

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 310**

51 Int. Cl.:

C07D 209/80 (2006.01)

C07D 495/04 (2006.01)

A61K 51/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.03.2010 PCT/EP2010/053998**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.09.2010 WO10109007**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2010 E 10710356 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.05.2017 EP 2411362**

54 Título: **Derivados tricíclicos de indol como ligandos PBR**

30 Prioridad:

27.03.2009 GB 0905328

27.03.2009 US 164131

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.10.2017

73 Titular/es:

GE HEALTHCARE LIMITED (100.0%)

Amersham Place

Little Chalfont, Buckinghamshire HP7 9NA, GB

72 Inventor/es:

WADSWORTH, HARRY JOHN;

O'SHEA, DENNIS;

PASSMORE, JOANNA;

TRIGG, WILLIAM, JOHN;

EWAN, AMANDA y

SHAN, BO

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 635 310 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 tricíclicos de indol como ligandos PBR

Campo técnico de la invención

5 La presente invención hace referencia a la gammagrafía *in vivo* y, en particular, a la gammagrafía *in vivo* del receptor periférico de benzodiazepinas (PBR, por su nombre en inglés). Se da a conocer un radiotrazador *in vivo* basado en el indol que se fija con alta afinidad al PBR, tiene una buena captación en el cerebro después de su administración, y tiene una buena fijación selectiva al PBR. La presente invención también da a conocer un compuesto precursor útil para la síntesis del radiotrazador *in vivo* de la invención, así como un método para la síntesis de dicho compuesto precursor. Otros aspectos de la invención incluyen un método para la síntesis del radiotrazador *in vivo* de la invención que comprende el uso del compuesto precursor de la invención, un kit para llevar a cabo dicho método y un casete para llevar a cabo una versión automática de dicho método. Además, la invención da a conocer una composición radiofarmacéutica que comprende el radiotrazador *in vivo* de la invención, así como los métodos para el uso de dicho radiotrazador *in vivo*.

Descripción de la técnica relacionada

15 El receptor periférico de benzodiazepinas (PBR) se sabe que está principalmente localizado en los tejidos periféricos y en los neuroglíocitos, pero su función fisiológica todavía no está elucidada con claridad. Desde el punto de vista subcelular, se sabe que el PBR está localizado en la membrana externa mitocondrial, lo que indica que tiene una posible función en la modulación del funcionamiento de la mitocondria y en el sistema inmunitario. Además, se ha postulado que el PBR está implicado en la proliferación celular, esteroidogénesis, flujo del calcio y respiración celular.

20 La expresión anormal del PBR se ha asociado a estados de enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (SNC), entre ellas la esclerosis múltiple (Banati et al., 2001, *Neuroreport*; 12 (16): 3439-42; Debruyne et al., 2002, *Acta Neurol Belg*; 102 (3): 127-35), encefalitis de Rasmussen (Banati et al., 1999, *Neurology*; 53 (9): 2199-203), vasculitis cerebral (Goerres et al., 2001, *Am J Roentgenol*; 176 (4): 1016-8), encefalitis herpética (Cagnis et al., 2001, *Brain*; 124 (Pt 10): 2014-27) y demencia asociada al sida (Hammoud et al., 2005, *J Neurovirol*; 11 (4): 346-55).

25 También en el SNC, se ha documentado una conexión con el PBR en el caso de las enfermedades degenerativas, tales como la enfermedad de párkinson (Gerhard et al., 2006, *Neurobiol Dis*; 21 (2): 404-12; Ouchi et al., 2005, *Ann Neurol*, 57 (2): 161-2), degeneración corticobasal (Gerhard et al., 2004, *Mov. Disord*; 19 (10): 1221-6), parálisis supranuclear progresiva (Gerhard et al., 2006, *Neurobiol Dis*; 21 (2): 404-12), atrofia multisistémica (Gerhard et al., 2003, *Neurology*, 61 (5): 686-9), enfermedad de Huntington (Pavese et al., 2006, *Neurology*, 66 (11): 1638-43; Tai et al., 2007, *Brain Res. Bull.*; 72 (2-3): 148-51), esclerosis lateral amiotrófica (Turner et al., 2004, *Neurobiol. Dis*; 15 (3): 601-9) y enfermedad de alzhéimer (Cagnin et al., 2001, *Lancet*; 358 (9283): 766; Yasuno et al., 2008, *Biol. Psychiatry*; 64 (10): 835-41).

35 Se ha demostrado que una serie de afecciones isquémicas del SNC están relacionadas con la expresión anormal del PBR, entre ellas, el accidente cerebrovascular (Gerhard et al., 2005, *Neuroimage*, 24 (2): 591-5), lesión nerviosa periférica (Banati et al., 2001 *Neuroreport*; 12 (16): 3439-42), epilepsia (Sauvageau 2002, *Metab Brain Dis*; 17 (1): 3-11; Kumar et al., 2008, *Pediatr. Neurol.* 38 (6)). Se ha propuesto que el PBR serviría de biomarcador para determinar el alcance del daño en la lesión traumática del cerebro (Toyama et al., 2008, *Ann Nucl. Med.*, 22 (5): 417-24), con descripción de un incremento de la expresión del PBR en un modelo animal de lesión traumática del cerebro (Venneti et al., 2007 *Exp. Neurol*; 207 (1): 118-27). Es interesante señalar que el estrés agudo se ha correlacionado con un incremento en la expresión del PBR en el cerebro, mientras que el estrés crónico se ha correlacionado con una disminución del PBR (Lehmann et al., 1999, *Brain Res*; 851 (1-2): 141-7). Se ha descrito que es posible delinear los bordes del glioma con el uso de [¹¹C]PK11195 para gammagrafiar el PBR (Junck et al., 1989, *Ann. Neurol*; 26 (6): 752-8). El PBR también podría estar relacionado con el dolor neuropático, Tsuda et al. han observado microglíocitos activados en los sujetos con dolor neuropático (2005, *TINS* 28 (2), págs. 101-7).

45 En la periferia, la expresión del PBR se ha relacionado con la inflamación del pulmón (Branley et al., 2008, *Nucl. Med. Biol.* 35 (8): 901-9), enfermedad pulmonar obstructiva crónica y asma (Jones et al., 2003, *Eur. Respir J*; 21 (4): 567-73), enteropatía inflamatoria (Ostuni et al., *Inflamm Bowel Dis*; publicación en línea de 2010), artritis reumatoide (van der Laken et al., 2008, *Arthritis Rheum*; 58 (11): 3350-5), fibromialgia primaria (Faggioli et al., 2004, *Rheumatology*; 43 (10): 1224-1225), lesión nerviosa (Durrenberger et al., 2004, *J. Peripher. Nerv. Syst*; 9 (1): 15-25), aterosclerosis (Fujimura et al., 2008, *Atherosclerosis*; 201 (1): 108-111), cáncer de colon, de próstata y de mama (Deane et al., 2007, *Mol. Cancer Res.*, 5 (4): 341-9; Miettinen et al., 1995, *Cancer Res.*; 55 (12): 2691-5; Han et al., 2003, *J. Recept Signal Transduct Res.*, 23 (2-3): 225-38), inflamación del riñón (Tam et al., 1999, *Nephrol. Dial Transplant*; 14 (7): 1658-66; Cook et al., 1999, *Kidney Int.* 55 (4): 1319-26), y lesión por revascularización tras una isquemia (Zhang et al., 2006, *J. Am. Coll Surg*; 203 (3): 353-64).

55 La tomografía por emisión de positrones (PET) que utiliza un ligando selectivo del PBR, el (R)-[¹¹C]PK11195, proporciona un indicador genérico de inflamación del sistema nervioso central (SNC). Sin embargo, se sabe que el (R)-[¹¹C]PK11195 se fija enormemente a las proteínas y que la fijación es de baja a inespecífica. Además, no se

conoce la función de sus metabolitos radiomarcados, y la cuantificación de la fijación requiere un modelado complejo.

En la técnica se conocen los compuestos tricíclicos de indol. En Davies et al. (*J. Med. Chem.* 1998; 41 (4): 451-67) se enseña una clase de compuestos tricíclicos de indol y los caracterizan como agonistas y antagonistas de la melatonina. Napper et al. (*J. Med. Chem.* 2005; 48: 8045-54) enseñan y debaten la relación entre la estructura y la actividad de una clase de compuestos tricíclicos de indol en el contexto de la inhibición selectiva de la enzima SIRT1, un miembro de la familia de enzimas que retira los grupos acetilo de los restos de lisina de las histonas y otras proteínas. En la patente de los EE. UU. US 6451795 se describen otra clase de compuestos tricíclicos de indol y se debate su utilidad en el tratamiento de estados patológicos relacionados con el PBR. En la patente de los EE. UU. US 6451795 se describen valores de Cl_{50} para los compuestos más activos de entre 0,2 nM y 5,0 nM, y estados en los que los compuestos son útiles para prevenir o tratar las neuropatías periféricas, y para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas centrales.

Okubu et al. (*Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2004, 12, 3569-80) describen el diseño, síntesis y estructura de un grupo de compuestos tetracíclicos de indol, así como su afinidad por el PBR (los valores de Cl_{50} son de tan solo aproximadamente 0,4 nM). La solicitud de patente internacional WO 2007/057705, asignada al presente solicitante, describe derivados tricíclicos de indol marcados con un abanico de restos para la gammagrafía *in vivo*. Los restos para gammagrafía *in vivo* preferidos que se describen en la solicitud de patente internacional WO 2007/057705 son los idóneos para la tomografía por emisión de positrones (PET) o para la tomografía por emisión monofotónica (SPECT), lo más preferiblemente la PET.

Además, en la solicitud de patente en tramitación con la presente PCT/EP 2009/062827 se describen radiotrazadores *in vivo* tetracíclicos derivados de indol similares a los de la solicitud de patente internacional WO 2007/057705.

Los derivados de indol tetracíclicos descritos en la solicitud de patente internacional WO 2007/057705 y en la solicitud de patente en tramitación con la presente PCT/EP 2009/062827 tienen una buena afinidad por el receptor PBR, y una alta proporción de radiactividad en el cerebro a los 60 minutos después de la inyección representa el radiotrazador *in vivo* original. Aunque estos derivados de indol tetracíclicos también consiguen una concentración inicial razonable en el cerebro de rata en los estudios de biodistribución, la captación sigue siendo relativamente baja y se podía mejorar. Los presentes inventores también han hallado que la retención relativa en el bulbo olfativo (la región del cerebro que tiene la concentración más alta del receptor PBR) de estos derivados de indol tetracíclicos de la técnica anterior no es tan alta como sería deseable para la gammagrafía *in vivo*. Así pues, hay un ámbito de aplicación para un radiotrazador *in vivo* de PBR que conserve las propiedades ventajosas de los radiotrazadores *in vivo* de indol y tetracíclicos de la técnica anterior descritos más arriba, pero en el que se ha mejorado la captación en el cerebro y se ha mejorado la fijación específica al receptor PBR.

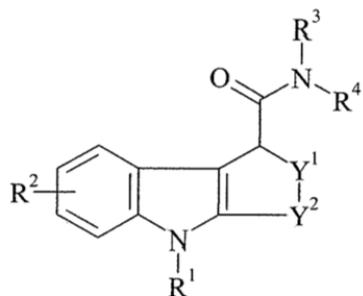
Compendio de la invención

La presente invención da a conocer un nuevo compuesto tricíclico de indol idóneo para ser usado como un radiotrazador *in vivo*. La presente invención también da a conocer un compuesto precursor útil para la síntesis del radiotrazador *in vivo* de la invención, así como un método para la síntesis de dicho compuesto precursor. También se da a conocer un método para preparar el radiotrazador *in vivo* que comprende el uso del compuesto precursor de la invención. Una composición farmacéutica que comprende el radiotrazador *in vivo* de la invención se da adicionalmente a conocer, además de un kit idóneo para preparar con facilidad la composición farmacéutica. En un aspecto más, se da a conocer el uso de un radiotrazador *in vivo* para la gammagrafía *in vivo* de una enfermedad asociada a la expresión anormal del PBR. El radiotrazador *in vivo* de la presente invención conserva las propiedades ventajosas de los radiotrazadores *in vivo* tricíclicos conocidos, junto con la mejoría de la captación en el cerebro y de la especificidad por el receptor periférico de benzodiazepinas.

Descripción detallada de la invención

45 Radiotrazador

La presente invención da a conocer un radiotrazador *in vivo* de la fórmula I:



(I)

en donde:

R¹ es alquilo(C₁₋₃) o fluoroalquilo(C₁₋₃);

R² es hidrógeno, hidroxilo, halo, ciano, alquilo(C₁₋₃), alcoxi(C₁₋₃), fluoroalquilo(C₁₋₃) o fluoroalcoxi(C₁₋₃);

- 5 R³ y R⁴ son independientemente alquilo(C₁₋₃), aralquilo(C₇₋₁₀), o R³ y R⁴, junto con el nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo alifático(C₄₋₆) que contiene nitrógeno que opcionalmente comprende 1 heteroátomo más seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre;

Y¹ es CH₂; e,

Y² es CH₂, CH₂-CH₂, CH(CH₃)-CH₂ o CH₂-CH₂-CH₂;

- 10 y en donde la fórmula I tal y como está definida comprende un átomo que es un radioisótopo idóneo para la gammagrafía *in vivo*. Los compuestos de la invención que se reivindican, además del átomo que es un radioisótopo idóneo para la gammagrafía *in vivo* comprendido en este, se limitan a los compuestos de la fórmula (I) tal y como está definida aquí más arriba.

- 15 Un «radiotrazador *in vivo*» en el contexto de la presente invención es un compuesto marcado radiactivamente idóneo para la gammagrafía *in vivo*. El término «gammagrafía *in vivo*», tal y como se utiliza en la presente memoria, hace referencia a las técnicas que producen imágenes de manera no invasiva de todo o parte del aspecto interno de un sujeto.

- 20 A menos que se especifique de otra manera, el término «alquilo» solo o en combinación significa un radical alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada que contiene preferiblemente de 1 a 3 átomos de carbono. Ejemplos de tales radicales incluyen metilo, etilo y propilo.

- A menos que se especifique de otra manera, el término «alcoxi» significa un radical alquilo tal y como está definido más arriba que comprende un enlace éter, y el término «enlace éter» hace referencia al grupo -C-O-C-. Ejemplos de radicales de éter de alquilo idóneos incluyen metoxi, etoxi y propoxi.

- 25 La terminología «halógeno» o «halo-» significa un sustituyente seleccionado de flúor, cloro, bromo o yodo. «Haloalquilo» y «haloalcoxi» son grupos alquilo y alcoxi, respectivamente, tal y como está definido más arriba, sustituidos con uno o más halógenos. Idóneamente en el caso de los sustituyentes haloalquilo y haloalcoxi, el halógeno reemplaza un hidrógeno del extremo terminal del radical, a saber, -alquileno-halógeno o -alcoxileno-halógeno. El término «alquileno» hace referencia al grupo bivalente -(CH₂)_n-, en donde n es 1 a 3, y el término «alcoxileno» hace referencia a un grupo alquileno que comprende un enlace éter, en donde un enlace éter es tal y como está definido más arriba.

- 30 El término «ciano» hace referencia al grupo -CN.

El término «hidroxilo» hace referencia al grupo -OH.

El término «aralquilo» hace referencia al grupo -alquileno-fenilo, en donde el alquileno es tal y como está definido más arriba.

- 35 Un «anillo alifático(C₄₋₆) que contiene nitrógeno» es un anillo de alquilo(C₄₋₆) saturado que comprende un heteroátomo de nitrógeno. Los ejemplos incluyen anillos de pirrolidinilo, piperidinilo y morfolinilo.

- 40 La terminología «comprende un átomo que es un radioisótopo idóneo para la gammagrafía *in vivo*» significa que en la fórmula I tal y como está definida más arriba, la forma isotópica de uno de los átomos es un radioisótopo idóneo para la gammagrafía *in vivo*. Para que sea idóneo para la gammagrafía *in vivo*, el radioisótopo es detectable externamente después de la administración a dicho sujeto.

Si un centro quiral u otra forma de un centro isomérico está presente en un radiotrazador *in vivo* de acuerdo con la presente invención, todas las formas de tal isómero, entre ellos los enantiómeros y diastereoisómeros, están englobados por la presente invención. Los radiotrazadores *in vivo* de la invención que contienen un centro quiral se podrían utilizar como mezcla racémica o como una mezcla enriquecida en un enantiómero, o la mezcla racémica se podría separar con las técnicas bien conocidas y se podría utilizar únicamente un enantiómero individualizado.

Radiotrazadores preferidos

R¹ es preferiblemente metilo o fluoroalquilo(C₂₋₃), y lo más preferiblemente -etileno-F (a saber, -CH₂-CH₂-F).

R² es preferiblemente hidrógeno, halo, alcoxi(C₁₋₃) o fluoroalcoxi(C₁₋₃). R² es, lo más preferiblemente, hidrógeno, halo o alcoxi(C₁₋₃), y, lo más especialmente preferido, hidrógeno, fluoro o metoxi. Cuando R² es un sustituyente, está preferiblemente en la posición 5- o 6- y se selecciona, lo más preferiblemente, de 5-metoxi, 6-metoxi, 5-fluoro y 6-fluoro.

R³ y R⁴ son preferiblemente y de forma independiente metilo, etilo o bencilo, y lo más preferible es que ambos sean etilo.

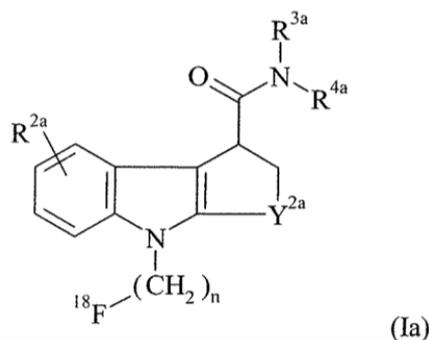
Como alternativa, preferiblemente, R³ y R⁴, junto con el nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo alifático(C₅₋₆) que contiene nitrógeno.

Y¹ es CH₂.

Para los radiotrazadores *in vivo* más preferidos de la presente invención, Y² es CH₂-CH₂. Un radiotrazador *in vivo* preferido de la invención es idóneo para la gammagrafía mediante tomografía computerizada por emisión monofotónica (SPECT) o la tomografía por emisión de positrones (PET). Para la SPECT, un radioisótopo idóneo es un halógeno radiactivo que emita radiación γ . Ejemplos de halógenos radiactivos que emiten radiación γ e idóneos para ser usados en la presente invención son ¹²³I, ¹³¹I y ⁷⁷Br. Un halógeno radiactivo preferido que emite radiación γ es el ¹²³I. Cuando el radioisótopo del radiotrazador *in vivo* es ¹²³I, se prefiere que R² sea el ¹²³I. Para la PET, un radioisótopo idóneo es un no metal radiactivo emisor de positrones. Ejemplos de no metales radiactivos emisores de positrones idóneos para ser usados en la presente invención son ¹¹C, ¹⁸F y ¹²⁴I. Los no metales radiactivos preferidos emisores de positrones son ¹¹C y ¹⁸F. En el caso del ¹¹C, se prefiere que R¹ sea ¹¹C-metilo. Cuando el radioisótopo es ¹⁸F, se prefiere que R¹ sea [¹⁸F]fluoroalquilo C₂₋₃, lo más preferiblemente -etileno-¹⁸F.

Se prefiere que el radiotrazador *in vivo* de la invención sea idóneo para la gammagrafía mediante PET y el ¹⁸F es un radioisótopo preferido idóneo para la gammagrafía mediante PET. La preferencia por la PET en el método de la invención se debe a su excelente sensibilidad y resolución, de modo que se pueden observar con el tiempo cambios en una lesión incluso relativamente pequeños. Los escáneres de PET miden de forma sistemática la concentración de radiactividad en el margen picomolar. Los escáneres micro-PET actuales se acercan a una resolución espacial de aproximadamente 1 mm y los escáneres clínicos aproximadamente de 4 a 5 mm.

Un radiotrazador *in vivo* preferido de fórmula I es de la fórmula la:



en donde:

R^{2a} es hidrógeno, halo o alcoxi(C₁₋₃);

R^{3a} y R^{4a} son, independientemente, metilo, etilo o bencilo, o, junto con el nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo de pirrolidinilo, piperidinilo, azepanilo o morfolinilo;

Y^{2a} es CH₂, CH₂-CH₂, CH(CH₃)-CH₂ o CH₂-CH₂-CH₂; y;

n es 1, 2 o 3.

En la fórmula Ia, R^{3a} y R^{4a} son preferiblemente etilo los dos, o R^{3a} es metilo y R^{4a} es bencilo, o, junto con el nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo de azepanilo.

R^{2a} es, preferiblemente, hidrógeno, metoxi o fluoruro.

Y^{2a} es preferiblemente CH₂-CH₂ o CH(CH₃)-CH₂.

5 n es preferiblemente 2.

En un radiotrazador *in vivo* preferido de fórmula Ia:

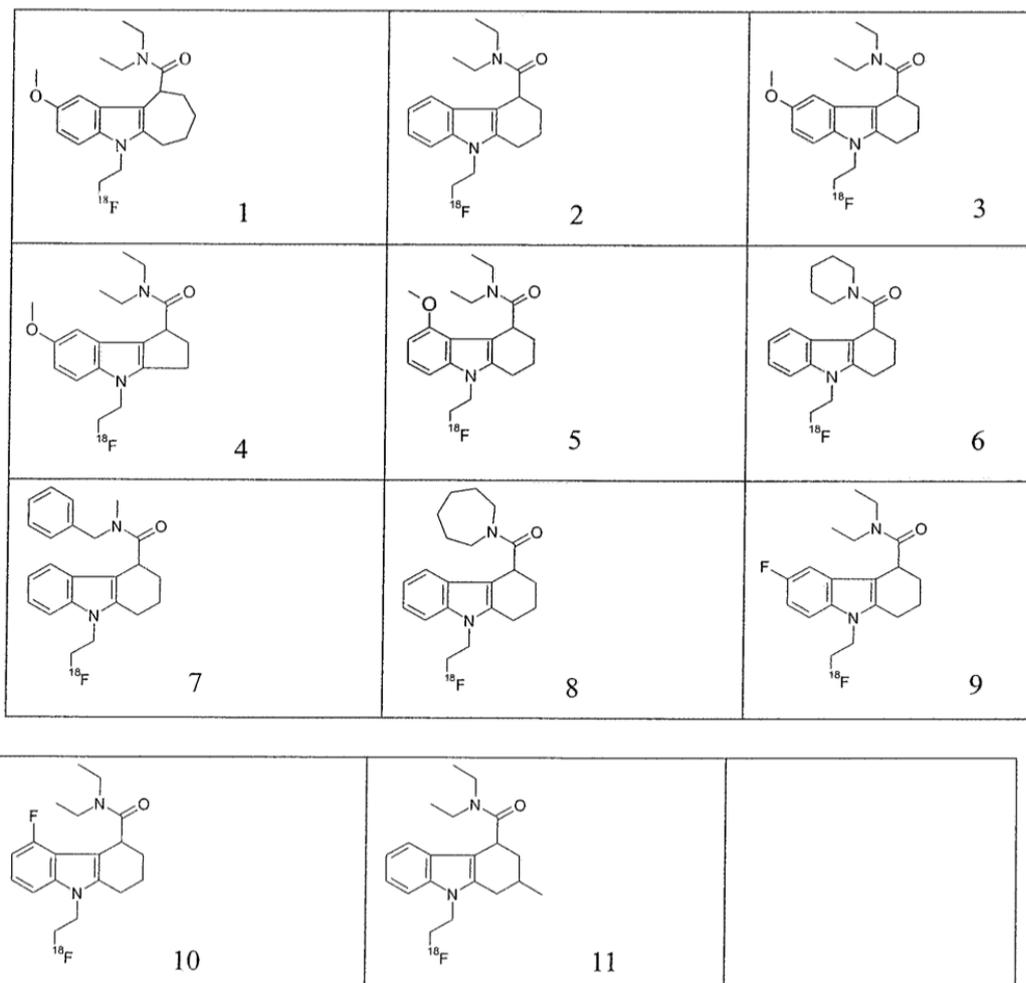
R^{3a} y R^{4a} son etilo los dos, o R^{3a} es metilo y R^{4a} es bencilo, o, junto con el nitrógeno al cual están unidos, forman azepanilo;

R^{2a} es hidrógeno, metoxi o fluoruro;

10 Y^{2a} es CH₂-CH₂ o CH(CH₃)-CH₂; y,

n es 2.

Ejemplos no limitantes de radiotrazadores *in vivo* de la fórmula Ia son los que siguen:

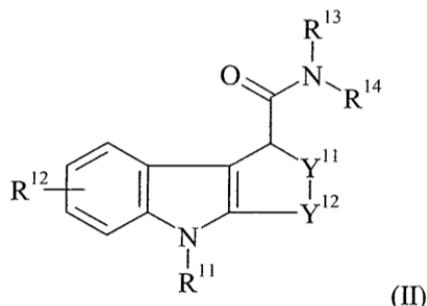


15 Entre los radiotrazadores *in vivo* 1 a 11 de más arriba, los radiotrazadores *in vivo* 5, 6, 7, 9, 10 y 11 son los preferidos, los radiotrazadores *in vivo* 5 y 10 son los más preferidos, y el radiotrazador *in vivo* 5 es especialmente preferido. Para cualquier radiotrazador *in vivo* de la presente invención, la forma enantioméricamente pura es particularmente preferida.

Compuesto precursor

20 En otro aspecto, la presente invención da a conocer un compuesto precursor para la preparación del radiotrazador *in vivo*

vivo de la invención, en donde dicho compuesto precursor es de fórmula II:



5 en donde uno de R^{11} y R^{12} comprende un grupo químico que reacciona con una fuente idónea del radioisótopo tal y como está definido más arriba para el radiotrazador *in vivo* de la invención, tal que un radiotrazador *in vivo* de la invención se forma tras la reacción de dicho compuesto precursor con dicha fuente idónea de dicho radioisótopo, y los otros R^{11} y R^{12} son tal y como está definido en la presente memoria para R^1 y R^2 , respectivamente, y opcionalmente comprende un grupo protector; y,

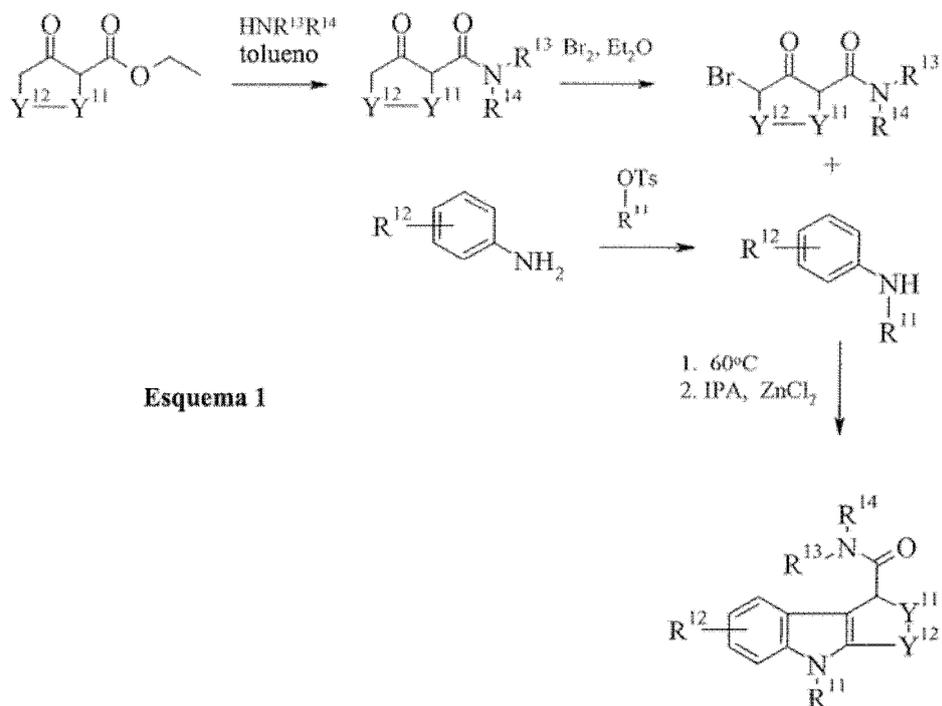
R^{13-14} e Y^{11-12} son tal y como está definido en la presente memoria para R^{3-4} e Y^{1-2} , respectivamente, y, opcionalmente, cada uno además comprende un grupo protector.

10 Un «compuesto precursor» comprende un derivado no radiactivo de un compuesto marcado radiactivamente, diseñado para que la reacción química con una forma química práctica del marcador detectable se produzca con especificidad en el sitio; se pueda realizar en el mínimo número de etapas (idealmente, en una única etapa); y no sea necesario una purificación significativa (idealmente, ninguna purificación adicional), para dar el radiotrazador *in vivo* deseado. Tales compuestos precursores son sintéticos y se pueden obtener con comodidad con una buena
15 pureza química.

Con el término «grupo protector» se quiere hacer referencia a un grupo que inhibe o suprime las reacciones químicas indeseadas, pero que está diseñado para ser lo suficientemente reactivo para que se pueda escindir del grupo funcional en cuestión para obtener el producto deseado en condiciones suficientemente suaves para que no se modifique el resto de la molécula. Los grupos protectores los conocen bien los expertos en la técnica y se describen en *Protective Groups in Organic Synthesis*, Theodor W. Greene y Peter G. M. Wuts, (tercera edición,
20 John Wiley & Sons, 1999).

