

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 792 830**

51 Int. Cl.:

C07D 209/80 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07B 59/00 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
C07D 471/14 (2006.01)
C07D 209/88 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.10.2012** **PCT/US2012/061912**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.11.2013** **WO13176698**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.10.2012** **E 12783780 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.04.2020** **EP 2852572**

54 Título: **Agentes para formación de imagen en base a carbolina y carbazol, para la detección de disfunción neurológica**

30 Prioridad:

22.05.2012 US 201213477095

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

12.11.2020

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

SZARDENINGS, ANNA KATRIN;
KOLB, HARTMUTH C.;
WALSH, JOSEPH C.;
CHEN, GANG;
GANGADHARMATH, UMESH B.;
KASI, DHANALAKSHMI;
LIU, CHANGHUI;
SINHA, ANJANA;
WANG, ERIC;
YU, CHUL;
ZHANG, WEI;
CHEN, KAI;
MOCHARLA, VANI P. y
SCOTT, PETER J.H.

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 792 830 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

Agentes para formación de imagen en base a carbolina y carbazol, para la detección de disfunción neurológica

Antecedentes

- La enfermedad de Alzheimer (EA), una causa líder de demencia, se desarrolla en uno por ciento de la población entre las edades de 65 y 69 años, y aumenta a 40-50% en aquellas personas de 95 y mayores. Los pacientes de EA exhiben síntomas clínicos delatadores, que incluyen discapacidad cognitiva y déficit en la función de memoria. En estos pacientes, la carga de placa senil pesada hallada en el córtex cerebral, verificada mediante examen histopatológico post mortem, confirma la presencia de EA. Las placas seniles maduras consisten en marañas neurofibrilares intracelulares (NFT) derivadas de filamentos de proteínas tau hiperfosforiladas, y péptidos β -amiloides extracelulares derivados de procesamiento enzimático de proteína precursora amiloide. De modo interesante, a pesar del desarrollo y presencia de placas seniles en personas de edad avanzada con función cognitiva normal, la severidad de NFT y deposición de placa senil tiene supuestamente correlación con una pérdida de función cognitiva y deterioro de los circuitos neuronales.
- La formación de imágenes neurológicas de EA ha visto la aparición de trazadores de formación de imagen que parecen confirmar la presencia de EA en base a la absorción de trazadores mediados de placa y fibrila y, en consecuencia, actualmente soportan extenso examen clínico. Muchos de estos trazadores contienen quimiotipos que se derivan de pigmentos fluorescentes (Tabla 1).
- El arreglo actual de agentes de formación de imagen de EA puede confirmar solamente la manifestación bien establecida de EA y este diagnóstico de estado posterior ofrece poca prevención contra el progreso adicional de la enfermedad, después de 36 meses. En segundo lugar, la detección de placas y marañas seniles puede no tener correlación con el desarrollo de las etapas tempranas de EA. Los datos recientes sugieren que el modelo de cascada amiloide [Hardy, J. y D. Selkoe, The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. Science, 2002. 297: p. 353-356] no representa de manera exacta los factores primarios que conducen a la declinación cognitiva en pacientes de EA y que otros factores contribuyentes, tales como oligómeros y agregados solubles neurotóxicos puede jugar un papel contribuyente en la neurodegeneración. [Talaga, P., Inhibitors of beta-amyloid aggregation: still an issue of structure and function? Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, 2004. 1: p. 7-12]. A la fecha, no se conoce que FDDNP y PIB se enlacen con oligómeros y agregados neurotóxicos solubles y así no se espera diferencien exactamente entre las etapas tempranas de EA y las etapas avanzadas de EA en pacientes.
- Varios procedimientos de diagnóstico médico, incluyendo PET y SPECT utilizan compuestos radiomarcados. PET y SPECT son procedimientos muy sensibles y requieren pequeñas cantidades de compuestos radiomarcados, denominados trazadores. Los compuestos marcados son transportados, acumulados y convertidos *in vivo* en exactamente la misma forma que el correspondiente compuesto no radioactivo. Los trazadores, o sondas, pueden ser radiomarcados con un radionucleido útil para la formación de imagen PET, tal como ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{64}Cu y ^{124}I , o con un radionucleido útil para la formación de imagen SPECT, tal como ^{99}Tc , ^{77}Br , ^{61}Cu , ^{153}Gd , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I y ^{32}P .
- PET crea imágenes en base a la distribución en el tejido del paciente de trazadores de formación de imagen molecular que portan isótopos emisores de positrones. El procedimiento PET tiene el potencial de detectar la falla a un nivel celular en los tejidos u órganos investigados. PET ha sido usado en oncología clínica, tal como para la formación de imágenes de tumores y metástasis, y ha sido usado para el diagnóstico de ciertas enfermedades del cerebro, así como para hacer mapas del cerebro y la función cardíaca. De modo similar, SPECT puede ser usado para complementar cualquier estudio de imágenes gamma, en el que una verdadera representación en tres dimensiones pueda ser útil, por ejemplo, formación de imagen de tumores, infección (leucocitos), tiroides o huesos.
- El documento WO 2009/102498 divulga compuestos radiomarcados y procedimientos para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.
- Los procedimientos WO 2011/119565 y WO 2010/111303 divulgan agentes y procedimientos para la formación de imágenes para la detección de desórdenes neurológicos.
- El registro de bases de datos, Chemical Abstracts Service, Columbus, Ohio, US; 18 agosto de 1998, 210049-14-2 divulga 1-metil-5H-pirido[4,3-b]indol-3-amina-3- ^{14}C .
- El registro de bases de datos, Chemical Abstracts Service, Columbus, Ohio, US; 18 de agosto de 1998, 210049-07-3 divulga 1,4-dimetil-5H-pirido[4,3-b]indol-3-amina-3- ^{14}C .
- El registro de bases de datos, Chemical Abstracts Service, Columbus, Ohio, US; 18 de agosto de 1998, 210049-08-4 divulga 1,4-dimetil-5H-pirido[4,3-b]indol-3-amina-3- ^{14}C monoacetato.
- El registro de bases de datos, Chemical Abstracts Service, Columbus, Ohio, US; 18 de agosto de 1998, 210049-15-3 divulga 1-metil-5H-pirido[4,3-b]indol-3-amina-3- ^{14}C monoacetato. Manabe, S. et al., Exp. Eye Res., 48(3), 1989, 351-363 divulga 3-amino-1,4-dimetil-5H-pirido-[4,3-b]indol y 3-amino-1-metil-5H-pirido[4,3-b]indol como productos

cancerígenos de pirólisis de triptofano, en cristalinos humanos.

El documento JP 2012 089777 divulga elementos orgánicos de electroluminiscencia.

Chen, J. et al., Synlett, 2008, 77-82 divulgan la síntesis de un recipiente de γ -carbolinas.

5 El documento WO 2006/125887 divulga compuestos derivados de 5H-pirido[4,3-b]indol para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas de poliglutamina.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra autorradiografía de [^{18}F]-T794.

La figura 2 muestra la correlación de [^{18}F]-T794 con cargas tau y amiloide y KD (30nM).

La figura 3 muestra [^{18}F]-T794 PK en ratones.

10 La figura 4 muestra autorradiografía de [^{18}F]-T805.

La figura 5 muestra la correlación de [^{18}F]-T805 con cargas tau y amiloide.

La figura 6 muestra [^{18}F]-T805 PK en ratones.

La figura 7 muestra autorradiografía de [^{18}F]-T807.

La figura 8 muestra la correlación de [^{18}F]-T807 con cargas tau y amiloide.

15 La figura 9 muestra [^{18}F]-T807 PK en ratones.

La figura 10 muestra marcación doble de compuesto T687 y tinción IHC de PHF-tau sobre sección del cerebro humano.

La figura 11 muestra marcación doble de compuesto T794 y tinción IHC de tau total sobre sección del cerebro humano.

20 La figura 12 muestra ^{18}F -T805: absorción de cerebro en ratones.

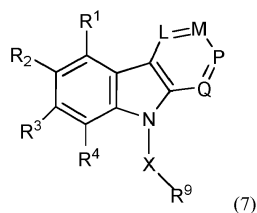
La figura 13 muestra ^{18}F -T807: absorción del cerebro en ratones.

La figura 14 muestra ^{18}F -T794 en WT y ratones Tau.

Sumario

En esta memoria se divulga un compuesto radiomarcado de la fórmula 7:

25



y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

30 L es N o CR⁵;

M es N o CR⁶;

P es N o CR⁷; and

Q es N o CR⁸;

35 X es un enlace o es alquilo C₁₋₁₄, en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, y en la que por lo menos un H de alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C₁₋₆;

R⁹ es H, un grupo protector, un grupo saliente, una azida, un alquino, OH, halo, NH₂, N(alquilo C₁₋₈)₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por halo, NH₂, o alquilo C₁₋₆, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₆ es opcionalmente reemplazado por halo, o cicloalquilo C_{3-C₈}, en la que por lo menos un H del cicloalquilo C_{3-C₈} es opcionalmente reemplazado por halo y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C_{3-C₈} es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C₁₋₈;

R¹-R⁸ son independientemente H, OH, halo, NH₂, CH₃, NO₂, un grupo saliente, un grupo protector, arilo, heteroarilo, NHR¹², N(R¹²)₂ cicloalquilo C_{3-C₈}, (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², en la que R¹² es CH₃, arilo, H o heteroarilo,

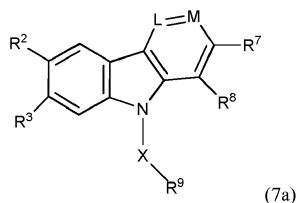
en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², cicloalquilo C_{3-C₈}, arilo, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector, y

en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹² es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector,

y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C_{3-C₈} es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S o NH, N- alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, un grupo saliente, un grupo protector,

en la que por lo menos un halo es opcionalmente reemplazado con un radionucleido o una baliza fluorescente.

En esta memoria se divulga un compuesto de la fórmula 7a:



y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

L es N o CR⁵;

M es N o CR⁶;

X es un enlace o es alquilo C₁₋₁₄, en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, y en la que por lo menos un H de alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C₁₋₆;

R⁹ es H, un grupo protector, un grupo saliente, una azida, un alquino, OH, halo, NH₂, N(alquilo C₁₋₈)₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por halo, NH₂, o alquilo C₁₋₆ o alquilo C₁₋₆, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₆ es opcionalmente reemplazado por halo, o cicloalquilo C_{3-C₈}, en la que por lo menos un H del cicloalquilo C_{3-C₈} es opcionalmente reemplazado por halo y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C_{3-C₈} es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C₁₋₈;

R², R³, R⁷ y R⁸ son independientemente H, OH, halo, NH₂, CH₃, NO₂, un grupo saliente, un grupo protector, arilo, heteroarilo, NHR¹², N(R¹²)₂ cicloalquilo C_{3-C₈}, (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², en la que R¹² es CH₃, arilo, H o heteroarilo,

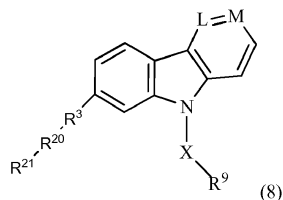
en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², cicloalquilo C_{3-C₈}, arilo, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector, y

en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹² es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector,

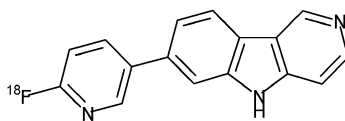
y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C_{3-C₈} es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S o NH, N- alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, un grupo saliente, un grupo protector,

en la que por lo menos un halo es opcionalmente reemplazado con un radionucleido o una baliza fluorescente.

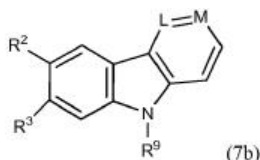
En una realización, la invención es un compuesto de la fórmula 8:



- 5 y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,
en la que:
- L es N o CR⁵;
- M es N;
- 10 R⁵ es H, OH, halo, NH₂, CH₃, NO₂, arilo, alqueno C₃-C₈, alquino C₃-C₈, cicloalquilo C₃-C₈, heteroarilo, N=NR¹², NHR¹², N(R¹²)₂, o (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², en la que R¹² es alquilo C₁-C₆, arilo, H o heteroarilo,
en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², cicloalquilo C₃-C₈, arilo, alqueno, alquino, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,
- 15 en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹² es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈ o N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,
y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, NH o N- alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo u OH,
- 20 X es un enlace o es alquilo C₁₋₁₄, en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, y en la que por lo menos un H de alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C₁₋₆;
- R⁹ es H, una azida, un alquino, OH, halo, NH₂, N(alquilo C₁₋₈)₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por halo, NH₂, o alquilo C₁₋₆ o alquilo C₁₋₆, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₆ es opcionalmente reemplazado por halo, o cicloalquilo C₃-C₈, en la que por lo menos un H del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por halo y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C₁₋₈;
- 25 R³ es un enlace o es por lo menos uno de O, S, C(O), SO₂, NH, N- alquilo C₁₋₈, (CH₂)₁₋₁₂, en la que por lo menos un C de (CH₂)₁₋₁₂ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, NH, N- alquilo C₁₋₈ y en la que por lo menos un H es opcionalmente reemplazado por alquilo C₁₋₈ o halo,
- 30 R²⁰ es arilo o heteroarilo; y
R²¹ es H, OH, halo, NH₂, CH₃, NO₂, (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃, o cicloalquilo C₃-C₈,
en la que por lo menos un H del (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃ o el cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, o alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo u OH,
- 35 y en la que por lo menos un CH₂ del (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃ es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,
y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, N- alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,
- 40 y en la que R²¹ comprende un radionucleido,
a condición de que el compuesto no sea



En esta memoria se divulga un compuesto de la fórmula 7b:



5

y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

L es N o CR⁵;

10 M es N o CR⁶;

R⁹ es H, un grupo protector, un grupo saliente, halo, o CH₃;

R², R³, R⁵ y R⁶ son independientemente H, OH, halo, NH₂, CH₃, NO₂, un grupo saliente, un grupo protector, arilo, heteroarilo, NHR¹², N(R¹²)₂ cicloalquilo C₃-C₈, (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², en la que R¹² es CH₃, arilo, H o heteroarilo,

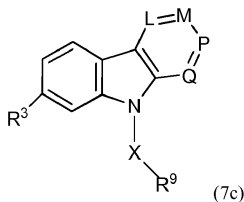
15 en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², cicloalquilo C₃-C₈, arilo, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector, y

en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹² es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH-alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector,

20 y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S o NH, N-alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, un grupo saliente, un grupo protector,

en la que por lo menos un halo es opcionalmente reemplazado con un radionucleido o una baliza fluorescente.

En esta memoria se divulga un compuesto de la fórmula 7c:



25

y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

30 L es N o CR⁵;

M es N o CR⁶;

P es N o CR⁷; y

Q es N o CR⁸;

X es un enlace o es alquilo C₁₋₁₄, en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O,

S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, y en la que por lo menos un H de alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C₁₋₆;

R⁹ es H, un grupo protector, un grupo saliente, OH, NH₂, N(alquilo C₁₋₈)₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por NH₂, o alquilo C₁₋₆, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₆ es opcionalmente reemplazado por cicloalquilo C₃₋₈, en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃₋₈ es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C₁₋₈;

R³ y R⁵-R⁸ son independientemente H o (-CH₂)₁₋₁₂-R¹³, en la que R¹³ es una azida o un alquino,

en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹³ es opcionalmente reemplazado por OH, NH₂, y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por OH, NH₂, y

en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹³ es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por OH, NH₂.

También se divulga en esta memoria una composición farmacéutica para la formación *in vivo* de imágenes de depósitos amiloides y marañas tau, que comprende (a) el compuesto de cualquiera de las fórmulas en esta memoria y/o mostrada en las reivindicaciones 1-7 y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

También se divulga en esta memoria un procedimiento para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer o una predisposición a la misma en un mamífero, en el que el procedimiento comprende: a) administración al mamífero de una cantidad efectiva para diagnóstico, de un compuesto radiomarcado de cualquiera de las fórmulas en esta memoria, en la que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y preferencialmente se enlaza a placas amiloides y/o marañas tau en un tejido del cerebro y en la que el compuesto es seleccionado de entre el grupo que consiste en compuestos radiomarcados de la fórmula 8, por ejemplo; b) permisión para que el compuesto se distribuya dentro del tejido cerebral; y c) formación de la imagen del tejido cerebral, en la que un aumento en la unión del compuesto con el tejido cerebral, comparada con un nivel de enlace normal de control, indica que el mamífero sufre de o está en riesgo de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer.

También se divulga en esta memoria un procedimiento para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer o un predisposición hacia la misma en un mamífero, en el que el procedimiento comprende: a) administración al mamífero de una cantidad efectiva para el diagnóstico, de un compuesto radiomarcado de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y preferencialmente se une a placas amiloides y/o marañas tau en un tejido cerebral y en la que el compuesto es seleccionado de entre el grupo que consiste en compuestos radiomarcados de la fórmula 8; b) permisión para que el compuesto se distribuya dentro del tejido cerebral; y c) formación de imagen del tejido cerebral, en la que un aumento en la unión del compuesto al tejido cerebral, comparado con un nivel de unión normal de control, indica que el mamífero sufre de o está en riesgo de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer.

Descripción detallada

"Halógeno" o "halo" indica F, Cl, Br y I.

"Alquilo" indica un radical hidrocarbilo saturado monovalente que tienen fragmentos rectos o ramificados. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no están limitados a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo y t-butilo.

"Alquenilo" indica un fragmento alquilo que tiene por lo menos un enlace doble carbono-carbono en el que alquilo es como se definió anteriormente. Los ejemplos de alquenilo incluyen, pero no están limitados a, etenilo y propenilo.

"Alquinilo" indica un fragmento alquilo que tiene por lo menos un enlace triple carbono-carbono en el que alquilo es como se definió anteriormente. Los ejemplos de grupos alquinilo incluye, pero no están limitados a, etinilo y 2-propinilo.

"Alquilenilo" o "alquenilenilo" indica un radical hidrocarbilo saturado divalente, es decir presente generalmente como un grupo de puente o enlace entre otros dos grupos, que tiene fragmentos de cadena recta o ramificada. los ejemplos de grupos alquilenilo incluyen -CH₂- (metileno); - CH₂CH₂- (etileno); -CH₂CH₂CH₂- (propileno), -CH(CH₃)CH₂- (isopropileno) etc.

"Amino" indica un fragmento de nitrógeno que tiene otros dos sustituyentes, en los que un átomo de hidrógeno o de carbono está unido al nitrógeno. Por ejemplo, los grupos amino representativos incluyen -NH₂, -NHCH₃, -N(CH₃)₂, -NHC₂₋₃-alquilo, -N(C₂₋₃-alquilo)₂ y similares. A menos que se indique de otra forma, los compuestos de la invención que contienen fragmentos amino pueden incluir derivados protegidos de los mismos. Los grupos protectores adecuados para fragmentos amino incluyen acetilo, tert-butoxicarbonilo, benciloxicarbonilo y similares.

"Arilo" indica un radical orgánico derivado de un hidrocarburo aromático, mediante remoción de un hidrógeno, tal como fenilo, naftilo, indenilo, indanilo y fluorenilo. "Arilo" abarca grupos de anillos fusionados en los que por lo menos un anillo es aromático.

