

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 158**

51 Int. Cl.:

**A61K 51/04** (2006.01)

**A61P 25/18** (2006.01)

**A61P 25/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.12.2015 PCT/EP2015/078296**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.06.2016 WO16087489**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2015 E 15804426 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.02.2019 EP 3226915**

54 Título: **Ligandos para PET de mGluR2 radiomarcados**

30 Prioridad:

**03.12.2014 EP 14196081**

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

**14.10.2019**

73 Titular/es:

**JANSSEN PHARMACEUTICA NV (100.0%)  
Turnhoutseweg 30  
2340 Beerse, BE**

72 Inventor/es:

**VAN GOOL, MICHIEL LUC MARIA;  
ANDRÉS-GIL, JOSÉ IGNACIO;  
ALCÁZAR-VACA, MANUEL JESÚS;  
BORMANS, GUY MAURITS R.;  
CELEN, SOFIE JEANNE LEOPOLDINE y  
VERBEEK, JOOST**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 727 158 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

Ligandos para PET de mGluR2 radiomarcados

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a ligandos de mGluR2 radiomarcados selectivos que son útiles para la obtención de imágenes y la cuantificación del receptor de glutamato metabotrópico mGluR2 en tejidos, usando tomografía de emisión positrónica (PET) según se definen en las reivindicaciones. La invención también se dirige a composiciones que comprenden estos compuestos, a procedimientos para preparar estos compuestos y composiciones, al uso de estos compuestos y composiciones para obtener imágenes de un tejido, células o un mamífero, in vitro o in vivo, y a precursores de dichos compuestos según se definen en las reivindicaciones.

10 Antecedentes de la invención

El sistema glutamatérgico del SNC es uno de los sistemas neurotransmisores que representan un papel clave en varias funciones cerebrales. Los receptores de glutamato metabotrópicos (mGluR) pertenecen a la familia acoplada a proteína G, y se han identificado hasta la fecha ocho subtipos diferentes, que están distribuidos en diversas regiones cerebrales (Ferraguti & Shigemoto, Cell & Tissue Research, 326:483-504, 2006). Los mGluRs participan en la modulación de la transmisión sináptica y la excitabilidad neuronal en el SNC mediante la unión de glutamato. Esto activa el receptor para acoplarse a socios de señalización intracelulares, conduciendo a episodios celulares (Niswender & Conn, Annual Review of Pharmacology & Toxicology 50:295-322, 2010).

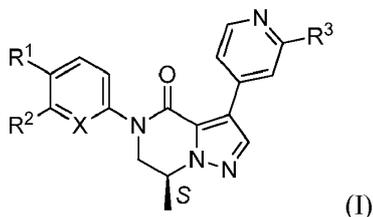
Los mGluRs se dividen además en tres subgrupos basados en sus propiedades farmacológicas y estructurales: grupo-I (mGluR1 y mGluR5), grupo-II (mGluR2 y mGluR3) y grupo-III (mGluR4, mGluR6, mGluR7 y mGluR8). Se considera que los ligandos del grupo-II, moduladores tanto ortostéricos como alostéricos, son potencialmente útiles en el tratamiento de diversos trastornos neurológicos, incluyendo psicosis, trastornos del estado de ánimo, enfermedad de Alzheimer y deficiencias cognitivas o de la memoria. Esto está de acuerdo con su localización principal en zonas del cerebro tales como la corteza, el hipocampo y el cuerpo estriado (Ferraguti & Shigemoto, Cell & Tissue Research 326:483-504, 2006). Particularmente, se presenta que los antagonistas y los moduladores alostéricos negativos mantienen potencial para el tratamiento de trastornos del estado de ánimo y disfunción cognitiva o de la memoria. Esto se basa en hallazgos con antagonistas de receptores del grupo-II y moduladores alostéricos negativos probados en animales de laboratorio sometidos a una gama de condiciones experimentales consideradas importantes para estos síndromes clínicos (Goeldner y cols, Neuropharmacology 64:337-346, 2013). Están en curso estudios clínicos, por ejemplo, con el antagonista de mGluR2/3 RO4995819 (F. Hoffmann-La Roche Ltd.) en terapia complementaria en pacientes con trastorno depresivo mayor que tienen una respuesta inadecuada al tratamiento antidepresivo en marcha (ClinicalTrials.gov Identificador NCT01457677, recuperado el 19 de febrero de 2014). El documento WO 2013066736 (Merck Sharp & Dohme Corp.) describe compuestos de quinolinocarboxamida y quinolinocarbonitrilo como NAMs de mGluR2. El documento WO2013174822 (Domain therapeutics) describe 4H-pirazolo[1,5-a]quinazolin-5-onas y 4H-pirrolo[1,2-a]quinazolin-5-onas y la actividad NAM de mGluR2 in vitro de las mismas. El documento WO 2014064028 (F. Hoffman-La Roche AG) divulga una selección de moduladores alostéricos negativos de mGlu2/3 y su uso potencial en el tratamiento de trastornos del espectro autista (ASD). El documento WO2012/062752 enseña ligandos para PET de mGluR2 radiomarcados que se usan para la obtención de imágenes del receptor mGluR2 en el cerebro. Los compuestos son descritos por la fórmula de Markush de la reivindicación 1 y son heterocíclicos, conteniendo un anillo de triazol fusionado a un anillo fenílico.

Los receptores del grupo-II están situados principalmente en terminales nerviosos presinápticos donde ejercen un bucle de retroalimentación negativa para la liberación de glutamato en la sinapsis (Kelmendi y cols, Primary Psychiatry 13:80-86, 2006). Por lo tanto, la inhibición funcional de estos receptores por antagonistas o moduladores alostéricos negativos levanta el freno a la liberación de glutamato, dando como resultado una señalización glutamatérgica potenciada. Se cree que este efecto subyace a los efectos de tipo antidepresivo y procognitivos observados en especies preclínicas con inhibidores del receptor del Grupo-II. Además, se ha mostrado que el tratamiento de ratones con antagonistas ortostéricos del grupo-II potencia la señalización por factores de crecimiento tales como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Koike y cols, Behavioural Brain Research 238:48-52, 2013). Puesto que se ha mostrado que el BDNF y otros factores de crecimiento están críticamente implicados mediando en la plasticidad sináptica, es probable que este mecanismo contribuya a las propiedades tanto antidepresivas como procognitivas de estos compuestos. Por lo tanto, se considera que la inhibición de mGluRs de la familia de receptores del grupo-II representa un mecanismo terapéutico potencial para trastornos neurológicos, incluyendo depresión y disfunción cognitiva o de la memoria.

La tomografía de emisión positrónica (PET) es una técnica de obtención de imágenes no invasiva que ofrece la más alta resolución espacial y temporal de todas las técnicas de obtención de imágenes nucleares y tiene la ventaja añadida de que puede permitir la cuantificación cierta de las concentraciones de trazador en los tejidos. Usa radionúclidos emisores de positrones tales como, por ejemplo, <sup>15</sup>O, <sup>13</sup>N, <sup>11</sup>C y <sup>18</sup>F, para la detección. Hasta ahora, se han presentado varios radiotrazadores para tomografía de emisión positrónica para la obtención de imágenes in vivo de mGluRs. Todavía existe una necesidad de proporcionar radiotrazadores para tomografía de emisión positrónica para obtener imágenes de mGluR2.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto que tiene la Fórmula (I)



en la que,

5 X es CH o N,

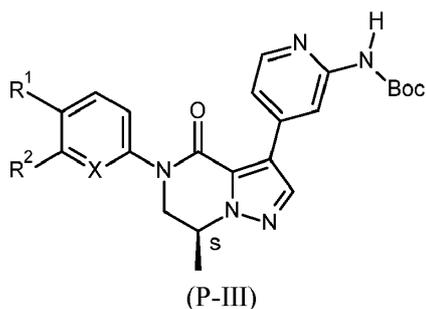
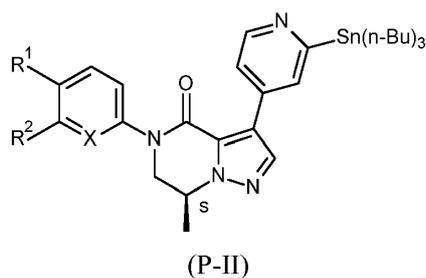
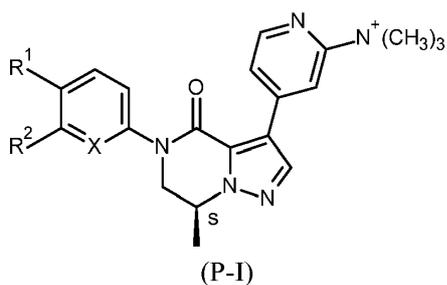
R<sup>1</sup> se selecciona del grupo de CF<sub>3</sub>, SF<sub>5</sub> y Cl;

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo de H, Cl y -OCH<sub>3</sub>; y

R<sup>3</sup> se selecciona de -NHCH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> y F;

10 en donde al menos un átomo está radiomarcado, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo según se define en las reivindicaciones.

La invención también se refiere a compuestos precursores para la síntesis de un compuesto de Fórmula (I) según se define previamente. Así, la presente invención también se refiere a compuestos de Fórmulas (P-I), (P-II) o (P-III)



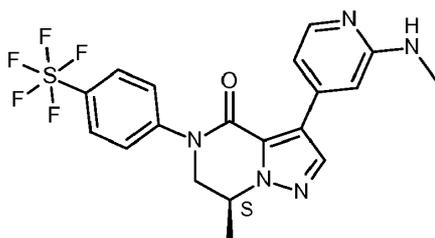
15 en las que

X es CH o N,

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo de CF<sub>3</sub>, SF<sub>5</sub> y Cl;

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo de H, Cl y -OCH<sub>3</sub>; y Boc es terc-butiloxycarbonilo.

20 La invención también se refiere a materiales de referencia, que corresponden, por ejemplo, a los correspondientes [<sup>12</sup>C]-compuestos o los [<sup>19</sup>F]-compuestos de Fórmula (I). En un aspecto adicional, la invención se refiere al compuesto



o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo según se define en las reivindicaciones.

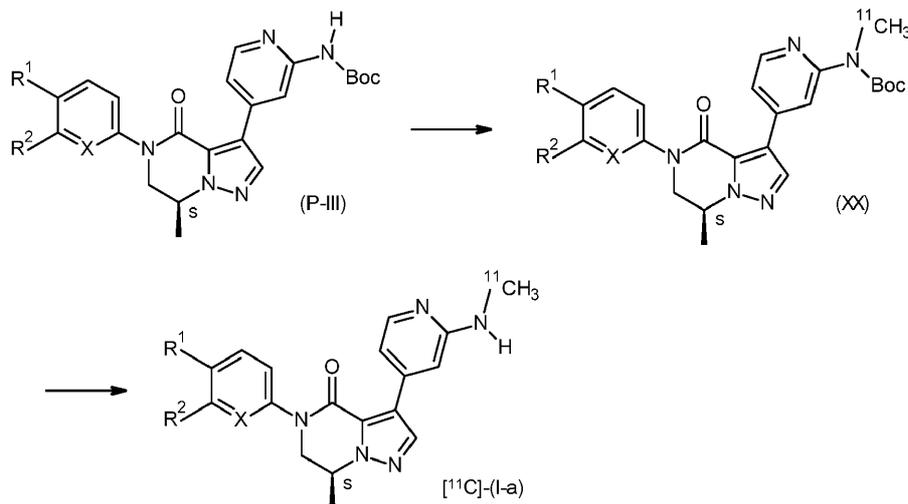
5 La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, dicha composición farmacéutica es particularmente adecuada para diagnóstico y por lo tanto se puede denominar una composición farmacéutica diagnóstica. En particular, dicha composición farmacéutica es una solución estéril. Así, es ilustrativa de la invención una solución estéril que comprende un compuesto de Fórmula (I) descrito en la presente.

10 La invención se refiere además al uso de un compuesto de Fórmula (I) como un agente de obtención de imágenes. Por lo tanto, ejemplificando la invención existe un uso de un compuesto de Fórmula (I) según se describe en la presente, para la, o un método de, obtención de imágenes de un tejido, células o un mamífero, in vitro o in vivo.

15 La invención también se refiere a un método para obtener imágenes de un tejido, células o un mamífero, que comprende poner en contacto con o proporcionar o administrar una cantidad detectable de un compuesto marcado de Fórmula (I) según se describe en la presente a un tejido, células o un mamífero y detectar el compuesto de Fórmula (I).

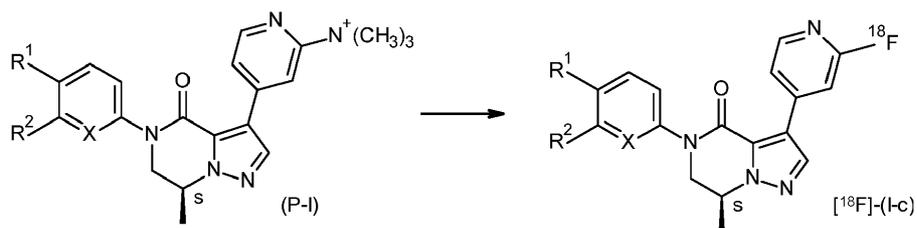
20 Ejemplificando adicionalmente la invención hay un método para obtener imágenes de un tejido, células o un mamífero, que comprende poner en contacto con o proporcionar o administrar a un tejido, células o un mamífero un compuesto de Fórmula (I) según se describe en la presente y obtener imágenes del tejido las células o el mamífero con un sistema de obtención de imágenes por tomografía de emisión positrónica. Adicionalmente, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un compuesto según la Fórmula (I) según se describe en la presente, que comprende

(a) las etapas de hacer reaccionar un compuesto según la Fórmula (P-III) según se define en la presente con [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub> bajo condiciones apropiadas, seguido por escisión de Boc bajo condiciones apropiadas,



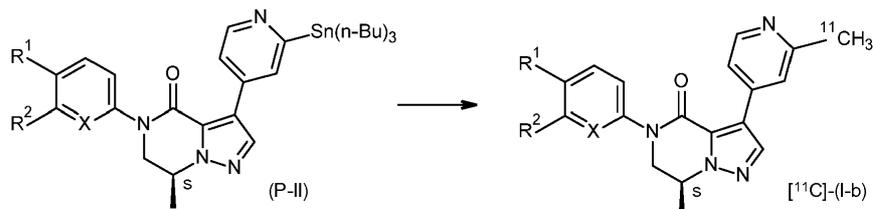
25 o

(b) la etapa de hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (P-I) según se define en la presente con <sup>18</sup>F<sup>-</sup>/4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosano en presencia de K<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> o KHCO<sub>3</sub>,



o

(c) la etapa de hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (P-II) según se define en la presente con  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$



5 Descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la unión de  $[^{11}\text{C}]\text{-2}$  a secciones cerebrales de ratones inactivados (KO) para mGluR2 y silvestres (WT). TB= unión de trazador total presentada en la fila superior; AS = unión inespecífica en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 1** presentada en la fila inferior.

10 La Figura 2 muestra la unión de  $[^{11}\text{C}]\text{-1}$  a secciones cerebrales de ratones mGluR2 KO y WT. TB= unión de trazador total presentada en la fila superior; AS = unión inespecífica en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 1** presentada en la fila inferior.

La Figura 3 muestra la unión de  $[^{18}\text{F}]\text{-3}$  a secciones cerebrales de ratones mGluR2 KO y WT. TB= unión de trazador total presentada en la fila superior; AS = unión inespecífica en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 1** presentada en la fila inferior.

15 La Figura 4 muestra la unión de  $[^{11}\text{C}]\text{-5}$  a secciones cerebrales de ratones mGluR2 KO y WT. TB= unión de trazador total presentada en la fila superior; AS = unión inespecífica en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 1** presentada en la fila inferior.

20 La Figura 5 muestra la unión de  $[^{11}\text{C}]\text{-4}$  a secciones cerebrales de ratones mGluR2 KO y WT. TB= unión de trazador total presentada en la fila superior; AS = unión inespecífica en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 1** presentada en la fila inferior.

La Figura 6 muestra la unión de  $[^{11}\text{C}]\text{-2}$  a secciones cerebrales de rata hembra normal. La unión de trazador total se presenta en la fila superior; la unión inespecífica en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 1** y en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 2** (autobloqueo) se presenta en la fila inferior.

25 La Figura 7 muestra la unión de  $[^{11}\text{C}]\text{-1}$  a secciones cerebrales de rata hembra normal. La unión de trazador total se presenta en la fila superior; la unión inespecífica en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 1** (autobloqueo) y en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 2** se presenta en la fila inferior.

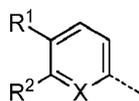
La Figura 8 muestra la unión de  $[^{18}\text{F}]\text{-3}$  a secciones cerebrales de rata hembra normal. La unión de trazador total se presenta en la fila superior; la unión inespecífica en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 1** y en presencia de  $10\ \mu\text{M}$  de **Co. N° 3** (autobloqueo) se presenta en la fila inferior.

30 **Descripción detallada de la invención**

La presente invención se dirige a compuestos de Fórmula (I) según se definen en las reivindicaciones y sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos de los mismos.

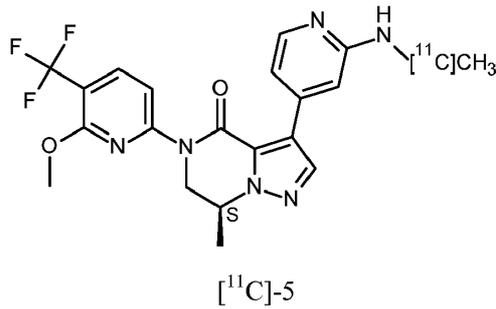
En una realización, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula (I),

en la que



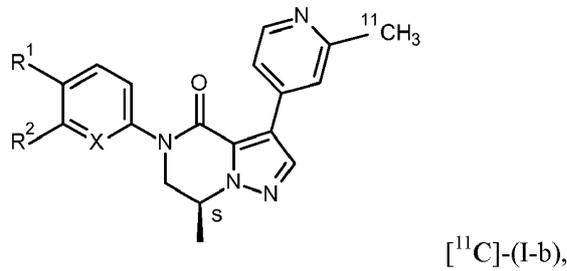
35  $\text{R}^2$  se selecciona de (a), (b), (c) o (d):





o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de los mismos.

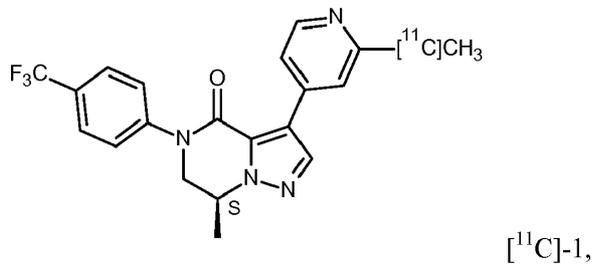
5 En una realización adicional de la presente invención, el compuesto de Fórmula (I) se selecciona de un compuesto de Fórmula [<sup>11</sup>C]-(I-b)



en la que

X, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son según se definen en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

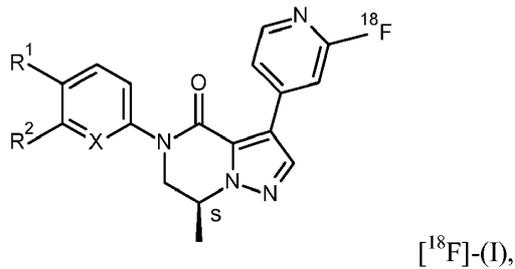
En una realización adicional de la presente invención, el compuesto de Fórmula [<sup>11</sup>C]-(I-b) es [<sup>11</sup>C]-1



10

o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

En una realización adicional de la presente invención, el compuesto de Fórmula (I) se selecciona de un compuesto de Fórmula [<sup>18</sup>F]-(I)

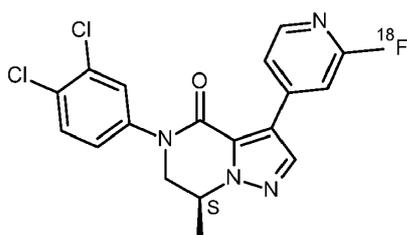


15

en la que

X, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son según se definen en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

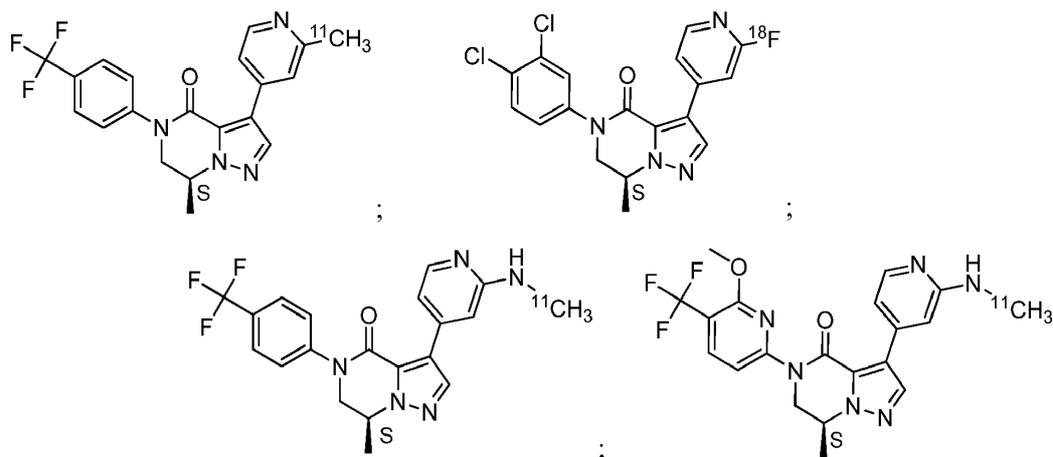
En una realización adicional de la presente invención, el compuesto de Fórmula [<sup>18</sup>F]-(I) es [<sup>18</sup>F]-3



[<sup>18</sup>F]-3,

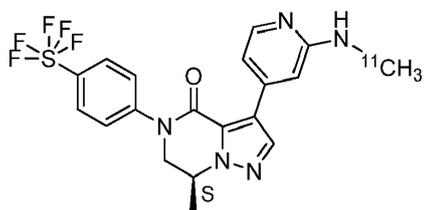
o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

En una realización más, el compuesto de Fórmula (I) que se describe previamente es



5

o



;

o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

10 Como ya se ha mencionado, los compuestos de Fórmula (I) y las composiciones que comprenden los compuestos de Fórmula (I) se pueden usar para obtener imágenes de un tejido, células o un mamífero, in vitro o in vivo. En particular, la invención se refiere a un método para formar imágenes de o cuantificar el receptor mGluR2 en un tejido, células o un mamífero in vitro o in vivo.

15 Las células y los tejidos son preferiblemente células y tejidos del sistema nervioso central en los que son abundantes los receptores mGluR2. Como ya se mencionó, el receptor mGluR2 es abundante en tejido del sistema nervioso central, más en particular, en tejido del sistema nervioso central que forma el cerebro; más en particular, que forma la corteza cerebral, regiones talámicas, el bulbo olfativo accesorio, el hipocampo, el núcleo amigdalino, el núcleo caudado-putamen y el núcleo accumbens.

20 Cuando el método se realiza in vivo, el compuesto de Fórmula (I) se puede administrar intravenosamente, por ejemplo, mediante la inyección con una jeringa o por medio de un conducto intravenoso periférico, tal como un catéter corto.

Cuando el mamífero es un ser humano, el compuesto de Fórmula (I) o una solución estéril que comprende un compuesto de Fórmula (I) se puede administrar en particular mediante administración intravenosa en el brazo, en cualquier vena identificable, en particular en el dorso de la mano o en la vena cubital mediana en el codo.

25 Así, en una realización particular, la invención se refiere a un método para obtener imágenes de un tejido o células en un mamífero, que comprende la administración intravenosa de un compuesto de Fórmula (I), según se define en la presente, o una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I), al mamífero y obtener imágenes del tejido o las células con un sistema de obtención de imágenes por tomografía de emisión positrónica.

Así, en una realización particular más, la invención se refiere a un método para obtener imágenes de un tejido o células en un ser humano, que comprende la administración intravenosa de un compuesto de Fórmula (I), según se define en la presente, o una formulación estéril que comprende un compuesto de Fórmula (I), al ser humano y obtener imágenes del tejido o las células con un sistema de obtención de imágenes por tomografía de emisión positrónica.

En una realización más, la invención se refiere a un método para obtener imágenes de o cuantificar el receptor mGluR2 en un mamífero, que comprende la administración intravenosa de un compuesto de Fórmula (I), o una composición que comprende un compuesto de Fórmula (I), al mamífero y obtener imágenes con un sistema de obtención de imágenes por tomografía de emisión positrónica.

En otra realización, la invención se refiere al uso de un compuesto de Fórmula (I) para obtener imágenes de un tejido, células o un mamífero, in vitro o in vivo, o la invención se refiere a un compuesto de Fórmula (I), para el uso en la obtención de imágenes de un tejido, células o un mamífero in vitro o in vivo, usando tomografía de emisión positrónica.

La invención también se refiere a un método para obtener imágenes de o cuantificar el receptor de mGlu2 en un mamífero, comprendiendo el método proporcionar una cantidad detectable de un compuesto de Fórmula (I) a un mamífero y detectar el compuesto de Fórmula (I) asociado con receptor de mGlu2. El método también permite determinar la ocupación del receptor de mGlu2 por otros compuestos no radiomarcados, por lo tanto, la invención se refiere al compuesto de Fórmula (I) según se define en la presente, o la composición farmacéutica según la invención, para el uso en la determinación de la ocupación de sitios del receptor de mGlu2 por otros compuestos no radiomarcados.

