

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 525 932**

51 Int. Cl.:

A61K 51/00 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

C07D 455/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.05.2007 E 07776522 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.10.2014 EP 2012833**

54 Título: **Derivados de dihidrotetrabenazina radiomarcados y su uso como agentes de imagenología**

30 Prioridad:

02.05.2006 US 796518 P

26.03.2007 US 908116 P

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

02.01.2015

73 Titular/es:

**THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA (33.3%)
Center for Technology Transfer 3160 Chestnut Street Suite 200
Philadelphia PA 19104, US;
THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN (33.3%) y
AVID RADIOPHARMACEUTICALS INC. (33.3%)**

72 Inventor/es:

**KUNG, HANK F.;
KUNG, MEI-PING;
KILBOURN, MICHAEL y
SKOVRONSKY, DANIEL M.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 525 932 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

Derivados de dihidrotetrabenazina radiomarcados y su uso como agentes de imagenología

Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a novedosos compuestos bioactivos, procedimientos de diagnóstico imagenológico usando compuestos radiomarcados, y procedimientos de preparación de compuestos radiomarcados.

Técnica anterior

10 Los sistemas neuronales de monoamina, es decir, neurotransmisores serotoninérgicos, dopaminérgicos y adrenérgicos, participan en diversos trastornos neurológicos y psiquiátricos. Son muy conocidos diferentes tipos de agentes terapéuticos dirigidos a estos sistemas neuronales como la base farmacológica para el tratamiento. La evaluación de la inervación de estos sistemas neuronales es esencial e importante para el entendimiento de la patofisiología, y para controlar el progreso del tratamiento del paciente. Recientemente se han desarrollado nuevos y poderosos procedimientos de imagenología que permiten evaluar el cerebro vivo y así controlar la eficacia de fármacos y sustancias que afectan la química del cerebro. Procedimientos tales como tomografía de emisión de positrones (TEP) y tomografía de emisión monofotónica (SPECT) implican la administración a un paciente de sustancias marcadoras radiactivas que comprenden un ligando que se une a neuroreceptores presinápticos o postsinápticos en el cerebro del paciente. Se miden las emisiones (principalmente rayos gamma que son emitidos de los positrones o fotones emitidos del marcador radiactivo). Estas emisiones son indicativas del número y grado de ocupación o bloqueo de los neuroreceptores. El número de neuroreceptores y el grado de ocupación o bloqueo se calcula utilizando un modelo matemático, y se compara con un control intraindividual o interindividual, para determinar el grado de respuesta al fármaco. El tratamiento posterior del paciente con fármacos puede basarse en las comparaciones hechas.

15 Los sistemas neuronales del SNC pueden recibir neurotransmisores selectivos, tales como dopamina, serotonina, norepinefrina, etc., tanto de plasma como de la hendidura sináptica. Este procedimiento de recaptación se logra por un mecanismo de transporte selectivo basado en un receptor de recaptación específico sobre el tipo específico de terminación neuronal presináptica. Sin embargo, una vez los transmisores están dentro del tipo específico de neurona, un segundo transportador o mecanismo de recaptación y almacenamiento es responsable de guardar y encapsular los neurotransmisores en vesículas (o gránulos).

20 El segundo mecanismo de transporte, a diferencia de aquel para la recaptación presináptica, se basa en un transportador dependiente de ATP común que reside sobre la superficie de las vesículas. Los segundos transportadores son no selectivos y son eficaces para catecolaminas, serotonina e histamina. Los neurotransmisores guardados en las vesículas se protegen de la degradación por monoamina oxidasas (MAO) en el citosol. Cuando las transmisiones neurales se inducen por señales eléctricas, las vesículas en las neuronas presinápticas se fusionan con la membrana y los neurotransmisores almacenados son liberados en la hendidura sináptica para la unión al receptor postsináptico, que conduce a otra transducción de señales.

25 La reserpina es un producto natural que inhibe el mecanismo de captación-almacenamiento de monoamina de gránulos de amina en la sinapsis. La tetrabenazina, 3-(2-metilpropil)-9,10-dimetoxi-1,3,4,6,7,11b-hexahidro-2H-benzo[a]quinolizina-2-ona (TBZ), es un análogo de la reserpina que muestra un perfil biológico similar. Debido a su capacidad para reducir las monoaminas en el SNC, ambas se usaron como agentes antipsicóticos en los años 50 (Cooper J. R., Bloom F. E., Ruth R. H., en *Biochemical Basis of Neurochemistry*, 5ª ed., Oxford University Press, New York, 1986, p. 290; Neumeyer J. L., *Neuroleptics and Axiolytic Agents*, en *Principles of Medicinal Chemistry*, Foye, W. O., ed. Lea y Febiger, Philadelphia, Pa., 1981; Kaiser C., Setler P. E., *Antipsycotic Agents*, Burger's Medicinal Chemistry, 4ª ed. Wolf M. E., ed. Wiley-Interscience, New York, 1981, pág. 860-964). La reducción de catecolaminas y serotonina en el cerebro por reserpina es de larga duración y el mecanismo de almacenamiento se daña irreversiblemente. La tetrabenazina produce un efecto similar; sin embargo, los efectos del fármaco de TBZ son de una duración más corta y no producen daño irreversible a las neuronas (Cooper J. R., y col., en *Biochemical Basis of Neurochemistry*; y Neumeyer J. L. en *Principles of Medicinal Chemistry*). Los estudios clínicos parecen sugerir que el tratamiento de pacientes con TBZ con hasta 300 mg al día mejoraron la discinesia tardía en varios ensayos (Neumeyer J. L.).

30 Recientemente, se ha usado [³H]dihidro-TBZ (2-hidroxi-3-(2-metilpropil)-9,10-dimetoxi-1,3,4,6,7,11b-hexahidro-2H-benzo[a]quinolizina) como marcador selectivo para el sistema de transporte de monoaminas *in vitro*. Recientemente se ha publicado una recapitulación detallada del uso de [³H]dihidro-TBZ y [³H]reserpina como ligandos para la investigación *in vitro* del transportador de monoaminas de gránulos cromafines y vesículas sinápticas del SNC (Henry, J. P., Scherman D., *Radioligands of the vesicular monoamine transporter and their use as markers of monoamine storage vesicles (Commentary) Biochem. Pharmacol.*, 38:2395-2404, 1989). Estudios de unión *in vitro* de [³H]dihidro-TBZ usando membranas de gránulos cromafines y muestras de tejido cerebral demostraron una alta afinidad de unión ($K_d = 2-9$ nM) (Darchen F., Masuo Y., Vial M., Rostene W., Scherman D., *Quantitative autoradiography of the rat brain vesicular monoamine transporter using the binding of [3H]dihydro-tetrabenazine and*

7-amino-8-[125I]iodoketanserin, *Neurosci.*, 33:341-349, 1989; Meshgin-Azarian S., Chang W., Cugier D. L., Vincent M. S., Near J. A., Distribution of [3H]dihydro-tetrabenazine binding in bovine striatal subsynaptic fractions: Enrichment of higher affinity binding in a synaptic vesicle fraction. *J. Neurochem.* 50:824-830, 1988; Near J. A., [3H]Dihydro-tetrabenazine binding to bovine striatal subsynaptic vesicles, *Mol. Pharmacol.*, 30:252-257, 1986; Scherman D., Raisman R., Ploska A., Agid Y., [3H]Dihydro-tetrabenazine, a new in vitro monoaminergic probe for human brain, *J. Neurochem.*, 50:1131-1136, 1988; Suchi R., Stem-Bach Y., Gabay T., Schuldiner S. Covalent modification of the amine transporter with N,N'-dicyclohexylcarbodiimide, *Biochem.*, 30:6490-6494, 1991).

La distribución regional de los sitios de unión de dihidro-TBZ en secciones del cerebro se correspondieron con los cuerpos celulares de monoamina y terminaciones nerviosas en secciones de cerebro normales y lesionadas (Masuo Y., Pelaprat D., Scherman D., Rostene W., [3H]Dihydro-tetrabenazine, a new marker for the visualization of dopaminergic denervation in the rat stratum. *Neurosci. Lett.*, 114:45-50, 1990). Se ha informado de diversos derivados de TBZ (Kaiser C. y Setler P. E. en *Burger's Medicinal Chemistry*; Neumeyer J. L., en *Principles of Medicinal Chemistry*; Clarke F. H., Hill R. T., Koo J., Lopano R. M., Maseda M. A., Smith M., Soled S., VonVeh G., Vlattas I., A series of hexahydro[1,4]oxazino[3,4-a]isoquinolines as potential neuroleptics, *J. Med. Chem.* 21:785-791, 1978; Saner A., Pletscher A., A benzo[a]quinoline derivative with a neuroleptic-like action on cerebral monoamine turnover. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 203:556-563, 1977; Lednicer D., Mitscher L. A. *The Organic Chemistry of Drug Synthesis*, Wiley-Interscience Inc., New York, 1977, pp 349-361; Fahrenholtz K. E., Capomaggi A., Lurie M., Goldberg M. W., Kierstead R. W. Octahydrophenanthrene analogs of tetrabenazine, *J. Med. Chem.* 9:304-310, 1967; Hamden M. R., Short J. H. 2-Thiol-1,3,4,6,7,11b-hexahydro-9,10-dimethoxy-2H-benzo[a]quinolizines. *J. Med. Chem.*, 10:1183-1184, 1967; Tretter J. R., patente de EE.UU. n° 3.053.845; Pletscher A., Brossi A., Gey K. F. Benzoquinoline derivatives: A new class of monoamine decreasing drugs with psychotropic action, *Rev. Neurobiol.*, 4:275-302, 1962; Brossi A., Lidlar H., Walter M., Schnider O. 16. *Synthesenversuche in der Emetin-Reihe*. 1. Mitteilung. 2-Oxo-hydrobenz[a]chilazine, *Helv. Chim. Acta.*, 41:119-139, 1958). La reducción de la cetona a dihidro-TBZ no afecta la afinidad de unión. Los derivados de alcohol alquilado también mostraron alta potencia. Además, también se ha mostrado que el derivado de acetilo de dihidro-TBZ retiene alta afinidad por el transportador (Scherman D., Gasnier B., Jaudon P., Henry J. P. Hydrophobicity of the tetrabenazine-binding site of the chromaffin granule monoamine transporter, *Mol. Pharmacol.*, 33:72-77, 1988).

Hay dos transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT): VMAT1, encontrado en el tejido suprarrenal, y VMAT2. Cuando se localiza en el cerebro, el VMAT2 neuronal es una parte integral del mecanismo para el almacenamiento vesicular de neurotransmisores de monoamina en las neuronas del cerebro. A diferencia de la situación en la membrana sináptica, en la que hay transportadores específicos para la recaptación activa de dopamina, serotonina o norepinefrina de la sinapsis, el movimiento de monoaminas (dopamina, serotonina y norepinefrina) del citosol a la luz vesicular es mediante un transportador dependiente de ATP común. Por tanto, la imagenología de VMAT2 en el cerebro proporciona una medida que refleja la integridad (número total) de las tres neuronas monoaminérgicas (Albin R, Koeppe R., Rapid loss of striatal VMAT2 binding associated with onset of Lewy body dementia, *Mov Disord.*, 2006:21:287-88.) El usar VMAT2 como marcador de poblaciones neuronales identificadas ha sugerido degeneración selectiva de la proyección de neuronas en el cuerpo estriado de enfermedad de Huntington (Frey KA, Koeppe RA, Kilbourn MR., *Adv. Neurol.*; 86:237-47; Bohnen NI, Albin RL, Koeppe RA, Wernette KA, Kilbourn MR, Minoshima S, Frey KA., *J. Cereb Blood Flow Metab.* (en prensa)).

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno del movimiento caracterizado por temblor y discinesia. La degeneración de neuronas de dopamina nigroestriatal desempeña una función central en la EP. Actualmente, se está persiguiendo activamente el desarrollo de agentes neuroprotectores para ralentizar o prevenir la progresión de esta enfermedad. Hay una necesidad imperiosa de agentes de imagenología de TEP (tomografía de emisión de positrones) y SPECT (tomografía de emisión monofotónica) para el diagnóstico temprano y control de la progresión de la EP (Tatsch K., Can SPET imaging of dopamine uptake sites replace PET imaging in Parkinson's disease?, *For, Eur J Nucl Med Mol Imaging.*, 2002:29:711-14.) Basándose en mecanismos de localización, los actuales agentes de imagenología de PET y SPECT para EP pueden dividirse generalmente en tres categorías diferentes: 1. Actividad enzimática (aminoácido descarboxilasa aromática, AADC); 2. Transportadores de dopamina (DAT); 3. Transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT2).

La 6-fluoro-dopa (FDOPA) marcada con ¹⁸F fue el primer agente de imagenología de TEP para la EP y sigue siendo un agente de TEP comúnmente usado. Es un sustrato falso para la aminoácido descarboxilasa aromática (AADC), la primera etapa de la síntesis de la dopamina. La imagenología de TEP con [¹⁸F]6-FDOPA proporciona un atisbo de función neuronal - síntesis *in situ* de dopamina (o la ausencia de la misma) (Brooks DJ., Monitoring neuroprotection and restorative therapies in Parkinson's disease with PET, *J. Neural. Transm. Suppl.*, 2000:60:125-37; Brooks DJ., The early diagnosis of Parkinson's disease, *Ann Neurol.*, 1998:44:S10-S18).

La AADC no solo se localiza en neuronas dopaminérgicas, sino también en otras células del cerebro. En el cerebro de pacientes con EP, la enzima AADC está frecuentemente regulada por incremento y los metabolitos periféricos, derivados O-metilados, también serán recibidos en el cerebro contribuyendo al ruido de fondo. La imagenología de [¹⁸F]6-FDOPA refleja la pérdida de función neuronal relacionada con AADC, y puede subestimar el grado de pérdida neuronal debido a cambios compensatorios (Tatsch K., *Eur J Nucl Med Mol Imaging*; Frey KA. Can SPET imaging of dopamine uptake sites replace PET imaging in Parkinson's disease? *Against, Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2002:29:715-17; Lee CS, Samii A, Sossi V, Ruth TJ, Schulzer M, Holden JE, Wudel J, Pal PK, de la Fuente-

Fernandez R, Calne DB, Stoessl AJ., In vivo positron emission tomographic evidence for compensatory changes in presynaptic dopaminergic nerve terminals in Parkinson's disease, *Ann. Neurol.*, 2000;47:493-503).

En los últimos diez años ha habido una plétora de agentes de imagenología de DAT, la mayoría de los cuales son derivados de tropano (o cocaína) que tienen grados variables de afinidad por transportadores de serotonina y norepinefrina (Meegalla SK, Plössl K, Kung M-P, Stevenson DA, Mu M, Kushner S, Liable-Sands LM, Rheingold AL, Kung HF. Specificity of diastereomers of [99mTc]TRODAT-1 as dopamine transporter imaging agents, *J. Med. Chem.*, 1998;41:428-36; Mozley PD, Schneider JS, Acton PD, Plössl K, Stem MB, Siderowf A, Leopold NA, Li PY, Alavi A, Kung HF, Binding of [99mTc]TRODAT-1 to dopamine transporters in patients with parkinson's disease and in healthy volunteers, *J. Nucl. Med.*, 2000;41:584-89). Un informe reciente indicó las deficiencias en la imagenología de la EP basándose en marcadores de DAT, que resaltaron la necesidad urgente de agentes de imagenología que pudieran diagnosticar y predecir de manera fiable el progreso de esta enfermedad neurodegenerativa (Ravina B, Eidelberg D, Ahlskog JE, Albin RL, Brooks DJ, Carbon M, Dhawan V, Feigin A, Fahn S, Guttman M, Gwinn-Hardy K, McFarland H, Innis R, Katz RG, Kieburtz K, Kish SJ, Lange N, Langston JW, Marek K, Morin L, Moy C, Murphy D, Oertel WH, Oliver G, Palesch Y, Powers W, Seibyl J, Sethi KD, Shults CW, Sheehy P, Stoessl AJ, Holloway R., The role of radiotracer imaging in Parkinson disease, *Neurology*, 2005;64:208-15).

Como alternativa, se han desarrollado satisfactoriamente derivados de TBZ (tetrabenazina) marcados con ^{11}C que eligen VMAT2 como diana y probado en seres humanos (Albin RL, Koeppe RA, Bohnen NI, Nichols TE, Meyer P, Wernette K, Minoshima S, Kilbourn MR, Frey KA., Increased ventral striatal monoaminergic innervation in Tourette syndrome, *Neurology*, 2003;61:310-5). Datos en animales sugirieron fuertemente que la [^{11}C](+)-DTBZ (dihidrotetrabenazina) es menos sensible a los fármacos que afectan los niveles de dopamina en el cerebro; por tanto, refleja con más exactitud la concentración de neuronas de monoamina viables (Kilbourn MR, Frey KA, Vander Borght T, Sherman PS., Effects of dopaminergic drug treatments on in vivo radioligand binding to brain vesicular monoamine transporters, *Nucl Med Biol.*, 1996;23:467-71; Frey KA, Koeppe RA, Kilbourn MR. Imaging the vesicular monoamine transporter, *Adv. Neurol.*, 2001;86:237-47; Bohnen NI, Albin RL, Koeppe RA, Wernette KA, Kilbourn MR, Minoshima S, Frey KA. Positron emission tomography of monoaminergic vesicular binding in aging and Parkinson disease, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2006: en prensa; Lee CS, Schulzer M, de la Fuente-Fernandez R, Mak E, Kuramoto L, Sossi V, Ruth TJ, Calne DB, Stoessl AJ., Lack of regional selectivity during the progression of Parkinson disease: implications for pathogenesis, *Arch. Neurol.*, 2004;61:1920-5). El isómero ópticamente resuelto, [^{11}C](+)-DTBZ (marcado en la posición de 9-MeO), es un excelente marcador de TEP para medir VMAT2 en el cerebro (Kilbourn MR, Lee LC, Heeg MJ, Jewett DM., Absolute configuration of (+)-alpha-dihidrotetrabenazina, an active metabolite of tetrabenazina, *Chirality*, 1997;9:59-62; Frey KA, Koeppe RA, Kilbourn MR, Vander Borght TM, Albin RL, Gilman S, Kuhl DE., Presynaptic monoaminergic vesicles in Parkinson's disease and normal aging; *Ann. Neurol.* 1996;40:873-84).

Los transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT2) también se expresan en células beta en el páncreas. Se ha determinado el número total de sitios de unión para VMAT2 en el páncreas humano. $B_{\text{máx}} = 0,2 \text{ nM}$ que se traduce en 12 fmol/mg de proteína en células beta. Hay aproximadamente 1.000.000 células beta en el páncreas humano (Maffei, A, Z Liu, P Witkowski, y col. "Identification of tissue-restricted transcripts in human islets". *Endocrinology* 145:4513, 2004). La insuficiente masa de células beta (MCB) es un estado patofisiológico de tanto diabetes tipo 1 (T1D) como tipo 2 (T2D). Millones de estadounidenses padecen diabetes. Además de estos, muchos millones más tienen prediabetes, una afección que aumenta significativamente el riesgo de desarrollar T2D, enfermedad cardíaca y accidente cerebrovascular. La diabetes es una causa frecuente de tanto ceguera adquirida como insuficiencia renal en adultos y es un factor de riesgo importante para tanto enfermedad cardíaca como accidente cerebrovascular. Así, la diabetes representa una carga importante para la salud pública y de rápido crecimiento.

La diabetes mellitus es un espectro de trastornos que comparten todos una anomalía común de elevados niveles de glucosa en sangre. Aunque las causas iniciales de esta anomalía son variadas (incluyendo autoinmunidad, factores de riesgo genéticos, obesidad, embarazo, fármacos, etc.), el resultado final común es una insuficiencia relativa de insulina, es decir, las células beta pancreáticas no producen suficiente insulina para cumplir las demandas metabólicas (Olefsky, 2001). Los dos tipos más comunes de diabetes son diabetes tipo I (T1D) y diabetes tipo 2 (T2D).

La T1D normalmente se produce en niños o adultos jóvenes y representa menos del 10 % de todos los casos de diabetes. La T1D se produce por destrucción autoinmunitaria de células beta que conduce a insuficiencia de la secreción de insulina. Este proceso puede durar años en manifestarse, y durante la etapa preclínica los anticuerpos autoinmunitarios dirigidos contra células beta pueden detectarse en pacientes afectados. Así, en fases tempranas de la enfermedad, la modulación inmunitaria puede desempeñar una función importante en el tratamiento, mientras que en etapas posteriores el tratamiento requerirá sustitución de células beta tanto mediante estrategias regenerativas como de trasplante.

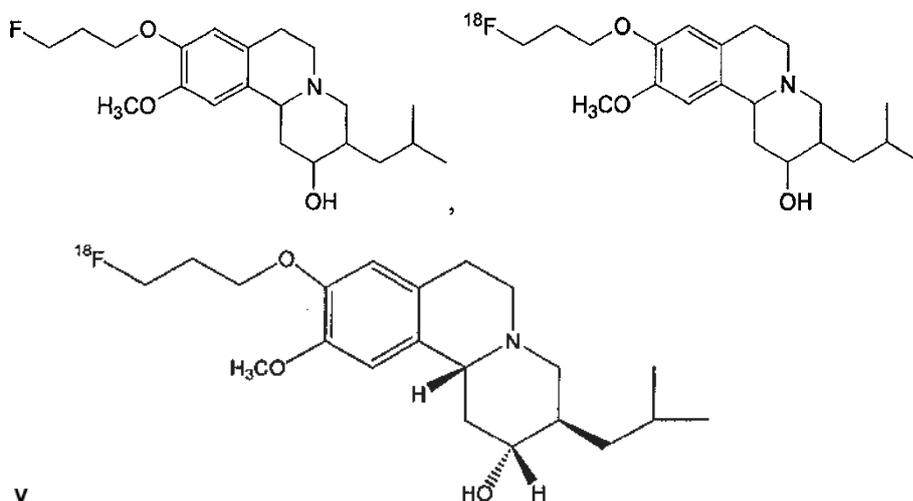
La T2D es un trastorno poligénico heterogéneo que representa aproximadamente el 90 % de todos los casos de diabetes. Además de los factores de riesgo genéticos, la obesidad, falta de actividad física y envejecimiento son factores de riesgo importantes para T2D. La T2D se caracteriza por resistencia a la insulina, un defecto que está presente durante años en el estado preclínico (prediabetes). Esta resistencia a la insulina conduce a aumentos

5 compensatorios en la producción de insulina por células beta en prediabéticos. Con el tiempo, en algunos pacientes, la función de las células beta disminuye entonces, conduciendo a insuficiencia relativa de insulina (Butler y col., 2003). De hecho, series de autopsias revelan que la MCB se reduce el 50 – 60 % en pacientes con T2D en comparación con controles (recapitulado en Porte y Kahn, 2001; Prentki y Nolan, 2006). Esta pérdida de células beta puede ser una etapa clave en la patogénesis de diabetes T2D, ya que un estudio longitudinal en indios Pima sugirió que era esa insuficiencia de las células beta en vez de la resistencia a la insulina el determinante primario de la progresión de prediabetes a diabetes (Weyer y col., 1999). Así, en T2D, la resistencia a la insulina superpuesta a la insuficiencia de las células beta y la alteración de la secreción de insulina conducen a hiperglucemia descompensada y diabetes. Los tratamientos que modifican la enfermedad para T2D deben elegir como diana tanto la insuficiencia de las células beta como la resistencia a la insulina con el fin de ser más eficaces (Olefsky, 2001).

10 El documento US5278308 (A) desvela derivados de yodo de tetrabenazina (3-(2-metilpropil)-9,10-dimetoxi-1,3,4,6,7,11b-hexahidro-2H-benzo[a]quinolizina-2-ona, TBZ,1) que son útiles como agentes de imagenología para la evaluación del sistema neuronal del sistema nervioso central (SNC).

