solución salina de tampón fosfato (pH 7,4) dentro de un núcleo amigdaloides en el otro costado de la rata. Las ratas se examinaron 1 día después de la inyección de la suspensión amiloide y la solución salina fisiológica tamponada con fosfato (pH 7,4).

25 (3) El Compuesto II-1 se disolvió en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml obteniéndose una solución de muestra (22 MBq/ml en concentración de radiactividad en la solución de muestra). Esta solución se inyectó dentro de la rata con anestesia de tiopental a través de la vena del rabo (dosificación: 0,5 ml, radiactividad dosificada: equivalente a 11-13 MBq).

30 (4) El cerebro se retiró 60 minutos después de la inyección preparando un corte de cerebro de 10 μ m de grosor con un microtomo (tipo: CM3050S, elaborado por LEICA). El corte del cerebro se expuso en una placa de formación de imágenes durante 20 horas y después el análisis de imágenes se llevó a cabo por uso de un Analizador Bio-imaging (tipo: BAS-2500; elaborado por FUJIFILM Corporation).

(5) Después de la finalización del análisis de imágenes usando el Analizador Bio-imaging, se llevó a cabo la tinción patológica con Tioflavina T llevando a cabo la formación de imágenes por el uso de un microscopio de fluorescencia (elaborado por NIKON Corporation; tipo: modelo TE2000-U; longitud de onda de excitación: 400-440 nm; longitud de onda de detección: 470 nm). Así, se confirmó que amiloide estaba depositado en el corte (Fig. 2-6b).

35 Fig. 2-6 muestra imágenes por autorradiograma y tinción con Tioflavina T del corte de cerebro de la rata a la que se inyectó amiloide intracerebralmente. Como se muestra en la figura, se observó en el núcleo amigdaloides una acumulación marcada de la radiactividad en el costado en que se inyectó la suspensión amiloide. Por otro lado, no se observó ninguna acumulación de radiactividad en el núcleo amigdaloides en el costado en el que se inyectó la solución salina fisiológica, en comparación con los otros sitios. Sobre el autorradiograma, se observó pequeña
40 acumulación de radiactividad en sitios distintos de los sitios en los que se inyectó amiloide. A partir del resultado de tinción de Tioflavina T, se confirmó que el amiloide estuvo presente en el sitio donde se acumuló radiactividad (Fig. 2-6b).

45 Así, el Compuesto II-1 mostró poca acumulación radiactiva en los sitios distintos de los de los sitios inyectados con amiloide y mostró poca unión no específica a la materia blanca observada en IMPY ¹²³I. Estos resultados sugieren que el Compuesto II-1 posee una excelente capacidad de obtener imágenes de amiloide en la imagen de autorradiograma total. Estos resultados también sugieren que el Compuesto II-1 es un compuesto que posee una especificidad alta para formación de imágenes de amiloide intracerebral.

Ejemplo II-13: confirmación de formación de imágenes de amiloide en cerebro

50 Se llevaron a cabo los mismos procedimientos que en el Ejemplo II-12 salvo usando una solución de 10 mg/ml de Compuesto II-12 en ácido ascórbico (la concentración radiactiva de la solución de muestra era 25 MBq/ml).

Fig. 2-7 muestra imágenes por autorradiograma y tinción con Tioflavina T del corte de cerebro de la rata a la que se inyectó amiloide intracerebralmente. Como se muestra en la figura, se observó en el núcleo amigdaloides una acumulación marcada de la radiactividad en el costado en que se inyectó la suspensión amiloide. A partir del resultado de tinción de Tioflavina T en el sitio donde se acumuló la radiactividad, se confirmó que el amiloide está

presente en el sitio de acumulación. Por otro lado, no se observó ninguna acumulación de radiactividad en el núcleo amigdalóide en el costado en el que se inyectó la solución salina fisiológica, en comparación con los otros sitios.

El Compuesto II-2 mostró alguna acumulación radiactiva en sitios diferentes que los sitios inyectados con amiloide, pero la acumulación se suprimió altamente comparada con IMPY ¹²³I. Como un resultado, se proporcionó la imagen completa con una capacidad alta de formación de imágenes de amiloide .

Estos resultados sugieren que el Compuesto II-2 es un compuesto que posee una alta especificidad para formación de imágenes de amiloide intracerebral.

Ejemplo II-14: síntesis de 2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma yodada no radiactiva)

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 8,60 g (que corresponden a 46,0 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 2,50 g (que corresponden a 22,0 mmol) de 3'-hidroxiacetofenona en 50 ml de acetato de etilo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 2 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 2/1), obteniéndose 4,42 g (que corresponden a 20,6 mmol) de 2-bromo-3'-hidroxiacetofenona (Fig. 2-8, Etapa 1).

987 mg (que corresponden a 4,55 mmol) de 2-bromo-3'-hidroxiacetofenona y 1,00 g (que corresponden a 4,55 mmol) de 2-amino-5-yodopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 110 °C durante 2 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 10 ml de agua y 1 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 10 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 927 mg (que corresponden a 2,76 mmol) de 2-(3'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-8, Etapa 2).

Por separado, 2,50 g (que corresponden a 20,0 mmol) de 2-bromoetanol y 2,72 g (que corresponden a 40,0 mmol) de imidazol se disolvieron en 10 ml de dimetilformamida (DMF) y se enfriaron a 0 °C. Después, se añadieron a esto 5,50 g (que corresponden a 20,0 mmol) de t-butildifenilclorosilano. Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, se añadió una solución de cloruro de sodio y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 10/1) obteniéndose 7,04 g (que corresponden a 19,4 mmol) de 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano (Fig. 2-8, Etapa 3).

Se disolvieron 300 mg (que corresponden a 0,893 mmol) de 2-(3'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina en 5,0 ml de dimetilformamida y 370 mg (que corresponden a 2,68 mmol) de carbonato de potasio. Después, se añadieron 357 mg (que corresponden a 0,982 mmol) de 1-bromo-2-(t-butildifenilsiloxi)etano. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 2 horas, se añadió una solución de cloruro de sodio y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 3/1) obteniéndose 477 mg (que corresponden a 0,771 mmol) de 2-[3'-(2"-t-butildifenilsiloxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-8, Etapa 4).

477 mg (que corresponden a 0,771 mmol) de 2-[3'-(2"-t-butildifenilsiloxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina se disolvieron en 0,98 ml de tetrahidrofurano y se añadieron a esto 0,93 ml de una solución en tetrahidrofurano de fluoruro de tetrabutilamonio a 1,0 mol/l. Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, se añadió la solución de cloruro de amonio seguida por adición de 5,0 ml de agua y 2,0 ml de acetonitrilo filtrando precipitados. Los precipitados filtrados se lavaron con agua y acetonitrilo es este orden obteniéndose 120 mg (que corresponden a 0,316 mmol) de 2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-8, Etapa 5).

Los resultados de la medición de RMN de la 2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL))

RMN de ¹H (disolvente: dimetilsulfóxido-d₆; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,91 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,52-7,51 (m, 2H), 7,45 (s, 2H), 7,35 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 6,93-6,90 (m, 1H), 4,06 (t, J = 4,6 Hz, 2H), 3,75 (t, J = 4,6 Hz, 2H).

Ejemplo II-15: síntesis de 6-tributilestannil-2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina

70 mg (que corresponden a 0,184 mmol) de 2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina obtenidos en el Ejemplo II-14 se disolvieron en 4,0 ml de dioxano y se añadieron a esto 2,0 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 0,20 ml (que corresponden a 0,39 mmol) de bis(tributilestano) y 14,0 mg (una cantidad catalítica) de tetraquis-trifenilfosfina de paladio. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 20 horas, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 2/1) obteniéndose 73,0 mg (que corresponden a 0,134 mmol) de 6-tributilestannil-2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-9, Etapa 1).

Los resultados de medición de RMN de la 6-tributilestannil-2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL))

RMN de ¹H (disolvente: cloroformo-dl; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 7,99 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,64-7,50 (m, 3H), 7,34-7,31 (m, 1H), 7,18-7,17 (m, 1H), 6,90-6,87 (m, 1H), 4,20 (t, J = 4,3 Hz, 2H), 3,98 (t, J = 4,3 Hz, 2H), 1,69-1,48 (m, 6H), 1,39-1,32 (m, 6H), 1,19-1,05 (m, 6H), 0,91 (t, J = 7,4 Hz, 9H).

Ejemplo II-16: síntesis de 2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I

A 60 ml de una solución mezclada de 6-tributilestannil-2-[34-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (concentración: 1 mg/ml) en metanol/dimetilsulfóxido (en una proporción de 9/1), se añadieron 150 µl de ácido clorhídrico a 1 mol/l, 15 µl de yoduro de sodio a 1 mmol/l, 250 µl de yoduro de sodio ¹²³I de 274 MBq y 15 µl de peróxido de hidrógeno al 10 % (p/v). Después la solución mezclada se dejó reposar a 50 °C durante 10 minutos, se sometió a HPLC según las siguientes condiciones obteniéndose fracción de 2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I.

Condiciones de HPLC:

Columna: Phenomenex Luna C18 (nombre comercial; elaborada por Phenomenex Co.; tamaño: 4,6 x 150 mm). Fase móvil: ácido trifluoroacético al 0,1 %/acetonitrilo = 20/80 a 0/100 (17 minutos). Caudal: 1,0 ml/min.

