



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 382 818**

⑯ Int. Cl.:

A01N 41/06	(2006.01)
A61K 31/18	(2006.01)
A61K 31/195	(2006.01)
C07D 211/64	(2006.01)
C07D 401/04	(2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Número de solicitud europea: **06815187 .7**

⑯ Fecha de presentación: **25.09.2006**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **1942733**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **16.07.2008**

⑭

Título: **Inhibidores de transportadores glicina radiomarcados**

⑯

Prioridad:
29.09.2005 US 721782 P

⑭ Titular/es:

MERCK SHARP & DOHME CORP.
126 EAST LINCOLN AVENUE
RAHWAY, NJ 07065, US

⑭

Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.06.2012

⑭ Inventor/es:

BURNS, H. Donald;
HAMILL, Terence G. y
LINDSLEY, Craig W.

⑭

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.06.2012

⑭ Agente/Representante:

Carpintero López, Mario

ES 2 382 818 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

Inhibidores de transportadores de glicina radiomarcados

Antecedentes de la invención

Las técnicas de obtención de imágenes nucleares no invasivas pueden usarse para obtener información básica y de diagnóstico sobre la fisiología y la bioquímica de una variedad de sujetos vivos que incluyen animales experimentales, seres humanos normales y pacientes. Estas técnicas se basan en el uso de sofisticada instrumentación de obtención de imágenes que puede detectar la radiación emitida de radiotrazadores administrados a tales sujetos vivos. La información obtenida puede reconstruirse para proporcionar imágenes planas y tomográficas que revelan la distribución del radiotrazador en función del tiempo. El uso de radiotrazadores apropiadamente diseñados puede producir imágenes que contienen información sobre la estructura, función y, lo que es más importante, la fisiología y bioquímica del sujeto. Gran parte de esta información no puede obtenerse por otros medios. Los radiotrazadores usados en estos estudios se diseñan para tener comportamientos definidos *in vivo* que permitan la determinación de información específica referente a la fisiología o bioquímica del sujeto o los efectos que diversas enfermedades o fármacos tienen sobre la fisiología o bioquímica del sujeto. Actualmente, los radiotrazadores están disponibles para obtener información útil referente a cosas tales como función cardíaca, circulación sanguínea miocárdica, perfusión pulmonar, función hepática, circulación sanguínea cerebral, glucosa cerebral regional y metabolismo del oxígeno.

Los compuestos pueden marcarse con radionúclidos tanto emisores de positrones como emisores gamma. Para la obtención de imágenes, los radionúclidos emisores de positrones (PET) más comúnmente usados son ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , produciéndose todos en un acelerador, y tienen semividas de 20, 110, 2 y 10 minutos, respectivamente. Como las semividas de estos radionúclidos son tan cortas, sólo es viable usarlos en instituciones que tienen un acelerador en el sitio o muy próximo para su producción, limitándose así su uso. Están disponibles varios radiotrazadores emisores gamma que pueden ser usados esencialmente por cualquier hospital en los EE.UU. y en la mayoría de los hospitales en todo el mundo. Los más ampliamente usados de éstos son $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{201}TI y ^{123}I .

En las dos últimas décadas, una de las áreas más activas de la investigación de la medicina nuclear ha sido el desarrollo de radiotrazadores de obtención de imágenes de receptores. Estos trazadores se unen con alta afinidad y especificidad a receptores y neuropeptoides selectivos. Ejemplos satisfactorios incluyen radiotrazadores para la obtención de imágenes de los siguientes sistemas de receptores: estrógeno, muscarínico, dopamina D1 y D2, opioáceo, neuropeptido-Y, cannabinoide-1 y neuroquinina-1.

El receptor de NMDA desempeña una función crítica en una variedad de fenómenos neurofisiológicos que incluyen, pero no se limitan a, plasticidad sináptica, conocimiento, atención y memoria (Bliss T y Collingridge W, 1993, *Nature* 361:31; Morris RGM y col., 1986, *Nature* 319:774). Los fármacos psicotomiméticos constituyen una amplia clase de fármacos que incluyen estimulantes psicomotores (cocaína, anfetamina), alucinógenos (LSD) y antagonistas de receptores de NMDA (PCP, ketamina). De estos, sólo los antagonistas de receptores de NMDA parecen provocar una robusta inducción de los síntomas positivos, negativos y cognitivos de la esquizofrenia. Además de la esquizofrenia, la disfunción de las vías glutamatérgicas participa en varios estados de enfermedad en el sistema nervioso central (SNC) humano que incluyen, pero no se limitan a, déficits cognitivos, demencia, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y trastorno bipolar. La función de los receptores de NMDA puede modularse alterando la disponibilidad del co-agonista glicina. Este enfoque tiene la ventaja crítica de mantener la activación dependiente de la actividad del receptor de NMDA debido a que un aumento en la concentración sináptica de glicina no producirá una activación de receptores de NMDA en ausencia de glutamato. Como los niveles de glutamato sináptico se mantienen rigurosamente por los mecanismos de transporte de alta afinidad, un aumento de la activación del sitio de glicina sólo potenciará el componente de NMDA de sinapsis activadas. Los ensayos clínicos en los que se administraron altas dosis de glicina por vía oral como aditamento a la terapia neuroléptica habitual mostraron una mejora de los síntomas de pacientes con esquizofrenia (Javitt y col. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* (2001) 4: 385-391). Una forma de aumentar los niveles de glicina sináptica sin administrar glicina exógena es inhibir su eliminación de la sinapsis. Pruebas de que este enfoque sería útil en el tratamiento de esquizofrenia proceden de un estudio controlado por placebo doble ciego en el que se administró sarcosina a pacientes que padecían esquizofrenia, pero que fueron malamente sensibles a fármacos antipsicóticos. Se observó un efecto beneficioso en síntomas positivos, negativos y cognitivos, que indica que la inhibición de la recaptación de glicina es un enfoque razonable al tratamiento de esquizofrenia.

Se han identificado dos transportadores de glicina específicos, GlyT1 y GlyT2, y se ha mostrado que pertenecen a la familia dependiente de Na^+/Cl^- de transportadores de neurotransmisores que incluyen taurina, ácido γ -aminobutírico (GABA), prolina, monoaminas y transportadores de ornano (Smith KE y col., 1992, *Neuron* 8:927; Borowsky B y col., 1993, *Neuron* 10:851; Liu QR y col., 1993, *J. Biol. Chem.* 268:22802; Kim KM y col., 1994, *Mol. Pharmacol.* 45:608; Morrow JA y col., 1998, *FEBS Lett.* 439:334; Nelson N, 1998, *J. Neurochem.* 71:1785). GlyT1 y GlyT2 han sido aislados de diferentes especies y se ha mostrado que sólo tienen el 50% de identidad al nivel de aminoácidos. También tienen un patrón de expresión diferente en el sistema nervioso central de mamíferos, expresándose GlyT2 en médula espinal, tronco encefálico y cerebelo y estando GlyT1 presente en estas regiones, además de las áreas del prosencéfalo tales como la corteza, hipocampo, área septal y tálamo (Smith KE y col., 1992, *Neuron* 8:927;

Borowsky B y col., 1993, Neuron 10:851; Liu QR y col., 1993, J. Biol. Chem. 268:22802). Al nivel celular se ha informado que GlyT2 es expresado por terminaciones nerviosas glicinérgicas en médula espinal de rata, mientras que GlyT1 parece que es preferencialmente expresado por células de la glía (Zafra F y col., 1995, J. Neurosci. 15:3952). Estos estudios de expresión han conducido a la conclusión de que GlyT2 es predominantemente responsable de la captación de glicina en sinapsis glicinérgicas mientras que GlyT1 participa en la monitorización de la concentración de glicina en la proximidad del receptor de NMDA que expresa sinapsis. Estudios funcionales recientes en rata han mostrado que el bloqueo de GlyT1 con el potente inhibidor (*N*-[3-(4'-fluorofenil)-3-(4'-fenilfenoxi)propil]sarcosina (NFPS) potencia la actividad del receptor de NMDA y la potenciación a largo plazo dependiente de receptor de NMDA en rata (Bergeron R y col., 1998, PNAS USA 95:15730; Kinney G y col., 2003, J. Neurosci. 23:7586). Además, se ha informado que NFPS potencia la inhibición por prepulso en ratones, una medida de selección sensorial que se sabe que es deficiente en pacientes con esquizofrenia (Kinney G y col., 2003, J. Neurosci. 23:7586). Estos efectos fisiológicos de GlyT1 en las regiones del prosencéfalo junto con informes clínicos que muestran los efectos beneficiosos del inhibidor de GlyT1 sarcosina en mejorar los síntomas en pacientes con esquizofrenia (Tsai y Coyle, documento WO99/52519) indican que los inhibidores de la captación de GlyT1 selectivos representan una nueva clase de fármacos antipsicóticos.

El documento WO 2005/046601 desvela una clase de compuestos que inhiben GlyT1.

Los radiotrazadores de PET (tomografía de emisión de positrones) y la tecnología de obtención de imágenes pueden proporcionar un potente procedimiento para evaluación clínica y selección de dosis de inhibidores del transportador de glicina GlyT1. Usando un radiotrazador marcado con flúor-18 o carbono-11 que proporciona una imagen específica del transportador de glicina GlyT1 en el cerebro y otros tejidos, la dosis requerida para saturar el transportador de glicina GlyT1 puede determinarse por el bloqueo de la imagen de radiotrazadores de PET en seres humanos. El fundamento para este enfoque es del siguiente modo: la eficacia de un inhibidor del transportador de glicina GlyT1 es una consecuencia del grado de inhibición de transportadores, que a su vez es una función del grado de ocupación del transportador de fármacos. Ciertas ligandos radiomarcados del transportador de glicina se describen por Ravert y col., Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, 44, 241-246 (2001).