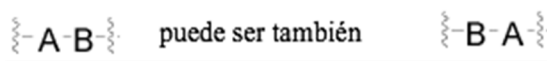
"Cicloalquilo" indica fragmentos alquilo cíclicos saturados no aromáticos, que consisten en uno o más anillos, en los que dichos anillos (si hay más de uno) comparten por lo menos un átomo de carbono, en los que alquilo es como se definió anteriormente. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, pero no están limitados a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, biciclo-[3.1.0]-hexilo, biciclo-[2.2.1]-hept-1-ilo, norbornilo, espiro[4.5]decilo, espiro[4.4]nonilo, espiro[4.3]octilo, espiro[4.2]heptilo y adamantanilo.

"Haloalquilo C₁₋₆" indica un grupo alquilo C₁₋₆ que está sustituido con por lo menos un átomo de halógeno sobre un átomo de carbono del grupo alquilo. Ejemplos representativos, no exclusivos, de tales haloalquilo C₁₋₆ incluyen F-CH₂-, F-CH₂CH₂-, F-CH₂CH₂CH₂-, CHF₂-, CHF₂CH₂-, CHF₂CH₂CH₂-, Br-CH₂-, Br-CH₂CH₂-, Br-CH₂CH₂CH₂-, CHBr₂-, CHBr₂CH₂-, CHBr₂CH₂CH₂- y similares.

"Heterocíclico" o "heterocicloalquilo" indica un grupo cíclico no aromático que consiste en uno o más anillos, en la que los anillos (si hay más de uno) comparten uno o dos átomos y cada anillo contiene hasta cuatro heteroátomos (es decir de cero a cuatro heteroátomos, a condición de que por lo menos un anillo contenga por lo menos un heteroátomo). Los grupos heterocíclicos de esta invención pueden incluir también sistemas de anillos sustituidos con uno o más O, S(O)₀₋₂, y/o N-R¹⁰ como heteroátomos, en los que R¹⁰ es como se ha definido en esta memoria, y en los que el subíndice "0-2" de S(O)₀₋₂ representa un entero de 0, 1 o 2. Así, S(O)₀₋₂ representa el grupo que consiste en S, S(=O), y S(O)₂. Los ejemplos de grupos heterocíclicos no aromáticos son aziridinilo, azetidinilo, pirrolidinilo, piperidinilo, azepinilo, piperazinilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, oxiranilo, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, morfolino, tiomorfolino, tiofanilo, pirrolinilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, dihidropiranilo, dihidrotienilo, dihidrofuranilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabicyclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabicyclo[4.1.0]heptanilo, quinolizinilo, quinuclidinilo, 1,4-dioxaspiro[4.5]decilo, 1,4-dioxaspiro[4.4]nonilo, 1,4-dioxaspiro[4.3]octilo y 1,4-dioxaspiro[4.2]heptilo.

"Heteroarilo" indica un grupo aromático que contiene uno o más heteroátomos (O, S, o N), preferiblemente de uno a cuatro heteroátomos. Un heteroarilo puede ser un grupo monocíclico o un grupo policíclico. Los ejemplos de grupos heteroarilo son piridinilo, piridazinilo, imidazolilo, pirimidinilo, pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, quinolilo, isoquinolilo, 1,2,3,4-tetrahidroquinolilo, tetrazolilo, furilo, tienilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, pirrolilo, indolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, indazolilo, indolizinilo, ftalazinilo, triazinilo, 1,3,5-triazinilo, isoindolilo, purinilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, furazanilo, benzofurazanilo, benzotiofenilo, benzotriazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo, dihidroquinolilo, tetrahidroquinolilo, dihidroisoquinolilo, tetrahidroisoquinolilo, benzofurilo, furopiridinilo, piropirimidinilo y azaindolilo. En ciertos aspectos de la presente memoria, el heteroarilo es un 1H-1,2,3-triazol-1-ilo sustituido en 4.

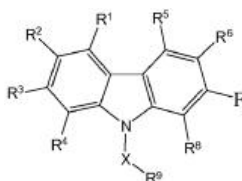
Como se usan en esta memoria, cuando un grupo divalente, tal como un grupo de enlace por ejemplo, es representado por una estructura -A-B-, como se muestra abajo, se pretende representar también un grupo que puede estar unido en ambas permutaciones posibles, como se nota en las dos estructuras abajo.



Por ejemplo, cuando se suministra un grupo divalente tal como el grupo "-N(R¹⁰)C(O)-", por ejemplo, se pretende que el grupo incluya también ambos grupos divalentes -N(R¹⁰)C(O)- y también el grupo divalente -C(O)N(R¹⁰)-.

Los sustituyentes o los grupos alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, alquilo C₁₋₅, arilo C₆₋₁₄, ariloxi C₆₋₁₄, arilo C₆₋₁₀, alquilo C₁₋₄, heteroarilo, heteroariloxi etc ... de las variables R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ están también opcionalmente sustituidos adicionalmente por sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en amino, halo, ciano, nitro, hidroxilo, -SH, -S alquilo C₁₋₆, -C(O)NH₂, -C(S)NH₂, haloalquilo C₁₋₆, perhaloalquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₄ y heteroarilo.

Por ejemplo, el sustituyente heteroarilo puede ser un 1H-1,2,3-triazol-1-ilo sustituido en 4 y un radionucleido puede estar unido a un grupo arilo del compuesto de la fórmula I, como en un derivado de 2-¹⁸F-'carbazol tal como el compuesto representado como:



o un 2-(¹⁸F-fluoroetil)-'carbazol, 2-(¹⁸F-fluorometil)-'carbazol, un grupo ¹¹C- metoxi, por ejemplo, y/o el radionucleido puede estar unido a una cualquiera o más de las variables R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ mediante un grupo ¹⁸F-fluoroetil, un grupo ¹⁸F-fluorometilo, un grupo ¹¹C-metoxi, grupo 4-[(¹⁸F-fluoroetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-etoxi,

grupo 4-[(¹⁸F-fluoroetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]-propiloxi, un grupo ¹²³I, un grupo ¹²⁴I, un grupo ¹²⁵I o un grupo ¹³¹I y similares. A menos que se indique de otro modo, se pretende que un compuesto representado como sustituido por un átomo, tal como la representación genérica por el átomo de flúor en F-CH₂CH₂-('carbazol) o F-CH₂CH₂O-('carbazol), por ejemplo, abarque el elemento que ocurre naturalmente ¹⁹F (flúor 19) as así como el/los isótopo(s) ¹⁸F (flúor 18) del elemento en sí mismo.

El término "opcionalmente sustituido" o "sustituido" se refiere a los sustituyentes o grupos específicos en los que uno a cuatro átomos de hidrógeno en el grupo pueden ser reemplazados por uno a cuatro sustituyentes, por ejemplo, seleccionados independientemente de los sustituyentes amino, halo, ciano, nitro, hidroxilo, -SH, -S alquilo C₁₋₆, -C(O)NH₂, -C(S)NH₂, haloalquilo C₁₋₆, perhaloalquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo C₆₋₁₄ y heteroarilo, o como se divulga específicamente en esta memoria. adicionalmente, los sustituyentes pueden incluir también alquilo, arilo, alquilen-arilo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, perhaloalcoxi, heterociclilo, azido, amino, guanidino, amidino, halo, alquilotio, oxo, acilalquilo, carboxi ésteres, carboxilo, carboxamido, aciloxi, aminoalquilo, alquiloaminoarilo, alquiloaminoalquilo, alcoxiarilo, arilamino, fosfono, sulfonilo, carboxamidoarilo, hidroxialquilo, haloalquilo, alcoxiarilo y perhaloalquilo. Adicionalmente, el término "opcionalmente sustituido" o "sustituido" en referencia a las variables R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰, incluye grupos sustituidos por uno a cuatro sustituyentes, como se identificaron anteriormente, que comprenden además un emisor de positrón o gamma. Tales emisores de positrón incluyen, pero no están limitados a, ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I y ⁷⁷Br.

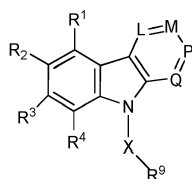
El término "compuesto radiomarcado" como se usa en esta memoria se refiere a compuestos que tienen un átomo o grupo que pueden suministrar una radiomarca o puede ser convertidos en una radiomarca, tales como de un átomo no radioactivo a un radionucleido que está activo, tal como por ejemplo, ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I y ⁷⁷Br. Adicionalmente, para el propósito de la presente memoria, tal "compuesto radiomarcado" puede referirse también a un átomo o un grupo que comprende un nucleido no activo, tal como un halógeno, tal como ¹⁹F por ejemplo, en el que el compuesto puede ser usado y administrado en una cantidad terapéutica mente efectiva.

Los compuestos de las fórmulas divulgados en esta memoria pueden tener centros ópticos y por ello pueden ocurrir en diferentes configuraciones enantioméricas y diastereoisoméricas. La presente invención incluye todos los enantiómeros, diastereoisómeros, y otros estereoisómeros de tales compuestos de las fórmulas divulgadas en esta memoria, así como compuestos racémicos y mezclas racémicas y otras mezclas de estereoisómeros de ellos. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de las fórmulas divulgadas en esta memoria incluyen sales de adición ácida y sales base de ellos. Las sales adecuadas de adición ácida se forman a partir de ácidos, que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen, pero no están limitados a, las sales acetato, adipato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, citrato, formato, fumarato, gluconato, glucuronato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, oxalato, palmitato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, piroglutamato, salicilato, estearato, succinato, sulfonato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato. Las sales base adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen, pero no están limitados a, las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, potasio, sodio, trometamina y de zinc. Pueden formarse también las hemisales de ácidos y bases, pero no están limitados a, las sales de hemisulfato y hemicalcio. Para una revisión de sales adecuadas, véase Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, 2002). Las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de las fórmulas divulgadas en esta memoria pueden ser preparadas por uno o más de tres procedimientos: (i) mediante reacción del compuesto de las fórmulas divulgadas en esta memoria con el ácido o base deseados; (ii) mediante remoción de un grupo protector lábil con ácido o base, a partir de un precursor adecuado del compuesto de las fórmulas divulgado en esta memoria; o (iii) mediante conversión de una sal del compuesto de las fórmulas divulgadas en esta memoria, en otras sal mediante la reacción de un ácido o base apropiado o mediante una columna adecuada de intercambio iónico.

También se divulga en esta memoria la formación de imágenes mediante el empleo de una técnica de formación de imágenes por fluorescencia o una técnica nuclear de formación de imágenes, seleccionada de entre el grupo que consiste en tomografía de emisión de positrón (PET) y tomografía simple computarizada de emisión de fotón (SPECT), la técnica de formación de imágenes por fluorescencia y/o técnica nuclear de formación de imágenes para vigilar o visualizar una distribución del compuesto radiomarcado o marcado con baliza, dentro del cerebro o dentro de una porción del mismo.

También se divulga en esta memoria un compuesto de la fórmula 8 para uso en el tratamiento de una enfermedad o condición, en un mamífero que lo requiere, seleccionada de entre el grupo que consiste en ansiedad, depresión, esquizofrenia, Enfermedad de Alzheimer, enfermedad relacionada con la tensión, pánico, una fobia, desorden compulsivo obsesivo, obesidad, síndrome de estrés postraumático o epilepsia.

En esta memoria se divulga un compuesto radiomarcado de la fórmula:



y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

5 L es N o CR⁵;

M es N o CR⁶;

P es N o CR⁷; y

Q es N o CR⁸;

10 X es un enlace o es alquilo C₁₋₁₄, en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, y en la que por lo menos un H de alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C₁₋₆;

15 R⁹ es H, un grupo protector, un grupo saliente, una azida, un alquino, OH, halo, NH₂, N(alquilo C₁₋₈)₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por halo, NH₂, o alquilo C₁₋₆, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₆ es opcionalmente reemplazado por halo, o cicloalquilo C₃₋₈, en la que por lo menos un H del cicloalquilo C₃₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃₋₈ es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C₁₋₈;

R¹-R⁸ son independientemente H, OH, halo, NH₂, CH₃, un grupo saliente, un grupo protector, arilo, heteroarilo, NHR¹², N(R¹²)₂ cicloalquilo C₃₋₈, (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², en la que R¹² es CH₃, arilo, H o heteroarilo,

20 en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², cicloalquilo C₃₋₈, arilo, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector, y

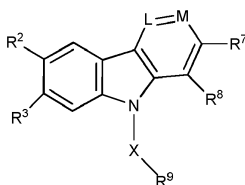
en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹² es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector,

25 y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃₋₈ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S o NH, N- alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, un grupo saliente, un grupo protector,

en la que por lo menos un halo es opcionalmente reemplazado con un radionucleido o una baliza fluorescente.

En esta memoria se divulga un compuesto de la fórmula:

30



y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

35 L es N o CR⁵;

M es N o CR⁶;

X es un enlace o es alquilo C₁₋₁₄, en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, y en la que por lo menos un H de alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C₁₋₆;

R^9 es H, un grupo protector, un grupo saliente, una azida, un alquino, OH, halo, NH_2 , N (alquilo C_{1-8})₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por halo, NH_2 , o alquilo C_{1-6} o alquilo C_{1-6} , en la que por lo menos un H del alquilo C_{1-6} es opcionalmente reemplazado por halo, o cicloalquilo C_3-C_8 , en la que por lo menos un H del cicloalquilo C_3-C_8 es opcionalmente reemplazado por halo y en la que por lo menos un CH_2 del cicloalquilo C_3-C_8 es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C_{1-8} ;

R^2 , R^3 , R^7 y R^8 son independientemente H, OH, halo, NH_2 , CH_3 , un grupo saliente, un grupo protector, arilo, heteroarilo, NHR^{12} , $N(R^{12})_2$ cicloalquilo C_3-C_8 , $(-CH_2)_{1-12}-R^{12}$, en la que R^{12} es CH_3 , arilo, H o heteroarilo,

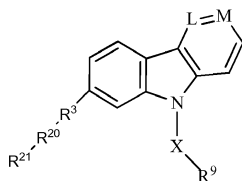
en la que por lo menos un H de $(-CH_2)_{1-12}-R^{12}$, cicloalquilo C_3-C_8 , arilo, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH_2 , un grupo saliente, un grupo protector y alquilo C_{1-8} , en la que por lo menos un H del alquilo C_{1-8} es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH_2 , un grupo saliente, un grupo protector, y

en la que por lo menos un CH_2 de $(-CH_2)_{1-12}-R^{12}$ es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO_2 , o NH, NH- alquilo C_{1-8} , N (alquilo C_{1-8})₂, en la que por lo menos un H del alquilo C_{1-8} es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH_2 , un grupo saliente, un grupo protector,

y en la que por lo menos un CH_2 del cicloalquilo C_3-C_8 es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S o NH, N- alquilo C_{1-8} , en la que por lo menos un H del alquilo C_{1-8} es opcionalmente reemplazado por halo, OH, un grupo saliente, un grupo protector,

en la que por lo menos un halo es opcionalmente reemplazado con un radionucleido o una baliza fluorescente.

En otra realización, la invención es un compuesto de la fórmula:



y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

L es N o CR^5 ;

M es N o;

R^5 es H, OH, halo, NH_2 , CH_3 , NO_2 , arilo, alqueno C_3-C_8 , alquino C_3-C_8 , cicloalquilo C_3-C_8 , heteroarilo, $N=NR^{12}$, NHR^{12} , $N(R^{12})_2$, o $(-CH_2)_{1-12}-R^{12}$, en la que R^{12} es alquilo C_1-C_6 , arilo, H o heteroarilo,

en la que por lo menos un H de $(-CH_2)_{1-12}-R^{12}$, cicloalquilo C_3-C_8 , arilo, alqueno, alquino, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH_2 , y alquilo C_{1-8} , en la que por lo menos un H del alquilo C_{1-8} es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH_2 , y

en la que por lo menos un CH_2 de $(-CH_2)_{1-12}-R^{12}$ es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO_2 , o NH, NH- alquilo C_{1-8} o N (alquilo C_{1-8})₂, en la que por lo menos un H del alquilo C_{1-8} es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH_2 ,

y en la que por lo menos un CH_2 del cicloalquilo C_3-C_8 es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, NH o N- alquilo C_{1-8} , en la que por lo menos un H del alquilo C_{1-8} es opcionalmente reemplazado por halo u OH,

X es un enlace o es alquilo C_{1-14} , en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO_2 , o NH, NH- alquilo C_{1-8} , y en la que por lo menos un H de alquilo C_{1-8} es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C_{1-6} ;

R^9 es H, una azida, un alquino, OH, halo, NH_2 , N (alquilo C_{1-8})₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por halo, NH_2 , o alquilo C_{1-6} o alquilo C_{1-6} , en la que por lo menos un H del alquilo C_{1-6} es opcionalmente reemplazado por halo, o cicloalquilo C_3-C_8 , en la que por lo menos un H del cicloalquilo C_3-C_8 es opcionalmente reemplazado por halo y en la que por lo menos un CH_2 del cicloalquilo C_3-C_8 es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C_{1-8} ;

R^3 es un enlace o es por lo menos uno de O, S, C(O), SO_2 , NH, N- alquilo C_{1-8} , $(CH_2)_{1-12}$, en la que por lo menos un C de $(CH_2)_{1-12}$ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO_2 , NH, N- alquilo C_{1-8} y en la que por lo menos

un H es opcionalmente reemplazado por alquilo C₁₋₈ o halo,

R²⁰ es arilo o heteroarilo; y

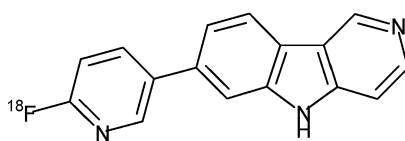
R²¹ es H, OH, halo, NH₂, CH₃, NO₂, (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃, cicloalquilo C₃₋₈,

5 en la que por lo menos un H del (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃ o el cicloalquilo C₃₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂ o alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo u OH,

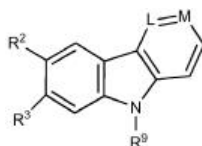
y en la que por lo menos un CH₂ del (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃ es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,

10 y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃₋₈ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, N- alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,

y en la que R²¹ comprende un radionucleido, a cel compuesto no sea



15 En esta memoria se divulga un compuesto de la fórmula:



y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

20 en la que:

L es N o CR⁵;

M es N o CR⁶;

R⁹ es H, un grupo protector, un grupo saliente, halo, o CH₃;

25 R², R³, R⁵ y R⁶ son independientemente H, OH, halo, NH₂, CH₃, un grupo saliente, un grupo protector, arilo, heteroarilo, NHR¹², N(R¹²)₂ cicloalquilo C₃₋₈, (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², en la que R¹² es CH₃, arilo, H o heteroarilo,

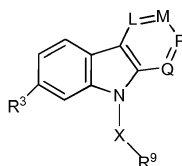
en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², cicloalquilo C₃₋₈, arilo, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector, y

30 en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹² es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, un grupo saliente, un grupo protector,

y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃₋₈ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S o NH, N- alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, un grupo saliente, un grupo protector,

35 en la que por lo menos un halo es opcionalmente reemplazado con un radionucleido o una baliza fluorescente.

