

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 435 077**

51 Int. Cl.:

C07B 59/00 (2006.01)

C07C 323/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.2006 E 06755605 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2013 EP 1896400**

54 Título: **Alquiltiofenil guanidinas marcadas con ^{18}F o ^{11}C para obtención de imágenes médicas**

30 Prioridad:

23.06.2005 GB 0512770

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.12.2013

73 Titular/es:

**HAMMERSMITH IMANET, LTD (100.0%)
CYCLOTRON BUILDING, HAMMERSMITH
HOSPITAL DUCANE ROAD
LONDON W12 0NN, GB**

72 Inventor/es:

**ROBINS, EDWARD GEORGE y
ARSTAD, ERIK**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 435 077 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

Alquiltiofenil guanidinas marcadas con ^{18}F o ^{11}C para obtención de imágenes médicas

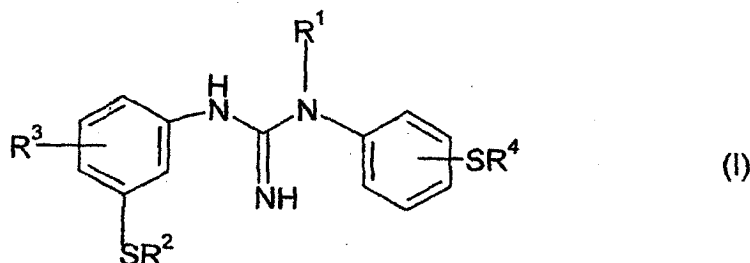
La presente invención se refiere al campo de la obtención de imágenes médicas, en particular a la tomografía de emisión de positrones (PET), y proporciona compuestos y métodos para obtener imágenes de receptores del sistema nervioso central (SCN).

El receptor de *N*-metil-D-aspartato (NMDA) es uno de los principales subtipos de receptores glutamatérgicos, y está ampliamente aceptado que juega un papel crucial en la depresión a largo plazo, la potenciación a largo plazo y la plasticidad neuronal en el desarrollo. Se ha encontrado excitotoxicidad inducida por NMDA, que es debida al menos en parte a una sobreactivación o estimulación prolongada de los receptores de NMDA en muchas enfermedades del SCN, tales como apoplejía, trauma cerebral o de la médula espinal, epilepsia, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Huntington. Se han investigado varios compuestos como radioligandos potenciales para estudiar el sitio del canal iónico del receptor de NMDA *in vivo* usando PET. Sin embargo, la mayoría de estos compuestos han sufrido las desventajas de una escasa penetración de la barrera sangre-cerebro o una alta unión no específica.

La solicitud de patente internacional WO 94/27591 describe ciertas guanidinas sustituidas y su uso para terapia. La solicitud de patente internacional WO 2004/007440 describe derivados de guanidina radiomarcados y su uso para obtener imágenes de receptores del sistema nervioso central (SNC), estos derivados han resultado requerir una complicada purificación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) después de su síntesis, y sólo proporcionan rendimientos bajos a moderados, con tiempos de preparación relativamente largos, de alrededor de 45 minutos. Por lo tanto, existe una necesidad de una química de marcado mejorada con respecto a rendimientos globales, tiempo de preparación y simplicidad de preparación. Además, para permitir un tiempo de barrido más largo y aumentar la disponibilidad de tales trazadores, hay una necesidad de radioligandos adicionales para el receptor de NMDA.

Waterhouse et al. describen derivados de guanidina marcados con [^{11}C] en J. Label Compd. Radiopharm. 2002; 45; 955-964. Dumont et al. afirman que se pueden usar para radiomarcado derivados de guanidina sustituidos con restos fenilo que llevan átomos de azufre (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2002; 1583-1586).

Por consiguiente, en un aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I):



o una sal o solvato del mismo, en donde:

R^1 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;

R^2 y R^4 se seleccionan independientemente cada uno de alquilo C_{1-4} , alquilo [^{11}C]- C_{1-4} , y fluoroalquilo [^{18}F]- C_{1-4} , a condición de que al menos uno de R^2 y R^4 sea alquilo [^{11}C]- C_{1-4} o fluoroalquilo [^{18}F]- C_{1-4} ; y

R^3 es halo.

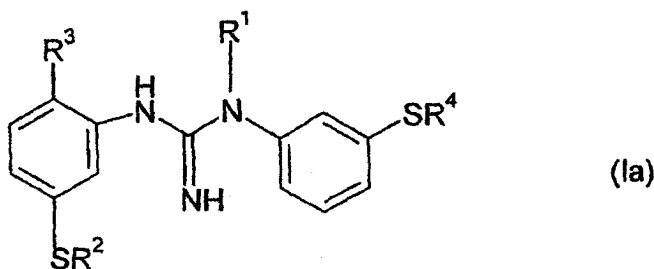
R^1 es preferiblemente hidrógeno o metilo, más preferiblemente metilo.

Uno de R^2 o R^4 es preferiblemente $^{-11}\text{CH}_3$, $^{-11}\text{CH}_2\text{CH}_3$, o $^{-11}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $^{-\text{CH}_2^{18}\text{F}}$, $^{-\text{CH}_2\text{CH}_2^{18}\text{F}}$, o $^{-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2^{18}\text{F}}$, y es más preferiblemente $^{-11}\text{CH}_3$ o $^{-\text{CH}_2^{18}\text{F}}$; y el otro grupo R^2 o R^4 es preferiblemente metilo.

R^3 está preferiblemente unido al anillo de fenilo en la posición *para* respecto al grupo $-\text{SR}^2$, y en un aspecto preferido, R^3 es cloro.

El grupo $-\text{SR}^4$ está preferiblemente unido al anillo de fenilo en la posición *meta* respecto al puente de guanidina.

Así, en un aspecto preferido de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (Ia):



o una sal o solvato del mismo, en donde R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como se definieron para los compuestos de la fórmula (I).

Los compuestos de fórmula (I) más preferidos incluyen:

- 5 N-(2-cloro-5-[^{18}F]fluorometiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;
 N-(2-cloro-5-(2-[^{18}F]fluoroetiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;
 N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-[^{18}F]fluorometiltio)-fenil-N'-metilguanidina;
 N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-(2-[^{18}F]fluoroetiltio))-fenil-N'-metilguanidina;
 N-(2-cloro-5-[^{11}C]metiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;
 10 N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-[^{11}C]metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;
 N-(2-cloro-5-[^{11}C]etiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina; y
 N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-[^{11}C]etiltio)-fenil-N'-metilguanidina, o una sal o solvato de cualquiera de los mismos.

15 Las sales adecuadas según la invención incluyen sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables tales como las derivadas de ácidos minerales, por ejemplo los ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico, y los derivados de ácidos orgánicos, por ejemplo los ácidos tartárico, trifluoroacético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico, metanosulfónico y paratoluenosulfónico.

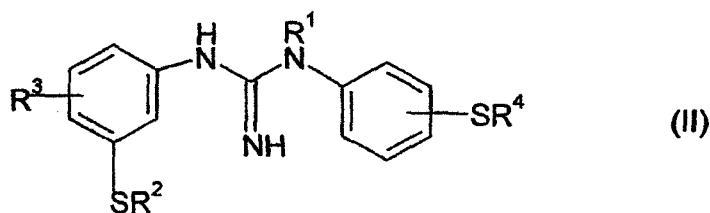
20 Como se demuestra más adelante, los compuestos de fórmula (I) y (Ia) tienen uso como radioligandos para el receptor de NMDA. Por lo tanto, un compuesto de fórmula (I) o (Ia) definido anteriormente, o una sal o solvato del mismo, encuentra uso en un método diagnóstico o de obtención de imágenes *in vivo* tal como PET. Adecuadamente, se puede usar un compuesto de fórmula (I) o (Ia) definido anteriormente, o una sal o solvato del mismo, para obtener imágenes del receptor de NMDA en voluntarios humanos sanos.

25 Adecuadamente, los compuestos de fórmula (I) o (Ia) o sales o solvatos de los mismos son útiles para la obtención de imágenes *in vivo* de receptores de NMDA y tienen por tanto utilidad en la diagnosis de trastornos mediados por NMDA, tales como apoplejía, trauma cerebral o de la médula espinal, epilepsia, enfermedad de Alzheimer o enfermedad de Huntington.