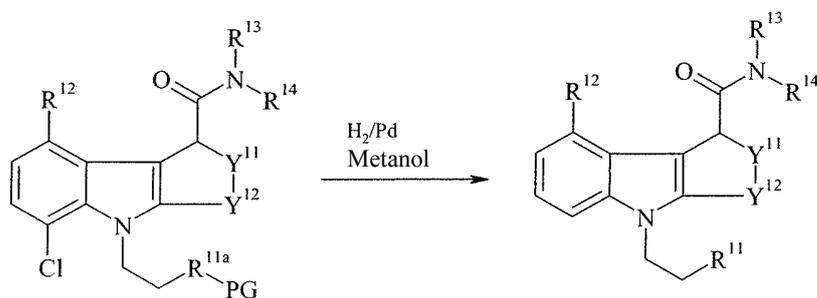
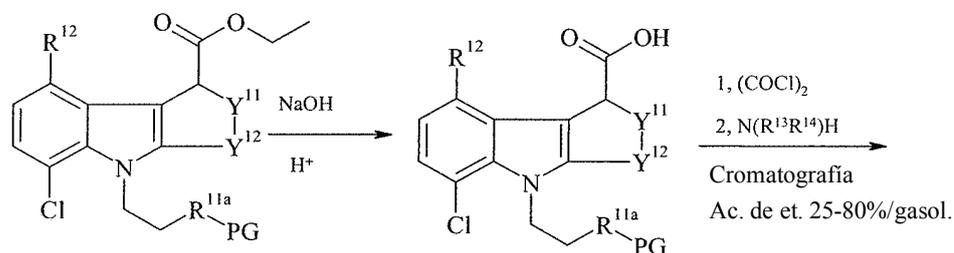
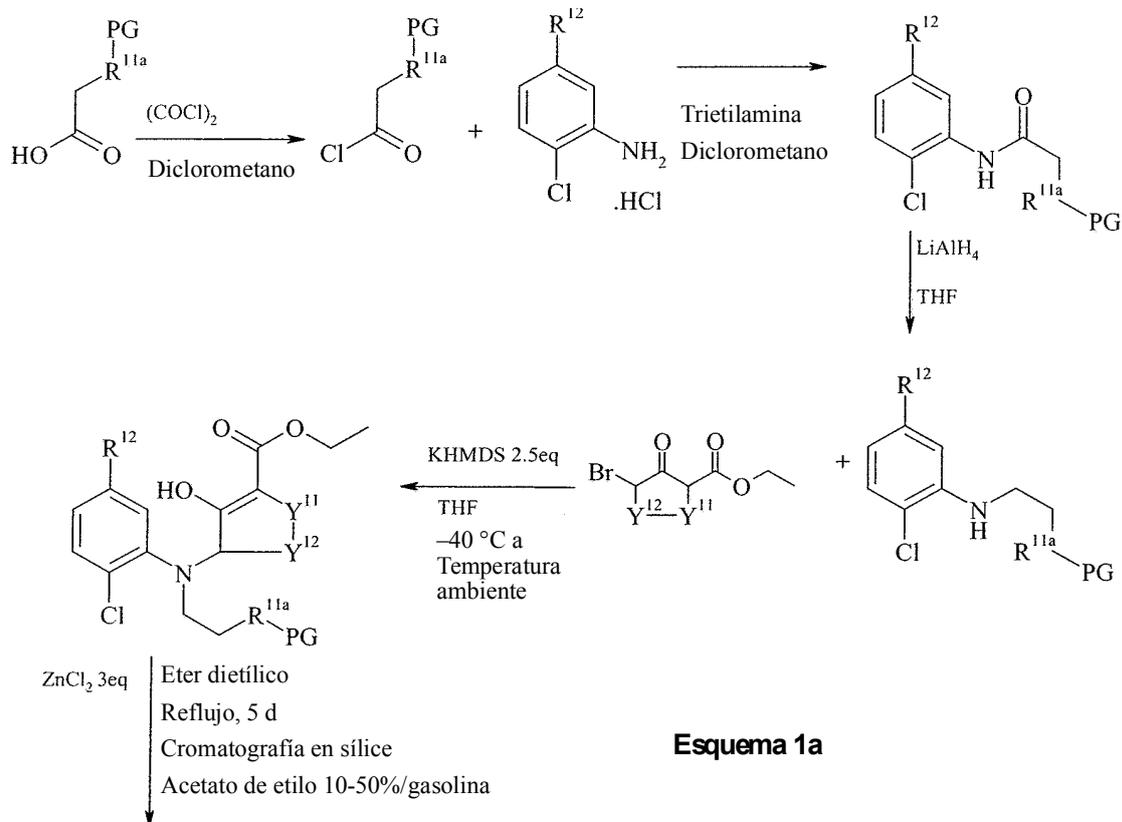
La terminología «una fuente idónea de un radioisótopo» significa el radioisótopo en una forma química que es reactiva con un sustituyente del compuesto precursor, de tal manera que el radioisótopo acaba por unirse covalentemente al compuesto precursor. Para cada radioisótopo concreto que se presenta en el siguiente apartado,
25 se debaten una o más fuentes del radioisótopo. El experto en la técnica de los radiotrazadores *in vivo* estará familiarizado con estas y otras fuentes de radioisótopos que son idóneas para ser aplicadas en la presente invención.

El esquema 1 que viene a continuación es un esquema genérico de la reacción que muestra cómo obtener compuestos que pueden, por sí mismos, utilizarse como compuestos precursores, o que se pueden convertir en compuestos precursores con un número pequeño de etapas adicionales. R^{11-14} e Y^{11-12} del esquema 1 son tal y como está definido más arriba para la fórmula II.
30



Esquema 1

Como alternativa, cuando R^{12} del compuesto precursor está en la posición superior en el anillo, se puede utilizar la vía sintética general ilustrada en el esquema 1a que viene a continuación:

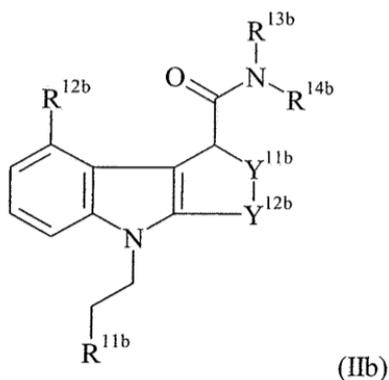


En el esquema 1a de más arriba, -R^{11a}-PG representa un grupo R¹¹ protegido, en donde R¹¹ es tal y como está definido idónea y preferiblemente en la presente memoria. Cuando R¹¹ es hidroxilo, -R^{11a}-PG podría ser, por ejemplo, -O-bencilo. R¹²⁻¹⁴ e Y¹¹⁻¹² son tal y como se dan a conocer idónea y preferiblemente para la fórmula II de más arriba, con la condición de que R¹² no sea cloro. En esta vía sintética, el cloro de la posición inferior del anillo obliga a que tenga lugar la ciclación solo por una vía, de tal manera que solo se produce un isómero. Se describe un método similar en la solicitud de patente internacional WO 2003/014082. Sin embargo, cuando los presentes inventores aplicaron las enseñanzas de la solicitud de patente internacional WO 2003/014082 para obtener los compuestos precursores de la presente invención, el rendimiento era bajo (véase el ejemplo 2(d)). Este problema se puede solucionar al cambiar el sistema de solventes utilizado para la etapa de ciclación. En la solicitud de patente

internacional WO 2003/014082, la etapa de ciclación se lleva a cabo en tolueno, mientras que los presentes inventores encontraron que el rendimiento óptimo se obtenía cuando se utilizaba éter dietílico en lugar de tolueno. El producto de la etapa de ciclación se disuelve en éter dietílico, mientras que el compuesto de partida sin ciclar, no. Por lo tanto, el compuesto de partida sin ciclar permanece con el $ZnCl_2$ en el fondo del recipiente de reacción, y el producto ciclado se traslada al éter dietílico de la parte superior del recipiente de reacción.

5

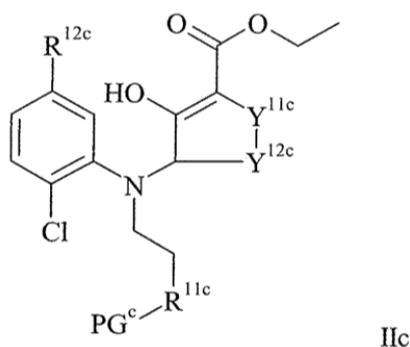
Por lo tanto, en un aspecto independiente, la presente invención da a conocer un método para la preparación de un compuesto precursor de fórmula IIb:



en donde:

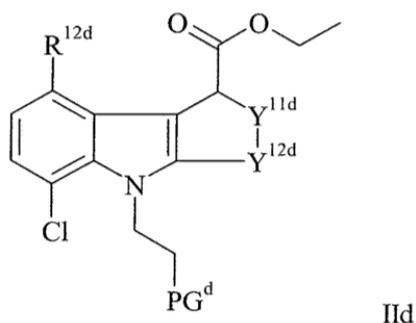
- 10 R^{11b} es tal y como está definido en el esquema 1a para R^{11a} ;
 $R^{12b-14b}$ son tal y como está definido para R^{12-14} de la fórmula II, con la condición de que R^{12b} no sea cloro; e
 $Y^{11b-12b}$ son tal y como está definido para Y^{11-12} de la fórmula II;

en donde dicho método comprende la reacción con $ZnCl_2$ de un compuesto de fórmula IIc:



- 15 en donde R^{12c} , Y^{11c} e Y^{12c} son como están definidos idónea y preferiblemente en la presente memoria para R^{12} , Y^{11} e Y^{12} , respectivamente, y PG^c es un grupo protector;

para formar un compuesto de fórmula II d:



en donde R^{12d} , Y^{11d} , Y^{12d} y PG^d son tal y como está definido para R^{12c} , Y^{11c} , Y^{12c} y PG^c , respectivamente;

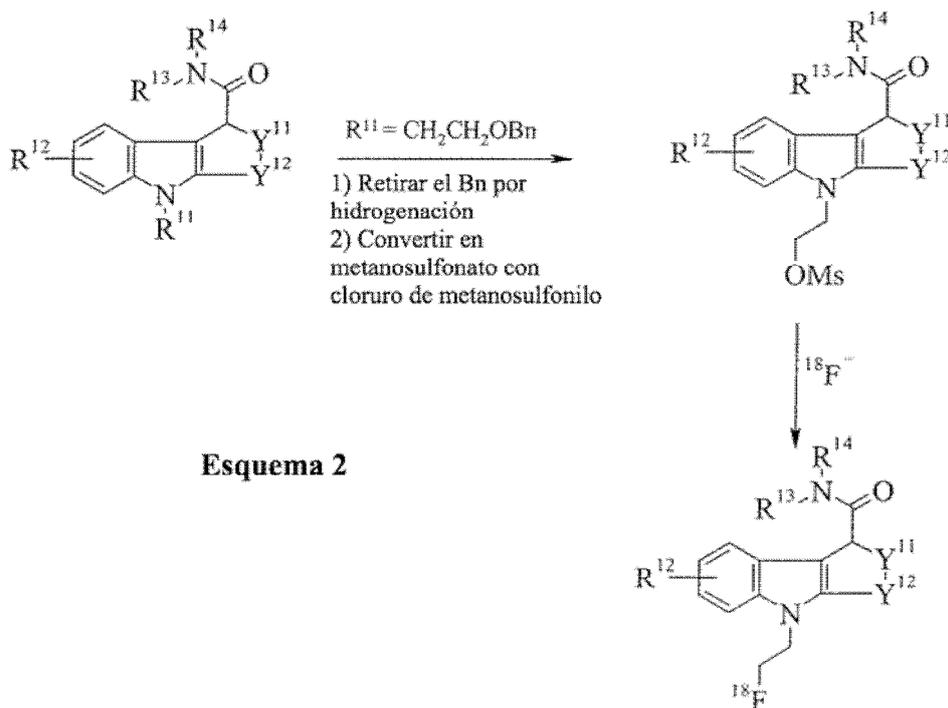
en donde dicha reacción se lleva a cabo en un sistema de solventes que comprende éter dietílico.

Preferiblemente, dicho grupo protector, PG^c, PG^d es -bencilo. El compuesto precursor de la fórmula IIb representa un compuesto precursor preferido de fórmula II.

5 Cuando el radioisótopo del radiotrazador *in vivo* es ¹⁸F, la marcación con ¹⁸F se puede conseguir mediante el desplazamiento nucleófilo de un grupo saliente desde un compuesto precursor.

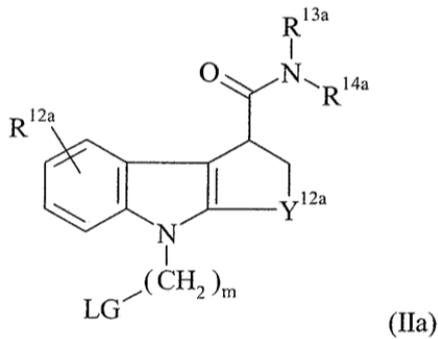
Los grupos salientes idóneos incluyen Cl, Br, I, tosilato (OTs), mesilato (OMs) y triflato (OTf). Otra estrategia sería tener un grupo saliente idóneo en lugar de un grupo alquilamida presente sobre el compuesto precursor. En ambos casos, el compuesto precursor se podría marcar en una etapa al hacerlo reaccionar con una fuente idónea de ion [¹⁸F]-fluoruro (¹⁸F⁻), que se suele obtener como una solución acuosa a partir de la reacción nuclear ¹⁸O(p,n)¹⁸F y se hace reactivo mediante la adición de un contraión catiónico y la posterior retirada de agua. El ¹⁸F también se puede introducir mediante la O-alkilación de los grupos hidroxilo del compuesto precursor con ¹⁸F(CH₂)₃-LG, en donde LG representa un grupo saliente tal y como está definido más arriba. Como alternativa, el átomo de flúor radiactivo se podría unir mediante un enlace covalente directo a un anillo aromático, tal como un anillo de benceno. Para los sistemas de arilo, el desplazamiento nucleófilo del ¹⁸F-fluoruro desde una sal arílica de diazonio, compuesto nitroarílico, o sal de amonio cuaternaria de arilo, son vías idóneas para los derivados de aril-¹⁸F.

El esquema 1 o bien el esquema 1a de más arriba se pueden continuar para llegar a compuestos precursores idóneos para obtener radiotrazadores *in vivo* con ¹⁸F de la invención, tal y como se ilustra en el esquema 2 que viene a continuación:



20 Los compuestos de partida y los intermedios están disponibles comercialmente o se conocen de artículos científicos publicados, p. ej., Napper et al., *J. Med. Chem.* 2005; 48: 8045-54; Davies et al., *J. Med. Chem.*, 1998; 41: 451-467.

En un compuesto precursor preferido de fórmula II para obtener un radiotrazador *in vivo* que comprende ¹⁸F, R¹¹ es alquileo(C₁₋₃)-LG, en donde LG representa un grupo saliente. Un compuesto precursor mucho más preferido es el de la fórmula IIa:

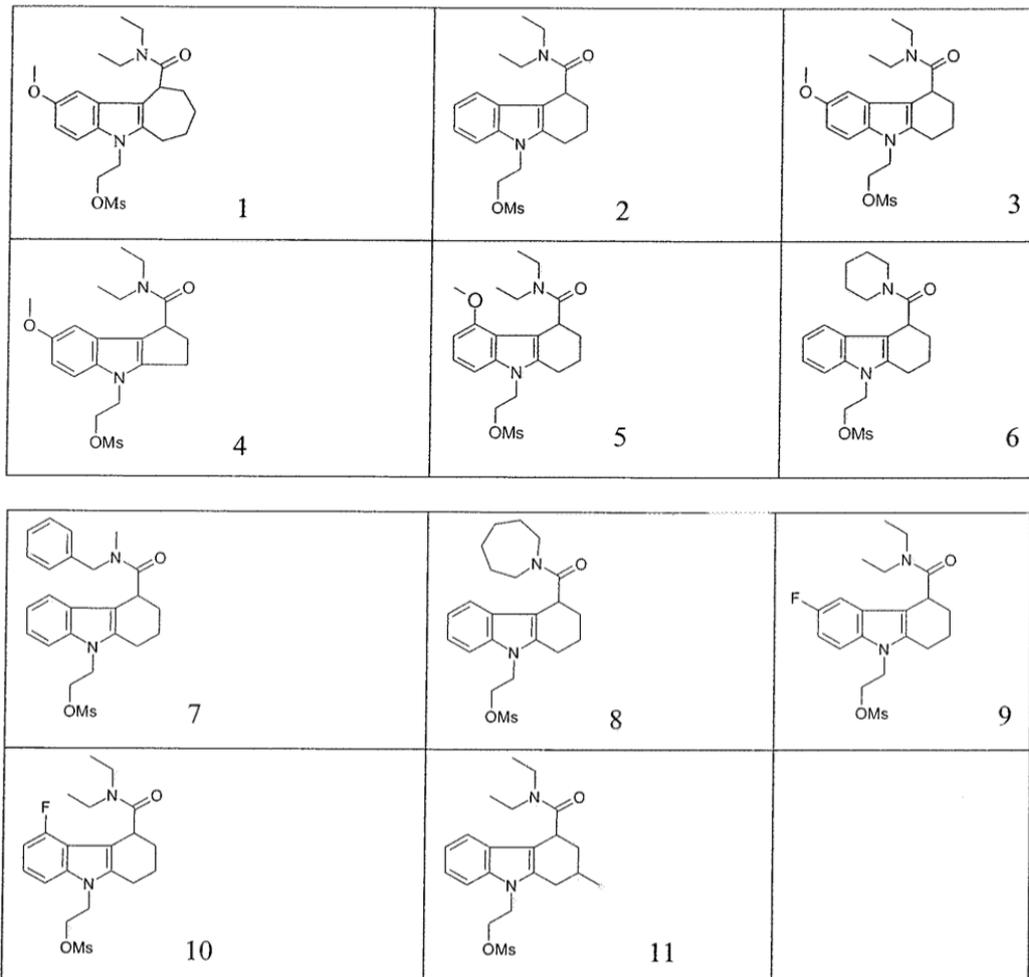


en donde:

LG se selecciona de mesilato, tosilato y triflato; y

5 $R^{12a-14a}$, Y^{12a} y m son tal y como está definido idónea y preferiblemente más arriba para R^{2a-4a} , Y^{2a} y n , respectivamente, de fórmula Ia.

Ejemplos no limitantes de compuestos precursores preferidos de fórmula IIa son los que siguen:

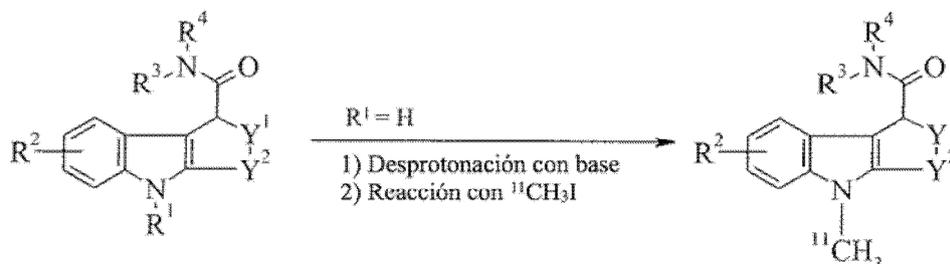


10 Entre los compuestos precursores 1 a 11 anteriores, los compuestos precursores 5, 6, 7, 9, 10 y 11 son los preferidos, los compuestos precursores 5 y 10 son los más preferidos y el compuesto precursor 5 es especialmente preferido.

Los compuestos trazadores para PET marcados con ^{11}C se podrían sintetizar al hacer reaccionar un compuesto precursor con yoduro de ^{11}C -metilo. Como la semivida del ^{11}C es de sólo 20,4 minutos, es importante que el intermedio yoduro de ^{11}C -metilo tenga una actividad específica alta y, por consiguiente, que se produzca con un

proceso de reacción que sea lo más rápido posible. Una revisión exhaustiva de tales técnicas de marcación con ^{11}C se podría encontrar en Antoni et al., «Aspects on the Synthesis of ^{11}C -Labelled Compounds» en *Handbook of Radiopharmaceuticals*, Ed. M. J. Welch y C. S. Redvanly (2003, John Wiley & Sons).

- 5 Radiotrazadores *in vivo* marcados con ^{11}C de la invención se pueden obtener mediante la continuación del esquema 1 de más arriba, tal y como se ilustra en el esquema 3 que viene a continuación:

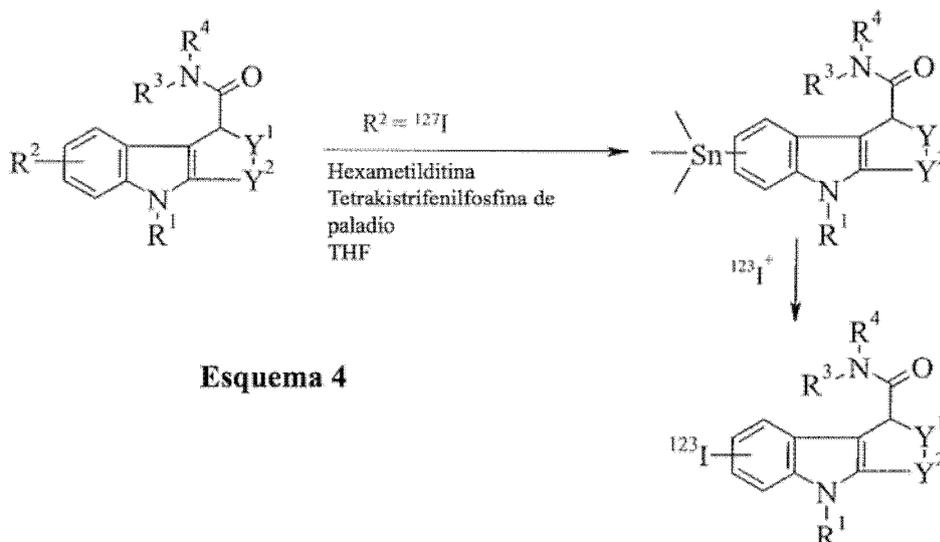


Esquema 3

- 10 Cuando el resto radiotrazador es el yodo radiactivo, los compuestos precursores preferidos son los que comprenden un derivado que se somete a la yodación electrófila. Ejemplos de esto son los derivados organometálicos, tales como trialquilestannano (p. ej., trimetilestannilo o tributilestannilo) o trialquilsilano (p. ej., trimetilsililo), o un compuesto organoborado (p. ej., ésteres de boronato u organotrifluoroboratos).

- 15 Para la radioyodación electrófila, el compuesto precursor comprende preferiblemente: un compuesto precursor organometálico activado (p. ej., trialquiltina, trialquilsililo, o compuesto organoborado). Los compuestos precursores y los métodos para introducir el yodo radiactivo en las moléculas orgánicas están descritos por Bolton (*J. Lab. Comp. Radiopharm.* 2002, 45: 485-528). Los compuestos idóneos organoborados por éster de boronato y su preparación están descritos por Kabalaka et al. (*Nucl. Med. Biol.* 2002; 29: 841-843 y 2003; 30: 369-373). Los organotrifluoroboratos idóneos y su preparación están descritos por Kabalaka et al. (*Nucl. Med. Biol.*, 2004; 31: 935-938). Los compuestos precursores preferidos para la radioyodación comprenden un compuesto precursor organometálico, lo más preferiblemente una trialquiltina.

- 20 Los radiotrazadores *in vivo* de la invención marcados con yodo radiactivo se pueden obtener mediante la continuación del esquema 1 de más arriba tal y como está ilustrado en el esquema 4 que viene a continuación:



Esquema 4

La radiobromación se puede conseguir mediante métodos similares a los descritos más arriba para la radioyodación. Kabalka y Varma han revisado los diferentes métodos para la síntesis de los compuestos con halógenos radiactivos, entre ellos los compuestos con bromo radiactivo (*Tetrahedron* 1989; 45 (21): 6601-21).

- 25 El compuesto precursor de la invención se da a conocer idealmente en forma estéril y apirógena. El compuesto precursor se puede utilizar en consonancia para preparar una composición farmacéutica que comprende el radiotrazador *in vivo* junto con un vehículo biocompatible idóneo para la administración a los mamíferos. El

compuesto precursor también es idóneo para la inclusión como un componente en un kit o un casete para la preparación de tal composición farmacéutica. Estos aspectos se debaten con más detalle a continuación.

5 En otra realización preferida, el compuesto precursor está unido a una fase sólida. El compuesto precursor se suministra de manera preferible unido covalentemente a una matriz sólida de soporte. De este modo, el producto deseado se forma en solución, mientras que los materiales de partida y las impurezas permanecen unidos a la fase sólida. Como ejemplo de tal sistema, los compuestos precursores para la fluoración electrófila en fase sólida con ^{18}F -fluoruro se describen en la solicitud de patente internacional WO 03/002489 y los compuestos precursores para la fluoración nucleófila en fase sólida con ^{18}F -fluoruro se describen en la solicitud de patente internacional WO 03/002157.

10 Método para la preparación

En otro aspecto más, la presente invención da a conocer un método para preparar el radiotrazador *in vivo* de la invención, en donde dicho método comprende:

- (i) dar a conocer un compuesto precursor de la invención;
- (ii) dar a conocer una fuente idónea de dicho radioisótopo tal y como está definido en la presente memoria;
- 15 (iii) hacer reaccionar el compuesto precursor de la etapa (i) con el radioisótopo de la etapa (ii) para obtener el radiotrazador *in vivo* de la invención.

20 En la etapa (i), el compuesto precursor se podría dar a conocer en solución en un kit o en un casete idóneo para ser usado con un aparato de síntesis automática o, como alternativa, unido a un soporte sólido, tal y como está descrito más arriba en la descripción del compuesto precursor. El kit y el casete forman aspectos adicionales de la invención y se debatirán con más detalle más adelante.

La etapa de «hacer reaccionar» el compuesto precursor con el radioisótopo implica juntar los dos reactantes en condiciones de reacción idóneas para la formación del radiotrazador *in vivo* deseado con un rendimiento radioquímico (RRQ) tan alto como sea posible. Algunas vías sintéticas concretas para obtener los radiotrazadores *in vivo* de la presente invención se presentan en el apartado experimental que viene a continuación.

25 Para el método de preparación de la invención, las realizaciones idóneas y preferidas del radiotrazador *in vivo*, del compuesto precursor y del radioisótopo son tal y como ya se dan a conocer en la presente memoria.

Kit y casete

30 Aún en otro aspecto, la presente invención da a conocer un kit para preparar un radiotrazador *in vivo* de la invención, en donde dicho kit comprende un compuesto precursor de la invención, de tal modo que al reaccionar con una fuente estéril de un radioisótopo da el radiotrazador *in vivo* deseado con el mínimo número de manipulaciones. Tales consideraciones son particularmente importantes cuando el radioisótopo tiene una semivida relativamente corta, y para que se manipule con facilidad y, de este modo, se reduzca la dosis de radiación para el radiofarmacéutico. El compuesto precursor está preferiblemente presente en el kit en forma liofilizada y el medio de reacción para la reconstitución de tales kits es preferiblemente un vehículo biocompatible.

35 El «vehículo biocompatible» es un fluido, especialmente un líquido, en el que el radiotrazador *in vivo* está suspendido o disuelto, de tal forma que la composición es fisiológicamente tolerable, a saber, se puede administrar al cuerpo del mamífero sin toxicidad ni molestias indebidas. El vehículo biocompatible es idóneamente un líquido vehicular inyectable, tal como agua estéril libre de pirógenos para inyección; una solución acuosa, tal como solución salina (que se podría equilibrar ventajosamente para que el producto final para la inyección sea isotónico o no hipotónico); una solución acuosa de una o más sustancias ajustadoras de la tonicidad (p. ej., sales de cationes plasmáticos con contraiones biocompatibles), azúcares (p. ej., glucosa o sacarosa), alcoholes de azúcar (p. ej., sorbitol o manitol), glicoles (p. ej., glicerol) u otros materiales poliólicos no iónicos (p. ej., polietilenglicoles, propilenglicoles y similares). El vehículo biocompatible también podría comprender solventes orgánicos biocompatibles, tales como el etanol. Tales solventes orgánicos son útiles para solubilizar más formulaciones o compuestos lipófilos. Preferiblemente, el vehículo biocompatible es agua libre de pirógenos para inyección, solución salina isotónica, o una solución acuosa de etanol. El pH del vehículo biocompatible para la inyección intravenosa está idóneamente en el margen de 4,0 a 10,5.

50 En el kit de la invención, el compuesto precursor se presenta preferiblemente en un contenedor sellado que permite el mantenimiento de la integridad de la esterilidad y/o de la seguridad radiactiva, más, opcionalmente, un gas inerte en el espacio superior (p. ej., nitrógeno o argón), al mismo tiempo que permite la adición y la retirada de soluciones con jeringuilla. Un contenedor sellado preferido es un vial sellado con membrana de goma, en donde el cierre hermético al gas está plegado con un rizo con un precinto recubridor (típicamente de aluminio). Tales contenedores precintados tienen la ventaja adicional de que el cierre puede permanecer al vacío si se desea, p. ej., para cambiar el gas del espacio superior o desgasificar las soluciones.

Las realizaciones preferidas del compuesto precursor cuando se emplean en el kit son tal y como se describieron previamente en la presente memoria.

5 El compuesto precursor para ser usado en el kit se podría emplear en condiciones de fabricación asépticas para dar el material deseado estéril y apirógeno. Como alternativa, el compuesto precursor podría emplearse en condiciones no estériles, seguidas de la esterilización terminal, p. ej., con irradiación gamma, con autoclave, por tratamiento con calor seco, o con tratamiento químico (p. ej., con óxido de etileno). Preferiblemente, el compuesto precursor se da a conocer en forma no pirógena y estéril. Lo más preferiblemente, el compuesto precursor apirógeno y estéril se da a conocer en el contenedor precintado tal y como está descrito más arriba.

10 Preferiblemente, todos los compuestos del kit son desechables para disminuir al mínimo las posibilidades de contaminación entre las rondas, y para garantizar la esterilidad y asegurar la calidad.

15 Los radiotrazadores con [^{18}F] en particular se preparan ahora con comodidad más a menudo en un aparato de radiosíntesis automática. Hay varios ejemplos disponibles en el mercado de tales aparatos, entre ellos TracerlabTM y FastlabTM (GE Healthcare Ltd.). Tales aparatos suelen comprender un «casete», a menudo desechable, en el que se realiza la radioquímica, que está acoplado al aparato para realizar una radiosíntesis. El casete normalmente incluye vías para líquidos, un recipiente de reacción y puertos para recibir los viales de reactantes, así como los cartuchos de extracción de fase sólida utilizados en las etapas de limpieza posteriores a la radiosíntesis.

Por lo tanto, la presente invención da a conocer en otro aspecto un casete para la síntesis automática de un radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en la presente memoria, que comprende:

- (i) un recipiente que contiene un compuesto precursor tal y como está definido en la presente memoria; y
- 20 (ii) medios para eluir el recipiente con una fuente idónea de dicho radioisótopo idóneo para la gammagrafía *in vivo* tal y como está definido en la presente memoria.

Para el casete de la invención, las realizaciones idóneas y preferidas del compuesto precursor y la fuente idónea del radioisótopo son tal y como está definido más arriba en la presente memoria.