En esta memoria se divulga un compuesto de la fórmula:



y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

- 5 L es N o CR⁵;
 M es N o CR⁶;
 P es N o CR⁷; y
 Q es N o CR⁸;
- 10 X es un enlace o es alquilo C₁₋₁₄, en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, y en la que por lo menos un H de alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C₁₋₆;
- 15 R⁹ es H, un grupo protector, un grupo saliente, OH, NH₂, N(alquilo C₁₋₈)₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por SO₂, NH₂, o alquilo C₁₋₆, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₆ es opcionalmente reemplazado por cicloalquilo C₃₋₈, en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃₋₈ es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C₁₋₈;
- R³ y R⁵-R⁸ son independientemente H o (-CH₂)₁₋₁₂-R¹³, en la que R¹³ es una azida o un alquino,
- en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹³ es opcionalmente reemplazado por OH, NH₂, y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por OH, NH₂, y
- 20 en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹³ es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por OH, NH₂.

También se divulga en esta memoria una composición farmacéutica para formación *in vivo* de imágenes de depósitos amiloides y marañas tau, que comprende (a) el compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores o mostradas en las reivindicaciones 1-7 y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 25 También se divulga en esta memoria un procedimiento para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer o de una predisposición hacia la misma en un mamífero, en el que el procedimiento comprende: a) administración al mamífero de una cantidad efectiva para diagnóstico, de un compuesto radiomarcado, en el que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y preferencialmente se enlaza a placas amiloides y/o marañas tau en un tejido cerebral y en el que el compuesto es seleccionado de entre el grupo que consiste en compuestos radiomarcados de la fórmula 8, por ejemplo; b) permisión para que el compuesto se distribuya dentro del tejido cerebral; y c) formación de imagen del tejido cerebral, en la que un aumento en el enlace del compuesto al tejido cerebral, comparado con un nivel normal de control de enlace indica que el mamífero sufre de o está en riesgo de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer.

- 35 También se divulga en esta memoria un procedimiento para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer o de una predisposición hacia la misma en un mamífero, en el que el procedimiento comprende: a) administración al mamífero de una cantidad efectiva para el diagnóstico, de un compuesto radiomarcado de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, suministrado posteriormente, en el que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y preferencialmente se enlaza a placas amiloides y/o marañas tau en un tejido cerebral y en el que el compuesto es seleccionado de entre el grupo que consiste en compuestos radiomarcados de la fórmula 8, por ejemplo; b) permisión para que el compuesto se distribuya dentro del tejido cerebral; y c) formación de imagen del tejido cerebral, en la que un aumento en el enlace del compuesto al tejido cerebral, comparado con un nivel normal de control de enlace, indica que el mamífero sufre de o está en riesgo de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer.

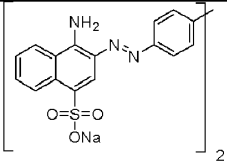
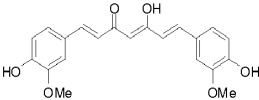
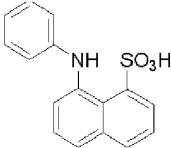
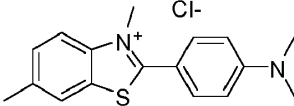
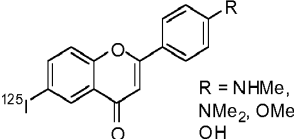
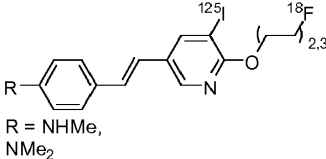
También se divulga en esta memoria un procedimiento para la formación de imágenes y detección de placas seniles y/o marañas neurofibrilares en un tejido cerebral, en el que el procedimiento comprende el tratamiento del tejido con un compuesto de la fórmula 8, para la detección de desórdenes neurológicos.

- 45 El desorden neurológico puede ser detectado mediante la medición de la afinidad de compuestos de la fórmula 8 para agregados tau.

En una realización, la detección puede ser realizada mediante formación de imágenes gamma con PET o SPECT.

Tabla 1

Tabla 1: Pigmentos agentes de formación de imagen conocidos fluorescentes positivos para EA

Nombre	Compuesto y referencia	Objetivo	Afinidad de enlace
Rojo Congo	 Anal. Biochem. 2006, 356, 265-272; J. Biol. Chem. 2005, 280, 5892-5901	Monómero A β	IC ₅₀ : 2-10 μ M
Cúrcuma	 Anal. Biochem. 2006, 356, 265-272; J. Biol. Chem. 2005, 280, 5892-5901	Monómero A β	IC ₅₀ : 10-20 μ M
ANS	 Anal. Biochem. 2006, 356, 265-272	Monómero A β	IC ₅₀ : >100 μ M
Tioflavina T	 Anal. Biochem. 2006, 356, 265-272	Monómero A β	IC ₅₀ : >500 μ M
Flavona yodada	 J. Med. Chem. 2005, 48, 7253-7260	Agregados de A β 40	Ki = 13 nM (-NMe ₂) a 72 nM (-OH)
Piridil estireno	 J. Med. Chem. 2007, 50, 2157-2165	Fibrilas A β	Kd = 7,5-9 nM

(continuación)

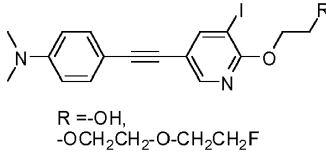
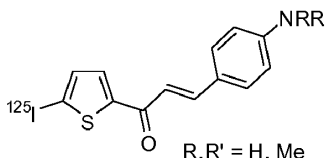
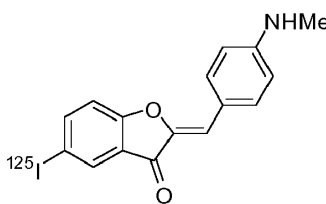
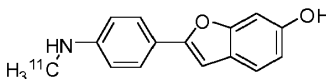
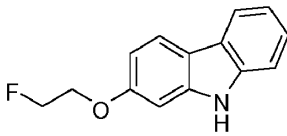
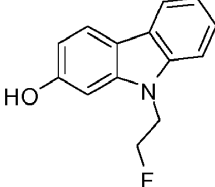
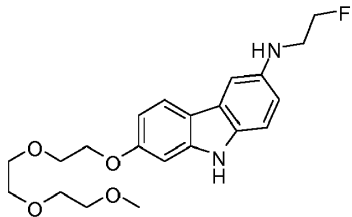
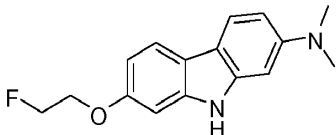
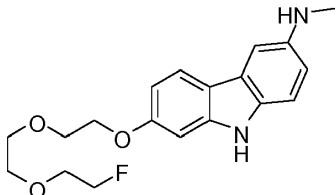
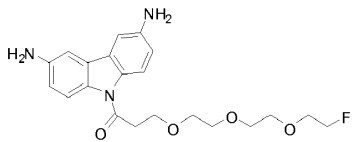
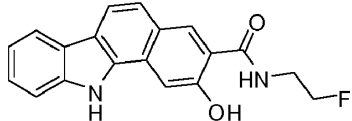
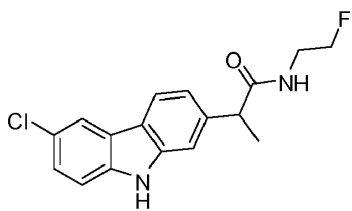
Nombre	Compuesto y referencia	Objetivo	Afinidad de enlace
Diaril acetilenos	 R = -OH, -OCH₂CH₂-O-CH₂CH₂F Bioorg. Med. Chem. 2007, 17, 3581-3584	Placas Aβ	Kd = ~10 nM
Tiofeno chalconas	 R, R' = H, Me Bioorg. Med. Chem. 2007, 15, 6802-6809	Agregados de Aβ 1-42	Ki = 3,9-14 nM
Auronas	 Biochem. Biophys. Res. Commun. 2007, 361, 116-121	Agregados de Aβ 1-42	Ki = 1,24 nM
Benzofurano	 J. Med. Chem. 2006, 49, 2725-2730	Fibrilas Aβ	Ki = 2,8 nM

Tabla 2: Los siguientes son ejemplos de compuestos útiles para la detección *in vivo* de biomarcadores de EA y se incluyen para propósitos de referencia. Estos compuestos pueden estar radiomarcados o ser "fríos":

5

Nombre	Estructura	Fórmula química	Peso molecular	Código
2-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol		C ₁₄ H ₁₂ FNO	229,25	CB-001

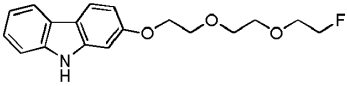
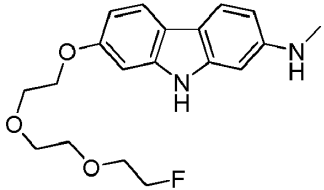
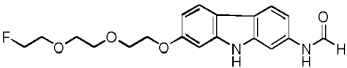
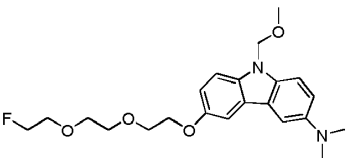
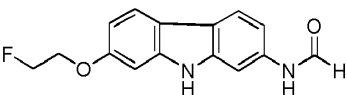
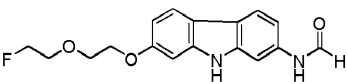
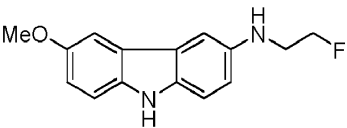
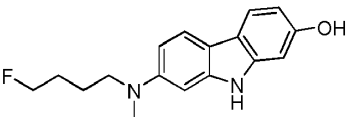
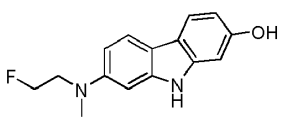
(continuación)

Nombre	Estructura	Fórmula química	Peso molecular	Código
9-(2-fluoroetil)-9H-carbazol-2-ol		$C_{14}H_{12}FNO$	229,25	
N-(2-fluoroetil)-7-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-3-amina		$C_{21}H_{27}FN_2O_4$	390,45	
7-(2-fluoroetoxi)-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina		$C_{16}H_{17}FN_2O$	272,32	
7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N-metil-9H-carbazol-3-amina		$C_{19}H_{23}FN_2O_3$	346,40	CB-008
1-(3,6-diamino-9H-carbazol-9-il)-3-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)propan-1-ona		$C_{21}H_{26}FN_3O_4$	403,45	
N-(2-fluoroetil)-2-hidroxi-11H-benzo[a]carbazol-3-carboxamida		$C_{19}H_{15}FN_2O_2$	322,33	
2-(6-cloro-9H-carbazol-2-il)-N-(2-fluoroetil)propanamida		$C_{17}H_{16}ClFN_2O$	318,77	

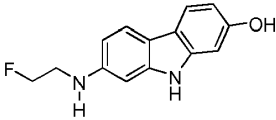
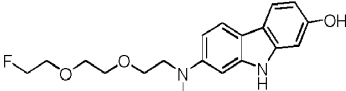
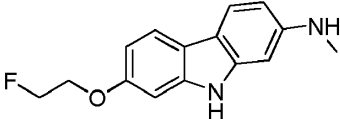
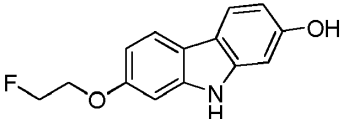
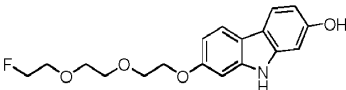
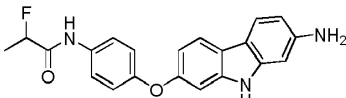
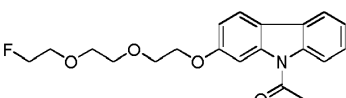
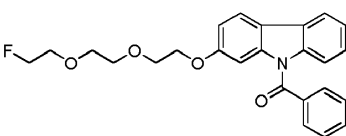
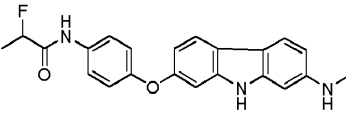
(continuación)

Nombre	Estructura	Fórmula química	Peso molecular	Código
2-(6-fluoro-9H-carbazol-2-il)-N,N-dimetilpropanamida		$C_{17}H_{17}FN_2O$	284,33	
2-metoxi-9H-carbazol		$C_{13}H_{11}NO$	197,23	
6-yodo-2-metoxi-9H-carbazol		$C_{13}H_{10}INO$	323,13	
7-(2-fluoroetoxi)-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina		$C_{16}H_{17}FN_2O$	272,32	
Tert-butil 2-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carboxilato		$C_{23}H_{28}FNO_5$	417,47	CB-005
2-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9-metil-9H-carbazol		$C_{19}H_{22}FNO_3$	331,38	CB-006
7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina		$C_{20}H_{25}FN_2O_3$	360,42	CB-007
N-(7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-il)acetamida		$C_{20}H_{23}FN_2O_4$	374,41	CB-009
7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol		$C_{17}H_{19}FN_2O_3$	318,34	CB-028

(continuación)

Nombre	Estructura	Fórmula química	Peso molecular	Código
2-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol		$C_{18}H_{20}FNO_3$	317,35	CB-003
7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N-metil-9H-carbazol-2-amina		$C_{19}H_{23}FN_2O_3$	346,40	CB-004
N-(7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida		$C_{19}H_{21}FN_2O_4$	360,38	CB-010
6-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9-(metoximetil)-N,N-dimetil-9H-carbazol-3-amina		$C_{22}H_{29}FN_2O_4$	404,48	CB-011
N-(7-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida		$C_{15}H_{13}FN_2O_2$	272,27	CB-012
N-(7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida		$C_{17}H_{17}FN_2O_3$	316,33	CB-024
N-(2-fluoroetil)-6-metoxi-9H-carbazol-3-amina		$C_{15}H_{15}FN_2O$	258,29	CB-013
7-((4-fluorobutil)(metil)amino)-9H-carbazol-2-ol		$C_{17}H_{19}FN_2O$	286,34	CB-014
7-((2-fluoroetil)(metil)amino)-9H-carbazol-2-ol		$C_{15}H_{15}FN_2O$	258,29	CB-015

(continuación)

Nombre	Estructura	Fórmula química	Peso molecular	Código
7-(2-fluoroetilamino)-9H-carbazol-2-ol		$C_{14}H_{13}FN_2O$	244,26	CB-016
7-((2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil)(metil)amino)-9H-carbazol-2-ol		$C_{19}H_{23}FN_2O_3$	346,40	CB-019
7-(2-fluoroetoxi)-N-metil-9H-carbazol-2-amina		$C_{15}H_{15}FN_2O$	258,29	CB-020
7-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol-2-ol		$C_{14}H_{12}FNO_2$	245,25	CB-025
7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-ol		$C_{18}H_{20}FNO_4$	333,35	CB-026
N-(4-(7-amino-9H-carbazol-2-iloxi)fenil)-2-fluoropropanamida		$C_{21}H_{18}FN_3O_2$	363,38	CB-027
1-(2-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-il)etanona		$C_{20}H_{22}FNO_4$	359,39	CB-017
(2-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-il)(fenil)metanona		$C_{25}H_{24}FNO_4$	421,46	CB-021
2-fluoro-N-(4-(7-(metilamino)-9H-carbazol-2-iloxi)fenil)propanamida		$C_{22}H_{20}FN_3O_2$	377,41	CB-029

(continuación)

Nombre	Estructura	Fórmula química	Peso molecular	Código
N-(7-(4-fluorobutoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida		$C_{17}H_{17}FN_2O_2$	300,33	CB-030
tert-butil 2-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-ilcarbamato		$C_{22}H_{28}FN_3O_5$	433,47	CB-031
2-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-amina		$C_{17}H_{20}FN_3O_3$	333,36	CB-032
7-(benciloxi)-N-(2-fluoroetil)-N-metil-9H-carbazol-2-amina		$C_{22}H_{21}FN_2O$	348,41	CB-033
2-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N-metil-9H-pirido[2,3-b]indol-7-amina		$C_{18}H_{22}FN_3O_3$	347,38	CB-034
6-bromo-9H-carbazol-2-ol		$C_{12}H_8BrNO$	262,10	
6-(2-fluoroetoxi)-3-hidroxi-2-fenilquinolin-4(1H)-ona		$C_{17}H_{14}FNO_3$	299,30	

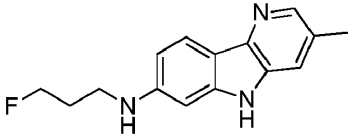
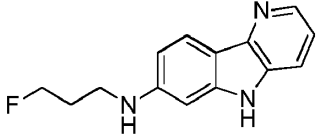
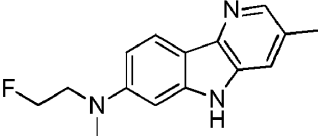
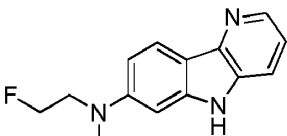
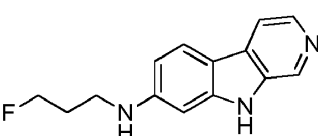
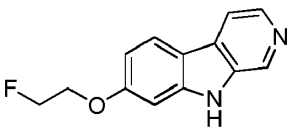
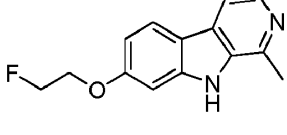
Se incluyen los siguientes compuestos en la Tabla 3, para propósitos de referencia:

ID	T807	T805	T703	T794
Peso molecular	360,3	214,2	244,3	228,3
CLogP	3,2	2,8	3,6	3,4

(continuación)

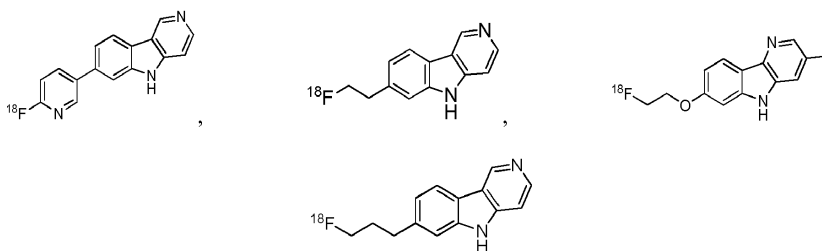
ID	T807	T805	T703	T794
KD (tau)	15 nM		32nM	30 nM
Selectividad (tau/Ab)	29x	14x	16x	17x
Intensidad de GM (comp. con W372)	28%	8%	6%	14%
Base (cerebro normal 32566) PSL/mm2	61	49	15	97
Correlación de Tx/tau/amiloide	Sí			Sí
Absorción en el cerebro	Sí (3 ratas, 3 ratones)	Sí (2 ratas, 2 ratones)	Sí	Sí (4 ratas, 4 ratones)
Metabolismo <i>in vivo</i>	15, 30 min	15 min	Sí	5, 15,30 min
Metabolismo <i>in vivo</i> : un día				
Hepatocitos humanos	Algo estables (metabolito menos polar)			Estable
PK	Sí	Sí	Sí	Sí
Panel de cerebro 45	Hecho			Hecho
Doble tinción				Sí
Actividad de AChE (IC50)	6 uM	<50% a 10 uM		5 uM
Inhibición de MAO	0% (1 uM) MAO-A 0% (1 uM) MAO-B	0% (1 uM) MAO-A 0% (1 uM) MAO-B	16% (1µM) MAO-A 0% (1µM) MAO-B	19% (1 uM) MAO-A 0% (1 uM) MAO-B
CNS			NET, σ1	1 uM
Panel selectividad de				Norepinefrina transp. (49%) Dopamina transp. (34%) Glutamato, NMDA (44%) Monoamina transp. (41%) Serotonina 5-HT2c (33%)
MDS SDL/cita#	SDL-20, #22673			SDL-18, #22639-1 (5 objetivos 2 concentraciones más)

En la Tabla 4 se incluyen los siguientes compuestos para propósitos de referencia:

ID	Estructura	Peso molecular	CLog P	Dbl tinción del compuesto (100 uM)	KD (tau)	KD (amiloide)
T734		257,31	3,5	azul/verde . Tau+. Otro -		
T733		243,3	3,0	azul/verde . Tau-. Otro -		
T728		257,3	3,8	verde/azul . Tau+. Otro -		
T726		243,3	3,3	verde/azul . Tau+++. Otro +		
T687		243,3	2,8	azul. Tau++++. Ab++		
T686		230,2	2,9	azul. Tau+. Otro +		
T660		244,3	3,4	Tau-. Ab+		

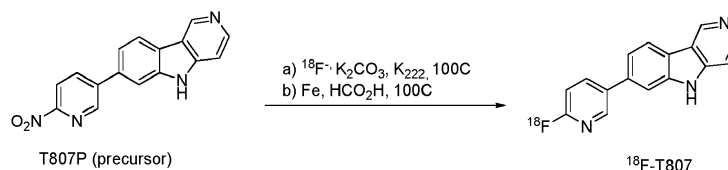
Se entenderá que el halógeno de estos compuestos en base a carbazol, por ejemplo, F, puede ser radioactivo o puede ser "frío" en particular, puede ser ^{18}F . otros átomos radioactivos adecuados pueden incluir ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{99}Tc , ^{75}Br , ^{153}Gd y ^{32}P .