30 Un compuesto de fórmula (I) o (Ia) o una sal del mismo se administra preferiblemente en una formulación radiofarmacéutica que comprende el compuesto de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Una "formulación radiofarmacéutica" se define en la presente invención como una formulación que comprende un compuesto de fórmula (I) o (Ia) o una sal del mismo en una forma adecuada para la administración a seres humanos. La administración se lleva a cabo preferiblemente por inyección de la formulación como una solución acuosa. Tal formulación puede contener opcionalmente ingredientes adicionales tales como amortiguadores de pH; solubilizadores farmacéuticamente aceptables (p.ej. ciclodextrinas o tensioactivos tales como Pluronic, Tween o fosfolípidos); estabilizantes o antioxidantes farmacéuticamente aceptables (tales como ácido ascórbico, ácido gentísico o ácido *para*-aminobenzoico).

35 La dosis de un compuesto de fórmula (I), (Ia) o una sal del mismo variará dependiendo del compuesto exacto a ser administrado, el peso del paciente, y otras variables que serían evidentes para un médico experto en la técnica. De manera general, la dosis estaría en el intervalo de 0,1 nmol/kg a 50 nmol/kg, preferiblemente 1 nmol/kg a 5 nmol/kg.

Un compuesto de fórmula (I), (Ia) o una sal o solvato del mismo se puede preparar a partir del correspondiente compuesto de fórmula (II):



en donde uno de R^2 o R^4 es hidrógeno o un grupo protector de tioles que es un grupo arilalquilo, y el otro es hidrógeno, alquilo C_{1-4} , o un grupo protector de tioles que es un grupo arilalquilo; R^1 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} , y R^3 es halo; mediante (i) retirada de cualesquiera grupos protectores de tioles, y (ii) reacción con el haluro de alquilo apropiado alquilo $[^{11}C]-C_{1-4}-X$ o fluoroalquilo $[^{18}F]-C_{1-4}-Y$, en donde X e Y son independientemente halo, preferiblemente cloro, yodo o bromo, u otro grupo saliente adecuado tal como un aril- o alquilsulfonato, por ejemplo, tosilato, triflato o mesilato.

5

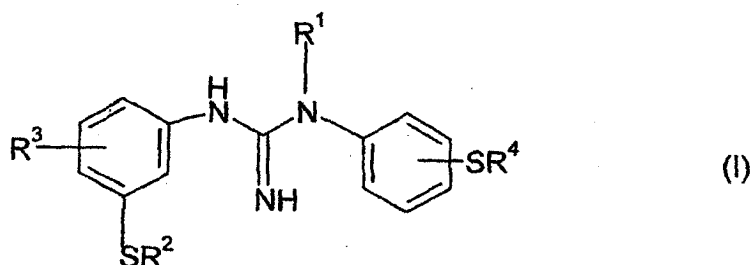
Esta reacción con el haluro de alquilo se lleva a cabo preferiblemente en un disolvente adecuado tal como N,N-dimetilformamida (DMF), acetona, diclorometano, cloroformo, dimetilsulfóxido, metanol, etanol, propanol, isopropanol, tetrahidrofurano o acetonitrilo, y en presencia de una base, adecuadamente una base inorgánica tal como carbonato de potasio, hidróxido de potasio, o hidruro de sodio, o una base orgánica tal como una trialquilamina, por ejemplo trietilamina, diisopropiletilamina, o dimetilaminopiridina.

10

Los compuestos de fórmula (II) son compuestos intermedios útiles para la preparación de trazadores de PET de fórmula (I) y, como tales, forman un aspecto adicional de la invención.

15

Según un aspecto adicional de la invención se proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I):



o una sal o solvato del mismo, en donde:

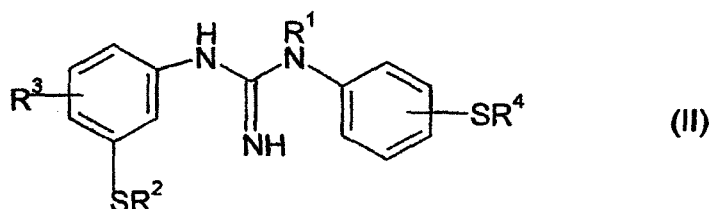
R^1 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} ;

20

R^2 y R^4 se seleccionan independientemente cada uno de alquilo C_{1-4} , alquilo $[^{11}C]-C_{1-4}$, y fluoroalquilo $[^{18}F]-C_{1-4}$, a condición de que al menos uno de R^2 y R^4 sea alquilo $[^{11}C]-C_{1-4}$, o fluoroalquilo $[^{18}F]-C_{1-4}$; y

R^3 es halo;

que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (II):



25

en donde uno de R^2 o R^4 es hidrógeno o un grupo protector de tioles que es un grupo arilalquilo, y el otro es hidrógeno, alquilo C_{1-4} , o un grupo protector de tioles que es un grupo arilalquilo; R^1 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} , y R^3 es halo;

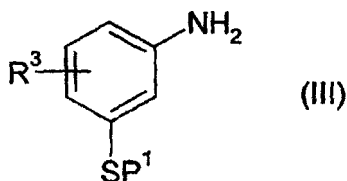
mediante (i) retirada de cualesquiera grupos protectores de tioles, y (ii) reacción con el haluro de alquilo apropiado alquilo $[^{11}C]-C_{1-4}-X$ o fluoroalquilo $[^{18}F]-C_{1-4}-Y$, en donde X e Y son independientemente halo, preferiblemente cloro, yodo o bromo, u otro grupo saliente adecuado tal como un aril- o alquilsulfonato, por ejemplo, tosilato, triflato o mesilato;

30

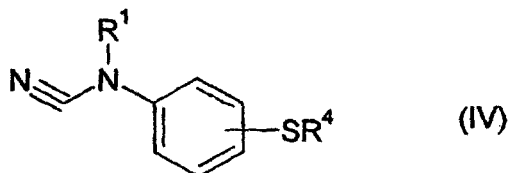
en un disolvente adecuado y en presencia de una base.

Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona un kit para la preparación de una formulación radiofarmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (II) definido anteriormente. En el uso del kit, el compuesto de fórmula (II) se convertiría en el correspondiente compuesto de fórmula (I) usando el procedimiento descrito anteriormente.

Los compuestos de fórmula (II) en los que R^2 es hidrógeno o un grupo protector de tioles se pueden preparar a partir de un compuesto de fórmula (III) o una sal del mismo:



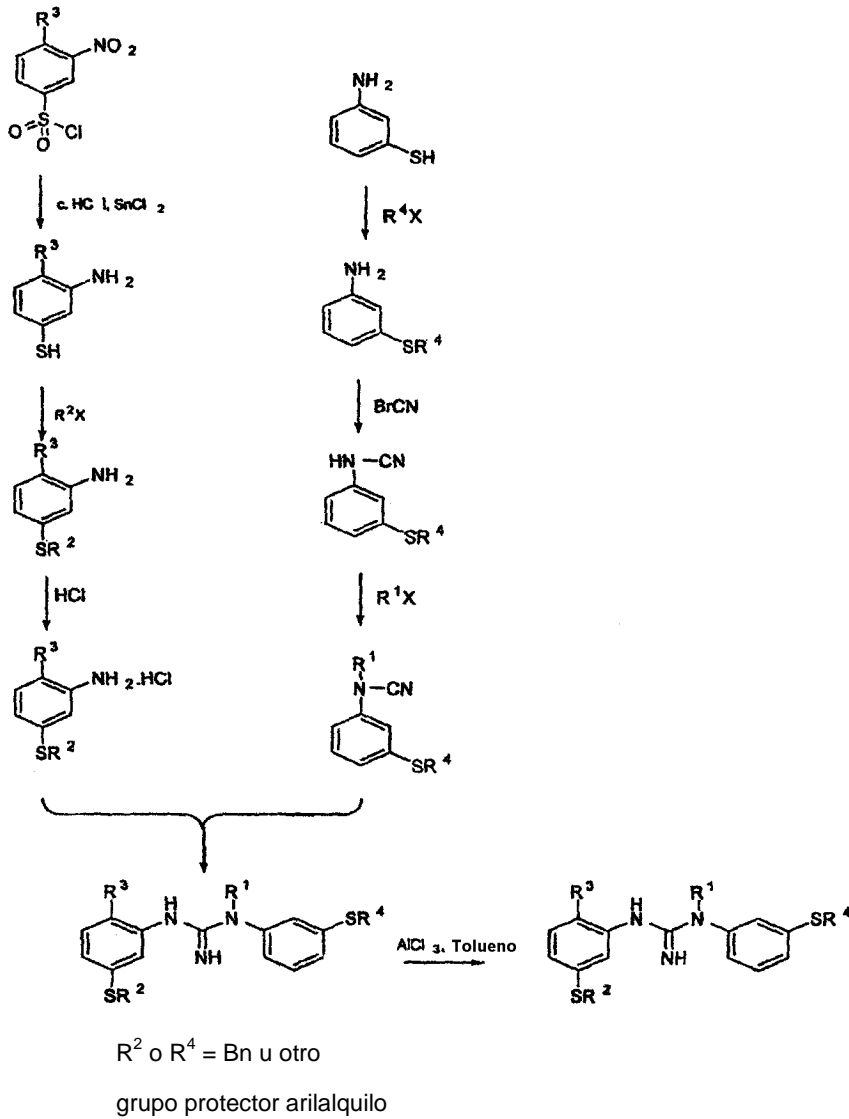
en donde R^3 es halo y P^1 es un grupo protector de tioles que es un grupo arilalquilo; por reacción con un compuesto de fórmula (IV):



