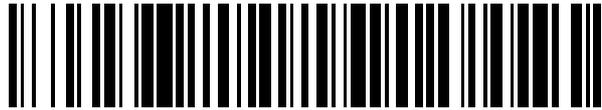


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 221**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/04** (2006.01)

**A61K 51/00** (2006.01)

**A61K 31/437** (2006.01)

**A61K 51/04** (2006.01)

**C07F 7/22** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2012 PCT/JP2012/062778**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.11.2012 WO12161116**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2012 E 12789191 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.04.2017 EP 2716641**

54 Título: **Compuesto marcado con yodo radioactivo con afinidad por amiloide**

30 Prioridad:

**20.05.2011 JP 2011114198**

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

**02.08.2017**

73 Titular/es:

**NIHON MEDI-PHYSICS CO., LTD. (100.0%)  
3-4-10 Shinsuna Koto-ku  
Tokyo 136-0075, JP**

72 Inventor/es:

**OKUMURA, YUKI;  
MAYA, YOSHIFUMI;  
SHOYAMA, YOSHINARI y  
ONISHI, TAKAKO**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 628 221 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Compuesto marcado con yodo radioactivo con afinidad por amiloide.

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a un compuesto para uso en diagnóstico de enfermedad degenerativa cerebral. Más específicamente, la invención se refiere a un compuesto útil para detección de amiloide en sitios de lesión en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades con acumulación de amiloide.

**Antecedentes**

10 Las enfermedades con el comienzo de deposición de una proteína fibrosa denominada amiloide en varios órganos o tejidos en los cuerpos se refieren en general como amiloidosis. Una característica común a la amiloidosis es que la proteína fibrosa denominada amiloide que está enriquecida con la estructura de lámina  $\beta$  se deposita en varios órganos de manera sistémica o en los sitios de manera tóxica a fin de que se desencadenen anomalías funcionales en los órganos o tejidos.

15 La enfermedad de Alzheimer (de ahora en adelante referida como EA), que es una enfermedad de amiloidosis típica, se conoce como una enfermedad que produce demencia. Esta enfermedad es letal con la deposición progresiva de amiloide en el cerebro y así se dice que es una enfermedad que produce preocupación en la sociedad comparado con otras enfermedades de amiloidosis. En los últimos años, el número de pacientes de EA está aumentando rápidamente en los países desarrollados con sociedades que envejecen, produciendo de ese modo un problema social.

20 Desde el punto de vista histopatológico, la EA se caracteriza por tres hallazgos patológicos en el cerebro, es decir, desarrollo de placas seniles, formación de ovillos neurofibrilares y extensa pérdida de neuronas. La placa senil presenta una estructura constituida principalmente por amiloide y se dice que aparece en la fase más temprana del comienzo de EA y así se encuentra de manera patológica en el cerebro 10 o más años antes de la aparición de síntomas clínicos.

25 La EA se diagnostica llevando a cabo varias evaluaciones de funciones cognitivas (por ejemplo, escala de Hasegawa, ADAS-JCog y MMSE) en asociación auxiliar con diagnóstico por imagen tal como TC (tomografía computarizada) e IRM (imagen por resonancia magnética). Sin embargo, el método basado en dichas evaluaciones de funciones cognitivas presenta baja sensibilidad de diagnóstico en la fase temprana del comienzo y es además problemático por que los resultados del diagnóstico son susceptibles a funciones cognitivas innatas de los individuos. En el momento presente, es prácticamente imposible establecer un diagnóstico definitivo de EA mientras  
30 esté vivo un paciente de EA, debido a que el diagnóstico definitivo requiere una biopsia de una lesión (Documento no de patente 1).

Mientras tanto, un informe indica que el amiloide que constituye las placas seniles es un agregado de proteína  $\beta$  amiloide (de ahora en adelante referido como A $\beta$ ). También, numerosos informes indican que el A $\beta$  forma una estructura de lámina  $\beta$  que produce toxicidad de las células nerviosas. Basándose en estos hallazgos, se propone la denominada "hipótesis de cascada amiloide", que sugiere que la deposición cerebral de A $\beta$  desencadena el fenómeno aguas abajo, es decir, formación de ovillos neurofibrilares y pérdida neuronal (Documento no de patente  
35 2).

Basándose en estos hechos, se han hecho intentos recientemente para detectar la EA *in vivo* usando un compuesto con alta afinidad con amiloide como marcador.

40 Muchas de dichas sondas para diagnóstico por la imagen de amiloide cerebral son compuestos de bajo peso molecular, hidrófobos, que presentan alta afinidad con amiloide y alta aptitud cerebral para ser transferidos y se marcan con varias especies radioactivas tales como  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$  y  $^{123}\text{I}$ . Por ejemplo, los informes indican formas marcadas con  $^{11}\text{C}$  o halógeno radioactivo de compuestos, incluyendo varios derivados de tioflavina, tales como 6-yodo-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]benzotiazol (de ahora en adelante referido como TZDM) y 6-hidroxi-2-[4'-(N-  
45 metilamino)fenil]benzotiazol (de ahora en adelante referido como 6-OH-BTA-1) (Documento de patente 1, Documento no de patente 3); compuestos de estilbeno tales como (E)-4-metilamin-4'-hidroxiestilbeno (de ahora en adelante referido como SB-13) y (E)-4-dimetilamino-4'-yodoestilbeno (de ahora en adelante referido como m-I-SB) (Documento de patente 2, Documento no de patente 4, Documento no de patente 5); derivados de benzoxazol tales como 6-yodo-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]benzoxazol (de ahora en adelante referido como IBOX) y 6-[2-(fluoro)etoxi]-2-[2-(2-dimetilaminotiazol-5-il)etenil]benzoxazol (Documento no de patente 6, Documento no de patente  
50 7), derivados de DDNP tales como 2-(1-{6-[(2-fluoroetil)(metil)amino]-2-naftil}etilideno)malononitrilo (de ahora en adelante referido como FDDNP) (Documento de patente 4, Documento no de patente 8) y derivados de imidazopiridina tales como 6-yodo-2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]imidazo[1.2-a]piridina (de ahora en adelante referido como IMPY) (Documento de patente 3, Documento no de patente 9) y formas marcadas con halógeno radioactivo de compuestos, incluyendo compuestos en los que un grupo heterocíclico aromático de 5 miembros que contiene  
55 nitrógeno se une a un imidazopiridin-fenilo por carbonos (Documento de patente 5 y Documento de patente 6). Además, algunas de estas sondas para diagnóstico por imagen se han estudiado en formación de imagen humana y

se ha indicado que muestran una acumulación significativa de radioactividad en el cerebro del paciente de EA comparado con personas normales (Documento no de patente 10, Documento no de patente 11, Documento no de patente 12, Documento no de patente 13).

#### Documentos técnicos convencionales

#### 5 Documentos de patente

[Documento de patente 1] patente japonesa JP-T-2004-506723

[Documento de patente 2] patente japonesa JP-T-2005-504055

[Documento de patente 3] patente japonesa JP-T-2005-512945

[Documento de patente 4] patente japonesa JP-T-2002-523383

10 [Documento de patente 5] folleto de Publicación de patente internacional N° WO 2007/063946

[Documento de patente 6] folleto de Publicación de patente internacional N° WO 2010/128595

#### Documentos no de patente

[Documento no de patente 1] J. A. Hardy & G. A. Higgins, "Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis.", *Science*, 1.992, 256, pág.184-185

15 [Documento no de patente 2] G. McKhann et al., "Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease.", *Neurology*, 1.984, 34, pág. 939-944

[Documento no de patente 3] Z. -P. Zhuang et al., "Radioiodinated Styrylbenzenes and Thioflavins as Probes for Amyloid Aggregate.", *J. Med. Chem.*, 2.001, 44, pág. 1.905-1.914

20 [Documento no de patente 4] Masahiro Ono et al., "<sup>11</sup>C-labeled stilbene derivatives as A $\beta$ -aggregate-specific PET imaging agents for Alzheimer's disease.", *Nuclear Medicine and Biology*, 2.003, 30, pág. 565-571.

[Documento no de patente 5] H. F. Kung et al., "Novel Stilbenes as Probes for amyloid plaques.", *J. American Chemical Society*, 2.001, 123, pág. 12.740-12.741.

