

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 002**

51 Int. Cl.:
A61K 51/04 (2006.01)
C07D 211/62 (2006.01)
A61K 101/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07848610 .7**
96 Fecha de presentación: **19.12.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2125038**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.12.2009**

54 Título: **Agentes radioactivos para la obtención in vivo de imágenes PET de CCR5**

30 Prioridad:
21.12.2006 GB 0625523

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.06.2012

73 Titular/es:
**GE HEALTHCARE LIMITED
AMERSHAM PLACE LITTLE CHALFONT
BUCKINGHAMSHIRE HP7 9NA, GB y
HAMMERSMITH IMANET LIMITED**

72 Inventor/es:
**STOREY, Tony;
DAVIS, Julie;
ARSTAD, Erik;
GUILBERT, Benedicte y
GAETA, Alessandra**

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

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

ES 2 384 002 T3

DESCRIPCIÓN

Agentes radioactivos para la obtención *in vivo* de imágenes PET de CCR5

Campo técnico de la invención

- 5 La presente invención se refiere al campo de la obtención de imágenes médicas y, en particular, a la obtención de imágenes *in vivo* de estados de enfermedad asociados con la regulación positiva de una clase particular de receptor de quimiocinas (CCR). Se proporcionan compuestos y procedimientos que son útiles para la obtención de imágenes de dichos estados de enfermedad.

Descripción de la técnica relacionada

- 10 El sistema de quimiocinas regula el tráfico de las células inmunes a los tejidos y, de esta manera, desempeña un papel central en la inflamación. El sistema está implicado también en muchos otros procesos biológicos, tales como la regulación del crecimiento, la hematopoyesis y la angiogénesis. Además, se cree que las quimiocinas desempeñan un papel central en el sistema nervioso central. Las quimiocinas (citoquinas quimiotácticas) son pequeñas moléculas secretadas caracterizadas por 4 residuos de cisteína conservados que forman dos enlaces disulfuro esenciales (Cys1-Cys3; Cys2-Cys4). Pueden clasificarse brevemente, en base a la posición relativa de los dos residuos de cisteína, tales como CC y CXC, que representan las dos clases principales. Las quimiocinas actúan como mediadores químicos, liberadas por células inmunes invasoras o por células residentes localmente en el sitio de la inflamación.

- 15 Las quimiocinas inducen sus efectos biológicos a través de la interacción con los receptores de quimiocinas (CCR). Los CCR son proteínas integrales de membrana, formadas por siete dominios hélice- α transmembrana unidos por bucles intracelulares y extracelulares, un dominio extracelular N-terminal y un dominio citosólico C-terminal. Todos ellos comparten un pliegue común de tres láminas- β antiparalelas, enhebradas cubiertas en una cara por un dominio hélice- α C-terminal y precedido por un dominio N-terminal desordenado. El procedimiento de dimerización/oligomerización, esencial para sus propiedades funcionales, implica el dominio N-terminal.

- 20 Se ha encontrado que la expresión de los receptores de quimiocinas (CCR) se ve perturbada en ciertos estados de enfermedad en los que la inflamación desempeña un papel. Por ejemplo, las enfermedades neuroinflamatorias, tales como la esclerosis múltiple (MS) [Rottman et al 2000 Eur. J. Immunol. 30 p 2372], la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP), [Xia & Hyman 1999 J. Neurovirology 5 p 32] y también otras afecciones inflamatorias patológicas, tales como la aterosclerosis [Greaves & Channon 2002 Trends Immunol. 23 (11) P 535], trastorno pulmonar obstructivo crónico (TPOC), artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedad alérgica, VIH/SIDA, asma y cáncer.

- 25 Un receptor de quimiocina, que es particularmente importante en ciertos estados de enfermedad, es el CCR5. Este ha sido objeto de un considerable desarrollo terapéutico, ya que es el receptor de quimiocinas que usa el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) para entrar en los macrófagos y la expresión de CCR5 es regulada positivamente en la infección crónica por VIH. CCR5 ha recibido también atención debido a su implicación en la fisiopatología de diversas afecciones neuroinflamatorias, tales como esclerosis múltiple, la enfermedad de Alzheimer y Parkinson.

- 30 Los ligandos de los receptores de quimiocina han sido analizados por Gao y Metz [Chem. Rev., 103, 3733-52 (2003)], y Ribeiro y Horuk [Pharmacol. Ther., 107, 44-58 (2005)].

El uso de los receptores de citoquina y quimiocina como objetivo para la obtención de imágenes médicas nucleares ha sido descrito como un reto [Signore et al, Eur J. Nucl. Med. Mol. Imaging, 30 (1), 149-165 (2003)]. Signore et al. informaron que el enfoque principal conocido por usar los receptores de quimiocina como objetivo fue interleucina-8 (IL-8) radiomarcada.

- 35 El documento WO 02/36581 divulga radio-fármacos que se unen al receptor CCR1 y que son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica (BBB). Estos radio-fármacos se divulgan como útiles en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.

- 40 El documento WO 2006/102395 divulga el uso de fracciones, utilizadas para captación de imágenes, (denominadas en la presente memoria, "agentes de obtención de imágenes") como objetivo para las placas ateroscleróticas. El ligando RANTES, que se une al receptor de CCR5, se divulga como una de entre una serie de fracciones objetivo adecuadas para el suministro de una fracción de obtención de imágenes a las lesiones ateroscleróticas cuando están unidas a la misma. Las fracciones de obtención de imágenes divulgadas incluyen las adecuadas para una amplia gama de modalidades de obtención de imágenes *in vivo*, por ejemplo, tomografía por emisión de fotón único (SPECT), obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI) y tomografía por emisión de positrones (PET).

- 45 El documento WO 2006/102395 divulga el uso de fracciones, utilizadas para captación de imágenes, (denominadas en la presente memoria, "agentes de obtención de imágenes") como objetivo para las placas ateroscleróticas. El ligando RANTES, que se une al receptor de CCR5, se divulga como una de entre una serie de fracciones objetivo adecuadas para el suministro de una fracción de obtención de imágenes a las lesiones ateroscleróticas cuando están unidas a la misma. Las fracciones de obtención de imágenes divulgadas incluyen las adecuadas para una amplia gama de modalidades de obtención de imágenes *in vivo*, por ejemplo, tomografía por emisión de fotón único (SPECT), obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI) y tomografía por emisión de positrones (PET).
- 50 Signore et al ("Radiolabelled lymphokines and growth factors for *in vivo* imaging of inflammation, infection and cancer": TRENDS in Immunology 2003, vol.24, No. 7, pp. 395-402) hace referencia al ligando RANTES marcado con ^{125}I para obtención de imágenes de inflamaciones. El documento WO 91/25200 e Imamura et al ((Bioorg. & Med. Chem. Lett. 13

(2005), pp. 397-416) divulga compuestos no radio-marcados que son ligandos CCR5.

La capacidad de obtener imágenes de afecciones en las que CCR5 está especialmente implicado, especialmente neuroinflamación, puede representar una importante herramienta para el diagnóstico precoz de diferentes afecciones patológicas agudas y crónicas, y para apoyar enfoques y estrategias terapéuticas. Por lo tanto, existe una necesidad de agentes de obtención de imágenes que obtengan imágenes de CCR5 y, en particular, de aquellos que pueden atravesar la barrera hematoencefálica.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a la obtención de imágenes *in vivo* y, en particular, a nuevos agentes de obtención de imágenes adecuados para uso en obtención de imágenes *in vivo* del receptor de quimiocinas 5 (CCR5). La invención proporciona también un procedimiento para la preparación de los agentes de obtención de imágenes de la invención, así como composiciones farmacéuticas que los comprenden. Se proporcionan kits para una preparación fácil de los compuestos farmacéuticos. Además, la invención proporciona procedimientos para el uso de los agentes de obtención de imágenes y las composiciones farmacéuticas de la invención.

Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un agente de obtención de imágenes, según se define en la reivindicación 1, que comprende un compuesto sintético que tiene afinidad por los receptores de quimiocinas 5 (CCR5) y que tiene un peso molecular de 3.000 Daltons o menos.

Un compuesto que tiene "afinidad para CCR5" se define en la presente invención como aquel que inhibe la unión de células CHO que expresan MIP-1 β CCR5 con valores IC₅₀ de entre 0,1 nM y 10 nM, donde MIP-1 β es una proteína 1 β inflamatoria macrófaga (ligando de CCR5) [Samson et al., J. Biol. Chem., 272, 24934-41 (1997)]. Véase también el Ejemplo 4. Los compuestos CCR5 de la presente invención son también, preferentemente, selectivos para CCR5 sobre otros receptores de quimiocinas (tales como CCR1 o CCR3). Dichos inhibidores selectivos exhiben, de manera adecuada, una mayor potencia para CCR5 que para CCR1, definida por K_i, de un factor de al menos 50, preferentemente, al menos 100, más preferentemente, al menos 500.

El compuesto sintético es un no péptido. La expresión "no-péptido" se refiere un compuesto que no comprende ningún enlace peptídico, es decir, un enlace amida entre dos residuos de aminoácidos. El compuesto sintético que tiene afinidad por el receptor de quimiocinas 5 (CCR5) tiene, preferentemente, un peso molecular de 1.000 Daltons o menos y, más preferentemente, de 600 Daltons o menos.

La expresión "marcado con" se refiere a cualquier grupo funcional que comprende la fracción de obtención de imágenes, o la fracción de obtención de imágenes está unida como una especie adicional. Cuando un grupo funcional comprende la fracción de obtención de imágenes, esto significa que la 'fracción de obtención de imágenes' forma parte de la estructura química, y es un isótopo radiactivo presente en un nivel considerablemente por encima del nivel de abundancia natural de dicho isótopo. De manera adecuada, dichos niveles elevados o enriquecidos de isótopos son al menos 5 veces, preferentemente, al menos 10 veces, más preferentemente, al menos 20 veces; e idealmente, al menos 50 veces el nivel de abundancia natural del isótopo en cuestión, o están presentes a un nivel en el que el nivel de enriquecimiento del isótopo en cuestión es del 90 al 100%. Los ejemplos de referencia de dichos grupos funcionales incluyen grupos CH₃ con niveles elevados de ¹¹C, y grupos fluoroalquilo con niveles elevados de ¹⁸F, de manera que la fracción de obtención de imágenes es el átomo marcado isotópicamente ¹¹C o ¹⁸F en la estructura química. Los radioisótopos ³H y ¹⁴C no son fracciones de obtención de imágenes adecuadas.

