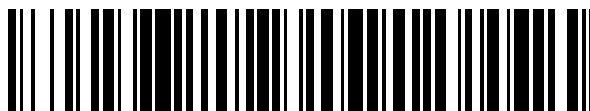


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 121**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.10.2014 PCT/EP2014/071283**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2015 WO15052105**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2014 E 14781169 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017 EP 3055308**

54 Título: **Derivados de diazacarbazol como ligandos tau-pet**

30 Prioridad:

08.10.2013 EP 13187764

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

01.03.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**GOBBI, LUCA;
KNUST, HENNER;
KOERNER, MATTHIAS y
MURI, DIETER**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

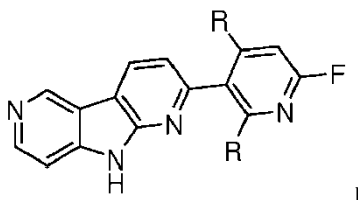
ES 2 657 121 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de diazacarbazol como ligandos tau-pet

5 La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general



I

en la que

10

R es hidrógeno o tritio; y

F es flúor o ¹⁸flúor;

15

o a una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos de fórmula I incluyen 2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol, ³H-2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol y [¹⁸F]-2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol.

20

Compuestos con una estructura básica genérica similar se describen en el documento WO2009/102498 para la obtención de imágenes *in vivo* de depósitos de amiloide para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer. No se describen específicamente compuestos tricíclicos con 3 átomos de N. El documento US2011/0182812 divulga derivados de indol-5-il-quinolina capaces de unirse a proteínas tau y péptidos beta-amiloideos. Se ha demostrado que los presentes compuestos se pueden usar para la unión y obtención de imágenes de agregados de tau y agregados de lámina beta relacionados, incluyendo, además, otros agregados de amiloide beta o agregados de sinucleína alfa, especialmente para su uso en la unión y obtención de imágenes de agregados de tau en enfermos de Alzheimer.

25

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo caracterizado por deterioro cognitivo, amnesia irreversible, desorientación y trastorno del lenguaje (Arch. Neurol. 1985, 42(11), 1097-1105). La autopsia de secciones de cerebros con EA revela abundantes placas seniles (PS), compuestas de péptidos amiloide beta (Aβ) y numerosos ovillos neurofibrilares (ONF) formados por filamentos de proteína tau hiperfosforilada.

30

Tau pertenece a la familia de proteínas asociadas a microtúbulos y se expresa principalmente en neuronas, donde desempeña un importante papel en el ensamblaje de monómeros de tubulina en microtúbulos para constituir la red de microtúbulos neuronales como trayectorias para el transporte axónico (Brain Res. Rev. Pop/28.05.2014 2000, 33(1), 95-130). Tau se traduce a partir de un único gen localizado en el cromosoma 17 y la expresión se regula por el desarrollo mediante un mecanismo de empalme alternativo que genera seis isoformas diferentes en el cerebro humano adulto que se pueden distinguir por su número de dominios de unión. Los mecanismos subyacentes que dan lugar a la hiperfosforilación, el plegamiento erróneo y la agregación de tau no se comprenden bien, pero los depósitos de agregados de tau siguen una vía espaciotemporal estereotipada tanto a niveles intracelulares como a nivel de topografía cerebral.

35

40

El reciente descubrimiento de las mutaciones del gen tau que dan lugar a demencia frontotemporal (DFT) con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 ha reforzado el papel predominante atribuido a tau en la patogenia de trastornos neurodegenerativos y ha destacado el hecho de que distintos conjuntos de isoformas de tau expresadas en diferentes poblaciones neuronales podrían dar lugar a diferentes patologías (Biochim. Biophys. Acta 2005, 1739(2) 240-250). Las enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la acumulación patológica de tau se denominan «tauopatías» (Ann. Rev. Neurosci. 2001, 24, 1121-1159). Además de la EA y la DFT, otras tauopatías incluyen parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia predominante en ovillos, demencia presenil de tipo Pick, degeneración lobular frontotemporal (DLFT), síndrome de Down y otras.

45

50

Se ha establecido una correlación directa entre la afectación progresiva de las áreas neocorticales y la creciente gravedad de la demencia, lo que sugiere que los agregados patológicos de tau, tales como los ONF, son un marcador fiable del proceso neurodegenerativo. El grado de afectación de los ONF en la EA se define por los estadios de Braak (Acta Neuropathol. 1991, 82, 239-259). Los estadios I y II de Braak se definen cuando la afectación de los ONF se limita principalmente a la región transentorrinal del cerebro, mientras que los estadios III y IV se diagnostican cuando están afectadas las regiones límbicas, tal como el hipocampo, y los estadios V y VI cuando se encuentra una extensa afectación neocortical.

55

60 En la actualidad, la detección de los agregados de tau es únicamente posible mediante análisis histológico de

materiales de autopsia o biopsia. La obtención de imágenes *in vivo* de la patología de tau proporciona conocimientos novedosos sobre los depósitos de agregados de tau en el cerebro humano y permite examinar de manera no invasiva el grado de la patología de tau, cuantificar los cambios en los depósitos de tau con el tiempo, evaluar su correlación con la cognición y analizar la eficacia de un tratamiento anti-tau. Los ligandos potenciales para detectar los agregados de tau en el cerebro vivo deben atravesar la barrera hematoencefálica y poseen alta afinidad y especificidad por los agregados de tau. Con este fin, los radiomarcadores satisfactorios de técnicas de neuroimagen deben tener una lipofilicidad apropiada (logD 1-3) y una masa molecular baja (< 450), mostrar un aclaramiento rápido de la sangre y una unión no específica baja.