Por ejemplo, los compuestos radiomarcados pueden incluir:

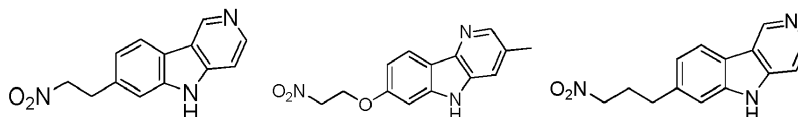


Los precursores de los compuestos de la presente invención pueden ser:

5

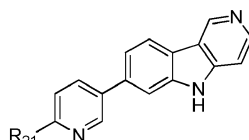


Otros precursores divulgados en esta memoria incluyen:



10

También pueden ser compuestos de la presente invención:



15 en los que R²¹ es halo o un radionucleido.

Quando son inyectados de manera intravenosa a los ratones, los compuestos en base a carbazol; en particular T807, T805 y T794 han mostrado excelente absorción en el cerebro. Estos compuestos también despliegan elevada afinidad de enlace con fibrilas tau. La autorradiografía usando los presentes compuestos demostró marcación de NFTs en secciones de cerebro con EA. Los datos de ensayos de fluorescencia muestran la habilidad de enlace de estos agentes a los agregados tau y fibrilas Aβ. En la tinción neuropatológica, los compuestos de la presente invención tiñeron placas amiloides y/o agregados tau.

20

En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos y composiciones que comprenden las fórmulas divulgadas en esta memoria, en los que el compuesto es un compuesto que se enlaza a proteína amiloide y/ o tau. Un compuesto de la invención que se enlaza a proteína amiloide y/o tau, puede ser administrado a un paciente en cantidades adecuadas para la formación *in vivo* de depósitos amiloides y/o NFTs, y distingue entre tejido neurológico con depósitos amiloides y/o NFTs y tejido neurológico normal.

25

Los compuestos Aβ son evaluados típicamente en un ensayo de enlace competitivo usando fibrilas Aβ1-42 sintéticas (IC₅₀s). La situación es más complicada para tau, porque existen 6 isoformas de tau potencialmente presentes en cerebros con EA, como productos de empalme alternado de un gen tau individual. Por ello, la mayoría de los reportes en la literatura confían en sólo una isoforma recombinante, Tau-441. Para añadir más complejidad, las diferentes isoformas tau son hiperfosforiladas *in vivo*, algo que es de difícil imitación *in vitro*. Además, se carece de la información estructural de estas fibrilas tau, dificultando una interpretación del enlace de los compuestos.

30

Las formas nativas de tau (diferentes isoformas, hiperfosforiladas) y agregados amiloides están presentes en secciones del cerebro y por ello son preferidas para la prueba del compuesto. El uso de autofluorescencia de un compuesto de prueba puede dar una indicación de si el compuesto se enlaza con marañas tau/PHFs y/o placas amiloides. Esto es confirmado adicionalmente mediante inmunotinción con anticuerpos Aβ y tau y superponiendo las imágenes. La limitación es que las señales fluorescentes no pueden ser usadas para la cuantificación dado que algunos compuestos podrían exhibir una señal fluorescente más fuerte, comparada con otros y la coexistencia de

35

placas A β y marañas tau en cerebros con EA. Sin embargo, es posible "calificar" cualitativamente la fuerza de la señal y distinguir compuestos que muestran unirse a estos agregados.

Además, puede evaluarse la selectividad en cerebros que contienen solamente placas A β /sin agregados tau, placas A β /y agregados tau, y cerebros de control. Desafortunadamente no hay cerebros con EA que tengan presente sólo tau y no A β . Mediante la prueba de trazadores radiomarcados en estas secciones de cerebro, puede evaluarse más cuantitativamente la fuerza relativa de enlace (fuerza de la señal) y selectividad de diferentes compuestos de prueba, en la medida en que ellos contienen todos el mismo trazador radioactivo. Por ejemplo, si un trazador de prueba se enlaza solamente a tau, y no a amiloide, no debería mostrar señal en las secciones cerebrales que tienen sólo placas A β . Si un compuesto se enlaza solamente con amiloide, debería mostrar absorción en ambos tipos de cerebro. La dificultad en la identificación y cuantificación adicional de compuestos selectivos radica en la abundancia relativa de amiloide vs. tau, que es de difícil medición.

Pueden usarse sondas de la invención de proteína amiloide y/o tau, para detectar y cuantificar depósitos amiloides y/o NTFs en enfermedades que incluyen, pero no están limitadas a fiebre del Mediterráneo, síndrome de MuckleWells, mieloma idiopático, polineuropatía amiloide, cardiomiopatía amiloide, amiloidosis sistémica senil, polineuropatía amiloide, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis, síndrome de Down, Scrapie, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, Kuru, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, carcinoma medular de tiroides, amiloide atrial aislado, amiloide de microglobulina β_2 en pacientes de diálisis, miositis por cuerpos de inclusión, depósitos de amiloide β_2 en enfermedad de desgaste muscular, encefalopatía traumática crónica (CTE), e insulinooma de diabetes tipo II de islotes de Langerhans.

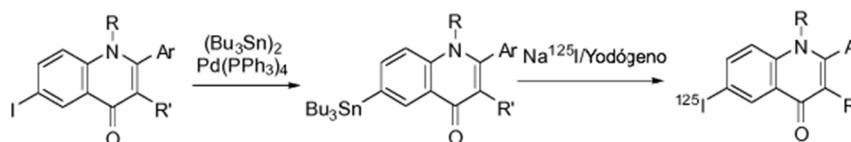
En otras realizaciones de la invención, el compuesto marcado es introducido en un paciente en una cantidad detectable y después de que ha pasado suficiente tiempo para que el compuesto se asocie con depósitos amiloides y/o proteínas tau, el compuesto marcado es detectado de manera no invasiva. En esta memoria se divulga un compuesto marcado de las fórmulas divulgadas en esta memoria, que es introducido en un paciente, se deja suficiente tiempo para que el compuesto se asocie con depósitos amiloides, y entonces se retira una muestra de tejido del paciente y el compuesto marcado en el tejido es detectado fuera del paciente. En esta memoria se divulga un procedimiento mediante el cual se retira una muestra de tejido de un paciente y se introduce un compuesto marcado de la fórmula 8, por ejemplo, dentro de la muestra de tejido. El compuesto es detectado después de una cantidad de tiempo suficiente para que el compuesto se enlace a los depósitos amiloides y/o proteínas tau.

Síntesis de ligandos y sus precursores de marcación:

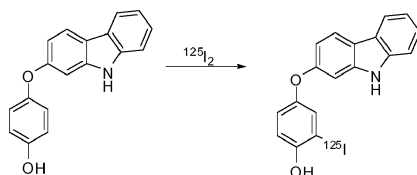
Halogenación y radiohalogenación:

Como se divulga en esta memoria, para varios diferentes ligandos de EA, tales como flavonas, cumarinas, carbazoles, quinolinonas, cromenonas, imidazoles trisustituídos y sus derivados, como se divulgan en esta memoria, el átomo radiomarcado, tal como un átomo de halógeno por ejemplo, puede ser introducido fácilmente dentro del ligando, usando varios diferentes procedimientos bien conocidos en la técnica. De acuerdo con ello, los compuestos radiomarcados de las fórmulas 7-8 pueden ser preparados usando procedimientos estándar conocidos en la técnica para la preparación de tales compuestos radiomarcados que tienen un sustituyente particular, en los que el compuesto puede ser incorporado con un radionucleido particular seleccionado de entre el grupo que consiste en ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I y ^{77}Br .

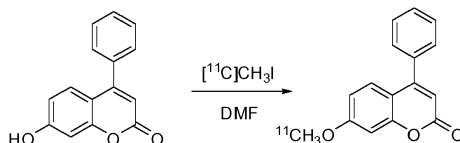
En un ejemplo particular, el halógeno puede ser introducido mediante un procedimiento que usa un proceso de intercambio de halógeno por estaño. Por ejemplo, un halógeno no radioactivo, tal como yodo, puede ser reemplazado mediante un compuesto de organoestaño vía un metal, tal como una composición de paladio, para formar el precursor de radiomarcación de estaño, como se representa posteriormente. Este precursor es entonces sometido a halogenación radioactiva vía desplazamiento con una fuente de Na^{125}I , por ejemplo, para acceder al ligando reactivo.



De modo alternativo, el halógeno radiomarcado puede ser introducido fácilmente mediante halogenación. Por ejemplo, para un ligando que comprende un anillo aromático como parte del esqueleto, o un sustituyente aromático de un ligando, el anillo aromático puede ser yodado directamente usando procedimientos de radioyodación bien establecidos. Un ejemplo tal es representado abajo usando un ligando de carbazol.



Para compuestos marcados con ^{11}C , el compuesto marcado puede ser preparado mediante la alquilación o metilación de un grupo hidroxilo, tal como con [^{11}C]CH₃I para suministrar el correspondiente derivado metoxi marcado con C-11. Por ejemplo, tal procedimiento es representado mediante la reacción del derivado de flavona mostrado abajo.



En la técnica son bien conocidos otros procedimientos para la preparación de ligandos radiomarcados. Ejemplos de tales procedimientos son divulgados por ejemplo en: 1) Jewett, D.M. (1992) A Simple Synthesis of [^{11}C]Methyl Triflate Appl. Radiat. Isot. 43, 1383-1385; 2) Crouzel, C. Langstrom, B., Pike, V.W., y Coenen, H.H. (1987) Recommendations for a practical production of [^{11}C]methyl iodide Appl. Radiat. Isot. Int. J. Appl. Instrum. Part A 38, 601-603; Dannals, R.F., Ravert, H.T.; 3) Wilson, A.A. (1990) Radiochemistry of Tracers for Neurotransmitter Receptor Studies. En: Quantitative Imaging: Neuroreceptors, Neurotransmitters, and Enzymes. (editado por Frost, J.J. Wagner Jr., H.N. pp. 19-35, Raven Press, Nueva York; 4) Jewett, D.M., Manger, T.J., y Watkins, G.L. (1991) Captive Solvent Methods for Fast Simple Carbon-11 Radioalquilations. En: New Trends in Radiopharmaceutical Synthesis, Quality Assurance and Regulatory Control (editado por Emran, A.M.) pp. 387-391. Plenum Press, Nueva York; 5) Marazano, C., Maziere, M., Berger, G., y Comar, D. (1977) Synthesis of methyl iodide- ^{11}C and formaldehyde- ^{11}C Appl. Radiat. Isot. 28, 49-52; 6) Watkins, G., Jewett, D., Mulholland, G., Kitbourn, M., y Toorongian, S. (1988) A Captive Solvent Method for Rapid N- ^{11}C Metilation of Secondary Amides: Aplicación to the Benzodiazepine, 4'-Chlorodiazepam (RO5-4864) Appl. Radiat. Isot. 39, 441-444; y 7) Wilson, A. A., DaSilva, J.N., y Houle, S. (1996) in vivo evaluation of [^{11}C] and [^{15}F]-labelled cocaine analogues as potential dopamina transporter ligands for positron emission tomography Nucl. Med. Biol. 23, 141-146.

Ensayos de derivados de carbazol:

A partir del ensayo de Biacore, dos derivados de carbazol desplegaron prometedoras afinidades de enlace a oligómeros/polímeros y fibrilas (Tabla 4). La beta-carbolina Harmol, un miembro de los alcaloides de harmala, es el metabolito urinario de harmina. Los alcaloides de harmala son inhibidores de MAO y son hallados comúnmente en ruda de Siria, *Peganum harmala*, y la vid suramericana *Banisteriopsis caapi*, sobre ambas de las cuales se afirma que poseen fuertes efectos alucinógenos. Los beta-carbolenos tienen un variado efecto sobre el sistema nervioso central, incluyendo la unión a los receptores de 5-HT₂, 5-HT_{1a}, glutamato NMDA e imidazolina; inhibición de las enzimas MAO-A e interferencia con la transmisión dopaminérgica. Y mientras se piensa que las beta-carbolinas son citotóxicas, también mantienen propiedades neuroprotectoras, supuestamente ofreciendo neuroprotección contra dopamina y glutamato y, adicionalmente, captando especies de oxígeno reactivo. Un reporte reciente demostró que los alquiloides de beta-carbolina inducen una facilitación de la memoria de corto y largo plazo en tareas de reconocimiento de objetos en ratones, aunque no son claros los medios mediante los cuales los alquiloides ejercen su efecto. Moura, D.J., et al., Effects of b-carboline alkaloids in the object recognition task in mice. Life Sciences, 2006, 79: p. 2099-2104.

El segundo carbazol activo descubierto en el ensayo es 2-hidroxycarbazol. Se ha mostrado recientemente que el 2-hidroxycarbazol libera ion Ca^{2+} del músculo esquelético y cardiaco, a través de una ruta farmacológica diferente. El esqueleto genérico de carbazol existe en varios terapéuticos, incluyendo el antiinflamatorio no esteroide carprofeno, carazolol (un bloqueador beta) y YM-53601 (un inhibidor de síntesis de escualeno). Trabajo reciente ha mostrado que derivados de carbazol pueden actuar como moduladores de γ -secretasa. [Narlawar, R., et al., N-Substituted carbazolyloxiacetic acids modulate Alzheimer associated γ -secretas. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17: p. 176-182]. En otro proyecto relacionado con EA, Howlett descubrió que carbazoles altamente elaborados, tales como carvedilol, inhiben la formación de fibrila, no obstante no se determinaron las afinidades de enlace a las fibrilas. [Howlett, D.R., et al., Common Structural Features Determine the Effectiveness of Carvedilol, Daunomycin and Rotiletracycline as Inhibitors of Alzheimer b-Amyloid Fibril Formation. Biochemical Journal, 1999, 343: p. 419-423]. De manera interesante, un artículo que pretende determinar la aplicabilidad práctica de uso de carbazoles como inhibidores de fibrila en base a la permeabilidad celular, sugiere que es improbable que los carbazoles crucen la barrera hemtoencefálica, dado que son sustratos de PGP, impidiendo su uso como terapéuticos para la inhibición de fibrila. [Saengkhae, C., et al., Ability of Carbazol Salts, Inhibitors of Alzheimer b-Amyloid Fibril Formation, to Cross Cellular Membranes. European Journal of Pharmacology, 2007, 559: p. 124-131]

Mediante el uso de una modalidad apropiada de formación de imagen, puede hacerse instantáneamente visible y

accesible un patrón de biodistribución de trazador. Por ejemplo, usando trazadores marcados con ^{18}F puede cuantificarse fácilmente, usando tomografía de emisión de positrón (PET), una absorción de trazador dentro de, y retiro mediante lavado desde, el cerebro. Los trazadores con elevada absorción y lento retiro mediante lavado, en cerebros normales generan bajas relaciones señal a ruido. Los trazadores con elevada absorción y rápido retiro mediante lavado en cerebros normales, tienen elevadas relaciones señal a ruido y son considerados ideales. Los carbazoles marcados con ^{18}F poseen propiedades ideales de formación de imagen del cerebro. Por ejemplo, se preparó un carbazol marcado con ^{18}F y se administró a una rata Sprague-Dawley blanca normal (Figura 6 de USSN 12/372.717). En minutos, el trazador entro en el cerebro y fue retirado mediante lavado en varios minutos.

El carbazol no radioactivo también compite exitosamente con Tioflavina T y FDDNP en secciones de tejido celular, sugiriendo que el trazador se enlaza a sitios similares de enlace (Figuras 4 y 5 de USSN 12/372.717).

Tabla 4: Exitos en base a carbazol del ensayo de Biacore. Un signo "+" representa un éxito y el aumento en signos "+" se refiere al aumento de la afinidad de enlace. un signo "-" representa sin enlace .

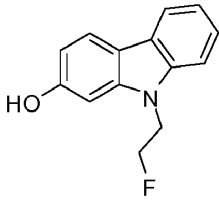
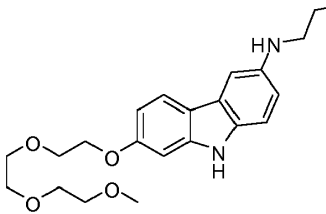
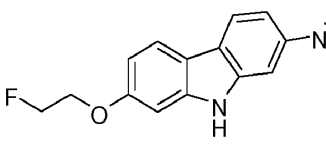
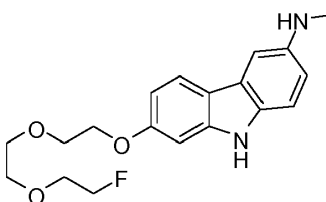
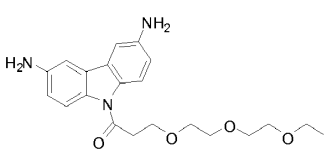
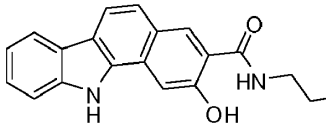
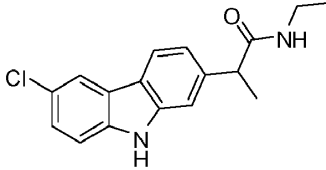
	Enlace con oligómeros/polímeros (Aβ1-42)	Enlace con fibrilas (Aβ1-42)
#54: Harmol		
	++	+
#55: 2-hidroxicarbazol		
	+++	+
#73: 7,8-dihidroxi-4-fenilcumarina		

En la tabla 5 se muestra una lista de ejemplos de agentes de formación de imagen en base a carbazol. Muchos de los compuestos son marcados como ^{18}F o ^{11}C .