El casete podría comprender adicionalmente:

- 25 (iii) un cartucho de intercambio iónico para retirar el exceso de radioisótopo; y, opcionalmente,
- (iv) cuando el compuesto precursor comprende uno o varios grupos protectores, un cartucho para la desprotección del producto radiomarcado resultante para formar un radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en la presente memoria.

Composición radiofarmacéutica

30 En otro aspecto más, la presente invención da a conocer una «composición radiofarmacéutica», que es una composición que comprende el radiotrazador *in vivo* de la invención, junto con un vehículo biocompatible en una forma idónea para la administración a un mamífero. El vehículo biocompatible es tal y como está definido más arriba en relación con el kit de la invención. Para la composición radiofarmacéutica de la invención, las realizaciones preferidas e idóneas del radiotrazador *in vivo* son tal y como están definidas más arriba en la especificación.

35 La composición radiofarmacéutica se podría administrar por vía parenteral, a saber, mediante inyección, y, lo más preferible, es una solución acuosa. Tal composición podría opcionalmente contener más ingredientes, tales como tamponantes; solubilizantes farmacéuticamente aceptables (p. ej., ciclodextrinas o tensioactivos, tales como Pluronic, Tween o fosfolípidos); estabilizantes o antioxidantes farmacéuticamente aceptables (tales como ácido ascórbico, ácido gantísico o ácido *para*-aminobenzoico). Cuando el radiotrazador *in vivo* de la invención se da a conocer como una composición radiofarmacéutica, el método para preparar dicho radiotrazador *in vivo* podría además comprender las etapas requeridas para obtener una composición radiofarmacéutica, p. ej., retirada del solvente orgánico, adición de un tampón biocompatible, y cualquier otro ingrediente optativo. Para la administración parenteral, también se necesitan realizar etapas que garanticen que la composición radiofarmacéutica es estéril y apirógena.

Métodos de uso

45 Aún en otro aspecto, la presente invención da a conocer un método de gammagrafía *in vivo* para determinar la distribución y/o la extensión de la expresión del PBR en un sujeto, que comprende:

- (i) administrar a dicho sujeto un radiotrazador *in vivo* de la invención;
- (ii) permitir que dicho radiotrazador *in vivo* se fije al PBR en dicho sujeto;
- 50 (iii) detectar mediante procedimientos de gammagrafía *in vivo* las señales emitidas por el radioisótopo de dicho radiotrazador *in vivo*;

- (iv) generar una imagen representativa de la localización y/o de la cantidad de dichas señales; y
- (v) determinar la distribución y la extensión de la expresión del PBR en dicho sujeto, en donde dicha expresión está directamente correlacionada con dichas señales emitidas por dicho radiotrazador *in vivo*.

5 Para el método de gammagrafía *in vivo* de la invención, las realizaciones idóneas y preferidas del radiotrazador *in vivo* son tal y como están definidas más arriba en la especificación.

10 La «administración» del radiotrazador *in vivo* se lleva a cabo preferiblemente por vía parenteral, y lo más preferiblemente por vía intravenosa. La vía intravenosa representa el modo más eficaz para introducir el radiotrazador *in vivo* por todo el cuerpo del sujeto y, por lo tanto, para atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) y entrar en contacto con el PBR que se expresa en el sistema nervioso central (SNC) de dicho sujeto. Además, la administración intravenosa no representa una intervención física sustancial ni un riesgo de salud significativo. El radiotrazador *in vivo* de la invención se administra preferiblemente como la composición farmacéutica de la invención, tal y como está definido en la presente memoria. El método de gammagrafía *in vivo* de la invención también se puede entender como que comprende las etapas definidas más arriba (ii) a (v) llevadas a cabo en un sujeto al que se ha administrado previamente el radiotrazador *in vivo* de la invención.

15 Después de la etapa de administración y de la etapa de detección precedente, el radiotrazador *in vivo* se deja que se fije al PBR. Por ejemplo, cuando el sujeto es un mamífero intacto, el radiotrazador *in vivo* se trasladará dinámicamente por todo el cuerpo del mamífero, y entrará en contacto con diferentes tejidos en este. Una vez que el radiotrazador *in vivo* entra en contacto con el PBR, tiene lugar una interacción específica, de tal forma que la eliminación del radiotrazador *in vivo* desde el tejido con PBR tarda más que desde tejido sin PBR, o con menos PBR. Se alcanzará un determinado punto en el tiempo cuando se permita la detección del radiotrazador *in vivo* específicamente fijado al PBR como resultado de la razón entre el radiotrazador *in vivo* fijado al tejido con PBR frente al fijado al tejido sin PBR o con menos PBR. Una razón ideal estará en torno a 2:1.

20 La etapa de «detección» del método de la invención implica la detección de las señales emitidas por el radioisótopo por medio de un detector sensible a dichas señales. Esta etapa de detección también puede entenderse como la adquisición de datos de señales. La tomografía por emisión monofotónica (SPECT) y la tomografía por emisión de positrones (PET) son los procedimientos de gammagrafía *in vivo* más idóneos para ser usados en el método de la invención. La PET es un procedimiento de gammagrafía *in vivo* preferido para ser usado en el método de la invención.

25 La etapa de «generación» del método de la invención se realiza con un ordenador que aplica un algoritmo de reconstrucción a los datos de las señales adquiridas para producir un conjunto de datos. A continuación, este conjunto de datos se manipula para generar imágenes que muestran la localización y/o la cantidad de señales emitidas por dicho radioisótopo. Las señales emitidas directamente se correlacionan con la expresión del PBR, de tal forma que la etapa de «determinación» se puede realizar mediante la evaluación de la imagen generada.

30 El «sujeto» de la invención puede ser cualquier sujeto humano o animal. Preferiblemente, el sujeto de la invención es un mamífero. Lo más preferiblemente, dicho sujeto es un cuerpo intacto de mamífero *in vivo*. En una realización especialmente preferida, el sujeto de la invención es un humano. El método de gammagrafía *in vivo* se podría utilizar para estudiar el PBR en los sujetos sanos, o en los sujetos que se sabe o que se sospecha que tienen una afección patológica relacionada con la expresión anormal del PBR (en adelante una «afección por PBR»). Preferiblemente, dicho método se refiere a la gammagrafía *in vivo* de un sujeto que se sabe o que se sospecha que tiene una afección por PBR y, por lo tanto, tiene utilidad en un método para el diagnóstico de dicha afección.

35 Ejemplos de tales afecciones por PBR, en donde se utilizaría la gammagrafía *in vivo*, incluyen la esclerosis múltiple, encefalitis de Rasmussen, vasculitis cerebral, encefalitis herpética, demencia asociada al sida, enfermedad de Parkinson, degeneración corticobasal, parálisis supranuclear progresiva, atrofia multisistémica, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, accidente cerebrovascular isquémico, lesión del nervio periférico, epilepsia, lesión cerebral traumática, estrés agudo, estrés crónico, dolor neuropático, inflamación pulmonar, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, enteropatía inflamatoria, artritis reumatoide, fibromialgia primaria, lesión nerviosa, aterosclerosis, inflamación del riñón, lesión por revascularización tras isquemia y cáncer, en particular cáncer de colon, de próstata o de mama. Los radiotrazadores *in vivo* de la invención son particularmente idóneos para la gammagrafía *in vivo* del SNC debido a su buena captación por el cerebro.

40 En una realización alternativa, el método de gammagrafía *in vivo* de la invención se podría realizar repetidamente durante el transcurso de una pauta de tratamiento para dicho sujeto, en donde dicha pauta comprende la administración de un fármaco para combatir una afección por PBR. Por ejemplo, el método de gammagrafía *in vivo* de la invención se puede llevar a cabo antes, durante y después del tratamiento con un fármaco para combatir una afección por PBR. De este modo, el efecto de dicho tratamiento se puede monitorizar a lo largo del tiempo. Preferiblemente para esta realización, el procedimiento de gammagrafía *in vivo* es la PET. La PET tiene una sensibilidad y resolución excelentes, por lo que incluso los cambios relativamente pequeños en una lesión se pueden observar con el tiempo, lo cual es particularmente ventajoso para monitorizar el tratamiento.

En otro aspecto más, la presente invención da a conocer un método para el diagnóstico de una afección por PBR. El método de diagnóstico de la invención comprende el método de gammagrafía *in vivo* tal y como está definido más arriba, junto con una etapa más (vi) para atribuir la distribución y la extensión de la expresión del PBR a un cuadro clínico concreto, a saber, la fase de decisión médica deductiva.

- 5 En otro aspecto, la presente invención da a conocer el radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en la presente memoria para ser usado en el método de diagnóstico, tal y como está definido en la presente memoria.

Aún en otro aspecto más, la presente invención da a conocer el radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en la presente memoria para ser usado en la fabricación de una composición radiofarmacéutica tal y como está definida en la presente memoria para ser usada en el método de diagnóstico tal y como está definido en la presente memoria.

- 10 La invención se ilustra ahora mediante una serie de ejemplos no limitantes.

Breve descripción de los ejemplos

En el ejemplo 1 se describe la síntesis del compuesto precursor 5 y del radiotrazador 5.

En el ejemplo 2 se describe la síntesis de un análogo no radiactivo del radiotrazador 5.

En el ejemplo 3 se describe la síntesis del compuesto precursor 6 y del radiotrazador 6.

- 15 En el ejemplo 4 se describe la síntesis de un análogo no radiactivo del radiotrazador 6.

En el ejemplo 5 se describe la síntesis del compuesto precursor 7 y del radiotrazador 7.

En el ejemplo 6 se describe la síntesis de un análogo no radiactivo del radiotrazador 7.

En el ejemplo 7 se describe la síntesis del compuesto precursor 9 y del radiotrazador 9.

En el ejemplo 8 se describe la síntesis de un análogo no radiactivo del radiotrazador 9.

- 20 En el ejemplo 9 se describe la síntesis del compuesto precursor 10 y del radiotrazador 10.

En el ejemplo 10 se describe la síntesis de un análogo no radiactivo del radiotrazador 10.

En el ejemplo 11 se describe la síntesis del compuesto precursor 11 y del radiotrazador 11.

En el ejemplo 12 se describe la síntesis de un análogo no radiactivo del radiotrazador 11.

En el ejemplo 13 se describe la separación enantiomérica del compuesto precursor 5.

- 25 En el ejemplo 14 se describe la separación enantiomérica del trazador 5 no radiactivo.

En el ejemplo 15 se describe un ensayo de potencia *in vitro* que se utilizó para analizar la afinidad por el PBR.

En el ejemplo 16 se describe un método de biodistribución que se utilizó para examinar el funcionamiento de los radiotrazadores de la invención *in vivo*.

En el ejemplo 17 se describe la síntesis de un análogo no radiactivo de un radiotrazador de indol tetracíclico anterior.

- 30 En el ejemplo 18 se describe la síntesis de un radiotrazador de indol tetracíclico anterior.

Lista de abreviaturas utilizadas en los ejemplos

aq	acuoso
DCM	diclorometano
DMAP	4-dimetilaminopiridina
35 DMF	dimetilformamida
EDC	Hidrocloruro de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida
EOS	fin de la síntesis
EtOAc	acetato de etilo
IPA	alcohol isopropílico

LC-MS	cromatografía líquida-espectrometría de masas
RMN	resonancia magnética nuclear
OBn	benciloxi
OMs	mesilato
5 OTs	tosilato
TA	temperatura ambiente
TLC	cromatografía en capa fina
Tol	Tolueno

Ejemplos

- 10 Ejemplo 1: síntesis del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamil-5-metoxi-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)etilo (compuesto precursor 5) y de la dietilamida del ácido 9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 5)

Ejemplo 1(a): cloruro de benciloxiacetilo (1)

- 15 Al ácido benciloxiacético (10,0 g, 60,0 mmol, 8,6 ml) en diclorometano (50 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (9,1 g, 72,0 mmol, 6,0 ml) y DMF (30,0 mg, 0,4 mmol, 32,0 µl) y se agitó a TA durante 3 h. Inicialmente, había una evolución rápida de gas a medida que la reacción continuaba, pero la evolución cesó cuando la reacción se completó. La solución de diclorometano se concentró al vacío para dar una goma. Esta goma se trató con más cloruro de oxalilo (4,5 g, 35,7 mmol, 3,0 ml), diclorometano (50 ml) y una gota de DMF. Hubo una evolución rápida de gas y la reacción se agitó durante 2 h más. A continuación, la reacción se concentró al vacío para dar 11,0 g
- 20 (cuantitativo) del cloruro de benciloxiacetilo (1) como una goma. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 73,6, 74,8, 128,1, 128,4, 128,6, 130,0 y 171,9.

Ejemplo 1(b): 2-benciloxi-N-(2-cloro-5-metoxifenil)acetamida (2)

- 25 Se agitaron cloruro de benciloxiacetilo (1) (11,0 g, 60,0 mmol) e hidrócloruro de 2-cloro-5-metoxianilina (11,7 g, 60,2 mmol) en diclorometano (100 ml) a 0 °C, y se les añadió trietilamina (13,0 g, 126,0 mmol, 18,0 ml) lentamente a lo largo de 15 minutos. La reacción se dejó calentar en agitación a TA durante 18 h. Había una precipitación importante de hidrócloruro de trietilamina. La solución de diclorometano se lavó con carbonato de potasio acuoso al 10% (50 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar 18,9 g (cuantitativo) de la 2-benciloxi-N-(2-cloro-5-metoxifenil)acetamida (2) como una goma. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 55,6, 69,6, 73,6, 106,2, 111,1, 114,1, 127,7, 128,3, 128,6, 129,2, 134,6, 136,5, 158,9 y 167,7.

- 30 Ejemplo 1(c): (2-benciloxietil)-(2-cloro-5-metoxifenil)amina (3)

- 35 Se agitó la 2-benciloxi-N-(2-cloro-5-metoxifenil)acetamida (2) (18,9 g, 62,0 mmol) en THF (100 ml) y se le añadió hidruro de litio y aluminio (4,9 g, 130,0 mmol) lentamente a lo largo de 15 min. Hubo una rápida evolución de hidrógeno gaseoso en cuanto se empezó a añadir el hidruro de litio y aluminio. A continuación, se calentó la reacción a reflujo durante 4 horas y se dejó reposar a TA durante el fin de semana. La reacción se paró entonces mediante la adición de agua, gota a gota (50 ml), a la solución en agitación. Hubo una evolución violenta de hidrógeno, que ocasionó que la mezcla de reacción se sometiese a reflujo. A continuación, la reacción se concentró al vacío para una suspensión viscosa. Se le añadieron agua (200 ml) y acetato de etilo (200 ml), y se agitó la mezcla vigorosamente. La reacción se filtró entonces a través de Celite para retirar el hidróxido de aluminio precipitado, y se separó la solución de acetato de etilo, se secó sobre sulfato de magnesio, y se concentró al vacío para dar 18,4 g
- 40 (cuantitativo) de la (2-benciloxietil)-(2-cloro-5-metoxifenil)amina (3) como una goma. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 43,3, 55,3, 68,2, 73,0, 98,1, 101,8, 111,6, 127,6, 127,7, 128,4, 129,3, 137,9, 144,8 y 159,5.

Ejemplo 1 (d): éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidroxiclohex-1-enocarboxílico (4)

- 45 Se disolvió el 2-oxociclohexanocarboxilato de etilo (30 g, 176 mmol, 28 ml) en éter dietílico (30 ml) y se enfrió a 0 °C en nitrógeno. Se le añadió bromo (28 g, 176 mmol, 9,0 ml) gota a gota a lo largo de 15 min y la mezcla de reacción se dejó calentar a TA durante 90 min. La mezcla se vertió lentamente en carbonato de potasio acuoso saturado y enfriado en hielo (250 ml), y se extrajo con acetato de etilo (3 × 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, se concentraron al vacío y se secaron en la línea de vacío durante 18 h para dar 41,4 g (94%) del éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidroxiclohex-1-enocarboxílico (4) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 14,1, 17,7, 21,8, 32,0, 60,0, 60,8, 99,7, 166,3 y 172,8.
- 50

Ejemplo 1(e): éster etílico del ácido 3-[2-(benciloxietil)-(2-cloro-5-metoxifenil)-amino]-2-hidroxiclohex-1-enocarboxílico (5)

Se agitó la (2-benciloxietil)-(2-cloro-5-metoxifenil)amina (3) (10,0 g, 34,2 mmol) en THF seco (100 ml) a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ en nitrógeno y se le añadió bis(trimetilsilil)amida de potasio (143,0 ml de una solución a 0,5 M en tolueno, 72,0 mmol) a lo largo de 30 min. A continuación, se le añadió el éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidroxiclohex-1-enocarboxílico (4) (8,5 g, 34,2 mmol) en THF seco (10 ml) y se dejó calentar a TA durante un periodo de 1,5 h. Se le añadió ácido acético (10,0 g, 166 mmol, 10,0 ml) y se concentró al vacío para retirar el THF. Se le añadió acetato de etilo (200 ml) y carbonato de potasio acuoso al 10% (100 ml), y la mezcla se agitó vigorosamente. Se separó la solución de acetato de etilo, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar 16,5 g (cuantitativo) del éster etílico del ácido 3-[(2-benciloxietil)-(2-cloro-5-metoxifenil)-amino]-2-hidroxiclohex-1-enocarboxílico (5) como una goma que se utilizó en bruto en la siguiente etapa. HPLC (Gemini 150 \times 4,6 mm, metanol al 50-95%/agua durante 20 min) de la mezcla de reacción bruta, 18,9 min (38%), 19,2 min (25%), 23,1 min (28%).

Se aisló un componente de la reacción ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 14,3, 20,6, 21,8, 26,4, 38,6, 43,0, 55,8, 60,5, 68,7, 73,3, 93,4, 106,3, 108,2, 119,3, 121,5, 127,5, 127,6, 128,3, 135,7, 137,0, 137,9, 155,7 y 175,0.

Ejemplo 1(f): éster etílico del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (6)

Se le añadió cloruro de zinc (7,1 g, 52,0 mmol) al éster etílico del ácido 3-[(2-benciloxietil)-(2-cloro-5-metoxifenil)-amino]-2-hidroxiclohex-1-enocarboxílico (5) (8,0 g, 17,0 mmol) en éter dietílico seco (150 ml) en nitrógeno y se calentó a reflujo durante 5,5 h. A medida que la reacción se sometía a reflujo, se formó un aceite denso pardo y grueso en la reacción. A continuación, la reacción se enfrió y el sobrenadante de éter dietílico se retiró por decantación, se le añadió acetato de etilo (100 ml), se lavó con HCl a 2 N (50 ml) y con carbonato de potasio acuoso al 10% (50 ml). Se separó la capa de éter dietílico, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar un aceite (2,0 g). Se purificó el material bruto por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A):acetato de etilo (B) (10-40% (B), 340 g, 22 CV, 150 ml/min) para dar 1,8 g del éster etílico del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (6). La capa parda densa y gruesa se trató con acetato de etilo (100 ml) y HCl a 2 N (50 ml). Se separó la solución de acetato de etilo, se lavó con carbonato de potasio acuoso al 10% (50 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar un aceite (5,2 g). Se le añadieron éter dietílico (100 ml) y cloruro de zinc anhidro (7,0 g). La mezcla se calentó a reflujo durante 5 días más. La capa de éter se retiró por decantación de la goma oscura, se lavó con HCl a 2 N (50 ml), se secó sobre sulfato de magnesio, y se concentró al vacío para dar una goma (2,8 g). Esta goma se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A):acetato de etilo (B) (5-35% (B), 340 g, 150 ml/min) para dar 2,1 g del éster etílico del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (6). El material total obtenido era 4,1 g (50%) del éster etílico del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (6). La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 14,4, 20,5, 22,3, 27,5, 40,2, 43,9, 55,0, 60,2, 70,7, 73,3, 100,2, 107,5, 108,4, 120,1, 122,8, 127,4, 127,5, 128,2, 132,0, 137,4, 138,1, 152,6 y 175,8.

Ejemplo 1(g): ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (7)

Al éster etílico del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (6) (2,0 g, 4,1 mmol) en etanol (50 ml) se le añadió hidróxido de sodio (1,1 g, 27,1 mmol) y agua (5 ml), y se calentó a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 18 h. A continuación, el etanol se retiró por evaporación al vacío y el residuo se repartió entre éter dietílico (50 ml) y agua (50 ml). Se separó la capa de éter dietílico, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar una goma (71,0 mg). La capa acuosa se acidificó a pH 1 con HCl a 2 N (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 \times 100 ml). La capa de diclorometano se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar 1,6 g (87%) del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (7) como una espuma. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz; CDCl_3): δ_{C} 20,2, 22,2, 27,1, 39,7, 44,0, 55,1, 70,7, 73,3, 100,6, 106,3, 108,9, 123,0, 127,4, 127,5, 128,3, 132,0, 138,0 y 152,0.

Ejemplo 1(h): cloruro de 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carbonilo (8)

Se disolvió el ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (7) (1,5 g, 3,7 mmol) en diclorometano (50 ml) y se le añadió cloruro de oxalilo (700 mg, 5,5 mmol, 470 μl) y DMF (1 gota), y se agitó la reacción a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas. Hubo una evolución moderada de gas durante aproximadamente 30 min a medida que transcurría la reacción. A continuación, la reacción se concentró al vacío para dar el cloruro de 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carbonilo (8) como una goma que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 20,8, 22,1, 26,4, 44,2, 51,8, 55,1, 70,7, 73,3, 100,7, 106,0, 108,6, 119,5, 123,4, 127,3, 127,7, 128,3, 131,9, 138,0, 138,2, 152,0 y 176,3.

Ejemplo 1(i): dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (9)

A continuación, el cloruro de 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carbonilo (8) (1,6 g, 3,7 mmol) se disolvió en diclorometano (50 ml), se enfrió a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, se agitó, y se le añadió dietilamida (810 mg, 11,0 mmol, 1,1 ml) gota a gota. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente a lo largo de un periodo de 18 h. A

continuación, la mezcla de reacción se lavó con carbonato de potasio acuoso al 10% (50 ml), se separó, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar una goma. El material bruto se cristalizó desde el éter dietílico para dar 1,2 g (71%) de la dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (9) como un sólido cristalino blanco. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃): δ_C 13,0, 14,5, 19,8, 22,2, 27,9, 36,4, 40,4, 41,9, 43,8, 55,0, 70,8, 73,3, 100,2, 108,5, 108,6, 119,9, 122,5, 127,4, 127,5, 128,3, 131,5, 137,8, 138,2, 152,4 y 174,5.

Ejemplo 1(j): dietilamina del ácido 9-(2-benciloxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (10)

La dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (9) (1,0 g, 2,1 mmol) en metanol (100 ml) se agitó con paladio al 10% en carbón vegetal (1,0 g), trietilamina (2,9 mg, 2,9 mmol, 4 μl) en una atmósfera de hidrógeno gaseoso durante 18 h a 55 °C. A continuación, la reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar una goma (908 mg). A continuación, la goma recogió en diclorometano (100 ml) y se lavó con una solución acuosa de carbonato de potasio al 5% (50 ml). La solución de diclorometano se separó entonces, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar una goma. A continuación, la goma se cristalizó desde el éter dietílico (50 ml) y los cristales se recogieron por filtración para dar 523 mg (57%) de la dietilamina del ácido 9-(2-benciloxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (10). La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃): δ_C 13,1, 14,6, 20,1, 22,0, 28,1, 36,4, 40,5, 42,0, 43,0, 54,7, 68,8, 73,3, 99,4, 102,4, 107,8, 116,4, 121,2, 127,6, 127,6, 128,3, 135,6, 137,8, 138,0, 153,6 y 175,0.

Ejemplo 1(k): dietilamina del ácido 9-(2-hidroxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (11)

La dietilamina del ácido 9-(2-benciloxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (10) (1,0 g, 2,1 mmol) en metanol (50 ml) se agitó con paladio al 10% en carbón vegetal (300 mg) y un exceso de hidrógeno gaseoso durante 18 h a 55 °C. A continuación, la reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar 578 mg (100%) de la dietilamina del ácido 9-(2-hidroxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (11) como una espuma. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃): δ_C 13,0, 14,4, 20,0, 22,0, 28,0, 36,4, 40,6, 42,0, 54,7, 60,6, 99,2, 102,6, 107,0, 116,7, 121,1, 136,1, 137,5, 138,0, 153,5 y 175,7.

Ejemplo 1(l): éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamil-5-metoxi-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 5)

La dietilamina del ácido 9-(2-hidroxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (11) (478 mg, 1,4 mmol) en diclorometano (30 ml) se enfrió a 0 °C y se le añadió cloruro de metanosulfonilo (477 mg, 4,2 mmol, 324 μl) y trietilamina (420 mg, 4,2 mmol, 578 μl), y se dejó calentar a TA durante una noche. La reacción se lavó con una solución acuosa de carbonato de potasio al 5%. Las capas se separaron. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron al vacío para dar una goma (696 mg). El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A):acetato de etilo (B) (75-100% B, 22 CV, 120 g, 85 ml/ml) para dar el éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamil-5-metoxi-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)etilo (compuesto precursor 5) como una goma que se cristalizó desde el éter dietílico para dar 346 mg (59%) de un sólido incoloro. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃): δ_C 13,1, 14,5, 20,0, 21,9, 28,0, 36,3, 36,7, 40,3, 41,8, 41,9, 54,7, 68,1, 100,0, 102,0, 109,0, 116,4, 122,0, 135,1, 137,3, 153,8 y 174,6.

Ejemplo 1(m): dietilamida del ácido 9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 5)

Se suministró el [¹⁸F]fluoruro de GE Healthcare en un ciclotrón GE PETrace. Se le añadieron Kryptofix 2.2.2. (2 mg, 5 μmol), bicarbonato de potasio (0,1 mol dm⁻³, 0,1 ml, 5 mg, 5 μmol) y acetonitrilo (0,5 ml) al [¹⁸F]F⁻/H₂O (aproximadamente 400 MBq, 0,1 a 0,3 ml) en un recipiente de reacción de COC. Se secó la mezcla por calentamiento a 100 °C en una corriente de nitrógeno durante 20 a 25 min. Después del secado y sin enfriamiento, el compuesto precursor 5 (0,5 a 1 mg, 1,2 a 2,4 μmol) en acetonitrilo (1 ml) se añadió al recipiente de reacción de COC y se calentó a 100 °C durante 10 min. Después del enfriamiento, la mezcla de reacción se retiró y se enjuagó con agua (1,5 ml) el recipiente de reacción de COC, y fue añadido a la principal reacción bruta.

Después de esto, el producto bruto se aplicó a una HPLC semipreparativa: columna HICHROM ACE 5 C18 (100 × 10 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 3 ml/min; minutos 0 a 1, B al 40%; minutos 1 al 20, B del 40 al 95%; longitud de onda de 254 nm; t_R para el radiotrazador 5, 16 min. El pico purificado por HPLC del radiotrazador 5 se diluyó a un volumen de 10 ml con agua y se adsorbió en un cartucho tC18 SepPak (lite). El cartucho se lavó con agua (2 ml) y se eluyó con etanol anhidro (0,5 ml), a lo que le siguió una solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (4,5 ml). Rendimiento radioquímico: 30 ± 7% (n = 4) sin corregir por desintegración, tiempo de 90 a 120 min, pureza radioquímica ≥99%.

HPLC analítica: columna Phenomenex Luna C18 (150 × 4,6 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 1 ml/min; minutos 0 a 1, B al 40%; minutos 1 al 20, B del 40 al 95%; longitud de onda de 230 nm; t_R para el radiotrazador 5, 16 min. En la figura 1 se muestra la coelución del radiotrazador 5 y el trazador 5 no radiactivo.

Ejemplo 2: Síntesis de la dietilamida del ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 5 no radiactivo)

Ejemplo 2(a): tosilato de fluoroetilo (12)

5 Se disolvió el 2-fluoroetanol (640 mg, 10 mmol, 0,6 ml) en piridina (10 ml) en nitrógeno. La solución se agitó a 0 °C y se le añadió porción a porción el cloruro de tosilo (4,2 g, 21,8 mmol) a la solución durante un periodo de 30 min, manteniendo la temperatura por debajo de 5 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 3 horas. Se le añadió hielo lentamente seguido de agua (20 ml). Se extrajo la mezcla de reacción en acetato de etilo y se lavó con agua. Se retiró el exceso de piridina mediante el lavado con una solución de HCl a 1 N hasta que la capa acuosa se volvió ácida. Se retiró el exceso de cloruro de tosilo al lavar con carbonato de sodio acuoso a 1 M. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar 2,1 g (98%) del tosilato de fluoroetilo (12) como un aceite incoloro. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 21,6 (CCH₃), 68,5 (*d*, J_{CF} = 173 Hz, OCH₂CH₂F), 80,6 (*d*, J_{CF} = 173 Hz, OCH₂CH₂F), 128,0, 129,9, 132,6 y 145,1.

Ejemplo 2(b): 2-cloro-5-metoxifenil)-(2-fluoroetil)amina (13)

15 Se disolvió el hidrocloreuro de 2-cloro-5-metoxianilina (5,0 g, 26,0 mmol) en DMF (50 ml) y se le añadió hidruro de sodio (2,3 g, 60% en aceite, 57,0 mmol). Se agitó la reacción durante 30 minutos a TA en nitrógeno. Se le añadió gota a gota el tosilato de fluoroetilo (12) (6,7 g, 31,0 mmol) en DMF (5 ml) y la reacción se agitó a TA durante 2 h. A continuación, la reacción se calentó a 100 °C durante 18 h. Se dejó enfriar la reacción y se retiró el solvente a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con agua (2 × 100 ml). Las capas orgánicas se recogieron, se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron al vacío para dar un aceite parduzco que se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A):acetato de etilo (B) (5 al 30% (B), 330 g, 18,1 CV, 120 ml/min) para dar 1,3 g (25%) de la 2-cloro-5-metoxifenil)-(2-fluoroetil)amina (13) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 43,8 (*d*, J_{CF} = 23 Hz), 55,3, 82,0 (*d*, J_{CF} = 165 Hz), 98,1, 102,2, 111,6, 129,5, 144,1 y 159,5.