Breve resumen de la invención

15 La presente invención proporciona compuestos novedosos de



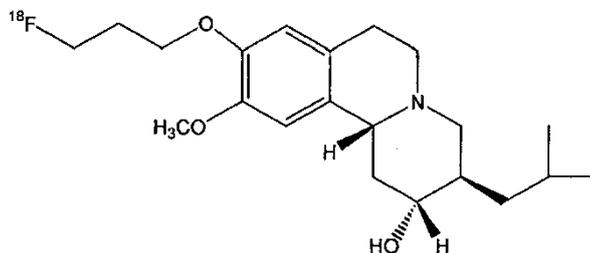
y

que son útiles para la imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas.

En un aspecto, los compuestos son agentes de imagenología de TEP útiles.

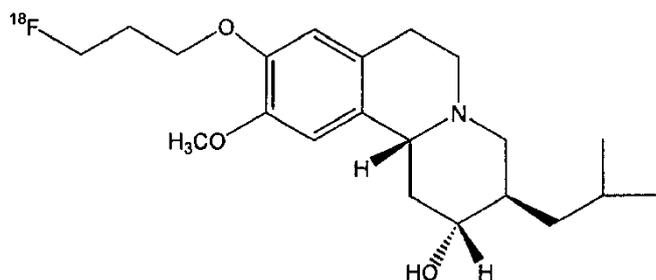
20 En otro aspecto, los compuestos son agentes de imagenología de SPECT útiles.

La presente invención también proporciona composiciones de diagnóstico para la imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas que comprenden un compuesto radiomarcado



y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

25 La invención proporciona además un procedimiento de imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas, comprendiendo el procedimiento introducir en un paciente una cantidad detectable de un compuesto marcado



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a procedimientos y productos intermedios útiles para sintetizar los compuestos de imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas de la invención.

- 5 La divulgación también se refiere a un procedimiento de control del estado, cantidad, cambio de o progresión de un trastorno o enfermedad relacionado con transportadores vesiculares de monoaminas.

Breve descripción de las figuras

10 La FIG. 1 muestra la separación de estereoisómeros de FP-(±)-DTBZ (también denominada en el presente documento "6b" o "(±)-6b") en una columna AD quirral con hexanos/isopropanol (9/1) como disolvente de elución (velocidad de flujo de 1 ml/min). La relación de los dos estereoisómeros principales (picos 3 y 4) con respecto a los picos secundarios (picos 1 y 2) es 5:1. La resolución óptica de FP-(+)-DTBZ (2R, 3R, 11bR) (también denominada en el presente documento "(+)-6b") alcanzó el 98 % (mostrada como el pico 3) y el isómero FP-(-)-DTBZ mostró un pico principal (pico 4, 90 %) con un pico contaminante (pico 1, 10 %).

15 La FIG. 2 representa una autorradiografía *ex vivo* de un cerebro de ratón normal que revela la localización anatómica de sitios de VMAT marcados con [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ. Se inyectaron 500 μCi de [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ en un ratón ICR normal y el ratón se sacrificó 30 minutos después de la inyección. Sitios marcados de alta densidad reflejan la distribución regional de neuronas monoaminérgicas en el cerebro: CPu, putamen caudado; OT, tubérculo olfatorio; Ac, núcleo accumbens; Hy, núcleo hipotalámico; SN, sustancia negra; DR, rafe dorsal; MR, rafe medio; LC, locus cerúleo.

20 La FIG. 3 representa una autorradiografía *ex vivo* (30 minutos después de la inyección) de [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ que diferencia el lado lesionado (L, indicado por una flecha) del lado no lesionado (N) en los cerebros de ratones lesionados unilateralmente con 6-OH-DA. Se inyectaron 300 μCi de [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ y los animales se sacrificaron 30 minutos después de la inyección.

25 La FIG. 4 representa un barrido autorradiográfico de localización *in vitro* en el cerebro de ratón de un compuesto representativo, 6b, de la presente invención. Se incubaron secciones a TA durante 90 min con [¹⁸F]6b 1,2 nM o [³H](±)DTBZ 4,6 nM. CPu: putamen caudado; Acb: núcleo accumbens; Of. Tu.: tubérculo olfatorio

La FIG. 5 representa separación por HPLC quirral de (+)-6b de una mezcla racémica.

La FIG. 6 representa datos que muestran que la captación de (+)-6b es reducida en ratones diabéticos, que se correlaciona con una menor MCB en estados diabéticos.

30 La FIG. 7 representa imagenología de micro-TEP de babuino después de inyección i.v. de [¹⁸F]FP-(+)-6b (7 mCi de inyección); datos recogidos entre 70-90 min que muestran captaciones por el cuerpo estriado y sin indicación de captación por el cráneo (hueso).

La FIG. 8 representa la unión *in vitro* de [¹⁸F]-(+)-6b a homogeneizados de células de los islotes que indican que la unión es específica y saturable.

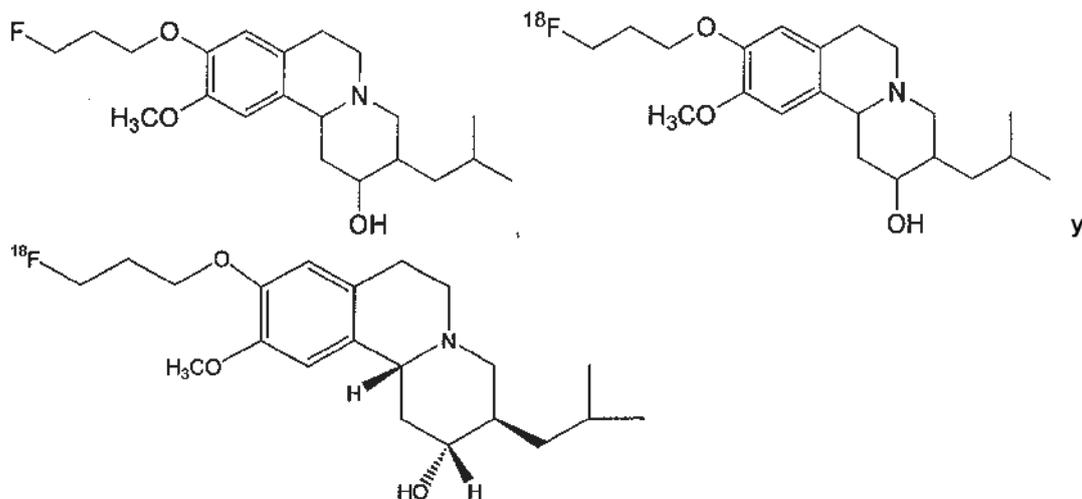
35 La FIG. 9 representa las estructuras y datos de unión de ciertos compuestos de la invención.

La FIG. 10 representa las estructuras y datos de unión (K_i de la unión de ³H-TBZ a VMAT2 (homogeneizados de cuerpo estriado de rata)) de ciertos derivados de fluoropropilceto y epóxido de la invención.

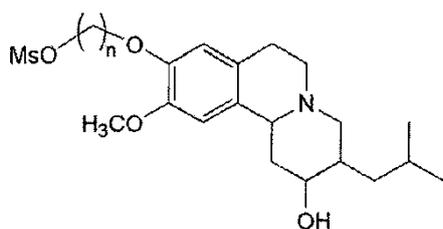
Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a compuestos

40



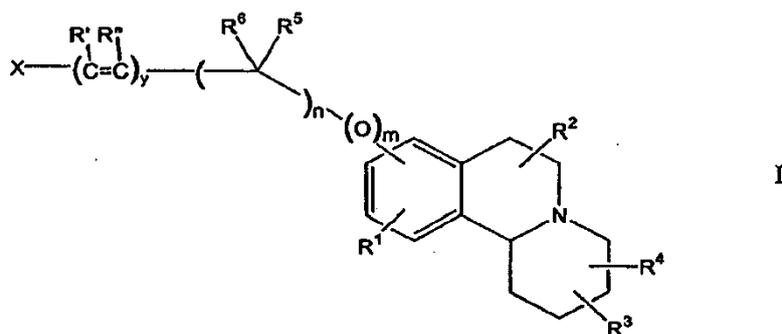
y a sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. La presente invención también se refiere a compuestos de fórmula



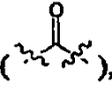
5

en la que Ms es metanosulfonylo y n es 2 o 3.

En el presente documento se describen compuestos de la siguiente fórmula I:



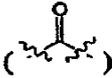
10 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que: n es un número entero de 0 a 10; m es 1 o 0; y es 1 o 0; X es halógeno; R¹ y R² son independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₅, aminoalquilo (C₁₋₅), haloalquilo (C₁₋₄),

mono- o di-alquil (C₁₋₅)amino, haloarilalquilo, alcoxi C₁₋₅; R³ es ceto () , un anillo de epóxido () ,

hidroxi, hidrógeno, aminoalquilo (C₁₋₅), mono- o di-alquil (C₁₋₅)amino, alcoxi C₁₋₅ o alquilo C₁₋₄; R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₁₀, aminoalquilo (C₁₋₅), mono- o di-alquil (C₁₋₅)amino; y cuando están presentes, R', R'', R⁵ y R⁶ son independientemente hidrógeno, hidroxi, hidroxialquilo (C₁₋₅) o alquilo C₁₋₅.

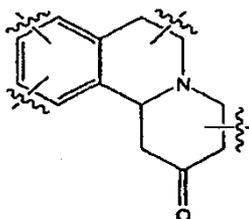
15 Valores útiles de X incluyen cualquier halógeno. En este ejemplo es preferible que el halógeno sea un radiohalógeno. Radiohalógenos incluyen ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, ¹⁸F, ¹⁹F, ⁷⁶Br y ⁷⁷Br. Más preferentemente, X es ¹⁸F o ¹²³I. En un ejemplo, los compuestos más preferidos de fórmula I son aquellos compuestos en los que X es ¹⁸F. Estos compuestos son particularmente útiles para la imagenología de TEP. En otro ejemplo, los compuestos más preferidos de fórmula I son aquellos compuestos en los que X es ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, particularmente ¹²³I. Estos

20 compuestos son particularmente útiles para imagenología de SPECT.

Valores útiles de R^3 incluyen aquellos enumerados anteriormente. Preferentemente, R^3 es ceto () , anillo de epóxido () , o hidroxilo. Lo más preferentemente, R^3 es hidroxilo. Si R^3 es ceto () ,

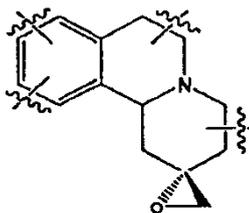
el O está doblemente unido a uno cualquiera de los carbonos del anillo disponibles. Así, por ejemplo, estos compuestos pueden tener el siguiente andamiaje de anillo, que contiene sustituyentes como se describen en el presente documento:

5



Si R^3 es un anillo de epóxido () , el O está unido a uno cualquiera de los carbonos del anillo disponibles, además de un grupo metileno que también está unido al mismo carbono del anillo para formar el sistema de anillos de 3 miembros. Así, por ejemplo, estos compuestos pueden tener el siguiente andamiaje de anillo, que contiene sustituyentes como se describen en el presente documento (que muestran estereoquímica preferida):

10



Valores útiles de R^4 incluyen todos aquellos enumerados anteriormente. Valores preferidos incluyen alquilo C_{1-10} , aminoalquilo (C_{1-5}) y mono- o di-alquil (C_{1-5})amino. Lo más preferentemente, R^4 es alquilo C_{1-5} , y más específicamente isobutilo.

15 Valores útiles de R^1 incluyen todos aquellos enumerados anteriormente. Valores preferidos incluyen aminoalquilo (C_{1-5}), mono- o di-alquil (C_{1-5})amino y alcoxi C_{1-5} . Más preferentemente, R^1 es alcoxi C_{1-5} . Lo más preferentemente, R^1 es metoxi.

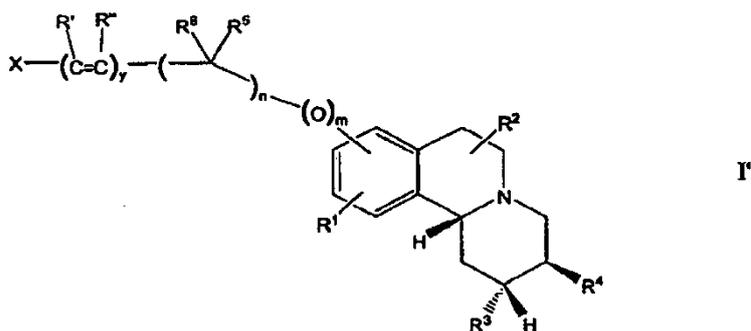
Valores útiles de R^2 incluyen todos aquellos enumerados anteriormente. En ejemplos preferidos, R^2 es hidrógeno.

20 Valores útiles de R^5 y R^6 incluyen hidroxilo, hidrógeno y alquilo C_{1-5} . El número de apariciones de R^5 y R^6 depende del valor de n. Si R^5 y R^6 aparecen más de una vez, cada aparición es independiente de la otra. En ejemplos preferidos, al menos uno de R^5 y R^6 es hidrógeno. Lo más preferentemente, R^5 y R^6 son ambos hidrógeno en cada aparición.

25 Valores útiles de m y n son todos aquellos enumerados anteriormente. El valor de m, en cada caso, es independiente con respecto al valor de n. En los compuestos de fórmula I, valores preferidos de n son números enteros de 1 a 6. Más preferentemente, n es un número entero de 1 a 4. Lo más preferentemente, n es 2, 3 o 4. Los valores útiles de m incluyen 1 o 0. Sin embargo, en un ejemplo preferido, si m es 0, n también es 0.

Valores útiles de y incluyen 1 y 0. Preferentemente, y es 0.

En el presente documento también se describen compuestos de fórmula I que tienen la siguiente estructura estereoquímica, fórmula I':



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que: n es un número entero de 0 a 10; m es 1 o 0; y es 1 o 0; X es halógeno; R¹ y R² son independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₅, aminoalquilo (C₁₋₅), haloalquilo (C₁₋₄),

5 mono- o di-alquil (C₁₋₅)amino, haloarilalquilo, alcoxi C₁₋₅; R³ es hidroxilo, ceto, un anillo de epóxido (), hidrógeno, aminoalquilo (C₁₋₅), mono- o di-alquil (C₁₋₅)amino, alcoxi C₁₋₅ o alquilo C₁₋₄; R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁₋₁₀, aminoalquilo (C₁₋₅), mono- o di-alquil (C₁₋₅)amino; y cuando están presentes, R', R'', R⁵ y R⁶ son independientemente hidrógeno, hidroxilo, hidroxialquilo (C₁₋₅) o alquilo C₁₋₅.

10 Valores útiles de X incluyen cualquier halógeno. En este ejemplo, es preferible que el halógeno sea un radiohalógeno. Radiohalógenos incluyen ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, ¹⁸F, ¹⁹F, ⁷⁶Br y ⁷⁷Br. Más preferentemente, X es ¹⁸F o ¹²³I. En una realización, los compuestos más preferidos de fórmula I' son aquellos compuestos en los que X es ¹⁸F. Estos compuestos son particularmente útiles para la imagenología de TEP. En otro ejemplo, los compuestos más preferidos de fórmula I' son aquellos compuestos en los que X es ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, particularmente ¹²³I. Estos compuestos son particularmente útiles para la imagenología de SPECT.

15 Valores útiles de R³ incluyen aquellos enumerados anteriormente. Lo más preferentemente, R³ es ceto, hidroxilo o un anillo de epóxido ().

Valores útiles de R⁴ incluyen todos aquellos enumerados anteriormente. Valores preferidos incluyen alquilo C₁₋₁₀, aminoalquilo (C₁₋₅) y mono- o di-alquil (C₁₋₅)amino. Lo más preferentemente, R⁴ es alquilo C₁₋₅, y más específicamente isobutilo.

20 Valores útiles de R¹ incluyen todos aquellos enumerados anteriormente. Valores preferidos incluyen aminoalquilo (C₁₋₅), mono- o di-alquil (C₁₋₅)amino y alcoxi C₁₋₅. Más preferentemente, R¹ es alcoxi C₁₋₅. Lo más preferentemente, R¹ es metoxi.

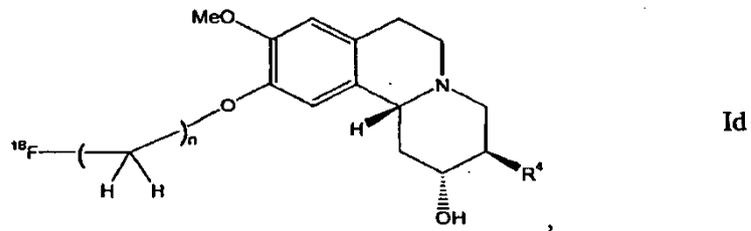
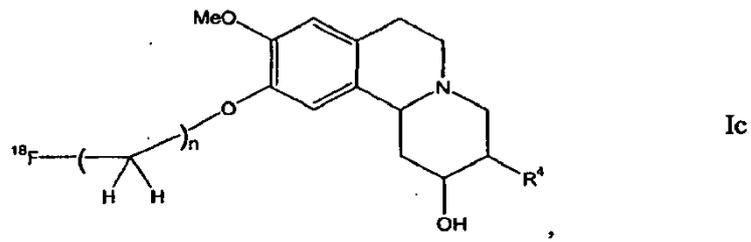
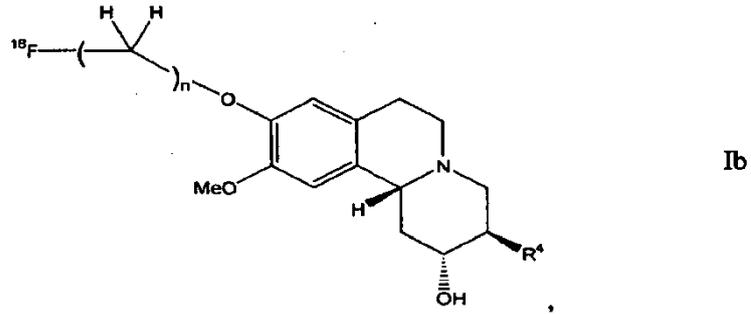
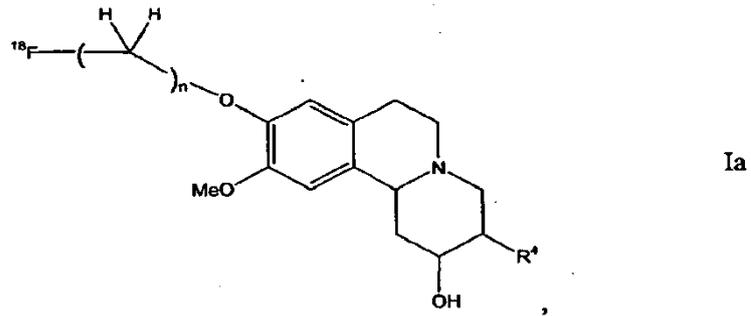
Valores útiles de R² incluyen todos aquellos enumerados anteriormente. En ejemplos preferidos, R² es hidrógeno.

25 Valores útiles de R⁵ y R⁶ incluyen hidroxilo, hidrógeno y alquilo C₁₋₅. El número de apariciones de R⁵ y R⁶ depende del valor de n. Si R⁵ y R⁶ se producen más de una vez, cada aparición es independiente de la otra. En ejemplos preferidos, al menos uno de R⁵ y R⁶ es hidrógeno. Lo más preferentemente, R⁵ y R⁶ son ambos hidrógeno en cada aparición.

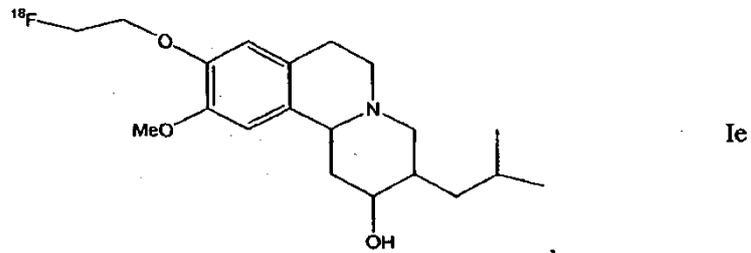
30 Valores útiles de m y n son todos aquellos enumerados anteriormente. El valor de m, en cada caso, es independiente con respecto al valor de n. En los compuestos de fórmula I', valores preferidos de n son números enteros de 1 a 6. Más preferentemente, n es un número entero de 1 a 5, especialmente 1 a 4. Sin embargo, lo más preferentemente, n es 2, 3 o 4. Los valores útiles de m incluyen 1 o 0. Sin embargo, en un ejemplo preferido, si m es 0, n también es 0.

Valores útiles de y incluyen 1 y 0. Preferentemente, y es 0.