Por otra parte, la invención se refiere a un método para evaluar un trastorno o la predisposición al mismo relacionados con el receptor de mGlu2 en un sujeto, comprendiendo el método proporcionar una cantidad detectable de un compuesto de Fórmula (I) o una composición farmacéutica según la invención, en donde el compuesto de Fórmula (I) traspasa la barrera hematoencefálica y preferentemente se une al receptor de mGlu2 en tejido cerebral, permitiendo que el compuesto se distribuya en el tejido cerebral y obteniendo imágenes del tejido cerebral.

El compuesto se proporciona a un sujeto en una cantidad detectable y, después de que haya pasado un tiempo suficiente para que el compuesto se asocie con el receptor de mGlu2, el compuesto marcado se detecta no invasivamente.

Como ya se ha mencionado anteriormente en la presente, la invención también abarca nuevos compuestos correspondientes a los [ $^{12}\text{C}$ ]-compuestos o los [ $^{19}\text{F}$ ]-compuestos de Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de los mismos. Se ha encontrado que dichos compuestos exhiben actividad NAM de mGluR2. Por lo tanto, la invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un nuevo [ $^{12}\text{C}$ ]-compuesto o [ $^{19}\text{F}$ ]-compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato de lo mismo y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

De ahí que la presente invención también se refiera a un nuevo [ $^{12}\text{C}$ ]-compuesto o [ $^{19}\text{F}$ ]-compuesto de Fórmula (I) según la Fórmula general (I), o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, para el uso como un medicamento.

La invención también se refiere al uso de un nuevo [ $^{12}\text{C}$ ]-compuesto o [ $^{19}\text{F}$ ]-compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, para la fabricación de un medicamento.

Por otra parte, la invención también se refiere a dichos nuevos [ $^{12}\text{C}$ ]-compuestos o [ $^{19}\text{F}$ ]-compuestos de Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos de los mismos, para el uso como un medicamento y a dichos nuevos [ $^{12}\text{C}$ ]-compuestos o [ $^{19}\text{F}$ ]-compuestos de Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos de los mismos, para el uso en el tratamiento o en la prevención de afecciones o enfermedades del sistema nervioso central seleccionadas de trastornos del estado de ánimo; delirio, demencia, trastornos amnésicos y otros trastornos cognitivos; trastornos habitualmente diagnosticados en primer lugar en la lactancia, la infancia o la adolescencia; trastornos relacionados con drogas; esquizofrenia y otros trastornos psicóticos; trastornos somatoformes; y trastorno del sueño hipersómnico.

La invención también se refiere al uso de dichos nuevos [ $^{12}\text{C}$ ]-compuestos o [ $^{19}\text{F}$ ]-compuestos de Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos de los mismos, en combinación con un agente farmacéutico adicional para el uso en el tratamiento o en la prevención de afecciones o enfermedades del sistema nervioso central seleccionadas de trastornos del estado de ánimo; delirio, demencia, trastornos amnésicos y otros trastornos cognitivos; trastornos habitualmente diagnosticados en primer lugar en la lactancia, la infancia o la adolescencia; trastornos relacionados con drogas; esquizofrenia y otros trastornos psicóticos; trastornos somatoformes; y trastorno del sueño hipersómnico.

Por otra parte, la invención se refiere a un procedimiento para preparar una composición farmacéutica según la invención, caracterizado por que un portador farmacéuticamente aceptable se mezcla íntimamente con una cantidad

terapéuticamente eficaz de dicho nuevo [<sup>12</sup>C]-compuesto o [<sup>19</sup>F]-compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

5 La invención también se refiere a un método para tratar o prevenir un trastorno del sistema nervioso central seleccionado de trastornos del estado de ánimo; delirio, demencia, trastornos amnésicos y otros trastornos cognitivos; trastornos habitualmente diagnosticados en primer lugar en la lactancia, la infancia o la adolescencia; trastornos relacionados con drogas; esquizofrenia y otros trastornos psicóticos; trastornos somatoformes; y trastorno del sueño hipersómnico, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho nuevo [<sup>12</sup>C]-compuesto o [<sup>19</sup>F]-compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, o una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica según la invención.

10 La invención también se refiere a un producto que comprende un nuevo [<sup>12</sup>C]-compuesto o [<sup>19</sup>F]-compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo y un agente farmacéutico adicional, como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial para el uso en el tratamiento o en la prevención de afecciones o enfermedades del sistema nervioso central seleccionadas de trastornos del estado de ánimo; delirio, demencia, trastornos amnésicos y otros trastornos cognitivos; trastornos habitualmente diagnosticados en primer lugar en la lactancia, la infancia o la adolescencia; trastornos relacionados con drogas; esquizofrenia y otros trastornos psicóticos; trastornos somatoformes; y trastorno del sueño hipersómnico.

#### Definiciones

20 Según se usa en la presente, el término "composición" está destinado a abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directamente o indirectamente, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

El término "cantidad detectable" se refiere a la concentración de compuesto por encima del límite de detección inferior del instrumento de obtención de imágenes, en particular, del instrumento de barrido de PET.

La configuración absoluta se especifica según el sistema de Cahn-Ingold-Prelog.

25 Las sales por adición de los compuestos según la invención también pretenden ser abarcadas dentro del alcance de esta invención.

30 Sales aceptables de los compuestos de la invención son aquellas en las que el ion conjugado es farmacéuticamente aceptable. Sin embargo, sales de ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables también encuentran uso, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable. Todas las sales, sean farmacéuticamente aceptables o no, se incluyen dentro del ámbito de la presente invención. Se define que las sales farmacéuticamente aceptables comprenden las formas de sales por adición de ácidos atóxicas terapéuticamente activas que sean capaces de formar los compuestos según la invención. Dichas sales se pueden obtener al tratar la forma de base de los compuestos según la invención con ácidos apropiados, por ejemplo ácidos inorgánicos, por ejemplo ácido halohídrico, en particular ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico; ácidos orgánicos, por ejemplo ácido acético, ácido hidroxiacético, ácido propanoico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido cicláamico, ácido salicílico, ácido p-aminosalicílico y ácido pamoico.

A la inversa, dichas formas salinas se pueden convertir en la forma de base libre mediante tratamiento con una base apropiada.

40 Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden formar solvatos con agua (es decir, hidratos) o disolventes orgánicos comunes y estos solvatos también están destinados a ser abarcados dentro del alcance de esta invención.

45 El término "sujeto", según se usa en la presente, se refiere a un animal, preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un ser humano, que es o ha sido objeto de tratamiento, observación o experimento. A menos que se indique otra cosa, "sujeto" incluye tanto animales sanos como animales afectados por diferentes enfermedades o trastornos.

El término "mamífero" se refiere, en particular, a seres humanos, ratones, perros y ratas.

El término "célula" se refiere a una célula que exprese o incorpore el receptor de mGlu2.

50 Los nombres de los compuestos de la presente invención se generaron según las reglas de nomenclatura de acuerdo con the Chemical Abstracts Service (CAS) usando el software de Advanced Chemical Development, Inc., (ACD/Name product versión 10.01; actualización 15494, 1 de diciembre de 2006).

#### Preparación

Los compuestos según la invención se pueden preparar generalmente mediante una sucesión de etapas, cada una de las cuales es conocida por el experto. En particular, los compuestos se pueden preparar según los siguientes métodos de síntesis.

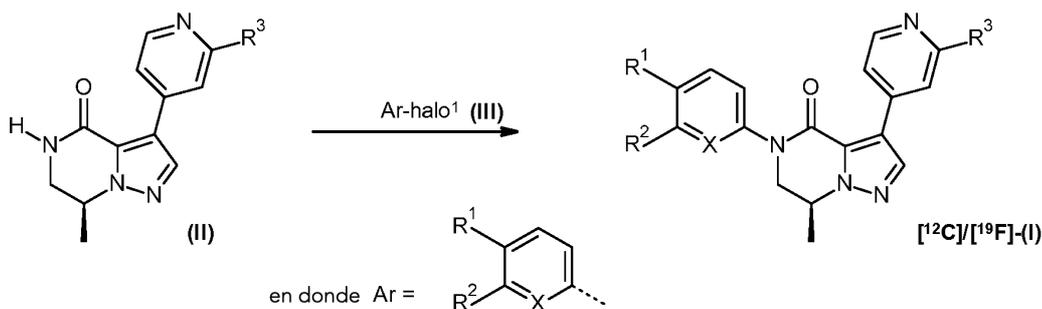
A. Preparación de los compuestos finales

- 5 Los compuestos de Fórmula (I) en su versión no radiomarcada denominados en la presente [<sup>12</sup>C]-(I) o [<sup>19</sup>F]-(I) se pueden preparar mediante métodos de síntesis muy conocidos por el experto en la técnica, por ejemplo:

Procedimiento experimental 1

- 10 Los compuestos finales según la Fórmula [<sup>12</sup>C]/[<sup>19</sup>F]-(I) se pueden preparar mediante una reacción de acoplamiento de Goldberg de un compuesto de Fórmula (II) con un haluro de (hetero)arilo apropiado de Fórmula (III) en la que halo<sup>1</sup> es en particular bromo o yodo, según condiciones conocidas por el experto. Estas condiciones incluyen, por ejemplo, usar un catalizador de cobre(I) apropiado tal como yoduro de cobre(I), en presencia de un ligando, tal como *N,N'*-dimetiletilendiamina, en presencia de una base, tal como carbonatos inorgánicos, por ejemplo carbonato sódico (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) o carbonato potásico (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), en un disolvente adecuado, tal como tolueno o una mezcla de tolueno y DMF, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, que varía típicamente  
15 entre 100°C y 140°C, en particular 110°C, durante un período que asegure la terminación de la reacción. Un compuesto de Fórmula (III) se puede obtener comercialmente o elaborar según procedimientos conocidos en la técnica. En el Esquema de Reacción 1, X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son según se definen anteriormente en la presente.

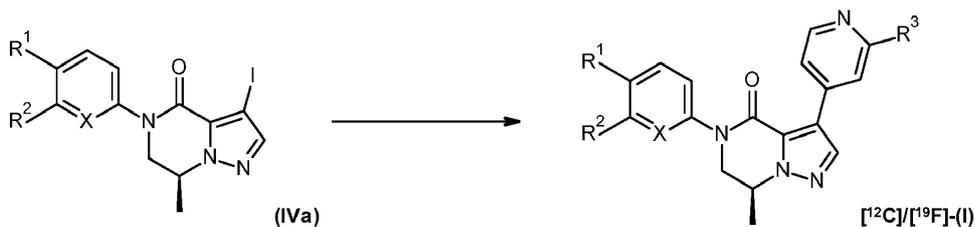
Esquema de Reacción 1



20 Procedimiento experimental 2

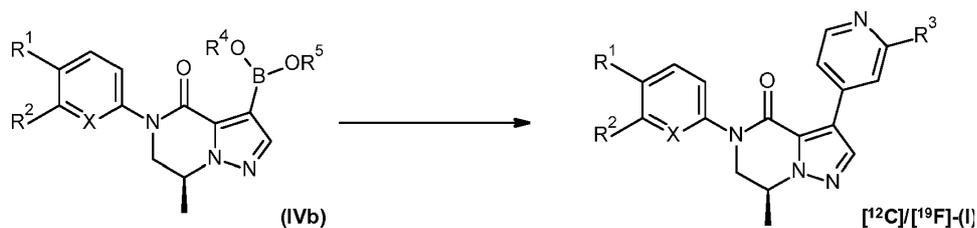
- Alternativamente, los compuestos finales según la Fórmula [<sup>12</sup>C]/[<sup>19</sup>F]-(I) se pueden preparar mediante una reacción de acoplamiento de Suzuki de un compuesto de Fórmula (IVa) con una especie borada adecuada o un compuesto de Fórmula (IVb), en la que R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se pueden seleccionar cada uno independientemente de H, alquilo C<sub>1-4</sub> o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se toman conjuntamente para formar, por ejemplo, un radical bivalente de fórmula -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-, con un derivado de haluro de 4-piridinilo adecuado en presencia de un catalizador de paladio, según condiciones de reacción conocidas por el experto. Estas condiciones de reacción incluyen el uso de un catalizador de paladio, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0), o un sistema catalítico alternativo preparado in situ a partir de Pd(OAc)<sub>2</sub> y PPh<sub>3</sub>, una base adecuada, tal como Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaOAc, NaHCO<sub>3</sub> o K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, y en un disolvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, o una mezcla de DME y agua. Desgasificar la mezcla de reacción con un gas inerte, tal como N<sub>2</sub> o argón, y calentar la mezcla de reacción hasta altas temperaturas, tales como temperatura de reflujo bajo calentamiento clásico o irradiación de microondas, en particular 80°C, puede mejorar el resultado de la reacción. En los Esquemas de Reacción 2a y 2b, X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son según se definen anteriormente en la presente.

Esquema de Reacción 2a

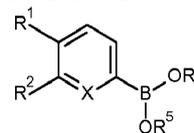


35

## Esquema de Reacción 2b



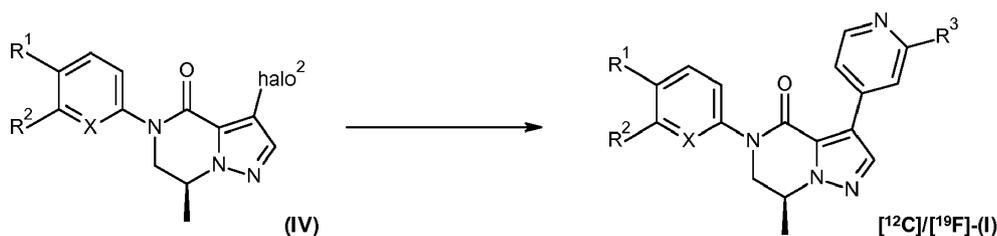
La especie borada adecuada se puede seleccionar, por ejemplo, de un ácido borónico o un éster de boronato, que



se puede representar convenientemente como un compuesto de Fórmula (IIIa), en la que R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se pueden seleccionar cada uno independientemente de H, alquilo C<sub>1-4</sub> o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se toman conjuntamente para

- 5 formar, por ejemplo, un radical bivalente de fórmula -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>- y X, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son según se definen anteriormente en la presente. Un experto puede prever que la reacción bajo el Esquema de Reacción 2a también se pueda realizar bajo condiciones similares, cuando el compuesto de Fórmula (IVa) soporte un grupo bromo en lugar de un grupo yodo. Esta reacción se puede representar como en el Esquema de Reacción 2c, en el que el compuesto de Fórmula (IV), en la que halo es, en particular, bromo o yodo y X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son
- 10 según se definen anteriormente en la presente, sufre un acoplamiento de tipo Suzuki según se describe anteriormente en la presente.

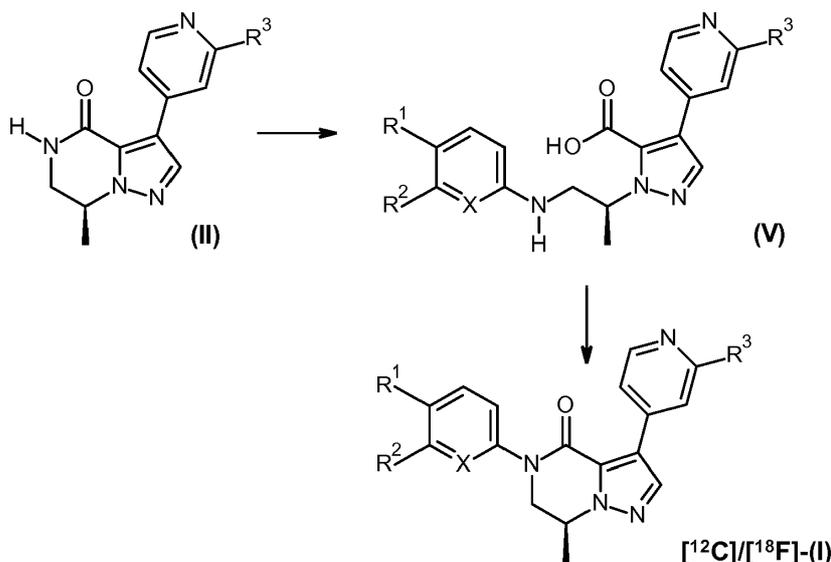
## Esquema de Reacción 2c



## Procedimiento experimental 3

- 15 Alternativamente, los compuestos finales según la Fórmula [12C]/[19F]-I se pueden preparar en un solo recipiente partiendo de un compuesto de Fórmula (II). En primer lugar, una reacción de sustitución nucleófila de un compuesto de Fórmula (II) con un haluro de (hetero)arilo apropiado de Fórmula (III), según se define anteriormente en la presente, en presencia de una base tal como, por ejemplo, hidruro sódico, en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo DMF, seguido por un acoplamiento intramolecular de tipo peptídico de un compuesto de Fórmula (V)
- 20 aplicando condiciones de acoplamiento de tipo peptídico típicas. Típicamente, se pueden aplicar condiciones de acoplamiento de péptidos, tales como agitar las materias primas, disueltas en un disolvente adecuado, tal como DMF, en presencia de un agente de acoplamiento de péptidos, tal como HATU, y en presencia de una base, tal como TEA. En el Esquema de Reacción 3, X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son según se definen anteriormente en la presente.

## Esquema de Reacción 3



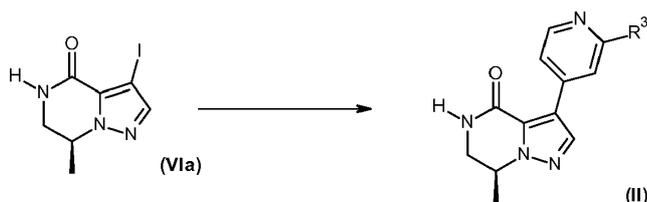
Alternativamente, los compuestos finales según la Fórmula [<sup>12</sup>C]/[<sup>18</sup>F]-(I) se pueden preparar en un solo recipiente a partir de un compuesto de Fórmula (II). En primer lugar, mediante una reacción de acoplamiento de un compuesto de Fórmula (II) con un haluro de (hetero)arilo apropiado de Fórmula (III) en presencia de un catalizador de paladio, tal como tetraquis(trifenilfosfino)paladio(0), en presencia de un ligando, tal como 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno, en presencia de una base, tal como Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, y en un disolvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, que varía típicamente entre 100°C y 140°C, durante un período que asegure la terminación de la reacción, seguido por un acoplamiento intramolecular de tipo peptídico de un compuesto de Fórmula (V) aplicando condiciones de acoplamiento de tipo peptídico típicas. Típicamente, se pueden aplicar condiciones de acoplamiento de péptidos, tales como agitar las materias primas, disueltas en un disolvente adecuado, tal como DMF, en presencia de un agente de acoplamiento de péptidos, tal como HATU, y en presencia de una base, tal como TEA. En el Esquema de Reacción 3, X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son según se definen anteriormente en la presente.

## B. Preparación de los compuestos intermedios

## 15 Procedimiento experimental 4

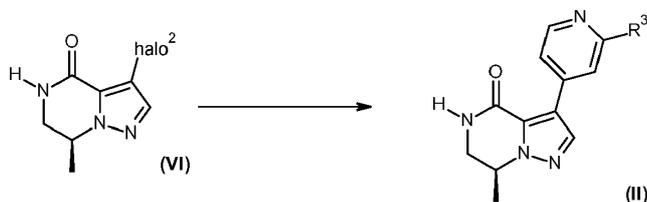
Los compuestos intermedios según la Fórmula (II) (Esquema de Reacción 4a) se pueden preparar siguiendo procedimientos conocidos en la técnica, tales como al someter a un compuesto intermedio de Fórmula (VIa) a una reacción de acoplamiento de tipo Suzuki bajo condiciones conocidas para el experto. Estas condiciones incluyen, por ejemplo, hacer reaccionar el compuesto intermedio de Fórmula (VIa) con una especie borada adecuada, tal como, por ejemplo, un ácido borónico o un éster de boronato, por ejemplo según se describe en el Procedimiento experimental 2 anteriormente en la presente, en presencia de un catalizador de paladio, tal como tetraquis(trifenilfosfino)paladio(0), o un sistema catalítico alternativo preparado in situ a partir de Pd(OAc)<sub>2</sub> y PPh<sub>3</sub>, una base adecuada, tal como Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub> y K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y en un disolvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, o una mezcla de DME y agua. Desgasificar la mezcla de reacción con un gas inerte, tal como N<sub>2</sub> o argón, y calentar la mezcla de reacción hasta altas temperaturas, tales como temperatura de reflujo, en particular 80°C, puede mejorar el resultado de la reacción. En el Esquema de Reacción 4a, R<sup>3</sup> es según se definen anteriormente en la presente.

## Esquema de Reacción 4a



30 Un experto puede prever que la reacción bajo el Esquema de Reacción 4a se pueda realizar bajo condiciones similares, cuando el compuesto de Fórmula (VIa) soporte un grupo bromo en lugar de un grupo yodo. Esta reacción se puede representar como en el Esquema de Reacción 4b, en el que el compuesto de Fórmula (VI), en la que halo<sup>2</sup> es, en particular, bromo o yodo, y todas las otras variables son como se definen en la Fórmula (I), sufre una reacción de acoplamiento de tipo Suzuki como la descrita anteriormente en la presente.

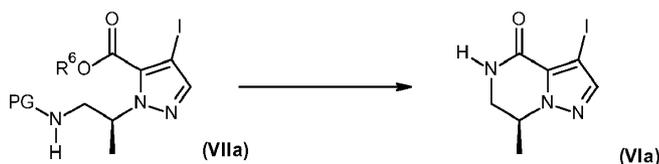
## Esquema de Reacción 4b



## Procedimiento experimental 5

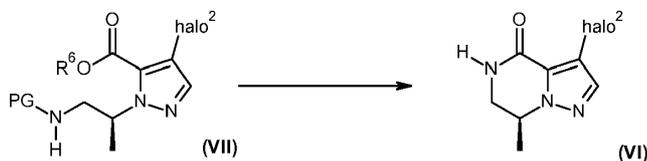
5 El compuesto intermedio de Fórmula (VIa) o de Fórmula (VI) se puede preparar mediante la retirada del grupo protector, por ejemplo un grupo Boc, en un producto intermedio de Fórmula (VIIa) o de Fórmula (VII), respectivamente, por ejemplo, en presencia de medios ácidos, tales como ácido clorhídrico, en un disolvente inerte tal como 1,4-dioxano o acetonitrilo o EtOAc, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, tal como de 15 a 80°C, típicamente 80°C, o de 15-30°C, dependiendo del sistema disolvente, durante un período que asegure la terminación de la reacción, seguido por el tratamiento con una base tal como Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> o NaHCO<sub>3</sub>, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, que varía típicamente entre 0°C y 40°C, en particular de 15 a 30°C, durante un período que asegure la terminación de la reacción. En los Esquemas de Reacción 5a y 5b, halo<sup>2</sup> es, en particular bromo o yodo, R<sup>6</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>, PG es un grupo protector, por ejemplo Boc.

## Esquema de Reacción 5a



15

## Esquema de Reacción 5b



## Procedimiento experimental 6

20 El compuesto intermedio de Fórmula (VIIa) o (VII) en la que R<sup>6</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub> y PG es un grupo protector, por ejemplo Boc, se puede preparar mediante una reacción de tipo Mitsunobu entre un compuesto intermedio de Fórmula (VIIIa) o (VIII), respectivamente, y un alcohol apropiado de Fórmula (IX), en presencia de un triarilfosfina adecuada, tal como trifenilfosfina, típicamente 1,5 equivalentes, o una trialquilfosfina adecuada y un reactivo de azodicarboxilato de dialquilo adecuado, tal como azodicarboxilato de di-*tert*-butilo o azodicarboxilato de dietilo, típicamente 1,5 equivalentes, en un disolvente inerte adecuado, tal como THF, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, que varía típicamente entre 0°C y ta, p. ej. 20°C, durante un período que asegure la terminación de la reacción. Un compuesto intermedio de Fórmula (IX) se puede obtener comercialmente o sintetizar según procedimientos de la bibliografía.

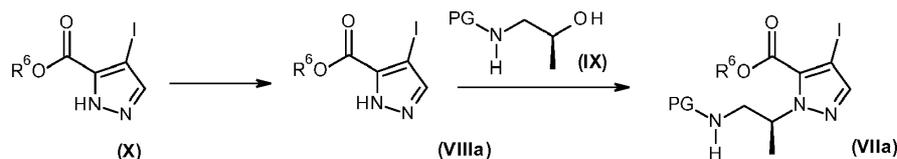
25

30 El compuesto intermedio de Fórmula (VIIIa) en la que R<sup>6</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub> se puede preparar a través de una reacción de halogenación del producto intermedio de Fórmula (X) con un reactivo halogenante tal como *N*-yodosuccinimida, en un disolvente inerte tal como diclorometano, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, típicamente ta, durante un período que asegure la terminación de la reacción. El compuesto intermedio de Fórmula (VIII), en la que R<sup>6</sup> es metilo y halo es bromo, se puede obtener comercialmente y es un material particularmente preferido para el uso en la síntesis, incluyendo a gran escala, de una variedad de compuestos finales de Fórmula [sup>12]C/[sup>19]F-(I) según los procedimientos generales descritos en la presente. Un compuesto intermedio de Fórmula (X) se puede obtener comercialmente o sintetizar según procedimientos de la bibliografía.