25 [Documento no de patente 6] Zhi-Ping Zhuang et al., "IBOX(2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-iodobensoxazole): a ligand for imaging amyloid plaques in the brain.", *Nuclear Medicine and Biology*, 2.001, 28, pág. 887-894.

[Documento no de patente 7] Furumoto Y et al., "[<sup>11</sup>C]BF-227: A New <sup>11</sup>C-Labeled 2-Ethenylbenzoxazole Derivative for Amyloid- $\beta$  Plaques Imaging.", *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2005, 32, Sup.1, P759 [Documento no de patente 8] Eric D. Agdeppa et al., "2-Dialkylamino-6-Acylmalononitrile Substituted Naphthalenes (DDNP Analogs): Novel Diagnostic and Therapeutic Tools in Alzheimer's Disease.", *Molecular Imaging and Biology*, 2.003, 5, pág. 404-417.

[Documento no de patente 9] Zhi-Ping Zhuang et al., "Structure-Activity Relationship of Imidazo[1,2-a]pyridines as Ligands for Detecting  $\beta$ -Amyloid Plaques in the Brain.", *J. Med. Chem.*, 2.003, 46, pág. 237-243 [Documento no de patente 10] W. E. Klunk et al., "Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B.", *Ann. Neurol.*, 2.004, 55, pág. 306-319 [Documento no de patente 11] Nicolaas P. L. G. Verhoeff et al., "In-Vivo Imaging of Alzheimer Disease  $\beta$ -Amyloid With [<sup>11</sup>C]SB-13 PET.", *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2.004, 12, pág. 584-595.

40 [Documento no de patente 12] Hiroyuki Arai et al., "[<sup>11</sup>C]-BF-227 AND PET to Visualize Amyloid in Alzheimer's Disease Patients", *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 2.006, 2, Sup. 1, S312 [Documento no de patente 13] Christopher M. Clark et al., "Imaging Amyloid with <sup>11</sup>C IMPY SPECT", *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 2.006, 2, Sup. 1, S342.

#### Descripción de la invención

#### Problema que se tiene que resolver mediante la invención

45 Como se describió anteriormente, se describen varios compuestos como sondas para diagnóstico por imagen para amiloide y se investigó aplicación clínica. Sin embargo, no ha habido ningún compuesto que se confirme que presente una propiedad clínicamente tolerable. Además, considerando un amplio intervalo de aplicación clínica, se desea un compuesto que tenga una propiedad de diagnóstico suficiente en caso de que se marque no sólo mediante isótopo PET, sino también con isótopo SPECT.

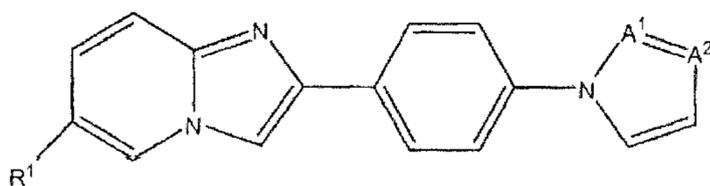
La presente invención se ha hecho en las circunstancias ya mencionadas y tiene por objeto proporcionar un compuesto de se ha completado la presente invención.

5 sea eficaz como amiloide que fije como objetivo sonda para diagnóstico de imagen y un agente de diagnóstico para la enfermedad de Alzheimer que comprenda el compuesto.

**Medios para resolver los problemas.**

10 Como resultado de estudio repetidos, los autores han encontrado que puede obtenerse un agente de diagnóstico de amiloidosis con una suficiente propiedad de diagnóstico usando un compuesto en el que se une un heterociclo que contiene nitrógeno de 5 miembros a un carbono en la posición 4' del grupo fenilo de una cadena carbonada de imidazopiridin-fenilo mediante un átomo de nitrógeno del heterociclo que contiene nitrógeno y así se ha completado la presente invención.

Según un aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto representado por la siguiente fórmula (1):

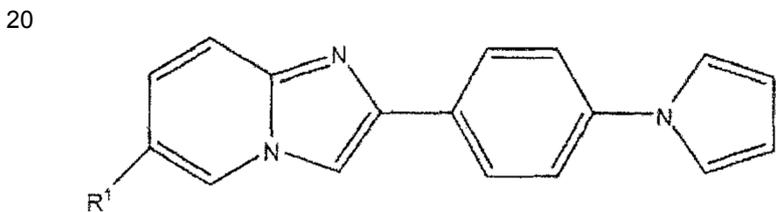


( 1 )

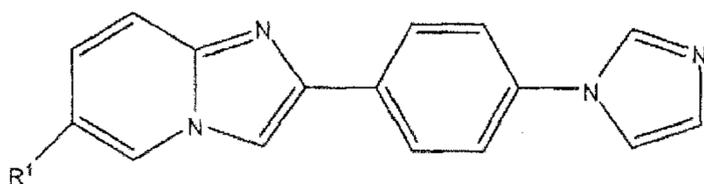
15 o una sal del mismo y un agente de diagnóstico para enfermedad de Alzheimer, que comprende un compuesto representado por la fórmula (1) anterior o una sal del mismo.

En la fórmula (1), R<sup>1</sup> es un yodo radioactivo <sup>123</sup>I, <sup>124</sup>I, <sup>125</sup>I y <sup>131</sup>I.

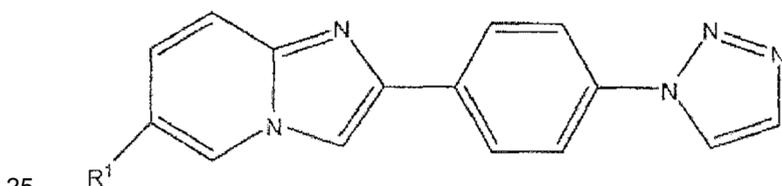
A<sup>1</sup> y A<sup>2</sup> representan independientemente CH o N. Por lo tanto, según una realización preferible de la presente invención, se proporciona un compuesto representado por la siguiente fórmula (3), (4) o (5):



( 3 )



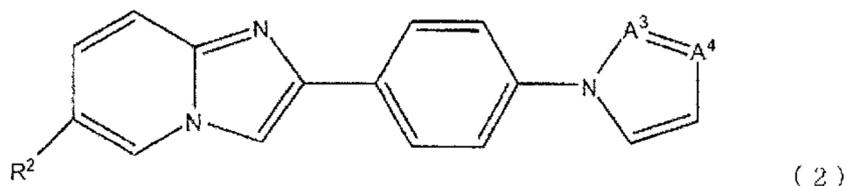
( 4 )



( 5 )

o una sal del mismo y un agente de diagnóstico para enfermedad de Alzheimer, que comprende un compuesto representado por la fórmula (3), (4) o (5) anterior o una sal del mismo.

30 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto representado por la siguiente fórmula (2):



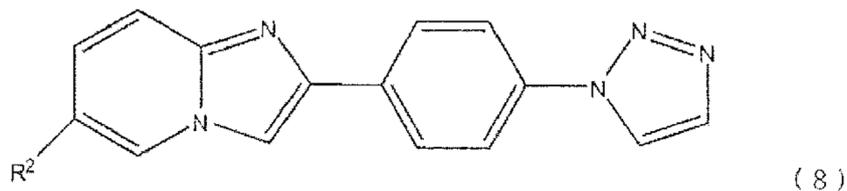
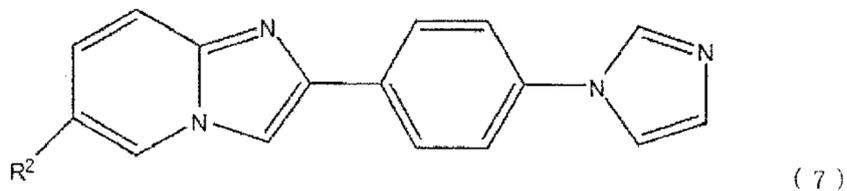
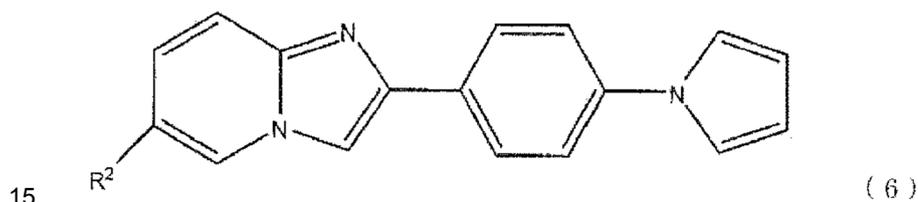
o una sal del mismo.

