

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 401 221**

(51) Int. Cl.:

C07D 405/10 (2006.01)
A61K 51/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.10.2009 E 09737459 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.01.2013 EP 2342197**

(54) Título: **Inhibidores radiomarcados del transportador de glicina 1**

(30) Prioridad:

04.11.2008 EP 08168229

(73) Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.04.2013

(72) Inventor/es:

**ALBERATI, DANIELA;
BORRONI, EDILIO MAURIZIO;
HARTUNG, THOMAS;
NORCROSS, ROGER y
PINARD, EMMANUEL**

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

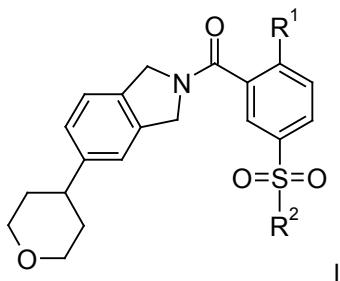
ES 2 401 221 T3

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 radiomarcados del transportador de glicina 1

- 5 La presente invención se refiere a nuevos inhibidores radiomarcados de la fórmula general I del transportador de glicina 1 (GlyT1), útiles para el marcado y el diagnóstico por la imagen de la funcionalidad del transportador de glicina 1.



en la que

- 10 R^1 es isopropoxi o 2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy; y
 R^2 es un grupo CH_3 radiomarcado, en el que el radionúclido es el H^3 o el C^{11} .

Se ha encontrado que los compuestos radiomarcados de la fórmula I pueden utilizarse como radiotrazadores PET (Positron Emission Tomography) para la funcionalidad del transportador de glicina 1 el marcado y diagnóstico molecular por la imagen de la funcionalidad del transportador de glicina 1. El análisis por la imagen se basa en la interacción selectiva y específica de una sonda molecular (p.ej. un radiotrazador) con una diana biológica (por ejemplo un receptor, una enzima, un canal iónico o cualquier otro componente celular que sea capaz de unirse y retener la sonda molecular), que se visualiza a través de la PET, resonancia magnética nuclear, infrarrojo cercano u otros métodos. La PET, una modalidad del análisis nuclear por la imagen con finalidades médicas, es ideal para generar imágenes tridimensionales, que proporcionan una información importante sobre la distribución de una diana biológica en un órgano determinado, o sobre la actividad metabólica de tal órgano o célula o sobre la capacidad de un fármaco para entrar en tal órgano, para fijarse sobre una diana biológica y/o para modificar procesos biológicos. Dado que la PET es una técnica no invasiva de generación de imágenes, podrá utilizarse para investigar la patofisiología de una enfermedad y la acción de un fármaco sobre una diana molecular determinada o sobre procesos celulares que tienen lugar en humanos y en animales. La capacidad de un radiotrazador PET específico de una diana molecular determinada puede facilitar el desarrollo farmacológico y la comprensión del mecanismo de acción de un fármaco. Además, un radiotrazador PET puede facilitar el diagnóstico de una enfermedad demostrando los cambios patofisiológicos que tienen lugar como consecuencia de una enfermedad.

30 Los inhibidores de transportador de glicina son apropiados para el tratamiento de trastornos neurológicos y neuropsiquiátricos. La mayoría de estados patológicos implicados son las psicosis, la esquizofrenia (Armer, R.E. y Miller, D.J., Exp. Opin. Ther. Patents 11 (4), 563-572, 2001), los trastornos psicóticos del humor, por ejemplo el trastorno depresivo mayor severo, los trastornos de humor asociados con trastornos psicóticos, por ejemplo la manía aguda o la depresión, asociados con trastornos bipolares y trastornos de humor asociados con la esquizofrenia (Pralong, E.T. y col., Prog. Neurobiol. 67, 173-202, 2002), los trastornos autistas (Carlsson, M.L., J. Neural Trans. 105, 525-535, 1998), los trastornos cognitivos, por ejemplo demencias, incluida la demencia debida a la edad y la demencia senil de tipo Alzheimer, los trastornos de memoria en un mamífero, incluidos los humanos, los trastornos de déficit de atención y el dolor (Armer, R.E. y Miller, D.J., Exp. Opin. Ther. Patents 11 (4), 563-572, 2001).

35 El cerebro humano es un órgano complejo, formado por millones de neuronas intercomunicadas. La comprensión de las anomalías relativas a enfermedades es la clave para el futuro desarrollo de diagnósticos efectivos y de nuevas terapias. El estudio de las anomalías bioquímicas en los humanos se está convirtiendo rápidamente en un componente esencial e integral de procesos de descubrimiento y desarrollo de fármacos. En el estilo tradicional, el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos se ha realizado con un gran énfasis en las técnicas "in vitro" para elegir los compuestos más prometedores, que posteriormente se ensayan en animales vivos antes de iniciar la administración a humanos. Dado que los sistemas "in vitro" solo reflejan una parte de la complejidad de los sistemas vivos y los modelos animales "in vivo" de enfermedades humanas a menudo son solo una aproximación a la patología humana, existe una conciencia creciente de que una comprensión profunda de la interacción entre fármaco y receptor, en este caso el hombre vivo, en un estadio inicial de este proceso sería la fuerza motora principal en la posterior intensificación del descubrimiento y desarrollo eficiente y oportuno de nuevos agentes terapéuticos. Durante los últimos años se ha producido un uso creciente del análisis por la imagen para fines médicos humanos, para evaluar patologías, procesos patológicos y la acción de los fármacos. Estas modalidades de análisis por la imagen incluyen la PET, MRI, CT, ultrasonidos, EEG, SPECT y otros (British Medical Bulletin 65, 169-177, 2003). Por lo tanto, el uso de modalidades no invasivas de análisis por la imagen, p.ej. la PET, es una herramienta de valor incalculable para el futuro desarrollo de fármacos. Las técnicas nucleares no invasivas de

generación de imágenes pueden utilizarse para obtener información básica y de diagnóstico acerca de la fisiología y de la bioquímica de una gran variedad de sujetos vivos. Estas técnicas se basan en una instrumentación sofisticada para la generación de las imágenes, que es capaz de detectar la radiación emitida por los radiotrazadores administrados a tales sujetos vivos. La información obtenida puede reconstruirse para conseguir imágenes planas y tomográficas, que revelan la distribución del radiotrazador en función del tiempo. El uso de radiotrazadores puede generar imágenes que contienen información de la estructura, funcionamiento y, lo que es más importante, sobre la fisiología y la bioquímica del sujeto. Mucha información de este tipo no puede obtenerse por otros medios. Los radiotrazadores empleados en estos estudios se han diseñado para que tengan comportamientos definidos "in vivo", que permitan la determinación de información específica relativa a la fisiología o la bioquímica del sujeto.