Detector: absorciómetro ultravioleta visible (longitud de onda de detección: 282 nm) y contador de radiactividad (elaborado por Raytest: tipo STEFFI).

Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters: la cantidad envasada del agente de envasado: 145 mg) de tal forma que la columna adsorbe y recoge 2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I. La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar a través de ella 1 ml de éter dietílico eluyendo 2-[3'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I. La cantidad de radiactividad del compuesto obtenido fue 112,9 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las siguientes condiciones y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 97 %.

Condiciones de análisis de TLC:

Placa de TLC: Gel de Sílice 60 F₂₅₄ (nombre comercial; elaborado por Merck & Co., Inc.)

Fase móvil: cloroformo/metanol/trietilamina = 100/1/2. Detector: Rita Star (nombre comercial; elaborado por Raytest)

Ejemplo II-17: síntesis de 2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma yodada no radioactiva)

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 2-10, Etapa 1).

987 mg (que corresponden a 4,55 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 1,00 g (que corresponden a 4,55 mmol) de 2-amino-5-yodopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 110 °C durante 2 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución

mezclada de 10 ml de agua y 1 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 10 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron de la muestra resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 927 mg (que corresponden a 2,76 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-10, Etapa 2).

Por separado, 7,0 g (que corresponden a 50,4 mmol) de 2-bromoetanol y 6,86 g (que corresponden a 101 mmol) de imidazol se disolvieron en 50 ml de dimetilformamida (DMF) y se enfriaron a 0 °C. Después, se añadieron a esto 7,59 g (que corresponden a 50,4 mmol) de t-butildimetilclorosilano. Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, se suplementó con una solución de cloruro de sodio y se extrajo tres veces con éter dietílico. Las fases de éter dietílico combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto resultante se purificó por destilación al vacío (100 °C, 9332,54 pascales (70 mm Hg)), obteniéndose 7,23 g (que corresponden a 30,2 mmol) de 1-bromo-3-(t-butildimetilsiloxi)propano (Fig. 2-10, Etapa 3).

Se añadieron 2,00 g (que corresponden a 5,95 mmol) de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina en 3,0 ml de dimetilformamida y 2,47 g (que corresponden a 17,9 mmol) de carbonato de potasio. Después, se añadieron 1,51 g (que corresponden a 5,95 mmol) de 1-bromo-3-(t-butildimetilsiloxi)propano. Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 días, se suplementó con una solución de cloruro de sodio saturada y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 1/1) obteniéndose 1,52 g (que corresponden a 2,99 mmol) de 2-[4'-(3"-t-butildimetil-siloxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-10, Etapa 4).

1,52 g (que corresponden a 2,99 mmol) de 2-[4'-(3"-t-butildimetilsiloxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina se disolvieron en 5,0 ml de tetrahidrofurano y se añadieron a esto 2,99 ml de una solución en tetrahidrofurano de fluoruro de tetrabutilamonio a 1,0 mol/l. Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos, se añadió la solución de cloruro de amonio seguida por la adición de 10 ml de agua y 5,0 ml de acetonitrilo filtrando precipitados. Los precipitados filtrados se lavaron con agua y acetonitrilo en este orden, obteniéndose 1,03 g (que corresponden a 2,61 mmol) de 2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-10, Etapa 5).

Los resultados de la medición de RMN de la 2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL))

RMN de ¹H (disolvente: dimetilformamida-d₆; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,96 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,98 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,46 (s, 2H), 7,06 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,63 (t, J = 5,0 Hz, 1H), 4,17 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,72 (dt, J = 5,0, 6,0 Hz, 2H), 1,98 (tt, J = 6,0, 6,0 Hz, 2H).

Ejemplo II-18: síntesis de 6-tributilestannil-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina

Se añadieron 50 ml de acetato de etilo a 28,17 g (que corresponden a 126 mmol) de bromuro cúprico obteniéndose una suspensión, a la que se añadió una solución de 8,18 g (que corresponden a 60,0 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona en una solución mezclada de 50 ml de acetato de etilo y 50 ml de cloroformo. Después, la mezcla resultante se sometió a reflujo. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. El filtrado resultante se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se sometió a una operación decolorante con adición de carbón vegetal activo. Después, la solución resultante se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: cloroformo/metanol = 20/1) y se recrystalizó a partir de acetato de etilo/éter de petróleo, obteniéndose 7,25 g (que corresponden a 33,7 mmoles) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona (Fig. 2-11, Etapa 1).

2,15 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-bromo-4'-hidroxiacetofenona y 1,74 g (que corresponden a 10,0 mmol) de 2-amino-5-bromopiridina se disolvieron en 50 ml de acetonitrilo. La solución resultante se sometió a reflujo en un baño de aceite a 105 °C durante 6 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y los precipitados se filtraron y se recuperaron. Los precipitados se lavaron con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Los cristales en bruto resultantes se suspendieron en una solución mezclada de 20 ml de agua y 20 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 25 ml de una solución de hidrogenocarbonato de sodio saturada y la mezcla se sometió a sonicación durante 5 minutos usando una lavadora ultrasónica. Se filtraron precipitados y se recuperaron a partir de la mezcla resultante, se lavaron suficientemente con agua y se secaron a presión reducida obteniéndose 2,41 g (que corresponden a 8,32 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-11, Etapa 2).

1,45 g (que corresponden a 5,0 mmol) de 6-bromo-2-(4'-hidroxifenil)imidazo[1,2-a]piridina que se secaron suficientemente eliminando humedad se disolvieron en 50 ml de N,N-dimetilformamida y se añadieron 2,07 g (que

corresponden a 15,0 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se suplementó con 680 µl (que corresponden a 7,5 mmol) de 3-bromo-1-propanol y después la solución se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas. Después de la finalización de la reacción, la solución de reacción se vertió en agua y se extrajo tres veces con cloroformo. La fase de cloroformo combinada se lavó con una solución de cloruro de sodio saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto resultante se recrystalizó a partir de metanol obteniéndose 1,28 g (que corresponden a 3,67 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-11, Etapa 3).

100 mg (que corresponden a 0,288 mmol) de 6-bromo-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina se disuelven en 4,0 ml de dioxano y se añadieron a esto 2,0 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 0,22 ml (que corresponden a 0,43 mmol) de bis(tributylestano) y 22,0 mg (una cantidad catalítica) de tetraquis-trifenilfosfina de paladio. Después de que la mezcla de reacción se agitó a 90 °C durante 24 horas, el disolvente se eliminó por destilación a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 3/1) obteniéndose 68,0 mg (que corresponden a 0,122 mmol) de 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (Fig. 2-11, Etapa 4).

Los resultados de la medición de RMN de la 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina resultante (estándar interno: tetrametilsilano) se muestran a continuación.

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (elaborado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL))

RMN de ¹H (disolvente: cloroformo-dl; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 7,97 (s, 1H), 7,88 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,74 (s, 1H), 7,58 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,98 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,18 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,89 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,08 (tt, J = 6,0, 6,0 Hz, 2H), 1,59-1,49 (m, 6H), 1,39-1,31 (m, 6H), 1,18-1,05 (m, 6H), 0,90 (t, J = 7,3 Hz, 9H).

Ejemplo II-19: síntesis de 2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I

A 100 µl de una solución mezclada de 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina (concentración: 1 mg/ml) en metanol/dimetilsulfóxido (en una proporción de 9/1), se añadieron 80 µl de ácido clorhídrico a 2 mol/l, 15 µl de yoduro de sodio a 1 mmol/l, 120 µl de yoduro de sodio ¹²³I de 414 MBq y 20 ml de peróxido de hidrógeno al 10 % (p/v). Después de que la solución mezclada se dejó reposar a 50 °C durante 10 minutos, la solución se sometió a HPLC según las siguientes condiciones, obteniéndose fracción de 2-[3'-(4"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazol[1,2-1]piridina ¹²³I.

Condiciones de HPLC:

Columna: Phenomenex Luna C18 (nombre comercial; elaborada por Phenomenex Co.; tamaño: 4,6 x 150 mm). Fase móvil: ácido trifluoroacético al 0,1 %/acetonitrilo = 20/80 a 0/100 (17 minutos). Caudal: 1,0 ml/min.

Detector: absorciómetro ultravioleta visible (longitud de onda de detección: 282 nm) y contador de radiactividad (elaborado por Raytest: tipo STEFFI).

Se añadieron a la fracción 10 ml de agua. La solución resultante se hizo pasar a través de una columna de fase reversa (nombre comercial: Cartuchos C18 Ligeros de Sep-Pak (marca comercial registrada) elaborados por Waters: la cantidad envasada del agente de envasado: 145 mg) de tal forma que la columna adsorbe y recoge 2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I. La columna se aclaró con 1 ml de agua y después se hizo pasar a través de ella 1 ml de éter dietílico eluyendo 2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I. La cantidad de radiactividad del compuesto obtenido fue 219 MBq al final de la síntesis. Adicionalmente, el análisis de TLC se llevó a cabo en las siguientes condiciones y como un resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue del 97 %.

Condiciones de análisis de TLC:

Placa de TLC: Gel de Sílice 60 F₂₅₄ (nombre comercial; elaborado por Merck & Co., Inc.)