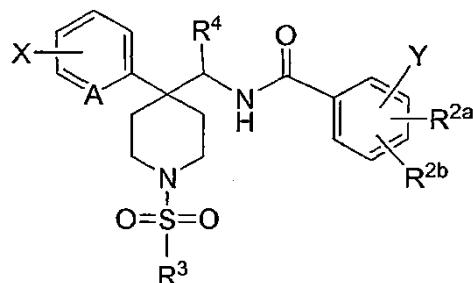
Por tanto, es un objeto de la presente invención desarrollar inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados que serían útiles no sólo en aplicaciones de obtención de imágenes exploradoras y de diagnóstico tradicionales, sino que también serían útiles en ensayos, tanto *in vitro* como *in vivo*, para marcar el transportador de glicina GlyT1 y para competir con inhibidores del transportador de glicina GlyT1 sin marcar. Otro objeto de la presente invención es desarrollar novedosos ensayos que comprendan tales compuestos radiomarcados. Todavía otro objeto de la presente invención es desarrollar productos intermedios para la síntesis de inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a ciertos inhibidores de transportadores de glicina radiomarcados, en particular inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados. La presente invención se refiere adicionalmente a procedimientos para el uso de tales inhibidores de transportadores de glicina radiomarcados para la obtención de imágenes de marcado y de diagnóstico de transportadores de glicina, que incluyen transportadores de glicina GlyT1, en mamíferos. Todavía además, la presente invención se refiere a productos intermedios útiles para la síntesis de inhibidores de transportadores de glicina radiomarcados. La invención también se refiere a formulaciones farmacéuticas que comprenden uno de los compuestos como principio activo. La invención se refiere adicionalmente a procedimientos para preparar los compuestos de la presente invención.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula I:



I

45 en la que:

A se selecciona de N y CH;
 R^{2a} y R^{2b} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:

- 5 (1) hidrógeno,
 (2) flúor,
 (3) cloro, y
 (4) bromo;

R³ es alquilo C₁₋₆, que está sin sustituir o sustituido con flúor;
 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en:

- 10 (1) hidrógeno, y
 (2) alquilo C₁₋₃;

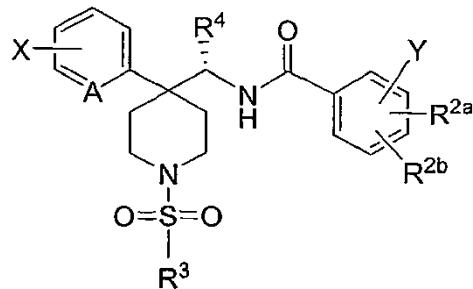
uno de X e Y se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) ¹⁸F,
 (2) -O(¹¹CH₃), y
 (3) -O(CD₂¹⁸F),

15 y el otro de X e Y es hidrógeno;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o un enantiómero individual o diaestereómero de los mismos.

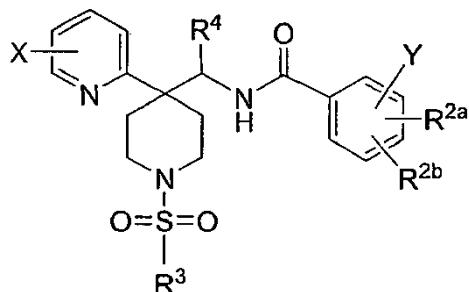
Una realización de la presente invención incluye compuestos de fórmula Ia:



Ia

en la que R⁴ es alquilo C₁₋₃, y A, R^{2a}, R^{2b}, R³, X e Y se definen en este documento;
 20 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Una realización de la presente invención incluye compuestos en los que A es N de la fórmula Ib:



Ib

en la que R^{2a}, R^{2b}, R³, R⁴, X e Y se definen en este documento;
 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

25 Otra realización de la presente invención incluye compuestos en los que A es CH.

Una realización de la presente invención incluye compuestos en los que R^{2a} y R^{2b} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:

- (1) hidrógeno,
- (2) flúor, y
- (3) cloro.

5 Dentro de esta realización, la presente invención incluye compuestos en los que R^{2a} es cloro y R^{2b} es cloro. También dentro de esta realización, la presente invención incluye compuestos en los que R^{2a} es cloro y R^{2b} es hidrógeno. También dentro de esta realización, la presente invención incluye compuestos en los que R^{2a} es flúor y R^{2b} es hidrógeno.

Una realización de la presente invención incluye compuestos en los que R^3 es $-\text{CH}_2\text{CH}_3$. Otra realización de la presente invención incluye compuestos en los que R^3 es $-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$.

10 Una realización de la presente invención incluye compuestos en los que R^4 es metilo. Dentro de esta realización, la presente invención incluye compuestos en los que R^4 es metilo en la configuración (S).

15 Una realización de la presente invención incluye compuestos en los que X es ^{18}F e Y es hidrógeno. Otra realización de la presente invención incluye compuestos en los que X es hidrógeno e Y es ^{18}F . Otra realización de la presente invención incluye compuestos en los que X es $-\text{O}(\text{H}_3^{11})$ e Y es hidrógeno. Otra realización de la presente invención incluye compuestos en los que X es hidrógeno e Y es $-\text{O}(\text{CD}_2^{18}\text{F})$.

Realizaciones específicas de la presente invención incluyen un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en los compuestos objeto de los ejemplos en este documento y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y enantiómeros individuales y diaestereómeros de los mismos.

20 Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más centros quirales y, por tanto, pueden producirse como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales, mezclas diaestereoméricas y diaestereómeros individuales. Los centros asimétricos adicionales pueden estar presentes dependiendo de la naturaleza de los diversos sustituyentes sobre la molécula. Cada uno de tales centros asimétricos producirá independientemente dos isómeros ópticos y se pretende que todos los posibles isómeros ópticos y diaestereómeros en mezclas y como compuestos puros o parcialmente purificados estén incluidos dentro del ámbito de la presente invención. La presente invención pretende comprender todas aquellas formas isoméricas de estos compuestos. La fórmula I muestra la estructura de la clase de compuestos sin estereoquímica preferida.

25 La síntesis independiente de estos diaestereómeros o sus separaciones cromatográficas pueden lograrse como se conoce en la técnica por modificación apropiada de la metodología desvelada en este documento. Su estereoquímica absoluta puede determinarse por cristalográfia de rayos X de productos cristalinos o productos intermedios cristalinos que se derivatizan, si fuera necesario, con un reactivo que contiene un centro asimétrico de configuración absoluta conocida.

30 Si se desea, mezclas racémicas de los compuestos pueden separarse de manera que se aíslen los enantiómeros individuales. La separación puede llevarse a cabo mediante procedimientos muy conocidos en la técnica tales como el acoplamiento de una mezcla racémica de compuestos con un compuesto enantioméricamente puro para formar una mezcla diaestereomérica, seguido de separación de los diaestereómeros individuales mediante procedimientos convencionales, tales como cristalización fraccionada o cromatografía. La reacción de acoplamiento es frecuentemente la formación de sales usando un ácido o base enantioméricamente puro. Los derivados diaestereoméricos pueden entonces convertirse en los enantiómeros puros por escisión del residuo quiral añadido. La mezcla racémica de los compuestos también puede separarse directamente por procedimientos cromatográficos utilizando fases estacionarias quirales, procedimientos que son muy conocidos en la técnica.

35 Alternativamente, cualquier enantiómero de un compuesto puede obtenerse por síntesis estereoselectiva usando materiales de partida ópticamente puros o reactivos de configuración conocida mediante procedimientos muy conocidos en la técnica.

40 Como es apreciado por aquellos expertos en la materia, está previsto que halo o halógeno como se usan en este documento incluya flúor, cloro, bromo e Yodo. Similarmente, C_{1-3} , como en alquilo C_{1-3} , se entiende que identifica el grupo que tiene 1, 2 ó 3 carbonos en una disposición lineal o ramificada, de forma que alquilo C_{1-3} incluye específicamente metilo, etilo, *n*-propilo e *iso*-propilo. Un grupo que se designa que está independientemente sustituido con sustituyentes puede estar independientemente sustituido con múltiples números de tales sustituyentes.

45 Como es apreciado por aquellos expertos en la materia, "D" o deutero como se usa en este documento están previstos que incluyan el isótopo ^2H o deuterio.

50 El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables que incluyen bases inorgánicas u orgánicas y ácidos inorgánicos u orgánicos. Sales derivadas de bases inorgánicas incluyen sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas, de litio, magnesio, mangánicas, manganosas, de potasio, sodio, cinc y similares. Particularmente se prefieren las sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio. Sales en la forma sólida pueden existir en más de una estructura

cristalina, y también pueden estar en forma de hidratos. Sales derivadas de bases no tóxicas orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas que se producen naturalmente, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico tales como arginina, betaina, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilamino-etanol, etanolamina, etilendiamina, N-etil-morfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromo, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. Si el compuesto de la presente invención es básico, las sales pueden prepararse a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables que incluyen ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mágico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y similares. Particularmente preferidos son los ácidos cítrico, bromhídrico, clorhídrico, maleico, fosfórico, sulfúrico, fumárico y tartárico. Se entenderá que, como se usa en este documento, referencias a los compuestos de la presente invención también pretenden incluir las sales farmacéuticamente aceptables.

5 La presente invención también se refiere a un procedimiento para marcar transportadores de glicina GlyT1 en un mamífero que comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal marcado una cantidad eficaz del compuesto radiomarcado de la presente invención.

10 La presente invención también se refiere a un procedimiento para la obtención de imágenes de diagnóstico de transportadores de glicina GlyT1 en un mamífero que comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal obtención de imágenes de diagnóstico una cantidad eficaz del compuesto radiomarcado de la presente invención.

15 La presente invención también se refiere a un procedimiento para la obtención de imágenes de diagnóstico de tejidos que poseen transportadores de glicina GlyT1 en un mamífero que comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal obtención de imágenes de diagnóstico una cantidad eficaz del compuesto radiomarcado de la presente invención.

20 La presente invención también se refiere a un procedimiento para la obtención de imágenes de diagnóstico de transportadores de glicina GlyT1 en tejidos de una especie de mamífero que comprende administrar a la especie de mamífero en necesidad de tal obtención de imágenes de diagnóstico una cantidad eficaz del compuesto radiomarcado de la presente invención.

25 La presente invención también se refiere a un procedimiento para la obtención de imágenes de diagnóstico del cerebro en un mamífero que comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal obtención de imágenes de diagnóstico una cantidad eficaz del compuesto radiomarcado de la presente invención.

30 La presente invención se refiere adicionalmente a un procedimiento para la detección o cuantificación de transportadores de glicina GlyT1 en tejido de mamífero que comprende administrar a un mamífero en el que tal cuantificación se desea una cantidad eficaz del compuesto radiomarcado de la presente invención.