Actualmente, los radiotrazadores se emplean para obtener información útil relativa al funcionamiento del corazón, el flujo de sangre por el miocardio, la perfusión pulmonar, el funcionamiento del hígado, el flujo de sangre a través del cerebro, la glucosa en regiones del cerebro y el metabolismo del oxígeno (WO 2007/041025).

Además,

- la generación de imágenes PET constituye un ensayo cuantitativo no invasivo de la neuroquímica normal y anómala de un ser humano en un estadio temprano del desarrollo farmacológico para intensificar el descubrimiento efectivo y eficaz de agentes terapéuticos;
- las dosis de compuestos marcados con trazador permiten una evaluación temprana de los nuevos fármacos: estudios de bio-distribución; estudios de ocupación de receptor para optimizar el régimen de dosificación del fármaco y caracterizar las respuestas en sentido descendente de la acción del fármaco;
- la comprensión de los mecanismos patológicos en el ser humano empleando técnicas invasivas guarda una relación muy estrecha con el futuro desarrollo del diagnóstico y tratamiento de enfermedades y de nuevos agentes terapéuticos.

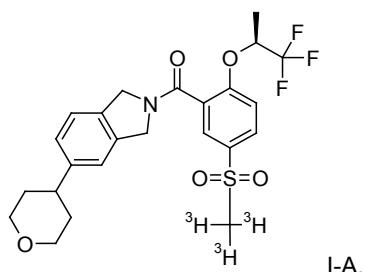
Los radionúclidos empleados habitualmente en la PET incluyen: C¹¹, N¹³, O¹⁵ o F¹⁸. En principio es posible marcar todos los fármacos para obtener análogos del compuesto original, pero solo unos pocos han resultado aplicables como agentes de generación de imágenes "in vivo" en humanos. El tiempo de vida media radiactiva del C¹¹, N¹³, O¹⁵ y F¹⁸ es de 20, 10, 2 y 110 min, respectivamente. Estos tiempos cortos de vida media confieren un gran número de ventajas a su utilización como trazadores para verificar procesos biológicos "in vivo" aplicando la PET. Se han hecho posibles los estudios repetidos sobre un mismo sujeto en un mismo día. La PET se está utilizando cada vez más como herramienta para determinar las relaciones de fármaco-dosis-enzima/ocupación de receptor en compuestos bien definidos. El uso de radiotrazadores de la PET, que se fijan específicamente sobre el receptor o la enzima dianas, puede proporcionar información sobre:

- la capacidad de un fármaco para entrar en el cerebro y fijarse sobre un sitio diana,
- el grado de ocupación del sitio diana conseguido con una dosis determinada del fármaco,
- el tiempo-curso de ocupación y
- la cinética relativa en plasma y tejidos del fármaco en cuestión.

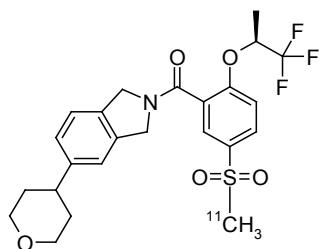
Los estudios de ocupación se realizan con radiotrazadores PET, que normalmente no son idénticos con el fármaco que es objeto de estudio (British Medical Bulletin 65, 169-177, 2003).

Es objeto de la presente invención encontrar nuevos radiotrazadores para la generación de imágenes PET "in vivo" del transportador de glicina 1. Se ha encontrado que los compuestos radiomarcados de la fórmula I obtenidos tienen un potencial para utilizarse como agentes para la generación de imágenes que visualizan al transportador de glicina 1 en los humanos. Los siguientes compuestos radiomarcados están contemplados en la presente invención:

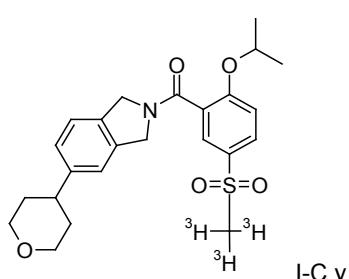
un compuesto radiomarcado de la fórmula



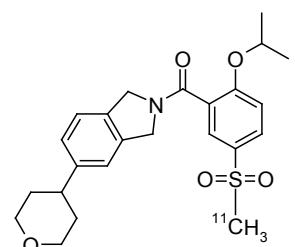
un compuesto radiomarcado de la fórmula



un compuesto radiomarcado de la fórmula



un compuesto radiomarcado de la fórmula



5

Otras formas de ejecución de la invención son los compuestos de la fórmula I para el uso como ligando de GlyT1, para el uso en estudios de fijación del GlyT1 y para el uso como radiotrazadores PET.

- 10 Los presentes compuestos pueden utilizarse además para el análisis por la imagen con fines de diagnóstico del GlyT1 en el cerebro de un mamífero.

La invención comprende un método para la formación de imágenes de diagnóstico del transportador GlyT1, que consiste en administrar a un mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I y comprende un método de detección del funcionamiento del GlyT1 en tejidos de mamífero, que consiste en administrar a un mamífero, en el que se desea tal detección, una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I.

Un objeto de la presente invención es el uso de un compuesto de la fórmula I para la fabricación de una composición destinada a la generación de imágenes de diagnóstico del GlyT1 en el cerebro de un mamífero.