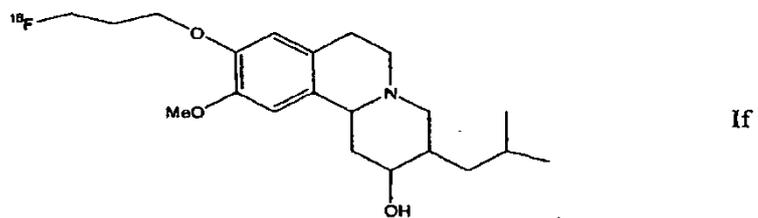
Compuestos preferidos de fórmula I o I' incluyen aquellos con las siguientes estructuras:



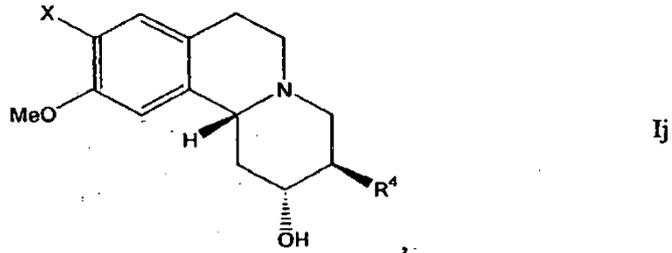
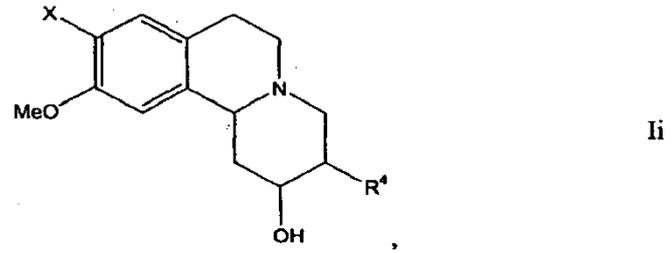
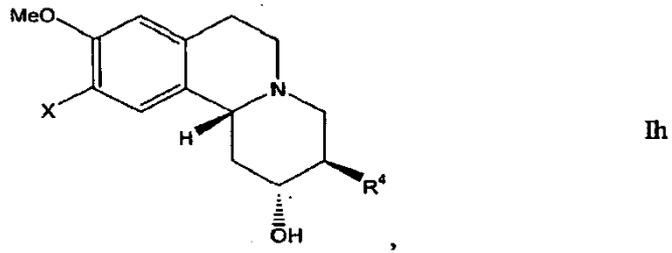
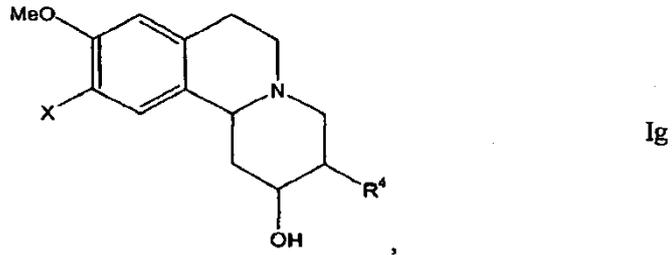
5 en las que, en los compuestos Ia, Ib, Ic y Id, n es un número entero de 1 a 6, y R⁴ es alquilo C₁₋₁₀, preferentemente alquilo C₁₋₄, lo más preferentemente isobutilo;



y

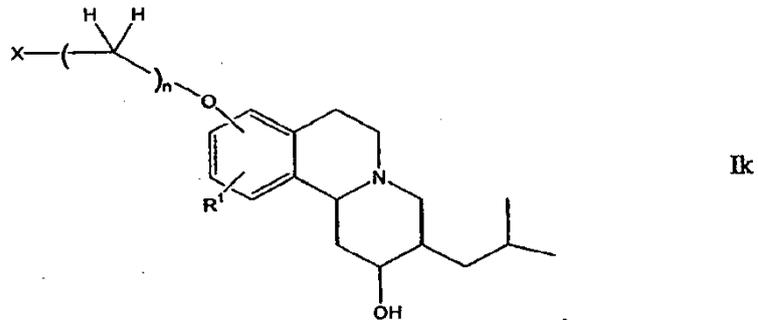


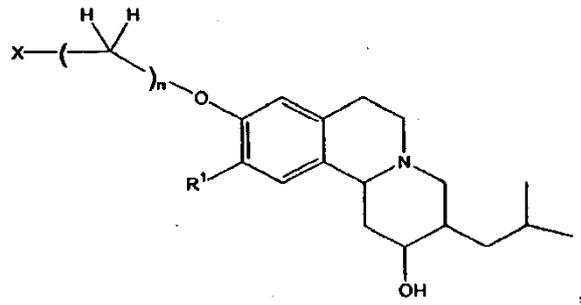
Compuestos preferidos de fórmula I o I' en las que y es 0, m es 0 y n es 0 incluyen aquellos con las siguientes estructuras:



5

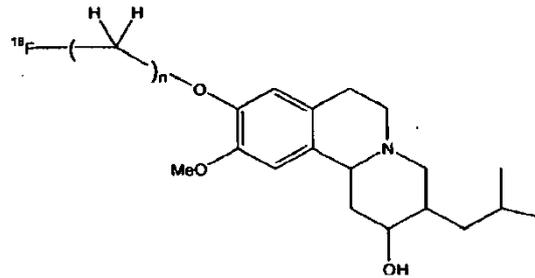
en las que, en los compuestos Ig, Ih, Ii y Ij, X es ^{18}F o ^{123}I , y R^4 es alquilo C_{1-10} , preferentemente alquilo C_{1-4} , lo más preferentemente isobutilo;





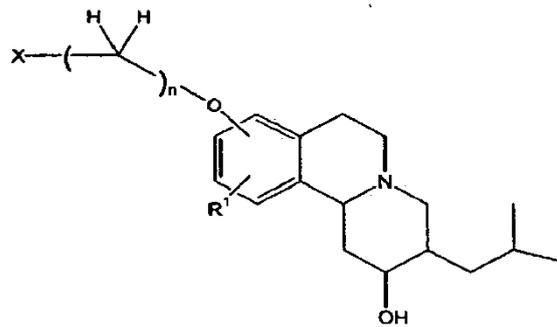
II

en las que n es un número entero de 1 a 6; X es ^{18}F o ^{123}I ; y R^1 es alcoxi C_{1-5} ;



Im

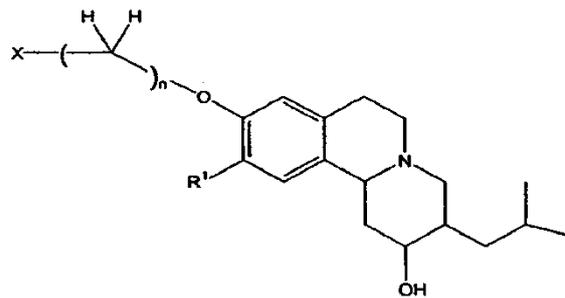
en la que n es 2, 3 o 4;



In

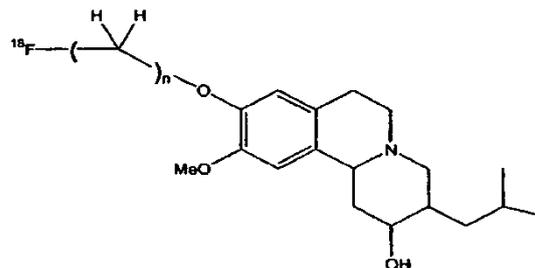
5

en la que n es un número entero de 1 a 5; X es ^{18}F o ^{123}I ; y R^1 es alcoxi C_{1-5} ;



Io

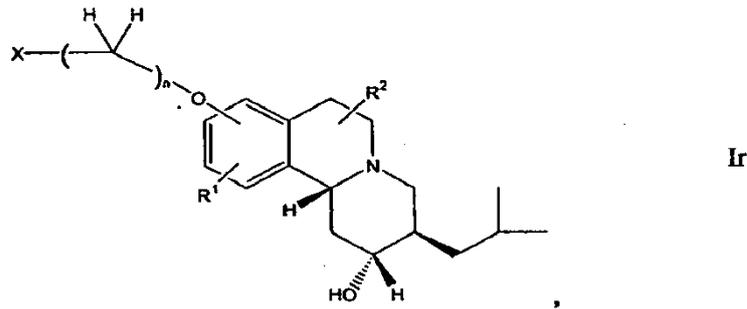
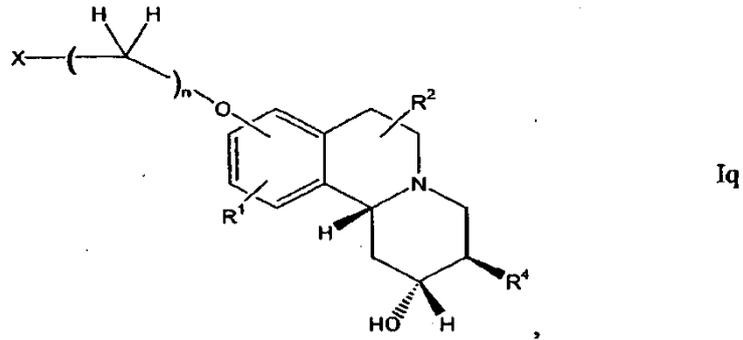
en la que n es un número entero de 1 a 4; X es ^{18}F o ^{123}I ; y R^1 es alcoxi C_{1-5} ; y



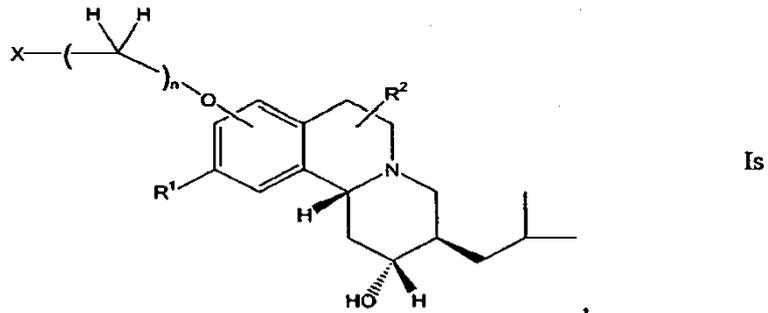
Ip

10 en la que n es 2, 3 o 4.

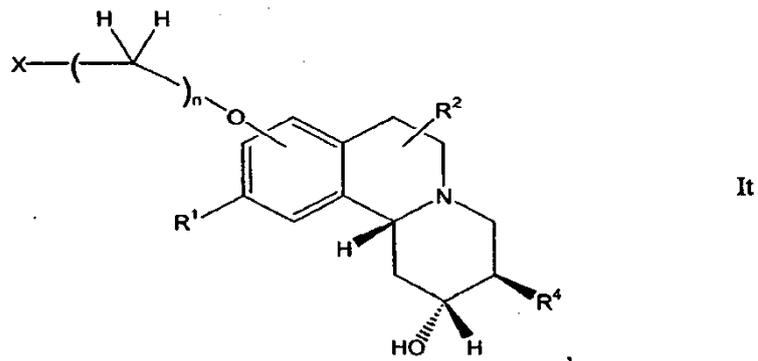
Otras estructuras estereoespecíficas que se prefieren incluyen:



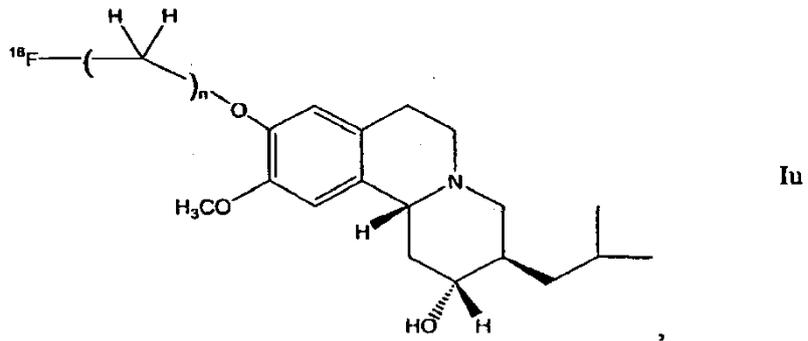
en las que n es un número entero de 1 a 5; X es ^{18}F o ^{123}I , R^4 es alquilo C_{1-4} y R^1 es alcoxi C_{1-5} ;



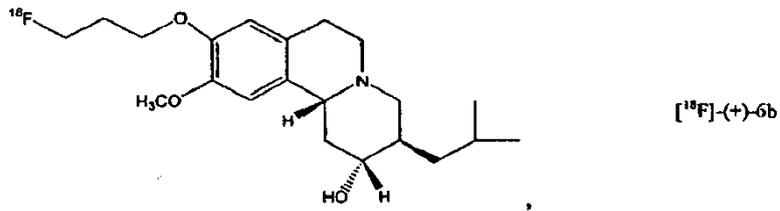
5



en las que n es un número entero de 1 a 4, X es ^{18}F o ^{123}I , R^4 es alquilo C_{1-4} y R^1 es alcoxi C_{1-5} ;

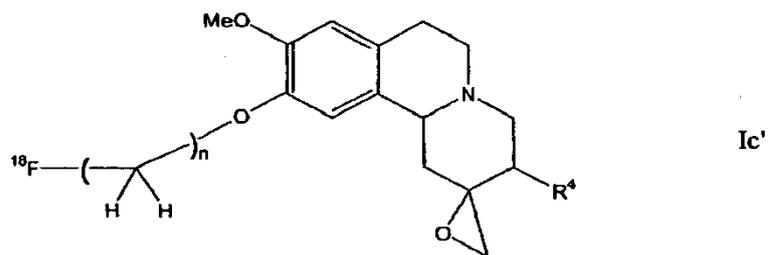
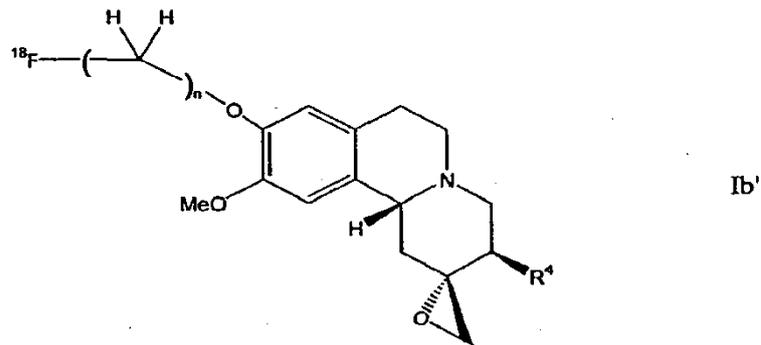
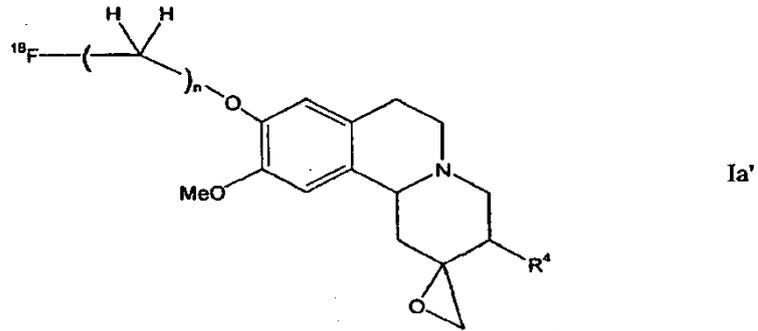


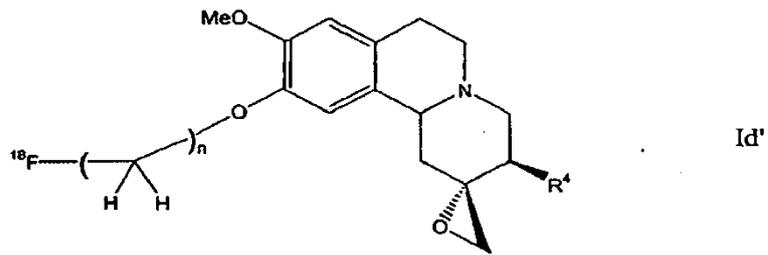
en la que, n es 2 o 3; y



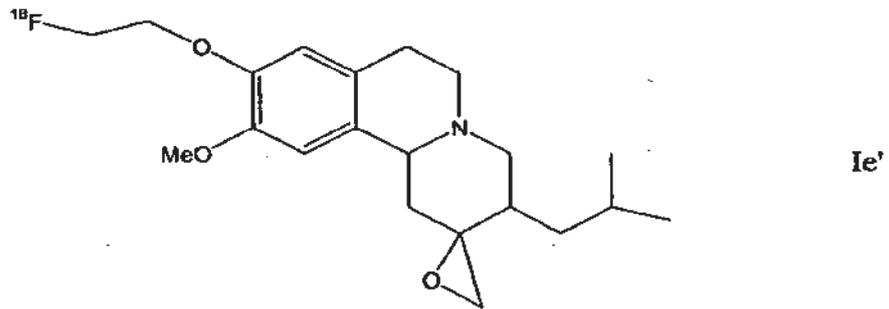
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 Alternativamente, si R³ es un anillo de epóxido (), los compuestos preferidos de fórmula I o I' incluyen aquellos con las siguientes estructuras:

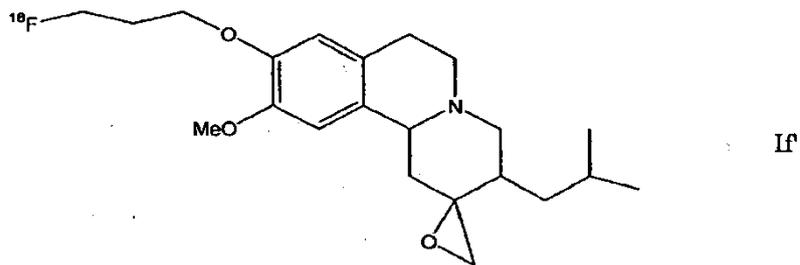




en las que, en los compuestos Ia, Ib, Ic y Id, n es un número entero de 1 a 6, y R^4 es alquilo C_{1-10} , preferentemente alquilo C_{1-4} , lo más preferentemente isobutilo;

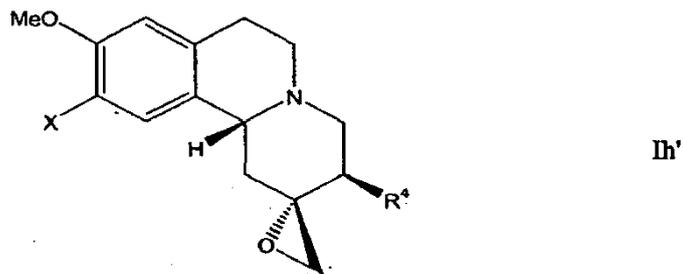
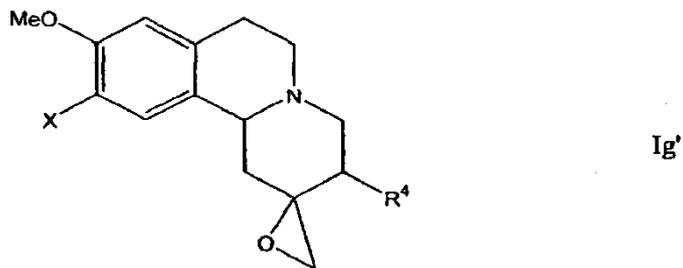


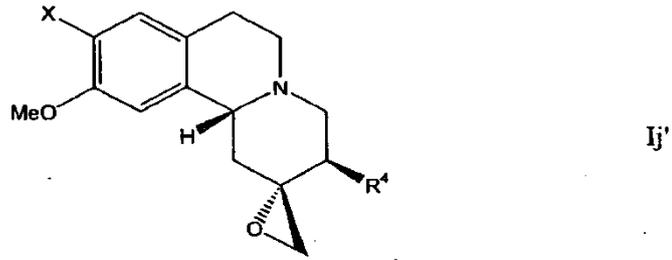
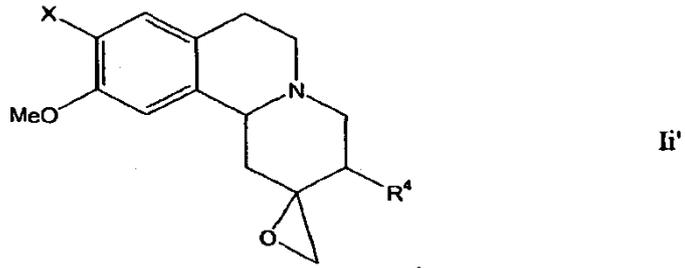
y



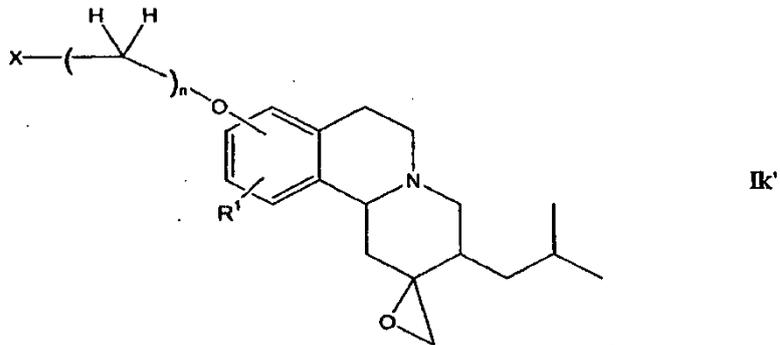
5

Compuestos preferidos de fórmula I o I' en las que y es 0, m es 0 y n es 0 incluyen aquellos con las siguientes estructuras:

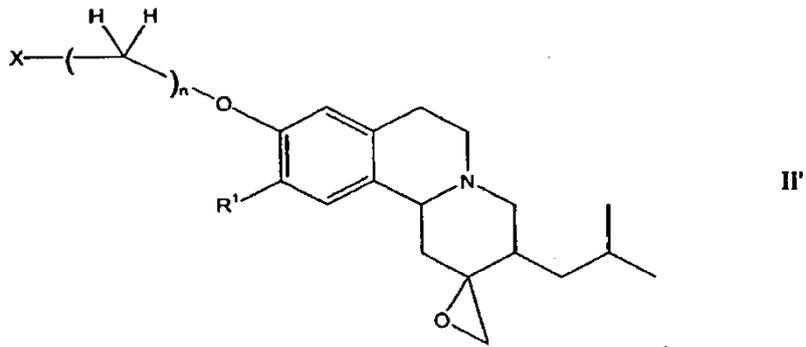




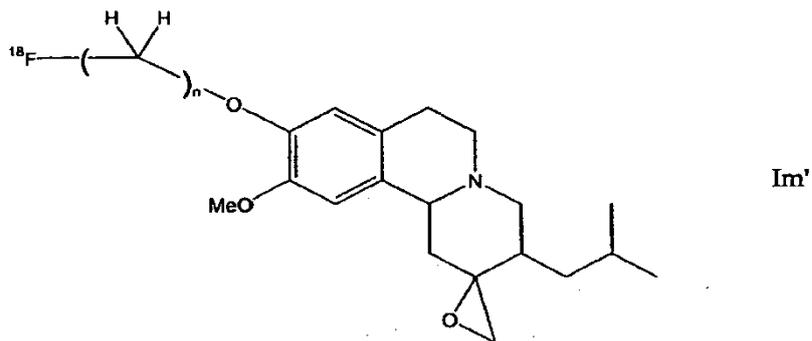
en las que, en los compuestos Ig, Ih, Ii y Ij, X es ¹⁸F o ¹²³I, y R⁴ es alquilo C₁₋₁₀, preferentemente alquilo C₁₋₄, lo más preferentemente isobutilo;



5

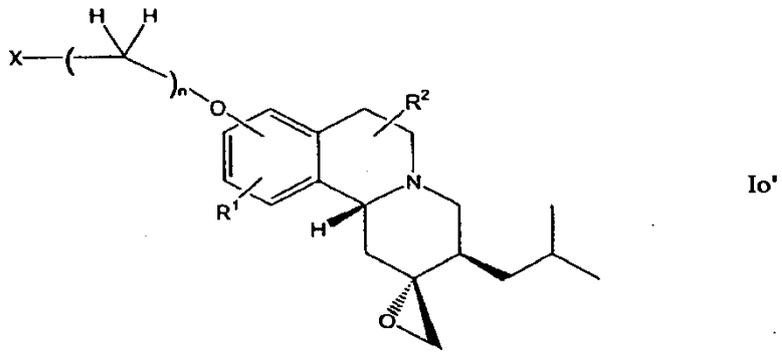
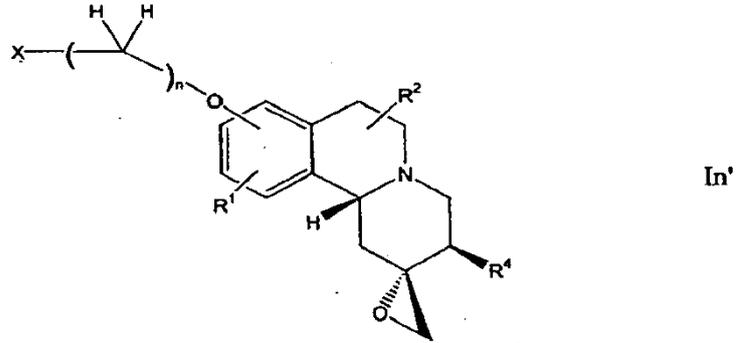


en las que n es un número entero de 1 a 6, preferentemente 1 a 5 y más preferentemente 1 a 4; X es ¹⁸F o ¹²³I; y R¹ es alcoxi C₁₋₅;

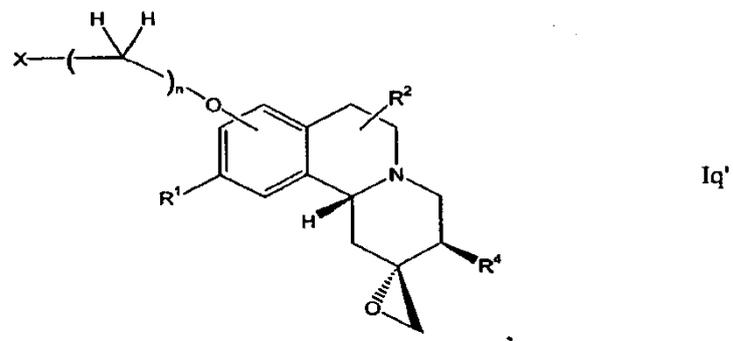
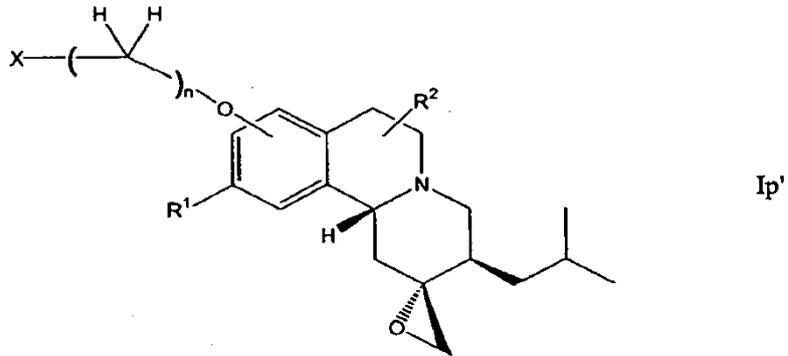


en las que n es 2, 3 o 4.