En la fórmula (2), R<sup>2</sup> es un sustituyente trialquilestannilo con cadenas alquílicas con 1 a 4 átomos de carbono o grupo trifenilestannilo. A<sup>3</sup> y A<sup>4</sup> representan independientemente CH o N.

- 5 El compuesto representado por la fórmula (2) puede usarse convenientemente como un precursor de marcado para el compuesto de la fórmula (1) ya mencionada.

10 Como sustituyente halógeno no radioactivo, se puede usar un halógeno capaz de ser un objetivo de reacciones de sustitución nucleófila usando un flúor radioactivo o un halógeno capaz de ser un objetivo de reacciones de intercambio de isótopo con un yodo radioactivo, y preferiblemente se puede usar cloro, yodo o bromo. Como sustituyente de trialquilestannilo, se pueden usar varios sustituyentes y se usa preferiblemente sustituyente de trimetilestannilo y sustituyente de tributilestannilo.

Por lo tanto, según una realización preferible de la presente invención, se proporciona un compuesto representado por la siguiente fórmula (6), (7) u (8):



## 20 Efectos de la invención

Según la presente invención, ha llegado a estar disponible un nuevo compuesto con afinidad con amiloide y un agente de diagnóstico para enfermedad de Alzheimer, que presenta una excelente capacidad de formación de imagen de amiloide en cuerpos vivos.

### Breve descripción de los dibujos

25 La Fig. 1 es un esquema de síntesis de 2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]-6-tributilestanniloimidazo[1.2-a]piridina.

La Fig. 2 es un esquema de síntesis de 2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]-6-tributilestanniloimidazo[1.2-a]piridina.

La Fig. 3 es una autorradiografía de una porción de cerebro de un paciente de EA usando [<sup>123</sup>I]-6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina.

30 La Fig. 4 es una autorradiografía de una porción de cerebro de un paciente de EA usando [<sup>123</sup>I]-6-yodo-2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina.

La Fig. 5 es una autorradiografía de una porción de cerebro de un paciente de EA usando [<sup>123</sup>I]-IMPY.

La Fig. 6 es una inmunocoloración de una porción de cerebro de un paciente de EA usando anticuerpo anti-amiloide.

### Mejor modo de llevar a cabo la invención

(Un método para la síntesis de un compuesto precursor para un compuesto marcado con halógeno radiactivo)

5 De ahora en adelante, se describe un método para la síntesis de compuesto precursor para un compuesto marcado con halógeno radiactivo según una realización de la presente invención, tomando el caso de 2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]-6-tributilestanniloimidazo[1.2-a]piridina como ejemplo. El presente compuesto es un compuesto que se usa convenientemente como compuesto precursor como ejemplo. El presente compuesto es un compuesto que se usa convenientemente como un compuesto precursor para un compuesto marcado con yodo radioactivo según la presente invención.

10 La Fig. 1 muestra un esquema de síntesis de 2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]-6-tributilestanniloimidazo[1.2-a]piridina. Para la síntesis de 2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]-6-tributilestanniloimidazo[1.2-a]piridina, se deja primero reaccionar bromuro de 4-azidofenacilo con 2-amino-5-yodopiridina para preparar 2-(4-azidofenil)-6-yodoimidazo[1.2-a]piridina (Fig. 1, etapa 1. En este caso, la reacción puede conducirse según métodos ordinarios, por ejemplo, el método descrito en la bibliografía, Zhi-Ping Zhuang et al., J. Med. Chem, 2.003, 46, pág. 237-243.

15 Después, se deja de reaccione 6-yodo-2-(4-azidofenil)imidazo[1.2-a]piridina como se preparó anteriormente con trimetilsililacetileno para obtener 6-yodo-2-[4-(4-trimetilsilil-1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina (Fig. 1, etapa 2) según métodos conocidos (por ejemplo, el método descrito en la bibliografía, James T. Fletcher et al., Tetrahedron Lett, 2.008, 49, pág. 7.030-7.032) y después se retira grupo trimetilsililo (Fig. 1, etapa 3), para obtener 6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina.

20 A continuación, se deja que la 6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina reaccione con bis(tributilestaño) (Fig. 1, etapa 4) según métodos conocidos (por ejemplo, el método descrito en la bibliografía, Zhi-Ping Zhuang et al., J. Med. Chem, 2.003, 46, pág.237-243) y se purifica para obtener 2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]-6-tributilestanniloimidazo[1.2-a]piridina como el compuesto objetivo.

25 Cuando se obtiene un compuesto con un sustituyente en la posición 6 del anillo de imidazopiridina que es un sustituyente de trialquilestannilo distinto del sustituyente tributilestannilo, se pueden usar varios bis(trialquilestaño) que sean aptos para los fines previstos en vez de bis(tributilestaño) en la etapa 4 de la Fig. 1. Por ejemplo, cuando se sintetiza un compuesto con un sustituyente trimetilestannilo como sustituyente en la posición 6, se puede realizar una reacción similar a la anterior usando bis(trimetilestaño) en la etapa 4 de la Fig. 1.

30 Además, se pueden sintetizar otros compuestos precursores según la presente invención usando materias primas generalmente disponibles y combinando reacciones conocidas para el experto en la materia. Por ejemplo, se puede sintetizar un compuesto con un anillo de imidazopiridina en el que el sustituyente en la posición 6 es un grupo nitro usando 2-amino-5-nitropiridina en vez de 2-amino-5-yodopiridina en la etapa 1 de la Fig. 1 según métodos conocidos. Se puede sintetizar un compuesto en el que tanto A<sup>3</sup> como A<sup>4</sup> sean CH en la fórmula (2) anterior según las etapas anteriores de la Fig. 1, excepto que se usa bromuro de 4-(1H-pirrol-1-il)fenacilo en vez de bromuro de 4-azidofenacilo en la etapa 1 de la Fig. 1 y la etapa 3 de la Fig. 1 se omite. Se puede sintetizar un compuesto en el que A<sup>3</sup> es CH y A<sup>4</sup> es N en la fórmula (2) anterior según las etapas anteriores de la Fig. 1, excepto que se usa bromuro de 4-(1H-imidazol-1-il)fenacilo en vez de bromuro de 4-azidofenacilo en la etapa 1 de la Fig. 1 y la etapa 3 de la Fig. 1 se omite.

40 (Un método para la síntesis de un compuesto marcado con halógeno radioactivo).

A continuación, se describirá un método para la producción de un compuesto marcado con halógeno radioactivo según otro aspecto de la presente invención, tomando el caso de compuestos marcados con yodo radioactivo como ejemplos.

45 Se puede realizar la síntesis de compuestos marcados con yodo radioactivo disolviendo, en un disolvente orgánico inerte, el compuesto precursor marcador preparado de una manera como se describió anteriormente, añadiendo al mismo una disolución de yoduro sódico [<sup>123</sup>I] o similar obtenida por métodos conocidos y añadiendo a la misma un ácido y un agente oxidante a fin de que se permita que transcurra una reacción. Como el disolvente orgánico inerte en el que se disuelve el compuesto precursor marcador, se pueden usar varios disolventes que no presenten reactividad con el precursor marcador y yoduro de sodio [<sup>123</sup>I] o similar y se puede usar preferiblemente acetonitrilo.

50 Como el ácido, se pueden usar varios ácidos y preferiblemente se puede usar ácido clorhídrico.

El agente oxidante no está limitado en particular siempre que pueda efectuar la oxidación de yodo en la disolución de reacción y es preferiblemente peróxido de hidrógeno o ácido peracético. La cantidad del agente oxidante que se tiene que añadir puede ser una cantidad suficiente para oxidar el yodo en la disolución de reacción.