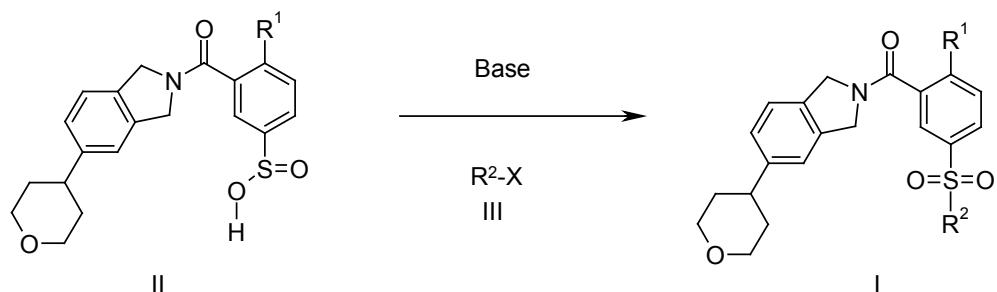
20 Los inhibidores del transportador GlyT1 son útiles para el tratamiento de enfermedades, tales como psicosis, dolor, disfunción de la memoria y del aprendizaje, esquizofrenia, demencia y otras enfermedades, en las que exista un desequilibrio en los procesos cognitivos, tales como los trastornos por déficit de atención o la enfermedad de Alzheimer. La indicación preferida es la esquizofrenia.

25 La esquizofrenia es una enfermedad neurológica progresiva y devastadora, caracterizada por síntomas positivos episódicos, por ejemplo delirios, alucinaciones, trastornos del pensamiento y psicosis y síntomas negativos persistentes, por ejemplo afecto plano, trastornos de atención y retraimiento social y desequilibrios cognitivos.

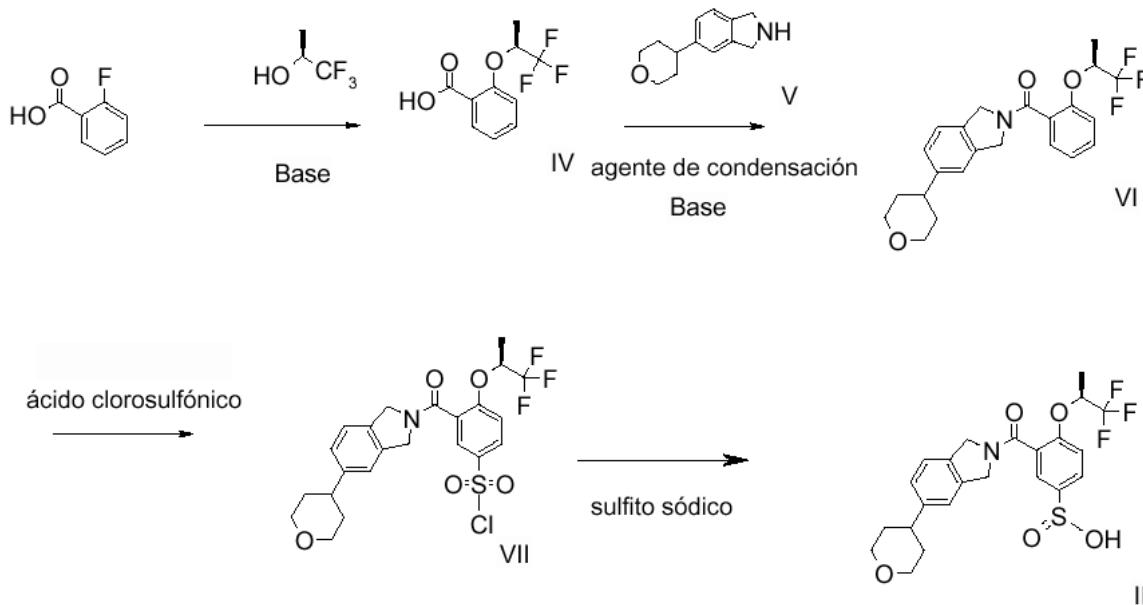
30 Los compuestos no radiomarcados ya son conocidos por la técnica anterior y se han descrito en WO 2006/082001 como inhibidores del transportador GlyT1.

En el esquema 1 se representa una vía de síntesis para obtener los compuestos de la fórmula (I) en la que R² es un grupo radiomarcado:

35

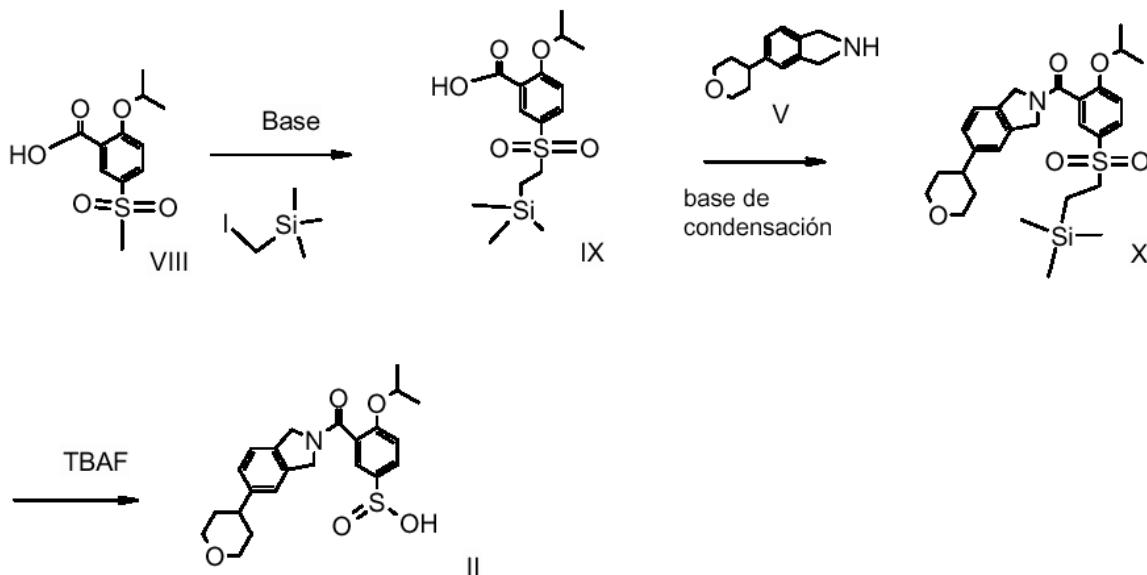
Esquema 1

- 5 Se hace reaccionar el compuesto de la fórmula II con una base, por ejemplo el carbonato de cesio y con un reactivo de la fórmula III, en la que R² es un grupo que contiene un radionúclido elegido entre H³ y C¹¹, y X es un grupo saliente, por ejemplo el yodo. El reactivo de la fórmula III, por ejemplo el yoduro de metilo[H³], es conocido y el yoduro de metilo[C¹¹] es también conocido y puede obtenerse por el método de Larsen, P., Ulin, J., Dahlstrom, K., J. Label. Compds. Radiopharm. **37**, 73–75, 1995.
- 10 En el esquema 2 se representa un método para la síntesis del compuesto de la fórmula (II), en la que R¹ es (S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy.