El objeto de la presente solicitud es encontrar una herramienta de obtención de imágenes que mejore el diagnóstico mediante la identificación de enfermos potenciales con un exceso de agregados de tau en el cerebro, que posiblemente pueden desarrollar la enfermedad de Alzheimer. También será útil para monitorizar la evolución de la enfermedad. Cuando se disponga de un fármaco anti-agregados de tau, la obtención de imágenes de ovillos de tau en el cerebro podrá proporcionar una herramienta esencial para monitorizar el tratamiento.

Un objeto adicional de la presente invención es un procedimiento de obtención de imágenes de depósitos de agregados de tau, que comprende

- introducir en un mamífero una cantidad detectable de una composición
- dejar tiempo suficiente para que el compuesto de fórmula I se asocie con depósitos de agregados de tau, y
- detectar el compuesto asociado con uno o más depósitos de agregados de tau.

Un objeto adicional de la presente invención es una composición farmacéutica, que contiene compuestos de fórmula I y vehículos farmacéuticamente aceptables, que se puede usar para identificar enfermos potenciales.

Las siguientes definiciones de los términos generales usados en la presente descripción se aplican independientemente de si los términos en cuestión aparecen solos o en combinación.

Como se usa en el presente documento, el término «alquilo inferior» denota un grupo hidrocarburo alifático, es decir, saturado, que incluye una cadena de carbonos lineal o ramificada con 1–7 átomos de carbono. Los ejemplos de «alquilo» son metilo, etilo, n-propilo e isopropilo.

³H denota un átomo de tritio.

F denota un átomo de flúor o un átomo de ¹⁸flúor.

El término «grupo saliente» denota halógeno o sulfonato. Ejemplos de sulfonato son tosilato, mesilato, triflato, nosilato o brosilato.

El término «sal farmacéuticamente aceptable» o «sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable» abarca sales con ácidos inorgánicos y orgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido acético, ácido succínico, ácido tartárico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y similares.

Se ha descubierto que los compuestos de fórmula I se pueden usar para la unión y obtención de imágenes de agregados de tau y agregados de lámina beta relacionados, incluyendo, además, otros agregados de amiloide beta o agregados de sinucleína alfa.

Un modo de realización de la presente invención son compuestos de fórmula I cuyos compuestos son 2-(6-fluoropiridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol, ³H-2-(6-fluoropiridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol y [¹⁸F]-2-(6-fluoropiridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol.

Un modo de realización de la presente invención son compuestos adicionales de fórmula I en la que R es hidrógeno, cuyo compuesto es 2-(6-fluoropiridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol.

Un modo de realización de la presente invención son compuestos adicionales de fórmula I en la que R es tritio, por ejemplo el siguiente compuesto ³H-2-(6-fluoropiridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol.

Un modo de realización de la invención son compuestos adicionales de fórmula I, en la que F es ¹⁸flúor, por ejemplo, [¹⁸F]-2-(6-fluoropiridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol.

La posición para R en la fórmula I, si R es tritio, es la más probable. Pero el tritio también se puede encontrar en pequeñas cantidades en otras posiciones de la molécula. Normalmente, solo uno de R es tritio.

Los compuestos de fórmula I se pueden usar en la unión y obtención de imágenes de agregados de tau, agregados de amiloide beta, agregados de sinucleína alfa o agregados de huntingtina.

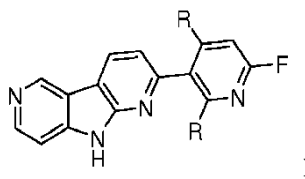
5 El uso preferente de los compuestos de fórmula I es el uso en la unión y obtención de imágenes de agregados de tau en enfermos de Alzheimer.

Además, los compuestos de fórmula I se pueden usar en un estudio de unión a tau.

10 Los compuestos de fórmula I son adecuados para la obtención de imágenes de diagnóstico de agregados de tau en el cerebro de un mamífero.

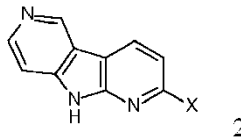
La invención también se usa para la obtención de imágenes de diagnóstico de depósitos de agregados de tau en el cerebro de un mamífero.

15 Los presentes compuestos de fórmula I

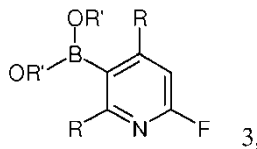


20 y sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar mediante procedimientos descritos a continuación, comprendiendo el procedimiento

a) acoplar un compuesto de fórmula 2 (X = Cl, Br)

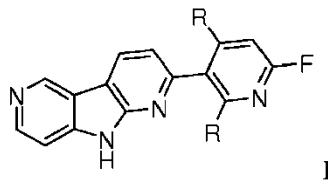


25 con ácidos borónicos o ésteres de ácido borónico adecuados de fórmula 3



30 en la que R' es hidrógeno o alquilo inferior,

para proporcionar compuestos de fórmula I

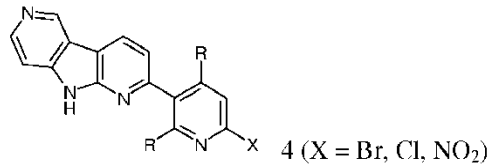


35 en la que R es hidrógeno,

y, si se desea, convertir el compuesto obtenido en sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables o en compuestos de fórmula I, en la que R es tritio;

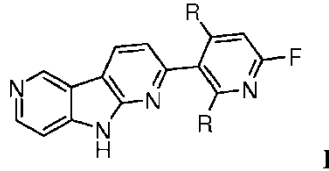
40 o

b) acoplar los compuestos de fórmula 4



con reactivos fluorantes adecuados seleccionados entre fluoruro de potasio o fluoruro de tetrabutilamonio,

