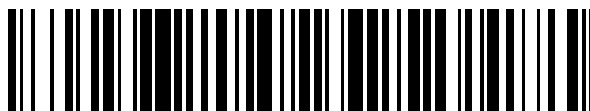


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 574**

51 Int. Cl.:

A61K 51/04 (2006.01)

C07D 209/88 (2006.01)

C07D 495/04 (2006.01)

A61K 101/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.03.2011 PCT/EP2011/054744**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.09.2011 WO11117421**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2011 E 11710228 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.08.2018 EP 2552891**

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

30 Prioridad:

13.09.2010 GB 201015203

13.09.2010 US 880218

02.08.2010 IN 1824DE2010

26.03.2010 WO PCT/EP2010/053998

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
05.11.2018

73 Titular/es:

GE HEALTHCARE LIMITED (100.0%)

Amersham Place

Little Chalfont, Buckinghamshire HP7 9NA, GB

72 Inventor/es:

ACHANATH, RADHA;

BALAJI, SRINATH;

FAIRWAY, STEVEN, MICHAEL;

MANTZILAS, DIMITRIOS;

MOKKAPATI, UMAMAHESHWAR;

O'SHEA, DENNIS;

PASSMORE, JOANNA, MARIE;

SHAN, BO;

TRIGG, WILLIAM, JOHN;

WADSWORTH, HARRY, JOHN y

KADAVILPPARAMPU MOHAMED, AFSAL,

MOHAMMED

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 688 574 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 indol tricíclicos como ligandos de PBR

Campo técnico de la invención

La presente invención hace referencia a formación de imágenes *in vivo* y en particular a formación de imágenes por tomografía con emisión de positrones (PET) de receptores de benzodiazepina periféricos (PBR). Se proporciona un trazador de PET basado en indol que se une con elevada afinidad a PBR, tiene buena captación en el cerebro tras la administración y tiene excelente unión selectiva a PBR. La presente invención también proporciona un compuesto precursor útil en la síntesis del trazador de PBR 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 trazador de PET de la invención que comprende el uso del compuesto de precursor de la invención, un estuche para llevar a cabo dicho método y un casete para llevar a cabo una versión automatizada de dicho método. Además, la invención proporciona una composición radiofarmacéutica que comprende el trazador de PET de la invención, así como también métodos para el uso de dicho trazador de PET.

Descripción de la técnica relacionada

Los receptores de benzodiazepina periféricos (PBR) se conocen por estar principalmente localizados en los tejidos periféricos y neuroglíocitos pero su función fisiológica sigue pendiente de elucidación. PBR también se denominan proteínas de translocador (TSPO). A nivel subcelular, se sabe que PBR se localizan en la membrana mitocondrial externa, lo que indica un papel potencial en la modulación de la función mitocondrial y el sistema inmunitario. Además, se ha postulado que PBR están implicados en la proliferación celular, esteroidogénesis, flujo de calcio y respiración celular.

La expresión anormal de PBR se ha asociado con estados de enfermedad inflamatorios del sistema nervioso central (CNS), incluyendo 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 (Cagnin et al 2001 Brain; 124 (Pt 10): 2014-27) y demencia asociada a SIDA (Hammoud et al 2005 J Neurovirol; 11(4): 346-55).

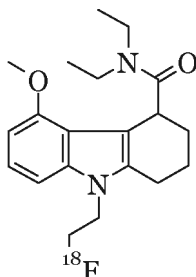
También en CNS, se ha documentado un vínculo con PBR en las enfermedades degenerativas tales como enfermedad de Parkinson (Gerhard et al 2006 Neurobiol Dis; 21(2): 404-12; Ouchi et al 2005 Ann Neurol; 57(2) 161-2), degeneración corticobasal (Gerhard et al 2004 Mov Disord; 19(10): 1221-6), parálisis supranuclear progresiva (Gerhard et al 2006 Neurobiol Dis; 21(2): 404-12), atrofia de sistema múltiple (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 Alzheimer (Cagnin et al 2001 Lancet; 358(9283): 766; Yasuno et al 2008 Biol Psychiatry; 64(10): 835-41).

Se ha comprobado la relación entre un número de afecciones isquémicas de CNS con la expresión anormal de PBR, incluyendo: accidente cerebrovascular isquémico (Gerhard et al 2005 Neuroimage; 24(2): 591-5), lesión del nervio periférico (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)). PBR se han postulado como biomarcador para determinar el alcance del daño en lesión cerebral traumática (Toyama et al 2008 Ann Nucle Med; 22(5): 417-24) con un aumento de la expresión de PBR presentado en un modelo de lesión cerebral traumática con animales (Venneti et al 2007 Exp Neurol; 207(1): 118-27). De manera interesante, el estrés agudo se ha correlacionado con un aumento de la expresión de PBR en el cerebro, mientras que el estrés crónico se ha correlacionado con la infra-regulación de PBR (Lehmann et al 1999 Brain Res; 851(1-2): 141-7). Se ha presentado como posible la desalineación de las fronteras de glioma mediante el uso de [¹¹C]PK₁₁₁₉₅ para producir imágenes de PBR (Junck et al 1989 Ann Neurol; 26(6): 752-8). PBR también se ha asociado con dolor neuropático, de forma que Tsuda et al han observado microglia activada en sujetos con dolor neuropático (2005 TINS 28(2) pp101-7).

En la periferia, la expresión de PBR se ha ligado a inflamación pulmonar (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), enfermedad intestinal inflamatoria (Ostuni et al 2010 Inflamm Bowel Dis; 16(9): 1476-1487), 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 de los nervios (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, próstata y 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 renal (Tam et al 1999 Nephrol Dial Transplant; 14(7): 1658-66; Cook et al 1999 Kidney Int; 55(4): 1319-26) y lesión por reperfusión-isquemia (Zhan et al 2006 J Am Coll Surg; 203(3): 353-64).

La formación de imágenes por tomografía con emisión de positrones (PET) usando el ligando selectivo PBR, (R)-[¹¹C]PK₁₁₁₉₅ proporciona un indicador genérico de inflamación del sistema nervioso central (CNS). No obstante, se sabe que (R)-[¹¹C]PK₁₁₁₉₅ tiene una elevada unión a proteínas, y baja especificidad frente a la unión no específica. Además, no se conoce el papel que juegan sus metabolitos radiomarcados, y la cuantificación de la unión requiere

modelización compleja. Por consiguiente, han existido intentos para desarrollar un agente de formación de imágenes *in vivo* para PBR que no presente estos problemas. Uno de dichos agentes de formación de imágenes *in vivo* es el derivado de indol tricíclico descrito en el documento WO 2010/109007, que tiene buena afinidad por PBR, excelente captación cerebral y especificidad frente a PBR, y elevada proporción de radioactividad en el cerebro 60 minutos después de la inyección, y representa un agente parental de formación de imágenes *in vivo*. El documento WO 2010/109007 divulga que un agente de formación de imágenes *in vivo* especialmente preferido es el siguiente compuesto marcado con ^{18}F .



Existe cabida para un agente de formación de imágenes *in vivo* aún mejor para la formación de imágenes de PBR.

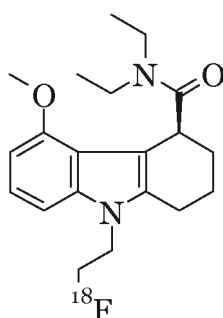
Sumario de la invención

La presente invención proporciona un trazador de PET que conserva las propiedades ventajosas del trazador de PET de indol tricíclico conocido, y también tiene un número de propiedades mejoradas. Se ha demostrado que, en comparación con un trazador de PET tricíclico conocido, el trazador de PET de la invención tiene afinidad de unión mejorada frente a PBR, perfil de metabolismo marginalmente mejorado con elevada proporción de actividad 60 minutos después de la inyección que representa actividad en el cerebro, y unión específica significativamente mejorada frente a tejidos que expresan PBR. La presente invención también proporciona un compuesto precursor útil en la preparación de un trazador de PET de la invención, así como también métodos para la preparación de dicho compuesto precursor y dicho trazador de PET. También se proporciona por medio de la presente invención una composición radiofarmacéutica que comprende el trazador de PET de la invención. También se proporcionan los métodos de uso del trazador de PET y la composición radiofarmacéutica.

Descripción detallada de la invención

Trazador PET

En un aspecto, la presente invención proporciona un trazador de tomografía de emisión de positrones (PET) que tiene la siguiente estructura química:

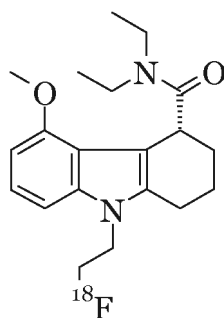


en la que el centro quiral tiene la configuración (S).

Un "trazador PET" es un compuesto químico que comprende un isótopo de emisión de positrones, en el que el compuesto químico está diseñado para dirigirse a una fisiología o patofisiología particular en un sistema biológico. La presencia del isótopo de emisión de positrones permite la detección del trazador de PET tras la administración al sistema biológico y, de este modo, facilita la detección de la fisiología o patofisiología particular.

Se ha comprobado que el trazador de PET de la invención tiene una afinidad casi 5 veces mayor que la de su enantiómero alternativo, y casi el doble que la mezcla racémica. También se ha encontrado que el trazador de PET de la invención se comporta mejor *in vivo* en comparación con su enantiómero alternativo. El trazador de PET de la invención también se comporta mejor *in vivo* en comparación con la mezcla racémica que comprende dicho trazador PET y su enantiómero alternativo.

El enantiómero alternativo del trazador PET de la invención tiene la siguiente estructura:



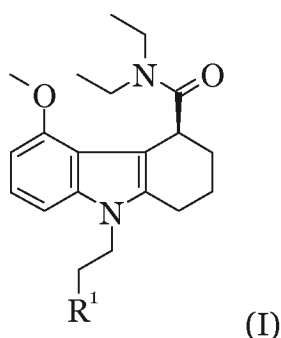
en la que el centro quiral tiene la configuración (R).

El término “enantiómero”, tal y como se usa en la presente invención, hace referencia a un compuesto enantiopuro, es decir, uno de las dos formas de imagen especular de una molécula ópticamente activa. Por tanto, un enantiómero es un compuesto que tiene únicamente una quiralidad, en la que el término “quiralidad” hace referencia a esa propiedad de un compuesto por medio de la cual carece de un plano interno de simetría y tiene una imagen especular no superponible. La característica que más frecuentemente provoca la quiralidad en los compuestos químicos es la presencia de un átomo de carbono asimétrico. Una mezcla equimolar de un par de enantiómeros se denomina en la presente memoria “racemato” o “mezcla racémica”.

En el experimento de biodistribución descrito en el Ejemplo 9 se muestra que el trazador de PET de la invención tiene una unión mejorada a tejido rico en PBR en el cerebro (es decir, bulbo olfativo) en comparación con su enantiómero alternativo y la mezcla racémica. Los resultados del experimento de bloqueo *in vivo* descrito en el Ejemplo 11 confirman este hallazgo. Los resultados del experimento descrito en el Ejemplo 10 demuestran que la actividad en el cerebro a los 60 minutos debida al compuesto parental se ve mejorada para el trazador de PET de la invención en comparación con la mezcla racémica del trazador de PET y su enantiómero alternativo. Además, en el experimento de autoradiografía descrito en el Ejemplo 12, se demostró que el trazador de PET de la invención presentaba una unión selectiva más elevada en áreas de neuroinflamación en comparación con la mezcla racémica que comprendía dicho trazador de PET y su enantiómero alternativo. También se encontró que el trazador de PET de la invención no formaba mezcla racémica tras la incubación en plasma humano o en la fracción S9 de rata durante períodos prolongados, como se describe en el Ejemplo 8 siguiente.

Compuesto parental

El trazador de PET de la invención se puede preparar por medio de un compuesto precursor apropiado. Por tanto, en otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto precursor para la preparación del trazador de PET de la invención, en el que dicho compuesto precursor es de Fórmula I:



en la que R¹ es un hidroxilo o es un grupo saliente.

Un “compuesto precursor” comprende un derivado no radioactivo del trazador de PET de la invención, diseñado de forma que la reacción química con una forma química apropiada de ¹⁸F tenga lugar con especificidad de sitio; se pueda llevar a cabo en el número mínimo de etapas (idealmente en una sola etapa); y sin necesidad de purificación significativa (idealmente sin purificación adicional), para proporcionar el trazador de PET de la invención. Dichos compuestos de precursor son sintéticos y se pueden obtener de forma apropiada con buena pureza química.

Un “grupo saliente” en el contexto de la presente invención hace referencia a un átomo o grupo de átomos que se

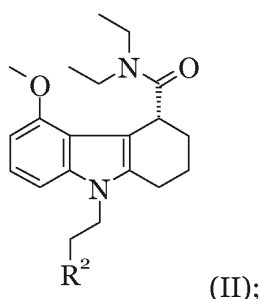
desplaza como especies estables durante una sustitución o reacción de radiofluoración con desplazamiento. Los ejemplos de grupos salientes apropiados son los halógenos cloro, bromo y yodo, y los ésteres de sulfonato mesilato, tosilato, nosilato y triflato. Preferentemente, dicho grupo saliente está seleccionado entre mesilato, tosilato y triflato, y de la manera más preferida mesilato. Cuando el grupo saliente es mesilato, el compuesto precursor se denomina en la presente memoria "compuesto precursor 1".

Preparación del compuesto precursor

El compuesto precursor de la invención se puede obtener por medio de una diversidad de diferentes rutas, cada una de las cuales forma un aspecto separado de la presente invención.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un primer método para preparar el compuesto precursor de Fórmula I como se define en la presente memoria, en el que dicho método comprende:

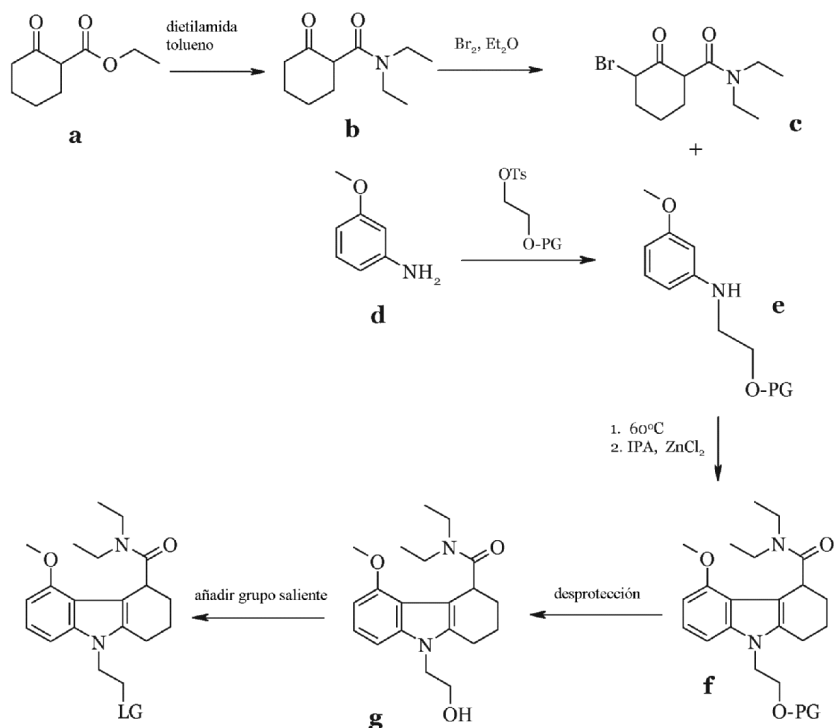
(i) proporcionar una mezcla racémica de dicho compuesto precursor de Fórmula I, como se define en la presente memoria, y un compuesto de Fórmula II:



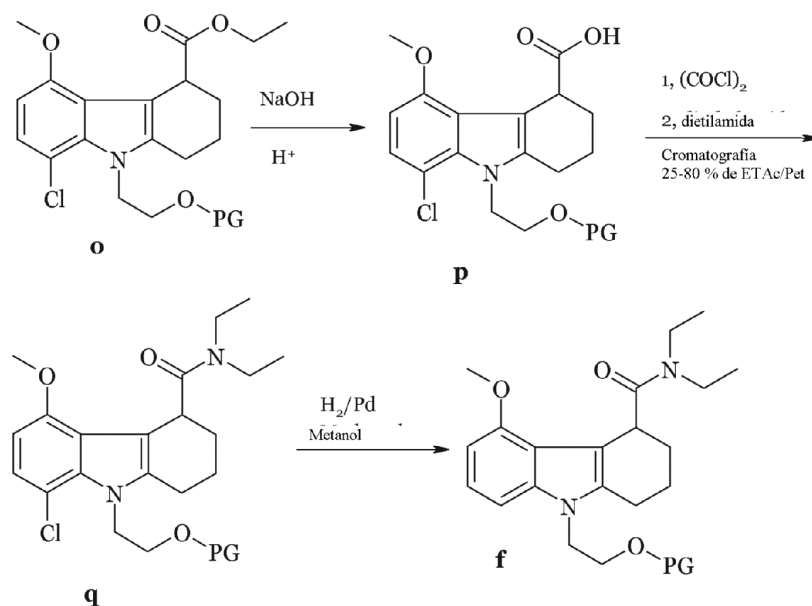
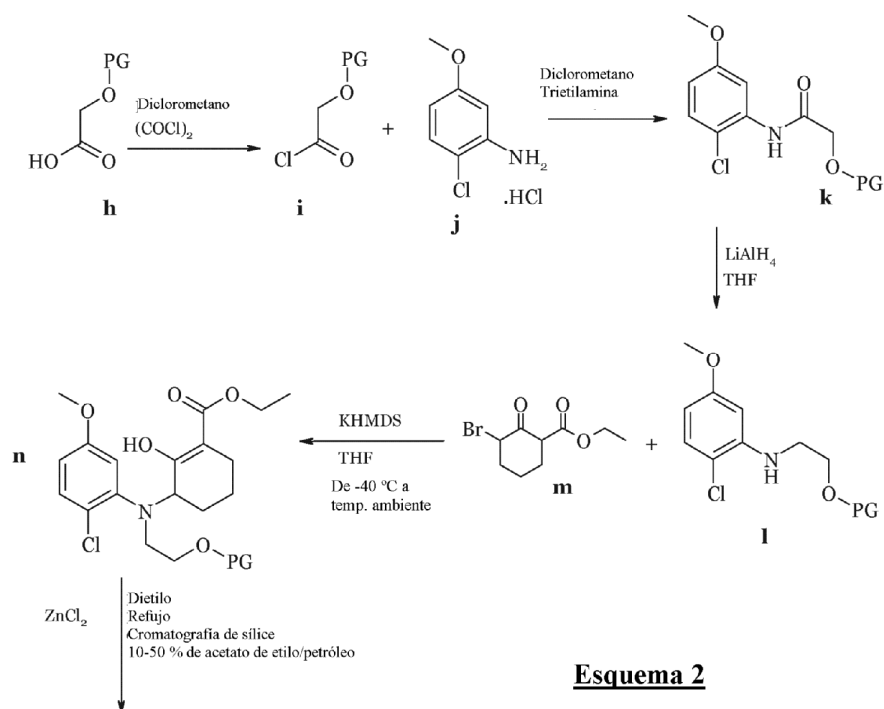
en la que R^2 es como se ha definido anteriormente para R^1 , y R^1 y R^2 son iguales;

(ii) separar dicho compuesto precursor de Fórmula I de dicho compuesto de Fórmula II.