Se puede sintetizar un compuesto marcado con un halógeno radioactivo distinto de yodo marcando un precursor

marcador que sea apto para los fines previstos de síntesis con un halógeno radioactivo que sea apto para este fin. Por ejemplo, para sintetizar [<sup>19</sup>F]-6-fluor-2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina, se puede hacer reaccionar el precursor marcador 6-nitro-2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina con ión fluoruro [<sup>18</sup>F] en presencia de un catalizador de transferencia de fase y carbonato de potasio.

#### 5 (Métodos para preparar y usar un agente de diagnóstico según la presente invención)

El agente de diagnóstico según la presente invención puede prepararse como una disolución que comprende el presente compuesto marcado con halógeno radioactivo mezclado en agua, una disolución salina fisiológica o una disolución de Ringer ajustada opcionalmente a un pH apropiado, como otros agentes de diagnóstico radiactivos comúnmente conocidos. En este caso, la concentración del presente compuesto debería ajustarse a no más de la concentración a la que se asegure la estabilidad del presente compuesto. La dosis del presente compuesto no está limitada de manera específica siempre que sea suficiente para obtener una imagen de distribución de un agente administrado. Por ejemplo, cuando se usan compuestos marcados con <sup>123</sup>I o compuestos marcados con <sup>18</sup>F, se pueden administrar aproximadamente 50 a 600 MBq por cuerpo de adulto de 60 kg de peso por vía intravenosa o de manera local. La distribución de agentes administrados puede ser visualizada por métodos conocidos. Por ejemplo, se pueden visualizar compuestos marcados con <sup>123</sup>I mediante un aparato de SPECT mientras que se pueden visualizar compuestos marcados con <sup>18</sup>F mediante un aparato de PET.

#### Ejemplo

De ahora en adelante, la presente invención se explica a continuación con más detalle describiendo los Ejemplos, Ejemplos Comparativos y Ejemplos de Referencia. Sin embargo, estos Ejemplos nunca limitan el alcance de la presente invención.

En los siguientes Ejemplos, los nombres de los compuestos individuales usados en el experimento se definen como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Nombres de los compuestos usados para la evaluación en los Ejemplos.

Nombre del compuesto	Nombre común
Compuesto 1	[ <sup>123</sup> I]-6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina
Compuesto 2	[ <sup>123</sup> I]-6-yodo-2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina
Compuesto 3	6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina (compuesto marcado con yodo no radioactivo de Compuesto 1)

#### 25 Ejemplo 1: Síntesis de 2-[4-(1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]-6-tributylestanniloimidazo[1.2-a]piridina (Fig. 1)

Se disolvieron 218 mg (que corresponden a 0,909 mmoles) de bromuro de 4-azidofenacilo y 200 mg (que corresponden a 0,909 mmoles) de 2-amino-5-yodopiridina en 1,0 ml de acetonitrilo. Se calentó la disolución resultante en un baño de aceite a 80°C durante 3 horas. Después de la terminación de la reacción, se dejó enfriar la disolución de reacción a temperatura ambiente y se filtraron los precipitados. Después, se lavaron los precipitados como acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Se suspendieron los cristales brutos resultantes en una disolución mezclada de 3 ml de agua y 3 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 4 ml de una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se sometió la mezcla a ultrasonidos durante 5 minutos usando una máquina de lavado por ultrasonidos. Se filtraron los precipitados y se recogieron de la mezcla resultante, se lavaron lo suficiente con agua, se secaron a presión reducida, para obtener 214 mg (que corresponden a 0,593 mmoles) de 2-(4-azidofenil)-6-yodoimidazo[1.2-a]piridina (Fig. 1, etapa 1).

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (fabricado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de <sup>1</sup>H (disolvente: clorofolm-d1; frecuencia de resonancia: 500 MHz): δ 8,89 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,99 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,42 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,19 (d, J = 8,7 Hz, 2H).

Se disolvieron 214 mg (que corresponden a 0,593 mmoles) de la 2-(4-azidofenil)-6-yodoimidazo[1.2-a]piridina resultante en 3,0 ml de dimetilformamida y se añadieron a esto 0,164 ml (que corresponden a 1,18 mmoles) de trimetilsililacetileno. Después, se añadieron a esto 29,6 mg (que corresponden a 0,118 mmoles) de sulfato de cobre (II) pentahidratado y se calentó con agitación a 80°C durante 3 horas. Después de la terminación de la reacción, se dejó enfriar la disolución de reacción a temperatura ambiente y se añadieron a esto 5 ml de agua. Se filtró la materia sólida depositada y se lavó lo suficiente con agua. Se secó la materia sólida resultante a presión reducida, para obtener 137 mg de cristales brutos de 6-yodo-2-[4-(4-trimetilsilil-1H-1,2,3,-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina (Fig.

2, etapa 2).

Se suspendieron 137 mg de cristales brutos de la 6-yodo-2-[4-(4-trimetilsilil-1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina resultante en 3,0 ml de tetrahidrofurano y se añadieron a esto 0,3 ml de una disolución 1,0 mol/l en tetrahidrofurano de fluoruro de tetrabutilamonio. Se agitó la disolución resultante con calor y se hizo hervir a reflujo durante 4 horas. Después, se dejó enfriar la disolución de reacción a temperatura ambiente y se filtraron los precipitados. Se lavaron los precipitados con tetrahidrofurano y dietil éter y se secaron a presión reducida. Se suspendieron los cristales brutos resultantes en una disolución mezclada de 2,0 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 3 ml de una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se sometió la mezcla a ultrasonidos durante 15 minutos usando una máquina de lavado por ultrasonidos. Se filtraron los precipitados y se recuperaron de la mezcla resultante, se lavaron lo suficiente con agua y se secaron a presión reducida, para obtener 97,4 mg (que corresponden a 0,252 mmoles) de 6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina (4) (Fig. 1, etapa 3).

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (fabricado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de  $^1\text{H}$  (disolvente: clorofolm-d1; frecuencia de resonancia: 500 MHz):  $\delta$  8,92 (s, 1H), 8,84 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,15 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,98 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,96 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 7,45 (s, 1H).

Se disolvieron 50 mg (que corresponden a 0,129 mmoles) de 6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina en 2,0 ml de dioxano y 0,5 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 0,129 ml (que corresponden a 0,258 mmoles) de bis(tributylestano) y 14,9 mg (una cantidad catalítica) de tetraquis-trifenilfosfinopaladio. Después se agitó la mezcla de reacción a 100°C durante 16 horas, se separó por destilación el disolvente a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía de columna por desorción súbita sobre gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 2/1), para obtener 43 mg (que corresponden a 0,078 mmoles) de 2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]-6-tributylestanniloimidazo[1.2-a]piridina como un compuesto fijado como objetivo (Fig. 1, etapa 4).

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (fabricado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de  $^1\text{H}$  (disolvente: clorofolm-d1; frecuencia de resonancia: 500 MHz):  $\delta$  8,12 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 8,04 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,87 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,82 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,61 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,20 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 1,64-1,49 (m, 6H), 1,36 (tt, J = 7,3; 7,3 Hz, 6H), 1,20-1,06 (m, 6H), 0,91 (t, J = 7,3 Hz, 9H).

Ejemplo 2: Síntesis de [ $^{123}\text{I}$ ]-6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina (Compuesto 1)

A 90  $\mu\text{l}$  de una disolución (concentración: 1 mg/ml) en acetonitrilo de 2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]-6-tributylestanniloimidazo[1.2-a]piridina sintetizada en el Ejemplo 1, se añadieron 170  $\mu\text{l}$  de ácido clorhídrico 1 mol/l, 60  $\mu\text{l}$  de yoduro [ $^{123}\text{I}$ ] de sodio de 674 MBq y 10  $\mu\text{l}$  de peróxido de hidrógeno al 30% (p/v). Después de que se dejara reposar la disolución mezclada a 40°C durante 10 minutos, se sometió a HPLC con las siguientes condiciones, para obtener una fracción de [ $^{123}\text{I}$ ]-6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina.