La fracción de obtención de imágenes de la presente invención es un elemento no metálico, radioactivo, emisor de positrones, que es adecuado para la tomografía de emisión de positrones (PET). Los emisores de positrones incluyen: ¹¹C, ¹³N, ¹⁷F, ¹⁸F, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br o ¹²⁴I.

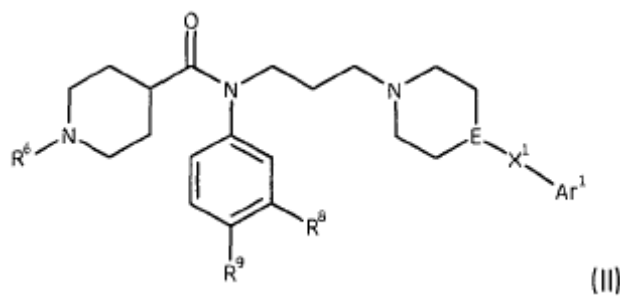
El emisor de positrones usado como fracción de obtención de imágenes en la presente invención es ¹⁸F. El uso de dicha una fracción de obtención de imágenes PET tiene ciertas ventajas técnicas, incluyendo:

(i) el desarrollo de cámaras PET/CT que permiten un fácil co-registro de imágenes (PET) funcionales y (TC) anatómicas para una información de diagnóstico mejorada;

(ii) la facilidad para cuantificar las imágenes PET para permitir una evaluación precisa para la estadificación y la supervisión de la terapia;

(iii) mayor sensibilidad para permitir la visualización de tejidos objetivo más pequeños.

El agente de obtención de imágenes de la presente invención comprende un compuesto sintético de la Fórmula II:



en la que:

R^6 es [^{18}F]fluoroacilo;

R^8 - R^9 son seleccionados, independientemente, de entre H, alquilo C_{1-3} , OH o halógeno.

E es N o CH;

cuando E es N, X^1 es $-\text{CH}_2-$ y cuando E es CH, X^1 es $-\text{CH}_2-$ o $-\text{O}-$;

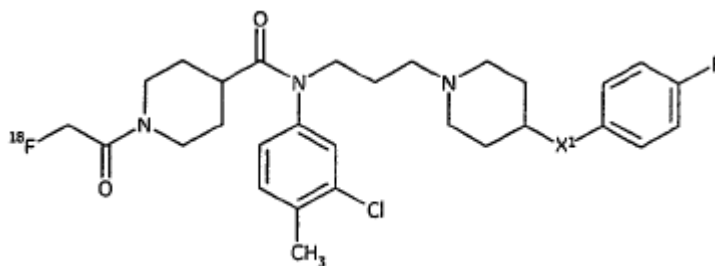
Ar^1 es un anillo fenilo sustituido con entre 0 y 3 grupos R^7 ;

cada R^7 es seleccionado, independientemente, de entre alquilo C_{1-3} , OH, halógeno, NO_2 , NH_2 , CO_2H , alcoxi C_{1-6} , amino C_{1-6} , amido C_{1-6} , $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{X}^2$ o $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{X}^2$ en la que x es un número entero de valor 0 a 4, y X^2 es H o CH_3 ;

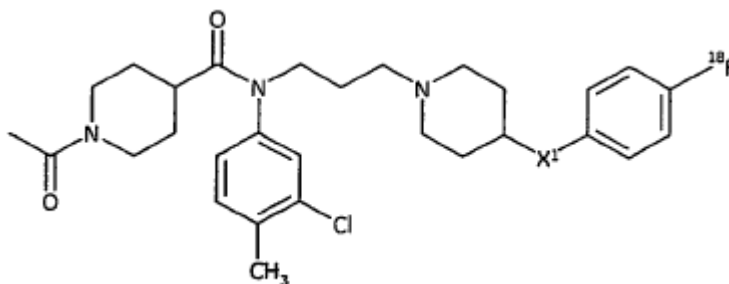
en la que dicho compuesto tiene afinidad para el receptor de quimiocina 5 (CCR5) y un peso molecular de 3.000 Daltons o menos.

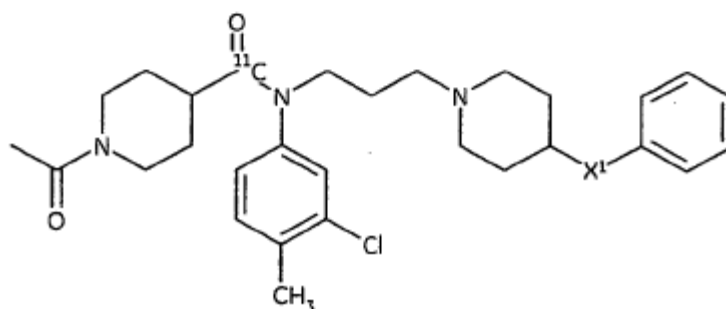
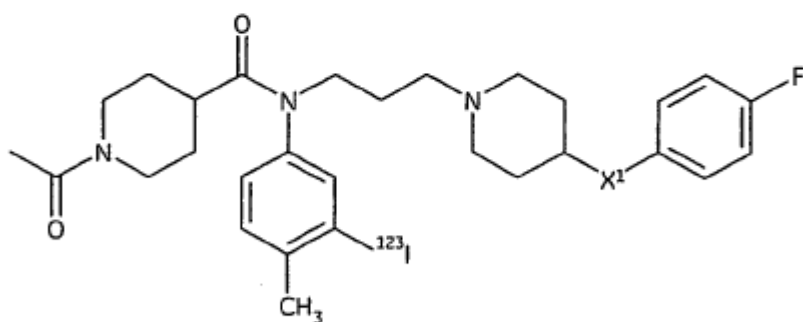
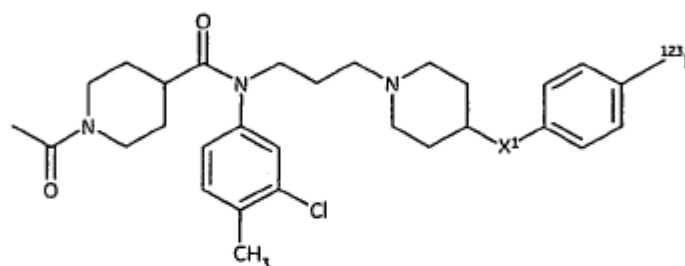
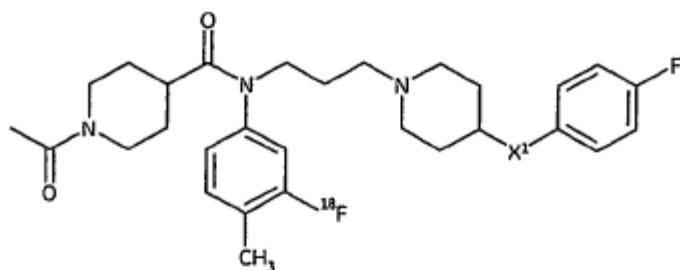
En la Fórmula II, R^8 - R^9 son seleccionados, preferentemente, de entre H, CH_3 , OH, Cl, F e I; y Ar^1 es un anillo fenilo. Preferentemente, el anillo Ar^1 no está sustituido o está sustituido con un grupo R^7 . Cuando está presente, R^7 es seleccionado, preferentemente, de entre: $-\text{OH}$, $-\text{NHCH}_3$, F, $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{X}^2$ o $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{X}^2$. X^2 es preferentemente H.

El compuesto de Fórmula II preferente es:



Otros compuestos de referencia son:





en las que X^1 es tal como se ha definido anteriormente para la Fórmula II.

Los compuestos sintéticos que tienen afinidad para el receptor de quimiocina 5 (CCR5) pueden ser obtenidos tal como se indica a continuación:

Fórmula I - WO 00/06146, Shiraishi et al [J. Med. Chem. 43 pp2049-63 (2000)].

Fórmula II - Derivados de piperidin-4-carboxamida, Imamura et al, [Bioorg. Med. Chem. 13 p. 397-416 (2005), y J. Med. Chem. 49 pp2784-93 (2006)].

Fórmula III - Derivados de difenilpropilpiperidina, Cumming et al [Bioorg. Med. Chem. Lett, 16 p3533 - 3536 (2006)], y Shou-Fu Lu et al. Bioorg. Med. Chem. Lett, 2007, 17, 1883-1887.

Fórmula IV - Derivados basados en piperazina, Tagat et al [J. Med. Chem., 47, 2405-8 (2004)]; y Tagat et al [J. Med. Chem 44, 3343-6 (2001)]

5 Fórmula V - Wood y Armour [Prog. Med. Chem., 43, 239-271 (2005)]

Fórmula VI - Mitsuya et al [J. Med. Chem. 49 pp4140-52 (2006), y Bioorg. Med. Chem. Lett. 17 pp727-31 (2007)]

Solo la Fórmula II, indicada anteriormente, está relacionada con la presente invención.

Los agentes de obtención de imágenes del primer aspecto son preparados, de manera adecuada, mediante reacción con un precursor, tal como se describe en el segundo aspecto, más adelante.

10 En un segundo aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para la preparación del agente de obtención de imágenes del primer aspecto y se hace referencia al mismo en la reivindicación 1 de la presente memoria, que comprende la reacción de:

(i) un precursor no radioactivo; y

(ii) una fuente adecuada de fracción de obtención de imágenes del primer aspecto,

15 en el que dicho precursor es un derivado del compuesto sintético de reivindicación 1 de la presente memoria, y dicho derivado comprende un sustituyente Y^1 que es capaz de reaccionar con dicha fuente adecuada de fracción de obtención de imágenes para proporcionar el agente de obtención de imágenes deseado.