25 Ejemplo 2(c): éster etílico del ácido 3-[(2-cloro-5-metoxifenil)-(2-fluoroetil)amino]-2-hidrox ciclohexil-1-enocarboxílico (14)

Una solución de 2-cloro-5-metoxifenil)-(2-fluoroetil)amina (13) (6,1 g, 30,0 mmol) en THF (170 ml) se enfrió a -40 °C. La bis(trimetilsilil)amida de potasio (126,0 ml de una solución a 0,5 M en tolueno, 63,0 mmol) se le añadió gota a gota y la reacción se agitó durante 30 min a -40 °C. El éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidrox ciclohex-1-enocarboxílico (4; preparado de acuerdo con el ejemplo 1(d)) (7,4 g, 30,0 mmol) en THF (30 ml) se le añadió gota a gota a -40 °C. Se retiró el baño de enfriamiento y se agitó la reacción a TA durante 4 h. La reacción se paró con salmuera (300 ml) y se extrajo en acetato de etilo (2 × 400 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar 12,0 g (cuantitativo) del éster etílico del ácido 3-[(2-cloro-5-metoxifenil)-(2-fluoroetil)amino]-2-hidrox ciclohexil-1-enocarboxílico (14) como un aceite parduzco que se utilizó en bruto en la siguiente etapa. La estructura como una mezcla de isómeros se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 1,08 (0,8H, *t*, J = 9 Hz, CO₂CH₂CH₃), 1,22-1,33 (2,2H, *m*, CO₂CH₂CH₃), 1,40-2,60 (7H, *m*, 4-, 5- y 6-CH₂, CHN), 3,20-4,50 (10H, *m*, NCH₂CH₂F, NCH₂CH₂F, OCH₃, CHCO₂CH₂CH₃), 6,50-6,70 (1H, *m*, CHC(OCH₃)CHCH), 6,95 (0,5H, *dd*, J = 3 y 6 Hz, CHC(OCH₃)CHCH), 7,08 (0,5H, *d*, J = 3 Hz, CHC(OCH₃)CHCH), y 7,20-7,30 (1H, *m*, CHC(OCH₃)CHCH).

Ejemplo 2(d): éster etílico del ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (15)

40 Primero se intentó la síntesis del éster etílico del ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (15) en las condiciones descritas en la solicitud de patente internacional WO 2003/014082. Una solución de 2-cloro-5-metoxifenil)-(2-fluoroetil)amina (13; preparada de acuerdo con el ejemplo 2(b)) (600 mg, 3,8 mmol) en THF seco (20 ml) se enfrió en un baño de hielo y se trató con bis(trimetilsilil)amida de potasio (16 ml de una solución a 0,5 M en tolueno, 8,0 mmol). Después de 30 minutos, se le añadió el éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidrox ciclohex-1-enocarboxílico (4; preparado de acuerdo con el ejemplo 1(d)) (1,04 g, 4,2 mmol) en THF (4 ml) y la reacción se dejó calentar a TA durante 2 horas. La reacción se paró con una solución de cloruro de amonio saturada y se extrajo dos veces con éter. Los extractos se lavaron con agua, salmuera, se secaron y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (de 2,5 al 50% de B, 50 g, 25 CV, 40 ml/min). La mancha principal era una mezcla de tres compuestos. Esta mezcla se sometió a reflujo en tolueno (20 ml) con cloruro de zinc seco (1,7 g, 12,6 mmol) durante una noche. La reacción se concentró al vacío y el residuo se repartió entre HCl a 1 N (25 ml) y acetato de etilo (25 ml), y a continuación se extrajo una vez más con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera, se secaron y se concentraron al vacío para dar un aceite parduzco. La ¹H-RMN indicó que era una mezcla de varios compuestos. La TLC en sílice en un margen de solventes no pudo separar esta mezcla en manchas independientes. La comparación de la ¹H-RMN de la mezcla con una muestra auténtica indicó que la mezcla contenía una estimación del 25% del éster etílico del ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (15).

A continuación, se llevó a cabo un método modificado. El éster etílico del ácido 3-[(2-cloro-5-metoxifenil)-(2-fluoroetil)amino]-2-hidrox ciclohexil-1-enocarboxílico (14) (12,2 g, 30,0 mmol) se disolvió en éter dietílico (250 ml) y

se le añadió cloruro de zinc (16,4 g, 120,0 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante 16 h. Se le añadió acetato de etilo (500 ml) para disolver todo y se lavó con HCl a 2 N (200 ml), agua (200 ml), carbonato de potasio acuoso al 10% (200 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A):acetato de etilo (B), (B del 5 al 20%, 12 CV, 10 g, 100 ml/min) para dar 5,3 g (50% a lo largo de 2 etapas) del éster etílico del ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (15) como un sólido amarillento. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 14,4, 20,4, 22,2, 27,4, 40,1, 44,2 (*d*, *J*_{CF} = 23 Hz), 55,1, 60,2, 83,9 (*d*, *J*_{CF} = 173 Hz), 100,6, 107,9, 108,2, 119,8, 123,1, 131,9, 137,2, 152,7 y 175,7.

Ejemplo 2(e): éster etílico del ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (16)

- 10 Se disolvió el éster etílico del ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (15) (5,3 g, 15,0 mmol) en metanol (180 ml) y se le añadió trietilamina (1,8 g, 18,0 mmol, 2,5 ml) y Pd/C al 10% (2 g en metanol (20 ml)). La mezcla se colocó en un hidrogenador Parr y se agitó durante 18 h en una atmósfera de hidrógeno. La reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite, se lavó con metanol y se retiró el solvente al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con carbonato de potasio acuoso al 10% (200 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío para dar 4,2 g (88%) del éster etílico del ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (16) como un sólido parduzco claro. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 14,3, 20,6, 21,8, 27,6, 40,3, 43,3 (*d*, *J*_{CF} = 23 Hz), 54,9, 60,1, 82,0 (*d*, *J*_{CF} = 165 Hz), 99,8, 102,1, 107,3, 117,2, 121,8, 134,9, 137,6, 153,8 y 176,0.

HPLC (Gemini 150 × 4,6 mm, metanol al 50-95%/agua durante 20 min) 13,6 min (94%).

- 20 Ejemplo 2(f): ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (17)

El éster etílico del ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (16) (380 mg, 1,2 mmol) se disolvió en etanol (4 ml). Se le añadió una solución de hidróxido de sodio (580 mg, 14,5 mmol) disuelta en 6 ml de agua. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche. El solvente se retiró al vacío y la mezcla bruta se diluyó con agua, se acidificó con HCl a 2 N hasta que se volvió ácida, y se lavó con diclorometano. Las capas orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de magnesio, y se concentraron al vacío para dar 347 mg (cuantitativo) del ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (17) como un sólido blanquecino que se utilizó en bruto en la siguiente etapa. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz; CDCl₃): δ_C 20,4, 21,9, 27,2, 39,9, 43,3 (*d*, *J*_{CF} = 23 Hz), 55,1, 81,9 (*d*, *J*_{CF} = 173 Hz), 100,3, 102,8, 106,2, 117,1, 122,2, 135,6, 137,8, 153,3 y 180,8.

- 30 Ejemplo 2(g): cloruro de 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carbonilo (18)

Una solución de ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (17) (347 mg, 1,2 mmol) en diclorometano seco (2 ml) se agitó en nitrógeno. Se le añadió cloruro de oxalilo (453 mg, 3,6 mmol, 300 μl) seguido de una gota de DMF. La mezcla de reacción se agitó a TA en nitrógeno durante 2 h, y luego se evaporó al vacío para dar 371 mg (cuantitativo) del cloruro de 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carbonilo como una goma que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 20,2, 21,7, 26,4, 43,3 (*d*, *J*_{CF} = 23 Hz), 54,9, 80,5, 83,1, 100,2, 102,2, 105,8, 116,7, 122,4, 135,5, 137,4, 153,5 y 176,6.

Ejemplo 2(h): dietilamida del ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 5 no radiactivo)

- 40 El cloruro de 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carbonilo (18) (371 mg, 1,2 mmol) se disolvió en diclorometano (2 ml) y se enfrió a 0 °C. A continuación, se le añadió dietilamina (177 mg, 2,4 mmol, 250 μl) y la reacción se agitó durante una noche a TA. La reacción se paró con carbonato de potasio acuoso al 10% (2 ml). La capa de diclorometano se recogió a través de un separador de fases y luego se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A):acetato de etilo (B) (del 50 al 100% de B, 50 g, 35,2 CV, 40 ml/min) para dar un sólido amarillo pálido. A continuación, el sólido se trituró con una cantidad mínima de éter dietílico para dar 240 mg (58%) de la dietilamida del ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 5 no radiactivo). La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 13,0, 14,6, 19,9, 21,9, 28,0, 36,3, 40,5, 41,9, 43,1 (*d*, *J*_{CF} = 23 Hz), 54,7, 82,0 (*d*, *J*_{CF} = 173 Hz), 99,7, 102,1, 108,3, 117,0, 121,5, 135,3, 137,4, 153,3 y 174,8.

- 50 Ejemplo 3: Síntesis del éster metanosulfonato de 2-[4-(piperidina-1-carbonil)-1,2,3,4-tetrahidrocarbazol-9-il]-etilo (compuesto precursor 6) y [9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (radiotrazador 6)

Ejemplo 3(a): 2-(piperidina-1-carbonil)-ciclohexanona (19)

- 55 Se calentaron a reflujo 2-oxociclohexanocarboxilato de etilo (5,3 g, 31 mmol, 5,0 ml), DMAP (1,05, 9,4 mmol) y piperidina (5,3 g, 63 mmol, 6,2 ml) en tolueno (100 ml) durante 4 días. La reacción se dejó enfriar y la reacción se

concentró al vacío. Se purificó el material bruto por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 20 al 80%, 100 g, 8 CV, 85 ml/min) para dar 6,26 g (96%) de la 2-(piperidina-1-carbonil)-ciclohexanona (19) como un sólido blanco. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 23,5, 24,5, 25,5, 26,2, 27,1, 30,4, 41,9, 42,9, 46,8, 54,2, 167,6, 207,6.

5 Ejemplo 3(b): 2-bromo-6-(piperidina-1-carbonil)-ciclohexanona (20)

Se disolvió la 2-(piperidina-1-carbonil)-ciclohexanona (19) (4,0 g, 19 mmol) en éter dietílico (5 ml) y se enfrió a 0 °C en N_2 . Se le añadió bromo (5,9 g, 19 mmol, 1,0 ml) gota a gota durante 15 min y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 90 min. El sólido se recogió por filtración para dar 5,86 g (cuantitativo) de la 2-bromo-6-(piperidina-1-carbonil)-ciclohexanona (20) como un sólido blanco que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, DMSO-d_6): δ_{C} 17,3, 24,2, 25,3, 25,8, 32,5, 44,0, 51,6, 108,3, 145,5, 167,8.

Ejemplo 3(c): (2-benciloxietil)-fenilamina (21)

En un matraz con fondo redondo, se combinaron anilina (2,0 g, 21,5 mmol, 2,0 ml), 2,6-lutidina (2,30 g, 21,5 mmol) y éter de bencilo y 2-bromoetilo (4,6 g, 21,5 mmol, 3,4 ml) en DMF (10 ml), y se agitó a 100 °C durante una noche. La reacción se dejó enfriar y a continuación se diluyó con acetato de etilo (50 ml). Este se lavó con agua (3 × 20 ml) y las capas orgánicas se secaron y concentraron al vacío. Se purificó el material bruto por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 0 al 50%, 100 g, 19,5 CV, 85 ml/min) para dar 2,22 g (37%) de (2-benciloxietil)-fenilamina (21) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 43,6, 68,6, 73,2, 113,1, 117,5, 127,5, 127,7, 128,4, 129,1, 138,2, 148,1.

20 Ejemplo 3(d): [9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (22)

Una mezcla de 2-bromo-6-(piperidina-1-carbonil)-ciclohexanona (20) (1,5 g, 5,2 mmol) y (2-benciloxietil)-fenilamina (21) (3,2 g, 10,4 mmol) se agitó en N_2 a 50 °C durante 3 h, y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (5 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (2,13 g, 15,6 mmol). Se calentó la mezcla a reflujo en N_2 durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con HCl a 2 N (30 ml), agua (2 × 30 ml) y una solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 30 ml), y a continuación se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó con un cartucho SCX y después por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 30 al 100%, 12 g, 41 CV, 30 ml/min) para dar 600 mg (27%) de la [9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (22) como un aceite. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 21,5, 21,7, 24,5, 25,7, 26,3, 273, 37,7, 42,8, 43,1, 46,7, 60,2, 68,7, 73,1, 108,2, 108,7, 117,8, 118,9, 120,5, 126,4, 127,3, 127,4, 128,1, 136,2, 137,8, 172,9.

Ejemplo 3(e): [9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (23)

A una solución de [9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (22) (600 mg, 1,4 mmol) en metanol (15 ml) se le añadió una suspensión viscosa de Pd/C (200 mg) en metanol (10 ml). La mezcla se colocó en un hidrogenador Parr y se agitó durante 24 h en una atmósfera de nitrógeno. La reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite, se lavó con metanol y se concentró al vacío. Se trituró el material bruto para dar 332 mg (71%) de la [9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (23) como un sólido blanco. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 21,2, 21,9, 24,7, 27,4, 36,4, 43,4, 45,0, 47,0, 60,9, 107,8, 109,0, 117,7, 119,0, 120,7, 126,6, 136,2, 137,2, 173,5.

40 Ejemplo 3(f): éster metanosulfonato de 2-[4-(piperidina-1-carbonil)-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il]-etilo (compuesto precursor 6)

A una solución de [9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (23) (260 mg, 0,8 mmol) en diclorometano (15 ml) se le añadió piridina (633 mg, 8,0 mmol, 0,65 ml). La reacción se enfrió a 0 °C y se le añadió cloruro de metanosulfonilo (458 mg, 4,0 mmol, 0,31 ml). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se lavó con HCl a 2 N (2 × 50 ml) y agua (2 × 50 ml), se secó y se concentró al vacío. El material bruto se trituró con éter dietílico para dar 263 mg (82%) del éster metanosulfonato de 2-[4-(piperidina-1-carbonil)-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il]-etilo (compuesto precursor 6) como un sólido blanco. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 21,4, 21,8, 24,7, 25,9, 26,9, 27,4, 36,6, 36,8, 41,7, 43,3, 47,0, 67,9, 108,5, 109,5, 118,4, 119,7, 121,3, 126,9, 136,2, 172,7.

50 Ejemplo 3(g): [9-(2- ^{18}F)fluoroetil]-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (radiotrazador 6)

Se llevó a cabo la marcación del compuesto precursor 6 con ^{18}F tal y como esta descrito en el ejemplo 1(f).

HPLC semipreparativa: columna HICHROM ACE 5 C18 (100 × 10 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm ; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 3 ml/min; minutos 0 a 1, B al 50%; minutos 1 al 20, B del 50 al 95%; longitud de onda de 254 nm; t_{R} para el radiotrazador 6, 17 min.

HPLC analítica: columna Phenomenex Luna C18 (150 × 4,6 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 µm; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 1 ml/min; minutos 0 a 1, B al 50%; minutos 1 al 20, B del 50 al 95%; longitud de onda de 230 nm; t_R para el radiotrazador 6, 16 min.

5 Rendimiento radioquímico: 23 ± 2% (n = 3) sin corregir por desintegración, tiempo de 90 a 120 min, pureza radioquímica ≥99%. La figura 2 muestra la coelución del radiotrazador 6 y del trazador 6 no radiactivo.

Ejemplo 4: Síntesis de la [9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (análogo no radiactivo del radiotrazador 6)

Ejemplo 4(a): (2-fluoroetil)-fenilamina (24)

10 En un matraz de fondo redondo se combinaron anilina (0,5 g, 5,4 mmol), 2,6-lutidina (0,58 g, 5,4 mmol) y tosilato de 2-fluoroetilo (12; preparado de acuerdo con el ejemplo 2(a)) (1,17 g, 5,4 mmol) en DMF (2,5 ml), y se agitaron a 100 °C durante una noche. Se dejó enfriar la reacción y luego se diluyó con acetato de etilo (50 ml). Esto se lavó con agua (3 × 20 ml) y se secaron las capas orgánicas y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (100 g, B del 0 al 100%, 18 CV, 85 ml/min) para dar 435 mg (60%) de (2-fluoroetil)-fenilamina (24) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 3,41 (1H, t, J = 3 Hz, NCH₂CH₂F), 3,50 (1H, t, J = 3 Hz, NCH₂CH₂F), 3,93 (1H, s, br), 4,54, (1H, t, J = 3 Hz, NCH₂CH₂F), 4,71 (1H, t, J = 3 Hz, NCH₂CH₂F), 6,65-6,82 (3H, m, 2 × NCCH₂NCCH₂CH₂), 7,14-7,28 (2H, m, 2 × NCCH₂CH₂CH₂).

Ejemplo 4 (b): [9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (trazador 6 no radiactivo)

20 Una mezcla de 2-bromo-6-(piperidina-1-carbonil)-ciclohexanona (20; preparada de acuerdo con el ejemplo 3(b)) (500 mg, 1,7 mmol) y (2-fluoroetil)-fenilamina (24) (890 mg, 3,5 mmol) se agitó en N₂ a 50 °C durante 3 h, y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (2 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (682 mg, 5 mmol). Se calentó la mezcla a reflujo en N₂ durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (50 ml) y se lavó con HCl a 2 N (20 ml), agua (2 × 20 ml) y una solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 20 ml), y luego se secó y se concentró al vacío. El material bruto se trituró con éter dietílico para dar 151 mg (27%) de [9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-il]-piperidín-1-ilmetanona (trazador 6 no radiactivo) como un sólido blanco. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 21,6, 21,8, 24,7, 26,5, 26,9, 27,4, 37,3, 43,1 (d, J_{CF} = 45 Hz), 47,0, 82,1 (d, J_{CF} = 173 Hz), 108,5, 108,9, 118,6, 119,4, 121,0, 126,8, 136,2, 172,7.

30 Ejemplo 5: Síntesis del éster metanosulfonato de 2-[4-(bencilmetilcarbamoil)-1,2,3,4-tetrahidrocarbazol-9-il]-etilo (compuesto precursor 7) y de la bencilmetilamida del ácido 9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 7)

Ejemplo 5 (a): éster etílico del ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (25)

35 Una mezcla de la (2-benciloxietil)-fenilamina (21; preparada de acuerdo con el ejemplo 3(c)) (8,0 g, 26 mmol) y el éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidroxiciclohex-1-enocarboxílico (4; preparado de acuerdo con el ejemplo 1(d)) (3,2 g, 13 mmol) se agitó en N₂ a 50 °C durante 3 h y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (30 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (10,6 g, 78 mmol). La mezcla se calentó a reflujo en N₂ durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con HCl a 2 N (100 ml), agua (2 × 100 ml) y solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 100 ml), y a continuación se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 2,5 al 40%, 17 CV, 330 g, 100 ml/min) para dar 3,49 g (72%) del éster etílico del ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (25) como un aceite. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 14,2, 20,5, 21,8, 26,5, 38,6, 42,9, 60,4, 68,7, 73,2, 106,4, 108,8, 118,7, 120,7, 127,4, 127,5, 128,3, 136,2, 136,9, 137,8, 175,0.

Ejemplo 5(b): ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (26)

45 El éster etílico del ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (25) (35 g, 9,3 mmol) se disolvió en etanol (9 ml) y a continuación se le añadió NaOH (1,56 g) en agua (15 ml). La reacción se calentó a reflujo durante 2 h. La reacción se concentró al vacío, y el residuo se diluyó con agua y se lavó con diclorometano (2 × 150 ml). La capa acuosa se añadió gota a gota a HCl a 2 N (150 ml) y a continuación se extrajo en diclorometano (3 × 150 ml). Las capas orgánicas se secaron y se concentraron al vacío para dar 2,48 g (92%) de ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (26) como un sólido amarillo que se utilizó en la etapa siguiente sin purificación. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 20,4, 21,8, 26,4, 38,3, 42,9, 68,7, 73,3, 105,7, 108,8, 118,7, 119,3, 102,9, 127,4, 127,6, 128,3, 136,2, 137,1, 137,8, 108,9.

Ejemplo 5(c): bencilmetilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (27)

El ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (26) (600 mg, 1,7 mmol) se disolvió en DCM

seco (8 ml) en nitrógeno y se le añadió cloruro de oxalilo (393 mg, 3,1 mmol, 0,26 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se produjo una vigorosa evolución de gas. La reacción se concentró al vacío y, a continuación, se volvió a disolver en diclorometano (8 ml), se enfrió a 0 °C, y se le añadió *N*-bencilmetilamina (412 mg, 3,4 mmol, 0,44 ml). La reacción se calentó a temperatura ambiente durante una noche.

5 La reacción se lavó con solución acuosa de carbonato de potasio al 5%, se secó y se concentró al vacío para dar un aceite parduzco. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B al 30%, 10 g) para dar 246 mg (64%) de la bencilmetilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (27) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (CDCl₃): δ_H 1,60-2,30 (4H, *m*, CHCH₂CH₂CH₂), 2,70-2,90 (2H, *m*, CHCH₂CH₂CH₂), 3,10 (1,5H, *s*, N(CH₃)CH₂Ph), 3,13 (1,5H, *s*, N(CH₃)CH₂Ph), 3,73 (2H, *t*, *J* = 6 Hz, NCH₂CH₂O), 4,10-4,30 (3H, *m*, NCH₂CH₂O, CHCH₂CH₂CH₂), 4,42 (1H, *s*, OCH₂Ph), 4,44 (1H, *s*, OCH₂Ph), 4,80 (1H, *s*, N(CH₃)CH₂Ph), 4,81 (1H, *s*, N(CH₃)CH₂Ph), 6,90-7,50 (14H, *m*).

Ejemplo 5(d): bencilmetilamida del ácido 9-(2-hidroxiethyl)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (28)

15 A una solución de la bencilmetilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (27) (246 mg, 0,5 mmol) en metanol (15 ml) se le añadió una suspensión viscosa de Pd/C (200 mg) en metanol (10 ml). La mezcla se colocó en el hidrogenador Parr y se agitó durante 24 h en una atmósfera de hidrógeno. Se filtró la reacción a través de una almohadilla de Celite, se lavó con metanol y se concentró al vacío para dar 36 mg (20%) de bencilmetilamida del ácido 9-(2-hidroxiethyl)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (28) como un aceite verdoso que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (CDCl₃): δ_H 1,80-2,20 (4H, *m*), 2,70-3,00 (2H, *m*), 3,20-4,30 (10H, *m*), 6,90-7,50 (9H, *m*).

Ejemplo 5(e): éster metanosulfonato de 2-[4-(bencilmetilcarbamoil)-1,2,3,4,-tetrahidrocarbazol-9-il]-etilo (compuesto precursor 7)

25 A una solución de la bencilmetilamida del ácido 9-(2-hidroxiethyl)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (28) (36 mg, 0,1 mmol) en diclorometano (2 ml) se le añadió piridina (7,91 g, 1,0 mmol, 8,1 ml). La reacción se enfrió a 0 °C y se le añadió cloruro de metanosulfonilo (57 mg, 0,5 mmol, 0,04 ml). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se lavó con HCl a 2 N (2 × 10 ml) y agua (2 × 10 ml), se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 20 al 80%, 4 g, 45 CV, 18 ml/min) para dar 14 mg (32%) del éster metanosulfonato de 2-[4-(bencilmetilcarbamoil)-1,2,3,4-tetrahidrocarbazol-9-il]-etilo (compuesto precursor 7) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (CDCl₃): δ_H 1,10-2,40 (5H, *m*), 2,51 (1,5H, *s*, OSO₂CH₃), 2,54 (1,5H, *s*, OSO₂CH₃), 2,70-2,90 (2H, *m*), 3,08 (1,5H, *s*, NCH₃), 3,15 (1,5H, *s*, NCH₃), 3,40-3,70 (1H, *m*), 4,10-4,80 (4H, *m*), 7,00-7,50 (9H, *m*).

Ejemplo 5(f): bencilmetilamida del ácido 9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 7)

35 Se llevó a cabo la marcación del compuesto precursor 7 con ¹⁸F tal y como está descrito en el ejemplo 1(f).

HPLC semipreparativa: columna HICHROM ACE 5 C18 (100 × 10 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 3 ml/min; minutos 0 a 1, B al 50%; minutos 1 al 20, B del 50 al 95%; longitud de onda de 254 nm; *t_R* para el radiotrazador 7, 17 minutos.

40 HPLC analítica: columna Phenomenex Luna C18 (150 × 4,6 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 1 ml/min; minutos 0 a 1, B al 50%; minutos 1 al 20, B del 50 al 95%; longitud de onda de 230 nm; *t_R* para el radiotrazador 7, 16 min.

Rendimiento radioquímico: 23 ± 2% (n = 3) sin corregir por desintegración, tiempo de 90 a 120 min, pureza radioquímica ≥99%. La figura 3 muestra la coelución del radiotrazador 7 y el trazador 7 no radiactivo.

Ejemplo 6: bencilmetilamida del ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 7 no radiactivo)

Ejemplo 6(a) éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidroxiclohex-1-enocarboxílico (29)

50 Se disolvió el 2-oxociclohexanocarboxilato de etilo (5,0 g, 29 mmol, 4,7 ml) en éter dietílico (5 ml) y se enfrió a 0 °C en N₂. Se le añadió bromo (4,6 g, 29 mmol, 4,2 ml) gota a gota durante 15 min y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 90 min. La mezcla se vertió lentamente en una solución acuosa saturada de carbonato de sodio enfriada en hielo (40 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron y concentraron al vacío para dar 5,96 g (81%) del éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidroxiclohex-1-enocarboxílico (29) como un aceite amarillento pálido que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ_C 14,14, 17,65, 21,77, 32,02, 59,95, 60,83, 99,70, 166,33, 172,81.

Ejemplo 6(b): éster etílico del ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (30)

Una mezcla de la (2-fluoroetil)-fenilamina (24; preparada de acuerdo con el ejemplo 4(a)) (560 mg, 4,0 mmol) y el éster etílico del ácido 3-bromo-2-hidroxi-ciclohex-1-enocarboxílico (29) (500 mg, 2,0 mmol) se agitó en N₂ a 50 °C durante 3 h y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (4 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (820 mg, 6 mmol). La mezcla se calentó a reflujo en N₂ durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El producto se disolvió en acetato de etilo/éter (30 ml/150 ml) y se lavó con HCl a 2 N (40 ml), agua (2 × 100 ml) y una solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 100 ml), y a continuación se secó y se concentró para dar 447 mg (91%) del éster etílico del ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (30) como un aceite amarillento que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 14,3, 20,4, 21,7, 26,4, 38,5, 43,1 (*d*, J_{CF} = 15 Hz), 60,6, 76,6, 77,0, 77,4, 82,1 (*d*, J_{CF} = 173 Hz), 106,9, 108,5, 118,9, 119,4, 121,1, 127,1, 136,2, 136,7, 174,9.

Ejemplo 6(c): ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (31)

El éster etílico del ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (30) (380 mg, 1,3 mmol) se disolvió en etanol (3 ml) y a continuación se le añadió NaOH (520 mg) en agua (5 ml). La reacción se calentó a reflujo durante 2 h. La reacción se concentró al vacío, y el residuo se diluyó con agua y se lavó con diclorometano (2 × 50 ml). La capa acuosa se añadió gota a gota a HCl a 2 N (50 ml) y a continuación se extrajo en diclorometano (3 × 50 ml). Las capas orgánicas se secaron y se concentraron al vacío para dar 130 mg (37%) del ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (31) como un sólido amarillento que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1,90-2,42 (4H, *m*, 2- y 3-CH₂), 2,60-2,91 (2H, *m*, 1-CH₂), 3,94 (1H, *t*, *J* = 6 Hz, 4-CH), 4,30 (1H, *t*, *J* = 6 Hz, NCH₂CH₂F), 4,37 (1H, *t*, *J* = 6 Hz, NCH₂CH₂F), 4,59 (1H, *t*, *J* = 6 Hz, NCH₂CH₂F), 4,74 (1H, *t*, *J* = 6 Hz, NCH₂CH₂F), 7,05-7,26 (3H, *m*, ArH), 7,59 (1H, *d*, *J* = 9 Hz, ArH).

Ejemplo 6(d): cloruro de 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carbonilo (32)

Se agitó el ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (31) (0,5 g, 1,91 mmol) en diclorometano seco (6 ml) en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente con cloruro de oxalilo (490 mg, 3,8 mmol, 0,34 ml) y una gota de DMF. La reacción se concentró al vacío para dar 545 mg (cuantitativo) del cloruro de 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carbonilo (32) que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 20,2, 21,6, 26,7, 43,1, 43,4, 50,6, 80,9, 83,1, 105,3, 108,8, 118,3, 120,0, 121,6, 126,5, 136,2, 137,5, 176,1.

Ejemplo 6(e): bencilmetilamida del ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (trazador 7 no radiactivo)

El cloruro de 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carbonilo (32) (110 mg, 0,4 mmol) se disolvió en diclorometano (1 ml) y se enfrió a 0 °C. A continuación, se le añadió *N*-bencilmetilamina (92 mg, 0,8 mmol, 98 μl) y la reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se paró la reacción con la solución acuosa de carbonato de potasio al 10% (2 ml). La capa de diclorometano se recogió mediante un separador de fases, y a continuación se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 20 al 100%, 12 g, 30 CV, 30 ml/min) para dar 39 mg (28%) de la bencilmetilamida del ácido 9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (trazador 7 no radiactivo). La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 1,75-2,32 (4H, *m*, 2- y 3-CH₂), 2,68-2,86 (2H, *m*, 1-CH₂), 3,10 (1H, *s*, NCH₃), 3,14 (2H, *s*, NCH₃), 4,17-4,39 (3H, *m*, NCH₂CH₂F y 4-CH₂), 4,52-4,87 (4H, *m*, NCH₂Ph y NCH₂CH₂F), 6,96-7,42 (9H, *m*, ArH).

Ejemplo 7: Síntesis del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 9) y de la dietilamida del ácido 6-fluoro-9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 9).

Ejemplo 7(a): 2-benciloxi-*N*-(4-fluorofenil)-acetamida (33)

A una solución de ácido benciloxiacético (4,6 g, 28,0 mmol, 4,0 ml) en DCM (52 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (7,7 g, 61 mmol, 5,3 ml) y una gota de DMF. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se retiró al vacío el exceso de cloruro de oxalilo para dar el cloruro de benciloxiacetilo. El cloruro de acilo bruto se diluyó en DCM (100 ml) y se le añadió trietilamina (5,3 ml, 41,6 mmol, 4,2 g) y luego 4-fluoroanilina (3,5 g, 32 mmol, 3,0 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. A continuación, la reacción se paró con HCl acuoso a 1 M (100 ml), se secó y se concentró al vacío para dar 7,1 g (95%) de la 2-benciloxi-*N*-(4-fluorofenil)-acetamida (33) como un aceite amarillento que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 69,2, 73,5, 115,4 (*d*, J_{CF} = 22 Hz), 121,4 (*d*, J_{CF} = 7 Hz), 127,9, 128,2, 128,5, 132,5 (*d*, J_{CF} = 3 Hz), 136,3, 157,6, 160,8 y 167,5.