5 para proporcionar compuestos de fórmula I

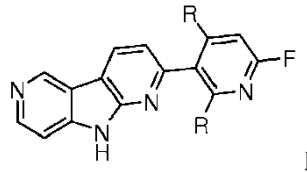


en la que el sustituyente R es hidrógeno

10 y, si se desea, convertir el compuesto obtenido en sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables o en compuestos de fórmula I, en la que R es tritio

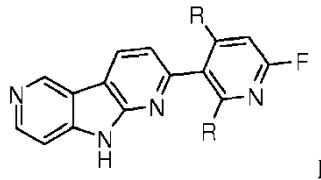
c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula I

15



20 en la que R es hidrógeno, con gas tritio en presencia de un catalizador, por ejemplo, complejos que contienen iridio, rutenio, rodio o paladio en un disolvente adecuado, por ejemplo, diclorometano, clorobenceno, DMF, DMSO o mezclas de los mismos para proporcionar el compuesto de fórmula I

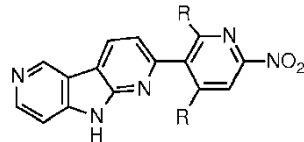
20



25 en la que R es tritio, y, si se desea, convertir los compuestos obtenidos en sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, o

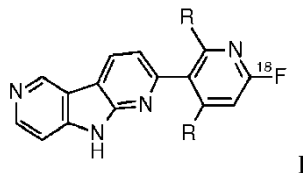
25

d) disolver un compuesto de fórmula



30

en dimetilsulfóxido y someter a ultrasonidos antes del final del bombardeo con ion [18]fluoruro acuoso a un compuesto de fórmula



35

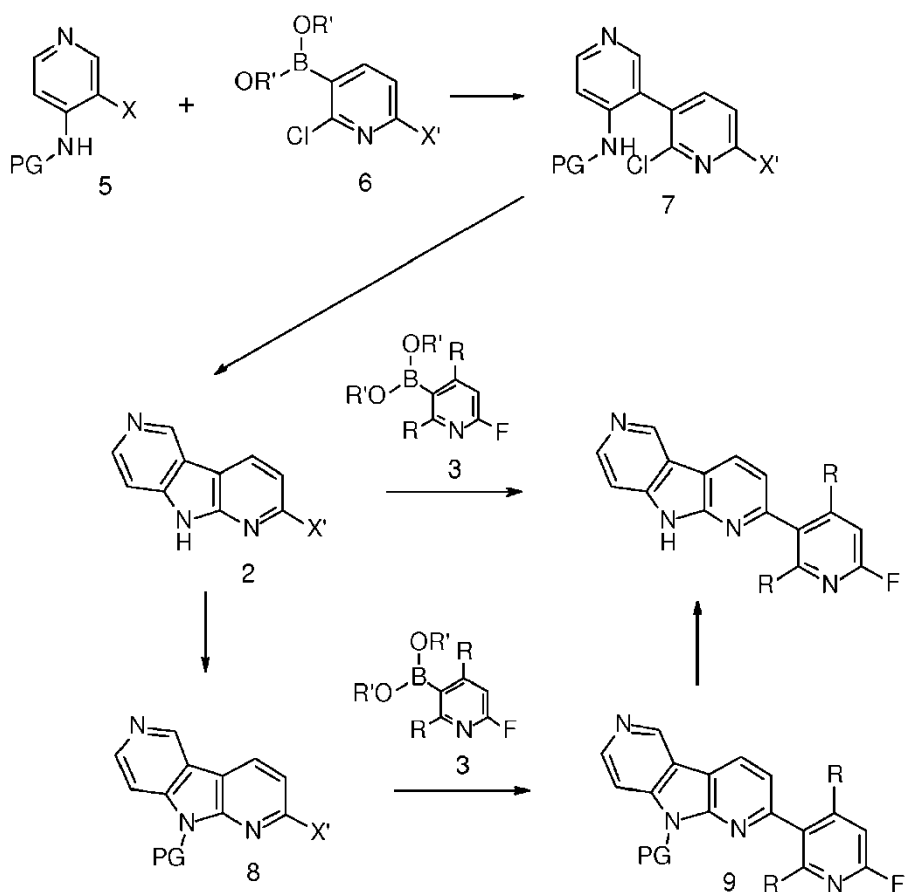
y, si se desea, convertir los compuestos obtenidos en sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

Los siguientes esquemas 1-2 describen los procedimientos para la preparación de compuestos de fórmula I con más detalle. Los materiales de partida son compuestos conocidos o se pueden preparar de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica.

Se puede llevar a cabo la preparación de compuestos de fórmula I de la presente invención en vías de síntesis secuenciales o convergentes. Las habilidades requeridas para llevar a cabo las reacciones y purificaciones de los productos resultantes son conocidas por los expertos en la técnica. Los sustituyentes e índices usados en la siguiente descripción de los procedimientos tienen el significado dado anteriormente en el presente documento a menos que se indique lo contrario.

Con más detalle, los compuestos de fórmula I se pueden producir mediante los procedimientos dados a continuación, mediante los procedimientos dados en los ejemplos o mediante procedimientos análogos. Las condiciones de reacción apropiadas para las etapas de reacción individuales son conocidas por el experto en la técnica. La secuencia de reacción no se limita a la que se presenta en los esquemas 1-2; sin embargo, dependiendo de los materiales de partida y de su reactividad respectiva, se puede alterar libremente la secuencia de las etapas de reacción. Los materiales de partida están disponibles comercialmente o bien se pueden preparar mediante procedimientos análogos a los procedimientos dados a continuación, mediante procedimientos descritos en las referencias citadas en la descripción o en los ejemplos, o mediante procedimientos conocidos en la técnica.