Fase móvil: cloroformo/metanol/trietilamina = 100/1/2. Detector: Rita Star (nombre comercial; elaborado por Raytest)

Ejemplo II-20 a II-21, Ejemplo Comparativo II-7: medición de coeficiente de partición en base al procedimiento de extracción de octanol.

Una solución de éter dietílico (Ejemplo II-20) de Compuesto II-4 preparada en Ejemplo II-16, una solución de éter dietílico (Ejemplo II-21) de Compuesto II-6 preparada en Ejemplo II-19 y una solución de éter dietílico (Ejemplo Comparativo II-7) de IMPY ¹²³I se diluyeron cada una con solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml ajustando la concentración radiactiva a 20-30 MBq/ml. A 2 ml de octanol, se añadieron 10 µl de cada una de las soluciones de muestra preparadas y se añadieron adicionalmente 2 ml de un tampón fosfato a 10 mmol/l (pH 7,4), seguido por agitación durante 30 segundos. Después la mezcla se centrifugó con una centrifuga de velocidad baja (2000 rpm x 60 minutos), se tomaron muestras de la fase de octanol y la fase de agua cada una en una cantidad de 1 ml y se sometieron a medida de recuento de radiactividad con un sistema de Autowell Gamma (Tipo:

ARC-301B, elaborado por Aloka). Usando el recuento de radiactividad total obtenida, se calculó $\log P_{\text{octanol}}$ de acuerdo con la ecuación (2-4).

$$\log P_{\text{octanol}} = \log_{10} \left(\frac{\text{Recuento de radiactividad en la fase de octanol}}{\text{Recuento de radiactividad en la fase de agua}} \right) \dots (2-4)$$

5
 Los resultados se muestran en la Tabla 2-6. Todos los compuestos mostraron valor de $\log P_{\text{octanol}}$ entre 1 y 3. Se sabe que compuestos permeables a BBB muestran un valor de $\log P_{\text{octanol}}$ entre 1 y 3 (Douglas D. Dischino y cols., J. Nucl. Med., (1983), 24, páginas 1030-1038). Así, está implicado que ambos compuestos tienen una permeabilidad de BBB comparable a IMPY.

10
 Tabla 2-6: valor de $\log P_{\text{octanol}}$ del presente compuesto

Experimento	Compuesto	valor de $\log P_{\text{octanol}}$
Ejemplo Comparativo II-7	IMPY ¹²³ I	2,1
Ejemplo II-20	Compuesto II-4	2,5
Ejemplo II-21	Compuesto II-6	2,1

Ejemplo II-22 a II-23, Ejemplo Comparativo II-8: medición de transferibilidad dentro del cerebro y eliminación.

15 Usando Compuesto I-4 y Compuesto II-6, se midió un cambio en el curso del tiempo de acumulación radiactiva en el cerebro de ratas Wistar macho (7 semanas de edad).

20 Compuesto II-4 (Ejemplo II-22), Compuesto II-6 (Ejemplo II-23) y una solución de IMPY ¹²³I (Ejemplo Comparativo II-8) preparados anteriormente en Ejemplo de Referencia II-1 se diluyeron cada uno con una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml preparando soluciones (20-31 MBq/ml en concentración radiactiva). Se inyectaron 0,05 ml de cada una de las soluciones de muestra preparadas dentro de la vena del rabo de la rata Wistar respectiva (7 semanas de edad) con anestesia de tiopental. Las ratas se sacrificaron por sangrado de la

25 adicionalmente a medición de radiactividad (referida de ahora en adelante como A en este Ejemplo) con un analizador de canal individual (tipo de detector: SP-20 elaborado por OHYO KOKEN KOGYO Co., Ltd.) 2, 5, 30 y 60 minutos después de la inyección. Adicionalmente, el nivel de radiactividad del resto del cuerpo entero se midió de la misma manera que anteriormente (referido en el presente documento como B en este Ejemplo). Usando estos resultados de medición, la distribución radiactiva por unidad de peso de cerebro (% ID/g) en los puntos temporales respectivos se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula (2-5).

Se usaron tres animales para el experimento en los puntos temporales respectivos.

$$\%ID/g = \frac{A}{B \times 1000 \times \text{peso cerebral}} \times 100 \dots (2-5)$$

30
 Los resultados se muestran en la Tabla 2-7. Como se muestra en la Tabla 2-7, los Compuestos II-4 y II-6 mostraron una acumulación significativa como IMPY ¹²³I en el punto temporal de dos minutos después de la inyección y después mostraron una tendencia a eliminarse rápidamente en 60 minutos. Estos resultados sugieren que los Compuestos II-4 y II-6 poseen transferibilidad alta a cerebro y eliminación rápida desde cerebro como IMPY ¹²³I.

Tabla 2-7: distribución radiactiva en el cerebro del presente compuesto después de inyección intravenosa (ratas).

Compuesto		Distribución radiactiva por unidad de peso (% ID/g)			
		Después de 2 min.	Después de 5 min.	Después de 30 min.	Después de 60 min.
Ejemplo II-22	Compuesto II-4	0,56	0,28	0,04	0,01
Ejemplo II-23	Compuesto II-6	0,81	0,56	0,07	0,02
Ejemplo Comparativo II-8	IMPY ¹²³ I	1,19	0,97	0,23	0,09

Ejemplos II-24 a II-25: Confirmación de formación de imágenes de amiloide en cerebro

- 5 (1) A β ₁₋₄₂ (Wako) se disolvió en tampón fosfato (pH 7,4) y se agitó a 37 °C durante 72 horas, obteniéndose 1 mg/ml de una suspensión de agregado A β (de aquí en adelante referida como suspensión amiloide en los Ejemplos).
- 10 (2) 2,5 ml (que corresponden a 25 mg) de la suspensión amiloide se inyectaron en un núcleo amigdaloides en un costado de una rata Wistar macho (7 semanas de edad). Como un control, se inyectaron 2,5 ml de solución salina de tampón fosfato (pH 7,4) dentro de un núcleo amigdaloides en el otro costado de la rata. Las ratas se examinaron 1 día después de la inyección de la suspensión amiloide y la solución salina fisiológica tamponada con fosfato (pH 7,4).
- 15 (3) Se prepararon una solución de muestra (30 MBq/ml en concentración de radiactividad, Ejemplo II-24) en la que el Compuesto II-4 se disolvió en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml y una solución de muestra (30 MBq/ml en concentración de radiactividad, Ejemplo II-25) en la que el Compuesto II-6 se disolvió en una solución salina fisiológica que contiene ácido ascórbico a 10 mg/ml. Esta solución se inyectó dentro de la rata con anestesia de tiopental a través de la vena del rabo (dosificación: 0,5 ml, radiactividad dosificada: equivalente a 11-15 MBq).
- 20 (4) El cerebro se retiró 60 minutos después de la inyección preparando un corte de cerebro de 10 μ m de grosor con un microtomo (tipo: CM3050S, elaborado por LEICA). El corte del cerebro se expuso en una placa de formación de imágenes durante 20 horas y después el análisis de imágenes se llevó a cabo por uso de un Analizador Bio-imaging (tipo: BAS-2500; elaborado por FUJIFILM Corporation).
- 25 (5) Después de la finalización del análisis de imágenes usando el Analizador Bio-imaging, se llevó a cabo la tinción patológica con Tioflavina T llevando a cabo la formación de imágenes por el uso de un microscopio de fluorescencia (elaborado por NIKON Corporation; tipo: modelo TE2000-U; longitud de onda de excitación: 400-440 nm; longitud de onda de detección: 470 nm). Así, se confirmó que el amiloide estaba depositado en el corte (Fig. 2-12 and Fig. 2-13).
- 30 Figura 2-12 y Figura 2-13 muestran imágenes por autorradiograma y tinción con Tioflavina T del corte de cerebro de la rata a la que se inyectó amiloide intracerebralmente. Como se muestra en estas figuras, se observó una acumulación marcada de radiactividad en el núcleo amigdaloides en el costado al que se inyectó la suspensión amiloide, en ambos casos donde se administraron Compuestos II-4 y II-6. Por otro lado, no se observó ninguna acumulación de radiactividad en el núcleo amigdaloides en el costado en el que se inyectó la solución salina fisiológica, en comparación con los otros sitios. Sobre el autorradiograma, se observó pequeña acumulación de radiactividad en sitios distintos del sitio al que se inyectó amiloide. A partir del resultado de tinción de Tioflavina T, se confirmó que el amiloide estuvo presente en el sitio donde se acumuló radiactividad (Fig. 2-12 y Fig. 2-13). Estos resultados sugieren que los Compuestos II-4 y II-6 poseen una propiedad de acumulación en amiloide intracerebral y una capacidad de formación de imágenes de amiloide intracerebral.

35 Aplicabilidad Industrial

Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en el campo de los diagnósticos.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1-1 es un esquema de síntesis de 6-tributylestannil-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

La Fig. 1-2 es un esquema de síntesis de 6-bromo-2-[4'-(3"-p-toluenosulfoniloxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

40 La Fig. 1-3 es un esquema de síntesis de 6-bromo-2-[4'-(2"-p-toluenosulfoniloxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

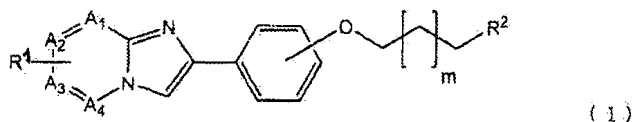
La Fig. 1-4 es un esquema de síntesis de 6-bromo-2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.