Ejemplo 7(b): (2-benciloxietil)-(4-fluorofenil)-amina (34)

A una suspensión de LAH (1,25 g, 27 mmol) en éter dietílico seco (100 ml) se le añadió gota a gota una solución de 2-benciloxi-*N*-(4-fluorofenil)-acetamida (33) (6,9 g, 27 mmol) en éter dietílico seco (100 ml). La adición era tal manera que se mantuvo un reflujo. Una vez que se completó la adición, se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante 4 h, y luego se vertió en agua helada y se le añadió DCM. Para descomponer la sal de aluminio, se le añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio a 2 M hasta que se obtuvo un pH básico fuerte. Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con DCM, se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 5 al 50%, 100 g, 12 CV, 60 ml/min) para dar 5,5 g (84%) de la (2-benciloxietil)-(4-fluorofenil)-amina (34) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 44,0, 68,3, 72,8, 113,7, (*d*, *J*_{CF} = 7 Hz), 115,3 (*d*, *J*_{CF} = 22 Hz), 127,5, 127,6 (*d*, *J*_{CF} = 3 Hz), 128,3, 137,8, 144,5, 154,1 y 157,2.

Ejemplo 7(c): dietilamida del ácido 3-bromo-2-oxociclohexanocarboxílico (35)

Se calentaron a reflujo 2-ciclohexanocarboxilato de etilo (7,50 ml, 47,0 mmol), DMAP (1,72 g, 14,1 mmol) y dietilamina (9,77 ml, 94,0 mmol) durante 72 horas en tolueno (100 ml). La reacción se dejó enfriar y se retiró el tolueno a presión reducida. El aceite bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (1:1. 100 g, SiO₂) para dar 6,8 g (73%) de la dietilamida del ácido 2-oxociclohexanocarboxílico como un aceite anaranjado. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (CDCl₃): δ 11,1, 12,7, 21,3, 24,9, 28,5, 39,4, 39,6, 51,7, 166,5, 205,9.

La dietilamina del ácido 2-oxociclohexanocarboxílico (3,56 ml, 19,3 mmol) se disolvió en éter dietílico (5 ml) y se enfrió con agitación a 0 °C en N₂. Se le añadió bromo (0,99 ml, 19,3 mmol) gota a gota a lo largo de 15 min y se dejó calentar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 horas. Un sólido se precipitó desde la reacción. Se lo recogió por filtración y se lavó con éter para dar 5,85 g (109%) de la dietilamida del ácido 3-bromo-2-oxociclohexanocarboxílico (35) como un sólido amarillento pálido. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (CDCl₃): δ 11,2, 12,8, 22,7, 28,8, 37,6, 37,9, 39,4, 51,0, 55,7, 165,5, 197,2.

Ejemplo 7(d): dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-6-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (36)

Una mezcla de 2-benciloxi-*N*-(4-fluorofenil)-acetamida (33) (5,3 g, 22 mmol) y dietilamida del ácido 3-bromo-2-oxociclohexanocarboxílico (35) (3,0 g, 13 mmol) se agitó en N₂ a 50 °C durante 3 h y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (30 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (9,0 g, 66 mmol). La mezcla se calentó a reflujo en N₂ durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con HCl a 2 N (100 ml), agua (2 × 100 ml) y solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 100 ml), y a continuación se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 10 al 50%, 100 g) para dar 196 mg (11%) de la dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-6-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (36) como un sólido blanco. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 1,14 (3H, *t*, *J* = 7 Hz, N(CH₂CH₃)₂), 1,30 (3H, *t*, *J* = 7 Hz, N(CH₂CH₃)₂), 1,60-2,60 (4H, *m*, 2- y 3-CH₂), 2,70-2,85 (2H, *m*, 1-CH₂), 3,10-3,65 (4H, *m*, N(CH₂CH₃)₂ y NCH₂CH₂OBn), 3,66-3,75 (1H, *m*, 4-CH), 4,00-4,25 (2H, *m*, NCH₂CH₂OBn), 4,41 (2H, *s*, OCH₂Ph), 6,75-6,95 (2H, *m*, NCCH₂CH₂CFCH), 7,05-7,15 (1H, *m*, NCCH₂CH₂CFCH) y 7,16-7,25 (5H, *m*, Ph).

Ejemplo 7(d): dietilamida del ácido 6-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (37)

A una solución de dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-6-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (36) (600 mg, 1,4 mmol) en metanol (40 ml) se le añadió una suspensión viscosa de Pd/C (100 mg) en metanol (5 ml). La mezcla se colocó en el hidrogenador Parr y se agitó durante 24 en una atmósfera de hidrógeno. La reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite, se lavó con metanol y se concentró al vacío para dar 460 mg (80%) de la dietilamida del ácido 6-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (37) como un aceite amarillento que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, MeOD-*d*₃): δ_H 1,18 (3H, *t*, *J* = 9 Hz, N(CH₂CH₃)₂), 1,35 (3H, *t*, *J* = 9 Hz, N(CH₂CH₃)₂), 1,80-2,20 (4H, *m*, 2- y 3-CH₂), 2,69-3,88 (2H, *m*, 1-CH₂), 3,40-3,86 (6H, *m*, N(CH₂CH₃)₂ y NCH₂CH₂OH), 4,03-4,22 (3H, *m*, NCH₂CH₂OH y 4-CH), 6,75-6,95 (2H, *m*, NCCH₂CH₂CFCH) y 7,05-7,15 (1H, *m*, NCCH₂CH₂CFCH).

Ejemplo 7(e): éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 9)

A una solución de la dietilamida del ácido 6-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (37) (460 mg, 1,4 mmol) en diclorometano (20 ml) se le añadió piridina (1,11 g, 14,0 mmol, 1,1 ml). La reacción se enfrió a 0 °C y se le añadió cloruro de metanosulfonilo (722 mg, 6,3 mmol, 0,5 ml). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se lavó con HCl a 2 N (2 × 30 ml) y agua (2 × 30 ml), se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 0 al 100%, 10 g, 45 CV, 30 ml/min), y a continuación se trituró con éter dietílico para dar 166 mg (30%) del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-6-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 9) como un sólido blanco. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 12,9, 15,0, 21,1, 27,7, 36,1, 36,7, 40,6, 41,7, 67,8, 103,3 (*d*, *J*_{CF} = 23 Hz), 108,7, 109,0, 109,1, 109,4 (*d*, *J*_{CF} = 5 Hz), 126,9 (*d*, *J*_{CF} = 10 Hz), 132,4, 138,4, 156,1, 159,2 y 173,3.

Ejemplo 7(f): dietilamida del ácido 6-fluoro-9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 9)

La marcación del compuesto precursor 9 con ¹⁸F se llevó a cabo tal y como está descrito en el ejemplo 1(f).

5 HPLC semipreparativa: columna HICHROM ACE 5 C18 (100 × 10 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 3 ml/min; minutos 0 a 1, B al 40%; minutos 1 al 20, B del 40 al 95%; longitud de onda de 254 nm; *t_R* para el radiotrazador 9, 15 min.

HCLC analítica: columna Phenomenex Luna C18 (150 × 4,6 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 1 ml/min; minutos 0 a 1, B al 50%; minutos 1 al 20, B del 50 al 95%; longitud de onda de 230 nm; *t_R* para el radiotrazador 9, 14 min.

10 Rendimiento radioquímico: 26 ± 8% (n = 4) sin corregir por desintegración, tiempo de 90 a 120 min, pureza radioquímica ≥99%. En la figura 4 se muestra la coelución del radiotrazador 9 y del trazador 9 no radiactivo.

Ejemplo 8: Síntesis de la dietilamida del ácido 6-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 9 no radiactivo)

Ejemplo 8(a): (2-fluoroetil)-(4-fluorofenil)-amina (38)

15 En un matraz de fondo redondo se combinaron 4-fluoroanilina (1,3 g, 11,6 mmol, 1,6 ml), 2,6-lutidina (1,24 g, 11,6 mmol) y tosilato de 2-fluoroetil (12; preparado de acuerdo con el ejemplo 2(a)) (2,5 g, 11,6 mmol) en DMF (5 ml), y se agitaron a 100 °C durante una noche. La reacción se dejó enfriar y a continuación se diluyó con acetato de etilo (100 ml). Esto se lavó con agua (3 × 40 ml) y las capas orgánicas se secaron y se concentraron al vacío. El material
20 bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B al 10%, 100 g, 12 CV, 60 ml/min) para dar 383 mg (20%) de (2-fluoroetil)-(4-fluorofenil)-amina (38) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 3,30-3,35 (1H, *m*, NCH₂CH₂F), 3,40-3,45 (1H, *m*, NCH₂CH₂F), 3,90 (1H, *s*, *br*, NH), 4,53 (1H, *t*, *J* = 3 Hz, NCH₂CH₂F), 4,69 (1H, *t*, *J* = 3 Hz, NCH₂CH₂F), 6,51-6,72 (2H, *m*, 2 × NCH₂), 6,85-7,05 (2H, *m*, 2 × NCH₂CH).

25 Ejemplo 8(b): dietilamida del ácido 6-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 9 no radiactivo)

Una mezcla de dietilamida del ácido 3-bromo-2-oxociclohexanocarboxílico (35; preparada de acuerdo con el ejemplo 7(c)) (336 mg, 1,2 mmol) y (2-fluoroetil)-(4-fluorofenil)-amina (38) (383 mg, 2,4 mmol) se agitó en N₂ a 50 °C durante 3 h y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (2 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (491 mg, 3,6 mmol). La mezcla se calentó a reflujo en N₂ durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (20 ml) y se lavó con HCl a 2 N (10 ml), agua (2 × 10 ml) y solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 5 ml), a continuación se secó y se concentró al vacío. El material bruto se trituró con éter dietílico para dar 40 mg (10%) de la dietilamida del ácido 6-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 9 no radiactivo) como un sólido blanco. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 1,13 (3H, *t*, *J* = 9 Hz, N(CH₂CH₃)₂), 1,30 (3H, *t*, *J* = 9 Hz, N(CH₂CH₃)₂), 1,55-2,14 (4H, *m*, 2- y 3-CH₂), 2,78-2,86 (2H, *m*, 1-CH₂), 3,36-3,67 (4H, *m*, N(CH₂CH₃)₂), 4,00-4,10 (1H, *m*, 4-CH), 4,30 (2H, *dm*, *J* = 21 Hz, NCH₂CH₂F), 4,60 (2H, *dm*, *J* = 41 Hz, NCH₂CH₂F), 6,75-6,95 (2H, *m*, NCH₂CH₂F) y 7,05-7,15 (1H, *m*, NCH₂CH₂F).

40 Ejemplo 9: Síntesis del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-5-fluoro-1,2,3,4-tetrahidrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 10) y de la dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahidro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 10)

Ejemplo 9(a): 2-benciloxi-*N*-(3-fluorofenil)-acetamida (39)

A una solución de ácido benciloxiacético (4,65 g, 28 mmol, 4,0 ml) en DCM (52 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (7,7 g, 61 mmol, 5,3 ml) y una gota de DMF. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se retiró al vacío el exceso de cloruro de oxalilo y se diluyó cloruro de acilo bruto en DCM (100 ml), y se le añadió trietilamina (5,3 ml, 41,6 mmol, 4,2 g) y después 3-fluoroanilina (3,5 g, 32 mmol, 3,0 ml). La mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. A continuación, se paró la reacción con HCl acuoso a 1 M (100 ml), se secó y se concentró al vacío para dar 7,10 g (95%) de la 2-benciloxi-*N*-(3-fluorofenil)-acetamida (39) como un aceite amarillento que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ_C 69,2, 73,5, 106,9, 107,2, 111,0 (*d*, *J_{CF}* = 24 Hz), 114,9 (*d*, *J_{CF}* = 3 Hz), 127,8, 128,2, 128,5, 129,7 (*d*, *J_{CF}* = 9 Hz), 136,2 y 167,6.

50 Ejemplo 9(b): (2-benciloxietil)-(3-fluorofenil)-amina (40)

A una suspensión de LAH (1,25 g, 27 mmol) en éter dietílico seco (100 ml) se le añadió gota a gota una solución de 2-benciloxi-*N*-(3-fluorofenil)-acetamida (39) (7,0 g, 27 mmol) en éter dietílico seco (100 ml). La adición fue de tal forma que se mantuvo un reflujo. Una vez que se había completado la adición, se calentó la mezcla de reacción a

reflujo durante 4 h, después se vertió en agua helada y se le añadió DCM. Para descomponer la sal de aluminio, se le añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio a 2 M hasta que se obtuvo un pH básico fuerte. Se separaron las capas y la capa acuosa se lavó con DCM, se secó y concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 5 al 50%, 100 g, 12 CV, 60 ml/min) para dar 4,1 g (84%) de la (2-benciloxietil)-(3-fluorofenil)-amina (40) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 43,3, 68,2, 73,0, 99,4, (*d*, $J_{\text{CF}} = 24$ Hz), 103,5, 103,8, 108,8, 127,4 (*d*, $J_{\text{CF}} = 3$ Hz), 127,6, 128,4, 130,0 (*d*, $J_{\text{CF}} = 9$ Hz) y 138,8.

Ejemplo 9(c): dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-5-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (41)

Una mezcla de dietilamida del ácido 3-bromo-2-oxociclohexanocarboxílico (35; preparada de acuerdo con el ejemplo 7(c)) (2,3 g, 10 mmol) y (2-benciloxietil)-(3-fluorofenil)-amina (40) (4,1 g, 17 mmol) se agitó en N_2 a 50 °C durante 3 h y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (10 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (4,09, 30 mmol). La mezcla se calentó a reflujo en N_2 durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con HCl a 2 N (50 ml), agua (2 × 50 ml) y una solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 50 ml), y luego se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 5 al 100%, 100 g, 28 CV, 60 ml/min) para dar 1,3 g (30%) de la dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-5-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (41) junto con el isómero dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-7-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico como una mezcla que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura de la dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-5-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (41) se confirmó por ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,10-1,40 (6H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,60-2,60 (4H, *m*, 2- y 3- CH_2), 2,70-2,85 (2H, *m*, 1- CH_2), 3,10-3,65 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ y $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OBn}$), 4,00-4,30 (3H, *m*, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OBn}$ y 4- CH), 4,43 (2H, *s*, OCH_2Ph), 6,55-6,65 (1H, *m*, NCCHCHCHCF), 6,90-7,05 (1H, *m*, NCCHCHCHCF), 7,05-7,15 (1H, *m*, NCCHCHCHCF) y 7,16-7,25 (5H, *m*, Ph).

La estructura de la dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-7-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico se confirmó por ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,10-1,40 (6H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,60-2,60 (4H, *m*, 2- y 3- CH_2), 2,70-2,85 (2H, *m*, 1- CH_2), 3,10-3,65 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ y $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OBn}$), 4,00-4,30 (3H, *m*, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OBn}$ y 4- CH), 4,55 (2H, *s*, OCH_2Ph), 6,70-6,80 (1H, *m*, NCCHCFCHCH) y 7,00-7,40 (7H, *m*, NCCHCFCHCH y Ph).

Ejemplo 9(d): dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (42)

A una solución de una mezcla de dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-5-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (41) y dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-7-fluoro-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (1,3 g, 3,0 mmol) en metanol (75 ml) se le añadió una suspensión viscosa de Pd/C (200 mg) en metanol (10 ml). La mezcla se colocó en el hidrogenador Parr y se agitó durante 24 horas en una atmósfera de hidrógeno. La reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite, se lavó con metanol y se concentró al vacío para dar 743 mg (80%) de una mezcla de dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (42) y dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico como un aceite amarillento que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura de la dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (55) se confirmó por ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,10-1,40 (6H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,60-2,60 (4H, *m*, 2- y 3- CH_2), 2,70-2,85 (2H, *m*, 1- CH_2), 3,10-3,65 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ y $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 4,00-4,30 (3H, *m*, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 4- CH), 6,55-6,65 (1H, *m*, NCCHCHCHCF), 6,90-7,05 (1H, *m*, NCCHCHCHCF) y 7,05-7,15 (1H, *m*, NCCHCHCHCF).

La estructura de la dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico se confirmó por ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,10-1,40 (6H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,60-2,60 (4H, *m*, 2- y 3- CH_2), 2,70-2,85 (2H, *m*, 1- CH_2), 3,10-3,65 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ y $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 4,00-4,30 (3H, *m*, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 4- CH), 6,70-6,80 (1H, *m*, NCCHCFCHCH) y 7,00-7,40 (2H, *m*, NCCHCFCHCH).

Ejemplo 9(e): éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-5-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 10)

A una solución de una mezcla de dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (42) y dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-hidroxietil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (743 mg, 2,2 mmol) en diclorometano (30 ml) se le añadió piridina (1,74 g, 22,0 mmol, 1,8 ml). La reacción se enfrió a 0 °C y se le añadió cloruro de metanosulfonilo (1,01 g, 8,8 mmol, 0,7 ml). Se dejó calentar la reacción a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se lavó con HCl a 2 N (2 × 50 ml) y agua (2 × 50 ml), se secó y se concentró al vacío. Se purificó el material bruto por HPLC semipreparativa que se eluyó con agua (A) y metanol (B) (Gemini 5u, C18, 110A, 150 × 21 mm, B del 50 al 95% durante 20 min, 21 ml/min) para dar 10 mg (1%) del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-7-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo como un sólido blanco y 30 mg (9%) de una mezcla del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-7-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo y del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-5-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 10) como un sólido blanco. Mediante el uso de estas condiciones de purificación, el éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-5-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 10) no se pudo aislar como un único componente. La estructura del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-7-fluoro-1,2,3,4-

tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo se confirmó por $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,18 (3H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,39 (3H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,70-2,30 (4H, *m*, 2- y 3- CH_2), 2,58 (3H, *s*, OSO_2CH_3), 2,60-2,80 (2H, *m*, 1- CH_2), 3,40-3,65 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 4,02 (1H, *t*, $J = 6$ Hz, 4- CH), 4,20 (2H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OMs}$), 4,35 (2H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OMs}$), 6,70-6,85 (1H, *m*, NCCHCFCHCH), 6,90-7,00 (1H, *m*, NCCHCFCHCH) y 7,05-7,15 (2H, *m*, NCCHCFCHCH).

5

La estructura del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-5-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 10) se confirmó por $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,18 (3H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,39 (3H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,70-2,30 (4H, *m*, 2- y 3- CH_2), 2,58 (3H, *s*, OSO_2CH_3), 2,60-2,80 (2H, *m*, 1- CH_2), 3,40-3,65 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 4,15 (1H, *m*, 4- CH), 4,20 (2H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OMs}$), 4,35 (2H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OMs}$), 6,55-6,65 (1H, *m*, NCCHCHCHCF), 6,90-7,05 (1H, *m*, NCCHCHCHCF) y 7,05-7,15 (1H, *m*, NCCHCHCHCF).

10

Ejemplo 9(f): dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-[^{18}F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 10)

La mezcla del compuesto precursor 10 y del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-7-fluoro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo se utilizó en la reacción de radiomarcación. La marcación con ^{18}F se llevó a cabo tal y como está descrito en el ejemplo 1(f). Se obtuvo la dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-[^{18}F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico, que es el radiotrazador 10.

15

HPLC semipreparativa: columna HICHROM ACE 5 C18 (100 × 10 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm ; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 3 ml/min; minutos 0 a 1, B al 50%; minutos 1 a 20, B del 50 al 95%; longitud de onda de 254 nm; t_{R} para el radiotrazador 10, 15 min; t_{R} para la dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-[^{18}F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico, 14 min.

20

HPLC analítica: Columna Phenomenex Luna C18 (150 × 4,6 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm ; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 1 ml/min; minutos 0 a 1, B al 50%; minutos 1 a 20, B del 50 al 95%; longitud de onda de 230 nm; t_{R} para el radiotrazador 10, 16 min; t_{R} para la dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-[^{18}F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico, 14 min. Rendimiento radioquímico del radiotrazador 10: $8,7 \pm 1\%$ ($n = 3$) sin corregir por desintegración, tiempo de 90 a 120 min, pureza radioquímica $\geq 99\%$. En la figura 5 se muestra el radiotrazador 10 (arriba) y la dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-[^{18}F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (centro) y la dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-[^{19}F]fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (abajo).

25

Ejemplo 10: Síntesis de la dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 10 no radiactivo)

30

Ejemplo 10(a): (2-fluoroetil)-(3-fluorofenil)-amina (43)

Se agitaron la 3-fluoroanilina (1,4 g, 11,6 mmol, 1,2 ml) y el tosilato de 2-fluoroetilo (12; preparado de acuerdo con el ejemplo 2(a)) (2,5 g, 11,6 mmol) y la lutidina (1,24 g, 11,6 mmol), y se calentaron en DMF (5 ml) a 100 °C durante una noche. Se dejó enfriar la reacción y a continuación se diluyó con acetato de etilo (100 ml). Esto se lavó con agua (3 × 40 ml) y las capas orgánicas se secaron y concentraron al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B al 10%, 100 g, 12 CV, 60 ml/min) para dar 184 mg (10%) de la (2-fluoroetil)-(3-fluorofenil)-amina (43) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 3,37 (1H, *q*, $J = 6$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 3,46 (1H, *q*, $J = 6$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 4,12 (1H, *s*, *br*, *NH*), 4,54 (1H, *t*, $J = 3$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 4,69 (1H, *t*, $J = 3$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 6,3 1-6,50 (3H, *m*, NCCHCHCH), 7,10-7,25 (1H, *m*, NCCHCF).

35

40

Ejemplo 10(b): dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 10 no radiactivo)

Una mezcla de dietilamida del ácido 3-bromo-2-oxociclohexanocarboxílico (35; preparada de acuerdo con el ejemplo 7(c)) (161 mg, 0,6 mmol) y (2-fluoroetil)-(3-fluorofenil)-amina (43) (184 mg, 1,2 mmol) se agitó en N_2 a 50 °C durante 3 h, y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (1 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (245 mg, 1,8 mmol). La mezcla se calentó a reflujo en N_2 durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (10 ml) y se lavó con HCl a 2 N (5 ml), agua (2 × 5 ml) y solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 5 ml), y a continuación se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por HPLC semipreparativa que se eluyó con agua (A) y metanol (B) (Gemini 5u, C18, 110A, 150 × 21 mm, B del 50 al 95% durante 20 min, 21 ml/min) para dar 20 mg (6%) de la dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico como un sólido blanco y 10 mg (3%) de la dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 10 no radiactivo) como un sólido blanco. La estructura de la dietilamida del ácido 7-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico se confirmó por $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,14 (3H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,33 (3H, *t*, $J = 7$ Hz, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,80-2,15 (4H, *m*, 2- y 3- CH_2), 2,70-2,80 (2H, *m*, 1- CH_2), 3,50-3,80 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 4,20-4,35 (1H, *m*, 4- CH), 4,40 (2H, *dm*, $J = 21$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 4,60 (2H, *dm*, $J = 41$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 6,70-6,80 (1H, *m*, NCCHCFCHCH), y 7,00-7,10

55

(2H, *m*, NCCHCFCHCH).

La estructura de la dietilamida del ácido 5-fluoro-9-(2-fluoroetil)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 10 no radiactivo) se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 1,14 (3H, *t*, *J* = 7 Hz, N(CH₂CH₃)₂), 1,33 (3H, *t*, *J* = 7 Hz, N(CH₂CH₃)₂), 1,80-2,15 (4H, *m*, 2- y 3-CH₂), 2,70-2,80 (2H, *m*, 1-CH₂), 3,50-3,80 (4H, *m*, N(CH₂CH₃)₂), 4,20-4,35 (1H, *m*, 4-CH), 4,40 (2H, *dm*, *J* = 21 Hz, NCH₂CH₂F), 4,60 (2H, *dm*, *J* = 41 Hz, NCH₂CH₂F), 6,55-6,65 (1H, *m*, NCCHCHCHCF), 6,90-7,05 (1H, *m*, NCCHCHCHCF), y 7,05-7,15 (1H, *m*, NCCHCHCHCF).

Ejemplo 11: éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoyl-2-metil-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 11) y la dietilamida del ácido 9-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 11)

10 Ejemplo 11(a): 4-(4-metilciclohex-1-enil)-morfolina (44)

En un matraz equipado con una trampa de Dean-Stark, una solución de 4-metilciclohexanona (20,1 g, 179,3 mmol, 22 ml) y morfolina (31,3 g, 359,0 mmol, 31,4 ml) se sometió a reflujo en benceno (55 ml) durante 26 horas. El benceno se retiró al vacío y el producto bruto se purificó por destilación a presión reducida para dar 23 g (70%) de 4-(4-metilciclohex-1-enil)-morfolina (44) como un aceite (punto de ebullición de 120 °C a 10 mmHg). La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 0,94 (3H, *d*, *J* = 6,0 Hz, CH₃), 1,15-1,35 (1H, *m*, CH₂CH=CN), 1,50-1,80 (3H, *m*, CH₂CH₂CHCH₃), 2,00-2,25 (4H, *m*, CH₂CH=CN y CH₂CH₂CHCH₃), 2,65-2,95 (4H, *m*, OCH₂NCH₂), 3,73 (4H, *t*, *J* = 6,0 Hz, OCH₂NCH₂) y 4,60-4,65 (1H, *m*, CH₂CH=CN).

Ejemplo 11(b): éster etílico del ácido 5-metil-2-oxociclohexanocarboxílico (45)

20 A una solución de 4-(4-metilciclohex-1-enil)-morfolina (44) (23 g, 127,0 mmol) en benceno (55 ml) se le añadió cloroformiato de etilo (7,5 g, 69,0 mmol, 6,6 ml) en nitrógeno mientras que la solución de enamina se estaba agitando con rapidez. Después del reflujo durante 18 h, la solución se enfrió y se filtró. El precipitado de hidrocloreto de enamina se lavó con éter seco. El filtrado y los lavados se devolvieron al matraz de reacción y se le añadió HCl acuoso al 10% (40 ml). La mezcla se agitó vigorosamente durante 15 a 30 min. Las capas se separaron, la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 × 100 ml) y las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío. El material bruto se purificó por destilación a presión reducida para dar 12,5 g (53%) del éster etílico del ácido 5-metil-2-oxociclohexanocarboxílico (45) como un aceite (punto de ebullición entre 85 °C y 90 °C a 10 mmHg). La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 0,85-0,95 (3H, *m*, CH₃), 1,17 (3H, *t*, *J* = 7 Hz, OCH₂CH₃), 1,25-2,00 (5H, *m*, 5-CH₂, 4- y 6-CH₂), 2,15-2,40 (3H, *m*, 1-CH y 3-CH₂), y 4,00-4,20 (2H, *m*, OCH₂CH₃).

Ejemplo 11(c): dietilamida del ácido 5-metil-2-oxociclohexanocarboxílico (46)

30 El éster etílico del ácido 5-metil-2-oxociclohexanocarboxílico (45) (5,9 g, 32 mmol), DMAP (1,12 g, 10 mmol) y dietilamina (4,7 g, 65 mmol, 6,7 ml) en tolueno (90 ml) se calentaron a reflujo durante 4 días. La reacción se dejó enfriar y el tolueno se retiró a presión reducida para dar un aceite amarillento. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 20 al 50%, 80 g) para dar 4,4 g (65%) de la dietilamida del ácido 5-metil-2-oxociclohexanocarboxílico (46) como un aceite amarillento. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 0,8-1,05 (9H, *m*, CH₃ y N(CH₂CH₃)₂), 1,05-2,10 (5H, *m*, 5-CH y 4- y 6-CH₂), 2,15-2,80 (2H, *m*, 3-CH₂), 2,95-3,55 (5H, *m*, 1-CH y N(CH₂CH₃)₂).

Ejemplo 11(d): dietilamida del ácido 3-bromo-2-hidroxi-5-metilciclohex-1-enocarboxílico (47)

40 Se disolvió la dietilamida del ácido 5-metil-2-oxociclohexanocarboxílico (46) (4,4 g, 21 mmol) en éter dietílico (5 ml) y se enfrió a 0 °C en N₂. Se le añadió bromo (3,32 g, 21 mmol, 1,1 ml) gota a gota durante 15 min y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 90 min. La mezcla se vertió lentamente en una solución acuosa saturada de carbonato de sodio enfriada en hielo (40 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 × 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron y se concentraron al vacío para dar 6,1 g (cuantitativo) de la dietilamida del ácido 3-bromo-2-hidroxi-5-metilciclohex-1-enocarboxílico (47) como un sólido blanquecino. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ_H 0,8-1,20 (9H, *m*, CH₃ y N(CH₂CH₃)₂), 1,80-2,40 (5H, *m*, CH₂CH(CH₃)CH₂), 3,15-3,55 (4H, *m*, N(CH₂CH₃)₂), 4,65-4,74 (1H, *m*, CHBr) y 12,04 (1H, *s*, OH).

Ejemplo 11(e): dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (48)

50 Una mezcla de dietilamida del ácido 3-bromo-2-hidroxi-5-metilciclohex-1-enocarboxílico (47) (4,0 g, 14 mmol) y (2-benciloxietil)-fenilamina (21; preparada de acuerdo con el ejemplo 3(c)) (6,3 g, 28 mmol) se agitó en N₂ a 50 °C durante 3 h y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (14 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (5,72 g, 42 mmol). La mezcla se calentó a reflujo en N₂ durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con HCl a 2 N (50 ml), agua (2 × 50 ml) y solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 50 ml), y a continuación se secó y se concentró al vacío. La mezcla bruta se purificó mediante un cartucho SCX (40 ml) y a continuación cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 10 al 50%, 100g, 12 CV, 85 ml/min) para dar 467 mg (8%) de la dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (48) como un sólido

blanco. La estructura se confirmó por $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,20-1,40 (9H, *m*, CH_3 y $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,90-2,20 (3H, *m*, 2-CH y 3- CH_2), 2,35-2,45 (1H, *m*, 1- CH_2), 2,85-2,95 (1H, *m*, 1- CH_2), 3,40-3,70 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 3,70-3,80 (1H, *m*, 4-CH), 4,10-4,30 (4H, *m*, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OBn}$), 4,43 (2H, *s*, OCH_2Ph), y 7,00-7,30 (9H, *m*, CHCHCHCH y Ph).