Esquema 2

- 15 El compuesto intermedio ácido IV puede obtenerse por reacción del ácido orto-fluor-benzoico (producto comercial) con el (S)-1,1,1-trifluoropropan-2-ol (CAS: 3539-97-7) en presencia de una base, por ejemplo el hidruro sódico, en un disolvente, por ejemplo el dioxano. La condensación del ácido IV con la indolina conocida V (WO 2006/082001) para obtener la amida VI puede realizarse en presencia de un reactivo de condensación, por ejemplo el TBTU, y una base, por ejemplo la diisopropiletilamina, en un disolvente, por ejemplo la DMF. La clorosulfonilación del VI para obtener el compuesto intermedio cloruro de sulfonilo VII puede efectuarse en presencia del ácido clorosulfónico en un disolvente, por ejemplo el dicloroetano. La reducción del VII al ácido sulfínico II puede realizarse empleando sulfito sódico como agente reductor, en un disolvente del tipo DMF y agua.
- 20 En el esquema 3 se representa un método de síntesis del compuesto de la fórmula (II), en la que R¹ es isopropoxi.

25

Esquema 3

El compuesto intermedio IX puede obtenerse por reacción del ácido VIII (WO 2005/014563) con el agente alquilante (yodometil)trimetilsilano (producto comercial) en presencia de una base, por ejemplo la diisopropilamida de litio y un aditivo de tipo TMEDA, en un disolvente, por ejemplo el THF. La condensación del ácido IX con la isoindolina conocida V (WO 2006/082001) para obtener la amida X puede realizarse en presencia de un reactivo de condensación, por ejemplo el TBTU, y una base, por ejemplo la diisopropiletilamina, en un disolvente del tipo DMF. La transformación del X en el ácido sulfínico II puede realizarse en presencia de TBAF en un disolvente del tipo THF.

10

Abreviaturas

TBTU	tetrafluorborato de O-benzotriazolil-tetrametilsouronio
DMF	dimetilformamida
TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio
THF	tetrahidrofurano
TMEDA	tetrametiletilenodiamina
MTBE	éter de metilo y tert-butilo
LDA	diisopropilamida de litio

20

Tal como se ha descrito antes, se ha encontrado que los compuestos radiomarcados de la fórmula I pueden utilizarse como ligandos PET para el marcado y generación de imágenes moleculares para el diagnóstico de la funcionalidad del transportador de glicina 1.

25

Los correspondientes compuestos no marcados [5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxi)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona y (2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil)-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] son activos "in vitro" sobre el transportador GlyT1 con un valor IC₅₀ (μM) de 0,028 y 0,014, respectivamente. El método de ensayo se describe en WO 2006/082001.

30

Estudios autorradiográficos en el cerebro de una rata

La distribución de los sitios de fijación de la [H^3][5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxi)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona y [H^3][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] se investigan en el cerebro de una rata.

35

Para estos ensayos se emplean ratas Wistar machos. Se sacrifican las ratas; sus cerebros se extraen rápidamente y se congelan en hielo seco en polvo. Se cortan secciones sagitales de diez μm de grosor en un Cryostat y se montan al descongelar por adhesión sobre portaobjetos de vidrio. En primer lugar se incuban las secciones de cerebro durante 10 min en un tampón de Ringer (NaCl 120 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 2 mM, MgCl₂ 1 mM, Tris-HCl 50 mM de pH 7,4) a 37°C y después durante 60 min en tampón de Ringer a 37°C que contiene la [H^3]5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxi)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona o la [H^3][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] en una concentración de 1 nM. Para la evaluación de la fijación no específica (NSB) del radiotrazador se incuba un grupo adicional de secciones en

40

tampón de Ringer que contiene el radiotrazador y el inhibidor de GlyT1 de referencia Org 24598 en una

concentración de 10 μM (60 en a 37°C). Al término de la incubación, se enjuagan las secciones 2 x 5 min y 1 x 15 min en tampón de Ringer enfriado con hielo (4°C) y se sumergen rápidamente, tres veces, en agua destilada a 4°C. Se secan las secciones de cerebro montadas sobre portaobjetos con una corriente de aire frío y se exponen junto con una microescala [H^3] a una placa del tipo Fuji Imaging durante 5 días. Se escanea la placa de análisis por la imagen en un escáneador de placas de alta resolución FujiFilm. Se mide la cantidad total de radiotrazador que se encuentra en las zonas del cerebro de interés (TB) mediante el programa de análisis por la imagen MCID y se expresan en fmoles de radiotrazador fijado/mg de proteína. La cantidad de la [H^3]5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona fijada específicamente sobre el transportador GlyT1 (SB) se calcula con arreglo a la fórmula: SB = TB – NSB.

Los resultados obtenidos indican que la distribución de los sitios de fijación de la [H^3]5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona y la [H^3][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona corresponden a la distribución conocida del transportador GlyT1 [Cubelos B., Gimenez C., Zafra F., Cereb Cortex 15, 448-459, 2005; Zafra F., Aragon C., Olivares L., Danbolt N.C., Gimenez C., Storm-Mathisen J., J. Neuroscience. 15, 3952-69, 1995]. Se observan densidades elevadas de sitios de fijación en el tálamo, el tronco cerebral, puente de Varolio y bulbo raquídeo y el cerebelo. Se observan densidades bajas en el estriado, el córtex y el hipocampo. La co-incubación de los radiotrazadores con concentraciones elevadas del inhibidor específico del GlyT1 Org 24598 u otros inhibidores específicos del GlyT1 impiden por completo la fijación tanto de la [H^3] 5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona como de la [H^3][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] sobre las secciones de cerebro de rata, lo cual confirma que los dos radiotrazadores se fijan sobre el transportador GlyT1.