en donde R^1 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} y R^4 es como se define para el compuesto deseado de fórmula (II). El acoplamiento del compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV) se puede realizar sin disolvente, o en presencia de un disolvente no prótico de alto punto de ebullición tal como clorobenceno, tolueno o xileno. Esta reacción se puede efectuar a temperatura elevada, por ejemplo 50 a 200°C, adecuadamente a alrededor de 160°C. Después de la reacción, el grupo protector P^1 se puede retirar como se describe más adelante.

Los grupos protectores de tioles adecuados son grupos arilalquilo tales como bencilo o *para*-metoxibencilo, que pueden ser retirados antes de realizar la etapa de radiomarcado, por ejemplo por tratamiento con un ácido, por ejemplo un ácido de Lewis tal como $AlCl_3$.

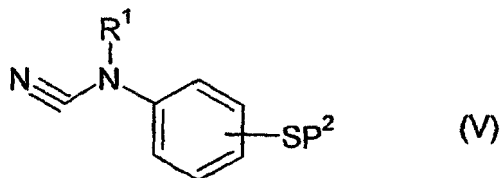
La síntesis de un compuesto de fórmula (II) a partir de compuestos de fórmula (III) y (IV) se ilustra en el Esquema 1.



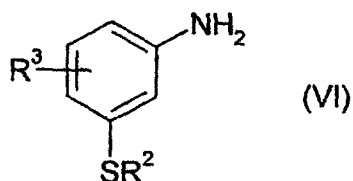
Esquema 1

5 Los compuestos de fórmula (III) y (IV) se pueden preparar a partir de materiales de partida disponibles en el mercado usando métodos acordes con o análogos a los descritos en el Esquema 1 y los Ejemplos.

Los compuestos de fórmula (II) en los que R^4 es hidrógeno o un grupo protector de tioles se pueden preparar a partir de un compuesto de fórmula (V):

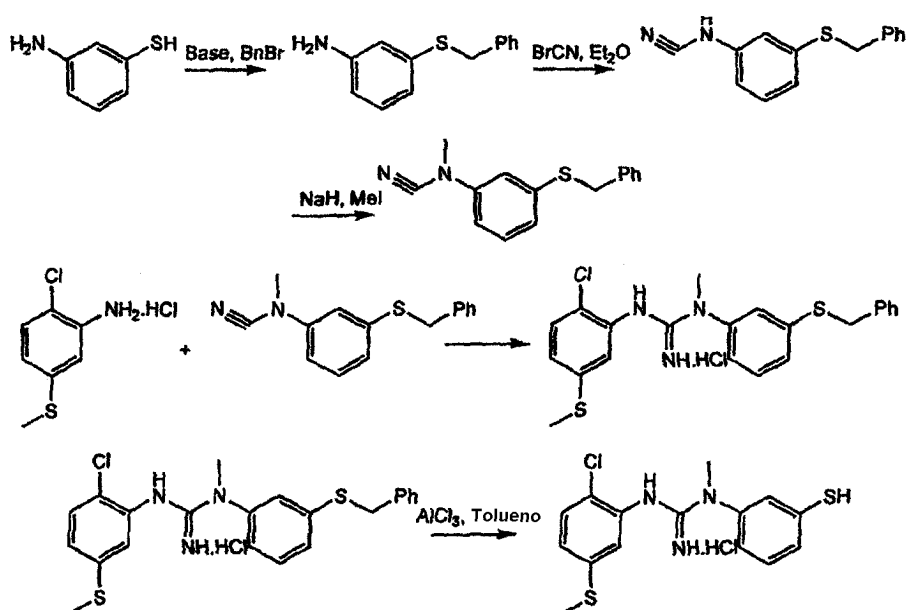


10 en donde R^1 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} y P^2 es un grupo protector de tioles que es un grupo arilalquilo; por reacción con un compuesto de fórmula (VI):



5 en donde R^3 es halo y R^2 es como se define para el compuesto deseado de fórmula (II). El acoplamiento de un compuesto de fórmula (V) con un compuesto de fórmula (VI) se puede realizar por métodos análogos a los descritos para el acoplamiento de un compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV). Después de la reacción, el grupo protector P^2 se puede retirar como se describe anteriormente.

Esta síntesis de un compuesto de fórmula (II) a partir de compuestos de fórmula (V) y (VI) se ilustra en el Esquema 2.



Esquema 2

10 Los compuestos de fórmula (V) y (VI) se pueden preparar a partir de materiales de partida disponibles en el mercado usando métodos acordes con o análogos a los descritos en el Esquema 2 y los Ejemplos.

La invención será ilustrada ahora por medio de los Ejemplos, en los que se usan las siguientes abreviaturas:

HPLC: cromatografía líquida de alta resolución

UV: ultravioleta

15 TLC: cromatografía en capa fina

EtOAc: acetato de etilo

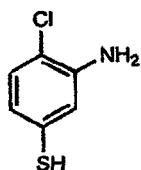
IR: infrarrojo

min: minuto(s)

Ejemplos

20 Ejemplo 1: Síntesis de N-(2-cloro-5-fluorometiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina

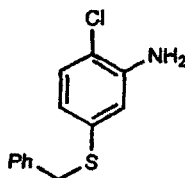
Ejemplo 1(i) Síntesis de 3-amino-4-clorobencenotiol



A una disolución enfriada (0°C) de cloruro de estaño(II) (11,260 g, 59,40 mmol) en 10 ml de ácido clorhídrico concentrado se añadió lentamente cloruro de 4-cloro-3-nitro-bencenosulfonilo (1,690 g, 6,60 mmol) en porciones. La suspensión resultante se mantuvo fría y se agitó durante 15 minutos antes de que la mezcla fuera calentada a reflujo durante 1 hora. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con agua (100 ml) y se neutralizó cuidadosamente usando NaHCO₃. La fase acuosa se extrajo con cloroformo (4 x 50 ml) y la fase orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄. La retirada del disolvente a vacío proporcionó un sólido amarillo brillante. La cromatografía en columna sobre gel de sílice usando cloroformo:hexano 1:1 como fase móvil dio 3-amino-4-clorobencenotiol como un sólido blanco (0,632 g, 60%).

¹H NMR δ (CDCl₃) 7,08 (d, 1H, |J| = 8,5 Hz, H de arilo), 6,67 (d, 1H, |J| = 2,0 Hz, H de arilo), 6,59 (dd, 1H, |J| = 8,5 y 2,0 Hz, H de arilo), 4,03 (s a, 2H, NH₂), 3,37 (s, 1H, SH).