Ejemplo 11(f): dietilamida del ácido 9-(2-hidroxietil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (49)

5 A una solución de dietilamida del ácido 9-(2-benciloxietil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (48) (460 mg, 1,1 mmol) en metanol (25 ml) se le añadió una suspensión viscosa de Pd/C (100 mg) en metanol (5 ml). La mezcla se colocó en el hidrogenador Parr y se agitó durante 24 h en una atmósfera de hidrógeno. Se filtró la reacción a través de una almohadilla de Celite, se lavó con metanol y se concentró al vacío para dar 250 mg (79%) de la dietilamida del ácido 9-(2-hidroxietil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (49) como un aceite amarillento que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,20-1,40 (9H, *m*, CH_3 y $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,90-2,20 (3H, *m*, 2-CH y 3- CH_2), 2,35-2,45 (1H, *m*, 1- CH_2), 2,85-2,95 (1H, *m*, 1- CH_2), 3,40-3,70 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 3,70-3,80 (1H, *m*, 4-CH), 4,10-4,30 (4H, *m*, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 6,91 (1H, *t*, $J = 7$ Hz, NCCHCHCHCH), 7,00 (1H, *t*, $J = 7$ Hz, NCCHCHCHCH), 7,12 (1H, *d*, $J = 7$ Hz, NCCHCHCHCH) y 7,15 (1H, *d*, $J = 7$ Hz, NCCHCHCHCH).

15 Ejemplo 11(g): éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-2-metil-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 11)

A una solución de dietilamida del ácido 9-(2-hidroxietil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (49) (250 mg, 0,8 mmol) en diclorometano (10 ml) se le añadió piridina (633 mg, 8,0 mmol, 0,6 ml). La reacción se enfrió a 0 °C y se le añadió cloruro de metanosulfonilo (367 mg, 3,2 mmol, 0,2 ml). Se dejó calentar la reacción a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se lavó con HCl a 2 N (2 × 20 ml) y agua (2 × 20 ml), se secó y se concentró al vacío. El material bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 0 al 100%, 10 g, 34 CV, 30 ml/min), y entonces se trituró con éter dietílico para dar 250 mg (80%) del éster metanosulfonato de 2-(4-dietilcarbamoil-2-metil-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-9-il)-etilo (compuesto precursor 11) como sólido blanco. La estructura se confirmó por $^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 12,9, 13,0, 15,2, 22,0, 29,7, 30,2, 36,7, 36,8, 40,8, 41,6, 42,0, 67,8, 108,6, 109,5, 118,6, 119,6, 121,2, 126,4, 136,2, 136,4, 173,7.

Ejemplo 11(h): dietilamida del ácido 9-(2-[^{18}F]-fluoroetil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (radiotrazador 11)

La marcación del compuesto precursor 11 con ^{18}F se llevó a cabo tal y como está descrito en el ejemplo 1(f).

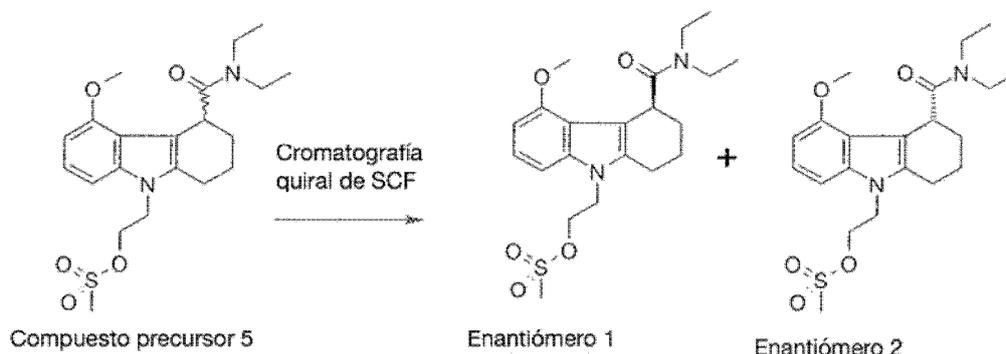
30 HPLC semipreparativa: columna HICHROM ACE 5 C18 (100 × 10 mm de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm ; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 3 ml/min; minutos 0 a 26, B al 50%; longitud de onda de 254 nm; t_{R} para el radiotrazador 11, 15 min.

HPLC analítica: columna Phenomenex Luna C18 (150 × 4,6 de diámetro interno), tamaño de las partículas: 5 μm ; fase móvil A: agua, fase móvil B: metanol; flujo del gradiente: 1 ml/min; minutos 0 a 1, B al 40%; minutos 1 a 20, B del 40 al 95%; longitud de onda de 230 nm; t_{R} para el radiotrazador 11, 17 min. Rendimiento radioquímico: $14 \pm 13\%$ ($n = 3$) sin corregir por desintegración, tiempo de 90 a 120 min, pureza radioquímica $\geq 99\%$. En la figura 6 se muestra la coelución del radiotrazador 11 y del trazador 11 no radiactivo.

Ejemplo 12: Síntesis de la dietilamida del ácido 9-(2-fluoroetil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 11 no radiactivo)

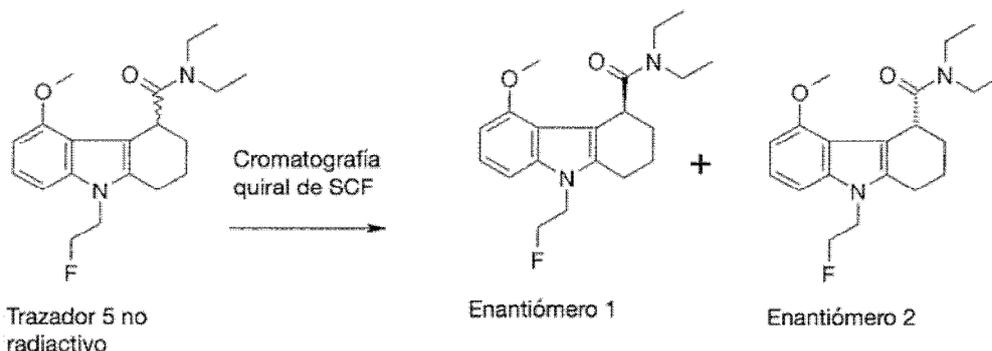
40 Una mezcla de la dietilamida del ácido 3-bromo-2-hidroxi-5-metilciclohex-1-enocarboxílico (47; preparada de acuerdo con el ejemplo 11(d)) (2,0 g, 7 mmol) y (2-fluoroetil)-fenilamina (24; preparada de acuerdo con el ejemplo 4(a)) (1,9 g, 14 mmol) se agitó en N_2 a 50 °C durante 3 h, y la reacción se volvió parduzca. La mezcla resultante se disolvió en propán-2-ol (7 ml) y se le añadió cloruro de zinc seco (2,86 g, 21 mmol). La mezcla se calentó a reflujo en N_2 durante 16 h y a continuación se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con HCl a 2 N (30 ml), agua (2 × 30 ml) y solución acuosa de carbonato de potasio (2 × 30 ml), y después se secó y se concentró al vacío. La mezcla bruta se purificó con un cartucho SCX (40 ml), y a continuación se llevó a cabo la cromatografía en gel de sílice que se eluyó con gasolina (A) y acetato de etilo (B) (B del 0 al 100%, 100 g, 12 CV, 85 ml/min) para dar 400 mg (17%) de la dietilamida del ácido 9-(2-fluoroetil)-2-metil-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-carbazol-4-carboxílico (trazador 11 no radiactivo) como un sólido blanco. La estructura se confirmó por $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ_{H} 1,10-1,35 (9H, *m*, CH_3 y $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 1,95-2,10 (2H, *m*, 3- CH_2), 2,30-2,50 (1H, *m*, 2-CH), 2,70-2,80 (2H, *m*, 1- CH_2), 3,40-3,70 (4H, *m*, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 4,05-4,15 (1H, *m*, 4-CH), 4,30 (2H, *dm*, $J = 21$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 4,65 (2H, *dm*, $J = 41$ Hz, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), y 7,00-7,30 (4H, *m*, NCCHCHCHCH).

Ejemplo 13: Separación enantiomérica del compuesto precursor 5



5 Se separó el compuesto precursor 5 (obtenido tal y como está descrito en el ejemplo 1) en sus enantiómeros mediante cromatografía de fluidos supercríticos (CO₂) quiral en un Kromasil Amycoat, 250 × 10 mm, 5 μm, columna de 100 Å utilizando IPA al 30% a 40 °C a 13 m por minuto con un tiempo de ejecución de 6 min. El compuesto precursor 5 (60 mg) se disolvió en 1,4-dioxano (2 ml) y se inyectaron hasta 200 μl de una vez para cada ejecución. Se consiguió la separación basal entre los dos enantiómeros. La determinación por HPLC analítica de la pureza enantiomérica de los dos enantiómeros separados en un IC de Chiral Technologies, 250 × 4,6 mm, 5 μm, ejecución isostática, 80:20 – MeOH:IPA a 0,5 ml/min y a temperatura ambiente, indicó que la pureza enantiomérica era del 99,5% para cada uno de los enantiómeros.

10 Ejemplo 14: Separación enantiomérica del trazador 5 no radiactivo



15 El trazador 5 no radiactivo (obtenido tal y como está descrito en el ejemplo 2) se separó en sus enantiómeros mediante la cromatografía de fluidos supercríticos (CO₂) quiral en un Kromasil Amycoat, 250 × 10 mm, 5 μm, columna de 100 Å utilizando IPA al 20% a 40 °C a 14 ml cada minuto con un tiempo de ejecución de 6 min. El compuesto 5 (100 mg) se disolvió en 1,4-dioxano (2,5 ml) y se inyectaron hasta 200 μl de una vez para cada ejecución. Se cortaron las fracciones por tiempo para garantizar que no se recogían fracciones mezcladas. La determinación por HPLC analítica de la pureza enantiomérica de los dos enantiómeros separados en un IC de Chiral Technologies, 250 × 4,6 mm, 5 μm, ejecución isostática, 80:20 – MeOH:IPA a 0,5 ml/min y a temperatura ambiente, indicó que la pureza enantiomérica era del 99,5% de cada uno de los enantiómeros.

20 Ejemplo 15: Ensayo de la potencia *in vitro*

Se cribó por la afinidad por el PBR con un método adaptado de Le Fur et al. (*Life Sci.* 1983, USA 33: 449-57). Se analizaron análogos no radiactivos de los radiotrazadores *in vivo* de la invención junto con un análogo no radiactivo de un radiotrazador indólico tetracíclico anterior (solicitud de patente en tramitación con la presente PCT/EP2009/062827; síntesis descrita en el ejemplo 17 que viene a continuación).

25 Cada compuesto problema (disuelto en Tris-HCl a 50 mM, pH 7,4, MgCl₂ a 10 mM que contiene DMSO al 1%) compitió por la fijación al PBR del corazón de las ratas Wistar frente al [³H] PK-11195 a 0,3 nM. La reacción se llevó a cabo en Tris-HCl a 50 mM, pH 7,4, MgCl₂ a 10 mM, durante 15 minutos a 25 °C. Cada compuesto problema se cribó a 6 concentraciones diferentes sobre un margen de concentraciones de 300 veces en torno a la K_i estimada. Se observaron los datos siguientes:

Radiotrazador	K _i (nM)
Indol tetracíclico	0,369

Radiotrazador 5	2,35
Radiotrazador 6	18,30
Radiotrazador 7	1,25
Radiotrazador 9	3,79
Radiotrazador 10	7,62
Radiotrazador 11	2,12

Ejemplo 16: método de biodistribución *in vivo*

5 Los radiotrazadores de la invención se analizaron en un modelo de biodistribución *in vivo* junto con un radiotrazador tetracíclico anterior (de la solicitud de patente en tramitación con la presente PCT/EP2009/062827; síntesis descrita en el ejemplo 18 que viene a continuación).

A las ratas macho adultas Wistar (200-300 g) se les inyectó de 1 a 3 MBq del compuesto problema a través de la vena lateral de la cola. A los 2, 10, 30 o 60 min (n = 3) de la inyección, se sacrificaron las ratas y se les tomaron muestras de los tejidos o líquidos para la medición de radiactividad en un contador gamma.

Se observaron los siguientes datos de interés:

Radiotrazador	Cerebro 2 min (%DI/g)	BO 30 min (%DI/g)	BO:CE 30 min	CE 2:30 min	% de actividad en el cerebro = precursor a 60 min
Indol tetracíclico	0,32	0,31	2,07	1,73	96,00
5	0,52	0,36	3,00	3,67	90,18
6	0,51	0,25	2,50	4,70	83,08
7	0,55	0,34	3,40	4,70	81,28
9	0,56	0,41	3,72	4,27	84,30
10	0,50	0,51	3,19	2,56	92,70
11	0,51	0,42	3,50	3,33	90,37

10 %DI/g: porcentaje de dosis inyectada por gramo; BO: bulbo olfatorio, CE: cuerpo estriado

15 En las figuras 7 a 13 se ilustra el patrón de biodistribución en el cerebro del radiotrazador tetracíclico y de los radiotrazadores 5-7 y 9-11, respectivamente. Se puede observar que los radiotrazadores *in vivo* de la presente invención tienen una buena captación en el cerebro y una mejora de la captación específica en los tejidos que expresan el PBR en comparación con el radiotrazador tetracíclico.

Ejemplo 17: Preparación de la dietilamida del ácido (\pm)-11-(2-fluoroetil)-8-metoxi-6,11-dihidro-5-tia-11-azabenzofluoreno-6-carboxílico (trazador indólico tetracíclico no radiactivo)

17(a): dietilamida del ácido (\pm)-4-oxotiocromán-2-carboxílico (50)

20 El ácido (\pm)-4-oxotiocromán-2-carboxílico (10,4 g, 50 mmol), preparado tal y como está descrito en T. Okubo et al. (*Bioorg. Med. Chem.* 2004, 12: 3569-3580) en DCM seco (100 ml) se agitó durante 18 h en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente con cloruro de oxalilo (12,6 g, 10 mmol) y una gota de DMF. A continuación, la reacción se evaporó al vacío hasta que produjo una goma y después se volvió a disolver en DCM (100 ml), se enfrió a 0 °C en un baño con hielo, se agitó y se trató gota a gota con dietilamina (8,03 g, 110 mmol) en DCM (20 ml)

durante un periodo de 1 h. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 1 h y se le añadió una solución acuosa de carbonato de potasio al 10% (100 ml) y la mezcla de reacción se agitó vigorosamente. Se separó la solución de DCM. Se extrajo la solución acuosa con dos lotes más de DCM (100 ml) y los extractos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio. La solución de DCM se concentró al vacío para dar un aceite verde oscuro que se cristalizó en reposo. El sólido cristalino se trituró con éter dietílico (50 ml) y se filtró para dar el compuesto del título (50) (8,57 g, 65%) como un sólido verde pálido. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1,06 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 1,23 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 3,0-3,5 (m, 6H), 4,25 (m, 1H), 7,15-7,21 (m, 2H), 7,32-7,39 (m, 1H), 8,10-8,14 (m, 1H).

17(b): dietilamida del ácido (±)-8-metoxi-6,11-dihidro-5-tia-11-azabenzofluoreno-6-carboxílico (51)

10 A una solución de la dietilamida del ácido (±)-4-oxotiocromán-2-carboxílico (50) (1,32 g, 5,0 mmol) e hidrocloreto de 4-metoxifenilhidrazina (0,87 g, 5,0 mmol) en etanol (10 ml) se le añadió ácido sulfúrico concentrado (0,73 ml, 1,35 g, 13,8 mmol) en nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 24 h. Después del enfriamiento, se filtró la mezcla de reacción, se lavó el sólido con etanol, se secó al vacío (45 °C) para dar el compuesto del título (51) (1,05 g, 57%) como un sólido amarillo pálido. La estructura se confirmó por ¹³C-RMN (75 MHz, DMSO-d₆): δ 10,5, 12,7, 32,7, 37,9, 39,5, 53,0, 97,6, 103,3, 109,87, 109,92, 120,3, 123,5, 123,8, 124,3, 124,7, 124,9, 127,8, 129,4, 131,8, 151,3, 166,2.

17(c): dietilamida del ácido (±)-11-(2-fluoroetil)-8-metoxi-6,11-dihidro-5-tia-11-azabenzofluoreno-6-carboxílico (análogo no radiactivo del radiotrazador indólico tetracíclico anterior)

20 A una solución de la dietilamida del ácido (±)-8-metoxi-6,11-dihidro-5-tia-11-azabenzofluoreno-6-carboxílico (51) (150 mg, 0,41 mmol; preparado de acuerdo con el ejemplo 17(b)) en DMF anhidro (4 ml) se le añadió tosilato de 2-fluoroetilo (166 mg, 0,82 mmol), preparado tal y como se describe en L. Cronin et al. (*J. Org. Chem.* 2004; 69: 5934-5946) seguido de la dispersión del hidruro de sodio al 60% en aceite mineral (34 mg, 0,82 mmol) en nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 1 h. Después del enfriamiento, los solventes se retiraron al vacío, se paró el residuo con agua (30 ml), se extrajo con DCM (2 × 30 ml), se secó (MgSO₄) y los solventes se retiraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice, que se eluyó con EtOAc al 5-10%/CH₂Cl₂. El sólido bruto se paró con éter/gasolina, se filtró, se secó al vacío (45 °C) para dar el compuesto del título (radiotrazador indólico tetracíclico no radiactivo) (77 mg, 46%) como un sólido parduzco pálido. La estructura se confirmó por ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1,12 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 1,36 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 3,25-3,70 (m, 4H), 3,83 (s, 3H), 4,45-4,70 (m, 2H), 4,80 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 4,96 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 5,09 (s, 1H), 6,84-6,93 (m, 2H), 7,13-7,32 (m, 3H), 7,46 (m, 1H), 7,58 (d, J = 8,0 Hz, 1H).

Ejemplo 18: Síntesis de la dietilamida del ácido (±)-11-(2-[¹⁸F]fluoroetil)-8-metoxi-6,11-dihidro-5-tia-11-azabenzofluoreno-6-carboxílico (radiotrazador de indol tetracíclico)

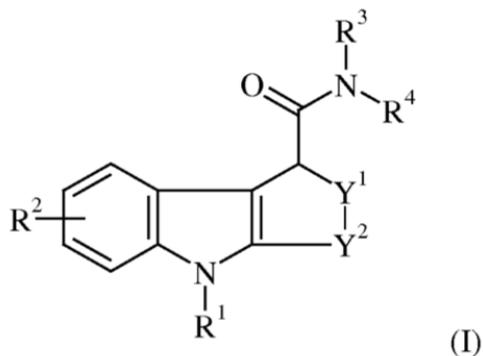
35 Se añadió ¹⁸F/agua a K222 (4 mg), K₂CO₃ acuoso (50 µl de una solución a 0,1 M) y acetonitrilo (500 µl) en un recipiente de reacción, y se secó durante 20-30 min a 100 °C en una corriente de nitrógeno. Se le añadió 1,2-ditosilato de etilo (4 mg) en acetonitrilo (1000 µl) y se calentó a 100 °C durante 10 min. La mezcla de reacción se enfrió y purificó por HPLC semipreparativa, y se recogió la fracción que contenía el tosilato de ¹⁸F-fluoroetilo. Esta fracción se diluyó a un volumen de aproximadamente 20 ml con H₂O, se cargó en un Sep-Pak t-C18 ligero acondicionado y se enjuagó con H₂O (1 × 2 ml). El Sep-Pak se secó en la línea de N₂ con flujo elevado, durante 20 min. El tosilato de ¹⁸F-fluoroetilo se eluyó luego con DMF (500 µl).

40 El compuesto precursor, la dietilamida del ácido (±)-8-metoxi-6,11-dihidro-5-tia-11-azabenzofluoreno-6-carboxílico (51; preparada de acuerdo con el ejemplo 17(b)) (13 mg) en DMF (250 µl), se añadió a un segundo recipiente de reacción y se purgó con N₂ durante 5 min. A continuación, se le añadió NaH (1,3 mg) en DMF (2 × 250 µl) en nitrógeno y se calentó el recipiente de reacción a 45 °C durante 0,5 a 1 h. A continuación, se le añadió a esto el tosilato de ¹⁸F-fluoroetilo en DMF preparado más arriba y se calentó a 100 °C durante 10 min en el recipiente de reacción purgado con N₂. La reacción se enfrió y se lavó del recipiente de reacción con agua (1 ml). La solución se filtró a través de un filtro con jeringuilla y se purificó en una HPLC preparativa. Se recogió la fracción que contiene el pico radiactivo principal. Esto se diluyó a un volumen de aproximadamente 10 ml con H₂O y se cargó en un SepPak C18 ligero acondicionado, se enjuagó con H₂O (1 × 2 ml) y se eluyó con EtOH (0,5 ml) en un vial P6, y se le añadió una solución salina tamponada con fosfato (5 ml).

50

REIVINDICACIONES

1. Un radiotrazador *in vivo* de fórmula I:



- 5 en donde

R¹ es alquilo(C₁₋₃) o fluoroalquilo(C₁₋₃);

R² es hidrógeno, hidroxilo, halo, ciano, alquilo(C₁₋₃), alcoxi(C₁₋₃), fluoroalquilo(C₁₋₃) o fluoroalcoxi(C₁₋₃);

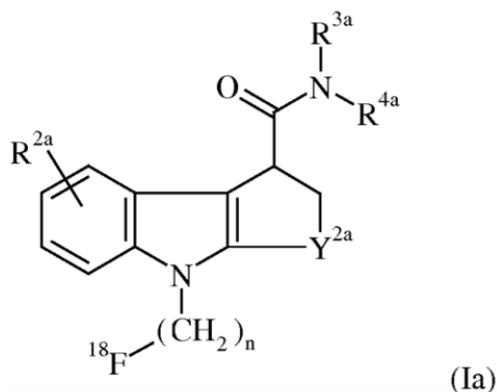
- 10 R³ y R⁴ son independientemente alquilo(C₁₋₃), aralquilo(C₇₋₁₀), o R³ y R⁴, junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un anillo alifático(C₄₋₆) que contiene nitrógeno que opcionalmente comprende 1 heteroátomo adicional seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre;

Y¹ es CH₂; e

Y² es CH₂, CH₂-CH₂, CH(CH₃)-CH₂ o CH₂-CH₂-CH₂;

y en donde la fórmula I tal y como está definida comprende un átomo que es un radioisótopo idóneo para la gammagrafía *in vivo*.

- 15 2. El radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en la reivindicación 1, que es de fórmula Ia:



en donde:

R^{2a} es hidrógeno, halo o alcoxi(C₁₋₃);

- 20 R^{3a} y R^{4a} son independientemente metilo, etilo o bencilo, o junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de pirrolidinilo, piperidinilo, azepanilo o morfolinilo;

Y^{2a} es CH₂, CH₂-CH₂, CH(CH₃)-CH₂ o CH₂-CH₂-CH₂; y

n es 1, 2 o 3.

3. El radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en la reivindicación 2, en donde:

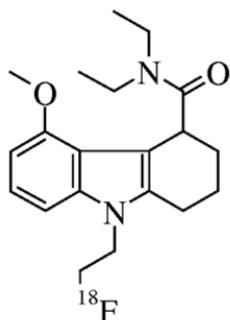
R^{3a} y R^{4a} son ambos etilo, o R^{3a} es metilo y R^{4a} es bencilo, o junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de azepanilo;

R^{2a} es hidrógeno, metoxi o fluoro;

Y^{2a} es CH_2-CH_2 o $CH(CH_3)-CH_2$; y,

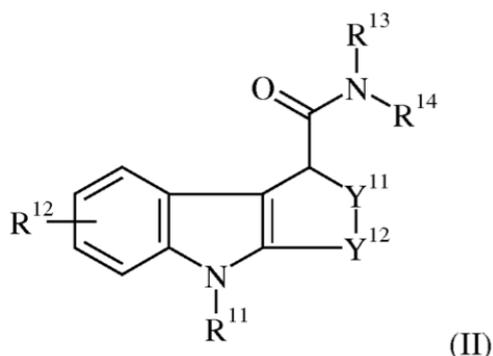
5 n es 2.

4. El radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en la reivindicación 3, que tiene la siguiente estructura química:



5. Un compuesto precursor para la preparación del radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho compuesto precursor es de fórmula II:

10



en donde uno de R^{11} y R^{12} comprende un grupo químico que reacciona con una fuente idónea del radioisótopo tal y como está definido en la reivindicación 1, de tal manera que dicho radiotrazador *in vivo* se forma después de la reacción de dicho compuesto precursor con dicha fuente idónea de dicho radioisótopo, y los otros R^{11} y R^{12} son tal y como están definidos en la reivindicación 1 para R^1 y R^2 , respectivamente, y opcionalmente comprende un grupo protector; y,

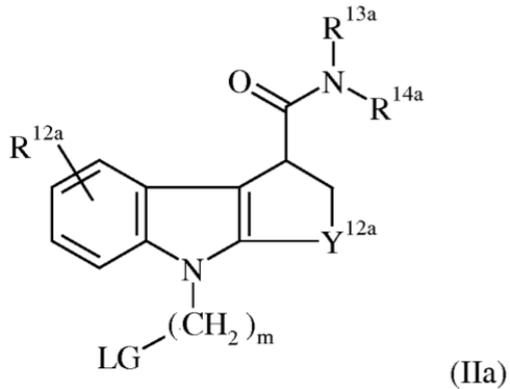
15

R^{13-14} e Y^{11-12} son tal y como está definido para R^{3-4} e Y^{1-2} , respectivamente, en la reivindicación 1, y opcionalmente cada uno comprende además un grupo protector.

20

6. El compuesto precursor tal y como está definido en la reivindicación 5, en donde R^{11} es alquileo(C_{1-3})-LG, en donde LG es un grupo saliente seleccionado de mesilato, tosilato y triflato.

7. El compuesto precursor tal y como está definido en la reivindicación 6, que es un compuesto de fórmula IIa:

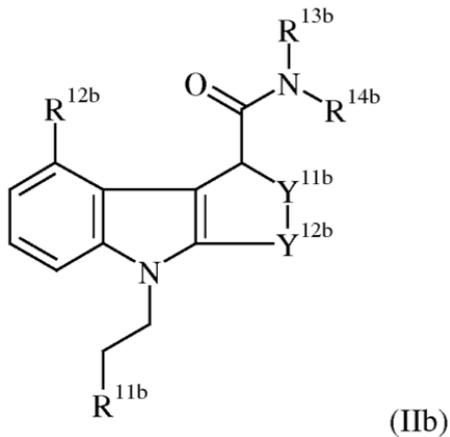


en donde:

LG es tal y como está definido en la reivindicación 6; y,

$R^{12a-14a}$, Y^{12a} y m son tal y como están definidos en las reivindicaciones 9 y 10 para R^{2a-4a} , Y^{2a} y n , respectivamente.

- 5 8. El compuesto precursor tal y como está definido en la reivindicación 5, que es un compuesto de fórmula IIb:



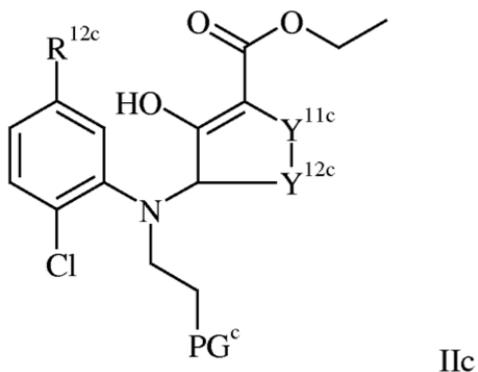
en donde:

R^{11b} es un grupo químico que reacciona con una fuente idónea del radioisótopo tal y como está definido en la reivindicación 1;

- 10 $R^{12b-14b}$ son tal y como está definido para R^{12-14} en la reivindicación 5, siempre y cuando R^{12b} no sea cloro; e,

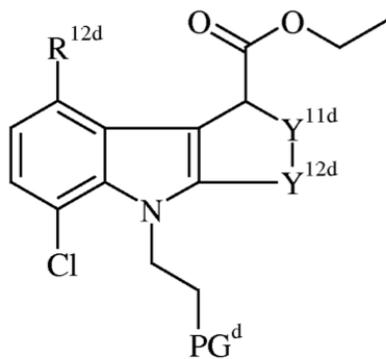
$Y^{11b-12b}$ son tal y como está definido para Y^{11-12} en la reivindicación 5.