Estudios PET "in vivo" en el babuino

1) Análisis por la imagen PET con [C^{11}][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] y [C^{11}]5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona

Los ensayos antes descritos se efectúan en babuinos machos (*Papio anubis*). Se mantienen los animales en ayunas durante 12 horas antes del estudio PET. Inicialmente se sedan los babuinos por vía intramuscular con clorhidrato de ketamina en dosis restringidas de 5-7 mg/kg para conseguir un ligero plano de anestesia y después se mantiene por infusión intravenosa continua de propofol a razón de 0,3-0,4 mg/kg/h (emulsión inyectable de DIPRIVAN®). Se mantiene el volumen circulatorio por infusión de solución salina isotónica. Se inserta un catéter en la arteria femoral para la extracción de sangre. A lo largo del estudio se hace el seguimiento continuo de los signos vitales fisiológicos, incluido el pulso, el ECG, la presión sanguínea (Spacelabs Monitor, Issaquah, WA, EE.UU.) y la saturación de oxígeno (Nellcor OxiMax® N-600™ Pulse Oximeter, Pleasanton, CA, USA). Se coloca al animal en un escáneador del tipo ECAT HRRT® brain PET (High Resolution Research Tomograph, CPS Innovations, Inc., Knoxville, TN). Se mete la cabeza del animal en una máscara termoplástica, que se sujetó a un cabezal para conseguir una fijación reproducible. Inicialmente se realiza un escaneo de transmisión de 6 min con una fuente puntual de 1 mCi de Cs-137 para la corrección de la atenuación. Se administran por vía intravenosa la [C^{11}][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] y la [C^{11}]5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona en forma de inyección de bolo durante 1 minuto. Se inician el escaneo PET y la extracción de sangre arterial en el momento de comenzar la administración del radiotrazador y se registran las imágenes PET des del minuto 0 al 90 después de la administración del radiotrazador.

Los resultados de estos estudios de análisis por la imagen demuestran que los dos radiotrazadores [C^{11}][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] y [C^{11}]5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona) se absorben rápidamente en múltiples zonas del cerebro con curvas de actividad temporal que ponen de manifiesto un pico de absorción 20-30 min después de la administración y un lento descenso durante el resto del estudio. La distribución regional de los dos radiotrazadores refleja la distribución conocida del transportador de glicina 1 (GlyT1) con una mayor acumulación en el puente de Varolio, el tronco cerebral, el cerebelo y el tálamo que en las regiones corticales (Cubelos B., Gimenez C., Zafra F., Cereb Cortex 15, 448-459, 2005).

2) Análisis por la imagen PET con compuestos farmacológicos de ensayo

Con estos ensayos se comprueba la capacidad de los inhibidores del GlyT1 no marcados para bloquear la absorción de la de [C^{11}][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] y [C^{11}]5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona en las regiones cerebrales, de las que se sabe que contienen el GlyT1. Dado que tanto la [5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona como la (2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil)-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona son inhibidores selectivos del GlyT1,

se elige uno de estos compuestos, la [5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona, para los ensayos descritos a continuación.

Cada animal recibe dos administraciones sucesivas del radiotrazador en el mismo día. La primera administración de 5 radiotrazador se aplica para determinar la absorción de línea base de radiotrazador. Después del escaneo de la línea base, el babuino recibe una administración intravenosa de la [5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona no marcada (bloqueador). La infusión del bloqueador se inicia 20 min antes de la (segunda) inyección de radiotrazador. En primer lugar, la infusión del bloqueador es de 0,2 mg/kg. Pasados 10 min, se cambia el caudal para administrar 0,5 mg/kg durante los 100 min 10 restantes del estudio. Los ensayos farmacocinéticos previos y el modelado de los datos indican que estas velocidades de infusión producen niveles constantes en plasma de la [5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona durante el intervalo de tiempo de escaneo PET.

15 Con el tratamiento previo con [5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona fría (un inhibidor selectivo del GlyT1) se bloquea por completo la absorción específica de los dos radiotrazadores, la [C^{11}][2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona] y la [C^{11}]-5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona) y conducen a una distribución homogénea de la radiactividad en todo el cerebro. Estos 20 resultados confirman la especificidad de los dos radiotrazadores con respecto al transportador GlyT1 y ponen claramente de manifiesto que su fijación sobre el transportador GlyT-1 puede reducirse con fármacos no marcados que se fijan sobre el transportador GlyT1.

25 Los compuestos de la presente invención son herramientas de diagnóstico, que pueden ser útiles para el diagnóstico de trastornos del sistema nervioso central, por ejemplo de la esquizofrenia, de desequilibrios cognitivos y de la enfermedad de Alzheimer.

La dosificación puede variar dentro de amplios límites y, obviamente, tendrá que ajustarse a los requisitos individuales de cada caso particular.

30 Los inhibidores radiomarcados se administran con preferencia por vía intravenosa.

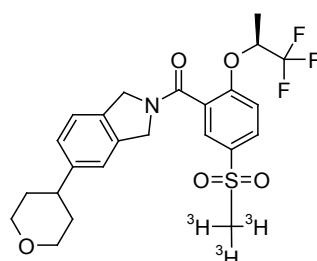
Una solución inyectable puede tener la composición siguiente:

Compuesto de la fórmula (I)	1 mg
HCl 1 N	20 μ l
ácido acético	0,5 mg
NaCl	8 mg
fenol	10 mg
NaOH 1 N, cantidad suficiente hasta	pH 5
H ₂ O, cantidad suficiente hasta	1 ml

35 Los siguientes ejemplos ilustran la invención pero con ellos no se pretende limitar el alcance de la misma.

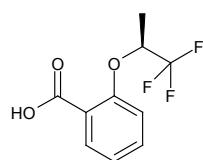
Ejemplo 1

[H^3 -metil]-[5-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona



40 a) paso 1

ácido 2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-benzoico

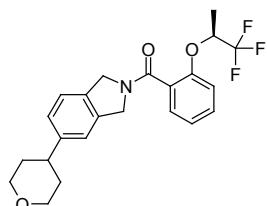


Se añaden 36,0 g (316 mmoles) de (S)-1,1,1-trifluoropropan-2-ol (CAS: 3539-97-7) a una suspensión fría (de 0 a 5°C) de 17,0 g (425 mmoles) de NaH (calidad ind., al 60 %) en 200 ml de dioxano. Se agita la suspensión a