Condiciones HPLC:

Columna: YMC PackPro C8 (nombre comercial; fabricada por YMC;  
tamaño: 4,6 x 150 mm)  
Fase móvil: ácido trifluoroacético al 0,1%/acetonitrilo = 20/80 a 0/100 (20 minutos)  
Caudal: 1,0 ml/min.  
Detector: Absorciómetro de ultravioleta visible (Longitud de onda de detección: 260 nm) y contador de radioactividad (fabricado por raytest: tipo STEFFI)

Se añadieron 10 ml de agua a la fracción. Se hizo pasar la disolución resultante por la columna Sep-Pak C18 (nombre comercial: Sep-Pak (marca registrada) cartuchos C18 ligeros fabricados por Waters; la cantidad empaquetada del agente de empaquetamiento: 130 mg) a fin de que la columna adsorbiera y recogiera [ $^{123}\text{I}$ ]-6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina. Se enjuagó la columna con 1 ml de agua y se hizo pasar después 1 ml de dietil éter a su través para eluir [ $^{123}\text{I}$ ]-6-yodo-2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina. La radioactividad obtenida era 134,5 MBq al final de la síntesis. Además, se realizó análisis TLC con las siguientes condiciones y como resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue 99,5%.

Condiciones del análisis TLC:

Placa TLC: placa TLC: Gel de sílice 60 F<sub>254</sub> (nombre comercial; fabricado por Merck & Co., Inc.)  
Fase móvil: Cloroformo/metanol/dietilamina = 100/1/2  
Detector: Rita Star (nombre comercial; fabricado por raytest)

Ejemplo 3: Síntesis de 2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]-6-tributylestanniloimidazo[1.2-a]piridina

Se disolvieron 110 mg (que corresponden a 0,594 mmoles) de 4-(1H-pirrol-1-il)acetofenona en 3 ml de diclorometano y 248 µl de trietilamina y después se añadieron gota a gota a esto 154 µl (que corresponden a 1,19 mmoles) de bromotrimetilsilano con enfriamiento con hielo. Se agitó la disolución resultante a temperatura ambiente durante la noche en atmósfera de argón. Después, se lavó la disolución de reacción con agua y una disolución salina saturada y se secó sobre sulfato de magnesio. El residuo resultado de destilación del disolvente se disolvió en 3,0 ml de tetrahidrofurano, se añadieron a esto 106 mg (que corresponden a 0,594 mmoles) de N-bromosuccinimida y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después de la terminación de la reacción, se destiló el disolvente a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía de columna por desorción súbita sobre gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 7/1), para obtener 120 mg (que corresponden a 0,454 mmoles) de bromuro de 4-(1H-pirrol-1-il)fenacilo (Fig. 2, etapa 1).

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (fabricado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de  $^1\text{H}$  (disolvente: clorofolm-d1; frecuencia de resonancia: 500 MHz):  $\delta$  8,07 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,70 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,19-7,18 (m, 2H), 6,41-6,40 (m, 1H), 4,44 (s, 2H).

Se disolvieron 120 mg (que corresponden a 0,454 mmoles) de bromuro de 4-(1H-pirrol-1-il)fenacilo y 99,9 mg (que corresponden a 0,454 mmoles) de 2-amino-5-yodopiridina en 2,0 ml de acetonitrilo. Se calentó la mezcla resultante con reflujo durante 2 horas. Después de la terminación de la reacción, se dejó enfriar la disolución de reacción a temperatura ambiente y se filtraron los precipitados. Se lavaron los precipitados con acetonitrilo y se secaron a presión reducida. Se suspendieron los cristales brutos resultantes en una disolución mezclada de 10 ml de agua y 10 ml de metanol. Después, se añadieron a esto aproximadamente 20 ml de una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se sometió la mezcla a ultrasonidos durante 20 minutos usando una máquina de lavado por ultrasonidos. Se filtraron los precipitados y se recuperaron de la mezcla resultante, se lavaron lo suficiente con agua y se secaron a presión reducida, para obtener 120 mg (que corresponden a 0,312 mmoles) de 6-yodo-2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina (Fig. 2, etapa 2).

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (fabricado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de  $^1\text{H}$  (disolvente: clorofolm-d1; frecuencia de resonancia: 500 MHz):  $\delta$  8,90 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,02 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,65 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,45-7,41 (m, 3H), 6,19 (a s, 1H).

Se disolvieron 50 mg (que corresponden a 0,129 mmoles) de 6-yodo-2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina en 2,0 ml de dioxano y se añadieron a esto 0,5 ml de trietilamina. Después, se añadieron a esto 0,130 ml (que corresponden a 0,258 mmoles) de bis(tributilestaño) y 15,0 mg (una cantidad catalítica) de tetraquitrifenilfosfinopaladio. Después se agitó la mezcla de reacción a 100°C durante 16 horas, se separó por destilación el disolvente a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía de columna por desorción súbita sobre gel de sílice (disolvente de elución: hexano/acetato de etilo = 2/1), para obtener 52 mg (que corresponden a 0,095 mmoles) de 2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]-6-tributilestanniloimidazo[1.2-a]piridina (Fig. 2, etapa 3).

Aparato de RMN empleado: JNM-ECP-500 (fabricado por Japan Electron Optics Laboratory Co., Ltd. (JEOL)) RMN de  $^1\text{H}$  (disolvente: clorofolm-d1; frecuencia de resonancia: 500 MHz):  $\delta$  8,02-8,00 (m, 3H), 7,83 (s, 1H), 7,60 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,46 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,18-7,14 (m, 3H), 6,37-6,36 (m, 2H), 1,62-1,50 (m, 6H), 1,36 (tt, J = 7,3; 7,3 Hz, 6H), 1,19-1,06 (m, 6H), 0,91 (t, J = 7,3 Hz, 9H).

Ejemplo 4: Síntesis de [ $^{123}\text{I}$ ]-6-yodo-2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina (Compuesto 2)

A 200 µl de una disolución (concentración: 1 mg/ml) en acetonitrilo de 2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]-6-tributilestanniloimidazo[1.2-a]piridina sintetizada en el Ejemplo 3, se añadieron 200 µl de ácido sulfúrico 1 mol/l, 12 µl de una disolución acuosa de yoduro de sodio 1 mmol/l, 170 µl de yoduro [ $^{123}\text{I}$ ] de sodio de 1.243 MBq y 20 µl de peróxido de hidrógeno al 30% (p/v). Después se dejó reposar la disolución mezclada a 40°C durante 10 minutos, se sometió a HPLC con las siguientes condiciones, para obtener una fracción de [ $^{123}\text{I}$ ]-6-yodo-2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina.

Condiciones HPLC:

Columna: YMC PackPro C8 (nombre comercial; fabricado por YMC;

tamaño: 4,6 x 150 mm)

Fase móvil: ácido trifluoroacético al 0,1% /acetonitrilo = 20/80 a 0/100 (20 minutos)

Caudal: 1,0 ml/min.

Detector: Absorciómetro de ultravioleta visible (Longitud de onda de detección: 260 nm) y contador de radioactividad (fabricado por raytest: tipo STEFFI)

Se añadieron 10 ml de agua a la fracción. Se hizo pasar la disolución resultante a través de una columna Sep-Pak C18 (nombre comercial: Sep-Pak (marca registrada) cartuchos C18 ligeros fabricados por Waters; la cantidad empaquetada del agente de empaquetamiento: 130 mg) a fin de que la columna adsorbiera y recogiera [ $^{123}\text{I}$ ]-6-yodo-

2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina. Se enjuagó la columna con 1 ml de agua y después se hizo pasar a su través 1 ml de dietil éter para eluir [<sup>123</sup>I]-6-yodo-2-[4-(1H-pirrol-1-il)fenil]imidazo[1.2-a]piridina. La radiactividad obtenida fue 235 MBq al final de la síntesis. Además, se realizó análisis TLC con las siguientes condiciones y como resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue 98,4%.

5 Condiciones de análisis TLC:

Placa TLC: placa TLC: Gel de sílice 60 F<sub>254</sub> (nombre comercial; fabricado por Merck & Co., Inc.)

Fase móvil: Cloroformo/metanol/dietilamina = 100/1/2

Detector: Rita Star (nombre comercial; fabricado por raytest)

Ejemplo de referencia 1: Síntesis de [<sup>123</sup>I]-IMPY

- 10 Se sintetizó [<sup>123</sup>I]-IMPY según las siguientes etapas para uso en los Ejemplos comparativos para evaluación en la medición de log P<sub>octanol</sub> y acumulación en el cerebro.