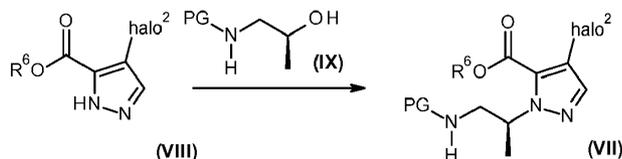
35

En el Esquema de Reacción 6a y 6b, halo<sup>2</sup> es, en particular, bromo o yodo, R<sup>6</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>, PG es un grupo protector, tal como, por ejemplo, Boc.

Esquema de Reacción 6a



Esquema de Reacción 6b

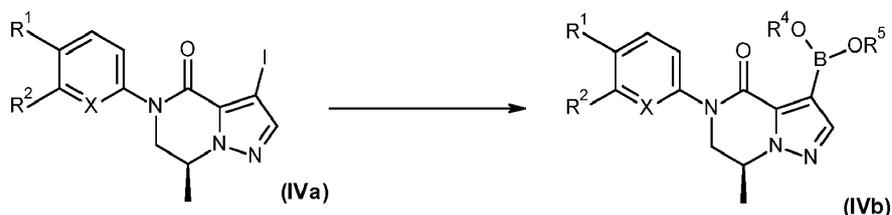


Procedimiento experimental 7

- 5 El compuesto intermedio de Fórmula (IVb) se puede preparar a través de una reacción de formación de éster borónico o ácido borónico partiendo de un producto intermedio de Fórmula (IVa) con un agente de metalación trans tal como, por ejemplo, BuLi o un reactivo de Grignard, un ejemplo particular de reactivos incluye solución de complejo de cloruro de isopropilmagnesio-cloruro de litio y una especie borada tal como 2-*isopropoxi*-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano, en un disolvente inerte tal como THF anhidro, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, típicamente -25°C, durante un período que asegure la terminación de la reacción. Dependiendo de las condiciones de reacción, se obtienen éster borónico o ácido borónico.
- 10 En el Esquema de Reacción 7, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son H o alquilo C<sub>1-4</sub> o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se toman conjuntamente para formar, por ejemplo, un radical bivalente de fórmula -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>- y X, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son según se definen anteriormente en la presente.

15

Esquema de Reacción 7

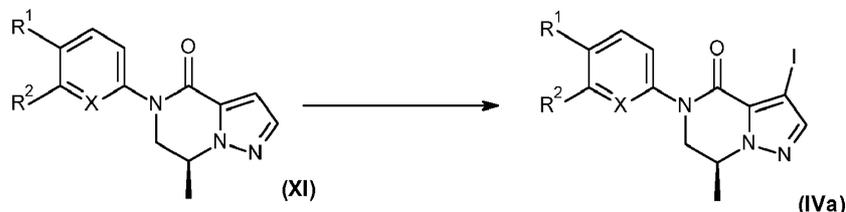


Procedimiento experimental 8

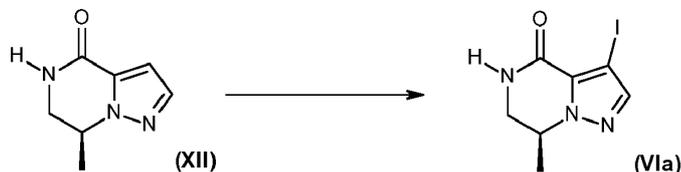
- 20 El compuesto intermedio de Fórmula (IVa) se puede preparar a través de una reacción de halogenación de un producto intermedio de Fórmula (XI) con un reactivo halogenante tal como yodo, en presencia de nitrato de amonio y cerio(IV) y en un disolvente inerte tal como acetonitrilo, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, típicamente 70°C, durante un período que asegure la terminación de la reacción. De un modo análogo, el compuesto intermedio de Fórmula (VIa) se puede preparar a partir del producto intermedio de Fórmula (XII). En los Esquemas de Reacción 8a y 8b, X, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son según se definen anteriormente en la presente.

25

Esquema de Reacción 8a



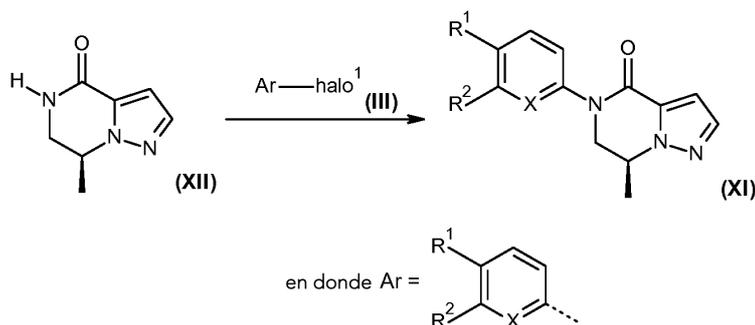
Esquema de Reacción 8b



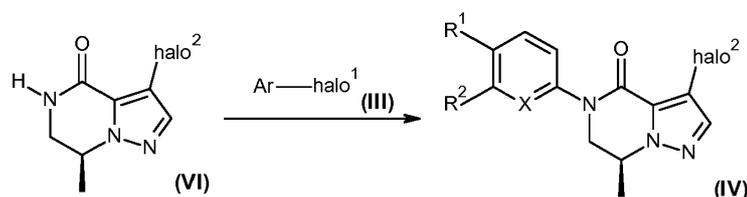
## Procedimiento experimental 9

El compuesto intermedio de Fórmula (XI) se puede preparar mediante una reacción de acoplamiento de un compuesto intermedio de Fórmula (XII) con un haluro de (hetero)arilo apropiado de Fórmula (III) según se define anteriormente en la presente con un catalizador de cobre(I) adecuado tal como yoduro de cobre(I), en presencia de un ligando, tal como *N,N*-dimetiletilendiamina, en presencia de una base, tal como  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , en un disolvente adecuado, tal como tolueno, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, que varía típicamente entre  $100^\circ\text{C}$  y  $140^\circ\text{C}$ , durante un período que asegure la terminación de la reacción. De un modo análogo, el compuesto intermedio de Fórmula (IV) se puede preparar a partir del producto intermedio de Fórmula (VI). Un compuesto intermedio de Fórmula (III) se puede obtener comercialmente. En los Esquemas de Reacción 9a y 9b, X,  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son según se definen anteriormente en la presente y  $\text{halo}^2$  es, en particular, bromo o yodo.

## Esquema de Reacción 9a



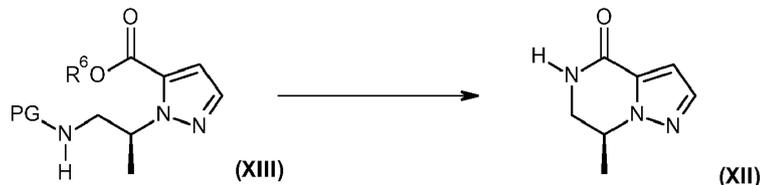
## Esquema de Reacción 9b



## Procedimiento experimental 10

El compuesto intermedio de Fórmula (XII) se puede preparar mediante la retirada del grupo protector en un producto intermedio de Fórmula (XIII), por ejemplo en presencia de medios ácidos, tales como ácido clorhídrico, en un disolvente inerte tal como 1,4-dioxano, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, típicamente  $80^\circ\text{C}$ , durante un período que asegure la terminación de la reacción, seguido por el tratamiento con una base, tal como  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  o  $\text{NaHCO}_3$ , bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, que varía típicamente entre  $0^\circ\text{C}$  y  $40^\circ\text{C}$ , durante un período que asegure la terminación de la reacción. En el Esquema de Reacción 10,  $\text{R}^6$  es alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , PG es un grupo protector.

## Esquema de Reacción 10

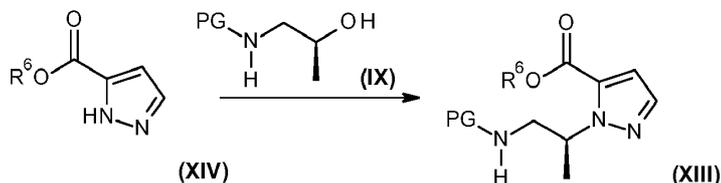


## Procedimiento experimental 11

El compuesto intermedio de Fórmula (XIII) en la que  $\text{R}^6$  es alquilo  $\text{C}_{1-4}$  y PG es un grupo protector se puede preparar mediante una reacción de tipo Mitsunobu entre un compuesto de Fórmula (XIV) y un alcohol apropiado de Fórmula (IX), en presencia de una triarilfosfina adecuada, tal como trietilfosfina, o una trialquilfosfina adecuada y un reactivo de azodicarboxilato de dialquilo adecuado, tal como azodicarboxilato de di-*tert*-butilo, en un disolvente inerte adecuado, tal como THF, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, típicamente  $0^\circ\text{C}$ , durante un período que asegure la terminación de la reacción. Los compuestos intermedios de

Fórmula (XIV) y de Fórmula (IX) se pueden obtener comercialmente o sintetizar según procedimientos de la bibliografía. En el Esquema de Reacción 11,  $R^6$  es alquilo  $C_{1-4}$ , PG es un grupo protector.

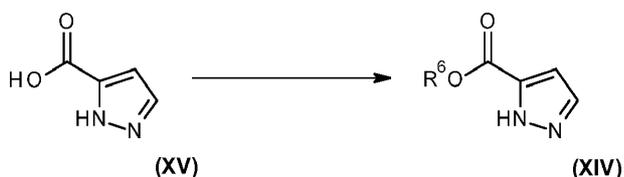
Esquema de Reacción 11



## 5 Procedimiento experimental 12

El compuesto intermedio de Fórmula (XIV) en la que  $R^6$  es alquilo  $C_{1-4}$  se puede obtener mediante la esterificación del compuesto intermedio de Fórmula (XV) disponible comercialmente, mediante métodos conocidos por el experto en la técnica, o puede estar disponible comercialmente. La reacción se puede realizar, por ejemplo, en presencia de un agente ácido, tal como ácido sulfúrico, y un alcohol, tal como EtOH, en un disolvente adecuado, tal como EtOH, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, típicamente entre  $80^{\circ}\text{C}$  y  $100^{\circ}\text{C}$ , durante un período que asegure la terminación de la reacción. En el Esquema de Reacción 12,  $R^6$  es alquilo  $C_{1-4}$ .

Esquema de Reacción 12

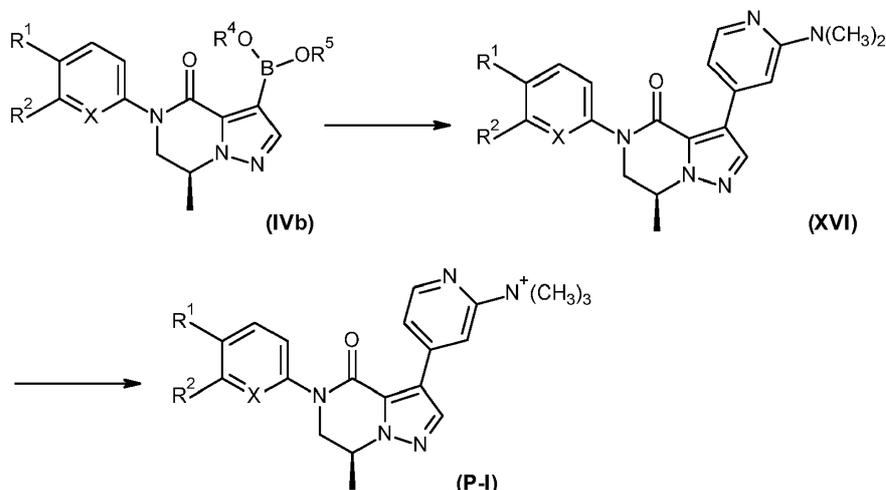


## 15 C. Preparación de los precursores de radioligandos

### Procedimiento experimental 13

Un compuesto precursor de Fórmula (P-I) se puede obtener mediante la metilación de un compuesto de Fórmula (XVI) mediante la reacción con un reactivo alquilante adecuado, tal como  $\text{CH}_3\text{I}$ , en presencia de una base adecuada, por ejemplo,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , y en un disolvente polar, tal como MeOH, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como agitación a ta durante varios días. Un compuesto de Fórmula (XVI) se puede obtener a partir de un compuesto de Fórmula (IVb) mediante la reacción con una 4-halo-2-(dimetilamino)piridina, tal como 4-bromo-2-dimetilamino)piridina, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como reacción en presencia de una base, p. ej. KOH, en un disolvente de reacción inerte adecuado, tal como THF. Las condiciones del reactor de flujo pueden mejorar el resultado de la reacción. En el Esquema de Reacción 13, todas las variables son como se describen anteriormente en la presente.

Esquema de Reacción 13

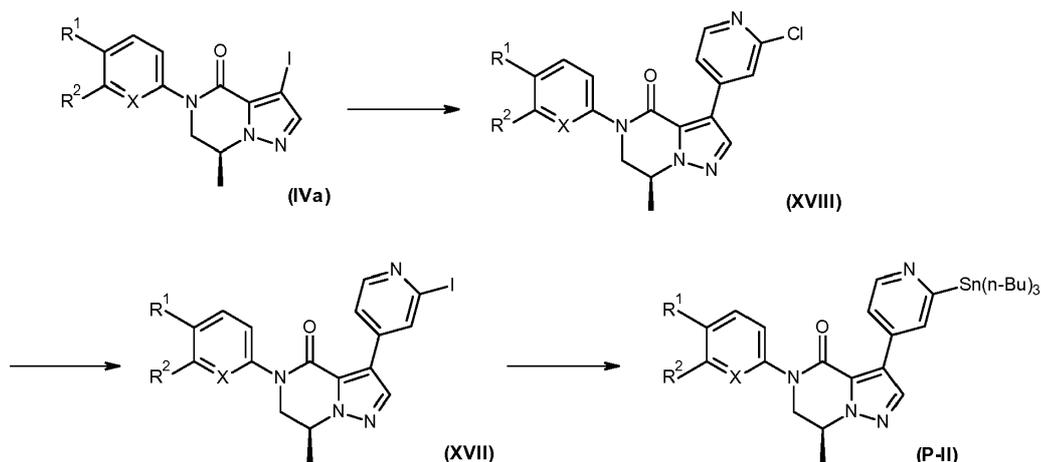


### Procedimiento experimental 14

Un precursor compuesto de Fórmula (P-II) se puede obtener mediante la formación de un reactivo de organoestaño mediante la reacción de un compuesto de Fórmula (XVII) con un reactivo adecuado, tal como hexabutildiestaño en presencia de  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  en un disolvente adecuado tal como dioxano, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como agitación a una temperatura moderada durante varios minutos. Un compuesto de Fórmula (XVII) se puede obtener a partir del correspondiente compuesto de cloruro de Fórmula (XVIII) mediante una reacción de transhalogenación con yoduro sódico en presencia de cloruro de acetilo. Un compuesto de Fórmula (XVIII) se puede obtener mediante la reacción de un compuesto de Fórmula (IVa) según las condiciones de reacción tales como las descritas en el Procedimiento experimental 2. En el Esquema de Reacción 14, todas las variables son como se describen anteriormente en la presente.

10

Esquema de Reacción 14

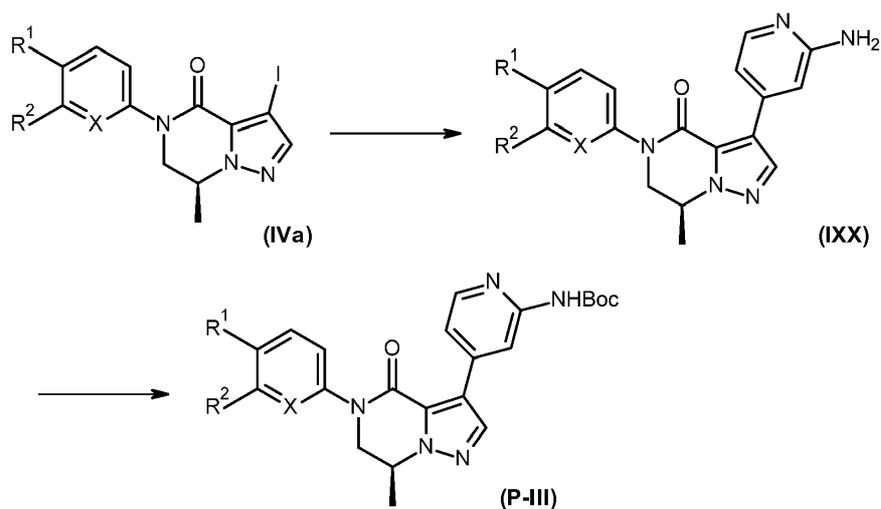


## Procedimiento experimental 15

Un compuesto precursor de Fórmula (P-III) se puede obtener mediante protección de la funcionalidad amina en un compuesto de Fórmula (IXX), bajo condiciones de reacción conocidas por el experto, típicamente mediante la reacción de (IXX) con dicarbonato de di-terc-butilo en un disolvente polar, tal como tBuOH, a temperatura ambiente durante un período requerido para completar la reacción. Un compuesto de Fórmula (IXX) se puede sintetizar a partir de un compuesto de fórmula (IVa) según condiciones de reacción tales como las descritas en el Procedimiento experimental 2. En el Esquema de Reacción 15, todas las variables son como se describen anteriormente en la presente.

20

Esquema de Reacción 15



## Preparación de los radioligandos

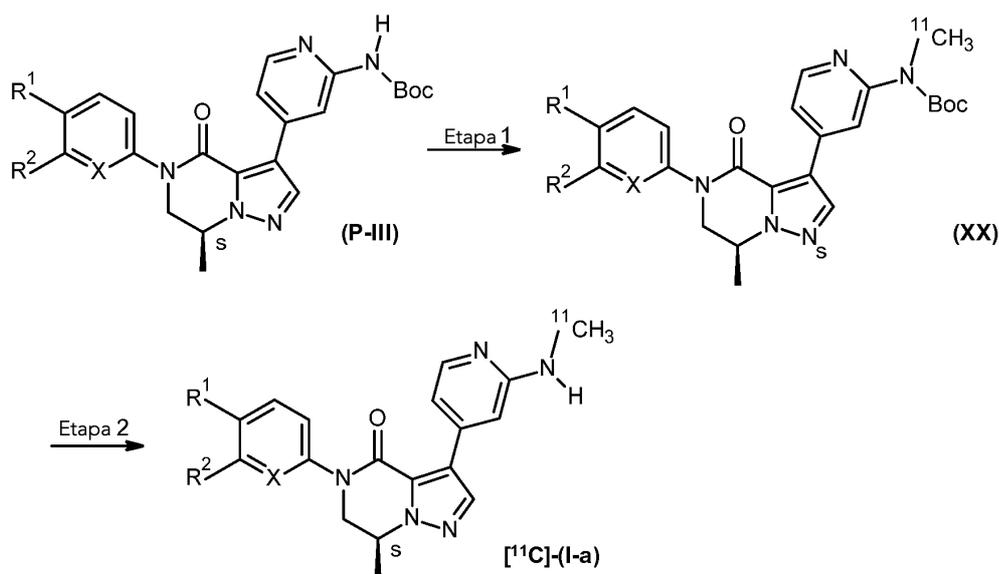
## Procedimiento experimental 16

Compuestos radiomarcados con [<sup>11</sup>C] de Fórmula (I) en la que R<sup>3</sup> es -NH[<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub> y el resto de variables son como se definen en la Fórmula (I), denominados en la presente compuestos de Fórmula [<sup>11</sup>C]-(I-a), se pueden sintetizar en

25

- dos etapas al calentar su correspondiente precursor protegido con Boc en N (P-III) con un reactivo adecuado, tal como  $[^{11}\text{C}]\text{MeI}$ , bajo condiciones apropiadas, típicamente en un disolvente tal como DMF anhidra en presencia de una base, tal como NaH, durante un período que permita la terminación de la reacción, por ejemplo, 4 min, a una temperatura apropiada, típicamente  $80^\circ\text{C}$ , para dar (XX). La escisión de Boc de (XX) se puede efectuar usando condiciones conocidas por el experto, tales como agitación en un medio ácido bajo calor, tal como, por ejemplo, a  $100^\circ\text{C}$  con HCl en dioxano. En el Esquema de Reacción 16, todas las variables son como se describen en la Fórmula (I).

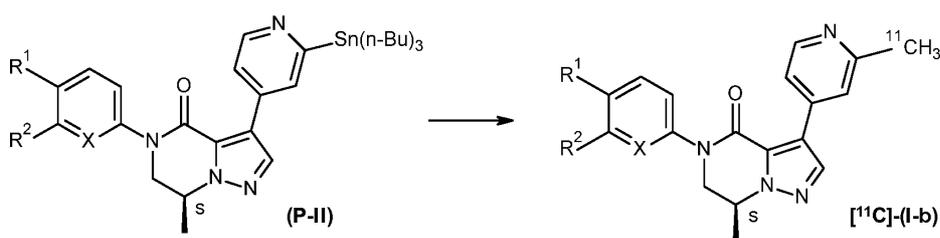
Esquema de Reacción 16



## 10 Procedimiento experimental 17

- Compuestos de Fórmula (I) en la que  $\text{R}^3$  es  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3$ , denominados en la presente compuestos de Fórmula  $[^{11}\text{C}]$ -(I-b), se pueden sintetizar usando una reacción de acoplamiento de Stille. Típicamente, la reacción se realiza con un precursor de tributilestannilo apropiado (P-II) en el que todas las variables son según se definen anteriormente en la presente y  $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$  en presencia de un catalizador de paladio, tal como  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ , bajo condiciones apropiadas, típicamente a  $100^\circ\text{C}$  en DMF anhidra.

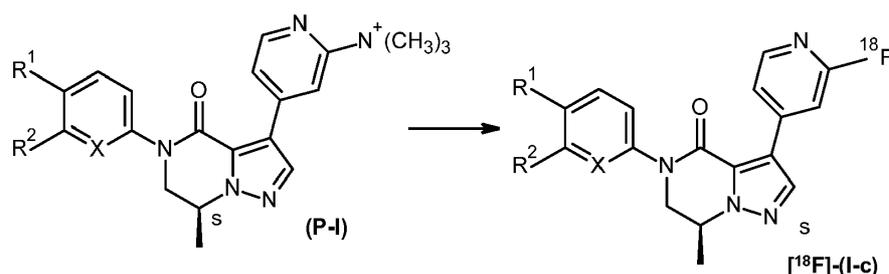
Esquema de Reacción 17



## Procedimiento experimental 18

- Compuestos de Fórmula (I) en la que  $\text{R}^3$  es  $[^{18}\text{F}]$ , denominados en la presente un compuesto de fórmula  $[^{18}\text{F}]$ -(I), se pueden sintetizar al calentar el correspondiente precursor de trimetilamonio (P-I), en donde todas las variables son como se describen anteriormente en la presente, a  $82^\circ\text{C}$  en  $\text{CH}_3\text{CN}$  anhidro con  $^{18}\text{F}/4,7,13,16,21,24$ -hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosano (comercializado bajo el nombre comercial Kryptofix@2.2.2) en presencia de  $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$  como base. El experto también preverá la posibilidad de reemplazar  $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$  por  $\text{KHCO}_3$  y usar un grupo de salida diferente en el precursor. La desmetilación del precursor de trimetilamonio se observaba típicamente como una reacción secundaria.

## Esquema de Reacción 18



Las mezclas de reacción en bruto se purificaron a continuación usando HPLC semipreparativa.

## Aplicaciones

Los compuestos según la presente invención encuentran diversas aplicaciones para obtener imágenes de tejidos, células o un mamífero, tanto in vitro como in vivo. Así, a modo de ejemplo, se pueden usar para cartografiar la distribución diferencial de mGluR2 en sujetos de diferente edad y sexo. Además, permiten explorar la distribución diferencial de mGluR2 en sujetos afectados por diferentes enfermedades o trastornos. Así, una distribución anormal puede ser útil en el diagnóstico, la búsqueda de casos, la estratificación de poblaciones de sujetos y en la comprobación de la progresión de la enfermedad en sujetos individuales. Adicionalmente, los radioligandos pueden encontrar utilidad para determinar la ocupación de sitios de mGluR2 por otros ligandos. Puesto que el radioligando se administra en cantidades vestigiales, es decir, en cantidades detectables, por ejemplo, para la obtención de imágenes por PET, no se puede atribuir un efecto terapéutico a la administración de los radioligandos según la invención.

## Parte experimental

## 15 I. Química

Según se usa en la presente, el término "ac." significa acuoso, "BEH" híbrido de etilsiloxano/sílice con puente, "Boc"/"BOC" significa terc-butoxicarbonilo, "tBuOH" significa terc-butanol, "DAD" detector de serie de diodos, "DCE" significa 1,2-dicloroetano, "DCM" significa diclorometano, "DIPE" significa éter diisopropílico, "DME" significa dimetiloxietano, "DMF" significa *N,N*-dimetilformamida, "DMSO" significa dimetilsulfóxido, "DSC" significa calorimetría diferencial de barrido, "Et<sub>3</sub>N/TEA" significa trietilamina, "EtOH" significa etanol, "EtOAc" significa acetato de etilo, "h" significa horas, "HATU" significa hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio, "HPLC" significa cromatografía de líquidos de alta resolución, "LCMS" significa cromatografía de líquidos/espectrometría de masas, "IPA" significa alcohol isopropílico, "LCT" significa LC-tiempo de vuelo, "MeOH" significa metanol, "[M+H]<sup>+</sup>" significa la masa protonada de la base libre del compuesto, "[M-H]" significa la masa desprotonada de la base libre del compuesto, "min" significa minutos, "p.f." significa punto de fusión, "MSD" detector selectivo para la masa, "MTBE" significa metil-terc-butil-éter, "mw/MW" significa microondas, "QTOF" tiempo de vuelo cuadrípolar, "cuant." significa cuantitativo, "m. r." significa mezcla de reacción, "RP" significa fase inversa, "t. a./TA" significa temperatura ambiente, "R<sub>t</sub>" significa tiempo de retención (en minutos), "sat." significa saturado, "sol." significa solución, "SQD" detector cuadrípolar simple, "THF" significa tetrahidrofurano, "UV" significa ultravioleta.