Ejemplo 1(ii) Síntesis de (5-benciltio-2-cloro)-anilina y sal de HCl de (5-benciltio-2-cloro)-anilina

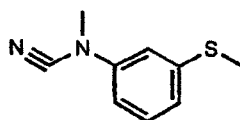


A una disolución enfriada (0°C) de 3-amino-4-clorobencenotiol (0,630 g, 3,92 mmol) en tetrahidrofurano (THF) anhidro (15 ml) se añadió *n*-butil-litio (1,6 M en hexanos, 2,45 ml, 3,92 mmol) y la mezcla de reacción se agitó rápidamente. A esta mezcla se añadió lentamente bromuro de bencilo (0,47 ml, 3,92 mmol) y la mezcla de reacción se agitó rápidamente, calentando hasta la temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora. La retirada del disolvente a presión reducida dio un producto bruto que se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando diclorometano:hexano 1:1 como fase móvil. Se aisló (5-benciltio-2-cloro)-anilina como un sólido blanco brillante (0,805 g, 82%).

¹H NMR δ (CDCl₃) 7,26 (m, 3H, H de fenilo), 7,22 (m a, 2H, H de fenilo), 7,09 (d, 1H, |J| = 8,3 Hz), 6,66 (d, 1H, |J| = 1,9 Hz), 6,61 (dd, 1H, |J| = 8,3 y 1,9 Hz), 4,04 (s, 2H, CH₂), 4,03 (s a, 2H, NH₂).

A una disolución enfriada (0°C) de (5-benciltio-2-cloro)-anilina (0,805 g, 3,21 mmol) en éter dietílico anhidro (10 ml) se añadió lentamente ácido clorhídrico anhidro en éter dietílico (1M, 5,0 ml, 5 mmol). El precipitado resultante se aisló por filtración, se lavó con éter dietílico (2 x 5 ml) y se secó a vacío. Se aisló la sal de HCl de (5-benciltio-2-cloro)-anilina en rendimiento casi cuantitativo como un sólido blanco (0,865 g, 94%).

Ejemplo 1(iii) Síntesis de metil-(3-metiltio-fenil)-cianamida



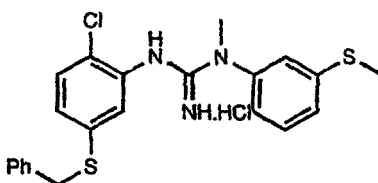
A una disolución enfriada (0°C) de 3-metiltio-anilina (1,850 g, 13,30 mmol) en éter dietílico anhidro (10 ml) se añadió una disolución en éter dietílico (10 ml) de bromuro de cianógeno (0,704 g, 6,65 mmol). PRECAUCIÓN: el bromuro de cianógeno es altamente tóxico. La disolución resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla resultante se filtró para retirar el precipitado, y el filtrado de éter dietílico se lavó con HCl 1M (20 ml) y salmuera (20 ml) antes de retirar el disolvente a vacío para dar un residuo amarillo oleoso. La purificación del producto bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando diclorometano/acetato de etilo 95:5 dio (3-metiltio-fenil)-cianamida como un aceite casi incoloro que cristalizó tras reposar (0,570 g, 52%).

Un matraz Schlenk secado a la llama en una atmósfera de nitrógeno se cargó con hidruro de sodio (60% en aceite mineral, 0,14 g, 3,5 mmol), 3-metilsulfanil-fenil-cianamida (0,493 g, 3,00 mmol) y THF anhidro (5 ml). La mezcla se agitó rápidamente y se calentó hasta 70°C durante aproximadamente 0,5 horas. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se añadió gota a gota yodometano (0,37 ml, 6,00 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La disolución incolora, transparente, resultante se concentró a vacío antes de que se añadiesen

agua (30 ml) y éter dietílico (40 ml). La fase orgánica se separó, se lavó sobre Na_2SO_4 y el disolvente de éter dietílico se retiró a vacío para dar un residuo bruto. La purificación del producto bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando diclorometano como fase móvil dio el compuesto del título como un aceite amarillo claro (0,388 g, 73%).

- 5 $^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 7,26 (m, 1H, H de arilo), 6,96 (m, 2H, H de arilo), 6,81 (m, 1H, H de arilo), 3,31 (s, 3H, NCH_3), 2,48 (s, 3H, SCH_3).

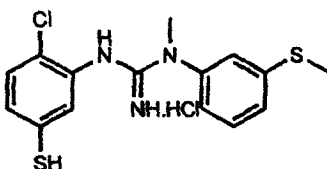
Ejemplo 1(iv) Síntesis de N-(5-benciltio-2-cloro)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina, sal de HCl



- 10 A un matraz de fondo redondo de 10 ml secado a la llama, equipado con una barra de agitación magnética, se añadió metil-(3-metiltio-fenil)-cianamida (0,185 g, 1,04 mmol) y (5-benciltio-2-cloro)-anilina, sal de HCl (0,297 g, 1,04 mmol). El matraz se evacuó y se volvió a llenar con nitrógeno tres veces antes de que se sellara el matraz en atmósfera de nitrógeno y se calentara hasta 160°C durante 3 horas. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, el residuo naranja claro se recogió en un mínimo volumen de diclorometano (0,5-1 ml) y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de 0-10% de metanol en diclorometano. La retirada del disolvente a alto vacío dio el compuesto del título como un sólido blanco vítreo (0,357 g, 74%).

15 $^1\text{H NMR } \delta$ (d_6 -DMSO) 9,70 (s a, 1H, NH), 8,01 (s a, 1H, NH), 7,39-7,08 (m, 11H, H de arilo), 7,09 (m, 1H, H de arilo), 4,24 (s, 2H, CH_2), 3,39 (s, 3H, N-CH_3), 2,45 (s, 3H, S-CH_3).

- 20 Ejemplo 1(v): Síntesis de N-(2-cloro-5-mercaptio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina, sal de HCl

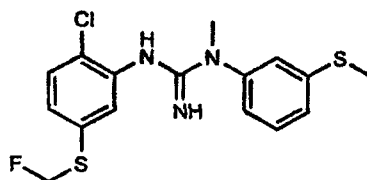


- 25 Un matraz Schlenk secado a la llama en una atmósfera de nitrógeno se cargó con cloruro de aluminio (0,293 g, 2,20 mmol) y tolueno anhidro (5 ml). A la suspensión agitada resultante se añadió una disolución en tolueno de N-(5-benciltio-2-cloro)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina, sal de HCl (0,250 g, 0,54 mmol) y la mezcla de reacción se agitó rápidamente a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla resultante se diluyó con metanol (5 ml), lo que dio como resultado una disolución homogénea, transparente. La retirada de los disolventes a vacío dio un residuo incoloro que se recogió en diclorometano (3 ml), se filtró y el filtrado se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de 0-10% de metanol en diclorometano. El compuesto del título se aisló como un sólido blanco vítreo (0,130 g, 64%).

- 30 Se preparó una muestra de la base libre calentado la sal de .HCl en presencia de K_2CO_3 en acetona, seguido de aislamiento por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de 0-10% de metanol en diclorometano.

$^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 7,29 (s a, 1H, H de arilo), 7,28 (m, 1H, H de arilo), 7,13 (m, 2H, H de arilo), 7,11 (d m, 1H, H de arilo), 7,06 (dd, 1H, H de arilo), 7,01 (d m, 1H, H de arilo), 3,48 (s a, 1H, SH), 3,36 (s, 3H, NCH_3), 2,49 (s, 3H, SCH_3).

- 35 Ejemplo 1(vi) Síntesis de N-(2-cloro-5-fluorometiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina



Un matraz Schlenk secado a la llama en una atmósfera de nitrógeno se cargó con N-(2-cloro-5-mercapto)-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina, sal de HCl (0,037 g, 0,10 mmol), trietilamina (0,020 g, 0,20 mmol) y diclorometano anhidro (2-3 ml) y se enfrió en un baño de hielo hasta 0°C. Se burbujeó gas fluorobromometano a través de la mezcla de reacción de color oscuro durante 30 segundos antes de que se dejara calentar lentamente la reacción hasta la temperatura ambiente. Después de 2 horas, la disolución amarilla clara resultante se concentró a vacío para dar un residuo bruto que se redisolvió en diclorometano (1 ml) y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de 0-10% de metanol en diclorometano. La retirada del disolvente a alto vacío dio el compuesto del título como un aceite amarillo claro (0,024 g, 68%).

$^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 7,32 (m, 2H, H de arilo), 7,20 (m, 1H, H de arilo), 7,17 (m, 1H, H de arilo), 7,16-7,06 (m, 2H, H de arilo), 7,04 (m, 1H, H de arilo), 5,71 (d, 2H, $|J| = 52,8 \text{ Hz}$, CH_2F), 3,41 (s, 3H, N- CH_3), 2,50 (s, 3H, S- CH_3).

