

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 907 992**

(51) Int. Cl.:

C07B 59/00

(2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.02.2009 PCT/US2009/000961**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **20.08.2009 WO09102498**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.02.2009 E 09711194 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **03.07.2024 EP 2247558**

(54) Título: **Agentes novedosos de obtención de imágenes para detectar disfunciones neurológicas**

(30) Prioridad:

14.02.2008 US 66101 P

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

19.03.2025

(73) Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.00%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

(72) Inventor/es:

**KOLB, HARTMUTH C.;
WALSH, JOSEPH C.;
LIANG, QIANWA;
DUCLOS, BRIAN A.;
ZHANG, WEI;
SCOTT, PETER J.H.;
CHEN, KAI;
GAO, ZHIYONG;
ZHAO, TIEMING;
MOCHARLA, VANI P.;
KASI, DHANALAKSHMI;
CHEN, GANG;
WANG, ERIC;
SINHA, ANJANA;
XIA, CHUNFANG;
PADGETT, HENRY CLIFTON y
KARIMI, FARHAD**

(74) Agente/Representante:

GONZÁLEZ PESES, Gustavo Adolfo

DESCRIPCIÓN

Agentes novedosos de obtención de imágenes para detectar disfunciones neurológicas

Solicitudes relacionadas:

La presente solicitud se basa en, y reivindica la prioridad de la solicitud provisional de EE.UU Núm. 60/066.101, presentada el 14 de febrero de 2008.

La enfermedad de Alzheimer (EA), una de las principales causas de demencia, se desarrolla en el uno por ciento de la población entre los 65 y los 69 años, y aumenta hasta el 40-50% en los mayores de 95 años. Los pacientes con EA presentan síntomas clínicos reveladores que incluyen el deterioro cognitivo y los déficits en la función de la memoria. En estos pacientes, la fuerte carga de placas seniles encontrada en la corteza cerebral, verificada por el examen histopatológico post mortem, confirma la presencia de EA. Las placas seniles maduras consisten en ovillos neurofibrilares (NFT) intracelulares derivados de filamentos de proteínas tau hiperfosforiladas, y péptidos β -amiloideos extracelulares derivados del procesamiento enzimático de la proteína precursora amiloide. Curiosamente, a pesar del desarrollo y la presencia de placas seniles en personas mayores con una función cognitiva normal, la gravedad de la deposición de NFT y placas seniles supuestamente se correlaciona con una pérdida de la función cognitiva y el deterioro de los circuitos neuronales.

A pesar de que la enfermedad de Alzheimer es la cuarta causa de muerte en los Estados Unidos, la intervención farmacéutica aún no ha comercializado una terapia curativa. En cambio, los médicos prescriben actualmente inhibidores de la colinesterasa a los pacientes con problemas cognitivos. La rivastigmina, un tratamiento terapéutico tanto para los pacientes con EA como con la enfermedad de Parkinson, inhibe tanto la acetilcolinesterasa como la butirilcolinesterasa, impidiendo la descomposición de la acetil y la butirilcolina. La galantamina, un inhibidor natural de la acetilcolinesterasa, aumenta los receptores colinérgicos nicotínicos para liberar acetilcolina en el cerebro. Como último ejemplo, el inhibidor de la acetilcolinesterasa Aricept ralentiza la progresión de la EA en los pacientes al inhibir la acetilcolinesterasa y aumentar así la acetilcolina cortical. En un ensayo clínico reciente, la eficacia de Aricept ralentizó la progresión de la EA en los pacientes, pero los efectos terapéuticos desaparecieron al cabo de 36 meses. El efecto de tratar a los pacientes con EA con una combinación terapéutica de Aricept y memantina provocó un aumento de la función cognitiva en esos pacientes con EA en relación con los que sólo recibieron Aricept. A pesar de la utilidad de los inhibidores de la colinesterasa, la actual gama de terapias para la EA sólo puede retrasar la aparición de la enfermedad en aproximadamente dos o tres años, tras lo cual son terapéuticamente ineficaces para inhibir el deterioro cognitivo. Se ha informado de que retrasar la aparición de la EA en cinco años es suficiente para reducir el número de casos de EA a la mitad y, dadas las deficiencias actuales de los inhibidores de la colinesterasa, es necesario seguir investigando para alcanzar ese objetivo.

La imagen neurológica de la EA ha visto la aparición de trazadores de imagen que parecen confirmar la presencia de la EA con base en la captación del trazador mediada por la placa y la fibrilla y, posteriormente, están siendo objeto de un amplio examen clínico. Muchos de estos trazadores contienen quimiótipes derivados de colorantes fluorescentes (Tabla 1). Por ejemplo, el aumento de la captación y la unión del derivado de la naftilina ^{18}F -FDDNP en cerebros vivos se correlaciona bien con la presencia de EA en comparación con personas normales cognitivamente funcionales de edad similar. [Liu, J., et al., High-Yield, Radiosíntesis automática de 2-(1-[6-[(2-[^{18}F]Fluoroetil)(metil]amino]-2-naftil]etilideno)malonitrila ($[^{18}\text{F}]$ FDDNP) Listo para administración animal o humana. Molecular Imaging and Biology, 2007. 9: p. 6-16.] Un compuesto competidor, ^{11}C -PIB, muestra una mayor captación en las regiones cerebrales frontotemporales e hipocampales de los pacientes con EA en comparación con los normales sanos.

Sin embargo, hay varias cuestiones que cuestionan la validez de la obtención de imágenes de las placas y ovillos seniles. En primer lugar, el conjunto actual de agentes de obtención de imágenes de la EA sólo puede confirmar la manifestación bien establecida de la EA y este diagnóstico en fase tardía ofrece poca defensa contra la progresión de la enfermedad más allá de los 36 meses. En segundo lugar, la detección de placas y ovillos seniles puede no estar relacionada con el desarrollo de las primeras fases de la EA. 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 describe con precisión los factores principales que conducen al deterioro cognitivo en pacientes con EA y que otros factores contribuyentes, tal como los oligómeros solubles neurotóxicos y los agregados, pueden desempeñar 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]. Hasta la fecha, no se sabe que el FDDNP y el PIB se unan a los oligómeros y agregados solubles neurotóxicos y, por lo tanto, no se espera que puedan diferenciar con precisión las fases tempranas de la EA de las avanzadas en los pacientes.

Como se resumió en un reciente grupo de discusión del 5 de diciembre de 2006 (Biochemical Pharmacology Discussion Group, copatrocinado por la sección de Nueva York de la American Chemical Society), los investigadores se están centrando ahora en procedimientos que se dirigen a los precursores de la EA bloqueando la producción de la proteína β -amiloide (BAP) o controlando la formación de la proteína tau mutante. Claramente, este esfuerzo de investigación centrado tiene como objetivo controlar la formación de precursores de la EA que potencialmente conducen a la EA, y esta nueva estrategia podría retrasar la aparición de la EA de forma más eficaz que los

tratamientos actuales. Paralelamente, las imágenes neurológicas deben reflejar la tendencia terapéutica mediante la identificación de precursores de la EA en un doble esfuerzo para complementar el desarrollo terapéutico de la EA y, además, identificar a los pacientes presintomáticos de riesgo de la EA.

Un número de procedimientos de diagnóstico médico, incluyendo PET y SPECT utilizan compuestos radiomarcados, son bien conocidos en la técnica. La PET y la SPECT son técnicas muy sensibles y requieren pequeñas cantidades de compuestos radiomarcados, llamados trazadores. Los compuestos marcados son transportados, acumulados y convertidos *in vivo* exactamente de la misma manera que el correspondiente compuesto no radiactivo. Los trazadores, o sondas, pueden ser radiomarcados con un radionúclido útil para la obtención de imágenes PET, tales como ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ⁶⁴Cu y ¹²⁴I, o con un radionúclido útil para la obtención de imágenes SPECT, tales como ⁹⁹Tc, ⁷⁷Br, ⁶¹Cu, ¹⁵³Gd, ¹²³I, ¹²⁵I, ¹³¹I y ³²P.

La PET crea imágenes con base en la distribución de los trazadores de obtención de imágenes moleculares que llevan isótopos emisores de positrones en el tejido del paciente. El procedimiento PET tiene el potencial de detectar un mal funcionamiento a nivel celular en los tejidos u órganos investigados. La PET se ha utilizado en oncología clínica, tal como para la obtención de imágenes de tumores y metástasis, y se ha empleado para el diagnóstico de ciertas enfermedades cerebrales, así como para la cartografía de la función cerebral y cardíaca. Del mismo modo, SPECT puede utilizarse para complementar cualquier estudio de gammagrafía, en el que una verdadera representación en 3D puede ser útil, por ejemplo, para obtener imágenes de tumores, infecciones (leucocitos), tiroides o huesos. El documento WO2007/014467 desvela procedimientos para el diagnóstico, el tratamiento y la monitorización de los trastornos del estado de ánimo.

20 Descripción detallada de la invención:

La presente invención se dirige a compuestos que tienen la Fórmula I estructural, donde los radicales tienen los significados indicados anteriormente.

Por "halógeno" o "halo" se entiende F, Cl, Br e I.

Por "alquilo" se entiende un radical hidrocarbonado monovalente saturado que tiene fracciones rectas o ramificadas. Algunos ejemplos de grupos alquilos son metilo, etilo, n-propilo, isopropilo y t-butilo.

Por "alquenilo" se entiende una molécula de alquilo que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono, en el que el alquilo es como se ha definido anteriormente. Ejemplos de alquenilo son etenilo y el propenilo.

Por "alquinilo" se entienden las moléculas de alquilo que tienen al menos un triple enlace carbono-carbono, en el que el alquilo es como se ha definido anteriormente. Algunos ejemplos de grupos alquilos son etilo y 2-propinilo.

Por "alquileno" o "alquenileno" se entiende un radical hidrocarbonado saturado y divalente, es decir, generalmente presente como grupo puente o de enlace entre otros dos grupos, con fracciones rectas o ramificadas. Algunos ejemplos de grupos alquilenos son CH₂(metileno), -CH₂CH₂(etileno), -CH₂CH₂CH₂(propileno), -CH(CH₃)CH₂(isopropileno), etc.

Por "amino" se entiende una fracción de nitrógeno con dos sustituyentes adicionales donde 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-alquil, -N(C₂₋₃-alquil)₂. A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención que contienen fracciones amino pueden incluir derivados protegidos de los mismos. Los grupos protectores adecuados para las fracciones amino incluyen acetilo, *tert*-butoxicarbonilo y benzoxicarbonilo.

Por "arilo" se entiende un radical orgánico derivado de un hidrocarburo aromático por eliminación de un hidrógeno, tal como fenilo, naftilo, indenilo, indanilo y fluorenilo. "Arilo" abarca los grupos de anillos fusionados en los que al menos un anillo es aromático.

Por "cicloalquilo" se entienden las fracciones alquilo cíclicas saturadas no aromáticas formadas por uno o más anillos, en los que dichos anillos (si son más de uno) comparten al menos un átomo de carbono, siendo el alquilo como se ha definido anteriormente. Ejemplos de cicloalquilos son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, bíciclo-[3.1.0]-hexilo, bíciclo-[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.

Por "Haloalquilo C₁₋₆" se entiende un grupo alquilo C₁₋₆ que está sustituido con al menos un átomo de halógeno en un átomo de carbono del grupo alquilo. Ejemplos representativos de tales haloalquilos C₁₋₆ incluyen F-CH₂-, F-CH₂CH₂-, F-CH₂CH₂CH₂-, CHF₂-, CHF₂CH₂-, CHF₂CH₂CH₂-, Br-CH₂-, Br-CH₂CH₂-, Br-CH₂CH₂CH₂-, CHBr₂-, CHBr₂CH₂-, and CHBr₂CH₂CH₂-.

Por "heterocíclico" o "heterocicloalquilo" se entiende un grupo cíclico no aromático que consiste en uno o más anillos, en el 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, siempre que al menos un anillo contenga al menos un heteroátomo). Los grupos heterocíclicos de esta invención también pueden incluir 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 define en el presente documento, y en los que el subíndice "0-2" de S(O)₀₋₂ representa un número entero de 0, 1 o 2. De este modo, S(O)₂ representa el grupo formado por S, S(=O) y S(O)₂. Ejemplos de grupos heterocíclicos no aromáticos son aziridinilo, azetidinilo, el pirrolidinilo, piperidinilo, azepinilo, piperazinilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, oxiranilo, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiranilo, tetrahidrotiopiranilo, morfolino, tiomorfólico, tioxanilo, pirrolinilo, indolinilo, 2H-piranilo, 4H-piranilo, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo, pirazolinilo, dihidropiranilo, dihidrotienilo, dihidrofuranilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 3-azabiciclo[3.1.0]hexanilo, 3-azabiciclo[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.

Por "heteroarilo" se entiende un grupo aromático que contiene uno o más heteroátomos (O, S o N), preferentemente de uno a cuatro heteroátomos. Un heteroarilo puede ser un grupo monocíclico o policíclico. Ejemplos de grupos heteroarilo son piridinilo, piridazinilo, imidazolilo, pirimidinilo, pirazolilo, triazolilo, pirazinilo, quinuquinolilo, 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, benzootriazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo, dihidroquinolilo, tetrahidroquinolilo, dihidroisoquinolilo, tetrahidroisoquinolilo, benzofurilo, furopiridinilo, pirolopirimidinilo y azaindolilo. En ciertos aspectos de la presente solicitud, el heteroarilo es un 1H-1,2-3-triazol-1-il sustituido.

Tal como se utiliza en el presente documento, cuando un grupo divalente, tal como un enlazador por ejemplo, se representa mediante una estructura -A-B-, como se muestra a continuación, se pretende representar también un grupo que puede estar unido en ambas permutaciones posibles, como se observa en las dos estructuras siguientes.



también puede ser



Por ejemplo, cuando se proporciona un grupo divalente tal como el grupo "-N(R¹⁰)C(O)-", se pretende que el grupo incluya también el grupo divalente -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, R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰ también están opcionalmente sustituidos por sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en amino, halo, ciano, nitro, hidroxilo, -SH, alquilo -SC₁₋₆, -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, en cierto aspecto de la presente solicitud, el sustituyente heteroarilo es un 4-sustituido-1H-1,2-3-triazol-1-il.

El término "opcionalmente sustituido" o "sustituido" se refiere a los sustituyentes o grupos específicos en los que de uno a cuatro átomos de hidrógeno del grupo pueden ser sustituidos por uno a cuatro sustituyentes, por ejemplo seleccionados independientemente de los sustituyentes amino, halo, ciano, nitro, hidroxilo, -SH, alquilo -SC₁₋₆, -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 desvela específicamente en la presente memoria descriptiva. Además, los sustituyentes también pueden incluir alquilo, arilo, alquieno-arilo, hidroxi, alcoxi, ariloxi, perhaloalcoxi, heterociclico, azido, amino, guanidino, amidino, halo, alquiltio, oxo, acilalquilo, ésteres carboxílicos, carboxilo, carboxamido, aciloxi, aminoalquilo, alquilaminoarilo, alquilaminoalquilo, alcoxiarilo, arilamino, fosfonilo, sulfonilo, carboxamidoarilo, hidroxialquilo, haloalquilo, alcoxialquilo y perhaloalquilo. Además, el término "opcionalmente sustituido" o "sustituido" en referencia a las variables R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷, R⁸, R⁹ y R¹⁰, incluye los grupos sustituidos por uno a cuatro sustituyentes, como se ha identificado anteriormente, que comprenden además un emisor de positrones o de rayos gamma. Dichos emisores de positrones incluyen ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I y ⁷⁷Br.

El término "compuesto radiomarcado", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a los compuestos que tienen un átomo o grupo que puede proporcionar un radiomarcado o que puede convertirse en un radiomarcado, tal como por ejemplo de un átomo no radiactivo a un radionúclido que es activo, tal como por ejemplo, ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I y ⁷⁷Br. Además, a efectos de la presente solicitud, dicho "compuesto radiomarcado" también puede referirse a un átomo o un grupo, que comprende un nucleido no activo, como un halógeno, tal como ¹⁹F por ejemplo, en el que el compuesto puede utilizarse y administrarse en una cantidad terapéuticamente eficaz.

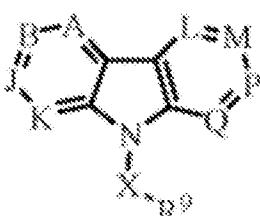
Los compuestos de la Fórmula I pueden tener centros ópticos y, por lo tanto, pueden presentarse en diferentes configuraciones enantioméricas y diastereoméricas. La presente invención incluye todos los enantiómeros, diastereómeros y otros estereoisómeros de dichos compuestos de la Fórmula I, así como los compuestos racémicos y las mezclas racémicas y otras mezclas de estereoisómeros de los mismos. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula I incluyen las sales de adición de ácido y de base de los mismos. Las sales de adición

de ácido adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen acetato, adipato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, citrato, formiato, fumarato, gluconato, glucuronato, clorhidrato/cloruro, hidrobromuro/bromuro, hidroyoduro/yoduro, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, oxalato, palmitato, fosfato/fosfato de hidrógeno/fosfato de dihidrógeno, piroglutamato, salicilato, estearato, succinato, sulfonato, tartrato, tosilato y sales de trifluoroacetato. Las sales de base adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Algunos ejemplos son las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, potasio, sodio, trometamina y zinc. También pueden formarse hemisales de ácidos y bases, por ejemplo, sales de hemisulfato y hemicálcicas. Para una revisión de las sales adecuadas, véase Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, 2002). Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula I pueden prepararse por uno o más de tres procedimientos: (i) haciendo reaccionar el compuesto de Fórmula I con el ácido o la base deseados; (ii) eliminando un grupo protector lábil al ácido o a la base de un precursor adecuado del compuesto de Fórmula I; o (iii) convirtiendo una sal del compuesto de Fórmula I en otra sal mediante la reacción con un ácido o una base adecuados o por medio de una columna de intercambio iónico adecuada.

15 **Sumario de la invención:**

Los aspectos y las realizaciones de la invención se exponen en las reivindicaciones adjuntas.

En una realización, se proporciona un compuesto de la Fórmula I:



Fórmula I

en la que:

20 A es N o CR¹; B es N o CR²; J es N o CR³; K es N o CR⁴; L es N o CR⁵; M es N; P es N o CR⁷; y Q es N o CR⁸, siempre que no más de dos de A, B, J, K, L, M, P y Q puedan ser N;

X es un enlace;

25 R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente hidrógeno o se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en C₃₋₆ cicloalcoxi, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alcoxi, heteroarilo C₂₋₅ alcoxi, C₆₋₁₄ ariloxi, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₅ alcoxi, heteroariloxi, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, (C₁₋₆ alquilo)₂ NC(O)CH(C₁₋₅ alquilo)-, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)O-, C₁₋₅ alquilo C(O)-, C₁₋₅ alquilo C(O)O-, C₆₋₁₀ arilo C(O)- y C₆₋₁₀ arilo C(O)O-; y R³ se selecciona del grupo que consiste en C₃₋₆ cicloalcoxi, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alcoxi, heteroarilo C₂₋₅ alcoxi, C₆₋₁₄ ariloxi, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alcoxi, heteroariloxi, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, (C₁₋₆ alquilo)₂ NC(O)CH(C₁₋₅ alquilo)-, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)O-, C₁₋₅ alquilo C(O)-, C₁₋₅ alquilo C(O)O-, C₆₋₁₀ arilo C(O)- y C₆₋₁₀ arilo C(O)O-;

30 en el que al menos cuatro de R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son hidrógenos;

R⁹ es hidrógeno; cada R¹⁰ es independientemente H o alquilo C₁₋₆;

35 en los que los sustituyentes aR¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷ R⁸ y R¹⁰ son opcionalmente sustituídos además por medio de sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en amino, halo, ciano, nitro, hidroxilo, -SH, -SC₁₋₆ alquilo, -C(O)NH₂, -C(S)NH₂, halo C₁₋₆ alquilo, perhalo C₁₋₆ alquilo, C₁₋₆ cicloalquilo, C₃₋₁₂ cicloalquilo, C₆₋₁₄ arilo y heteroarilo.

a condición de que el compuesto de Fórmula I no sea 4-metil-3-(9H-pirimido[4,5-b]indol-6-il)anilina,
y sus sales farmacéuticamente aceptables.

40 En otra realización, se proporciona un compuesto de la Fórmula I que está radiomarcado, en el que el radiomarcado comprende un radionúclido seleccionado del grupo que consiste en ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I y ⁷⁷Br, y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

En una variación del compuesto anterior:

A es N o CR¹; B es N o CR²; J es N o CR³; K es N o CR⁴; L es N o CR⁵; M es N; P es N; y Q es N o CR⁸, siempre que no más de dos de A, B, J, K, L, M, P y Q puedan ser N;

X es un enlace;

R¹, R², R⁴, R⁵ y R⁸ son cada uno independientemente hidrógeno o se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en halo C₁₋₆ alquilo, perhalo C₁₋₆ alquilo, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ cicloalquilo, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alquilo, C₆₋₁₄ arilo, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alquilo, heteroarilo, C₃₋₆ cicloalcoxi, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alcoxi, heteroarilo C₂₋₅ alcoxi, C₆₋₁₄ ariloxi, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alcoxi, heteroariloxi, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, (C₁₋₆ alquilo)₂NC(O)CH(C₁₋₅ alquilo)-, halo-C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)O-, C₁₋₅ alquilo C(O)-, C₁₋₅ alquilo C(O)O-, C₆₋₁₀ arilo C(O)- y C₆₋₁₀ arilo C(O)O-; y R³ se selecciona del grupo formado por C₃₋₆ cicloalquilo, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alquilo, C₆₋₁₄ arilo, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alquilo, heteroarilo, C₃₋₆ cicloalcoxi, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alcoxi, heteroarilo C₂₋₅ alcoxi, C₆₋₁₄ ariloxi, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alcoxi, heteroariloxi, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, (C₁₋₆ alquilo)₂NC(O)CH(C₁₋₅ alquilo)-, halo-C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)O-, C₁₋₅ alquilo C(O)-, C₁₋₅ alquilo C(O)O-, C₆₋₁₀ arilo C(O)- y C₆₋₁₀ arilo C(O)O-

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otra variación del compuesto anterior:

A es N o CR¹; B es N o CR²; J es N o CR³; K es N o CR⁴; L es N o CR⁵; M es N; P es N o CR⁷; y Q es N o CR⁸, a condición de que no más de dos de A, B, J, K, L, M, P y Q puedan ser N;

X es un enlace;

R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente hidrógeno o se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en halo-C₁₋₆ alquilo, perhalo C₁₋₆ alquilo, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆cicloalquilo, C₃₋₁₂cicloalquilo C₁₋₅ alquilo, heteroarilo C₂₋₅ alcoxi, C₆₋₁₄ arilo, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alquilo, heteroarilo; y R³ se selecciona de un grupo que consiste en C₃₋₆ cicloalquilo, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alquilo, heteroarilo C₂₋₅ alcoxi, C₆₋₁₄ arilo, heteroarilo;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otra variación del compuesto anterior:

A es N o CR¹; B es N o CR²; J es N o CR³; K es N o CR⁴; L es N o CR⁵; M es N; P es N o CR⁷; y Q es N o CR⁸, a condición de que no más de dos de A, B, J, K, L, M, P y Q puedan ser N;

X es un enlace;

R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente hidrógeno o son cada uno independientemente halo-alquilo C₁₋₅ NR¹⁰C(O)-; y R³ es halo-alquilo C₁₋₅ NR¹⁰C(O)-;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

30 En una variación del compuesto anterior:

A es N o CR¹; B es N o CR²; J es N o CR³; K es N o CR⁴; L es N o CR⁵; M es N; P es N o CR⁷; y Q es N o CR⁸, siempre que no más de dos de A, B, J, K, L, M, P y Q puedan ser N;

X es un enlace;

35 R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ and R⁸ are each independently hydrogen or are each independently selected from the group consisting of C₃₋₆cycloalkoxy, C₃₋₁₂cycloalkylC₁₋₅salkoxy, heteroarylC₂₋₅salkoxy, C₆₋₁₄aryloxy, C₆₋₁₀arylC₁₋₄alkoxy, heteroaryloxy, C₁₋₅alkylNR¹⁰C(O)-, (C₁₋₆alkyl)₂NC(O)CH(C₁₋₅alkyl)-, C₁₋₅alkylNR¹⁰C(O)O-, C₁₋₅alkylC(O)-, C₁₋₅alkylC(O)O-, C₆₋₁₀arylC(O)- and C₆₋₁₀arylC(O)O-; and R³ is selected from the group consisting of C₃₋₆cycloalkoxy, C₃₋₁₂cycloalkylC₁₋₅salkoxy, heteroarylC₂₋₅salkoxy, C₆₋₁₄aryloxy, C₆₋₁₀arylC₁₋₄alkoxy, heteroaryloxy, C₁₋₅alkylNR¹⁰C(O)-, (C₁₋₆alkyl)₂NC(O)CH(C₁₋₅alkyl)-, C₁₋₅alkylNR¹⁰C(O)O-, C₁₋₅alkylC(O)-, C₁₋₅alkylC(O)O-, C₆₋₁₀arylC(O)- and C₆₋₁₀arylC(O)O-;

40 ; y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otra variación del compuesto anterior:

X es un enlace;

45 R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente hidrógeno o se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en halo-C₁₋₆ alquilo, perhaloC₁₋₆ alquilo, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ cicloalquilo, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alquilo, C₆₋₁₄ arilo, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alquilo, heteroarilo, C₃₋₆ cicloalcoxi, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alcoxi, heteroarilo C₂₋₅ alcoxi, C₆₋₁₄ ariloxi, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alcoxi, heteroariloxi, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, (C₁₋₆ alquilo)₂NC(O)CH(C₁₋₅ alquilo)-, halo-C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)O-, C₁₋₅ alquilo C(O)-, C₁₋₅ alquilo C(O)O-, C₆₋₁₀ arilo C(O)- y C₆₋₁₀ arilo C(O)O-; y R³ se selecciona del grupo formado por C₃₋₆ cicloalquilo, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alquilo, C₆₋₁₄ arilo, C₆₋₁₀

arilo C₁₋₄alquilo, heteroarilo, C₃₋₆ cicloalcoxi, C₃₋₁₂ cicloalquilo C₁₋₅ alcoxi, heteroarilo C₂₋₅ alcoxy, C₆₋₁₄ ariloxi, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alcoxi, heteroariloxi, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, (C₁₋₆ alquilo)₂NC(O)CH(C₁₋₅ alquilo)-, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)-, C₁₋₅ alquilo NR¹⁰C(O)O-, C₁₋₅ alquilo C(O)-, C₁₋₅ alquilo C(O)O-, C₆₋₁₀ arilo C(O)- y C₆₋₁₀ arilo C(O)O-;

en el que al menos cuatro de R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son hidrógenos;

5 R⁹ es hidrógeno; cada R¹⁰ es independientemente H o alquilo C₁₋₆;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En otra variación de lo anterior: R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente hidrógeno o son cada uno independientemente seleccionados del grupo que consiste en, haloalquilo C₁₋₆ y perhaloalquilo C₁₋₆; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 En aún otra variación: R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente hidrógeno o se seleccionan del grupo que consiste en F-alquilo C₁₋₆ , 4-(F-alquilo C₁₋₆)-1H-1,2,3-triazol-1-il-(C₂₋₅alcoxi) - y F-alquilo C₁₋₅ NR¹⁰C(O)-; y R³ se selecciona del grupo que consiste en 4-(F-alquilo C₁₋₆)-1H-1,2,3-triazol-1-il-(C₂₋₅alcoxi) y F-alquilo C₁₋₅ NR¹⁰C(O)-; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 En otra variación particular de lo anterior: al menos cuatro de R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son hidrógenos; y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otra variación más de cada una de las anteriores, el grupo amino se selecciona del grupo que consiste en NH₂-, CH₃NH-, (CH₃)₂N-, C₁₋₃-alquiloNH-, F-C₂₋₃-alquiloNH-, F-(C₂₋₃-alquiloO)₁₋₄-alquilo-NH-, (C₁₋₃-alquilo)₂N-, C₁₋₆alquiloNH-, (C₁₋₆alquilo)₂N-, C₃₋₆ cicloalquiloNH-, (C₃₋₆ cicloalquilo)₂N-, C₃₋₁₂ cicloalquiloC₁₋₅ alquiloNH-, C₆₋₁₄ ariloNH-, C₆₋₁₀ ariloC₁₋₄ alquiloNH-, heteroariloNH-, C₆₋₁₄ariloxiNH-, C₆₋₁₀ariloC₁₋₄alcoxiNH- y heteroariloxiNH-.

20 En una variación particular de la Fórmula I, X es un enlace y R⁹ es hidrógeno.

En otra realización, se proporciona una composición farmacéutica para la obtención de imágenes in vivo de depósitos de amiloide, que comprende (a) un compuesto de la Fórmula I que está radiomarcado como se ha descrito anteriormente, y (b) un portador farmacéuticamente aceptable. En el presente documento se divulga un procedimiento para diagnosticar la enfermedad de Alzheimer o una predisposición a la misma en un mamífero, comprendiendo el procedimiento : a) administrar al mamífero una cantidad diagnóstica eficaz de cualquiera de los compuestos anteriores, en el que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y se une preferentemente a los oligómeros, polímeros y fibrillas solubles de la EA en un tejido cerebral; b) permitir que el compuesto se distribuya en el tejido cerebral; y c) obtener imágenes del tejido cerebral, en el que un aumento de la unión del compuesto al tejido cerebral en comparación con un nivel de control normal de unión indica que el mamífero padece o está en riesgo de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer.

30 En otra realización, se proporciona el compuesto radiomarcado de la Fórmula I como se ha descrito anteriormente o la composición que comprende un compuesto de la Fórmula I que está radiomarcado como se ha descrito anteriormente para su uso en un procedimiento de diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer o de una predisposición a la misma en un mamífero, comprendiendo el procedimiento a) administrar al mamífero una cantidad diagnóstica eficaz del compuesto radiomarcado de la Fórmula I como se ha descrito anteriormente o la composición que comprende un compuesto de la Fórmula I radiomarcado como se ha descrito anteriormente, en la que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y se une preferentemente a oligómeros, polímeros y fibrillas solubles de EA en un tejido cerebral; b) permitir que el compuesto se distribuya en el tejido cerebral; y c) obtener imágenes del tejido cerebral, en las que un aumento de la unión del compuesto al tejido cerebral en comparación con un nivel de control normal de unión indica que el mamífero sufre o corre el riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer.

35 En una variación del uso anterior, el compuesto radiomarcado se une preferentemente a las fibrillas. En otra variación del uso anterior, el tejido cerebral comprende una región frontotemporal o la región del hipocampo. En una variación particular del uso anterior, el aumento de la unión es al menos 10% mayor que dicho valor de control normal. En otra variación de cada uno de los usos anteriores, el compuesto se administra por inyección intravenosa.

