

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 400 713**

51 Int. Cl.:

C07D 213/53 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.09.2004 E 04765586 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2012 EP 1670762**

54 Título: **Piridil-acetilenos para uso como radio-rastreadores y agentes de formación de imágenes**

30 Prioridad:

26.09.2003 GB 0322612

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

11.04.2013

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
LICHTSTRASSE 35
4056 BASEL, CH**

72 Inventor/es:

**GASPARINI, FABRIZIO;
AUBERSON, YVES;
KESSLER, LEA y
AMETAMEY, SIMON, MENSAH**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 400 713 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

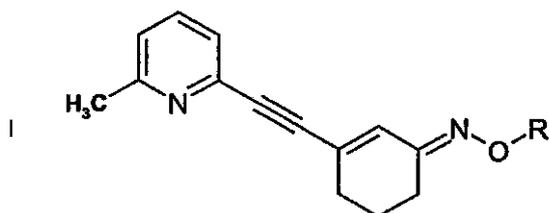
Piridil-acetilenos para uso como radio-rastreadores y agentes de formación de imágenes

La presente invención se refiere a novedosos derivados de piridil-acetileno, a su preparación, a su uso como radio-rastreadores/marcadores, y a composiciones que los contienen.

- 5 La WO 01/16121 describe compuestos heterocíclicos útiles como moduladores del receptor metabotrópico de glutamato y divulga compuestos con afinidad selectiva para el receptor mGlu5. Gasparini et al. (Bioorg. Med. Chem. Lett., 2002, páginas 407-409) describen [³H]-M-MPEP (2-metil-6-((3-metoxifenil)etnil)-piridina), un radioligando selectivo de subtipo y para mGluR5 y sus características farmacológicas in vitro.

De una manera más particular, la invención proporciona un compuesto de la Fórmula I:

10



en donde:

- 15 R es ¹¹CH₃, (³H)₃, (CH₂)_n¹²³I, (CH₂)_n⁷⁶Br, ó (CH₂)_n¹⁸F, en donde n es 1, 2, 3, ó 4,

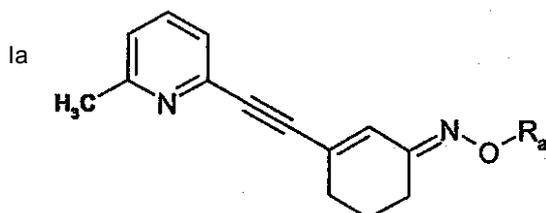
en forma de base libre o de sal de adición de ácido.

En el caso del posible estereoisomerismo, por ejemplo un isomerismo cis/trans de dobles enlaces, los compuestos pueden existir como los estereoisómeros puros o como mezclas de los mismos.

- 20 En un aspecto adicional, la invención proporciona un proceso para la producción de los compuestos de la Fórmula I y sus sales, el cual comprende los pasos de:

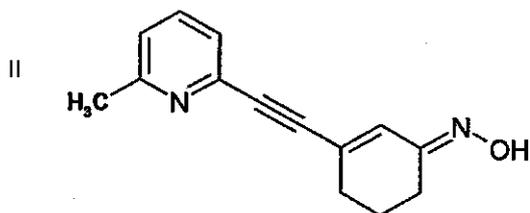
a) para la producción de un compuesto de la Fórmula Ia:

25



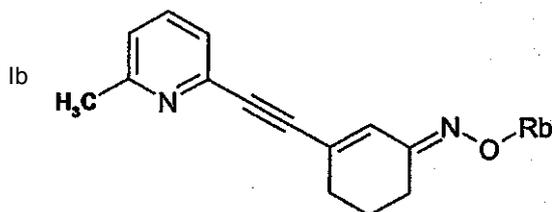
en donde R_a es respectivamente ¹¹CH₃ ó (³H)₃C, hacer reaccionar el compuesto de la Fórmula II:

30

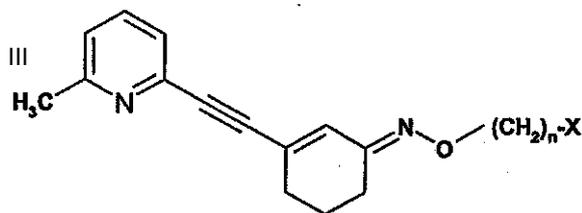


con, respectivamente, ¹¹CH₃l ó C(³H)₃l, en la presencia de una base, o

b) para la producción de un compuesto de la Fórmula Ib:



en donde Rb es respectivamente $(\text{CH}_2)_n^{18}\text{F}$, $(\text{CH}_2)_n^{123}\text{I}$, ó $(\text{CH}_2)_n^{76}\text{Br}$, hacer reaccionar un compuesto de la Fórmula III:



en donde n es como se define anteriormente, y X es OTs u OMs, con, respectivamente, $^{18}\text{F}^\ominus$, $^{123}\text{I}^\ominus$, ó $^{76}\text{Br}^\ominus$, o hacer reaccionar el compuesto de la Fórmula II con un compuesto de la Fórmula IV:

15

X-Rb IV

en donde X y Rb son como se definen anteriormente,

y recuperar el compuesto resultante de la Fórmula I en forma de base libre o en forma de una sal de adición de ácido.

20 Las reacciones se pueden efectuar de acuerdo con los métodos conocidos, por ejemplo como se describe en los Ejemplos.

El procesamiento de las mezclas de reacción y la purificación de los compuestos así obtenidos, se pueden llevar a cabo de acuerdo con los procedimientos conocidos.

Las sales de adición de ácido se pueden producir a partir de las bases libres de una manera conocida, y *viceversa*.

25 Los materiales de partida de las Fórmulas II, III, y IV, son conocidos o se pueden obtener de una manera análoga a los procedimientos conocidos, por ejemplo como se describe en los Ejemplos.

Los compuestos de la Fórmula I, en forma de base libre o de sal de adición de ácido, referidos posteriormente en la presente como los agentes de la invención, exhiben valiosas propiedades como agentes marcadores histopatológicos, agentes de formación de imágenes, y/o biomarcadores, referidos posteriormente en la presente como "marcadores", para el marcado selectivo del receptor de glutamato metabotrópico subtipo 5 (receptor de mGlu5).

30 De una manera más particular, los agentes de la invención son útiles como marcadores para marcar los receptores de mGlu5 centrales y periféricos *in vitro* ó *in vivo* (ver los Ejemplos 5 a 7).

35 Los agentes de la invención, por consiguiente, son útiles, por ejemplo, para determinar los niveles de ocupación del receptor de un fármaco que actúe en el receptor de mGlu5, o para propósitos de diagnóstico para enfermedades resultantes de un desequilibrio o disfunción de los receptores de mGlu5, y para monitorear la efectividad de las farmacoterapias de tales enfermedades.

De conformidad con lo anterior, la presente invención proporciona un agente de la invención para utilizarse como un marcador para la formación de neuroimágenes.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición para marcar las estructuras cerebrales y del sistema nervioso periférico que involucren a los receptores de mGlu5 *in vivo* e *in vitro*, la cual comprende un

agente de la invención.

En todavía un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para marcar las estructuras cerebrales y del sistema nervioso periférico que involucren a los receptores de mGlu5 *in vitro* ó *in vivo*, el cual comprende poner en contacto el tejido cerebral con un agente de la invención.

- 5 El método de la invención puede comprender un paso adicional con el objetivo de determinar si el agente de la invención marcó la estructura objetiva. Este paso adicional se puede efectuar observando la estructura objetiva mediante la utilización de tomografía de emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada con emisión de un solo protón (SPECT), o cualquier dispositivo que permita la detección de radiaciones radioactivas.

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención.

10 **Ejemplo 1: O-[¹¹C-metil]-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona.**

La O-[¹¹C-metil]-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona se sintetiza mediante la reacción de [¹¹C]-Mel con la sal sódica de la oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona (1 miligramo) en N,N-dimetil-formamida seca (400 microlitros). Se introduce [¹¹C]-Mel por medio de una corriente lenta de helio, y cuando se termina la adición, la mezcla de reacción se calienta a 120°C durante 10 minutos. La purificación del producto se lleva a cabo mediante HPLC de fase inversa utilizando una columna C-18 μ -Bondapak (7.8 x 300 milímetros), y una fase móvil consistente en CH₃CN/H₃PO₄ al 0.1 por ciento (70/30), a una velocidad de flujo de 5 mililitros/minuto. El tiempo de retención del producto deseado es de entre 6 y 7 minutos. La O-[¹¹C-metil]-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona se formula en una solución que contiene polisorbato (2 por ciento), etanol (10 por ciento), y suero (0.9 por ciento). LogD = 2.5 (determinado empleando el método clásico de matraz en agitación).