Las reacciones asistidas por microondas se realizaron en un reactor monomodal: Biotage Initiator™ Sixty microwave reactor (Biotage) o en un reactor multimodal: MicroSYNTH Labstation (Milestone, Inc.).

Las reacciones bajo presión se realizaron en un tubo de presión (Q-Tube™) de Q-Labtech LLC.

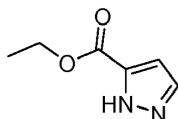
La cromatografía en capa fina (TLC) se llevó a cabo sobre placas de gel de sílice 60 F254 (Merck) usando disolventes de calidad para reactivos. La cromatografía en columna abierta se realizó sobre gel de sílice, malla tamaño de partícula 230-400 y tamaño de poro 60 Å (Merck) bajo técnicas estándar. La cromatografía en columna de desarrollo rápido automatizada se realizó usando cartuchos listos para conectar de Merck, sobre gel de sílice irregular, tamaño de partícula 15-40 μm (columnas de desarrollo rápido desechables en fase normal) en un sistema SPOT o LAFLASH de Armen Instrument.

Resonancia magnética nuclear (NMR): Para un número de compuestos, los espectros de <sup>1</sup>H NMR se registraron en un espectrómetro bien Bruker Avance III, bien Bruker DPX-400 o bien Bruker AV-500 con secuencias pulsátiles estándar, que funcionan a 400 MHz y 500 MHz, respectivamente. Los desplazamientos químicos (δ) se presentan en partes por millón (ppm) por debajo del campo del tetrametilsilano (TMS), que se usaba como patrón interno.

Varios métodos para preparar los compuestos de esta invención se ilustran en los siguientes ejemplos, que están destinados a ilustrar pero no a limitar el alcance de la presente invención. A menos que se apunte otra cosa, todas las materias primas se obtuvieron a partir de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional.

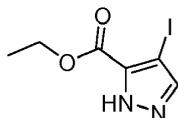
## 45 A. Síntesis de productos intermedios

## Producto intermedio 1 (I-1)



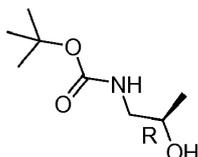
5 Se añadió ácido sulfúrico (10 ml, 187,6 mmol) a una solución de ácido 1-H-pirazol-3-carboxílico (1,93 g, 17,22 mmol) en EtOH (20 ml). La mezcla se agitó a 90°C durante 15 h. A continuación, se dejó enfriar hasta ta y los disolventes se evaporaron a vacío. El residuo se vertió en agua y la solución se basificó con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se evaporó a vacío para dar el compuesto intermedio **I-1** como un sólido blanco (2,28 g, 93% de pureza, 94%) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

## Producto intermedio 2 (I-2)



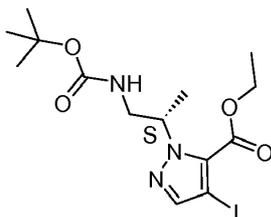
10 El Producto intermedio **I-1** (100 g, 0,68 mol), *N*-yodosuccinimida (213,5 g, 0,95 mol) se disolvieron en DCM (2 l). La mezcla se agitó a ta durante 24 h. La mezcla se trató con una sol. sat. de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y una sol. sat. de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se evaporó a vacío para dar el compuesto intermedio **I-2** como un sólido blanco (160 g, 85%).

## 15 Producto intermedio 3 (I-3)



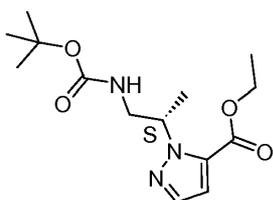
20 Se añadió dicarbonato de di-*tert*-butilo (58,1 g, 266,3 mmol) en DCM (50 ml) a una solución agitada de (*R*)-(-)-1-amino-2-propanol en DCM (50 ml) a 0°C bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a ta durante 2 h. La mezcla se diluyó con agua enfriada y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio **I-3** como un aceite incoloro (47 g, cuant.). El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

## Producto intermedio 4 (I-4)



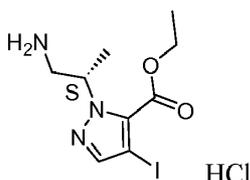
25 Se añadió azodicarboxilato de di-*tert*-butilo (4,67 g, 20,3 mmol) a una solución agitada del producto intermedio **I-2** (3 g, 11,28 mmol), el producto intermedio **I-3** (4,44 g, 22,55 mmol) y trifenilfosfina (5,32 g, 20,3 mmol) en THF (56 ml) bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a ta durante 5 h. El disolvente se evaporó a vacío y el producto en bruto se trituró con DIPE. El sólido se filtró y el filtrado se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en heptano 0/100 a 30/70). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el compuesto intermedio **I-4** como un aceite incoloro (4,9 g, 91% de pureza, 93%).

## 30 Producto intermedio 5 (I-5)



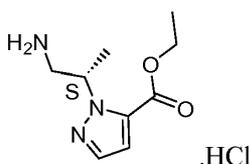
5 El compuesto intermedio **I-5** se sintetizó siguiendo un enfoque similar al descrito para el producto intermedio **I-4**. Partiendo del producto intermedio **I-1** (25,82 g, 184,25 mmol) y el producto intermedio **I-3** (47,16 g, 239,5 mmol), se obtuvo el compuesto intermedio **I-5** como un aceite amarillo (123 g, cuant) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Producto intermedio 6 (I-6)



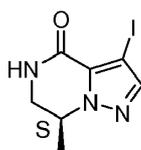
10 Se añadió una solución 4 M de HCl en 1,4-dioxano (10 ml, 40 mmol) a una solución del producto intermedio **I-4** (4,2 g, 9,63 mmol) en acetonitrilo (20 ml). La mezcla se agitó a 80°C durante 2 h. El disolvente se evaporó a vacío para dar el compuesto intermedio **I-6** (3,5 g, 97%).

Producto intermedio 7 (I-7)



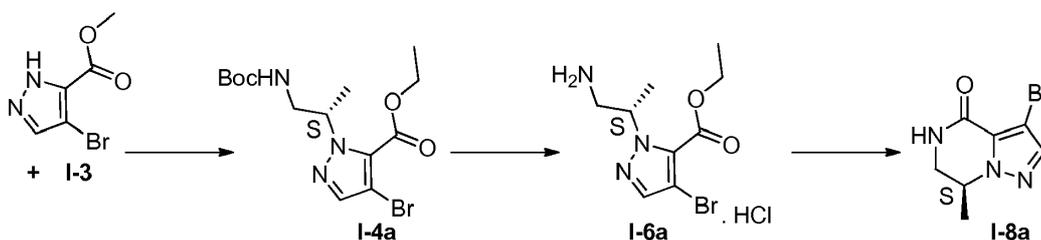
15 El compuesto intermedio **I-7** se sintetizó siguiendo un enfoque similar al descrito para el producto intermedio **I-6**. Partiendo del producto intermedio **I-5** (54,79 g, 184,25 mmol) y una solución 4 M de HCl en 1,4-dioxano (415 ml, 1,66 mol), se obtuvo el compuesto intermedio **I-7** como un sólido blanco (32,5 g, 82% de pureza, 75%) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Producto intermedio 8 (I-8)



20 El producto intermedio **I-6** como sal de HCl (180 g, 350,4 mmol) se disolvió en una sol. sat. de NaHCO<sub>3</sub> (2 l). La mezcla se agitó a ta durante 12 h. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas se separaron, se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y los disolventes se evaporaron a vacío. A continuación, el residuo se lavó con *tert*-butil-metil-éter para dar el compuesto intermedio **I-8** (92 g, 90%), pf 182,6-186,1°C. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,42 (d, *J*=6,65 Hz, 3 H) 3,26 - 3,35 (m, 1 H) 3,57 - 3,71 (m, 1 H) 4,44 - 4,60 (m, 1 H) 7,68 (s, 1 H) 8,26 (s a, 1 H). LC-HRMS (ESI+) Calculado para C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>IN<sub>3</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 277,9790, Encontrado: *m/z* 277,9796 (+0,6mDa), Rt = 0,76 min (Método 13, véase la tabla 2). [α] = +11,7° (589 nm, c 1,00% p/v, CH<sub>3</sub>OH, 25°C).

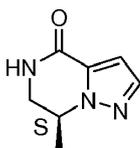
Producto intermedio 8a (I-8a)



El producto intermedio **8a** se preparó en un rendimiento de 71% según la siguiente descripción general de una síntesis realizada a gran escala:

Una mezcla de 4-bromo-1*H*-pirazol-5-carboxilato de metilo (denominado en la presente "pirazol SM") (1 eq.), trifenilfosfina (1,2 eq.), **I-3** (1,2 eq.) y THF anhidro (15 ml/g de pirazol SM) bajo nitrógeno se enfrió hasta 5-10°C. Se añadió azodicarboxilato de di-*tert*-butilo (1,2 eq.) en porciones a 5-15°C bajo nitrógeno. La solución se calentó hasta 20-30°C y se agitó a 20-30°C durante 2-3 h. La solución obtenida se concentró y se coevaporó con acetato de isopropilo para retirar THF para proporcionar una solución de éster metílico de ácido 4-bromo-1-[(1*S*)-1-[[1,1-dimetiletoxi]carbonil]amino]etil]-1*H*-pirazol-5-carboxílico **I-4a** en bruto en acetato de isopropilo (20 ml/g de pirazol SM). Se burbujeó HCl gaseoso a la solución de **I-4a** a 15-30°C hasta que se terminaba la escisión del grupo protector Boc. La suspensión se burbujeó con nitrógeno gaseoso para retirar la mayoría del HCl gaseoso. La suspensión se concentró hasta un volumen de aproximadamente 5 ml/g de pirazol SM por debajo de 50°C y a continuación se añadió acetato de isopropilo (15 ml/g de pirazol SM) al residuo. Se añadió agua (10 ml/g de pirazol SM) a 10-20°C. La mezcla se agitó a 10-20°C durante 20-30 min. La mezcla se filtró y la capa acuosa se separó. La capa orgánica se extrajo con agua (2 ml/g de pirazol SM). Las capas acuosas combinadas se lavaron con acetato de isopropilo (2 x 10 ml/g de pirazol SM) para retirar óxido de trifenilfosfina residual. Se obtuvo **I-6a** como una solución acuosa (6,25 ml/g de pirazol SM). Se añadió carbonato potásico (~1 g/g de pirazol SM) a la solución acuosa de **I-6a** para ajustar hasta pH=8-9 a 10-25°C. La mezcla se agitó a 10-25°C durante 5-6 h y el sólido **I-8a** precipitó. La suspensión se enfrió hasta 5-10°C y se agitó a 5-10°C durante 2-3 h, a continuación se filtró y se lavó con agua (1 ml/g de pirazol SM) y heptanos (1 ml/g de pirazol SM), a continuación se secó a vacío a 40-45°C para proporcionar **I-8a** como un sólido blanco y lechoso, pf. 196,12°C. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,61(d, *J*=6,36 Hz, 3 H) 3,48 (ddd, *J*=12,72, 7,22, 2,60 Hz, 1 H) 3,75 - 3,84 (m, 1 H) 4,49 - 4,59 (m, 1 H) 6,54 (s a, 1 H) 7,56 (s, 1 H). LC-HR MS (ESI+) Calculado para C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>BrN<sub>3</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 229,9929, Encontrado: *m/z* 229,9931 (+0,2mDa), Rt = 0,62 min (Método 13, véase la tabla 2). [α]<sub>D</sub> = +25,2° (589 nm, c 0,53% p/v, DMF, 20°C).

Producto intermedio 9 (I-9)



El compuesto intermedio **I-9** se sintetizó después de un enfoque similar al descrito para el producto intermedio **I-8**. Partiendo del producto intermedio **I-7** (32,5 g, 139,1 mmol), se obtuvo el compuesto intermedio **I-9** como un sólido (14,8 g, 70%).

Producto intermedio 10 (I-10)



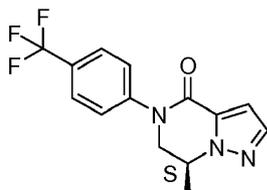
Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,33 g, 0,29 mmol) a una suspensión agitada del producto intermedio **I-8** (1,6 g, 5,77 mmol) y ácido 2-picolino-4-borónico (0,95 g, 6,93 mmol) en 1,4-dioxano (8 ml) y un sol. sat. de NaHCO<sub>3</sub> (4 ml) en un tubo sellado bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 100°C durante 16 h. A continuación, la mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; MeOH en DCM 0/100 a 6/94). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el compuesto intermedio **I-10** como un sólido blanco (1 g, 71%), pf 173,20°C. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,67 (d, *J*=6,65 Hz, 3 H) 2,60 (s, 3 H) 3,52 (ddd, *J*=12,79, 7,15, 2,89 Hz, 1 H) 3,84 (dt, *J*=12,72, 4,00 Hz, 1 H) 4,57 - 4,66 (m, 1 H) 6,10 (s a, 1 H) 7,51 (dd, *J*=5,20, 1,44 Hz, 1 H) 7,55 (s, 1 H) 7,78 (s, 1 H) 8,50 (d, *J*=5,20 Hz, 1 H). LC-HRMS (ESI+) Calculado para C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>IN<sub>4</sub>O (M+H)<sup>+</sup>: 243,1246, Encontrado: *m/z* 243,1250 (+0,4mDa), Rt = 0,82 min (Método 13, véase la tabla 2). [α]<sub>D</sub> = +32,8° (589 nm, c 0,52% p/v, DMF, 20°C).

El producto intermedio **I-10** se preparó alternativamente con 70% de rendimiento según la siguiente descripción general de una síntesis realizada a gran escala:

Una mezcla de **I-8a** (1 eq.), 2-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-piridina (1,1 eq.), fosfato potásico anhidro (2 eq.), DME (7,5 ml/g de I-13a) y agua purificada (2,5 ml/g de I-13a) se evacuó y se rellenó con nitrógeno 3 veces. Se añadieron en una porción bajo nitrógeno trifenilfosfina (0,261 eq.) y acetato de paladio (II) (0,131 eq.). La mezcla se evacuó y se rellenó con nitrógeno 3 veces más, se calentó hasta 75-80°C y se agitó a 75-80°C durante 12-15 h bajo nitrógeno. La capa acuosa se separó a 60-70°C y se descartó y a continuación se añadió agua (8 ml/g

- de I-13a) a la capa orgánica. El DME se retiró mediante concentración por debajo de 40°C. Se añadió acetato de isopropilo (15 ml/g de I-13a), el pH de la mezcla se ajustó hasta 1-2 con HCl conc. La mezcla se filtró y la torta filtrante se lavó con agua (1 ml/g de I-13a), la capa acuosa se separó y la capa orgánica se extrajo con agua (2 ml/g de I-13a). Las capas acuosas combinadas se lavaron con acetato de isopropilo (2 x 15 ml/g de I-13a). La capa acuosa se concentró para retirar DME residual y acetato de isopropilo. Se añadió MTBE (2 ml/g de I-13a) y la mezcla se enfrió hasta 0-5°C, se agitó a 0-5°C durante 2-3 h. **I-10** se filtró, se lavó con agua enfriada (1 ml/g de I-13a) y se secó a vacío a 45-50°C para proporcionar **I-10** como un sólido blancuzco.

Producto intermedio 11 (I-11)

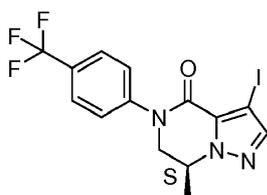


- 10 Una mezcla del producto intermedio **I-9** (5 g, 33,01 mmol), yoduro de cobre(I) (3,78 g, 19,85 mmol) y  $K_2CO_3$  (9,14 g, 66,15 mmol) en tolueno (150 ml) se barrió con nitrógeno durante unos pocos min. A continuación, se añadieron 4-bromobenzotrifluoruro (9,3 ml, 66,1 mmol) y *N,N'*-dimetiletilendiamina (2,1 ml, 19,8 mmol). La mezcla se agitó bajo nitrógeno a ta durante 10 min y a continuación se agitó a 100°C durante 16 h. A continuación, se añadió DMF (20
- 15 DCM. La capa orgánica se separó, se secó ( $Na_2SO_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en DCM de 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el compuesto intermedio **I-11** como un aceite amarillo claro (9,6 g, 98%).

- 20 En un procedimiento análogo al descrito para el producto intermedio **I-11**, se sintetizaron los siguientes productos intermedios:

Materia Prima	Reactivo	Producto intermedio
<b>I-9</b>	 (disolvente: tolueno/DMF)	 <b>I-12</b>
<b>I-9</b>	 (disolvente: tolueno)	 <b>I-13</b>
<b>I-9</b>		 <b>I-14</b>

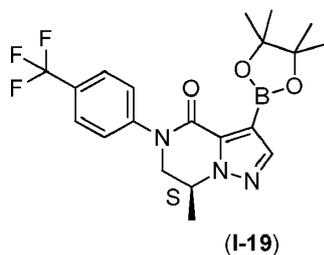
Producto intermedio 15 (I-15)



- 5 Se añadió yodo (11,55 g, 45,5 mmol) a una solución del producto intermedio **I-11** (19,2 g, 65,0 mmol) y nitrato de amonio y cerio(IV) (24,95 g, 45,5 mmol) en acetonitrilo (350 ml). La mezcla se agitó a 70°C durante 1 h. A continuación, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con una sol. sat. de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y salmuera. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El residuo se precipitó con DIPE y a continuación se purificó mediante cromatografía en columna corta (sílice, DCM) y a continuación mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; DCM en heptano de 50/50 a 100/0). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el compuesto intermedio **I-15** como un sólido (24,8 g, 90%).
- 10 En un procedimiento análogo al descrito para el producto intermedio **I-15**, se sintetizaron los siguientes productos intermedios:

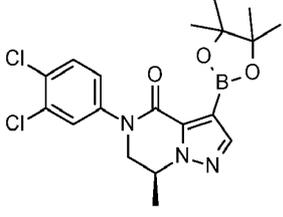
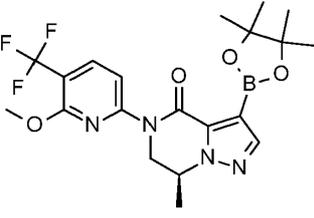
Materia Prima	Producto intermedio
<b>I-12</b>	 <b>I-16</b>
<b>I-13</b>	 <b>I-17</b>
<b>I-14</b>	 <b>I-18</b>

Producto intermedio 19 (I-19)

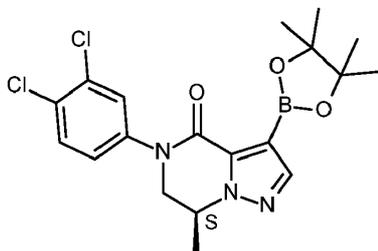


Se añadió gota a gota complejo de cloruro de isopropilmagnesio-cloruro de litio (solución 1,3 M, 32,9 ml, 42,7 mmol) a una solución agitada del producto intermedio **I-15** (10 g, 23,7 mmol) y 2-isopropoxi-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (9,7 ml, 47,5 mmol) en THF anhidro (100 ml) a -25°C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó durante 30 min a -25°C. A continuación, la reacción se desactivó con una sol. ac. de NH<sub>4</sub>Cl al 10% y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 3/97). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trituró con DIPE, se filtró y se secó para dar el compuesto intermedio **I-19** (6,4 g, 64%) como un sólido blanco. La solución y las fracciones impuras procedentes de la purificación en columna se combinaron y se repurificaron mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice, EtOAc en heptano de 30/70 a 70/30). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto se trituró en DIPE/heptano, se filtró y se secó para dar el compuesto intermedio **I-19** (1 g, 10%) como un sólido blanco.

Los siguientes productos intermedios se sintetizaron al seguir un procedimiento sintético análogo al presentado para el **producto intermedio 19**:

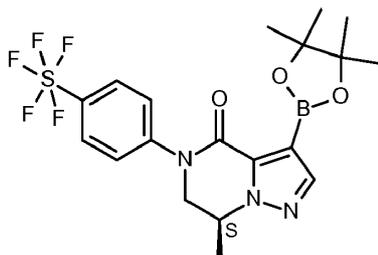
Materia Prima	Producto intermedio
<b>I-16</b>	 <b>I-20</b>
<b>I-17</b>	 <b>I-21</b>

15 Síntesis alternativa del Producto intermedio 20 (I-20)



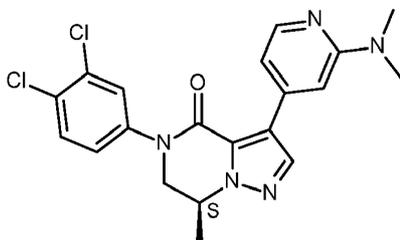
Dos soluciones de **I-16** (250 mg, 0,592 mmol) y 2-isopropoxi-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (0,242 ml, 1,185 mmol) en THF (1,5 ml) y complejo de cloruro de isopropilmagnesio-LiCl (1,3 M en THF, 820,17 µl, 1,066 mmol) en THF (1 ml) se bombearon a través de un mezclador LTF (0,5 ml/min), a 0°C, Rt= 1 min. La mezcla se recogió sobre 4 ml de NH<sub>4</sub>Cl al 10% y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se evaporó para dar **I-20** (250 mg, cuantitativo) como un aceite transparente.

Producto intermedio 22 (I-22)



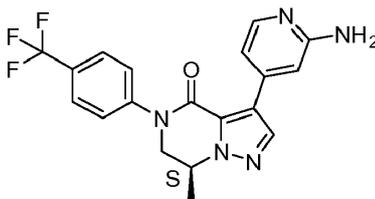
5 Dos soluciones de **I-18** (1,57 g, 3,276 mmol) y 2-isopropoxi-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (1,34 ml, 6,552 mmol) en THF (17,11 ml) y complejo de cloruro de isopropilmagnesio-LiCl (1,3 M en THF, 3,78 ml, 4,914 mmol) en THF (14,88 ml) se bombearon a través de un mezclador LTF (0,5 ml/min), a 0°C,  $R_t = 1$  min. La solución de salida se diluyó con una solución de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se trató con EtOAc. La mezcla se filtró a través de tierra de diatomeas y el filtrado se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El residuo se trituró con DIPE/heptano, se filtró y se secó para dar **I-22** (1,23 g, 78,5%) como un sólido blanco.

Producto intermedio 23 (I-23)



10 Una solución de 4-bromo-2-(dimetilamino)piridina (154,806 mg, 0,77 mmol) en THF (4,5 ml) y una solución de **I-20** (250 mg, 0,592 mmol) en KOH (4,738 ml, 1,185 mmol) se bombearon a través de una columna X-Terra® rellena con 0,5 g de DPP Pd Siliacat® (500 mg) usando el reactor Vapourtec R2+R4. (0,5 ml de volumen de huecos, 0,05 ml/min de cada uno, 60°C, 5 min de tiempo de permanencia). El resultado se recogió. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (sílice, EtOAc en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de 0/100 a 100/0). Las fracciones deseadas se recogieron y el disolvente se evaporó para dar **I-23** (150 mg, 61%) como un aceite transparente.

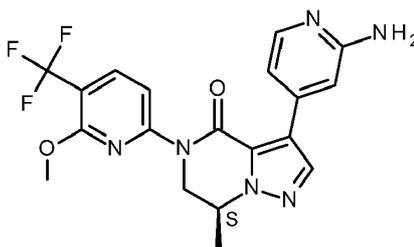
Producto intermedio 24 (I-24)



20 Se añadió  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (96 mg, 0,083 mmol) a una suspensión agitada del producto intermedio **I-15** (700 mg, 1,66 mmol) y ácido 2-aminopiridino-4-borónico (458 mg, 3,32 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) y una sol. sat. de  $\text{NaHCO}_3$  (5 ml). La mezcla se agitó a 150°C durante 10 min bajo irradiación con microondas. A continuación, la mezcla se diluyó con  $\text{H}_2\text{O}$  y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y el disolvente se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 10/90). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío y el residuo se purificó mediante RP HPLC (RP C18 XBridge® 30 x 100 mm 5  $\mu\text{m}$ ), fase móvil (gradiente de 67% de solución de 0,1% de  $\text{NH}_4\text{CO}_3\text{H}/\text{NH}_4\text{OH}$  pH 9 en agua, 33% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  a 50% de solución de 0,1% de  $\text{NH}_4\text{CO}_3\text{H}/\text{NH}_4\text{OH}$  pH 9 en agua, 50% de  $\text{CH}_3\text{CN}$ ). El residuo se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico usando un cartucho ISOLUTE® SCX2 eluyendo en primer lugar con MeOH y a continuación con solución 7 M de amoníaco en MeOH.