9. Un método para la preparación de un compuesto precursor de fórmula IIb tal y como está definido en la reivindicación 8, en donde dicho método comprende la reacción con $ZnCl_2$ de un compuesto de fórmula IIc:



en donde R^{12c} , Y^{11c} e Y^{12c} son tal y como está definido en la reivindicación 5 para R^{12} , Y^{11} e Y^{12} , respectivamente, y PG^c es un grupo protector;

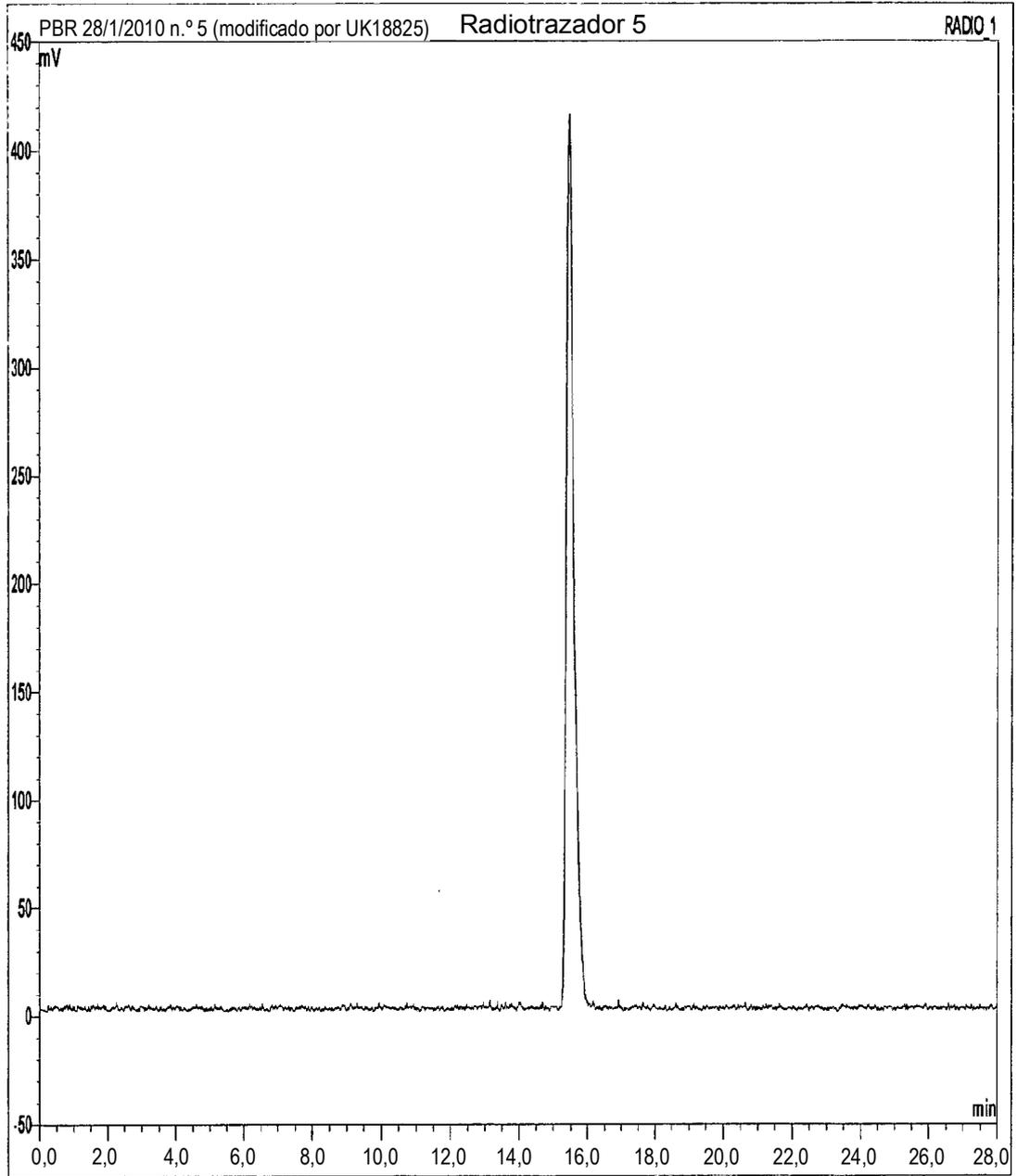
para formar un compuesto de fórmula IId:



IId

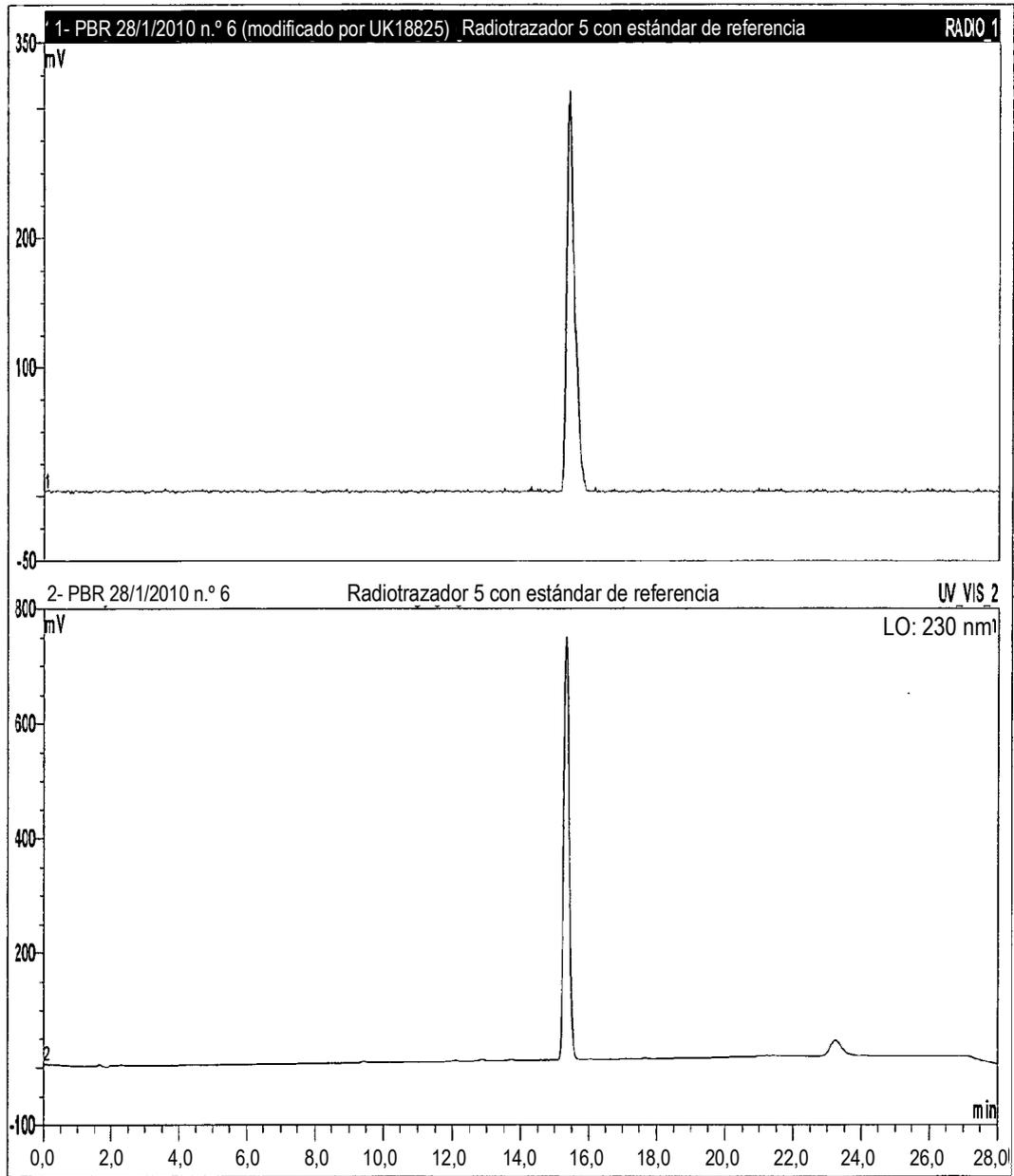
- 5 en donde R^{12d} , Y^{11d} , Y^{12d} y PG^d son tal y como está definido para R^{12c} , Y^{11c} , Y^{12c} y PG^c , respectivamente;
- en donde dicha reacción se lleva a cabo en un sistema de solventes que comprende éter dietílico.
10. Un método para la preparación del radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende:
- (i) dar a conocer un compuesto precursor, tal y como está definido en cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8;
 - 10 (ii) dar a conocer una fuente idónea de dicho radioisótopo, tal y como está definido en la reivindicación 1;
 - (iii) hacer reaccionar el compuesto precursor de la etapa (i) con el radioisótopo de la etapa (ii) para obtener dicho radiotrazador *in vivo*.
11. El método tal y como está definido en la reivindicación 10, que está automatizado.
12. Un casete para realizar el método tal y como está definido en la reivindicación 11, que comprende:
- 15 (i) un recipiente que contiene el compuesto precursor, tal y como está definido en cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8; y,
 - (ii) medios para eluir el recipiente de la etapa (i) con una fuente idónea de un radioisótopo idóneo para la gammagrafía *in vivo*, tal y como está definido en la reivindicación 1.
13. Una composición radiofarmacéutica que comprende el radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 junto con un vehículo biocompatible en una forma idónea para la administración a mamíferos.
14. Un método de gammagrafía *in vivo* para determinar la distribución y/o la magnitud de la expresión de PBR en un sujeto, en el cual:
- 25 (i) un radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 ha de ser administrado a dicho sujeto; a fin de
 - (ii) permitir que dicho radiotrazador *in vivo* se fije al PBR en dicho sujeto; en donde el método comprende:
 - (iii) detectar mediante un procedimiento de gammagrafía *in vivo* las señales emitidas por el radioisótopo de dicho radiotrazador *in vivo*;
 - (iv) generar una imagen representativa de la localización y/o cantidad de dichas señales; y
 - 30 (v) determinar la distribución y la magnitud de la expresión del PBR en dicho sujeto, en donde dicha expresión está directamente correlacionada con dichas señales emitidas por dicho radiotrazador *in vivo*.
15. El radiotrazador *in vivo* tal y como está definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para ser usado en un método para el diagnóstico de una afección en la que el PBR está inducido, que comprende el método de gammagrafía *in vivo* tal y como está definido en la reivindicación 14, junto con una etapa adicional (vi) de atribución de la distribución y de la magnitud de la expresión del PBR a un cuadro clínico concreto.
- 35

Figura 1



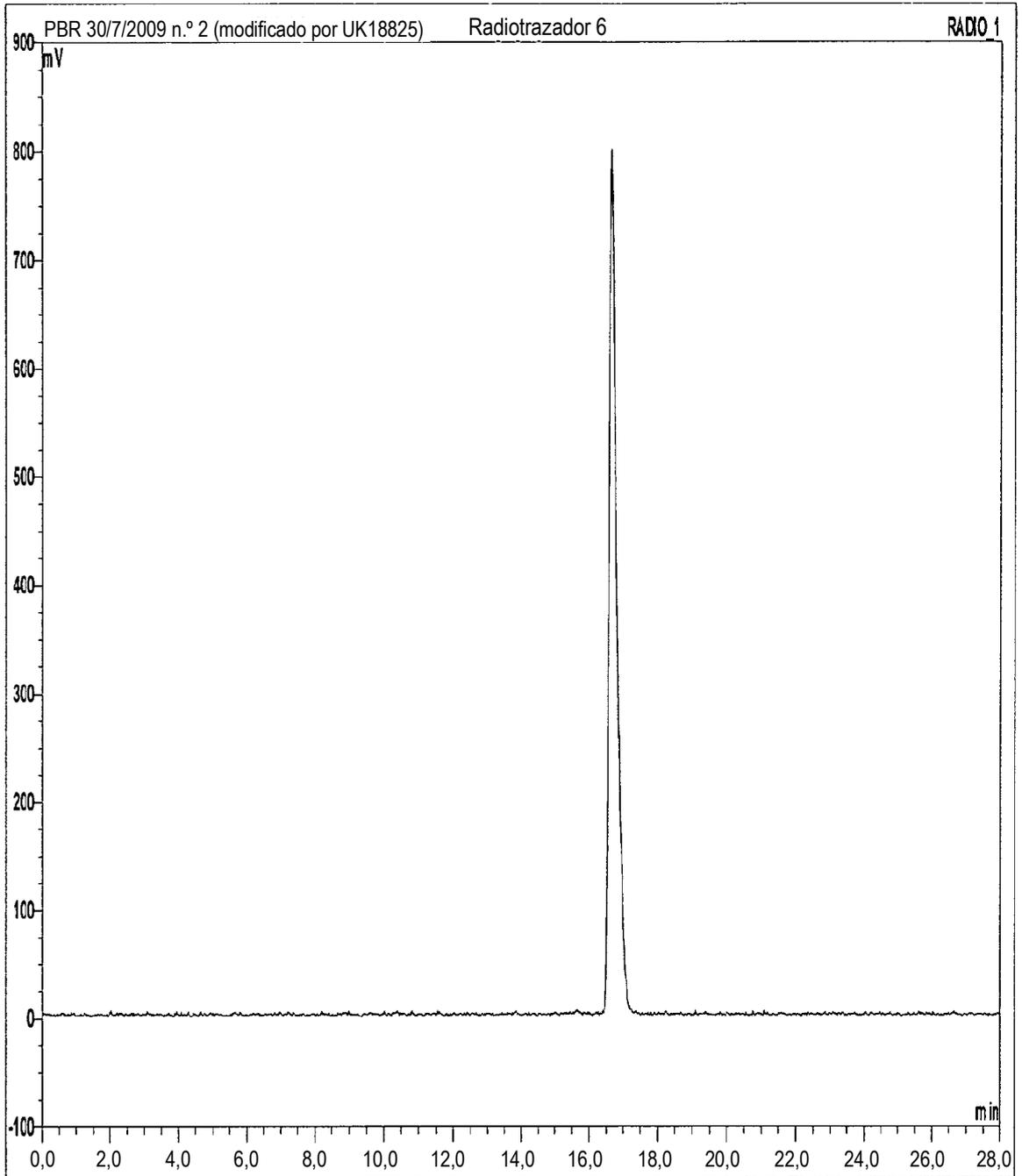
Radiotrazador 5

Figura 1 (continuación)



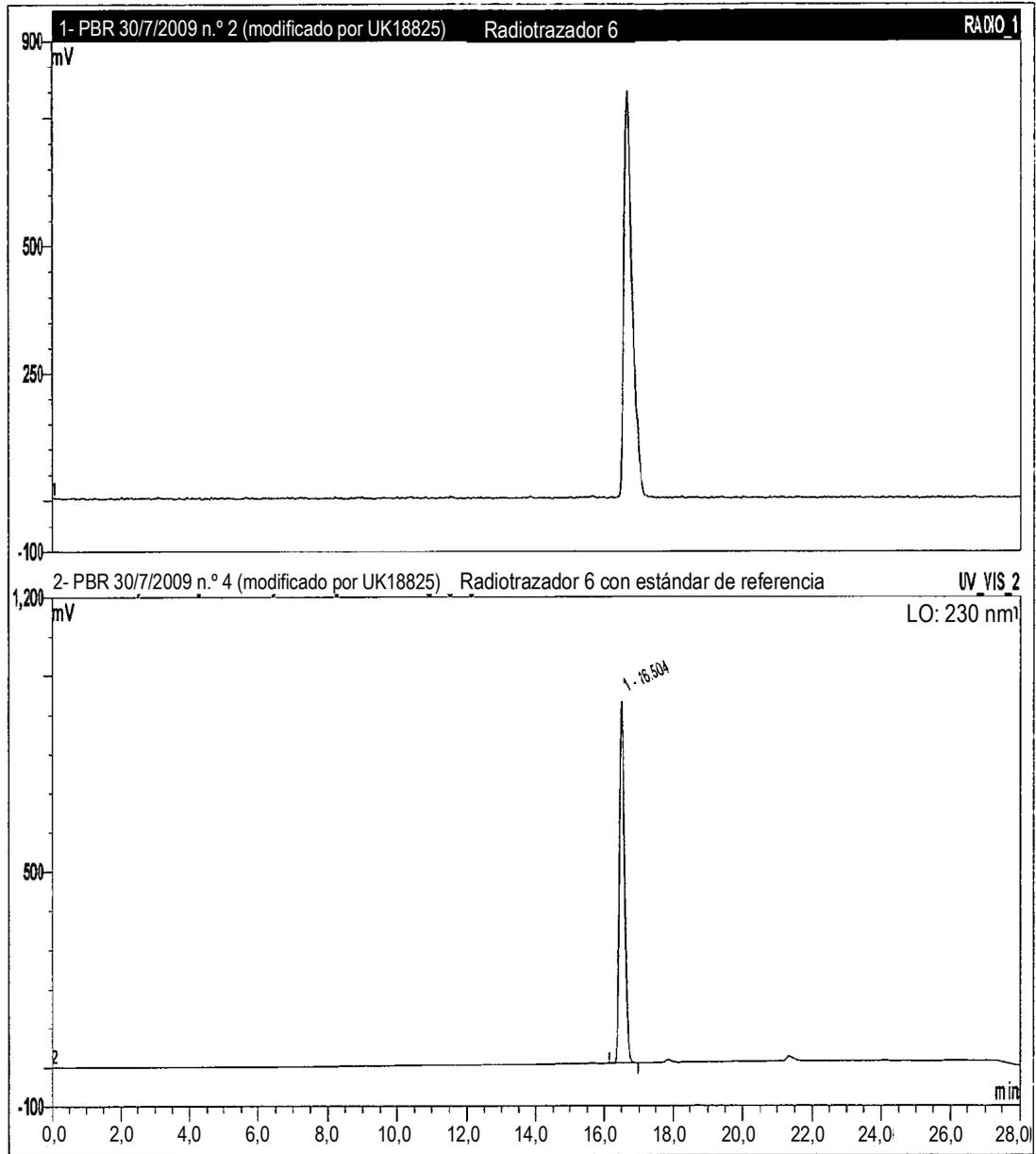
Coelución del radiotrazador 5 con el estándar de referencia

Figura 2



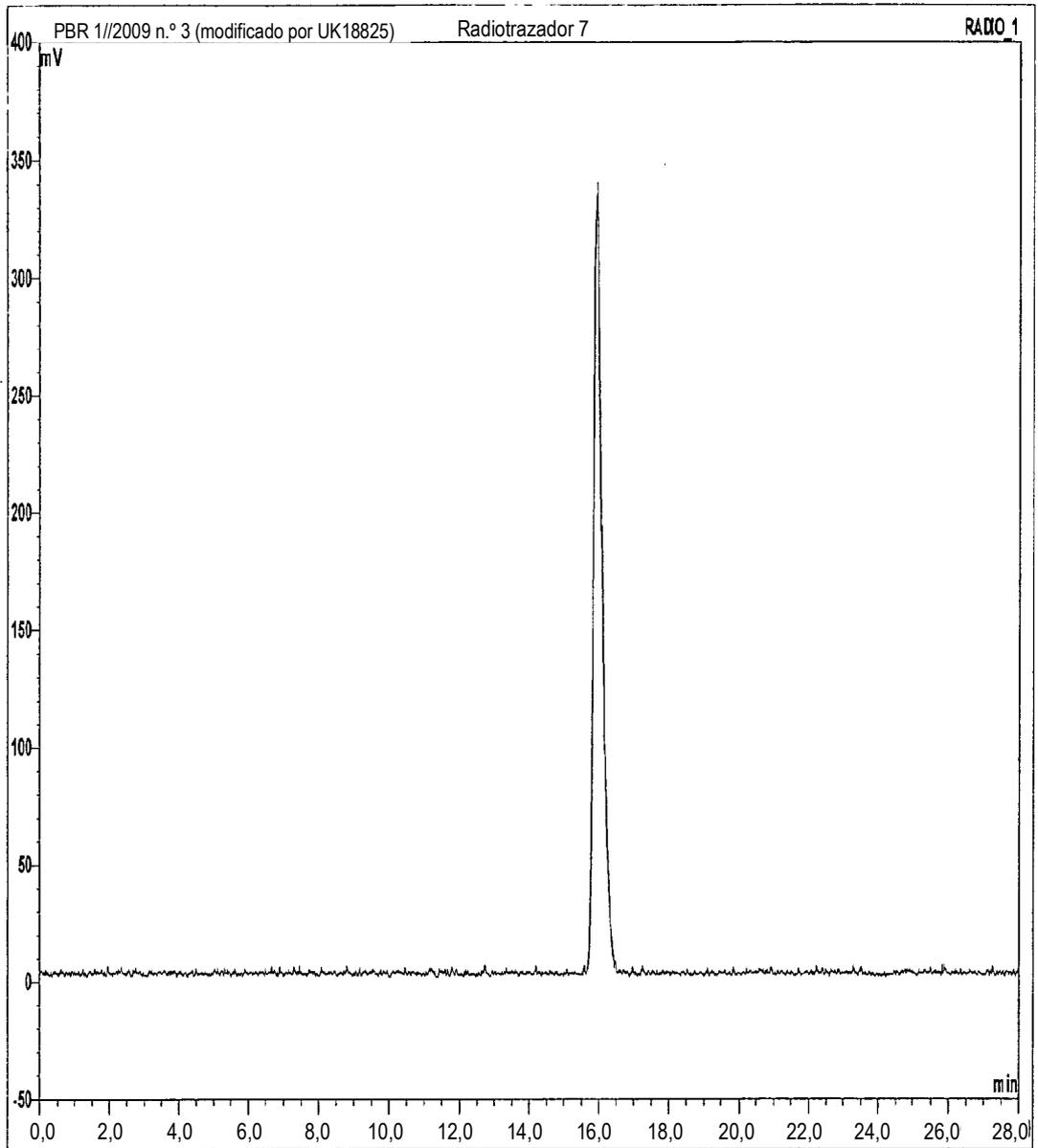
Radiotrazador 6

Figura 2 (continuación)



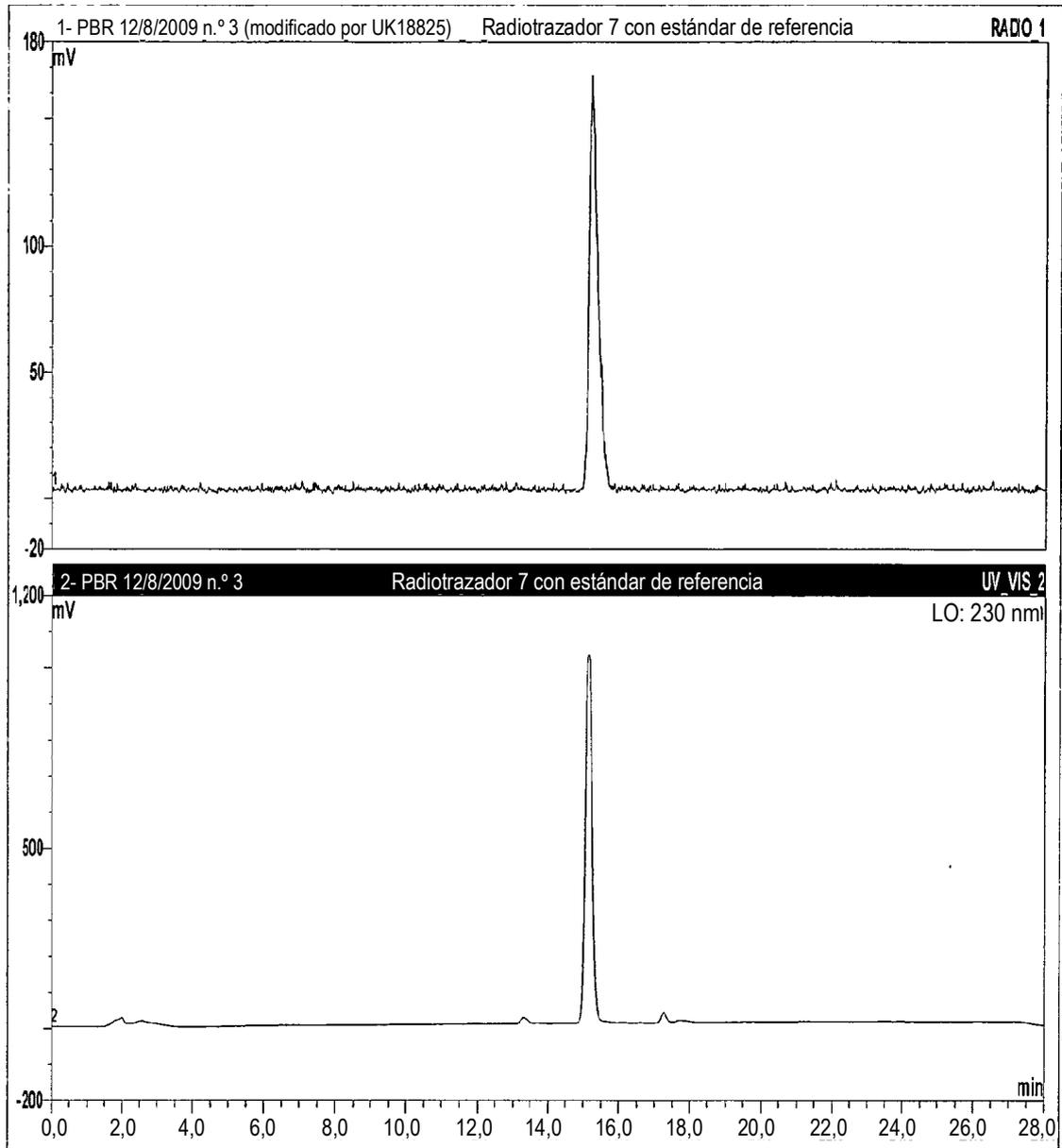
Coelución del radiotrazador 6 con el estándar de referencia

Figura 3



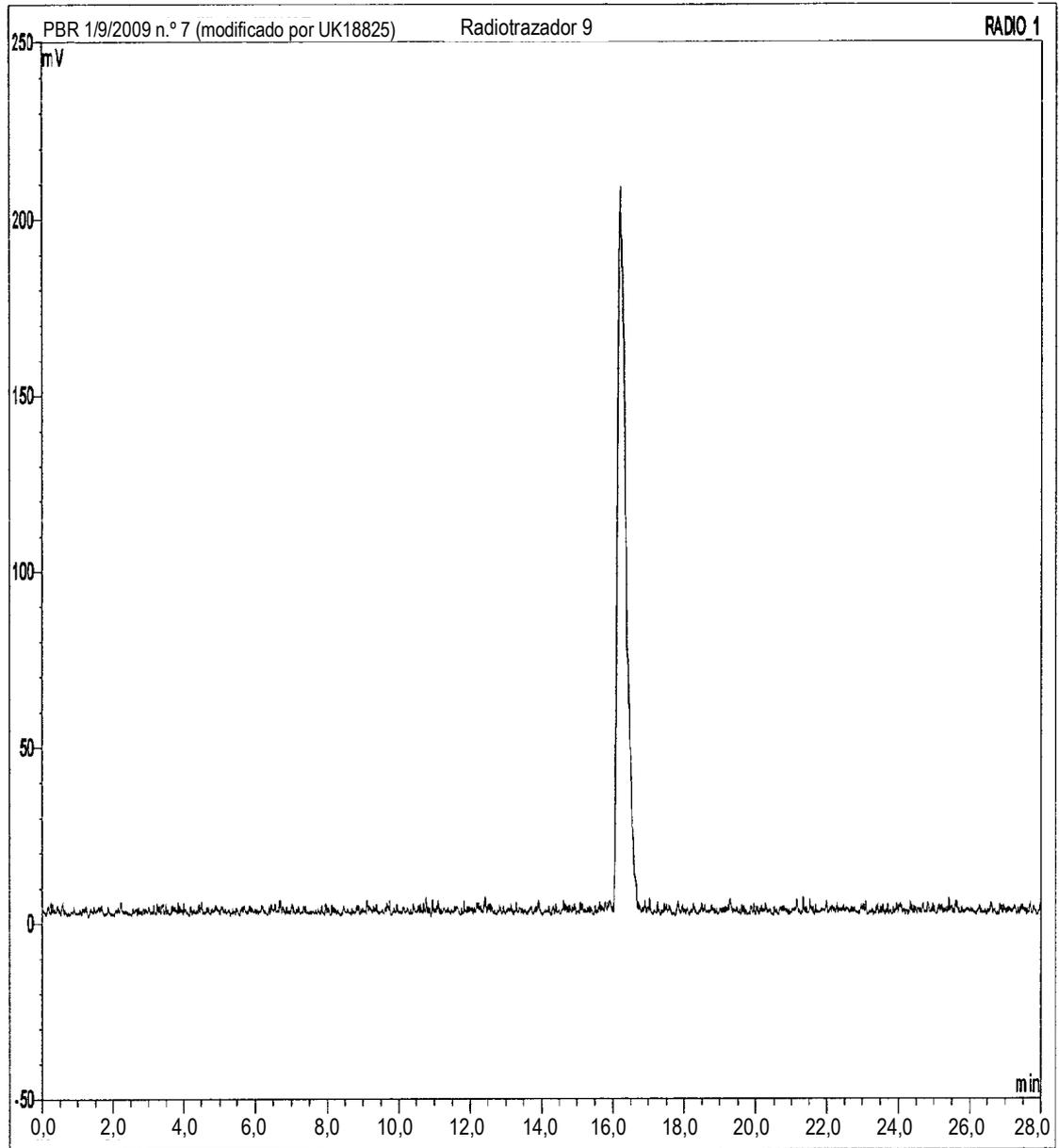
Radiotrazador 7

Figura 3 (continuación)



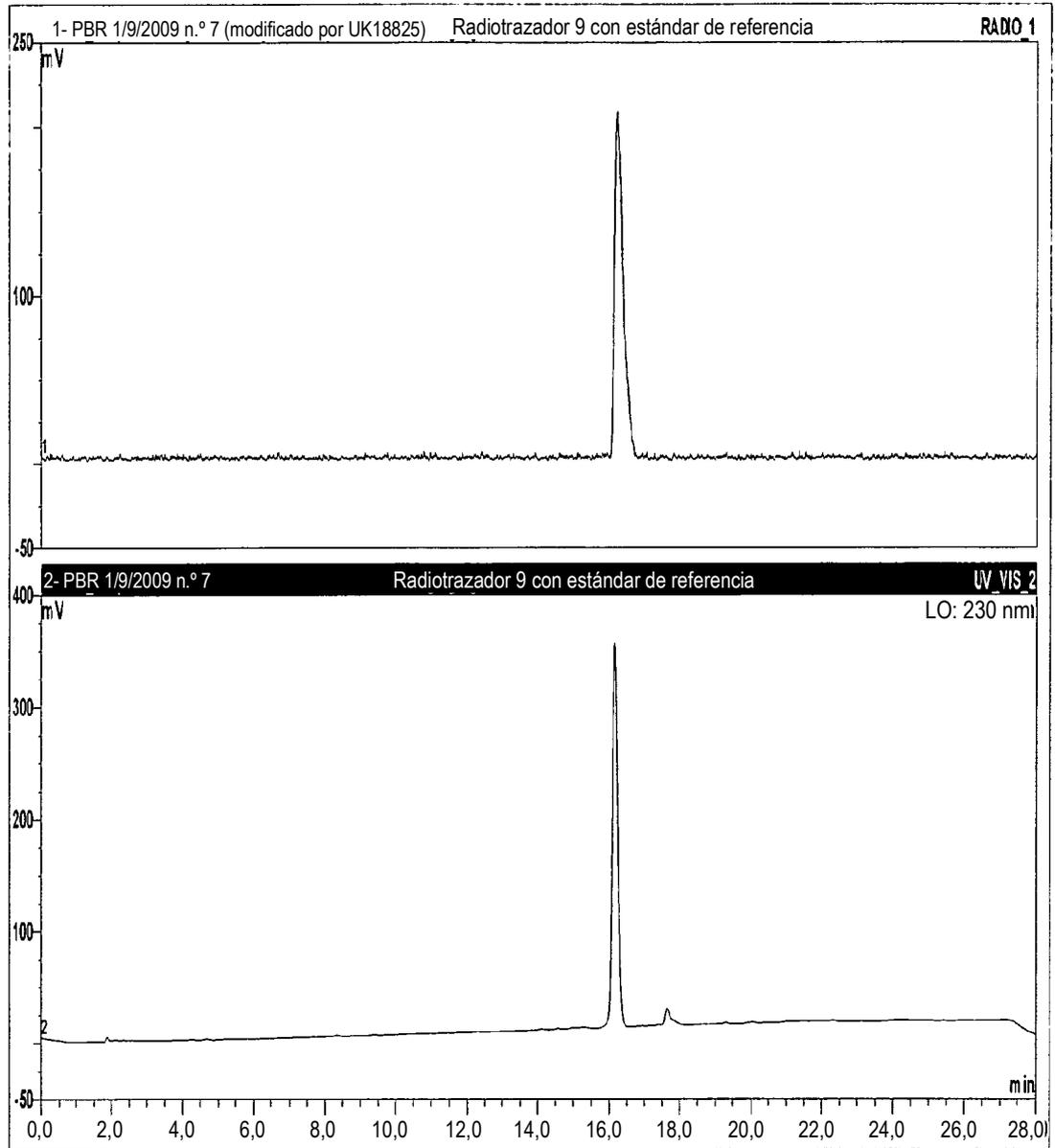
Coelución del radiotrazador 7 con el estándar de referencia