20 El "precursor" comprende, de manera adecuada, un derivado no radiactivo del compuesto sintético, que está diseñado de manera que la reacción química con una forma química conveniente del radioisótopo no metálico deseado puede ser realizada en el mínimo número de etapas (idealmente una única etapa), y sin la necesidad de una purificación considerable (idealmente, sin purificación adicional) para proporcionar el producto radiactivo deseado. Dichos precursores son sintéticos y pueden obtenerse, de manera conveniente, en una buena pureza química. El "precursor" puede comprender, opcionalmente, un grupo protector (P^{GP}) para ciertos grupos funcionales del compuesto sintético CCR5. Los precursores adecuados se describen en Bolton, J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485-528 (2002).

25 La expresión "grupo protector" (P^{GP}) se refiere a un grupo que inhibe o suprime las reacciones químicas no deseadas, pero que está diseñado para ser suficientemente reactivo de manera que puede ser escindido del grupo funcional en cuestión bajo condiciones suficientemente suaves que no modifican el resto de la molécula. Después de una desprotección, se obtiene el producto deseado. Los grupos protectores son bien conocidos para las personas con conocimientos en la materia y son seleccionados, de manera adecuada, de entre grupos amina: Boc (donde Boc es terc-butiloxicarbonilo), Fmoc (donde Fmoc es fluorenilmetoxicarbonilo), trifluoroacetilo, aliloxicarbonilo, Dde [es decir, 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)etil] o Npys (es decir, 3-nitro-2-piridina sulfenilo), y para los grupos carboxilo: éster metílico, éster terc-butilico o éster bencilico. Para los grupos hidroxilo, los grupos protectores adecuados son: metilo, etilo o terc-butilo; alcóximetilo o alcóxietilo; bencilo; acetilo; benzoilo; tritilo (Trt) o trialquilsililo, tal como terc-butildimetilsililo. Para los grupos tiol, los grupos protectores adecuados son: tritilo y 4 metoxibencilo. El uso de grupos de protección adicionales se describe en "Protective Groups in Organic Synthesis", Theodor W. Greene y Peter G.M. Wuts, (Tercera Edición, John Wiley & Sons, 1999).

30 Los precursores de referencia son aquellos en los que Y^1 comprende un derivado que o bien es sometido a halogenación directa, electrofílica o nucleofílica; es sometido a alquilación fácil con un agente alquilante marcado seleccionado de entre un alquil o fluoroalquil haluro, tosilo, triflato (es decir, trifluorometanosulfonato), mesilato, maleimida o una fracción N-haloacetilo marcada; las fracciones de tiol alquilatos para formar enlaces tioéter; o es sometido a condensación con un éster, aldehído, o cetona, activo marcado. Los ejemplos de la primera categoría son los siguientes:

(a) derivados organometálicos, tales como un trialquilestannano (por ejemplo trimetilestanil o tributilestanil), o un trialquilsilano (por ejemplo, trimetilsililo);

45 (b) un yoduro de alquilo o bromuro de alquilo no radiactivo para el intercambio de halógeno y tosilo, mesilato o triflato de alquilo para halogenación nucleofílica;

(c) anillos aromáticos activados hacia la halogenación electrofílica (por ejemplo, fenoles) y anillos aromáticos activados hacia la halogenación nucleofílica (por ejemplo, aril yodonio, aril diazonio, sales de aril trialquilamonio o derivados de nitroarilo).

50 Los derivados de referencia que son sometidos a alquilación fácil son alcoholes, fenoles, aminas o grupos tiol,

especialmente tioles y aminas primarias o secundarias estéricamente no obstaculizadas.

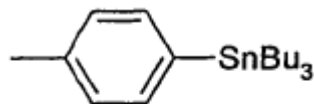
Los derivados de referencia que alquilan los reactivos con radios isotópos que contienen tiol son derivados de maleimida o grupos N-haloacetilo. Los ejemplos de referencia particulares de estos últimos son derivados de N-cloroacetilo y N-bromoacetilo.

- 5 Otros derivados de referencia que son sometidos a condensación con una fracción éster activa marcada son aminas, especialmente aminas, primarias o secundarias, estéricamente no obstaculizadas.

Los derivados de referencia particulares que son sometidos a condensación con un aldehído o cetona marcado son grupos aminooxi e hidrazidas, especialmente derivados de aminooxi.

- 10 El "precursor" puede ser suministrado, opcionalmente, unido covalentemente a una matriz de soporte sólida. De esa manera, el agente de obtención de imágenes deseado se forma en solución, mientras que los materiales de partida y las impurezas permanecen unidos a la fase sólida. Los precursores para fluoración electrofílica en fase sólida con ^{18}F Fluoruro se describen en el documento WO 03/002489. Los precursores para fluoración nucleofílica en fase sólida con ^{18}F Fluoruro se describen en el documento WO 03/002157. Por lo tanto, el precursor unido al soporte sólido puede ser proporcionado como un cartucho de un kit que puede ser acoplado en un sintetizador automatizado, adaptado de manera adecuada. El cartucho puede contener, además del precursor unido al soporte sólido, una columna para eliminar iones fluoruro no deseados, y un contenedor apropiado conectado para permitir que la mezcla de reacción se evapore y permitir que el producto sea formulado tal como se requiere. Los reactivos y solventes y otros artículos consumibles necesarios para la síntesis pueden ser incluidos también junto con un disco compacto que contiene el software que permite que el sintetizador pueda hacerse funcionar en una manera que cumpla los requisitos del cliente en relación a la concentración radiactiva, los volúmenes, el tiempo de entrega, etc. De manera conveniente, todos los componentes del kit son desechables para minimizar la posibilidad de contaminación entre ejecuciones y serán estériles y de calidad garantizada.

- 20 Los procedimientos de introducción de halógenos radiactivos (que incluyen ^{123}I y ^{18}F), se describen en Bolton [J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485-528 (2002)]. Los ejemplos de referencia de grupos arilo precursores adecuados a los que los halógenos radiactivos, especialmente yodo, pueden ser unidos, se proporcionan a continuación:



- 35 Ambos contienen sustituyentes que permiten una sustitución fácil de radio-yodo en el anillo aromático. Los sustituyentes alternativos que contienen yodo radiactivo pueden ser sintetizados mediante yodación directa mediante intercambio radiohalógeno, por ejemplo



- 40 En realizaciones de referencia, el átomo de flúor radioactivo puede formar parte de un grupo fluoroalquilo o fluoroalcoxi, ya que los fluoruros de alquilo son resistentes a metabolismo *in vivo*. Para los isótopos radiactivos de flúor (por ejemplo, ^{18}F), la radiohalogenación en las realizaciones de referencia puede realizarse mediante marcado directo usando la reacción de ^{18}F -fluoruro con un precursor adecuado que tiene un buen grupo saliente, tal como un bromuro de alquilo, mesilato de alquilo o tosilato de alquilo. En otras realizaciones de referencia, el átomo de flúor radioactivo puede estar unido mediante un enlace covalente directo a un anillo aromático, tal como un anillo de benceno. Para dichos sistemas arilo, el precursor comprende, de manera adecuada, un anillo nitroarilo activado, una sal de aril diazonio o una sal de aril trialquilamonio. Sin embargo, la radio-fluorinación directa puede ser perjudicial para grupos funcionales sensibles, ya que estas reacciones nucleofílicas se llevan a cabo con un ión ^{18}F fluoruro anhidro en solventes apróticos polares, bajo condiciones fuertemente básicas.

Cuando el compuesto sintético tiene grupos funcionales sensibles al álcali, u otra funcionalidad no adecuada para una radiohalogenación directa, un procedimiento indirecto de radiohalogenación es preferente. De esta manera, debido a que la fracción de obtención de imágenes comprende ^{18}F radiactivo, Y^1 comprende, preferentemente, un grupo funcional que reaccionará, de manera selectiva, con un sintón radio-marcado y, de esta manera, tras una conjugación proporciona el producto agente de obtención de imágenes deseado. La expresión "sintón radio-marcado" se refiere a una molécula pequeña, sintética orgánica que:

(i) está ya radio-marcada de manera que el radio-marcador está unido al sintón, en una manera estable;

(ii) comprende un grupo funcional diseñado para reaccionar selectiva y específicamente con un grupo funcional correspondiente que es parte del compuesto deseado a radio-marcarse. Este enfoque proporciona mejores oportunidades para generar agentes de obtención de imágenes con una estabilidad *in vivo* mejorada del radio-marcador con relación a los enfoques de radio-marcado directo.

Un enfoque sintón permite también una mayor flexibilidad en las condiciones usadas para la introducción de la fracción de obtención de imágenes.

En las realizaciones de referencia, puede introducirse ^{18}F mediante N-alkilación de precursores de amina con sintones agentes alkilantes, tal como $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OMs}$ (donde Ms es mesilato) para proporcionar N- $(\text{CH}_2)_3^{18}\text{F}$, O-alkilación de grupos hidroxilo con $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OMs}$, $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OTs}$ o $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{Br}$ o S-alkilación de grupos tiol con $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OMs}$ o $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{Br}$. En otras realizaciones de referencia, puede introducirse también ^{18}F mediante alkilación de grupos N-haloacetilo con un reactivo $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, para proporcionar derivados de $-\text{NH}(\text{CO})\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_3^{18}\text{F}$ o con un reactivo $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{SH}$, para proporcionar derivados de $\text{NH}(\text{CO})\text{CH}_2\text{S}(\text{CH}_2)_3^{18}\text{F}$. En otras realizaciones de referencia, también puede introducirse ^{18}F mediante una reacción de precursores que contienen maleimida con $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{SH}$. Para los sistemas arilo en los ejemplos de referencia, el desplazamiento nucleofílico de ^{18}F -fluoruro de una sal de aril diazonio, un compuesto aril nítro o una sal de aril amonio cuaternario son también rutas adecuadas a sintones marcados con aril ^{18}F , útiles para la conjugación a los precursores de un agente de obtención de imágenes.