La Fig. 1-5 es un esquema de síntesis de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina.

- La Fig. 1-6 es un esquema de síntesis de 6-bromo-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.
- La Fig. 1-7 es un esquema de síntesis de 2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina.
- La Fig. 1-8 es un esquema de síntesis de 2-[4'-(3"-fluoropropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]pirimidina.
- La Fig. 1-9 es un esquema de síntesis de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²⁵I.
- 5 La Fig. 1-10 es un esquema de síntesis de 2-(4'-hidroxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina.
- La Fig. 1-11 es una relación entre concentración de amiloide y concentración radioactiva en soluciones de muestra.
- La Fig. 1-12(a) es un autorradiograma del corte de cerebro después de la inyección de Compuesto I-7 y la Fig. 1-12(b) es una imagen microscópica fluorescente de la muestra teñida por Tioflavina T (un aumento del sitio al que se inyectó la suspensión amiloide).
- 10 La Fig. 1-13 es un esquema de síntesis de 6-tributilestannil-2-[4'-(2"-fluoroetoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.
- La Fig. 1-14(a) es un autorradiograma del corte de cerebro después de la inyección de Compuesto I-9 y la Fig. 1-14(b) es una imagen microscópica fluorescente de la muestra teñida por Tioflavina T (un aumento del sitio al que se inyectó la suspensión amiloide).
- 15 La Fig. 2-1 es un esquema de síntesis de 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma yodada no radiactiva).
- La Fig. 2-2 es un esquema de síntesis de 6-tributilestannil-2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.
- La Fig. 2-3 es un esquema de síntesis de 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma yodada no radiactiva).
- Fig. 2-4 es un esquema de síntesis de 6-tributilestannil-2-(4'-etoxifenil)imidazo[1,2-a]piridina.
- 20 La Fig. 2-5(a) es un autorradiograma del corte de cerebro después de la inyección de IMPY ¹²³I y la Fig. 2-5(b) es una imagen microscópica fluorescente de la muestra teñida por Tioflavina T (un aumento del sitio al que se inyectó la suspensión amiloide).
- La Fig. 2-6(a) es un autorradiograma del corte de cerebro después de la inyección de 2-[4'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina ¹²³I y Fig. 2-6(b) es una imagen microscópica fluorescente de la muestra teñida con Tioflavina T (un aumento del sitio al que se inyectó la suspensión amiloide).
- 25 La Fig. 2-7(a) es un autorradiograma del corte de cerebro después de la inyección de 2-(4'-etoxifenil)-6-yodoimidazo[1-a]piridina ¹²³I y Fig. 2-7(b) es una imagen microscópica fluorescente de la muestra teñida con Tioflavina T (un aumento del sitio al que se inyectó la suspensión amiloide).
- 30 La Fig. 2-8 es un esquema de síntesis de 2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma yodada no radiactiva).
- La Fig. 2-9 es un esquema de síntesis de 6-tributilestannil-2-[3'-(2"-hidroxietoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.
- La Fig. 2-10 es un esquema de síntesis de 2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]-6-yodoimidazo[1,2-a]piridina (forma yodada no radiactiva).
- La Fig. 2-11 es un esquema de síntesis de 6-tributilestannil-2-[4'-(3"-hidroxipropoxi)fenil]imidazo[1,2-a]piridina.
- 35 La Fig. 2-12(a) es un autorradiograma del corte de cerebro después de la inyección de Compuesto II-4 y la Fig. 2-12(b) es una imagen microscópica fluorescente de la muestra teñida por Tioflavina T (un aumento del sitio al que se inyectó la suspensión amiloide).
- La Fig. 2-13(a) es un autorradiograma del corte de cerebro después de la inyección de Compuesto II-6 y la Fig. 2-13(b) es una imagen microscópica fluorescente de la muestra teñida por Tioflavina T (un aumento del sitio al que se inyectó la suspensión amiloide).
- 40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (1), o una sal del mismo:



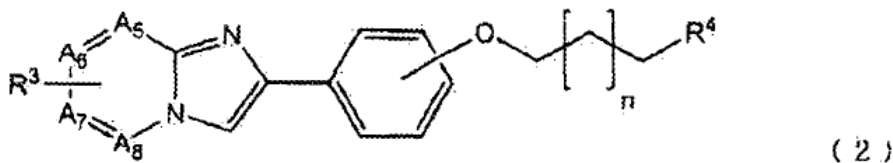
5 en la que todos de A₁, A₂, A₃ y A₄ representan un carbono, R¹ es un sustituyente halógeno, R² es un sustituyente halógeno y m es un número entero de 0 a 2,

a condición de que al menos uno de R¹ y R² sea un sustituyente halógeno radiactivo.

10 2. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reclamación 1, en el que R¹ se selecciona a partir del grupo que consiste en ¹⁸F, ⁷⁶Br, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I y ¹³¹I.

3. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que R² se selecciona a partir del grupo que consiste en ¹⁸F, ⁷⁶Br, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I y ¹³¹I.

4. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (2), o una sal del mismo:



15 en la que todos de A₅, A₆, A₇ y A₈ representan un carbono,
R³ es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en un sustituyente halógeno no radiactivo, un sustituyente trialquilestannilo que tiene cadenas de alquilo con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo trifenilestannilo,

20 R⁴ es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en un sustituyente halógeno no radiactivo, un sustituyente metanosulfonilo, un sustituyente trifluorometanosulfonilo o un sustituyente sulfonilo aromático y n es un número entero de 0 a 2.

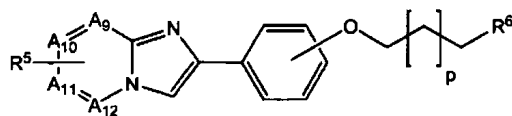
25 5. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 4, en el que R³ se selecciona a partir del grupo que consiste en cloruro, yodo, bromo, sustituyente trimetilestannilo, sustituyente tributilestannilo y grupo trifenilestannilo.

6. Un agente de diagnóstico de baja toxicidad para enfermedad de Alzheimer, que comprende un compuesto según se define en la reivindicación 1.

7. El agente de diagnóstico de baja toxicidad para enfermedad de Alzheimer, de acuerdo con la reivindicación 6, en el que R¹ se selecciona a partir del grupo que consiste en ¹⁸F, ⁷⁶Br, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I y ¹³¹I.

30 8. El agente de diagnóstico de baja toxicidad para enfermedad de Alzheimer, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, en el que R² se selecciona a partir del grupo que consiste en ¹⁸F, ⁷⁶Br, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I y ¹³¹I.

9. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (3), o una sal del mismo:



(3)

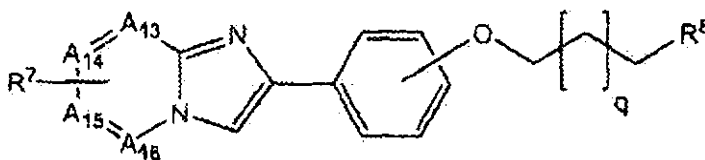
en la que todos de A_9 , A_{10} , A_{11} y A_{12} representan un carbono, R^5 es un sustituyente halógeno radiactivo,

5 R^6 es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en hidrógeno, grupo hidroxilo, grupo metoxi, grupo carboxilo, grupo amino, grupo N-metilamino, grupo N,N-dimetilamino y grupo ciano y p es un número entero de 0 a 2.

10. Un compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 9, en el que R^5 se selecciona a partir del grupo que consiste en ^{18}F , ^{76}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I .

11. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (4), o una sal del mismo:

10



(4)

en la que todos de A_{13} , A_{14} , A_{15} y A_{16} representan un carbono,

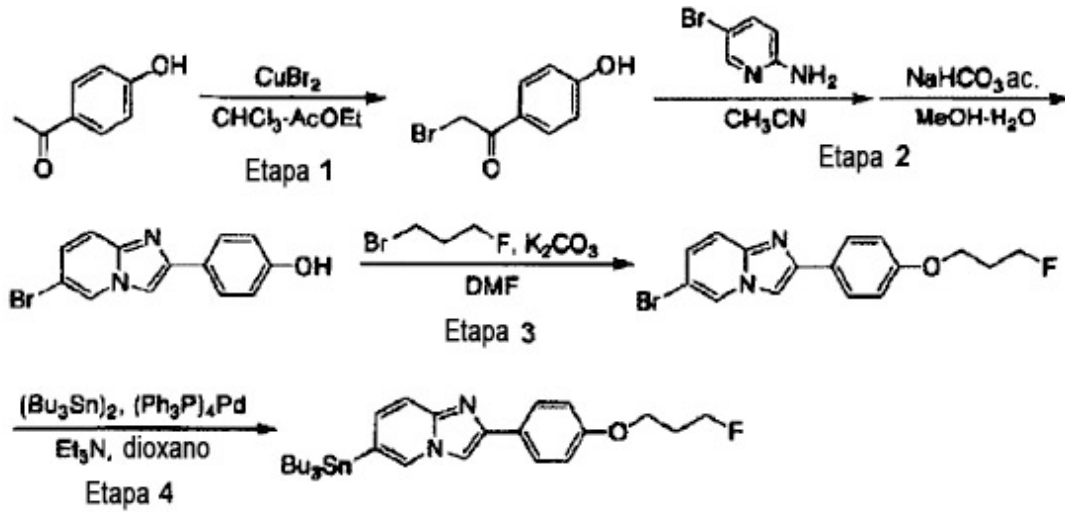
15 R^7 es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en un sustituyente nitro, un grupo trialquilamonio que tiene cadenas de alquilo con 1 a 4 átomos de carbono, un sustituyente trialquilestannilo que tiene cadenas de alquilo con 1 a 4 átomos de carbono y un grupo trifenilestannilo,

R^8 es un grupo seleccionado a partir del grupo que consiste en hidrógeno, grupo hidroxilo, grupo metoxi, grupo carboxilo, grupo amino, grupo N-metilamino, grupo N,N-dimetilamino y grupo ciano y q es un entero de 0 a 2.