35 En una realización preferida de los procedimientos de la presente invención, el mamífero es un ser humano.

40 Radionúclidos adecuados que pueden incorporarse en los presentes compuestos incluyen ^3H (también escrito como T), ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{82}Br , ^{123}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{15}O , ^{13}N , ^{211}At o ^{77}Br . El radionúclido que se incorpora en los presentes compuestos radiomarcados dependerá de la aplicación analítica o farmacéutica específica de ese compuesto radiomarcado. Por tanto, para el marcado *in vitro* de transportadores de glicina GlyT1 y ensayos de competencia, los compuestos que incorporan ^3H , ^{125}I o ^{82}Br serán generalmente los más útiles. Para los agentes de obtención de imágenes de diagnóstico se prefieren compuestos que incorporan un radionúclido seleccionado de ^{11}C , ^{18}F , ^{123}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br o ^{77}Br . En ciertas aplicaciones, la incorporación de un radionúclido quelante tal como $\text{Tc}^{99\text{m}}$ también puede ser útil. ^{18}F puede ser preferible con respecto a ^{11}C debido a que con la semivida más larga de ^{18}F , la obtención de imágenes puede llevarse a cabo durante tiempo suficiente para permitir que se revele una señal más específica y condiciones mejoradas para los estudios de cuantificación de receptores.

45 Los inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados, cuando se marcan con el radionúclido apropiado, son potencialmente útiles para la obtención de imágenes de diagnóstico, investigación básica y aplicaciones radioterapéuticas. Ejemplos específicos de posibles aplicaciones de obtención de imágenes de diagnóstico y radioterapéuticas incluyen determinar la localización, la actividad relativa y/o la abundancia de transportadores de glicina GlyT1, radioinmunoensayo de inhibidores del transportador de glicina GlyT1 y autorradiografía para determinar la distribución de transportadores de glicina GlyT1 en un mamífero o un órgano o muestra de tejido del mismo.

50 En particular, los presentes inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados cuando se marcan con el radionúclido emisor de positrones, F-18, son útiles para la obtención de imágenes tomográficas de emisión de positrones (PET) de transportadores de glicina GlyT1 en el cerebro de seres humanos vivos y animales experimentales. Estos inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados pueden usarse como herramientas de investigación para estudiar la interacción de inhibidores del transportador de glicina GlyT1 sin marcar con transportadores de glicina GlyT1 *in vivo* mediante competición entre el fármaco marcado y el compuesto

radiomarcado por unirse al receptor. Estos tipos de estudios son útiles para determinar la relación entre la ocupación del transportador de glicina GlyT1 y la dosis de inhibidor del transportador de glicina GlyT1 sin marcar, además de para estudiar la duración del bloqueo del receptor por diversas dosis del antagonista del transportador de glicina GlyT1 sin marcar, agonistas y agonistas inversos. Como herramienta clínica, los inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados pueden usarse para ayudar a definir una dosis clínicamente eficaz de un inhibidor del transportador de glicina GlyT1. En experimentos animales, los inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados pueden usarse para proporcionar información que es útil para elegir entre el posible candidato a fármaco para la selección para el desarrollo clínico. Los inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados también pueden usarse para estudiar la distribución regional y concentración de transportadores de glicina GlyT1 en el cerebro humano vivo, además del cerebro de animales experimentales vivos y en muestras de tejido. Los inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados también pueden usarse para estudiar enfermedad o cambios farmacológicamente relacionados en las concentraciones del transportador de glicina GlyT1.

Por ejemplo, el trazador de tomografía de emisión de positrones (PET) tal como los presentes inhibidores del transportador de glicina GlyT1 radiomarcados pueden usarse con la tecnología PET actualmente disponible para obtener la siguiente información: relación entre nivel de ocupación del receptor por inhibidores del transportador de glicina GlyT1 candidatos y eficacia clínica en pacientes; selección de dosis para ensayos clínicos de inhibidores del transportador de glicina GlyT1 antes de la iniciación de estudios clínicos a largo plazo; potencias comparativas de inhibidores del transportador de glicina GlyT1 estructuralmente novedosos; investigar la influencia de inhibidores del transportador de glicina GlyT1 sobre la afinidad de transportadores *in vivo* y densidad durante el tratamiento de dianas clínicas con inhibidores del transportador de glicina GlyT1 y otros agentes; cambios en la densidad y distribución de transportadores de glicina GlyT1 durante, por ejemplo, enfermedades psiquiátricas en sus estadios activos durante tratamiento eficaz e ineficaz y durante remisión; y cambios en la expresión y distribución de transportadores de glicina GlyT1 en trastornos del SNC; obtención de imágenes de enfermedad neurodegenerativa en la que los transportadores de glicina GlyT1 están regulados por incremento; obtención de imágenes de enfermedad neurodegenerativa en la que participan transportadores de glicina GlyT1; y similares.

El receptor de NMDA es clave para una amplia gama de procesos del SNC y desempeña una función en una variedad de estados de enfermedad en seres humanos u otras especies. La acción de transportadores GlyT1 afecta la concentración local de glicina alrededor de los receptores de NMDA. Los inhibidores de GlyT1 selectivos ralentizan la eliminación de glicina de la sinapsis, haciendo que suba el nivel sináptico de glicina. Esto aumenta a su vez la ocupación del sitio de unión a glicina sobre el receptor de NMDA, que aumenta la activación del receptor de NMDA tras la liberación de glutamato del terminal presináptico. Debido a que se necesita una cierta cantidad de glicina para el eficiente funcionamiento de los receptores de NMDA, cualquier cambio en esa concentración local puede afectar la neurotransmisión mediada por NMDA. Los cambios en la neurotransmisión mediada por NMDA participan en ciertos trastornos neuropsiquiátricos tales como demencia, depresión y psicosis, por ejemplo, esquizofrenia, y trastornos del aprendizaje y la memoria, por ejemplo, trastornos por déficit de atención o autismo.

Los inhibidores de transportadores de glicina radiomarcados de la presente invención tienen utilidad en la obtención de imágenes de transportadores de glicina o para la obtención de imágenes de diagnóstico con respecto a una variedad de trastornos neurológicos y psiquiátricos asociados a disfunción de la neurotransmisión glutamatérgica, que incluye una o más de las siguientes afecciones o enfermedades: esquizofrenia o psicosis que incluyen esquizofrenia (paranoide, desorganizada, catatónica o indiferenciada), trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, trastorno delirante, trastorno psicótico breve, trastorno psicótico compartido, trastorno psicótico debido a una afección médica general y trastorno psicosis-psicótico inducido por sustancias o inducido por fármacos (fenciclidina, ketamina y otros anestésicos disociativos, anfetamina y otros psicoestimulantes y cocaína), psicosis asociada a trastornos afectivos, psicosis reactiva breve, psicosis esquizoafectiva, trastornos del "espectro de la esquizofrenia" tales como trastornos de personalidad esquizoides o esquizotípicos o enfermedad asociada a psicosis (tal como depresión mayor, trastorno (bipolar) depresivo maníaco, enfermedad de Alzheimer y síndrome por estrés postraumático), que incluyen tanto los síntomas positivos como los negativos de esquizofrenia y otras psicosis; trastornos cognitivos que incluyen demencia (asociada a enfermedad de Alzheimer, isquemia, demencia por infarto múltiple, traumatismo, problemas vasculares o accidente cerebrovascular, enfermedad por VIH, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Pick, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, hipoxia perinatal, otras afecciones médicas generales o abuso de sustancias); trastorno de la conciencia, trastornos amnésicos o declive cognitivo relacionado con la edad; trastornos de ansiedad que incluyen trastorno por estrés agudo, agorafobia, trastorno de ansiedad generalizado, trastorno obsesivo-compulsivo, ataque de pánico, trastorno de pánico, trastorno por estrés postraumático, trastorno de ansiedad por separación, fobia social, fobia específica, trastorno de ansiedad inducido por sustancias y ansiedad debida a una afección médica general; trastornos relacionados con sustancias y comportamientos adictivos (incluyendo trastorno de la conciencia inducido por sustancias, demencia persistente, trastorno amnésico persistente, trastorno psicótico o trastorno de ansiedad; tolerancia, dependencia o deshabituación de sustancias que incluyen alcohol, anfetaminas, cannabis, cocaína, alucinógenos, inhalantes, nicotina, opioides, fenciclidina, sedantes, hipnóticos o ansiolíticos); obesidad, bulimia nerviosa y trastornos compulsivos de la alimentación; trastornos bipolares, trastornos del estado de ánimo que incluyen trastornos depresivos; depresión que incluye depresión unipolar, depresión estacional y depresión posparto, síndrome premenstrual (SPM) y trastorno disfórico premenstrual (TDPM), trastornos del estado de ánimo debidos a una afección médica general, y trastornos del estado de ánimo inducidos por sustancias; trastornos del aprendizaje,

trastorno generalizado del desarrollo que incluye trastorno autístico, trastornos de atención que incluyen trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) y trastorno de conducta; trastornos relacionados con el receptor de NMDA tales como autismo, depresión, olvido benigno, trastornos de aprendizaje de la infancia y lesión cerrada en la cabeza; trastornos del movimiento que incluyen aquinesias y síndromes rígido-acinéticos (incluyendo enfermedad de

5 Parkinson, parkinsonismo inducido por fármacos, parkinsonismo posencefálico, parálisis supranuclear progresiva, atrofia de múltiples sistemas, degeneración corticobasal, complejo de parkinsonismo-ALS-demencia y calcificación de ganglios basales), parkinsonismo inducido por medicación (tal como parkinsonismo inducido por neurolépticos, síndrome maligno neuroléptico, distonía aguda inducida neuroléptica, acatisia aguda inducida por neurolépticos, discinesia tardía inducida por neurolépticos y temblor postural inducido por medicación), síndrome de Gilles de la

10 Tourette, epilepsia, espasmos musculares y trastornos asociados a espasticidad muscular o debilidad que incluyen temblores; discinesias [que incluyen temblores (tales como temblor en reposo, temblor postural y temblor de intención), corea (tal como corea de Sydenham, corea de Huntington, corea hereditaria benigna, neuroacantocitosis, corea sintomática, corea inducida por fármacos y hemibalismo), mioclonía (incluyendo mioclonía generalizada y mioclonía focal), tics (incluyendo tics simples, tics complejos y tics sintomáticos) y distonía (incluyendo distonía generalizada tal como distonía idiopática, distonía inducida por fármacos, distonía sintomática y distonía paroximal, y distonía focal tal como blefaroespasmo, distonía oromandibular, distonía espasmódica, torticolis espasmódica, distonía axial, calambre del escribiente distónico y distonía hemipléjica)]; incontinencia urinaria; lesión neuronal que incluye lesión ocular, retinopatía o degeneración macular del ojo, tinnitus, alteración y pérdida de la audición y edema cerebral; vómito; y trastornos del sueño que incluyen insomnio y narcolepsia.