- 5 temperatura ambiente durante 0,5 h, se enfriá (de 0 a 5°C) y se le añade una solución de 20,0 g (143 mmoles) de ácido 2-fluorbenzoico en 100 ml de dioxano. Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 0,5 h y a reflujo durante 140 h. Se vierte la mezcla sobre 800 ml de agua, se lava con 300 ml de MTBE, se acidifica a pH 2 con ácido clorhídrico y se extrae el producto con MTBE. Se evapora el disolvente con vacío y se cristaliza el residuo en etanolagua, obteniéndose 27,3 g (82 %) del compuesto epografiado en forma de sólido blanco. EM (m/e) = 234,1
- 10 [M]⁺.

b) paso 2

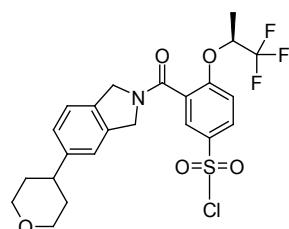
[5-(tetrahidropiran-4-il)-1,3-dihidroisoindol-2-il]-[2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metiletoxi)-fenil]-metanona



- 15 A una solución de 0,9 g (3,8 mmoles) del ácido 2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metiletoxi)-benzoico en 9 ml de DMF se le añaden a temperatura ambiente y en atmósfera de argón 1,4 g (4,2 mmoles) de TBTU, 3,3 ml (19,2 mmoles) de N-etildisopropilamina y finalmente 0,8 g (3,8 mmoles) de 5-(tetrahidropiran-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol (CAS: 905274-50-2). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Se elimina el disolvente con vacío. Se disuelve el residuo en acetato de etilo. Se lava la solución dos veces con agua y dos veces con una solución saturada de NaHCO₃, se seca con Na₂SO₄, se filtra y se concentra con vacío. Se purifica el aceite en bruto por cromatografía de columna flash a través de gel de sílice eluyendo con un gradiente formado por heptano y acetato de etilo, obteniéndose 1,5 g (93 %) del compuesto epografiado en forma de aceite amarillo. EM (m/e) = 420,2 [M+H]⁺.

20 c) paso 3

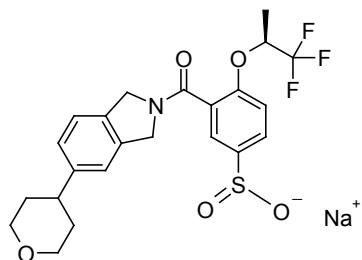
cloruro de 3-[5-(tetrahidropiran-4-il)-1,3-dihidroisoindol-2-carbonil]-4-((S)-2,2,2-trifluor-1-metiletoxi)-bencenosulfonilo



- 30 Se añade por goteo una solución de 0,2 g (0,47 mmoles) de la [5-(tetrahidropiran-4-il)-1,3-dihidroisoindol-2-il]-[2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metiletoxi)-fenil]-metanona en 2 ml de 1,2-dicloroetano a 0,32 ml (4,7 mmoles) de ácido clorosulfónico enfriando con un baño de hielo. Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos y después a 55°C durante 30 minutos. Se enfriá la mezcla en un baño de hielo y se trata por goteo con 2 ml de agua. Se diluye la mezcla con diclorometano. Se separa la fase orgánica y se extrae la fase acuosa dos veces con diclorometano.
- 35 Se reúnen los extractos del diclorometano, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran con vacío. Se agita la espuma resultante con acetato de etilo. Se filtra el sólido. Se lava el líquido filtrado dos veces con una solución saturada de NaHCO₃, se seca con Na₂SO₄, se filtra y se concentra con vacío, obteniéndose 0,12 g (51 %) del compuesto epografiado en forma de espuma ligeramente amarilla. EM (m/e) = 517,1 [M]⁺.

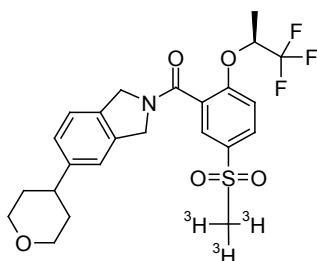
40 d) paso 4

3-[5-(tetrahidropiran-4-il)-1,3-dihidroisoindol-2-carbonil]-4-((S)-2,2,2-trifluor-1-metiletoxi)-bencenosulfonato, sal sódica



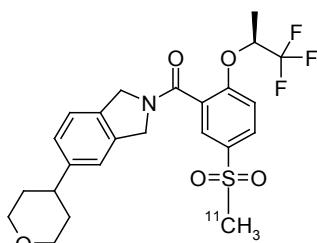
Se disuelven 1,15 g (8,94 mmoles) de Na_2SO_3 y 1,70 g (9,60 mmoles) de Na_2HPO_4 hidratado en 13 ml de agua. Se añade una solución etanólica del cloruro de de 2,40 g (4,63 mmoles) de 3-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-4-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-bencenosulfonilo. Se agita la mezcla reaccionante de 35 a 40°C durante 1 hora y después a temperatura ambiente durante una noche. Se añaden 1,3 g de Speedex, se filtra la mezcla reaccionante y se concentra el líquido filtrado. Se trata el producto en bruto con una solución acuosa de ácido cítrico/ NaCl y se extrae con MTBE/THF = 1:1. Se evapora el disolvente orgánico, se disuelve el residuo en MeOH/agua (2:1) y se trata con 800 mg (9,52 mmoles) de NaHCO_3 . Se añade 1 g de Speedex y se filtra la mezcla reaccionante y se concentra con vacío. Se purifica el residuo por cromatografía empleando una columna de fase inversa (RP-18, agua/metanol), obteniéndose 1,12 g (48 %) del compuesto epografiado en forma de espuma blanca. EM (m/e) = 484,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 e) paso 5
15 $[\text{H}^3\text{-metil}]\text{-}[5\text{-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona}$



20 Se añaden 0,16 mg (1,2 µmoles) de LiI a una solución de 50 mCi (0,15 mg, 0,6 µmoles) de nosilato de metilo [H^3] en 0,2 ml de DMF. En un vial cerrado se agita la mezcla reaccionante a 20°C durante 3 h, se le añaden 0,6 mg (1,4 µmoles) de 3-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-4-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-bencenosulfonato sódico y 1,0 mg (3,1 µmoles) de carbonato de cesio y se continúa la agitación a 20°C durante 2 h. Se trata la mezcla reaccionante con agua y salmuera y se extrae con acetato de etilo. Despues de la evaporación del disolvente orgánico se purifica el producto resultante en bruto por cromatografía de columna (gel de sílice, acetato de etilo/heptano = 4:1), obteniéndose 23,9 mCi (48 %) del compuesto epografiado tritiado de una actividad específica de 74 Ci/mmol (según el análisis por EM). El análisis HPLC de los compuestos radiomarcados indica una pureza radioquímica de > 99%.