20 12. Un agente de diagnóstico de baja toxicidad para enfermedad de Alzheimer, que comprende un compuesto según se define en la reivindicación 9.

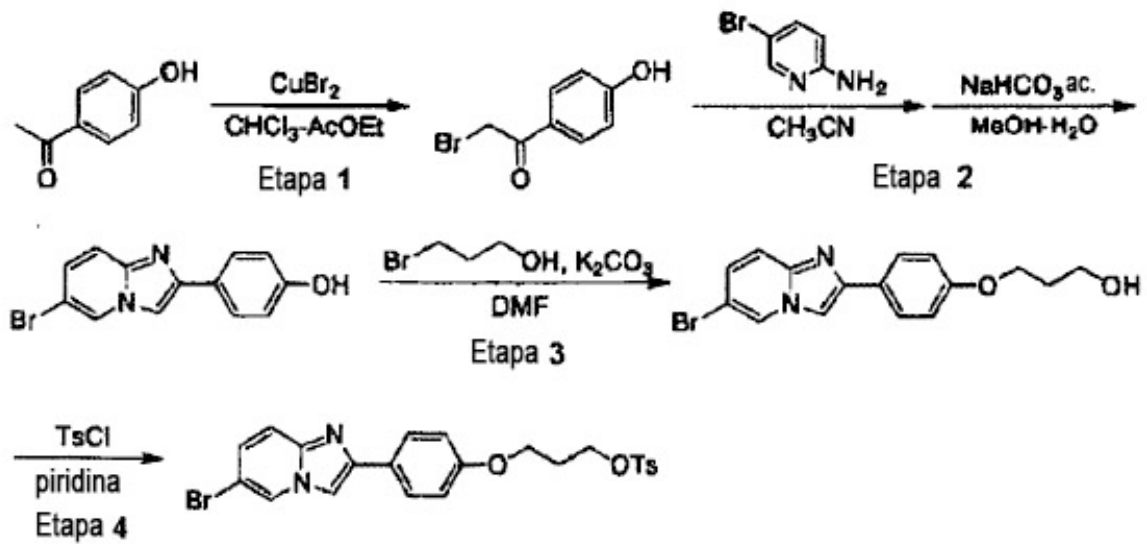
13. El agente de diagnóstico de baja toxicidad para la enfermedad de Alzheimer, de acuerdo con la reivindicación 12, en el que R^5 se selecciona a partir del grupo que consiste en ^{18}F , ^{76}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I .

Figura 1-1



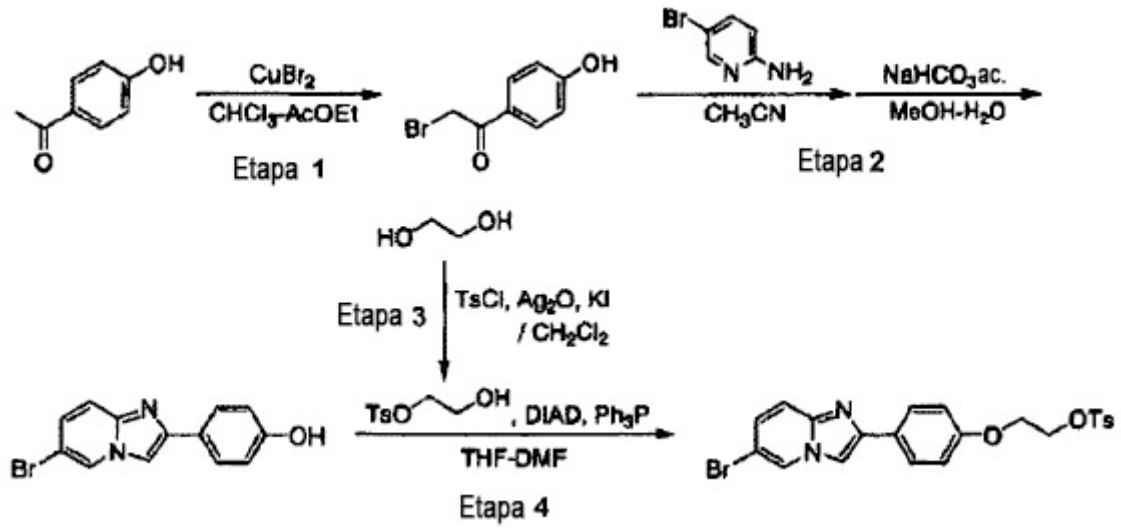
5

Figura 1-2



10

Figura 1-3



5

Figura 1-4

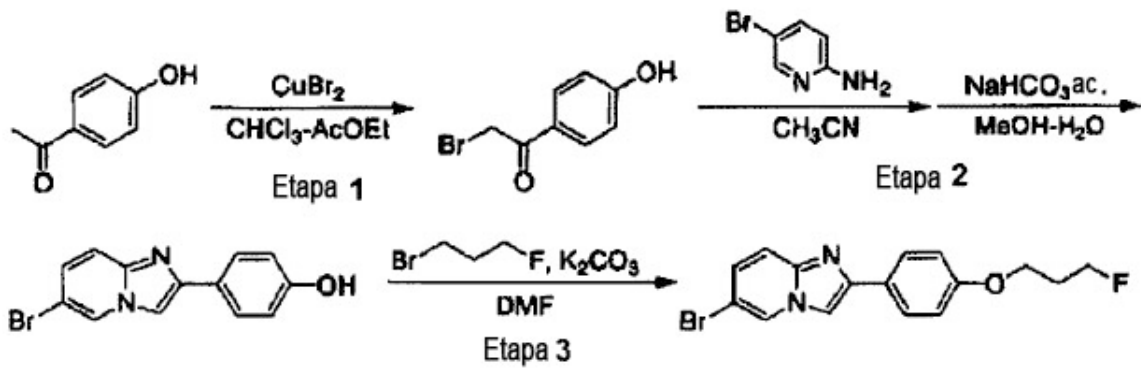
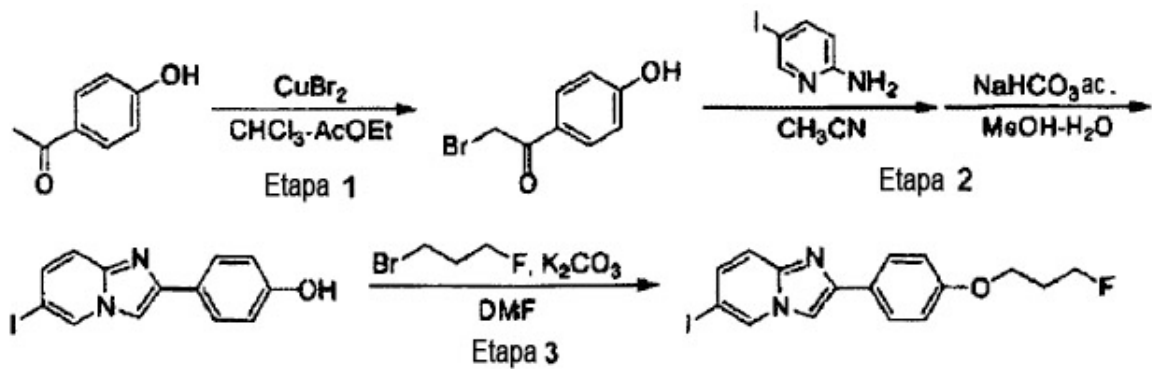
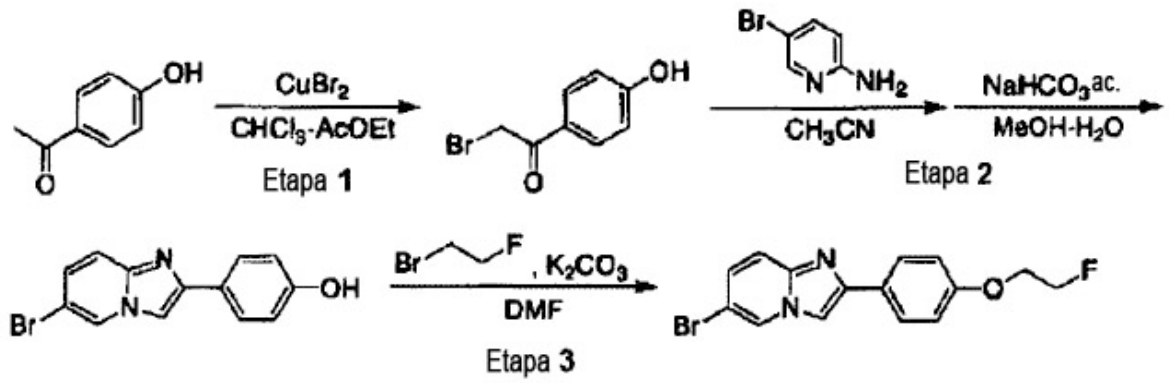