15 20 De los trastornos anteriores, los inhibidores de transportadores de glicina radiomarcados de la presente invención son de particular importancia en la obtención de imágenes de transportadores de glicina con respecto a esquizofrenia, trastorno bipolar, depresión que incluye depresión unipolar, depresión estacional y depresión posparto, síndrome premenstrual (SPM) y trastorno disfórico premenstrual (TDPM), trastornos del aprendizaje, trastorno generalizado del desarrollo que incluye trastorno autístico, trastornos de atención que incluyen trastorno por déficit de atención e hiperactividad, autismo, trastornos por tics que incluyen trastorno de Tourette, trastornos de

25 ansiedad que incluyen fobia y trastorno por estrés postraumático, trastornos cognitivos asociados a demencia por SIDA, demencia, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, Huntington, espasticidad, mioclonía, espasmo muscular, tinnitus y alteración y pérdida de la audición.

30 35 Para el uso de los presentes compuestos como agentes de obtención de imágenes exploratorias o de diagnóstico los compuestos radiomarcados pueden administrarse a mamíferos, preferentemente a seres humanos, en una composición farmacéutica, tanto sola como preferentemente en combinación con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, opcionalmente con adyuvantes conocidos tales como alumbre, en una composición farmacéutica, según la práctica farmacéutica convencional. Tales composiciones pueden administrarse por vía oral o parenteralmente, que incluyen las vías de administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, rectal y tópica. Preferentemente, la administración es intravenosa. Los radiotrazadores marcados con radionúclidos emisores de positrones de corta vida se administran generalmente por inyección intravenosa en el plazo de menos de una hora desde su síntesis. Esto es necesario debido a la corta semivida de los radionúclidos implicados (20 y 110 minutos para C-11 y F-18, respectivamente).

40 45 El término "composición" como se usa en este documento pretende englobar un producto que comprende los componentes especificados en las cantidades especificadas, además de cualquier producto que resulte, directamente o indirectamente, de la combinación de los componentes especificados en las cantidades especificadas. Tal término en relación con la composición farmacéutica pretende englobar un producto que comprende el (los) principio(s) activo(s) y el(lo) componente(s) inerte(s) que constituyen el vehículo, además de cualquier producto que resulte, directamente o indirectamente, de la combinación, complejación o agregación de dos cualquiera o más de los componentes, o de la disociación de uno o más de los componentes, o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los componentes. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención engloban cualquier composición preparada mezclando un compuesto de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por "farmacéuticamente aceptable" se indica que el vehículo, diluyente o excipiente debe ser compatible con los otros componentes de formulación y no perjudicial para el receptor de los mismos. Los términos "administración de" y o "administrar un" compuesto deben entenderse que significan proporcionar un compuesto de la invención o un profármaco de un compuesto de la invención al paciente.

50 55 60 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden usarse en forma de una preparación farmacéutica, por ejemplo, en forma sólida, semisólida o líquida que contiene uno o más del compuesto de la presente invención, como un principio activo, en mezcla con un vehículo o excipiente orgánico o inorgánico adecuado para aplicaciones externas, enterales o parenterales. El principio activo puede combinarse, por ejemplo, con los vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos usuales para comprimidos, pellas, cápsulas, supositorios, disoluciones, emulsiones, suspensiones y cualquier otra forma adecuada para su uso. Los vehículos que pueden usarse son agua, glucosa, lactosa, goma arábiga, gelatina, manitol, pasta de almidón, trisilicato de magnesio, talco, almidón de maíz, queratina, sílice coloidal, almidón de patata, urea y otro vehículos adecuados para su uso en la fabricación de preparaciones, en forma sólida, semisólida o líquida, y además pueden usarse agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes y colorantes y perfumes. El compuesto objeto activo se incluye en la composición farmacéutica en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado sobre el proceso o la condición de la enfermedad.

Las formas líquidas en las que las composiciones novedosas de la presente invención pueden incorporarse para administración por vía oral o mediante inyección incluyen disolución acuosa, jarabes adecuadamente aromatizados, suspensiones acuosas o de aceite y emulsiones con aceites aceptables tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, o con un agente solubilizante o emulsionante adecuado para uso intravenoso, además de elixires y vehículos farmacéuticos similares. Agentes dispersantes o de suspensión adecuados para suspensiones acuosas incluyen gomas sintéticas y naturales tales como tragacanto, goma arábiga, alginato, dextrano, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, polivinilpirrolidona o gelatina.

Un nivel de dosificación apropiado para el inhibidor del transportador de glicina GlyT1 sin marcar será generalmente aproximadamente 0,01 a 500 mg por kg de peso corporal del paciente por día que puede administrarse en dosis únicas o múltiples. Preferentemente, el nivel de dosificación será aproximadamente 0,1 a aproximadamente 250 mg/kg por día; más preferentemente aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg/kg por día. Un nivel de dosificación adecuado puede ser aproximadamente 0,01 a 250 mg/kg por día, aproximadamente 0,05 a 100 mg/kg por día, o aproximadamente 0,1 a 50 mg/kg por día. Dentro de este intervalo la dosificación puede ser 0,05 a 0,5, 0,5 a 5 ó 5 a 50 mg/kg por día. Para administración por vía oral, las composiciones se proporcionan preferentemente en forma de comprimidos que contienen 1,0 a 1000 miligramos del principio activo, particularmente 1,0, 5,0, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 750, 800, 900 y 1000 miligramos del principio activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que va a tratarse. Los compuestos pueden administrarse en una pauta de 1 a 4 veces por día, preferentemente una vez o dos veces por día. Esta pauta de dosificación puede ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Sin embargo, se entenderá que el nivel de dosis específica y la frecuencia de dosificación para cualquier paciente particular pueden variarse y dependerán de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, la gravedad de la afección particular y el huésped que se somete a terapia.

Si un inhibidor del transportador de glicina GlyT1 radiomarcado según la presente invención se administra a un sujeto humano, la cantidad requerida para la obtención de imágenes de diagnóstico será normalmente determinada por el médico prescriptor variando la dosificación generalmente según la edad, peso y respuesta del paciente individual, además de la cantidad de emisión del radionúclido. Sin embargo, en la mayoría de los casos, una cantidad eficaz será la cantidad de compuesto suficiente para producir emisiones en el intervalo de aproximadamente 1-5 mCi.

En una aplicación a modo de ejemplo, la administración se produce en una cantidad de compuesto radiomarcado de entre aproximadamente 0,005 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 50 µg/kg de peso corporal por día, preferentemente de entre 0,02 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 3 µg/kg de peso corporal. Una dosificación analítica particular que comprende la presente composición incluye de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 100 µg de un inhibidor del transportador de glicina GlyT1 marcado. Preferentemente, la dosificación comprende de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 50 µg de un inhibidor radiomarcado del transportador de glicina GlyT1.

El siguiente procedimiento ilustrativo puede utilizarse cuando se realizan los estudios de obtención de imágenes PET en pacientes en la clínica. El paciente es previamente medicado con inhibidor del transportador de glicina GlyT1 sin marcar (a las dosis 300, 100 ó 30 mg/día) durante 2 semanas antes del día del experimento y ayuna durante al menos 12 horas permitiendo el consumo de agua a voluntad. Un catéter venoso de dos pulgadas 20 G se inserta en la vena cubital contralateral para la administración del radiotrazador.

El paciente se posiciona en la cámara de PET y una dosis de trazador de $[^{15}\text{O}]H_2O$ se administra por catéter i.v. La imagen así obtenida se usa para asegurar que el paciente está correctamente posicionado para incluir el cerebro u otras áreas de interés. Posteriormente, el $[^{18}\text{F}]\text{-inhibidor del transportador de glicina GlyT1} (<20 \text{ mCi})$ se administra por catéter i.v. Tras la adquisición de la imagen total del radiotrazador se empieza una infusión del inhibidor del transportador de glicina GlyT1 que está siendo clínicamente evaluado a una de tres tasas de dosis (0,1, 1 ó 10 mg/kg/día). Despues de la infusión durante 2,5 h, el $[^{18}\text{F}]\text{-inhibidor del transportador de glicina GlyT1}$ se inyecta de nuevo por el catéter. Las imágenes se adquieren de nuevo durante hasta 90 min. En el plazo de diez minutos desde la inyección del radiotrazador y al final de la sesión de obtención de imágenes se obtienen muestras de sangre de 1 ml para determinar la concentración en plasma del candidato clínico

Para determinar la distribución del radiotrazador, las regiones de interés (ROI) se ponen sobre la imagen reconstruida incluyendo, por ejemplo, el cerebro y el sistema nervioso central. Estas regiones se usan para generar curvas de tiempo-actividad obtenidas en ausencia de antagonista del receptor o en presencia del candidato clínico a las diversas dosis de infusión examinadas. Los datos se expresan como radiactividad por unidad de tiempo por unidad de volumen ($\mu\text{Ci/cc/mCi}$ de dosis inyectada). Las curvas de inhibición se generan a partir de los datos obtenidos en una región de interés obtenida empezando 70 minutos después de la inyección del radiotrazador. En este momento, la eliminación de la unión no específica ha alcanzado el estado estacionario. Los valores de D_{I50} se obtienen por ajuste de curvas de curvas de tasa de dosis/inhibición con la ecuación iii:

$$B = A_0 - A_0 * I/(DI_{50} + I) + NS$$

(iii)

en la que B es el % de dosis/g de radiotrazador en tejidos para cada dosis de candidato clínico, A_0 es el radiotrazador específicamente unido en un tejido en ausencia de un inhibidor del transportador de glicina GlyT1, I es la dosis inyectada de antagonista, DI_{50} es la dosis de compuesto que inhibe el 50% de radiotrazador específico que se une a un transportador de glicina GlyT1 y NS es la cantidad de radiotrazador no específicamente unido.