25 Las fracciones deseadas contenidas en la solución 7 M de amoníaco en MeOH se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar **I-24** como un sólido blanco (163 mg, 25%).  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,74 (d,  $J=6,4$  Hz, 3 H) 4,01 (dd,  $J=12,6, 7,1$  Hz, 1 H) 4,29 (dd,  $J=12,6, 4,2$  Hz, 1 H) 4,43 (s a, 2 H) 4,78 (quint,  $J=6,6, 4,3$  Hz, 1 H) 6,94 (dd,  $J=5,5, 1,4$  Hz, 1 H) 6,98 (s, 1 H) 7,51 (d a,  $J=8,4$  Hz, 2 H) 7,71 (d a,  $J=8,4$  Hz, 2 H) 7,79 (s, 1 H) 8,06 (d,  $J=4,9$  Hz, 1 H).

35 Producto intermedio 25 (I-25)

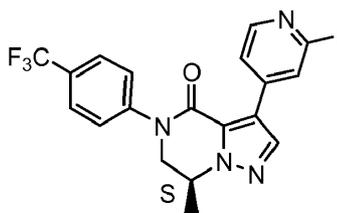


5 Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (55,852 mg, 0,0483 mmol) a una suspensión agitada de **I-17** (437,093 mg, 0,967 mmol), ácido 2-aminopiridino-4-borónico ([CAS903513-62-2], 200 mg, 1,45 mmol) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sat. (4,6 ml) en 1,4-dioxano (6,9 ml). La mezcla se agitó a 150°C durante 10 min bajo irradiación con microondas. A continuación, la mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y el disolvente se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en DCM de 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío, a continuación se trituraron con DIPE y se filtraron para dar **I-25** (143 mg, 35%).

10 Los siguientes productos intermedios se sintetizaron al seguir un procedimiento sintético análogo según se presenta para el **producto intermedio 25**:

Producto intermedio	Materia Prima	Reactivo
<p><b>I-26</b></p>	<b>I-15</b>	ácido 2-cloropiridino-4-borónico [458532-96-2]
<p><b>I-27</b></p>	<b>I-18</b>	ácido 2-aminopiridino-4-borónico [CAS903513-62-2]

Producto intermedio 28 (I-28)

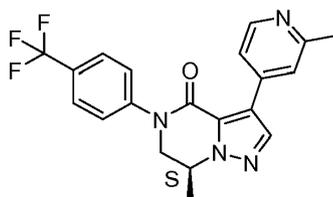


15 Se añadió cloruro de acetilo (84 µl, 1,18 mmol) a una suspensión agitada del producto intermedio **1-26** (320 mg, 0,786 mmol) y NaI (1,18 g, 7,866 mmol) en CH<sub>3</sub>CN (12,8 ml) a ta. La mezcla se agitó a 120°C durante 30 min bajo irradiación de MW. A continuación, la mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con una sol. sat. de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y salmuera. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en heptano de 0/100 a 60/40). Las

fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío para dar **I-28** (289 mg, 74%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,75 (d, *J*=6,5 Hz, 3 H) 4,02 (dd, *J*=12,8, 7,3 Hz, 1 H) 4,30 (dd, *J*=12,7, 4,2 Hz, 1 H) 4,80 (quint, *J*=6,7, 4,2 Hz, 1 H) 7,50 (d a, *J*=8,3 Hz, 2 H) 7,67 (dd, *J*=5,1, 1,6 Hz, 1 H) 7,72 (d a, *J*=8,3 Hz, 2 H) 7,80 (s, 1 H) 8,03 - 8,05 (m, 1 H) 8,32 (dd, *J*=5,2, 0,6 Hz, 1 H).

## 5 B. Preparación de los compuestos finales

### Ejemplo 1 (7*S*)-7-Metil-3-(2-metilpiridin-4-il)-5-[4-(trifluorometil)fenil]-6,7-dihidropirazolo[1,5-*a*]pirazin-4(5*H*)-ona (Co. N<sup>o</sup> 1)



10 Procedimiento A: Se añadió cloruro de cobre(I) (872 mg, 4,58 mmol) a una suspensión agitada del producto intermedio **I-10** (1,85 g, 7,64 mmol), 4-bromobenzotrifluoruro (2,14 ml, 15,27 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,11 g, 15,27 mmol) y *N,N'*-dimetiletilendiamina (0,492 ml, 4,58 mmol) en tolueno (70 ml) en un tubo sellado y bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 100°C durante 16 h. A continuación, se añadió DMF (10 ml) y la mezcla se agitó a 100°C durante 8 h adicionales. La mezcla se filtró a través de tierra de diatomeas y se lavó con EtOAc. La capa orgánica se lavó con sol. de NH<sub>4</sub>OH diluida, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en heptano de 20/80 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto se precipitó con heptano, se filtró y se secó a vacío para dar el producto final **compuesto 1** como un sólido blanco (2,32 g, 78%). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,75 (d, *J*=6,4 Hz, 3 H), 2,57 (s, 3 H), 4,02 (dd, *J*=12,7, 7,2 Hz, 1 H), 4,30 (dd, *J*=12,6, 4,2 Hz, 1 H), 4,75 - 4,84 (m, 1 H), 7,44 (d, *J*=5,2 Hz, 1 H), 7,49 (d, *J*=3,8 Hz, 2 H), 7,51 (s, 1 H), 7,71 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H), 7,80 (s, 1 H), 8,48 (d, *J*=5,2 Hz, 1 H).

15 Procedimiento B: Se añadió yoduro de cobre(I) (94 mg, 0,495 mmol) a una suspensión agitada del producto intermedio **I-10** (200 mg, 0,825 mmol), 4-bromobenzotrifluoruro (0,231 ml, 1,651 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (228 mg, 1,65 mmol) y *N,N'*-dimetiletilendiamina (53 µl) en tolueno (7,5 ml) en un tubo sellado y bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 100°C durante la noche. La mezcla se filtró a través de un bloque de tierra de diatomeas y se lavó con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice, EtOAc en heptano de 0/100 a 70/30). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el **compuesto 1** (283 mg, 89%) como un sólido rosado.

20 Procedimiento C: Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (384 mg, 0,332 mmol) a una suspensión agitada del producto intermedio **I-15** (2 g, 4,74 mmol) y éster pinacólico de ácido 2-metilpiridino-4-borónico (1,66 g, 7,60 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) y una sol. sat. de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 ml) en un tubo sellado bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 100°C durante 16 h. A continuación, la mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM y DCM con una pequeña cantidad de EtOH. La capa orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; solución 7 M de amoníaco en MeOH en DCM de 0/100 a 3/97 y a continuación EtOAc en heptano de 0/100 a 100/0). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío para dar el **compuesto 1** como un sólido blanco (480 mg, 26%). (Se recuperaron 1,31 g de materia prima).

25 Procedimiento D; descripción general de una síntesis realizada a gran escala por la que se aislaba Co. N<sup>o</sup> 1 con 90% de rendimiento antes de la purificación:

30 Una mezcla de **I-10** (1 eq.), carbonato potásico (2 eq.), yoduro de cobre(I) (0,3 eq.), 4-bromobenzotrifluoruro (1,3 eq.), *N,N'*-dimetiletilendiamina (0,35 eq.), DMF (5 ml/g de **I-18**) y tolueno (8 ml/g de **I-18**) se evacuó y relleno con nitrógeno 3 veces. Se calentó hasta 100-110°C y se agitó a 100-110°C durante 7-8 h bajo nitrógeno. La solución de reacción se concentró para retirar tolueno por debajo de 50°C. Se añadió acetato de isopropilo (15 ml/g de **I-18**). La mezcla se lavó con solución acuosa de NH<sub>4</sub>OH al 5% (3 x 7 ml/g de **I-18**) y a continuación *N*-acetil-L-cisteína al 5% y solución acuosa de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% (2 x 7 ml/g de **I-18**) a 10-25°C. Finalmente, se lavó con solución acuosa de NaCl al 5% (5 ml/g de **I-18**). La solución obtenida se concentró y se coevaporó con MTBE para retirar el acetato de isopropilo. El sólido resultante se filtró y se secó a vacío a 45-50°C. Se obtuvo **Co. N<sup>o</sup> 1** como un sólido blancuzco que se purificó adicionalmente como sigue:

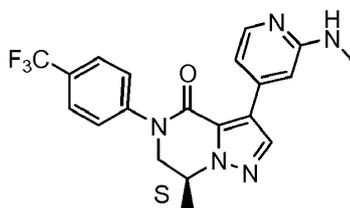
35 El **Co. N<sup>o</sup> 1** se disolvió en una mezcla de disolventes de IPA (4 ml/g de Co. N<sup>o</sup> 1) y agua (1 ml/g de Co. N<sup>o</sup> 1) a 48-55°C. La solución se filtró y se enfrió hasta 0-5°C. Se usó para el enjuague una mezcla de IPA/agua (0,5 ml/g de Co. N<sup>o</sup> 1, 4/1 v/v). Se añadió agua (650 µl/g de Co. N<sup>o</sup> 1) gota a gota y se realizó la siembra con **Co. N<sup>o</sup> 1**. La mezcla se agitó a 0-5°C durante 3-4 h. Se añadió agua (14 ml/g de Co. N<sup>o</sup> 1) gota a gota a 0-5°C durante 3-4 h y a

continuación la suspensión se agitó a 0-5°C durante 5-6 h. El producto húmedo se filtró y se enjuagó con agua (2 ml/g de Co. N° 1), a continuación se secó a vacío a 45-50°C durante 16 h para proporcionar **Co. N° 1** como un sólido blanco.

- 5 Para el compuesto 1 (pf DSC = 155,35°C), se obtuvieron la sal de hidrocloreto (.HCl) (pf DSC = se descompone por encima de 200°C); la sal de sulfato (.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (pf DSC = se descompone por encima de 200°C); la sal de metanosulfonato (.CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H) (pf DSC = 252°C); y la sal de maleato (.HO<sub>2</sub>CCH=CHCO<sub>2</sub>H-*cis*) (pf DSC = 163°C); en donde los pf se determinaron mediante DSC (Mettler Toledo Q2000 MDSC, calentando de 25 a 350°C a 10°C /min) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente:

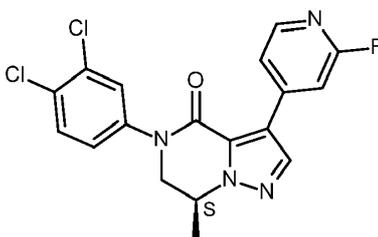
- 10 El Compuesto 1 (1,5 g) en 9 ml de IPA o acetona (las sales de hidrocloreto y sulfato se generaron en acetona; las sales de metanosulfonato y maleato se generaron en IPA) se agitaron a 50°C hasta que todo el sólido se disolvía. El ácido (1,1 equivalentes mol) se añadió a la solución y la mezcla de reacción se agitó adicionalmente durante 2 h a 50°C, a continuación se enfrió hasta 20°C en 1 h y se agitó adicionalmente durante 30 h a 20°C. La suspensión se filtró y los sólidos se secaron a 50°C en un horno de vacío durante la noche.

- 15 **Ejemplo 2 (7S)-7-Metil-3-[2-(metilamino)-4-piridil]-5-[4-(trifluorometil)fenil]-6,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-4-ona (Co. N° 2)**

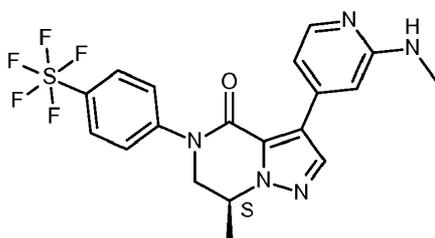


- 20 Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (206 mg, 0,178 mmol) a una suspensión agitada de **I-19** (1,5 g, 3,561 mmol) y 4-bromo-*N*-metil-piridin-2-amina (799 mg, 4,273 mmol, 1,06 mmol) en una sol. sat. de NaHCO<sub>3</sub> (8,2 ml) y 1,4-dioxano (8,1 ml). La mezcla se agitó a 120°C durante 10 minutos bajo irradiación con microondas. La mezcla se filtró a través de tierra de diatomeas y se lavó con DCM. La capa orgánica se lavó con agua, se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en heptano de 0/100 a 70/30). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el **Co. N° 2**, que se purificó mediante RP HPLC (Fase estacionaria: C18 XBridge® 30 x 100 mm 5 µm, fase móvil: gradiente de solución de 67% de 0,1% de NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH pH 9 en agua, 33% de CH<sub>3</sub>CN a solución de 50% de 0,1% de NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH pH 9 en agua, 50% de CH<sub>3</sub>CN), dando el **Co. N° 2** (1,14 g, 80%) como un sólido blanco. El **Co. N° 2** se trituró en heptano, dando el **Co. N° 2** (181 mg, 13%) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,74 (d, *J*=6,4 Hz, 3 H) 2,93 (d, *J*=5,2 Hz, 3 H) 4,00 (dd, *J*=12,6, 7,1 Hz, 1 H) 4,29 (dd, *J*=12,7, 4,0 Hz, 1 H) 4,54 (d a, *J*=3,2 Hz, 1 H) 4,73 - 4,82 (m, 1 H) 6,84 (s, 1 H) 6,86 (d, *J*=5,2 Hz, 1 H) 7,50 (d a, *J*=8,4 Hz, 2 H) 7,70 (d a, *J*=8,4 Hz, 2 H) 7,79 (s, 1 H) 8,09 (d, *J*=5,2 Hz, 1 H).

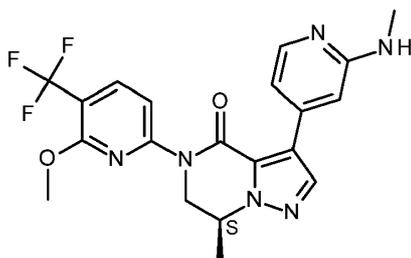
- 30 **Ejemplo 3 (7S)-5-(3,4-Diclorofenil)-3-(2-fluoro-4-piridil)-7-metil-6,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-4-ona (Co. N° 3)**



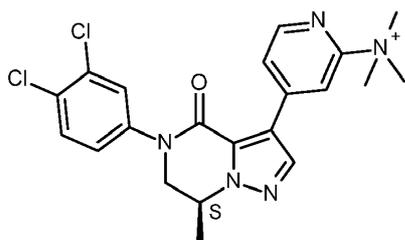
- 35 Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (27,38 mg, 0,0237 mmol) a una suspensión agitada de **I-16** (200 mg, 0,474 mmol) y ácido 2-fluoropiridino-4-borónico (1333,547 mg, 0,948 mmol) en 1,4-dioxano (2,8 ml, 32,829 mmol) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> saturado (1,4 ml). La mezcla se agitó a 150°C durante 10 minutos bajo irradiación con microondas. A continuación, la mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y el disolvente se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en DCM de 0/100 a 20/80). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío para dar el **Co. N° 3** (135 mg, 73%) como un aceite amarillo. El **Co. N° 3** se purificó mediante RP HPLC (Fase estacionaria: C18 XBridge® 30 x 100 mm 5 µm), fase móvil: Gradiente de solución de 54% de solución de 0,1% de NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH pH 9 en agua, 46% de CH<sub>3</sub>CN a 64% de solución de 0,1% de NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>H/NH<sub>4</sub>OH pH 9 en agua, 36% de CH<sub>3</sub>CN), dando el **Co. N° 3** (65 mg, 35%) como un sólido. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,75 (d, *J*=6,5 Hz, 3 H) 3,97 (dd, *J*=12,8, 7,3 Hz, 1 H) 4,25 (dd, *J*=12,8, 4,3 Hz, 1 H) 4,79 (quint, *J*=6,7, 4,2 Hz, 1 H) 7,24 (dd, *J*=8,6, 2,5 Hz, 1 H) 7,32 - 7,36 (m, 1 H) 7,49 (d, *J*=2,3 Hz, 1 H) 7,52 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,52 - 7,56 (m, 1 H) 7,83 (s, 1 H) 8,19 (d, *J*=5,3 Hz, 1 H).

**Ejemplo 4 (7S)-7-Metil-3-[2-(metilamino)-4-piridil]-5-[4-(pentafluoro-λ<sup>6</sup>-sulfanil)fenil]-6,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-4-ona (Co. N° 4)**

Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (18,084 mg, 0,0156 mmol) a una mezcla agitada de **I-22** (150 mg, 0,313 mmol) y 4-bromo-N-metil-2-piridinamina (70,245 mg, 0,376 mmol) en sol. sat. de NaHCO<sub>3</sub> (1,5 ml) y 1,4-dioxano (desoxigenado) (1,5 ml) bajo nitrógeno. La mezcla se agitó a 120°C durante 10 minutos bajo irradiación con microondas. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en DCM de 0/100 a 100/0). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío. A continuación, el producto se trituró con heptano/DIPE, se filtró y se secó para dar **Co. N° 4** (110,4 mg, 77%) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,74 (d, J=6,6 Hz, 3 H) 2,93 (d, J=5,2 Hz, 3 H) 4,00 (dd, J=12,1, 6,9 Hz, 1 H) 4,29 (dd, J=12,4, 4,0 Hz, 1 H) 4,47 - 4,58 (m, 1 H) 4,72 - 4,84 (m, 1 H) 6,82 (s, 1 H) 6,85 (dd, J=5,5, 1,3 Hz, 1 H) 7,49 (d, J=8,7 Hz, 2 H) 7,79 (s, 1 H) 7,82 (d, J=9,2 Hz, 2 H) 8,09 (d, J=5,2 Hz, 1 H).

**Ejemplo 5 (7S)-5-[6-Metoxi-5-(trifluorometil)-2-piridil]-7-metil-3-[2-(metilamino)-4-piridil]-6,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-4-ona (Co. N° 5)**

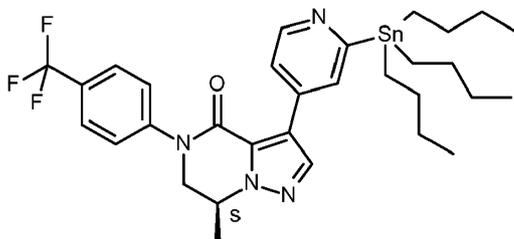
Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (38,418 mg, 0,0332 mmol) a una suspensión agitada de **I-16** (300,657 mg, 0,665 mmol), ácido 2-(metilamino)piridin-4-ilborónico ([CAS 1214879-88-5], 151,561 mg, 0,997 mmol) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sat (3 ml) en 1,4-dioxano (4,747 ml, 55,652 mmol). La mezcla se agitó a 150°C durante 10 minutos bajo irradiación con microondas. A continuación, la mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y el disolvente se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; EtOAc en DCM de 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío. El residuo se precipitó con DIPE/heptano y se evaporó para dar el **Co. N° 5** como un sólido blanco. El **Co. N° 5** se purificó mediante RP HPLC (Fase estacionaria: C18 XBridge® 30 x 100 mm 5 μm), Fase móvil: gradiente de solución de 60% de 0,1% de NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>OH pH 9 en agua, 40% de CH<sub>3</sub>CN a 43% de solución de 0,1% de NH<sub>4</sub>CO<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>OH pH 9 en agua, 57% de CH<sub>3</sub>CN), dando el **Co. N° 5** (112 mg, 39%) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,72 (d, J=6,6 Hz, 3 H) 2,96 (d, J=5,2 Hz, 3 H) 4,05 (s, 3 H) 4,42 (dd, J=13,6, 6,9 Hz, 1 H) 4,52 - 4,60 (m, 1 H) 4,64 (dd, J=13,6, 4,0 Hz, 1 H) 4,69 - 4,78 (m, 1 H) 6,76 (s, 1 H) 6,84 (dd, J=5,2, 0,6 Hz, 1 H) 7,77 (s, 1 H) 7,78 (d, J=8,4 Hz, 1 H) 7,88 (d, J=8,4 Hz, 1 H) 8,13 (d, J=5,2 Hz, 1 H).

**C. Preparación de los precursores de radioligandos****Precursor 1 (P-1)**

Se añadió CH<sub>3</sub>I (2,243 ml, 36,031 mmol) a una mezcla de **I-23** (150 mg, 0,36 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,867 g, 13,512 mmol) en MeOH (1,5 ml). La mezcla se agitó a ta durante 4 días. A continuación, se añadieron agua y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La capa

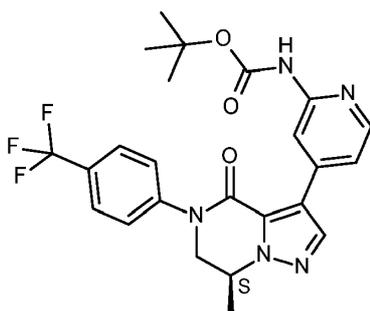
orgánica se separó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y el disolvente se evaporó. El residuo se trituró con EtOAc para dar **P-1** (140 mg, 70%) como un sólido blancuzco.  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,60 (d,  $J=6,6$  Hz, 3 H) 3,59 (s, 9 H) 4,06 (dd,  $J=13,0, 7,5$  Hz, 1 H) 4,36 (dd,  $J=13,0, 4,3$  Hz, 1 H) 4,83 - 4,93 (m, 1 H) 7,49 (dd,  $J=8,7, 2,6$  Hz, 1 H) 7,75 (d,  $J=8,7$  Hz, 1 H) 7,81 (d,  $J=2,3$  Hz, 1 H) 8,10 (dd,  $J=4,9, 0,9$  Hz, 1 H) 8,28 (s, 1 H) 8,43 (s, 1 H) 8,63 (d,  $J=5,2$  Hz, 1 H).

### Precursor 2 (P-2)



Una solución de **I-28** (700 mg, 1,405 mmol) y hexabutildiestaño (2137,233  $\mu\text{l}$ , 4,2 mmol) en dioxano seco (15 ml) se burbujeó con nitrógeno durante 5 min. A continuación, se añadió  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (147,21 mg, 0,21 mmol) y la mezcla se agitó a  $163^\circ\text{C}$  durante 17 min en un baño calentado. Se añadieron agua y EtOAc y las fases se separaron. La capa orgánica se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y se concentró. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna en fase inversa ( $\text{CH}_3\text{CN}$ , acetato amónico) para dar **P-2** (191 mg, 20%).  $^1\text{H}$  RMN (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,65 (d,  $J=5,2$  Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,66 - 7,53 (m, 3H), 7,51 - 7,35 (m, 3H), 4,80 - 4,65 (m, 1H), 4,23 (dd,  $J=4,1, 12,6$  Hz, 1H), 3,95 (dd,  $J=7,1, 12,8$  Hz, 1H), 1,68 (d,  $J=6,5$  Hz, 3H), 1,64 - 1,36 (m, 6H), 1,35 - 1,15 (m, 6H), 1,15 - 0,93 (m, 6H), 0,92 - 0,72 (m, 9H).

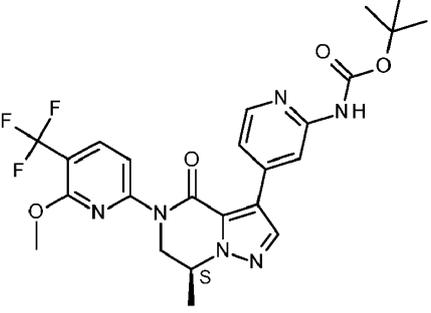
### Precursor 3 (P-3)



Se añadió lentamente **I-24** (515 mg, 1,329 mmol) en  $t\text{BuOH}$  (6 ml) a una solución de dicarbonato de di-terc-butilo (0,319 g, 1,462 mmol) en  $t\text{BuOH}$  (6 ml). Esta mezcla se agitó durante 20 h a  $25^\circ\text{C}$ . A continuación, el disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 5/95). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío para dar **P-3** (430 mg, 66%) como un sólido blanco.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,52 (s, 9 H) 1,74 (d,  $J=6,7$  Hz, 3 H) 4,01 (dd,  $J=12,7, 7,2$  Hz, 1 H) 4,31 (dd,  $J=12,7, 4,2$  Hz, 1 H) 4,73 - 4,83 (m, 1 H) 7,39 (dd,  $J=5,3, 1,6$  Hz, 1 H) 7,50 (d,  $J=8,3$  Hz, 2 H) 7,58 (s, 1 H) 7,69 (d,  $J=8,6$  Hz, 2 H) 7,85 (s, 1 H) 8,13 (s a, 1 H) 8,22 (dd,  $J=5,3, 0,7$  Hz, 1 H).

Los siguientes precursores se sintetizaron al seguir un procedimiento sintético análogo al presentado para el precursor 3:

Materia Prima	Precursor
<b>I-28</b>	<p style="text-align: right;"><b>P-4</b></p>

Materia Prima	Precursor
I-25	 <p style="text-align: right;"><b>P-5</b></p>

**NMR P-4:**  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,52 (s, 9 H) 1,73 (d,  $J=6,7$  Hz, 3 H) 4,01 (dd,  $J=12,7, 7,2$  Hz, 1 H) 4,30 (dd,  $J=12,7, 4,2$  Hz, 1 H) 4,72 - 4,84 (m, 1 H) 7,37 (dd,  $J=5,1, 1,4$  Hz, 1 H) 7,48 (d,  $J=8,8$  Hz, 2 H) 7,64 (s, 1 H) 7,82 (d,  $J=9,2$  Hz, 2 H) 7,84 (s, 1 H) 8,13 (d,  $J=0,5$  Hz, 1 H) 8,22 (dd,  $J=5,3, 0,7$  Hz, 1 H).