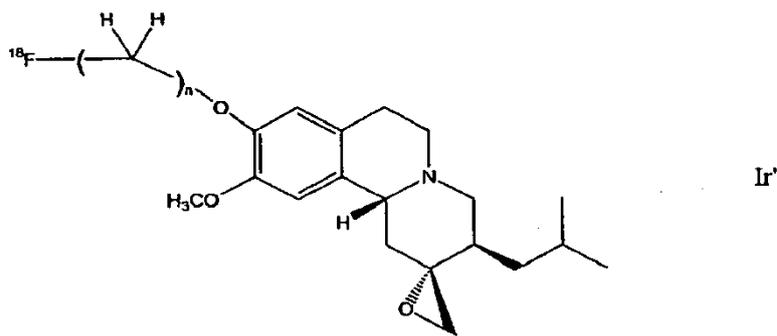
Otras estructuras estereoespecíficas que se prefieren incluyen:



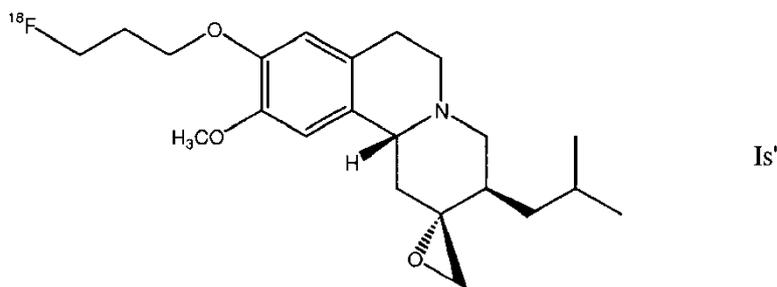
5 en las que n es un número entero de 1 a 5; X es ^{18}F o ^{123}I , R^4 es alquilo C_{1-4} y R^1 es alcoxi C_{1-5} ;



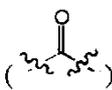
en las que n es un número entero de 1 a 4, X es ^{18}F o ^{123}I , R^4 es alquilo C_{1-4} y R^1 es alcoxi C_{1-5} ;

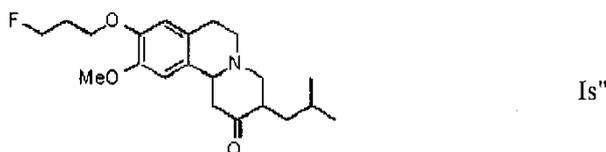


en la que n es 2 o 3; y



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 En compuestos en los que R^3 es ceto () el O está doblemente unido a uno cualquiera de los carbonos del anillo disponibles, por ejemplo:



10 En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de la invención que está sustancialmente purificado de sus estereoisómeros. Sustancialmente purificado significa que el compuesto de la invención está presente en no menos de aproximadamente el 75 % de pureza. En una realización preferida, el compuesto de la invención está presente en no menos de aproximadamente el 85 % de pureza. Lo más preferentemente, el compuesto de la invención está presente en no menos de aproximadamente el 95 % de pureza.

15 También debe entenderse que se considera que la presente invención incluye estereoisómeros así como isómeros ópticos, por ejemplo, mezclas de enantiómeros así como enantiómeros y diaestereómeros individuales que resultan como consecuencia de asimetría estructural en compuestos seleccionados de la presente invención.

20 Los compuestos de fórmulas I (incluyendo aquellos de fórmulas I') también pueden estar solvatados, especialmente hidratados. La hidratación puede producirse durante la fabricación de los compuestos o composiciones que comprenden los compuestos, o la hidratación puede producirse con el tiempo debido a la naturaleza higroscópica de los compuestos. Además, los compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas para los fines de la presente invención.

25 Cuando aparece cualquier variable más de una vez en cualquier constituyente o en la fórmula I (incluyendo aquellas de fórmulas I'), su definición en cada aparición es independiente de su definición en cualquier otra aparición. También son permisibles combinaciones de sustituyentes y/o variables solo si tales combinaciones producen compuestos estables.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a procedimientos de preparación de compuestos de la invención.

En otro aspecto, la invención se refiere a procedimientos de imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas como se desvela en las reivindicaciones. Los compuestos descritos en el presente documento son

útiles para la imagenología de VMAT-2. La imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas también puede llevarse a cabo cuantitativamente de manera que pueda determinarse la cantidad, o cambio en la cantidad, de transportadores vesiculares de monoaminas. Este procedimiento de imagenología cuantitativa puede usarse para diagnosticar o seguir el progreso de una enfermedad. Este procedimiento proporciona además la capacidad de obtener imágenes de la localización de transportadores, y también de determinar cualquier cambio en los transportadores, reflejado por un cambio en las imágenes proporcionadas por los procedimientos.

Por ejemplo, si se desea localizar transportadores vesiculares de monoaminas en el cerebro con el fin de diagnosticar o seguir el progreso de una enfermedad relacionada con transportadores vesiculares de monoaminas en un paciente, tal como Huntington y Parkinson. En otro ejemplo, se desea localizar transportadores vesiculares de monoaminas en el páncreas con el fin de diagnosticar o seguir el progreso de una enfermedad de monoamina vesicular en un paciente. Tales enfermedades incluyen diabetes. Se proporciona un procedimiento de seguimiento del progreso de una afección, trastorno o enfermedad comparando la cantidad, densidad y/o localización de transportadores vesiculares de monoaminas durante el transcurso de tiempo.

En un aspecto, los procedimientos de imagenología se refieren a un procedimiento de imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas neuronales. Uno de los requisitos previos clave para un agente de imagenología *in vivo* del cerebro es la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica intacta después de una inyección i.v. en embolada. Se ha mostrado por los datos presentados en el presente documento que los compuestos de la presente invención poseen esta propiedad.

En otro aspecto, los procedimientos de imagenología se refieren a la imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas pancreáticos. Se ha mostrado por los datos presentados en el presente documento que los compuestos de la presente invención poseen afinidad por los transportadores VMAT-2 pancreáticos. Este procedimiento es, por tanto, útil para la imagenología de células beta del páncreas, y también para determinar cuantitativamente la localización, estado o cualquier cambio en las células beta. Las densidades de células beta en áreas del páncreas reflejan la "masa de células beta" ("MCB"). Así, el presente procedimiento es útil para la imagenología de densidades de células beta y luego determinar la MCB. Es probable que la pérdida de MCB desempeñe una función importante en la patogénesis de T1D y T2D y presente una diana atractiva para intervención terapéutica. Además, la capacidad de cuantificar la MCB en pacientes vivos permitirá una evaluación clínica más eficaz de las estrategias terapéuticas actualmente en desarrollo, que incluyen trasplante de células de los islotes, terapias protectoras de células de los islotes y terapias regenerativas de células de los islotes. La imagenología de MCB puede ser útil para seleccionar pacientes para ciclos particulares de terapia. Por ejemplo, las sulfonilureas actúan directamente sobre células beta de los islotes estimulando la secreción de insulina, una función que requiere MCB restante adecuada con el fin de ser eficaz.

El término "alquilo", como se emplea en el presente documento, por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a tanto radicales de cadena lineal como ramificada de hasta 8 carbonos, preferentemente 6 carbonos, más preferentemente 4 carbonos, tales como metilo, etilo, propilo, isobutilo, butilo, *t*-butilo e isobutilo.

El término "alcoxi" se usa en el presente documento para significar un radical de alquilo de cadena lineal o ramificada, como se ha definido anteriormente, a menos que la longitud de cadena se limite al mismo, unido a un átomo de oxígeno, que incluye, pero no se limita a, metoxi, etoxi, *n*-propoxi, isopropoxi y similares. Preferentemente, la cadena de alcoxi tiene 1 a 6 átomos de carbono de longitud, más preferentemente 1-4 átomos de carbono de longitud.

El término "monoalquilamina", como se emplea en el presente documento, por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a un grupo amino que está sustituido con un grupo alquilo como se ha definido anteriormente.

El término "dialquilamina" como se emplea en el presente documento por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a un grupo amino que está sustituido con dos grupos alquilo como se ha definido anteriormente.

El término "halo" o "halógeno" empleado en el presente documento por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a cloro, bromo, flúor o yodo. Como será evidente de la presente divulgación, el término halo o halógeno engloba radioisótopos de los halógenos anteriormente citados, es decir, radiohalógenos.

El término "arilo", como se emplea en el presente documento, por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a grupos aromáticos monocíclicos o bicíclicos que contienen de 6 a 12 carbonos en la parte de anillo, preferentemente 6-10 carbonos en la parte de anillo, tales como fenilo, naftilo o tetrahidronaftilo.

Se prepararon satisfactoriamente 9-fluoroetil (FE)- y 9-fluoropropil (FP)-9-desmetil-DTBZ racémicos y los derivados de hidroxilo correspondientes. Se sintetizaron derivados de ¹⁸F-DTBZ sin vehículo añadido por un desplazamiento de [¹⁸F]fluoruro de los mesilatos correspondientes con buenos rendimientos (30-40 %) y alta actividad específica (A.E.= 1.500-2.000 Ci/mmol). FE-DTBZ, **6a**, y FP-DTBZ, **6b**, mostraron excelentes afinidades de unión (K_i= 0,76 y 0,56 nM, respectivamente) por sitios de unión de VMAT2 en homogeneizados de cuerpo estriado de rata. Coherentemente, [¹⁸F]**6a** y **6b** presentaron valores de K_d de 0,52 y 0,48 nM, respectivamente (basados en A.E.= 2000 Ci/mmol) para sitios de unión de VMAT2 usando homogeneizados de cuerpo estriado de ratón. Ambos agentes mostraron densidades de unión comparables a las obtenidas con [³H](±)tetraabenazina (TBZ). Los resultados de la

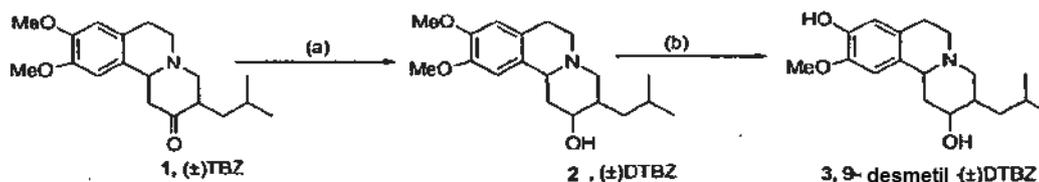
autorradiografía *in vitro* con [^{18}F]**6b** mostraron una unión distinta en la región del putamen caudado coherente con la localización de VMAT2 en el cerebro de ratón, que se bloqueó eficazmente por TBZ no radiactivo. Los estudios de biodistribución en ratones después de una inyección i.v. del marcador mostraron excelentes captaciones por el cerebro (4,66 y 7,08 % de ID/g a 2 min para [^{18}F]**6a** y [^{18}F]**6b**, respectivamente). Se determinó que [^{18}F]**6b** mostró un lavado del cerebro más rápido que [^{18}F]**6a**. Como resultado, [^{18}F]**6b** dio una mejor relación de diana (cuerpo estriado, ST) con respecto a la referencia (cerebelo, CB) (ST/CB = 3,0 y 1,9 para **6b** y **6a**, respectivamente). El estudio de bloqueo con DTBZ no radiactiva confirmó la competición y especificidad *in vivo* de la unión de [^{18}F]**6b** por sitios de VMAT2.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante reacciones descritas en los Esquemas 1-4. Las síntesis de derivados de fluoroetil y fluoropropilo fríos y radiomarcados de (\pm)DTBZ racémica, **2**, se muestran en los Esquemas 1, 2 y 3. La FP-(\pm)-DTBZ racémica dio un perfil de HPLC con cuatro picos distintos. Los tiempos de retención fueron 12,5 (pico 1), 18,3 (pico 2), 21,6 (pico 3) y 30,4 (pico 4), (Figura 1). La resolución óptica se realizó usando un sistema de HPLC equipado con una columna quiral - AD Chiracel.

La tetrabenazina racémica, (\pm)DTBZ, **1**, se redujo a dihidrotetrabenazina (\pm)DTBZ, **2**, con borohidruro de sodio en etanol. El grupo metoxi en la posición C-9 del núcleo del anillo de tetrabenazina se desmetiló selectivamente (Kilbourn MR, Lee LC, Heeg MJ, Jewett DM., *Chirality*, 1997:9:59-62) calentando DTBZ con *N*-metilanilida de sodio en HMPA y xileno a 65 °C dando 9-*O*-desmetil-DTBZ, **3** (Esquema 1). El último compuesto sirvió de punto de partida para la síntesis de derivados de fluoroalquilo. Primero se prepararon los derivados de fluoroetil y fluoropropilo "fríos" de (\pm)DTBZ. La 9-*O*-desmetil-DTBZ, **3**, se alquiló mediante 1-bromo-1-fluoroetano o 3-fluoropropil-*p*-toluenosulfonato con carbonato de cesio a 110 °C en DMF dando la fluoroetil-DTBZ, **6a**, y fluoropropil-DTBZ, **6b**, respectivamente (Esquema 2). Se adoptó un enfoque completamente diferente para la síntesis de derivados de fluoroetil y fluoropropil DTBZ radiomarcados con ^{18}F . El fenol en el compuesto **3** se alquiló con 2-bromoetanol o 3-bromo-propanol dando derivados de 9-desmetil-DTBZ de 2-hidroxietilo, **4a**, o 3-hidroxipropilo, **4b**. Estos compuestos de hidroxilo se mesilaron con MsCl en cloruro de metileno a 0 °C dando **5a** y **5b**. En la reacción de mesilación solo se usó un equivalente de MsCl para evitar la mesilación del grupo hidroxilo secundario impedido en la posición C-2. Estos mesilatos se usaron a continuación como precursor para la radiosíntesis de derivados de DTBZ marcados con ^{18}F .

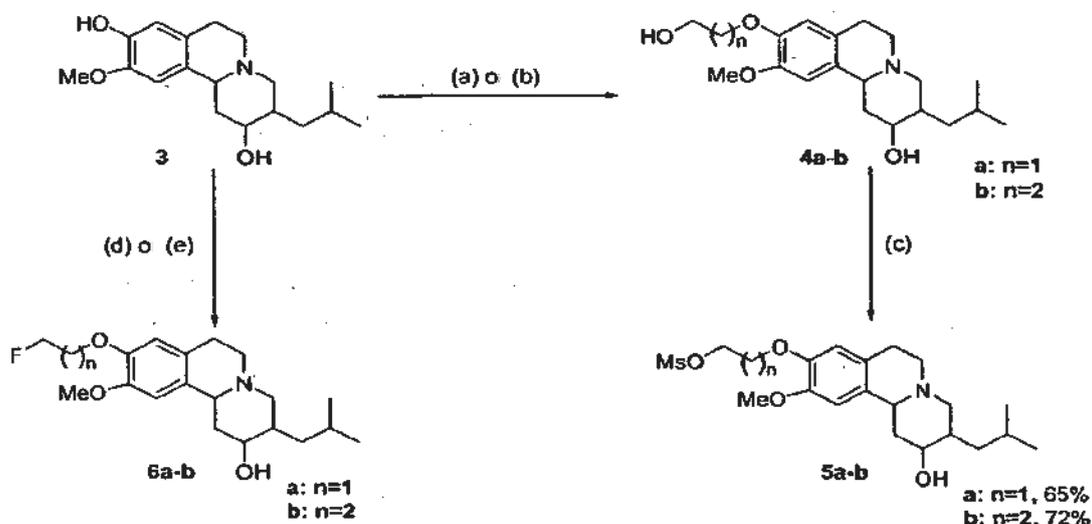
Para preparar los derivados de DTBZ marcados con ^{18}F deseados, [^{18}F]**6a** y **6b**, los mesilatos **5a** y **5b** se emplearon como precursores (Esquema 3). Cada uno de los mesilatos, **5a** o **5b**, se mezcló con [^{18}F]fluoruro/carbonato de potasio y Kryptofix® 222 en DMSO y se calentó a 110 °C durante 5-7 min. El producto en bruto se purificó por HPLC (pureza radioquímica > 99 %, rendimiento radioquímico 30-40 %, desintegración corregida). La preparación de cada compuesto marcado con ^{18}F , [^{18}F]**6a** y **6b**, duró aproximadamente 50-55 min y se estimó que la actividad específica era 1.500-2.000 Ci/mmol al final de la síntesis.

ESQUEMA 1



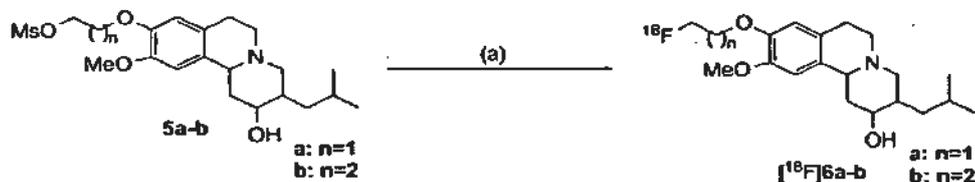
(a). NaBH_4 , EtOH, TA, 1 h, 100 % (b). HMPA, *N*-metilanilina, xileno, NaH, 65 °C, 48 h, 36 %

ESQUEMA 2



- 5 (a). HOCH₂CH₂Br (1,3 eq.), Cs₂CO₃ (1,5 eq.), DMF, 110 °C, 16 h, 60 %; (b). HOCH₂CH₂CH₂Br (1,3 eq.), Cs₂CO₃ (1,5 eq.), DMF, 110 °C, 16 h, 70 %; (c). MsCl (1,0 eq.), Et₃N (1,5 eq.), DCM, 0 °C a TA, 5 h; (d). FCH₂CH₂Br (1,4 eq.), Cs₂CO₃ (1,4 eq.), DMF, 110 °C, 15 h, 60 % o FCH₂CH₂Br (2 eq.), Cs₂CO₃ (2 eq.), NaI (2 eq.), DMF, 200 °C, microondas 10 minutos, 50 %; (e). FCH₂CH₂CH₂OTs (1,4 eq.), Cs₂CO₃ (1,5 eq.), DMF, 110 °C, 16 h, 45 %

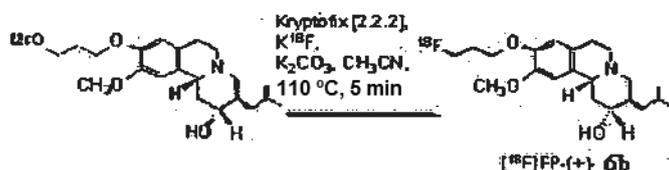
ESQUEMA 3



- (a). K₂CO₃, Kryptofix [2.2.2], ¹⁸F anión, 110 °C, 7 min

10

ESQUEMA 4

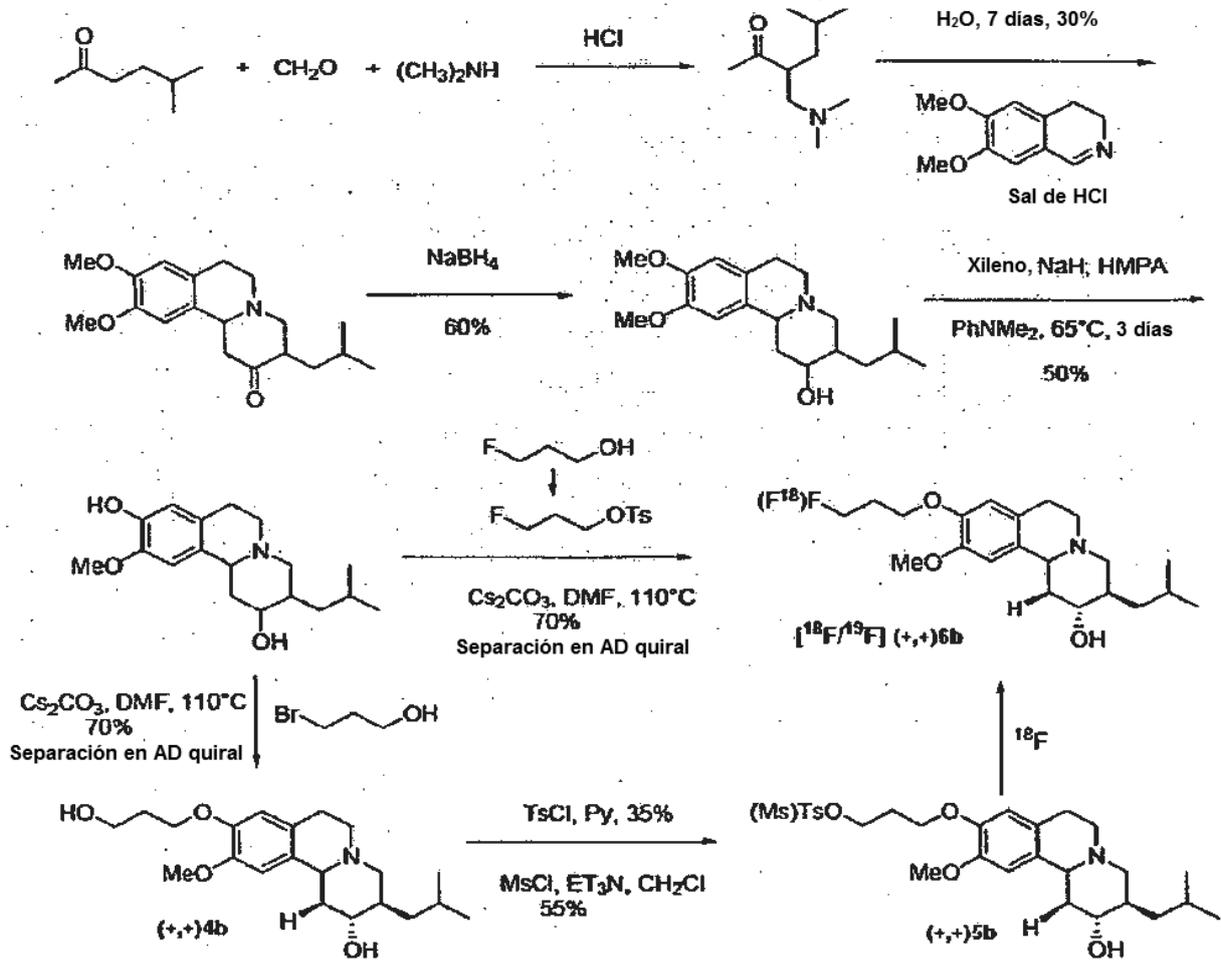


15

20

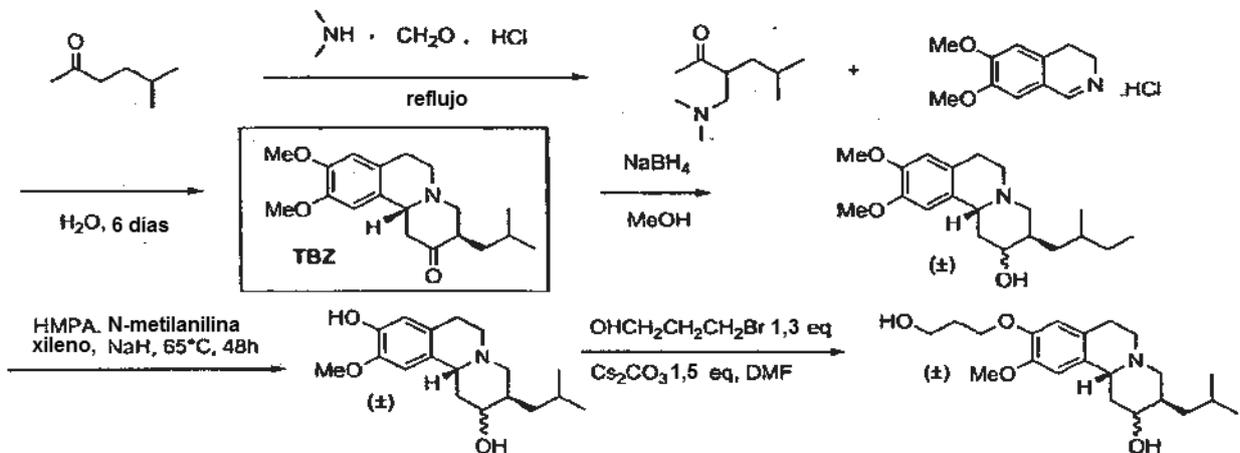
Como se muestra en el siguiente esquema, puede sintetizarse fluoropropil-(±)DTBZ convirtiendo el compuesto de hidroxilo en el tosilato o mesilato correspondiente. Cualquiera de estos productos intermedios es apropiado para usar adicionalmente hacia la radiosíntesis. La separación mediante una columna Chiracel AD dio (+,+)4b enantioméricamente purificado. La tosilación de (+,+)4b avanzó a aproximadamente el 35 % de rendimiento. Para la radiosíntesis de [¹⁸F](+,+)6b se eluyó [¹⁸F]fluoruro mediante un cartucho de intercambio aniónico QMA y se mezcló con Kryptofix y carbonato de potasio en acetonitrilo:agua. Después de secado azeotrópico, se añadió 1 mg de (+,+)5b disuelto en una mezcla 3:2 de dimetilformamida y acetonitrilo a las actividades secadas. La reacción se calentó a 110 °C durante 7 min, se enfrió hasta temperatura ambiente y se purificó usando un cartucho de fase sólida (Waters Oasis). Se utilizó HPLC dando [¹⁸F](+,+)6b en aproximadamente el 40 % de rendimiento radioquímico con aproximadamente el 99 % de pureza radioquímica. La actividad específica de [¹⁸F](+,+)6b fue de aproximadamente 1500 a aproximadamente 2000 Ci/mmol.