Figura 4



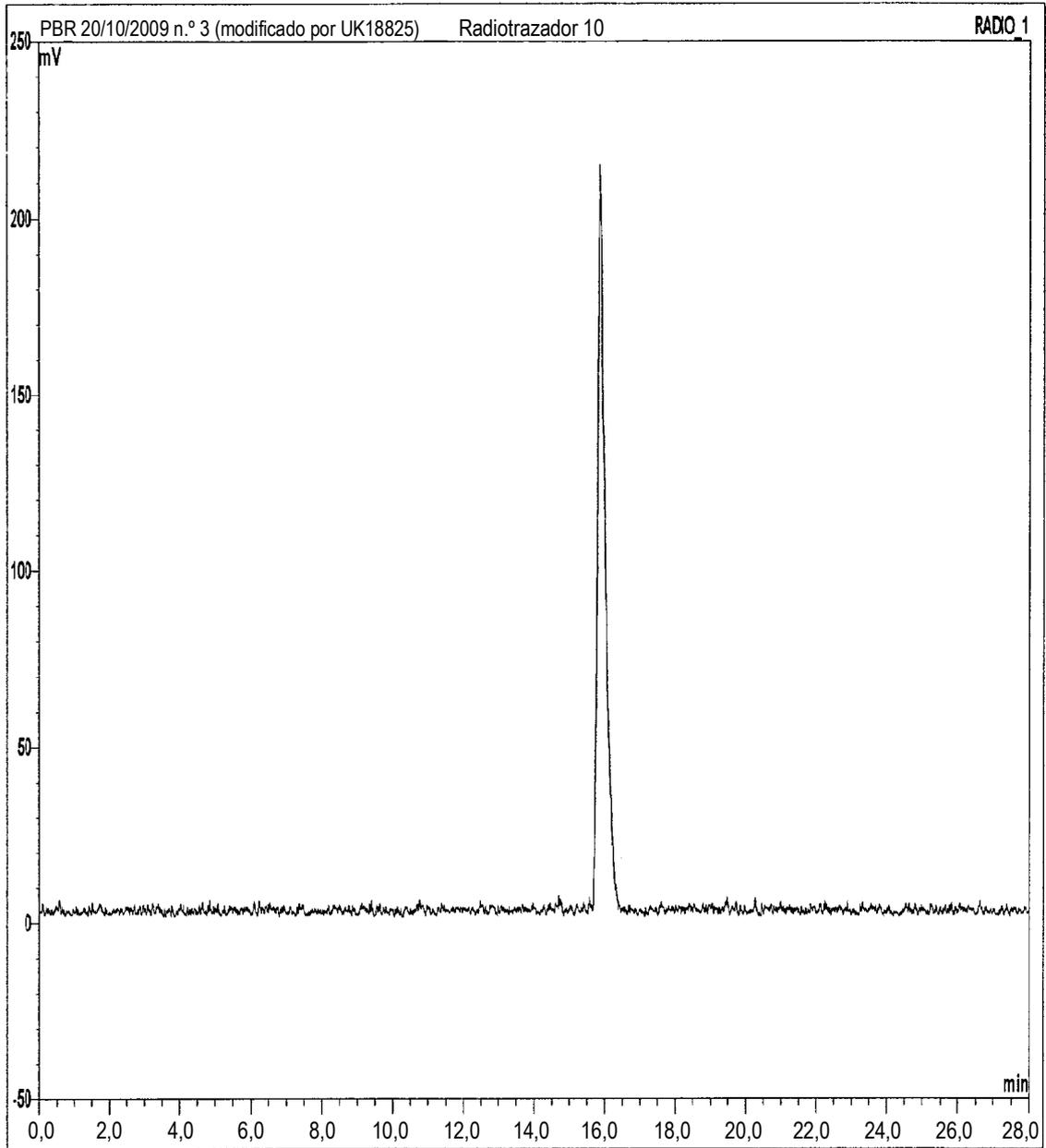
Radiotrazador 9

Figura 4 (continuación)



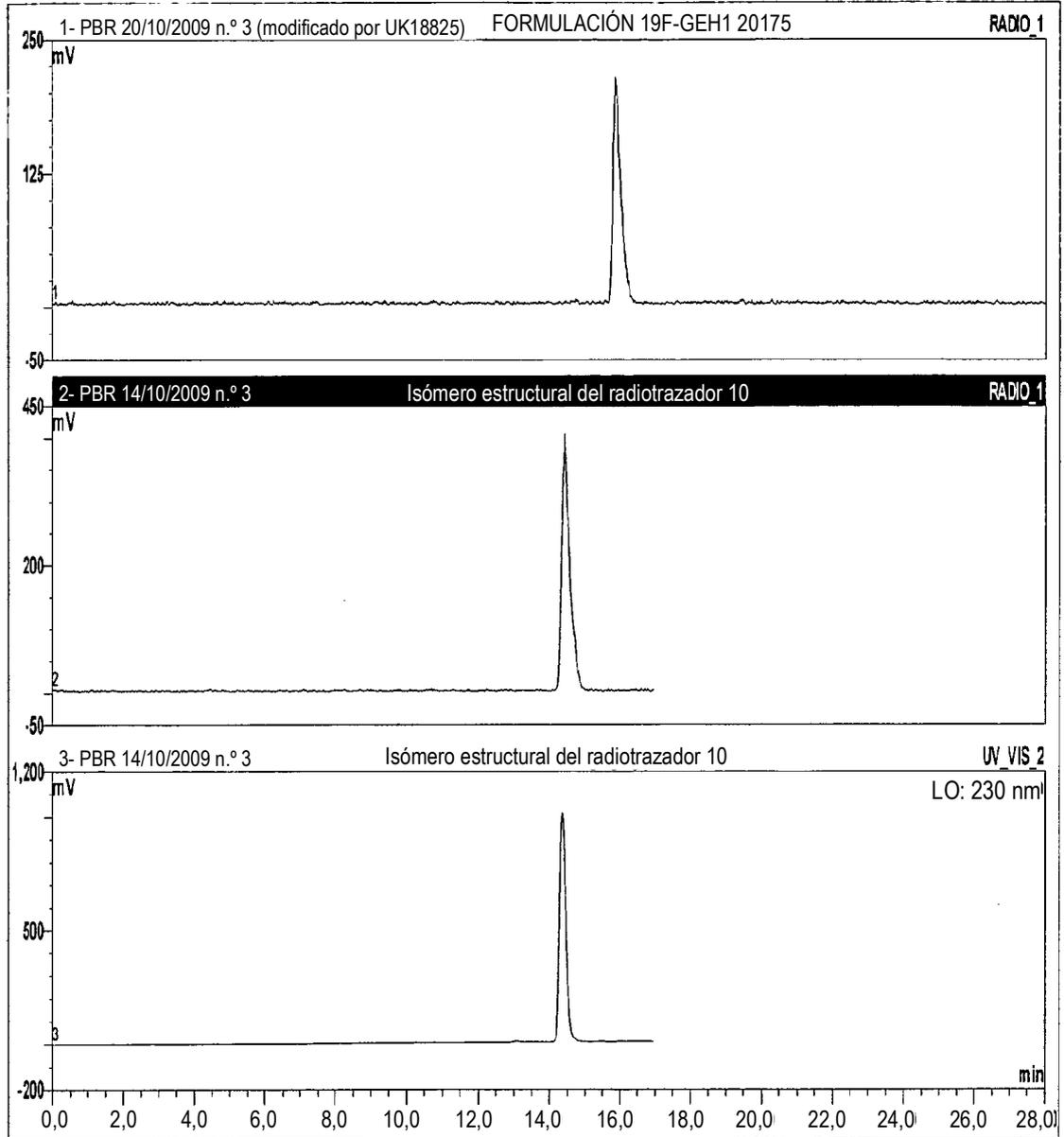
Coelución del radiotrazador 9 con el estándar de referencia

Figura 5



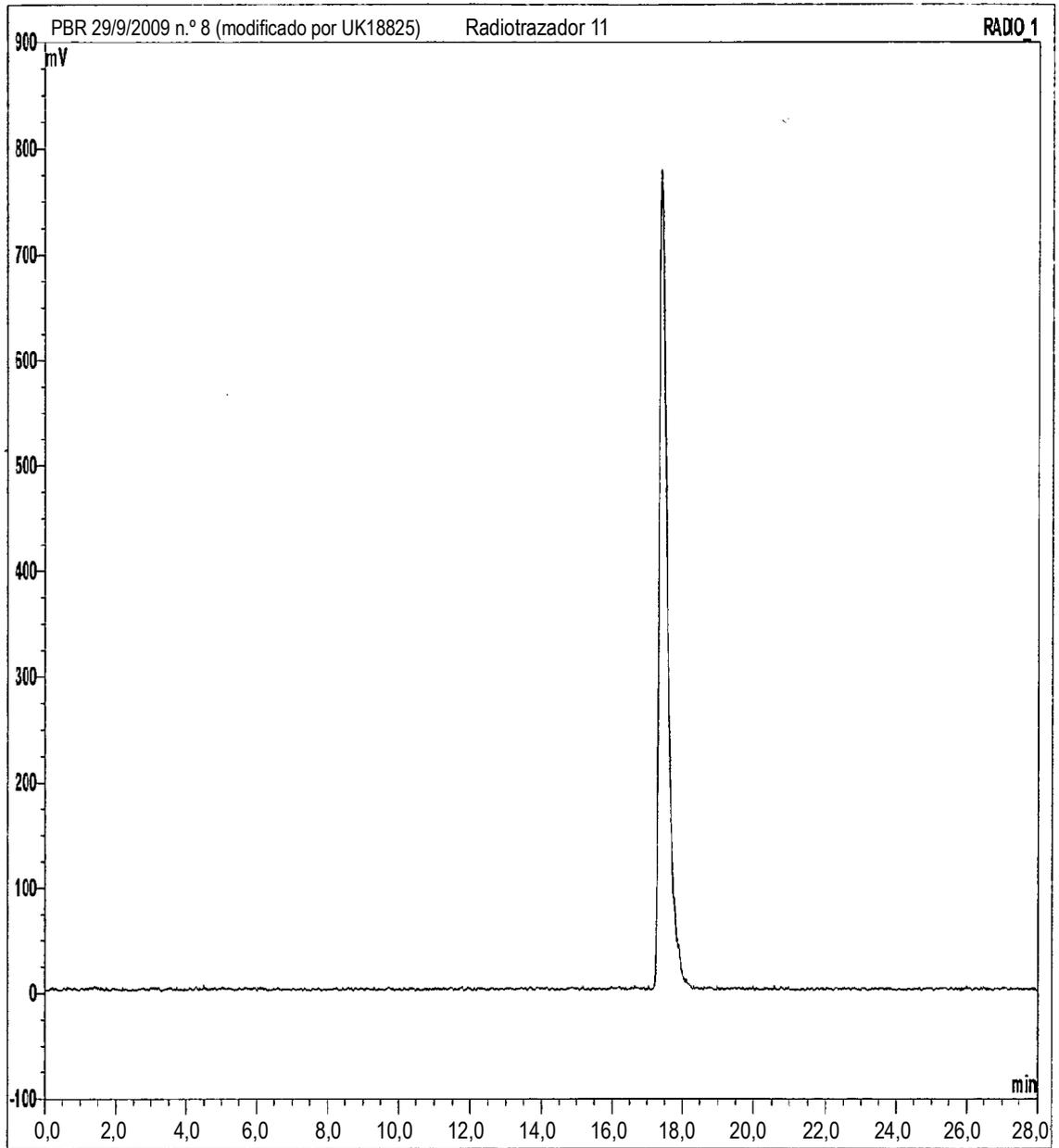
Radiotrazador 10

Figura 5 (continuación)



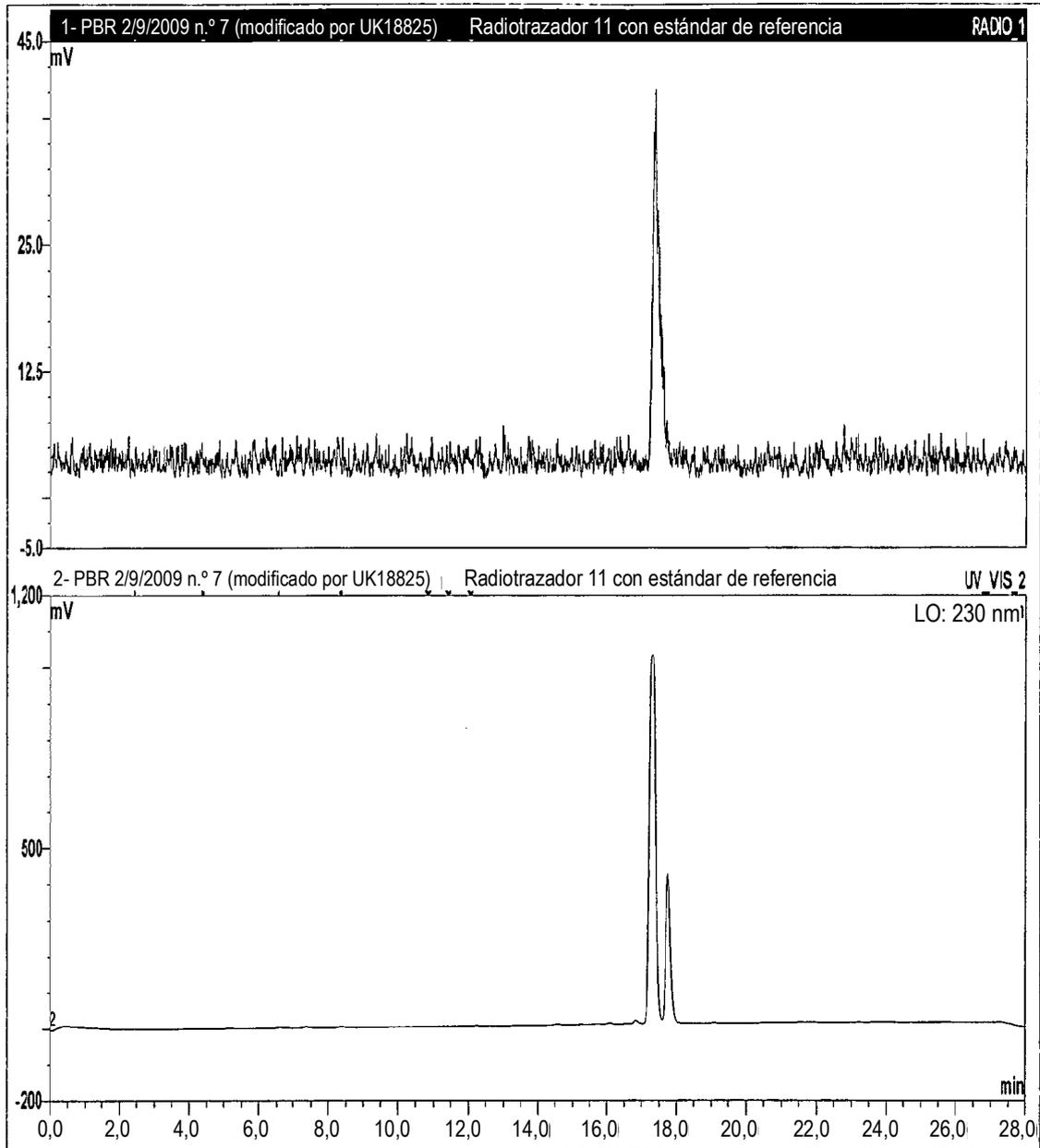
Isómero estructural coeluido con el estándar de referencia del isómero estructural superpuesto con la señal de la formulación del radiotrazador 10

Figura 6



Radiotrazador 11

Figura 6 (continuación)



Coelución del radiotrazador 11 con el estándar de referencia

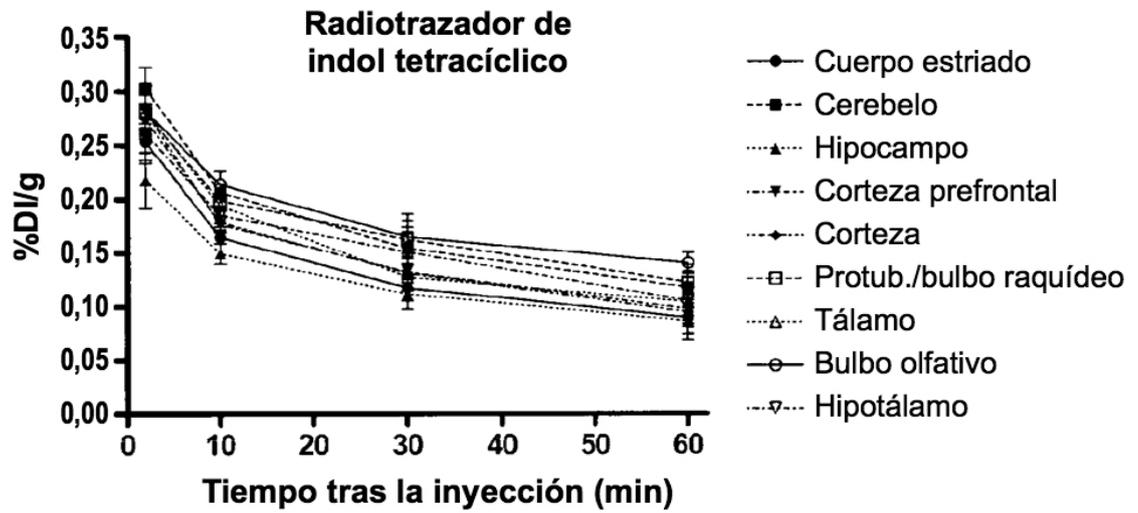


Figura 7: Biodistribución del radiotrazador de indol tetracíclico en el cerebro

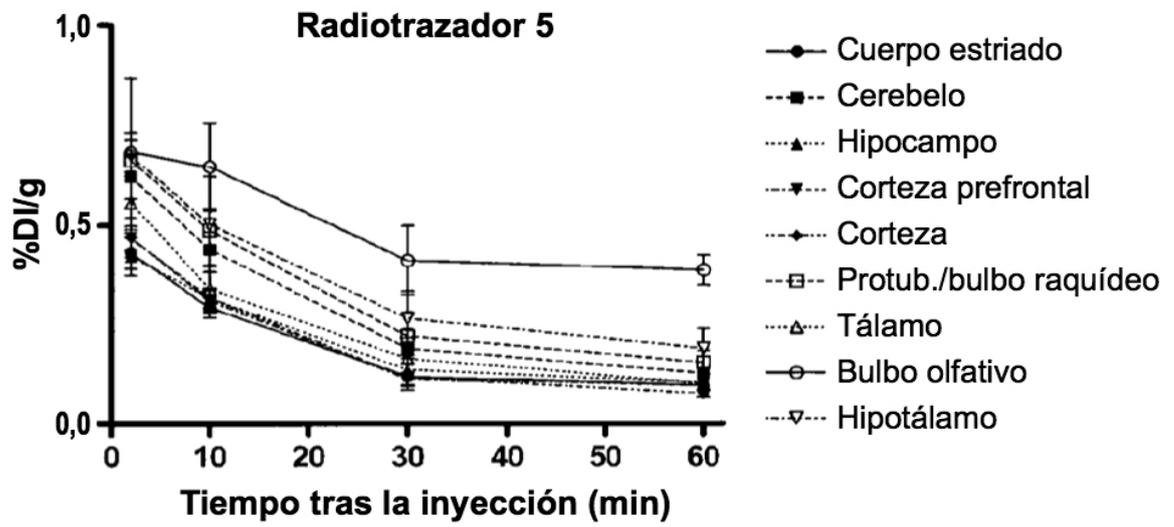


Figura 8: Biodistribución del radiotrazador 5 en el cerebro

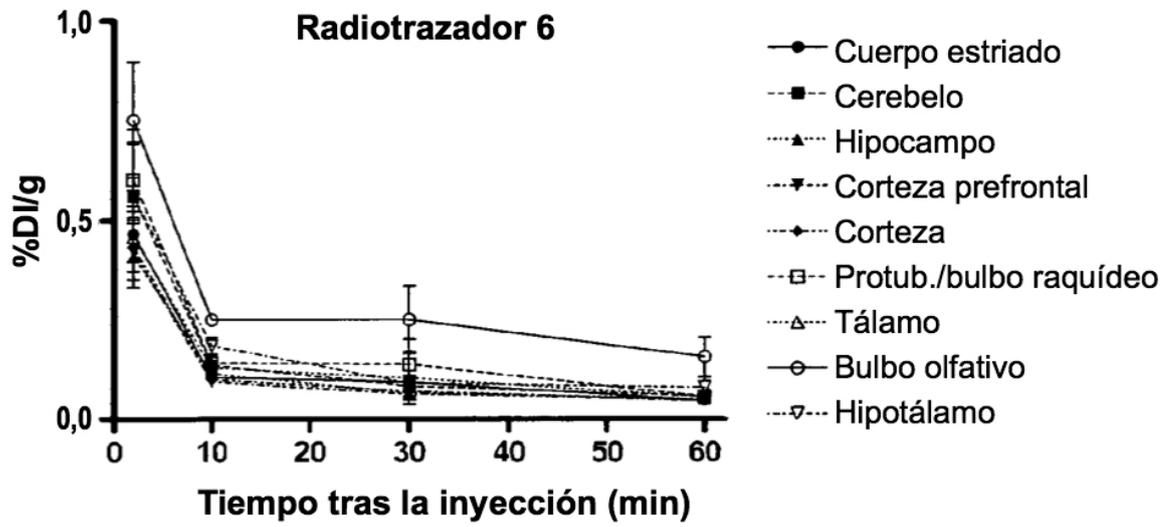


Figura 9: Biodistribución del radiotrazador 6 en el cerebro

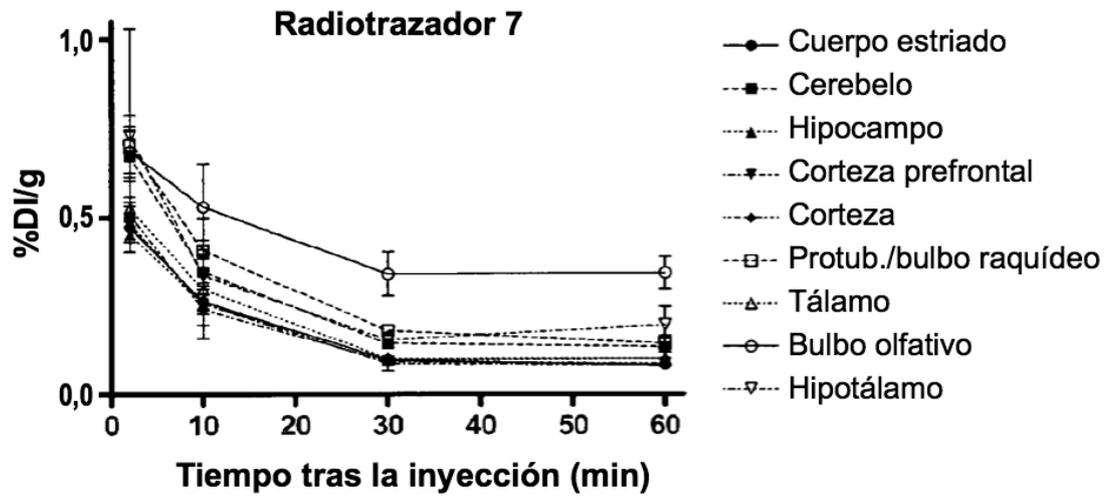


Figura 10: Biodistribución del radiotrazador 7 en el cerebro

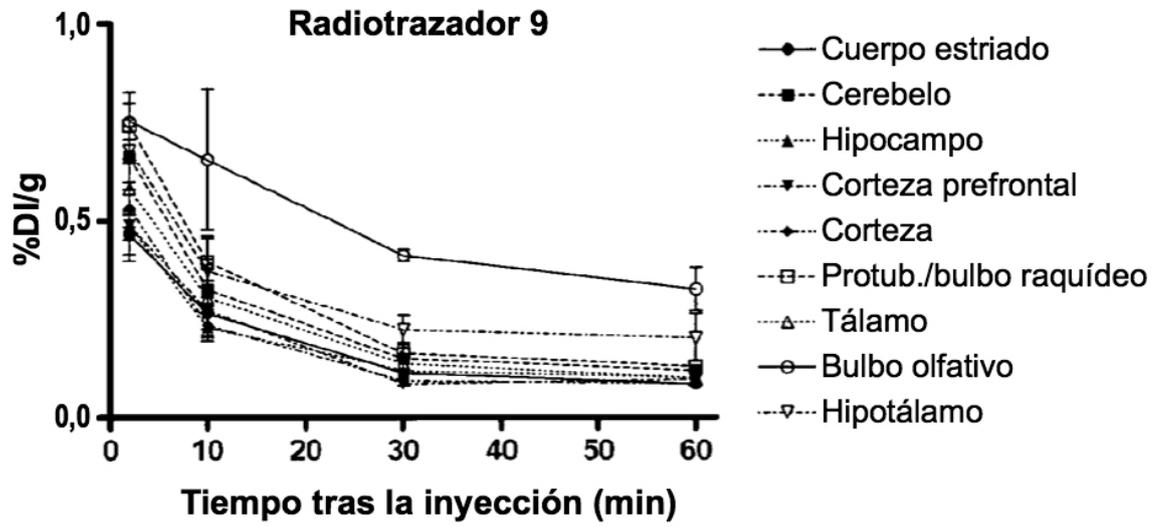


Figura 11: Biodistribución del radiotrazador 9 en el cerebro

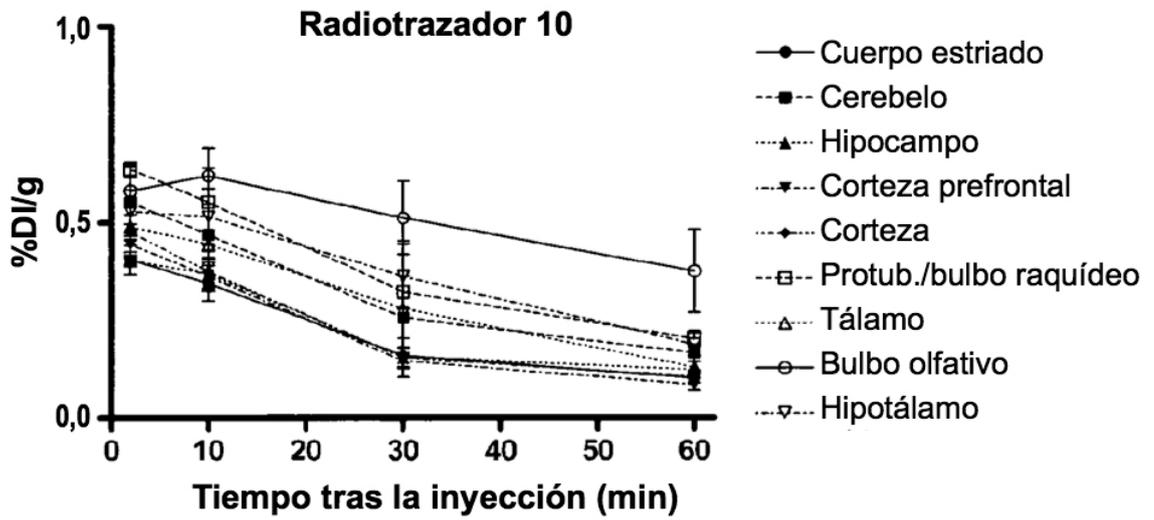


Figura 12: Biodistribución del radiotrazador 10 en el cerebro

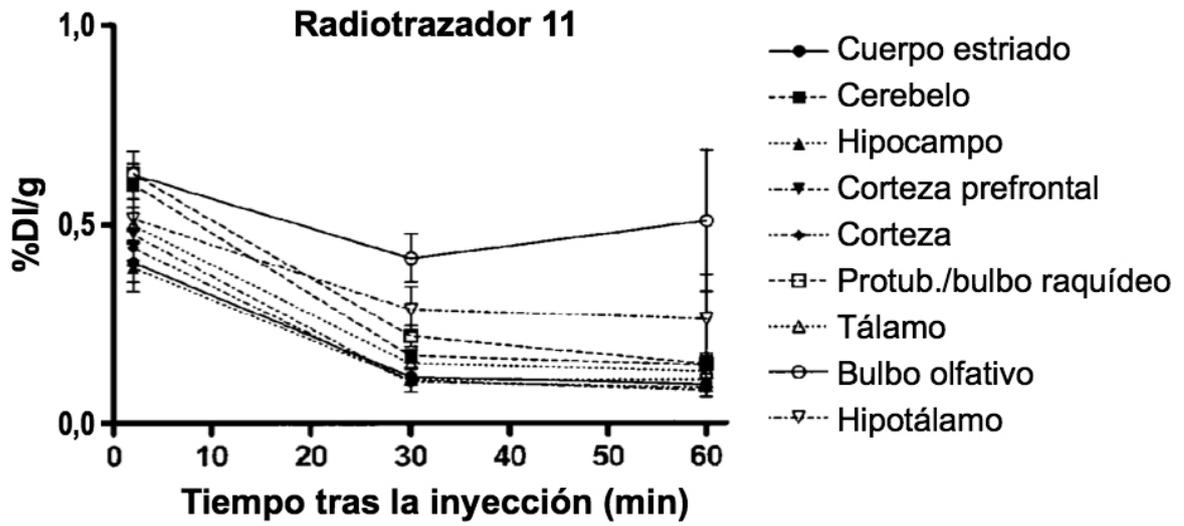


Figura 13: Biodistribución del radiotrazador 11 en el cerebro