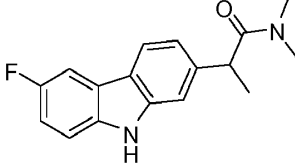
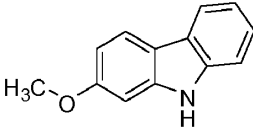
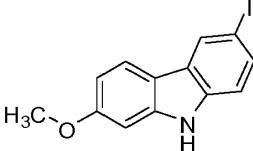
Tabla 5: ejemplos de agentes de formación de imagen en base a carbazol, que se incluyen para propósitos de referencia. cualquiera de estos puede incluir un halógeno y/o un radionucleido o puede ser "frío". el halógeno puede ser reemplazado con un radionucleido tal como ^{18}F .

Nombre del compuesto	Estructura	Fórmula	Peso mol.
2-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol		$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{FNO}$	229,25

(continuación)

Nombre del compuesto	Estructura	Fórmula	Peso mol.
9-(2-fluoroetil)-9H-carbazol-2-ol		$C_{14}H_{12}FNO$	229,25
N-(2-fluoroetil)-7-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-3-amina		$C_{21}H_{27}FN_2O_4$	390,45
7-(2-fluoroetoxi)-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina		$C_{16}H_{17}FN_2O$	272,32
7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N-metil-9H-carbazol-3-amina		$C_{19}H_{23}FN_2O_3$	346,40
1-(3,6-diamino-9H-carbazol-9-il)-3-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)propan-1-ona		$C_{21}H_{26}FN_3O_4$	403,45
N-(2-fluoroetil)-2-hidroxi-11H-benzo[a]carbazol-3-carboxamida		$C_{19}H_{15}FN_2O_2$	322,33
2-(6-chloro-9H-carbazol-2-il)-N-(2-fluoroetil)propanamida		$C_{17}H_{16}ClFN_2O$	318,77

(continuación)

Nombre del compuesto	Estructura	Fórmula	Peso mol.
2-(6-fluoro-9H-carbazol-2-il)-N,N-dimetilpropanamida		$C_{17}H_{17}FN_2O$	284,33
2-metoxi-9H-carbazol		$C_{13}H_{11}NO$	197,23
6-iodo-2-metoxi-9H-carbazol		$C_{13}H_{10}INO$	323,13

Protocolo detallado de ensayo de Biacore:

- 5 **Agregados solubles de β -amiloide (A β 42) (oligómeros/polímeros solubles).** se mezcló biotina-LC-A β 42 con A β 42 en una relación de 3:2. después de disolver en NH_4OH al 1% y dH_2O , se incubó la mezcla (concentración 40 μM) en amortiguador IX PBS (pH 7,4) a temperatura ambiente por 6 horas para formar oligómeros/polímeros solubles. se retiró el monómero de A β 42 libre en la muestra, utilizando un tubo filtro de centrifuga Microcon con un corte de 10 KDa de peso molecular. Los oligómeros/polímeros de biotina-LC-A β 42 fueron inmovilizados sobre chip de SA mediante captura de estreptavidina-biotina.
- 10 **Agregados insolubles (fibrilas) de β -amiloide (A β 42).** Se prepararon fibrilas de acuerdo con procedimientos publicados previamente (Agdeppa ED et al. 2001). Brevemente, se disolvieron 0,5 mg de A β 42 (Biotina-LC-A β 42:A β 42 = 1:1) en 1 ml de PBS, pH 7,4, y se mezcló con una barra de agitación magnética por 3 días a 37 °C, dando como resultado una solución visiblemente nubosa. Se colectó la pella de fibrila mediante centrifugación. Las fibrilas de Biotina-LC-A β 42 fueron inmovilizadas sobre chip de SA mediante captura de estreptavidina-biotina.
- 15 **Discriminación de compuestos de enlace de amiloide con Biacore (análisis de resonancia de Plasmon de superficie).** Se inmovilizaron oligómeros/polímeros solubles A β 42 o fibrilas sobre Flow Cell 2 (Fc2) o Flow Cell 3 (Fc3) del Sensor Chip, con Fc1 sirviendo como el control. Se hicieron fluir compuestos de discriminación a concentración de 10 μM , a través de Fc1, Fc2, y Fc3 por 2 minutos una tasa de flujo de 30 $\mu l/min$ uto. Se lavaron entonces las Celdas de Flujo con flujo de amortiguador (IX PBS) por 2 minutos, y se regeneraron con NaOH 50 mM por 30 segundos. Se registró en la gráfica del sensor, el tiempo real de interacción entre el compuesto de discriminación y los agregados de amiloide inmovilizados sobre la superficie del chip.
- 20 **Inmunotinción de secciones de cerebro con Tioflavina T.** Después de la fijación, se infiltraron con parafina muestras de cerebro de donantes con enfermedad de Alzheimer. Los bloques de parafina con muestras de cerebro empotradas fueron montados sobre microtomo y seccionados. A las secciones se retiró entonces la parafina y se les hidrató, seguido por incubación con o sin AD-CB-001S-WZ01013. La tinción fue llevada a cabo con Tioflavina T1 μM . Se obtuvieron imágenes con un microscopio de fluorescencia (Figura 4 de USSN 12/372.717).
- 25 **Inmunotinción con FDDNP de secciones del cerebro.** Después de la fijación, se infiltraron con cera de parafina muestras de cerebro de donantes con enfermedad de Alzheimer. Los bloques de parafina con muestras empotradas de cerebro fueron montadas sobre microtomo y seccionadas. A las secciones se les retiró la parafina y se hidrataron, seguido por incubación con o sin AD-CB-001S-WZ01013. La tinción fue llevada a cabo con FDDNP 1 μM . Las imágenes fueron obtenidas con un microscopio de fluorescencia (Figura 5 de USSN 12/372.717).
- 30

Resultados de formación de imágenes de AD-CB-001

Una rata Sprague-Dawley blanca fue inyectada vía vena de la cola con ~850 uCi de AD-CB-001, formulada en 10% EtOH: agua. Se condujo un barrido dinámico por 30 min en un escáner R4 microPET. Los datos fueron reconstruidos usando marco de 1 min. En el curso de minutos, el trazador entró al cerebro de la rata y rápidamente fue retirado por lavado (Figura 6 de USSN 12/372.717).

5 Procedimiento general para la protección de carbazol con N-Boc:

En un frasco de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, séptum de caucho, y entrada de argón, que contenía THF (40 vol) se colocó carbazol (1,0 equiv). A esta solución se añadió NaH (dispersión al 60% en aceite, 3 equiv) a 0 °C y se permitió la agitación de la reacción a 0 °C por 30 min. A esta reacción se añadió (Boc)₂O (1,2 equiv) a 0 °C y se permitió la agitación de la reacción por 1 h. Una vez la reacción estuvo completa según LCMS, se introdujo agua (25 vol) y se realizó extracción dentro de EtOAc (3 x 20 vol). Se lavaron con agua los extractos orgánicos combinados (2 x 25 vol), se secó (Na₂SO₄) y se concentró al vacío. Se purificó el residuo sobre gel de sílice usando hexanos:EtOAc como un eluyente para acceder al producto final.

Procedimiento general para la N-metilación de carbazol:

En un frasco de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, séptum de caucho, y entrada de argón, que contenía THF (50 vol) se colocó carbazol (1,0 equiv). A esta solución se añadió NaH (dispersión al 60% en aceite, 3 equiv) a 0 °C y se permitió la agitación de la reacción a 0 °C por 30 min. A esta reacción se añadió MeOTf (1,0 equiv) a 0 °C y se permitió la agitación de la reacción por 1 h. Una vez la reacción estuvo completa según LCMS, se introdujo agua (25 vol) y se realizó extracción dentro de EtOAc (3 x 20 vol). Se lavaron con agua los extractos orgánicos combinados (2 x 25 vol), se secó (Na₂SO₄) y se concentró al vacío. Se purificó el residuo sobre gel de sílice usando hexanos:EtOAc como un eluyente para acceder al producto final.

Procedimiento experimental general para la alquilación fenólica:

En un frasco de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, que contenía DMF (20 vol) se colocó **fenol** (1 equiv). A esta solución se añadió **agente de alquilación** (1,0 equiv), Cs₂CO₃ (1,2 equiv) y se permitió la agitación de la reacción a 60 °C por 16 h. Se introdujo entonces la reacción en agua (25 vol) y se realizó extracción dentro de EtOAc (3 x 20 vol). Se lavaron con agua los extractos orgánicos combinados (2 x 25 vol), se secó (Na₂SO₄) y se concentró al vacío. Se purificó el residuo sobre gel de sílice usando hexanos:EtOAc como un eluyente para acceder al producto final.

Procedimiento experimental general para la reacción de acoplamiento de Suzuki:

En un frasco de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, séptum de caucho, y entrada de argón, que contenía tolueno:H₂O (1:1, 40 vol) se colocó **compuesto de cloro** (1 equiv). A esta solución se añadió **ácido borónico** (1,5 equiv), Pd(PPh₃)₄ (0,02 equiv), K₂CO₃ y se permitió la agitación de la reacción a 110 °C por 16 h. Se introdujo entonces la reacción en agua (25 vol) y se realizó extracción dentro de EtOAc (3 x 20 vol). Se lavaron con agua los extractos orgánicos combinados (2 x 25 vol), se secó (Na₂SO₄) y se concentró al vacío. Se purificó el residuo sobre gel de sílice usando hexanos:EtOAc como un eluyente para acceder al producto final.

35 Procedimiento experimental general para la formación de carbazol formación usando P(OEt)₃:

En un frasco de fondo redondo equipado con una barra de agitador magnético, que contenía P(OEt)₃ (25 vol) se colocó **biarilo** (1 equiv.). Se permitió la agitación de la reacción a 150 °C por 16 h. Una vez la reacción estuvo completa, se retiró al vacío el P(OEt)₃. Se purificó el residuo sobre gel de sílice usando hexanos:EtOAc como el eluyente, para tener acceso al compuesto final.

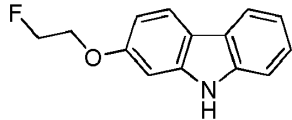
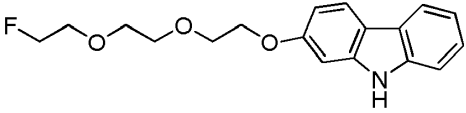
40 Ensayo de competencia ex vivo usando tinción de autorradiografía de amiloide (tajadas de cerebro de paciente con EA)

La serie de carbazol de agentes de formación de imagen EA despliega de manera sorprendente buenas calidades cuando se compara con resultados establecidos previamente, ejecutados por otros. Los datos de la técnica previa sugieren que los compuestos con mayores valores LogP tienen mayores afinidades por amiloide, aunque estos mismos compuestos pueden también sufrir de elevado enlace no específico, es decir pobre remoción del cerebro por lavado (J. Molecular Neuroscience 2003,20, 255-260). Para los estudios divulgados en esta memoria, se usaron los valores cLogP en lugar de valores LogP.

Se condujo un estudio para examinar las relaciones de enlace a materia gris frente a materia blanca, para 4 trazadores diferentes: CB-001, CB-003, FDDNP y F-PiB (Figura 7 y Figura 8 de USSN 12/372.717). En este estudio no se examinó un carbazol conocido que contenía agente de formación de imagen, ¹⁸F-fluorocarazolol, debido a su valor cLogP relativamente bajo (2,77) comparado con FDDNP y PiB, y su absorción específica de competencia dentro de los beta-adrenoceptores. Adicionalmente no existen datos de técnica previa, que sugieran que el ¹⁸F-fluorocarazolol se enlaza a placas de EA. Después de haber incubado con un trazador dado por 30 min las tajadas de cerebro humano de pacientes de EA, se lavaron las tajadas con diferentes soluciones de EtOH: agua, en un intento para optimizar las relaciones de materia gris a materia blanca (Figura a de USSN 12/372.717). Los resultados fueron sorprendentes e

- 5 inesperados en vista del trabajo ejecutado previamente. CB-001 tuvo un cLogP ligeramente mayor que FDDNP (3,8 vs 3,4) y se esperaba que tuviera lavado más pobre que FDDNP, sobre la base de estos valores. Sin embargo, a pesar de la diferencia en valores cLogP, CB-001 tiene una menor propensión al enlace no específico y despliega una relación de materia gris a materia blanca mucho mejor, comparada con FDDNP (véase la sección arriba, "lavado original"). Más específicamente, el enlace a materia blanca de FDDNP es con varios tonos más oscuro que el enlace a la materia blanca de CB-001, indicando bajo enlace no específico de CB-001. En contraste, F-PiB, que tiene un valor cLogP de 3,99, también despliega relaciones de enlace razonables, similares a CB-001, aunque despliega una señal global muy débil. Los datos de lavado sugieren que los carbazoles son un objetivo viable y novedoso para la formación de imágenes de objetivos relacionados con EA, debido a sus propiedades únicas de enlace y remoción por lavado.
- 10 Para ampliar sobre estos resultados, se preparó y probó CB-003, un trazador con un valor cLogP similar a FDDNP. El uso de condiciones de lavado que fueron de lejos más suaves que las condiciones rigurosas de lavado (Figura 9 de USSN 12/372.717), CB-003 desplegó excelentes relaciones de enlace de materia gris a materia blanca, que son de lejos superiores a los resultados tomados de FDDNP, PiB y CB-001. Estos resultados únicos y favorables sugieren que CB-003 tendría una remoción del cerebro por lavado más favorable en sistemas vivos, conduciendo a absorción más específica y a enlace no específico disminuido, conduciendo a una clara ventaja sobre la formación de imágenes con FDDNP y PiB.
- 15

Sumario de resultados del lavado:

Nombre	Estructura	cLogP	Relación de enlace a materia gris/enlace a materia blanca, usando condiciones severas de lavado de FDDNP *	Relación de enlace a materia gris/enlace a materia blanca, usando condiciones suaves de lavado **
CB-001		3,789	Excelente	Pobre
CB-003		3,4032	N/A	Excelente
*Condiciones de lavado de FDDNP publicadas: 30 min de incubación de trazador CB-1 o CB-3, lavado de PBS (5 min), 70% EtOH: agua (1 min), 90% EtOH:agua (1 min), 70% EtOH:agua (1 min), PBS (5 min). las tajadas de cerebro tenían un espesor de 20 um. **condiciones de lavado suave: 30 min de incubación de trazador CB-1 o CB-3, lavado de PBS (5 min), 30% EtOH:agua (2 min), 40% EtOH:agua (2 min), 20% EtOH:agua (2 min), PBS (5 min). las tajadas de cerebro tenían un espesor de 20 um.				

- 20 Los resultados demuestran que 1) PiB bloquea la tinción con [18F]-CB001 con concentraciones crecientes, sugiriendo que los dos compuestos compiten por los mismos bolsillos de enlace de amiloide; 2) PiB parecen bloquear el enlace del trazador con la misma fuerza que CB001 frío, sugiriendo que ambos tienen afinidades de enlace similares; 3) FDDNP es mucho menos capaz de bloquear la tinción de [18F]-CB001, debido a su más baja afinidad de enlace con amiloide.

- 25 Estos datos sugieren el siguiente orden de enlace (no específico) con materia blanca: FDDNP > CB001 > [18F]-PiB > CB003.

Determinación de IC50 con [18F]-PiB mediante ensayo de competencia ex vivo usando tinción de autorradiografía

Código del compuesto	IC50													Promedio de IC50	SD	SD %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13			
F-PiB						43		43	40	50	55	41		45	6	13
PiB	80	40	40	48	60	43	50						280	52	14	28
CB7	260		170		200	290							300	244	57	23
CB4	260		350		300	300							400	322	54	17
CB12				610	300	450	390							438	130	30
CB24							540							540		
CB1	1.000	480												740	368	50
CB10				900										900		
CB3	1.100					900							920	973	110	11

Para demostrar adicionalmente la eficiencia en el empleo de estos trazadores relacionados con CB como agentes formadores de imagen de EA, se usó CB-003 para diferenciar claramente entre un cerebro saludable y un cerebro de EA (Figura 10 de USSN 12/372.717). Más específicamente, mediante el uso del protocolo de lavado suave, los depósitos de amiloide fueron claramente visibles en la materia gris con pequeña absorción de materia blanca. Los resultados fueron corroborados tanto con tinción de anticuerpo IHC como de amiloide de tioflavina T, confirmando la especificidad de la absorción. Estos resultados sorprendentes demuestran que este trazador posee la calidad única de rápida remoción de la materia blanca mediante lavado, y absorción significativamente alta en la materia gris, que es especificada para placas de EA.

Los carbazoles compiten directamente contra 18F-PiB por los mismos sitios de enlace en cerebros humanos con EA (Figura 11 de USSN 12/372.717). Este resultado sorprendente no podría haber sido predicho dadas sus estructuras disímiles y carencia por parte de CB-003 de un grupo OH fenólico y grupo NH-Me terminal, de los cuales se estima son esenciales para enlazarse con placas de EA. Pese a que CB-003 carece de estos dos grupos funcionales, todavía compete con 18F-PiB por sitios de enlace en cerebros humanos con EA. Debido a la simplicidad de su estructura, los rendimientos de marcación de CB-001 y CB-003 son excepcionalmente elevados y mejores que el rendimiento de marcación de 18F-PiB.

Ensayo de resonancia de superficie de plasmon (SPR)

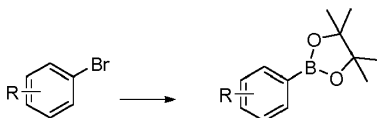
Se desarrolló un ensayo usando un instrumento Biacore que introdujo los ligandos sobre proteína objetivo inmovilizada sobre superficie de oro y se midieron las tasas resultantes de asociación y disociación, con objeto de probar diferentes compuestos que se enlazan con oligómeros, polímeros y fibrilas solubles de EA (Figuras 12 a 17 de USSN 12/372.717).

Las series de carbazol también demostraron una habilidad única y sorprendente para enlazarse favorable y preferencialmente a agregados insolubles (9 nM) sobre agregados solubles (262 nM) (Figura 12 y Figura 13 de USSN 12/372.717). PiB también se enlaza bien a agregados insolubles (16 nM) pero también se enlaza esencialmente igualmente bien a agregados solubles (48 nM) (Figura 14 y Figura 15 de USSN 12/372.717). Para aplicaciones de formación de imagen en las que es favorable distinguir entre un enlace de trazador con agregados insolubles versus solubles, CB-003 suministra una relación de enlace mayor, de 29:1, mientras PiB suministra sólo una relación de 3:1. Así, CB-003 puede suministrar información de enlace más selectiva respecto a PiB. Los resultados indican que 1) para enlace de agregados solubles, PIB > CB3 > CB4; y 2) para enlace de agregados insolubles, PIB = CB3 > CB4.