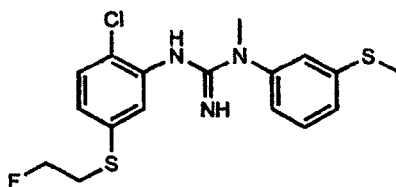
Ejemplo 2: N-(2-cloro-5-[^{18}F]fluorometiltio)-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina

El compuesto del título se preparó usando métodos análogos a los del Ejemplo 1(vi) pero usando [^{18}F]fluorobromometano como agente de haloalquilación, acetonitrilo anhidro como disolvente y carbonato de cesio como base. La identidad del producto se confirmó por co-elución en HPLC de N-(2-cloro-5-[^{18}F]fluorometiltio)-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina con una muestra auténtica preparada en el Ejemplo 1(vi).

Método HPLC

Con las condiciones analíticas de HPLC ensayadas, se encontró que la separación cromatográfica más eficaz entre el precursor N-(2-cloro-5-tio)-fenil-N'-3'-(metiltio)-fenil-N'-metilguanidina y el estándar de referencia N-(2-cloro-5-fluorometiltio)-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina fue como sigue: columna 5 μ -Luna C-18(2) (250 x 4,6 mm), fase móvil acetonitrilo/(NH_4) $_2\text{HPO}_4$ 0,01 M 55/45, caudal a 1 ml/min, UV 254 nm. El tiempo de retención para el precursor N-(2-cloro-5-tio)-fenil-N'-3'-(metiltio)-fenil-N'-metilguanidina fue 20,0 minutos, mientras que la N-(2-cloro-5-fluorometiltio)-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina tuvo un tiempo de retención de 9,70 minutos.

Ejemplo 3: Síntesis de N-(2-cloro-5-(2-fluoroetiltilio))-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina



En un matraz Schlenk secado a la llama dotado con un condensador de reflujo se cargó N-(2-cloro-5-mercapto)-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina, sal de HCl (0,030 g, 0,08 mmol), carbonato de potasio (0,022 g, 0,16 mmol) y acetona anhidra (2 ml). A la mezcla se añadió una disolución de tosilato de 2-fluoroetilo (0,017 g, 0,080 mmol) en acetona (1 ml) y la reacción se calentó a reflujo en una atmósfera de nitrógeno durante 3 días. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente el disolvente se retiró a vacío y el residuo se redisolvió en diclorometano (1 ml). La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de 0-10% de metanol en diclorometano dio el compuesto del título como un aceite amarillo claro (0,021 g, 68%).

$^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 7,30 (m, 2H, H de arilo), 7,19 (m a, 1H, H de arilo), 7,13 (m a, 3H, H de arilo), 6,94 (m, 1H, H de arilo), 4,53 (dt, 2H, $|J| = 6,6$ y $47,0 \text{ Hz}$, CH_2F), 3,41 (s, 3H, N- CH_3), 3,12 (dt, 2H, $|J| = 6,6$ y $20,5 \text{ Hz}$), 2,51 (s, 3H, S- CH_3).

Ejemplo 4: Síntesis de N-(2-cloro-5-(2-[^{18}F]fluoroetiltilio))-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina

El compuesto del título se preparó usando métodos análogos a los del Ejemplo 3 pero usando tosilato de 2-[^{18}F]fluoroetilo como agente de haloalquilación, una mezcla 1:2 de acetonitrilo anhidro/etanol como disolvente y carbonato de cesio como base. La identidad del producto se confirmó por co-elución en HPLC de N-(2-cloro-5-[^{18}F]fluoroetiltilio)-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina con una muestra auténtica preparada en el Ejemplo 3.

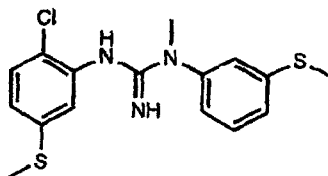
Método HPLC

Con las condiciones analíticas de HPLC ensayadas, se encontró que la separación cromatográfica más eficaz entre el precursor N-(2-cloro-5-tio)-fenil-N'-3'-(metiltio)-fenil-N'-metilguanidina y el estándar de referencia N-(2-cloro-5-(2-fluoroetiltilio))-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina fue como sigue: columna 5 μ -Luna C-18(2) (250 x 4,6 mm), fase móvil acetonitrilo/(NH_4) $_2\text{HPO}_4$ 0,01 M 55/45, caudal a 1 ml/min, UV 254 nm. El tiempo de retención para el precursor N-(2-cloro-5-tio)-fenil-N'-3'-(metiltio)-fenil-N'-metilguanidina fue 20,0 minutos, mientras que la N-(2-cloro-5-fluoroetiltilio)-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina tuvo un tiempo de retención de 9,40 minutos.

Ejemplo 5: Síntesis de N-(2-cloro-5-(2-[^{11}C]etiltilio))-fenil-N'-(3-metiltilio)-fenil-N'-metilguanidina

El compuesto del título se prepara usando métodos análogos a los del Ejemplo 6 pero usando 2-[¹¹C]yodoetano como agente de haloalquilación.

Ejemplo 6: Síntesis de N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina



5 A un matraz de fondo redondo equipado con un agitador magnético se añadió metóxido de sodio (1,4 mg, 26,6 umol), N-(2-cloro-5-mercapto)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina, sal de HCl (5,0 mg, 13,3 umol) y metanol anhidro (1 ml). La mezcla de reacción se agitó rápidamente en una atmósfera de nitrógeno durante 5 minutos antes de que la mezcla se tratara adicionalmente con yodometano (1,8 ul, 30 umol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, el disolvente se retiró a vacío y el residuo se remitió para análisis por HPLC.

10 Ejemplo 7: Síntesis de N-(2-cloro-5-([¹¹C]metiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina

El compuesto del título se prepara usando métodos análogos a los del Ejemplo 6 pero usando [¹¹C]yodometano como agente de metilación.

Ejemplo 8: Síntesis de N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina

Ejemplo 8(i) Síntesis de hidrocioruro de 2-cloro-5-(metiltio)anilina

15 A una disolución agitada de ácido 2-cloro-5-(metiltio)benzoico (5 g, 24,67 mmol) en t-butanol (20 ml) se añadió trietilamina (5,25 ml, 37,8 mmol). Después de agitar brevemente, se añadió gota a gota difenilfosforilazida (6 ml, 27,60 mmol). La mezcla de reacción se calentó lentamente a reflujo durante 6 horas y después se enfrió hasta la temperatura ambiente. El disolvente se retiró a presión reducida y la mezcla de reacción bruta se disolvió en tetrahidrofurano (12,5 ml) seguido de la adición de 12,5 ml de ácido trifluoroacético (1:1). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 6 horas y el disolvente se evaporó después de enfriar hasta la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se trató con NaOH (25%) para llevar el pH a 12 mientras se enfriaba en un baño de hielo y agua. El producto se extrajo repetidamente en acetato de etilo (4 x 25 ml) y la capa orgánica se lavó con agua (10 ml). Los extractos combinados se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a vacío para dar un aceite amarillo. El producto se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, gradiente de hexanos/EtOAc) y las muestras recogidas se disolvieron en éter y se trataron con HCl/éter (10 ml, 1M) para proporcionar cristales blancos. El producto del título fue un sólido blanco (3,73 g, 87% de rendimiento); p.f.: 180-181°C; TLC: hexanos/EtOAc (9:1) R_f = 0,51; MS (CI) m/e 174 (M+1 para C₇H₈ClNS) y m/e 191 (M+NH₃), ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 7,2-6,7 (m, 3H, Ar-H), 2,5 (s, 3H, S-CH₃).