5 **NMR P-5:**  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,53 (s, 9 H) 1,71 (d,  $J=6,6$  Hz, 3 H) 4,05 (s, 3 H) 4,43 (dd,  $J=13,9, 7,2$  Hz, 1 H) 4,64 (dd,  $J=13,6, 4,0$  Hz, 1 H) 4,69 - 4,79 (m, 1 H) 7,32 (dd,  $J=5,2, 1,4$  Hz, 1 H) 7,59 (s, 1 H) 7,77 (d,  $J=8,4$  Hz, 1 H) 7,82 (s, 1 H) 7,87 (d,  $J=8,1$  Hz, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 8,26 (d,  $J=5,2$  Hz, 1 H).

#### A. Preparación de radioligandos

##### Materiales y Métodos

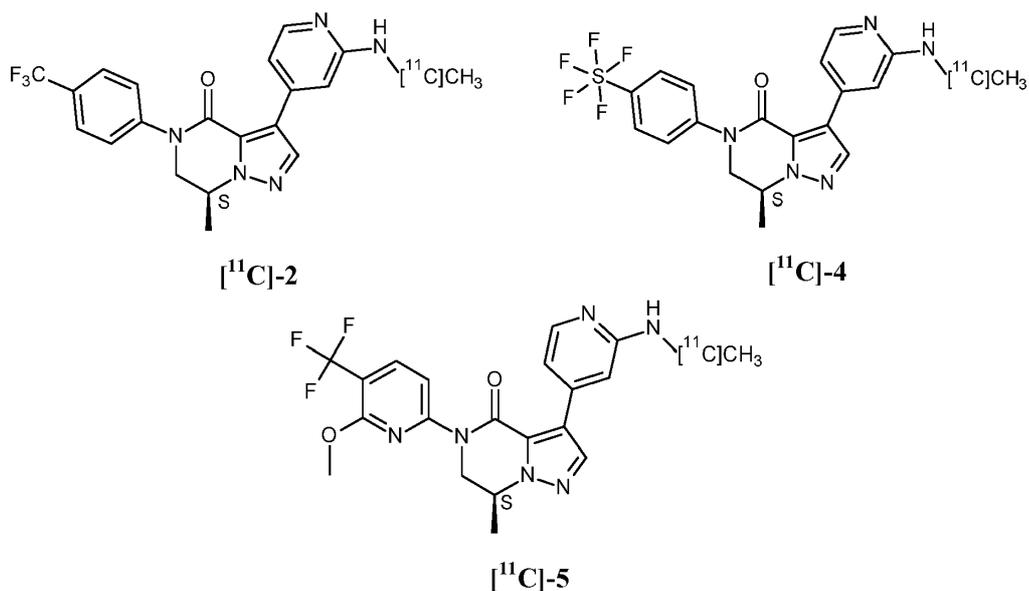
10 Se realizó un análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) en un sistema DE HPLC LaChrom Elite® (Hitachi, Armstadt, Alemania) conectado a un espectrómetro UV. Para el análisis de compuestos radiomarcados, el eluato de HPLC, después del paso a través de un detector UV se dejó sobre un detector de centelleo de  $\text{NaI}(\text{TI})$  de 7,6 cm (3 pulgadas) conectado a un analizador de un solo canal (Gabi box, Raytest, Straubenhardt, Alemania). La señal obtenida se registró y se analizó usando un sistema de adquisición de datos GINA Star (Raytest, Straubenhardt, Alemania). La radiactividad de las muestras se cuantificó usando un contador

15 gamma automatizado equipado con un cristal del pocillo de  $\text{NaI}(\text{TI})$  de 7,6 cm (3 pulgadas) acoplado a un analizador de múltiples canales (Wallac 2480 Wizard, Wallac, Turku, Finlandia). Los resultados se corrigieron con respecto a la radiación de fondo, la descomposición física y el tiempo muerto del contador. Los animales se alojaron en jaulas ventiladas individualmente en una instalación de humedad controlada termorregulada ( $\sim 22^\circ\text{C}$ ) bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 h/12 h con acceso a alimento y agua a voluntad. Todos los experimentos con animales se

20 efectuaron según el código belga de práctica para el cuidado y el uso de animales, después de la aprobación del comité universitario de ética para animales local.

#### a) Trazadores marcados con carbono-11

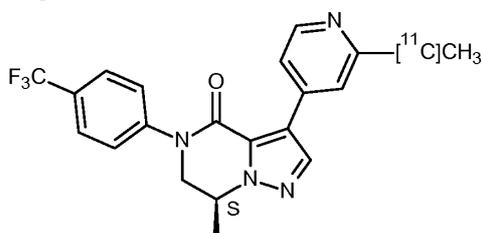
$[^{11}\text{C}]\text{-2}$  /  $[^{11}\text{C}]\text{-4}$  /  $[^{11}\text{C}]\text{-5}$



Se produjo carbon-11 a través de una reacción nuclear de [<sup>14</sup>N(p,α)<sup>11</sup>C] en un ciclotrón Cyclone 18/9 (IBA, Louvain-la-Neuve, Bélgica). El gas buscado, que es una mezcla de N<sub>2</sub> (95%) y H<sub>2</sub> (5%), se irradió usando protones 18-MeV a una corriente del haz de 25 μA. La irradiación se realizó durante aproximadamente 30 min para dar [<sup>11</sup>C]metano ([<sup>11</sup>C]CH<sub>4</sub>). El [<sup>11</sup>C]CH<sub>4</sub> se transfirió a continuación a un módulo de síntesis de recirculación de construcción propia y se atrapó en una columna Porapak que se sumergió en nitrógeno líquido. Después de barrer con helio, el [<sup>11</sup>C]CH<sub>4</sub> condensado se convirtió en fase gaseosa al llevar el circuito de Porapak hasta temperatura ambiente. A continuación, este [<sup>11</sup>C]CH<sub>4</sub> se hizo reaccionar con I<sub>2</sub> en fase de vapor a 650°C para convertirlo en yoduro de [<sup>11</sup>C]metilo ([<sup>11</sup>C]MeI).

El [<sup>11</sup>C]MeI volátil resultante se burbujeó con un flujo de helio a través de una solución del precursor de radiomarcaje protegido con Boc en N **P-3** (para [<sup>11</sup>C]-2), **P-5** (para [<sup>11</sup>C]-5) y **P-4** (para [<sup>11</sup>C]-4) (0,5 mg) y NaH (~0,2 mg de una dispersión al 60% en aceite mineral) en DMF anhidra (0,2 ml). Cuando se hubo estabilizado la cantidad de radiactividad en el vial de reacción, la mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 4 min. La desprotección se realizó al añadir una solución 4 M de HCl en 1,4-dioxano (0,2 ml) y calentar la mezcla de reacción durante 1 min a 100°C. Después de la neutralización, la mezcla de reacción en bruto se inyectó en un sistema de HPLC que consistía en una columna XBridge® semipreparativa (C<sub>18</sub>, 5 μm; 4,6 mm × 150 mm; Waters, Milford, MA, EE. UU. de A.) que se eluyó con una mezcla de tampón de fosfato sódico 0,01 M (pH 7,4) y EtOH (60:40 v/v) a un caudal de 1 ml/min para [<sup>11</sup>C]-2, con una mezcla de tampón de fosfato sódico 0,01 M (pH 7,4) y EtOH (55:45 v/v) a un caudal de 0,8 ml/min para [<sup>11</sup>C]-4 y con una mezcla de tampón de fosfato sódico 0,01 M (pH 2,2) y CH<sub>3</sub>CN (60:40 v/v) a un caudal de 0,8 ml/min para [<sup>11</sup>C]-5. El producto radiomarcado se recogió entre 15 y 17 min (pequeña diferencia en el tiempo de retención para los diferentes trazadores). A continuación, el pico recogido correspondiente al radioligando deseado se diluyó con solución salina (Mini Plasco®, Braun, Melsungen, Alemania) para obtener una concentración de etanol final de 10% y la solución se filtró estérilmente a través de un filtro de membrana de 0,22 μm (Millex®-GV, Millipore, Irlanda). Cuando estaba presente CH<sub>3</sub>CN en la fase móvil preparativa, se realizó una pospurificación en C<sub>18</sub> SepPak antes de la filtración estéril. La formulación final que contenía no más de 10% de etanol se usó a continuación para experimentos preclínicos adicionales in vitro e in vivo. El control de calidad se realizó usando un sistema de HPLC analítico que consistía en una columna XBridge® (C<sub>18</sub>, 3,5 μm; 3 mm × 100 mm; Waters) eluida con una mezcla de tampón de fosfato sódico 0,01 M (pH 9,6) y CH<sub>3</sub>CN (65:35 v/v) a un caudal de 0,6 ml/min y detección UV a 275 nm para [<sup>11</sup>C]-2, con una mezcla de tampón de fosfato sódico 0,01 M (pH 9,6) y CH<sub>3</sub>CN (60:40 v/v) a un caudal de 0,6 ml/min y detección UV a 254 nm para [<sup>11</sup>C]-4 y con una mezcla de tampón de fosfato sódico 0,01 M (pH 9,6) y CH<sub>3</sub>CN (55:45 v/v) a un caudal de 0,6 ml/min y detección UV a 217 nm para [<sup>11</sup>C]-5. (Rt = 6-10 min, pequeña diferencia en el tiempo de retención para los diferentes trazadores).

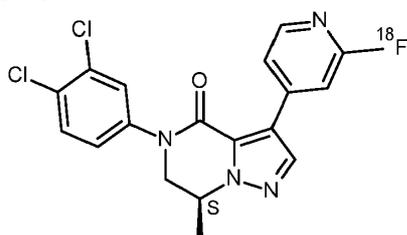
[<sup>11</sup>C]-1



Se burbujeó [ $^{11}\text{C}$ ]Mel con un flujo de helio a través de una suspensión del catalizador de  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (2,6  $\mu\text{mol}$ ) en DMF anhidra (0,2 ml, purgada con  $\text{N}_2$  antes del uso) a temperatura ambiente durante 2 min. Se añadió una solución de **P-2** (2,6  $\mu\text{mol}$ ) en DMF anhidra (0,2 ml, purgada con  $\text{N}_2$  antes del uso) y la mezcla de reacción se calentó a 100°C durante 3 min. Después de la dilución con una mezcla de tampón de fosfato sódico 0,01 M (pH 7,4) y EtOH (90:10 v/v), se dejó que el catalizador se depositara durante aproximadamente 2 min después de los cuales la mezcla de radiomarcaje en bruto se inyectó en un sistema de HPLC que consistía en una columna XBridge® semipreparativa ( $\text{C}_{18}$ , 5  $\mu\text{m}$ ; 4,6 mm  $\times$  150 mm; Waters) que se eluyó con una mezcla de tampón de fosfato sódico 0,01 M (pH 7,4) y EtOH (55:45 v/v) a un caudal de 0,8 ml/min. Se recogió [ $^{11}\text{C}$ ]-**1** alrededor de los 14 min y se formuló como se describe anteriormente en la presente. El control de calidad se realizó usando un sistema de HPLC analítico que consistía en una columna XBridge® ( $\text{C}_{18}$ , 3,5  $\mu\text{m}$ ; 3 mm  $\times$  100 mm; Waters) eluida con una mezcla de tampón de acetato sódico 0,05 M (pH 5,5) y  $\text{CH}_3\text{CN}$  (65:35 v/v) a un caudal de 0,6 ml/min y una detección UV a 277 nm (Rt 10 min).

b) Trazadores marcados con flúor-18

[ $^{18}\text{F}$ ]-**3**



Se produjo [ $^{18}\text{F}$ ]fluoruro ([ $^{18}\text{F}$ ]F $^-$ ) mediante una reacción nuclear de [ $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ ] en un ciclotrón Cyclone 18/9 (IBA, Louvain-la-Neuve, Bélgica) mediante la irradiación de 2 ml de [ $^{18}\text{O}$ ]H $_2\text{O}$  enriquecido al 97% (Rotem HYOX18, Rotem Industries, Beer Sheva, Israel) usando protones 18-MeV. Después de la irradiación, el [ $^{18}\text{F}$ ]F $^-$  resultante se separó de [ $^{18}\text{O}$ ]H $_2\text{O}$  usando un cartucho de intercambio aniónico Chromafix® (PS-HCO $_3$ ) (Machery-Nagel, acondicionado en forma de C $_2$ O $_4^{2-}$ ). Se eluyó [ $^{18}\text{F}$ ]F $^-$  del cartucho usando una solución que contenía K $_2$ C $_2$ O $_4$  (1,86 mg) y Kryptofix 222 (7,43 mg) disueltos en H $_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$  (0,2 ml; 5:95 v/v).

La solución se evaporó bajo una corriente de helio a 110°C y se secó adicionalmente mediante destilación azeotrópica usando  $\text{CH}_3\text{CN}$  anhidro (1 ml) bajo las mismas condiciones hasta sequedad completa. Se añadió una solución **P-1** (0,5 mg) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  anhidro (0,25 ml) al complejo de [ $^{18}\text{F}$ ]F $^-$ /K $_2$ C $_2$ O $_4$ /kryptofix secado y la mezcla se calentó a 82°C durante 2,5 min. Posteriormente, la mezcla de radiomarcaje en bruto se diluyó con una mezcla de tampón de acetato sódico 0,05 M (pH 5,5) y EtOH (96:4 v/v) y se inyectó en un sistema de HPLC que consistía en una columna XBridge® semipreparativa ( $\text{C}_{18}$ , 5  $\mu\text{m}$ ; 4,6 mm  $\times$  150 mm; Waters) que se eluyó con una mezcla de tampón de acetato sódico 0,05 M (pH 5,5) y EtOH (60:40 v/v) a un caudal de 0,8 ml/min. El producto radiomarcado [ $^{18}\text{F}$ ]-**3** se recogió después de 49 min. La formulación se realizó como se describe anteriormente. El control de calidad se realizó usando un sistema de HPLC analítico que consistía en una columna XBridge® ( $\text{C}_{18}$ , 3,5  $\mu\text{m}$ ; 3 mm  $\times$  100 mm; Waters) eluida con una mezcla de tampón de acetato sódico 0,05 M (pH 5,5) y  $\text{CH}_3\text{CN}$  (55:45 v/v) a un caudal de 0,6 ml/min y una detección UV a 221 nm (Rt 8,3 min).

[ $^{11}\text{C}$ ]-**2** se sintetizó con un rendimiento radioquímico de 55% (n = 5),

[ $^{11}\text{C}$ ]-**5** se sintetizó con un rendimiento radioquímico de 25% (n = 1),

[ $^{11}\text{C}$ ]-**4** se sintetizó con un rendimiento radioquímico de 55 % (n = 1),

[ $^{11}\text{C}$ ]-**1** se sintetizó con un rendimiento radioquímico de 44 % (n = 4),

[ $^{18}\text{F}$ ]-**3** se sintetizó con un rendimiento radioquímico de 48 % (n = 2),

Todos los rendimientos se determinaron con relación al [ $^{11}\text{C}$ ]Mel o [ $^{18}\text{F}$ ]F $^-$  de partida, no corregidos con respecto a la descomposición. Todos los radioligandos se obtuvieron con pureza radioquímica > 95% y una radiactividad específica entre 59 y 192 GBq/ $\mu\text{mol}$  según se examinó usando los sistemas de HPLC analíticos descritos anteriormente.

La identidad de los radiotrazadores se confirmó usando los mismos métodos de HPLC analíticos que se describen anteriormente después de la coinyección con su análogo no radiactivo.

II. Parte analítica

Puntos de fusión

Los valores son valores máximos y se obtienen con incertidumbres experimentales que comúnmente están asociadas con este método analítico.

5 Mettler FP 62 (A): Para un número de compuestos, los puntos de fusión se determinaron en tubos capilares abiertos en un aparato Mettler FP62. Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 3 o 10°C/minuto. La temperatura máxima era 300°C. El punto de fusión se leyó de una pantalla digital.

Mettler FP 81HT / FP90 (B): Para un número de compuestos, los puntos de fusión se determinaron en tubos capilares abiertos en un aparato FP 81HT / FP90 (Mettler-Toledo). Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 1, 3, 5 o 10°C/minuto. La temperatura máxima era 300°C. El punto de fusión se leyó en una pantalla digital.

10 DSC823e (C): Para un número de compuestos, los puntos de fusión (p. f.) se determinaron con un aparato DSC823e (Mettler-Toledo). Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 10°C/minuto. La temperatura máxima era 300°C. Se registraron los valores máximos.

#### LCMS

##### Procedimiento general

15 La medida de la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) se realizó usando una bomba de LC, una serie de diodos (DAD) o un detector UV y una columna según se especifica en los métodos respectivos. Si fuera necesario, se incluían detectores adicionales (véase la tabla de los métodos posterior).

20 El flujo procedente de la columna se llevó al espectrómetro de masas (MS) que se configuró con una fuente de iones a presión atmosférica. Está dentro del conocimiento del experto fijar los parámetros de ajuste (p. ej. intervalo de barrido, tiempo de permanencia...) a fin de obtener iones que permitan la identificación del peso molecular monoisotópico nominal del compuesto (PM). La adquisición de datos se realizó con un software apropiado. Los compuestos se describen mediante sus tiempos de retención experimentales ( $R_t$ ) e iones. Si no se especifica de forma diferente en la tabla de datos, el ion molecular presentado corresponde al  $[M+H]^+$  (molécula protonada) y/o  $[M-H]^-$  (molécula desprotonada). En caso de que el compuesto no fuera directamente ionizable, se especifica el tipo de aducto (es decir,  $[M+NH_4]^+$ ,  $[M+HCOO]^-$ ,  $[M+CH_3COO]^-$  etc...). Para moléculas con múltiples patrones isotópicos (Br, Cl...), el valor presentado es el obtenido para la masa isotópica inferior. Todos los resultados se obtuvieron con incertidumbres experimentales que comúnmente están asociadas con el método usado.

Tabla 1. Métodos de LC-MS (Flujo expresado en ml/min; temperatura común (T) en °C; Tiempo de marcha en minutos).

Método	Instrumento	Columna	Fase móvil	Gradiente	Flujo ----- T col 60	Tiempo de marcha
1	Agilent: HP1100-DAD, Waters: SQD	Agilent: Eclipse Plus C18 (3,5µm, 2,1x30mm)	A: 95% CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 6,5mM + 5% CH <sub>3</sub> CN, B: 1/1 CH <sub>3</sub> CN/CH <sub>3</sub> OH	95% A mantenido durante 0,2 min, hasta 0% A en 2,8 min, mantenido durante 0,15 min, vuelta hasta 95% A en 0,15 min, mantenido durante 1,7 min	1 ----- 60	5
2	Waters: Acquity® UPLC® - DAD/SQD	Waters: CSH™ C18 (1,7µm, 2,1x50mm)	A: 95% CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 6,5mM + 5% CH <sub>3</sub> CN, B: CH <sub>3</sub> CN	De 95% A a 5% A en 4,6 min, mantenido durante 0,4 min	1 ----- 50	5
3	Agilent: HP1100-DAD, Waters: LCT	Agilent: Eclipse Plus C18 (3,5µm, 2,1x30mm)	A: 95% CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 6,5mM + 5% CH <sub>3</sub> CN, B: CH <sub>3</sub> CN/CH <sub>3</sub> OH, 1/1	De 95% A a 0% A en 5,0 min, mantenido durante 0,15 min, vuelta hasta 95% A en 0,15 min, mantenido durante 1,7 min	1 ----- 60	7

Método	Instrumento	Columna	Fase móvil	Gradiente	Flujo ----- T col	Tiempo de marcha
4	Waters: Acquity® IClass UPLC®-DAD / Xevo G2-S QTOF	Waters: CSH™ C18 (1,7µm, 2,1x50mm)	A: 95% CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 6,5mM + 5% CH <sub>3</sub> CN, B: CH <sub>3</sub> CN	De 95% A a 5% A en 4,6 min, mantenido durante 0,4 min	1 ----- 50	5
5	Waters: Acquity® UPLC® - DAD/SQD	Waters: CSH™ C18 (1,7µm, 2,1x50mm)	A: 95% CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 6,5mM + 5% CH <sub>3</sub> CN, B: CH <sub>3</sub> CN	De 95% A a 40% A en 1,2 min, a 5% A en 0,6 min, mantenido durante 0,2 min	1 ----- 50	2
6	Agilent 1100 - DAD-MSD G1956A	YMC-pack ODS-AQ C18 (50 x 4,6 mm, 3 µm)	A: 0,1% HCOOH in H <sub>2</sub> O B: CH <sub>3</sub> CN	De 95% A a 5% A en 4,8 min, mantenido durante 1,0 min, hasta 95% A en 0,2 min.	2,6 ----- 35	6,0

Tabla 2. Datos analíticos - punto de fusión (P. f.) y LCMS: [M+H]<sup>+</sup> significa la masa protonada de la base libre del compuesto, [M-H]<sup>-</sup> significa la masa desprotonada de la base libre del compuesto o el tipo de aducto especificado [M+CH<sub>3</sub>COO]<sup>-</sup>. R<sub>t</sub> significa tiempo de retención (en min). Para algunos compuestos, se determinó la masa exacta.

Co. Nº	p. f. (°C)	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup> o aducto	R <sub>t</sub>	Método de LCMS
1	152,6 (B)	387	445 (M+CH <sub>3</sub> COO) <sup>-</sup>	2,73	1
2	85,9 (B)	402	460 (M+CH <sub>3</sub> COO) <sup>-</sup>	2,01	2
3	170,3 (A, grad. temp.: 3°C/min)	391	389	3,75	3
4	n.d.	460	518 (M+CH <sub>3</sub> COO) <sup>-</sup>	2,24	2
5	125,82 (C)	433	431	2,34	2
P-1	n.d.	430,1202 (+0,1mDa)	-	1,80	4
P-2	n.d.	662	-	3,811	6
P-3	n.d.	488	546 (M+CH <sub>3</sub> COO) <sup>-</sup>	1,44	5
P-4	213,14 (C)	546,1599 (+0,1mDa)	-	2,91	4
P-5	198,32 y 208,33 (C)	519,1967 (+0,0mDa)	-	3,06	4

#### Rotaciones ópticas

- 5 Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 341 con una lámpara de sodio y se presentaron como sigue: [α]<sup>o</sup> (λ, c g/100 ml, disolvente, T °C).

$[\alpha]_{\lambda}^T = (100\alpha) / (l \times c)$ : donde  $l$  es la longitud del camino en dm y  $c$  es la concentración en g/100 ml para una muestra a una temperatura  $T$  (°C) y una longitud de onda  $\lambda$  (en nm). Si la longitud de onda de luz usada es 589 nm (la línea D del sodio), entonces se podría usar en su lugar el símbolo  $D$ . Siempre se debe dar el signo de la rotación (+ o -). Cuando se use esta ecuación, la concentración y el disolvente siempre se proporcionan entre paréntesis después de la rotación. La rotación se presenta usando grados y no se dan unidades de concentración (se supone que es g/100 ml).

Tabla 3. Datos de rotación óptica.

Co. Nº	$\alpha_D$ (°)	Longitud de onda (nm)	Concentración % p/v	Disolvente	Temperatura (°C)
1	+21,2	589	0,59	DMF	20
3	+27,2	589	0,5	DMF	20
2	+21,1	589	0,51	DMF	20
5	+10,5	589	0,5	DMF	20
4	+21,8	589	0,59	DMF	20
P-4	+19,1	589	0,6	DMF	20
P-5	+9,2	589	0,44	DMF	20

### III. Ensayo de unión de [<sup>35</sup>S] GTPyS

El ensayo de unión de [<sup>35</sup>S]GTPyS es un ensayo basado en membrana funcional usado para estudiar la función del receptor acoplado a proteína G (GPCR), con lo que se mide la incorporación de una forma no hidrolizable de GTP, [<sup>35</sup>S]GTPyS (5'-trifosfato de guanosina, marcado con <sup>35</sup>S emisor gamma). La subunidad  $\alpha$  de la proteína G cataliza el intercambio de 5'-difosfato de guanosina (GDP) por trifosfato de guanosina (GTP) y, durante la activación del GPCR mediante un agonista, [<sup>35</sup>S]GTPyS, se incorpora y no se puede escindir para continuar el ciclo de intercambio (Harper (1998) Current Protocols in Pharmacology 2,6.1-10, John Wiley & Sons, Inc.). La cantidad de incorporación de [<sup>35</sup>S]GTPyS radiactivo es una medida directa de la actividad de la proteína G y de ahí que se pueda determinar la actividad del antagonista. Se muestra que los receptores de mGlu2 se acoplan preferentemente a proteína G $\alpha_i$ , un acoplamiento preferente para este método, y de ahí que se use ampliamente para estudiar la activación como receptor de receptores de mGlu2 tanto en líneas celulares recombinantes como en tejidos. En la presente, se describe el uso del ensayo de unión de [<sup>35</sup>S]GTPyS usando membranas procedentes de células transfectadas con el receptor de mGlu2 humano y adaptadas de Schaffhauser y cols. (Molecular Pharmacology, 2003, 4:798-810) para la detección de las propiedades de modulación alostérica negativa (NAM) de los compuestos de esta invención.

#### Preparación de membranas

Se cultivaron células CHO hasta la preconfluencia y se estimularon con butirato 5 mM durante 24 h. A continuación, las células se recogieron mediante raspado en PBS y la suspensión celular se centrifugó (10 min a 4000 RPM en centrífuga de sobremesa). El sobrenadante se descartó y la pella se resuspendió suavemente en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 mediante mezcla con un homogeneizador Ultra Turrax. La suspensión se centrifugó a 12.400 RPM (Sorvall F14S-6x250Y) durante 10 minutos y el sobrenadante se descartó. La pella se homogeneizó en Tris-HCl 5 mM, pH 7,4 usando un homogeneizador Ultra Turrax y se centrifugó de nuevo (13.000 RPM, 20 min, 4°C). La pella final se resuspendió en Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 y se almacenó a -80°C en partes alícuotas apropiadas antes del uso. La concentración de proteína se determinó mediante el método de Bradford (Bio-Rad, EE. UU. de A.) con albúmina sérica bovina como patrón.