Formación de imágenes con MicroPET con [18F]-CB-001 o [18F]-CB-003 en ratones WT y App

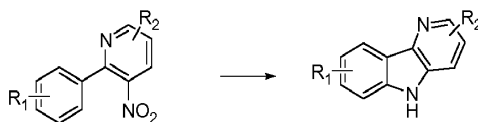
Los resultados demuestran que 1) los ratones WT y App muestran diferencias estadísticamente significativas en retención de trazador en el cerebro (Figura 18A, Figura 18B y Figura 19 de USSN 12/372.717); 2) los ratones App muestran relaciones cerebro/músculo hasta 25% mayores comparadas con ratones WT (Figura 20 y Figura 21 de USSN 12/372.717). Los carbazoles despliegan una absorción sorprendentemente alta en cerebros de ratón (tanto WT como APP) y remoción mediante lavado suficientemente lenta, tal que pueden distinguirse los ratones WT de los APP (Figura 22 y Figura 23 de USSN 12/372.717). Sin estar ligados a ninguna teoría propuesta en esta memoria, se especula que la razón detrás de estos resultados puede ser que CB-003 posee una tasa de remoción por lavado más rápida que 18F-PiB, lo cual es consistente con los datos de tinción: 18F-PiB requiere condiciones de lavado más severas, con objeto de dar relaciones razonables de materia gris a materia blanca. La remoción rápida de CB-003 por lavado es presumiblemente un factor principal para su baja unión no específica, sin embargo la remoción por lavado es suficientemente lenta para distinguir WT de APP. Esto sugiere que los carbazoles despliegan una combinación única de excelente remoción por lavado y propiedades de retención en cerebros humanos con EA, lo que no es obvio a partir de los datos de la técnica previa. CB-003, siendo un compuesto neutro, también poseería potencialmente valores de absorción mayores versus los agentes de formación de imagen en base a compuestos zwitteriónicos, tales como azul de metileno.

Procedimiento experimental general para la boronación de bromuro de arilo hasta éster arilborónico de pinacol



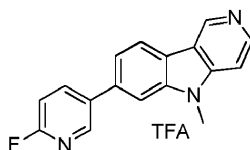
A un vial para microondas con una barra de agitación magnética, se añadieron los materiales de partida de bromuro de arilo (1 equiv), Pd(dppf)Cl₂ (0,05 eq), acetato de potasio (3 eq) y bis(pinacol)borato (1,2 eq). El sólido fue disuelto en DMSO (5 vol), sellado y calentado hasta 80 °C en un baño de aceite por 40-50 horas. La reacción fue diluida con salmuera a la que se había realizado extracción con éter/hexanos o DCM. Se concentraron las capas orgánicas combinadas, se purificó el residuo sobre gel de sílice usando hexanos:EtOAc o DCM:EtOAc o DCM:MeOH como el eluyente para acceder al éster borónico.

Procedimiento experimental general para la formación de ciclo de aza-carbazol a partir del precursor de biarilo sustituido con nitro:



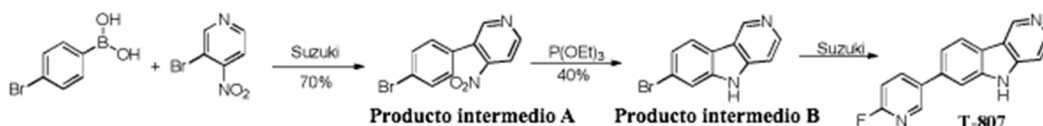
- 5 A un vial para microondas con una barra magnética para agitación, se añadió el precursor de biarilo sustituido con nitro, haluro de arilo/heterocíclico (1 equiv), trietil fosfito (4-8 eq). Se calentó la suspensión a 120-135 °C (depende de la reactividad del material de partida y estabilidad del producto) en un baño de aceite por 2 horas. Se concentró al vacío la reacción para retirar todos los volátiles. Se purificó el residuo sobre gel de sílice usando hexanos:EtOAc o DCM:EtOAc o DCM:MeOH como el eluyente para acceder al aza-carbazol.

10 **Sal de TFA y 7-(6-fluoropiridina-3-il)-5-metil-H-pirido[4,3-b]indol (AS-5357-55, T-820)**



- 15 Se alquilieron 0,010 g de **T-807** con dimetilacetona (2 eq) en DMF y Cs₂CO₃ (0,5 eq) a 160°C por 3 horas. Se purificó el residuo mediante HPLC usando ACN-H₂O con 0,05 % de TFA. Se aisló el **T-820** como un sólido blancuzco 0,006 g (72%); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 9,58 (s, 1H), 8,64 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,61 (dd, J = 6,8 y 0,8 Hz), 8,49 (dd, J = 8,4 y 0,8 Hz, 1H), 8,38 (qd, J = 8,0 y 2,4 Hz, 1H), 8,15 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,11 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,85 (d, J = 8,0 y 1,2 Hz, 1H), 7,23 (dd, J = 8,4 y 2,8 Hz, 1H), 4,16 (s, 3H); MS (ESI): 278,1 [+H⁺, base libre],

7-(6-Fluoropiridine-3-il)-5H-pirido[4,3-b]indole (AS-5357-18, T-807)

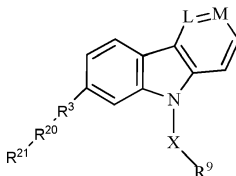


- 20 Se siguió el procedimiento experimental general para el acoplamiento de Suzuki (procedimiento A), para preparar el producto intermedio **A**. La reacción fue ejecutada sobre una escala de 0,6 g. El producto fue eluido en hexano-EtOAc en un sistema de purificación Combiflash, fue aislado 0,600 g (72%) de producto intermedio como un sólido amarillo claro; MS (ESI): 277 y 279 (M⁺) y (M⁺2H⁺). El producto intermedio **A** (0,6 g) fue transformado en ciclo usando el
- 25 procedimiento general de síntesis de carbazol (procedimiento CC), suministró carbazol **B**. El carbazol **B** fue eluido con DCM-MeOH en un sistema de purificación Combiflash, se aislaron 0,21 g (40%) como sólido de color marrón claro; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,9 (s, 1H), 9,36 (d, J = 0,88 Hz, 1H), 8,45 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,20 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,76 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,41 (d, J = 1,6 Hz, 1H); MS (ESI): 247 [M⁺] y 249 [M⁺2H⁺]. El carbazol **B** fue usado adicionalmente para el acoplamiento de Suzuki (procedimiento A). La reacción fue ejecutada
- 30 sobre una escala de 0,1 g. El producto **T-807** fue eluido con DCM-MeOH en un sistema de purificación Combiflash, se aislaron 0,056 g como un sólido blancuzco (56%) que fue purificado adicionalmente mediante HPLC usando ACN-H₂O con 0,05% de TFA; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 11,81 (s, 1H), 9,34 (s, 1H), 8,61 (dd, J = 1,6 y 0,8 Hz, 1H), 8,41-8,30 (m, 3H), 7,80 (dd, J = 4,0 y 0,4 Hz, 1H), 7,57 (dd, J = 8,4 y 1,6 Hz, 1H), 7,46 (dd, J = 6,4 y 0,8 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 8,4 y 2,8 Hz, 1H); MS (ESI): 264,3 [M+H⁺, base libre].

35

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



5 y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

en la que:

L es N o CR⁵;

M es N;

10 R⁵ es H, OH, halo, NH₂, CH₃, NO₂, arilo, alquenilo C₃-C₈, alquinilo C₃-C₈, cicloalquilo C₃-C₈, heteroarilo, N=NR¹², NHR¹², N(R¹²)₂, o (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², en la que R¹² es alquilo C₁-C₆, arilo, H o heteroarilo,

en la que por lo menos un H de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹², cicloalquilo C₃-C₈, arilo, alquenilo, alquinilo, o heteroarilo, es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, y alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂, y

15 en la que por lo menos un CH₂ de (-CH₂)₁₋₁₂-R¹² es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH-alquilo C₁₋₈ o N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,

y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, NH o N-alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo u OH,

20 X es un enlace o es alquilo C₁₋₁₄, en la que por lo menos un carbono es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, y en la que por lo menos un H de alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, alquilo C₁₋₆;

25 R⁹ es H, una azida, un alquino, OH, halo, NH₂, N(alquilo C₁₋₈)₂, arilo o heteroarilo, en la que por lo menos un H del arilo o heteroarilo es opcionalmente reemplazado por halo, NH₂, o alquilo C₁₋₆ o alquilo C₁₋₆, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₆ es opcionalmente reemplazado por halo, o cicloalquilo C₃-C₈, en la que por lo menos un H del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por halo y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado con O, OH, S, SH, NH, N- alquilo C₁₋₈;

R³ es un enlace o es por lo menos uno de O, S, C(O), SO₂, NH, N- alquilo C₁₋₈, (CH₂)₁₋₁₂, en la que por lo menos un C de (CH₂)₁₋₁₂ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, NH, N- alquilo C₁₋₈ y en la que por lo menos un H es opcionalmente reemplazado por alquilo C₁₋₈ o halo,

30 R²⁰ es arilo o heteroarilo; y

R²¹ es H, OH, halo, NH₂, CH₃, NO₂, (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃, o cicloalquilo C₃-C₈,

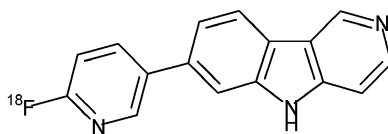
en la que por lo menos un H del (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃ o el cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH, NH₂, o alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo u OH,

35 y en la que por lo menos un CH₂ del (-CH₂)₁₋₁₂-CH₃ es opcionalmente reemplazado con C(O), O, S, SO₂, o NH, NH- alquilo C₁₋₈, N(alquilo C₁₋₈)₂, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,

y en la que por lo menos un CH₂ del cicloalquilo C₃-C₈ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO₂, o NH, N- alquilo C₁₋₈, en la que por lo menos un H del alquilo C₁₋₈ es opcionalmente reemplazado por halo, OH o NH₂,

y en la que R²¹ comprende un radionucleido,

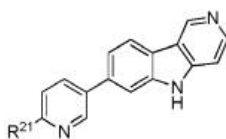
40 a condición de que el compuesto no sea



2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^3 es un enlace y R_{20} es heteroarilo.

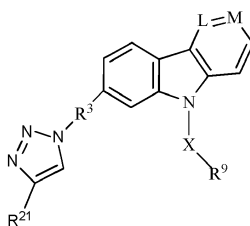
5 3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^3 es $(CH_2)_{1-12}$ y en el que por lo menos un C de $(CH_2)_{1-12}$ es opcionalmente reemplazado por C(O), O, S, SO_2 , NH, N- alquilo C_{1-8} y en el que por lo menos un H es opcionalmente reemplazado por alquilo C_{1-8} o halo.

4. El compuesto de la reivindicación 1 que es:



10 y sus sales y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,
en el que R^{21} es un radionucleido.

5. El compuesto de la reivindicación 1 que es:



15

6. El compuesto de la reivindicación 5 en el que R^3 es O.

7. El compuesto de la reivindicación 3, en el que R^{21} es alquilo C_4 con por lo menos un CH_2 reemplazado con NH, por lo menos un CH_2 reemplazado con C(O) y por lo menos un H reemplazado por halo.