ESQUEMA 5

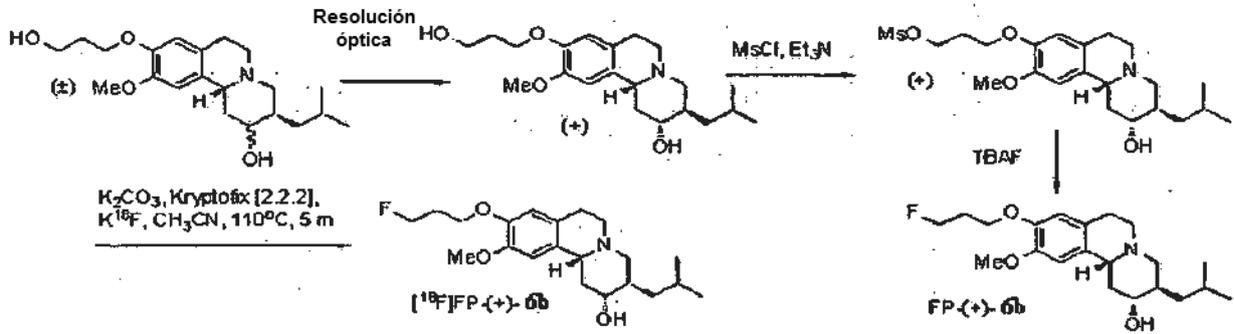


Los compuestos de la invención se sintetizan usando las rutas de síntesis representadas en los Esquemas 6-9.

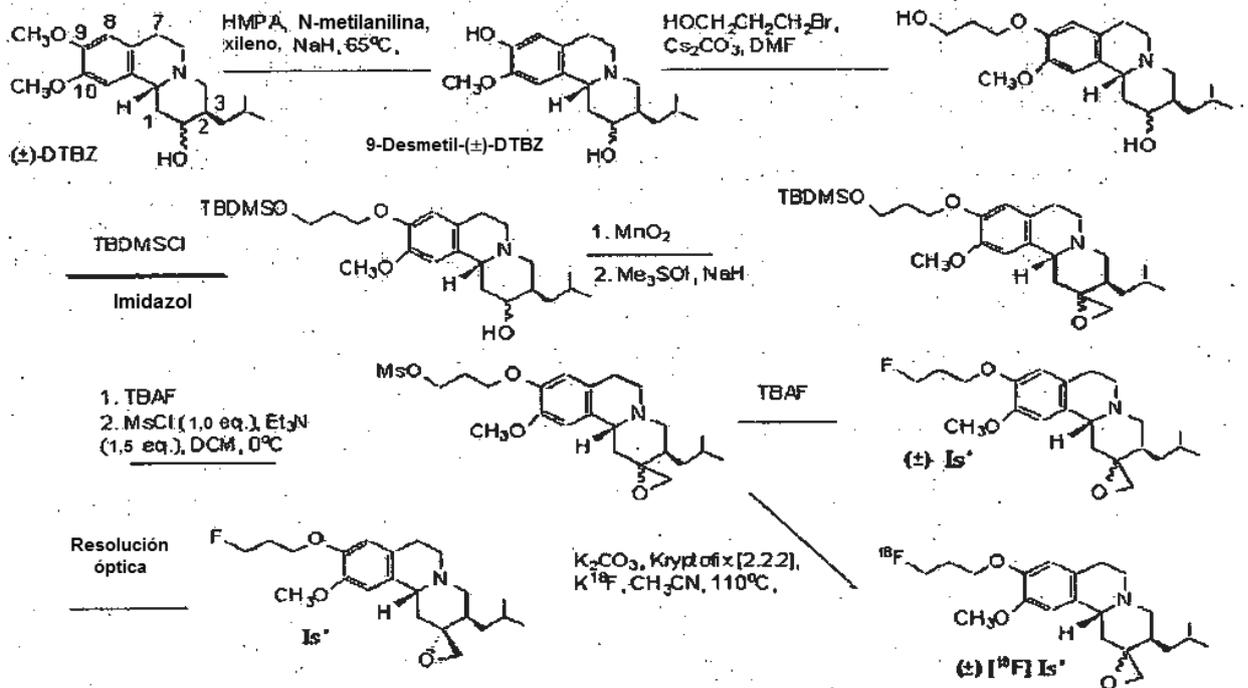
ESQUEMA 6



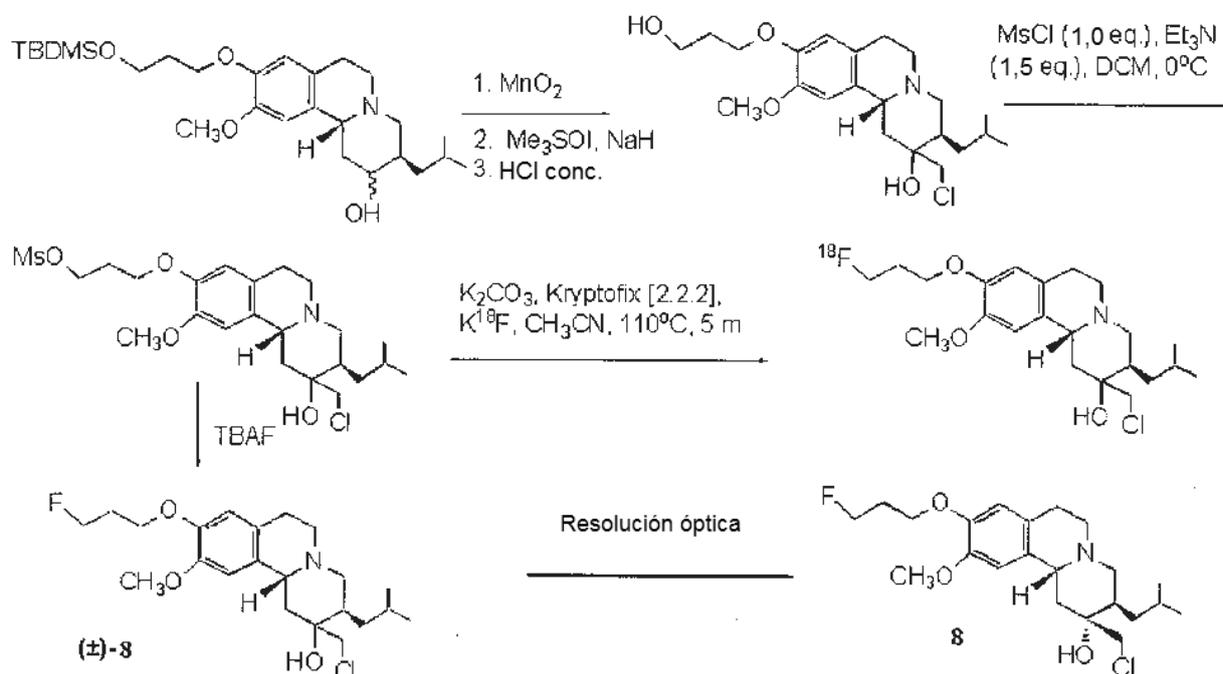
ESQUEMA 7



ESQUEMA 8



ESQUEMA 9



5 Cuando los compuestos de la presente invención van a usarse como agentes de imagenología, deben marcarse con isótopos radiactivos adecuados como se reivindica. El isótopo puede ser un radiohalógeno tal como ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{18}F , ^{76}Br o ^{77}Br . El halógeno de la invención es ^{18}F . Aunque los isótopos de ^{125}I son útiles para las pruebas de laboratorio, generalmente no serán útiles para los actuales fines de diagnóstico debido a la semivida relativamente larga (60 días) y la baja emisión gamma (30-65 Kev) del ^{125}I . El isótopo ^{123}I tiene una semivida de trece horas y energía gamma de 159 KeV y, por tanto, se espera que el marcado de ligandos que van a usarse para fines de diagnóstico sea con este isótopo. Otros isótopos que pueden usarse incluyen ^{131}I . Isótopos de bromo adecuados incluyen ^{77}Br y ^{76}Br . El agente de diagnóstico radiactivo debe tener suficiente radiactividad y concentración de radiactividad que pueda asegurar el diagnóstico fidedigno. El determinar suficiente radiactividad para los isótopos desvelados en el presente documento está perfectamente dentro del alcance de los expertos en la materia.

15 Los compuestos radiomarcados se prestan fácilmente a la formación de materiales que podrían proporcionarse a los usuarios en kits. Los kits para la formación de los agentes de imagenología pueden contener, por ejemplo, un vial que contiene una disolución fisiológicamente adecuada de un producto intermedio de fórmula I (incluyendo aquellos de fórmula I') en una concentración adecuada y a un pH adecuado. El usuario añadiría al vial una cantidad apropiada del radioisótopo, por ejemplo, Na^{123}I , y un oxidante, tal como peróxido de hidrógeno. El ligando marcado resultante puede entonces administrarse intravenosamente a un paciente, y obtenerse imágenes de los receptores en el cerebro por medio de medición de las emisiones de rayos gamma o de fotones de los mismos.

20 Si se desea, el agente de diagnóstico radiactivo puede contener cualquier aditivo tal como agentes de control del pH (por ejemplo, ácidos, bases, tampones), estabilizadores (por ejemplo, ácido ascórbico) o agentes isotonzantes (por ejemplo, cloruro sódico).

25 El término "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a aquellas sales de carboxilato o sales de adición de ácido de los compuestos de la presente invención que están dentro del alcance del criterio médico razonable, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica proporcional a una relación de beneficio/riesgo razonable, y eficaces para su uso previsto, además de las formas de ión bipolar, cuando sea posible, de los compuestos de la invención. El término "sales" se refiere a las sales de adición de ácido relativamente no tóxicas, inorgánicas y orgánicas de compuestos de la presente invención. También se incluyen aquellas sales derivadas de ácidos orgánicos no tóxicos tales como ácidos mono y dicarboxílicos alifáticos, por ejemplo, ácido acético, ácidos alcanóicos fenil-sustituidos, ácidos hidroxialcanoicos y alcanodioicos, ácidos aromáticos y ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal así formada. Otras sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, nitrato, acetato, oxalato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactiobionato y laurilsulfonato, propionato, pivalato, ciclamato, isetionato. Éstas pueden incluir cationes basados en los metales alcalinos y alcalinotérreos, tales

como sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, así como cationes de amonio, de amonio cuaternario y de amina no tóxicos que incluyen amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina (véase, por ejemplo, Berge S. M., y col., *Pharmaceutical Salts*, J. Pharm. Sci. 66:1-19 (1977)).

5 En la primera etapa del presente procedimiento de imagenología, un compuesto marcado de la invención se introduce en un tejido o un paciente en una cantidad detectable. El compuesto típicamente es parte de una composición farmacéutica y se administra al tejido o al paciente mediante procedimientos muy conocidos para aquellos expertos en la materia. Por ejemplo, el compuesto puede administrarse bien por vía oral, rectalmente, parenteralmente (intravenosa, intramuscularmente o subcutáneamente), intravaginalmente, intraperitonealmente, intravesicalmente, localmente (polvos, pomadas o gotas), o como un spray bucal o nasal. La administración del compuesto marcado a un paciente puede ser por una vía de administración general o local. Por ejemplo, el compuesto marcado puede administrarse al paciente de forma que se libere a través de todo el cuerpo. Alternativamente, el compuesto marcado puede administrarse a un órgano o tejido específico de interés.

15 Después de pasar tiempo suficiente para que el compuesto se asocie a transportadores vesiculares de monoaminas, el compuesto marcado se detecta no invasivamente dentro del paciente. En otra realización de la invención, un compuesto marcado de la invención se introduce en un paciente, se deja tiempo suficiente para que el compuesto se asocie a los transportadores vesiculares de monoaminas, y a continuación se toma una muestra de tejido del paciente y se detecta el compuesto marcado en el tejido separado del paciente. En una tercera realización de la invención, se toma una muestra de tejido de un paciente y se introduce un compuesto marcado de la invención en la muestra de tejido. Después de una cantidad de tiempo suficiente para que el compuesto se una a los transportadores vesiculares de monoaminas, el compuesto se detecta. Preferentemente, los transportadores vesiculares de monoaminas son neuronales o pancreáticos. Si el radiohalógeno presente en el compuesto marcado es ^{18}F , entonces el procedimiento proporciona además la medición de la distribución de la composición dentro del mamífero por tomografía de emisión de positrones. Si, fuera del alcance de la invención, el radiohalógeno presente en el compuesto marcado es un emisor monofotónico, tal como ^{123}I , entonces el procedimiento proporciona además la medición de la distribución de la composición dentro del mamífero por tomografía de emisión monofotónica.

Aquellos expertos en la materia están familiarizados con las diversas formas de detectar compuestos marcados. Por ejemplo, pueden usarse imagen por resonancia magnética (IRM), tomografía de emisión de positrones (TEP), o tomografía computerizada de emisión monofotónica (SPECT) para detectar compuestos radiomarcados. El marcador que se introduce en el compuesto dependerá del procedimiento de detección deseado.

30 Aquellos expertos en la materia también están familiarizados con determinar la cantidad de tiempo suficiente para que un compuesto se asocie a los transportadores vesiculares de monoaminas. La cantidad de tiempo necesaria puede determinarse fácilmente introduciendo una cantidad detectable de un compuesto marcado de la invención en un paciente y a continuación detectando el compuesto marcado en diversos momentos después de la administración.

35 El término "paciente" significa seres humanos y otros animales. El término "tejido" significa una parte del cuerpo de un paciente. Ejemplos de tejidos incluyen el cerebro, corazón, hígado, vasos sanguíneos y arterias. Una cantidad detectable es una cantidad de compuesto marcado necesaria que va a detectarse por el procedimiento de detección elegido. La cantidad de un compuesto marcado que va a introducirse en un paciente con el fin de proporcionar la detección puede determinarse fácilmente por aquellos expertos en la materia. Por ejemplo, pueden administrarse cantidades crecientes del compuesto marcado a un paciente hasta que el compuesto se detecte por el procedimiento de detección de elección. Un marcador se introduce en los compuestos para proporcionar la detección de los compuestos.

45 El término "asociado" significa una interacción química entre el compuesto marcado y uno o más transportadores vesiculares de monoaminas. Ejemplos de asociaciones incluyen enlaces covalentes, enlaces iónicos, interacciones hidrófila-hidrófila, interacciones hidrófoba-hidrófoba y complejos.

50 Las afinidades de unión de **6a** y **6b** no radiactivos por VMAT2 se determinaron usando $[^3\text{H}](\pm)\text{TBZ}$ como radioligando en homogeneizados de tejido de cuerpo estriado de rata (Tabla 1). Tanto **6a** como **6b** mostraron excelentes afinidades de unión con valores de K_i de 0,76 y 0,56 nM, respectivamente, por VMAT2. Los derivados de hidroxietilo e hidroxipropilo correspondientes **4a** y **4b** mostraron afinidades de unión mucho menores ($K_i = 48,5$ y $75,8$ nM, respectivamente). Además, los presentes inventores estimaron las constantes de disociación (valores de K_d) para las sondas radiofluoradas, $[^{18}\text{F}]\text{6a}$ y $[^{18}\text{F}]\text{6b}$, usando homogeneizados de cuerpo estriado de ratón. Coherentemente, se encontró que los valores de K_d estimados basándose en A.E = 2.000 Ci/mmol eran $0,52 \pm 0,04$ y $0,48 \pm 0,01$ nM para $[^{18}\text{F}]\text{6a}$ y $[^{18}\text{F}]\text{6b}$, respectivamente (datos no mostrados). Los valores de K_d están de acuerdo con los valores de K_i medidos por experimentos de competición.

55 Se determinó que la lipofilia de estas series de derivados de TBZ era la siguiente: (coeficiente de reparto = 131 y 411, medido entre 1-octanol y tampón fosfato para $[^{18}\text{F}]\text{6a}$ y $[^{18}\text{F}]\text{6b}$, respectivamente). Ambas sondas marcadas con ^{18}F penetraron fácilmente a través de la barrera hematoencefálica intacta, mostrando excelentes captaciones por el cerebro en ratones normales (4,66 % y 7,08 % de dosis/g para $[^{18}\text{F}]\text{6a}$ y $[^{18}\text{F}]\text{6b}$, respectivamente, 2 min después de inyección intravenosa) (Tabla 2). $[^{18}\text{F}]\text{6b}$ mostró un lavado del cerebro más rápido (13 % restante en 30 min p.i.) en

comparación con [¹⁸F]6a (>50 % restante en 30 min, p.i.). El hígado y el riñón son dos órganos importantes para la secreción de ambos compuestos marcados con ¹⁸F. La mayor captación por el hueso observada para [¹⁸F]6b en comparación con [¹⁸F]6a (9,62 % frente al 3,88 % de dosis/g, respectivamente) indicó que probablemente hubo una desfluoración *in vivo* más rápida para [¹⁸F]6b. Ambos ligandos fluorados presentaron localización significativa en estructuras enriquecidas en monoamina, siendo el cuerpo estriado (ST) el mayor (Tabla 2). Usando cerebelo (CB) como región de referencia (región no diana que contiene una cantidad mínima de VMAT2), la relación de ST/CB alcanzó el pico de 3,0 a 30 min p.i. para [¹⁸F]6b. Este valor es comparable a los valores informados para [¹¹C]DTBZ (Kilbourn M, Sherman P. *In vivo* binding of (+)-[alpha]-[3H]dihydrotrabenzazine to the vesicular monoamine transporter of rat brain: bolus vs. equilibrium studies, Eur. J. Pharmacol., 1997:331:161-68). Se observó una relación estacionaria (ST/CB) de 15 min a 60 min para [¹⁸F]6b. Inesperadamente, se encontró que las relaciones de ST/CB para [¹⁸F]6a eran inferiores (1,91, 1,71 y 1,71 para 15, 30 y 60 min, p.i., respectivamente). Pareció que las propiedades cinéticas *in vivo* favorables asociadas al derivado de fluoropropilo, [¹⁸F]6b (mayor captación por el cerebro y rápido lavado de la referencia) contribuyeron a las mejores relaciones de diana (ST) con respecto a no diana (CB). Estas relaciones obtenidas fueron para las mezclas racémicas (que contienen teóricamente el 50 % del isómero activo (Kilbourn M, Lee L, Borghot TV, Jewett D, Frey K. Binding of [alpha]-dihydrotrabenzazine to the vesicular monoamine transporter is stereospecific, Eur. J. Pharmacol., 1995:278:249-52).

La especificidad de unión por VMAT2 de los ligandos de DTBZ fluorados, 6a y 6b, se confirmó adicionalmente por un experimento de bloqueo. Como se muestra en la Tabla 3, la co-inyección de (±)DTBZ (3 mg/kg), un ligando de VMAT2 específico bien caracterizado, con [¹⁸F]6b suprimió completamente la localización selectiva produciendo la relación de ST/CB próxima a la unidad (3,40 frente a 0,98, véase la Tabla 3). A diferencia, la co-inyección de [¹⁸F]6b con el ligando de no VMAT2, es decir, racloprida (1,2 mg/kg), un antagonista de los receptores de dopamina D2/D3, no afectó la relación de diana (ST) con respecto a no diana (CB) (3,40 frente a 3,93, respectivamente). Además, la autorradiografía *in vitro* indicó claramente la similitud de la localización regional entre [³H]TBZ y [¹⁸F]6b. Una región rica en el sitio de unión de VMAT2, es decir, ganglios basales, en el cerebro de ratón, mostró la mayor unión de [¹⁸F]6b (Fig. 2). Regiones correspondientes al putamen caudado, tubérculo olfatorio y núcleo accumbens pueden visualizarse claramente. Estos marcados regionales distintos se eliminaron completamente en presencia de 1 μM de (±)TBZ (datos no mostrados), lo que indica que TBZ y el ligando radiofluorado, [¹⁸F]6b están compitiendo por los mismos sitios de VMAT2 en el cerebro.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos del procedimiento y composiciones de la presente invención.

Todos los reactivos usados en la síntesis fueron productos comerciales y se usaron sin más purificación, a menos que se indique lo contrario. Los espectros de RMN ¹H se obtuvieron en un espectrómetro Bruker DPX (200 MHz) en CDCl₃. Los desplazamientos químicos se dan como valores de δ (partes por millón) con respecto a TMS interno. Las constantes de acoplamiento se dan en hercios. La multiplicidad se define por s (singlete), d (doblete), t (triplete), a (ancho), m (multiplete).

35 Ejemplo 1

SÍNTESIS

(±)-2-hidroxi-3-isobutil-9-(2-hidroxietoxi)-10-metoxi-1,2,3,4,6,7-hexahidro-11bH-benzo[a]quinolizina (4a)

A (±)-9-O-desmetildihidrotetrabenazina (3) (35 mg, 0,11 mmoles), preparada como se ha informado previamente [15], en DMF seca (1,5 ml) se añadió Cs₂CO₃ (49 mg, 10,15 mmoles) y la mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadió una disolución de DMF (0,5 ml) de 2-bromo-etanol (17,8 mg, 0,14 mmoles) a la disolución naranja resultante. La mezcla se agitó a 110 °C durante 18 horas durante las cuales la disolución viró a rojo oscuro. A continuación, la mezcla se inactivó con H₂O (10 ml) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3x25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se evaporaron y se purificaron por cromatografía ultrarrápida [R_f = 0,18, (MeOH/diclorometano 5:95, v/v)] proporcionando 24 mg del alcohol resultante (4a) como un aceite amarillo con un rendimiento del 60 %; RMN ¹H (CDCl₃) δ 0,90 (d, J = 4,3 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 4,2 Hz, 3H), 1,06 (m, 1H), 1,55-1,83 (m, 5H), 2,0 (t, J = 11,2 Hz, 1H), 2,24-2,67 (m, 4H), 2,97-3,19 (m, 4H), 3,35-3,43 (m, 1H), 3,80 (s, 3H, diaestereómero principal), 3,82 (s, 3H, diaestereómero secundario), 3,89 (t, J = 4,5 Hz, 2H), 4,08 (t, J = 4,6 Hz, 2H), 6,59 (s, 1H, diaestereómero secundario), 6,63 (1H, diaestereómero principal), 6,67 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,73 (s, 1H, diaestereómero secundario); EM-AR calc. para C₂₀H₃₁NO₄ [M⁺] 349,2253, hallada 349,2243.