20

25

Ejemplo 8(ii) Síntesis de 3-(benciltio)anilina

30 A una disolución agitada de hidróxido de sodio (2,1 g, 52,5 mmol) en agua (4 ml) enfriada en un baño de hielo, se añadió gota a gota una disolución de 3-aminotiofenol (4,8 g, 38,4 mmol) en etanol (20 ml), seguido de la adición de una disolución de cloruro de bencilo (5 g, 39,5 mmol) en etanol (5 ml). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas y se convirtió en una disolución marrón con un precipitado blanco. Después de separar por filtración el precipitado, el filtrado se concentró y el residuo se recogió mediante diclorometano (40 ml). La disolución de diclorometano se lavó con una disolución acuosa de hidróxido de sodio tres veces (0,5 M, 3 x 40 ml) y agua una vez (40 ml). Después de ser secada sobre MgSO₄ y filtrada, la disolución de diclorometano se concentró a vacío para dar un aceite amarillo espeso como producto bruto. Se purificó adicionalmente por cromatografía de desarrollo rápido (SiO₂, hexanos/CH₂Cl₂, 0-100%) para dar 3-(benciltio)anilina (6,77 g, 82%) como un aceite amarillo claro, que se solidificó en un sólido blanco después de reposar a temperatura ambiente. Cromatografía en capa fina: Diclorometano, R_f = 0,37; ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 6,6-7,4 (m, 9H, Ar-H), 4,15 (s, 2H, S-CH₂).

35

40

Ejemplo 8(iii) Síntesis de 3-(benciltio)fenilcianamida

Se añadió lentamente una disolución de bromuro de cianógeno (1,42 g, 13,4 mmol) en éter dietílico anhidro (10 ml) a una disolución agitada de 3-(benciltio)anilina (4,6 g, 21,4 mmol) en éter dietílico anhidro (25 ml) a 0-4°C. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y se convirtió en una disolución marrón con un precipitado blanco. El precipitado se separó por filtración y el filtrado se lavó con HCl acuoso (1 M, 3 x 40 ml) seguido de salmuera (40 ml). La disolución de éter se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a vacío para dar un aceite amarillo como producto bruto. Se purificó adicionalmente por cromatografía de desarrollo rápido (SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc, 0-20%) para dar 3-(benciltio)fenilcianamida (2,82 g, 55% de rendimiento) como un sólido blanco; TLC: Diclorometano/EtOAc (93:7) R_f = 0,64; ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 7,2-6,7 (m, 9H, Ar-H), 4,12 (s, 2H, S-CH₂). IR (KBr): 3.178 cm⁻¹ (N-H secundario), 3.023-3.085 cm⁻¹ (estiramiento de C-H aromático), 2.227 cm⁻¹ (CN).

45

50

Ejemplo 8(iv) Síntesis de 3-(benciltio)fenil-N-metilcianamida

A una disolución de 3-(benciltio)fenilcianamida (0,80 g, 3,33 mmol) disuelta en acetonitrilo (8 ml) se añadió diisopropiletilamina (0,65 g, 5,0 mmol), seguido de la adición de yoduro de metilo (0,94 g, 6,66 mmol). La mezcla de reacción se llevó a reflujo a 80-85°C durante 3 horas. Después de la retirada de los disolventes, el residuo se recogió mediante diclorometano (40 ml) y la disolución orgánica se lavó con agua (40 ml). Después de ser secada sobre MgSO₄ y filtrada, la disolución de diclorometano se concentró a vacío para dar un aceite amarillo como producto bruto. La purificación por cromatografía en columna (SiO₂, Hexano/CH₂Cl₂, 50 a 100%) dio 3-(benciltio)fenil-N-metilcianamida como un aceite amarillo claro (0,67 g, 80% de rendimiento): CH₂Cl₂, R_f = 0,45; ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 7,3-6,8 (m, 9H, Ar-H), 4,06 (s, S-CH₂, 2H), 3,57 (s, 3H, N-CH₃).

10 Ejemplo 8(v) Síntesis de N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-3'-(benciltio)-fenil-N'-metilguanidina

A un matraz seco de 25 ml montado con condensador de agua, se añadieron 3-(benciltio)fenil-N-metilcianamida (0,65 g, 2,56 mmol), hidrocloreto de 2-cloro-5-(metiltio)anilina (0,54 g, 2,56 mmol) y 1 ml de clorobenceno. Después se inundó el matraz con gas nitrógeno y después se calentó a 150°C durante 3 horas a la vez que se agitaba. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente. Después de la retirada del clorobenceno a vacío, quedó un aceite vítreo y espeso como producto bruto. La purificación por cromatografía de desarrollo rápido (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH, 0-20%) dio el hidrocloreto de guanidina (0,9 g, 85% de rendimiento) como un sólido; cromatografía en capa fina: CH₂Cl₂/MeOH (9:1), R_f = 0,34; ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 6,8-7,3 (m, 12H, Ar-H), 4,06 (s, S-CH₂, 2H), 3,57 (s, 3H, N-CH₃), 2,35 (s, 3H, S-CH₃).

Ejemplo 8(vi) Síntesis de N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-3'-tiofenil-N'-metilguanidina

A un matraz seco de 25 ml, se añadió tricloruro de aluminio (125 mg, 0,94 mmol) bajo protección de nitrógeno, seguido por la adición gota a gota de N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-3'-(benciltio)-fenil-N'-metilguanidina (100 mg, 0,23 mmol) en tolueno (2 ml). La mezcla se agitó en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se inactivó usando ácido acético (0,5 ml) y después se concentró a vacío para dar un aceite espeso como producto bruto. La purificación por cromatografía de desarrollo rápido (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH, 0-20%) dio el producto del título (70 mg, 96% de rendimiento) como un sólido vítreo; TLC: CH₂Cl₂/MeOH (9:1), R_f = 0,14; ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 6,8-7,3 (m, 7H, Ar-H), 3,35 (s, 3H, N-CH₃), 2,4 (s, 3H, S-CH₃).

Ejemplo 8(vii) Síntesis de N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina

Método HPLC

Con las condiciones analíticas de HPLC ensayadas, se encontró que la separación cromatográfica más eficaz entre los precursores N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-3'-tiofenil-N'-metilguanidina, N-(2-cloro-5-tio)fenil-N'-3'-(metiltio)-fenil-N'-metilguanidina y el estándar de referencia N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-3'-(metiltio)-fenil-N'-metilguanidina fue como sigue: columna μ-Bondapak C-18 (300 x 7,8 mm), fase móvil acetonitrilo/(NH₄)₂HPO₄ 0,05 M 60/40, caudal a 2 ml/min, UV 254 nm. Los tiempos de retención para los precursores de 3'-desmetiltio- y 5'-desmetiltio- fueron 6,65 min y 6,01 minutos respectivamente, mientras que la N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)fenil-N'-metilguanidina tuvo un tiempo de retención de 11,81 minutos.

Se añadió yoduro de metilo (0,3-0,6 mg, equivalencia 1-2 a precursor) a la disolución que contenía N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-3'-tiofenil-N'-metilguanidina (0,5-0,8 mg), butóxido de potasio (0,5-1,0 mg, equivalencia 2-4 a precursor) en N,N-dimetilformamida o bien etanol anhidro (250-350 μl). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos y después se inactivó por adición de 100 μl de fase móvil de HPLC ((NH₄)₂HPO₄ 0,05M). Se tomó una alícuota de la mezcla de reacción y se inyectó sobre una columna de HPLC para análisis. En base a los resultados del análisis por HPLC, se mostró que el producto del título se produjo en un rendimiento más alto que 75% con dimetilformamida o bien etanol anhidro usados como disolventes en todos los experimentos de ensayo, la química funcionó bien, de una manera consistente, y la separación entre el producto del título y su precursor desmetiltio- fue lo suficientemente eficaz para una separación semipreparativa en química caliente.

45 Ejemplo 9: Síntesis de N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-[¹¹C]metiltio)-fenil-N'-metilguanidina

Se encerró yoduro de [¹¹C]metilo, que se produjo por reducción de [¹¹C]CO₂ usando hidruro de litio y aluminio, seguido de yodación usando ácido yodhídrico y destilación, en un vial que contenía N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-3'-tiofenil-N'-metilguanidina (0,5 mg), butóxido de potasio (0,8 mg) en N,N-dimetilformamida (300 μl). La química de marcado se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 5 minutos y la mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de 100 μl de fase móvil de HPLC ((NH₄)₂HPO₄ 0,05 M). Se tomó una muestra alícuota de la mezcla de reacción y se inyectó sobre un sistema de HPLC radioactivo. El análisis se llevó a cabo en las mismas condiciones cromatográficas que las usadas en el Ejemplo 8. Se confirmó que el pico radioactivo, que eluyó con un tiempo de retención de 11,81 minutos, era el producto del título por co-elución con el estándar de referencia frío en las condiciones analíticas. El rendimiento radioquímico corregido en decaimiento para el producto del título, en base a yoduro de [¹¹C]metilo, se encontró que fue más alto que 90%. El tiempo total para la radiosíntesis, partiendo de [¹¹C]CO₂, estuvo dentro de 20 minutos después del final del bombardeo del ciclotrón.