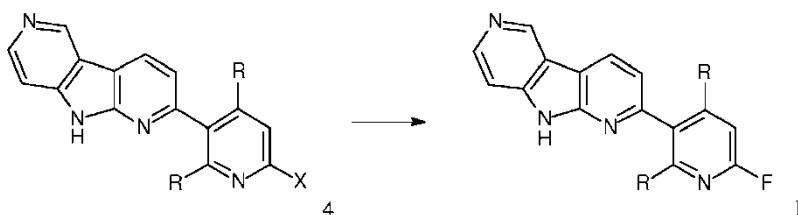
Esquema 1



De acuerdo con el esquema 1, los compuestos de fórmula I, en la que R es hidrógeno, se pueden preparar a partir de 4-amino-piridinas protegidas 5 (X = Cl, Br) y ácidos piridinborónicos 2,6-di-halogenados 6 (R' = H, alquilo inferior). Las condiciones de acoplamiento cruzado catalizadas por metales de transición usando un sistema catalítico como, por ejemplo, Pd(OAc)₂ y PPh₃ y una base como, por ejemplo, trietilamina en un disolvente adecuado como DMF dan como resultado las bipiridinas 7. La desprotección y la ciclación intramolecular se pueden realizar como un procedimiento de un solo recipiente usando una base como, por ejemplo, carbonato de potasio y un activador como, por ejemplo, 18-corona-6 en un disolvente adecuado como DMF y proporciona el intermedio 1,6-diazacarbazol 2. La transformación final en compuestos de fórmula I se puede realizar mediante una reacción directa de acoplamiento cruzado catalizada por metales

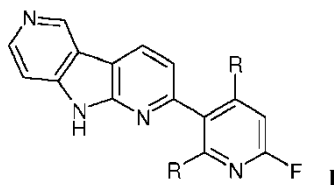
de transición con ácidos piridinborónicos apropiados **3**, un catalizador como, por ejemplo, Pd(dppf)Cl₂ y una base como, por ejemplo, carbonato de potasio en un disolvente adecuado como DMF. De forma alternativa, el 1,6-diazacarbazol **2** se convierte primero en los intermedios protegidos **8** mediante reacción con un reactivo adecuado, por ejemplo, di-*tert*-butildicarbonato, en un disolvente adecuado como, por ejemplo, DMF, seguido de reacción de acoplamiento cruzado catalizada por metales de transición para dar los intermedios **9** usando ácidos piridinborónicos apropiados **3**, un catalizador como, por ejemplo, Pd(dppf)Cl₂ y una base como, por ejemplo, carbonato de potasio en un disolvente como DMF. La desprotección da lugar, a continuación, a compuestos de fórmula **I**.

Esquema 2



De acuerdo con el esquema 2, un compuesto de fórmula **I**, en la que R es hidrógeno, se puede preparar tratando un compuesto de fórmula **4** (X = Br, Cl, nitro); preparado de acuerdo con la síntesis de los compuestos de fórmula **I** descrita en el esquema 1, con un reactivo fluorante adecuado como, por ejemplo, fluoruro de potasio o fluoruro de tetrabutilamonio en un disolvente adecuado como, por ejemplo, DMF o DMSO.

Los compuestos de fórmula **I** en la que R es tritio o F es ¹⁸F



se pueden preparar de manera convencional como se describe en los ejemplos específicos. Los compuestos de fórmula **I** no contienen simultáneamente tritio y ¹⁸F.

Aislamiento y purificación de los compuestos

El aislamiento y la purificación de los compuestos e intermedios descritos en el presente documento se pueden efectuar, si se desea, mediante cualquier procedimiento de separación o purificación adecuado, tal como, por ejemplo, filtración, extracción, cristalización, cromatografía en columna, cromatografía en capa fina, cromatografía en capa gruesa, cromatografía preparativa de líquidos a baja o alta presión o una combinación de estos procedimientos. Se pueden encontrar ilustraciones específicas de procedimientos de separación y aislamiento adecuados por referencia a las preparaciones y ejemplos descritos a continuación en el presente documento. Sin embargo, por supuesto, también se podrían usar otros procedimientos de separación o aislamiento equivalentes. Las mezclas racémicas de compuestos quirales de fórmula **I** se pueden separar usando HPLC quiral.

Sales de compuestos de fórmula **I**

Los compuestos de fórmula **I** son básicos y se pueden convertir en una sal de adición de ácido correspondiente. La conversión se consigue mediante tratamiento con al menos una cantidad estequiométrica de un ácido apropiado, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares. Típicamente, la base libre se disuelve en un disolvente orgánico inerte, tal como éter dietílico, acetato de etilo, cloroformo, etanol o metanol y similares, y se añade el ácido en un disolvente similar. La temperatura se mantiene entre 0 °C y 50 °C. La sal resultante precipita espontáneamente o se puede precipitar mediante adición de un disolvente menos polar.

Las sales de adición de ácido de los compuestos básicos de fórmula **I** se pueden convertir en las correspondientes bases libres mediante tratamiento con al menos un equivalente estequiométrico de una base adecuada, tal como hidróxido de sodio o potasio, carbonato de potasio, bicarbonato de sodio, amoníaco y similares.

Los compuestos se han investigado de acuerdo con la prueba dada a continuación.

Ensayo de desplazamiento *in vitro* de radioligando de TAU

- 5 Este ensayo de unión *in vitro* evalúa la afinidad de los compuestos por los agregados de tau naturales. Los compuestos se incuban con el bien establecido radioligando específico de tau [³H]T808 y se determina la potencia de desplazamiento de unión a [³H]T808 del compuesto mediante autorradiografía *in vitro* usando secciones de cerebros humanos con enfermedad de Alzheimer (EA) (véase la Figura B).