Figura 1-5



10

Figura 1-6



5

Figura 1-7

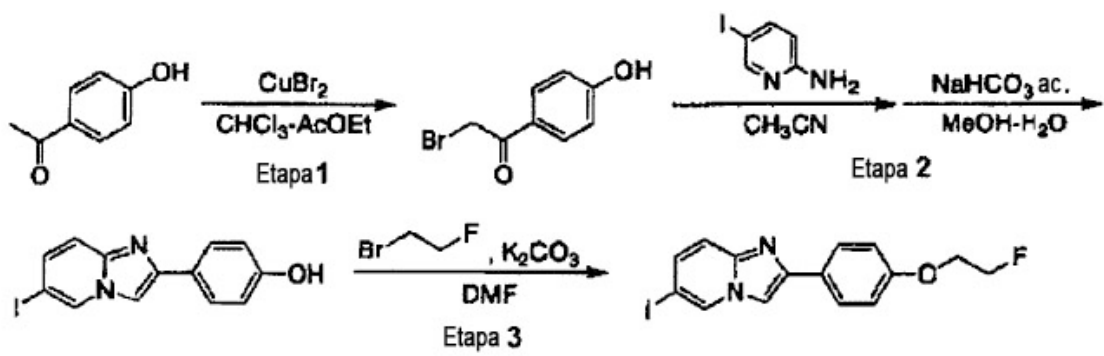
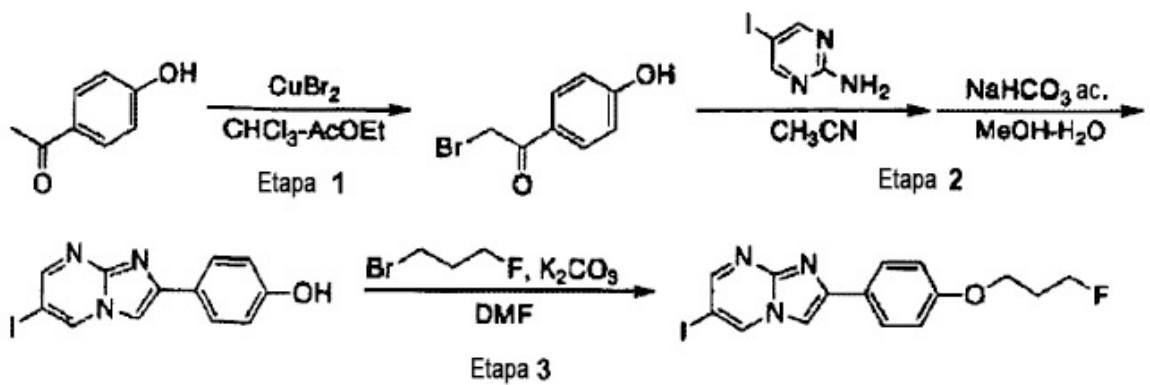
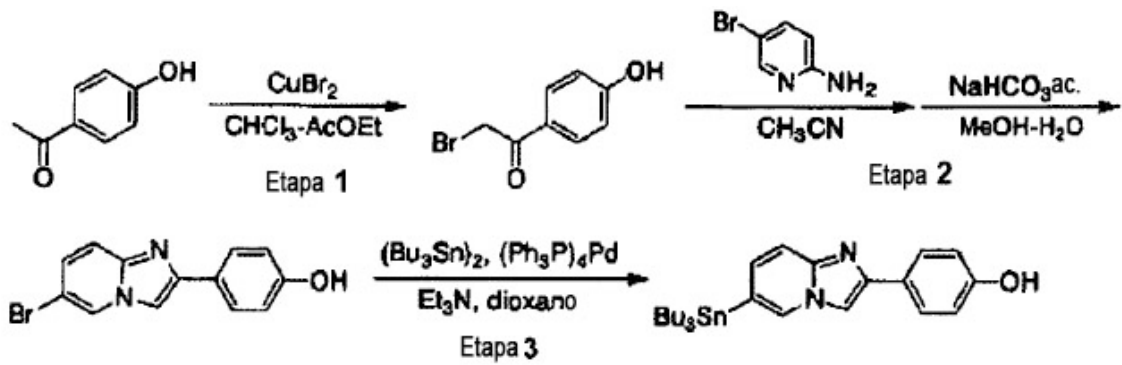


Figura 1-8



10

Figura 1-9



5

Figura 1-10

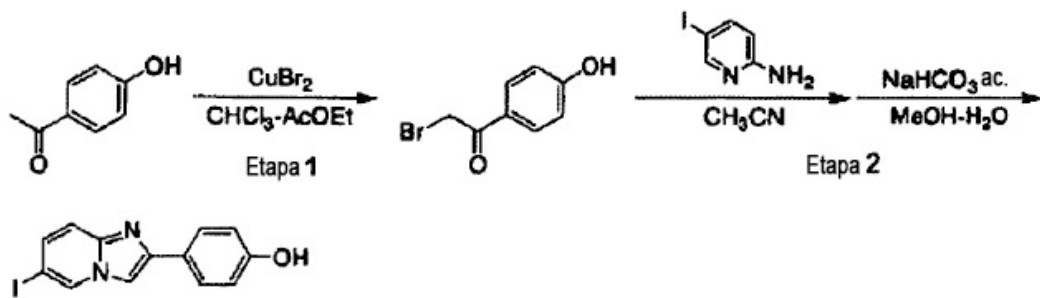


Figura 1-11

10

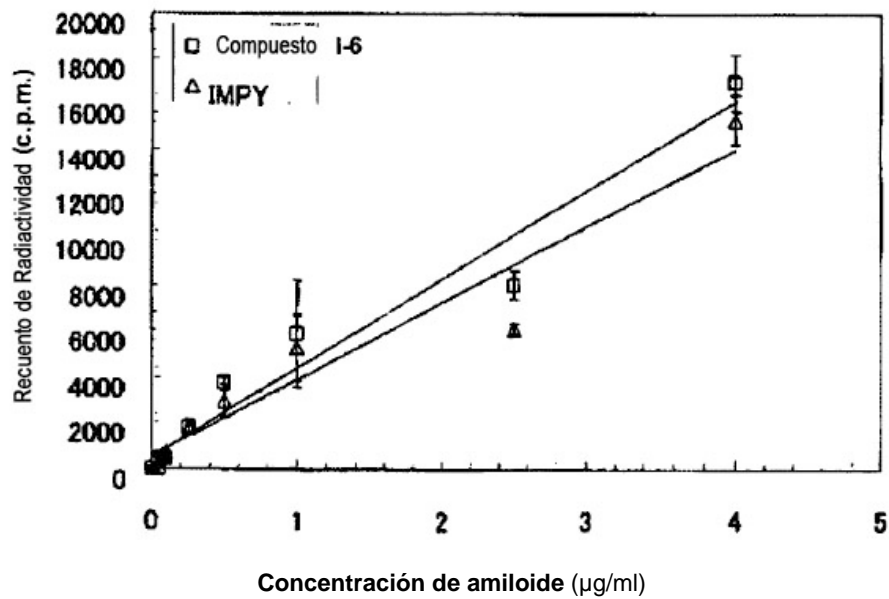
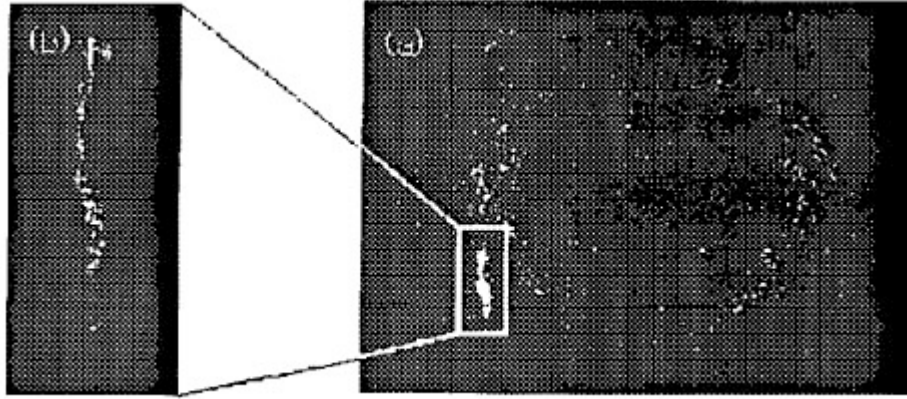