La etapa de "separación" de dicho compuesto precursor de Fórmula I de dicho compuesto de Fórmula II se lleva a cabo por medio de una técnica de separación enantiomérica. Las técnicas de separación enantioméricas apropiadas incluyen cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC), cromatografía de fluidos supercríticos (SFC), cromatografía de lecho simulado (SBC). Una evaluación detallada de las diversas técnicas que se pueden aplicar para la separación enantiomérica se puede encontrar en "Chiral Separation Techniques: a Practical Approach" (2007 Wiley; Subramanian, Ed.).

**Esquema I**

El esquema 1 anterior ilustra un método para obtener la mezcla racémica del compuesto precursor de Fórmula I y el compuesto de Fórmula II. En el Esquema 1, PG representa un grupo protector de hidroxilo; LG representa un grupo saliente como se define en la presente memoria; OTs representa un grupo saliente de tosilato; e IPA representa un alcohol isopropílico. El compuesto **g** es un compuesto precursor de la invención en el que R¹ es hidroxilo. Los grupos protectores de hidroxilo apropiados se conocen bien en la técnica e incluyen acetilo, bencilo, benzoílo, éteres de sililo, éteres de alquilo y éteres de alcóximetilo. Los grupos protectores se comentan con más detalle por parte de Theodorora W. Greene y Peter G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Synthesis" (Cuarta Edición, John Wiley & Sons, 2007). En el contexto de la presente invención, un grupo protector de hidroxilo preferido es bencilo. El Esquema 1 anterior está basado en los métodos para obtener compuestos similares descritos por parte de Napper et al (J Med Chem 2005; 48: 8045-54) y por parte de Davies et al (J Med Chem 1998: 41: 451-467).

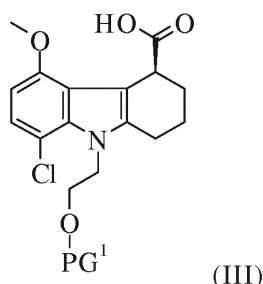


El esquema 2 anterior muestra un método alternativo para obtener una mezcla racémica del compuesto precursor de Fórmula I y el compuesto de Fórmula II. En el Esquema 2, PG es un grupo protector de hidroxilo como se ha definido anteriormente, THF es tetrahidrofurano, KHMDS es bis(trimetilsilil)amida de potasio. A partir del compuesto f, el Esquema 2 continua como se ilustra en el Esquema 1 a partir del compuesto f para obtener la mezcla racémica resultante. El Esquema 2 se basa en el método divulgado en el documento WO 2003/014082. En esta ruta sintética, el cloro en la posición inferior del anillo del lado izquierdo provoca que la ciclación tenga lugar justo en un sentido. No obstante, cuando los presentes inventores aplicaron directamente las consideraciones del documento WO 2003/014082 para obtener la mezcla racémica del compuesto precursor de Fórmula I y el compuesto de Fórmula II, el rendimiento fue bajo. Este problema se soluciona mediante modificación del sistema de disolvente usado para la etapa de ciclación. En el documento WO 2003/014082 la etapa de ciclación se lleva a cabo en tolueno, mientras que los

presentes inventores descubrieron que se obtienen rendimientos óptimos cuando se usa éter dietílico en lugar de tolueno. El producto de la etapa de ciclación se disuelve en éter dietílico mientras que el compuesto de partida no ciclado no se disuelve. Por tanto, el compuesto de partida no ciclado permanece con ZnCl_2 en la parte inferior del recipiente de reacción, y el producto ciclado se mueve al interior del éter dietílico en la parte superior del recipiente de reacción.

Un segundo método para obtener el compuesto de precursor de Fórmula I comprende:

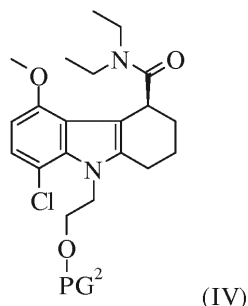
(i) proporcionar un compuesto de Fórmula III:



en la que PG^1 es un grupo protector de hidroxilo;

(ii) convertir dicho compuesto de Fórmula II en su correspondiente cloruro de ácido;

(iii) hacer reaccionar el cloruro de ácido obtenido en la etapa (ii) con dietilamina para obtener un compuesto de Fórmula IV:



en la que PG^2 es un grupo protector de hidroxilo y es el mismo que PG^1 :

(iv) retirar el átomo de cloro-8 y desproteger el compuesto de Fórmula IV obtenido en la etapa (iii) para obtener el derivado de hidroxilo;

(v) opcionalmente añadir un grupo saliente como se ha definido con anterioridad.

Ambas etapas (iv) y (v) tienen como resultado un compuesto precursor de Fórmula I como se define en la presente memoria, la etapa (iv) en la que R^1 de Fórmula I es un hidroxilo y la etapa (v) en la que R^1 de la Fórmula I es un grupo saliente.

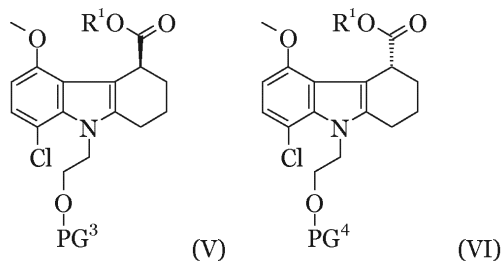
La etapa (ii) de “conversión” de dicho compuesto de Fórmula III en el cloruro de ácido se puede llevar a cabo con un reactivo seleccionado entre cloruro de oxarilo, cloruro de tionilo, tricloruro de fósforo o pentacloruro de fósforo. Se prefiere cloruro de oxalilo.

La etapa de “desprotección” hace referencia a la retirada del grupo protector de hidroxilo, y se puede llevar a cabo por un medio bien conocido por los expertos en la técnica. El grupo protector de hidroxilo PG^1 es como se ha definido anteriormente para PG en el Esquema 1. El método usado se adapta al grupo protector de hidroxilo particular. Las estrategias típicas para la retirada de los grupos protectores de hidroxilo incluyen hidrogenólisis, y tratamiento con un ácido o una base.

La etapa de “adición” del grupo saliente se puede llevar a cabo haciendo reaccionar el compuesto **g** del Esquema 1 anterior con un derivado de haluro del grupo saliente deseado en condiciones de reacción apropiadas. Por ejemplo, para añadir un mesilato, se puede hacer reaccionar el compuesto **g** del Esquema 1 anterior con cloruro de metanosulfonilo en presencia de una base, por ejemplo, una base de amina tal como trietilamina.

En la etapa (i) de dicho segundo método para obtener el compuesto precursor de Fórmula I, el compuesto de Fórmula III se puede proporcionar por varias rutas. Por ejemplo, por medio de un método que comprende:

(a) proporcionar una mezcla racémica de un compuesto de Fórmula V y un compuesto de Fórmula VI:



en la que:

R¹ es un alcohol quiral; y,

PG³ y PG⁴ son iguales y cada uno es un grupo protector de hidroxilo;

(b) separar el compuesto de Fórmula V del compuesto de Fórmula VI;

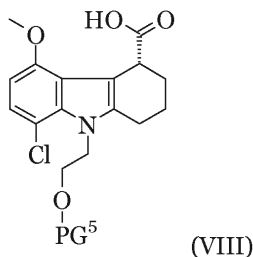
(c) retirar R¹ del compuesto separado de Fórmula V usando condiciones ácidas dando como resultado, de este modo, dicho compuesto de Fórmula III.

La expresión “mezcla racémica” es como se define previamente en la presente memoria. La expresión “alcohol quiral” hace referencia a un enantiómero de un alcohol ópticamente activo, en el que el término “enantiómero” es como se ha definido previamente en la presente memoria. El término “alcohol” hace referencia a un compuesto orgánico que comprende un grupo hidroxilo ligado a un átomo de carbono. Los alcoholes quirales preferidos para su uso en el método descrito anteriormente son mentol y borneol.

El alcohol quiral se escinde del compuesto separado de Fórmula V por medio de hidrólisis de ácido. Los ácidos apropiados para su uso en la presente etapa incluyen ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, preferentemente ácido clorhídrico 2 molar y ácido sulfúrico 1 molar.

En un aspecto alternativo, el compuesto de Fórmula III se puede proporcionar usando un método que comprende:

(a) proporcionar una mezcla racémica de dicho compuesto de Fórmula III y un compuesto de Fórmula VIII:



en la que PG⁵ es un grupo protector de hidroxilo y es el mismo que PG¹ como se ha definido anteriormente para la Fórmula III;

(b) hacer reaccionar la mezcla como se ha definido en la etapa (a) con una amina ópticamente activa para separar dicho compuesto de Fórmula III de dicho compuesto de Fórmula VIII.

Se puede obtener una mezcla racémica de dicho compuesto de Fórmula III y dicho compuesto de Fórmula VIII de acuerdo con el método ilustrado en el Esquema 2 anterior, en el que la mezcla racémica deseada es el compuesto **p** como se ilustra en la presente memoria.

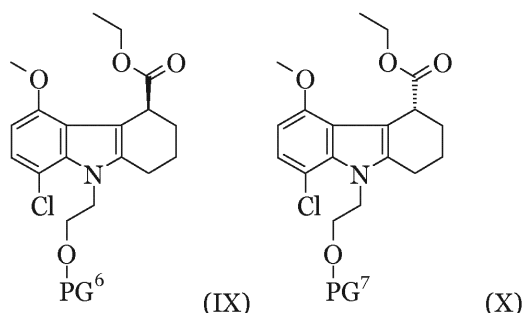
Una amina ópticamente activa apropiada para su uso en el método anteriormente descrito se puede seleccionar entre S-alfa-metilbencilamina, R-(+)-N-(1-naftilmetil)-alfabencilamina, N-(2-hidroxil) etil-alfa-metil bencil amina, y 1-(p-

tolil)etilamina. Otras aminas ópticamente activas apropiadas para su uso en el proceso anterior se encuentran fácilmente disponibles, por ejemplo, en Aldrich Chemical Company.

La etapa (b) de reacción de la mezcla de la etapa (a) con una amina ópticamente activa para separar dicho compuesto de Fórmula III de dicho compuesto de Fórmula IV inicialmente genera dos sales diastereoisoméricas. Estas sales diastereoisoméricas se separan por medio de cristalización a partir de un disolvente apropiado tal como acetona, o acetato de etilo. Las sales separadas se tratan con un ácido mineral tal como ácido clorhídrico 2 N o ácido sulfúrico 1 M para regenerar dicho compuesto de Fórmula III separado de dicho enantiómero de Fórmula VIII. El compuesto de Fórmula III se recupera entonces por medio de extracción en acetato de etilo, se separa de la fase acuosa y se concentra a vacío para proporcionar el enantiómero de Fórmula III.

En una alternativa adicional, el compuesto de Fórmula III se puede obtener usando un método que comprende:

(a) proporcionar una mezcla racémica de un compuesto de Fórmula IX y un compuesto de Fórmula X:



en la que PG⁶ y PG⁷ son iguales y son cada uno de ellos un grupo protector de hidroxilo;

(b) hacer reaccionar la mezcla que se ha definido en la etapa (a) con una enzima estereo selectiva para obtener dicho compuesto de Fórmula III en la que dicha enzima estereo selectiva lleva a cabo la hidrólisis de éster del compuesto de Fórmula IX.

La mezcla racémica de dicho compuesto de Fórmula IX y dicho compuesto de Fórmula X se puede obtener de acuerdo con el método ilustrado anteriormente en el Esquema 2, en el que la mezcla racémica deseada es el compuesto o que se ilustra en la presente memoria.

Una enzima estereo selectiva apropiada para su uso en el método anteriormente descrito puede estar seleccionada entre lipasa B de *Candida antarctica*, esterasa hepática porcina, lipasa pancreática porcina u otras enzimas estereo selectivas conocidas que actúan de manera similar.

Preparación del trazador PET

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar el trazador PET de la invención en el que dicho método comprende la reacción del compuesto precursor de Fórmula I con una fuente apropiada de ¹⁸F. La reacción con ¹⁸F puede lograrse por medio de desplazamiento nucleófilo de un grupo saliente presente en la posición R¹ del compuesto precursor de Fórmula I. El compuesto precursor se puede marcar en una etapa por medio de reacción con una fuente apropiada de ión de [¹⁸F]-fluoruro (¹⁸F⁻), que normalmente se obtiene en forma de disolución acuosa a partir de la reacción nuclear ¹⁸O(p,n)¹⁸F y se hace reactivo por medio de la adición de un contraión catiónico y la posterior retirada de agua. Los contraiones catiónicos apropiados deberían poseer solubilidad suficiente dentro del disolvente de reacción anhidro para mantener la solubilidad de ¹⁸F. Por tanto, los contraiones que se han usado incluyen iones metálicos grandes pero suaves tales como rubidio o cesio, potasio complejoado con criptando tal como KryptofixTM o sales de tetraquilamonio. Una contraión preferido es potasio complejoado con un criptando tal como KryptofixTM debido a su buena solubilidad en disolventes anhidros y la reactividad mejorada de ¹⁸F⁻. ¹⁸F también se puede introducir por medio de O-alkilación de un grupo hidroxilo en la posición R¹ en el compuesto precursor con ¹⁸F(CH₂)₃-LG en la que LG representa un grupo saliente como se ha definido con anterioridad.

Una discusión más detallada de técnicas de marcaje con ¹⁸F bien conocidas se puede encontrar en el capítulo 6 de "Handbook of Radiopharmaceuticals" (2003: John Wiley and Sons: M. J. Welch and C. S. Redvanly, Eds.).

En una realización preferida, el método para preparar el trazador de PET de la invención está automatizado. Los radiotrazadores-[¹⁸F] pueden prepararse de manera apropiada de forma automatizada por medio de un aparato de radiosíntesis automatizado. Existen diversos ejemplos comercialmente disponibles de dicho aparato, incluyendo TracerlabTM y FastlabTM (ambos de GE Healthcare Ltd.). Dicho aparato comúnmente comprende un "casete", con frecuencia desechable, en el que se lleva a cabo la radioquímica, que se encaja en el aparato con el fin de llevar a cabo la radiosíntesis. El casete normalmente incluye trayectorias de fluido, un recipiente de reacción, y puertos para

recibir los viales de reactivo así como también cualesquiera cartuchos de extracción en fase sólida usados en la etapa de limpieza posterior a la radiosíntesis.

Por tanto, la presente invención proporciona en otro aspecto un casete para la síntesis automatizada del trazador de PET como se define en la presente memoria que comprende:

- 5 i) un recipiente que contiene el compuesto precursor de Fórmula I como se define en la presente memoria; y,
- ii) medios para eluir el recipiente de la etapa (i) con una fuente apropiada de ^{18}F como se define en la presente memoria.

Para la casete de la invención, las realizaciones preferidas y apropiadas del compuesto precursor de Fórmula I, y la fuente apropiada de ^{18}F son como se ha definido previamente en la presente memoria.

- 10 El casete puede comprender adicionalmente:

iii) un cartucho de intercambio iónico para la retirada del exceso de ^{18}F .

Composición radiofarmacéutica

- 15 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición radiofarmacéutica que comprende el trazador de PET como se define en la presente memoria junto con un vehículo biocompatible apropiado para la administración a un mamífero.