20 Los materiales de partida se preparan como se describe en seguida:

a) 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona.

Una solución de 2-etinil-6-metil-piridina (702 miligramos, 6 milimoles), 3-bromo-ciclohex-2-enona (1.26 gramos, 7.2 milimoles), dicloruro de bis-(trifenil-fosfina)-paladio (168 miligramos, 0.24 milimoles), yoduro de cobre(I) (93 miligramos, 0.48 milimoles), trietil-amina (4.8 mililitros, 34.4 milimoles) en 12 mililitros de N,N-dimetil-formamida, se calienta a 55°C durante 1 hora. Después de ese tiempo, la solución se diluye con acetato de etilo (500 mililitros), y se lava con NaHCO₃ acuoso saturado (150 mililitros, una vez). La fase de agua se extrae con acetato de etilo (150 mililitros, una vez), y las fases orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄, se filtran, y se concentran al vacío. El residuo (1.88 gramos) se purifica sobre cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente de hexano/acetato de etilo, 3:1 por volumen/volumen), y las fracciones que contienen al compuesto deseado se recolectan y se concentran al vacío para dar 1.05 gramos (rendimiento = 82 por ciento) del compuesto del título como un aceite amarillo claro.

b) Oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona.

Una solución de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona (422 miligramos, 2 milimoles), y clorhidrato de hidroxilamina (278 miligramos, 4 milimoles) en piridina (20 mililitros) se agita durante 17 horas a temperatura ambiente. Después de ese tiempo, el solvente se evapora al vacío. El residuo se disuelve en acetato de etilo (300 mililitros), y se lava con NaHCO₃ saturado (50 mililitros, 1 vez). La fase de agua se extrae con acetato de etilo (50 mililitros, una vez). Las fases orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄, se filtran, y se concentran al vacío. El residuo (0.45 gramos) se purifica sobre cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente de hexano/acetato de etilo, 2:1 por volumen/volumen), y las fracciones que contienen al compuesto deseado se recolectan y se concentran al vacío para dar 0.192 gramos (rendimiento = 42 por ciento) del compuesto del título como cristales de color amarillo claro, p.f. 166-168°C).

Ejemplo 2: O-[tri(³H)-metil]-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona.

El compuesto del título se puede preparar mediante la reacción de la oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona con [³H]-Mel (0.5 equivalentes) en la presencia de K₂CO₃ en N,N-dimetil-formamida a 100°C durante 180 minutos, seguida por una purificación mediante cromatografía de fase inversa.

45 **Ejemplo 3: O-(2-[¹⁸F-fluoro]-etil)-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona.**

La sal sódica de la oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona (2 miligramos) se hace reaccionar en N,N-dimetil-formamida seca (400 microlitros) con tosilato de [¹⁸F]-2-fluoro-etilo (obtenido a partir de ditosilato de etileno y complejo de [¹⁸F]-KF-Kryptofix) a 100°C durante 10 minutos. La mezcla de reacción se purifica a través de un cartucho tC-18 Sep-Pak, y las fracciones que contienen al producto deseado se purifican adicionalmente mediante una HPLC de fase inversa de semi-preparación, utilizando una columna C18 Bondclone (300 x 7.8 milímetros), y una

fase móvil consistente en CH₃CN/H₃PO₄ 0.01M (70/30), a una velocidad de flujo de 4 mililitros/minuto. La fracción que contiene al producto (tiempo de retención de entre 12 y 13 minutos) se pasa a través de un cartucho tC-18 Sep-Pak, y se eluye con 1 mililitro de etanol. Esta solución etanólica se regula en el pH con un regulador de fosfato 0.15M, para dar, después de la filtración estéril, una solución isotónica e inyectable.