Los precursores de referencia en los que V^1 comprende un grupo amina primario pueden ser marcados también con ^{18}F mediante aminación reductiva, usando $^{18}\text{F}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CHO}$, tal como se divulga en Kahn et al [J. Lab. Comp. Radiopharm. 45, 1045-1053 (2002)] y Borch et al. [J. Am. Chem. Soc. 93, 2897 (1971)]. Este enfoque puede ser aplicado también, de manera útil, a aril aminas primarias, tales como compuestos que comprenden grupos fenil- NH_2 o fenil- CH_2NH_2 .

Un procedimiento especialmente preferente para precursores sensibles a base es cuando Y^1 de referencia comprende un grupo aminooxi de fórmula $-\text{NH}(\text{C}=\text{O})\text{CH}_2-\text{O}-\text{NH}_2$ que es condensado con $^{18}\text{F}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CHO}$ bajo condiciones ácidas (por ejemplo, un pH de 2 a 4). Los detalles adicionales de rutas sintéticas a derivados marcados con ^{18}F se describen en Bolton, J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485-528 (2002).

Preferentemente, el precursor está en forma estéril, apirógena. Los procedimientos para mantener la esterilidad se describen en el tercer aspecto, más adelante.

Los ejemplos de precursores adecuados para la generación de agentes de obtención de imágenes de referencia son aquellos en los que Y^1 comprende un grupo amina que es condensado con el sintón N-succinimidil 4- ^{123}I yodobenzoato a pH 7,5-8,5 para proporcionar productos unidos mediante enlaces amida.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el agente de obtención de imágenes del primer aspecto, junto con un portador biocompatible, en una forma adecuada para la administración a un mamífero.

El "portador biocompatible" es un fluido, especialmente un líquido, en el cual puede ser suspendido o disuelto el agente de obtención de imágenes, de manera que la composición es fisiológicamente tolerable, es decir, puede ser administrada al cuerpo de un mamífero sin toxicidad o molestias indebidas. El portador biocompatible es, de manera adecuada, un líquido portador inyectable, tal como agua estéril, libre de pirógenos, para inyección; una solución acuosa, tal como solución salina (que puede ser equilibrada ventajosamente de manera que el producto final para la inyección sea isotónico); una solución acuosa de una o más sustancias de ajuste de tonicidad (por ejemplo sales de cationes de plasma con contraiones biocompatibles), azúcares (por ejemplo glucosa o sacarosa), alcoholes de azúcar (por ejemplo, sorbitol o manitol), glicoles (por ejemplo, glicerol), u otros materiales poliol no iónicos (por ejemplo, polietilenglicoles, propilenglicoles y similares). Preferentemente, el portador biocompatible es agua libre de pirógenos para inyección o solución salina isotónica.

Dichas composiciones farmacéuticas radiactivas (es decir, composiciones radio-farmacéuticas) son suministradas, de manera adecuada, en un contenedor que está provisto de un sello que es adecuado para una punción simple o múltiple con una aguja hipodérmica (por ejemplo, un cierre de tabique cerrado, plegado sobre el contenedor) mientras se mantiene la integridad estéril. Dichos contenedores pueden contener dosis individuales o múltiples para los

pacientes. Los contenedores preferentes de dosis múltiples comprenden un único vial a granel (por ejemplo, de 10 a 30 cm³ de volumen) que contiene múltiples dosis para el paciente, desde el que las dosis individuales del paciente pueden ser retiradas, de esta manera, en jeringas de grado clínico en diversos intervalos de tiempo durante la vida útil viable de la preparación para adaptarse a la situación clínica. Las jeringas precargadas están diseñadas para contener una única dosis humana, o "dosis unitaria" y, por tanto, son preferentemente una jeringa desechable u otra jeringa adecuada para el uso clínico. Opcionalmente, la jeringa precargada puede estar provista de un protector de jeringa para proteger al operario contra la dosis radiactiva. Dichos protectores de jeringa radiofarmacéutica adecuados son conocidos en la técnica y comprenden, preferentemente, plomo o tungsteno.

Las composiciones radiofarmacéuticas pueden ser preparadas a partir de kits, tal como se describe en el cuarto aspecto, más adelante. Como alternativa, los radio-fármacos pueden ser preparados bajo condiciones de fabricación asépticas para proporcionar el producto estéril deseado. Los radio-fármacos pueden ser preparados también bajo condiciones no estériles, seguido de esterilización terminal usando, por ejemplo irradiación gamma, autoclave, calor seco o tratamiento químico (con óxido de etileno).

En un cuarto aspecto, la presente invención proporciona un kit para la preparación de la composición farmacéutica del tercer aspecto, cuyo kit comprende el precursor del segundo aspecto. Dichos kits comprenden el "precursor" del segundo aspecto, preferentemente en forma no pirógena estéril, de manera que la reacción con una fuente estéril de la fracción de obtención de imágenes radioisotópica proporciona el radio-fármaco deseado con el mínimo número de manipulaciones. Dichas consideraciones son particularmente importantes cuando el radioisótopo tiene una vida media relativamente corta, y con relación a la facilidad de manipulación y, de esta manera, menor dosis de radiación para el radio-farmacéutico. De esta manera, el medio de reacción para la reconstitución de dichos kits es, preferentemente, un "portador biocompatible", tal como se ha definido anteriormente, y es, más preferentemente, acuoso.

Los contenedores de kit adecuados comprenden un contenedor sellado que permite el mantenimiento de la integridad estéril y/o la seguridad radiactiva, más, opcionalmente, un gas inerte en el espacio libre (por ejemplo nitrógeno o argón), mientras permite la adición y la retirada de las soluciones mediante una jeringa. Dicho un contenedor preferente es un vial con tabique sellado, en el que el cierre hermético al gas está engarzado con un sello (típicamente de aluminio). Dichos contenedores tienen la ventaja adicional de que el cierre puede resistir el vacío, si se desea por ejemplo, para cambiar el gas del espacio libre o desgasificar las soluciones.

Opcionalmente, los kits no radiactivos pueden comprender además, componentes adicionales, tales como un radioprotector, un conservante antimicrobiano, un agente de ajuste del pH o una carga. El término "radioprotector" se refiere a un compuesto que inhibe las reacciones de degradación, tales como procesos redox, capturando radicales libres altamente reactivos, tales como radicales libres que contienen oxígeno, derivados de la radiólisis de agua. Los radioprotectores de la presente invención son seleccionados, de manera adecuada, de entre: ácido ascórbico, para-aminobenzoico (es decir, ácido 4-aminobenzoico), ácido gentísico (es decir, ácido 2,5-dihidroxibenzoico) y sus sales con un catión biocompatible. La expresión "catión biocompatible" se refiere a un contraión cargado positivamente que forma una sal con un grupo ionizado, cargado negativamente, en el que dicho contraión cargado positivamente es también no tóxico y, por tanto, adecuado para su administración al cuerpo de un mamífero, especialmente, el cuerpo humano. Los ejemplos de cationes biocompatibles adecuados incluyen: los metales alcalinos sodio o potasio; los metales alcalinotérreos calcio y magnesio, y el ión amonio. Los cationes biocompatibles preferentes son sodio y potasio, más preferentemente sodio.

La expresión "conservante antimicrobiano" se refiere a un agente que inhibe el crecimiento de microorganismos potencialmente dañinos, tales como bacterias, levaduras o mohos. El conservante antimicrobiano puede exhibir también algunas propiedades bactericidas, dependiendo de la dosis. El papel principal del conservante antimicrobiano o los conservantes antimicrobianos de la presente invención es el de inhibir el crecimiento de cualquiera de dichos microorganismos en la composición de radio-fármaco después de la reconstitución, es decir, en el propio producto radiactivo de diagnóstico. Sin embargo, el conservante antimicrobiano puede ser usado también, opcionalmente, para inhibir el crecimiento de microorganismos potencialmente dañinos en uno o más componentes del kit no radiactivo de la presente invención, antes de la reconstitución. El conservante antimicrobiano o los conservantes antimicrobianos adecuados incluyen: los parabenos, es decir, metil, etil, propil o butil parabeno o sus mezclas; alcohol bencílico; fenol; cresol; cetrimida y tiomersal. El conservante antimicrobiano o conservantes antimicrobianos preferentes son los parabenos.

La expresión "agente de ajuste del pH" se refiere a un compuesto o mezcla de compuestos útil para asegurar que el pH del kit reconstituido está dentro de límites aceptables (aproximadamente pH 4,0 a 10,5) para la administración a seres humanos o a mamíferos. Dichos agentes de ajuste del pH adecuados incluyen tampones farmacéuticamente aceptables, tales como tricina, fosfato o TRIS, (es decir, tris(hidroximetil)aminometano) y bases farmacéuticamente aceptables, tales como carbonato sódico, bicarbonato sódico o sus mezclas. Cuando el conjugado es empleado en forma de sal de ácido, el agente de ajuste del pH puede ser proporcionado, opcionalmente, en un vial o contenedor separado, de manera que el usuario del kit puede ajustar el pH como parte de un procedimiento de múltiples etapas.

El término "carga" se refiere a un agente espesante farmacéuticamente aceptable que puede facilitar la manipulación del material durante la producción y la liofilización. Las cargas adecuadas incluyen sales inorgánicas tales como cloruro de sodio y azúcares solubles en agua o alcoholes de azúcares tales como sacarosa, maltosa, manitol o trehalosa.