El "vehículo biocompatible" es un fluido, especialmente un líquido, en el que el trazador de PET de la invención se suspende o disuelve, de forma que la composición radiofarmacéutica sea fisiológicamente tolerable, por ejemplo, se puede administrar al cuerpo de un mamífero sin toxicidad o molestia no deseada. El vehículo biocompatible, de manera apropiada, es un líquido de vehículo inyectable tal como agua carente de pirógeno estéril para inyección; una disolución acuosa tal como una disolución salina (que puede estar equilibrada ventajosamente de forma que el producto final para inyección sea bien isotónico o bien no hipotónico); una disolución acuosa de una o más sustancias de ajuste de tonicidad (por ejemplo, sales de cationes de plasma con contraiones biocompatibles), azúcares (por ejemplo, glucosa o sacarosa), alcoholes de azúcar (por ejemplo, sorbitol o manitol), glicoles (por ejemplo, glicerol) u otros materiales de poliol no iónicos (por ejemplo, polietilenglicoles, propilen glicoles). El vehículo biocompatible también puede comprender disolventes orgánicos biocompatibles tales como etanol. Dichos disolventes orgánicos son útiles para solubilizar compuestos o formulaciones más lipófilas. Preferentemente, el vehículo biocompatible es agua carente de pirógenos para inyección, disolución salina isotónica o una disolución acuosa de etanol. El pH del vehículo biocompatible para inyección intravenosa está, de manera apropiada, dentro del intervalo de 4,0 a 10,5.

La composición radiofarmacéutica se puede administrar por vía parenteral, es decir, por medio de inyección, y es lo más preferentemente una disolución acuosa. Dicha composición puede contener opcionalmente ingredientes adicionales tales como tampones; solubilizantes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, ciclodextrinas o tensioactivos tales como Pluronic, Tween o fosfolípidos); estabilizadores farmacéuticamente aceptables o antioxidantes (tales como etanol, ácido ascórbico, ácido gentísico o ácido *para*-aminobenzoico). Cuando el trazador de PET de la invención se proporciona como composición radiofarmacéutica, el método de preparación de dicho trazador de PET puede comprender además las etapas necesarias para obtener una composición radiofarmacéutica, por ejemplo, la retirada del disolvente orgánico, adición de un tampón biocompatible e ingredientes adicionales opcionales. Para la administración parenteral, también se tienen que acometer las etapas para garantizar que la composición radiofarmacéutica sea estéril y apirógena. Dichas etapas se conocen bien por parte del experto en la técnica.

Método de formación de imágenes de PET

El trazador de PET de la invención es útil para la detección *in vivo* de la expresión del receptor de PBR en un sujeto. Por tanto, en otro aspecto, la presente invención proporciona el trazador de PET de la invención para su uso en un método de formación de imágenes de PET para determinar la distribución y/o el alcance de la expresión de PBR en un sujeto, en el que dicho método comprende:

- 45 i) administrar a dicho sujeto el trazador de PET como se define en la presente memoria;
- ii) permitir que dicho trazador de PET se una a PBR en dicho sujeto;
- iii) detectar señales emitidas por el ^{18}F presente en dicho trazador de PET ligado;
- iv) generar una imagen representativa de la ubicación y/o cantidad de dichas señales; y
- 50 v) determinar la distribución y alcance de la expresión de PBR en dicho sujeto en el que dicha expresión está directamente correlacionada con dichas señales.

La etapa de "administración" del trazador de PET se lleva a cabo preferentemente de forma parenteral, y lo más

preferentemente por vía intravenosa. La ruta intravenosa representa el modo más eficiente para suministrar el trazador de PET en todo el cuerpo del sujeto, y por tanto, también a través de la barrera sangre-cerebro (BBB) y en contacto con el PBR expresado en el sistema nervioso central (CNS) de dicho sujeto. La administración intravenosa no representa una intervención física sustancial ni un riesgo sustancial para la salud del sujeto. El trazador de PET de la invención se administra preferentemente en forma de composición radiofarmacéutica de la invención, como se define en la presente memoria. No se requiere la etapa de administración para una definición completa del método de formación de imágenes PET de la invención. Como tal, el método de formación de imágenes PET de la invención también se puede comprender como que comprende las etapas (ii)-(v) anteriormente definidas en las que el sujeto de la etapa (ii) es uno al cual se ha pre-administrado el trazador de PET de la invención.

Tras la etapa de administración y antes de la etapa de detección, se permite la unión del trazador de PET para unirse a PBR. Por ejemplo, cuando el sujeto es un mamífero intacto, el trazador de PET se mueve dinámicamente a través del cuerpo del mamífero, entrando en contacto con los diversos tejidos del mismo. Una vez que el trazador de PET entra en contacto con PBR, tiene lugar una interacción específica de forma que la eliminación del trazador de PET del tejido con PBR tarda más que a partir del tejido carente o con menos contenido de PBR. Se alcanza un determinado momento en el que se permite la detección del trazador de PET ligado específicamente a PBR como resultado de la relación entre el trazador de PET ligado al tejido con PBR frente al ligado al tejido carente o con menos PBR.

La etapa de “detección” del método de la invención implica la detección de señales emitidas por medio de ^{18}F presente en el trazador de PET por medio de un detector sensible a dichas señales, es decir, una cámara de PET. Esta etapa de detección también se puede comprender como la adquisición de datos de señal.

La etapa de “generación” del método de la invención se lleva a cabo por medio de un ordenador que aplica un algoritmo de reconstrucción a los datos de la señal adquirida para producir un conjunto de datos. Este conjunto de datos se manipula posteriormente para generar imágenes que muestran la ubicación y/o la cantidad de señales emitidas por ^{18}F . Las señales emitidas están directamente correlacionadas con la expresión de PBR de manera que se puede llevar a cabo la etapa de “determinación” mediante evaluación de la imagen generada.

El “sujeto” de la invención puede ser cualquier ser humano o animal. Preferentemente, el sujeto de la invención es un mamífero. Lo más preferentemente, dicho sujeto es un cuerpo de mamífero intacto *in vivo*. En una realización especialmente preferida, el sujeto de la invención es un ser humano. Se puede usar el método de formación de imágenes *in vivo* para estudiar PBR en sujetos sanos, o en sujetos en los que se sabe o se sospecha que tienen una afección patológica asociada con la expresión anormal de PBR (en lo sucesivo una “afección de PBR”). Preferentemente, dichos métodos se refieren a la formación de imágenes *in vivo* de un sujeto que se sabe o se sospecha que tiene una afección de PBR; y por tanto tiene utilidad en un método para la diagnosis de dicha afección.

Los ejemplos de dichas afecciones de PBR en las cuales la formación de imágenes *in vivo* sería de utilidad incluyen esclerosis múltiple, encefalitis de Rasmussen, vasculitis cerebral, encefalitis herpética, demencia asociada a SIDA, enfermedad de Parkinson, degeneración corticobasal, parálisis supranuclear progresiva, atrofia de sistema múltiple, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, apoplejía isquémica, lesión del nervio periférico, epilepsia, lesión cerebral traumática, estrés agudo, estrés crónico, dolor neuropático, inflamación pulmonar, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, enfermedad intestinal inflamatoria, artritis reumatoide, fibromialgia primaria, lesión de los nervios, aterosclerosis, inflamación renal, lesión por isquemia-reperusión, y cáncer, en particular cáncer de colon, próstata o mama. El trazador de PET de la invención resulta particularmente apropiado para la formación de imágenes *in vivo* de CNS debido a su buena captación cerebral.

En una realización alternativa, el método de formación de imágenes de PET de la invención se puede llevar a cabo repetidamente durante el transcurso de un régimen de tratamiento para dicho sujeto, comprendiendo dicho régimen la administración de un fármaco para combatir una afección de PBR. Por ejemplo, el método de formación de imágenes PET de la invención se puede llevar a cabo antes, durante o después del tratamiento con un fármaco para combatir una afección de PBR. De este modo, el efecto de dicho tratamiento se puede supervisar con el tiempo. PET resulta particularmente apropiado para esta aplicación y tiene excelente sensibilidad y resolución, de forma que incluso se pueden observar cambios relativamente pequeños en una lesión con el tiempo, una ventaja particular para la supervisión del tratamiento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el trazador PET de la invención para su uso en un método para la diagnosis de una afección en la que PBR se encuentra sobre-regulado, de forma que dicho método comprende el método de formación de imágenes de PET que se ha definido anteriormente, junto con una etapa adicional (vi) de atribución de la distribución y el alcance de la expresión de PBR a una imagen clínica particular.

Los aspectos apropiados y preferidos de cualquier característica presente en múltiples aspectos de la presente invención son como se define para dichas características en el primer aspecto en el que se describen en la presente memoria. La invención ahora se ilustra por medio de una serie de ejemplos.

Breve descripción de los ejemplos

El Ejemplo 1 describe la síntesis de la mezcla racémica que comprende el compuesto precursor de Fórmula I y el enantiómero de Fórmula II.

- 5 El Ejemplo 2 describe la síntesis de la mezcla racémica no radiactiva que comprende el análogo no radiactivo del trazador de PET de la invención junto con su enantiómero alternativo.

El Ejemplo 3 describe la síntesis del compuesto precursor 1/enantiómero activo.

El Ejemplo 4 describe la síntesis del agente 1 de formación de imágenes/enantiómero activo.

El Ejemplo 5 describe la síntesis del agente 1 de formación de imágenes no radiactivo/enantiómero activo.

El Ejemplo 6 describe el método usado para determinar la estereoquímica absoluta.

- 10 El Ejemplo 7 describe un ensayo *in vivo* usado para evaluar la unión del Racemato 1 no radiactivo y sus dos enantiómeros.

El Ejemplo 8 describe el método usado para investigar la estabilidad quiral del trazador de PET de la invención *in vitro*.

El Ejemplo 9 describe un método usado para evaluar la biodistribución *in vivo* del trazador de PET de la invención, su enantiómero alternativo, y la mezcla racémica de los dos.

- 15 El Ejemplo 10 describe un experimento para evaluar el metabolismo del trazador de PET de la invención, y la mezcla racémica que comprende dicho trazador de PET y su enantiómero alternativo.

El Ejemplo 11 describe un ensayo de bloqueo *in vivo* usado para evaluar el trazador de PET de la invención, y la mezcla racémica que comprende dicho trazador de PET y su enantiómero alternativo.

- 20 El Ejemplo 12 describe un modelo animal de inflamación usado para evaluar el trazador PET de la invención, y la mezcla racémica que comprende dicho trazador de PET y su enantiómero alternativo.

Breve descripción de las figuras

Las Figuras 1 a 4 hacen referencia al Ejemplo 4 y muestran las trazas de HPLC radioactiva (superior) y UV (inferior) obtenidas usando el método semi-preparativo para el trazador PET de la invención y su enantiómero alternativo, respectivamente.

- 25 Las Figuras 2 y 5 hacen referencia al Ejemplo 4 y muestran las trazas de HPLC obtenidas usando el método aquiral analítico para el trazador de PET de la invención y su enantiómero alternativo, respectivamente.

Las Figuras 3 y 6 hacen referencia al Ejemplo 4 y muestran trazas de HPLC obtenidas usando el método de HPLC quiral para el trazador de PET de la invención y su enantiómero alternativo, respectivamente.

- 30 La Figura 7 hace referencia al Ejemplo 8 y muestra cromatogramas de superposición del trazador de PET y un enantiómero alternativo, disuelto en acetonitrilo a una concentración de 0,1 mg/ml.

La Figura 8a hace referencia al Ejemplo 8 y muestra un cromatograma del trazador de PET disuelto en acetonitrilo a una concentración de 0,1 mg/ml.

La Figura 8b hace referencia al Ejemplo 8 y muestra un cromatograma del trazador de PET (0,1 mg/ml) añadido al plasma humano y sometido a extracción antes de la incubación.

- 35 La Figura 8c hace referencia al Ejemplo 8 y muestra un cromatograma del trazador de PET (0,1 mg/ml) incubado con plasma humano y sometido a extracción.

Listado de abreviaturas usadas en los ejemplos

AUFS	Escala completa de unidades de absorbancia
ac	Acuoso
DCM	Diclorometano
DFT	Teoría funcional de densidad
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	Dimetilformamida

EDC	Hidrocloreuro de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida
EOS	Final de la síntesis
EtOAc	Acetato de etilo
FNA	Axotomía del nervio facial
IPA	Alcohol isopropílico
IR	Infra rojos
LC-MS	Cromatografía de líquidos – espectrometría de masas
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
RMN	Resonancia magnética nuclear
OBn	Benciloxi
OMs	Mesilato
OTs	Tosilato
PET	Tomografía de emisión de positrones
QMA	Metil amonio cuaternario
RT	Temperatura ambiente
SFC	Cromatografía de fluidos supercríticos
SPE	Extracción en fase sólida
TLC	Cromatografía en capa fina
Tol	Tolueno
VCD	Dicromismo circular vibratorio

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis de una mezcla racémica del compuesto de precursor de mesilato de la invención (“Compuesto Precursor 1”) y su enantiómero alternativo

Ejemplo 1(a): Cloruro de benciloxi acetilo (1)

- 5 Se añadió cloruro de oxalilo (9,1 g, 72,0 mmol, 6,0 ml) y DMF (30,0 mg, 0,4 mmol, 32,0 µl) a ácido benciloxiacético (10,0 g, 60,0 mmol, 8,6 ml) en diclorometano (50 ml). Se produjo inicialmente un rápido desprendimiento de gas a medida que transcurrió la reacción pero el desprendimiento se vio interrumpido cuando la reacción fue completa. Se concentró *a vacío* la disolución de diclorometano para proporcionar 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. Se produjo un rápido desprendimiento de gas y la reacción se agitó durante 2 h adicionales. Se concentró posteriormente la reacción *a vacío* para permitir la obtención de 11,0 g (cuantitativo) de cloruro de benciloxi acetilo (1) en forma de goma. Se confirmó la estructura por medio de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δc 73,6, 74,8, 128,1, 128,4, 128,6, 130,0 y 171,9.

Ejemplo 1(b): 2-Benciloxi-N-(2-cloro-5-metoxi-fenil) acetamida (2)

- 15 Cloruro de benciloxi acetilo (1) (11,0 g, 60,0 mmol) y hidrocloreuro de 2-cloro-5-metoxianilina (11,7 g, 60,2 mmol) en diclorometano (100 ml) a 0 °C, se agitó y se añadió trietilamina (13,0 g, 126,0 mmol, 18,0 ml) durante 15 minutos. Se permitió el calentamiento de la reacción agitada hasta RT durante 18 h. Se produjo una rápida precipitación de hidrocloreuro de trietilamina. Se lavó la disolución de diclorometano con carbonato de potasio acuoso al 10 % (50 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* para permitir la obtención de 18,9 g (cuantitativo) de 2-benciloxi-N-(2-cloro-5-metoxi-fenil) acetamida (2) en forma de goma. Se confirmó la estructura por medio de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δc 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.

Ejemplo 1(c): (2-benciloxi-etil)-(2-cloro-5-metoxifenil) amina (3)

Se agitó 2-benciloxi-N-(2-cloro-5-metoxi-fenil) acetamida (2) (18,9 g, 62,0 mmol) en THF (100 ml) y se añadió

lentemente hidruro de litio y aluminio (4,9 g, 130,0 mmol) durante 15 minutos. Se produjo un rápido desprendimiento de gas de hidrógeno cuando se añadió por primera vez el hidruro de litio y aluminio. Se calentó posteriormente la reacción a reflujo durante 4 h y se permitió el reposo a temperatura ambiente durante el fin de semana. Posteriormente, se inactivó la reacción por medio de la adición gota a gota de agua (50 ml) a la disolución agitada. Se produjo un desprendimiento violento de hidrógeno que provocó que la mezcla de reacción alcanzara el reflujo. A continuación, se concentró la reacción a vacío hasta una suspensión. Se añadieron agua (200 ml) y acetato de etilo (200 ml) y se agitó la mezcla de forma intensa. Después se filtró la reacción a través de celite para retirar el hidróxido de aluminio precipitado y se separó una disolución de acetato de etilo, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío para permitir la obtención de 18,4 g (cuantitativo) de (2-benciloxi-etil)-(2-cloro-5-metoxifenil) amina (3) en forma de goma. La estructura se confirmó por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 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 de ácido 3-bromo-2-hidroxi-ciclohex-1-encarboxílico (4)

Se disolvió 2-oxociclohexanocarboxilato de etilo (30 g, 176 mmol, 28 ml) en éter dietílico (30 ml) y se enfrió a 0 °C bajo nitrógeno. Se añadió bromo (28 g, 176 mmol, 9,0 ml) gota a gota durante 15 minutos y se permitió el calentamiento de la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 90 minutos. Se vertió la mezcla lentamente en carbonato de potasio acuoso saturado y enfriado en hielo (250 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 200 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio, se filtró, y se concentró a vacío y se secó sobre una línea de vacío durante 18 h para permitir la obtención de 41,4 g (94 %) de éster etílico de ácido 3-bromo-2-hidroxi-1-encarboxílico (4) en forma de aceite amarillo. Se confirmó la estructura por medio de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 14,1, 17,7, 21,8, 32,0, 60,0, 60,8, 99,7, 166,3 y 172,8.