Obtención de imágenes con cámara gamma

Se anestesian dos ratas (ketamina/acepromazina), se posicionan sobre el cabezal de la cámara y las venas de sus colas se canulan para facilitar la inyección. Una rata se inyecta previamente con un inhibidor del transportador de glicina GlyT1 sin marcar (10% de EtOH/27% de PEG/63% de H_2O) 30 min antes de la inyección del radiotrazador para demostrar la unión no específica. Se inyectan 150 uCi/rata de un inhibidor del transportador de glicina GlyT1 marcado con ^{18}F por la vena de su cola y los catéteres se lavan con varios ml de solución salina normal. La adquisición de imágenes empieza cuando se inyecta el radiotrazador. Se adquieren sesenta imágenes de un minuto y las ratas se sacrifican posteriormente con pentobarbital sódico. Las regiones de interés (ROI) se ponen sobre la primera imagen que incluye el cerebro, luego se usan para analizar las tasas de recuento en imágenes posteriores. Se define que las ROI permanecen casi transparentes durante el transcurso del estudio, y se asume que son representativas del órgano entero. Las tasas de recuento se convierten en % de dosis/ROI dividiendo la tasa de recuento en la ROI entre la de la rata completa, que luego se multiplica por 100.

Obtención de imágenes de PET en perros

Perros beagle hembra que pesan 7,7 - 14,6 kg ($11,0 \pm 2,3$ kg) se median previamente con inhibidor del transportador de glicina GlyT1 sin marcar (a las dosis de 300, 100 ó 30 mg/día) durante 2 semanas antes del día del experimento y ayunan durante al menos 12 horas permitiendo el consumo de agua a voluntad. Un catéter venoso de dos pulgadas 20 G se coloca en la vena cubital de la pata delantera derecha por el que se introduce anestesia por pentobarbital sódico a 25 - 30 mg/kg en 3 - 4 ml y se mantiene con pentobarbital adicional a una dosis promedio de 3 mg/kg/h. Otro catéter se inserta en la vena cubital contralateral para la administración del radiotrazador.

La saturación del oxígeno de la sangre circulante se mide con un oxímetro de pulso (Nellcor Inc., Hayward, CA) situado sobre la lengua del animal. El volumen circulatorio se mantiene por infusión intravenosa de solución salina isotónica. Se inserta una cánula de 22 G en la arteria femoral tibial o distal anterior para monitorizar la tensión continua (Spacelabs™, modelo 90603A). El ECG, la frecuencia cardíaca y la temperatura central se monitorizan continuamente. En particular, el ECG se observa para cambios del segmento ST y arritmias.

El animal se posiciona en la cámara de PET y una dosis de trazador de $[^{15}O]H_2O$ se administra por catéter i.v. La imagen así obtenida se usa para asegurar que el perro está correctamente posicionado para incluir el cerebro y otras áreas de interés. Posteriormente, el $[^{18}F]$ -inhibidor del transportador de glicina GlyT1 (<20 mCi) se administra por catéter i.v. Tras la adquisición de la imagen total del radiotrazador se empieza una infusión del inhibidor del transportador de glicina GlyT1 sin marcar a una de tres tasas de dosis (0,1, 1 ó 10 mg/kg/día). Despues de la infusión durante 2,5 h, el $[^{18}F]$ -inhibidor del transportador de glicina GlyT1 se inyecta de nuevo por el catéter. Las imágenes se adquieren de nuevo durante hasta 90 min. En el plazo de diez minutos desde la inyección del radiotrazador y al final de la sesión de obtención de imágenes se obtienen muestras de sangre de 1 ml para determinar la concentración en plasma del compuesto de prueba. En una sesión de obtención de imágenes, una dosis de 10 mg/kg de otro inhibidor del transportador de glicina GlyT1 se infunde durante 5 minutos. Se ha determinado que esta dosis bloquea completamente la unión del radiotrazador y, por tanto, se usa para determinar la señal máxima específica del receptor obtenida con el radiotrazador de PET. Al terminar el estudio, los animales se recuperan y se devuelven al alojamiento del animal.

Para la distribución del radiotrazador sin inhibir, las regiones de interés (ROI) se ponen sobre la imagen reconstruida que incluye el cerebro. Estas regiones se usan para generar curvas de tiempo-actividad obtenidas en ausencia de compuesto de prueba o en presencia de compuesto de prueba a las diversas dosis de infusión examinadas. Los datos se expresan como radiactividad por unidad de tiempo por unidad de volumen ($\mu Ci/cc/mCi$ de dosis inyectada). Las curvas de inhibición se generan a partir de los datos obtenidos en una región de interés obtenida empezando 70 minutos después de la inyección del radiotrazador. En este momento, la eliminación de la unión no específica habrá alcanzado el estado estacionario. Las DI_{50} se obtuvieron por ajuste de curvas de curvas de tasa de dosis/inhibición con la ecuación iii, anteriormente en este documento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención en inhibir la actividad del transportador de glicina, en particular la actividad de GlyT1, puede demostrarse por metodología conocida en la técnica. Células de coriocarcinoma placentario humano (células JAR (nº ATCC HTB-144)) que expresan endógenamente GlyT1 se cultivaron en microplacas de centelleo Cytostar de 96 pocillos (Amersham Biosciences) en medio RPMI 1640 que contenía 10% de suero bovino fetal en presencia de penicilina (100 microgramos/millilitro) y estreptomicina (100 microgramos/millilitro). Las células se cultivaron a 37°C en una atmósfera humidificada del 5% de CO_2 durante 40-48 horas antes del ensayo. El medio de cultivo se eliminó de la placa Cytostar, y las células JAR se incubaron con 30

microlitros de tampón TB1A (NaCl 120 mM, KCl 2 mM, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM, HEPES 10 mM, L-alanina 5 mM, pH 7,5 ajustado con base Tris) con o sin los compuestos de la presente invención durante 1 minuto. Luego se añadieron 30 microlitros de [¹⁴C]-glicina diluida con TB1A a cada pocillo para dar una concentración final de 10 micromolar. Despues de la incubación a temperatura ambiente durante 3 horas, las microplacas de centelleo

5 Cytostar se sellaron y se contaron sobre un contador de centelleo Top Count (Packard). No se determinó captación específica de [¹⁴C]-glicina en presencia de glicina 10 mM sin marcar. Los experimentos de captación de [¹⁴C]taurina se realizaron según el mismo protocolo, excepto que se usó taurina 10 mM sin marcar para determinar la captación no específica. Para determinar las potencias, un intervalo de concentraciones de los compuestos de la presente invención se añadió a las células, seguido de la concentración fija de [¹⁴C]glicina. La concentración del presente 10 compuesto que inhibió la mitad de la captación específica de [¹⁴C]glicina (valor de Cl₅₀) se determinó a partir de los datos del ensayo por ajuste de curva no lineal. En particular, los compuestos de los siguientes ejemplos tuvieron actividad en inhibir la captación específica de [¹⁴C]glicina en el ensayo anteriormente mencionado, generalmente con un valor de Cl₅₀ inferior a aproximadamente 10 micromolar. Los compuestos preferidos dentro de la presente 15 invención tuvieron actividad en inhibir la captación específica de [¹⁴C]glicina en el ensayo anteriormente mencionado con un valor de Cl₅₀ inferior a aproximadamente 1 micromolar. Estos compuestos fueron selectivos para la captación de [¹⁴C]glicina (por GlyT1 en las células JAR) en comparación con la captación de [¹⁴C]taurina (por el transportador de taurina TauT en las células JAR). Un resultado tal es indicativo de la actividad intrínseca de los compuestos como 20 inhibidores de la actividad de transportadores GlyT1.

La presente invención está adicionalmente dirigida a un procedimiento para la obtención de imágenes de diagnóstico 25 del transportador de glicina GlyT1 en un mamífero en necesidad del mismo que comprende combinar un compuesto de la presente invención con un vehículo o excipiente farmacéutico.

Las abreviaturas usadas en la descripción de la química y en los ejemplos que siguen son: CH₂Cl₂ diclorometano; 25 DIEA diisopropiletilamina; PS-DIEA poliestireno-diisopropiletilamina; PS-DMAP poliestireno 4-N,N-dimetilaminopiridina; DCC diciclohexilcarbodiimida; Ra-Ni níquel Raney; HOBt hidroxibenzotriazol; THF tetrahidrofurano; TFA ácido trifluoroacético; MeOH metanol.

Varios procedimientos para preparar los compuestos de la presente invención se ilustran en los siguientes esquemas y ejemplos. Los materiales de partida y los productos intermedios requeridos están en algunos casos 30 comercialmente disponibles, o pueden prepararse según procedimientos bibliográficos o como se ilustra en este documento.

35 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse empleando reacciones como se muestra en los siguientes esquemas, además de otras manipulaciones convencionales que son conocidas en la bibliografía o ejemplificadas en los procedimientos experimentales. La numeración de sustituyentes como se muestra en los esquemas no establece necesariamente una correlación con la usada en las reivindicaciones y frecuentemente, por claridad, un único sustituyente se muestra unido al compuesto en el que se permiten múltiples sustituyentes bajo las 40 definiciones anteriores en este documento. Las reacciones usadas para generar los compuestos de la presente invención se preparan empleando reacciones como se muestran en los esquemas y ejemplos en este documento, además de otras manipulaciones convencionales tales como hidrólisis de ésteres, escisión de grupos protectores, etc., como pueden conocerse en la bibliografía o ejemplificarse en los procedimientos experimentales.