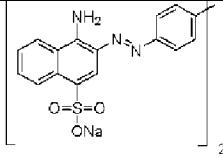
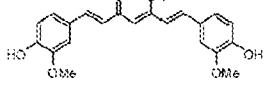
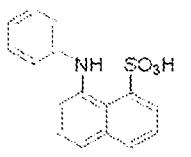
40 En el presente documento se divulga un procedimiento para detectar la enfermedad de Alzheimer o una predisposición a la misma en un cerebro vivo de un mamífero, comprendiendo el procedimiento a) administrar al mamífero una cantidad diagnóstica eficaz de cualquiera de los compuestos anteriores que atraviesa la barrera hematoencefálica y se une preferentemente a los oligómeros, polímeros y fibrillas solubles de la EA en el cerebro, en el que el compuesto marcado de forma detectable es un compuesto de cualquiera de los anteriores; b) permitir que el compuesto se distribuya en el tejido cerebral; y c) obtener imágenes del tejido cerebral, en las que un aumento de la unión del compuesto al tejido cerebral en comparación con un nivel de control normal de unión indica que el mamífero padece o corre el riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer.

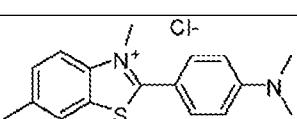
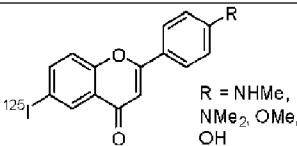
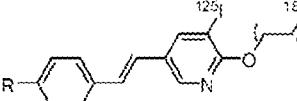
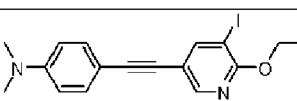
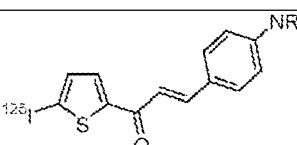
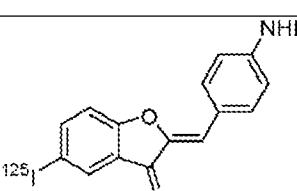
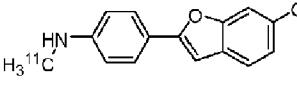
45 En el presente documento se divulga un procedimiento para detectar la enfermedad de Alzheimer o una predisposición a la misma en un cerebro vivo de un mamífero, comprendiendo el procedimiento a) administrar al mamífero una cantidad diagnóstica eficaz de cualquiera de los compuestos anteriores de cualquiera de los anteriores, en el que el

compuesto pasa la barrera hematoencefálica y se une preferentemente a unos oligómeros, polímeros y fibrillas solubles de EA en el cerebro; b) permitir que el compuesto se distribuya en el tejido cerebral; y c) obtener imágenes del tejido cerebral, en el que un aumento de la unión del compuesto al tejido cerebral en comparación con un nivel de control normal de unión indica que el mamífero sufre o está en riesgo de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer.

- 5 En otra realización, se proporciona el compuesto radiomarcado de la Fórmula I descrito anteriormente para su uso en un procedimiento de diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer o de una predisposición a la misma en un mamífero, comprendiendo el procedimiento a) administrar al mamífero una cantidad diagnóstica eficaz del compuesto radiomarcado de la Fórmula I como se ha descrito anteriormente, en el que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y se une preferentemente a oligómeros, polímeros, fibrillas, tau hiperfosforilada, ovillos neurofibrilares, filamentos helicoidales emparejados y/u oligómeros solubles neurotóxicos de la EA en un cerebro, y en el que el compuesto radiomarcado es un compuesto como el divulgado en el presente documento; y (b) emplear una técnica de obtención de imágenes nuclear seleccionada del grupo que consiste en tomografía por emisión de positrones (PET) y tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) para monitorizar o visualizar una distribución del compuesto radiomarcado dentro del cerebro o dentro de una porción del mismo. En otra realización, 10 se proporciona el compuesto de la Fórmula I y el compuesto radiomarcado de la Fórmula I como se ha descrito anteriormente para su uso en el tratamiento de una enfermedad o condición, en un mamífero que lo necesite, seleccionado del grupo que consiste en ansiedad, depresión, esquizofrenia, enfermedad de Alzheimer, enfermedad relacionada con el estrés, pánico, una fobia, trastorno obsesivo compulsivo, obesidad, síndrome de estrés 15 postraumático o epilepsia. En el presente documento se divulga el uso anterior, en el que el compuesto se administra por vía rectal, tópica, oral, sublingual o parenteral. En el presente documento se divulga el uso anterior, en el que el compuesto se administra de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del mamífero por día. En el presente documento se divulga el uso anterior, en el que el compuesto se administra de 20 aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal del mamífero por día. En el presente documento se divulga el compuesto radiomarcado de la Fórmula I como se ha descrito anteriormente o la composición que 25 comprende un compuesto de la Fórmula I que está radiomarcado como se ha descrito anteriormente para su uso en los procedimientos de detección que detectan con precisión el inicio temprano de la EA antes de la sintomatología clínica, en el que el enfoque puede dirigirse a los precursores de la placa senil, en lugar de las propias placas y/o fibrillas. En consecuencia, una estrategia potencialmente más eficaz para detectar y posiblemente tratar la EA se basaría en la detección de biomarcadores como los oligómeros solubles neurotóxicos, que están relacionados con el daño sináptico y neuronal de la EA, en lugar de los biomarcadores de placas y fibrillas en fase tardía asociados con la 30 EA totalmente avanzada.

Tabla 1: Tintes fluorescentes y agentes de obtención de imágenes positivos para la EA conocidos

Nombre	Compuesto y Referencia	Objetivo	Afinidad de Unión
Rojo Congo	 Anal. Biochem. 2006, 356, 265-272; J. Biol. Chem. 2005, 280, 5892-5901	A β monómero	IC ₅₀ : 2-10 uM
Curcumina	 Anal. Biochem. 2006, 356, 265-272; J. Biol. Chem. 2005, 280, 5892-5901	A β monómero	IC ₅₀ : 10-20 uM
ANS	 Anal. Biochem. 2006, 356, 265-272; 2006:356:265:272	A β monómero	IC ₅₀ : >100 uM

Tioflavina T	 <i>Anal. Biochem.</i> 2006, 356, 265-272	A β monómero	IC ₅₀ : >500 uM
Flavona yodada	 R = NHMe, NMe ₂ , OMe, OH <i>J. Med. Chem.</i> 2005, 48, 7253-7260	Aggregados de A β 40	Ki = 13 nM (-NMe ₂) a 72 nM (-OH)
Piridil estireno	 R = NHMe, NMe ₂ <i>J. Med. Chem.</i> 2007, 50, 2157-2165	Fibrillas de A β	Kd = 7,5-9 nM
Acetilenos diarílicos	 R = -OH, -OCH ₂ CH ₂ -O-CH ₂ CH ₂ F <i>Bioorg. Med. Chem.</i> 2007, 17, 3581-3584	Placas A β	Kd = ~10 nM
Calcones de tiofeno	 R,R' = H, Me <i>Bioorg. Med. Chem.</i> 2007, 15, 6802-6809	Aggregados de A β 1-42	Ki = 3,9-14 nM
Auronas	 <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 2007, 361, 116-121	Aggregados de A β 1-42	Ki = 1,24 nM
PIB	 <i>J. Med. Chem.</i> 2006, 49, 2725-2730	Fibrillas de A β	Ki = 2,8 nM

Se desarrolló un ensayo utilizando un instrumento Biacore que introdujo ligandos de cribado sobre proteínas objetivo-inmovilizadas en la superficie de oro y midió las tasas resultantes de asociación y disociación con el fin de cribado de diversos compuestos que se unen a oligómeros, polímeros y fibrillas solubles de EA. En la Figura 1, la porción izquierda de la curva representa la unión de los ligandos a un sustrato específico. La porción derecha de la curva representa la disociación del ligando del sustrato. Los ligandos que se asociaron rápidamente y se disociaron lentamente, en relación con un ligando de control, se consideraron éxitos.

5 Se desarrolló un ensayo utilizando un instrumento Biacore que introdujo ligandos de cribado sobre proteínas objetivo-inmovilizadas en la superficie de oro y midió las tasas resultantes de asociación y disociación con el fin de cribado de diversos compuestos que se unen a oligómeros, polímeros y fibrillas solubles de EA. En la Figura 1, la porción izquierda de la curva representa la unión de los ligandos a un sustrato específico. La porción derecha de la curva representa la disociación del ligando del sustrato. Los ligandos que se asociaron rápidamente y se disociaron lentamente, en relación con un ligando de control, se consideraron éxitos.

Figura 1: Resultados del ensayo de unión Biacore.

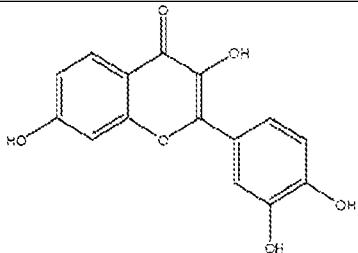
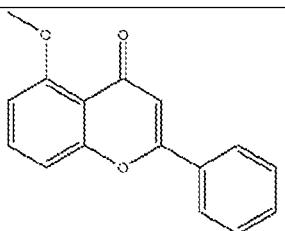
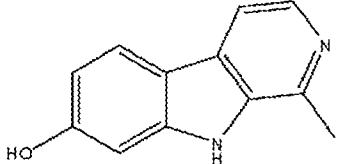
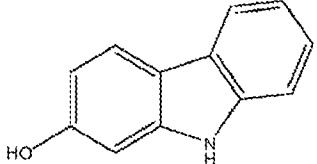
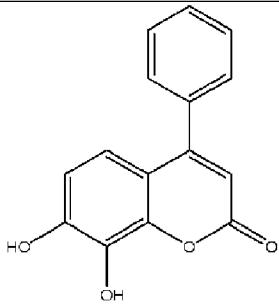
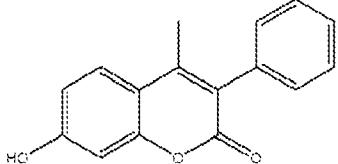
Se examinaron varios cientos de compuestos de manera similar y se identificaron varias clases comunes de compuestos como éxitos que caen en siete quimiotipos comunes: flavonas, cumarinas, carbazoles, quinolinonas, cromoonas, imidazoles y triazoles.

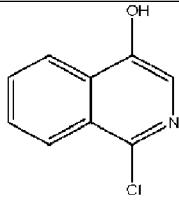
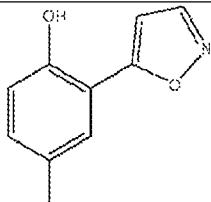
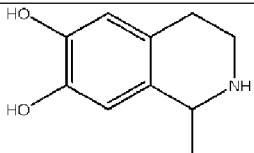
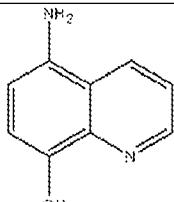
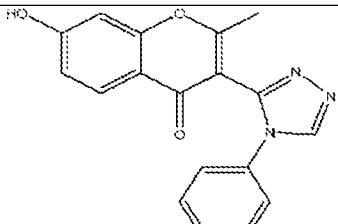
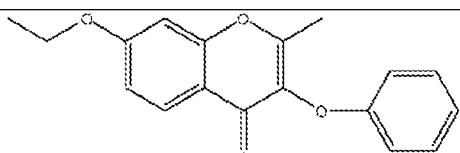
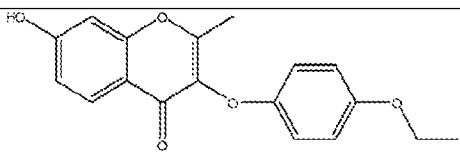
Figura 2: Andamios representativos de compuestos que se unen a oligómeros, polímeros y/o fibrillas.

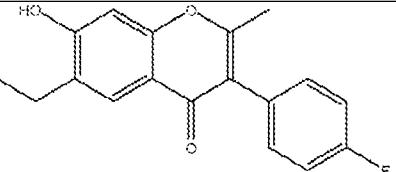
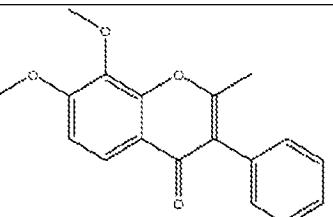
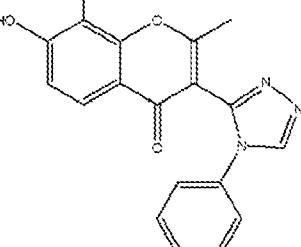
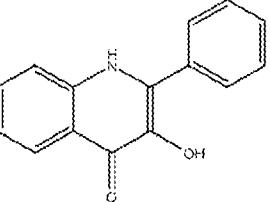
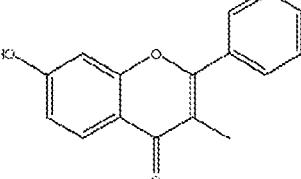
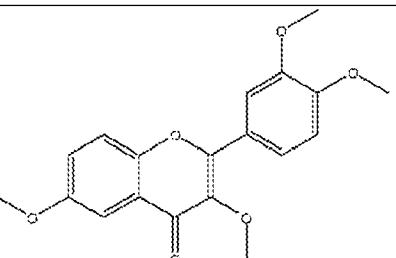
- 5 A partir de la biblioteca de cribado, se identificaron 38 compuestos como aglutinantes de los oligómeros/polímeros solubles de A β 42 (Tabla 2). Entre estos 38 compuestos, 23 compuestos se unieron a las fibrillas sintéticas de A β 42. Varios compuestos pertenecientes a las arquitecturas de la flavona y la cumarina se unieron muy fuertemente a los oligómeros, polímeros y fibrillas. Se comprobó que los cromoos, carbazoles y diaril triazoles se unen a los oligómeros y polímeros preferentemente a las fibrillas. Varios de estos compuestos pueden prepararse como análogos radiomarcados para su uso en la detección de biomarcadores en pacientes con EA.
- 10

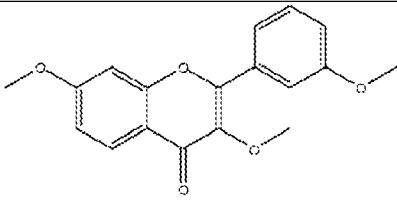
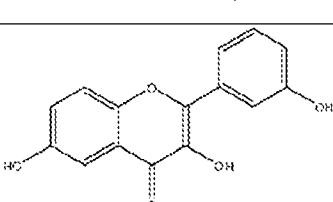
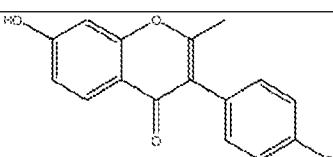
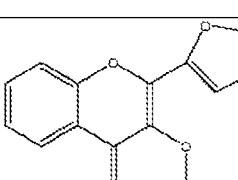
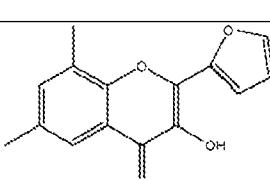
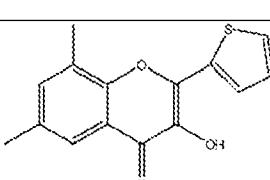
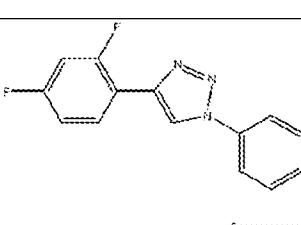
Tabla 2: Compuestos identificados como aglutinantes de oligómeros, polímeros y/o fibrillas. Un signo "+" representa un acierto y el aumento de los signos "+" se relaciona con el aumento de la afinidad de unión. El signo "-" representa que no hay vinculación. Estos compuestos son sólo de referencia y no forman parte de la invención.

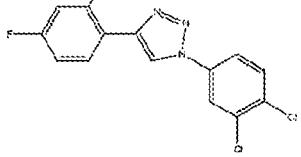
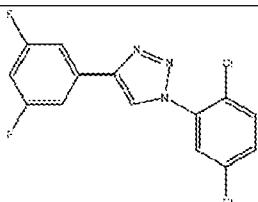
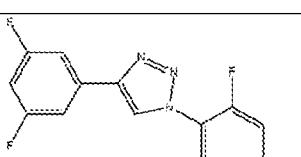
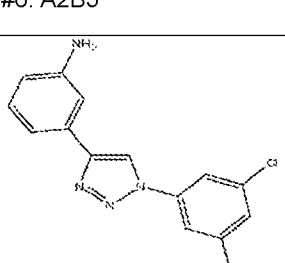
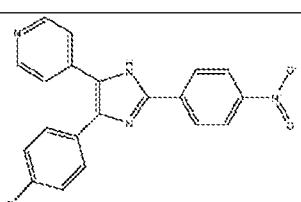
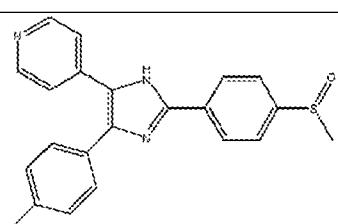
NIVELES DE UNIÓN AL #25: 5-Amino-2-(trifluorometil)benzimidazol		
	A β ₍₁₋₄₂₎ Oligómeros/Polímeros	Fibrillas de A β ₍₁₋₄₂₎
	++	+
#40: 6-Hidroxiflavona		
	++	+
#41: 7-Hidroxiflavona		
	+	+
#42: 3,6-Dihidroxiflavona		
	+++	++
#44: Fisetina		

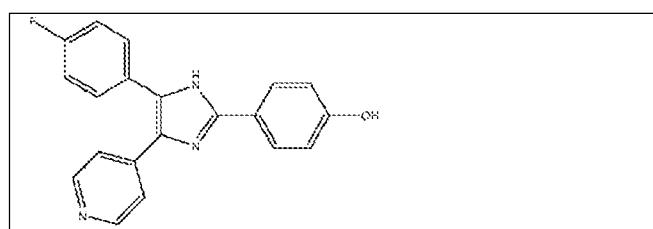
	+++++	+++++
#51: 5-metoxiflavona		
	+	-
#54: Harmol		
	++	+
#55: 2-Hidroxicarbazol		
	+++	+
#73: 7,8-Dihidroxi-4-fenilcumarina		
	++++	+++
#75: 7-Hidroxi-4-metil-3-fenilcumarina		
	+	-
#84: 1-Cloro-4-hidroxisoquinolina		

	+	-
89: 2-(5-Isoxazolil)-4-metilfenol		
	+	+
#97: 1-metil-6,7-dihidroxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinol		
	++	+
#162: 5-Amino-8-hidroxiquinolina		
	++	+
#194: 7-Hidroxi-2-metil-3-(4-fenil-4H-1,2,4-triazol-3-		
	++	+
#197: 7-Etoxi-2-metil-3-fenoxi-4H-cromo-4-ona		
	+	+
#199: 3-(4-Etoxifenoxy)-7-hidroxi-2-metil-4H-cromo-		
	+	-
#200: 6-Etil-3-(4-fluorofenil)-7-hidroxi-2-metil-4H-c		

	+	-
#201: 7,8-Dimetoxi-2-metil-3-fenil-4H-cromo-4-ona		
	+	-
#202: 7-Hidroxi-2,8-dimetil-3-(4-fenil-4H-1,2,4-triazo		
	++	-
#203: 3-Hidroxi-2-fenilquinolina-4(1H)-ona		
	++++	++
#204: 7-Hidroxi-3-metil-2-fenil-4H-cromo-4-ona		
	+	+
#205: 2-(3,4-Dimetoxifenil)-3,6-dimetoxi-4H-cromo-4		
	+++	+
#206: 3,7-Dimetoxi-2-(3-metoxifenil)-4H-cromo-4-ona		

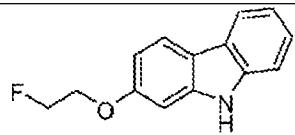
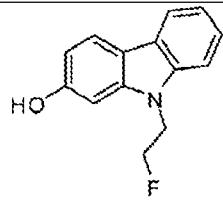
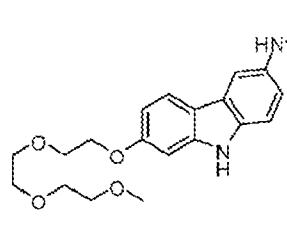
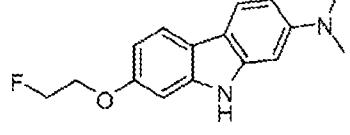
	+	-
#207: 3,6-Dihidroxi-2-(3-hidroxifenil)-4H-cromo-4-ona		
	++++	++
#209: 3-(4-Fluorofenil)-7-hidroxi-2-metil-4H-cromo-4		
	+	+
#214: 2-(Furan-2-il)-3-metoxi-4H-cromo-4-ona		
	+	+
#216: 2-(Furan-2-yl)-3-hidroxi-6,8-dimetil-4H-cromo-4		
	+	-
#217: 3-hidroxi-6,8-dimetil-2-(tiofen-2-il)-4H-cromo		
	+	-
#236: A4B6		
	+	+
#237: A4B7		

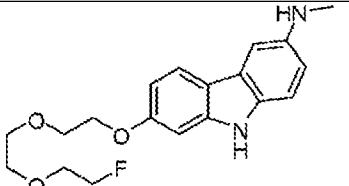
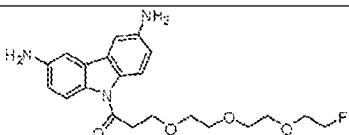
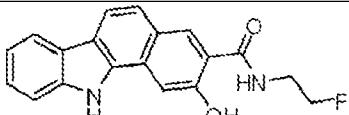
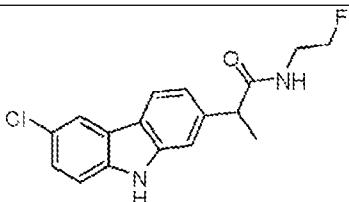
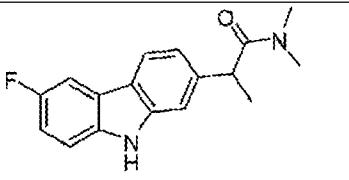
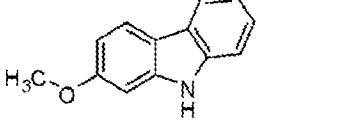
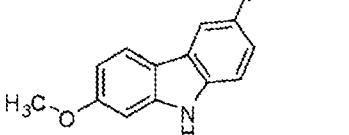
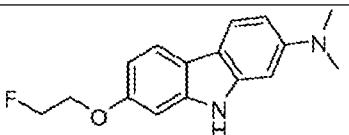
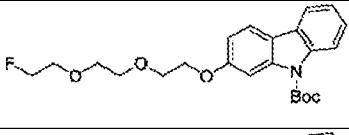
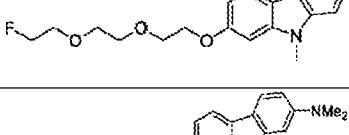
	+	-
#238: A5B2		
	+	-
#239: A5B4		
	++++	-
#6: A2B5		
	+	+
#261: 4-(4-Fluorofenil)-2-(4-nitrofenil)-1H-imidazo		
	+	-
#262: 4-(4-Fluorofenil)-2-(4-(metilsulfinil)fenil)		
	++	+
#263: 4-(5-(4-Fluorofenil)-4-(piridin-4-il)-1H-imidazol		

	++	++
#268: 2-(4-Fluorofenil)-4,5-difenil-1H-imidazol	+/-	-

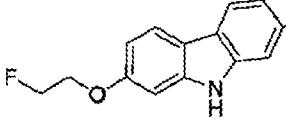
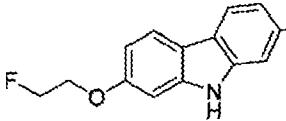
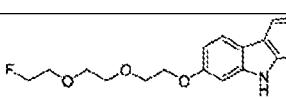
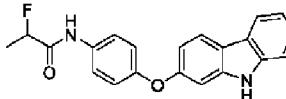
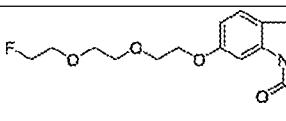
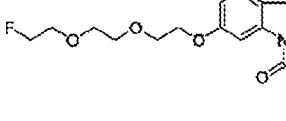
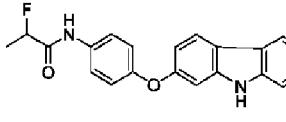
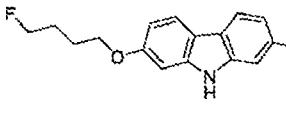
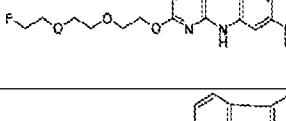
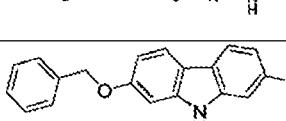
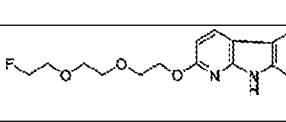
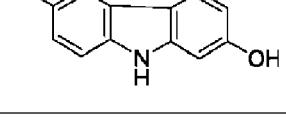
La Tabla 3 proporciona ejemplos de agentes de obtención de imágenes derivados de los andamiajes golpeados. Los fluoruros se muestran en las estructuras como equivalentes al fluoruro ^{18}F y los grupos metílicos son equivalentes a los grupos metílicos de carbono ^{11}C .

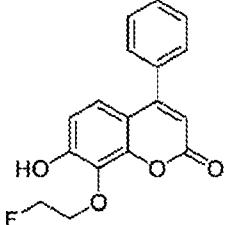
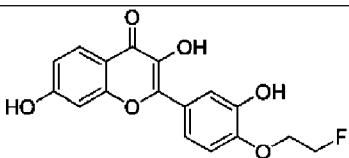
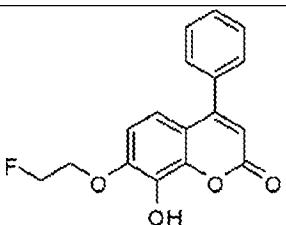
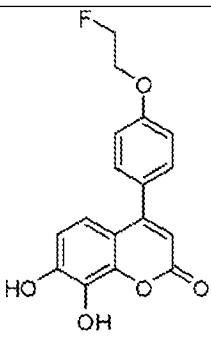
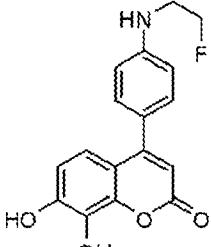
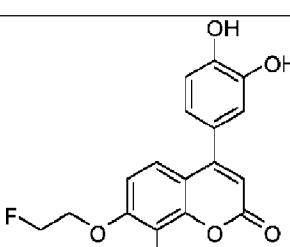
- 5 **Tabla 3:** Ejemplos de análogos radiomarcados útiles para la detección de biomarcadores de la EA in vivo. Estos compuestos son sólo de referencia y no forman parte de la invención.