Ejemplo 1(e): éster etílico de ácido 3[2-benciloxi-etil]-(2-cloro-5-metoxi-fenil)-amino]-2-hidroxi-ciclohex-1-encarboxílico (5)

Se agitó (2-benciloxi-etil)-(2-cloro-5-metoxifenil)amina (3) (10,0 g, 34,2 mmol) y se agitó en THF seco (100 ml) a -40 °C bajo nitrógeno y se añadió bis(trimetilsilil)amida de potasio (143,0 ml de una disolución de 0,5 M en tolueno, 72,0 mmol) durante 30 minutos. Posteriormente, se añadió éster etílico de ácido 3-bromo-2-hidroxyciclohex-1-encarboxílico (4) (8,5 g, 34,2 mmol) en THF seco (10 ml) y se permitió el calentamiento a RT durante un periodo de 1,5 horas. Se añadió ácido acético (10,0 g, 166 mmol, 10,0 ml) y se concentró a vacío para retirar el THF. Se añadió acetato de etilo (200 ml) y carbonato de potasio al 10 % (100 ml) y se agitó la mezcla de forma intensa. Se separó la disolución de acetato de etilo, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío para permitir la obtención de 16,5 g (cuantitativo) de éster etílico de 3[(2-benciloxi-etil)-(2-cloro-5-metoxi-fenil)-amino]-2-hidroxi-ciclohex-1-en-carboxílico (5) en forma de goma que se usó bruta en la siguiente etapa. HPLC (Gemini 150 x 4,6 mm, 50-95 % de metanol/agua durante 20 minutos) 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. RMN ^{13}C (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 de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (6)

Se añadió cloruro de cinc (7,1 g, 52,0 mmol) a éster etílico de ácido 3[(2-benciloxi-etil)-(2-cloro-5-metoxi-fenil)-amino]-2-hidroxi-ciclohex-1-en-carboxílico (8,0 g, 17,0 mmol) en éter dietílico seco (150 ml) bajo nitrógeno y se calentó a reflujo durante 5,5 h. A medida que la reacción experimentó reflujo, se formó un aceite denso marrón espeso. Posteriormente, se enfrió la reacción y se decantó el éter dietílico de sobrenadante, se añadió acetato de etilo (100 ml), se lavó con HCl 2 N (50 ml) y carbonato de potasio acuoso al 10 % (50 ml). Se separó la fase de éter dietílico, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío para permitir la obtención de un aceite (2,0 g). Se purificó el material bruto por medio de cromatografía de gel de sílice eluyendo con petróleo (A): acetato de etilo (B) (10-40 % (B), 340 g, 22 CV, 150 ml/min) para permitir la obtención de 1,8 g de éster etílico de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (6). Se trató la fase marrón densa espesa con acetato de etilo (100 ml) y HCl 2 N (50 ml). Se separó la disolución de acetato de etilo, se lavó con carbonato de potasio acuoso al 10 % (50 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío para proporcionar un aceite (5,2 g). Se añadieron éter dietílico (100 ml) y cloruro de cinc anhidro (7,0 g). Se calentó la mezcla a reflujo durante 5 días adicionales. Se decantó la fase de éter a partir de la goma oscura, se lavó con HCl 2 N (50 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío para proporcionar una goma (2,8 g). Se purificó esta goma por medio de cromatografía de gel de sílice eluyendo con petróleo (A):acetato de etilo (B) (5-35 % (B), 340 g, 150 ml/min) para permitir la obtención de 2,1 g de éster etílico de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (6). El material total obtenido fue de 4,1 g (50 %) de éster etílico de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (6). Se confirmó la estructura por medio de RMN ^{13}C (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-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (7)

Se añadió hidróxido de sodio (1,1 g, 27,1 mmol) y agua (5 ml) a éster etílico de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (6) (2,0 g, 4,1 mmol) en etanol (50 ml) y se calentó a 80 °C durante

18 horas. Posteriormente, se retiró el etanol por medio de evaporación *a vacío* y se separó el residuo entre éter dietílico (50 ml) y agua (50 ml). Se separó la fase de éter dietílico, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* para proporcionar una goma (71,0 mg). Se acidificó la fase acuosa hasta pH 1 con HCl 2 N (20 ml) y se sometió a extracción con diclorometano (2 x 100 ml). Se secó la fase de diclorometano sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* para permitir la obtención de 1,6 g (87 %) de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (7) en forma de espuma. Se confirmó la estructura por medio de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δc 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-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carbonilo (8)

Se disolvió ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (7) (1,5 g, 3,7 mmol) en diclorometano (50 ml) y se añadieron cloruro de oxalilo (700 mg, 5,5 mmol, 470 µl) y DMF (1 gota) y se agitó la reacción a 20 °C durante 2 horas. Se produjo un desprendimiento moderado de gas durante aproximadamente 30 minutos a medida que transcurrió la reacción. Posteriormente, se concentró la reacción *a vacío* para proporcionar cloruro de 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carbonilo (8) en forma de goma que se usó en la siguiente etapa sin purificación alguna. La estructura se confirmó por medio de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δc 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 de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (9)

Se disolvió posteriormente cloruro de 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carbonilo (8) (1,6 g, 3,7 mmol) en diclorometano (50 ml), se enfrió hasta 0 °C, se agitó y se añadió gota a gota dietilamina (810 mg, 11,0 mmol, 1,1 ml). Se permitió el calentamiento de la reacción hasta temperatura ambiente durante un período de 18 horas. Posteriormente, se lavó la mezcla de reacción con carbonato de potasio acuoso al 10 % (50 ml), se separó, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* hasta obtener una goma. Se cristalizó el material bruto a partir de éter dietílico para permitir la obtención de 1,2 g (71 %) de dietilamida de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (9) en forma de sólido cristalino. Se confirmó la estructura por medio de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δc 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 de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (10)

Se agitó dietilamida de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (9) (1,0 g, 2,1 mmol) en metanol (100 ml) con paladio al 10 % sobre carbón vegetal (1,0 g), trietilamina (2,9 mg, 2,9 mmol, 4 µl) bajo atmósfera de gas de hidrógeno durante 18 horas a 55 °C. Posteriormente, se filtró la reacción a través de un lecho de celite y se concentró el filtrado *a vacío* para proporcionar una goma (908 mg). Se introdujo la goma en diclorometano (100 ml) y se lavó con disolución acuosa de carbonato de potasio al 5 % (50 ml). Posteriormente, se separó la disolución de diclorometano, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* para permitir la obtención de una goma. Posteriormente, se cristalizó la goma a partir de éter dietílico (50 ml) y se recogieron los cristales por medio de filtración para permitir la obtención de 523 mg (57 %) de dietilamina de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-8-cloro-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (10). Se confirmó la estructura por medio de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δc 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 de ácido 9-(2-hidroxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (11)

Se agitó dietilamina de ácido 9-(2-benciloxi-etil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (10) (1,0 g, 2,1 mmol) en metanol (50 ml) con paladio al 10 % sobre carbón vegetal (300 mg), y exceso de gas de hidrógeno durante 18 horas a 55 °C. Posteriormente, se filtró la reacción a través de un lecho de celite y se concentró el filtrado *a vacío* para proporcionar 578 mg (100 %) de dietilamina de ácido 9-(2-hidroxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (11) en forma de espuma. Se confirmó la estructura por medio de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δc 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 2-(4-dietilcarbamil-5-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-carbazol-9-il) etílico de ácido metanosulfónico

Se enfrió dietilamina de ácido 9-(2-hidroxietil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (11) (478 mg, 1,4 mmol) en diclorometano (30 ml) a 0 °C y se añadieron cloruro de metanosulfonilo (477 mg, 4,2 mmol, 324 µl) y trietilamina (420 mg, 4,2 mmol, 578 µl) y se permitió el calentamiento a RT durante la noche. Se lavó la reacción con una disolución acuosa al 5 % de carbonato de potasio acuoso. Se separaron las fases. Se secaron las partes orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* para proporcionar una goma (696 mg). Se purificó el material bruto por medio de cromatografía de gel de sílice eluyendo con petróleo (A): acetato de etilo (B) (75-100 % de B, 22 CV, 120 g, 85 ml/min) para permitir la obtención de éster 2-(4-dietilcarbamil-5-metoxi-1,2,3,4-tetrahidrocarbazol-9-il)etílico de ácido metanosulfónico en forma de goma que cristalizó a partir de éter dietílico para

proporcionar 346 mg (59 %) de un sólido incoloro. Se confirmó la estructura por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 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 2: Síntesis de una mezcla racémica del compuesto de precursor del trazador de PET no radioactivo de la invención y su enantiómero alternativo

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

Se disolvió 2-fluoroetanol (640 mg, 10 mmol, 0,6 ml) en piridina (10 ml) bajo nitrógeno. Se agitó la disolución a 0 °C y se añadió por partes cloruro de tosilo (4,2 g, 21,8 mmol) a la disolución durante un período de 30 min, manteniendo la temperatura por debajo de 5 °C. Se agitó la reacción a 0 °C durante 3 horas. Se 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 por medio de lavado con una disolución de HCl 1 N hasta que la fase acuosa se volvió ácida. Se retiró el cloruro de tosilo en exceso mediante lavado con carbonato de sodio acuoso 1 M. Se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* para proporcionar 2,1 g (98 %) de tosilato de fluoroetilo (12) en forma de aceite incoloro. La estructura se confirmó por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 21,6 (CCH_3), 68,5 (d, JCF = 173 Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 80,6 (d, JCF = 173 Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 128,0, 129,9, 132,6 y 145,1.

Ejemplo 2(b): 2-cloro-5-metoxi-fenil(2-fluorofenil) amina (13)

Se disolvió hidrócloruro de 2-cloro-5-metoxianilina (5,0 g, 26,0 mmol) en DMF (50 ml) y se añadió hidruro de sodio (2,3 g, 60 % en aceite, 57,0 mmol). Se agitó la reacción durante 30 minutos a RT bajo nitrógeno. Se añadió gota a gota tosilato de fluoroetilo (12) (6,7 g, 31,0 mmol) en DMF (5 ml) y se agitó la reacción a RT durante 2 horas. A continuación, se calentó la reacción a 100 °C durante 18 h. Se permitió el enfriamiento de la reacción y se retiró el disolvente a presión reducida. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con agua (2 x 100 ml). Se recogieron las partes orgánicas, se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* para proporcionar un aceite marrón que se purificó por medio de cromatografía de gel de sílice eluyendo con petróleo (A): acetato de etilo (B) (5-30 % de (B), 330 g, 18,1 CV, 120 ml/min) para permitir la obtención de 1,3 g (25 %) de 2-cloro-5-metoxi-fenil(2-fluoroetil)amina (13) en forma de aceite amarillo. Se confirmó la estructura por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ_{C} 43,8 (d, JCF = 23 Hz), 55,3, 82,0 (d, JCF = 165 Hz), 98,1, 102,2, 111,6, 129,5, 144,1 y 159,5.

Ejemplo 2(c): éster etílico de ácido 3-[(2-cloro-5-metoxi-fenil)-(2-fluoroetil)amino]-2-hidroxi-ciclohexil-1-en-carboxílico (14)

Se enfrió una disolución de 2-cloro-5-metoxi-fenil (2-fluoroetil) amina (13) (6,1 g, 30,0 mmol) en THF (170 ml) hasta -40 °C. Se añadió gota a gota bis(trimetilsilil)amida de potasio (126,0 ml de una disolución de 0,5 M en tolueno, 63,0 mmol) y se agitó la reacción durante 30 minutos a -40 °C. Se añadió gota a gota éster etílico de ácido 3-bromo-2-hidroxi-ciclohex-1-en-carboxílico (4; preparado de acuerdo con el Ejemplo 1(d)) (7,4 g, 30,0 mmol) en THF (30 ml) a -40 °C. Se retiró el baño de enfriamiento y se agitó la reacción a RT durante 4 horas. Se inactivó la reacción con salmuera (300 ml) y se extrajo en acetato de etilo (2 x 400 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró *a vacío* para proporcionar 12,0 g (cuantitativo) de éster etílico de 3-[(2-cloro-5-metoxi-fenil)-(2-fluoroetil)amino]-2-hidroxi-ciclohexil-1-en-carboxílico (14) en forma de aceite marrón que se usó bruto en la siguiente etapa. La estructura en forma de mezcla de isómeros se confirmó por medio de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ_{C} 1,08 (0,8 H, t, J = 9 Hz, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,22-1,33 (2,2 H, m, $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,40-2,60 (7H, m, 4-, 5- y 6- CH_2 , CHN), 3,20-4,50 (10H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{F}$, OCH_3 , $\text{CHCO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6,50-6,70 (1H, m, $\text{CHC}(\text{OCH}_3)\text{CHCH}$), 6,95 (0,5H, dd, J = 3 y 6 Hz, $\text{CHC}(\text{OCH}_3)\text{CHCH}$), 7,08 (=0,5H, d, J = 3 Hz, $\text{CHC}(\text{OCH}_3)\text{CHCH}$) y 7,20-7,30 (1H, m, $\text{CHC}(\text{OCH}_3)\text{CHCH}$).

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

Se intentó inicialmente la síntesis de 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (15) usando las condiciones descritas en el documento WO 2003/014082. Se enfrió una disolución de 2-cloro-5-metoxi-fenil (2-fluoroetil) amina (13; preparada de acuerdo con el Ejemplo 2(b)) (600 mg, 3,8 mmol) en THF seco (20 ml) en un baño de hielo y se trató con bis(trimetil silil) amida (16 ml de una disolución 0,5 M en tolueno, 8,0 mmol). Tras 30 minutos, se añadió éster etílico de ácido 3-bromo-2-hidroxi-ciclohex-1-en-carboxílico (4; preparado de acuerdo con el Ejemplo 1(d)) (1,04 g, 4,2 mmol) en THF (4 ml) y se permitió el calentamiento de la reacción a RT durante 2 horas. Se inactivó la reacción con una disolución de cloruro de amonio saturado y se extrajo dos veces con éter. Se lavaron los extractos con agua, salmuera, se secaron y se concentró *a vacío*. Se purificó el material bruto por medio de cromatografía de gel de sílice eluyendo con petróleo (A) y acetato de etilo (B) (2,5-50 % de B, 50 g, 25 CV, 40 ml/min). El punto principal fue la mezcla de tres componentes. Esta mezcla se colocó a reflujo en tolueno (20 ml) con cloruro de cinc seco (1,7 g, 12,6 mmol) durante la noche. Se concentró la reacción *a vacío* y se separó el residuo entre HCl 1 N (25 ml) y acetato de etilo (25 ml) y posteriormente se extrajo una vez más con acetato de etilo. Se lavaron las fases orgánicas con agua y salmuera, se secó y se concentró *a vacío* para permitir la obtención de un aceite marrón. El análisis de RMN ^1H indicó que fue una mezcla de varios compuestos. TLC sobre sílice en una gama de disolventes no pudo separar esta mezcla en puntos por separado. La comparación de RMN ^1H de la mezcla con una muestra

auténtica indicó que la mezcla contenía un 25 % estimado de éster etílico de ácido 8-cloro-9-(2-fluoro-etil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (15).

Se llevó a continuación un método modificado. Se disolvió éster etílico de ácido 3-[(2-cloro-5-metoxi-fenil)-(2-fluoroetil)amino]-2-hidroxi-ciclohexil-1-encarboxílico (14) (12,2 g, 30,0 mmol) en éter dietílico (250 ml) y se añadió cloruro de cinc (16,4 g, 120,0 mmol). Se calentó la reacción a reflujo durante 16 horas. Se añadió acetato de etilo (500 ml) para disolver todo y se lavó con HCl 2 N (200 ml), agua (200 ml), carbonato de potasio acuoso al 10 % (200 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío. Se purificó el material bruto por medio de cromatografía de gel de sílice eluyendo con petróleo (A): acetato de etilo (B) (5-20 %, 12 CV, 10 g, 100 ml/min) para permitir la obtención de 5,3 g (50 % en 2 etapas) de éster etílico de ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (15) en forma de sólido amarillo. La estructura se confirmó por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ c 14,4, 20,4, 22,2, 27,4, 40,1, 44,2 (d, $J_{\text{CF}} = 23$ Hz), 55,1, 60,2, 83,9, (d, $J_{\text{CF}} = 173$ 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 de ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (16)

Se disolvió éster etílico de ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (15) (5,3 g, 15,0 mmol) en metanol (180 ml) y se añadieron trietilamina (1,8 g, 18,0 mmol, 2,5 ml) y Pd al 10 %/C (2 g en metanol (20 ml)). Se colocó la mezcla en el hidrogenador Parr y se agitó durante 18 horas en una atmósfera de hidrógeno. La reacción se filtró a través de un lecho de celite, se lavó con metanol y se retiró el disolvente a vacío. Se disolvió el residuo 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 a vacío para proporcionar 4,2 g (88 %) de éster etílico de ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (16) en forma de sólido marrón claro. La estructura se confirmó por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ c 14,3 20,6 ,21,8, 27,6, 40,3, 43,3 (d, $J_{\text{CF}} = 23$ Hz), 54,9, 60,1 82,0 (d, $J_{\text{CF}} = 165$ Hz), 99,8, 102,1, 107,3, 117,2, 121,8, 134,9, 137,6, 153,8 y 176,0.