10 Materiales

Los cerebros humanos con EA se adquieren del Banner Sun Health Research Institute (Sun City, AZ, EE. UU.). El diagnóstico patológico de la EA se realiza de acuerdo con los criterios estándar del NIA-Reagan Institute basados en datos neuropatológicos. El radioligando [³H]T808 se sintetizó en el laboratorio ([³H]-2-[4-(2-fluoro-etil)-piperidin-1-il]-benzo[4,5]imidazo[1,2-a]pirimidina, pureza radioquímica de un 99,0 %). Como referencia se usa T808 frío (2-[4-(2-fluoro-etil)-piperidin-1-il]-benzo[4,5]imidazo[1,2-a]pirimidina). Para la autorradiografía, las placas de obtención de imágenes de FujiFilm (BAS-IP TR 2025) se exponen a las secciones y se leen con un lector de PI de FujiFilm (BAS-5000).

20 Procedimiento

Se generan secciones de cerebros humanos con EA de 10 µm de espesor con un criostato (Leica CM3050) a una temperatura de cámara de -17 °C y una temperatura de objeto de -15 °C. Las secciones se transfieren a portaobjetos de microscopio Histobond+ (Marienfeld Laboratory Glasware). Después de secar durante 3 horas a temperatura ambiente, las secciones se almacenan a -20 °C. Las secciones se incuban con el radioligando (10 nM) y el respectivo compuesto frío (a diversas concentraciones) en tampón Tris 50 mM, pH 7,4 a temperatura ambiente durante 30 min. Después de lavar 3 x 10 min a 4 °C en tampón Tris 50 mM, pH 7,4 y de realizar 3 inmersiones rápidas en H₂O dest. a 4 °C, las secciones se secan a 4 °C durante 3 h. Las secciones se colocan en un cartucho FujiFilm (BAS 2025), se exponen con una placa de obtención de imágenes durante cinco días y después se someten a barrido con una resolución de 25 µM por píxel.

Análisis de los datos

35 La intensidad de la señal (Dens - PSL/mm²) en la región de interés (RDI) del autorradiograma se cuantifica con el análisis del programa informático MCID (versión 7.0, Imaging Research Inc.). La unión específica (UE) de la unión a [³H]T808 en ausencia o en presencia de un compuesto se calcula restando la señal de unión no específica en la sustancia blanca, dando, de esta manera, la UE_{[³H]T808} únicamente y la UE_{compuesto}. El % de desplazamiento por los diversos compuestos se calcula como sigue:

$$40 \quad \% \text{ de desplazamiento} = 100 - (UE_{\text{compuesto}} / UE_{[3\text{H}]T808})$$

Datos de validación

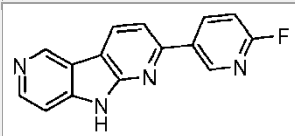
45 En cada experimento se usa T808 frío como control interno positivo. Se espera que la coincubación de cantidades equimolares de T808 caliente y frío reduzca la unión específica en aproximadamente un 50 %.

Referencias

50 A.K. Szardenings *et al.* «Imaging agents for detecting neurological disorders». *Solicitud de patente de EE. UU.* US20110182812

W. Zhang *et al.*, «A highly selective and specific PET tracer for imaging of tau pathologies». *Journal of Alzheimer's Disease* 31 (2012) 601-612.

55 Tabla 1

Estructura	Denominación	% de desplazamiento de [³ H]T808 (10 nM)	Ej.
	2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol	43	1

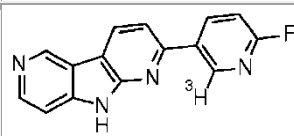
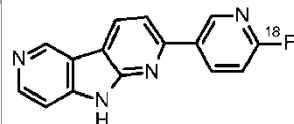
Estructura	Denominación	% de desplazamiento de [³ H]T808 (10 nM)	Ej.
	³ H-2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol		2
	[¹⁸ F]-2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol		3

Figura A:

5 Autorradiograma de ³H-2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol incubado con una sección cortical de cerebro humano obtenido de un paciente con EA en estadio V de Braak. La concentración del radioligando fue de 3,2 nM. El radioligando muestra una tinción punteada de agregados de tau en un patrón de distribución en capas.

10 Los compuestos de fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden usar en forma de preparaciones farmacéuticas. Las preparaciones farmacéuticas se pueden administrar en forma de soluciones para inyección.

15 Los compuestos de fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden procesar con vehículos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente inertes para la producción de preparaciones farmacéuticas. Los vehículos adecuados para la producción de soluciones y jarabes son, por ejemplo, agua, polioles, sacarosa, azúcar invertido, glucosa y similares. Los adyuvantes, tales como alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales y similares, se pueden usar para soluciones acuosas para inyección de sales solubles en agua de compuestos de fórmula I, pero por regla general no son necesarios. Los vehículos adecuados para supositorios son, por ejemplo, aceites naturales o endurecidos, ceras, grasas, polioles semilíquidos o líquidos y similares.

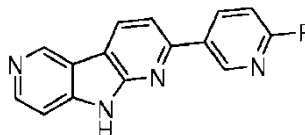
20 Además, las preparaciones farmacéuticas pueden contener conservantes, solubilizantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, aromatizantes, sales para modificar la presión osmótica, tampones, agentes de enmascaramiento o antioxidantes. También pueden contener todavía otras sustancias terapéuticamente valiosas.

25 La dosificación puede variar dentro de límites amplios y, por supuesto, se puede ajustar a las necesidades individuales en cada caso particular.