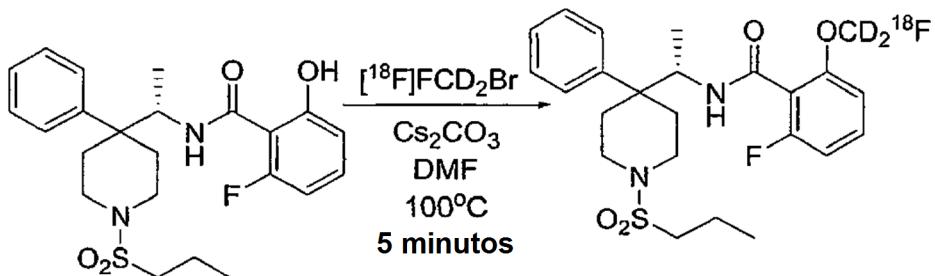
45 Los inhibidores de transportadores de glicina que incorporan un radionúclido pueden prepararse sintetizando primero un compuesto sin marcar que incorpora opcionalmente un resto de yodo o bromo y luego intercambiando un resto hidrógeno o halógeno con un radionúclido apropiado usando técnicas muy conocidas en la técnica. Alternativamente, un inhibidor de transportadores de glicina radiomarcado puede prepararse por alquilación con un agente alquilante radiomarcado. Las síntesis de inhibidores de transportadores de glicina particulares se describen más adelante. Durante cualquiera de las secuencias sintéticas anteriores puede ser necesario y/o deseable proteger 50 grupos sensibles o reactivos sobre cualquiera de las moléculas en cuestión. Esto pueden lograrse por medio de grupos protectores convencionales tales como aquellos descritos en Protective Groups in Organic Chemistry, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; y T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 1991. Los grupos protectores pueden eliminarse en una etapa posterior conveniente usando procedimientos conocidos de la materia. En particular, los restos amino pueden protegerse, por ejemplo, por formación de derivados de alcoxcarbonilo, por ejemplo, derivados de *terc*-butoxicarbonilo y tricloroetoxicarbonilo, o bencilo, trítilo o benciloxcarbonilo. La posterior eliminación del grupo protector se logra mediante procedimientos convencionales, así, por ejemplo, grupos *terc*-butoxicarbonilo, bencilo o benciloxcarbonilo pueden eliminarse por hidrogenolisis en presencia de un catalizador, por ejemplo, paladio; un grupo tricloroetoxicarbonilo puede eliminarse con polvo de cinc; y un grupo trítilo puede eliminarse en condiciones ácidas usando procedimientos convencionales. 55 Si se requiere la protección de grupos hidroxilo, esto puede efectuarse por formación de ésteres o éteres de trialquilsílico, tetrahidropirano o bencilo. Tales derivados pueden desprotegerse mediante procedimientos convencionales, así, por ejemplo, un derivado de éter de tetrahidropirano puede desprotegerse usando ácido clorhídrico en metanol.

60 En algunos casos, el producto final puede modificarse adicionalmente, por ejemplo, por manipulación de sustituyentes. Estas manipulaciones pueden incluir, pero no se limitan a, reacciones de reducción, oxidación, alquilación, acilación e hidrólisis que comúnmente son conocidas para aquellos expertos en la materia. En algunos

casos, el orden de llevar a cabo los anteriores esquemas de reacción puede variarse para facilitar la reacción o para evitar productos de reacción no deseados. Los siguientes ejemplos se proporcionan de manera que la invención pueda entenderse más completamente. Estos ejemplos sólo son ilustrativos y no deben interpretarse de ningún modo como limitantes de la invención.

- 5 $[^{18}\text{F}]^{\text{F}^-}$ y $[^{11}\text{C}]^{\text{CO}_2}$ se compraron de PETnet Pharmaceuticals, Inc., North Wales, PA. $[^{11}\text{C}]^{\text{CO}_2}$ se convirtió en $[^{11}\text{C}]^{\text{MeI}}$ usando un sistema TRACERlab FCX de GE Medical Systems. $[^{18}\text{F}]^{\text{F}^-}$ se transportó al laboratorio de radioquímica en una resina de intercambio aniónico y se eluyó antes de uso.

EJEMPLO 1



- 10 $[^{18}\text{F}]^{\text{2-Fluoro-6-fluorometoxi-N-}\{[4\text{-fenil-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]ethyl}\}\text{benzamida-d}_2}$

La resina que contiene el $[^{18}\text{F}]^{\text{F}^-}$ se eluyó con 1,5 ml de una disolución de 80:20 de disolución de MeCN:oxalato [0,05 ml de (200 mg de $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ /3 mg de K_2CO_3 /5 ml de H_2O) + 0,25 ml de H_2O + 1,2 ml de MeCN] y se transfirió al recipiente de reacción dando 586 mCi de actividad. Se añadió una disolución (0,2 ml) de Kryptofix222 (36 mg/ml de MeCN) y la mezcla se calentó a 95°C a vacío y flujo de argón a sequedad. Se usaron alícuotas adicionales de MeCN (3 x 0,7 ml) para secar adicionalmente el $[^{18}\text{F}]^{\text{F}^-}$. Se añadió una disolución de CD_2Br_2 (0,05 ml) en MeCN (1 ml) y la mezcla se calentó a 95°C. Se usó flujo de argón para destilar el $[^{18}\text{F}]^{\text{FCD}_2\text{Br}}$ en una mezcla a 0°C de 2-fluoro-6-hidroxi-N- $\{[4\text{-fenil-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]ethyl}\}$ benzamida (0,3 mg) [preparada como se ha descrito en la publicación PCT WO2005/046601 en DMF (0,2 ml) que contiene Cs_2CO_3 ~1-2 mg]. Si la cantidad de actividad atrapada fue suficiente, la mezcla se calentó a 100°C durante 5 minutos. La reacción se diluyó con H_2O (0,8 ml) y se purificó por HPLC (Waters C18 μBondapak, 7,8 x 300 mm, 10 μm, 3 ml/minuto, isocrático durante 10 minutos, 50% de MeCN:(95:5:0,1) H_2O :MeCN:TFA, luego 5 minutos de gradiente lineal hasta el 95% de MeCN, el producto eluye a ~9 minutos). La fracción de producto se recogió en un matraz redondo calentado unido a un evaporador rotatorio, el disolvente se eliminó y el producto se transfirió a un vial usando solución salina fisiológica dando 15 mCi de $[^{18}\text{F}]^{\text{2-fluoro-6-fluorometoxi-N-}\{[4\text{-fenil-1-(propilsulfonil)-piperidin-4-il]ethyl}\}\text{benzamida-d}_2$

25 PRODUCTO INTERMEDIO 2

4-Ciano-4-piridin-2-ilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo

Una disolución de 2-fluoropiridina (5,83 g, 60 mmoles) y 4-cianopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (I-1, 4,22 g, 20 mmoles) en tolueno (40 ml) a temperatura ambiente se trató con KHMS (48 ml de una disolución 0,5 M, 24 mmoles). Despues de agitar 2 h, la mezcla de reacción se vertió en salmuera (150 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 150 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (2 x 150 ml), se secaron (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida proporcionando 4-ciano-4-piridin-2-ilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (I-2) como un sólido marrón amarillento. EM-CL analítica: único pico (214 nm), 3,076 min. Este material se usó en posteriores reacciones sin más purificación.

1-(Propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-carbonitrilo

35 Se disolvió 4-ciano-4-piridin-2-ilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,45 g, 19 mmoles) en TFA/ CH_2Cl_2 (1:1, 50 ml) a 0°C. Despues de agitar 40 min, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con NaOH 2 N en NaCl acuoso saturado (1:1, 80 ml) y se extrajo con EtOAc (5 x 200 ml). Los extractos combinados se lavaron con NaCl acuoso saturado, se secaron (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida proporcionando 4-piridin-2-ilpiperidin-4-carbonitrilo (3,55 g, 19 mmoles), que se usó inmediatamente en reacciones posteriores. Una disolución de 4-piridin-2-ilpiperidin-4-carbonitrilo (3,55 g, 19 mmoles) en CH_2Cl_2 (50 ml) a 0°C se trató con *i*-Pr₂NEt (10 ml) y *n*-PrSO₂Cl (2,24 ml, 21 mmoles). Despues de agitar durante 1 h a 0°C, la mezcla de reacción se trató con NaOH 2 N y se agitó vigorosamente durante 1 h adicional, antes de extraerse con EtOAc (4 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl acuoso saturado, se secaron (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida proporcionando 1-(propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-carbonitrilo. Este material se usó en reacciones posteriores sin más purificación.

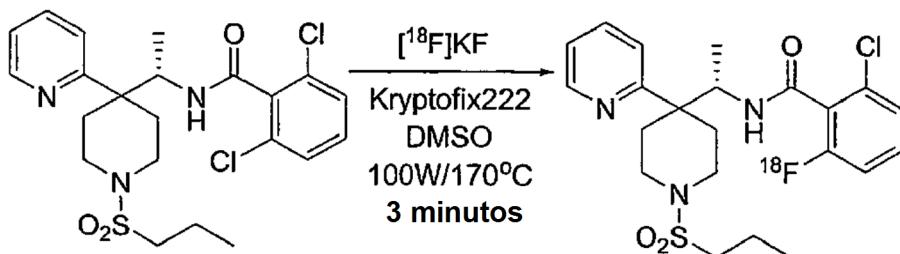
$(1\text{S})\text{-1-[1-(Propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-il]ethyl}\text{amina}$

Una disolución de 1-(propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-carbonitrilo (5,0 g, 17 mmoles) en tolueno (130 ml) a temperatura ambiente se trató con MeMgBr (48,9 ml de una disolución 1,0 M en éter dibutílico, 28,9 mmoles). Despues de 18 h, la reacción se enfrió a 0°C y se trató con MeOH (29 ml). Despues de 10 min, la reacción se trató con NaBH₄ (1,0 g, 26,4 mmoles), se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó 10 minutos adicionales despues de que la mezcla de reacción se enfriara a 0°C y se extinguíó con la adición gota a gota a NH₄Cl acuoso saturado (15 ml). La reacción se diluyó con H₂O (300 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se concentraron a presión reducida y se disolvieron en tampón fosfato a pH 7 (300 ml). La disolución tamponada se lavó con EtOAc (200 ml) y la fase orgánica se extrajo con tampón fresco a pH 7 (2 x 150 ml). Las disoluciones combinadas de tampón se basificaron con NH₄OH concentrado y se extrajeron con CH₂Cl₂ (3 x 200 ml), y estos extractos se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida proporcionando {1-[1-(propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-il]etil}amina. Este material se resolvio completamente en isómeros 1R y 1S (>99% de ee) usando una columna ChiralPak AD. El análisis NOE de amidas de Mosher y el análisis de monocristales por rayos X de un derivado confirmaron la estereoquímica absoluta de cada isómero.

2,6-Dicloro-N-[(1S)-1-[1-(propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-il]etil]benzamida

Una disolución de {(1S)-1-[1-(propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-il]etil}amina (80 mg, 0,26 mmoles) en DMF (0,7 ml) se trató con i-Pr₂NEt (0,2 ml, 1,15 mmoles) y cloruro de 2,6-diclorobenzoilo (0,15 ml, 0,8 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se purificó directamente por HPLC de fase inversa proporcionando el producto deseado.