(±)-2-hidroxi-3-isobutil-9-(2-metanosulfoniloxietoxi)-10-metoxi-1,2,3,4,6,7-hexahidro-11bH-benzo[a]quinolizina (5a)

A una disolución que contiene hidroxiquinolizina (4a) (38 mg, 0,11 mmoles) y Et₃N (22,3 mg, 0,22 mmoles) en diclorometano seco (1,7 ml) se añadió gota a gota MsCl (12,5 mg, 0,11 mmoles) en diclorometano (0,5 ml) a 0 °C y la mezcla se agitó durante 4 horas. A continuación, la mezcla de reacción se inactivó con H₂O (10 ml) y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3x25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO₄, se evaporaron y se purificaron por cromatografía ultrarrápida [R_f = 0,45, (MeOH/diclorometano 5:95, v/v)] proporcionando 26 mg del mesilato (5a) resultante como un sólido esponjoso blanco con un rendimiento del 56 % junto con 11,4 mg de material de partida; RMN ¹H (CDCl₃) δ 0,92 (d, J = 5,7 Hz, 3H), 0,94 (d, J = 4,6 Hz, 3H), 1,0

(m, 1H), 1,49-1,80 (m, 5H), 2,01 (t, J = 11,2 Hz, 1H), 2,48-2,68 (m, 3H), 3,02-3,1 (m, 4H), 3,13 (s, 3H), 3,32-3,47 (m, 1H), 3,8 (s, 3H), 4,23 (t, J = 4,6 Hz, 2H), 4,57 (t, J = 4,3 Hz, 2H), 6,57 (s, 1H, diaestereómeros principal y secundario), 6,67 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,72 (s, 1H, diaestereómero secundario); EM-AR calc. para $C_{21}H_{33}NO_6S$ [M⁺] 427,2029, hallada 427,2004.

5 (±)-2-hidroxi-3-isobutil-9-(2-fluoroetoxi)-10-metoxi-1,2,3,4,6,7-hexahidro-11bH-benzo[a]quinolizina (6a)

Se disolvió (±)-9-O-desmetildihidrotetabenazina (3) (30 mg, 0,1 mmoles) en DMF seca (1,0 ml) en un tubo de microondas de 2 ml bajo argón, se añadió Cs_2CO_3 (64 mg, 0,19 mmoles) y la mezcla se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente durante los cuales la disolución amarilla viró a naranja. A continuación se añadieron NaI (30 mg, 0,19 mmoles) y una disolución de DMF (0,5 ml) de 1-bromo-2-fluoroetano (25,4 mg, 0,19 mmoles) y la mezcla se calentó a 200 °C en microondas durante 10 minutos. A continuación, la disolución marrón se inactivó con H_2O (10 ml) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3x25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se evaporaron y se purificaron por cromatografía ultrarrápida [R_f = 0,25, MeOH/diclorometano 5:95, v/v] proporcionando 17,3 mg del fluoruro (6a) como un sólido amarillo con un rendimiento del 50 %; RMN 1H ($CDCl_3$) δ 0,90 (d, J = 5,5 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 4,9 Hz, 3H), 1,04 (m, 1H), 1,48-1,82 (m, 5H), 1,99 (t, J = 11,4 Hz, 1H), 2,4-2,7 (m, 3H), 3,0-3,15 (m, 4H), 3,3-3,48 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 4,22 (dt, J = 27,5, 4,3 Hz, 2H), 4,74 (dt, J = 47,3, 4,1 Hz, 2H), 6,53 (s, 1H, diaestereómero secundario), 6,56 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,62 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,68 (s, 1H, diaestereómero secundario); EM-AR calc. para $C_{20}H_{30}FNO_3$ [M⁺] 351,2210, hallada 351,2226.

(±)-2-hidroxi-3-isobutil-9-(3-hidroxiopropoxi)-10-metoxi-1,2,3,4,6,7-hexahidro-11bH-benzo[a]quinolizina (4b)

A una disolución amarilla de (±)-9-O-desmetildihidrotetabenazina (3) (70 mg, 0,22 mmoles) en DMF seca (2,5 ml) se añadió Cs_2CO_3 (97 mg, 0,3 mmoles) y la mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación se añadió una disolución de DMF (0,5 ml) de 3-bromo-propanol (41,4 mg, 0,3 mmoles) a la disolución naranja resultante. La mezcla se agitó a 110 °C durante 18 horas durante las cuales la disolución viró a rojo oscuro. La mezcla se inactivó con H_2O (10 ml) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3x25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se evaporaron y se purificaron por cromatografía ultrarrápida [R_f = 0,18, MeOH/diclorometano 5:95, v/v] proporcionando 59 mg del alcohol resultante (4b) como un aceite amarillo con un rendimiento del 71 %; RMN 1H ($CDCl_3$) δ 0,90 (d, J = 4,4 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 4,4 Hz, 3H), 1,04 (m, 1H), 1,49-1,90 (m, 5H), 1,98-2,07 (m, 3), 2,46-2,66 (m, 4H), 3,0-3,19 (m, 4H), 3,30-3,48 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,85 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 4,14 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 6,57 (s, 1H, diaestereómero secundario), 6,60 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,66 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,72 (s, 1H, diaestereómero secundario); EM-AR calc. para $C_{21}H_{33}NO_4$ [M⁺] 363,2410, hallada 363,2404.

(±)-2-hidroxi-3-isobutil-9-(3-metanosulfoniloxipropoxi)-10-metoxi-1,2,3,4,6,7-hexahidro-11bH-benzo[a]quinolizina (5b)

A hidroxiquinolizina (4b) (50 mg, 0,14 mmoles) y Et3N (27,7 mg, 0,27 mmoles) en diclorometano seco (2,5 ml) se añadió gota a gota una disolución de diclorometano (0,5 ml) de MsCl (15,7 mg, 0,14 mmoles) a 0 °C. Después de agitar durante 4 horas la mezcla de reacción se inactivó con H_2O (10 ml) y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3x25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se evaporaron y se purificaron por cromatografía ultrarrápida [R_f = 0,45, MeOH/diclorometano 5:95, v/v] proporcionando 24 mg del mesilato (5b) como un sólido esponjoso blanco con un rendimiento del 40 % junto con 15 mg de material de partida recuperado; RMN 1H ($CDCl_3$) δ 0,91 (d, J = 4,1 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 4,6 Hz, 3H), 1,06 (m, 1H), 1,54-1,72 (m, 5H), 2,0 (t, J = 11,4 Hz, 1H), 2,2-2,26 (m, 2H), 2,54-2,70 (m, 3H), 2,98 (s, 3H), 2,99-3,09 (m, 4H), 3,30-3,45 (m, 1H), 3,79 (s, 3H, diaestereómero secundario), 3,80 (s, 3H, diaestereómero principal), 4,09 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 4,45 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 6,60 (s, 1H, diaestereómeros principal y secundario), 6,67 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,67 (s, 1H, diaestereómero secundario); EM-AR calc. para $C_{22}H_{35}NO_6S$ [M⁺] 441,2185, hallada 441,2172.

p-toluenosulfonato de 3-fluoropropilo

A 3-fluoro-propan-1-ol (0,2 g, 2,56 mmoles) en diclorometano (7 ml) se añadieron DMAP (63 mg, 0,5 mmoles) y piridina (0,4 mg, 5,12 mmoles). La mezcla se enfrió a 0 °C, a continuación se añadió TsCl (0,73 g, 3,84 mmoles) y la mezcla se agitó durante la noche. Se añadió HCl 1 M (10 ml) y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo en diclorometano (3x40 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se evaporaron y se purificaron por cromatografía ultrarrápida dando 0,447 g del tosilato con un rendimiento del 70 %; RMN 1H ($CDCl_3$) δ 2,02 (dq, J = 25,8, 5,9 Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 4,16 (t, J = 6,14 Hz, 2H), 4,47 (dt, J = 46,8, 5,6 Hz, 2H), 7,35 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,80 (d, J = 8,2 Hz, 2H).

(±)-2-hidroxi-3-isobutil-9-(3-fluoropropoxi)-10-metoxi-1,2,3,4,6,7-hexahidro-11bH-benzo[a]quinolizina (6b)

Se disolvió (+)-9-O-desmetildihidrotetabenazina (3) (43 mg, 0,14 mmoles) en DMF seca (1,0 ml) bajo argón, se añadió Cs_2CO_3 (60 mg, 0,18 mmoles) y la mezcla se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente durante los cuales la disolución amarilla viró a naranja. Se añadió una disolución de DMF (0,5 ml) de 3-fluoropropil-p-toluenosulfonato (8) (43 mg, 0,18 mmoles) y la mezcla se calentó a 110 °C durante 18 horas. A continuación, la disolución roja oscura se inactivó con H_2O (10 ml) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3x25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se evaporaron y se purificaron por cromatografía ultrarrápida [R_f =

0,25, MeOH/diclorometano 5:95, v/v)] proporcionando 29,8 mg del fluoruro (6b) como un sólido con un rendimiento del 45 %; RMN ¹H (CDCl₃) δ 0,91 (d, J = 4,7 Hz, 3H), 0,94 (d, J = 4,5 Hz, 3H), 1,04 (m, 1H), 1,48-1,85 (m, 5H), 2,0 (t, J = 11,4 Hz, 1H), 2,19 (dquint, J = 26,2, 5,9 Hz, 2H), 2,37-2,74 (m, 3H), 2,90-3,22 (m, 4H), 3,25-3,40 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 4,11 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 4,64 (dt, J = 47, 5,7 Hz, 2H), 6,58 (s, 1H, diaestereómero secundario), 6,61 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,68 (s, 1H, diaestereómero principal), 6,73 (s, 1H, diaestereómero secundario); EM-AR calc. para C₂₁H₃₂FNO₃ [M⁺] 365,2366, hallada 365,2350.

Ejemplo 2

RADIOSÍNTESIS

Se produjo [¹⁸F]fluoruro por irradiación en ciclotrón de [¹⁸O]agua, y se aisló pasando el agua diana a través de un cartucho Sep-Pak Light QMA. El ión [¹⁸F]fluoruro se eluyó del cartucho de QMA con 1 ml de disolución de acetonitrilo (0,8 ml) y agua (0,2 ml) que contenía Kryptofix (13 mg) y carbonato de potasio (0,2 mg). El agua se evaporó azeotrópicamente de esta mezcla usando acetonitrilo de calidad para HPLC (3 x 0,5 ml) en un baño de aceite a 110 °C bajo una corriente de nitrógeno. Después de la secuencia de secado final, se añadieron 1 mg de 5a o 5b disueltos en 0,5 ml de DMF: ACN (3:2) al residuo de ¹⁸F. El contenido se mezcló brevemente usando nitrógeno y se calentó a 110 °C durante 5 minutos. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con agua (6 ml). Se realizó purificación en fase sólida usando un cartucho Oasis® de Waters (HLB-6cc, pieza n° 186000115, 200 mg) previamente aclarado con una disolución de 5 % de etanol en agua (10 ml). Después de que la muestra radiactiva se hubiera aplicado, el cartucho se aclaró con 3 x 6 ml de agua adicionales para eliminar el fluoruro que no hubiera reaccionado, y el producto radiomarcado se eluyó con acetonitrilo (4 ml). Cuando se completó la evaporación de 2 ml de acetonitrilo, entonces se añadieron 3 ml de agua y a continuación se purificó por HPLC semi-preparativa. El control de calidad de [¹⁸F]6a y [¹⁸F]6b mostró que el producto eluía a 4,9 y 6,5 min, respectivamente, y co-eluía con patrón no radiactivo 6a y 6b en la HPLC analítica. El área del pico de UV correspondiente al producto se comparó con una curva de calibración estándar y se usó para determinar la actividad específica de [¹⁸F]6a o [¹⁸F]6b. La actividad específica de [¹⁸F]6a y [¹⁸F]6b se estimó en aproximadamente 2000 Ci/mmoles. La síntesis completa requirió aproximadamente 50-55 minutos; la pureza radioquímica fue >98 % y el rendimiento radioquímico fue 40 ± 5 (desintegración corregida).

Ejemplo 3

PURIFICACIÓN POR HPLC

Se usaron dos sistemas de HPLC para confirmar las puridades de los compuestos 4a, 4b, 6a y 6b. Se obtuvo más del 95 % de pureza para tanto los derivados de fluoroetilo como de fluoropropilo, 6a y 6b, además de para ambos derivados de hidroxilo, 4a y 4b.

Sistema A: HPLC de la serie 1100 de Agilent 1100, columna: Phenomenex, Luna 5 μ, C-18, 250 x 4,6 mm y el sistema de disolventes fue 1:2 (acetonitrilo:disolución de acetato de amonio 50 mM, pH 4,5 ajustado con ácido fosfórico) a una velocidad de flujo de 1 ml/min con UV a 280 nm. Tiempo de retención: 6a, 4,9 min; 6b, 6,1 min; 4a, 2,6 y 3,0 min; 4b, 2,6 y 3,2 min

Sistema B: HPLC de Ranin, columna: Hamilton PRP-1, 5 μ, 250 x 4,6 mm y el sistema de disolventes fue 7:3 (acetonitrilo:ácido dimetilglutámico 5 mM, pH 7,0) a una velocidad de flujo de 0,5 ml/min con UV a 280 nm. Tiempo de retención: 6a, 8,7 min; 6b, 10,2 min; 4a, 6,0 min; 4b, 6,4 min.

Condición de HPLC semi-preparativa: HPLC de la serie 1100 de Agilent, columna: Phenomenex, Luna 5 μ, C-18, 250 x 10 mm y el sistema de disolventes fue 1:2 (acetonitrilo:disolución de acetato de amonio 50 mM, pH 4,5 ajustado con ácido fosfórico) a una velocidad de flujo de 3 ml/min. Condición de HPLC analítica: HPLC de la serie 1100 de Agilent, columna: Phenomenex, Luna 5 μ, C-18, 250 x 4,6 mm y el sistema de disolventes fue 1:2 (acetonitrilo:disolución de acetato de amonio 50 mM, pH 4,5 ajustado con ácido fosfórico) a una velocidad de flujo de 1 ml/min con UV a 240 nm. El tiempo de retención de HPLC de [¹⁸F]6a y [¹⁸F]6b fue 4,9 min y 6,5 min, respectivamente.

Ejemplo 4

UNIÓN DEL HOMOGENEIZADO

A continuación se diseccionaron las regiones del prosencéfalo basal de cerebros de rata y ratón. Se prepararon los homogeneizados de tejido en HEPES 50 mM, pH 7,5 y sacarosa 0,3 M. La unión específica de ligandos de ³H o ¹⁸F se determinó siguiendo los procedimientos descritos (Scherman D, Raisman R, Ploska A, Agid Y., [³H]Dihydrotrabenazine, a new in vitro monoaminergic probe for human brain, J. Neurochem., 1988:50:1131-36). El volumen total de reacción para el ensayo fue 0,2 ml. En experimentos de competición, se examinaron los compuestos a concentraciones hasta 10⁻⁵ M en relación a sus capacidades para competir por la unión de [³H](±)TBZ (1,0-1,5 nM). En experimentos de saturación, se incubaron concentraciones crecientes de ligando marcado (0,01-0,5 nM) en 50 μl de tampón con 100 μl de homogeneizados (100-250 μg). La incubación se llevó a cabo rutinariamente a temperatura ambiente durante 90 min. A continuación, las muestras se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio

n° 25 (Schleicher y Schuell, Keene, NH) y la radiactividad unida se determinó para ^{18}F en un contador gamma (Packard 5000) con 70 % de eficiencia. Los filtros que contenían ligando de ^3H unido se disolvieron en 7 ml de Ecolite(+) durante la noche y la radiactividad se contó al día siguiente en el contador de centelleo (Beckman) con 65 % de eficiencia de recuento. Las determinaciones de proteína se realizaron con el método de Lowry y col., Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ., Protein measurement with Folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 1951:193:265-75) usando albúmina de suero bovino como patrón. La unión no específica se determinó en presencia de tetrabenazina 10 μM . Se analizaron tanto experimentos de saturación como de competición usando el programa de ajuste de curvas por mínimos cuadrados no lineal LIGAND (Munson PJ, Rodbard D., LIGAND: a versatile computerized approach for characterization of ligand-binding systems, Anal. Biochem., 1980:107:220-39). Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1.

Compuesto	Ki (nM \pm EEM)
1, TBZ	1,3 \pm 0,1
3,9-desmetil-(\pm)DTBZ	11,8 \pm 1,7
6a	0,76 \pm 0,1
6b	0,58 \pm 0,03
4a	75,8 \pm 3,5
4b	48,5 \pm 8,8

Se usó Kd de 8,1 nM para [^3H](\pm)TBZ para el cálculo basado en el valor de Ki descrito previamente (Kilbourn M, Sherman P., In vivo binding of (+)-[α]-[^3H]dihydrotetrabenazina to the vesicular monoamine transporter of rat brain: bolus vs. equilibrium studies, Eur. J. Pharmacol., 1997:331:161-68).

15 Ejemplo 5

ESTUDIOS AUTORADIOGRÁFICOS

Para los estudios autorradiográficos *in vitro*, se anestesiaron ratones con isoflurano y se sacrificaron por dislocación cervical; los cerebros se extrajeron inmediatamente y se congelaron con nieve carbónica en polvo. Se cortaron secciones coronales de 20 μm de espesor sobre un micrótopo de criostato, se montaron congeladas sobre portaobjetos Superfrost Plus de Fisher y se guardaron a -20 $^{\circ}\text{C}$ hasta uso. Antes de cada ensayo de unión, las secciones se descongelaron, se secaron a temperatura ambiente y se pre-incubaron durante 20 min en tampón de incubación frío en hielo (HEPES 10 mM, pH 7,5). A continuación se llevó a cabo la incubación en jarras de Coplin en tampón (HEPES 10 mM, pH 7,5, sacarosa 0,3 M y 0,1 % de albúmina de suero bovino) que contenía [^3H](\pm)TBZ 4,6 nM o [^{18}F]6b 1,28 nM durante 90 min. Después de la incubación, las secciones se aclararon en tampón HEPES frío en hielo dos veces durante 30 min cada vez. A continuación, las secciones de tejido se sumergieron en agua destilada enfriada con hielo 30 s para eliminar las sales del tampón antes de secar en una corriente de aire frío. Se marcaron las secciones adyacentes similarmente, pero en presencia de tetrabenazina 10 μM para definir la unión no específica. A continuación, las secciones secadas de tejido se expusieron a la película Kodak Biomax MR para el marcador de ^{18}F (durante la noche) en un casete autorradiográfico junto con patrones de ^{125}I de 20 μm de espesor (Amersham, Arlington Heights, IL). La exposición para ^3H ligando se hizo usando Amersham Hyperfilm durante 6 semanas.

Ejemplo 6

DISTRIBUCIÓN EN ÓRGANOS EN RATONES NORMALES

Mientras que estaban bajo anestesia con isoflurano, se inyectaron 0,15 ml de una disolución al 0,1 % de albúmina de suero bovino que contenía marcadores de [^{18}F] (10-20 μCi) directamente en la vena de la cola de ratones ICR (22-25 g, macho). Los ratones (n = 3 para cada momento de tiempo) se sacrificaron por dislocación cervical en los momentos de tiempo indicados después de la inyección. Se extrajeron los órganos de interés y se pesaron, y se contó la radiactividad con un contador gamma automático. Se calculó el porcentaje de dosis por órgano por una comparación de recuentos del tejido con alícuotas adecuadamente diluidas del material inyectado. Se calcularon las actividades totales de sangre bajo la suposición de que eran del 7 % del peso corporal total. Se calculó el % de dosis/g de muestras comparando los recuentos de muestras con el recuento de la dosis inicial diluida. Se diseccionaron diferentes regiones correspondientes al cuerpo estriado (ST), hipocampo (HP), cerebelo (CB) y corteza (CX) del cerebro.

Se llevaron a cabo estudios de bloqueo por co-inyección (iv) del marcador de ^{18}F con (\pm)DTBZ (3 mg/kg) o racloprida (1,2 mg/kg) en los animales. Treinta minutos después de la inyección, los animales se sacrificaron y se diseccionaron las regiones del cerebro que incluyen ST, HP, CB y CX y se calcularon los % de dosis/g. Se compararon las relaciones de diana (ST) frente a no diana (CB) entre grupos de control y bloqueados.

Tabla 2. Biodistribución de [¹⁸F]6a y [¹⁸F]6b en ratones normales (inyección i.v.)