25 Ejemplo 2
30 $[\text{C}^{11}\text{-metil}]\text{-}[5\text{-metanosulfonil-2-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona}$



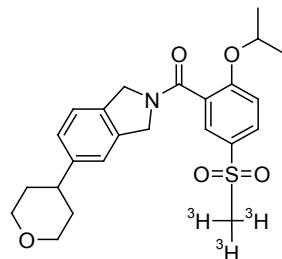
35 Se disuelve el 3-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-4-((S)-2,2,2-trifluor-1-metil-etoxy)-bencenosulfonato sódico (1 mg, 2 µmoles) en 100 µl de dimetilformamida. Se sella el vial; se agita la solución durante un minuto, se inyecta en un sistema Bioscan AutoLoop y se somete a un barrido de argón (30 ml/min) durante 5 segundos. Se transfiere el yoduro de metilo [C^{11}] (obtenido por el método de Larsen, P., Ulin, J., Dahlstrom, K.; J.

Label. Compds. Radiopharm. 37, 73–75, 1995) a un sistema Bioscan Autoloop (Bioscan Inc., Washington, DC) en una corriente de helio (30 ml/min). Se captura el yoduro de metilo[C¹¹] en el AutoLoop durante 3,5 minutos antes de interrumpir el flujo. Pasados 4,5 minutos se transfiere la mezcla reaccionante automáticamente a una HPLC semipreparativa y se procesa del modo siguiente. Se recoge el producto en un recipiente de presión, en el que se diluye con 50 ml de agua, después se introduce en una columna Waters C-18 SepPak Plus (ver a continuación las condiciones de la HPLC analítica y preparativa). Se lava la SepPak que contiene el compuesto epigrafiado purificado con 10 ml de una solución salina normal, a continuación se eluye el producto con 1 ml de etanol absoluto y después con 10 ml de solución salina normal a través de un filtro de 0,22 micras para efectuar la esterilización en un vial estéril, libre de pirógenos, que contiene 4 ml de solución salina normal.

Condiciones de la HPLC analítica: Onyx C₁₈ 4,6x100 mm 35:65 MeCN:H₂O TEA pH 7,2 a 3 ml/min; HPLC preparativa: XTerra C₁₈ 5 μ 19x100 mm 40:60 MeCN:H₂O 0,1 M formiato NH₄ a 18 ml/min.

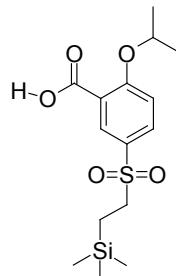
Ejemplo 3

[³H-metil-(2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil)-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona]



a) paso 1

ácido 2-isopropoxi-5-(2-trimetilsilanil-etanosulfonil)-benzoico

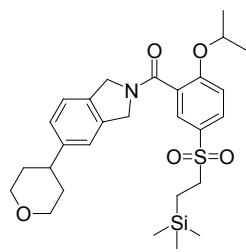


20

A una suspensión agitada a -70°C de 0,26 g (1 mmol) de ácido 2-isopropoxi-5-metanosulfonil-benzoico (CAS: 845616-02-6) y 0,75 ml (5 mmoles) de TMEDA en 2,6 ml THF se le añade por goteo una solución de LDA (preparada con 1,3 ml (2,1 mmoles) de una solución 1,6M de n-butil-litio en hexano y 0,3 ml (2,1 mmoles) de diisopropilamina en 2,5 ml de THF a 0°C). Se agita la suspensión ligeramente amarilla a -70°C durante 30 minutos. Se le añade por goteo durante un período de 5 minutos una solución de 0,19 ml (1,3 mmoles) de (yodometil)-trimetilsilano en 0,5 ml THF. Se agita la suspensión amarilla a -70°C durante 15 minutos y se deja calentar a temperatura ambiente. Se agita la solución ligeramente amarilla a temperatura ambiente durante 1 hora y se trata con 5 ml de salmuera. Se diluye la mezcla con 5 ml de agua. Se concentra la mezcla con vacío. Se acidifica cuidadosamente la fase acuosa con HCl 1N y se extrae 3 veces con diclorometano. Se reúnen los extractos, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran con vacío. Se purifica el producto en bruto por cromatografía de columna flash a través de gel de sílice eluyendo con un gradiente formado por heptano y acetato de etilo, obteniéndose 0,21 g (63%) del compuesto epigrafiado en forma de aceite amarillo. EM (m/e) = 343,0 [M-H]⁺.

35 b) paso 2

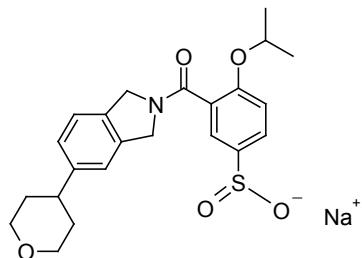
[2-isopropoxi-5-(2-trimethylsilyl-ethanesulfonic acid)-phenyl]-[5-(tetrahydro-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-isoindol-2-yl]-methanone



De modo similar al procedimiento descrito para la síntesis del ejemplo 1, paso 2, se obtiene el compuesto epigrafiado a partir del 5-(tetrahidro-piran-4-il)-2,3-dihidro-1H-isoindol (CAS: 905274-50-2) y del ácido 2-isopropoxi-5-(2-trimetilsilanol-etanosulfonil)-benzoico. EM (m/e) = 529,3 [M]⁺.