Nombre	Estructura	Fórmula química	MW	Código
2-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol		C ₁₄ H ₁₂ FNO	229,25	CB-001
9-(2-fluoroethyl)-9H-carbazol-2-ol		C ₁₄ H ₁₂ FNO	229,25	
N-(2-fluoroethyl)-7-(2-(2-(2-metoxietoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-3-amina		C ₂₁ H ₂₇ FN ₂ O ₄	390,45	
7-(2-fluoroetoxi)-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina		C ₁₆ H ₁₇ FN ₂ O	272,32	

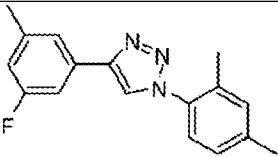
7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)- N-metil-9H-carbazol-3-amina		C ₁₉ H ₂₃ FN ₂ O ₃	346,40	CB-008
1-(3,6-diamino-9H-carbazol-9-il)-3-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)propan-1-ona		C ₂₁ H ₂₆ FN ₃ O ₄	403,45	
N-(2-fluoroetil)-2-hidroxi-11H-benzo[a]carbazol-3-carboxamida		C ₁₉ H ₁₅ FN ₂ O ₂	322,33	
2-(6-cloro-9H-carbazol-2-il)-N-(2-fluoroetil)propanamida		C ₁₇ H ₁₆ ClFN ₂ O	318,77	
2-(6-fluoro-9H-carbazol-2-il)-N,N-dimetilpropanamida		C ₁₇ H ₁₇ FN ₂ O	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 ₂ O	272,32	
2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo		C ₂₃ H ₂₈ FNO ₅	417,47	CB-005
2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-9-metil-9H-carbazol		C ₁₉ H ₂₂ FNO ₃	331,38	CB-006
7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina		C ₂₀ H ₂₅ FN ₂ O ₃	360,42	CB-007

N-(7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-il)acetamida:		C ₂₀ H ₂₃ FN ₂ O ₄	374,41	CB-009
7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol		C ₁₇ H ₁₉ FN ₂ O ₃	318,34	CB-028
2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol		C ₁₈ H ₂₀ FN ₂ O ₃	317,35	CB-003
7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)- N-metil-9H-carbazol-2-amina		C ₁₉ H ₂₃ FN ₂ O ₃	346,40	CB-004
N-(7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida		C ₁₉ H ₂₁ FN ₂ O ₄	360,38	CB-010
6-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9-(metoximetil)-N,N-dimetil-9H-carbazol-3-amina		C ₂₂ H ₂₉ FN ₂ O ₄	404,48	CB-011
N-(7-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida		C ₁₅ H ₁₃ FN ₂ O ₂	272,27	CB-012
N-(7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida		C ₁₇ H ₁₇ FN ₂ O ₃	316,33	CB-024
N-(2-fluoroetil)-6-metoxi-9H-carbazol-3-amina		C ₁₅ H ₁₅ FN ₂ O	258,29	CB-013
7-((4-fluorobutil)(metil)amino)-9H-carbazol-2-ol (CB-14)		C ₁₇ H ₁₉ FN ₂ O	286,34	CB-014
7-((2-fluoroetil)(metil)amino)-9H-carbazol-2-ol (CB-15)		C ₁₅ H ₁₅ FN ₂ O	258,29	CB-015
7-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol-2-ol		C ₁₄ H ₁₃ FN ₂ O	244,26	CB-016
7-((2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil)amino)-9H-carbazol- 2-ol		C ₁₉ H ₂₃ FN ₂ O ₃	346,40	CB-019

7-(2-fluoroetoxi)-N-metil-9H-carbazol-2-amina		C ₁₅ H ₁₅ FN ₂ O	258,29	CB-020
7-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol-2-ol		C ₁₄ H ₁₂ FN ₂ O ₂	245,25	CB-025
7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-ol		C ₁₈ H ₂₀ FN ₂ O ₄	333,35	CB-026
N-(4-(7-amino-9H-carbazol-2-iloxi)fenil)-2-fluoropropanamida		C ₂₁ H ₁₈ FN ₃ O ₂	363,38	CB-027
1-(2-(2-(2-Fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-yl)etanona:		C ₂₀ H ₂₂ FN ₂ O ₄	359,39	CB-017
(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-il)(fenil)metanona		C ₂₅ H ₂₄ FN ₂ O ₄	421,46	CB-021
2-fluoro-N-(4-(7-(metilamino)-9H-carbazol-2-iloxi)fenil)propanamida		C ₂₂ H ₂₀ FN ₃ O ₂	377,41	CB-029
N-(7-(4-fluorobutoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida		C ₁₇ H ₁₇ FN ₂ O ₂	300,33	CB-030
2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-ilcarbamato de tert-butilo		C ₂₂ H ₂₈ FN ₃ O ₅	433,47	CB-031
2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-amina		C ₁₇ H ₂₀ FN ₃ O ₃	333,36	CB-032
7-(bencilioxi)-N-(2-fluoroetil)-N-metil-9H-carbazol-2-amina		C ₂₂ H ₂₁ FN ₂ O	348,41	CB-033
2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N-metil-9H-pirido[2,3-b]indol-7-amina		C ₁₈ H ₂₂ FN ₃ O ₃	347,38	CB-034
6-bromo-9H-carbazol- -2-ol		C ₁₂ H ₈ BrNO	262,10	

8-(2-fluoroetoxi)-7-hidroxi-4-fenil-2H-cromo-2-ona		C ₁₇ H ₁₃ FO ₄	300,28	
2-(4-(2-fluoroetoxi)-3-hidroxifenilo)-3,7-dihidroxi-4H-cromo-4-ona		C ₁₇ H ₁₃ FO ₆	332,28	
7-(2-fluoroetoxi)-8-hidroxi-4-fenil-2H-cromo-2-ona		C ₁₇ H ₁₃ FO ₄	300,28	
4-(4-(2-fluoroetoxi)fencilo)-7,8-dihidroxi-2H-cromo-2-ona		C ₁₇ H ₁₃ FO ₅	316,28	
4-(4-(2-fluoroethylamino)fenil)-7,8-dihidroxi-2H-cromo-2-ona		C ₁₇ H ₁₄ FNO ₄	315,30	
4-(3,4-dihidroxifenil)-7-(2-fluoroetoxi)-8-hidroxi-2H-cromo-2-ona		C ₁₇ H ₁₃ FO ₆	332,28	

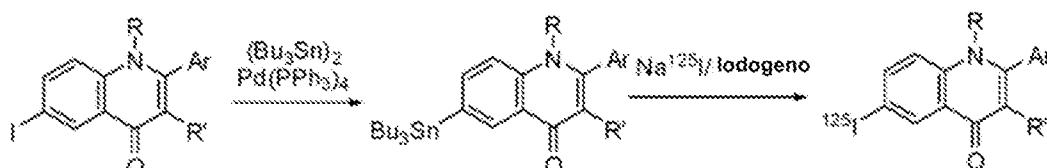
7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-8-hidroxi-4-(4-hidroxifenil)-2H-cromo-2-ona		C ₂₁ H ₂₁ FO ₇	404,39	
6-(2-fluoroetoxi)-3-hidroxi-2-fenilquinolina-4(1H)-ona		C ₁₇ H ₁₄ FNO ₃	299,30	
1-(2-fluoroetil)-3,6-dihidroxi-2-fenilquinolina-4(1H)-ona		C ₁₇ H ₁₄ FNO ₃	299,30	
2-(3-(2-fluoroetoxi)-4-hidroxifenilo)-3,6-dihidroxiquinol en-4(1H)-ona		C ₁₇ H ₁₄ FNO ₅	331,30	
2-(4-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-3-hidroxifenilo)-3,6-dihidroxiquinolin-4(1H)-ona		C ₂₁ H ₂₂ FNO ₇	419,40	
2-(3,4-dihidroxifenil)-3-hidroxi-6-(metilamino)quinolin-4(1H)-ona		C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₄	298,29	
1-(2-fluoroetil)-3,6-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil) quinolina-4(1H)-ona		C ₁₇ H ₁₄ FNO ₄	315,30	
7-(2-(4-(2-fluoroetil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etoxi)-8-hidroxi-4-fenil-2H-cromo-2-ona		C ₂₁ H ₁₈ FN ₃ O ₄	395,38	

1-(2,4-dimetilfenil)-4-(3-fluoro-5-metilfenil)-1H-1,2,3-triazol		C ₁₇ H ₁₆ FN ₃	281,33	
---	---	---	--------	--

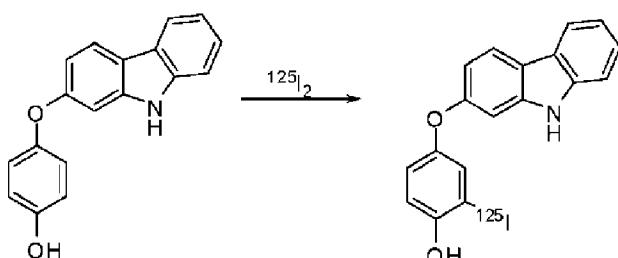
Síntesis de ligandos y sus precursores de etiquetado:**Halogenación y radiohalogenación:**

Como se divulga en el presente documento, para un número de diferentes ligandos AD, tales como flavonas, 5 cumarinas, carbazoles, quinolinonas, cromoonas, imidazoles trisustituidos y sus derivados como se divulga en el presente documento, el átomo radiomarcado, tal como un átomo de halógeno, por ejemplo, puede ser fácilmente introducido en el ligando utilizando un número de diferentes procedimientos bien conocidos la técnica. En consecuencia, los compuestos radiomarcados de la Fórmula I de la presente solicitud pueden prepararse utilizando procedimientos estándar conocidos en la técnica para preparar dichos compuestos radiomarcados que tienen un sustituyente particular, en los que el compuesto puede incorporarse con un radionúclido particular seleccionado del grupo que consiste en ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I y ⁷⁷Br.

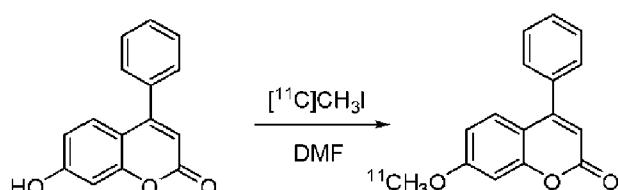
En un ejemplo particular, el halógeno puede ser introducido por un procedimiento que utiliza un procedimiento de intercambio de estaño por halógeno. Por ejemplo, un halógeno no radiactivo, tal como el yodo, puede ser sustituido por un compuesto de organoestaño a través de un metal, tal como una composición de paladio, para formar el 10 precursor de estaño radiomarcado, como se representa a continuación. Este precursor se somete entonces a la halogenación radiactiva mediante el desplazamiento con la fuente Na¹²⁵I, por ejemplo, para obtener el ligando radiactivo



Alternativamente, el halógeno radioetiquetado puede introducirse fácilmente mediante halogenación directa. Por 20 ejemplo, para un ligando que comprende un anillo aromático como parte del andamio, o un sustituyente aromático de un ligando, el anillo aromático puede ser yodado directamente utilizando un procedimiento de radioiodinación bien establecido. Uno de estos ejemplos se representa a continuación utilizando un ligando de carbazol



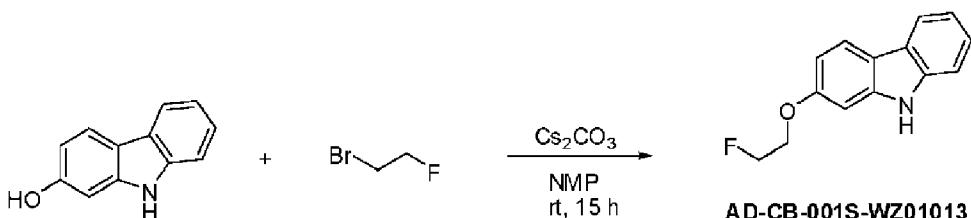
Para los compuestos marcados con ¹¹C, el compuesto marcado puede prepararse mediante la alquilación o metilación 25 de un grupo hidroxilo, como por ejemplo con [¹¹C]CH₃I para proporcionar el correspondiente derivado metoxi marcado con C-11. Por ejemplo, dicho proceso está representado por la reacción del derivado de la flavona que se muestra a continuación.



Otros procedimientos de preparación de ligandos radiomarcados son bien conocidos en la técnica. Ejemplos de tales 30 procedimientos se divulan en, por ejemplo: 1) Jewett, D.M. (1992) A Simple Synthesis of [11C]Metil 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 [11C]methyl iodide Appl. Radiat. Isot. Int. J. Appl. Instrum. Part A 38, 601-603; Dannals, R.F., Raver, H.T.; 3) Wilson, A.A. (1990) Radiochemistry of Tracers for Neurotransmitter Receptor Studies. In: 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 Radioalkylations. In: 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 metil iodide-11C and formaldehyde-11C 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-[11C]Metilation of Secondary Amides: Application to the Benzodiazepine, 4'-Chlorodiazepam (ROS-4864) Appl. Radiat. Isot. 39, 441-444; 7) Wilson, A. A., DaSilva, J. N., y Houle, S. (1996) In vivo evaluation of [11C] and [15F]-labelled cocaine analogues as potential dopamine transporter ligands for positron emission tomography Nucl. Med. Biol. 23, 141-146.

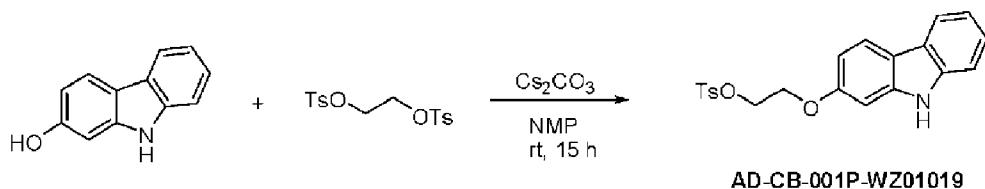
Síntesis de AD-CB-WZ01013



Al hidroxicarbazol (73 mg, 0,4 mmol) en 1 ml de NMP se añadió Cs_2CO_3 (130 mg, 0,4 mmol) y bromofluoroetano (51 mg, 0,4 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h y se diluyó con Et_2O (50 ml). Se lavó con HCl 1 M (30 ml) y agua (2x40 ml), se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (4% EtOAc en hexano al 25 %) para obtener el producto deseado (36 mg) como un sólido blanquecino.

^1H RMN (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{acetona-d}_6$) δ 9,98 (s, 1 H), 7,95 (t, $J = 8,8$ Hz, 2 H), 7,40 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,28 (t, $J = 8$ Hz, 1 H), 7,13 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,00 (d, $J = 2$ Hz, 1 H), 6,83 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 1 H), 4,85 (t, $J = 4$ Hz, 1 H), 4,73 (t, $J = 4$ Hz, 1 H), 4,35 (t, $J = 4$ Hz, 1 H), 4,28 (t, $J = 4$ Hz, 1 H); MS(ESI) m/z 230 ($\text{M}+\text{H}^+$).

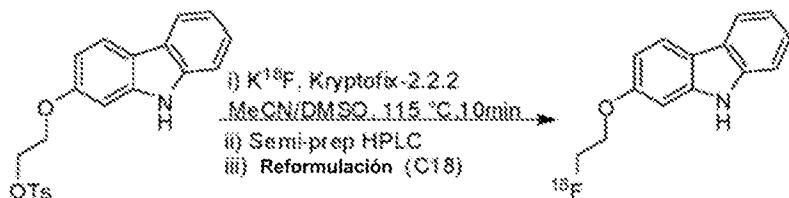
Síntesis de AD-C-WZ01011



Al hidroxicarbazol (183 mg, 1 mmol) en 4 ml de NMP se añadió Cs_2CO_3 (326 mg, 1 mmol) y etilendi-tosilato (370 mg, 1 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h y se diluyó con Et_2O (80 ml). Se lavó con HCl 1 M (50 ml) y agua (2x50 mL), se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (50% DCM en hexano a 100% DCM) para obtener el producto deseado (75 mg) como un sólido blanquecino.

^1H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 10,21 (s, 1 H), 8,00 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,95 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,84 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H), 7,45 (m, 3 H), 7,30 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,13 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H); 6,98 (s, 1 H), 6,73 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 4,44 (t, $J = 4,0$ Hz, 2 H), 4,30 (t, $J = 4,0$ Hz, 2 H), 2,42 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 382 ($\text{M}+\text{H}^+$), 404 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

Síntesis de AD-CB-001P-WZ-01019 marcado con 18F ($[^{18}\text{F}]2\text{-}(2\text{-Fluoro-etoxy)-9H-carbazol}$)



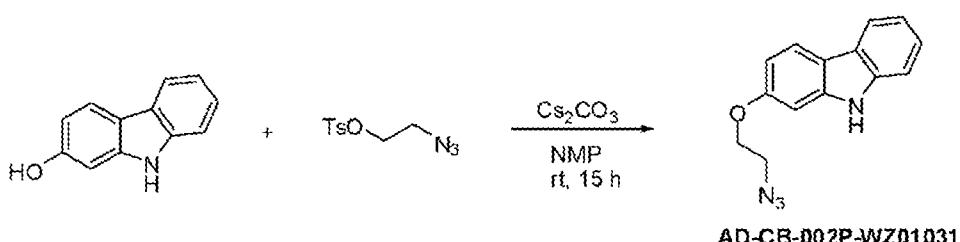
El $[^{18}\text{F}]$ Fluoruro (600 - 900 mCi) como solución enriquecida en H_2^{18}O fue entregado al módulo de síntesis. El $[^{18}\text{F}]$ fluoruro se atrapó en una columna de intercambio iónico y se eludió en el recipiente de reacción utilizando carbonato potásico acuoso (3,0 mg en 0,4 ml de H_2O). Se añadió el reactivo de transferencia de fase Kryptofix-2.2.2 (20,0 mg en 1,0 ml de MeCN) y el azeótropo agua-acetonitrilo se evaporó hasta sequedad. Se añadió al reactor el precursor del éster 2-(9H-carbazol-2-iloxy)-etilo del ácido tolueno-4-sulfónico (4 mg en 0,9 ml de MeCN / 0,1 ml de

DMSO) y luego se calentó la reacción de fluoración a 115 °C durante 10 min. La mezcla de reacción cruda se purificó por HPLC semipreparativa (Columna: Phenomenex Luna C-18, 250 mm x 10 mm; Gradiente de la fase móvil 95:5 H₂O (+0,05 % TFA) : MeCN (+0,05 % TFA) a 100 % MeCN (+0,05 % TFA); Caudal: 5 ml/min).

- 5 El pico correspondiente al [¹⁸F]2-(2-fluoro-etoxy)-9H-carbazol se recogió y se diluyó simultáneamente con agua estéril (10 ml). La mezcla resultante se pasó por un C-18 Sep-Pak para que el producto quedara atrapado y el acetonitrilo residual se lavó con más agua (10 ml). El [¹⁸F]2-(2-fluoro-etoxy)-9H-carbazol se eludió entonces en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluyó con agua estéril (9,5 ml) para proporcionar una formulación final (19 - 34 mCi en 10 ml) adecuada para la inyección (rendimiento corregido por decaimiento del 7,5 %, pureza radioquímica del 100 %).
- 10 La pureza se determinó por HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirmó por comparación con los datos de HPLC para el correspondiente estándar de referencia no marcado.

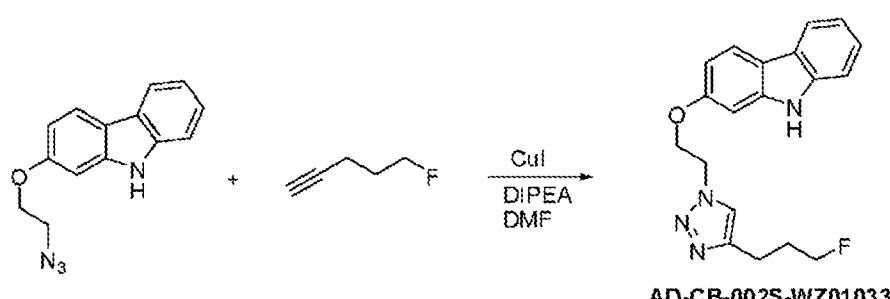
Figura 3: Análisis por UV y HPLC gamma de AD-CB-001P-WZ-01019

Síntesis de AD-CB-002P-WZ01031.



- 15 Al hidroxicarbazol (92 mg, 0,5 mmol) en 2 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (163 mg, 0,5 mmol) y etiltosilato de azida (121 mg, 0,5 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h y se diluyó con Et₂O (50 ml). Se lavó con HCl 0,5 M (50 ml) y agua (2x50 mL), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (80 % DCM en hexano a 100 % DCM) para obtener el producto deseado (76 mg) como sólido blanco.
- 20 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃/acetona-d6) δ 9,98 (s, 1 H), 7,95 (m, 2 H), 7,41 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,29 (t, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,14 (t, J = 8,0 Hz, 1 H); 7,01 (s, 1 H), 6,84 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 4,28 (t, J = 4,8 Hz, 2 H), 3,67 (t, J = 4,8 Hz, 2 H); MS(ESI) m/z 253 (M+H⁺).

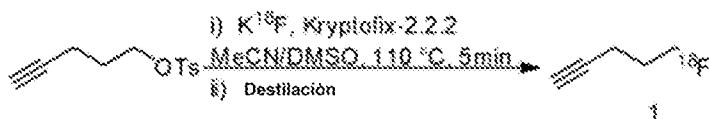
Síntesis de AD-CB-002S-WZ01033



- 25 Al azido carbazol (32 mg, 0,127 mmol) en 0,5 ml de DMF se añadió CuI (7,6 mg, 0,04 mmol), DIPEA (16,4 mg, 0,127 mmol) y fluoropentina (16,4 mg, 0,19 mmol). La mezcla de reacción se agitó energéticamente durante 1 h y se diluyó con EtOAc (30 ml). Se lavó con agua (50 ml), HCl 0,5 M (30 mL), agua (2x50 ml), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto crudo se preabsorbió en sílice (3 g) y se cargó en una columna de sílice de 4 g y se eludió con EtOAc al 30 % en hexano al 50 % para obtener el compuesto deseado (20 mg).
- 30 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD) δ 7,95 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,91 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,76 (s, 1 H), 7,40 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,31 (t, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,14 (t, J = 7,6 Hz, 1 H), 6,94 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,78 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 4,83-4,78 (m, 2 H), 4,53-4,48 (m, 3 H), 4,40 (t, J = 6,0 Hz, 1 H), 2,85 (t, J = 7,6 Hz, 2 H), 2,10-1,99 (m, 2 H); MS(ESI) m/z 339 (M+H⁺).

Síntesis de AD-CB-002S-WZ01033 marcado con ¹⁸F:

Preparación de [¹⁸F] 5-Fluoro-pent-1-ina



El $[^{18}F]$ fluoruro (600 - 900 mCi) como solución enriquecida en $H_2^{18}O$ se entrega al módulo de síntesis. El $[^{18}F]$ fluoruro se atrapa en una columna de intercambio iónico y se eluye en el recipiente de reacción utilizando carbonato potásico acuoso (3,0 mg en 0,4 ml de H_2O). Se añade el reactivo de transferencia de fase Kryptofix-2.2.2 (20,0 mg en 1,0 ml de MeCN) y el azeótropo agua-acetonitrilo se evapora hasta sequedad.

- 5 Se añade al reactor eléster de pent-4-inilo del ácido tolueno-4-sulfónico (20 mg en 0,8 ml de MeCN) y se calienta la reacción de fluoración a 110 °C durante 5 min. Tras la fluoración, la mezcla cruda de reacción se purifica por destilación y se obtiene $[^{18}F]$ 5-fluoro-pent-1-ino como solución en acetonitrilo (atrapada a -78 °C debido a la volatilidad del producto).

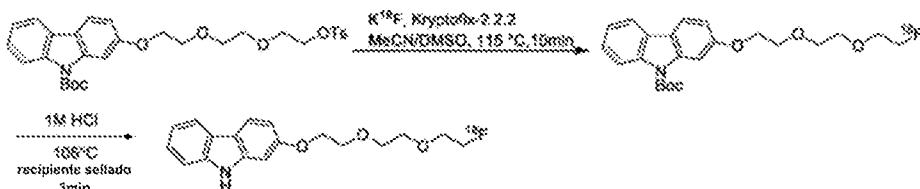
10 **Preparación del triazol:**



- 15 Se añade una mezcla de precursor de azida (5 mg), ascorbato de sodio (40 mg), *tris*-(benciltriazolilmetil) amina (TBTA, 25 mg) y solución acuosa de sulfato de cobre (0,1 M, 0,25 ml) en DMF (0,4 ml) y agua (0,1 ml) a la solución de pentina enfriada descrita anteriormente. La mezcla de reacción se calienta hasta rt y se agita durante 30 min. Transcurrido este tiempo, la reacción se purifica por HPLC semipreparativa. Se recoge el pico correspondiente al producto y se diluye simultáneamente con agua estéril (10 mL). La mezcla resultante se pasa por un C-18 Sep-Pak y el acetonitrilo residual se lava con agua adicional (10 ml). El producto se eluye en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluye con agua estéril (9,5 ml) proporcionando una formulación final adecuada para la inyección.

- 20 La pureza se determina por HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirma por comparación con los datos de HPLC para el correspondiente estándar de referencia no etiquetado.

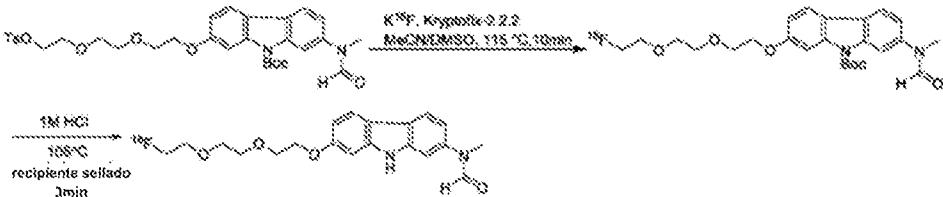
Síntesis de CB-003 marcado con ^{18}F



- 25 El $[^{18}F]$ fluoruro (600 - 900 mCi) como solución enriquecida en $H_2^{18}O$ se entrega al módulo de síntesis. El $[^{18}F]$ fluoruro se atrapa en una columna de intercambio iónico y se eluye en el recipiente de reacción utilizando carbonato potásico acuoso (3,0 mg en 0,4 ml de H_2O). Se añade el reactivo de transferencia de fase Kryptofix-2.2.2 (20,0 mg en 1,0 ml de MeCN) y el azeótropo agua-acetonitrilo se evapora hasta sequedad. Se añade el precursor (4 mg en 0,9 ml de MeCN / 0,1 ml de DMSO) al reactor y se calienta la reacción de fluoración a 115 °C durante 10 min. La mezcla se enfrió a 55 °C y la mayor parte del acetonitrilo se evaporó al vacío y con una corriente de argón como antes. Al producto bruto protegido con Boc se le añadió ácido clorhídrico acuoso (1,0 M, 1,0 ml), y la mezcla se calentó a 105 °C durante 3 minutos. Tras enfriar a 35 °C, se añadió acetato de sodio acuoso (2,0 M, 0,5 ml) con agitación. A continuación, la mezcla de reacción cruda se purifica mediante HPLC semipreparativa (Columna: Phenomenex Luna C-18, 250 mm x 10 mm; Gradiente de la fase móvil 95:5 H_2O (+0,05 % TFA) : MeCN (+0,05 % TFA) a 100 % MeCN (+0,05 % TFA); Caudal: 5 ml/min; tiempo = 25 min). Se recoge el pico correspondiente al producto final y se diluye simultáneamente

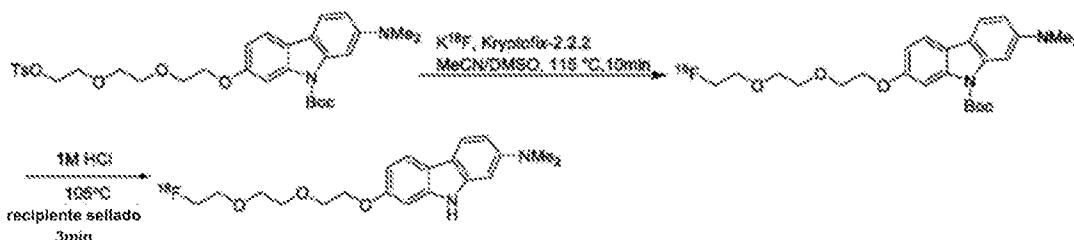
con agua estéril (10 ml). La mezcla resultante se pasa por un C-18 Sep-Pak para que el producto quede atrapado y el acetonitrilo residual se lava con más agua (10 ml). A continuación, el producto se eluye en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluye con agua estéril (9,5 ml) proporcionando una formulación final apta para la inyección (31% de rendimiento de decadencia no corregido, 100% de pureza radioquímica). La pureza se determinó mediante HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirmó por comparación con los datos de HPLC del correspondiente estándar de referencia no marcado.

Síntesis de CB-004 marcado con ^{18}F

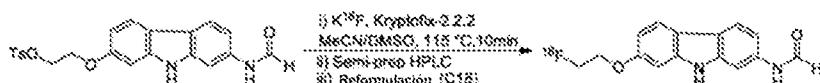


El $[^{18}\text{F}]$ fluoruro (600 - 900 mCi) como solución enriquecida en H_2^{18}O se entrega al módulo de síntesis. El $[^{18}\text{F}]$ fluoruro se atrapa en una columna de intercambio iónico y se eluye en el recipiente de reacción utilizando carbonato potásico acuoso (3,0 mg en 0,4 ml de H_2O). Se añade el reactivo de transferencia de fase Kryptofix-2.2.2 (20,0 mg en 1,0 ml de MeCN) y el azeótropo agua-acetonitrilo se evapora hasta sequedad. Se añade el precursor (4 mg en 0,9 ml de MeCN / 0,1 ml de DMSO) al reactor y se calienta la reacción de fluoración a 115 °C durante 10 min. La mezcla se enfrió a 55 °C y la mayor parte del acetonitrilo se evaporó al vacío y con una corriente de argón como antes. Al producto bruto protegido con Boc se le añadió ácido clorhídrico acuoso (1,0 M, 1,0 ml), y la mezcla se calentó a 105 °C durante 3 minutos. Tras enfriar a 35 °C, se añadió acetato de sodio acuoso (2,0 M, 0,5 ml) con agitación. A continuación, la mezcla de reacción cruda se purifica mediante HPLC semipreparativa (Columna: Phenomenex Luna C-18, 250 mm x 10 mm; Gradiante de la fase móvil 95:5 H_2O (+0,05 % TFA) : MeCN (+0,05 % TFA) a 100 % MeCN (+0,05 % TFA); Caudal: 5 ml/min; tiempo = 25 min). Se recoge el pico correspondiente al producto final y se diluye simultáneamente con agua estéril (10 ml). La mezcla resultante se pasa por un C-18 Sep-Pak para que el producto quede atrapado y el acetonitrilo residual se lava con más agua (10 ml). A continuación, el producto se eluye en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluye con agua estéril (9,5 ml) proporcionando una formulación final apta para la inyección (3% de rendimiento de decadencia no corregido, 100% de pureza radioquímica). La pureza se determinó mediante HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirmó por comparación con los datos de HPLC del correspondiente estándar de referencia no marcado.

Síntesis de CB-007 marcado con ^{18}F



El $[^{18}\text{F}]$ fluoruro (600 - 900 mCi) como solución enriquecida en H_2^{18}O se entrega al módulo de síntesis. El $[^{18}\text{F}]$ fluoruro se atrapa en una columna de intercambio iónico y se eluye en el recipiente de reacción utilizando carbonato potásico acuoso (3,0 mg en 0,4 ml de H_2O). Se añade el reactivo de transferencia de fase Kryptofix-2.2.2 (20,0 mg en 1,0 ml de MeCN) y el azeótropo agua-acetonitrilo se evapora hasta sequedad. Se añade el precursor (4 mg en 0,9 ml de MeCN / 0,1 ml de DMSO) al reactor y se calienta la reacción de fluoración a 115 °C durante 10 min. La mezcla se enfrió a 55 °C y la mayor parte del acetonitrilo se evaporó al vacío y con una corriente de argón como antes. Al producto bruto protegido con Boc se le añadió ácido clorhídrico acuoso (1,0 M, 1,0 ml), y la mezcla se calentó a 105 °C durante 3 minutos. Tras enfriar a 35 °C, se añadió acetato de sodio acuoso (2,0 M, 0,5 ml) con agitación. A continuación, la mezcla de reacción cruda se purifica mediante HPLC semipreparativa (Columna: Phenomenex Luna C-18, 250 mm x 10 mm; Gradiante de la fase móvil 95:5 H_2O (+0,05 % TFA) : MeCN (+0,05 % TFA) a 100 % MeCN (+0,05 % TFA); Caudal: 5 ml/min; tiempo = 25 min). Se recoge el pico correspondiente al producto final y se diluye simultáneamente con agua estéril (10 ml). La mezcla resultante se pasa por un C-18 Sep-Pak para que el producto quede atrapado y el acetonitrilo residual se lava con más agua (10 ml). A continuación, el producto se eluye en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluye con agua estéril (9,5 ml) proporcionando una formulación final apta para la inyección (1,2% de rendimiento de decadencia no corregido, 100% de pureza radioquímica). La pureza se determinó mediante HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirmó por comparación con los datos de HPLC del correspondiente estándar de referencia no marcado.

Síntesis de CB-012 marcado con ^{18}F 

El $[^{18}\text{F}]$ Fluoruro (600 - 900 mCi) como solución enriquecida en H_2^{18}O fue entregado al módulo de síntesis. El $[^{18}\text{F}]$ fluoruro se atrapó en una columna de intercambio iónico y se eludió en el recipiente de reacción utilizando carbonato potásico acuoso (3,0 mg en 0,4 ml de H_2O). Se añadió el reactivo de transferencia de fase Kryptofix-2.2.2 (20,0 mg en 1,0 ml de MeCN) y el azeótropo agua-acetonitrilo se evaporó hasta sequedad. Se añadió al reactor el precursor del éster 2-(9H-carbazol-2-iloxi)-etilo del ácido tolueno-4-sulfónico (4 mg en 0,9 ml de MeCN / 0,1 ml de DMSO) y luego se calentó la reacción de fluoración a 115 °C durante 10 min. La mezcla de reacción cruda se purificó por HPLC semipreparativa (Columna: Phenomenex Luna C-18, 250 mm x 10 mm; Gradiente de la fase móvil 95:5 H_2O (+0,05 % TFA) : MeCN (+0,05 % TFA) a 100 % MeCN (+0,05 % TFA); Caudal: 5 ml/min). Se recogió el pico correspondiente al producto y se diluyó simultáneamente con agua estéril (10 ml). La mezcla resultante se pasó por un C-18 Sep-Pak para que el producto quedara atrapado y el acetonitrilo residual se lavó con más agua (10 ml). El $[^{18}\text{F}]$ 2-(2-Fluoro-etoxy)-9H-carbazol se eludió entonces en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluyó con agua estéril (9,5 ml) para obtener una formulación final (19 - 34 mCi en 10 ml) apta para la inyección (2 % de rendimiento sin corregir, 100 % de pureza radioquímica). La pureza se determinó mediante HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirmó por comparación con los datos de HPLC del correspondiente estándar de referencia no marcado.