#### Ensayo de unión de [<sup>35</sup>S] GTPyS

La medida de la actividad moduladora alostérica negativa de mGluR2 de los compuestos de prueba se realizó como sigue. Los compuestos de prueba y glutamato se diluyeron en tampón de ensayo que contenía ácido de HEPES 10 mM, sal de HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 100 mM, MgCl<sub>2</sub> 3 mM y GDP 10  $\mu$ M. Las membranas que contenían receptor de mGlu2 humano se descongelaron sobre hielo y se diluyeron en tampón de ensayo complementado con 18  $\mu$ g/ml de saponina. Las membranas se preincubaron con compuesto junto con una concentración predefinida ( $\sim$ EC<sub>80</sub>) de glutamato (60  $\mu$ M) durante 30 min a 30°C. Después de la adición de [<sup>35</sup>S]GTPyS (c. f. 0,1 nM), las mezclas de ensayo se removieron brevemente y se incubaron adicionalmente para permitir la incorporación de [<sup>35</sup>S]GTPyS durante la activación (30 minutos, 30°C). Las mezclas de ensayo finales contenían 7  $\mu$ g de proteína de

5 membrana en ácido de HEPES 10 mM, sal de HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 100 mM, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, GDP 10 μM y 10 μg/ml de saponina. El volumen de reacción total era 200 μl. Las reacciones se terminaron mediante filtración rápida a través de placas Unifilter-96 GF/B (Perkin Elmer, Massachusetts, EE. UU. de A.) usando un recolector universal Filtermate de 96 pocillos. Los filtros se lavaron 6 veces con NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 10 mM / Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM, pH 7,4, enfriado con hielo. A continuación, los filtros se secaron al aire y se añadieron a cada pocillo 30 μl de cóctel de centelleo de líquidos (Microscint-O). La radiactividad unida a membranas se contó en un Topcount.

Análisis de datos

10 Las curvas de respuesta a la concentración de compuestos representativos de la presente invención se generaron usando la interfaz de software Lexis (desarrollado en J&J). Los datos se calcularon como % de la respuesta de glutamato de control, definida como la respuesta que se genera al añadir una concentración de glutamato equivalente a la EC<sub>80</sub>. Se analizaron curvas de respuesta a la concentración sigmoideas que representan estos porcentajes frente al logaritmo de la concentración del compuesto de prueba usando análisis de regresión no lineal. La concentración que produce la inhibición semimáxima se calculó como la IC<sub>50</sub>.

15 Los valores de pIC<sub>50</sub> se calcularon como el -log IC<sub>50</sub>, cuando la IC<sub>50</sub> se expresa en M. E<sub>máx</sub> se define como el efecto máximo relativo (es decir, % de inhibición máximo con relación a la respuesta a glutamato de control).

Tabla 4a. Datos farmacológicos para los compuestos según la invención.

Co. N°	GTPγS	GTPγS
	- hmGluR2 anGT pIC <sub>50</sub>	- hmGluR2 anGT Emáx
1	8,05	105,51
3	8,26	106,95
2	8,24	105,535
5	8,5	111,16
4	8,52	105,7

Tabla 4b. Datos en el ensayo de unión de [<sup>35</sup>S]GTPγS y selectividad para mGluR2 frente a mGluR1, mGluR3-mGluR8.

Co. N°	GTPγS - hmGluR2 PAM pEC <sub>50</sub>	Selectividad sobre mGluR1, mGluR3-mGluR8					
		mGlu1	mGlu3	mGlu4	mGlu5	mGlu7	mGlu8
1	8,05	1122,0	25,7	5623,4	1122,0	1122,0	1122,0
3	8,26	1819,7	16,2	9120,1	1819,7	1819,7	1819,7
2	8,24		44,7	8709,6			1737,8
5	8,5		234,4				
4	8,52		77,6				

20 Los valores de pEC<sub>50</sub> se calcularon a partir de un experimento de respuesta a la concentración de al menos 8 concentraciones. Si se realizaban más experimentos, el valor de pEC<sub>50</sub> medio se presenta y la desviación del error era <0,5.

IV. Estudios de biodistribución

Método general

5 Se llevaron a cabo estudios de biodistribución de [<sup>11</sup>C]-2 y [<sup>11</sup>C]-1 en ratas Wister hembra sanas (peso corporal 185-220 g) a los 2 min, 30 min y 60 min después de la inyección (p.i.) (n=3/punto temporal). Las ratas fueron inyectadas con aproximadamente 18 MBq del trazador a través de una vena caudal bajo anestesia (isoflurano al 2,5% en O<sub>2</sub> a un caudal de 1 l/min) y se sacrificaron mediante decapitación en los puntos temporales especificados anteriormente. La sangre y los órganos principales se recogieron en tubos tarados y se pesaron. Se midió la radioactividad en sangre, órganos y otras partes del cuerpo usando un contador gamma automatizado. Para el cálculo de la radiactividad en sangre total, se suponía que la masa de sangre era 7% de la masa corporal. Para el cálculo de la radiactividad del músculo total y el hueso total, se suponía que la masa de músculo y hueso eran 40% y 12% de la masa corporal, respectivamente.

Estudios de biodistribución

[<sup>11</sup>C]-2 y [<sup>11</sup>C]-1

15 Los resultados del estudio de biodistribución de [<sup>11</sup>C]-2 y de [<sup>11</sup>C]-1 en ratas Wistar hembra normales se presentan en las Tablas 5-10. Las Tablas 5 y 6 muestran los valores de % de dosis inyectada (% ID) a los dos 2 min, 30 min y 60 min después de la inyección (p.i.) de [<sup>11</sup>C]-2 y de [<sup>11</sup>C]-1, respectivamente. Para [<sup>11</sup>C]-1, no se estudió el punto temporal de 60 min.

Tabla 5. Biodistribución de [<sup>11</sup>C]-2 en ratas normales a los 2, 30 y 60 min p.i.

	% ID					
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
	2 min	2 min	30 min	30 min	60 min	60 min
orina	0,1	0,1	0,5	0,1	11	0,1
riñones	5,3	0,7	2,2	0,2	1,6	0,1
hígado	26,5	4,2	16,0	3,1	11,9	1,2
bazo+páncreas	2,4	0,1	1,4	0,2	1,1	0,3
pulmones	6,8	4,7	1,8	0,1	1,3	0,3
corazón	1,0	0,4	0,4	0,0	0,3	0,0
intestinos	12,2	1,8	19,4	1,4	24,2	3,3
estómago	2,3	0,5	6,5	0,7	12,3	4,0
cuerpo estriado	0,099	0,023	0,043	0,007	0,030	0,002
hipocampo	0,046	0,006	0,018	0,003	0,016	0,001
corteza	0,064	0,009	0,024	0,007	0,014	0,001
resto del cerebro	0,944	0,139	0,323	0,020	0,256	0,028
cerebro total	1,153	0,145	0,408	0,030	0,316	0,028
cerebelo	0,279	0,101	0,084	0,014	0,058	0,001

	% ID					
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
	2 min	2 min	30 min	30 min	60 min	60 min
sangre	<b>4,9</b>	0,9	<b>2,8</b>	0,5	<b>2,0</b>	0,1
canal	<b>39,5</b>	3,5	<b>49,9</b>	3,9	<b>44,8</b>	3,2
hueso	<b>7,0</b>	2,4	<b>4,9</b>	0,8	<b>4,2</b>	0,5
músculo	<b>11,1</b>	2,2	<b>24,1</b>	3,9	<b>21,4</b>	2,8

Los datos se expresan como media  $\pm$  SD; n = 3 por punto temporal

% ID: Porcentaje de dosis inyectada calculada como cpm en cpm de órgano/totales recuperados

Tabla 6. Biodistribución de [<sup>11</sup>C]-1 en ratas normales a los 2 y 30 min p.i.

	% ID			
	Media	SD	Media	SD
	2 min	2 min	30 min	30 min
orina	<b>0,1</b>	0,0	<b>0,1</b>	0,0
riñones	<b>2,9</b>	0,1	<b>1,6</b>	0,4
hígado	<b>31,2</b>	2,4	<b>14,2</b>	0,4
bazo+páncreas	<b>1,9</b>	0,4	<b>1,2</b>	0,0
pulmones	<b>2,1</b>	0,8	<b>0,9</b>	0,1
corazón	<b>0,6</b>	0,0	<b>0,5</b>	0,1
intestinos	<b>10,1</b>	1,6	<b>11,1</b>	0,9
estómago	<b>2,8</b>	0,8	<b>6,4</b>	0,5
cuerpo estriado	<b>0,143</b>	0,043	<b>0,052</b>	0,010
hipocampo	<b>0,083</b>	0,016	<b>0,031</b>	0,009
corteza	<b>0,131</b>	0,034	<b>0,039</b>	0,003
resto del cerebro	<b>1,286</b>	0,153	<b>0,445</b>	<b>0,030</b>
cerebro total	<b>1,643</b>	0,227	<b>0,567</b>	0,038
cerebelo	<b>0,340</b>	0,014	<b>0,120</b>	0,016

	% ID			
	Media	SD	Media	SD
	2 min	2 min	30 min	30 min
sangre	6,3	0,3	3,4	0,1
canal	43,4	3,9	61,5	1,8
hueso	5,7	0,4	2,7	0,5
músculo	15,1	6,5	24,9	1,0

Los datos se expresan como media  $\pm$  SD; n = 3 por punto temporal

% ID: Porcentaje de dosis inyectada calculada como cpm en cpm de *órgano*/totales recuperados

Ambos trazadores se depuraban principalmente a través del hígado a los intestinos y parcialmente a través de la ruta renal. También se observó una gran captación en el canal y el músculo, sin embargo, constituyen un gran porcentaje de la masa corporal.

5

La captación cerebral inicial total de ambos trazadores era relativamente alta con 1,4% de ID y 2,0% de ID a los 2 min p.i. para [<sup>11</sup>C]-2 y [<sup>11</sup>C]-1, respectivamente (véase la tabla 7). Se observó depuración del cerebro.

Tabla 7. Captación cerebral total comparativa en ratas normales a los 2, 30 (y 60 min) p.i. para [<sup>11</sup>C]-2 y [<sup>11</sup>C]-1

Compuesto	Captación cerebral total (% ID. n=3)		
	2 min p.i.	30 min p.i.	60 min p.i.
[ <sup>11</sup> C]-1	2,01 $\pm$ 0,24	0,69 $\pm$ 0,05	/
[ <sup>11</sup> C]-2	1,44 $\pm$ 0,24	0,50 $\pm$ 0,05	0,38 $\pm$ 0,03

Los datos se expresan como media  $\pm$  SD; n = 3 por punto temporal

10 % ID: Porcentaje de dosis inyectada calculado como cpm en cpm de (cerebro+cerebelo)/totales recuperados

Las Tablas 8 y 9 presentan la concentración radiactiva en las diferentes regiones del cerebro, la sangre, el hueso y el músculo para ambos trazadores. Estas concentraciones se expresan como valores de captación estandarizados (SUV) y se corrigen para el peso corporal del animal.

15 Tabla 8. Concentración de [<sup>11</sup>C]-2 en diferentes regiones cerebrales, sangre, hueso y músculo de rata a los 2, 30 y 60 min p.i. normalizada para el peso corporal del animal.

	SUV					
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
	2 min	2 min	30 min	30 min	60 min	60 min
cuerpo estriado	1,68	0,18	0,65	0,11	0,49	0,03
hipocampo	1,49	0,14	0,64	0,09	0,49	0,03
corteza	2,23	0,35	0,74	0,05	0,58	0,08

	SUV					
	Media	SD	Media	SD	Media	SD
	2 min	2 min	30 min	30 min	60 min	60 min
resto del cerebro	<b>1,79</b>	0,13	<b>0,66</b>	0,11	<b>0,49</b>	0,04
cerebro entero	<b>1,79</b>	0,14	<b>0,66</b>	0,10	<b>0,49</b>	0,04
cerebelo	<b>1,78</b>	0,02	<b>0,62</b>	0,12	<b>0,45</b>	0,02
sangre	<b>0,70</b>	0,13	<b>0,40</b>	0,07	<b>0,29</b>	0,01
cerebro+cerebelo	<b>1,80</b>	0,11	<b>0,67</b>	0,11	<b>0,49</b>	0,03
hueso	<b>0,59</b>	0,20	<b>0,44</b>	0,04	<b>0,37</b>	0,04
músculo	<b>0,26</b>	0,07	<b>0,56</b>	0,06	<b>0,48</b>	0,06

Los datos se expresan como media  $\pm$  SD; n = 3 por punto temporal;

SUV: Los valores de captación estándar se calculan como (radiactividad en cpm en órgano/peso del órgano en g)/(recuentos totales recuperados/peso corporal en g)

5 Tabla 9. Concentración de [ $^{11}\text{C}$ ]-1 en diferentes regiones cerebrales, sangre, hueso y músculo de rata a los 2 y 30 min p.i. normalizada para el peso corporal del animal.

	SUV			
	Mean	SD	Mean	SD
	2 min	2 min	30 min	30 min
cuerpo estriado	<b>2,58</b>	0,32	<b>0,97</b>	0,02
hipocampo	<b>2,41</b>	0,13	<b>0,87</b>	0,01
corteza	<b>3,51</b>	0,31	<b>1,09</b>	0,02
resto del cerebro	<b>2,83</b>	0,13	<b>0,94</b>	0,01
cerebro entero	<b>2,83</b>	0,15	<b>0,95</b>	0,01
cerebelo	<b>2,60</b>	0,07	<b>0,90</b>	0,03
sangre	<b>0,90</b>	0,04	<b>0,49</b>	0,02
cerebro+cerebelo	<b>2,82</b>	0,12	<b>0,95</b>	0,01
hueso	<b>0,48</b>	0,03	<b>0,23</b>	0,05
músculo	<b>0,38</b>	0,16	<b>0,62</b>	0,03

Los datos se expresan como media  $\pm$  SD; n = 3 por punto temporal;

*SUV: Los valores de captación estándar se calculan como (radiactividad en cpm en órgano/peso del órgano en g)/(recuentos totales recuperados/peso corporal en g)*

5 Se observó una depuración significativa de todas las regiones cerebrales estudiadas desde los 2 min a los 30 min p.i. para ambos trazadores y también adicionalmente de 30 a 60 min p.i. para [<sup>11</sup>C]-2 (no analizado para [<sup>11</sup>C]-1). Las relaciones de depuración se presentan en la tabla 10. La depuración de la sangre y el hueso era más lenta. Se observó alguna retención en el músculo.

Tabla 10. Depuración de radiactividad de diferentes regiones cerebrales, sangre, hueso y músculo de rata calculada a una relación de depuración de 2 min a 30 min para [<sup>11</sup>C]-1 y [<sup>11</sup>C]-2.

	<sup>11</sup> C-1	<sup>11</sup> C-2
cuerpo estriado	2,68	2,59
hipocampo	2,76	2,31
corteza	3,22	3,04
resto del cerebro	3,00	2,71
cerebro entero	2,98	2,70
cerebelo	2,90	2,85
sangre	1,86	1,75
hueso	2,11	1,34
músculo	0,61	0,46

10 La depuración del cerebro era ligeramente inferior para [<sup>11</sup>C]-2 en comparación con [<sup>11</sup>C]-1. La relación de depuración más alta se observó para la corteza.

La depuración del hueso y la sangre de 2 a 30 min era más rápida para [<sup>11</sup>C]-1 en comparación con [<sup>11</sup>C]-2. Para ambos trazadores, se observó alguna retención en el músculo.

15 Los resultados de estos estudios de biodistribución muestran que [<sup>11</sup>C]-2 y [<sup>11</sup>C]-1 tienen una captación cerebral inicial relativamente alta a los 2 min después de la inyección del trazador, pero se observa una depuración significativa del cerebro de 2 a 30 min. La captación cerebral de [<sup>11</sup>C]-2 era inferior en comparación con la de [<sup>11</sup>C]-1, pero la depuración del cerebro de 2 a 30 min era ligeramente inferior para [<sup>11</sup>C]-2 en comparación con [<sup>11</sup>C]-1. Las relaciones de depuración de 2 min a 30 min eran > 2,3 para todas las regiones cerebrales estudiadas con la relación más alta en la corteza.

V. Estudios de unión autorradiográficos in vitro

20 Método general

25 Se realizaron estudios autorradiográficos in vitro sobre secciones horizontales de cerebro de ratón mGluR2 KO y WT y de cerebro de rata Wistar hembra normal (20 µm). Las secciones se preincubaron en Tris-HCl 50 mM (MgCl<sub>2</sub> 2 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM; pH 7,0) durante 10 min (dos veces) a temperatura ambiente y se secaron. Posteriormente, las secciones cerebrales se incubaron con trazador [<sup>11</sup>C]-2, [<sup>11</sup>C]-5, [<sup>11</sup>C]-4, [<sup>11</sup>C]-1 o [<sup>18</sup>F]-3 diluido en el mismo tampón de Tris-HCl que se usaba para la preincubación que contenía adicionalmente 0,1% de BSA o con esta solución de trazador en presencia de 10 µM de **Co. N° 2** o **Co. N° 1**. Las secciones cerebrales de ratón se incubaron con 17 kBq de trazador marcado con carbono-11 y 1,7 kBq de trazador marcado con flúor-18. Para las secciones cerebrales de rata, esto era 44 kBq de trazador marcado con carbono-11 y 0,44 kBq de trazador marcado con flúor-18. Después de 30 min de incubación, las secciones cerebrales se lavaron tres veces durante 5 min en Tris-HCl 50 mM ((MgCl<sub>2</sub> 2 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM; pH 7,0 + tampón de BSA al 0,1%). Después de una inmersión rápida en agua enfriada con hielo purificada, los portaobjetos se secaron. Se obtuvieron autorradiogramas al exponer los portaobjetos durante la noche a una pantalla de almacenamiento de fósforo de alta resolución (pantalla de gran resolución; Perkin Elmer, Waltham, EE. UU. de A.). Las pantallas se leyeron usando un sistema Cyclone Plus (Perkin Elmer) y se analizaron

usando el software Optiquant (Perkin Elmer). La concentración de radiactividad en los autorradiogramas se expresaba en unidades lumínicas digitales (DLU)/mm<sup>2</sup>.

Estudios de unión autorradiográficos in vitro

5 Para obtener una información adicional sobre la especificidad de la unión del trazador a mGluR2, se realizaron estudios de unión autorradiográficos in vitro sobre secciones cerebrales de ratón mGluR2 KO y WT y sobre secciones cerebrales de rata normal en presencia o ausencia de una alta concentración de compuestos NAM mGluR2 (**Co. Nº 1** o **Co. Nº 2**).

10 Las Figuras 1-5 muestran el resultado de estos estudios de unión sobre las secciones cerebrales de ratón mGluR2 KO y WT para [<sup>11</sup>C]-2, [<sup>11</sup>C]-1, [<sup>18</sup>F]-3, [<sup>11</sup>C]-5 y [<sup>11</sup>C]-4. La Tabla 11 presenta las 'relaciones de unión de WT total a unión de KO total y las relaciones de 'unión de WT total a WT bloqueado' para el cuerpo estriado y la corteza de los cinco trazadores estudiados.

Tabla 11. 'Relaciones de unión de WT total a unión de KO total y las relaciones de 'unión de WT total a WT bloqueado' para el cuerpo estriado y la corteza de los cinco trazadores estudiados.

Co. Nº	Cuerpo estriado WT (TB) / Cuerpo estriado KO (TB)	Corteza WT (TB) / Corteza KO (TB)	Cuerpo estriado WT (TB) / cuerpo estriado WT (bloqueo Co. Nº 1)	Corteza WT (TB) / corteza WT (bloqueo Co. Nº 1)
[ <sup>11</sup> C]-2	~4,8	~8,1	~8,3 (~88% de unión espec.)	~6,7 (~85% de unión espec.)
[ <sup>11</sup> C]-1	~3,8	~7,1	~11,8 (~92 % de unión específica)	~21,5 (~95% de unión espec.)
[ <sup>11</sup> C]-5	~1,9	~2,6	~1,9 (~47% de unión espec.)	~2,4 (~58% de unión espec.)
[ <sup>11</sup> C]-4	~2,2	~2,6	~2,6 (~62% de unión espec.)	~3,8 (~74% de unión espec.)
[ <sup>18</sup> F]-3	La unión superior a secciones WT no se observaba para todas las secciones WT incluidas en el estudio. El patrón de unión difería de portaobjetos a portaobjetos			

15 Para [<sup>11</sup>C]-2 y [<sup>11</sup>C]-1, se observaba una diferencia significativa en la unión al trazador a sección cerebral de ratón WT y sección cerebral de ratón mGluR2 KO. Esta unión al cerebro de ratón WT era heterogéneamente con unión superior al cuerpo estriado y la corteza y esto se podía bloquear con el **Co. Nº 1** (10 µM) para más de ~85%. Para [<sup>11</sup>C]-5 y [<sup>11</sup>C]-4, esta diferencia en la unión entre cerebro de ratón WT y KO era menos pronunciada y para [<sup>18</sup>F]-3 no se observaba diferencia significativa y coherente.

La unión total a cerebro de ratón mGluR2 KO era ligeramente superior para [<sup>11</sup>C]-1 en comparación con [<sup>11</sup>C]-2.

20 Para [<sup>11</sup>C]-2, [<sup>11</sup>C]-1 y [<sup>18</sup>F]-3, también se estudió la especificidad de la unión al trazador en secciones cerebrales de rata normal. Los resultados de estos estudios de unión se presentan en las figuras 6-8.

25 Como también se observó para las secciones cerebrales de ratón WT, se observó una alta unión de [<sup>11</sup>C]-2 al cuerpo estriado y la corteza de cerebro de rata normal in vitro. El autobloqueo o el bloqueo con **Co. Nº 1** (10 µM) daba como resultado una disminución en la unión de ~78% en cuerpo estriado de rata y ~91% en corteza de rata. Estos porcentajes son comparables con los obtenidos en los estudios de unión a cerebro de ratón WT in vitro.

En general, la unión total a cerebro de rata era menos pronunciada para [<sup>11</sup>C]-1 en comparación con [<sup>11</sup>C]-2. Para [<sup>11</sup>C]-1, aparte del cuerpo estriado y la corteza, también se observó la unión al tálamo y al colículo, que no era el caso para las secciones cerebrales de ratón WT.

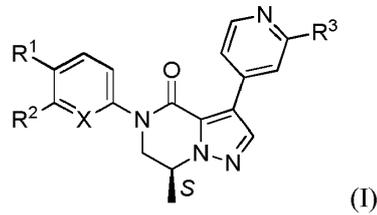
30 Cuando se consideraba la unión total de [<sup>18</sup>F]-3 a cerebro de rata, la distribución del trazador en todo el cerebro difería de sección a sección. Esto también se observó en las secciones cerebrales de ratón WT. Además, la unión inespecífica a cerebro de rata era superior para [<sup>18</sup>F]-3 en comparación con la observada para [<sup>11</sup>C]-2 y [<sup>11</sup>C]-1.

De los cinco trazadores que se estudiaban en los experimentos de unión autorradiográficos sobre secciones cerebrales de ratón mGluR2 KO y WT y secciones cerebrales de rata normal, [<sup>11</sup>C]-2 tenía el porcentaje más alto de unión específica (bloqueo con el **Co. Nº 1**) en el cerebro de ratón WT, la relación de unión de WT total a unión a KO total más alta para el cuerpo estriado y la corteza y mostraba la unión más fuerte a cuerpo estriado y corteza de rata normal.

5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto según la Fórmula (I)



en la que,

5 X es CH o N,

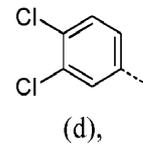
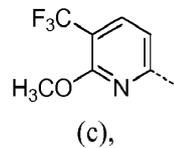
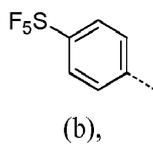
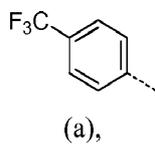
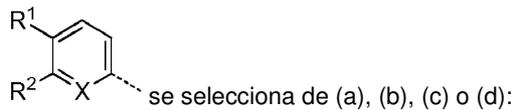
R<sup>1</sup> se selecciona del grupo de CF<sub>3</sub>, SF<sub>5</sub> y Cl;

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo de H, Cl y -OCH<sub>3</sub>; y

R<sup>3</sup> se selecciona de -NHCH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> y F;

10 en donde al menos un átomo está radiomarcado, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, para obtener imágenes de o cuantificar el receptor de mGlu2.

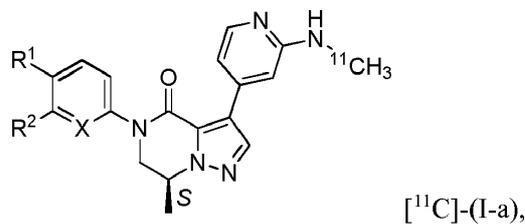
2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que



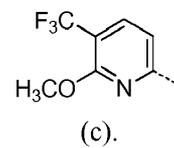
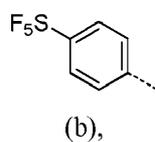
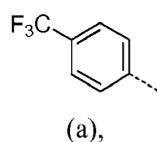
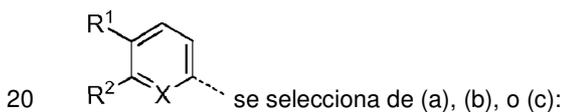
y R<sup>3</sup> es como se define en la reivindicación 1.