20

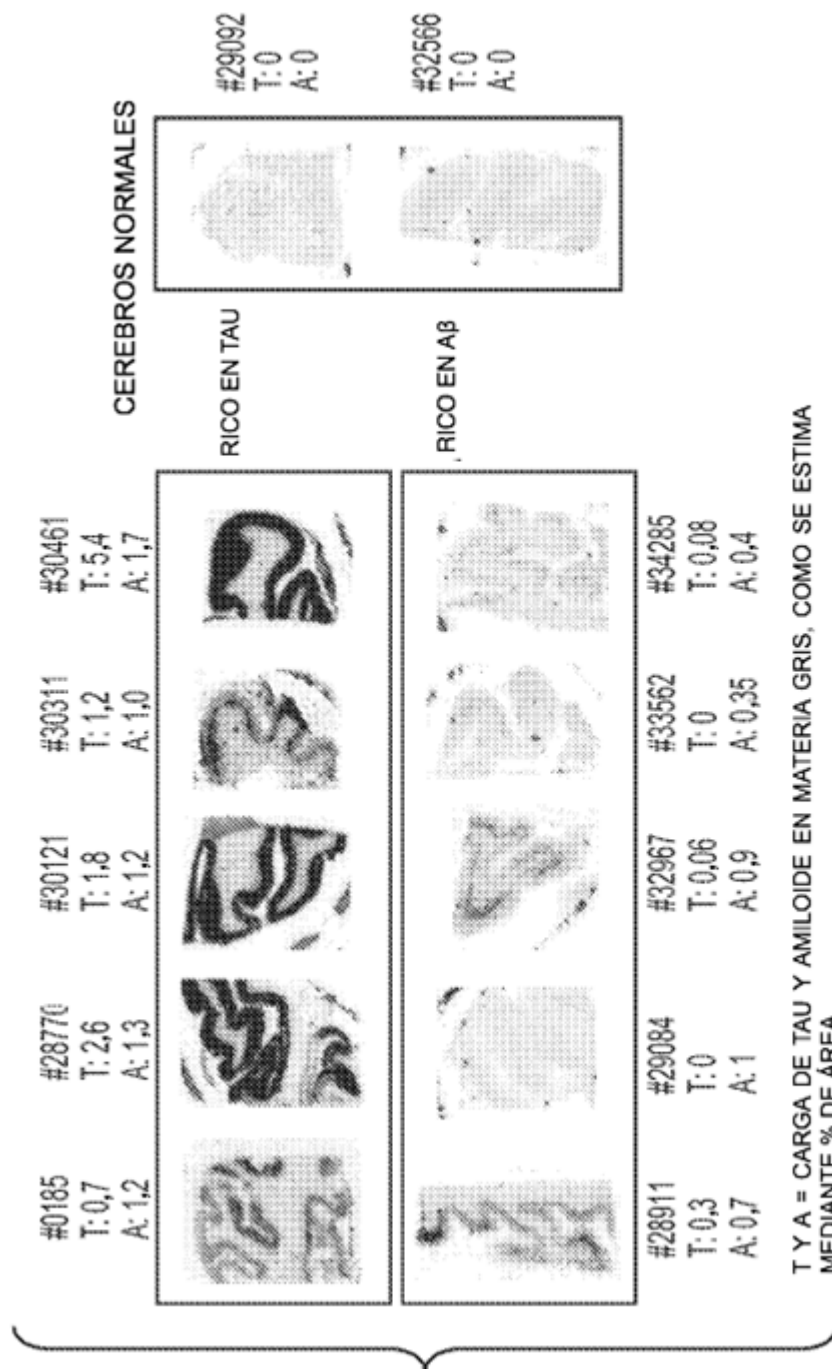


FIG. 1

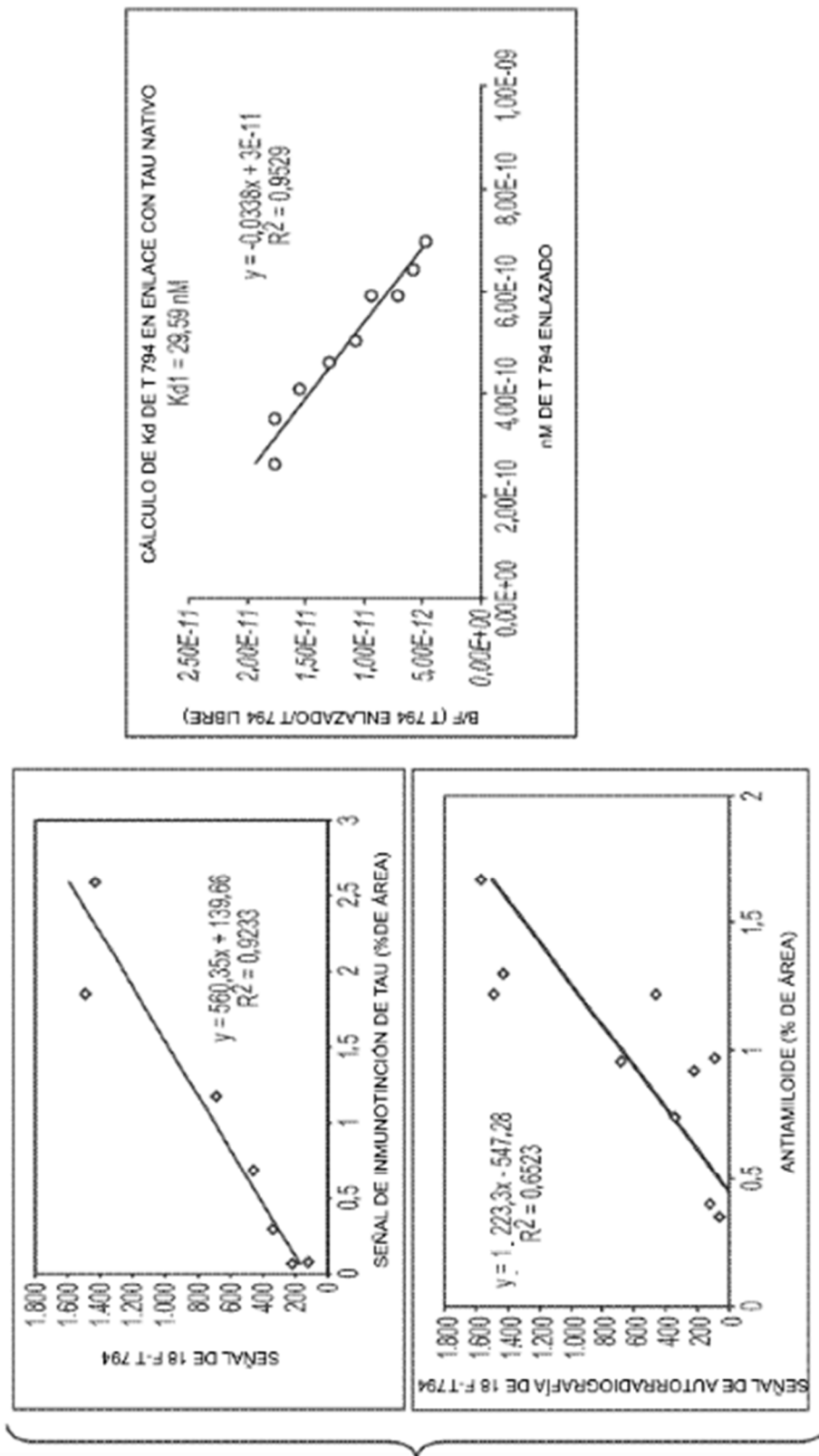


FIG. 2

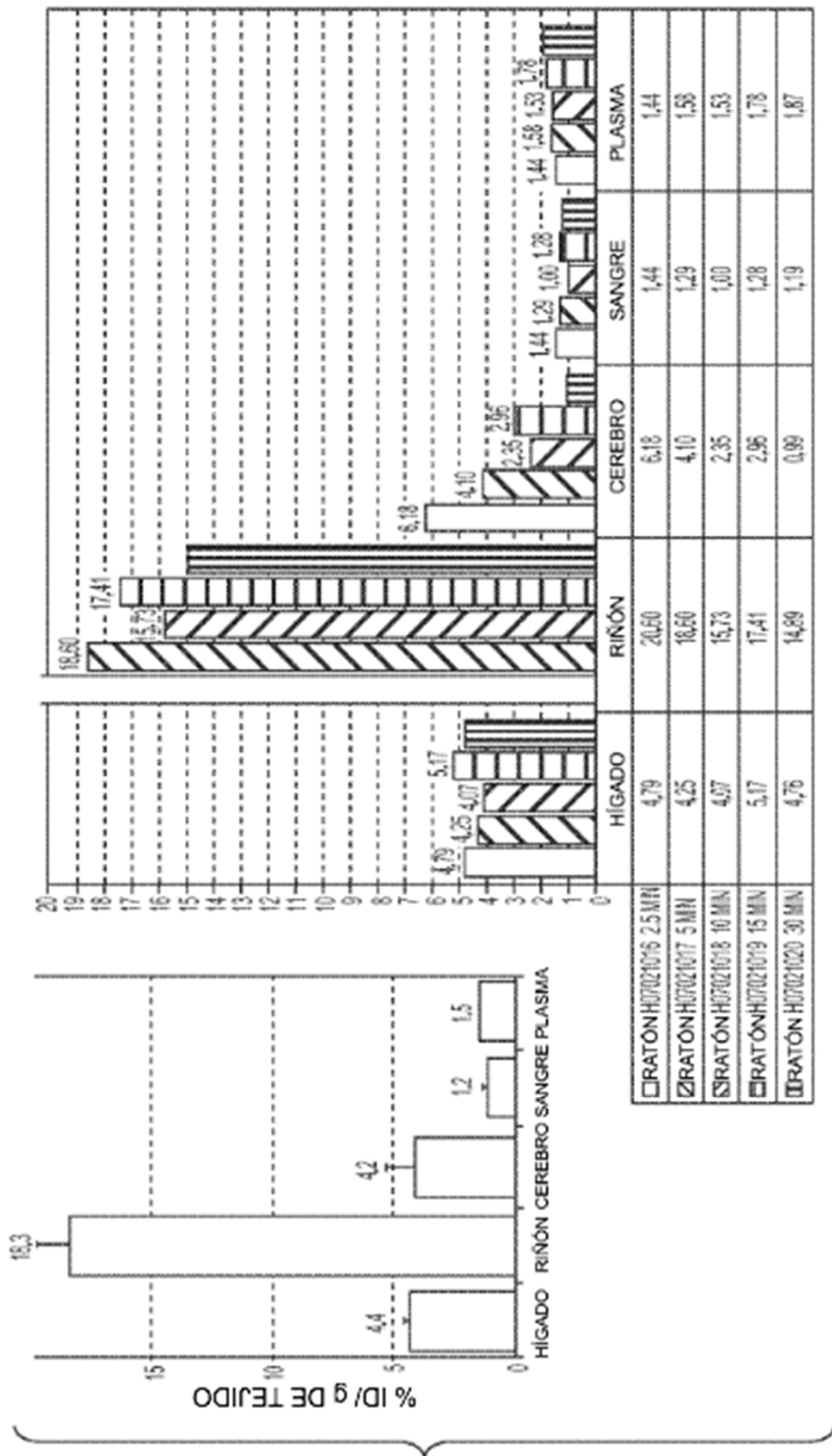


FIG. 3

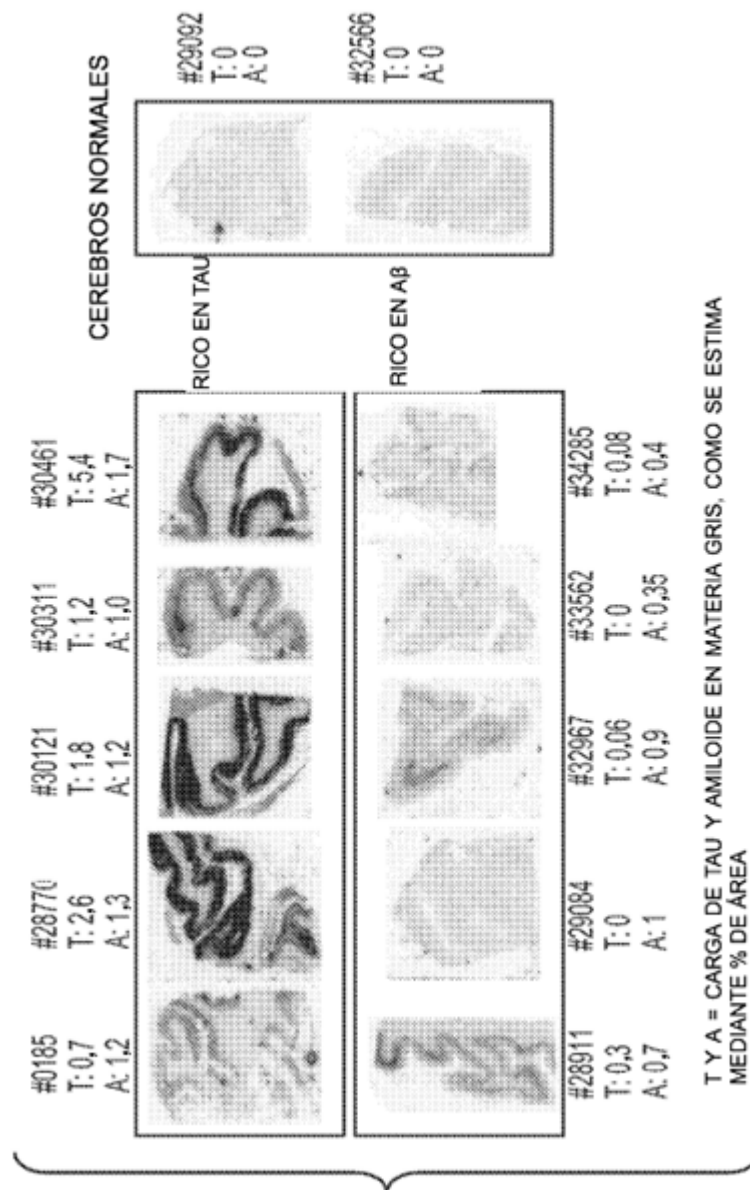


FIG. 4

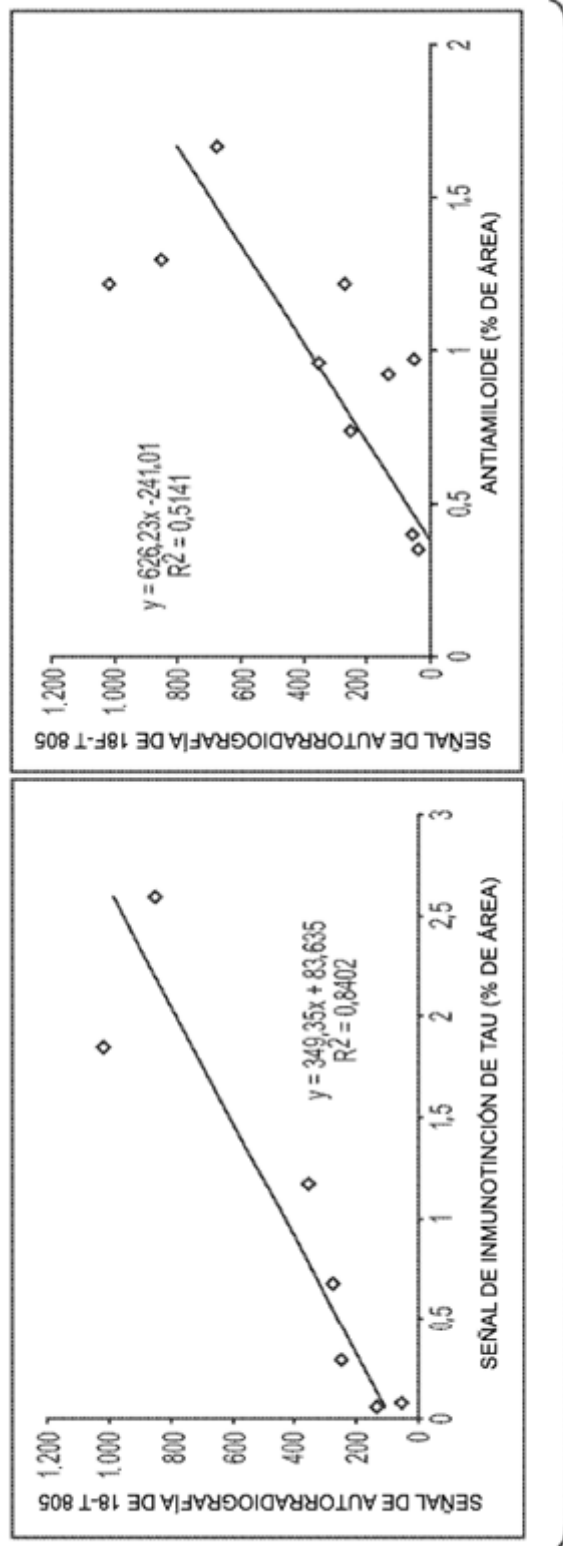


FIG. 5

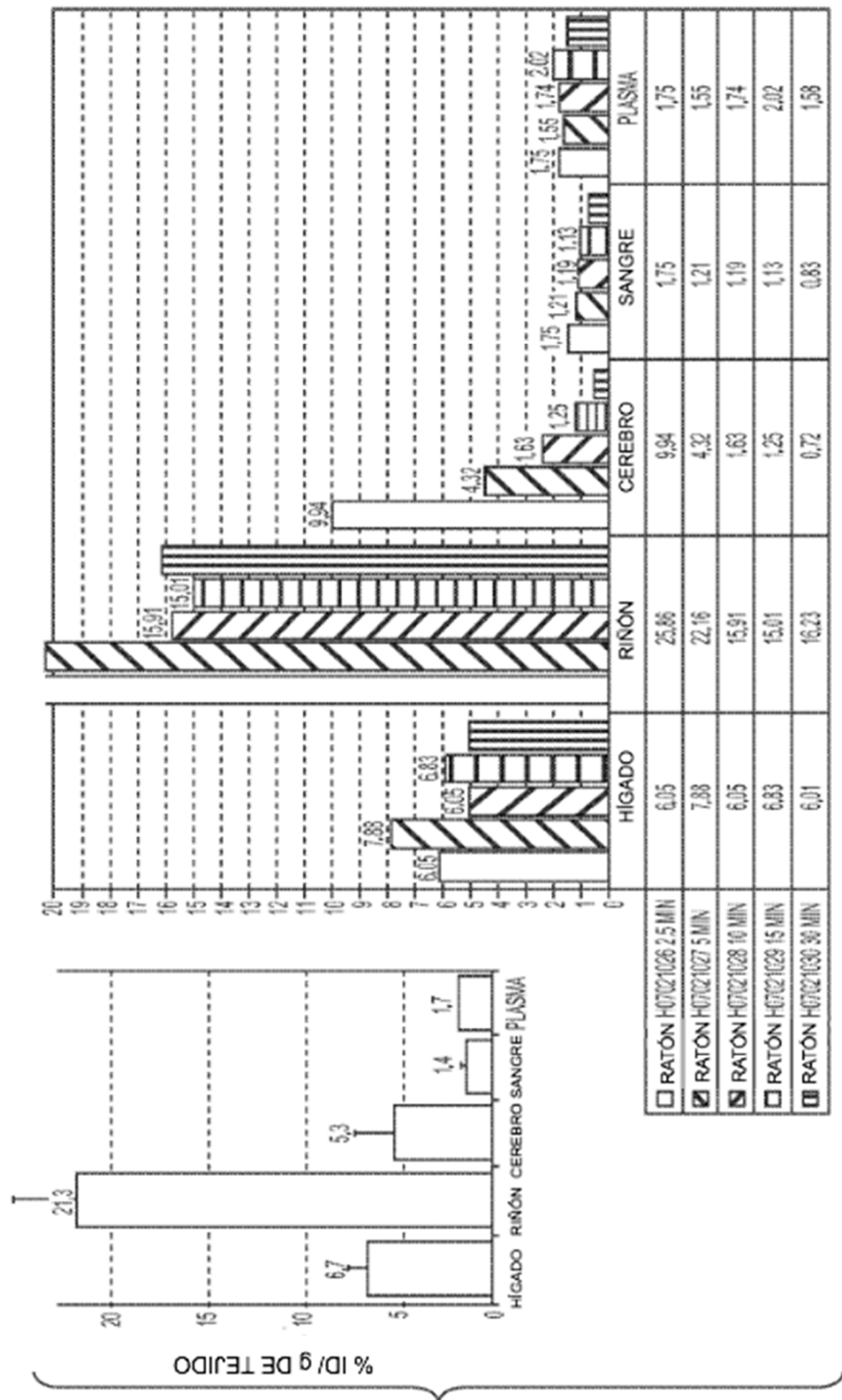


FIG. 6

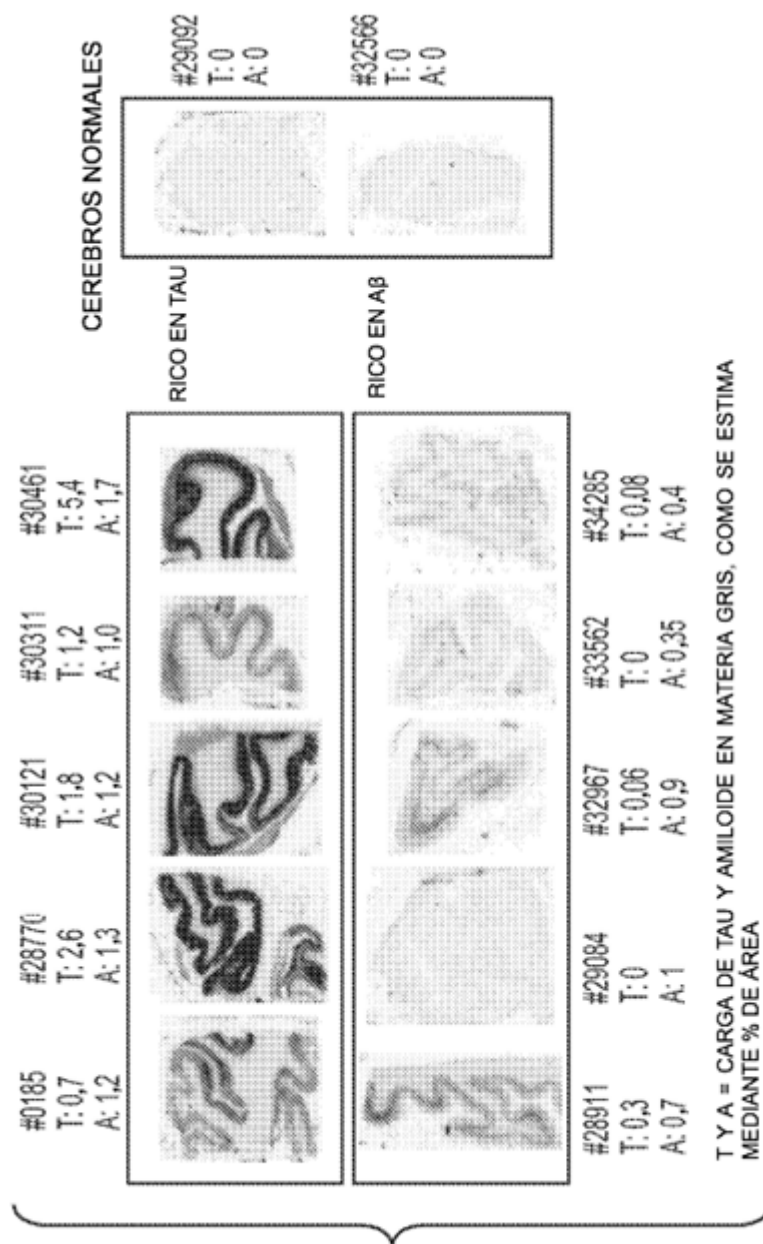


FIG. 7

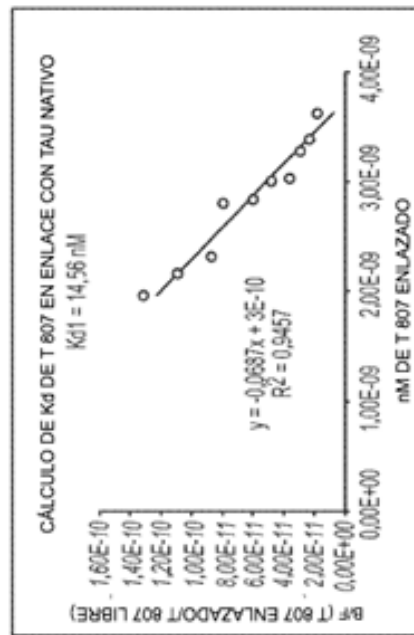
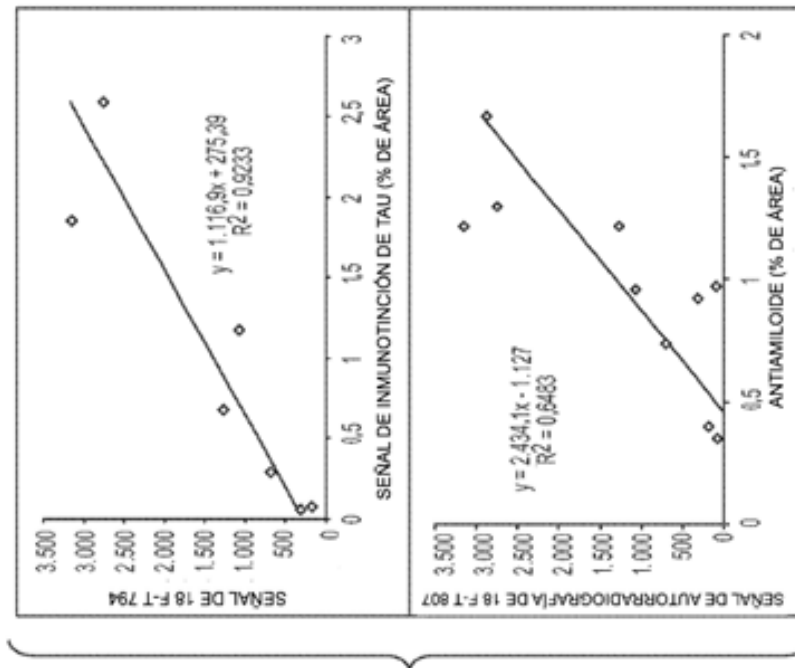