5 Ejemplo 4: O-[¹⁸F-fluoro]-metil-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona.

La sal sódica de la oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona (2 miligramos) se hace reaccionar en N,N-dimetil-formamida seca (400 microlitros) con [¹⁸F]CH₂OTf a 100°C durante 30 minutos. Después de una purificación inicial pasando la mezcla de reacción a través de un cartucho tC-18 Sep-Pak, finalmente se purifica la O-[¹⁸F-fluoro]-metil-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona mediante una HPLC de fase inversa de semi-preparación, utilizando una columna C18 Bondclone (300 x 7.8 milímetros), y una fase móvil consistente en CH₃CN/H₃PO₄ 0.01M (70/30), a una velocidad de flujo de 4 mililitros/minuto. El producto se formula en analogía a la O-(2-[¹⁸F-fluoro]-etil)-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona (Ejemplo 3).

15 Ejemplo 5: Determinación de K_i/IC₅₀ (ensayo de enlace).

Se determina *in vitro* la afinidad para el receptor de mGlu5 utilizando una técnica de desplazamiento de radioligando, como es descrita por Gasparini y colaboradores, Biorg. Med. Chem. Lett. 2002, 12, 407-409. La O-metil-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona muestra una IC₅₀ de 8 nM (coeficiente de Hill de 1.08; intervalos de confianza del 95 por ciento: 6.0-10.0 nM) para el desplazamiento de [³H]-2-metil-6-((3-metoxi-fenil)-etil)-piridina a partir de la membrana de células L-tk que expresan establemente al receptor de mGlu5 humano (Daggett y colaboradores, Neuropharm. 1995, 34:871-886). Empleando la ecuación de Cheng-Prusoff, se calcula una K_i de 4 nM (concentración de radioligando utilizada para el ensayo: 2 nM).

20 Ejemplo 6: Distribución de estructura en órganos y cerebro.

Se utilizan dos grupos de ratas Sprague-Dawley adultas machos pesando de 250 a 300 gramos para los estudios de biodistribución. El primer grupo (n = 3) sirve como el grupo de control, y el segundo grupo (n = 3) sirve como el grupo de bloqueo. Cada animal recibe de 250 a 300 picomoles (de 0.6 a 40 MBq) de la O-[¹¹C-metil]-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona por la vena lateral de la cola. El grupo de bloqueo se co-inyecta con 2-metil-6-((3-metoxi-fenil)-etil)-piridina (1 miligramo/kilogramo), mientras que el grupo de control (n = 3) recibe un volumen correspondiente de NaCl al 0.9 por ciento. Los animales se sacrifican 30 minutos después de la inyección. Las regiones de órganos o del cerebro, tales como el hipocampo, el estriato, la corteza, y el cerebelo, se remueven y se miden en un contador-gamma. La distribución del tejido se expresa como un porcentaje de la dosis inyectada por gramo de tejido húmedo (% ID/g órgano).

25 Ejemplo 7: Resultados del estudio de distribución en cerebro con O-[¹¹C-metil]-oxima de 3-(6-metil-piridin-2-iletinil)-ciclohex-2-enona.

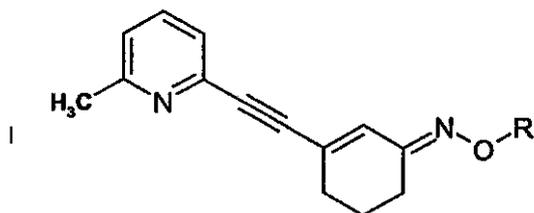
La siguiente tabla exhibe el porcentaje de la dosis inyectada normalizada por gramo de tejido. K1, K2, K3 son los valores individuales para los animales de control. B1, B2, B3 son los valores individuales para los animales co-inyectados con 2-metil-6-((3-metoxi-fenil)-etil)-piridina.