Ensayos de Derivados de Carbazol:

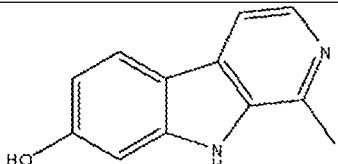
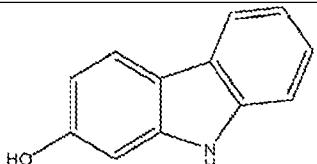
A partir del ensayo Biacore, dos derivados de carbazol mostraron afinidades de unión prometedoras a oligómeros/polímeros y fibrillas (Tabla 4). La beta-carbolina Harmol, un miembro de los alcaloides harmala, es el metabolito urinario de la harmina. Los alcaloides de la harmala son inhibidores de la MAO y se encuentran comúnmente en la ruda siria, *Peganum harmala*, y en la enredadera sudamericana *Banisteriopsis caapi*, ambas supuestamente con fuertes efectos alucinógenos. Los beta-carbolenos tienen un efecto variado sobre el sistema nervioso central que incluye la unión a los receptores 5-HT₂, 5-HT_{1a}, glutamato NMDA e imidazolina; la inhibición de la enzima MAO-A y la interferencia en la transmisión dopaminérgica. Y aunque se cree que las beta-carbolinas son citotóxicas, también mantienen propiedades neuroprotectoras ofreciendo supuestamente neuroprotección contra la dopamina y el glutamato y, además, eliminando las especies reactivas del oxígeno. Un informe reciente demostró que los alcaloides beta-carbolina inducen una facilitación de la memoria a corto y largo plazo en tareas de reconocimiento de objetos en ratones, aunque no está claro el medio por el que los alcaloides 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 el 2-hidroxicarbazol. Recientemente se ha demostrado que el 2-hidroxicarbazol libera iones de Ca^{2+} del músculo esquelético y cardíaco a través de una vía farmacológica distinta. El andamio genérico del carbazol existe en varias terapias, incluyendo el antiinflamatorio no esteroideo carprofeno, el carazolol (un betabloqueante) y el YM-53601 (un inhibidor de la escualeno sintasa). Trabajos recientes han demostrado que los derivados del carbazol pueden actuar como moduladores de la γ -secretasa. [Narlawar, R., et al., N-Substituted carbazolylloxyacetic acids modulate Alzheimer associated γ -secretases. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17: p. 176-182] En otro proyecto relacionado con la EA, Howlett descubrió que los carbazoles altamente elaborados, tal como carvedilol, inhiben la formación de fibrillas, aunque no se determinaron las afinidades de unión a las mismas. [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] Curiosamente, un artículo que pretende determinar la viabilidad del uso de carbazoles como inhibidores de fibrillas con base en la permeabilidad celular sugiere que es poco probable que los carbazoles crucen la barrera hematoencefálica, ya que son sustratos de la PGP, lo que impide su uso como terapéutica para la inhibición de fibrillas. [Saengkhae, C., et al., Ability of Carbazole Salts, Inhibitors of Alzheimer b-Amyloid Fibril Formation, to Cross Cellular Membranes. European Journal of Pharmacology, 2007, 559: p. 124-131]

Utilizando una modalidad de imagen apropiada, el patrón de biodistribución de un trazador se vuelve instantáneamente visible y accesible. Por ejemplo, mediante el uso de trazadores marcados con ^{18}F se puede cuantificar fácilmente la captación de un trazador en el cerebro y su eliminación mediante la tomografía por emisión de positrones (PET). Los trazadores con alta captación y lenta eliminación en cerebros normales generan una baja relación señal/ruido. Los trazadores con alta captación y rápido lavado en cerebros normales tienen una alta relación señal/ruido y se consideran ideales. Los carbazoles marcados con ^{18}F poseen propiedades ideales para la obtención de imágenes cerebrales. Por ejemplo, se preparó un carbazol marcado con ^{18}F y se administró a una rata blanca normal Sprague-Dawley (Figura 6). En pocos minutos, el trazador entró en el cerebro y se eliminó durante varios minutos.

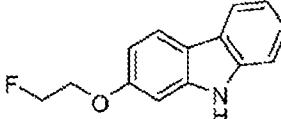
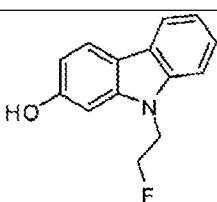
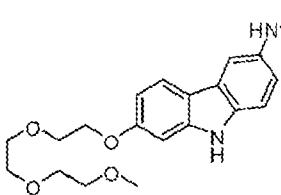
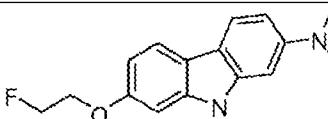
El carbazol no radiactivo también compite con éxito tanto con la tioflavina T como con el FDDNP en secciones de tejido cerebral, lo que sugiere que el trazador se une a sitios de unión similares (Figuras 4 y 5).

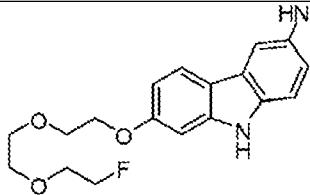
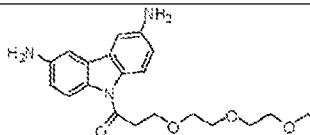
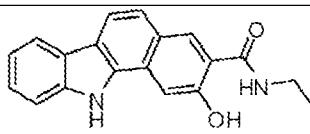
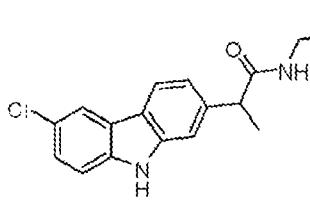
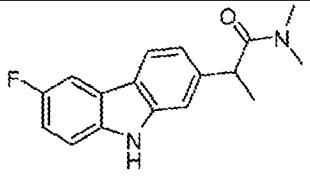
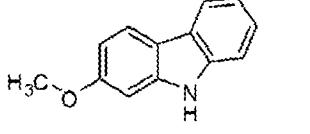
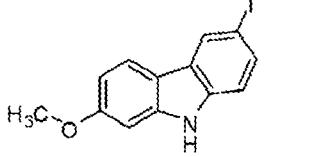
Tabla 4: Resultados del ensayo Biacore con base en carbazoles. Un signo "+" representa un acierto y el aumento de los signos "+" se relaciona con el aumento de la afinidad de unión. El signo "-" representa que no hay vinculación.

	Unión a oligómeros/polímeros (Aβ1-42)	Unión a fibrillas (Aβ1-42)
#54: Harmol		
	++	+
#55: 2-Hidroxicarbazol		
	+++	+
#73: 7,8-Dihidroxi-4-fenilcumarina		

5 En la Tabla 5 se muestra una lista de ejemplos de agentes de obtención de imágenes con base en el carbazol. Muchos de los compuestos están marcados con ^{18}F o ^{11}C . Estos compuestos son sólo de referencia y no forman parte de la invención.

Tabla 5: Ejemplos de agentes de obtención de imágenes con base en carbazol

Nombre del compuesto	Estructura	Fórmula	Mol. Peso
2-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol		C ₁₄ H ₁₂ FNO	229,25
9-(2-fluoroethyl)-9H-carbazol-2-ol		C ₁₄ H ₁₂ FNO	229,25
N-(2-fluoroethyl)-7-(2-(2-(2-metoxietoxi) etoxi)etoxi)-9H-carbazol-3-amina		C ₂₁ H ₂₇ FN ₂ O ₄	390,45
7-(2-fluoroetoxi)-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina		C ₁₆ H ₁₇ FN ₂ O	272,32

7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-carbazol-3-amina	N-metil-9H-carbazol-3-amina		C ₁₉ H ₂₃ FN ₂ O ₃	346,40
1-(3,6-diamino-9H-carbazol-9-il)-3-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)propan-1-ona			C ₂₁ H ₂₆ FN ₃ O ₄	403,45
N-(2-fluoroethyl)-2-hidroxi-11H-benzo[a]carbazol-3-carboxamida			C ₁₉ H ₁₅ FN ₂ O ₂	322,33
2-(6-cloro-9H-carbazol-2-il)-N-(2-fluoroethyl)propanamida			C ₁₇ H ₁₆ ClFN ₂ O	318,77
2-(6-fluoro-9H-carbazol-2-il)-N,N-dimetilpropanamida			C ₁₇ H ₁₇ FN ₂ O	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

Protocolo detallado del ensayo Biacore:

5 Agregados solubles de β -Amiloide (A β 42) (oligómeros/polímeros solubles). La biotina-LC-A β 42 se mezcló con A β 42 en una relación de 3:2. Tras disolverla en NH₄OH al 1% y dH₂O, la mezcla (concentración de 40 μ M) se incubó en tampón PBS 1X (pH 7,4) a RT durante 6 horas para formar oligómeros/polímeros solubles. El monómero libre de A β 42 en la muestra se eliminó utilizando un tubo de filtro centrífugo Microcon con un corte de 10 KDa de MW. Los oligómeros/polímeros Biotin-LC-A β 42 se inmovilizaron en el chip SA mediante la captura de estreptavidina-biotina.

10 Agregados insolubles (fibrillas) de β -Amiloide (A β 42). Las fibrillas se prepararon de acuerdo con los procedimientos publicados anteriormente (Agdeppa ED et al. 2001). Brevemente, se disolvieron 0,5 mg de A β 42 (Biotin-LC-A β 42:A β 42 = 1:1) en 1 ml de PBS, pH 7,4, y se mezclaron con una barra de agitación magnética durante 3 d a 37 °C, dando lugar a una solución visiblemente turbia. Las pellas de fibrillas se recogió por centrifugación. Las fibrillas Biotin-LC-A β 42 se inmovilizaron en el chip SA mediante la captura de estreptavidina-biotina.

15 Cribado de compuestos de unión a amiloide con Biacore (Análisis de Resonancia de Plasmón de Superficie). Los oligómeros/solubles de A β 42 o las fibrillas se inmovilizaron en la celda de flujo 2 (Fc2) o en la celda de flujo 3 (Fc3) del chip sensor, mientras que Fc1 sirvió de control. Los compuestos de cribado a una concentración de 10 μ M fueron volados a través de Fc1, Fc2 y Fc3 durante 2 minutos a un flujo de 30 μ l/minuto. A continuación, las

células de flujo se lavaron con tampón de funcionamiento (1X PBS) durante 2 minutos y se regeneraron con 50 mM de NaOH durante 30 segundos. La interacción en tiempo real entre el compuesto de cribado y los agregados amiloideos inmovilizados en la superficie del chip se registró en el sensorgrama.

Inmunotinción de secciones cerebrales con tioflavina T. Las muestras cerebrales de donantes con enfermedad de Alzheimer fueron infiltradas en cera de parafina después de la fijación. Los bloques de parafina con muestras cerebrales incrustadas se montaron en un microtomo y se seccionaron. A continuación, las secciones se desparafinaron e hidrataron, y se incubaron con o sin AD-CB-001S-WZ01013. La tinción se realizó con 1 uM de tioflavina T. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio de fluorescencia.

Figura 4: Inmunotinción de secciones de cerebro con tioflavina T, tioflavina T con trazador y sin tioflavina T.

Inmunotinción de secciones cerebrales con FDDNP. Las muestras de cerebro de donantes con enfermedad de Alzheimer se infiltraron en cera de parafina tras su fijación. Los bloques de parafina con muestras cerebrales incrustadas se montaron en un microtomo y se seccionaron. A continuación, las secciones se desparafinaron e hidrataron, y se incubaron con o sin AD-CB-001S-WZ01013. La tinción se realizó con 1 uM de FDDNP. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio de fluorescencia.

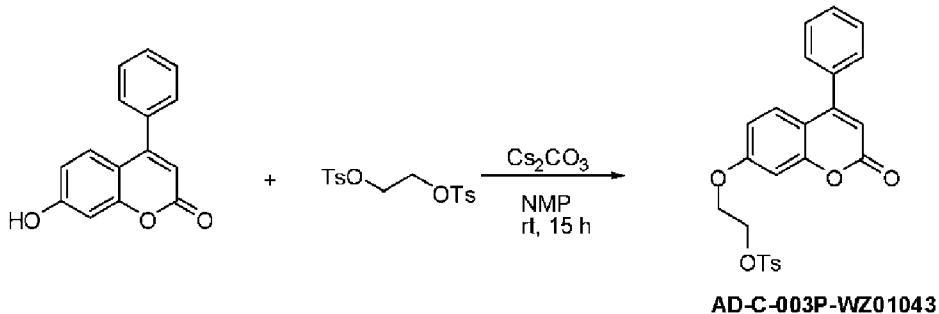
Figura 5: Inmunotinción de secciones cerebrales con FDDNP, FDDNP con trazador y sin FDDNP.

Resultados de las imágenes de AD-CB-001

Una rata blanca Sprague-Dawley fue inyectada por la vena de la cola con -850 uCi AD-CB-001, formulada en 10 % EtOH:agua. Se condujo una exploración dinámica durante 30 minutos en un escáner R4 microPET. Los datos se reconstruyeron mediante el uso de un encuadre de 1 minuto. En pocos minutos, el trazador entró en el cerebro de la rata y se eliminó rápidamente.

Figura 6: Cortes coronales de un cerebro de rata blanca utilizando un encuadre de 1 minuto. Después de 2 minutos, la concentración del trazador alcanza un nivel máximo en el cerebro y se elimina por completo después de 7 minutos.

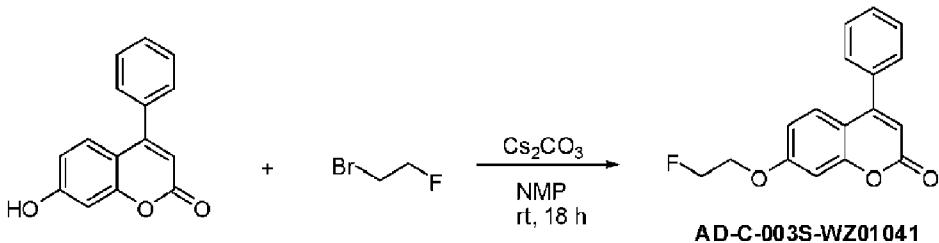
Preparación de derivados de la cumarina:



A la cumarina (120 mg, 0,5 mmol) en 2 ml de NMP se añadió Cs_2CO_3 (163 mg, 0,5 mmol) y etilendi-tosilato (185 mg, 0,5 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h y se diluyó con Et_2O (50 ml). Se lavó con HCl 1 M (50 ml) y agua (2x50 mL), se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (DCM 100 % y luego 0,3 % de MeOH en DCM) para obtener el producto deseado (51 mg) como un aceite claro.

^1H RMN(400 MHz, CDCl_3) δ 7,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H), 7,52 (m, 3 H), 7,43 (m, 2 H), 7,37 (m, 3 H), 6,75 (s, 1 H), 671 (d, $J = 9,2$ Hz, 1 H), 6,23 (s, 1 H), 4,41 (t, $J = 4,4$ Hz, 2 H), 4,22 (t, $J = 4,4$ Hz, 2 H), 2,46 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 437 ($M+\text{H}^+$).

Síntesis de AD-C-003S-WZ01041

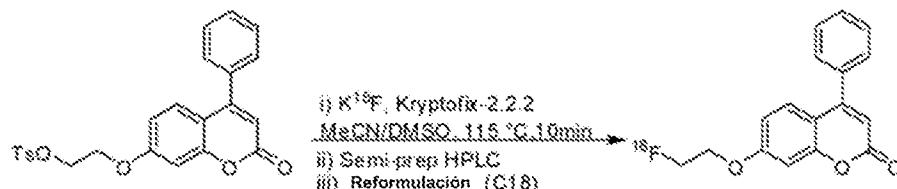


A la cumarina (238 mg, 1 mmol) en 4 mL de NMP se añadió Cs_2CO_3 (326 mg, 1 mmol) y bromofluoroetano (152 mg, 1,2 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h y se diluyó con Et_2O (50 ml). Se lavó con HCl 1 M (50 ml) y agua (2x50

mL), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (DCM 80 % en hexano al 100 %) para obtener el producto deseado (160 mg) como sólido blanco.

5 ¹H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 7,60-7,56 (m, 5 H), 7,43 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,03 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,96 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 6,18 (s, 1 H), 4,91-4,89 (m, 1 H), 4,79-4,77 (m, 1 H), 4,49-4,47 (m, 1 H), 4,42-4,40 (m, 1 H); MS(ESI) m/z 285 (M+H⁺).

Síntesis de AD-C-003S-WZ01041 marcado con ¹⁸F

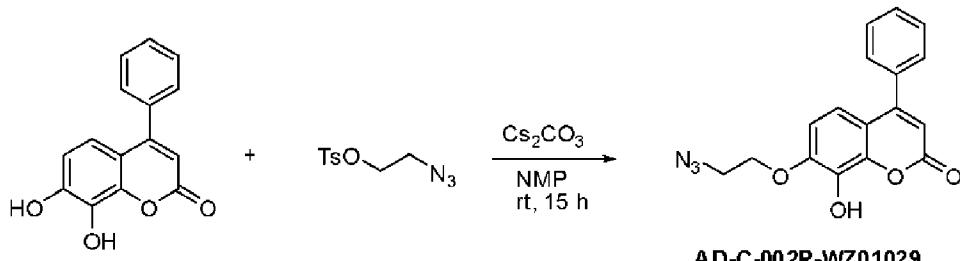


10 El [¹⁸F]fluoruro (600 - 900 mCi) como solución enriquecida en H₂¹⁸O se entrega al módulo de síntesis. El [¹⁸F]fluoruro se atrapa en una columna de intercambio iónico y se eluye en el recipiente de reacción utilizando carbonato potásico acuoso (3,0 mg en 0,4 ml de H₂O). Se añade el reactivo de transferencia de fase Kryptofix-2.2.2 (20,0 mg en 1,0 ml de MeCN) y el azeótropo agua-acetonitrilo se evapora hasta sequedad. El precursor (4 mg en 0,9 ml de MeCN / 0,1 mL de DMSO) se añade al reactor y la reacción de fluoración se calienta a 115 °C durante 10 min. La mezcla de reacción cruda se purifica por HPLC semipreparativa (Columna: Phenomenex Luna C-18, 250 mm x 10 mm; Gradiente de la fase móvil 95:5 H₂O (+0,05 % TFA) : MeCN (+0,05 % TFA) a 100 % MeCN (+0,05 % TFA); Caudal: 5 ml/min; tiempo = 25 min).

15 Se recoge el pico correspondiente al producto y se diluye simultáneamente con agua estéril (10 ml). La mezcla resultante se pasa por un C-18 Sep-Pak para que el producto quede atrapado y el acetonitrilo residual se lava con más agua (10 ml). A continuación, el producto se elude en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluye con agua estéril (9,5 ml) proporcionando una formulación final adecuada para la inyección.

20 La pureza se determina por HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirma por comparación con los datos de HPLC para el correspondiente estándar de referencia no etiquetado.

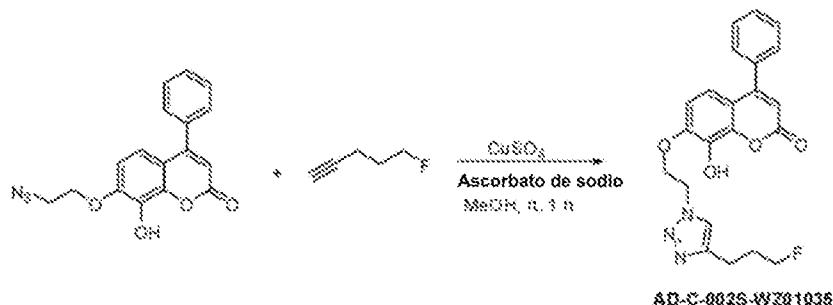
Síntesis de AD-C-002P-WZ01029



25 A la dihidroxicumarina (254 mg, 1 mmol) en 4 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (326 mg, 1 mmol) y tosilato de etilo (241 mg, 1 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h y se diluyó con Et₂O (50 ml). Se lavó con HCl 1 M (50 ml) y agua (2x50 mL), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (DCM en hexano del 80 % al 100 %) para obtener el producto monoalquilado deseado (72 mg) como un sólido blanquecino.

30 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,53-7,50 (m, 3 H), 7,45-7,43 (m, 2 H), 7,00 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 6,82 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 6,26 (s, 1 H), 5,92 (s, 1 H), 4,31 (t, J = 5,0 Hz, 2 H), 3,72 (t, J = 5,0 Hz, 2 H); MS(ESI) m/z 324 (M+H⁺).

Síntesis de AD-C-002S-WZ01035



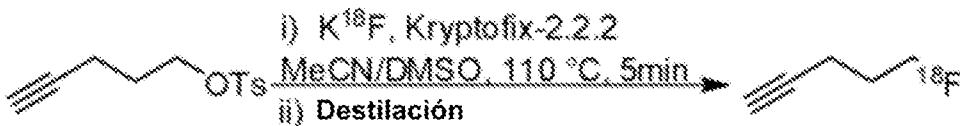
A la azidoetil cumarina (42 mg, 0,13 mmol) en 1 ml de metanol se añadió CuSO_4 (21 mg, 0,13 mmol), ascorbato de sodio (28 mg, 0,13 mmol) y fluoropentina (16,3 mg, 0,19 mmol). La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 1 h y se diluyó con EtOAc (30 ml). Se lavó con agua (2x50 ml), se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto crudo se purificó con chromatografía de sílice (eludido con EtOAc al 5 % en hexano al 60 %) para obtener el compuesto deseado (42 mg).

¹H RMN (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 7,95 (s, 1H), 7,54-7,52 (m, 3 H), 7,48-7,44 (m, 2 H), 6,94 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 6,86 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 4,86 (t, $J = 4,8$ Hz, 2 H), 4,55-4,51 (m, 3 H), 4,41 (t, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 2,83 (t, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 2,14- 2,02 (m, 2 H); MS(ESI) m/z 410 ($M+\text{H}^+$).

5

10 Síntesis de AD-C-002S-WZ-01035 marcado con ^{18}F

Preparación de [^{18}F] 5-Fluoro-pent-1-ina



15

El [^{18}F]Fluoruro (600 - 900 mCi) como solución enriquecida en H_2^{18}O fue entregado al módulo de síntesis. El [^{18}F]fluoruro se atrapó en una columna de intercambio iónico y se eludió en el recipiente de reacción utilizando carbonato potásico acuoso (3,0 mg en 0,4 ml de H_2O). Se añadió el reactivo de transferencia de fase Kryptofix-2.2.2 (20,0 mg en 1,0 ml de MeCN) y el azeótropo agua-acetonitrilo se evaporó hasta sequedad. Se añadió al reactor el éster pent-4-quinilo del ácido tolueno (20 mg en 0,8 ml de MeCN) y después se calentó la reacción de fluoración a 110 °C durante 5 min. Tras la fluoración, la mezcla de reacción cruda se purificó por destilación para obtener [^{18}F] 5-fluoro-pent-1-ino como solución en acetonitrilo (atraída a -78 °C debido a la volatilidad del producto).

20

Preparación del triazol:

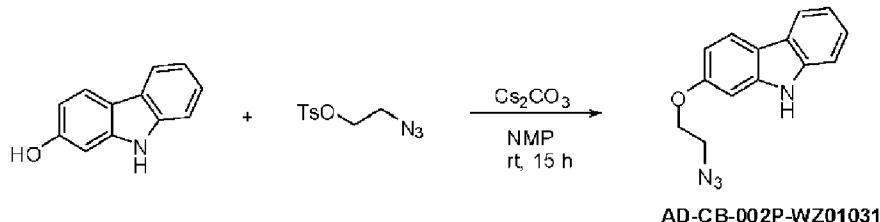


25

Se añadió una mezcla de precursor de azida (5 mg), ascorbato de sodio (40 mg), *tris*-(benciltriazolilmetil) amina (TBTA, 25 mg) y solución acuosa de sulfato de cobre (0,1 M, 0,25 ml) en DMF (0,4 ml) y agua (0,1 ml) a la solución de pentina enfriada descrita anteriormente. La mezcla de reacción se calentó hasta rt y se agitó durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, la reacción se purificó por HPLC semipreparativa. Se recogió el pico correspondiente al producto y se diluyó simultáneamente con agua estéril (10 ml). La mezcla resultante se pasó por un C-18 Sep-Pak para que el producto quedara atrapado y el acetonitrilo residual se lavó con más agua (10 ml). A continuación, el producto se eludió en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluyó con agua estéril (9,5 ml) para obtener una formulación final (19 mCi en 10 ml) apta para la inyección (rendimiento corregido por decaimiento del 10 %, pureza radioquímica del 100%).

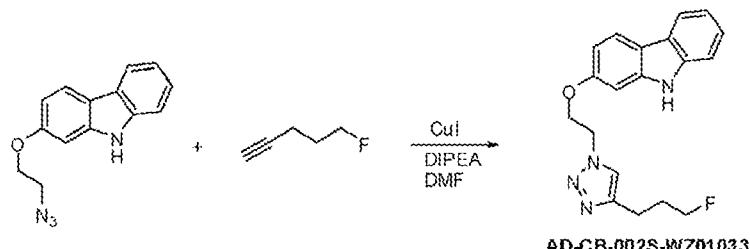
30

La pureza se determinó por HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirmó por comparación con los datos de HPLC para el correspondiente estándar de referencia no marcado.

Síntesis de AD-CB-002P-WZ01031

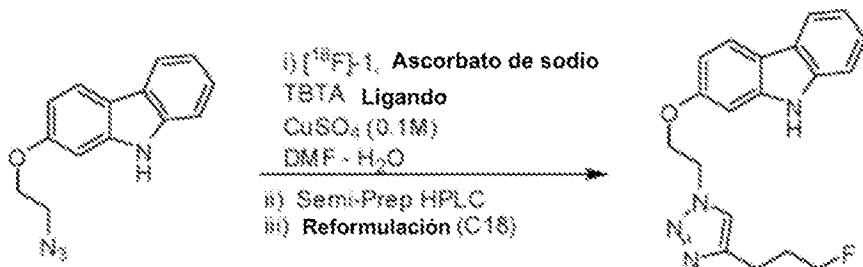
Al hidroxicarbazol (92 mg, 0,5 mmol) en 2 ml de NMP se añadió Cs_2CO (163 mg, 0,5 mmol) y tosilato de etilo (121 mg, 0,5 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h y se diluyó con Et_2O (50 ml). Se lavó con HCl 0,5 M (50 ml) y agua (2x50 mL), se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (80 % DCM en hexano a 100 % DCM) para obtener el producto deseado (76 mg) como sólido blanco.

[0121] ^1H RMN (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{acetona-d}6$) δ 9,98 (s, 1 H), 7,95 (m, 2 H), 7,41 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,29 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,14 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H); 7,01 (s, 1 H), 6,84 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 4,28 (t, $J = 4,8$ Hz, 2 H), 3,67 (t, $J = 4,8$ Hz, 2 H); MS(ESI) m/z 253 ($\text{M}+\text{H}^+$).

10 Síntesis de AD-CB-002S-WZ01033

Al etilazido carbazol (32 mg, 0,127 mmol) en 0,5 ml de DMF se añadió CuI (7,6 mg, 0,04 mmol), DIPEA (16,4 mg, 0,127 mmol) y fluoropentina (16,4 mg, 0,19 mmol). La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 1 h y se diluyó con EtOAc (30 ml). Se lavó con agua (50 ml), HCl 0,5 M (30 mL), agua (2x50 ml), se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto crudo se preabsorbió en sílice (3 g) y se cargó en una columna de sílice de 4 g y se eludió con EtOAc al 30 % en hexano al 50 % para obtener el compuesto deseado (20 mg).

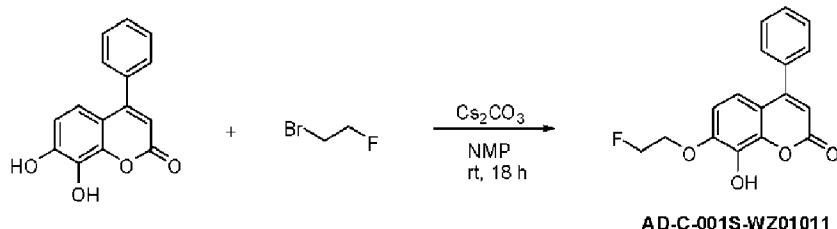
^1H RMN (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 7,95 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 7,91 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,76 (s, 1 H), 7,40 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H), 7,31 (t, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 7,14 (t, $J = 7,6$ Hz, 1 H); 6,94 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 6,78 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1 H), 4,83-4,78 (m, 2 H), 4,53-4,48 (m, 3 H), 4,40 (t, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 2,85 (t, $J = 7,6$ Hz, 2 H), 2,10-1,99 (m, 2 H); MS(ESI) m/z 339 ($\text{M}+\text{H}^+$).

20 Síntesis de AD-CB-002S-WZ01033 marcado con ^{18}F Preparación del triazol

25 Se añade una mezcla de precursor de azida (5 mg), ascorbato de sodio (40 mg), *tris*-(benciltriazolilmetil) amina (TBTA, 25 mg) y solución acuosa de sulfato de cobre (0,1 M, 0,25 ml) en DMF (0,4 ml) y agua (0,1 ml) a la solución de pentina enfriada descrita anteriormente. La mezcla de reacción se calienta hasta rt y se agita durante 30 min. Transcurrido este tiempo, la reacción se purifica por HPLC semipreparativa. Se recoge el pico correspondiente al producto y se diluye simultáneamente con agua estéril (10 mL). La mezcla resultante se pasa por un C-18 Sep-Pak y el acetonitrilo residual se lava con agua adicional (10 ml). El producto se eluye en el vial del producto con etanol de grado USP (0,5 ml) y se diluye con agua estéril (9,5 ml) proporcionando una formulación final adecuada para la inyección.

La pureza se determina por HPLC analítica equipada con un detector de radiactividad y la identidad se confirma por comparación con los datos de HPLC para el correspondiente estándar de referencia no etiquetado.

Síntesis de AD-C-WZ0111



- 5 A la dihidroxicumarina (100 mg, 0,4 mmol) en 2,5 mL de NMP se añadió Cs_2CO_3 (130 mg, 0,4 mmol) y bromofluoroetano (46 mg, 0,36 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 18 h y se diluyó con Et_2O (50 ml). Se lavó con HCl 1 M (50 mL) y agua (2x50 mL) y se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (MeOH en DCM de 0% a 1%) para obtener el producto monoalquilado deseado (25 mg) como sólido blanco.
- 10 ^1H RMN (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 7,55-7,48 (m, 5 H), 6,96 (q, $J = 7,6$ Hz, 2 H), 6,19 (s, 1 H), 4,86 (m, 1 H), 4,75 (m, 1 H), 4,43 (m, 1 H), 4,37 (m, 1 H); MS(ESI) m/z 301 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Procedimiento general para la protección del carbazol N-Boc:

En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, un septo de goma y una entrada de argón que contenía THF (40 vol) se colocó carbazol (1,0 equiv.). A esta solución se añadió NaH (60 % de dispersión en aceite, 3 equiv) a 0 °C y la reacción se dejó agitar a 0 °C durante 30 min. A esta reacción se añadió $(\text{Boc})_2\text{O}$ (1,2 equiv) a 0 °C y la reacción se dejó agitar durante 1 h. Una vez completada la reacción por LCMS, se vertió en agua (25 vol) y se extrajo en EtOAc (3 x 20 vol). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 25 vol), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron *in vacuo*. El residuo se purificó sobre gel de sílice utilizando Hexanos:EtOAc como eluyente para obtener el producto final.