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

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

Se disolvió éster etílico de ácido 8-cloro-9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (16) (380 mg, 1,2 mmol) en etanol (4 ml). Se añadió una disolución de hidróxido de sodio (580 mg, 14,5 mmol) disuelta en 6 ml de agua. Se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante la noche. Se retiró el disolvente a vacío y se diluyó la mezcla bruta con agua, se acidificó con HCl 2 N hasta alcanzar un pH ácido y se lavó con diclorometano. Se combinaron las fases orgánicas resultantes y se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a vacío para proporcionar 347 mg (cuantitativo) de ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (17) en forma de sólido blanquecino que se usó bruto en la siguiente etapa. Se confirmó la estructura por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ c 20,4, 21,9, 27,2, 39,9, 43,3 (d, $J_{\text{CF}} = 23$ Hz), 55,1, 81,9 (d, $J_{\text{CF}} = 173$ Hz), 100,3, 102,8, 106,2, 117,1, 122,2 135,6, 137,8, 153,3 y 180,8.

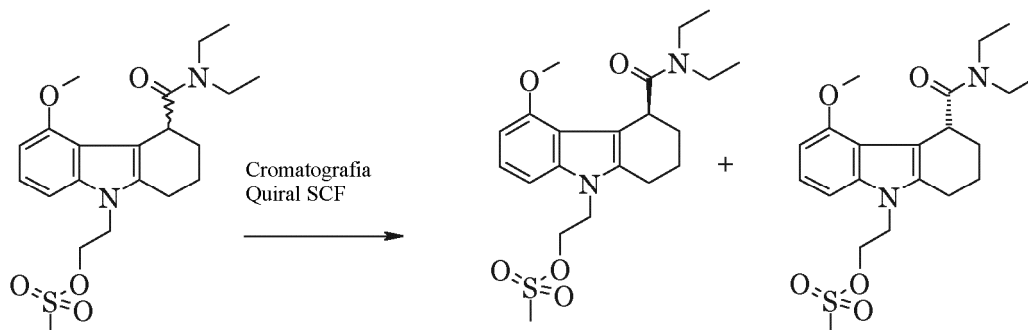
Ejemplo 2(g): cloruro de 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carbonilo (18)

Se agitó una disolución de ácido 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico (17) (347 mg, 1,2 mmol) en diclorometano seco (2 ml) bajo nitrógeno. Se añadió cloruro de oxalilo (453 mg, 3,6 mmol, 300 μ l) seguido de una gota de DMF. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 2 horas y posteriormente se evaporó a vacío para proporcionar 371 mg (cuantitativo) de cloruro de 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carbonilo en forma de goma que se usó en la siguiente etapa sin purificación. La estructura se confirmó por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ c 20,2, 21,7, 26,4, 43,3 (d, $J_{\text{CF}} = 23$ 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): amida dietílica de ácido de 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico

Se disolvió cloruro de 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carbonilo (18) (371 mg, 1,2 mmol) en diclorometano (2 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió posteriormente dietilamina (177 mg, 2,4 mmol, 250 μ l) y se agitó la reacción durante la noche a temperatura ambiente. Se inactivó la reacción con carbonato de potasio acuoso al 10 % (2 ml). Se recogió la fase de diclorometano a través de un separador de fases y posteriormente se concentró a vacío. Se purificó el material bruto por medio de cromatografía de gel de sílice eluyendo con petróleo (A): acetato de etilo (B) (50-100 % (B), 50 g, 35,2 CV, 40 ml/minuto) para permitir la obtención de un sólido de color amarillo claro. A continuación, se trituró el sólido con una cantidad mínima de éter dietílico para permitir la obtención de 240 mg (58 %) de amida dietílica de ácido de 9-(2-fluoroetil)-5-metoxi-2,3,4,9-tetrahidro-1H-carbazol-4-carboxílico. Se confirmó la estructura por medio de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ c 13,0, 14,6, 19,9, 21,9, 28,0, 36,3, 40,5, 41,9, 43,1 (d, $J_{\text{CF}} = 23$ Hz), 54,7, 82,0 (d, $J_{\text{CF}} = 173$ Hz), 99,7, 102,1, 108,3, 117,0, 121,5, 135,3, 137,4, 153,3 y 174,8.

Ejemplo 3: Síntesis del compuesto precursor 1 y su enantiómero alternativo

**Compuesto Precursor 1**

Se separó la mezcla racémica del Compuesto Precursor 1 y su enantiómero alternativo (obtenido como se describe en el Ejemplo 1) en sus enantiómeros usando cromatografía de fluidos supercríticos quiral (CO₂) en una columna Kromasil Amycoat, 250x10 mm, 5 µm, 100 angstrom usando IPA al 30 % a 40 °C a 13 ml/minuto con un tiempo de ensayo de 6 minutos. Se disolvieron 60 mg del racemato en 1,4-dioxano (2 ml) y se inyectaron hasta 200 µl de una vez para cada ensayo. Se logró una separación de línea base entre los dos enantiómeros. La determinación analítica por HPLC de la pureza enantiomérica de los dos enantiómeros por separado en un IC de Quiral Technologies, 250 x 4,6 mm, 5 µm, ensayo isocrático, MeOH:IPA 80:20 a 0,5 ml/minuto y temperatura ambiente indicó una pureza enantiomérica de un 99,5 % de cada uno de los enantiómeros.

Ejemplo 4: Síntesis del trazador de PET de la invención y su enantiómero alternativo

Se marcaron el compuesto precursor 1 y su enantiómero obtenido de acuerdo con el Ejemplo 3 con ¹⁸F usando un casete FASLab™ (GE Healthcare).

Se retuvo el fluoruro [¹⁸F] proporcionado por GE Healthcare sobre un ciclotron de GE PTrace en un cartucho de QMA. Se añadieron K222 (8 mg), KHCO₃ (200 µl, 0,1 M ac.) y MeCN (1 ml) a un vial 1 con eluyente. Se usaron 0,6 ml del eluyente del vial 1 con eluyente para eluir el cartucho de QMA. Se llevó a cabo el secado de la fracción eluida ¹⁸F a 100 °C durante 20 minutos, seguido de enfriamiento a 86 °C antes de la adición del precursor. Se disolvieron 3 mg de cada compuesto precursor en 1,6 ml de CH₃CN. Se añadieron 1 ml de esta disolución al recipiente de reacción. Se calentó el recipiente de reacción a 100 °C durante 15 minutos. Posteriormente, se aclaró el recipiente de reacción con 2 ml de agua.

Se llevó a cabo HPLC de semi-preparación como se muestra a continuación:

0-40 minutos	45 % (B)
Columna	Columna C18 ACE 5, 5u, 100x10 mm
Eluyente	Agua (bomba A): MeCN (bomba B)
Tamaño del bucle	5 ml
Velocidad de la bomba	3 ml/minuto
Longitud de onda	254 nm, 2 AUFS

Se llevó a cabo HPLC quiral analítica como se muestra a continuación:

0-25 minutos	60 % (B)
25-25,5 minutos	60-95 % (B)
25,5-26,5 minutos	95 % (B)
26,5-27 minutos	95-60 % (B)
27-30 minutos	60 % (B)
Columna	Chromolith RP-18e 100x4,6 mm (H10-0022) Luna C18 Guard

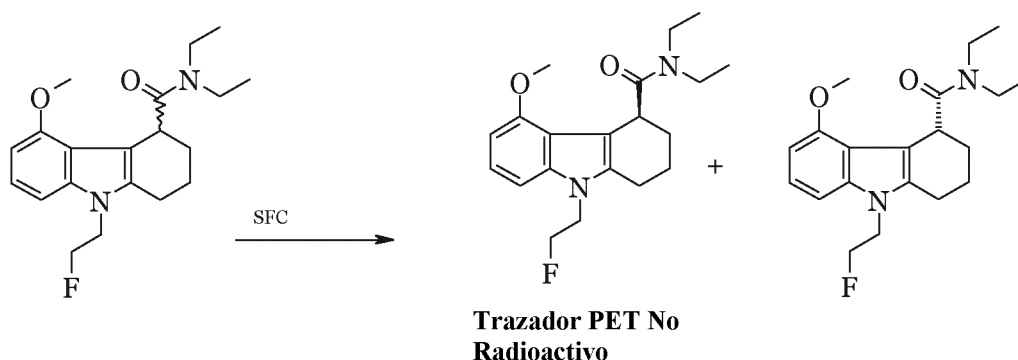
Eluyente	Agua (bomba A): MeOH (bomba B)
Tamaño del bucle	20 μ l
Velocidad de la bomba	1 ml/minuto
Longitud de onda	254, 230 nm

Se llevó a cabo HPLC quiral analítica como se muestra a continuación:

0-10 minutos	20 % (B)
Columna	Columna Chiralpak IC 250x4,6 mm y Chiralpak IC guard
Eluyente	Metanol (bomba A): alcohol isopropílico (bomba B)
Tamaño del bucle	10 μ l
Velocidad de la bomba	1 ml/minuto
Longitud de onda	220, 230 nm

El rendimiento EOS para el trazador de PET de la invención fue de un 32 % y para su enantiómero fue de un 19 %.

5 **Ejemplo 5: Síntesis del análogo no radioactivo del trazador de PET de la invención y su enantiómero alternativo**



10 La mezcla racémica del trazador de PET no radioactivo de la invención y su enantiómero alternativo (obtenido como se describe en el Ejemplo 2) se separaron en sus enantiómeros usando cromatografía de fluidos supercríticos quiral (CO_2) (SFC) sobre una columna Kromasil Amycoat, 250 x 10 mm, 5 μ m, 100 angstrom usando IPA al 20 % a 40 °C a 14 ml con un tiempo de ensayo de 6 minutos. Se disolvieron 100 mg de la mezcla racémica en 1,4-dioxano (2,5 ml) y se inyectaron hasta 200 μ l de una vez para cada ensayo. Se cortaron las fracciones para garantizar que se recogieron fracciones no mezcladas. La determinación analítica por HPLC de la pureza enantiomérica de los dos enantiómeros

15 separados en un IC de Chiral Technologies, 250x4,6 mm, 5 μ m, ensayo isocrático, 80:20 – MeOH:IPA a 0,5 ml/minuto y temperatura ambiente indicó una pureza enantiomérica de 99,5 % de cada uno de los enantiómeros.

Ejemplo 6: Determinación de la estereoquímica absoluta por medio de dicroísmo circular vibracional

20 Se sometieron a ensayo el análogo no radioactivo del trazador de PET de la invención y su enantiómero, así como el Compuesto Precursor 1 y su enantiómero. Se disolvió cada compuesto de ensayo en CDCl_3 (5 mg, 0,12 ml para el trazador de PET y su enantiómero; 5 mg/0,15 ml del Compuesto Precursor 1 y su enantiómero) y se colocaron en una célula de longitud de trayectoria de 100 μ m con ventanas de BaF_2 . Se registraron los espectros IR y VCD en un espectrómetro QuiralRTM VCD (BiTools, INC.) equipado con un accesorio DualPEM, con una resolución de 4 cm^{-1} ,

25 11 h de recogida para cada muestra e instrumento optimizado a 1400 cm^{-1} . El IR del disolvente se recogió para 150 barridos. Se recogieron los espectros IR con corrección de disolvente y VCD con corrección de enantiómero. Se midió la rotación óptica (OR) de cada compuesto de ensayo usando un Polarímetro Jasco DIP-370 a 590 nm y 25 °C.

Compuesto de Ensayo	Rotación Óptica (C= 0,33 en CHCl₃)
Tratador de PET	-48,9°
Enantiómero alternativo del trazador de PET	+43,5°
Compuesto Precursor 1	-52,2°
Enantiómero alternativo del Compuesto Precursor 1	+50,1°

Se construyó la configuración-(R) en cada caso con Hyperchem (Hypercube, Inc., Gainesville, FL). Se llevó a cabo una búsqueda conformacional con Hyperchem para la estructura completa a nivel de mecánica molecular. Se llevaron a cabo los cálculos de geometría, frecuencia e intensidad IR y VCD a nivel de DFT (conjunto B3LYP funcional/6-31 G(d) base) con Gaussian 09 (Gaussian Inc., Wallingford, CT). Se escalan las frecuencias calculadas en 0,97 y se convirtieron las intensidades IR y VCD en bandas de Lorentzian con una semi-anchura de 6 cm⁻¹ para la comparación con fines experimentales.

Con respecto al Trazador de PET y su enantiómero, los cálculos gaussianos de 36 conformeros dieron como resultado diez conformeros que tenían energías de 1 kcal/mol a partir del conformero con energía más baja. Se calcularon las geometrías optimizadas de los cuatro conformeros con energía calculada más baja para la configuración-(R), y se llevó a cabo la comparación de los espectros VCD y IR observados con los de los conformeros con energía calculada más baja. Basándose en el acuerdo global del patrón de VCD para la suma de Boltzmann y observada de los espectros calculados de los diez conformeros con la energía más baja, se asigna la configuración absoluta del análogo no radioactivo del trazador de PET de la invención como (S) y se asigna su enantiómero como (R). Se evaluó la asignación por medio del programa compareVOA (Biotools), y el nivel de confianza de la asignación es de un 100 % basado en la base de datos actual que incluye 89 asignaciones previas correctas para las diferentes estructuras quirales.

Con respecto al Compuesto Precursor 1 y su enantiómero, los cálculos gaussianos de los 36 conformeros dieron como resultado 9 conformeros que tenían energías de 1 kcal/mol a partir del conformero con la energía más baja. Basándose en el acuerdo global en cuanto al patrón de VCD para la suma de Boltzmann y observada de los espectros calculados de los nueve conformeros con energía más baja, se asigna la configuración absoluta del compuesto precursor 1 como (S) y se asigna su enantiómero como (R)-. Se evaluó la asignación por medio del programa CompareVOA, y el nivel de confianza de la asignación es de un 96 % de acuerdo con la base de datos actual que incluye 89 asignaciones previas correctas para las diferentes estructuras quirales. Esta asignación está de acuerdo con la asignación de la configuración del análogo no radioactivo del trazador de PET de la invención.

Ejemplo 7: Ensayo de potencia in vitro

Se exploró la afinidad por PR usando un método adaptado usando Le Fur et al (Life Sci. 1983; EE.UU. 33: 449-57). Se sometieron a ensayo análogos no radioactivos del trazador de PET de la invención y el racemato asociado. Cada compuesto de ensayo (disuelto en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, MgCl₂ 10 mM que contenía DMSO al 1 %) compitió por la unión bien a PB de corazón de rata Wistar o bien a PBR humano frente a PK-11195 [³H] 0,3 nM. Se llevó a cabo la reacción en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 MgCl₂ 10 mM durante 15 minutos a 25 °C. Se exploró cada compuesto de ensayo a 6 concentraciones diferentes durante un intervalo de 300 veces las concentraciones alrededor del K_i estimado. Se observaron los siguientes datos:

Compuesto de Ensayo	K_i Corazón de Rata (nM)
Trazador de PET de la invención	0,87
Racemato	1,47
Enantiómero alternativo	3,87

Compuesto de Ensayo	K_i Humano (nM)
Trazador de PET de la invención	9,17
Racemato	11,5
Enantiómero alternativo	14,1

Ejemplo 8: Ensayo de estabilidad quiral *in vitro*

Se incubó el trazador de PET no radioactivo de la invención obtenido de acuerdo con el Ejemplo 2 (37 °C) en plasma humano o en la fracción S9 de hígado de rata hasta 4 horas. Se extrajeron los enantiómeros a partir del material biológico por medio de precipitación de proteínas. Se separó el precipitado sólido de la fase líquida, que se evaporó a sequedad. Se disolvió el residuo seco en acetonitrilo.

Se aplicó un sistema de HPLC Dionex Ultimate 3000 que consistió en dos bombas (micro-bomba LPG-3000 y bomba Ultimate 3000), un detector UV/visible, un dispositivo automático de toma de muestra y dos válvulas de conmutación en el presente estudio. Una válvula de conmutación conectaba las dos bombas y el dispositivo automático de toma de muestra. Esta configuración hizo posible el uso de cualquiera de las bombas para la inyección en la columna. La bomba usada para la inyección se conectó únicamente a la columna de SPE. Tras la inyección y elución, se lavó la columna SPE usando la bomba de inyección. Se preparó el sistema para una nueva inyección mientras que el análisis quiral se encontraba en marcha.

La otra válvula de conmutación conectaba la columna analítica a la columna SPE. Una vez retenida la sustancia sobre la columna de SPE, se conmutó la válvula y la bomba analítica eluyó la sustancia de la columna de SPE al interior de la columna quiral analítica. La dirección de flujo de elución fue inversa a la de retención. Se conectó la bomba analítica al sistema analítico únicamente y se esperó a que los analitos comenzaran la elución. Se variaron tanto el tiempo de ensayo de la retención sobre la columna SPE como el tiempo de elución a partir de la presente columna para optimizar el proceso de dos etapas.

Columna Analítica: Chiralpak IC 0,46 x 25 cm con la pre-columna del mismo material 0,4 x 1 cm.

Columna SPE: LiChrospher ADS RP-4 25 x 4 mm (columna RAM), partículas de 25 µm. Valor límite de peso molecular: 15 kDa (Merck).

Fase Móvil: A: acetato de amonio 10 mM, pH 7, B: 1:1 MeCN:MeOH.