Distribución en órganos de [¹⁸F]6a (% de dosis/g, promedio de 3 ratones ± DE)

Órgano	2 min	15 min	30 min	1 h	2 h
Sangre	2,68 ± 0,37	2,05 ± 0,17	2,27 ± 0,11	1,75 ± 0,16	1,38 ± 0,20
Corazón	4,49 ± 0,85	1,99 ± 0,19	2,14 ± 0,11	1,53 ± 0,15	1,22 ± 0,13
Músculo	0,66 ± 0,10	1,01 ± 0,02	1,52 ± 0,07	1,05 ± 0,03	0,73 ± 0,13
Pulmón	5,83 ± 1,25	2,96 ± 0,30	2,83 ± 0,25	1,74 ± 0,04	1,29 ± 0,19
Riñón	10,7 ± 3,06	5,51 ± 1,55	4,18 ± 0,33	2,27 ± 0,39	1,40 ± 0,30
Bazo	8,11 ± 0,90	2,77 ± 0,33	2,62 ± 0,20	1,56 ± 0,07	1,06 ± 0,10
Hígado	18,2 ± 4,14	10,5 ± 1,48	8,85 ± 1,34	3,88 ± 0,40	3,36 ± 0,32
Piel	0,91 ± 0,10	1,19 ± 0,03	1,72 ± 0,11	1,23 ± 0,06	0,85 ± 0,10
Cerebro	4,66 ± 0,78	2,10 ± 0,25	2,09 ± 0,09	1,51 ± 0,20	1,13 ± 0,10
Hueso	2,07 ± 0,05	2,40 ± 0,23	3,88 ± 0,47	5,84 ± 1,42	8,89 ± 0,75

Distribución regional en el cerebro

Región	2 min	15 min	30 min	1 h	2 h
Cerebelo (CB)	4,42 ± 0,74	1,97 ± 0,22	1,97 ± 0,14	1,85 ± 0,20	1,09 ± 0,03
Cuerpo estriado	5,46 ± 0,80	3,76 ± 0,51	3,37 ± 0,06	3,17 ± 0,79	1,39 ± 0,03
Hipocampo	4,84 ± 0,72	2,33 ± 0,30	2,02 ± 0,10	1,95 ± 0,49	1,22 ± 0,18
Corteza	4,70 ± 0,66	1,82 ± 0,19	1,96 ± 0,14	2,07 ± 0,42	0,88 ± 0,21
Relación (frente a CB)					
Cuerpo estriado	1,23	1,91	1,71	1,71	1,28
Hipocampo	1,09	1,18	1,03	1,05	1,12
Corteza	1,06	0,92	1,00	1,12	0,81

5

Distribución en órganos de [¹⁸F]6b (% de dosis/g, promedio de 3 ratones ± DE)

Órgano	2 min	15 min	30 min	1 h	2 h
Sangre	2,60 ± 0,31	1,75 ± 0,07	1,92 ± 0,22	1,04 ± 0,07	0,56 ± 0,07
Corazón	6,79 ± 1,49	2,43 ± 0,16	2,67 ± 0,26	1,74 ± 0,14	1,02 ± 0,09
Músculo	1,17 ± 0,16	1,16 ± 0,35	1,53 ± 0,16	1,05 ± 0,41	0,56 ± 0,11
Pulmón	7,97 ± 1,46	3,58 ± 0,33	3,46 ± 0,36	2,15 ± 0,12	1,40 ± 0,09
Riñón	16,1 ± 3,13	5,90 ± 0,25	6,80 ± 0,65	3,63 ± 0,30	2,40 ± 0,51
Bazo	9,19 ± 0,26	3,38 ± 0,49	3,40 ± 0,43	2,05 ± 0,05	1,15 ± 0,41
Hígado	24,1 ± 4,93	15,8 ± 1,65	17,3 ± 2,00	10,4 ± 0,95	8,53 ± 1,73
Piel	1,13 ± 0,25	1,15 ± 0,16	2,22 ± 0,20	1,38 ± 0,03	1,24 ± 0,53
Cerebro	7,08 ± 2,17	2,01 ± 0,10	1,76 ± 0,27	0,91 ± 0,25	0,53 ± 0,05
Hueso	2,70 ± 0,44	3,65 ± 0,49	9,62 ± 3,42	16,6 ± 1,60	17,8 ± 1,83

Distribución regional en el cerebro

Región	2 min	15 min	30 min	1 h	2 h
Cerebelo (CB)	6,26 ± 2,89	1,63 ± 0,05	1,30 ± 0,19	0,77 ± 0,06	0,45 ± 0,01
Cuerpo estriado	8,49 ± 1,12	4,12 ± 0,52	3,84 ± 1,05	2,08 ± 0,27	0,87 ± 0,24
Hipocampo	7,07 ± 1,66	2,14 ± 0,16	2,55 ± 1,20	1,04 ± 0,16	0,50 ± 0,06
Corteza	8,25 ± 2,51	1,62 ± 0,05	1,45 ± 0,38	0,85 ± 0,12	0,41 ± 0,06
Relación (frente a CB)					
Cuerpo estriado	1,36	2,53	2,95	2,71	1,94
Hipocampo	1,13	1,31	1,97	1,35	1,12
Corteza	1,32	1,00	1,11	1,10	0,91

Tabla 3. Biodistribución en ratones normales 30 min después de una inyección i.v. de [¹⁸F]6b en solución salina con 3 mg/kg de (+)DTBZ o 1,2 mg/kg de racloprida

5

Distribución en órganos (% de dosis/g, promedio de 3 ratones ± DE)

Órgano	Control	(+)-DTBZ	racloprida
Sangre	1,41 ± 0,20	1,67 ± 0,04	1,60 ± 0,08
Corazón	2,05 ± 0,13	2,36 ± 0,07	2,29 ± 0,06
Músculo	1,06 ± 0,06	1,28 ± 0,07	1,15 ± 0,03
Pulmón	2,78 ± 0,20	3,27 ± 0,17	3,34 ± 0,24
Riñón	5,90 ± 0,42	4,94 ± 3,38	6,01 ± 0,50
Bazo	2,90 ± 0,14	2,67 ± 0,17	3,25 ± 0,20
Hígado	13,9 ± 1,15	14,0 ± 0,56	14,6 ± 0,44
Piel	1,48 ± 0,09	1,67 ± 0,02	1,58 ± 0,09
Cerebro	1,40 ± 0,12	0,86 ± 0,04	1,64 ± 0,16
Hueso	6,06 ± 1,11	6,54 ± 0,84	6,03 ± 1,07

Distribución regional en el cerebro

Región	control	(+)-DTBZ	racloprida
Cerebelo (CB)	1,05 ± 0,09	0,89 ± 0,16	1,19 ± 0,11
Cuerpo estriado	3,57 ± 0,30	0,87 ± 0,18	4,67 ± 1,29
Hipocampo	1,43 ± 0,12	0,83 ± 0,27	1,89 ± 0,85
Corteza	1,21 ± 0,15	0,91 ± 0,13	1,41 ± 0,15
Hipotálamo	2,67 ± 0,30	0,92 ± 0,23	2,52 ± 0,77
Relación (frente a CB)			
Cuerpo estriado	3,40	0,98	3,93
Hipocampo	1,36	0,94	1,59
Corteza	1,15	1,03	1,18
Hipotálamo	2,54	1,04	2,12

Ejemplo 7**DISTRIBUCIÓN EN ÓRGANOS DE [¹⁸F]FP-(±)-6b EN RATONES NORMALES**

Después de anestesiarse ratones ICR (22-25 g macho) con isoflurano, se inyectaron 0,15 ml de una disolución al 0,1 % de albúmina de suero bovino que contenía [¹⁸F]FP-(+)-6b (10-20 µCi) directamente en la vena de la cola. Los ratones (n = 3 para cada momento de tiempo) se sacrificaron por dislocación cervical (bajo anestesia con isoflurano) en los momentos de tiempo indicados después de la inyección. Se extrajeron los órganos de interés y se pesaron, y se contó la radiactividad con un contador gamma automático. Se calculó el porcentaje de dosis por órgano por una comparación de recuentos del tejido con alícuotas adecuadamente diluidas del material inyectado. Se calculó la actividad total de la sangre bajo la suposición de que era el 7 % del peso corporal total. Se calculó el % de dosis/g de muestras comparando los recuentos de muestras con el recuento de la dosis inicial diluida. Se diseccionaron diferentes regiones correspondientes al cuerpo estriado (ST), hipocampo (HP), cerebelo (CB) y corteza (CX) del cerebro y se contaron para obtener la distribución regional del marcador.

Se inyectaron cuatro ratones lesionados con una mezcla de 20 µCi de cada uno de [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ y [¹²⁵I]IPT (N-(3'-yodopropen-2'-il)-2-beta-carbometoxi-3-beta-(4-clorofenil)tropano, un ligando del transportador de dopamina). Treinta minutos después de la inyección, los ratones se sacrificaron y se extrajeron los cerebros. Se diseccionaron diferentes regiones correspondientes al cuerpo estriado (ST), hipocampo (HP), cerebelo (CB) y corteza (CX). En particular, la región lesionada se separó del área no lesionada de los tejidos de cuerpo estriado. Se contaron las muestras en un contador gamma con dos parámetros de ventana diferentes para F-18 y I-125, respectivamente, para obtener la distribución regional de cada marcador.

Tabla 4. Biodistribución de [¹⁸F]FP-(±)-6b en ratones normales (% de dosis/g, promedio de 3 ratones ± DE)

Distribución en órganos

Órgano	2 min	30 min	60 min	2 h	4 h
Sangre	2,12 ± 0,17	1,73 ± 0,15	0,97 ± 0,04	0,57 ± 0,09	0,06 ± 0,02
Corazón	5,47 ± 1,19	2,43 ± 0,22	1,67 ± 0,02	0,91 ± 0,14	0,12 ± 0,01
Músculo	0,78 ± 0,11	1,10 ± 0,12	0,73 ± 0,04	0,53 ± 0,05	0,06 ± 0,01
Pulmón	9,04 ± 4,71	3,17 ± 0,33	2,00 ± 0,05	1,26 ± 0,13	0,19 ± 0,01
Riñón	10,7 ± 2,02	5,81 ± 1,15	3,48 ± 0,34	2,28 ± 0,34	0,31 ± 0,02
Bazo	7,38 ± 1,62	3,69 ± 0,25	2,11 ± 0,05	1,40 ± 0,35	0,17 ± 0,02
Hígado	24,6 ± 1,37	22,2 ± 1,98	14,5 ± 0,91	9,81 ± 0,94	1,58 ± 0,08
Piel	1,05 ± 0,12	1,42 ± 0,03	1,06 ± 0,04	0,67 ± 0,06	0,09 ± 0,01
Cerebro	4,82 ± 0,86	2,05 ± 0,37	1,10 ± 0,32	0,68 ± 0,11	0,16 ± 0,03
Hueso	1,95 ± 0,30	4,88 ± 1,43	9,22 ± 0,48	12,7 ± 1,84	3,49 ± 0,35

Distribución regional en el cerebro (% de dosis/g)

Región	2 min	30 min	60 min	2 h	4 h
Cerebelo (CB)	4,67 ± 0,74	1,41 ± 0,23	0,89 ± 0,01	0,54 ± 0,09	0,41 ± 0,02
Cuerpo estriado	7,28 ± 0,80	6,34 ± 1,01	4,24 ± 0,78	1,76 ± 0,33	0,46 ± 0,13
Hipocampo	4,54 ± 0,72	2,23 ± 0,59	1,18 ± 0,12	0,58 ± 0,15	0,41 ± 0,01
Corteza	4,54 ± 0,66	1,88 ± 0,63	0,89 ± 0,11	0,51 ± 0,02	0,36 ± 0,02
Resto	4,71 ± 0,74	2,04 ± 0,28	1,30 ± 0,08	0,62 ± 0,10	0,42 ± 0,05
Hipotálamo	6,41 ± 1,11	4,95 ± 0,84	2,42 ± 0,52	1,02 ± 0,11	0,47 ± 0,01

Relación (frente a CB)					
Cuerpo estriado	1,56	4,51	4,74	3,28	1,11
Hipocampo	0,97	1,59	1,32	1,09	0,99
Corteza	0,97	1,34	1,00	0,96	0,87
Resto	1,01	1,45	1,45	1,15	1,02
Hipotálamo	1,37	3,52	2,71	1,90	1,15

Ejemplo 8

DISTRIBUCIÓN EN ÓRGANOS DE [¹⁸F](+)-6b EN RATAS NORMALES

5 Se mostró la capacidad de (+)-6b para elegir como diana el páncreas en ratas normales. Usando los procedimientos descritos anteriormente bajo el Ejemplo 6, se midió la biodistribución de (+)-6b después de la inyección i.v. en doce ratas normales. Los resultados se muestran en la Tabla 5. Para los órganos estudiados, el páncreas tuvo el mayor % de dosis/gramo en el plazo de 30 minutos después de la inyección. También se muestran datos que indican la distribución en el cuerpo estriado, que es otra área rica en receptores de VMAT-2.

Tabla 5. Biodistribución de [¹⁸F]FP-(±)-6b en ratas normales (% de dosis/g)

	2 min	30 min	60 min	120 min
Sangre	0,26 ± 0,03	0,23 ± 0,06	0,18 ± 0,02	0,12 ± 0,03
Corazón	0,71 ± 0,07	0,41 ± 0,03	0,30 ± 0,10	0,22 ± 0,01
Músculo	0,14 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,01
Pulmón	0,94 ± 0,04	0,69 ± 0,03	0,54 ± 0,14	0,35 ± 0,03
Riñón	2,10 ± 0,17	1,06 ± 0,06	0,84 ± 0,09	0,55 ± 0,06
Páncreas	2,51 ± 0,22	5,50 ± 0,97	4,98 ± 0,24	2,76 ± 0,61
Bazo	146 ± 015	1,03 ± 0,18	0,83 ± 0,18	0,48 ± 0,04
Hígado	3,53 ± 0,56	2,82 ± 0,24	2,47 ± 0,30	1,47 ± 0,13
Piel	0,23 ± 0,05	0,28 ± 0,01	0,23 ± 0,04	0,16 ± 0,02
Cerebro	0,71 ± 0,05	0,62 ± 0,08	0,42 ± 0,04	0,35 ± 0,02
Cerebelo	0,63 ± 0,03	0,40 ± 0,04	0,28 ± 0,04	0,20 ± 0,01
Cuerpo estriado	1,52 ± 0,20	2,25 ± 0,48	1,85 ± 0,26	1,42 ± 0,54
Hipocampo	0,68 ± 0,07	0,61 ± 0,12	0,36 ± 0,08	0,23 ± 0,03
Corteza	0,65 ± 0,02	0,44 ± 0,06	0,27 ± 0,07	0,20 ± 0,06

Ejemplo 9

10 ESTUDIOS DE BLOQUEO PARA LA ELECCIÓN ESPECÍFICA DEL PÁNCREAS COMO DIANA

15 Se realizaron estudios de competición para demostrar la especificidad de la imagenología observada en el páncreas. Se pretrataron ratas con DBTZ no radiomarcada (3,8 mg / kg) cinco minutos antes de la inyección con (+)-6b. El experimento de biodistribución se llevó a cabo como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 6. Los niveles de (+)-6b fueron significativamente inferiores en órganos diana como resultado de ser bloqueados por la presencia de DBTZ no radiomarcada.

Tabla 6. Bloqueo de la señal pancreática de [¹⁸F](+)-6b por DTBZ (% de dosis/g a 30 min, promedio ± DE)

	30 min Control	30 min Bloqueo
Sangre	0,20 ± 0,01	0,32 ± 0,04
Páncreas	4,39 ± 0,64	3,10 ± 0,30 (30 % de bloqueo)

Distribución regional en el cerebro (% dosis/gramo ± DE)

	30 min Control	30 min Bloqueo
Cerebelo	0,36 ± 0,00	0,25 ± 0,03
Cuerpo estriado	1,94 ± 0,03	0,27 ± 0,02 (> 90 % de bloqueo)
Hipocampo	0,54 ± 0,03	0,25 ± 0,03
Corteza	0,36 ± 0,00	0,26 ± 0,05
Hipotálamo	1,20 ± 0,07	0,25 ± 0,04

Ejemplo 10**EXPERIMENTO DE ISÓTOPO DOBLE EN RATONES LESIONADOS**

Se compararon las relaciones de diana (ST) frente a no diana (CB) entre grupos de control y bloqueados.

5 Para medir el grado de lesión, se realizó un experimento de isótopo doble comparando las captaciones por cuerpo estriado en sitios lesionados frente a no lesionados usando [¹⁸F]FP-DTBZ. Se inyectó simultáneamente un marcador [¹²⁵I]IPT (selectivo para transportadores de dopamina). Los ratones mostraron un margen de daño neuronal, de lesión leve a lesión grave, como se muestra por la reducida unión de ambos radiomarcadores en el lado lesionado. Las menores captaciones en los sitios lesionados como se mide por [¹⁸F]FP-DTBZ (sitios de VMAT2) se correlacionaron muy bien con los datos obtenidos con [¹²⁵I]IPT (sitios de DAT)(r = 0,95). Los resultados se muestran a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7. Experimento de isótopo doble con [¹⁸F]FP-6b y [¹²⁵I]IPT en ratones lesionados

Distribución regional en el cerebro (% de dosis/g) y [relación frente a CB] medida 30 min después de la inyección

[¹⁸ F]FP-DTBZ	Ratón 1	Ratón 2	Ratón 3	Ratón 4
Cerebelo (CB)	1,58 [1,00]	1,62 [1,00]	1,26 [1,00]	1,76 [1,00]
Cuerpo estriado L	3,36 [2,13]	4,12 [2,54]	4,17 [3,30]	8,03 [4,57]
Cuerpo estriado N	8,46 [5,37]	6,29 [3,87]	7,28 [5,76]	8,90 [5,07]
Hipocampo	2,95 [1,87]	3,00 [1,85]	2,24 [1,78]	3,00 [1,71]
Corteza	1,53 [0,97]	1,51 [0,93]	1,31 [1,04]	1,94 [1,10]
Resto	2,30 [1,46]	2,24 [1,38]	2,06 [1,63]	2,45 [1,39]
Hipotálamo	5,19 [3,29]	5,04 [3,10]	4,01 [3,18]	5,68 [3,23]
* % de C.EstrL / C.EstrN	39,7	65,6	57,3	90,1

[¹²⁵ I]IPT	Ratón 1	Ratón 2	Ratón 3	Ratón 4
Cerebelo (CB)	0,96 [1,00]	0,77 [1,00]	0,81 [1,00]	0,76 [1,00]
Cuerpo estriado L	3,00 [3,14]	3,53 [4,55]	4,75 [5,90]	6,89 [9,07]
Cuerpo estriado N	9,21 [9,63]	6,33 [8,17]	9,09 [11,3]	7,77 [10,2]
Hipocampo	0,87 [0,91]	0,70 [0,90]	0,81 [1,00]	0,62 [0,81]
Corteza	0,69 [0,72]	0,62 [0,80]	0,66 [0,81]	0,87 [1,15]
Resto	1,34 [1,40]	1,16 [1,49]	1,57 [1,95]	1,16 [1,53]
Hipotálamo	1,28 [1,34]	1,22 [1,58]	1,42 [1,76]	0,99 [1,31]
* % de C.EstrL / C.EstrN	32,6	55,7	52,3	88,7

15 Ejemplo 11**COEFICIENTE DE REPARTO**

20 Se midieron los coeficientes de reparto mezclando el marcador de [¹⁸F] con 3 g de cada uno de 1-octanol y tampón (fosfato 0,1 M, pH 7,4) en un tubo de ensayo. El tubo de ensayo se agitó con vórtex durante 3 min a temperatura ambiente, seguido de centrifugación durante 5 min. Se contaron dos muestras pesadas (0,5 g cada una) de las fases de 1-octanol y tampón en un contador de pocillos. El coeficiente de reparto se determinó calculando la relación de cpm/g de 1-octanol con la de tampón. Se volvieron a repartir las muestras de la fase de 1-octanol hasta que se obtuvieron repartos coherentes de los valores de los coeficientes. Los valores son la media ± SEM de tres experimentos independientes, cada uno por duplicado.

Ejemplo 12

UNIÓN DE HOMOGENEIZADO DE (+)-6b

- Se diseccionaron los tejidos del prosencéfalo basal que contenían la región estriatal y se extrajeron de cerebros de rata congelados. Los homogeneizados de tejido de cerebro se prepararon en HEPES 50 mM, pH 7,5 y sacarosa 0,32 M. La unión específica de [³H]±TBZ se determinó siguiendo un procedimiento descrito (Scherman D y col., [3H]Dihydrotetabenazine, a new in vitro monoaminergic probe for human brain, J. Neurochem. 1988; 50:1131-36). El volumen total de reacción para el ensayo fue 0,2 ml. En experimentos de competición, se examinaron compuestos a concentraciones de hasta 10⁻⁵ M para sus capacidades para competir por la unión de [³H]±TBZ (1,0 - 1,5 nM). Se llevaron a cabo incubaciones rutinariamente a temperatura ambiente durante 90 min. Las muestras se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio nº 25. Los filtros que contenían ligando de ³H unido se disolvieron en 7 ml de Ecolite(+) durante la noche, y se contó la radiactividad al día siguiente en un contador de centelleo con 65 % de eficiencia de recuento. Se determinó la unión no específica en presencia de (±)-TBZ 10 µM. Los resultados de los experimentos de inhibición se sometieron a análisis de regresión no lineal usando el análisis de datos de unión en equilibrio por el que se calcularon los valores de K_i.
- Tabla 8. Constantes de inhibición (K_i, media ± EEM) de FP-(±)-DTBZ, FP-(+)-DTBZ y FP-(-)-DTBZ sobre la unión de [³H](±)-TBZ a VMAT2 en homogeneizados de cuerpo estriado de rata.

Compuesto	K _i (nM)
FP-(±)-DTBZ	0,19 ± 0,04
FP-(+)-DTBZ	0,10 ± 0,01
FP-(-)-DTBZ	>3000
(±)-TBZ	1,3 ± 0,1

- Se usó el valor de K_d de 8,2 nM para [³H](±)-TBZ para el cálculo basado en el valor de K_i descrito (Kilbourn, M, Sherman P, In vivo binding of (+)-[α]-[3H]dihydrotetabenazine to the vesicular monoamine transporter of rat brain: bolus vs. equilibrium studies, Eur. J. Pharmacol., 1997; 331:161-68). Los resultados son medias ± EEM de tres medidas independientes hechas por duplicado.

Ejemplo 13

ESTUDIOS AUTORADIOGRÁFICOS EX VIVO

- Se inyectaron tanto ratones normales e ICR como ratones lesionados con 200-400 µCi de [¹⁸F]FP-(±)-DTBZ y se sacrificaron 30 minutos después de la inyección. A continuación se extrajeron los cerebros inmediatamente y se congelaron con nieve carbónica en polvo. Se cortaron secciones coronales de 20 µm de espesor sobre un micrótopo de criostato, se montaron congeladas sobre portaobjetos Superfrost Plus de Fisher y se secaron a temperatura ambiente. A continuación, las secciones de tejido secadas se expusieron a película Kodak Biomax MR para el marcador de ¹⁸F (durante la noche) en un casete autorradiográfico junto con patrones de ¹²⁵I de 20 µm de espesor. Estos estudios se representan en las Figuras 2 y 3.

Ejemplo 14

ESTABILIDAD METABÓLICA EN CEREBRO DE RATÓN

- Se inyectaron dos ratones con 200 µCi de [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ y se sacrificaron 30 minutos después de la inyección. Se extrajeron los cerebros y se diseccionaron las regiones del cuerpo estriado. Se extrajeron los homogeneizados de cuerpo estriado (preparados en PBS, 10 % en peso/volumen) con 0,5 ml de acetato de etilo en presencia de una pequeña cantidad de vehículo (10 µg de [¹⁸F]FP-(±)-DTBZ). La extracción se repitió tres veces y las fases de acetato de etilo y las fases de tampón se contaron por separado para determinar el porcentaje extraído. Después de condensar las fases de acetato de etilo, las muestras se analizaron sobre CCF (placa Silica 254F con el disolvente revelador de cloroformo/etanol/amonio conc. = 8/2/gota) para la identificación de metabolitos. Se llevó a cabo una muestra de control ([¹⁸F]FP-(±)-DTBZ mezclada con homogeneizados de cuerpo estriado de ratón normal *in situ*) en paralelo para comparación. Los datos indicaron menos del 5 % de degradación.

Ejemplo 15

AFINIDAD DE UNIÓN DE (+)-6b NO MARCADO POR VMAT-2

- Usando homogeneizados de tejido de cuerpo estriado de rata, (+)-6b no marcado a concentraciones de hasta 10⁻⁵ M compitió contra [³H](±)-TBZ (1,0-1,5 nM), un ligando conocido para VMAT-2. Se llevaron a cabo incubaciones a temperatura ambiente durante 90 min. A continuación, las muestras se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio (nº 25) y los filtros que contenían el ligando ³H unido se disolvieron en 7 ml de Ecolite (+) durante la noche. Se contó la radiactividad en un contador de centelleo (Beckman) con 65 % de eficiencia de recuento. Se determinó la unión no

específica en presencia de (\pm)-DTBZ 10 μ M. Los resultados de los experimentos de inhibición se sometieron a análisis de regresión no lineal usando el análisis de datos de unión en equilibrio por el cual se calcularon los valores de K_d . Basándose en el valor de K_d publicado de 8,1 nM (Goswami, 2006) para [3 H](\pm)-TBZ, se encontró que la afinidad de unión de (+)-6b era 0,10 nM.

5 **Ejemplo 16**

CÁLCULOS ESTIMADOS DE DOSIMETRÍA DE RADIACIONES

A partir de los datos de biodistribución en órganos en la Tabla 4 del Ejemplo 7, se calcularon estimaciones de dosimetría de radiación a seres humanos. En la extrapolación basada en la masa, la concentración en los órganos del animal se convierte en una concentración en órganos humanos multiplicando la concentración en el animal por una relación del peso corporal total de los animales y seres humanos (Kirschner y col., 1975). Entonces, el porcentaje en los órganos humanos se deriva usando masas de órganos tomadas de un modelo patrón del cuerpo humano para hombres adultos (Cristy y Eckerman, 1987). Los datos se ajustaron usando el software SAAM II (Foster y Barrett, 1999). Se calcularon las integrales de tiempo de la actividad y se convirtieron en tiempos de residencia (Loevinger y col., 1988); los tiempos de residencia en los órganos se entraron en el software OLIND/EXM (STabin, y col., 2005) usando el modelo masculino adulto. No se supuso secreción de actividad; cualquier actividad no explicada se consideró que estaba uniformemente distribuida por todo el resto del cuerpo o se eliminó solo por desintegración física. Basándose en esta metodología, los cálculos de la dosis de radiación humana para [18 F](+)-6b indican que la mayoría de los órganos reciben aproximadamente 0,04-0,06 rem/mCi, recibiendo la superficie del hígado y hueso una dosis ligeramente mayor, aproximadamente 0,11 rem/mCi. La dosis eficaz estimada (0,047 rem/mCi) también se compara favorablemente con las dosis de radiación recibidas con otros productos radiofarmacéuticos autorizados. Los cálculos estimados de la dosis de radiación se muestran en la Tabla 9 a continuación.