Procedimiento general para la N-metilación de carbazoles:

En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, un septo de goma y una entrada de argón que contenía THF (50 vol) se colocó carbazol (1,0 equiv.). A esta solución se añadió NaH (60 % de dispersión en aceite, 3 equiv) a 0 °C y la reacción se dejó agitar a 0 °C durante 30 min. A esta reacción se añadió MeOTf (1,0 equiv) a 0 °C y la reacción se dejó agitar durante 1 h. Una vez completada la reacción por LCMS, se vertió en agua (25 vol) y se extrajo en EtOAc (3 x 20 vol). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 25 vol), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron *in vacuo*. El residuo se purificó sobre gel de sílice utilizando Hexanos:EtOAc como eluyente para obtener el producto final.

Procedimiento experimental general para la alquilación fenólica:

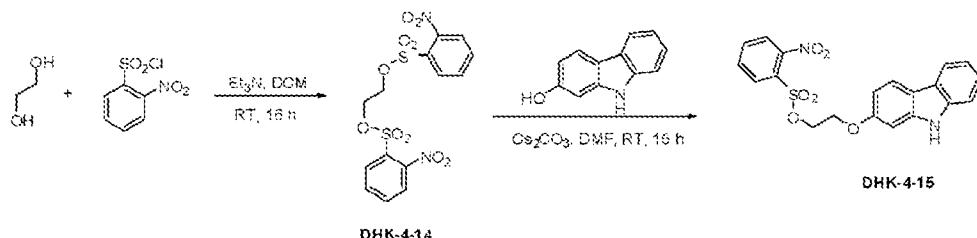
30 En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética que contenía DMF (20 vol) se colocó **fenol** (1 equiv). A esta solución se añadió **el agente alquilante** (1,0 equiv), Cs_2CO_3 (1,2 equiv) y se dejó que la reacción se agitara a 60 °C durante 16 h. A continuación, la reacción se vertió en agua (25 vol) y se extrajo en EtOAc (3 x 20 vol). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 25 vol), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron *in vacuo*. El residuo se purificó sobre gel de sílice utilizando Hexanos:EtOAc como eluyente para obtener el producto final.

Procedimiento experimental general para la reacción de acoplamiento de Suzuki:

40 En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética y con una entrada de argón que contenía tolueno: H_2O (1:1, 40 vol) se colocó **el compuesto de cloro** (1 equiv). A esta solución se añadió **ácido borónico** (1,5 equiv), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,02 equiv), K_2CO_3 y se dejó agitar la reacción a 110 °C durante 16 h. A continuación, se vertió en agua (25 vol) y se extrajo en EtOAc (3 x 20 vol). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 25 vol), se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron *in vacuo*. El residuo se purificó sobre gel de sílice utilizando Hexanos:EtOAc como eluyente para obtener el producto final.

Procedimiento experimental general para la formación de carbazoles utilizando $\text{P}(\text{OEt})_3$:

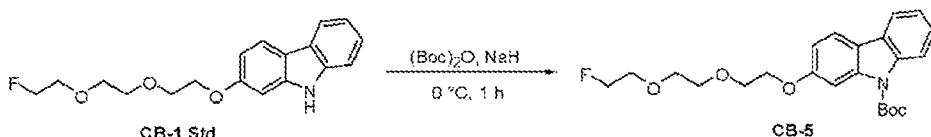
45 En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética que contenía $\text{P}(\text{OEt})_3$ (25 vol) se colocó **biarilo** (1 equiv). La reacción se dejó agitar a 150 °C durante 16 h. Una vez completada la reacción, el $\text{P}(\text{OEt})_3$ se eliminó *in vacuo*. El residuo se purificó sobre gel de sílice utilizando Hexanos:EtOAc como eluyente para obtener el compuesto final.

Síntesis del precursor del CB1-nosilato:Preparación de etano-1,2-diil bis(2-nitrobencenosulfonato) (DHK-4-14):

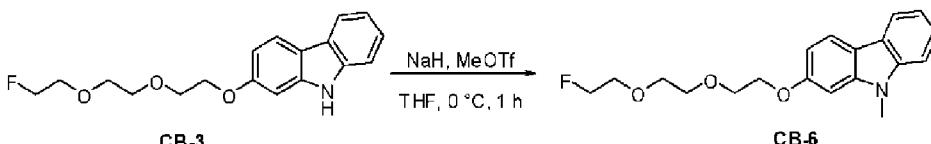
En un matraz de fondo redondo de 50 ml equipado con una barra de agitación magnética que contenía DCM (10 ml) se colocó **1,2-etanodiol** (0,25 g, 4,0 mmol). A esta solución se añadió cloruro de nosilo (1,9 g, 8,5 mmol) y Et₃N (0,90 g, 8,9 mmol) a 0 °C y se dejó que la reacción se agitara a temperatura ambiente durante 16 h. Una vez completada la reacción, el sólido blanco se filtró, se lavó con DCM (100 ml) y se secó *in vacuo* para obtener **DHK-4-14** (1,3 g, 75 %) como sólido incoloro. MS: [M+Na]⁺: 455,0

Preparación del 2-(9H-carbazol-2-iloxi)etil 2-nitrobencenosulfonato (DHK-4-15):

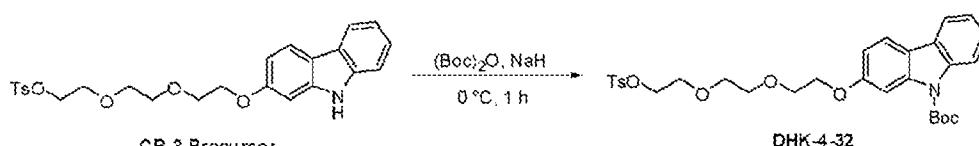
En un matraz de fondo redondo de 25 ml equipado con una barra de agitación magnética que contenía DMF (5 vol) se colocó **carbazol** (0,2 g, 1,1 mmol). A esta solución se añadió el **DHK-4-14** (0,52 g, 1,2 mmol), Cs₂CO₃ (0,43 g, 1,3 mmol) y se dejó que la reacción se agitara a temperatura ambiente durante 16 h. A continuación, la reacción se vertió en agua (25 ml) y se extrajo con EtOAc (4 × 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron *in vacuo*. El residuo crudo se purificó por cromatografía flash utilizando Hexanos:EtOAc (50:50) en un sistema de purificación CombiFlash para obtener **DHK-4-15** como un sólido blanco (0,28 g, 62 %). MS: [M+Na]⁺: 435,0

Síntesis de CB-5:Preparación de 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-carboxilato de *tert*-butilo: CB-5: DHK-4-27

Se siguió el procedimiento experimental general para la protección N-Boc del carbazol. La reacción se realizó en una escala de 0,03 g. El producto se eludió en una mezcla de 30-35 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación CombiFlash. Se aislaron 0,03 g (74 %) de **CB-5** como un aceite incoloro. MS: [M+H]⁺: 418,0

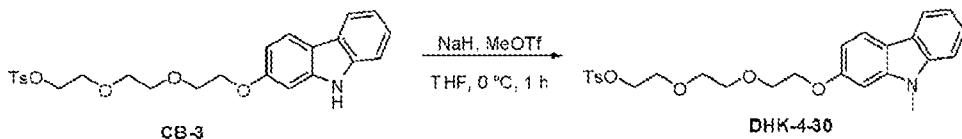
Síntesis de CB-6: DHK-4-28Preparación de 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9-metil-9H-carbazol: CB-6

Se siguió el procedimiento experimental general para la N-metilación de carbazoles. La reacción se realizó en una escala de 0,05 g. El producto se eludió en una mezcla de 40-45 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación CombiFlash. Se aislaron 0,04 g (78 %) de **CB-6** como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺: 332,1.

Síntesis del precursor CB-3 protegido por N-Boc:Preparación del 2-(2-(tosiloxi)etoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-carboxilato de *terc*-butilo: DHK-4-32

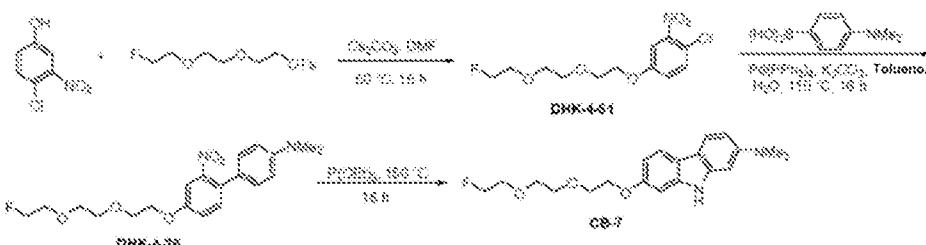
Se siguió el procedimiento experimental general para la protección N-Boc del carbazol. La reacción se realizó en una escala de 0,07 g. El producto se eludió en una mezcla de 40 % EtOAc: Hexanos en una elución de gradiente en un sistema de purificación CombiFlash. Se aislaron 0,07 g (82 %) de **DHK-4-32** como sólido blanco. MS: [M+Na]⁺: 592.

Síntesis del precursor N-metil CB-3:



Se siguió el procedimiento experimental general para la N-metilación de carbazoles. La reacción se realizó en una escala de 0,075 g. El producto se eludió en una mezcla de 40 % EtOAc: Hexanos en una elución de gradiente en un sistema de purificación CombiFlash. Se aislaron 0,07 g (91 %) de **DHK-4-30** como un sólido blanco. MS: [M+H]⁺: 484.2

10 Síntesis de CB-7 Std:



Preparación de 1-cloro-4-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-2-nitrobenceno: DHK-4-51

15 Se siguió el procedimiento experimental general para la alquilación fenólica. La reacción se realizó en una escala de 0,25 g. El producto se eludió en una mezcla de 20-30 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,44 g (99 %) de **DHK-4-51** como aceite amarillo. MS: [M+H]⁺: 308,0.

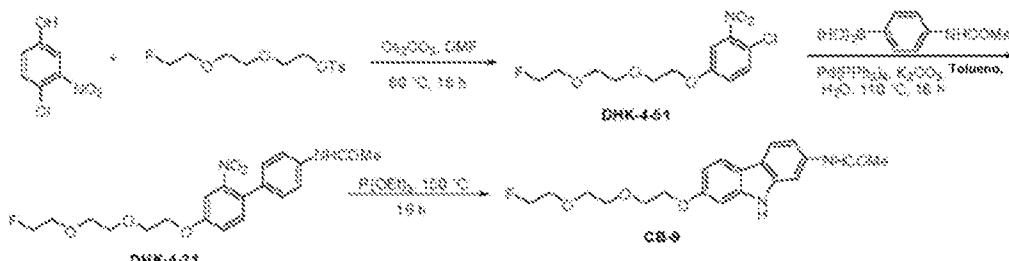
Preparación de 4'-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N,N-dimetil-2'-nitrobifenil-4-amina: DHK-4-26

Se siguió el procedimiento experimental general para la reacción de acoplamiento de Suzuki. La reacción se realizó en una escala de 0,11 g. El producto se eludió en una mezcla de 50-60 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,06 g (43 %) de **DHK-4-26** como aceite amarillo. MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 393,1

Preparación de 7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)ethoxy-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina; DHK-4-29; CB-7

Se siguió el procedimiento experimental general para la formación de carbazoles utilizando P(OEt)₃. La reacción se realizó en una escala de 0,06 g. El producto se eludió en una mezcla de 70-80 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,03 g (49 %) de **DHK-4-29 CB-7** como sólido blanco. MS: [M+H]⁺: 361,1.

Síntesis de CB-9 Std:



Preparación de 1-cloro-4-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-2-nitrobenceno; DHK-4-51

Se siguió el procedimiento experimental general para la alquilación fenólica. La reacción se realizó en una escala de 0,25 g. El producto se eludió en una mezcla de 20-30 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,44 g (99 %) de **DHK-4-51** como aceite amarillo. MS: [M+H]⁺: 308,0.

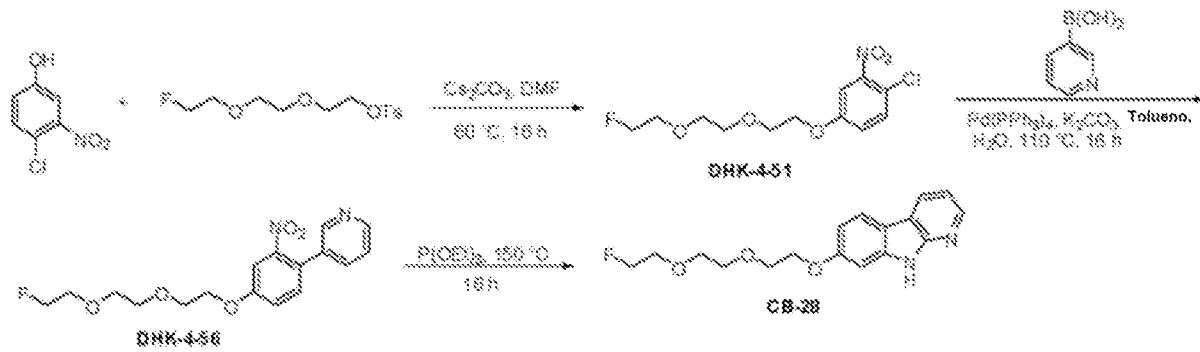
Preparación de N-(4'-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-2'-nitrobifenil-4-il)acetamida: DHK-4-31

- 5 Se siguió el procedimiento experimental general para la reacción de acoplamiento de Suzuki. La reacción se realizó en una escala de 0,11 g. El producto se eludió en una mezcla de 80-90 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,14 g (100 %) de **DHK-4-31** como aceite amarillo. MS: [M+H]⁺: 407,0.

Preparación de N-(7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-il)acetamida: DHK-4-33: CB-9

- 10 Se siguió el procedimiento experimental general para la formación de carbazoles utilizando P(OEt)₃. La reacción se realizó en una escala de 0,15 g. El producto se eludió en una mezcla de 90 % EtOAc: Hexanos en una elución de gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,03 g (49 %) de **CB-9** como sólido blanco. MS: [M+H]⁺: 375,1.

Síntesis de CB-28 Std:



15

Preparación de 1-cloro-4-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-2-nitrobenceno: DHK-4-51

Se siguió el procedimiento experimental general para la alquilación fenólica. La reacción se realizó en una escala de 0,25 g. El producto se eludió en una mezcla de 20-30 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,44 g (99 %) de **DHK-4-51** como aceite amarillo. MS: [M+H]⁺: 308,0.

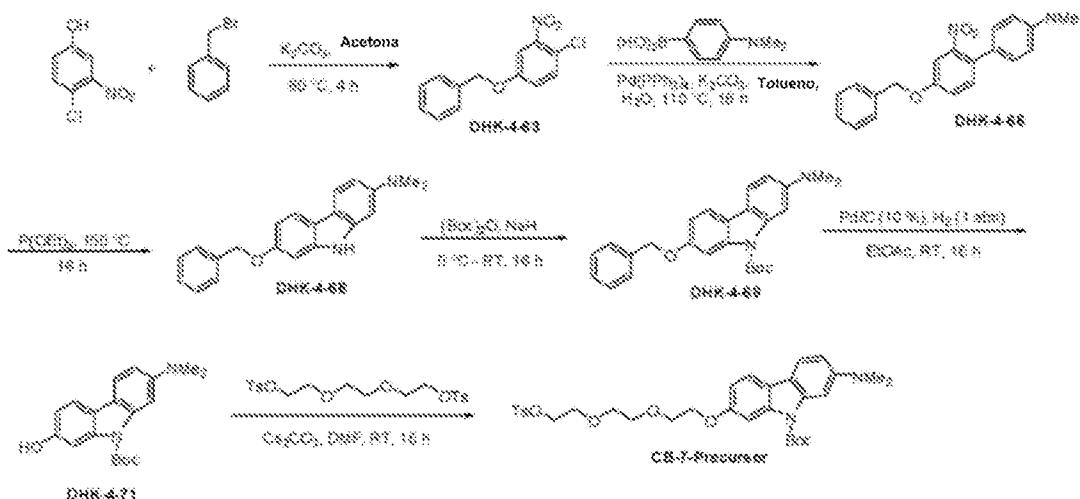
- 20 **Preparación de 3-(4-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-2-nitrofenil)piridina: DHK-4-56**

Se siguió el procedimiento experimental general para la reacción de acoplamiento de Suzuki. La reacción se realizó en una escala de 0,095 g. El producto se eludió en una mezcla de 40-50 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,01 g (9 %) de **DHK-4-56** como aceite amarillo. MS: [M+H]⁺: 351,1.

- 25 **Preparación de 7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)ethoxy)-9H-pirido[2,3-b]indol DHK-4-58: CB-28**

Se siguió el procedimiento experimental general para la formación de carbazoles utilizando P(OEt)₃. La reacción se realizó en una escala de 0,01 g. El producto se eludió en una mezcla de 50 % EtOAc: Hexanos en una elución de gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,002 g (22 %) de **CB-28** como sólido blanco. MS: [M+H]⁺: 319

- 30 **Síntesis del precursor CB-7**



Preparación de 4-(benciloxi)-1-cloro-2-nitrobenceno: DHK-4-63

Se siguió el procedimiento experimental general para la alquilación fenólica. La reacción se realizó en una escala de 1 g. Se utilizó K_2CO_3 como base y acetona como disolvente. El tiempo de reacción fue de 4 h. El producto se eludió en una mezcla de EtOAc: Hexanos al 20-30 % en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 1,45 g (95 %) de **DHK-4-63** como sólido cristalino blanco. MS: $[M+H]^+$: 264,0

Preparación de 3 4'-(benciloxi)-N,N-dimetil-2'-nitrobifenil-4-amina: DHK-4-66

Se siguió el procedimiento experimental general para la reacción de acoplamiento de Suzuki. La reacción se realizó en una escala de 0,47 g. El producto se eludió en una mezcla de 20-30 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,21 g (34 %) de **DHK-4-66** como sólido naranja. MS: $[M+H]^+$: 349,1

Preparación de la 7-(benzoxi)-N,N-dimetil-9H-carbazol-2-amina DHK-4-68:

Se siguió el procedimiento experimental general para la formación de carbazoles utilizando $P(OEt)_3$. La reacción se realizó en una escala de 0,21 g. El producto se eludió en una mezcla de 20-30 % de EtOAc: Hexanos en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,13 g (68 %) de **DHK-4-68** como sólido blanco. MS: $[M+H]^+$: 317,1

Preparación de 2-(benciloxi)-7-(dimetilamino)-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo: DHK-4-69

Se siguió el procedimiento experimental general para la protección N-Boc del carbazol. La reacción se realizó en una escala de 0,13 g. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 16 h. El producto se eludió en una mezcla de EtOAc: Hexanos al 10 % en una elución en gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,12 g (70 %) de **DHK-4-69** como sólido blanco. MS: $[M+H]^+$: 417,2.

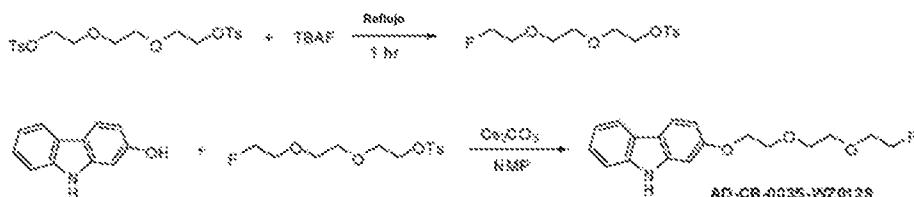
Preparación del 2-(dimetilamino)-7-hidroxi-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo: DHK-4-71

En un matraz de fondo redondo de 50 ml equipado con una barra de agitación magnética que contenía EtOAc (50 ml) se colocó **DHK-4-69** (0,11 g, 0,19 mmol). A esta solución se añadió Pd/C (10 %, 20 mg) y la reacción se dejó agitar bajo H_2 (1 atm) a RT durante 16 h. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se filtró a través de celita y los volátiles se eliminaron *in vacuo* para obtener **DHK-4-71** (0,09 g, 100 %) como sólido blanco.

Preparación de 2-(dimetilamino)-7-(2-(2-(tosiloxi)etoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo: DHK-4-72: Precursor del CB-7:

Se siguió el procedimiento experimental general para la alquilación fenólica. La reacción se realizó en una escala de 0,09 g. El producto se eludió en una mezcla de 45 % EtOAc: Hexanos en una elución de gradiente en un sistema de purificación Combiflash. Se aislaron 0,07 g (41 %) del **precursor CB-7** como sólido blanco. MS: $[M+H]^+$: 613,2.

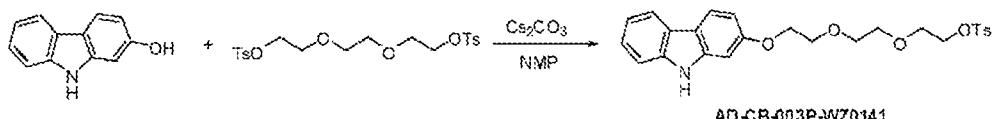
Síntesis de AD-CB-003S-WZ0129



Al 2,2'-(etano-1,2-diilbis(oxi))bis(etano-2,1-diil) bis(4-metilbencenosulfonato) (8,7 g, 19 mmol) se añadió TBAF (22,8 mL, solución 1,0 M de THF, 22,8 mmol). La mezcla se calentó a refluro durante 1 h bajo atmósfera de Ar y se enfrió a rt y se concentró a presión reducida. El material crudo se purificó con cromatografía de sílice (5 % a 40 % de THF en hexano) para obtener 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil 4-metilbencenosulfonato como un aceite claro (2,5 g, 43 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,80 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 7,34 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 4,61 (m, 1 H), 4,49 (m, 1 H), 4,16 (m, 2 H), 3,75 (m, 1 H), 3,71-3,67 (m, 3 H), 3,62 (m, 4 H); MS(ESI) m/z 307 (M+H⁺).

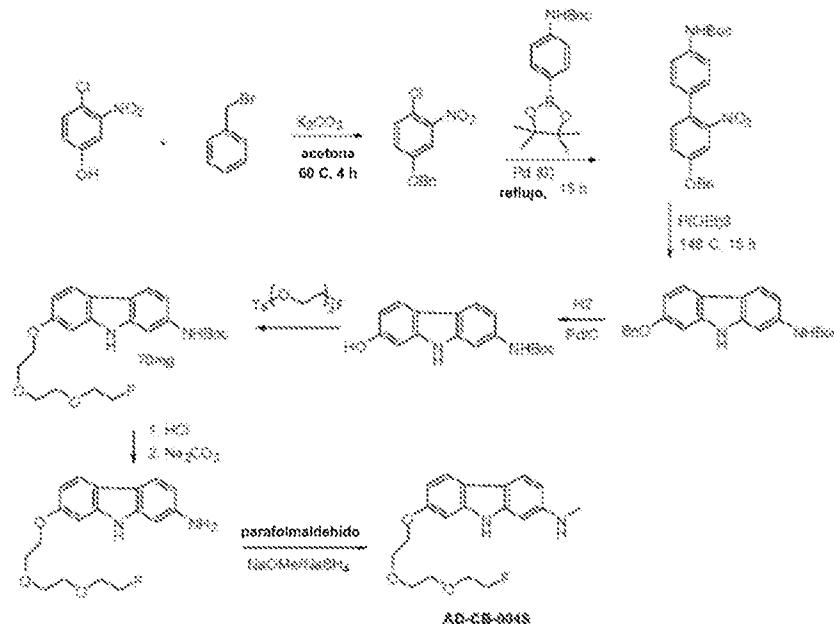
- 5 Al 2-hidroxicarbazol (45 mg, 0,25 mmol) y 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil 4-metilbencenosulfonato (82 mg, 0,27 mmol) en 0,5 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (82 mg, 0,25 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con Et₂O (50 ml). Se lavó con agua (3x 50 ml) y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó con cromatografía de sílice (5 % a 50 % de EtOAc en hexano) para obtener el producto deseado como sólido blanco (37 mg, 47 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,02 (s, 1H), 7,96 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,91 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,38-7,33 (m, 2 H), 7,20 (m, 1 H), 6,91 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,86 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 4,63 (m, 1 H), 4,51 (m, 1 H), 4,21 (m, 2 H), 3,90 (m, 2 H), 3,80-3,76 (m, 3 H), 3,74-3,71 (m, 3 H); MS(ESI) m/z 318 (M+H⁺).
- 10
- 15

Síntesis de AD-CB-003P-WZ0141



- 20 Al 2-hidroxicarbazol (183 mg, 1 mmol) y 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil 4-metilbencenosulfonato (687 mg, 1,5 mmol) en 5 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (326 mg, 1 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con Et₂O (100 ml). Se lavó con agua (3x 100 ml) y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó con cromatografía de sílice (5 % a 60 % de EtOAc en hexano) para obtener el producto deseado como sólido blanco (165 mg, 35 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,21 (s, 1H), 7,95 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,91 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,77-7,75 (m, 2 H), 7,37-7,30 (m, 2 H), 7,28 (s, 1 H), 7,25 (m, 1 H), (td, J = 7,6, 1,2 Hz, 1 H), 6,92 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,83 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 4,15 (m, 4 H), 3,84 (m, 2 H), 3,69-3,65 (m, 4 H), 3,62-3,59 (m, 2 H), 2,38 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 470 (M+H⁺), 492 (M+Na⁺).
- 25

AD-CB-004S-WZ01165



Al 4-cloro-3-nitrofenol (1,74 g, 10 mmol) y al bromuro de bencilo (2,05 g, 12 mmol) en 25 ml de acetona se añadió K₂CO₃ (2,76 g, 20 mmol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 4 h bajo atmósfera de Ar y se enfrió a rt. Se filtró y el sólido se lavó con éter (80 ml) y el filtrado combinado se concentró y se cromatógrafió (EtOAc en hexano, gradiente del 3% al 30%) para obtener 4-(benzoxi)-1-cloro-2-nitrobenceno como un sólido amarillo claro (2,5 g, 95 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,46 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,42-7,34 (m, 5 H), 7,11 (dd, J = 8,8, 2,8 Hz, 1 H), 5,08 (s, 2 H); MS(ESI) m/z 264 (M+H⁺).

Al 4-(benzoxi)-1-cloro-2-nitrobenceno (526 mg, 2 mmol) y al 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenilcarbamato de *tert*-butilo (670 mg, 2,1 mmol) en 12 ml de dioxano se añadieron 4 ml de una solución de Na₂CO₃ (aq) 1 M y Tetrakis(trifenilfosfina)paladio (69 mg, 0,06 mmol). La suspensión se calentó a reflujo durante 15 horas bajo atmósfera de Ar y se enfrió a rt. Se añadió EtOAc (100 ml) y se lavó con salmuera (80 ml), agua (80 ml) y se secó sobre MgSO₄. Tras eliminar el disolvente, el residuo se cromatógrafió (hexano/EtOAc) para obtener 4'-(benciloxi)-2'-nitrobifenil-4-ilcarbamato de *tert*-butilo como un sólido amarillo (740 mg, 88 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,44-7,34 (m, 8 H), (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,20-7,16 (m, 3 H), 6,50 (s, 1 H), 5,12 (s, 2 H), 1,51 (s, 9 H); MS(ESI) m/z 443 (M+Na⁺).

Una suspensión de 4'-(benciloxi)-2'-nitrobifenil-4-ilcarbamato de *tert*-butilo (740 mg, 1,67 mmol) en 2 ml de fosfito de tritio se calentó a 145 °C durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se enfrió a rt. Se añadió 10 ml de hexano y se dejó reposar durante 10 min. El sólido se recogió por filtración y se lavó con éter/hexano (v:v 1/1, 10 ml) y se secó bajo alto vacío para obtener 7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-ilcarbamato de *tert*-butilo como un sólido blanquecino (480 mg, 74 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,89 (s, 1 H), 7,83-7,78 (m, 3 H), 7,46 (d, J = 7,2 Hz, 2 H), 7,38 (m, 2 H), 7,32 (d, J = 7,2 Hz, 1 H), 6,94 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,88 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 6,83 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 6,60 (s, 1 H), 5,15 (s, 2 H), 1,52 (s, 9 H); MS(ESI) m/z 389 (M+H⁺).

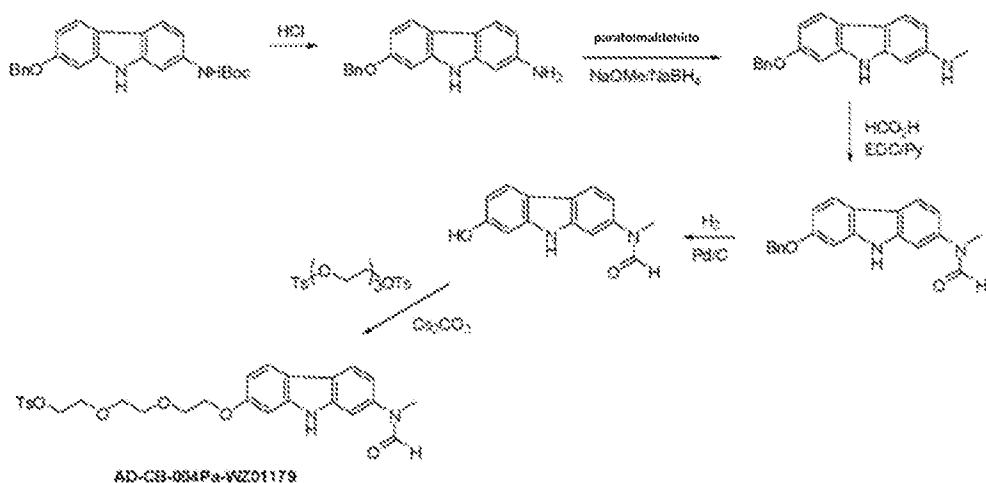
Al 7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-ilcarbamato de *tert*-butilo (220 mg, 0,56 mmol) en 50 ml de MeOH se añadió paladio sobre carbón activado (80 mg). La mezcla se agitó a rt bajo atmósfera de H₂ durante 3h. El sólido se filtró y el filtrado se concentró para obtener 7-hidroxi-9H-carbazol-2-ilcarbamato de *tert*-butilo como sólido marrón (165 mg, 100 %). Este material se utilizó directamente para la siguiente reacción sin purificación. MS(ESI) m/z 619 (2M+Na⁺).