Los aspectos preferentes del "precursor", cuando se emplean en el kit, son tal como se ha descrito anteriormente para el segundo aspecto. Los precursores para su uso en el kit pueden ser empleados también bajo condiciones de fabricación asépticas, para proporcionar el material no pirogénico, estéril, deseado. Los precursores pueden ser empleados también bajo condiciones no estériles, seguido de esterilización terminal usando, por ejemplo, irradiación gamma, autoclave, calor seco o tratamiento químico (por ejemplo, con óxido de etileno). Preferentemente, los precursores son empleados en forma no pirogénica, estéril. Más preferentemente, los precursores no pirogénicos, estériles, se emplean en el contenedor cerrado herméticamente, tal como se ha descrito anteriormente.

En un quinto aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en un procedimiento para el diagnóstico u obtención de imágenes *in vivo* en un sujeto con una afección de CCR5, que comprende la administración de la composición farmacéutica del tercer aspecto. La expresión "afección de CCR5" se refiere a un estado de enfermedad del cuerpo de un mamífero, especialmente un ser humano, en el que la expresión de CCR5 está regulada positivamente o negativamente. Preferentemente, la expresión de CCR5 está regulada positivamente ya que debería proporcionar una mejor relación señal-ruido en la obtención de imágenes de diagnóstico *in vivo*. La expresión de CCR5 está regulada positivamente en la infección crónica por VIH. Las afecciones de CCR5 incluyen también diversas afecciones inflamatorias patológicas, así como afecciones neuroinflamatorias. Las afecciones inflamatorias patológicas incluyen: aterosclerosis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedad alérgica, VIH/SIDA, asma y cáncer. Las afecciones neuroinflamatorias incluyen: esclerosis múltiple (EM), enfermedad de Alzheimer (EA) y enfermedad de Parkinson (EP). Un procedimiento preferente del quinto aspecto es el diagnóstico o la obtención de imágenes *in vivo* de neuroinflamación. La mayoría de las enfermedades neurodegenerativas tienen un elemento de inflamación.

En un sexto aspecto, la presente invención proporciona el uso de la composición farmacéutica del tercer aspecto para la obtención de imágenes *in vivo* en un sujeto con una afección de CCR5 en el que a dicho sujeto se le ha administrado previamente dicha composición farmacéutica. La "afección de CCR5" y sus realizaciones preferentes son tal como se han definido para el quinto aspecto, anteriormente. La expresión "administrado previamente" se refiere a que la etapa que implica el clínico, en la que la composición con agente de obtención de imágenes es proporcionada al paciente, por ejemplo, mediante una inyección intravenosa, ha sido ya realizada.

En un séptimo aspecto, la presente invención proporciona el uso del agente de obtención de imágenes de uno cualquiera del primer aspecto para la fabricación de un producto farmacéutico para su uso en un procedimiento para el diagnóstico de una afección de CCR5. La "afección de CCR5" y sus realizaciones preferentes son tal como se ha definido para el quinto aspecto, anteriormente.

En un octavo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en un procedimiento de supervisión del efecto del tratamiento de un cuerpo humano o animal con un fármaco para combatir una afección de CCR5, comprendiendo dicho procedimiento la administración a dicho cuerpo de la composición farmacéutica del tercer aspecto, y detectar la captación del agente de obtención de imágenes de dicha composición farmacéutica. La "afección de CCR5" y sus realizaciones preferentes son tal como se han definido para el quinto aspecto, anteriormente.

En un noveno aspecto, la presente invención proporciona la composición farmacéutica de la invención para su uso en un procedimiento para el diagnóstico de una afección de CCR5. La "afección de CCR5" y sus realizaciones preferentes son tal como se han definido para el quinto aspecto, anteriormente.

La invención se ilustra en los ejemplos siguientes.

El Ejemplo 1 proporciona la síntesis de un compuesto de referencia ^{19}F no-radiactivo equivalente ("Compuesto 1"). Debido a que la versión ^{18}F difiere sólo en el isótopo de flúor, es casi idéntica químicamente.

El Ejemplo 2 proporciona la síntesis de un compuesto ^{19}F no-radiactivo equivalente, incluido en la Fórmula II de la presente invención ("Compuesto 8"). Debido a que la versión ^{18}F difiere sólo en el isótopo de flúor, es casi idéntica químicamente.

Los Ejemplos 3 y 4 proporcionan ejemplos teóricos de la síntesis de los Compuestos de referencia 1 y 8, marcados con ^{18}F . El Ejemplo 5 proporciona un ejemplo teórico de la síntesis de otro compuesto de referencia, marcado con ^{18}F .

El Ejemplo 6 proporciona datos biológicos de cribado para el Compuesto 8 del Ejemplo 2. Esto demuestra que el Compuesto 8 se une a CCR5 con alta afinidad y es selectivo para CCR5, ya que no se une a CCR1 ni a CCR2B.

El Ejemplo 7 proporciona el cribado del Compuesto 1 y el Compuesto 8 de referencia en un ensayo de permeabilidad

de membrana (ensayo PAMPA). Pe (permeabilidad) predice una alta permeabilidad SNC (barrera hematoencefálica) para el Compuesto 8 y una permeabilidad intermedia para el Compuesto 1.

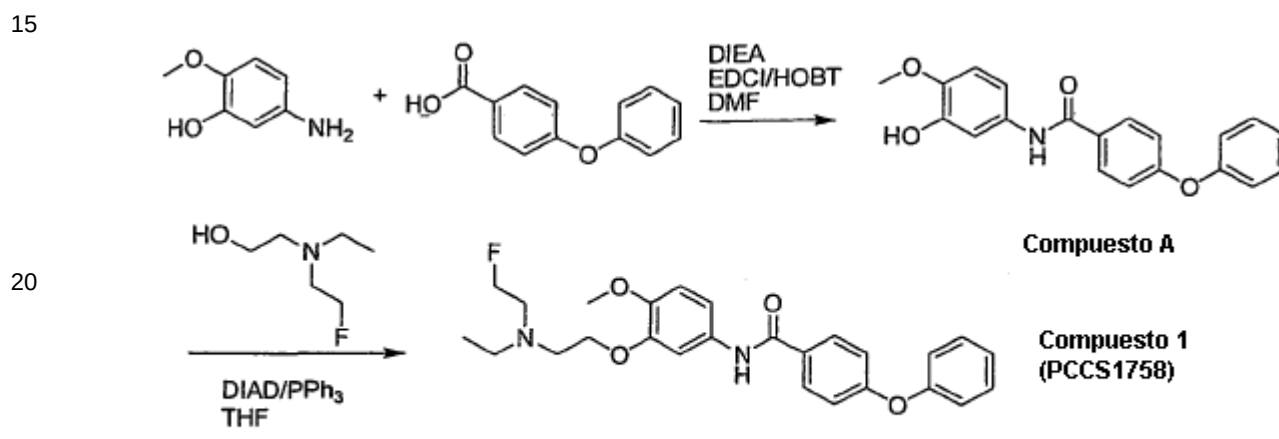
Abreviaturas

Se usan las abreviaturas siguientes:

- 5 DCM = diclorometano.
 DIAD = azodicarboxilato de diisopropilo.
 DIEA = diisopropiletilamina
 DMF = N,N'-dimetilformamida.
 EDCI = clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida.
 10 HOBT = 1-hidroxibenzotriazol.
 LCMS = cromatografía líquida de espectroscopia de masas.
 THF = tetrahidrofurano.

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis del Compuesto 1



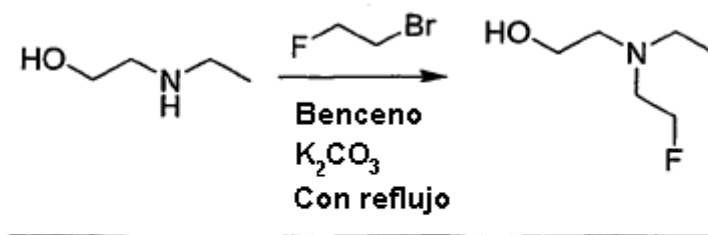
Esquema 1

Etapa (i): Síntesis del Compuesto A (Esquema 1)

Una solución de 5-amino-2-metoxifenol (2,78 g, 0,020 mol), ácido 4-fenoxibenzoico (4,28 g, 0,020 mol), DIEA (3,1 g, 4,2 ml, 0,024 mol) y HOBT (3,2 g, 0,024 moles) en DMF (20 ml) fue enfriada a 0°C, se añadió EDCI (4,6 g, 0,024 mol) en una porción bajo nitrógeno. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla fue vertida en agua enfriada con hielo (100 ml) y fue extraída con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa combinada de acetato de etilo fue lavada con agua, salmuera, fue secada (MgSO₄) y fue concentrada hasta la sequedad. El residuo sólido fue triturado con DCM/hexanos, proporcionando un sólido blanco (4,1 g, 62%). ¹H RMN y un análisis LCMS indicaron una pureza > 98%.

Etapa (ii): Síntesis de 2-(etil-2'-fluoroetilamino)etanol

El intermediario 2-(etil-2'-fluoroetilamino)etanol requerido fue preparado tal como se muestra en el Esquema 2.

**Esquema 2**

Una mezcla de 2-etilaminoetanol (6,7 g, 0,075 mol), 2-fluoroetilbromuro (12 g, 0,094 mol), carbonato de potasio anhidro (10,3 g, 0,075 mol) y benceno seco (50 ml) fue calentada bajo reflujo, con agitación, durante 48 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, el sólido fue retirado mediante filtración y fue lavado con benceno: El benceno fue retirado en vacío. Un análisis 1H RMN indicó que la pureza del producto era de ~90% y fue usado directamente en la etapa siguiente sin ninguna purificación adicional (9,0 g, 89%).