Tabla 9 Cálculos estimados de la dosis de radiación a seres humanos para [18 F](+)-6b

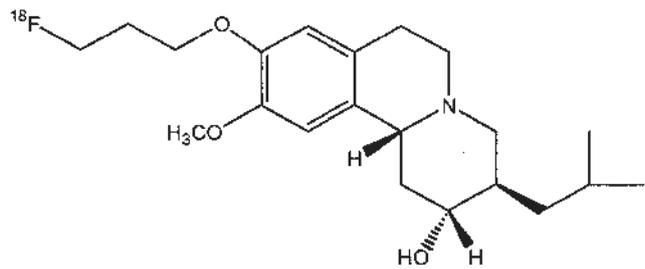
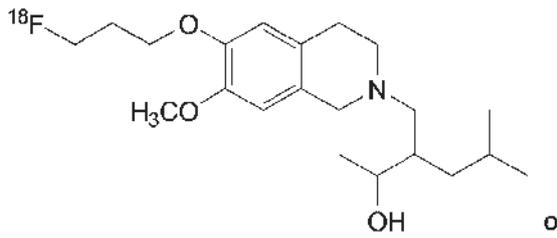
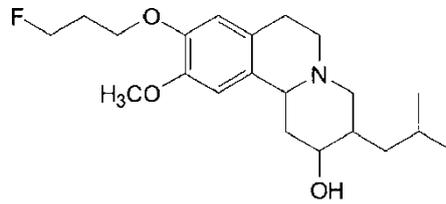
<u>Órgano diana</u>	<u>Dosis estimada</u>	
	<u>mSv/MBq</u>	<u>rem/mCi</u>
Glándulas suprarrenales	1,38E-02	5,09E-02
Cerebro	3,01E-03	1,11E-02
Mamas	9,14E-03	3,38E-02
Pared de la vesícula biliar	1,57E-02	5,80E-02
Pared del intestino grueso inferior	1,31E-02	4,84E-02
Intestino delgado	1,36E-02	5,02E-02
Pared del estómago	1,27E-02	4,70E-02
Pared del intestino grueso superior	1,35E-02	4,99E-02
Pared del corazón	9,78E-03	3,62E-02
Riñones	1,24E-02	4,57E-02
Hígado	2,72E-02	1,01E-01
Pulmones	9,28E-03	3,43E-02
Músculo	1,10E-02	4,05E-02
Ovarios	1,35E-02	5,01E-02
Páncreas	1,41E-02	5,22E-02
Médula roja	1,48E-02	5,48E-02
Células osteogénicas	3,11 E-02	1,15E-01
Piel	8,59E-03	3,18E-02
Bazo	9,73E-03	3,60E-02
Testículos	1,07E-02	3,98E-02
Timo	1,12E-02	4,16E-02
Tiroides	1,12E-02	4,14E-02

(continuación)

<u>Órgano diana</u>	<u>Dosis estimada</u>	
	<u>mSv/MBq</u>	<u>rem/mCi</u>
Pared de la vejiga urinaria	1,29E-02	4,76E-02
Útero	1,36E-02	5,04E-02
Cuerpo total	1,19E-02	4,42E-02
Equivalente de dosis eficaz	1,40E-02	5,17E-02
Dosis eficaz (mSv/MBq)	1,27E-02	4,69E-02

REIVINDICACIONES

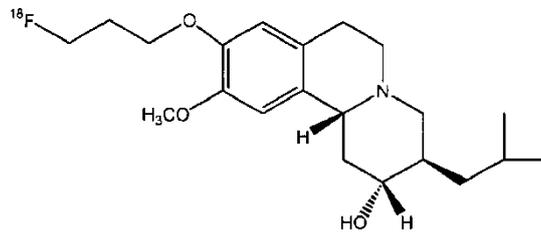
1. Un compuesto de fórmula



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

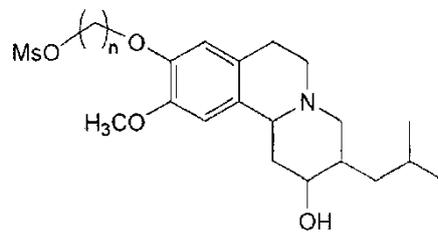
2. Un compuesto de la reivindicación 1 que



se ha purificado a partir de sus estereoisómeros.

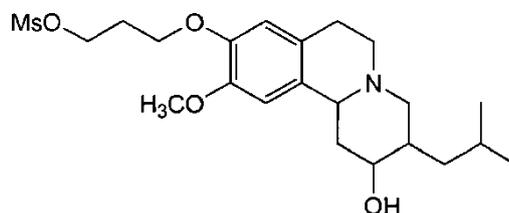
10

3. Un compuesto de fórmula



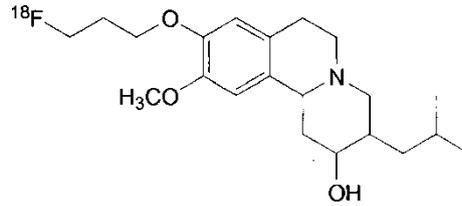
en la que Ms es metanosulfonilo; y n es 2 o 3.

4. El compuesto de la reivindicación 3 que es

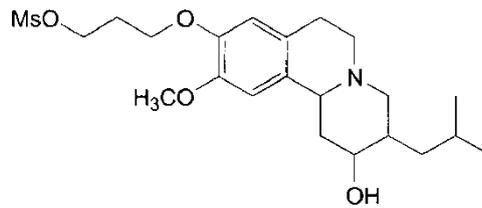


15

5. Un procedimiento de preparación de un compuesto de la siguiente estructura:



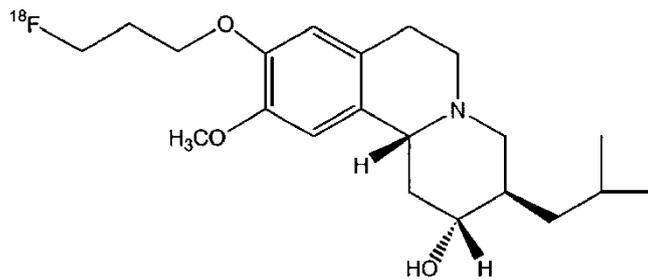
que comprende
hacer reaccionar un compuesto de fórmula



5

en la que MsO es mesilato;
con anión ^{18}F .

6. Una composición de diagnóstico para la imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas que comprende



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

7. Un procedimiento de imagenología de transportadores vesiculares de monoaminas, que comprende:

- introducir en un mamífero una cantidad detectable de una composición de diagnóstico de la reivindicación 6;
- dejar tiempo suficiente para que dicho compuesto marcado se asocie a dichos transportadores; y
- detectar el compuesto marcado asociado a uno o más de dichos transportadores.

15

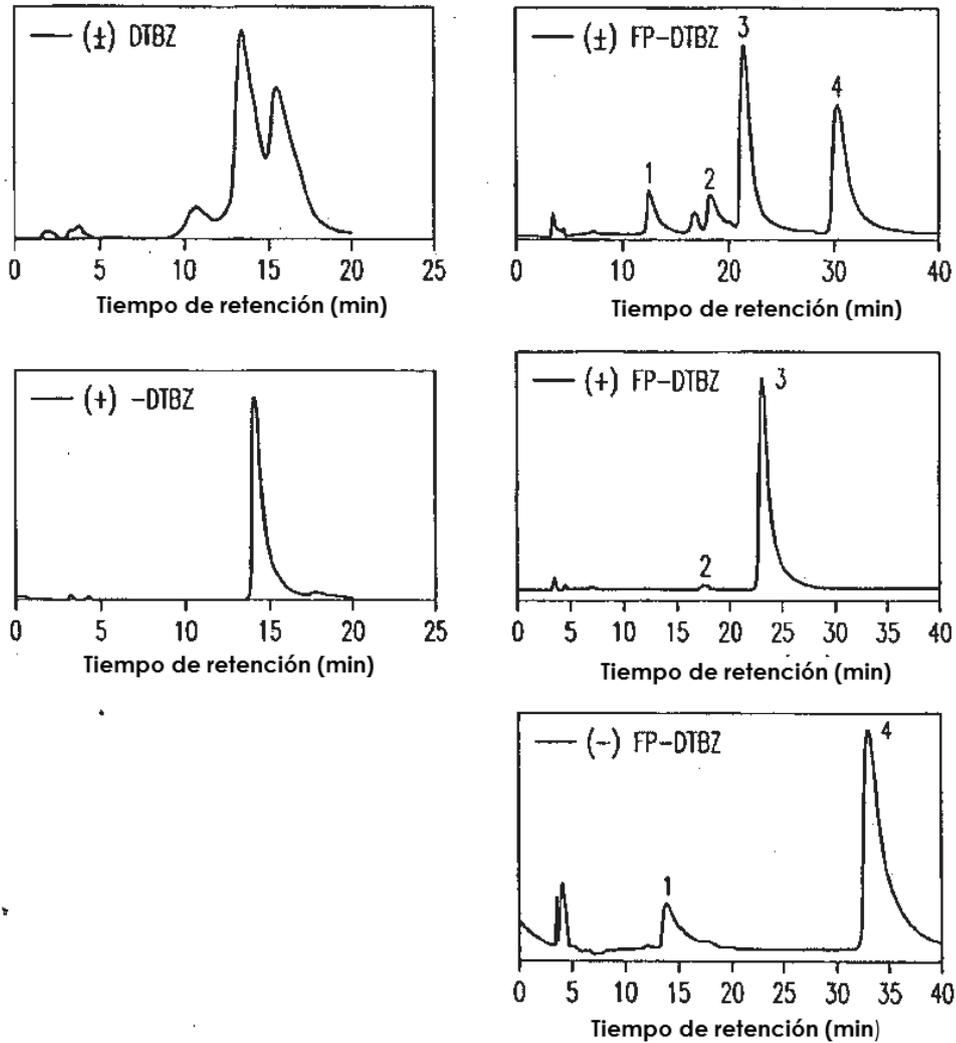
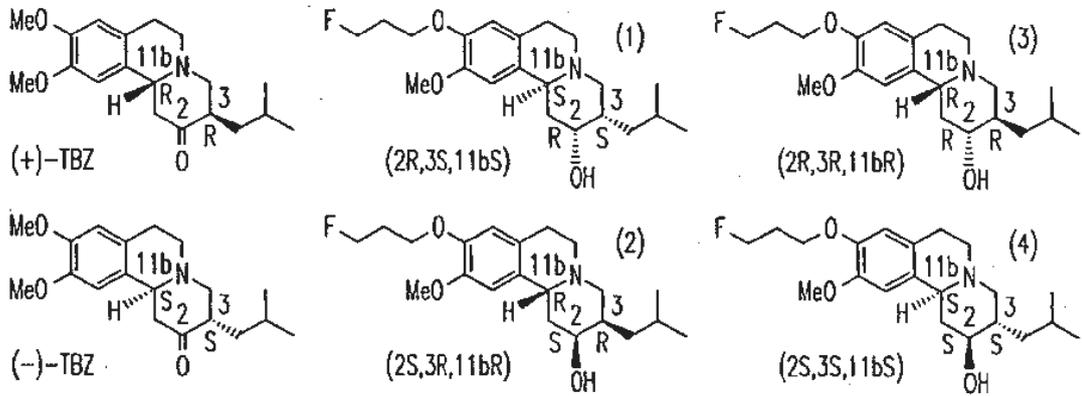


FIG. 1

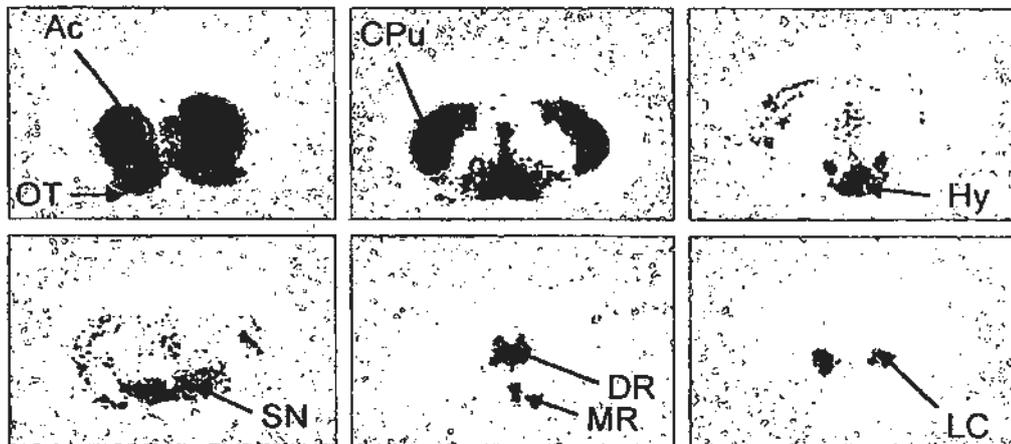


FIG.2

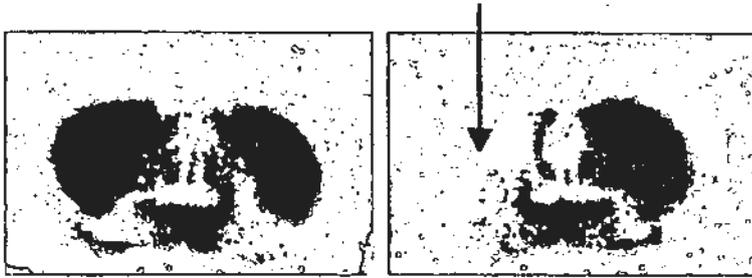


FIG.3

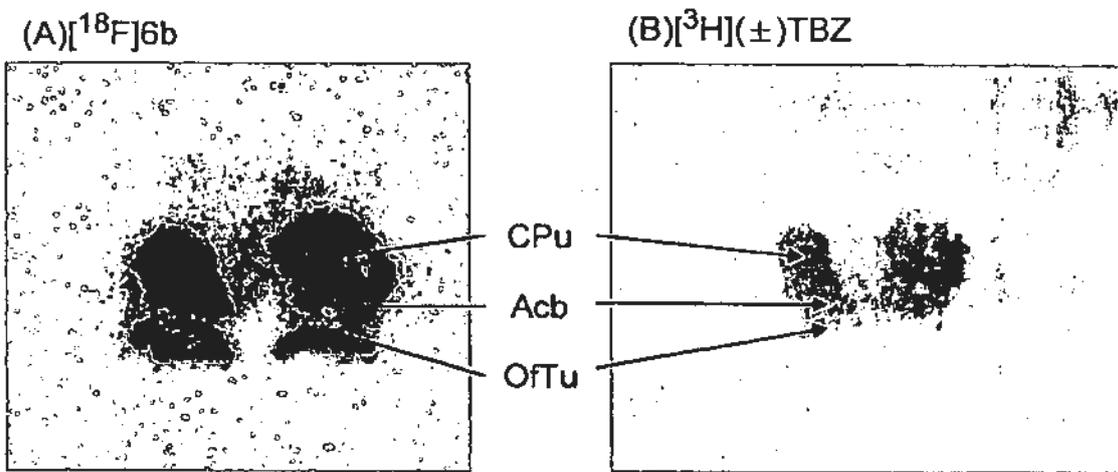


FIG.4

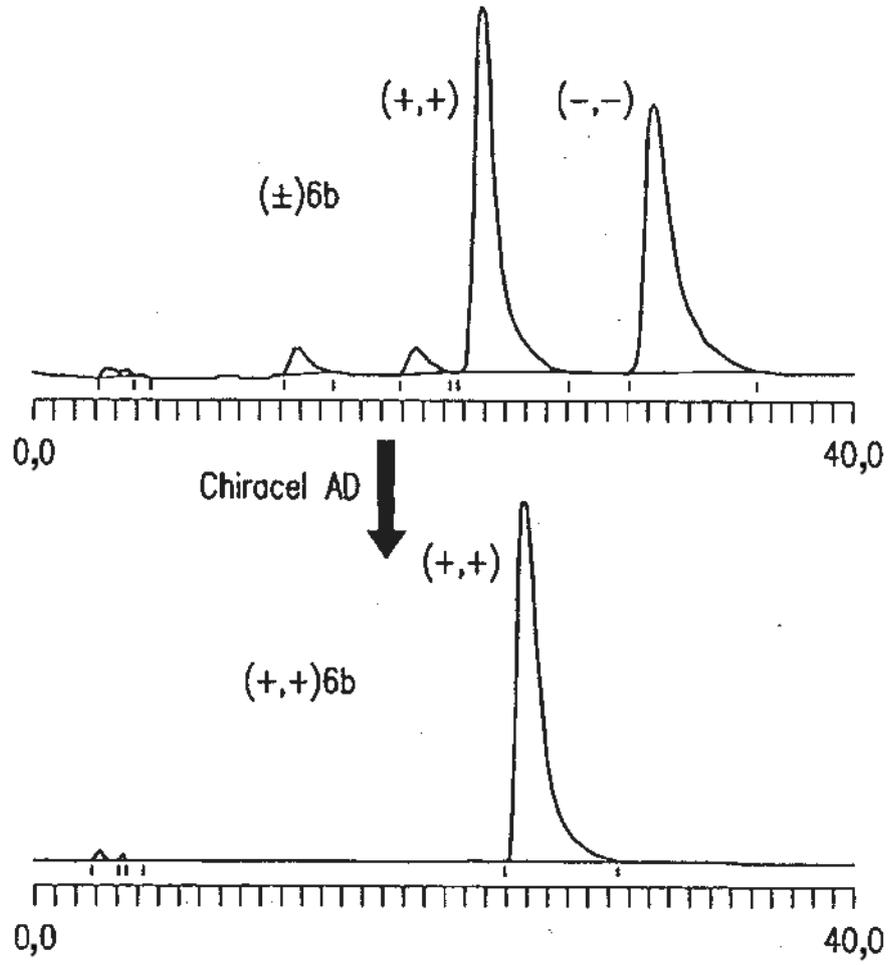


FIG.5

La captación pancreática de (+)-6b se pierde en el modelo de ratón de diabetes

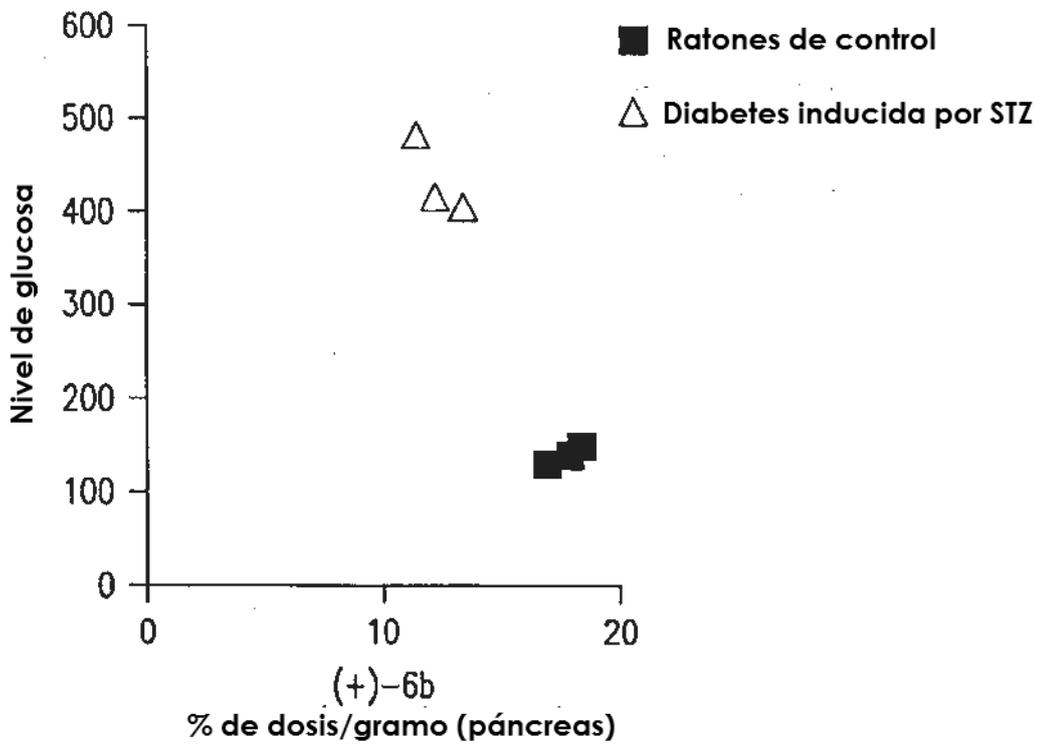


FIG.6

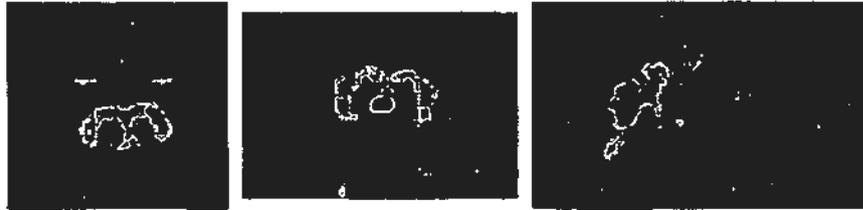


FIG.7

**Unión de F-18-FP-6b
en homogeneizados de islotes**

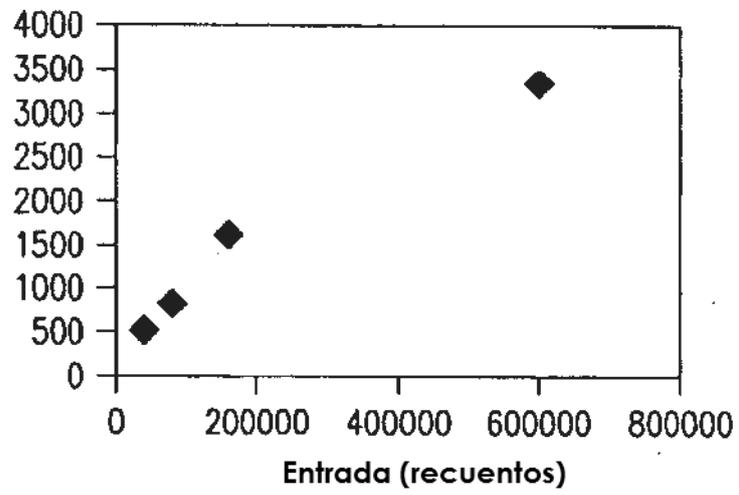
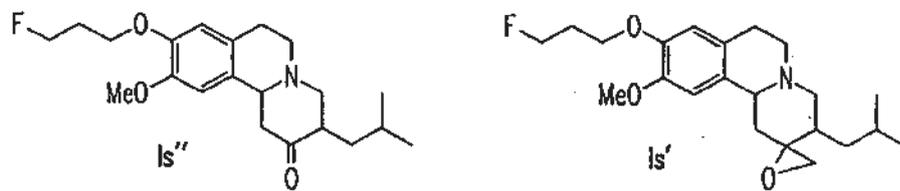


FIG.8



Compuestos	Ki (nM ± EEM)
<i>Is''</i>	0,38 ± 0,06
<i>Is'</i>	0,15 ± 0,01

FIG. 10