Al 7-hidroxi-9H-carbazol-2-ilcarbamato de *tert*-butilo (165 mg, 0,55 mmol) y 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil 4-metilbencenosulfonato (202 mg, 0,66 mmol) en 2 mL de NMP se añadió Cs₂CO₃ (179 mg, 0,55 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con EtOAc (50 mL). Se lavó con agua (3x50 ml) y se secó sobre MgSO₄. Tras eliminar el disolvente, el residuo se cromatógrafió (hexano/EtOAc) para obtener 7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-ilcarbamato de *tert*-butilo como sólido blanco (130 mg, 55 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,94 (s, 1H), 7,83-7,79 (m, 3 H), 6,91 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,86 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 6,83 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 6,63 (s, 1 H), 4,64 (m, 1 H), 4,51 (m, 1 H), 4,21 (m, 2 H), 3,91 (m, 2 H), 3,81-3,71 (m, 6 H), 1,55 (s, 9 H); MS(ESI) m/z 433 (M+H⁺).

Al 7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-ilcarbamato de *tert*-butilo (130 mg, 0,3 mmol) se añadieron 10 ml de una solución de HCl 4 M en dioxano. La mezcla se agitó a rt durante 5 h y se concentró a presión reducida. El residuo se lavó con éter (15 ml) y se suspendió en EtOAc (50 ml). A esta suspensión se añadieron 10 mL de NaHCO₃ (sat.) y la mezcla se agitó durante 5 min. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró para obtener 7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-amino como un sólido marrón (95 mg, 95 %). MS(ESI) m/z 333 (M+H⁺).

Una mezcla de 7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-amino (95 mg, 0,28 mmol), paraformaldehído (43 mg, 1,43 mmol) y NaOMe (492 mg, solución de MeOH al 25 %, 2,3 mmol) en 8 ml de MeOH se calentó a reflujo durante 1,5 h bajo atmósfera de Ar y se enfrió a rt. A esta mezcla se añadió NaBH₄ (54 mg, 1,43 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 2 h. Tras enfriar a rt, la mezcla se apagó en hielo. Se extrajo con éter (3x30 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía (hexano/EtOAc) para obtener 7-(2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N-metil-9H-carbazol-2-amino (**AD-CB-003P-WZ0141**) como un sólido marrón claro (55 mg, 56 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,76 (s, 1 H), 7,77 (t, J = 8,8 Hz, 2 H), 6,78 (dd, J = 8,0, 2,0 Hz, 1 H), 6,77 (s, 1 H), 6,53 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 6,46 (s, 1 H), 4,62 (9m, 1 H), 4,50 (m, 1 H), 4,13 (t, J = 5,2 Hz, 2 H), 3,85 (t, J = 5,2 Hz, 2 H), 3,83 (s, 1 H), 3,79-3,67 (m, 6 H), 2,87 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 347 (M+H⁺).

AD-CB-004Pa-WZ01179



Al 7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-ilcarbamato de tert-butilo (200 mg, 0,51 mmol) se añadieron 10 ml de una solución de HCl 4 M en dioxano. La mezcla se agitó a rt durante 4 h y se concentró a presión reducida. El residuo se lavó con éter (15 ml) y se suspendió en EtOAc (50 ml). A esta suspensión se añadieron 10 ml de NaHCO₃ (sat.) y la mezcla se agitó durante 5 min. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró para obtener la 7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-amina como un sólido marrón (150 mg, 100 %). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 11,33 (s, 1 H), 7,99 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,92 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,42 (d, J = 6,8 Hz, 2 H), 7,34-7,21 (m, 3 H), 7,27-7,23 (m, 1 H), 7,00-6,97 (m, 2 H), 6,81 (dd, J = 8,8, 2m4 Hz, 1 H), 5,12 (s, 2 H); MS(ESI) m/z 289 (M+H⁺).

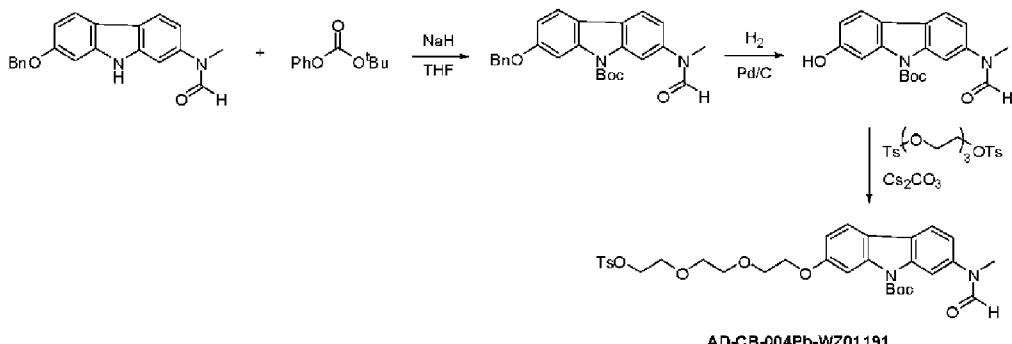
Una mezcla de 7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-amina (150 mg, 0,52 mmol), paraformaldehído (78 mg, 2,6 mmol) y NaOMe (900 mg, solución de MeOH al 25 %, 4,16 mmol) en 15 ml de MeOH se calentó a reflujo durante 2 h bajo atmósfera de Ar y se enfrió a rt. A esta mezcla se añadió NaBH₄ (98 mg, 2,6 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 2 h. Tras enfriar a rt, la mezcla se apagó en hielo. Se extrajo con EtOAc (3x50 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía (hexano/EtOAc) para obtener 7-(benciloxi)-N-metil-9H-carbazol-2-amina como un sólido marrón claro (130 mg, 82 %). ¹H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 9,78 (s, 1 H), 7,72 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,66 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,49 (d, J = 7,2 Hz, 2 H), 7,37 (m, 2 H), 7,32-7,28 (m, 1 H), 6,98 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,78 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1 H), 6,56 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,49 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1 H), 5,13 (s, 2 H), 4,96 (s, 1 H), 2,82 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 303 (M+H⁺).

A la 7-(benciloxi)-N-metil-9H-carbazol-2-amina (120 mg, 0,4 mmol), el ácido fórmico (55 mg, 1,2 mmol) y DMAP (5 mg, 0,04 mmol) en 3 ml de piridina se añadió porciones de EDC (230 mg, 1,2 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 3 h bajo atmósfera de Ar y se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc (50 ml) y se lavó con agua (2x50 ml), HCl 0,5 M (2x50 ml) y salmuera (50 ml), y se secó sobre MgSO₄. Tras eliminar el disolvente, el producto bruto se purificó con cromatografía (hexano/EtOAc) para obtener N-(7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-il)-N-metilformamida como sólido blanco (110 mg, 83 %). ¹H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 10,34 (s, 1 H), 8,49 (s, 1 H), 8,02 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,98 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,51 (d, J = 7,2 Hz, 2 H), 7,39 (m, 2 H), 7,34-7,28 (m, 1 H), 7,13 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 7,08 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1 H), 6,91 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1 H), 5,19 (s, 2 H), 3,31 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 331 (M+H⁺).

A la N-(7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-il)-N-metilformamida (110 mg, 0,33 mmol) en 50 ml de MeOH se añadió paladio sobre carbón activado (50 mg). La mezcla se agitó a rt bajo atmósfera de H₂ durante 15h. El sólido se filtró y el filtrado se concentró para obtener N-(7-hidroxi-9H-carbazol-2-il)-N-metilformamida como sólido marrón (75 mg, 94 %). Este material se utilizó directamente para la siguiente reacción sin purificación. MS(ESI) m/z 241 (M+H⁺).

A la N-(7-hidroxi-9H-carbazol-2-il)-N-metilformamida (45 mg, 0,187 mmol) y 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)ethyl 4-metilbencenosulfonato (172 mg, 0,38 mmol) en 0,5 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (65 mg, 0,2 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con EtOAc (50 mL). Se lavó con agua (2x 50 ml), HCl 0,5 M (50 ml) y salmuera (50 ml), y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el producto bruto se purificó con cromatografía de sílice (hexano/EtOAc) para obtener 2-(2-(2-(7-(N-metilformamido)-9H-carbazol-2-iloxi)etoxi)etoxi)ethyl 4-metilbencenosulfonato (**AD-CB-004Pb-WZ01179**) como un aceite marrón claro (48 mg, 48 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,52 (s, 1H), 8,45 (s, 1 H), 7,95 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,90 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,80-7,77 (m, 2 H), 7,30 (d, J = 8,0 Hz, 2 H), 7,17 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 7,02 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,01 (dd, J = 8,0, 2,0 Hz, 1 H), 6,89 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 4,23 (m, 1 H), 4,17 (m, 2 H), 3,88 (m, 2 H), 3,72-3,68 (m, 4 H), 3,66-3,61 (m, 2 H), 3,39 (s, 3 H), 2,41 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 527 (M+H⁺).

40 **AD-CB-004Pb-WZ01191**

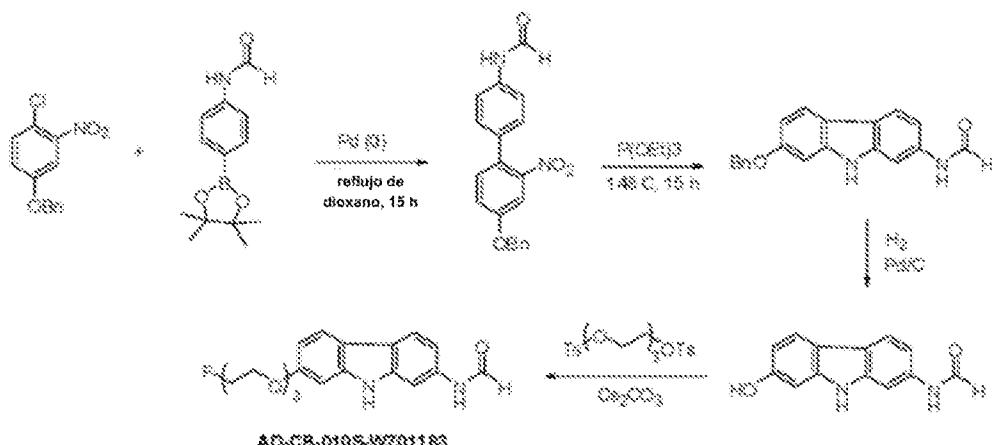


A la N-(7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-il)-N-metilformamida (140 mg, 0,42 mmol) en 5 ml de THF seco a 0 °C bajo atmósfera de Ar se añadió NaH (50 mg, 60 % en aceite, 1,26 mmol) en 4 porciones. A continuación, la mezcla se agitó a rt durante 20 min. y se añadió carbonato de tert-butilfenilo (244 mg, 1,26 mmol) con una jeringa. La reacción se dejó agitar a rt durante 3 h y se apagó en hielo (30 g). La mezcla se extrajo con EtOAc (2x40 mL) y la fase orgánica combinada se secó sobre MgSO₄. Tras la eliminación del disolvente, el residuo se cromatógrafió para obtener 2-(benciloxi)-7-(N-metilformamido)-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo como sólido blanco (120 mg, 66%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,56 (s, 1 H), 8,15 (s, 1 H), 7,98 (s, 1 H), 7,86 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,83 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,50-7,49 (m, 2 H), 7,43-7,39 (m, 2 H), 7,37-7,32 (m, 1 H), 7,13 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 7,05 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 5,18 (s, 2 H), 3,41 (s, 3 H), 1,75 (s, 9 H); MS(ESI) m/z 431 (M+H⁺).

Al 2-(benciloxi)-7-(N-metilformamido)-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo (120 mg, 0,28 mmol) en 50 mL de MeOH se añadió paladio sobre carbón activado (50 mg). La mezcla se agitó a rt bajo atmósfera de H₂ durante 3h. El sólido se filtró y el filtrado se concentró para obtener 2-hidroxi-7-(N-metilformamido)-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo como sólido marrón (95 mg, 100 %). Este material se utilizó directamente para la siguiente reacción sin purificación. MS(ESI) m/z 341 (M+H⁺).

Al 2-hidroxi-7-(N-metilformamido)-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo (65 mg, 0,19 mmol) y 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil 4-metilbencenosulfonato (174 mg, 0,38 mmol) en 0,5 mL de NMP se añadió Cs₂CO₃ (68 mg, 0,21 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con EtOAc (80 mL). Se lavó con agua (3x 50 mL) y se secó sobre MgSO₄. El disolvente se eliminó bajo presión reducida y el producto bruto se purificó con cromatografía de sílice (hexano/EtOAc) para obtener 2-(N-metilformamido)-7-(2-(tosiloxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-carboxilato de tert-butilo (**AD-CB-004Pb-WZ01191**) como aceite claro (75 mg, 63 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,56 (s, 1 H), 8,14 (s, 1 H), 7,89 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,87 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,83-7,77 (m, 2 H), 1 (d, J = 8,0 Hz, 2 H), 7,32 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 7,15 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,00 (dd, J = 8,8, 2,0 Hz, 1 H), 4,23 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 3,89 (m, 1 H), 3,88 (m, 2 H), 3,73 (m, 2 H), 3,66-3,63 (m, 2 H), 3,41-3,61 (m, 2 H), 2,42 (s, 3 H), 1,76 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 527 (M+H⁺).

AD-CB-010S-WZ01183



A la 4-(benciloxi)-1-cloro-2-nitrobenceno (394 mg, 1,5 mmol) N-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)formamida (370 mg, 1,5 mmol) en 6 mL de dioxano se añadieron 3 mL de una solución de Na₂CO₃ (aq) 1 M y Tetrakis(trifenilfosfina)paladio (52 mg, 0,045 mmol). La suspensión se calentó a reflugio durante 15 horas bajo atmósfera

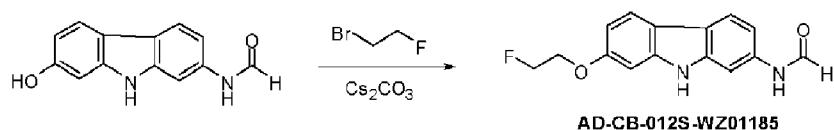
de Ar y se enfrió a rt. Se añadió EtOAc (80 ml) y se lavó con salmuera (50 ml), agua (2x80 ml) y se secó sobre MgSO₄. Tras eliminar el disolvente, el residuo se cromatógrafió (hexano/EtOAc) para obtener N-(4'-(bencíloxi)-2'-nitrobifenil-4-il)formamida como sólido amarillo (395 mg, 75 %). MS(ESI) m/z 349 (M+H⁺).

Una suspensión de N-(4'-(bencíloxi)-2'-nitrobifenil-4-il)formamida (350 mg, 1 mmol) en 2 ml de fosfito de tríptilo se calentó a 145 C durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se enfrió a rt. Se añadió 10 ml de hexano y se dejó reposar durante 10 min. El sólido se recogió por filtración y se lavó con éter/hexano (v:v 1/1, 10 ml) y se secó bajo alto vacío para obtener N-(7-(bencíloxi)-9H-carbazol-2-il)formamida como un sólido marrón claro (280 mg, 88 %). MS(ESI) m/z 317 (M+H⁺).

A la N-(7-(bencíloxi)-9H-carbazol-2-il)formamida (250 mg, 0,79 mmol) en 50 ml de MeOH se añadió paladio sobre carbón activado (60 mg). La mezcla se agitó a rt bajo atmósfera de H₂ durante 15h. La mezcla se concentró bajo presión reducida y se secó a alto vacío para obtener N-(7-hidroxi-9H-carbazol-2-il)formamida mezclada con el catalizador como un sólido negro (240 mg). Este material se utilizó directamente para la siguiente reacción sin purificación. MS(ESI) m/z 227 (M+H⁺).

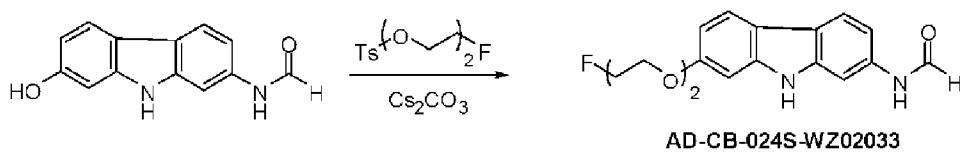
A la N-(7-hidroxi-9H-carbazol-2-il)formamida (30 mg) y 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etilo 4-metilbenzenosulfonato de etilo (48 mg, 0,156 mmol) en 0,3 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (42 mg, 0,13 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con EtOAc (30 mL). Se lavó con agua (3x30 ml) y se secó sobre MgSO₄. Tras eliminar el disolvente, el residuo se cromatógrafió (hexano/EtOAc) hasta obtener N-(7-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida (**AD-CB-010S-WZ01183**) como sólido blanco (17 mg, 36 %). Para el rotómero mayor: ¹H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 10,10 (s, 1 H), 9,28 (s, 1 H), 8,39 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 8,11 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,91 (s, 1 H), 7,87 (d, J = 8,4, Hz, 2 H), 7,17 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 7,01 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,80 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 4,58 (m, 1 H), 4,46 (m, 1 H), 4,21 (m, 2 H), 3,88 (m, 2 H), 3,77 (m, 1 H), 3,73-3,66 (m, 5 H); MS(ESI) m/z 361 (M+H⁺).

AD-CB-012S-WZ01185



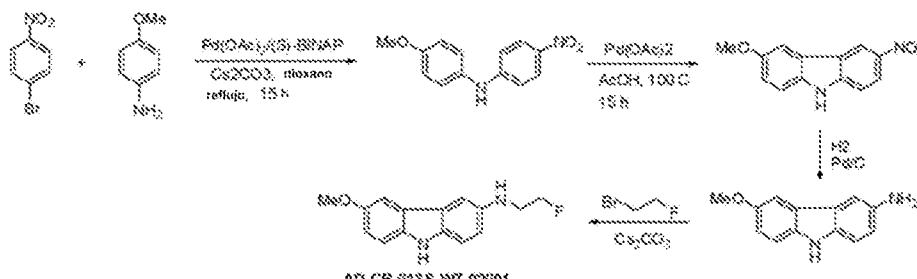
El compuesto **AD-CB-012S-WZ01185** se preparó utilizando el mismo procedimiento para la preparación de **AD-CB-010S-WZ01183**. Para el rotómero mayor: ¹H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 10,08 (s, 1 H), 9,19 (s, 1 H), 8,26(d, J = 1,6 Hz, 1 H), 8,00 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,84-7,77 (m, 3 H), 7,07 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 6,93 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,69 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 4,73 (m, 1 H), 4,61 (m, 1 H), 4,24 (m, 1 H), 4,17 (m, 1 H); MS(ESI) m/z 273 (M+H⁺).

AD-CB-024S-WZ02033



El compuesto **AD-CB-024S-WZ02033** se preparó utilizando el mismo procedimiento para la preparación de **AD-CB-010S-WZ01183**. Para el rotómero mayor: ¹H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 10,19 (s, 1 H), 9,31 (s, 1 H), 8,38(d, J = 1,6 Hz, 1 H), 8,11 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,88 (d, J = 8,2 Hz, 2 H), 7,19 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 7,03 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,79 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 4,62 (m, 1 H), 4,50 (m, 1 H), 4,20 (m, 2 H), 3,88 (m, 2 H), 3,83 (m, 1 H), 3,75 (m, 1 H); MS(ESI) m/z 317 (M+H⁺).

AD-CB-013S-WZ-02001



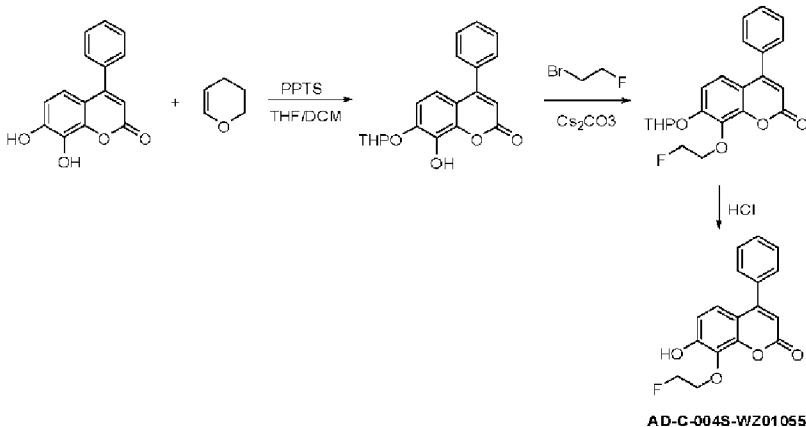
Una mezcla de acetato de paladio (37 mg, 0,165 mmol) y BINAP (154 mg, 0,248 mmol) en 5 ml de dioxano se agitó durante 10 min bajo atmósfera de Ar. A esta mezcla se añadió 1-bromo-4-nitrobenceno (1,11 g, 5,5 mmol), 4-metoxianilina (745 mg, 6,07 mmol), CsCO₃ (2,5 g, 7,73 mmol) y 10 ml de dioxano. La mezcla se calentó a reflujo durante 15 h, se enfrió y se diluyó con éter (80 ml). El sólido se eliminó por filtración y el filtrado se concentró. El residuo se cromatógrafió (hexano/EtOAc) para obtener 4-metoxi-N-(4-nitrofenil)anilina como un sólido amarillo (786 mg, 58%). MS(ESI) m/z 245 (M+H⁺).

A la 4-metoxi-N-(4-nitrofenil)anilina (785 mg, 3,2 mmol) en 5 ml de AcOH se añadió Pd(OAc)₂ (1,43 g, 6,4 mmol). La mezcla se calentó a 100 °C durante 15 h bajo atmósfera de aire, se enfrió a rt y se concentró a presión reducida. El residuo se tomó en EtOAc (100 ml) y se lavó con NaHCO₃ (2x100 ml) y agua (100 ml). Tras eliminar el disolvente, el crudo se purificó con cromatografía (hexano/EtOAc) para obtener 3-metoxi-6-nitro-9H-carbazol como un sólido naranja (495 mg, 64 %). ¹H NMR (400 MHz, acetona-d6) δ 10,90 (s, 1 H), 9,09 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 8,27 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1 H), 7,96 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 7,53 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,14 (dd, J = 8,8, 2,8 Hz, 1 H), 3,92 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 243 (M+H⁺).

Al 3-metoxi-6-nitro-9H-carbazol (100 mg, 0,41 mmol) en 40 ml de MeOH se añadió paladio sobre carbón activado (50 mg). La mezcla se agitó a rt bajo atmósfera de H₂ durante 5 h. El sólido se filtró y el filtrado se concentró para obtener 6-metoxi-9H-carbazol-3-amina como sólido marrón (80 mg, 92 %). Este material se utilizó directamente para la siguiente reacción sin purificación. MS(ESI) m/z 213 (M+H⁺).

A la 6-metoxi-9H-carbazol-3-amina (16 mg, 0,075 mmol) y al 1-bromo-2-fluoroetano (48 mg, 0,375 mmol) en 0,3 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (30 mg, 0,09 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 72 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con EtOAc (30 mL). Se lavó con agua (3x30 ml) y se secó sobre MgSO₄. Tras eliminar el disolvente, el residuo se purificó mediante HPLC en fase inversa (tampón A: 0,05 % TFA acuoso; tampón B: 0,05 % TFA en MeCN) para obtener una cera de color marrón claro (5 mg, 26 %). ¹H NMR (400 MHz, acetona-d6) δ 7,75 (s, 1 H), 7,67 (s, 1 H), 7,52 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 7,35 (t, J = 9,6 Hz, 2 H), 7,14 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,00 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 4,81 (t, J = 5,2 Hz, 1 H), 4,69 (t, J = 4,8 Hz, 1 H), 3,89 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 259 (M+H⁺).

25 AD-C-004S-WZ01055

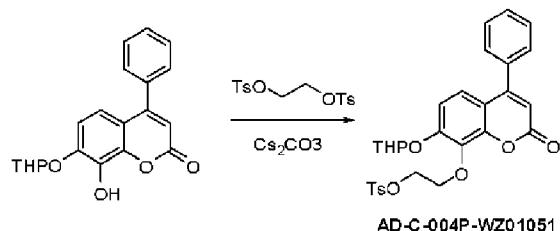


A la 7,8-dihidroxi-4-fenil-2H-cromo-2-ona (500 mg, 2 mmol) y al 3,4-dihidro-2H-pirano en 4 ml de THF y 4 ml de DCM se añadió paratoluenosulfonato de piridinio (PPTS, 8 mg). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con EtOAc (50 mL). Se lavó con NaHCO₃ (sat. 30 ml) y agua (50 ml) y se secó sobre MgSO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se cromatógrafió (hexano/EtOAc) para obtener 8-hidroxi-4-fenil-7-(tetrahidro-2H-pirano-2-iloxi)-2H-cromo-2-ona como sólido hueco (180 mg, 26 %). MS(ESI) m/z 339 (M+H⁺).

A la 8-hidroxi-4-fenil-7-(tetrahidro-2H-pirano-2-iloxi)-2H-cromo-2-ona (40 mg, 0,12 mmol) y al 1-bromo-2-fluoroetano (22 mg, 0,17 mmol) en 0,4 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (46 mg, 0,14 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 5 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con éter (40 ml). Se lavó con agua (3x30 ml) y se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía (hexano/EtOAc) para obtener 8-(2-fluoroetoxi)-4-fenil-7-(tetrahidro-2H-pirano-2-iloxi)-2H-cromo-2-ona como sólido blanco (34 mg, 73 %). MS(ESI) m/z 385 (M+H⁺).

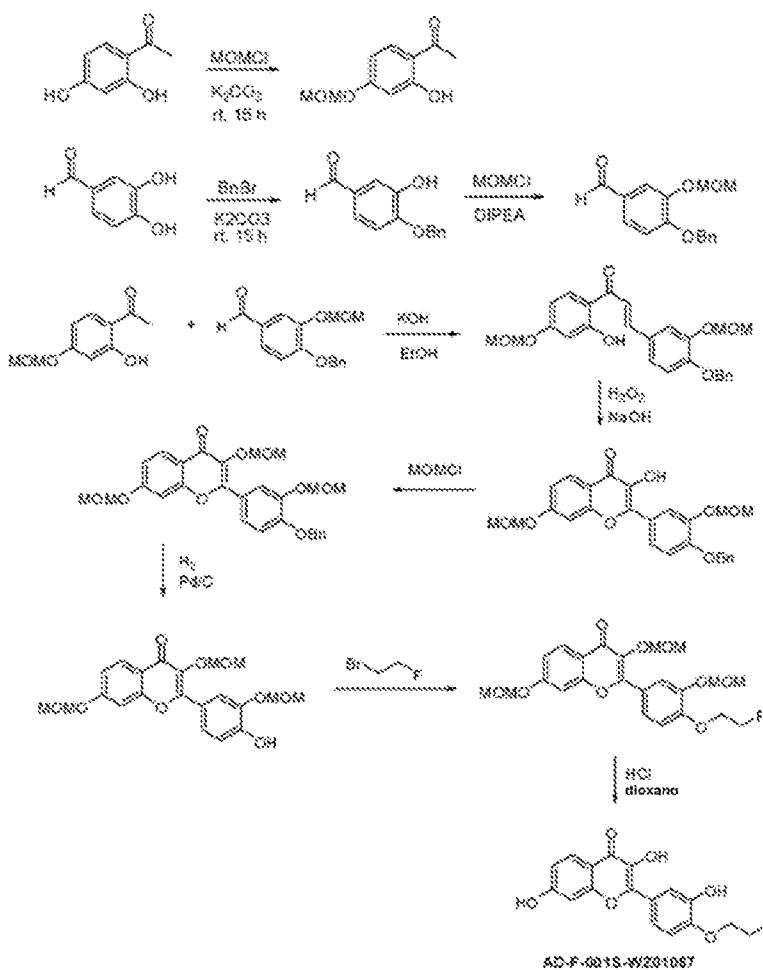
A la 8-(2-fluoroetoxi)-4-fenil-7-(tetrahidro-2H-pirano-2-iloxi)-2H-cromo-2-ona se añadieron 1,5 ml de una solución de HCl 4 M en dioxano. La mezcla se agitó a rt durante 30 min bajo atmósfera de Ar y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía (hexano/EtOAc) para obtener 8-(2-fluoroetoxi)-7-hidroxi-4-fenil-2H-cromo-2-ona (**AD-C-004S-WZ01055**) como sólido blanco (24 mg, 90 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,96 (s, 1 H), 7,57-7,54 (m, 3 H), 7,52-7,49 (m, 2 H), 7,08 (dd, J = 8,8, 1,2 Hz, 1 H), 6,87 (dd, J = 8,8, 1,2 Hz, 1 H), 6,11 (dd, J = 1,2 Hz, 1 H), 4,86 (m, 1 H), 4,74 (m, 1 H), 4,50 (m, 1 H), 4,43 (m, 1 H); MS(ESI) m/z 301 (M+H⁺), 323 (M+ H⁺).

AD-C-004P-WZ01051



A la 8-hidroxi-4-fenil-7-(tetrahidro-2H-pirano-2-oxo)-2H-cromo-2-ona (115 mg, 0,34 mmol) y al bis(4-metilbencenosulfonato) de etano-1,2-diilo (188 mg, 0,51 mmol) en 1 ml de NMP se añadió Cs_2CO_3 (133 mg, 0,41 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con éter (50 ml). Se lavó con agua (3x50 ml) y se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía (hexano/EtOAc) para obtener 2-(2-oxo-4-fenil-7-(tetrahidro-2H-pirano-2-oxo)-2H-cromo-8-oxo)etil 4-metilbencenosulfonato como una cera blanca (97 mg, 53 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,83 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,53-7,50 (m, 3 H), 7,43-7,41 (m, 2 H), 7,36 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,16 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,06 (d, J = 9,2 Hz, 1 H), 622 (s, 1 H), 5,56 (t, J = 2,8 Hz, 1 H), 4,41 (m, 4 H), 3,86 (td, J = 10,8, 2,8 Hz, 1 H), 3,61 (m, 1 H), 2,08-1,86 (m, 3 H), 1,76-1,63 (m, 3 H); MS(ESI) m/z 537 ($M+\text{H}^+$).

5

10 AD-F-001S-WZ01067

A la 1-(2,4-dihidroxifenil)etanona (1,52 g, 10 mmol) en 12 ml de acetona se añadió K_2CO_3 (1,38 g, 10 mmol) seguido de la adición lenta de cloro(metoxi)metano (885 mg, 11 mmol) con agitación bajo atmósfera de Ar a rt. La mezcla de reacción se agitó a rt durante 4 h y se filtró. El sólido se lavó con EtOAc (80 ml) y el filtrado combinado se lavó con NaH_2PO_4 (sat. 50 ml) y agua (80 ml) y se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto crudo se purificó con cromatografía de sílice (hexano/EtOAc) para obtener 1-(2-hidroxi-4-(metoximetoxi)fenil)etanona como un sólido blanquecino (1,2 g, 61%). MS(ESI) m/z 197 ($M+\text{H}^+$).

15

Una mezcla de 3,4-dihidroxibenzaldehído (1,38 g, 10 mmol), bromuro de bencilo (1,71 g, 10 mmol) y K_2CO_3 (1,24 g, 9 mmol) en 20 ml de acetona se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar. El sólido se filtró y el filtrado se diluyó con EtOAc (100 mL) y se lavó con NaH_2PO_4 (sat. 100 mL), y se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El residuo se

20

cromatografió (hexano/EtOAc) para obtener 4-(benzoxi)-3-hidroxibenzaldehído como un sólido blanco (1,15 g, 50 %). ^1H RMN(400 MHz, CDCl₃) δ 9,84 (s, 1 H), 7,46 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,44-7,40 (m, 6 H), 7,04 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 5,80 (s, 1 H), 5,21 (s, 2 H); MS(ESI) m/z 229 (M+H⁺).