Sección experimental:

30 Ejemplo 1

2-(6-Fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol



35 Etapa 1: N-[3-(2,6-dicloro-3-piridil)-4-piridil]carbamato de *terc*-butilo

40 Un matraz precalentado se evacuó y se llenó de nuevo con argón varias veces y se cargó con 3-yodopiridin-4-ilcarbamato de *terc*-butilo (4,56 g, 14,2 mmol), ácido 2,6-dicloropiridin-3-ilborónico (5,46 g, 28,4 mmol), Pd(OAc)₂ (320 mg, 1,42 mmol) y trifenilfosfina (371 mg, 1,41 mmol) en atmósfera de argón. Se añadió trietilamina (4,32 g, 5,94 ml, 42,7 mmol) en DMF (137 ml) y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante 3 h. El disolvente se evaporó casi por completo. Se añadió agua y la suspensión del producto bruto se extrajo dos veces con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con agua (3 x), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el disolvente se evaporó. La trituración del producto bruto con diclorometano proporcionó 1,92 g del producto deseado.

45 La fase de diclorometano se evaporó y se purificó por cromatografía flash (utilizando gel de sílice y un gradiente acetato de etilo/heptano) para producir un total de 3,39 g (~90 % de pureza, 63 % de rendimiento) de N-[3-(2,6-dicloro-3-piridil)-4-piridil]carbamato de *terc*-butilo como un sólido amarillo claro.

EM: m/z = 340,1 (M+H)⁺.

Etapas 2: 2-Cloro-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol

Una suspensión de *N*-[3-(2,6-dicloro-3-piridil)-4-piridil]carbamato de *tert*-butilo (264 mg, 776 μ mol), carbonato de potasio (215 mg, 1,55 mmol) y 18-corona-6 (226 mg, 854 μ mol) en DMF (15,8 ml) se calentó a 100 °C y se agitó durante 3 h en una atmósfera de argón. Se añadió agua y la suspensión del producto bruto se extrajo dos veces con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con agua (dos veces) y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el disolvente se evaporó. La trituración del producto bruto con un poco de metanol proporcionó 2-cloro-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol (105 mg, 63 % de rendimiento) como un sólido amarillo claro.

EM: $m/z = 204,3 (M+H)^+$.

Etapas 3: Éster *tert*-butílico del ácido 2-cloro-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol-9-carboxílico

Una suspensión de hidruro sódico (26,5 mg, 607 μ mol) en DMF seco (1,5 ml) se enfrió a 0 °C y se añadió bajo argón una solución de 2-cloro-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol (103 mg, 506 μ mol) en DMF seco (3,0 ml). La agitación se mantuvo a 0 °C durante 10 min y a temperatura ambiente durante 30 min. Después de enfriar a 0 °C y de añadir dicarbonato de di-*tert*-butilo (132 mg, 141 μ l) en DMF seco (0,75 ml), se mantuvo la agitación a t.a. durante una noche. Se añadió agua y la mezcla de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con agua (dos veces) y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó. Se obtuvo éster *tert*-butílico del ácido 2-cloro-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol-9-carboxílico después de la purificación por cromatografía flash (usando gel de sílice y un gradiente metanol/diclorometano) como un sólido blanquecino (113 mg, 73,5 %).

EM: $m/z = 304,1 (M+H)^+$.

Etapas 4: Éster *tert*-butílico del ácido 2-(6-fluoro-piridin-3-il)-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol-9-carboxílico

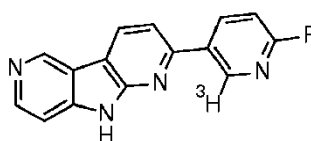
Un recipiente para microondas en atmósfera de argón se cargó con éster *tert*-butílico del ácido 2-cloro-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol-9-carboxílico (100 mg, 329 μ mol), 2-fluoro-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (147 mg, 658 μ mol), carbonato de potasio (137 mg, 988 μ mol) y complejo de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-dicloruro de paladio(II) en diclorometano (10,8 mg, 13,2 μ mol) y el recipiente se selló, se evacuó y se llenó de nuevo con argón. Se añadió DMF (7 ml) y la mezcla de reacción se calentó a 90 °C y se agitó durante 17 h. La mezcla de reacción se filtró. Se añadió agua al filtrado y la mezcla de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con agua (3 x), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó. La trituración de la mezcla de producto bruto con un poco de metanol proporcionó 2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol ($m/z = 265,1 (M+H)^+$) como un sólido rojo claro (23 mg con un 80 % de pureza, 21 %). El líquido se evaporó y se purificó por cromatografía flash (usando gel de sílice y un gradiente metanol/diclorometano) para proporcionar éster *tert*-butílico del ácido 2-(6-fluoro-piridin-3-il)-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol-9-carboxílico como un sólido blanquecino (12 mg, 10 %).

EM: $m/z = 365,2 (M+H)^+$.

Etapas 5: 2-(6-Fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol

Una solución de color amarillo claro de éster *tert*-butílico del ácido 2-(6-fluoro-piridin-3-il)-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol-9-carboxílico (22 mg, 60,4 μ mol) y ácido trifluoroacético (33,3 μ l, 432 μ mol) en diclorometano (0,5 ml) se agitó a t.a. durante la noche. Después de enfriar a 0 °C, se añadió trietilamina (70 μ l, 503 μ mol) y se eliminaron todos los volátiles. El material bruto se purificó por HPLC preparativa (usando una columna Gemini C18 y un gradiente de agua con 0,1 % de trietilamina/acetronitrilo) para proporcionar 2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol como un sólido blanquecino (14 mg, 88 %).

EM: $m/z = 265,1 (M+H)^+$.