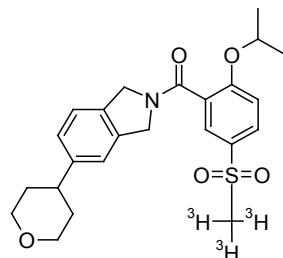
5

c) paso 3

4-isopropoxi-3-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-bencenosulfonato sódico

- 10 Se disuelven 1,40 g (2,64 mmoles) de la [2-isopropoxi-5-(2-trimetilsilanol-etanosulfonil)-fenil]-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona en 14 ml de THF y se tratan a 60°C durante 3,5 horas con 4,0 ml (4,0 mmoles) de una solución 1 M de TBAF en THF. Se vierte la mezcla reaccionante sobre una solución acuosa de ácido cítrico/NaCl y se extrae con MTBE/THF = 1:1. Se evapora el disolvente orgánico, se disuelve el residuo en MeOH/agua (3:1) y se trata con 600 mg de NaHCO₃. Después de la concentración, se purifica el residuo por chromatografía en una columna de fase inversa (RP-18, agua/metanol), obteniéndose 0,66 g (55 %) del compuesto epigrafiado en forma de espuma blanca. EM (m/e) = 430,2 [M+H]⁺.
- 15

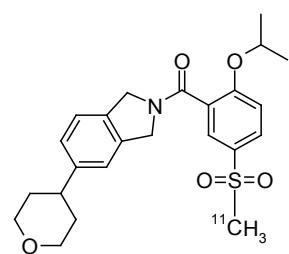
d) paso 4

[H³-metil]-(2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil)-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona

20

- Se añaden 0,16 mg (1,2 µmoles) de LiI a una solución de 50 mCi (0,15 mg, 0,6 µmoles) de nosilato de metilo[H³] en 0,2 ml de DMF. En un vial cerrado agita la mezcla reaccionante a 20°C durante 3 h, se le añaden 0,6 mg (1,3 µmoles) de 4-isopropoxi-3-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-bencenosulfonato sódico y 1,0 mg (3,1 µmoles) de carbonato de cesio y se continúa la agitación a 20°C durante 2 h. Se trata la mezcla reaccionante con agua y salmuera y se extrae con acetato de etilo. Después de la evaporación del disolvente orgánico se purifica el producto resultante en bruto por chromatografía de columna (gel de sílice, acetato de etilo/heptano = 4:1), obteniéndose 29,2 mCi (59 %) del compuesto epigrafiado tritiado de una actividad específica de 74 Ci/mmol (según el análisis por EM). El análisis por HPLC de los compuestos radiomarcados indica una pureza radioquímica de > 99 %.
- 25

Ejemplo 4[C¹¹-metil]-(2-isopropoxi-5-metanosulfonil-fenil)-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-metanona

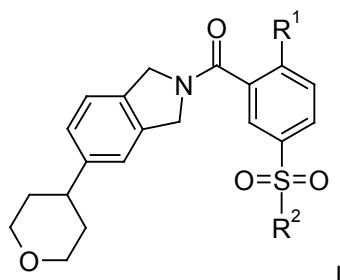


De modo similar al procedimiento descrito para la síntesis del ejemplo 2, se obtiene el compuesto epografiado a partir del 4-isopropoxi-3-[5-(tetrahidro-piran-4-il)-1,3-dihidro-isoindol-2-carbonil]-bencenosulfinato sódico e yoduro de metilo[C¹¹].

5

REIVINDICACIONES

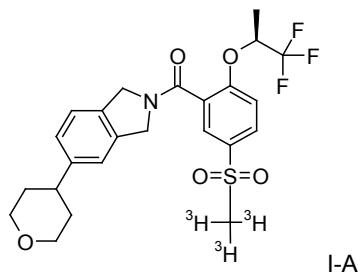
1. Un compuesto radiomarcado de la fórmula



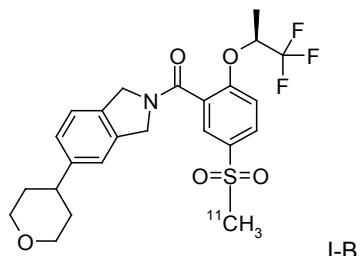
5

en la que
 R^1 es isopropoxi o 2,2,2-trifluor-1-metil-etoxi; y
 R^2 es un grupo CH_3 radiomarcado, en el que el radionúclido es el H^3 o el C^{11} .

- 10 2. Un compuesto radiomarcado de la fórmula I-A según la reivindicación 1, dicho compuesto es el

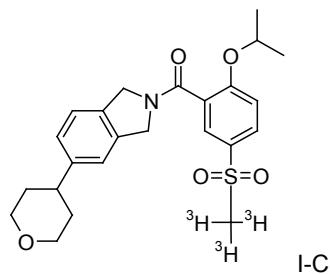


3. Un compuesto radiomarcado de la fórmula I-B según la reivindicación 1, dicho compuesto es el

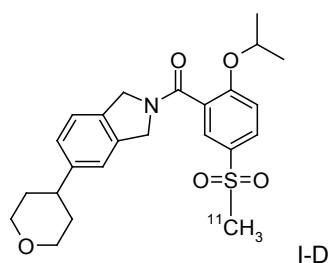


15

4. Un compuesto radiomarcado de la fórmula I-C según la reivindicación 1, dicho compuesto es el



5. Un compuesto radiomarcado de la fórmula I-D según la reivindicación 1, dicho compuesto es el



6. Un compuesto de la fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 1–5 para el uso como trazador del GlyT1.

5 7. Un compuesto de la fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 1–5 para el uso en un estudio de fijación del GlyT1.

10 8. Un compuesto de la fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 1–5 para el uso como trazador PET.

10 9. Un compuesto de la fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 1–5 para el uso de la generación de imágenes con fines de diagnóstico del GlyT1 en el cerebro de un mamífero.

15 10. Un método generación de imágenes con fines de diagnóstico del transportador GlyT1, que consiste en administrar a un mamífero una cantidad eficaz de un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 5.

20 11. Un método para la detección de la funcionalidad del GlyT1 en tejidos de mamíferos, que consiste en administrar a un mamífero, en el que se desea tal detección, una cantidad eficaz de un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1–5.

12. El uso de un compuesto definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1–5 para la fabricación de una composición destinada a la generación de imágenes con fines de diagnóstico del GlyT1 en el cerebro de un mamífero.