El flujo fue de 300 µl/minuto.

Detección: detección UV a 230 nm.

Retención sobre la columna SPE: cuando se retiene el analito sobre la columna SPE, se aplicó el modo isocrático que usa MeCN al 10 % en acetato de amonio 50 mM. La retención duró 4 minutos y posteriormente se conmutó la válvula.

Elución a partir de la columna SPE y separación: la elución comenzó usando una mezcla de fase móvil de MeCN al 10 % y acetato de amonio 10 mM al 90 %. Transcurridos 5 minutos, se conmutó la válvula de nuevo a la columna de SPE, que se lavó con MeCN/MeOH al 90 % en tampón. El gradiente de la columna analítica comenzó en 65 % de la fase orgánica en el tampón y se modificó hasta 85 % de fase orgánica en el tampón durante 26,5 minutos. Se lavó la columna analítica durante 3 minutos usando MeCN/MeOH al 70 % y posteriormente se estabilizó en MeCN/MeOH al 10 % para preparar el sistema de separación para la siguiente inyección. El tiempo total de ensayo fue de 40 minutos.

El trazador de PET en plasma no mostró ningún cambio de cromatograma tras la incubación durante 4 horas. Los resultados cromatográficos se compararon con una muestra no incubada en el plasma y una disolución de referencia del trazador de PET de la invención. No se apreció racemización.

El trazador de PET de la invención en la fracción S9 de hígado de rata no experimentó racemización tras incubación durante 4 horas.

Ejemplo 9: Biodistribución *in vivo*

El trazador de PET de la invención, su enantiómero alternativo, y la mezcla racémica de los dos, se sometieron a ensayo en un modelo de biodistribución *in vivo*.

Se inyectaron 1-3 MBq de compuesto de ensayo a ratas Wistar macho adultas (200-300 g) por medio de la vena lateral de la cola. Se sacrificaron las ratas 2, 10, 30 o 60 minutos (n=3) después de la inyección, y se tomaron muestras de los tejidos o fluidos para la medición radioactiva en un contador gamma.

Se observaron los siguientes datos de apreciación:

Compuesto de Ensayo	Cerebro 2 min (%ID/g)	OB 30 min (%ID/g)	OB:Str 30 min
Trazador de PET de la invención	0,53	0,45	3,2
Racemato	0,52	0,36	3,0
Enantiómero alternativo	0,53	0,23	2,9

Ejemplo 10: Estudio de metabolismo *in vivo*

Se sometió a ensayo la cantidad de actividad cerebral o plasmática debida al compuesto de ensayo parental hasta 1 hora después de la administración. El trazador de la invención y su racemato asociado fueron los compuestos de ensayo.

Se inyectaron aproximadamente 20 MBq de compuesto de ensayo a ratas Wistar macho adultas (150-200 g). Se analizaron las muestras de cerebro y plasma por medio de HPLC 10, 30 y 60 minutos después de la inyección. Se emplearon las siguientes condiciones de HPLC:

Método:	Isocrático	
Composición:	% de agua (Tampón A)	% de acetonitrilo (Tampón B)
	60 %	40 %
Columna:	Columna µBondapak C18 prep de Water	
Dimensiones de columna:	7,8 x 300 mm; 10 µm; 125 angstrom	
Caudal:	3 ml/min	
Volumen de inyección de muestra:	1 ml	

Se observaron los siguientes datos de apreciación:

Compuesto de Ensayo	Cerebro (% padre)			Plasma (% padre)		
	10 min después de inyección	30 min después de inyección	60 min después de inyección	10 min después de inyección	30 min después de inyección	60 min después de inyección
Racemato	100 ±0	97 ±1	91 ±2	81 ±4	49 ±12	28 ±1
Trazador de PET de la invención	98 ±2	96 ±2	94 ±2	70 ±18	41 ±16	21 ±5

Ejemplo 11: Ensayo de bloqueo *in vivo*

Se sometieron a ensayo las biodistribuciones *in vivo* del trazador de PET de la invención en comparación con el racemato asociado tras la pre-administración de sus respectivos análogos no radioactivos, o pre-administración del ligando conocido específico de PBR, PK₁₁₁₉₅.

Se inyectaron 3-4 MBq de compuesto de ensayo a ratas Wistar macho adultas (200-300 g) por medio de la vena lateral de la cola. Se administró PK₁₁₁₉₅ o un análogo no radioactivo (ambos a 3 mg/kg) 5 minutos antes del compuesto de ensayo radiomarcado. Transcurridos 30 minutos de la inyección, se sacrificaron las ratas y se tomaron muestras de los tejidos o fluidos para la medición radioactiva en un contador gamma.

Se observaron los siguientes datos de apreciación:

	Racemato (% del vehículo)		Trazador de PET de la invención (% del vehículo)	
	PK ₁₁₁₉₅	Análogo no radioactivo	PK ₁₁₁₉₅	Análogo no radioactivo
Bulbo olfativo	37	59	43	37
Striata	114	124	117	114
Sangre	247	289	289	253
Pulmones	13	11	14	12
Músculo	90	140	131	143

Ejemplo 12: Modelo de inflamación de axotomía del nervio facial

5 Se sometió a ensayo la unión a un sitio focal de neuroinflamación por medio de autoradiografía. Los compuestos de ensayo fueron el trazador de PET de la invención y su racemato asociado.

10 Se usaron ratas Wistar macho (200-300 g) no sometidas a tratamiento previo, o sometidas a axotomía del nervio facial de acuerdo con el procedimiento descrito por Graeber y Kreutzberg (J Neurocytol 1986; 15: 363-373). Se retiraron diversos tejidos incluyendo tronco encefálico y bulbo olfativo de los animales y se congelaron rápidamente en isopentano y posteriormente se almacenaron a -70 °C hasta el uso. Se partieron los tejidos (12 µm) y se montaron descongela- dos sobre portaobjetos Superfrost Plus. Se almacenaron los portaobjetos a -70 °C hasta el uso.

15 Se secaron al aire los portaobjetos antes de la pre-incubación en tampón Tris-HCl (170 mM, pH 7,4) durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se añadió un exceso de 1000 veces de PK₁₁₁₉₅ no radioactivo a 1 µM, o trazador de PET no radioactivo de la invención a 1 µM antes de la incubación con tampón Tris-HCl (170 mM, pH 7,4) que contenía 8 GBq/ml del compuesto de ensayo durante 60 minutos. Posteriormente, se terminó la reacción aclarando las secciones dos veces durante 5 minutos en tampón enfriado con hielo (Tris-HCl, 170 mM, pH 7,4) y posteriormente se sumergieron los portaobjetos brevemente en agua destilada para aclarar. Se secaron a continuación los portaobjetos al aire y se expusieron a película de rayos-X. Cuando se exponen a película de rayos-X, se incluyó un patrón de referencia, para la autoradiografía in vitro se tomó una muestra de referencia (20 µ) de la disolución y se colocó sobre papel de filtro (cubierto sobre un vidrio) y se expuso junto con las secciones. La película se expuso durante 24 horas y se analizaron los datos por medio de dibujo de las regiones de interés alrededor de las estructuras anatómicas específicas así como

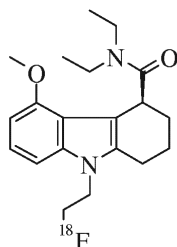
20 s, referencias y fondo usando un soporte lógico MCID usando una escala de gradiente de densidad como curva de calibración ajustada a la muestra de referencia.

25 Se observaron los siguientes datos de apreciación:

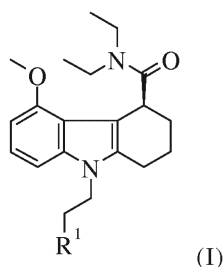
	Racemato (% de unión específica)		Trazador de PET de la invención (% de unión específica)	
	PK ₁₁₁₉₅	Ligando no marcado	PK ₁₁₁₉₅	Ligando no marcado
Bulbo olfativo	67	59	75	77
Tronco encefálico no sometido a tratamiento previo	13	21	70	70
Tronco encefálico FNA	69	72	86	86

REIVINDICACIONES

1.- Un trazador de tomografía por emisión de positrones (PET) que tiene la siguiente estructura química:



2.- Un compuesto precursor para la preparación del trazador de PET como se define en la reivindicación 1, en el que dicho compuesto de precursor es de Fórmula I:



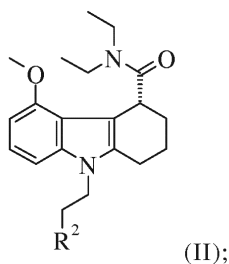
en la que R¹ es un grupo hidroxilo o un grupo saliente.

3.- El compuesto precursor que se define en la reivindicación 2, en el que dicho grupo saliente está seleccionado entre mesilato, tosilato y triflato.

4.- El compuesto precursor que se define en la reivindicación 3, en el que dicho grupo saliente es mesilato.

5.- Un primer método para preparar el compuesto precursor de Fórmula I que se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que dicho método comprende:

(i) proporcionar una mezcla racémica de dicho compuesto precursor de Fórmula I y un compuesto de Fórmula II:

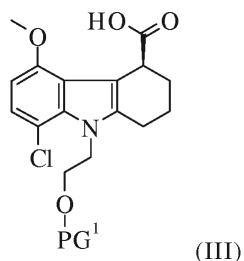


en la que R² es como se ha definido para R¹ en una cualquiera de las reivindicaciones 2-4, y R¹ y R² son iguales;

(ii) separar dicho compuesto precursor de Formula I de dicho compuesto de Fórmula II.

6.- Un segundo método de preparación del compuesto precursor de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2-4 en el que dicho método comprende:

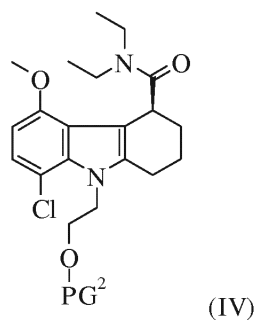
(i) proporcionar un compuesto de Fórmula III:



en la que PG¹ es un grupo protector de hidroxilo;

(ii) convertir dicho compuesto de Fórmula III en su correspondiente cloruro de ácido;

(iii) hacer reaccionar el cloruro de ácido obtenido en la etapa (ii) con dietilamina para obtener un compuesto de Fórmula IV:



en la que PG² es un grupo protector de hidroxilo y es el mismo que PG¹;

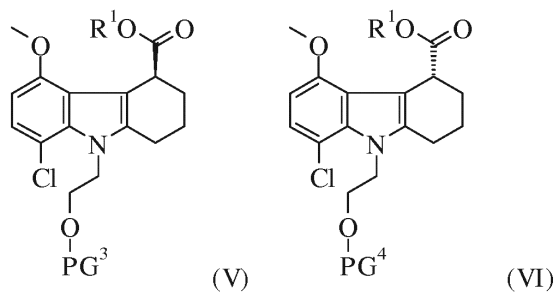
(iv) retirar el átomo de cloro-8 y desproteger el compuesto de Fórmula IV obtenido en la etapa (iii) para obtener el derivado de hidroxilo;

(v) opcionalmente añadir un grupo saliente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2-4 para la Fórmula I,

en el que el compuesto precursor de Fórmula I es el resultado de cualquiera etapa (iv) o (v).

7.- El método que se define en la reivindicación 6, en el que dicha etapa (i) de proporcionar dicho compuesto de Fórmula III comprende:

(a) proporcionar una mezcla racémica de un compuesto de Fórmula V y un compuesto de Fórmula VI:



en la que:

R¹ es un alcohol quiral; y

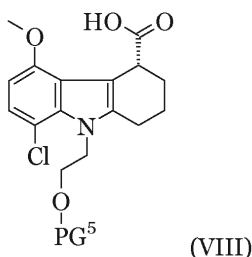
PG³ y PG⁴ son iguales y son cada uno un grupo protector de hidroxilo;

(b) separar el compuesto de Fórmula V del compuesto de Fórmula VI;

(c) retirar R^1 del compuesto separado de Fórmula V usando condiciones ácidas, lo que da como resultado de este modo dicho compuesto de Fórmula III.

8.- El método que se define en la reivindicación 6, en el que dicha etapa (i) de proporcionar dicho compuesto de Fórmula III comprende:

(a) proporcionar una mezcla racémica de dicho compuesto de Fórmula III y un compuesto de Fórmula VIII:

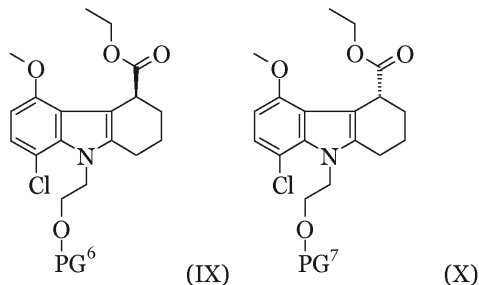


en la que PG^5 es un grupo protector de hidroxilo y es el mismo que PG^1 como se define en la reivindicación 6;

(b) hacer reaccionar la mezcla que se define en la etapa (a) con una amina ópticamente activa para separar dicho compuesto de Fórmula III de dicho compuesto de Fórmula VIII.

9.- El método que se define en la reivindicación 6 en el que dicha etapa (i) de proporcionar dicho compuesto de Fórmula III comprende:

(a) proporcionar una mezcla racémica de un compuesto de Fórmula IX y un compuesto de Fórmula X:



en la que PG^6 y PG^7 son iguales y son cada uno un grupo protector de hidroxilo;

(b) hacer reaccionar la mezcla que se ha definido en la etapa (a) con una enzima estereo selectiva para obtener dicho compuesto de Fórmula III en la que dicha enzima estereo selectiva lleva a cabo la hidrólisis de éster del compuesto de Fórmula IX.

10.- Un método de preparación de un trazador de PET como se define en la reivindicación 1, en el que dicho método comprende la reacción del compuesto precursor de Fórmula I que se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2-4 con una fuente apropiada de ^{18}F .

11.- El método que se define en la reivindicación 10 que esta automatizado.

12.- Un casete para llevar a cabo el método que se define en la reivindicación 11 que comprende:

i) un recipiente que contiene el compuesto precursor que se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2-4; y

ii) medios para eluir el recipiente de la etapa (i) con una fuente apropiada de ^{18}F como se define en la reivindicación 10.

13. Una composición radiofarmacéutica que comprende el trazador de PET que se define en la reivindicación 1 junto con un vehículo biocompatible apropiado para administración a un mamífero.

14. El trazador de PET de la reivindicación 1 para su uso en un método de formación de imágenes de PET para determinar la distribución y/o el alcance de la expresión de PBR en un sujeto en el que dicho método comprende:

- i) administrar a dicho sujeto el trazador de PET que se define en la reivindicación 1;
- ii) permitir que dicho trazador de PET se una a PBR en dicho sujeto;
- iii) detectar las señales emitidas por el ^{18}F presente en dicho trazador de PET ligado;
- iv) generar una imagen representativa de la ubicación y/o cantidad de dichas señales; y,
- v) determinar la distribución y el alcance de la expresión de PBR en dicho sujeto en el que dicha expresión está directamente correlacionada con dichas señales.

15. El trazador de PET que se define en la reivindicación 1 para su uso en un método de formación de imágenes de PET que se define en la reivindicación 14 en el que dicho método se lleva a cabo repetidamente durante el transcurso de un régimen de tratamiento para dicho sujeto, comprendiendo dicho régimen de tratamiento la administración de un fármaco para combatir una afección de PBR.

16. El trazador de PET que se define en la reivindicación 1, para su uso en un método de diagnóstico de una afección en la que PBR se encuentra sobre-regulado, en el que dicho método comprende el método de formación de imágenes de PET que se define en la reivindicación 14 o 15, junto con una etapa adicional (vi) de atribución de la distribución y alcance de la expresión de PBR a una imagen clínica particular.