Figura 1-12



5

Figura 1-13

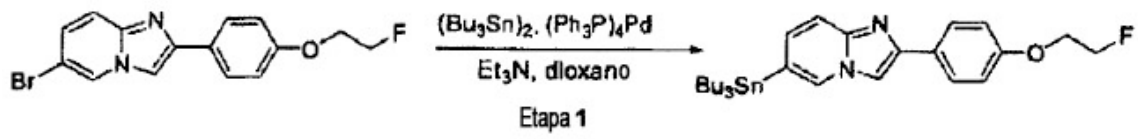


Figura 1-14

10

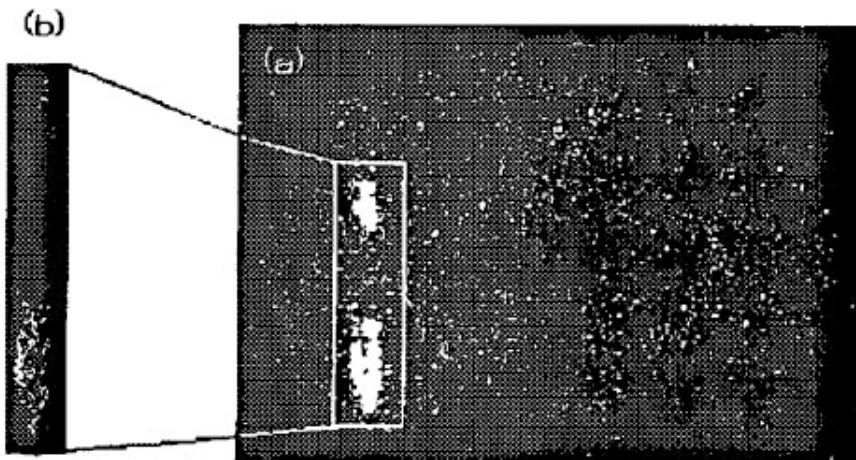
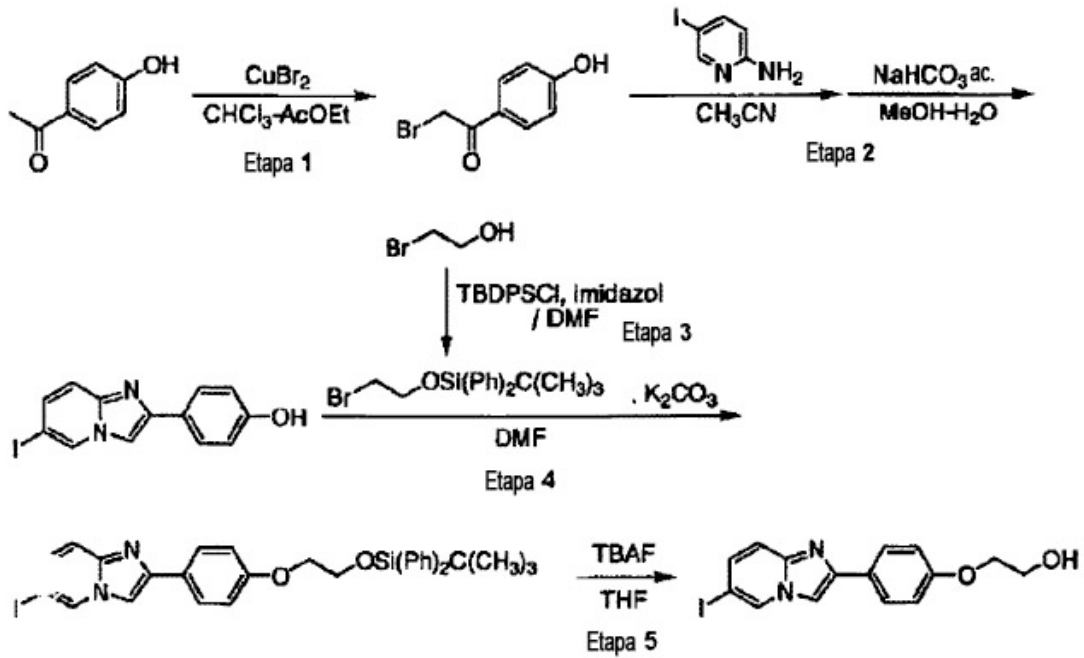


Figura 2-1



5

Figura 2-2

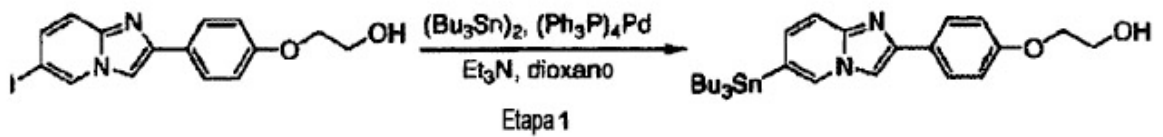


Figura 2-3

10

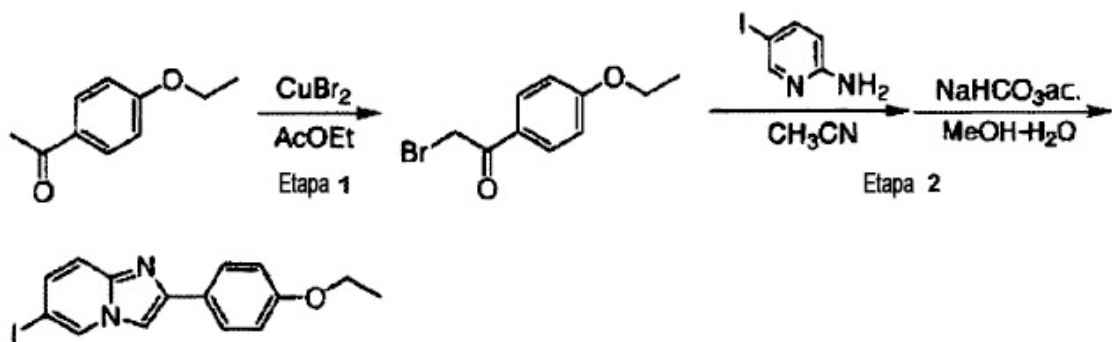
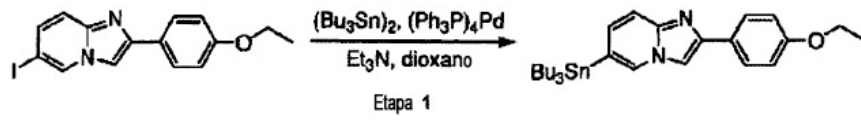


Figura 2-4



5

Figura 2-5

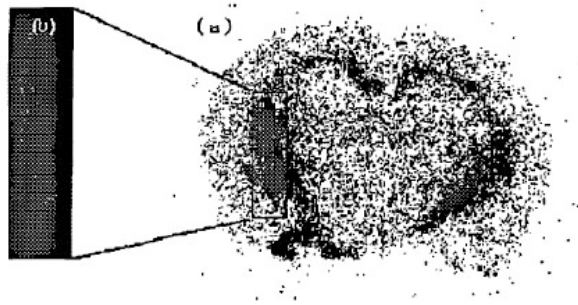


Figura 2-6

10

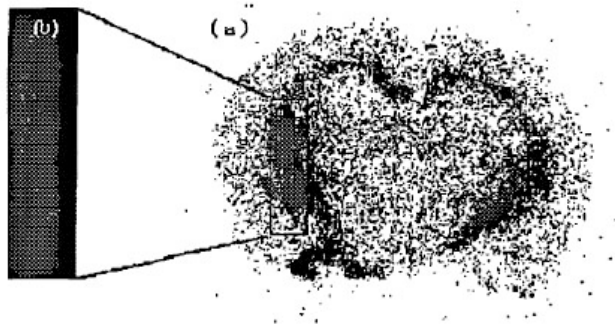
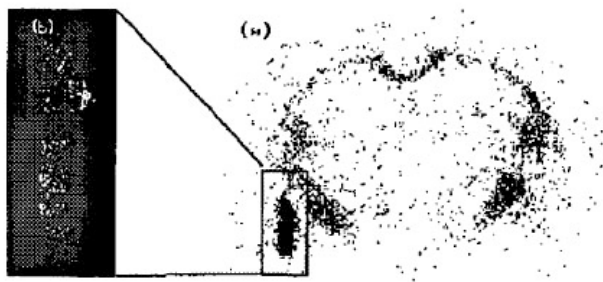
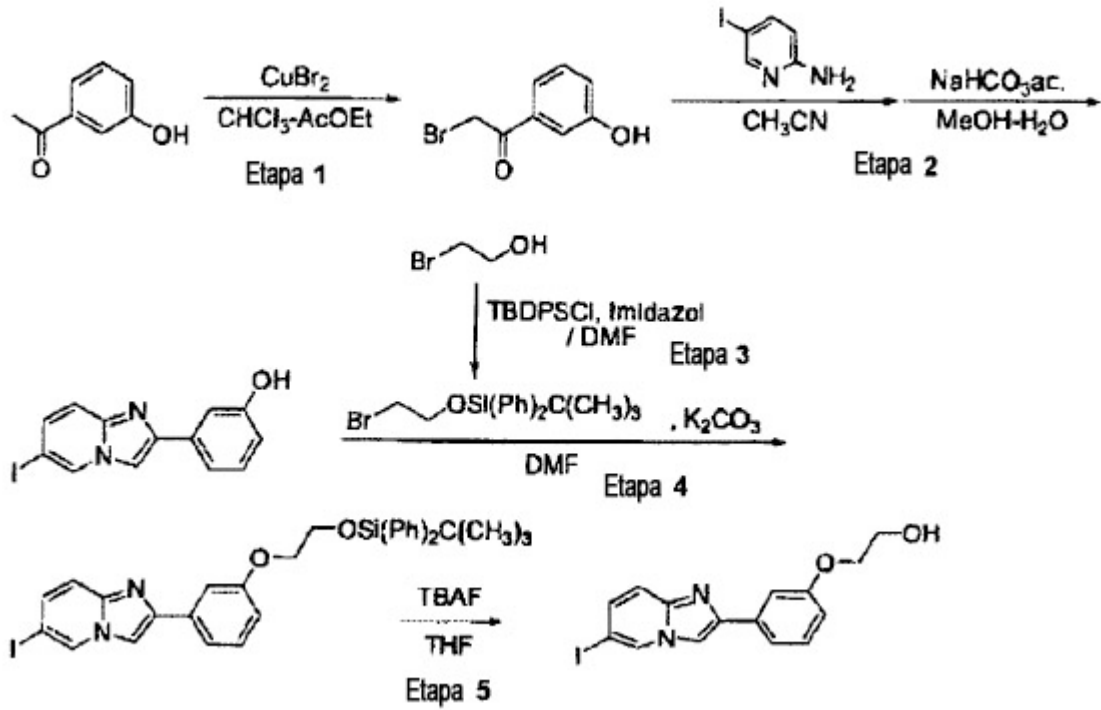