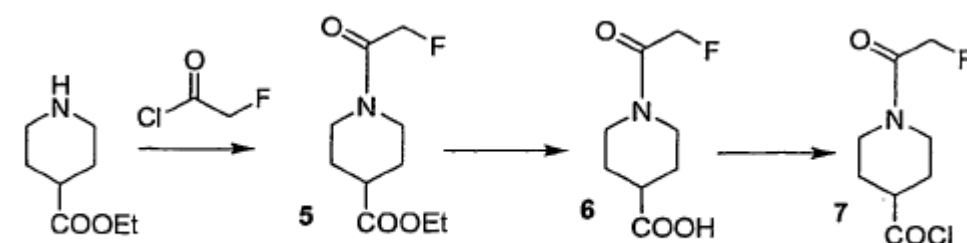
Etapa (iii): Síntesis del Compuesto 1

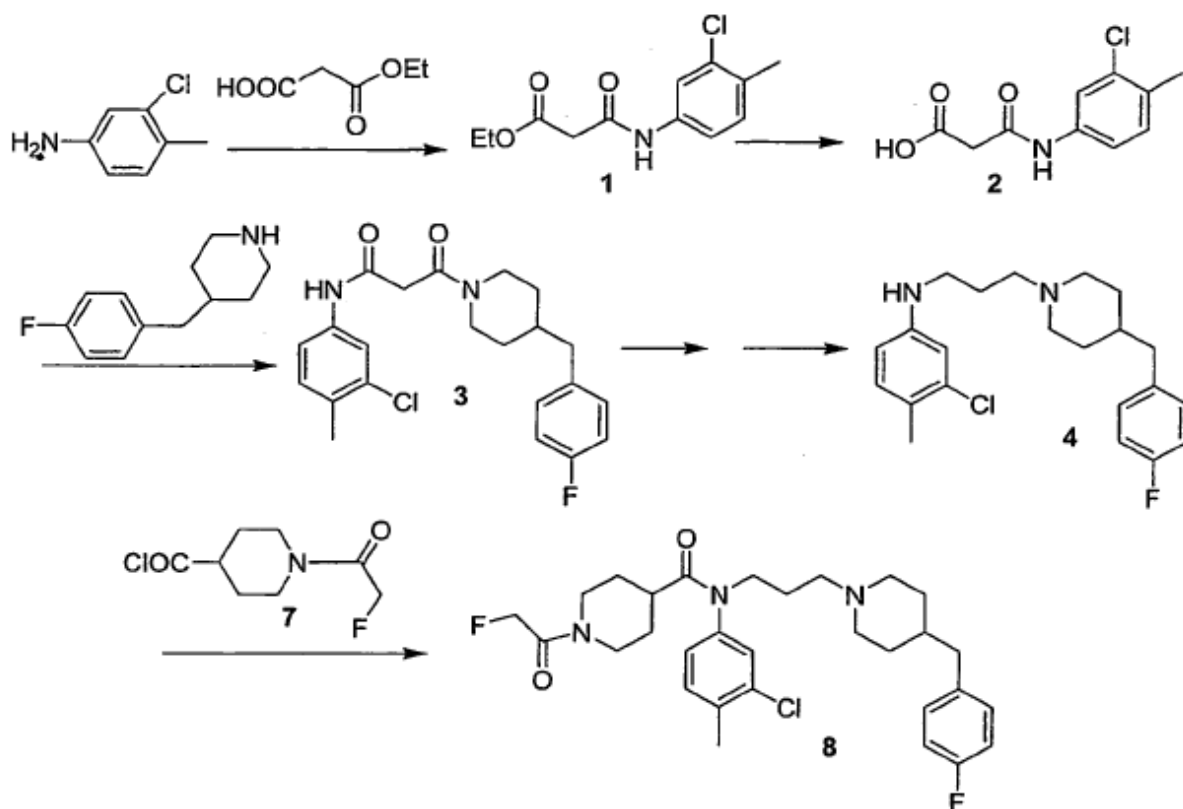
Se añadió, gota a gota, DIAD (1,36 g, 6,71 mmol) a una solución del Compuesto A de la Etapa (i) (1,50 g, 4,47 mmol), 2-(etil-2'-fluoroetilamino)etanol de la Etapa (ii) (0,91 g, 6,71 mmol) y PPh_3 (1,76 g, 6,71 mmol) en DCM anhidro (/THF (12 ml, 5:1). Se observó, inmediatamente, una reacción exotérmica. A continuación, la mezcla fue agitada a temperatura ambiente, durante la noche. La mezcla de reacción fue concentrada hasta la sequedad y el residuo sólido fue purificado mediante cromatografía en columna [sílice, DCM $\rightarrow$ DCM/MeOH (98:2)]. La segunda fracción era el producto deseado, esta fracción fue cromatografiada de nuevo bajo las mismas condiciones indicadas anteriormente. Una recrystalización a partir de DCM/hexanos proporcionó un sólido incoloro (0,81 g, 40%). Los datos analíticos indicaron una pureza > 98%. LCMS (API-ES+) m/z 453,3 (M+H+)

Datos de soporte: 1H RMN, ^{13}C RMN, HPLC, LCMS del compuesto 1.

Ejemplo 2: Síntesis del Compuesto 8

El Compuesto 8 fue preparado según los Esquemas 3 y 4:

**Esquema 3**



Esquema 4

Etapa (i): Síntesis del Compuesto 5

Se disolvieron etilpiperidina-4-carboxilato (10 g, 0,064 mol, 1,1 eq) y trietilamina (15 ml, 2 eq) en DCM (30 ml), y se enfrió en un baño de agua enfriada con hielo con agitación magnética. Se añadió, gota a gota, 2-fluoroacetilcloruro (5 g, 0,052 mol, 1,0 eq) en DCM (20 ml) (15 min) a la reacción y se agitó durante 1 h. Se añadió agua (100 ml) y el solvente fue eliminado en vacío. El residuo fue extraído en acetato de etilo (300 ml), que fue lavado con agua, 2N HCl, NaHCO₃ saturado, salmuera y fue secado sobre Mg₂SO₄. La solución orgánica fue filtrada, a continuación, fue concentrada. Después de una cromatografía en columna de gel de sílice, se obtuvieron 6,2 g (rendimiento 55%) del producto compuesto 5.

Etapa (ii): Síntesis del Compuesto 6

El Compuesto 5 (6,2 g, 0,029 mol, 1 eq) fue disuelto en metanol (100 ml) y 2N NaOH (30 ml, 2 eq,) y se agitó durante la noche. A continuación, el metanol fue eliminado en vacío. El residuo fue acidificado con 2N HCl a pH 3, fue extraído con acetato de etilo (3 X 500 ml), fue secado sobre MgSO₄, fue filtrado y concentrado para proporcionar el compuesto 6 (4,3 g, rendimiento 78%).

Etapa (iii): Síntesis del Compuesto 7

El Compuesto 6 (4,3 g, 0,023 mol) se disolvió en DCM (50 ml) y se añadió DMF (una gota), se enfrió en un baño de agua enfriada con hielo, seguido por la adición de dicloruro de oxalilo (12,3 g, 1,5 ml, 2,5 eq) y se agitó durante 2 h. El solvente fue eliminado y se añadió tolueno seco (50 ml) para retirar el posible solvente residual en un baño de agua a 50°C para proporcionar el compuesto 7 (4,2 g, rendimiento 88%).

Etapa (iv): Síntesis del Compuesto 1 del Esquema 4

Se mezclaron entre sí 3-cloro-4-metilbencenamina (15 g, 0,106 mol, 1 eq), ácido 2-(etoxicarbonil)-acético (14 g, 0,106 mol, 1 eq), diisopropiletilamina (16,5 g, 22,3 ml, 1,2 eq), HOBT (17 g, 1,2 eq) y DCM (150 ml). A continuación, se añadió clorhidrato de [1-etil-(3-dimetil-amino-propil)carbodiimida anhídrido] (EDCI, 24,5 g, 1,2 eq), y la mezcla resultante fue agitada durante la noche, bajo N₂. Analizada, la mezcla de reacción fue lavada con agua, NaHCO₃, 1N HCl y salmuera, fue secada sobre MgSO₄. Se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto 1 (18,5 g, rendimiento 70%).

Etapla (v): Síntesis del compuesto 2 del Esquema 4

El Compuesto 1 de la etapa (iv) anterior (18,5 g; ~0,072 mol) fue disuelto en metanol (100 ml), y fue enfriado en un baño de agua enfriada con hielo. Se añadió 2N NaOH (72 ml, 2 eq) y la mezcla fue agitada durante la noche. A continuación, el metanol solvente fue eliminado en vacío. El residuo fue acidificado con 2N HCl a pH 2 y fue extraído con acetato de etilo (500 ml), fue secado sobre MgSO_4 , fue filtrado y concentrado para proporcionar el compuesto 2 (13 g, 80%).

Etapla (vi): Síntesis del compuesto 3 del Esquema 4

El Compuesto 2 de la etapa (v) (4,9 g, ~0,021 mol), clorhidrato de 4-fluorobencilpiperidina (4,9 g, 0,021 mol), diisopropiletilamina (12 g, 2,2 eq), HOBt (3,5 g, 1,2 eq) y DMF (150 ml) se mezclaron entre sí. A continuación, se añadió [clorhidrato de 1-etil-(3-dimetil-aminopropil)carbodiimida anhidro] (EDCI, 5 g, 1,2 eq). La mezcla resultante fue agitada durante la noche, bajo N_2 . Analizada, la mezcla de reacción fue diluida con agua (800 ml), fue extraída con acetato de etilo (500 ml), fue lavada con agua, NaHCO_3 saturado, 1N HCl y salmuera, fue secada sobre MgSO_4 . Se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto 3 (6,8 g, rendimiento 80%).