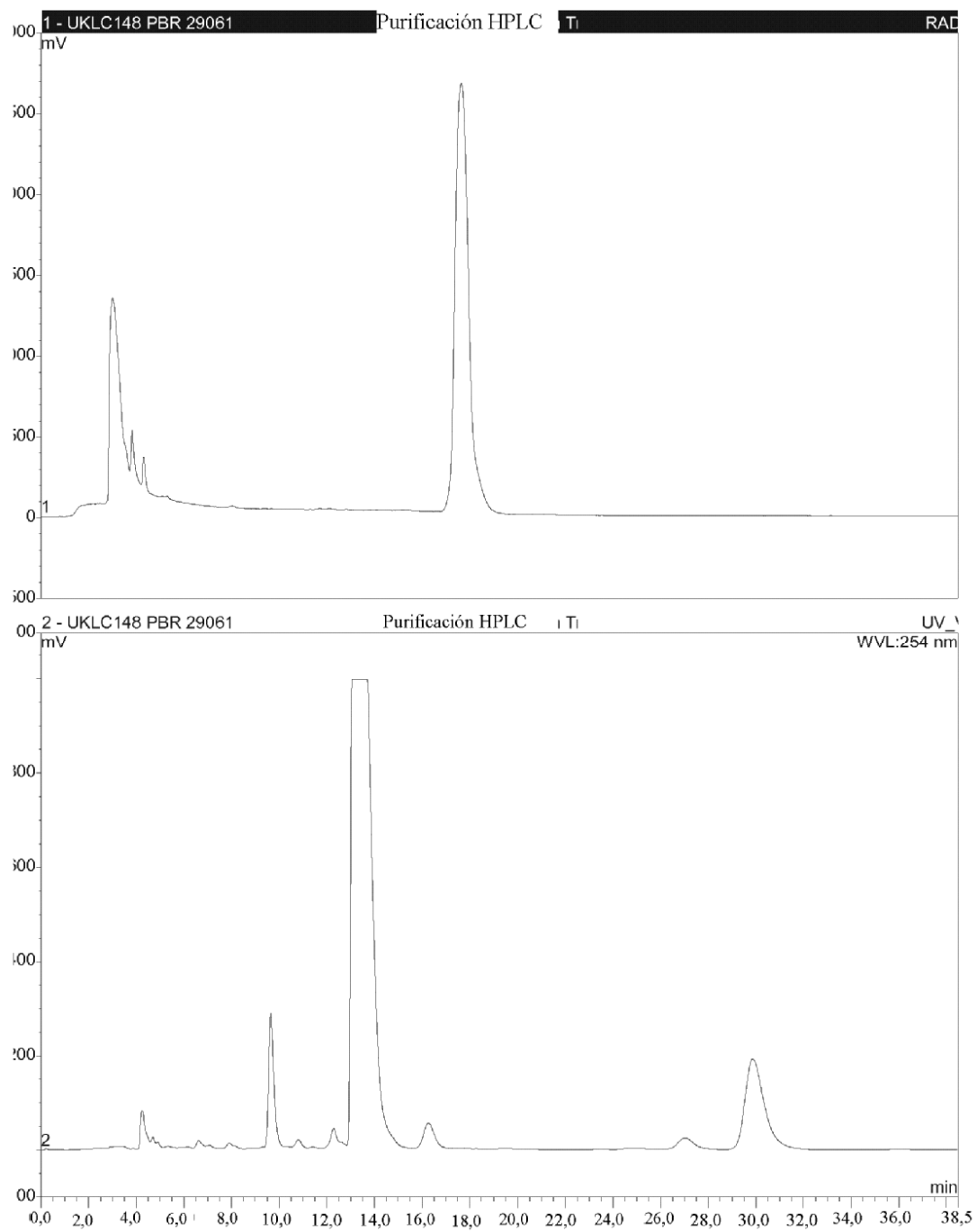


Figura 1

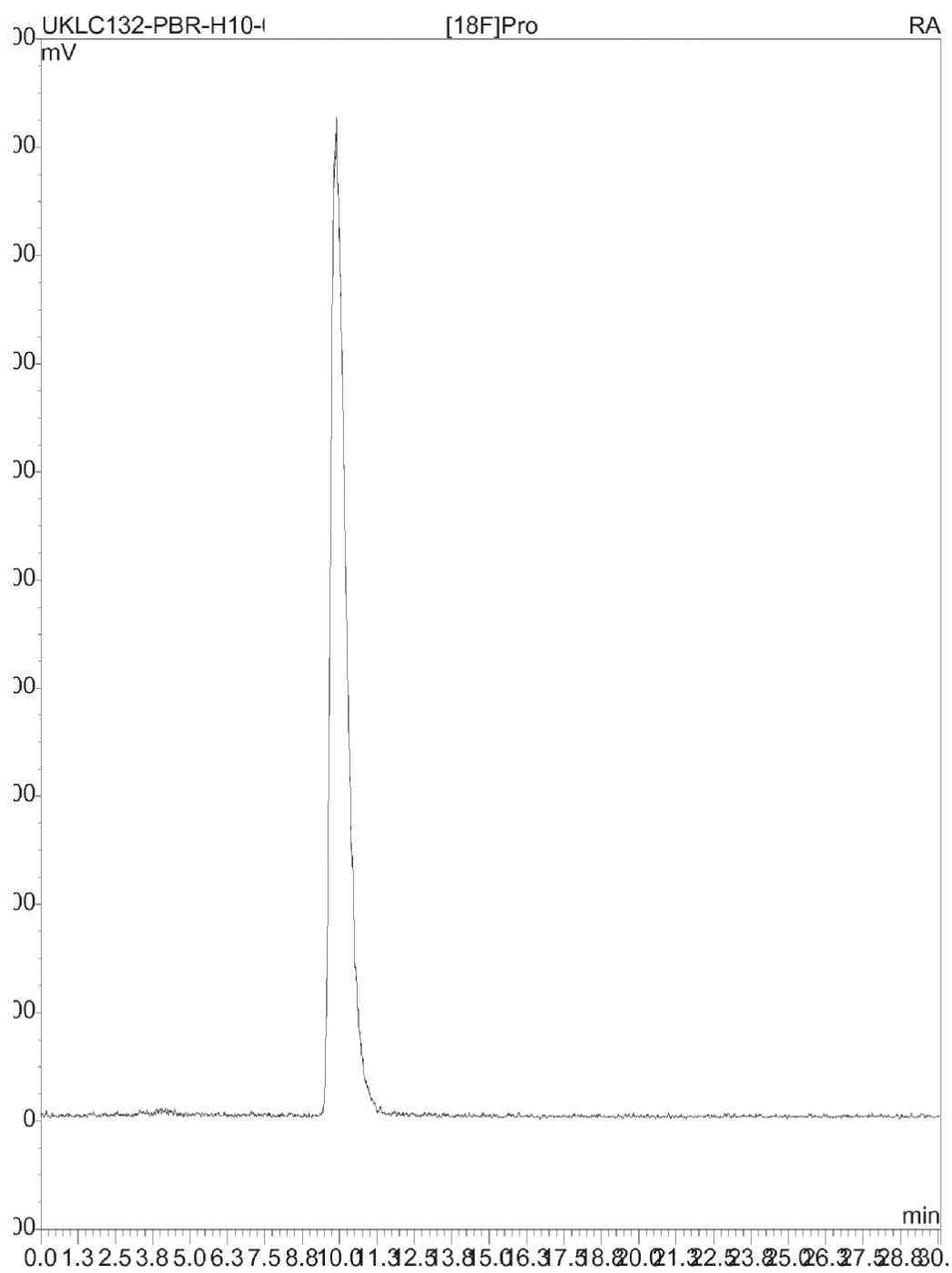


Figura 2

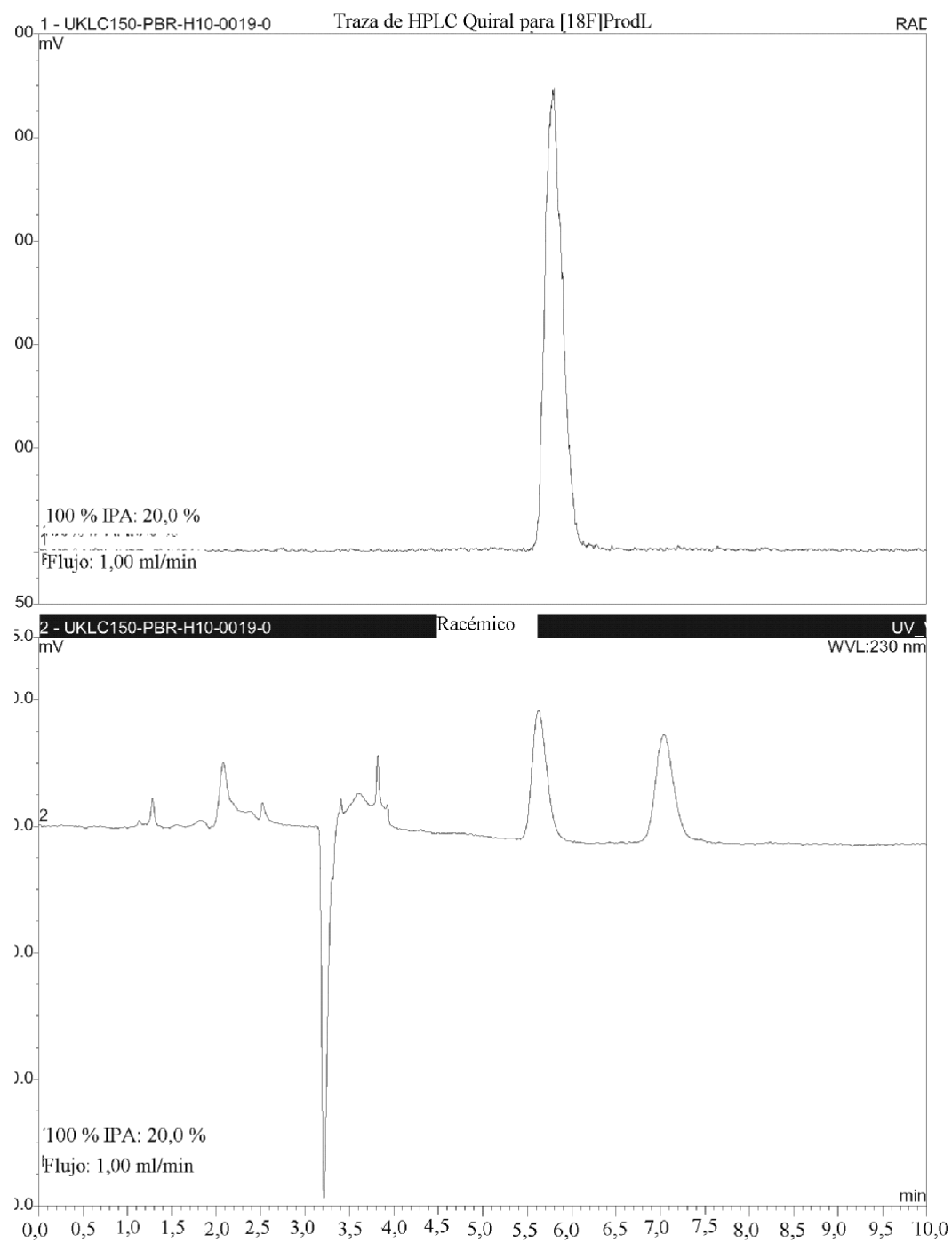


Figura 3

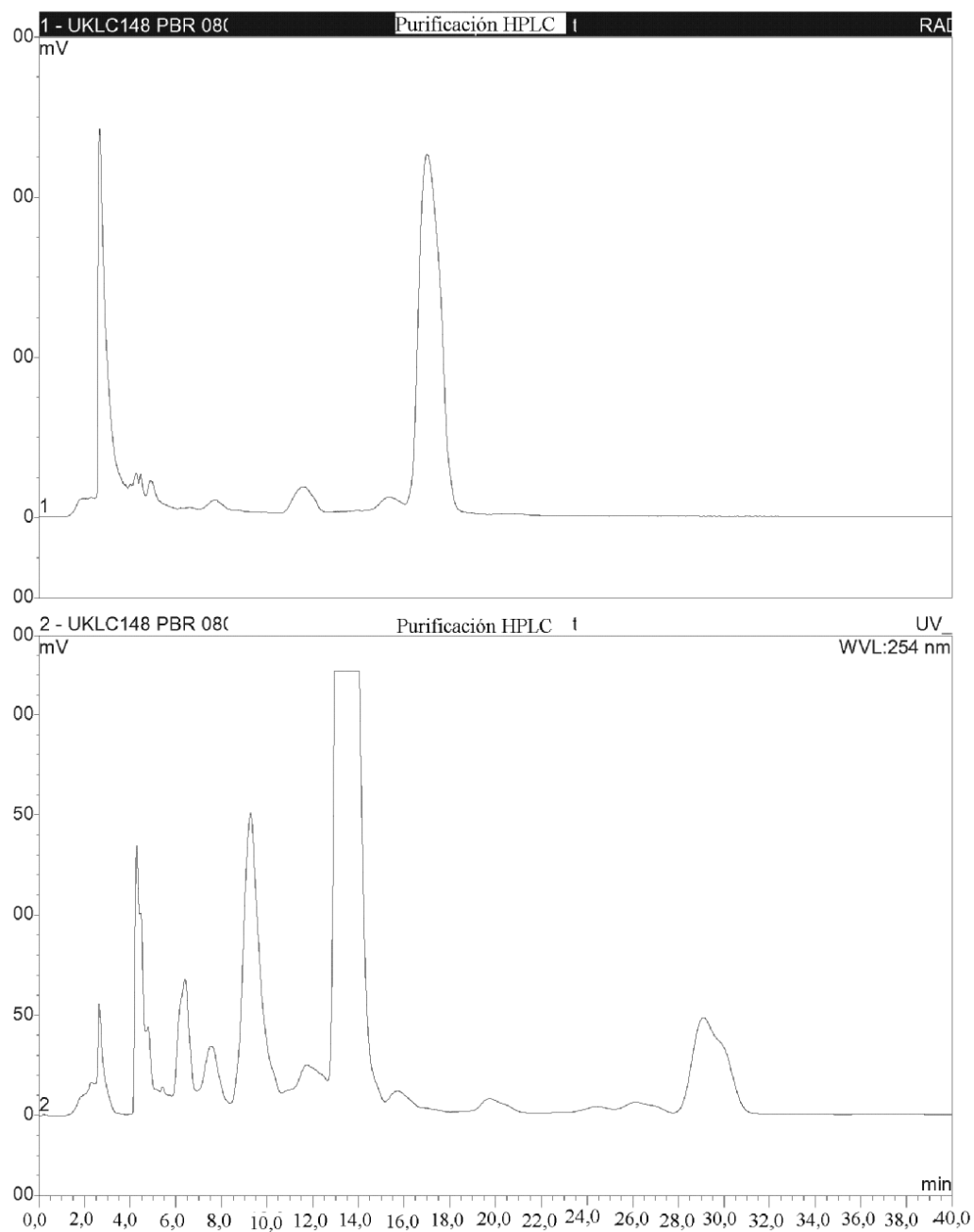


Figura 4

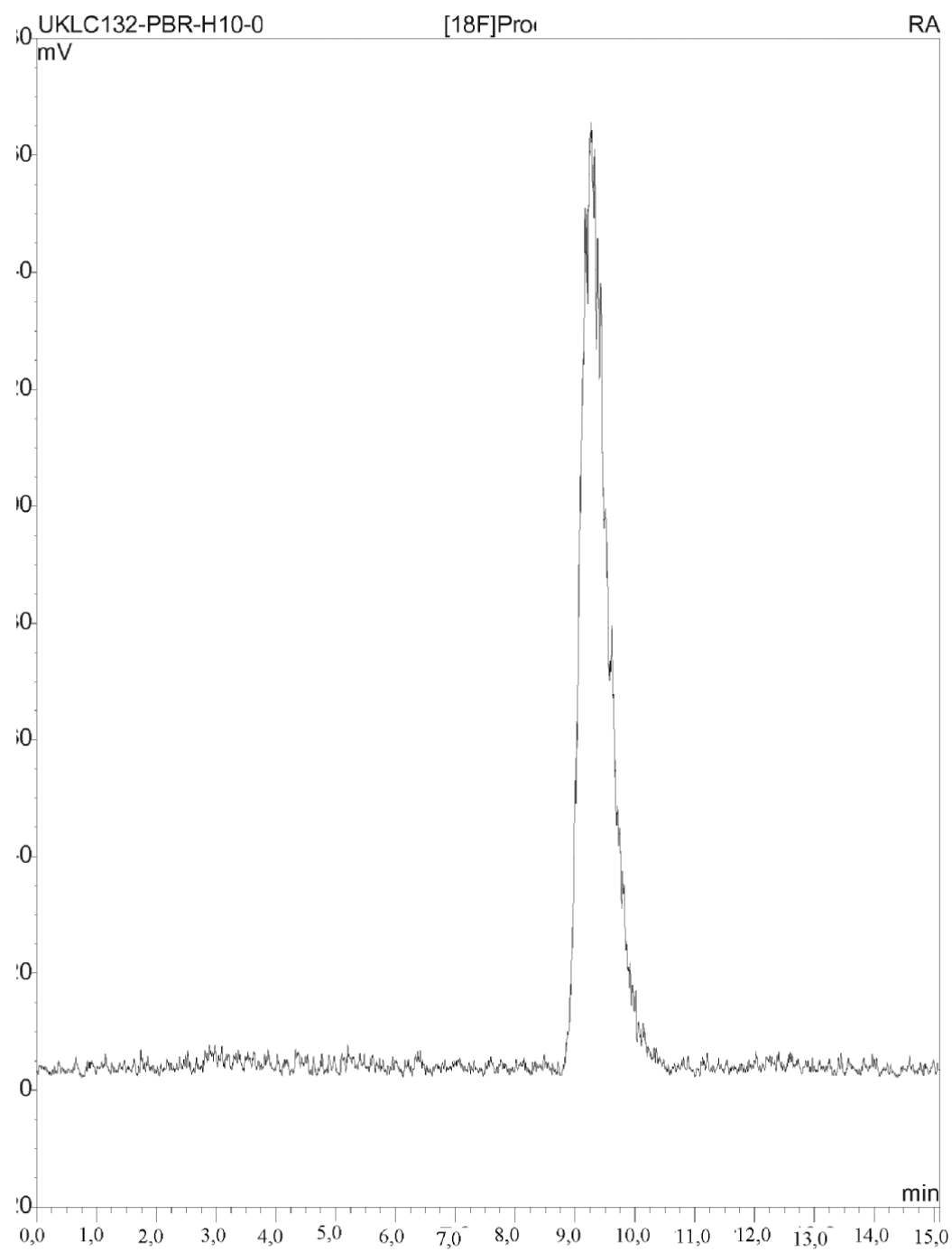


Figura 5