Figura 2-7



15

Figura 2-8



5

Figura 2-9

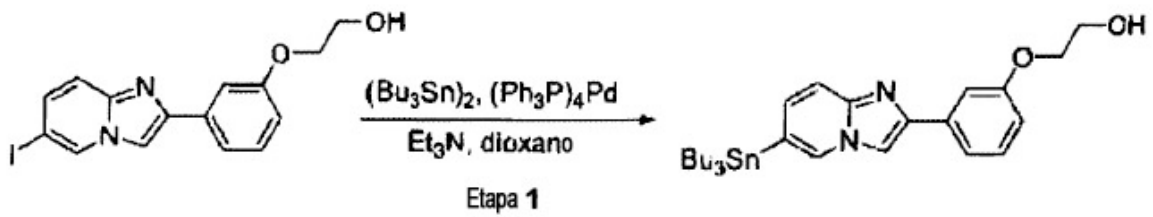
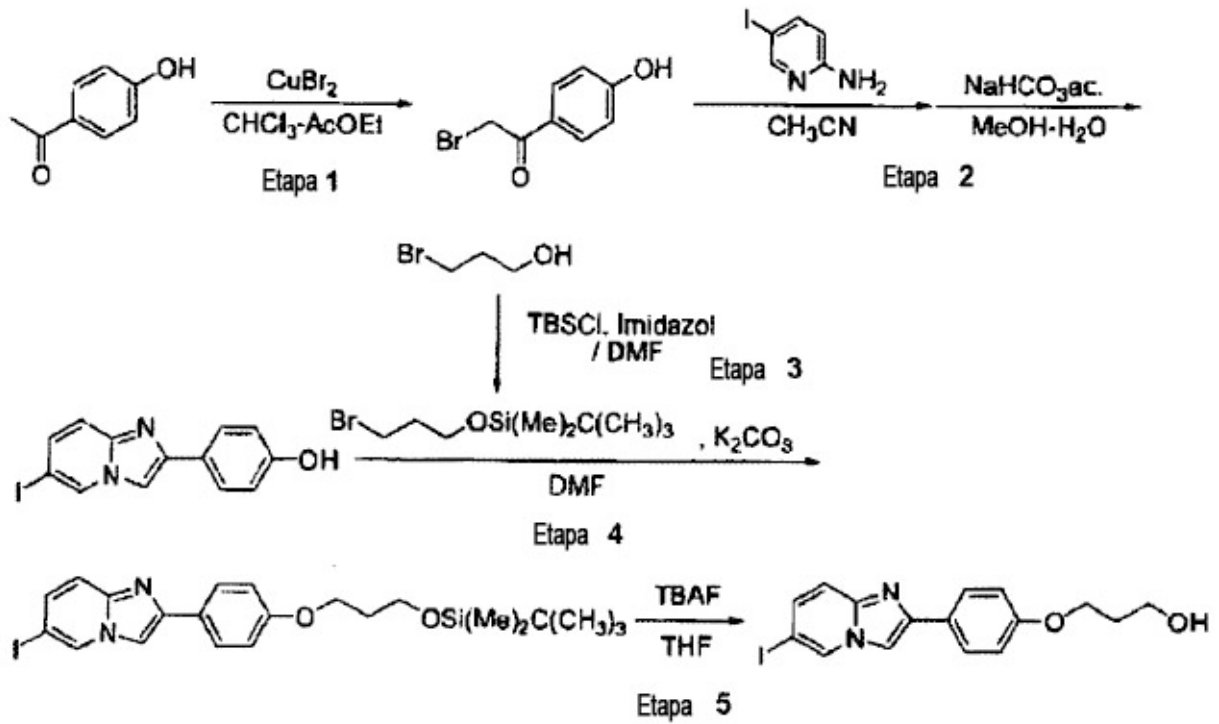


Figura 2-10



5

Figura 2-11

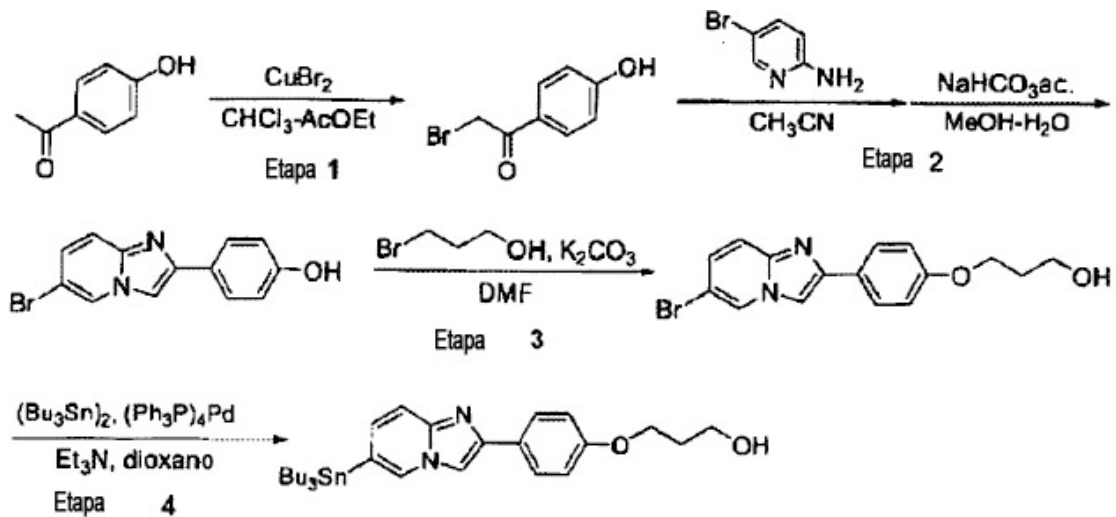
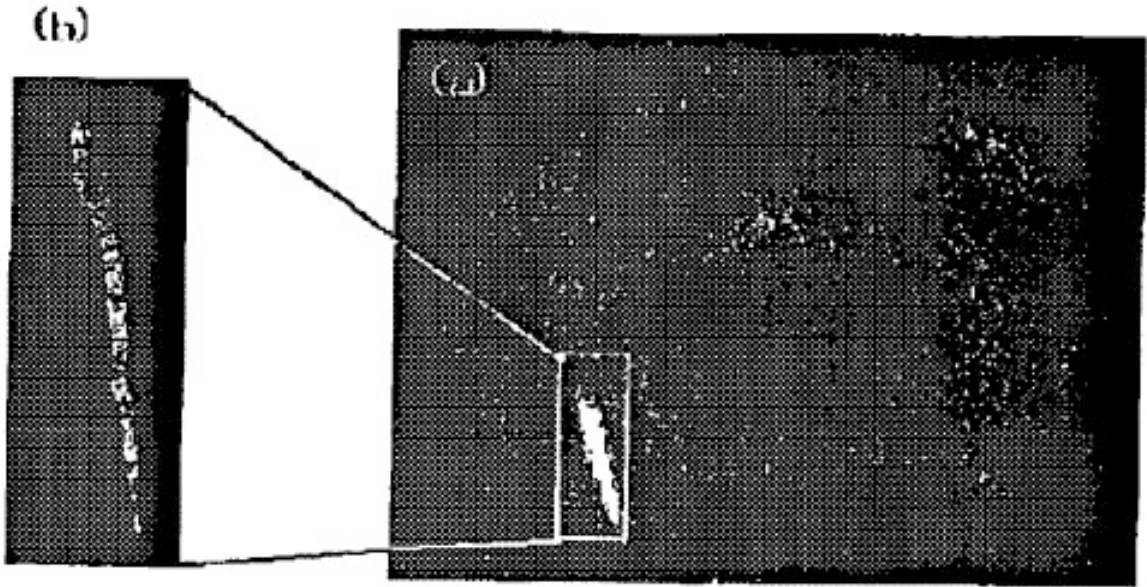


Figura 2-12



5

Figura 2-13