Etapla (vi): Síntesis del compuesto 4 del Esquema 4

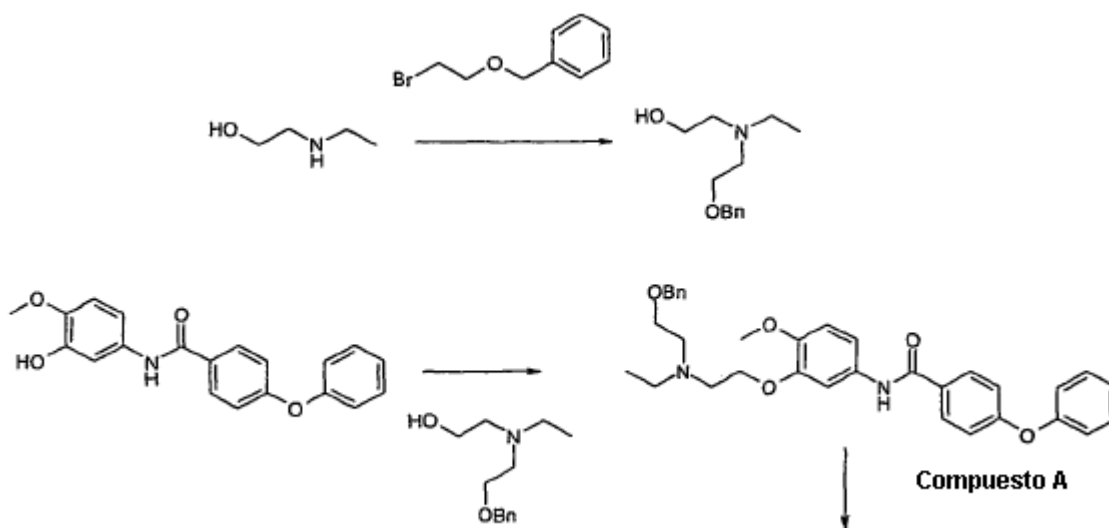
El Compuesto 3 de la etapa (v) (6,8 g, 0,017 mol) fue disuelto en THF (100 ml), y se añadió BH_3 (solución 1M en THF, 170 ml, 10 eq) y fue sometido a reflujo durante 4 días hasta que se completó la reacción (comprobado con LCMS). A continuación, el solvente THF fue retirado y se añadió metanol (100 ml) 6N HCl (100 ml) y se sometió a reflujo durante 5 días, hasta que se completó la reacción (comprobado con LCMS). A continuación, se eliminó el metanol y el residuo fue acidificado a pH 11. Se extrajo con DCM (500 ml), se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró (crudo 6,2 g). Después, una columna de gel de sílice proporciona el Compuesto 4 (3,7 g, 58%).

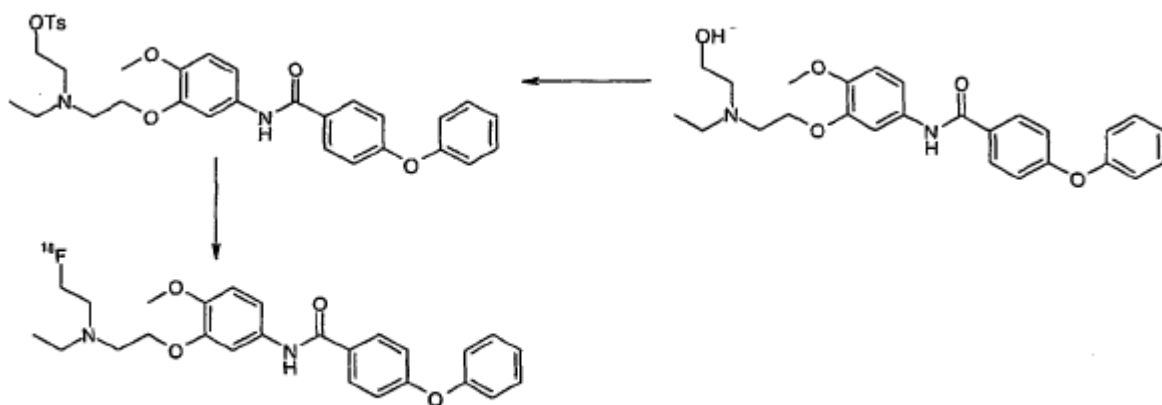
Etapla (vii): Síntesis del Compuesto 8 del Esquema 4

El Compuesto 4 de la etapa (vi) (2,5 g, 0,0067 mol) y trietilamina (7 g, 10 ml, 0,068 mol, 10 eq) fue disuelto en DCM (50 ml), fue enfriado en un baño de agua enfriada con hielo, se añadió el Compuesto 7 (4,2 g, ~3 eq) en DCM (50 ml). La mezcla resultante fue agitada durante la noche. La reacción es desordenada, pero LCMS mostró el peso molecular deseado del producto. Analizada, se añadió agua, se eliminó el solvente DCM en vacío. El residuo fue extraído con acetato de etilo (500 ml), fue lavado con agua, NaHCO_3 saturado, fue secado sobre MgSO_4 , fue filtrado y concentrado, después de una cromatografía en columna de gel de sílice proporcionó el compuesto 8 final (179 mg, 5%). LCMS (API-ES+) m/z 546,3 ($M+H^+$).

Ejemplo de referencia 3: Síntesis de Compuesto de referencia 1 marcado con ^{18}F (ejemplo teórico)

El Compuesto 1 marcado con ^{18}F fue preparado tal como se muestra en el Esquema 5:

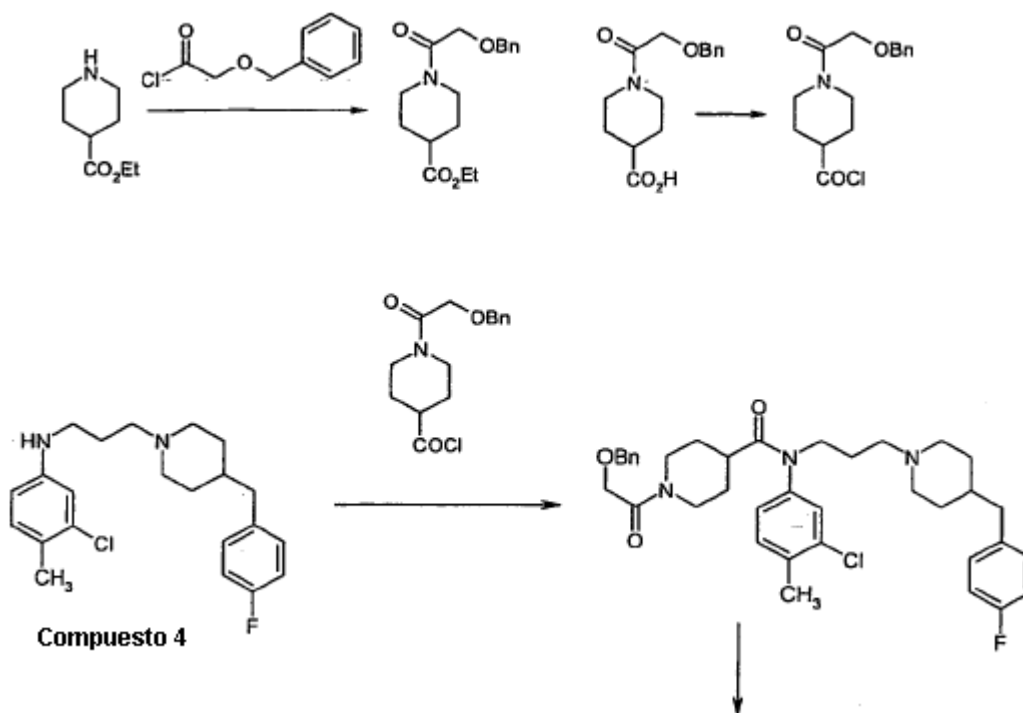


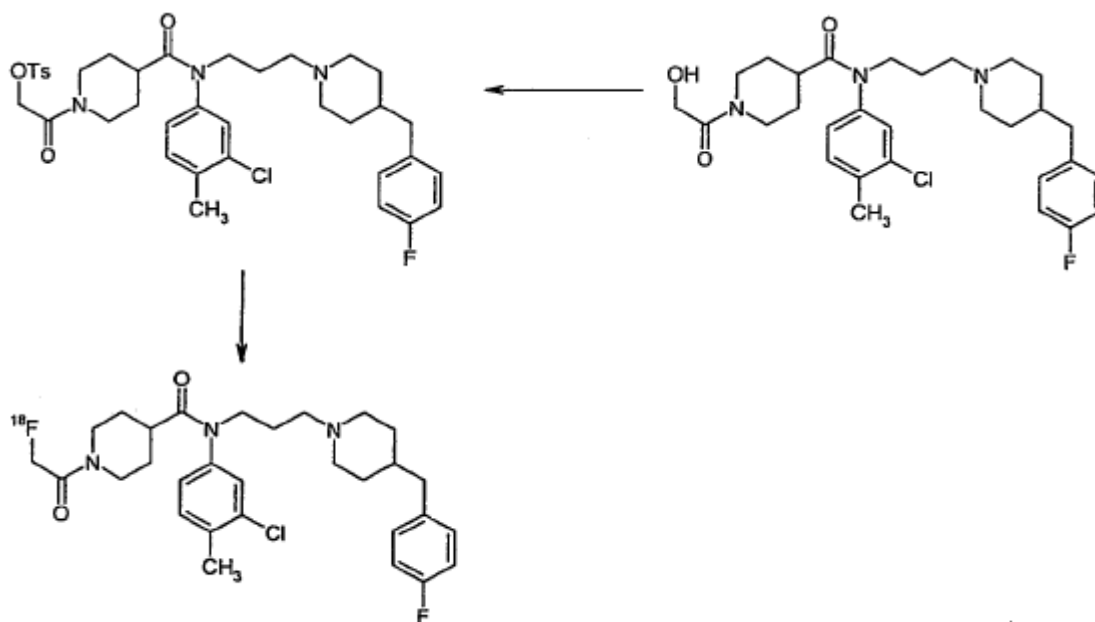


Esquema 5

Ejemplo 4: Síntesis de Compuesto 8 marcado con ^{18}F (ejemplo teórico)