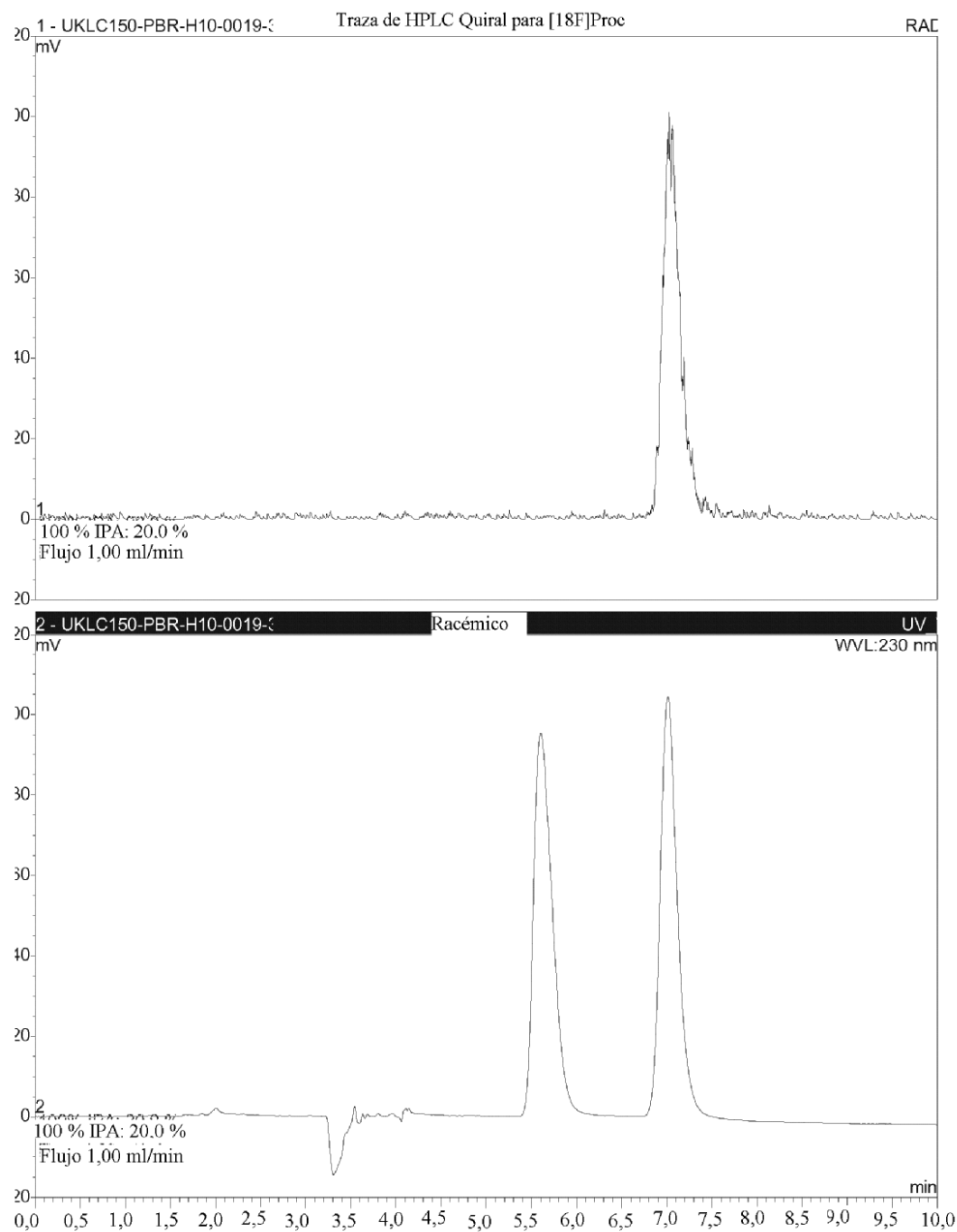


Figura 6

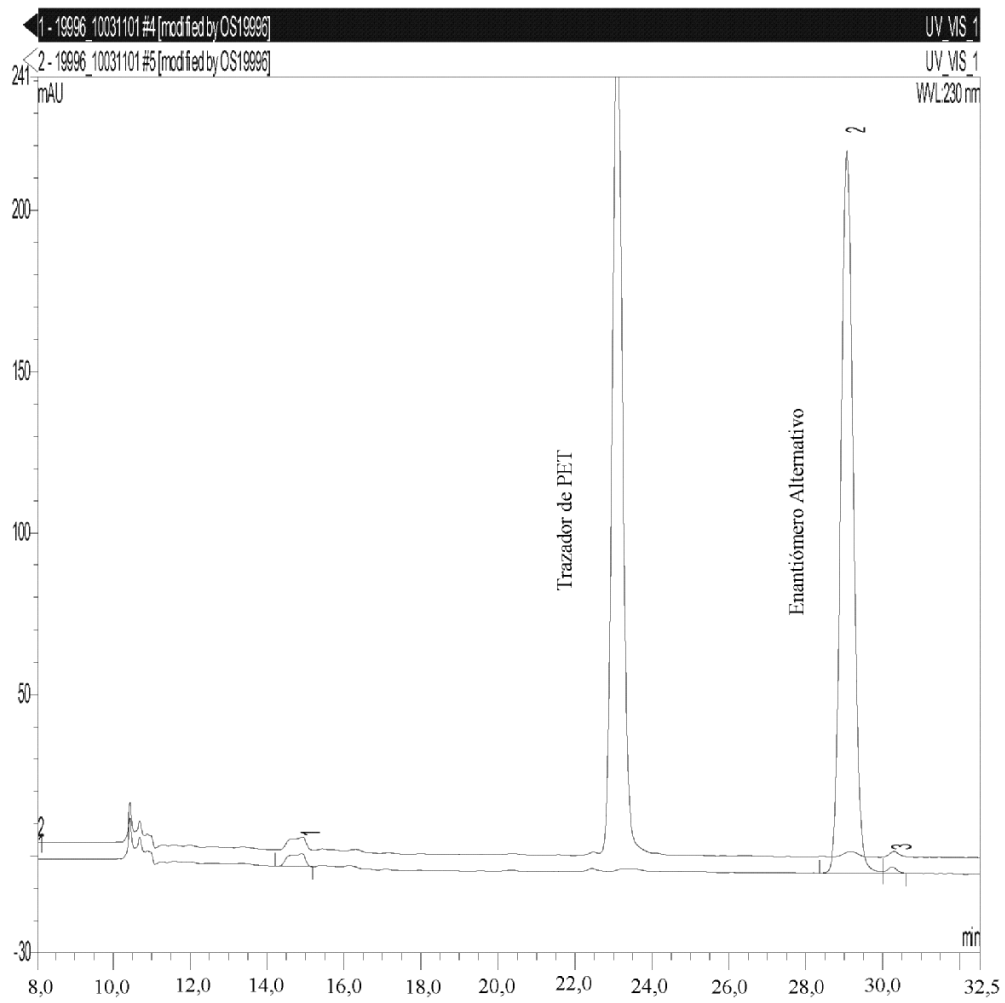


Figura 7

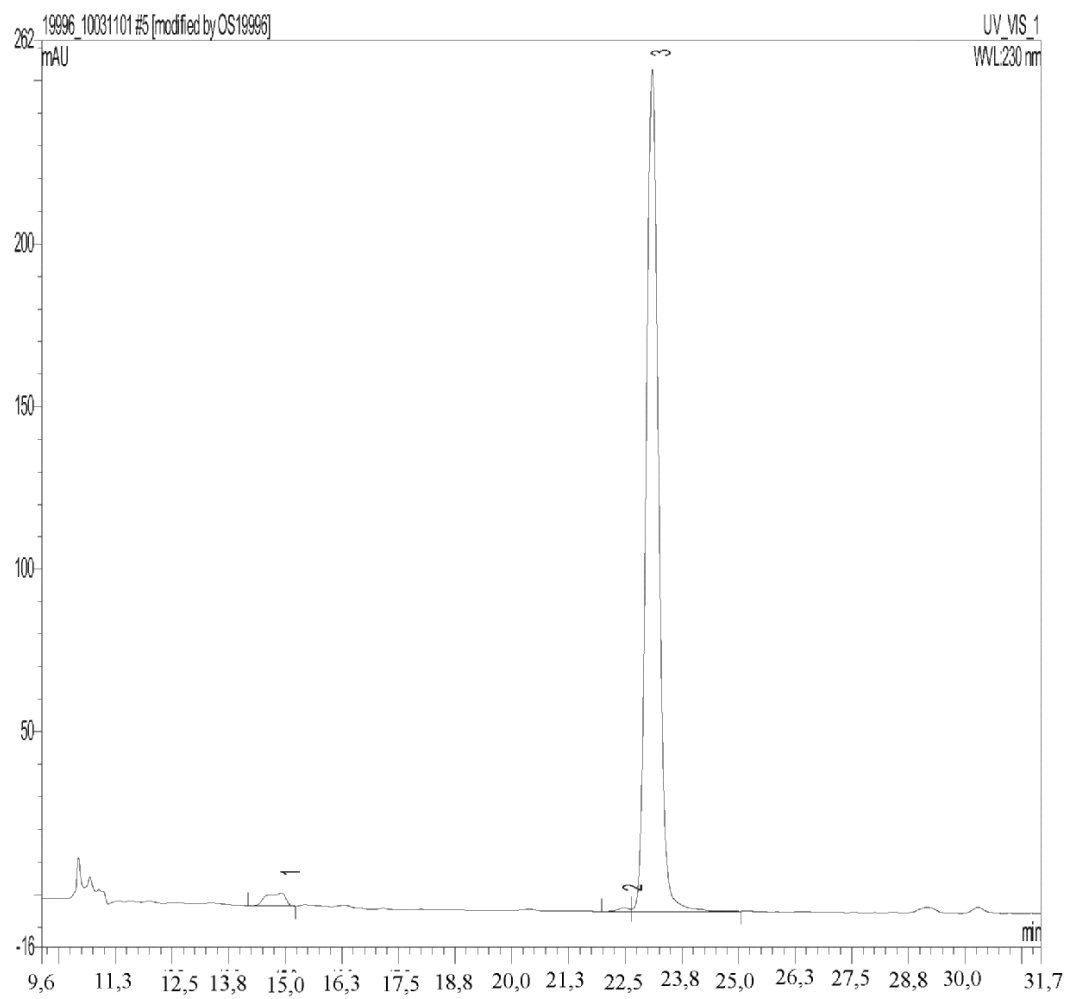


Figura 8a

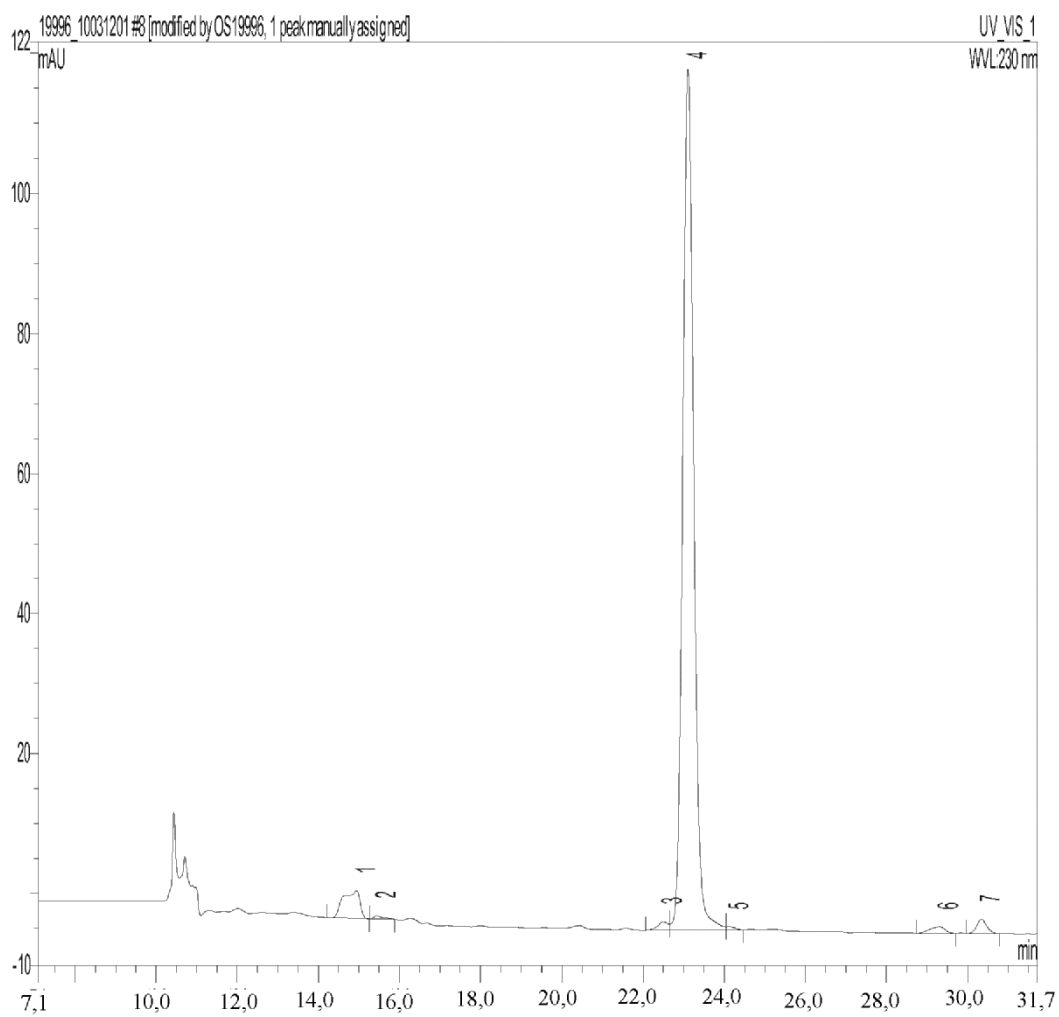


Figura 8b

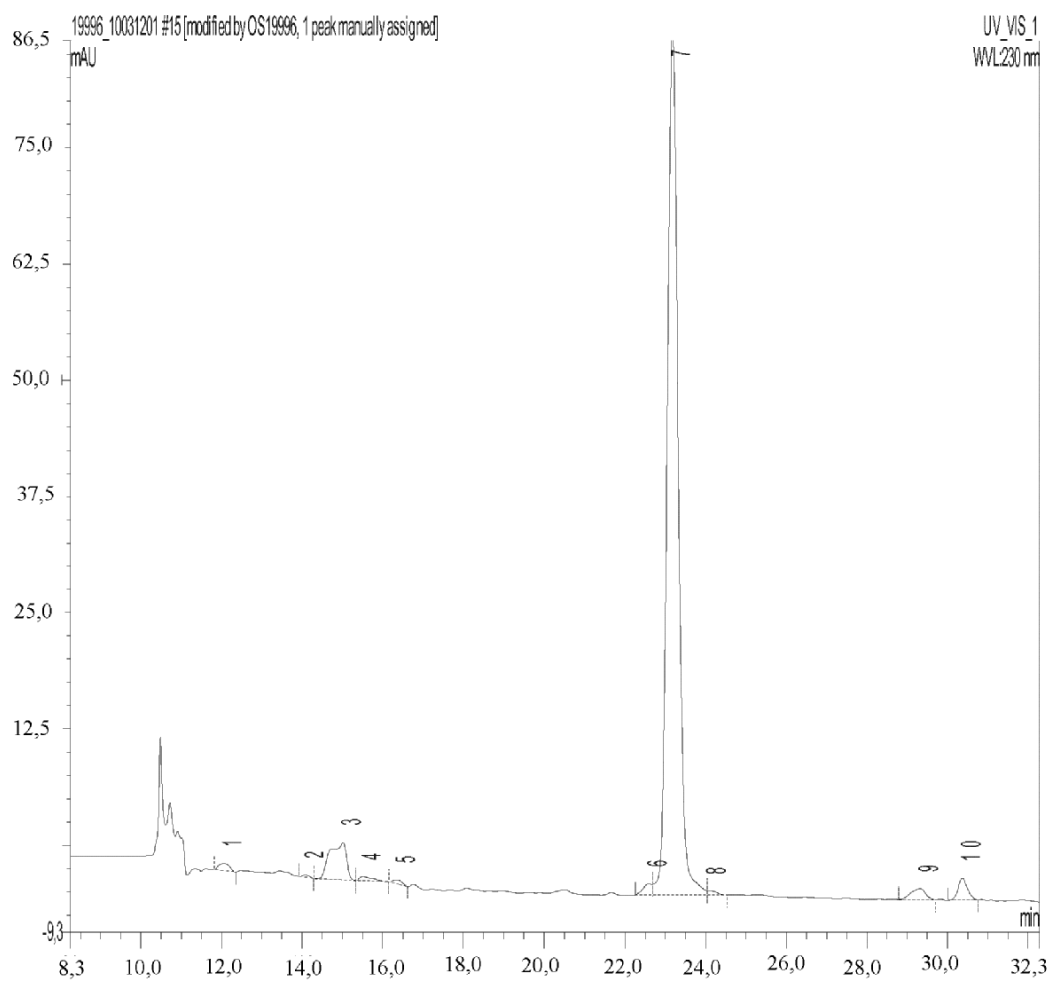


Figura 8c