5 Una mezcla de 4-(benzoxi)-3-hidroxibenzaldehído (912 mg, 4 mmol), cloro(metoxi)metano (480 mg, 6 mmol) y DIPEA (1,03 g, 8 mmol) en 20 ml de DCM se agitó a rt bajo atmósfera de Ar durante 15 h. Se diluyó con éter (100 ml) y se lavó con HCl 0,5 M (2x50 ml) y agua (2x80 mL), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía de sílice (hexano/EtOAc) para obtener 4-(benzoiloxi)-3-(metoximetoxi)benzaldehído como un aceite claro (960 mg, 88%). MS(ESI) m/z 273 (M+H⁺).

10 A la 1-(2-hidroxi-4-(metoximetoxi)fenil)etanona (618 mg, 3,15 mmol) y al 4-(benzoxi)-3-(metoximetoxi)benzaldehído (816 mg, 3 mmol) en un matraz de fondo redondo de 25 ml bajo atmósfera de Ar se añadieron 2,5 ml de una solución de KOH en EtOH al 5 % recién hecha. La mezcla se agitó enérgicamente a rt hasta que se solidificó y se mantuvo a rt durante 6 días. Se tomó en éter (100 ml) y se añadió HCl 0,5 M a pH=5, y se agitó durante 3 min. La mezcla se lavó con agua (2x100 ml) y se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se cromatógrafió (hexano/EtOAc) para obtener (E)-3-(4-(benzoxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-1-(2-hidroxi-4-(metoximetoxi)fenil)prop-2-en-1-ona como un aceite claro (780 mg, 58 %). MS(ESI) m/z 451 (M+H⁺).

15 A la (E)-3-(4-(benicloxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-1-(2-hidroxi-4-(metoximetoxi)fenil)prop-2-en-1-ona (450 mg, 1 mmol) en 1,5 ml de MeOH se añadieron 4 ml de una solución de NaOH al 15 %, seguida de peróxido de hidrógeno (113 mg, solución al 30%). La mezcla se agitó a rt durante 2 h y se añadieron 226 mg adicionales de peróxido de hidrógeno. La reacción se agitó durante 15 y se apagó en NaH₂PO₄ (sat. 50 ml). Se extrajo con EtOAc (3x50 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se cromatógrafió (hexano/EtOAc) para obtener 2-(4-(bencíloxi)-3-(metoxietoxi)fenil)-3-hidroxi-7-(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona como un sólido blanquecino (55 mg, 12 %). MS(ESI) m/z 465 (M+H⁺).

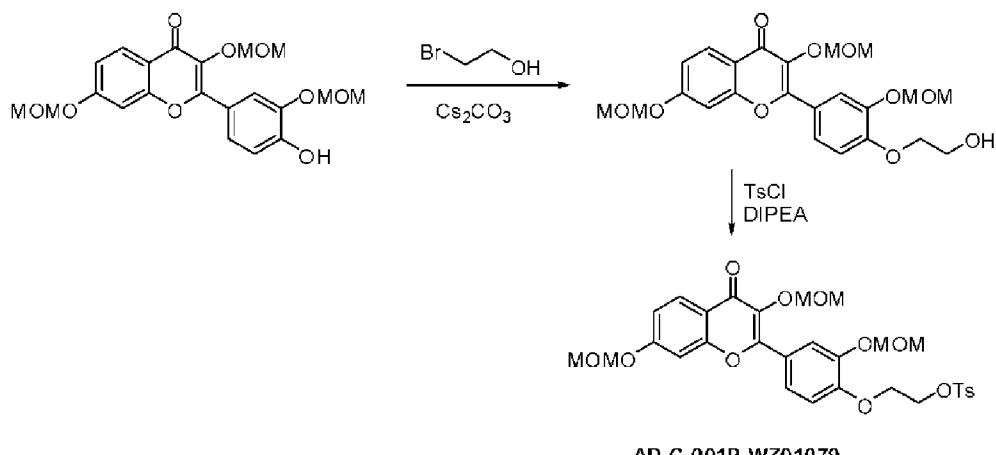
20 A la 2-(4-(benzoxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-3-hidroxi-7-(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona (55 mg, 0,12 mmol) en 2 ml de DCM se añadió DIPEA (31 mg, 0,24 mmol), seguido de la adición lenta de cloro(metoxi)metano (15 mg, 0,18 mmol). La mezcla de reacción se agitó a rt bajo atmósfera de Ar durante 3 h y se diluyó con éter (30 ml). Se lavó con agua (3x30 ml) y se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía de sílice (hexano/EtOAc) para obtener 2-(4-(bencíloxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona como sólido blanco (55 mg, 90 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,14 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,91 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,71 (dd, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, 1 H), 7,46-7,44 (m, 2 H), 7,39 (m, 2 H), 7,34-7,31 (m, 1 H), 7,12 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 7,05 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 7,03 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 5,30 (s, 2 H), 5,28 (s, 2 H), 5,24 (s, 2 H), 5,21 (s, 2 H), 3,55 (s, 3 H), 3,51 (s, 3 H), 3,18 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 509 (M+H⁺).

25 A la 2-(4-(bencíloxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona (55 mg, 0,108 mmol) en 10 ml de MeOH se añadió paladio sobre carbón activado (20 mg). La mezcla se agitó a rt bajo atmósfera de H₂ durante 2h. El sólido se filtró y el filtrado se concentró para obtener 2-(4-hidroxi-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona como sólido amarillo (45 mg, 99 %). Este material se utilizó directamente para la siguiente reacción sin purificación. MS(ESI) m/z 419 (M+H⁺).

30 A la 2-(4-hidroxi-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona (20 mg, 0,048 mmol) y al 1-bromo-2-fluoroetano (18 mg, 0,14 mmol) en 0,3 ml de NMP se añadió Cs₂CO₃ (39 mg, 0,12 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con éter (30 ml). Se lavó con NaH₂PO₄ (sat. 30 ml) y agua (2x30 ml) y se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía (hexano/EtOAc) para obtener 2-(4-(2-fluoroetoxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona como sólido blanco (19 mg, 85 %). ^1H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,15 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,91 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, 1 H), 7,13 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 7,05 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1 H), 7,03 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 5,29 (s, 4 H), 5,22 (s, 2 H), 4,89 (m, 1 H), 4,78 (m, 1 H), 4,40 (m, 1 H), 4,32 (m, 1 H), 3,56 (s, 3 H), 3,51 (s, 3 H) 3,20 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 465 (M+H⁺).

35 A la 2-(4-(2-fluoroetoxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona (19 mg, 0,041 mmol) se añadió 1 ml de solución de HCl 4 M en dioxano. La mezcla se agitó a rt durante 3 h. Los volátiles se eliminaron a presión reducida y el residuo se lavó con éter (2x1 ml) y se secó a alto vacío para obtener 2-(4-(2-fluoroetoxi)-3-hidroxifenil)-3,7-dihidroxi-4H-cromo-4-ona (**AD-F-001S-WZ01067**) como un sólido amarillo (11 mg, 81 %). ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 10,73 (s, 1 H), 9,39 (s, 1 H), 9,17 (s, 1 H), 7,89 (d, J = 9,6 Hz, 1 H), 7,69 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,59 (dd, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, 1 H), 7,06 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 6,87 (m, 2 H), 4,80 (m, 1 H), 4,68 (m, 1 H), 4,30 (m, 1 H), 4,23 (m, 1 H); MS(ESI) m/z 333 (M+H⁺), 355 (M+Na⁺).

AD-C-001P-WZ01079



A la 2-(4-hidroxi-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona (19 mg, 0,045 mmol) y al 2-bromoetanol (44 mg, 0,36 mmol) en 0,2 ml de NMP se añadió Cs_2CO_3 (29 mg, 0,09 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con éter (30 ml). Se lavó con NaH_2PO_4 (sat. 30 ml) y agua (2x30 ml) y se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto bruto se purificó con chromatografía (hexano/EtOAc) hasta obtener 2-(4-(2-hidroxietoxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona (18 mg, 86 %). MS(ESI) m/z 463 ($\text{M}+\text{H}^+$).

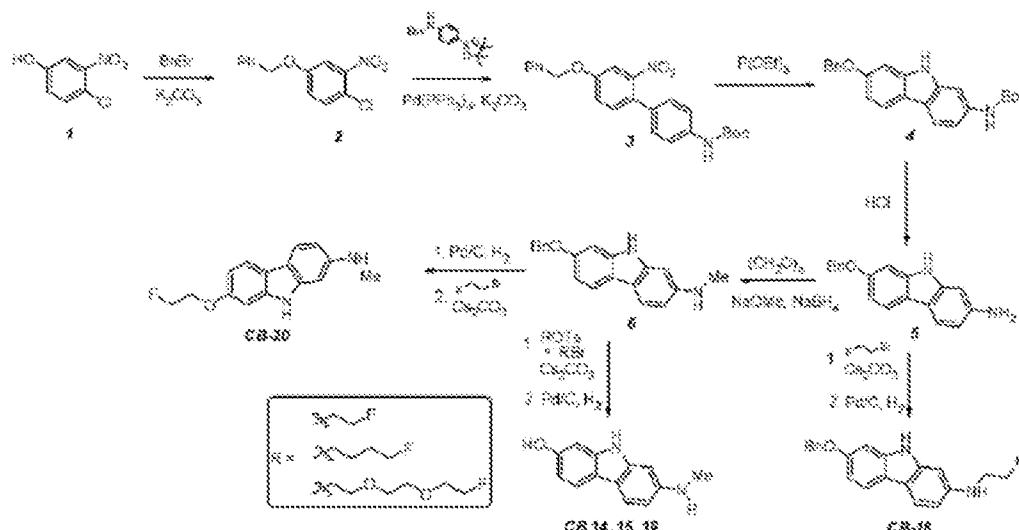
5

A la 2-(4-(2-hidroxietoxi)-3-(metoximetoxi)fenil)-3,7-bis(metoximetoxi)-4H-cromo-4-ona (18 mg, 0,039 mmol) y DIPEA (15 mg, 0,11 mmol) se añadió cloruro de 4-metilbenceno-1-sulfonilo (11 mg, 0,058 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h bajo atmósfera de Ar y se diluyó con éter (30 ml). Se lavó con HCl 0,5 M (2x30 ml) y agua (50 ml), se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El producto bruto se chromatografió para obtener 2-(4-(3,7-bis(metoximetoxi)-4-oxo-4H-cromo-2-il)-2-(metoximetoxi)fenoxi)etil 4-metilbencenosulfonato (**AD-C-001P-WZ01079**) como una cera amarilla (20 mg, 83 %). ^1H RMN(400 MHz, CDCl_3) δ 8,15 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 1 H), 7,89 (d, $J = 2,0$ Hz, 1 H), 7,76 (dd, $J = 8,4, 2,0$ Hz, 2 H), 7,73 (dd, $J = 8,4, 2,0$ Hz, 1 H), 7,36 (dd, $J = 6,8$ Hz, 2 H), 7,27 (d, $J = 2,0$ Hz, 1 H), 7,14 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H), 7,05 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 1 H), 6,94 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 1 H), 5,29 (d, $J = 1,6$ Hz, 2 H), 5,22 (d, $J = 2,0$ Hz, 4 H), 4,42 (t, $J = 3,0$ Hz, 2 H), 4,32 (t, $J = 3,0$ Hz, 2 H), 3,53 (d, $J = 2,4$ Hz, 3 H), 3,52 (d, $J = 2,0$ Hz, 3 H), 3,20 (d, $J = 2,4$ Hz, 3 H), 2,46 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 617 ($\text{M}+\text{H}^+$)

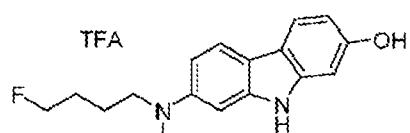
10

15

Esquema sintético de CB 14-16, 19 y 20



7-((4-fluorobutyl)(metil)amino)-9H-carbazol-2-ol (CB-14)

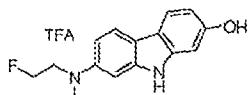


20

A un matraz de fondo redondo que contenía el compuesto 6 (21 mg, 0,073 mmol) en DMF (1 ml), se añadió carbonato de cesio (28,5 mg, 0,087 mmol) y 1-bromo-4-fluorobutano (56,4 mg, 0,364 mmol). La reacción se agitó a rt durante 30 min. La reacción se trabajó con EtOAc (15 ml × 3) y agua (10 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron y se concentraron *in vacuo*. El residuo se disolvió en MeOH (10 ml). A la mezcla de reacción se añadió

5 Pd/C (22 mg). La mezcla se agitó a rt durante la noche bajo hidrógeno (1 atm). La reacción se filtró a través de un tapón de celita, se concentró *in vacuo* y se purificó por HPLC para obtener **CB-14** (11 mg, 0,029 mmol, rendimiento del 40,3 %). ¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD) δ: 8,74 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,25 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,73 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,44 (m, 1H), 4,32 (m, 1H), 3,70 (m, 2H), 3,35 (s, 3H), 1,74-1,67 (m, 4H); LRMS para C₁₉H₁₉F₄N₂O₂+H⁺, calc'd: 384,1, encontrado: 287,2 (M+H⁺-TFA).

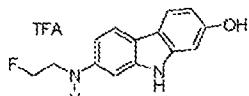
10 **7-(2-fluoroethyl)(metil)amino-9H-carbazol-2-ol (CB-15)**



A un matraz de fondo redondo que contenía el compuesto 6 (37 mg, 0,122 mmol) en DMF (0,5 ml), se añadió carbonato de cesio (47,8 mg, 0,147 mmol) y 1-bromo-2-fluoroetano (78 mg, 0,612 mmol). La reacción se agitó a rt durante 30 min. La reacción se trabajó con EtOAc (15 ml × 3) y agua (10 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron y se concentraron *in vacuo*. El residuo se disolvió en MeOH (10 ml). A la mezcla de reacción se añadió

15 Pd/C (22 mg). La mezcla se agitó a rt durante la noche bajo hidrógeno (1 atm). La reacción se filtró a través de un tapón de celita, se concentró *in vacuo* y se purificó por HPLC para obtener **CB-15** (5 mg, 0,019 mmol, rendimiento del 7,3 %). ¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ: 7,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,87 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,31 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,05 (dd, *J* = 8,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,76 (dd, *J* = 8,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 4,86 (m, 1H), 4,74 (m, 1H), 4,60-4,52 (m, 2H), 3,28 (br, 1H), 3,03 (s, 3H); LRMS para C₁₇H₁₅F₄N₂O₂+H⁺, calc'd: 356,1, encontrado: 259,2 (M+H⁺-TFA).

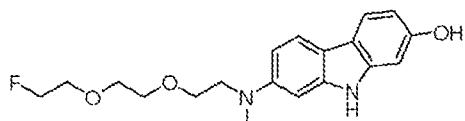
20 **7-(2-fluoroethylamino)-9H-carbazol-2-ol (CB-16)**



A un matraz de fondo redondo que contenía el compuesto 5 (21 mg, 0,073 mmol) en DMF (1 ml), se añadió carbonato de cesio (28,5 mg, 0,087 mmol) y 1-bromo-2-fluoroetano (46 mg, 0,36 mmol). La reacción se agitó a rt durante 72 horas. La reacción se trabajó con EtOAc (15 ml × 3) y agua (10 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron y se concentraron *in vacuo*. El residuo se disolvió en MeOH (10 ml). A la mezcla de reacción se añadió

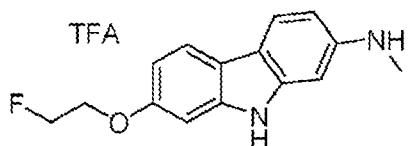
30 Pd/C (20 mg). La mezcla se agitó a rt durante la noche bajo hidrógeno (1 atm). La reacción se filtró a través de un tapón de celita, se concentró *in vacuo* y se purificó por HPLC para obtener **CB-16** (5 mg, 0,015 mmol, rendimiento del 20 %). ¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ: 9,00 (br, 1H), 7,77-7,73 (m, 2H), 6,82 (s, 1H), 6,81 (s, 1H), 6,72-6,65 (m, 2H), 4,71 (m, 1H), 4,60 (m, 1H), 3,60-3,50 (m, 2H); LRMS para C₁₆H₁₃F₄N₂O₂+H⁺, calc'd: 342,3, encontrado: 245,1 (M+H⁺-TFA).

35 **7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)ethyl(metil)amino-9H-carbazol-2-ol (CB-19)**



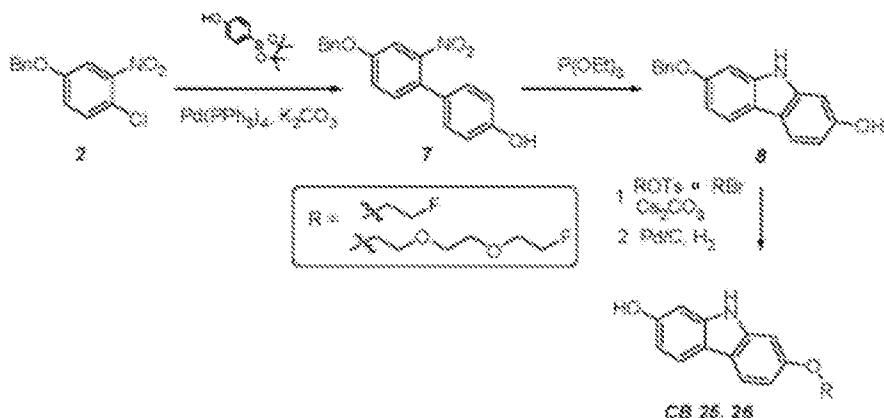
A un matraz de fondo redondo que contenía el compuesto 6 (41 mg, 0,14 mmol) en DMF (0,5 ml), se añadieron carbonato de cesio (53 mg, 0,16 mmol) y 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)ethyl 4-metilbencenosulfonato (125 mg, 0,407 mmol). La reacción se agitó a rt durante 4 semanas. La reacción se trabajó con EtOAc (15 ml × 3) y agua (10 ml). Las capas orgánicas se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron y se concentraron *in vacuo*. El residuo se disolvió en MeOH (10 ml). A la mezcla de reacción se añadió Pd/C (20 mg). La mezcla se agitó a rt durante la noche bajo atmósfera de hidrógeno (1 atm). La reacción se filtró a través de un tapón de celita, se concentró *in vacuo* y se purificó por HPLC para obtener **CB-19** (7 mg, 0,020 mmol, 14 % de rendimiento. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ: 9,43 (br, 1H), 8,07 ((d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,91 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,58 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,24 (dd, *J* = 8,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,77 (dd, *J* = 8,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 4,59 (m, 1H), 4,52 (m, 1H), 3,74-3,50 (m, 10H), 3,28 (s, 3H); LRMS para C₂₁H₂₃F₄N₂O₄+Na⁺, calc'd: 444,2, encontrado: 347,2 (M+H⁺-TFA).

45 **7-(2-fluoroetoxi)-N-metil-9H-carbazol-2-amina (CB-20)**

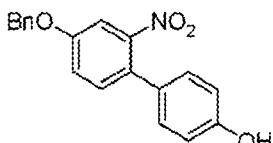


A un matraz de fondo redondo que contenía el compuesto 6 (90 mg, 0,29 mmol) en MeOH (10 ml), se añadió Pd/C (20 mg). La reacción se purgó con hidrógeno y se agitó a rt durante 2 h bajo atmósfera de hidrógeno (1 atm). La reacción se filtró a través de un tapón de celita y se concentró *in vacuo* para obtener un sólido oscuro (60 mg, 0,28 mmol, rendimiento del 95 %). A un matraz de fondo redondo que contenía el sólido oscuro anterior (15 mg, 0,071 mmol) en DMF (0,5 ml), se añadió carbonato de cesio (21 mg, 0,65 mmol) y 2-bromo-1-fluoroetano (8,1 mg, 0,065 mmol). La reacción se agitó a rt durante la noche. La reacción se concentró *in vacuo* mediante coevacuación de MeCN. El residuo se purificó por HPLC para obtener **CB-20** (7,0 mg, 0,027 mmol, 38 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, CD₃CN) δ: 9,52 (br, 1H), 7,91-7,86 (m, 2H), 7,13 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,88 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,82 (dd, *J* = 7,6 Hz, *J* = 2,4 Hz 1H), 4,85 (m, 1H), 4,72 (m, 1H), 4,34-4,25 (m, 2H), 2,96 (s, 3H); LRMS para C₁₇H₁₅N₂O₂+H⁺, calc'd: 356,1, encontrado: 259,1 (M+H⁺-TFA).

Esquema sintético de CB 25, 26:

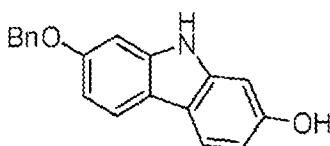


4'-(benzoxi)-2'-nitrobiphenyl-4-ol (Compuesto 7)



Un matraz de fondo redondo cargado con el compuesto 2 (1,96 g, 7,44 mmol), éster de pinacol del ácido 4-hidroxifenilborónico (1,56 g, 7,09 mmol), terakis(trifenilfosfina) paladio (0,410 g, 0,354 mmol), se purgó con argón. A la mezcla se añadió DME (10 ml) y carbonato potásico (1,96 g, 14,2 mmol) en agua (2 ml). La mezcla se calentó durante 60 horas. La reacción se diluyó con HCl (1N, 10 ml) y salmuera (40 ml), y se extrajo con EtOAc (50 ml × 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (50 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró *in vacuo*. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice (EtOAc : Hexanos = 1 : 4) para obtener el **Compuesto 7** como un sólido amarillo (2 g, 6,22 mmol, 88 % de rendimiento). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,45-7,33 (m, 7H), 7,37-7,15 (m, 3H), 6,88-6,85 (m, 2H), 5,14 (s, 2H), 5,03 (s, 1H); LRMS para C₁₉H₁₅NO₄+H⁺, calc'd: 322,1, encontrado: 322,1 (M+H⁺).

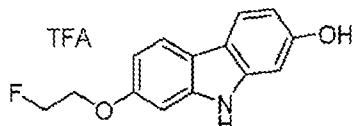
7-(benciloxi)-9H-carbazol-2-ol (Compuesto 8)



En un *vial* resistente a la presión, se añadió el compuesto 7 (2,00 g, 6,22 mmol) y fosfito de trilito (6,53 ml, 37,3 mmol). La mezcla se calentó a 160 °C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo*. El residuo se suspendió en cloroformo (20 ml), se formó un precipitado sólido que se filtró y se lavó con éter (10 ml × 2) para obtener el **Compuesto 8** (900 mg, 3,11 mmol, rendimiento del 50,0 %). ¹H-NMR (400 MHz, DMSO) δ: 10,81 (br, 1H), 9,25 (br,

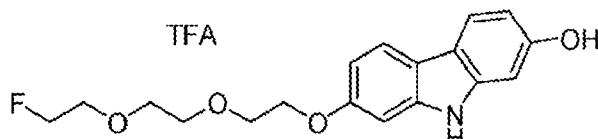
1H), 7,80 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,50-7,33 (m, 5H), 6,95 (s, 1H), 6,78-6,76 (m, 2H), 6,56 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz 1H), 5,16 (s, 2H); LRMS para $C_{19}H_{15}NO_2+H^+$, calc'd: 290,1, encontrado: 290,1 ($M+H^+$).

7-(2-fluoroetoxi)-9H-carbazol-2-ol (CB-25)



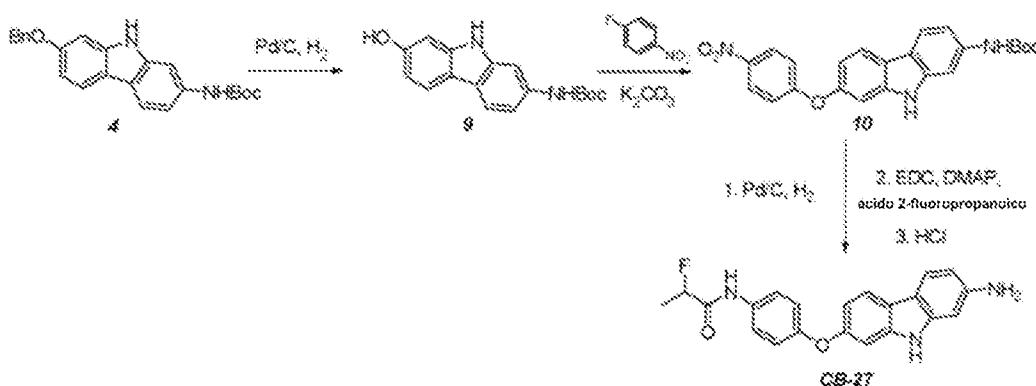
- 5 A un matraz de fondo redondo que contenía el Compuesto 8 (50 mg, 0,17 mmol) en DMF (1 ml), se añadió carbonato de cesio (62 mg, 0,19 mmol) y 1-bromo-2-fluoroetano (33 mg, 0,26 mmol). La reacción se agitó a rt durante 15 h y luego se diluyó con agua (15 ml). El precipitado blanco (50 mg) se recogió por filtración y se secó *in vacuo*. El sólido se disolvió en MeOH (10 ml). A la reacción se añadió Pd/C (30 mg) y ácido acético (5 gotas). La mezcla se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 20 h y luego se filtró a través de un tapón de celita, concentrándose *in vacuo*. El residuo se purificó por HPLC para obtener CB-25 (18 mg, 0,053 mmol, 31 % de rendimiento). 1H RMN (400 MHz, CD₃CN) δ: 8,99 (br, 1H), 7,72 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,67 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 6,67 (dd, J = 8,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 6,58 (dd, J = 8,0 Hz, 2,0 Hz, 1H), 4,75-4,74 (m, 1H), 4,63-4,61 (m, 1H), 4,23-4,13 (m, 2H); LRMS para $C_{16}H_{12}F_4NO_3+H^+$, calc'd: 343,1, encontrado: 246,0 ($M+H^+$ -TFA).
- 10 15

7-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-2-ol (CB-26)

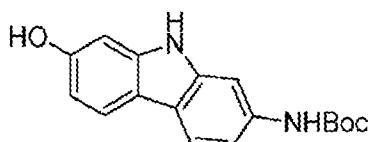


- 15 A un matraz de fondo redondo que contenía el Compuesto 8 (50 mg, 0,17 mmol) en DMF (1 ml), se añadió carbonato de cesio (56 mg, 0,17 mmol) y 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil 4-metilbencenosulfonato (53 mg, 0,17 mmol). La reacción se agitó a rt durante 15 h y luego se diluyó con agua (15 ml). El precipitado blanco (72 mg) se recogió por filtración y se secó *in vacuo*. El sólido se disolvió en MeOH (10 ml). A la reacción se añadió Pd/C (20 mg) y ácido acético (5 gotas). La mezcla se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (1 atm) durante 20 h y, a continuación, se filtró a través de un tapón de celita y se concentró *in vacuo*. El residuo se purificó por HPLC para obtener CB-26 (20 mg, 0,046 mmol, 27 % de rendimiento). 1H RMN (400 MHz, CD₃CN) δ: 9,03 (br, 1H), 7,81-7,75 (m, 2H), 6,96 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,76 (dd, J = 7,6 Hz, 2,0 Hz, 1H), 6,67 (dd, J = 7,6 Hz, 2,0 Hz, 1H), 4,59-4,57 (m, 1H), 4,47-4,45 (m, 1H), 4,17-4,15 (m, 2H), 3,83-3,63 (m, 8H); LRMS para $C_{20}H_{20}NO_5+H^+$, calc'd: 431,1, encontrado: 334,1 ($M+H^+$ -TFA).

Esquema sintético de CB 27:



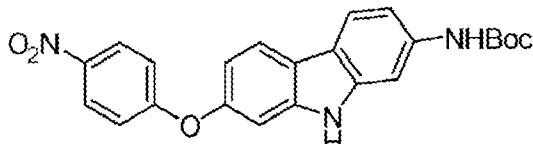
7-hidroxi-9H-carbazol-2-ilcarbamato de tert-butilo (Compuesto 9)



- 30 A un matraz de fondo redondo que contenía el compuesto 4 (1,0 g, 2,6 mmol) en MeOH (150 ml), se añadió paladio sobre carbón (400 mg). El matraz se purgó con gas hidrógeno y se agitó bajo atmósfera de hidrógeno durante la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de celita y se concentró para obtener el Compuesto

9 como un sólido gris (700 mg, 2,34 mmol, rendimiento del 90 %). ^1H RMN (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ : 9,99 (br, 1H), 8,41 (br, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,81-7,78 (m, 2H), 7,18 (dd, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 6,70 (dd, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, 1H), 1,51 (s, 9H).

7-(4-nitrofenoxi)-9H-carbazol-2-ilcarbamato de tert-butilo (Compuesto 10)

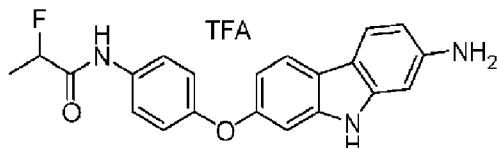


5

A un matraz de fondo redondo que contenía el compuesto 9 (80 mg, 0,268 mmol) en DMF (2 ml) se añadió carbonato potásico (74,1 mg, 0,536 mmol) y 4-fluoro-nitrobenceno (41,6 mg, 0,295 mmol). La mezcla de reacción se calentó durante 20 min a 140 °C. Tras enfriar hasta rt, la mezcla se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml \times 3). Las capas orgánicas se secaron y se concentraron. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice (EtOAc : Hexanos = 3: 7) para obtener el **Compuesto 10** como un sólido amarillo (50 mg, 0,12 mmol, 44 % de rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,22 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 8,10 (br, 1H), 8,00-7,90 (m, 3H), 7,12 (s, 1H), 7,06-6,90 (m, 4H), 6,70 (br, 1H), 1,56 (s, 9H); LRMS para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_5+\text{H}^+$, calc'd: 420,2, encontrado: 290,1 ($\text{M}+\text{H}^+$).