15 3. El compuesto según la reivindicación 1 o 2, en el que R<sup>3</sup> se selecciona de -NH[<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>, [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub> y <sup>18</sup>F.

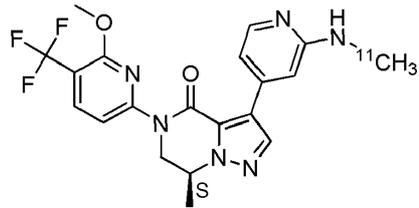
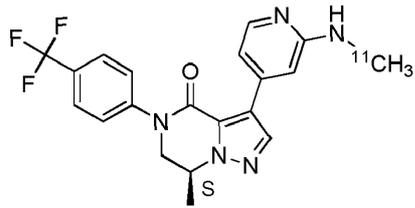
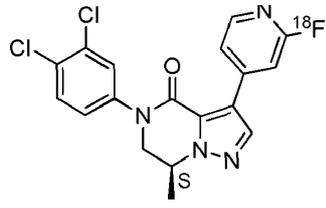
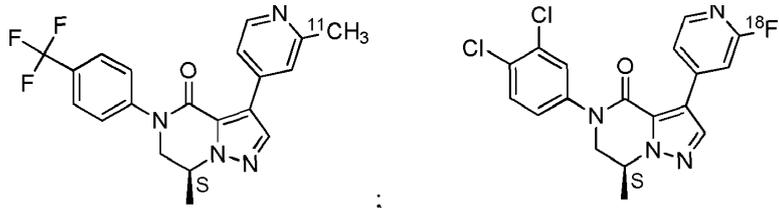
4. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, seleccionado de un compuesto de Fórmula [<sup>11</sup>C]-(I-a)



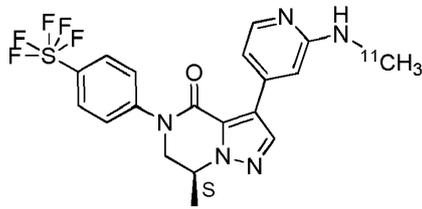
en la que



5. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto es

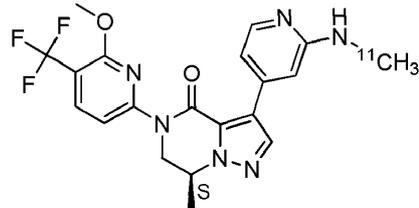
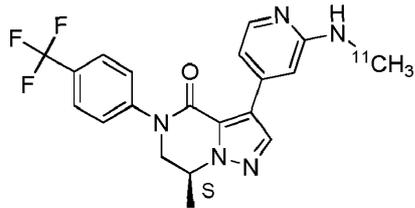
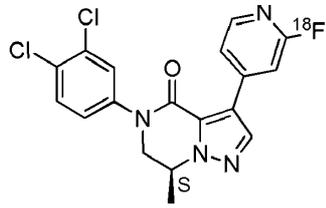
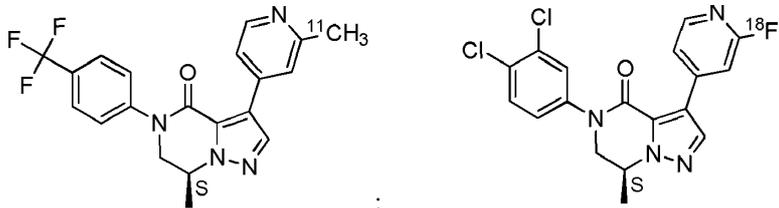


o

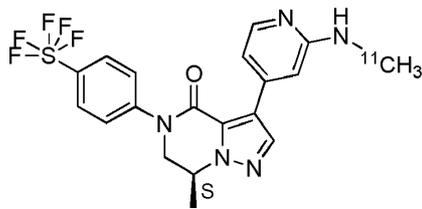


5

6. Un compuesto radiomarcado seleccionado del grupo que consiste en



y



10

o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

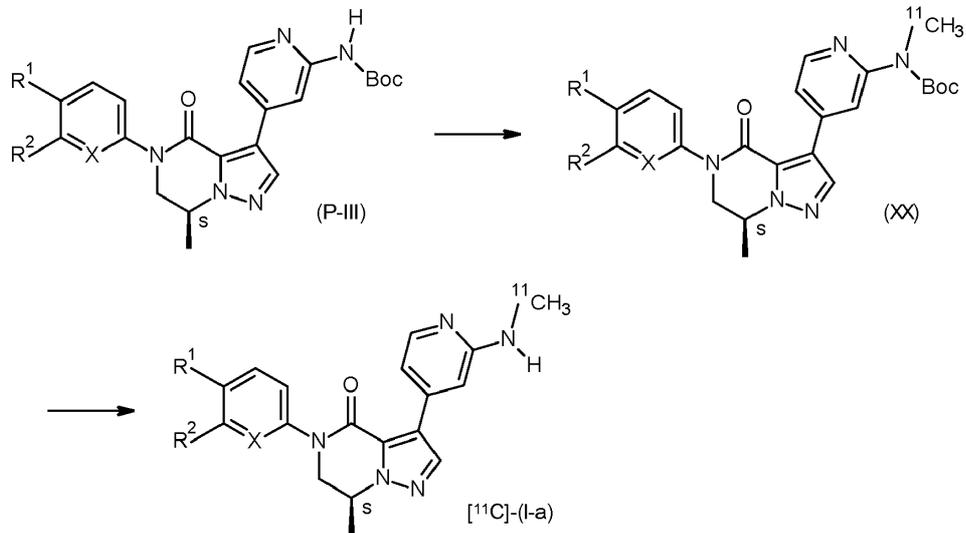
7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I) según la reivindicación 6 o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

8. La composición farmacéutica según la reivindicación 7, en la que esta composición es una solución estéril según la reivindicación 7.

15

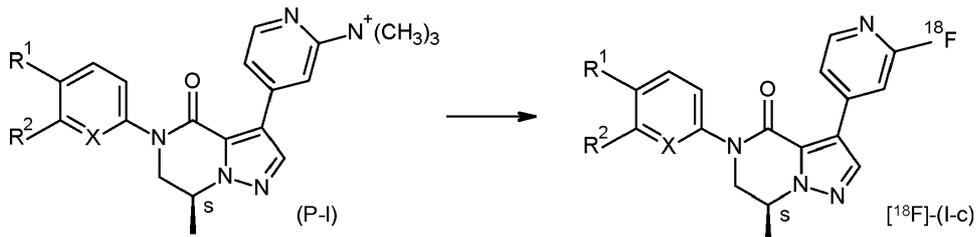


(a) las etapas de hacer reaccionar un compuesto según la Fórmula (P-III) como el definido en la reivindicación 13 con [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub> bajo condiciones apropiadas, seguido por escisión de Boc bajo condiciones apropiadas,



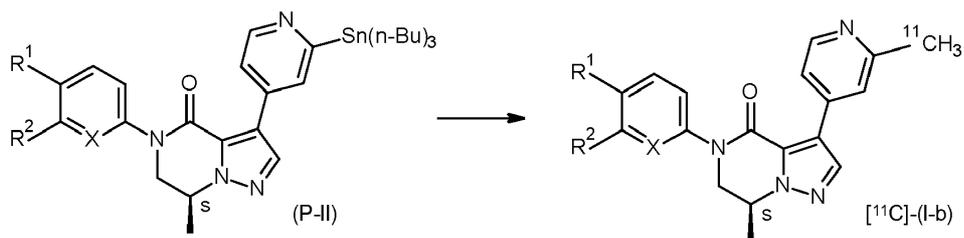
o

5 (b) la etapa de hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (P-I) como el definido en la reivindicación 13 con <sup>18</sup>F<sup>-</sup>/4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8,8.8]hexacosano en presencia de K<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> o KHCO<sub>3</sub>,



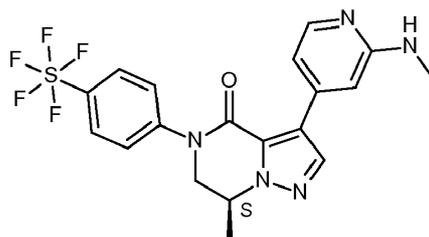
o

(c) la etapa de hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (P-II) como el definido en la reivindicación 9 con [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I



10

16. Un compuesto que tiene la Fórmula



;

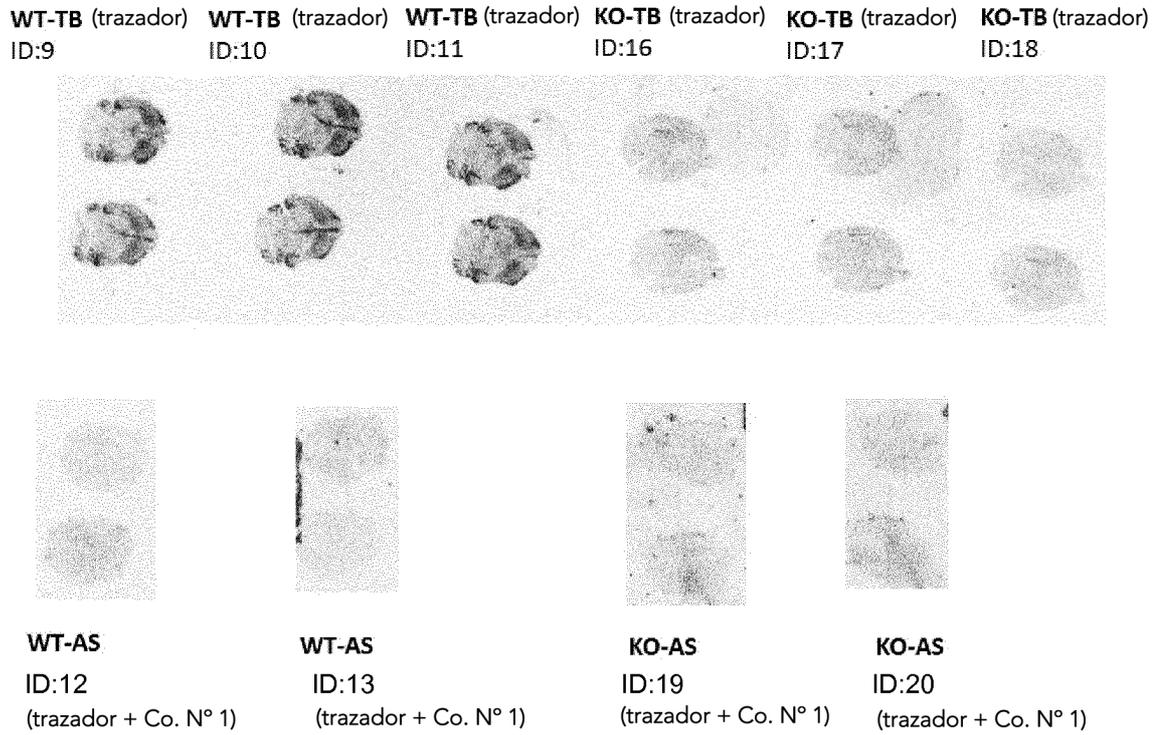
o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo.

17. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la reivindicación 16 y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

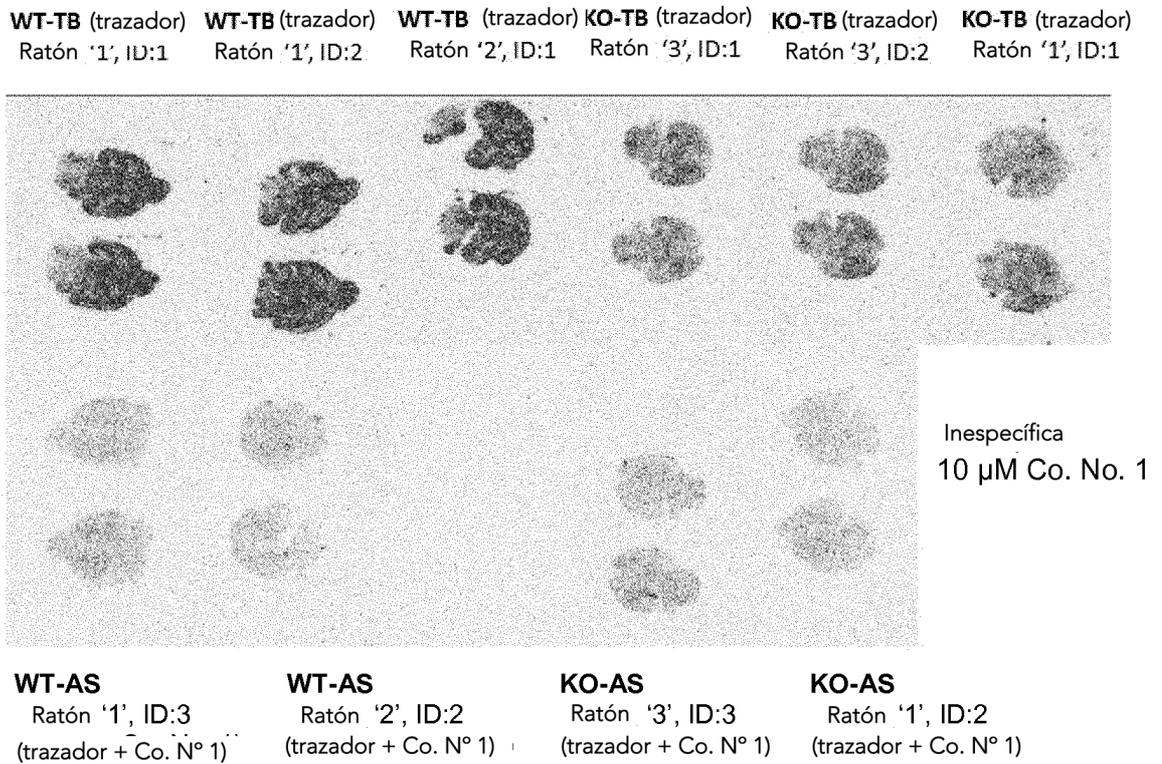
18. Un compuesto según la reivindicación 16 o una composición farmacéutica según la reivindicación 17, para el uso como un medicamento.

- 5 19. Un compuesto según la reivindicación 16 o una composición farmacéutica según la reivindicación 17, para el uso en el tratamiento o la prevención de afecciones o enfermedades del sistema nervioso central seleccionadas de trastornos del estado de ánimo o trastornos depresivos; delirio, demencia, trastornos amnésicos y otros trastornos cognitivos o neurocognitivos; trastornos habitualmente diagnosticados en primer lugar en la lactancia, la infancia o la adolescencia o trastornos del desarrollo neurológico; trastornos relacionados con drogas o trastornos relacionados con drogas y adictivos; esquizofrenia y otros trastornos psicóticos, o trastornos del espectro esquizoide y otros
- 10 trastornos psicóticos; trastornos somatoformes o síntoma somático y trastornos relacionados; y trastorno del sueño hipersómnico o trastorno de hipersomnolencia.

**Fig. 1**

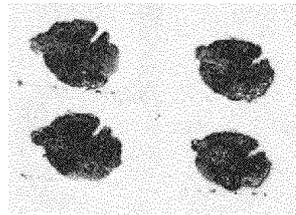
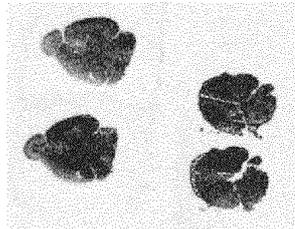
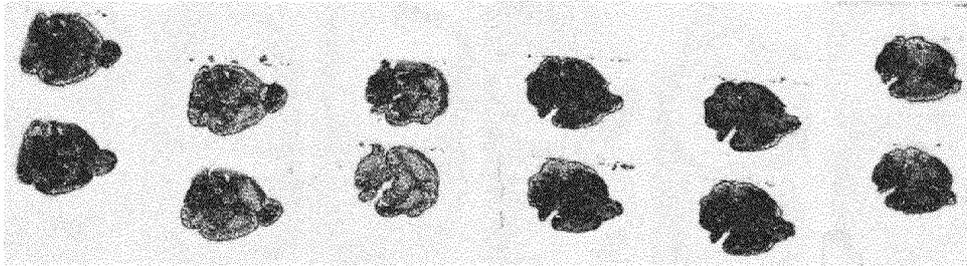


**Fig. 2**



**Fig. 3**

**WT-TB (trazador)** **WT-TB (trazador)** **WT-TB (trazador)** **KO-TB (trazador)** **KO-TB (trazador)** **KO-TB (trazador)**  
 Ratón '1', ID:9 Ratón '1', ID:10 Ratón '2', ID:5 Ratón '1', ID:9 Ratón '1', ID:10 Ratón '2', ID:5



Inespecífica  
 10  $\mu$ M Co. No. 1

**WT-AS**  
 Ratón '1', ID:11  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

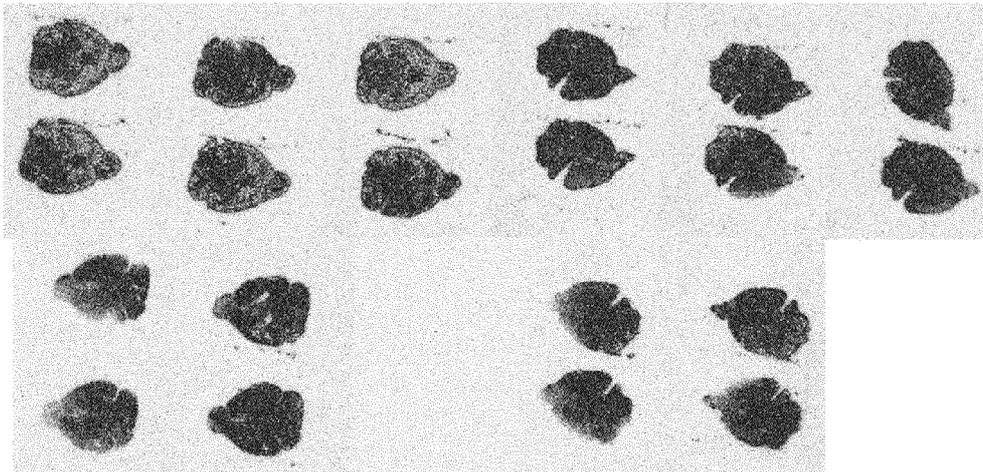
**WT-AS**  
 Ratón '2', ID:6  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**KO-AS**  
 Ratón '1', ID:11  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**KO-AS**  
 Ratón '2', ID:6  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**Fig. 4**

**WT-TB (trazador)** **WT-TB (trazador)** **WT-TB (trazador)** **KO-TB (trazador)** **KO-TB (trazador)** **KO-TB (trazador)**  
 Ratón 1, ID:12 Ratón 1, ID:13 Ratón 1, ID:14 Ratón 1, ID:12 Ratón 1, ID:13 Ratón 1, ID:14



**WT-AS**  
 Ratón '1', ID:15  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

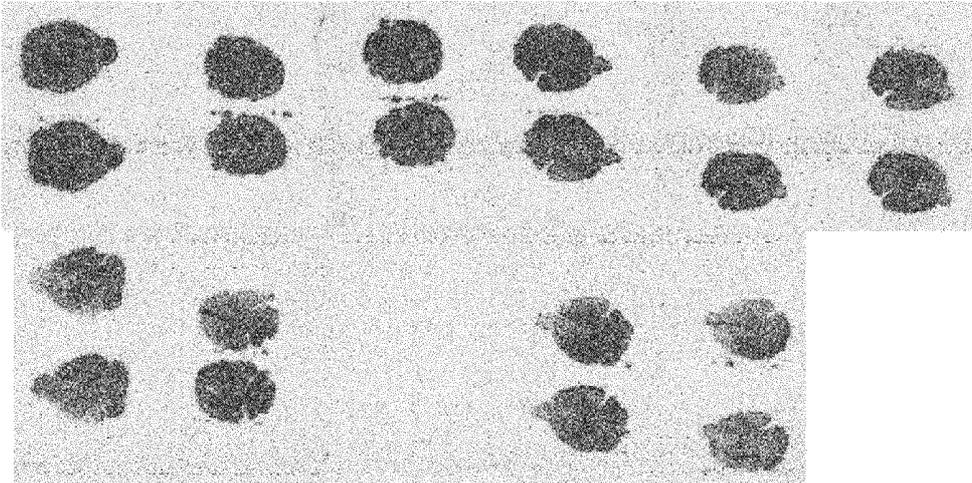
**WT-AS**  
 Ratón '2', ID:16  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**KO-AS**  
 Ratón '1', ID:15  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**KO-AS**  
 Ratón '2', ID:16  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**Fig. 5**

WT-TB (trazador) WT-TB (trazador) WT-TB (trazador) KO-TB (trazador) KO-TB (trazador) KO-TB (trazador)  
 Ratón 1, 19 Ratón 2, ID:7 Ratón 2, ID:8 Ratón 1, ID:19 Ratón 2, ID:12 Ratón 2, ID:13



**WT-AS**  
 Ratón 1, ID:20  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

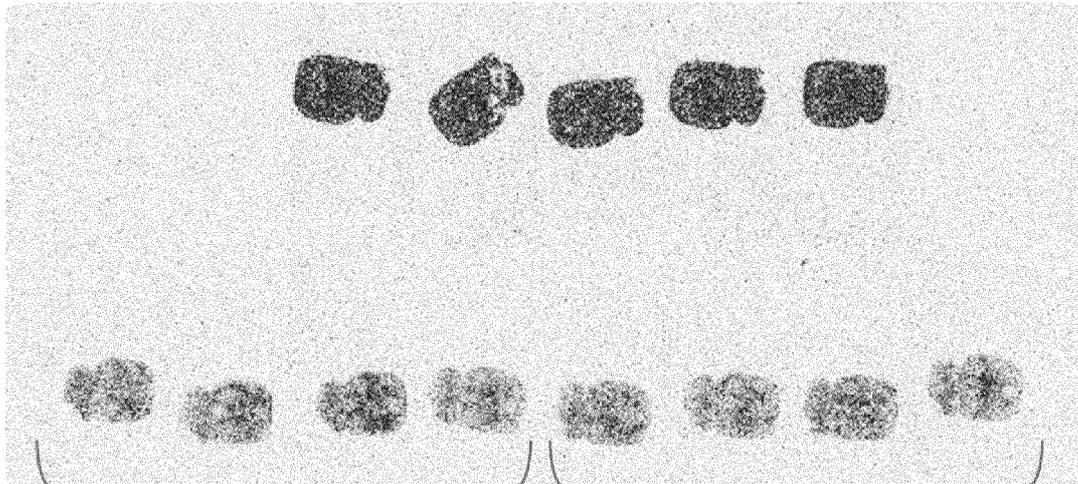
**WT-AS**  
 Ratón 2, ID:9  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**KO-AS**  
 Ratón 1, ID:20  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**KO-AS**  
 Ratón 2, ID:15  
 (trazador  
 +Co. N° 1)

**Fig. 6**

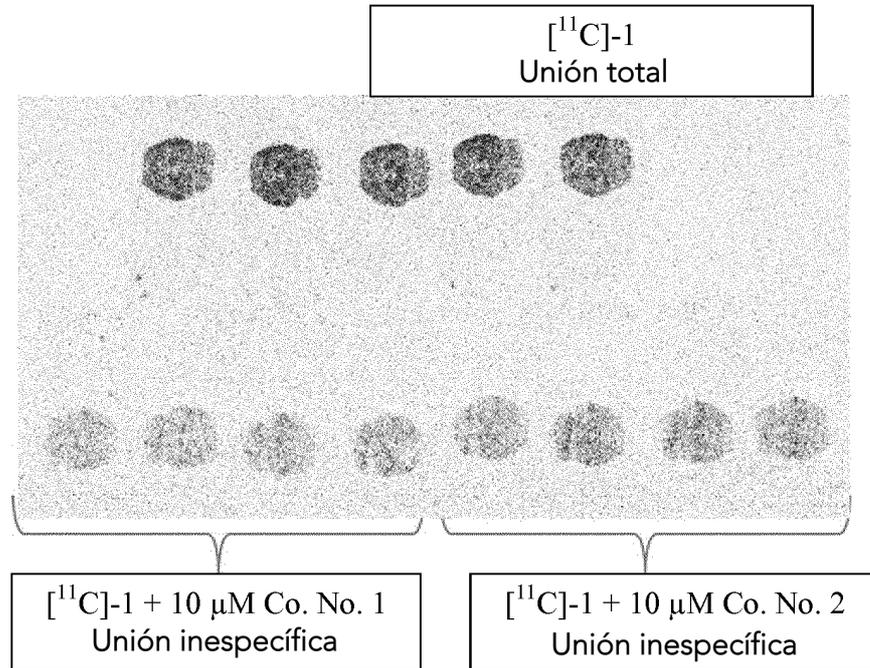
$[^{11}\text{C}]-2$   
 Unión total



$[^{11}\text{C}]-2 + 10 \mu\text{M Co. No. 1}$   
 Unión inespecífica

$[^{11}\text{C}]-2 + 10 \mu\text{M Co. No. 1}$   
 Unión inespecífica

**Fig. 7**



**Fig. 8**