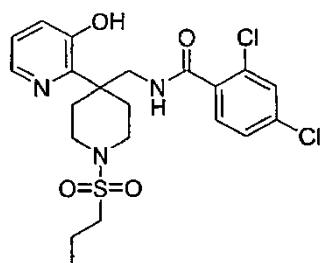
Ejemplo 2



[¹⁸F]2-Cloro-6-fluoro-N-[(1-(propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-il)etil]benzamida

La resina de intercambio aniónico que contiene [¹⁸F]F⁻ se eluyó con una mezcla (1 ml) de 80% de MeCN:20% de disolución (ac.) de oxalato* [*0,05 ml de (200 mg de K₂C₂O₄/3 mg de K₂CO₃/5 ml de H₂O) + 0,25 ml de H₂O + 1,2 ml de MeCN] y se añadió a un vial de 1 ml en la cavidad de microondas. Este vial se ventiló usando una aguja de jeringuilla 18G1 unida a una bolsa de gas. A la disolución acuosa de fluoruro (51 mCi) se añadió Kryptofix222 (0,2 ml, 36 mg/ml de MeCN) y el fluoruro se secó bajo flujo de argón en el microondas (35W, 65°C). Se añadieron alícuotas adicionales de acetonitrilo (3 x 0,5 ml) para el secado azeotrópico. Una disolución de 2,6-dicloro-N-[(1-(propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-il)etil]benzamida (1,1 mg) en DMSO (0,2 ml) se añadió al vial de microondas, la línea de ventilación se eliminó y la mezcla de reacción se calentó a 100W, 150°C, durante 4 minutos. Despues de enfriarse hasta <60°C, la reacción se diluyó con H₂O (0,8 ml) y se purificó por HPLC (Waters C18 XTerra, 7,8 x 150 mm, 7 µm, gradiente lineal de 15 minutos del 20% de MeCN:(95:5:0,1) H₂O:MeCN:TFA al 90% de MeCN y 3 ml/min, el producto eluye a 6,5 minutos). La fracción de producto se recogió en un matraz redondo calentado unido a un evaporador rotatorio, el disolvente se eliminó y el producto se transfirió a un vial usando solución salina fisiológica dando 1,2 mCi de [¹⁸F]2-cloro-6-fluoro-N-[(1-(propilsulfonil)-4-piridin-2-ilpiperidin-4-il)etil]benzamida.

35 PRODUCTO INTERMEDIO 3



2,4-Dicloro-N-[(4-(3-hidroxipiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il)metil]benzamida

4-Ciano-4-[3-(metoximetoxi)piridin-2-il]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:

Se hicieron reaccionar 2-cloro-3-metoximetoxi-piridina (Tetrahedron 58 (2002), 309-314) (2 g, 11,5 mmoles) y 4-cianopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,6 g, 7,7 mmoles) en presencia de hexametildisilazida de potasio (9,2 mmoles) usando el procedimiento en el Ejemplo 8-1 proporcionando el producto deseado: 4-ciano-4-[3-(metoximetoxi)piridin-2-il]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo: RMN ^1H δ (ppm) (CDCl_3): 8,21 (1 H, d, J = 4,6 Hz), 7,53 (1 H, d, J = 8,3 Hz), 7,27-7,23 (1 H, m), 5,31 (2 H, s), 4,20 (2 H, s a), 3,55 (3 H, s), 3,28 (2 H, s a), 2,35 (2 H, s), 2,10 (2 H, s a), 1,47 (9 H, s).

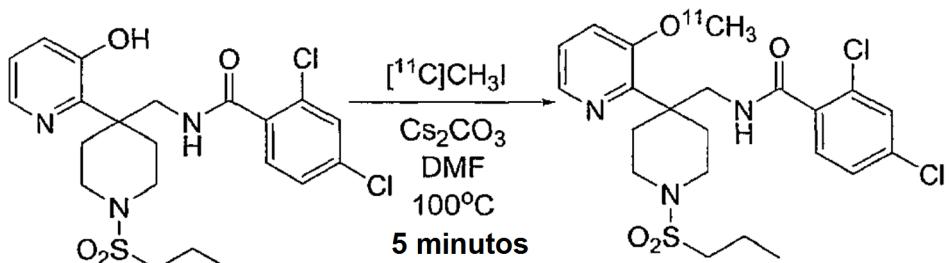
4-{{(2,4-Diclorobenzoil)amino]metil}-4-[3-(metoximetoxi)piridin-2-il]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:

Se redujo 4-ciano-4-[3-(metoximetoxi)piridin-2-il]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo usando níquel Ranee Y se aciló usando cloruro de 2,4-diclorobenzoilo usando el procedimiento ejemplificado en el Ejemplo 8-1 proporcionando el producto deseado: 4-{{(2,4-diclorobenzoil)amino]metil}-4-[3-(metoximetoxi)piridin-2-il]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo: RMN ^1H δ (ppm) (CDCl_3): 8,18 (1 H, dd, J = 1,3, 4,5 Hz), 7,50-7,46 (2 H, m), 7,33 (1 H, d, J = 1,9 Hz), 7,25 (1 H, dd, J = 8,3, 2,0), 7,15 (1 H, dd, J = 4,6, 8,3 Hz), 6,70 (1 H, m), 5,25 (2 H, s), 4,01 (2 H, s a), 3,68-3,62 (2 H, m), 3,49 (3 H, s), 3,44-3,38 (2 H, m), 2,75-2,69 (2 H, m), 1,66-1,60 (1 H, m) 1,46 (9 H, s).

2,4-Dicloro-N-{{4-(3-hidroxipiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]metil}benzamida:

15 Una disolución de 4-{{(2,4-diclorobenzoil)amino]metil}-4-[3-metoxipiridin-2-il]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (200 mg, 0,38 mmoles) se formó en metanol (5 ml). Se añadió ácido clorhídrico (conc., 2 ml) y la mezcla se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se disolvió en diclorometano (5 ml) con *N,N*-diisopropiletilamina (0,26 ml, 1,5 mmoles). Se añadió cloruro de 1-propanosulfonilo (89 μl , 0,8 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se volvió a disolver en metanol (5 ml) y se añadió hidróxido sódico acuoso (1 ml, 4 N). La mezcla se calentó a reflujo durante 20 minutos, luego se dejó que se enfriara y se vertió en agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio (anhidro), se filtraron y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando una mezcla de 40% de acetato de etilo : 60% de diclorometano como eluyente proporcionando el producto deseado: 2,4-dicloro-N-{{4-(3-hidroxipiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]metil}benzamida: RMN ^1H δ (ppm) (CDCl_3): 8,09 (1 H, dd, J = 1,3, 4,5 Hz), 7,47 (1 H, s), 7,44 (1 H, d, J = 8,3 Hz), 7,35 (1 H, d, J = 1,9 Hz), 7,26 (1 H, dd, J = 8,3, 1,9), 7,16 (1 H, dd, J = 1,2, 8,1 Hz), 7,07 (1 H, dd, J = 4,6, 8,0 Hz), 6,95 (1 H, t, J = 5,8 Hz), 4,00 (2 H, d, J = 6,1 Hz), 3,56-3,50 (2 H, m), 3,27-3,23 (2 H, m), 2,99-2,97 (2 H, m), 2,86-2,84 (2 H, m), 1,85-1,78 (2 H, m), 1,73-1,67 (2 H, m), 1,03 (3 H, t, J = 7,4 Hz); m/z (ES) 486, ($\text{M}+\text{H}$).

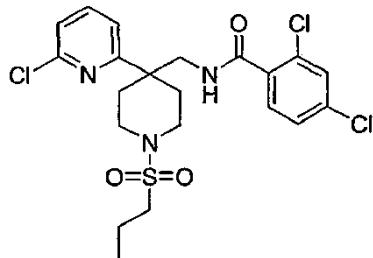
30 **Ejemplo 3**



[^{11}C] 2,4-Dicloro-N-{{4-(3-metoxipiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]metil}benzamida

El [^{11}C]MeI se atrapó a 0°C en una mezcla de 2,4-dicloro-N-{{4-(3-hidroxipiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]metil}benzamida (0,25 mg) en DMF (0,2 ml) que contenía Cs_2CO_3 (1-2 mg). Esta mezcla se transfirió a un vial a 100°C y se calentó durante cinco minutos. La reacción se diluyó con H_2O (0,8 ml) y se purificó por HPLC (Waters C18 XTerra, 7,8 x 150 mm, 5 μm , gradiente lineal de 15 minutos del 20% de MeCN:(95:5:0,1) $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN:TFA}$ al 90% de MeCN y 3 ml/min, el producto eluye a 8,5 minutos). La fracción de producto se recogió en un matraz redondo calentado unido a un evaporador rotatorio, el disolvente se eliminó y el producto se transfirió a un vial usando solución salina fisiológica dando 65 mCi de [^{11}C]-2,4-dicloro-N-{{4-(3-metoxipiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]metil}benzamida.

PRODUCTO INTERMEDIO 4

2,4-Dicloro-N-[(4-(6-cloropiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il)metil]benzamida:4-Ciano-4-(6-cloropiridin-2-il)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:

- 5 Una disolución de 4-cianopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,3 g, 30 mmoles) y 2,6-dicloropiridina (5 g, 45 mmoles) se formó en tolueno (50 ml) y se enfrió en un baño de hielo mientras que se añadía gota a gota hexametildisilazida de potasio (72 ml, 0,5 M en tolueno). Entonces, la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante la noche. La disolución se vertió en agua (200 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio (anhidro), se filtraron y se evaporaron dando un aceite naranja. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando diclorometano que contenía 5% de acetato de etilo como eluyente proporcionó el producto deseado.

4-(Aminometil)-4-(6-cloropiridin-2-il)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:

- 15 Una disolución de 4-ciano-4-(6-cloropiridin-2-il)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,82 mmoles) en metanol (20 ml) con trietilamina (1 ml) se hizo reaccionar con níquel Raney (0,5 ml de suspensión al 50% en agua) bajo 40 psi (0,28 MPa) de hidrógeno durante 5 horas. El catalizador se separó por filtración y se lavó minuciosamente con metanol. La evaporación del disolvente proporcionó el producto deseado.