15 Según el método descrito en la bibliografía (Zhi-Ping Zhuang et al., J. Med. Chem, 2.003, 46, pág. 237-243), se sintetizó 2-[4'-(N,N-dimetilamino)fenil]-6-tributylestanniloimidazo[1.2-a]piridina y se disolvió en acetonitrilo (concentración: 1 mg/ml). A 50 µl de la disolución resultante, se añadieron 50 µl de ácido clorhídrico 2 mol/l, 80 µl de yoduro [<sup>123</sup>I] de sodio de 1.075 MBq, 23 µl de una disolución de yoduro de sodio 1 mmol/l y 15 µl de peróxido de hidrógeno al 30% (p/v). Después se dejó reposar la disolución mezclada a 40°C durante 10 minutos, se sometió la disolución a HPLC con las mismas condiciones que en el Ejemplo 2, para obtener una fracción de [<sup>123</sup>I]-IMPY.

20 Se añadieron 10 ml de agua a la fracción. Se hizo pasar la disolución resultante a una columna Sep-Pak C18 (nombre comercial: Sep-Pak (marca registrada) Cartuchos C18 ligeros fabricados por Waters; la cantidad empaquetada del agente de empaquetamiento: 130 mg), a fin de que la columna adsorbiera y recogiera [<sup>123</sup>I]-IMPY. Se enjuagó la columna con 1 ml de agua y después se hizo pasar a su través 1 ml de dietil éter para eluir [<sup>123</sup>I]-IMPY. La radiactividad obtenida fue 170 MBq al final de la síntesis. Además, se realizó análisis TLC con las mismas condiciones que se describen en el Ejemplo 2 y como resultado, la pureza radioquímica del compuesto fue 98,5%.

Ejemplo 5: Medición del coeficiente de partición basado en el método de extracción de octanol.

- 25 Se midieron los coeficientes de partición basándose en el método de extracción de octanol (de ahora en adelante referido como log P<sub>octanol</sub>), que se conocen en general como un indicador de la permeabilidad de los compuestos a través de la barrera sangre-cerebro (de ahora en adelante referido como BSC).

30 Se ajustaron el Compuesto 1 y Compuesto 2 a aproximadamente 1 MBq/ml usando una disolución saturada en agua de 1-octanol y se añadieron 30 µl de los mismos a un recipiente equilibrado. Se añadió 1-octanol saturado en agua y agua saturada con 1-octanol al recipiente equilibrado cada uno en una cantidad de 200 µl, 400 µl o 800 µl. El recipiente equilibrado fue sometido a agitación y después se agitó durante 5 minutos (20 a 25±2°C, 0,8 rad/s (20 rpm)). Después se centrifugaron las respectivas mezclas (23°C, 3.000 g x 60 min.) con una centrífuga (tipo: T2-MC, fabricado por BECKMAN), se obtuvieron 50 µl cada uno de 1-octanol saturado en agua y agua saturada con 1-octanol y se sometieron a medición de radiactividad con un sistema Autowell Gamma (Tipo: ARC-7001, fabricado por Aloka). Usando el recuento obtenido, se calculó log P<sub>octanol</sub> según la siguiente ecuación (1).

$$\log P_{\text{octanol}} = \log_{10} \left( \frac{\text{Recuento de radioactividad de capa de octanol}}{\text{Recuento de radioactividad de capa de agua}} \right) \dots (1)$$

40 Los resultados se muestran en la Tabla 2. Los valores de log P<sub>octanol</sub> de Compuesto 1 y Compuesto 2 fueron 1,98 y 2,45, respectivamente. Se sabe que un valor óptimo de log P<sub>octanol</sub> de los compuestos considerando la permeabilidad BSC está entre 1 y 3 (Douglas D. Dischino et al., J. Nucl. Med., (1.983), 24, pág. 1.030-1.038). A partir de los resultados anteriores, se supone que el Compuesto 1 y el Compuesto 2 presentan una permeabilidad BSC.

Tabla 2: Valor de log P<sub>octanol</sub> del presente compuesto

Compuesto	Valor de - log P <sub>octanol</sub>
Compuesto 1	1,98
Compuesto 2	2,45

Ejemplo 6: Cálculo de la constante de disociación (de ahora en adelante, referida como  $K_d$ ) y cantidad de unión máxima de ahora en adelante, referida como  $B_{m\acute{a}x}$ ) resultante de prueba de unión usando tejido de cerebro de pacientes de enfermedad de Alzheimer (de ahora en adelante, referida como EA).

5 Se realizó la prueba usando un homogenado de materia gris cerebral de pacientes de EA, que se preparó a partir de tejido cerebral (lóbulo frontal) de pacientes de EA comercialmente disponibles de Analytical Biological Services Inc. (Estados Unidos).

#### Método

10 Se diluyó una disolución mezclada de Compuesto 1 (aproximadamente 35 kBq/100  $\mu$ l) y Compuesto 3 (62,5 nmoles/l) con una disolución salina tamponada con fosfato de 5 mmoles/l que contiene albúmina de suero bovino al 0,1% (de ahora en adelante referido como ASB) y se prepara para que tenga una concentración de 0,2 nmoles/l a 25 nmoles/l en la disolución de reacción. A cada pozo de una microplaca de 96 pozos, se añaden 100  $\mu$ l de una disolución salina tamponada con fosfato de 5 mmoles/l que contiene ASB al 0,1% y 100  $\mu$ l de la disolución mezclada preparada de Compuesto 1 y Compuesto 3. Después, se añadieron a esto 50  $\mu$ l de un homogenado de materia gris cerebral de 0,5  $\mu$ g/ $\mu$ l de pacientes de EA para iniciar la reacción. Después se agitó la disolución de reacción durante 15 3 horas (22°C, 42 rad/s (400 rpm)), se usó un filtro de fibra de vidrio (Multiscreen HTS FB, fabricado por Millipore) para filtrar la mezcla de reacción. Se lavó el filtró después de filtración con una disolución salina tamponada con fosfato de 5 mmoles/l conteniendo ASB al 0,1% (200  $\mu$ l x 3 veces) y después se midió la radiactividad restante en el filtro con un sistema Autowell Gamma (tipo: ARC-7001, fabricado por Aloka). Se definió unión no específica como un recuento cuando se llevaron a cabo los mismos procedimientos añadiendo 6-OH-BTA-1 (sintetizado según el método descrito en la bibliografía (C. A. Mathis et al., J. Med. Chem., (2.003), 46, pág. 2.740)) para tener una 20 concentración de 1  $\mu$ mol/l en la disolución de reacción. Se analizó el recuento resultante con GrafPad Prism Ver.5 (fabricado por GrafPad Software, Inc.) y se calculó el parámetro de unión ( $K_d$ ,  $B_{m\acute{a}x}$ ).

#### Resultados

25 El Compuesto 1 muestra  $K_d$  que es 4,94 nmoles/l y  $B_{m\acute{a}x}$  que es 2.242 fmoles/mg de proteína. A partir de este resultado, se indicó que el Compuesto 1 presentaba una alta avidéz por agregados de amiloides en el cerebro de pacientes de EA.

Ejemplo 7: Medición de aptitud para transferirse en el cerebro y remoción.

Usando Compuesto 1 y Compuesto 2, se midió un cambio en el transcurso del tiempo de acumulación radioactiva en el cerebro de ratas Wistar macho (de 8 semanas).

#### 30 Método

Se preparó una disolución en la que se disolvió Compuesto 1 y Compuesto 2 en una disolución salina fisiológica que contenía 50 mmoles/l de hidrocloreuro de L-cisteína, respectivamente, para obtener disoluciones de muestra (la concentración radioactiva de ambas fue 37 MBq/ml). Se inyectó la disolución de muestra sin anestesia en la vena de la cola de ratas Wistar macho (de 8 semanas) (dosis: 0,2 ml, radiactividad dosificada: equivalente de 7,4 MBq). Se 35 sacrificaron las ratas por decapitación sin anestesia para muestrear sangres y cerebros 2, 5, 15, 30 y 60 minutos después de la inyección. Se sometieron los cerebros a medición de masa de los cerebros y se sometieron además a medición de la radioactividad (de ahora en adelante referido como A en este Ejemplo) con un analizador de un solo canal (tipo de detector: SP-20 fabricado por OHIO KOKEN KOGYO Co., Ltd.). Además, se midió el nivel de radioactividad del resto del cuerpo completo incluyendo la sangre, de la misma manera que anteriormente (de ahora 40 en adelante referido como B en este Ejemplo). Usando estos resultados de medición, se calculó la cantidad de acumulación radioactiva por peso unidad de cerebro (% ID/g) en los respectivos instantes de tiempo según la siguiente fórmula (2).