Ejemplos biológicos

Datos de biodistribución para N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina

Materiales y métodos

5 Se preparó N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina según el Ejemplo 4 (formulación de síntesis ~3% de etanol en solución salina al 0,9% p/v) con una pureza radioquímica de ~99% y, en el momento de la inyección, la actividad específica varió entre 4-16 GBq/nmol⁻¹. Los datos de biodistribución y los datos sanguíneos fueron de 11 ratas Sprague-Dawley macho adultas (intervalo de peso corporal, 269 a 329 g; media ± S.E. = 300 ± 18 g). Se inyectó N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina directamente en la vena de la cola de cada rata mientras estaban bajo anestesia de isoflurano. Se dejó que cada animal se recuperara de la anestesia. En momentos designados después de la inyección, las ratas fueron sacrificadas por dislocación cervical bajo anestesia y se tomaron muestras rápidamente del cerebro y los tejidos corporales.

Biodistribución

15 Los datos fueron adquiridos usando dos síntesis. Se les dio a las ratas una media de ~86 MBq (85,3 MBq para el primer día experimental y 87,3 MBq para el segundo día experimental), en un volumen de 0,20 ml (formulación de síntesis ~3% de alcohol), por inyección intravenosa directa a través de la vena de la cola. La masa de la N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina co-inyectada varió entre 0,7-2,9 nmol.kg⁻¹. Los detalles de la metodología, junto con el procesado y recuento de las muestras se pueden encontrar en Hume et al., Nucl. Med. Biol. (1991) 18:339-351. Los datos fueron normalizados para radioactividad inyectada y el peso corporal, dando:

$$\text{"unidades de incorporación"} = (\text{cpm.g}^{-1} \text{ peso húmeo de tejido}).(\text{cpm.g}^{-1} \text{ de peso corporal inyectados})^{-1}$$

Resultados

25 Los datos de concentración de radioactividad se recopilan adicionalmente en la Tablas 1 (tejido periférico) y 2 (cerebro). Como no se llevaron a cabo estudios de metabolitos, la proporción de la radioactividad total que refleja la marca asociada con la N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina parental no se conoce. Nota, las muestras de sangre y plasma se recogieron post-mortem del ventrículo del corazón.

Distribución en el cuerpo

30 Los datos se resumen en la Tabla 1. De los tejidos tomados como muestras, el músculo esquelético, la piel y los testículos mostraron un bajo contenido inicial de ~0,4 unidades de incorporación, que se conservó durante el curso del experimento. El hueso mostró una alta incorporación inicial de 1,4, que disminuyó hasta ~0,8 durante los 90 minutos del experimento, no sugiriendo evidencias de desfluoración. Se vio una alta incorporación inicial en el pulmón (~30 unidades de incorporación) que se redujo rápidamente a 2 unidades de incorporación, a los 90 minutos. Se observaron perfiles similares en el riñón y el corazón. Se vio una velocidad de pérdida de radioactividad más lenta en el hígado, bazo e intestino.

35 Tabla 1

40 Distribución de radioactividad en órganos periféricos y fluidos corporales de rata en función del tiempo después de la inyección intravenosa de N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina. No se hizo ninguna corrección para el volumen sanguíneo. Los datos son en "unidades de incorporación". La clave para los tejidos es como sigue: 1 hueso, 2 músculo esquelético, 3 piel, 4 orina, 5 grasa, 6 testículos, 7 intestino delgado, 8 contenido del intestino delgado, 9 intestino grueso, 10 contenido del intestino grueso, 11 bazo, 12 hígado, 13 riñón, 14 estómago, 15 pulmón, 16 corazón (ventrículo). También se muestra para comparación datos del plasma (17) a los tiempos de muestras equivalentes.

Tejido	Tiempo, min. (n = nº de puntos de datos)					
	2 (<u>n=1</u>)	5 (<u>n=1</u>)	10 (<u>n=2</u>)	30 (<u>n=3</u>)	60 (<u>n=3</u>)	90 (<u>n=1</u>)
1	1,355	1,440	0,793	1,014 ± 0,019	0,944 ± 0,305	0,889
2	0,288	0,517	0,391	0,487 ± 0,036	0,410 ± 0,096	0,357
3	0,338	0,517	0,248	0,491 ± 0,019	0,435 ± 0,109	0,387
4	0,109	16,760	13,589	49,593 ± 30,733	23,375 ± 18,208	26,947

5	0,199	0,814	0,234	0,613 ± 0,175	0,405 ± 0,358	0,548
6	0,456	0,528	0,363	0,619 ± 0,081	0,605 ± 0,150	0,559
7	4,537	3,845	1,618	2,241 ± 0,617	1,841 ± 0,678	1,942
8	1,390	1,449	1,162	6,002 ± 3,338	10,518 ± 7,766	8,700
9	3,338	3,442	1,359	1,619 ± 0,494	7,291 ± 10,308	0,775
10	0,113	0,148	0,109	0,445 ± 0,035	1,176 ± 1,109	0,764
11	3,985	3,676	3,008	2,713 ± 0,086	1,675 ± 0,135	1,418
12	5,251	5,648	3,199	6,023 ± 0,699	3,659 ± 0,822	2,856
13	12,975	10,113	3,931	3,287 ± 0,208	1,227 ± 0,351	2,127
14	0,843	1,245	0,532	1,558 ± 0,443	2,387 ± 0,195	1,103
15	32,475	25,015	10,229	3,786 ± 0,292	0,505 ± 0,104	2,150
16	6,412	2,761	1,119	0,740 ± 0,019	0,222 ± 0,055	0,464
17	0,264	0,135	0,102	0,229 ± 0,047	1,014 ± 0,019	0,163

Distribución en el cerebro

5 Los datos se resumen en la Tabla 2. Todos los tejidos tuvieron una incorporación inicial relativamente alta de ~4 unidades de incorporación a los 2 minutos después de la inyección IV del radioligando. Esto fue seguido por una disminución gradual en la actividad, alcanzando ~0,4 unidades de incorporación a los 90 minutos después de la inyección del radioligando. Se obtuvo una pequeña señal relativa al cerebelo en el hipocampo y córtex que aumentó de ~0,8 a 1,3 durante los primeros 40 minutos, y que cayó después a 1 a los 90 minutos.

10 El aclaramiento periférico de la N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina fue por el riñón a la orina y por el intestino. El cerebro de rata mostró una alta incorporación de radioactividad en el tiempo más temprano de toma de muestra (2 min) después de la inyección IV de N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina. La heterogeneidad diferencial fue difícil de detectar debido al estado fisiológico "cerrado" o de reposo de los receptores. Mientras el cerebelo mostró la retención más baja después de ~60 min, se vio una pequeña señal en el hipocampo (un área de conocida alta densidad de receptores NMDA; Bowery et al., (1988) Br. J. Pharmacol. 93: 944-954) cuando los datos se expresaron en relación con la radioactividad del cerebelo.

15 Tabla 2

20 Distribución de radioactividad en tejido cerebral de rata en función del tiempo después de la inyección intravenosa de N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoro-etiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina. Los datos son en "unidades de incorporación". Los asteriscos denotan valores medios de 2 o 3 ratas por punto de tiempo. Donde n = 3, se muestran los valores de media ± SD (desviación estándar). Todos los demás valores son de 1 rata por punto de tiempo. La clave para los tejidos es como sigue: 1 tubérculos olfatorios, 2 córtex entorrinal, 3 hipotálamo, 4 tálamo, 5 córtex prefrontal, 6 cuerpo estriado, 7 córtex somatosensorial, 8 hipocampo, 9 córtex occipital, 10 colículo inferior, 11 colículo superior, 12 puente con médula y 13 cerebelo. De nuevo, se muestran datos del plasma (17) para comparación con los datos sanguíneos (18).