FIG. 8

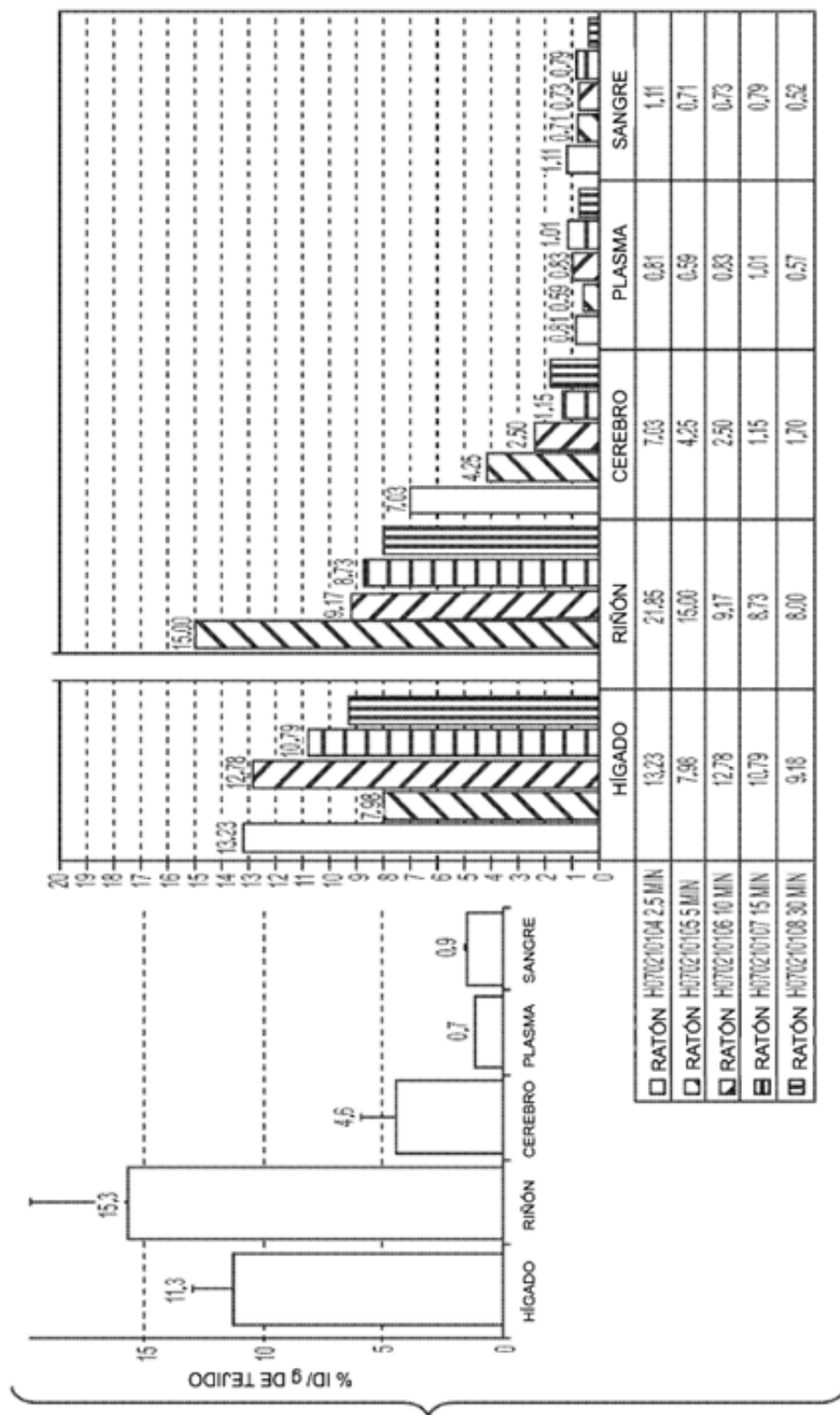


FIG. 9

MARCACIÓN DOBLE DE COMPUESTO T 687 (100 μ M) Y TINCIÓN DE PHF-TAU IHC SOBRE SECCIÓN DE CEREBRO HUMANO (60x)

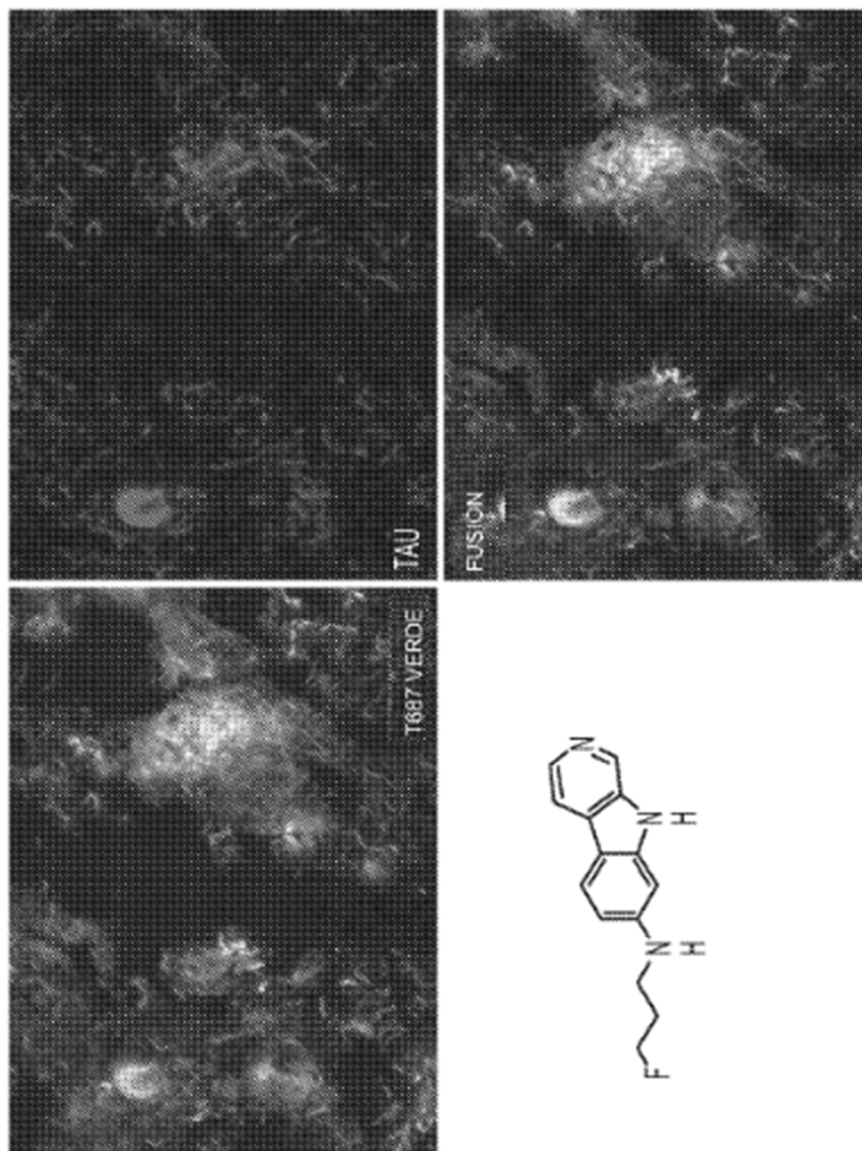


FIG. 10

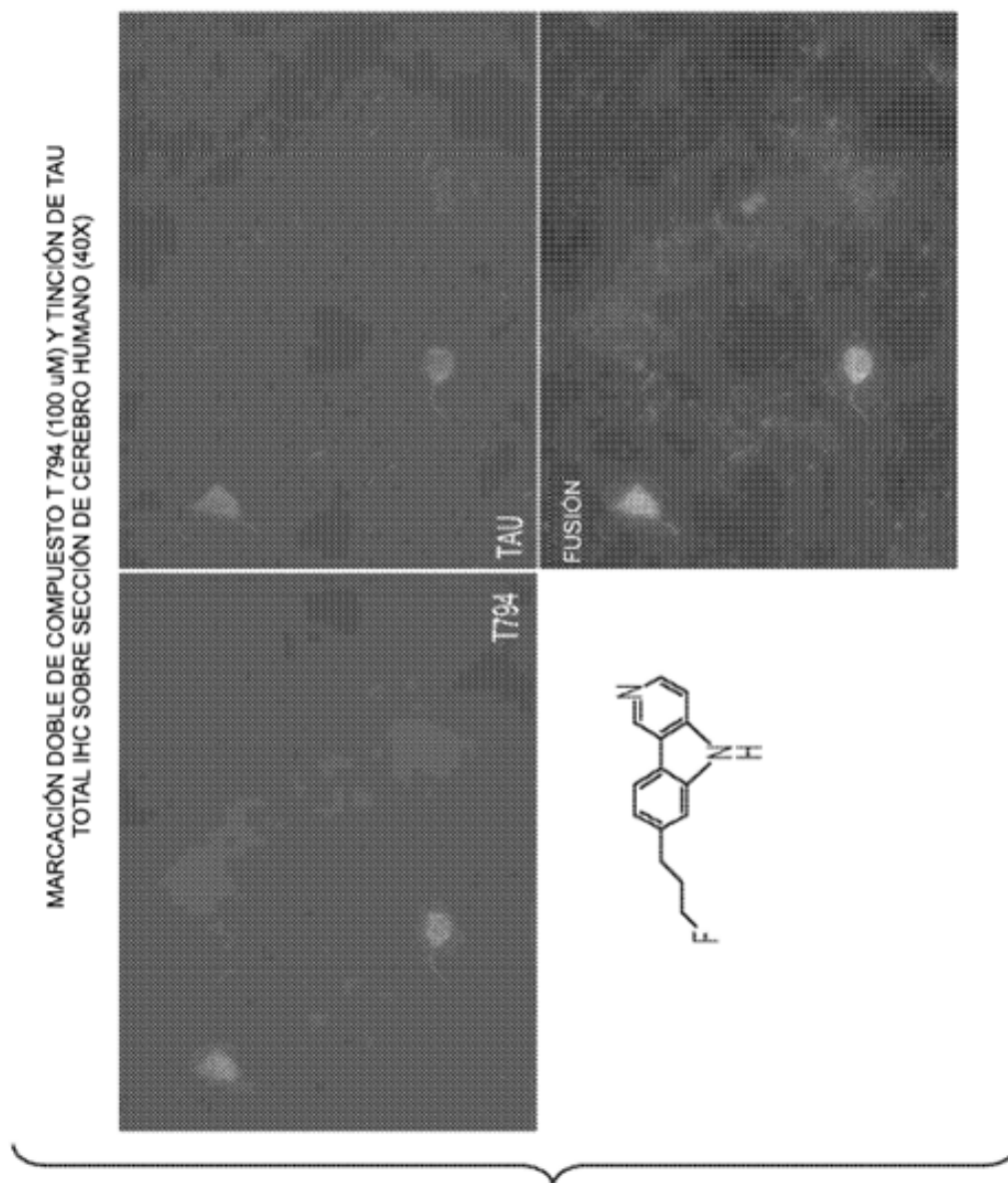


FIG. 11

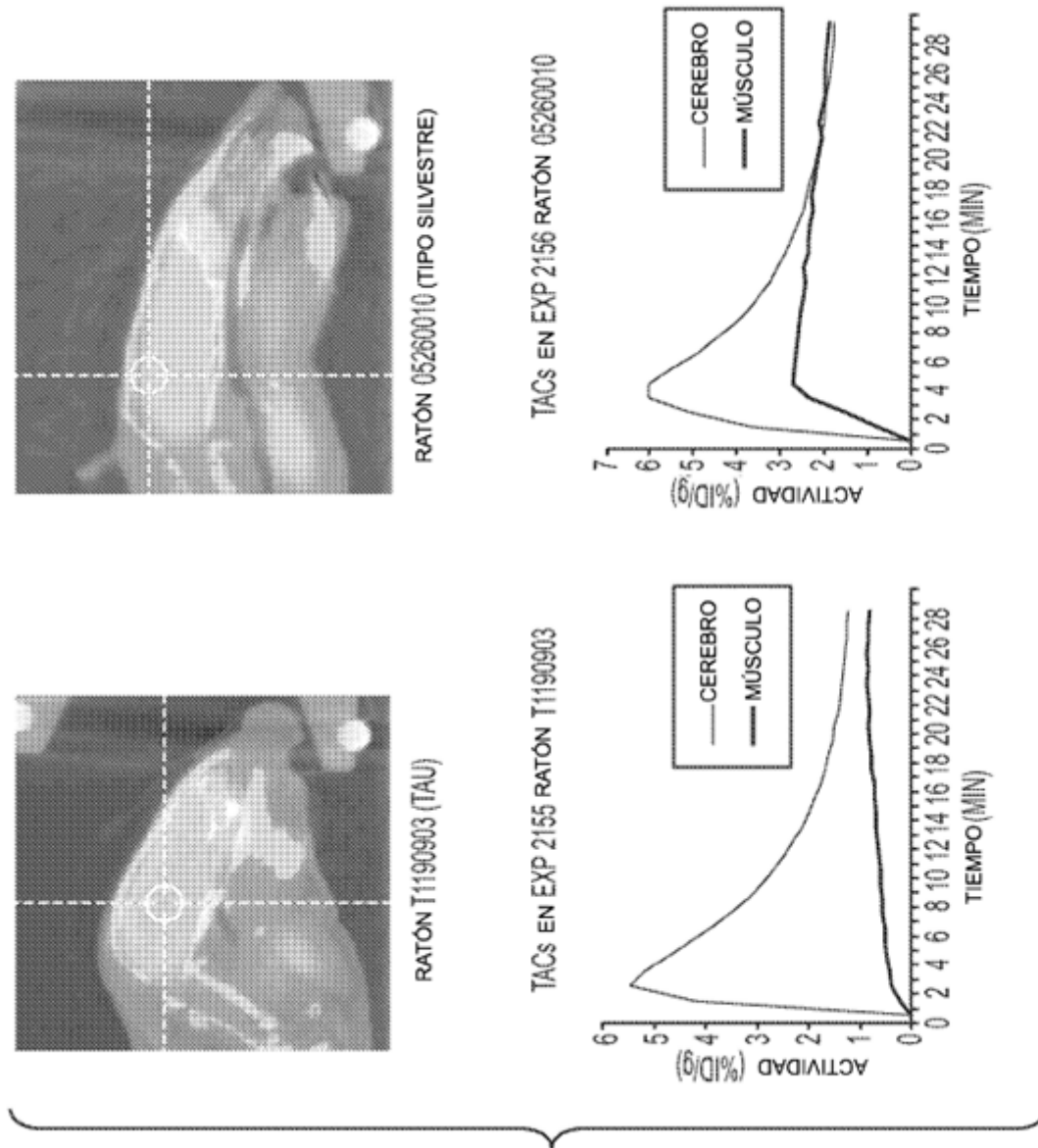


FIG. 12

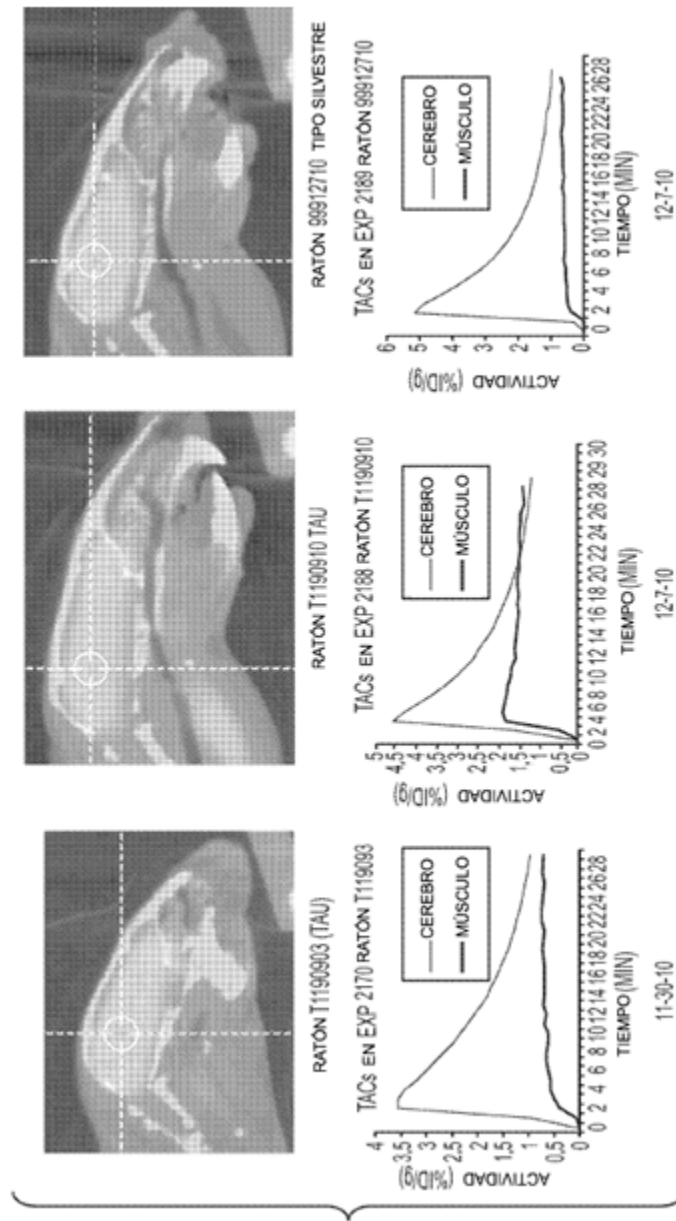


FIG. 13

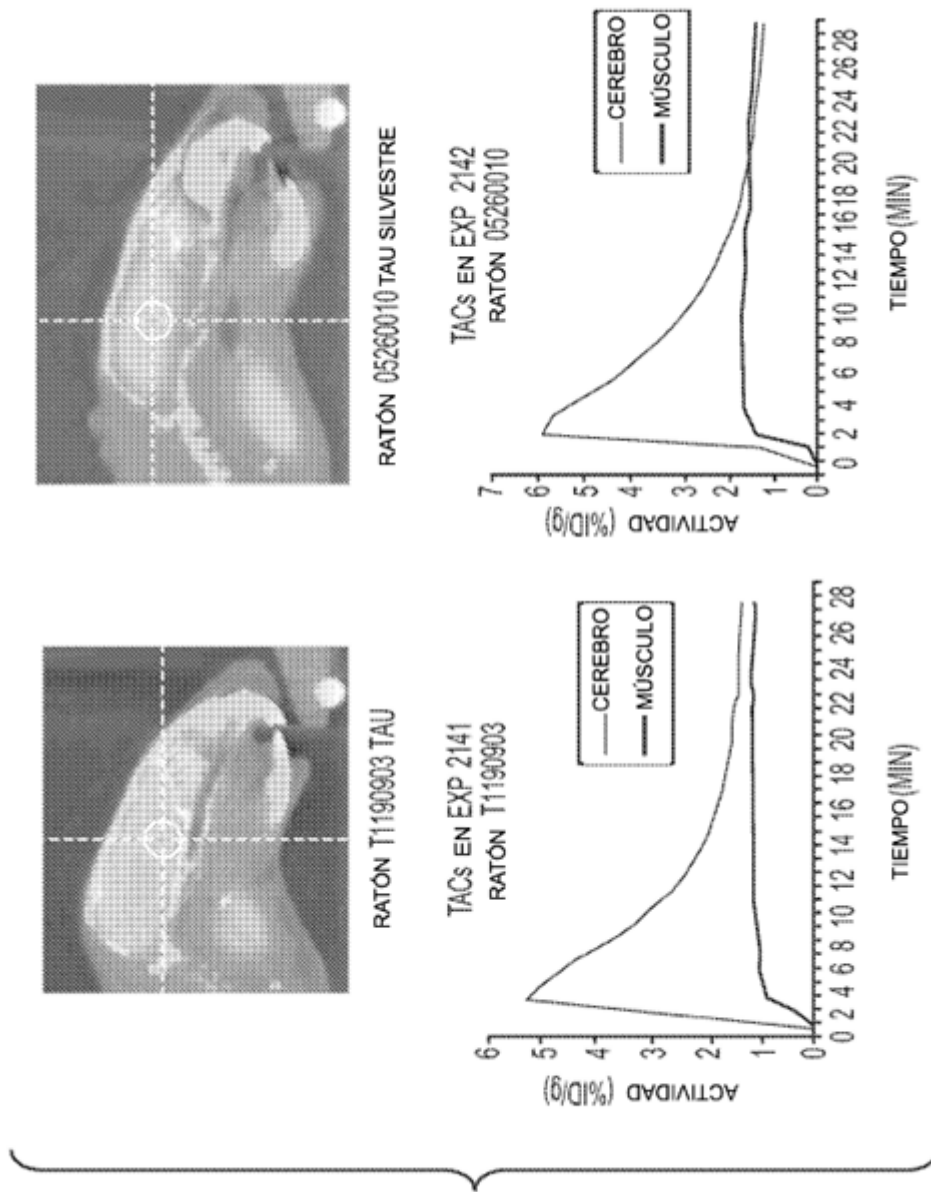


FIG. 14