Ejemplo 2**³H-2-(6-Fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol**

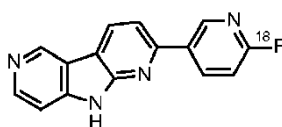
En un matraz de tritización de 2 ml, 2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol (2,0 mg, 7,6 μ mol, ejemplo 1) y el catalizador de Crabtree (9,14 mg, 11,4 μ mol) se disolvieron en diclorometano (0,8 ml) y DMF (0,2 ml). El matraz se fijó al colector de tritio (RC-TRITEC) y se desgasificó mediante congelación-bombeo-descongelación. Se introdujo

gas tritio y la solución naranja claro se agitó vigorosamente durante 4 horas en una atmósfera de tritio a 450 mbar. La solución se enfrió con nitrógeno líquido y el exceso de gas tritio en el recipiente de reacción se reabsorbió en una trampa de uranio para tritio de desecho. El disolvente se liofilizó y el tritio lábil se eliminó mediante liofilización con una mezcla 9:1 de etanol y agua (3 x 1 ml) y tolueno (2 x 1 ml). El aceite parduzco restante se disolvió en etanol (1,5 ml) y se transfirió a un intercambiador de cationes SCX-2. El catalizador restante se eluyó con MeOH (10 ml) y se desechó, el producto se eluyó con NH₃ en MeOH (3,5 N, 10 ml), se recogió por separado, y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se purificó mediante HPLC preparativa (XBridge Prep, 5 μm, 10 x 250 mm) usando acetonitrilo, agua y tampón a pH 7 como eluyente. Se obtuvieron 37 MBq (1 mCi) del compuesto del título con una pureza radioquímica de un 99 % y una actividad específica de 936 GBq/mmol (25,3 Ci/mmol), determinadas mediante espectrometría de masas. El compuesto se almacenó como una solución en tampón de pH 7/DMSO.

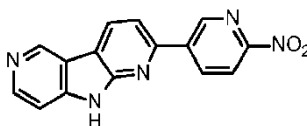
MS: m/z = 265,1 [M+H]⁺, 267,1 [M(³H₁)+H]⁺, 269,1 [M(³H₂)+H]⁺

Ejemplo 3

[¹⁸F]-2-(6-Fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol

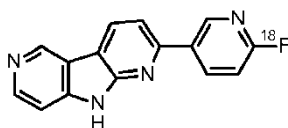


a) 2-(6-Nitro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol



En un matraz de 50 ml (evaporado y purgado con Ar) se combinaron éster *terc*-butílico del ácido 2-cloro-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol-9-carboxílico (285 mg, 938 μmol), éster pinacólico de ácido 2-nitro-piridin-5-borónico (469 mg, 1,88 mmol), complejo de 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno-dicloruro de paladio(II) en diclorometano (34,5 mg, 42,2 μmol) y K₂CO₃ (389 mg, 2,81 mmol). Se añadió DMF (24 ml) y el tubo se selló, se evaporó y se purgó con Ar. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C y se agitó durante 18 h. La filtración a través de Celite y posteriormente a través de una almohadilla pequeña de gel de sílice (neutra, 60 Å, 32-63 mesh) vino seguida de enjuague con suficiente DMF y evaporación a sequedad. El sólido marrón se disuelve en DMF (20 ml) y se añade DMSO hasta que se obtiene una solución casi transparente. Después de la filtración, los solventes se evaporan hasta casi sequedad. La purificación por HPLC preparativa proporcionó el compuesto del título (37 mg, 13 %) como un sólido amarillo. EM m/z: 292,2 [M+H]⁺

b) [¹⁸F]-2-(6-Fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol



El precursor (0,7 ± 0,3 mg) se disolvió en 400 μl de dimetilsulfóxido y se sometió a ultrasonidos antes del final del bombardeo (FDB). En el FDB, el ion [¹⁸F]fluoruro acuoso, producido por el bombardeo de protones de agua enriquecida en [¹⁸O], se retuvo en una columna de intercambio iónico. La columna de intercambio iónico se eluyó con 150 μl de una solución madre de Krytpofix 2.2.2/carbonato de potasio (48 mg de Krytpofix 2.2.2 y 10 mg de carbonato de potasio disueltos en 600 μl de acetonitrilo:agua 1:1) en el vial de reacción, seguido de 250 μl de acetonitrilo. La solución de fluoruro se evaporó hasta sequedad a 110 °C por medio de flujo de nitrógeno y se secó adicionalmente de manera azeotrópica mediante dos adiciones de acetonitrilo (250 μl cada una). El vial de reacción se transfirió de manera remota a la cavidad de microondas (Resonance Instruments) y se enfrió con aire comprimido durante 2 minutos. Se añadió el precursor y, a continuación, se sometió a microondas a 50 vatios durante 240 segundos, después de lo cual la solución se desactivó con 1 ml de agua.

La solución de reacción se diluyó con 3 ml de tampón de trietilamina (TEA) (pH 7,2) y, a continuación, se inyectó en la columna de HPLC semipreparativa (XBridge C18, 10 μm, 10 x 150 mm) eluida con metanol:tampón TEA (pH 7,2) 15:85 a 15 ml/min.

El efluente de HPLC se monitorizó a 254 nm y un detector de radioactividad en línea. Se observó el cromatograma semipreparativo y el pico del producto [¹⁸F] se recogió en 50 ml de agua y se reformuló usando un módulo SPE

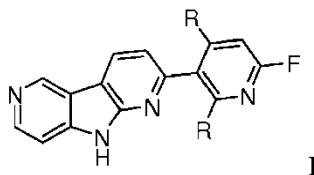
ES 2 657 121 T3

automatizado. La solución de producto se eluyó a través de un C-18 SepPak Plus de Waters, se lavó con 10 ml de agua Milli-Q, a continuación se eluyó con 1 ml de etanol absoluto y seguido de 10 ml de solución salina normal en el vial de producto final por medio de un filtro de esterilización FG de Millipore de 0,22 μm .