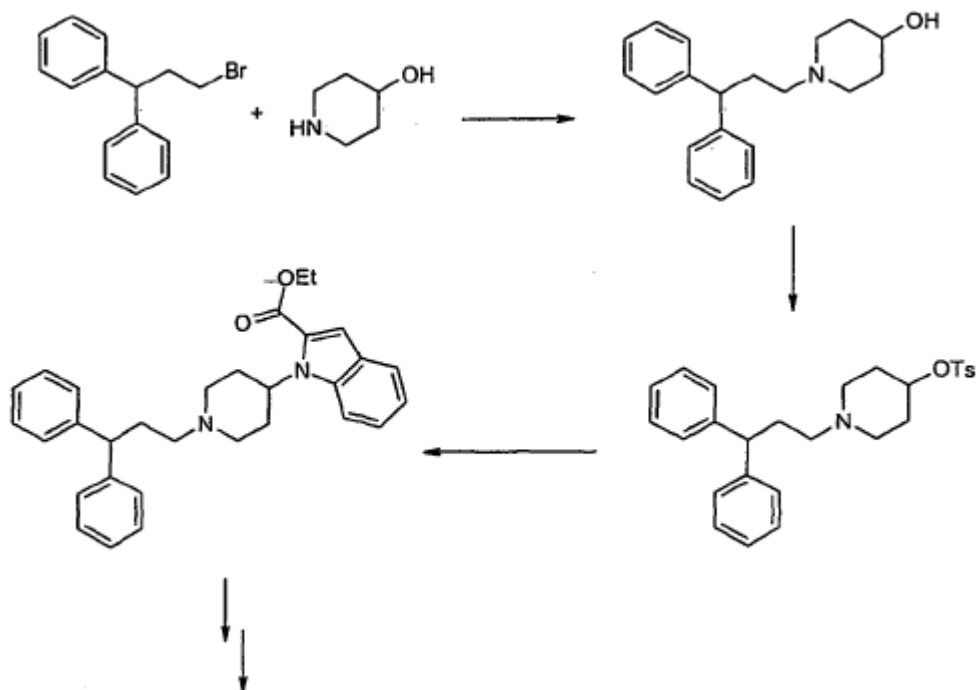
El análogo de F-18 del Compuesto 8 es sintetizado a partir del Compuesto 4 del Ejemplo 2, tal como se muestra en el Esquema 6:

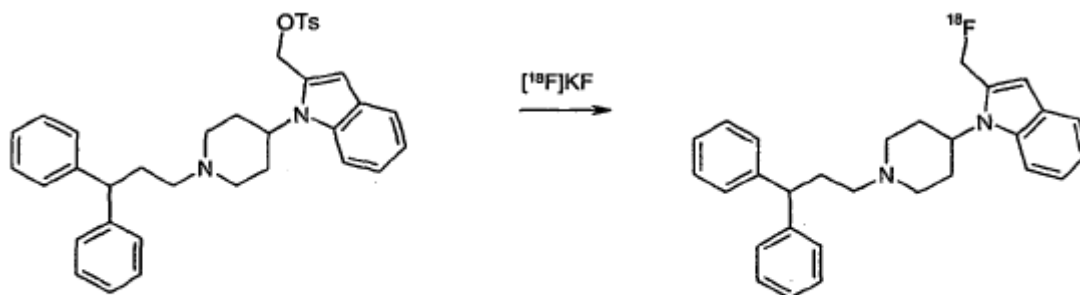


**Esquema 6**

Ejemplo de referencia 5: Síntesis de compuesto de referencia marcado con ^{18}F (ejemplo teórico)

Un compuesto de referencia, marcado con ^{18}F , es preparado, tal como se muestra en el Esquema 7:





Esquema 7

Ejemplo 6: Detección/Cribado del Compuesto 8

El Compuesto 8 del Ejemplo 2 fue cribado en ensayos de unión a CCR, tal como se indica a continuación:

El ensayo de unión a CCR1 fue realizado bajo las condiciones siguientes, según un procedimiento que fue adaptado de la literatura [Ben-Baruch et al., J. Biol. Chem, 270 (38), 22123-8 (1995); Pease et al., J. Biol. Chem., 273 (32), 19972-6 (1998)].

De esta manera, el Compuesto 8 fue incubado durante 3 horas, a 25°C, en 50 mM HEPES, pH 7,4 que contenía 1mM CaCl₂, 0,5% BSA, 5 mM MgCl₂ y 1% de DMSO con células CHO-K1 humanas recombinantes en presencia de 0,02nM [¹²⁵I]-MIP-1α. MIP-1α es la proteína 1α inflamatoria de macrófagos (ligando de CCR1 y CCR5).

Se realizó un ensayo de unión a CCR2B bajo las condiciones siguientes, según un procedimiento que fue adaptado de la literatura [Gong et al, J. Biol. Chem., 272, 11682-5 (1997); Moore et al., J. Leukoc. Biol., 62, 911-5 (1997)].

De esta manera, el Compuesto 8 fue incubado durante 1 hora a 25°C en 25 mM HEPES, pH 7,4 que contenía 1mM CaCl₂, 0,5% BSA, 5mM MgCl₂, 0,1% NaN₃ y 1% de DMSO con células CHO-K1 humanas recombinantes en presencia de 0,1 nM [¹²⁵I]-MCP-1. MCP-1 es la proteína quimioatrayente de monocitos (ligando de CCR2).

Se realizó un ensayo de unión a CCR5 bajo las condiciones siguientes, según un procedimiento que fue adaptado de la literatura [Samson et al, J. Biol. Chem., 272, 24934-41 (1997)].

De esta manera, el Compuesto 8 fue incubado durante 2 horas a 25°C en 50 mM HEPES, pH 7,4 que contenía 1mM CaCl₂, 0,5% BSA, 5mM MgCl₂ y 1% de DMSO con células CHO-K1 humanas recombinantes en presencia de 0,1 nM [¹²⁵I]-MIP-1β, donde MIP-1β es la proteína 1β inflamatoria macrófaga.

Se encontró que el Compuesto 8 era selectivo para CCR5 (K_i 0,79 nM) ya que la afinidad de unión para CCR1 era mucho más baja (32% de inhibición de unión a 10 μM Compuesto 8) y el Compuesto 8 a 10 μM de concentración no inhibió la unión de MCP-1 a CCR2B.

Ejemplo 7: Permeabilidad del Compuesto 8

La permeabilidad de los compuestos CCR fue medida en un ensayo paralelo de permeabilidad de membrana artificial (PAMPA) que proporciona una predicción de la penetración de la barrera hematoencefálica mediante difusión pasiva [Di et al, Eur. J. Med. Chem., 38 (3), 223-232 (2003)].

Los rangos de clasificación aceptados comúnmente para este ensayo PAMPA son tal como se indica a continuación:

Permeación BBB pasiva predicha alta: $Pe > 4,0 \times 10^{-06}$ cm/seg.

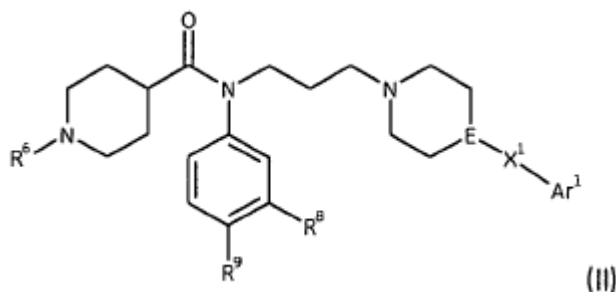
Permeación BBB pasiva predicha baja: $Pe < 2,0 \times 10^{-06}$ cm/seg.

Predicción incierta de permeación BBB: $2,0 \times 10^{-06}$ cm/seg $< Pe < 4,0 \times 10^{-06}$ cm/seg.

Los resultados fueron $Pe = 3.2E-06$ cm/seg para el Compuesto de referencia 1 y $Pe = 6,8E-06$ cm/seg para el Compuesto 8.

REIVINDICACIONES

1. Agente de obtención de imágenes que comprende un compuesto de Fórmula II:



en la que:

R^6 es [^{18}F]fluoroacilo;

R^8 - R^9 se seleccionan, independientemente, de entre H, alquilo C_{1-3} , OH o halógeno;

E es N o CH;

cuando E es N, X^1 es $-\text{CH}_2-$ y cuando E es CH, X^1 es $-\text{CH}_2-$ o $-\text{O}-$;

Ar^1 es un anillo fenilo sustituido con entre 0 a 3 grupos R^7 ;

cada R^7 es seleccionado, independientemente, de entre alquilo C_{1-3} , OH, halógeno, NO_2 , NH_2 , CO_2H , alcoxi C_{1-6} , amino C_{1-6} , amido C_{1-6} , $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{X}^2$ o $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_x\text{X}^2$ en las que x es un número entero de valor 0 a 4, y X^2 es H o CH_3 .

en la que dicho compuesto tiene afinidad por el receptor de quimiocina 5 (CCR5) y un peso molecular de 3.000 Daltons o menor.

2. Procedimiento para la preparación del agente de obtención de imágenes de la reivindicación 1, que comprende la reacción de:

(i) un precursor no radiactivo, y

(ii) una fuente adecuada de ^{18}F ,

en el que dicho precursor es un derivado del compuesto sintético de la reivindicación 1, y dicho derivado comprende un sustituyente Y^1 que es capaz de reaccionar con dicha fuente adecuada de ^{18}F para proporcionar el agente de obtención de imágenes de la reivindicación 1.

3. Composición farmacéutica que comprende el agente de obtención de imágenes de la reivindicación 1, junto con un portador biocompatible, en una forma adecuada para la administración a un mamífero.

4. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, para su uso en un procedimiento para el diagnóstico u obtención de imágenes *in vivo* en un sujeto con una afección de CCR5, en el que dicho procedimiento comprende la administración de dicha composición farmacéutica.

5. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, para su uso en un procedimiento de supervisión del efecto de un tratamiento de un cuerpo humano o animal con un fármaco para combatir una afección de CCR5, en el que dicho procedimiento comprende administrar a dicho cuerpo la composición farmacéutica de la reivindicación 3 y detectar la captación del agente de obtención de imágenes de dicha composición farmacéutica.

6. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, para su uso en un procedimiento para el diagnóstico de una afección de CCR5.