45 Por separado, se preparó una disolución de [ $^{123}$ I]-IMPY disuelto en una disolución salina fisiológica que contenía 50 mmoles/l de hidrocloreuro de L-cisteína (concentración radioactiva: 37 MBq/ml). Se llevó a cabo el mismo procedimiento que anteriormente para calcular la cantidad de acumulación radiactiva por peso unidad de cerebro (% ID/g) en los respectivos instantes de tiempo.

Mientras tanto, en este Ejemplo, se usaron tres animales para el experimento en los respectivos instantes de tiempo.

$$\%ID/g = \frac{A}{B \times \text{peso cerebro}} \times 100 \dots (2)$$

50

#### Resultados

Los resultados se muestran en la Tabla 3. Como se muestra en la Tabla 3, los Compuestos 1 y 2 mostraron una acumulación radioactiva significativa como  $^{123}\text{I}$ -IMPY en el instante de tiempo de dos minutos después de la inyección y después mostraron una tendencia a suprimirse rápidamente en 60 minutos. Estos resultados sugieren que ambos Compuestos 1 y 2 poseen una excelente aptitud para transferirse al cerebro y remoción rápida de cerebro como  $^{123}\text{I}$ -IMPY.

Tabla 3: Acumulación radioactiva en el cerebro del presente compuesto después de inyección intravenosa (ratas)

Compuesto	Acumulación radioactiva por peso unidad (% ID/g)				
	Después de 2 min.	Después de 5 min.	Después de 15 min.	Después de 30 min.	Después de 60 min.
Compuesto 1	1,085	0,701	0,260	0,100	0,034
Compuesto 2	1,201	1,065	0,745	0,349	0,113
$^{123}\text{I}$ -IMPY	1,644	1,192	0,554	0,225	0,085

Ejemplo 8: Confirmación de avidéz de compuesto para porción de cerebro de pacientes de EA por autorradiografía.

El siguiente experimento se llevó a cabo para examinar si se podía visualizar amiloide en cerebro de pacientes de EA mediante el compuesto de la presente invención.

#### Método

(1) Se preparó una porción de cerebro de 5  $\mu\text{m}$  de espesor de pacientes de EA a partir de un tejido de cerebro de pacientes de EA disponible en Analytical Biological Services Inc. (Estados Unidos).

(2) Se sumergió la porción de cerebro en PBS durante 15 minutos, 5 minutos y 5 minutos cada uno. A continuación, se sumergió en un PBS que contenía ASB al 1% durante 30 minutos y después se preparó un PBS que contenía ASB al 1% conteniendo cada uno de Compuesto 1, Compuesto 2 y  $^{123}\text{I}$ -IMPY (concentración radioactiva: 10 kBq/ml) y se sumergió la porción de cerebro en el mismo a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, se sumergió en una disolución de PBS que contenía ASB al 1%, una disolución de PBS y una disolución de PBS cada una durante 5 minutos para lavar la porción de cerebro. Se secó lo suficiente la porción de cerebro lavada y después se expuso a una placa de formación de imagen durante 16 horas y después se llevó a cabo análisis de la imagen del autorradiograma por el uso de un analizador Bio-imaging (tipo: BAS-2500; fabricado por FUJIFILM Corporation) (Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5).

(3) Se llevó a cabo inmunocoloración en un sitio de deposición de amiloide con un anticuerpo anti-amiloide usando porciones adyacentes. Se usó MoAb IgG de ratón (82E1) de amiloide  $\beta$  (N) Anti-Humano (Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd.) como el anticuerpo anti-amiloide y Fab' -HRP de IgG de Cabra de IgG (H+L) anti-ratón (Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd.) como un anticuerpo secundario. El sitio de deposición de amiloide  $\beta$  fue detectado aplicando el estuche de sustrato DAB+ (3,3'-diaminobenzidintetrahidrocloruro) (Dako) a HRP unido al anticuerpo secundario (Fig. 6).

#### Resultados

La Fig. 3, Fig. 4 y Fig. 5 muestran autorradiogramas de la porción sumergida en la disolución que contiene Compuesto 1, Compuesto 2 y  $^{123}\text{I}$ -IMPY, respectivamente. Se confirmó la deposición de amiloide por en un sitio de materia gris de porción de cerebro congelada de pacientes de EA usada en este experimento (Fig. 6) y la unión de los compuestos al sitio de deposición de amiloide por inmunocoloración también se confirmó en los autorradiogramas respectivos.

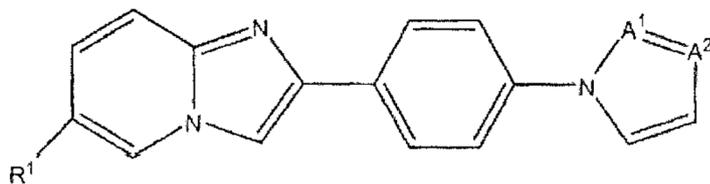
Estos resultados sugieren que el Compuesto 1 y Compuesto 2 según la presente invención pueden visualizar el sitio de deposición de amiloide en el cerebro como  $^{123}\text{I}$ -IMPY.

#### Aplicabilidad industrial

Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse en el campo de agentes de diagnóstico.

REIVINDICACIONES

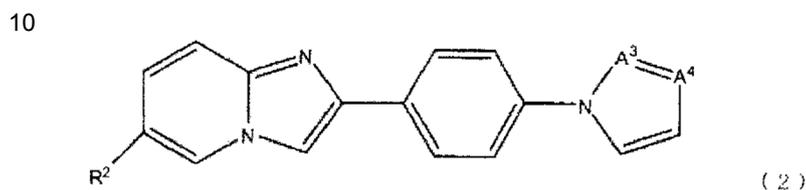
1. Un compuesto marcado con yodo radioactivo representado por la siguiente fórmula (1) o una sal del mismo:



5 en la que R<sup>1</sup> es un sustituyente de yodo radioactivo y A<sup>1</sup> y A<sup>2</sup> representan independientemente CH o N.

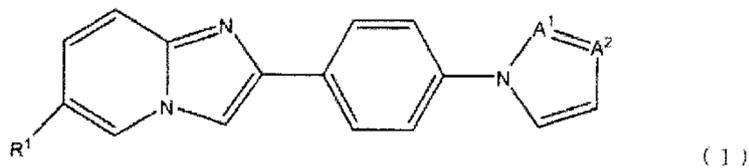
2. Un compuesto marcado con yodo radioactivo o una sal del mismo según la reivindicación 1, en el que R<sup>1</sup> se seleccionan del grupo que consiste en <sup>123</sup>I, <sup>124</sup>I, <sup>125</sup>I y <sup>131</sup>I.

3. Un compuesto representado por la siguiente fórmula (2) o una sal del mismo:



10 en la que R<sup>2</sup> es un grupo seleccionado del grupo que consiste en un sustituyente de trialkylestannilo con cadenas alquílicas con 1 a 4 átomos de carbono y grupo trifenylestannilo y A<sup>3</sup> y A<sup>4</sup> representan independientemente CH o N.

15 4. Un agente de diagnóstico para enfermedad de Alzheimer, que comprende un compuesto marcado con yodo radioactivo representado por la siguiente fórmula (1) o una sal del mismo:



en la que R<sup>1</sup> es un sustituyente de yodo radioactivo y A<sup>1</sup> y A<sup>2</sup> representan independientemente CH o N.

20 5. El agente de diagnóstico para enfermedad de Alzheimer según la reivindicación 4, en el que R<sup>1</sup> es un sustituyente de yodo radioactivo seleccionado del grupo que consiste en <sup>123</sup>I, <sup>124</sup>I, <sup>125</sup>I y <sup>131</sup>I.