- 5 Se eliminaron partes alícuotas del frasco de producto final para el análisis de control de calidad. Se realizó una HPLC analítica (XBridge C18, 3,5 μm , 4,6 x 100 mm) eluida con acetonitrilo:tampón TEA (pH 7,2) 40:60 a 2 ml/min monitorizada a 350 nm para determinar la pureza radioquímica y química, la actividad específica y la identidad química.
- 10 La radiosíntesis de 57 minutos de [^{18}F]-2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9*H*-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol produjo un producto final promedio de 330,5 mCi, 26,1 % (n = 2) de rendimiento corregido sin decaimiento. El producto final tenía una radioactividad específica promedio de 24,684 mCi/ μmol y una pureza radioquímica de un 99 %.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula



5

en la que

R es hidrógeno o tritio;

10

F es flúor o ¹⁸flúor;

o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

2. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los compuestos son

2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol

³H-2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol

20

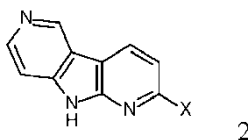
y [¹⁸F]-2-(6-Fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol.

25

3. Un procedimiento para la fabricación de un compuesto de fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, comprendiendo el procedimiento

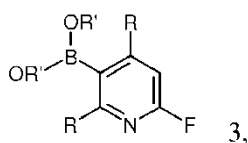
25

a) acoplar un compuesto de fórmula 2 (X = Cl, Br)



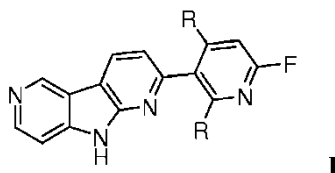
30

con ácidos borónicos o ésteres de ácido borónico adecuados de fórmula 3



35

en la que R' es hidrógeno o alquilo inferior, para proporcionar compuestos de fórmula I



en la que R es hidrógeno,

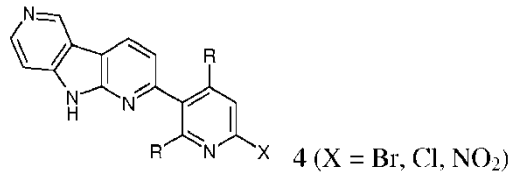
40

y, si se desea, convertir el compuesto obtenido en sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables o en un compuesto de fórmula I, en la que R es tritio;

o

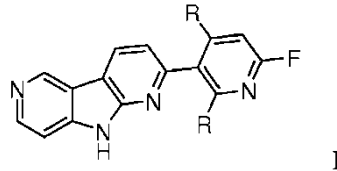
45

b) acoplar un compuesto de fórmula 4



con reactivos fluorantes adecuados seleccionados entre fluoruro de potasio o fluoruro de tetrabutilamonio,

5 para proporcionar compuestos de fórmula I

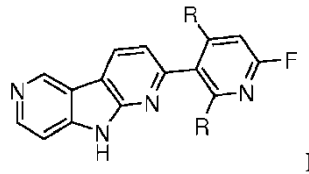


en la que el sustituyente R es hidrógeno

10 y, si se desea, convertir el compuesto obtenido en sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables o en compuestos de fórmula I, en la que R es tritio

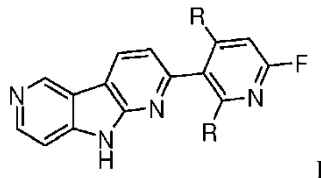
c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula I

15



20 en la que R es hidrógeno, con gas tritio en presencia de un catalizador de iridio, rutenio, rodio o paladio en un disolvente adecuado, seleccionado entre diclorometano, clorobenceno, DMF, DMSO o mezclas de los mismos para proporcionar el compuesto de fórmula I

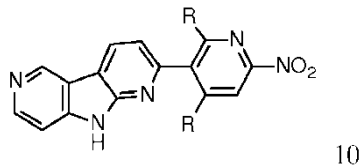
20



25 en la que R es tritio, y, si se desea, convertir los compuestos obtenidos en sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, o

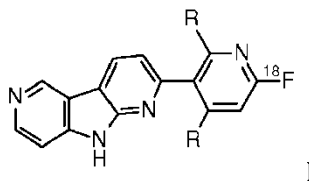
25

d) disolver un compuesto de fórmula 10



30

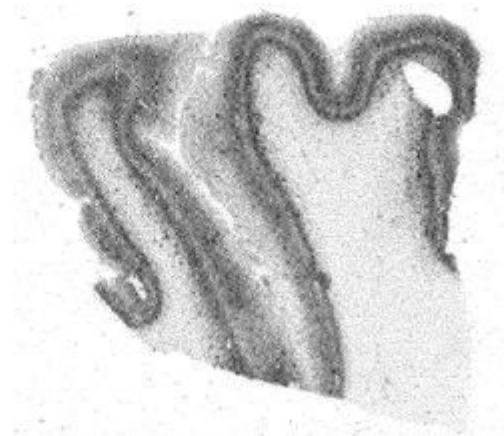
en dimetilsulfóxido y someter a ultrasonidos antes del final del bombardeo con ion [18]fluoruro acuoso a un compuesto de fórmula



y, si se desea, convertir los compuestos obtenidos en sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

- 5 4. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para su uso en la unión y obtención de imágenes de agregados de tau, agregados de amiloide beta o agregados de sinucleína alfa.
5. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para su uso en la unión y obtención de imágenes de agregados de tau en enfermos de Alzheimer.
- 10 6. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para su uso en la obtención de imágenes de diagnóstico de agregados de tau en el cerebro de un mamífero.
- 15 7. Una preparación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
8. Un procedimiento de obtención de imágenes de depósitos de agregados de tau, que comprende
- introducir en un mamífero una cantidad detectable de una preparación de acuerdo con la reivindicación 8;
- 20 - dejar tiempo suficiente para que el compuesto de fórmula I se asocie con depósitos de agregados de tau, y
- detectar el compuesto asociado con uno o más depósitos de agregados de tau.

Figura A



Autorradiograma de ^3H -2-(6-fluoro-piridin-3-il)-9H-dipirido[2,3-b;3',4'-d]pirrol

Figura B