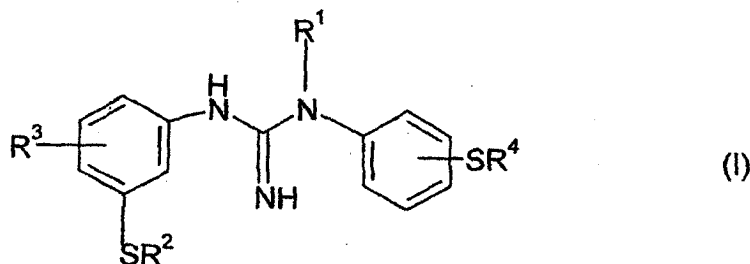
Tejido	Tiempo min. (n = nº de puntos de datos)					
	2 (n=1)	5 (n=1)	10 (n=2)	30 (n=3)	60 (n=3)	90 (n=1)
1	2,826	3,062	1,300	0,981 ± 0,235	0,504 ± 0,062	0,504
2	2,766	2,442	1,404	0,941 ± 0,086	0,502 ± 0,095	0,383
3	3,397	2,443	1,275	1,076 ± 0,250	0,533 ± 0,115	0,466
4	4,460	2,566	1,353	1,415 ± 0,203	0,553 ± 0,108	0,551
5	3,808	3,099	1,649	1,168 ± 0,042	0,519 ± 0,105	0,414

ES 2 435 077 T3

6	2,306	1,817	1,433	1,101 ± 0,202	0,481 ± 0,136	0,485
7	3,531	2,772	1,588	1,037 ± 0,103	0,517 ± 0,107	0,376
8	2,864	2,250	1,396	1,088 ± 0,142	0,548 ± 0,119	0,391
9	4,008	2,883	1,651	1,041 ± 0,067	0,541 ± 0,124	0,423
10	6,716	3,292	1,539	0,841 ± 0,084	0,456 ± 0,079	0,306
11	4,977	3,541	1,677	1,086 ± 0,286	0,486 ± 0,101	0,386
12	3,678	2,877	1,530	1,110 ± 0,129	0,551 ± 0,143	0,406
13	4,204	2,761	1,451	0,919 ± 0,110	0,454 ± 0,082	0,366
17	0,264	0,135	0,102	0,229 ± 0,047	0,222 ± 0,055	0,163
18	0,288	0,261	0,146	0,269 ± 0,042	0,229 ± 0,068	0,180

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



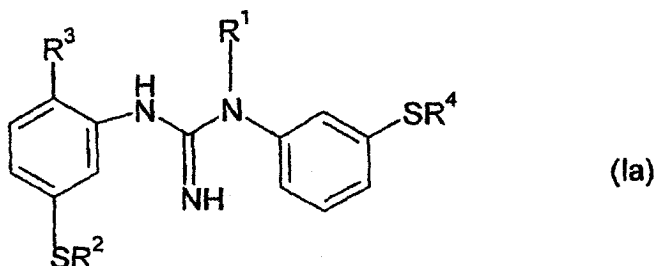
o una sal o solvato del mismo, en donde:

5 R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

R² y R⁴ se seleccionan independientemente cada uno de alquilo C₁₋₄, alquilo [¹¹C]-C₁₋₄, y fluoroalquilo [¹⁸F]-C₁₋₄, a condición de que al menos uno de R² y R⁴ sea alquilo [¹¹C]-C₁₋₄ o fluoroalquilo [¹⁸F]-C₁₋₄; y

R³ es halo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, de fórmula (Ia):



10

o una sal o solvato del mismo, en donde R¹, R², R³ y R⁴ son como se definen en la reivindicación 1.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 o 2, seleccionado de:

N-(2-cloro-5-[¹⁸F]fluorometiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;

N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoroetiltio))-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;

15 N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-[¹⁸F]fluorometiltio)-fenil-N'-metilguanidina;

N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-(2-[¹⁸F]fluoroetiltio))-fenil-N'-metilguanidina;

N-(2-cloro-5-[¹¹C]metiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;

N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-[¹¹C]metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;

N-(2-cloro-5-[¹¹C]etiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina; y

20 N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-[¹¹C]etiltio)-fenil-N'-metilguanidina,

o una sal o solvato de cualquiera de los mismos.

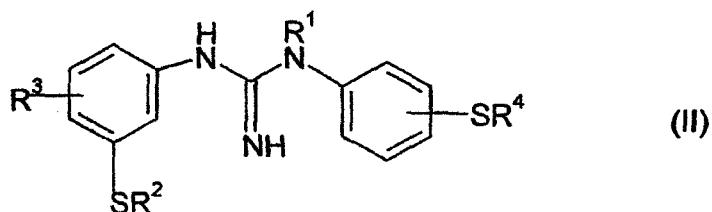
4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que es N-(2-cloro-5-(2-[¹⁸F]fluoroetiltio)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina, o una sal o solvato del mismo.

5. Una formulación radiofarmacéutica que comprende el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

6. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en un método para la diagnosis u obtención de imágenes *in vivo* de una enfermedad mediada por NMDA en un paciente, en donde dicho método comprende la administración de dicho compuesto o una sal o solvato del mismo, y en donde dicha enfermedad mediada por NMDA se selecciona de apoplejía, trauma cerebral o de la médula espinal, epilepsia, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Huntington.

30

7. Un compuesto de fórmula (II):



5 o una sal del mismo, en donde uno de R² o R⁴ es hidrógeno o un grupo protector de tioles, y el otro es hidrógeno, alquilo C₁₋₄, o un grupo protector de tioles; R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄, y R³ es halo, en donde dicho grupo protector de tioles es un grupo arilalquilo.

8. Un compuesto de fórmula (II) según la reivindicación 7, seleccionado de:

N-(5-benciltio-2-cloro)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;

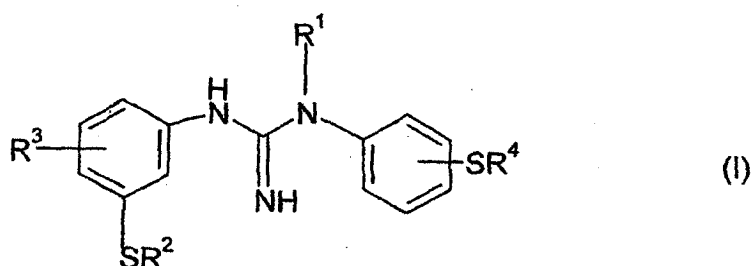
N-(2-cloro-5-mercapto)-fenil-N'-(3-metiltio)-fenil-N'-metilguanidina;

N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-(3-benciltio)-fenil-N'-metilguanidina;

10 N-(2-cloro-5-metiltio)-fenil-N'-3'-tiofenil-N'-metilguanidina;

o una sal de los mismos.

9. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I):



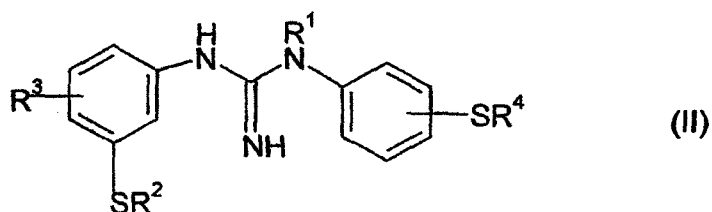
o una sal o solvato del mismo, en donde:

15 R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

R² y R⁴ se seleccionan independientemente cada uno de alquilo C₁₋₄, alquilo [¹¹C]-C₁₋₄, y fluoroalquilo [¹⁸F]-C₁₋₄, a condición de que al menos uno de R² y R⁴ sea alquilo [¹¹C]-C₁₋₄ o fluoroalquilo [¹⁸F]-C₁₋₄; y

R³ es halo;

que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (II):



20 en donde uno de R² o R⁴ es hidrógeno o un grupo protector de tioles, y el otro es hidrógeno, alquilo C₁₋₄, o un grupo protector de tioles; R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄, y R³ es halo, en donde dicho grupo protector de tioles es un grupo arilalquilo;

25 por (i) retirada de cualesquiera grupos protectores de tioles, y (ii) reacción con el haluro de alquilo apropiado [¹¹C]-alquilo C₁₋₄-X o [¹⁸F]-fluoroalquilo C₁₋₄-Y, en donde X e Y son independientemente halo, preferiblemente cloro, yodo o bromo, o un aril- o alquilsulfonato;

en un disolvente adecuado y en presencia de una base.

10. Un kit para la preparación de una formulación radiofarmacéutica, que comprende un compuesto de fórmula (II) como el definido en la reivindicación 7 u 8.