Órgano	K1	K2	K3	B1	B2	B3
Hipocampo	0.16154	0.25440	0.21264	0.05184	0.06195	0.05972
Estriato	0.22564	0.30685	0.28164	0.06495	0.07158	0.06487
Corteza	0.14849	0.18316	0.16909	0.04964	0.05582	0.05431
Cerebelo	0.03322	0.03925	0.03699	0.04052	0.03608	0.03421
Cerebro medio	0.07703	0.10559	0.09091	0.03876	0.04700	0.04422
Cerebro en reposo	0.05519	0.06520	0.06070	0.03832	0.04762	0.04383
Cerebro completo	0.11123	0.13659	0.12999	0.04580	0.05118	0.04951

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula I:

5



en donde:

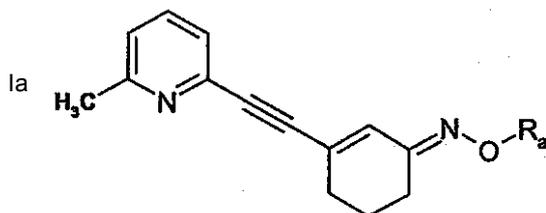
R es $^{11}\text{CH}_3$, $\text{C}(^3\text{H})_3\text{C}_n$, $^{123}\text{I}(\text{CH}_2)_n$, ^{123}I , $(\text{CH}_2)_n$, ^{76}Br , ó $(\text{CH}_2)_n$, ^{18}F , en donde n es 1, 2, 3, ó 4,

en forma de base libre o de sal de adición de ácido.

2. Un proceso para la producción de un compuesto de la Fórmula I como se define en la reivindicación 1, o una sal del mismo, el cual comprende los pasos de:

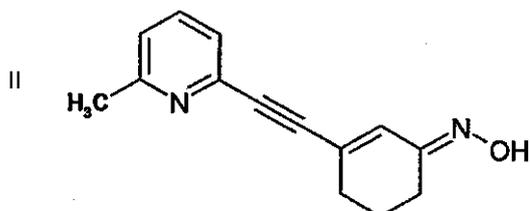
a) para la producción de un compuesto de la Fórmula Ia:

15



en donde Ra es respectivamente $^{11}\text{CH}_3$ ó $(^3\text{H})_3\text{C}$, hacer reaccionar el compuesto de la Fórmula II:

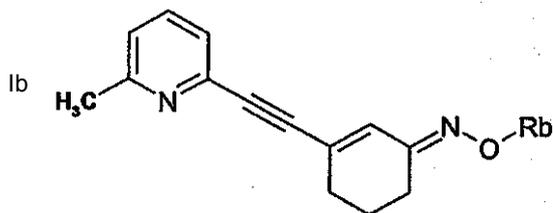
20



con, respectivamente, $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ ó $\text{C}(^3\text{H})_3\text{I}$, en la presencia de una base, o

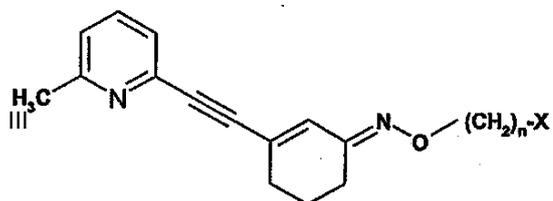
b) para la producción de un compuesto de la Fórmula Ib:

25



en donde Rb es respectivamente $(\text{CH}_2)_n$, ^{18}F , $(\text{CH}_2)_n$, ^{123}I , ó $(\text{CH}_2)_n$, ^{76}Br , hacer reaccionar un compuesto de la Fórmula III:

30



en donde n es como se define en la reivindicación 1, y X es OTs u OMs, con, respectivamente, ^{18}F , ^{123}I , ó ^{76}Br , o hacer reaccionar el compuesto de la Fórmula II con un compuesto de la Fórmula IV:



en donde X y Rb son como se definen anteriormente,

- 5 y recuperar el compuesto resultante de la Fórmula I en forma de base libre o en forma de una sal de adición de ácido.
3. Un compuesto de la Fórmula I como se define en la reivindicación 1, en forma de base libre o de sal de adición de ácido, para utilizarse como un marcador para la formación de neuroimágenes.
- 10 4. Una composición para marcar estructuras cerebrales y del sistema nervioso periférico que involucren a los receptores de mGlu5 *in vivo* e *in vitro*, la cual comprende un compuesto de la Fórmula I como se define en la reivindicación 1, en forma de base libre o de sal de adición de ácido.