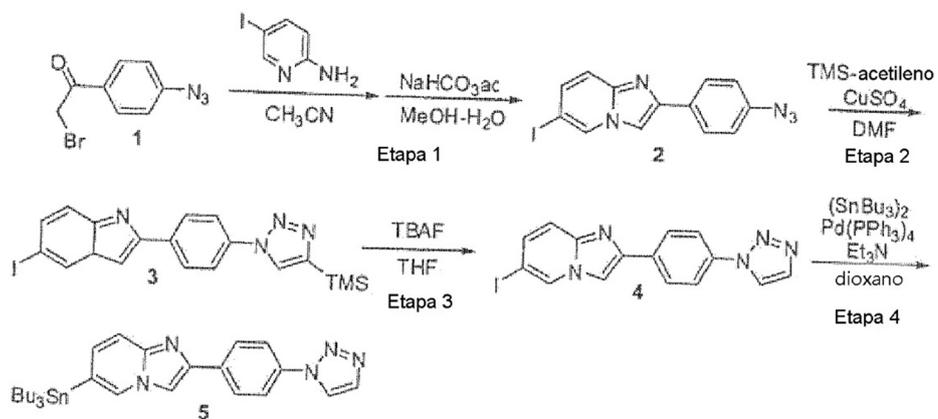


Fig. 1

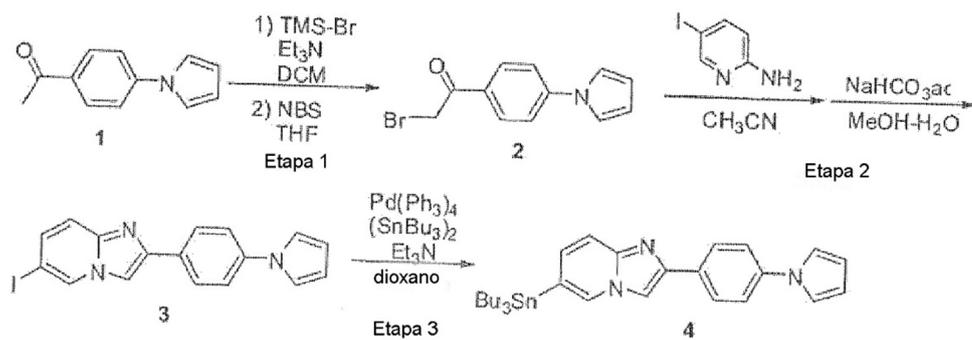


Fig. 2

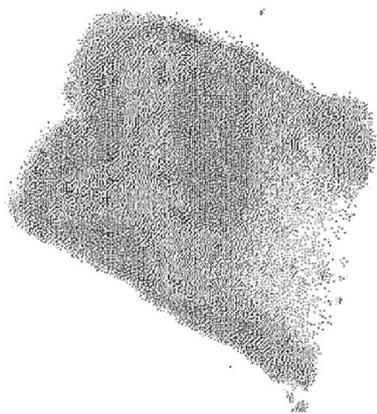


Fig. 3

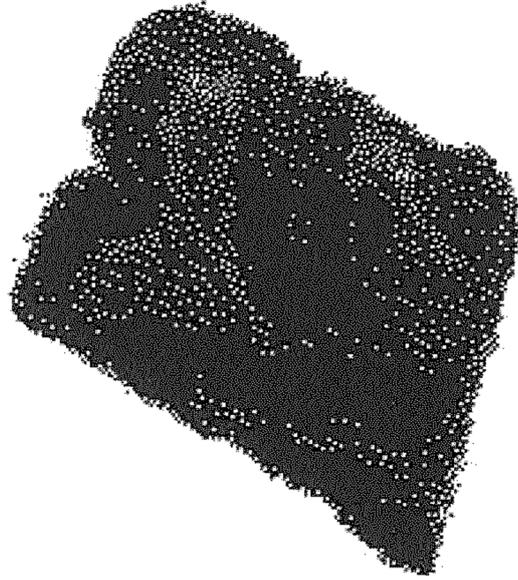


Fig. 4

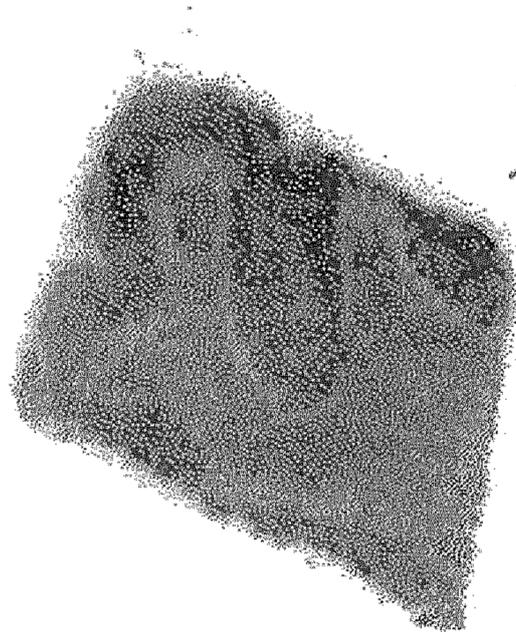


Fig. 5

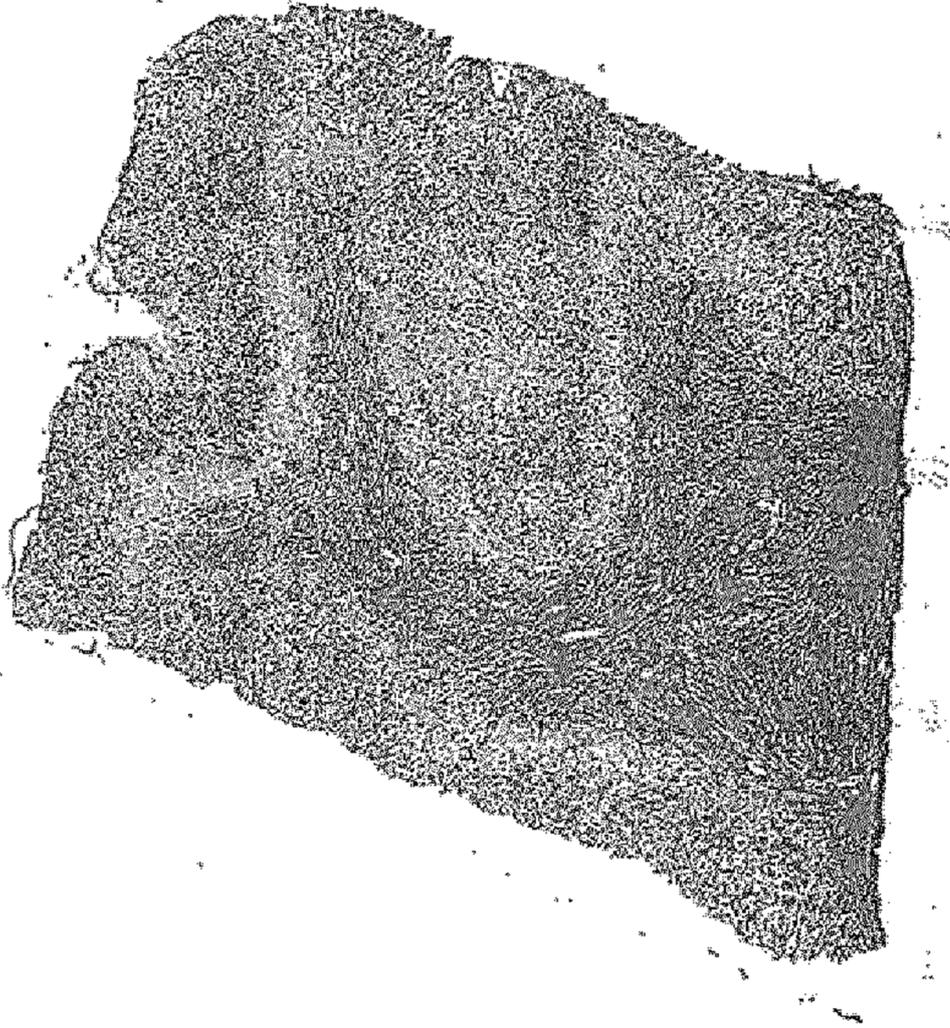


Fig. 6