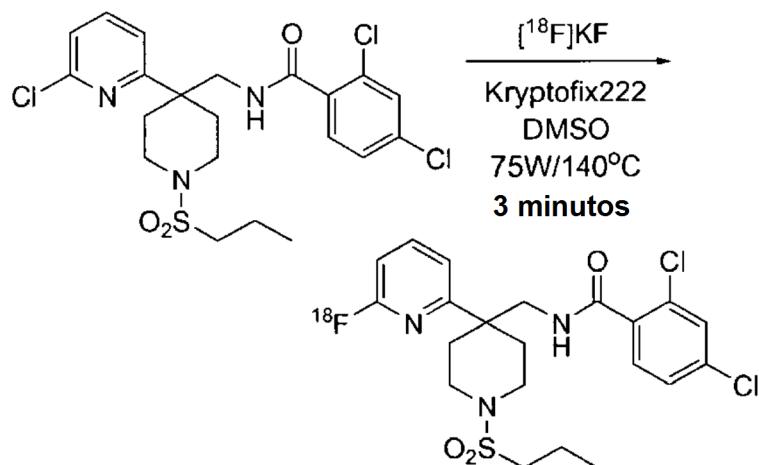
4-{[(2,4-Diclorobenzoil)amino]metil}-4-(6-cloropiridin-2-il)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo:

- 20 Una disolución de 4-(aminometil)-4-(6-cloropiridin-2-il)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,82 mmoles) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,88 mmoles) se formó en diclorometano (10 ml). Se añadió gota a gota cloruro de 2,4-diclorobenzoilo (0,12 ml, 0,82 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se vertió en agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (3 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio (anhidro), se filtraron y se evaporaron dando un aceite naranja. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando diclorometano que contenía 10% de acetato de etilo como eluyente proporcionó el producto deseado.

2,4-Dicloro-N-[(4-(6-cloropiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il)metil]benzamida:

- 25 Una disolución de 4-{[(2,4-diclorobenzoil)amino]metil}-4-(6-cloropiridin-2-il)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (0,7 mmoles) se formó en diclorometano (3 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (1 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla se vertió en carbonato sódico acuoso (20 ml, 2 M) y se extrajo con diclorometano (10 ml x 2). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio (anhidro), se filtraron y se evaporaron dando un aceite. Entonces, éste se volvió a disolver en diclorometano (5 ml) y se añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (0,24 ml, 1,4 mmoles), seguido de cloruro de 1-propanosulfonilo (80 μ l, 0,7 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando diclorometano que contenía 20% de acetato de etilo como eluyente proporcionando el producto deseado: 2,4-dicloro-N-[(4-(6-cloropiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il)metil]benzamida: RMN 1 H δ (ppm) (CDCl_3): 7,69 (1 H, t, J = 7,8 Hz), 7,63 (1 H, d, J = 8,3 Hz), 7,40 (1 H, d, J = 1,9 Hz), 7,32-7,30 (2 H, m), 7,24 (1 H, d, J = 7,8 Hz), 6,94 (1 H, m), 3,89 (2 H, d, J = 6,2 Hz), 3,48-3,40 (4 H, m), 2,91-2,89 (2 H, m), 2,29-2,23 (2 H, m), 1,99-1,95 (2 H, m), 1,88-1,81 (2 H, m), 1,06 (3 H, t, J = 7,4 Hz), m/z (ES) 504, 506 (M+H).

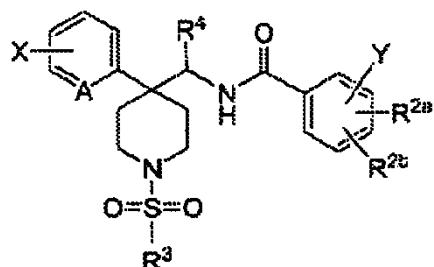
Ejemplo 4

[¹⁸F] 2,4-Dicloro-N-{4-(6-fluoropiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]metil}benzamida

La resina de intercambio aniónico que contenía $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ se eluyó con una mezcla (1 ml) de 80% de MeCN:20% de disolución (ac.) de oxalato* [*0,05 ml de (200 mg de $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ /3 mg de K_2CO_3 /5 ml de H_2O) + 0,25 ml de H_2O + 1,2 ml de MeCN] y se añadió a un v-vial de 1 ml en la cavidad de microondas. Este vial se ventiló usando una aguja de jeringuilla 18G1 unida a una bolsa de gas. A la disolución acuosa de fluoruro se añadió Kryptofix222 (0,2 ml, 36 mg/ml de MeCN) y el fluoruro se secó bajo flujo de argón en el microondas (35W, 65°C). Se añadieron alícuotas adicionales de acetonitrilo (3 x 0,5 ml) para el secado azeotrópico. Una disolución de 2,4-dicloro-N-{4-(6-cloropiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]metil}benzamida (1,2 mg) en DMSO (0,2 ml) se añadió al vial de microondas, la línea de ventilación se eliminó y la mezcla de reacción se calentó a 75W, 140°C, durante 3 minutos. Después de enfriarse hasta <60°C, la reacción se diluyó con H_2O (0,8 ml) y se purificó por HPLC (Waters C18 μ Bondapak, 7,8 x 300 mm, 10 μm , 3 ml/minuto, gradiente lineal de 20 minutos del 20% de MeCN:(95:5:0,1) H_2O :MeCN:TFA al 90% de MeCN, el producto eluye a ~16 minutos.). La fracción de producto se recogió en un matraz redondo caliente unido a un evaporador rotatorio, el disolvente se eliminó y el producto se transfirió a un vial usando solución salina fisiológica dando 46 mCi de [^{18}F]-2,4-dicloro-N-{4-(6-fluoropiridin-2-il)-1-(propilsulfonil)piperidin-4-il]metil}-benzamida.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



1

en la que:

5 A se selecciona de N y CH,
R^{2a} y R^{2b} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:

- (1) hidrógeno,
(2) flúor,
(3) cloro, y
10 (4) bromo;

R³ es alquilo C₁₋₆, que está sin sustituir o sustituido con flúor;
R⁴ se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) hidrógeno, y
(2) alquilo C₁₋₃;

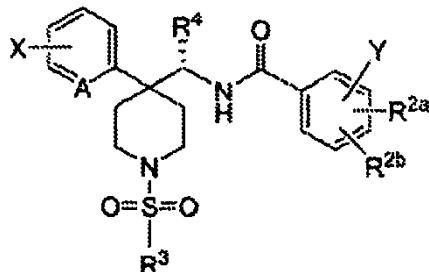
15 uno de X e Y se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) ¹⁸F,
(2) -O(¹¹CH₃), y
(3) -O(CD₂)¹⁸F),

y el otro de X e Y es hidrógeno;

20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un enantiómero individual o diaestereómero del mismo.

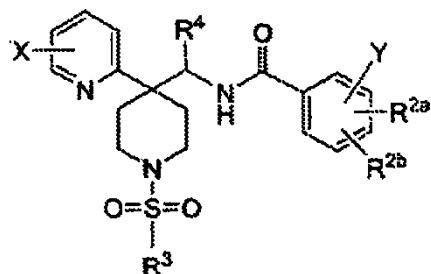
2. El compuesto de la reivindicación 1 de fórmula la:



Ia

en la que R⁴ es alquilo C₁₋₃;
o una sal aceptable del mismo.

25 3. El compuesto de la reivindicación 1 de fórmula Ib:

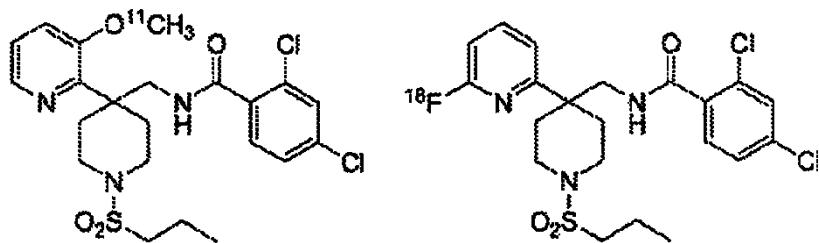
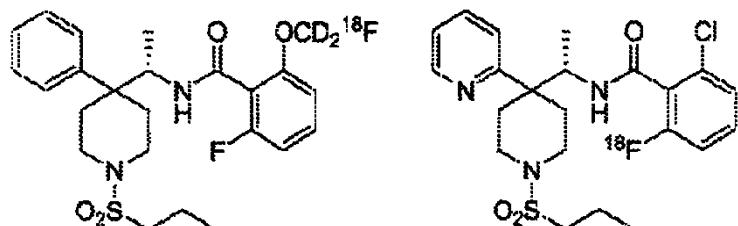


Ib

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^{2a} y R^{2b} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en:

- 5 (1) hidrógeno,
 (2) flúor, y
 (3) cloro.
5. El compuesto de la reivindicación 4 en el que R^{2a} es cloro y R^{2b} es cloro.
6. El compuesto de la reivindicación 4 en el que R^{2a} es cloro y R^{2b} es hidrógeno.
- 10 7. El compuesto de la reivindicación 4 en el que R^{2a} es flúor y R^{2b} es hidrógeno.
8. El compuesto de la reivindicación 1 en el que R³ es -CH₂CH₃.
9. El compuesto de la reivindicación 1 en el que X es ¹⁸F e Y es hidrógeno.
10. El compuesto de la reivindicación 1 en el que X es hidrógeno e Y es ¹⁸F.
11. El compuesto de la reivindicación 1 en el que X es -O(¹¹CH₃) e Y es hidrógeno.
- 15 12. El compuesto de la reivindicación 1 en el que X es hidrógeno e Y es -O(CD₂)¹⁸F.
13. Un compuesto que se selecciona del grupo que consiste en:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos

- 20 14. Una composición radiofarmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

15. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para su uso en un procedimiento para la obtención de imágenes de diagnóstico de transportadores de glicina en un mamífero que comprende administrar una cantidad eficaz de dicho compuesto y obtener una imagen de transportadores de glicina en el mamífero usando tomografía de emisión de positrones.
- 5 16. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para su uso en un procedimiento para la obtención de imágenes de diagnóstico de una enfermedad o trastorno seleccionado de: esquizofrenia, trastorno bipolar, depresión, un trastorno del aprendizaje, trastorno generalizado del desarrollo, trastorno de atención, autismo, un trastorno por tics, un trastorno de ansiedad, trastornos cognitivos, demencia por SIDA, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, espasticidad, mioclonía, espasmo muscular, tinnitus o alteración de la audición; en un ser humano que comprende administrar al ser humano en necesidad de tal obtención de imágenes de diagnóstico una cantidad eficaz del compuesto, y obtener una imagen del ser humano usando tomografía de emisión de positrones.
- 10