10

7-(4-nitrofenoxi)-9H-carbazol-2-ilcarbamato de tert-butilo (CB-27)



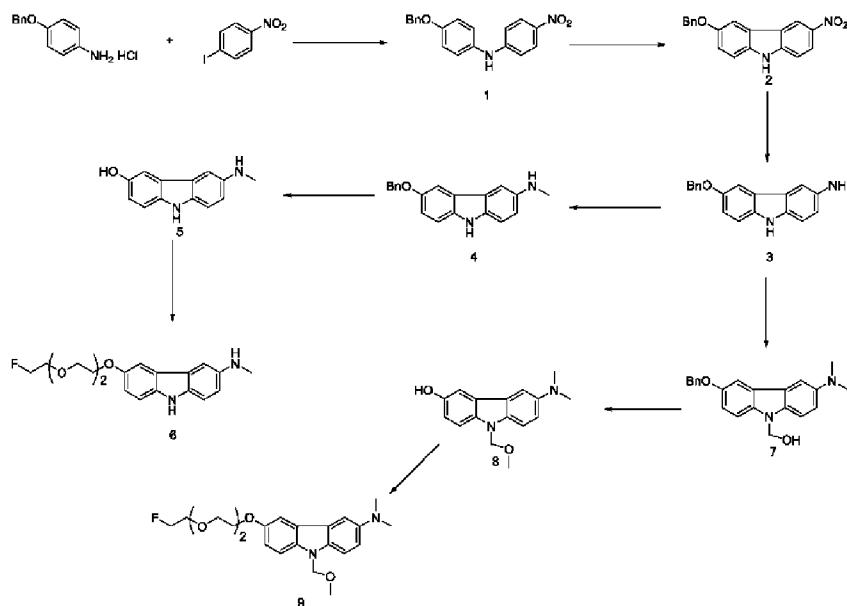
15

A un matraz de fondo redondo que contenía el compuesto 10 (35 mg, 0,083 mmol) en MeOH (5 ml), se añadió paladio sobre carbón (10 mg). El matraz se purgó con gas hidrógeno y se agitó bajo atmósfera de hidrógeno durante la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de gel de sílice y se concentró para obtener el intermedio de amina (23 mg). A un vial que contenía ácido 2-fluoropropanoico (10,87 mg, 0,118 mmol) en DCM (1 ml), se añadió EDC (22,64 mg, 0,118 mmol) y DMAP (1 mg). La mezcla se agitó a rt durante 5 min. La amina intermedia anterior se disolvió en DCM (1 ml) y se añadió al vial de reacción gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a rt durante 3 horas. A continuación, la mezcla de reacción se lavó con agua (3 ml) y se concentró. El residuo se redisolvió en HCl (4,0 M en dioxano, 5 ml) y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró y se purificó por HPLC para obtener CB-27 (12 mg, 0,026 mmol, 31 % de rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, CD_3CN) δ : 9,42 (br, 1H), 8,69 (br, 1H), 7,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,87 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,60 (m, 2H), 7,04-7,01 (m, 4H), 6,86 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,11 (dt, J = 49,2, 6,8 Hz, 1H), 1,58 (dd, J = 24,8, 6,8 Hz, 3H); LRMS para $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{F}_4\text{N}_3\text{O}_3+\text{H}^+$, calc'd: 460,1, encontrado: 364,1 ($\text{M}+\text{H}^+$ -TFA).

20

25

Sección experimental para la preparación de derivados de carbazol



4-(benciloxi)-N-(4-nitrofenil)anilina 1: A un matraz secado al horno se cargó Pd(OAc)₂ (81 mg, 0,36 mmol) y (S)-(-)-BINAP (336 mg, 0,54 mmol), seguido de tolueno (10 ml). La mezcla se agitó bajo Ar a temperatura ambiente durante 5 min. A esta mezcla se añadió 4-nitroyodobenceno (3,0 g, 12 mmol), clorhidrato de 4-benciloxianilina (3,39 g, 14,4 mmol), Cs₂CO₃ (9,8 g, 30 mmol) y tolueno (40 ml). La mezcla resultante se calentó bajo Ar a 100 °C durante 16 horas, y luego se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en H₂O (100 ml). Las capas fueron separadas. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 × 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2 × 20 ml), se secaron (MgSO₄) y se filtraron. El filtrado se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 5-40 % EtOAc/hexano) para dar el producto deseado como un sólido naranja (1,2 g, 31 %). ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8,09 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,30-7,49 (m, 5H), 7,15 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,01 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 6,77 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,10 (br s, 1H), 5,09 (s, 2H). MS: m/z = 321 (M+H⁺)⁺.

3-(benciloxi)-9-nitro-9H-carbazol 2: Una mezcla de 4-(benciloxi)-N-(4-nitrofenil)anilina 1 (0,5 g, 1,56 mmol) y Pd(OAc)₂ (0,8 g, 3,56 mmol) en ácido acético (20 ml) se sometió a reflujo y se monitorizó por TLC. Tras refluxir durante 2 horas, TLC mostró que no había material de partida. Se concentró al vacío para eliminar el ácido acético. El residuo se diluyó con EtOAc (30 ml), se lavó con H₂O (20 mL), sat. Solución de NaHCO₃ (2 × 20 ml), salmuera (20 ml), y después se secó (MgSO₄) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 5-40 % EtOAc/hexano) para dar el producto deseado 2 como un sólido amarillo oscuro (100 mg, 20%). ¹H RMN(acetona-d₆, 400 MHz) δ: 10,92 (br s, 1H), 9,08 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,28 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,63 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 8,8 Hz, 3H), 7,40 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 7,33 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,24 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 5,26 (s, 2H). MS: m/z = 319 (M+H⁺)⁺.

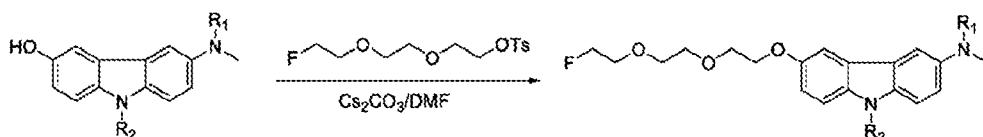
3-Amino-6-(benciloxi)-9H-carbazol 3: A una suspensión de 3-(benciloxi)-9-nitro-9H-carbazol 2 (100 mg, 0,31 mmol) y Cu(OAc)₂ (57 mg, 0,31 mmol) en EtOH (20 ml) se añadió NaBH₄ (240 mg, 6,3 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y luego se concentró al vacío. El residuo se disolvió en H₂O (30 ml), se extrajo con EtOAc (2 × 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío para dar un sólido (90 mg). Se utilizó directamente en el siguiente paso sin ninguna otra purificación. ¹H RMN(acetona-d₆, 400 MHz) δ: 9,67 (br s, 1H), 7,57 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,52 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 7,39 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 7,26-7,33 (m, 3H), 7,19 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,03 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 6,81 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 5,17 (s, 2H), 4,24 (br s, 2H). MS: m/z = 289 (M+H⁺)⁺.

6-(benciloxi)-N-metil-9H-carbazol-3-amino 4: A una suspensión de 3-amino-6-(benciloxi)-9H-carbazol 3 (90 mg, 0,31 mmol) y paraformaldehído (47 mg, 1,57 mmol) en MeOH (20 ml) se añadió una solución de NaOMe en MeOH (0,32 ml, 1,56 mmol). La mezcla resultante se calentó a 80 °C durante 1 h y después se añadió NaBH₄ (59 mg, 1,55 mmol). La mezcla resultante se calentó a 80 °C durante 2 h y luego se enfrió a temperatura ambiente. A esta solución se añadió NaOH (1 N, 30 ml). La mezcla se extrajo entonces con CH₂Cl₂ (3 × 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar un sólido marrón (93 mg, 100 %). Se utilizó directamente en el siguiente paso sin ninguna otra purificación. ¹H RMN(acetona-d₆, 400 MHz) δ: 9,68 (br s, 1H), 7,67 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,20-7,42 (m, 6H), 7,03 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 6,79 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 5,17 (s, 2H), 2,85 (s, 3H). MS: m/z = 303 (M+H⁺)⁺.

6-(Metilamino)-9H-carbazol-3-ol 5: Una mezcla de 6-(benciloxi)-N-metil-9H-carbazol-3-amino 4 (93 mg, 0,31 mmol), Pd/C (10 mg) y ácido acético (10 gotas) en MeOH (10 mL) se hidrogenó a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se pasó por una almohadilla corta de Celita. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto deseado 5 (66 mg). Se utilizó directamente en el siguiente paso sin ninguna otra purificación. MS: m/z = 213 (M+H⁺)⁺.

[3-(Benciloxi)-6-(dimetilamino)-9H-carbazol-9-yl]metanol 7 A una solución de 6-(benciloxi)-N-metil-9H-carbazol-3-amino 4 (110 mg, 0,38 mmol) y una solución acuosa de formaldehído (37%, 1,0 ml) en acetonitrilo (30 ml) se añadió NaB(OAc)₃ (323 mg, 1,52 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se concentró. El residuo se disolvió en H₂O (30 ml), se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto deseado (0,12 g). Se utilizó directamente en el siguiente paso sin ninguna otra purificación. MS: m/z = 347 (M+H⁺)⁺.

6-(Dimetilamino)-9-(metoximetil)-9H-carbazol-3-ol 8: Una mezcla de [3-(benciloxi)-6-(dimetilamino)-9H-carbazol-9-yl]metanol 7 (120 mg,), Pd/C (100 mg) y ácido acético (cantidad cat.) en MeOH (15 ml) se hidrogenó a temperatura ambiente durante 4 h. Se filtró a través de una almohadilla corta de Celita. El filtrado se concentró al vacío para dar el producto deseado (94 mg, 100 %). ¹H RMN(acetona-d₆, 400 MHz) δ: 7,38-7,50 (m, 4H), 7,05 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 6,97 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 5,62 (s, 2H), 3,20 (s, 3H), 2,94 (s, 6H). MS: m/z = 271 (M+H⁺)⁺.

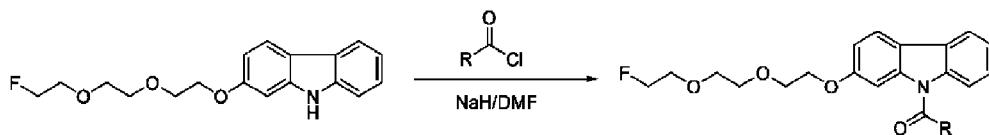


Procedimientos generales para la preparación de derivados de carbazol O-alquilados: A una solución de derivados de carbazol-3-ol (1 eq.) y Cs₂CO₃ (1,5 eq.) en DMF (10 ml) se añadió una solución de 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil-4-metilbencenosulfonato (1,2 eq.) en DMF (1,0 ml). La mezcla resultante se agitó a

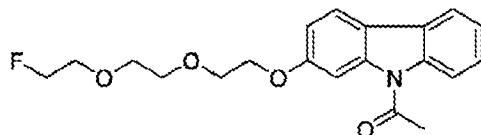
temperatura ambiente durante una noche y luego se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 5-50 % EtOAc/hexano) para obtener los productos deseados.

6-(2-(2-Fluoroetoxi)etoxi)etoxi-N-metil-9H-carbazol-3-amine 6: (3 mg, 5 %). ^1H RMN(acetona-d₆, 400 MHz) δ: 7,59 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,28-7,33 (m, 2H), 7,26 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,97 (dd, J = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 6,85 (dd, J = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 4,51 (dt, J = 48, 4,0 Hz, 2H), 4,19 (t, J = 4,4 Hz, 2H), 3,61-3,88 (m, 8H), 3,87 (s, 3H). MS: m/z = 347 (M+H⁺)⁺.

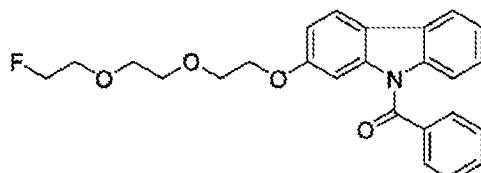
6-(2-(2-Fluoroetoxi)etoxi)etoxi-9-(metoximetil)-N,N-dimetil-9H-carbazol-3-amina 9: (50 mg, 36 %). ^1H RMN(acetona-d₆, 400 MHz) δ: 7,68 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,46-7,52 (m, 3H), 7,04-7,08 (m, 2H), 5,66 (s, 2H), 4,52 (dt, J = 48,4, 4,4 Hz, 2H), 4,21 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 3,63-3,87 (m, 8H). MS: m/z = 405 (M+H⁺)⁺.



Procedimientos generales para la preparación de derivados de carbazol acilados: A una solución de 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-9H-carbazol (1,0 eq.) en DMF (3,0 ml) se añadió NaH (en exceso). Tras agitar a temperatura ambiente durante 5 minutos, se añadió un haluro de acilo (en exceso). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche y luego se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 0-40 % EtOAc/hexano) para dar el producto deseado

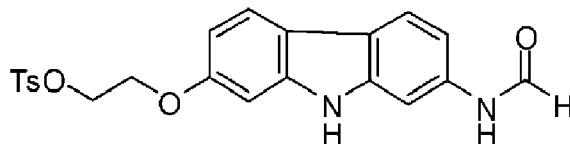


1-(2-(2-(2-Fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-carbazol-9-yl)etanona: (4 mg, 36 %). ^1H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8,21 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,99-8,25 (m, 2H), 7,94 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,36-7,46 (m, 2H), 7,06 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 4,52 (dt, J = 48, 4,4 Hz, 2H), 4,27 (t, J = 4,4 Hz, 2H), 3,89 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,64-3,78 (m, 6H), 2,91 (s, 3H). MS: m/z = 360 (M+H⁺)⁺.



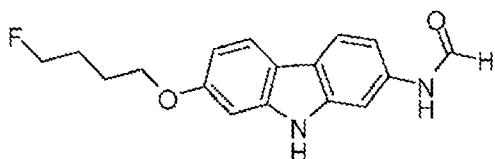
1-(2-(2-Fluoroetoxi)etoxi)etoxi-9H-carbazol-9-il)fenilmetanona: (51 mg, 78 %). ^1H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7,84-7,92 (m, 2H), 7,62-7,74 (m, 3H), 7,53 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 7,27-7,33 (m, 2H), 7,17-7,23 (m, 1H), 6,99 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 4,57 (dt, J = 47,6, 4,4 Hz, 2H), 4,06 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 3,70-3,87 (m, 8H). MS: m/z = 422 (M+H⁺)⁺.

Preparación de 2-(7-formamido-9H-carbazol-2-iloxy)etil 4-metilbencenosulfonato: AD-CB-012P-WZ02039



El Compuesto 2-(7-formamido-9H-carbazol-2-iloxy)etil 4-metilbencenosulfonato(**AD-CB-012P-WZ02039**) se preparó utilizando el mismo procedimiento para la preparación de **AD-CB-012S-WZ01185** a partir de N-(7-hidroxi-9H-carbazol-2-il)formamida (100 mg) y etano-1,2-diil bis(4-metilbencenosulfonato) (325 mg). (sólido blanco, 22 mg, 12 %). Para el rotómero mayor: ^1H RMN (400 MHz, acetona-d₆) δ 10,19 (s, 1 H), 9,31 (s, 1 H), 8,38 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 8,11 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,90-7,81 (m, 4 H), 7,45 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 7,19 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 6,95 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,69 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 4,43-4,41 (m, 2 H), 4,29-4,27 (m, 2 H); MS(ESI) m/z 425 (M+H⁺)⁺.

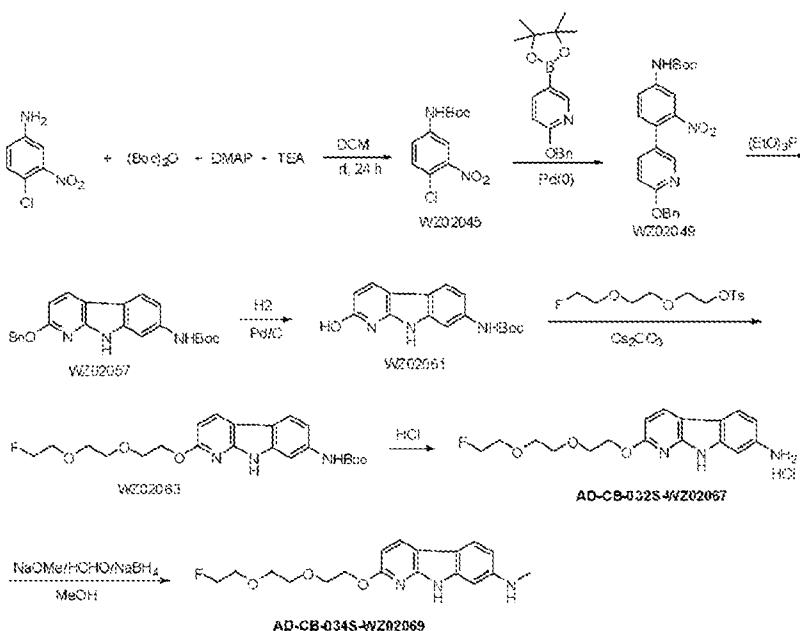
Preparación de N-(7-(4-fluorobutoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida: AD-CB-30S-WZ02055



El compuesto N-(7-(4-fluorobutoxi)-9H-carbazol-2-il)formamida (**AD-CB-30S-WZ02055**) se preparó utilizando el mismo procedimiento para la preparación de **AD-CB-012S-WZ01185** a partir de N-(7-hidroxi-9H-carbazol-2-il)formamida (20 mg) y 1-bromo-4-fluorobutano (27 mg). (sólido blanco, 11 mg, 42 %). ¹H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 10,18 (s, 1 H), 9,31 (s, 1 H), 8,39 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 8,11 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,95 (d, J = 1,6 Hz, 2 H), 7,88 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,20 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 7,03 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,79 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1 H), 4,61 (m, 1 H), 4,49 (m, 1 H), 4,11 (m, 2 H), 1,97-1,88 (m, 4 H); MS(ESI) m/z 301 (M+H⁺).

5

Preparación del clorhidrato de 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-amina:



10

Preparación de WZ02045:

A la 4-cloro-3-nitroanilina (2,5 g, 14,5 mmol) en 40 mLde DCM se añadió TEA (2,9 g, 29 mmol), DMAP (177 mg, 1,45 mmol) y dicarbonato de di-tert-butilo (4,7 g, 21,7 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 24 h y se concentró. El residuo se diluyó con Et₂O (100 ml), se lavó con salmuera (100 ml), agua (100 ml), HCl 0,5 M (2x100 ml) y salmuera (100 ml), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de sílice (EtOAc/hexano) para obtener el 4-cloro-3-nitrofenilcarbamato de tert-butilo (WZ02045) como un sólido amarillo (1,5 g, 38%). MS(ESI) m/z 295 (M+Na⁺).

15

Preparación de WZ02049:

Una mezcla de 4-cloro-3-nitrofenilcarbamato de tert-butilo (818 mg, 3 mmol), 2-(bencilioxi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (933 mg, 3 mmol), tetrakis(trifenilfosfina)palladio (104 mg, 0,09 mmol), 10 ml de dioxano y 6 ml de Na₂CO₃ 1 M se calentó a reflujo durante 15 h. Se diluyó con 50 ml de Et₂O y se lavó con salmuera (2x50 ml) y se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de sílice (EtOAc/hexano) para obtener 4-(6-(benzoxi)piridin-3-il)-3-nitrofenilcarbamato de tert-butilo (WZ02049) como una cera amarilla (1,2 g, 95 %). MS(ESI) m/z 444 (M+Na⁺).

Preparación de WZ02057:

25

Una suspensión del compuesto anterior (800 mg, 1,9 mmol) en 2 ml de fosfito de tritilo se calentó a 148 °C durante 15 h. Despues de enfriar, se concentró a presión reducida para eliminar los volátiles. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de sílice (EtOAc/hexano) para obtener 2-(benzoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-ilcarbamato de tert-butilo (WZ02057) como un sólido blanquecino (400 mg, 54 %). MS(ESI) m/z 390 (M+H⁺).

Preparación de WZ02061:

30

Al compuesto anterior (220 mg, 0,56 mmol) disuelto en 80 ml de MeOH se añadió paladio sobre carbón activado (80 mg). La mezcla se agitó a rt bajo atmósfera de H₂ durante 15 h. El sólido se filtró y el filtrado se concentró para obtener

2-hidroxi-9H-pirido[2,3-b]indol-7-ilcarbamato de tert-butilo (WZ02061) como un sólido blanco (105 mg, 100 %). Este material se utilizó directamente para la siguiente reacción sin purificación. MS(ESI) m/z 300 (M+H⁺).

Preparación de WZ02063:

Al compuesto anterior (50 mg, 0,167 mmol) en 1 ml de NMP se añadió 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etil 4-metilbencenosulfonato (76 mg, 0,25 mmol), y Cs₂CO₃ (65 mg, 0,2 mmol). La mezcla se agitó a rt durante 15 h y se diluyó con Et₂O (40 ml), se lavó con agua (3x30 ml), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de sílice (EtOAc/hexano) para obtener 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-ilcarbamato de tert-butilo (WZ02063) como una cera clara (45 mg, 62 %). MS(ESI) m/z 434 (M+H⁺).

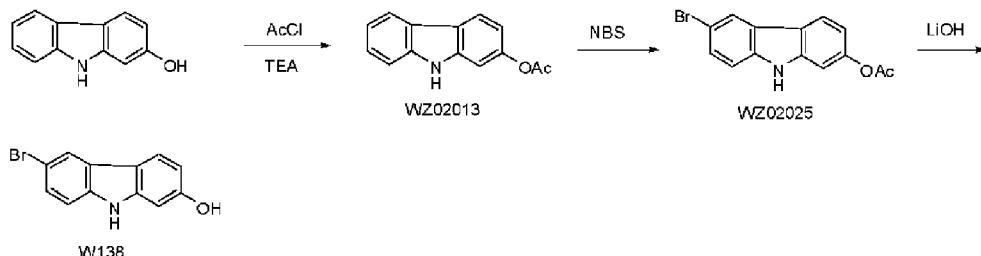
Preparación de AD-CB-032S-WZ02067:

El compuesto anterior (45 mg, 0,1 mmol) se trató con 2 ml de una solución de HCl 4 M en dioxano a rt durante 5 h y se concentró a presión reducida. El residuo se lavó con éter (5 mL) y se secó a alto vacío para obtener clorhidrato de 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-amina (**AD-CB-032S-WZ02067**) como un sólido amarillo claro (23 mg, 62 %). ¹H NMR (400 MHz, metanol-d4) δ 8,42 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 8,12 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,53 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,21 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 6,77 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 4,58-4,54 (m 3 H), 4,43 (m, 1 H), 3,91 (m, 2 H), 3,76-3,72 (m, 3 H), 3,70-3,66 (m, 3 H); MS(ESI) m/z 334 (M+H⁺).

Preparación de 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-N-metil-9H-pirido[2,3-b]indol-7-amina: AD-CB-034S-WZ02069

El compuesto **AD-CB-034S-WZ02069** se preparó utilizando el mismo procedimiento para la preparación de **AD-CB-004S** a partir de clorhidrato de 2-(2-(2-fluoroetoxi)etoxi)etoxi)-9H-pirido[2,3-b]indol-7-amina (**AD-CB-032S-WZ02067**, 20 mg) (10 mg, 53 %). ¹H NMR (400 MHz, metanol-d4) δ 8,06 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,66 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 6,65 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,58 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 6,53 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 4,58 (m 1 H), 4,53-4,45 (m, 3 H), 3,88 (m, 2 H), 3,76 (m, 1 H), 3,73-3,67 (m, 5 H), 3,03 (s, 3 H); MS(ESI) m/z 348 (M+H⁺).

Preparación del 6-bromo-9H-carbazol-2-ol: W138



Preparación de WZ02013:

A 9H-carbazol-2-ol (915 mg, 5 mmol) en 10 ml de DMF y 20 ml de DCM se añadió TEA (1,0 g, 10 mmol), seguido de cloruro de acetilo (589 mg, 7,5 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a rt durante 1 h y se vertió en hielo (50 g). La mezcla se extrajo con EtOAc (2x60 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de sílice para obtener acetato de 9H-carbazol-2-ol (WZ02013) como un sólido blanquecino (800 mg, 71 %). MS(ESI) m/z 348 (M+H⁺).

Preparación de WZ02025:

A una solución de acetato de 9H-carbazol-2-ilo (500 mg, 2,2 mmol) en DCM (40 mL) se añadió una solución de NBS en 25 ml de DCM gota a gota a rt. La mezcla de reacción se agitó en la oscuridad durante 5 h. Se lavó con agua (3x50 ml), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de sílice (EtOAc/hexano) para obtener acetato de 6-bromo-9H-carbazol-2-ilo (WZ02025) como un sólido blanquecino (250 mg, que contenía 17 % de producto dibromado). MS(ESI) m/z 305 (M+H⁺).

Preparación de W138:

Una suspensión de acetato de 6-bromo-9H-carbazol-2-ilo (200 mg, 0,65 mmol) en 30 mL de MeOH y 4 mL de LiOH acuoso 1,0 M se agitó durante 5 h. Se neutralizó con HCl 1 M y se concentró. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de sílice (EtOAc/hexano) para obtener 6-bromo-9H-carbazol-2-ol(**W138**) como un sólido blanquecino (125 mg, que contenía 15 % de producto dibromado). ¹H RMN (400 MHz, acetona-d6) δ 8,58 (s, 1 H), 8,10 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,92 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,42 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 7,35 (s, 1 H), 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 6,92 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,76 (dd, J = 8,8, 2,0 Hz, 1 H); MS(ESI) m/z 263 (M+H⁺).

Figura 7: Ensayo de competencia ex vivo con tinción autoradiográfica de amiloide (corte de cerebro de paciente con EA).

Tinción de autorradiografía de amiloide (*ex vivo*) del cerebro de un paciente con EA con [18F]-CB-001 muestra una buena unión del amiloide y poca/ninguna unión de la materia blanca

Figura 8: Los estudios de competencia de [18F]-CB001 en rebanadas del cerebro de la EA demuestran la unión reversible de la placa y la competencia con PiB, y poca/ninguna unión de la materia blanca.

- 5 La serie de carbazoles de los agentes de imagen de la EA muestran cualidades sorprendentes cuando se comparan con los resultados previamente establecidos por otros. Los datos del estado de la técnica sugieren que los compuestos con valores LogP más altos tienen afinidades amiloideas más altas, pero estos mismos compuestos también pueden sufrir una unión no específica alta, es decir, un lavado cerebral deficiente (J. Molecular Neuroscience 2003;20, 255-260). Para los estudios divulgados en esta solicitud, se utilizaron los valores cLogP en lugar de los valores LogP.
- 10 Se realizó un estudio para examinar las relaciones de unión entre la materia gris y la materia blanca para 4 trazadores diferentes: CB-001, CB-003, FDDNP y F-PiB. En este estudio no se examinó un agente de obtención de imágenes conocido que contiene carbazol, el 18F-fluorocarbazolol, debido a su valor cLogP relativamente bajo (2,77) en comparación con el FDDNP y el PiB, y a su captación específica competitiva en los beta-adrenoceptores. Además, no hay datos del estado de la técnica que sugieran que el 18F-fluorocarbazolol se une a las placas de la EA. Después de 15 incubar los cortes de cerebro humano de pacientes con EA con un trazador determinado durante 30 minutos, los cortes se lavaron con varias soluciones de EtOH:agua en un intento de optimizar las proporciones de materia gris y blanca. Los resultados fueron sorprendentes e inesperados a la vista de los trabajos anteriores realizados por otros investigadores. El CB-001 tiene un PCLc ligeramente más alto que el FDDNP (3,8 frente a 3,4) y se esperaría que tuviera un peor lavado que el FDDNP con base en estos valores. Sin embargo, a pesar de la diferencia en los valores 20 de cLogP, el CB-001 tiene una menor propensión de unión no específica y muestra una relación mucho mejor entre la materia gris y la materia blanca en comparación con el FDDNP (véase la sección anterior, "lavado original"). Más concretamente, la unión a la materia blanca de FDDNP es varios tonos más oscura que la unión a la materia blanca de CB-001, lo que indica una baja unión no específica de CB-001. Por el contrario, el F-PiB, que tiene un valor de cLogP de 3,99, también muestra unos proporciones de unión razonables, similares a los del CB-001, aunque 25 mostrando una señal global muy débil. Los datos de lavado sugieren que los carbazoles son un objetivo viable y novedoso para la obtención de imágenes de objetivos relacionados con la EA debido a sus propiedades únicas de unión y lavado.
- 30 Para ampliar estos resultados, se preparó y probó el CB-003, un trazador con un valor cLogP similar al FDDNP. Utilizando unas condiciones de lavado mucho más suaves que las duras, el CB-003 mostró unas excelentes proporciones de unión entre la materia gris y la blanca que son muy superiores a los resultados obtenidos con el FDDNP, el PiB y el CB-001. Estos resultados favorables y únicos sugieren que el CB-003 tendría un lavado cerebral más favorable en sistemas vivos, lo que llevaría a una captación más específica y a una menor unión no específica, lo que supondría una clara ventaja sobre el FDDNP y la imagen PiB.

Resumen de los resultados del lavado:

Nombre	Estructura	cLogP	relación de unión entre la materia gris y la materia blanca utilizando condiciones de lavado duras de la FDDNP*	relación de unión entre materia gris y blanca utilizando condiciones de lavado suaves**
CB-001		3,789	Excelente	Pobre
CB-003		3,4032	N/A	Excelente
FDDNP		3,422	Justa	Pobre

PiB		3,9907	Pobre (la señal se desvanece)	Pobre
<p>* condiciones de lavado FDDNP publicadas: 30 minutos de incubación del trazador CB-1 o CB-3, lavado con PBS (5 min), 70 % EtOH:agua (1 min), 90 % EtOH:agua (1 min), 70 % EtOH:agua (1 min), PBS (5 min). Los cortes de cerebro tenían un grosor de 20 um.</p> <p>** condiciones de lavado suaves: 30 minutos de incubación del trazador CB-1 o CB-3, lavado con PBS (5 min), 30 % EtOH:agua (2 min), 40 % EtOH:agua (2 min), 20 % EtOH:agua (2 min), PBS (5 min). Los cortes de cerebro tenían un grosor de 20 um.</p>				

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 unión del amiloide; 2) PiB parece bloquear la unión del trazador con la misma fuerza que el CB001 frío, sugiriendo que ambos tienen afinidades de unión similares; 3) FDDNP es mucho menos capaz de bloquear la tinción con [18F]-CB001, debido a su menor afinidad de unión al amiloide.

5

Figura 9: El protocolo óptimo de tinción y lavado que indica el trazador específico.

Estos datos sugieren el siguiente orden de unión (no específica) de la materia blanca:

Figura 10: el [18F]-CB003 distingue claramente entre los cerebros con Alzheimer y los normales.

Figura 11A: Bloqueo dependiente de la concentración de la unión tisular de [18F]-PiB con PiB y CB003.

10 **Figura 11B:** Determinación del IC50 con [18F]-PiB mediante ensayo de competencia ex vivo utilizando tinción de autorradiografía.

ES 2 907 992 T5

Código compuesto	IC50												Promedio de IC50	SD	SD %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
F-PB														45	6
PB	80	40	40	43	60	43	39	43	50	55	41	280	52	14	
CB7	260		170		200	200						300	244	57	
CB4	260		350		300	300						400	322	54	
CB12													438	139	30
CB24													540		
CB1	1000	200											740	368	50
CB10													900		
CB3	1100												920	973	110

Para demostrar aún más la eficacia del empleo de estos trazadores relacionados con el CB como agentes de imagen de la EA, se utilizó el CB-003 para diferenciar claramente entre un cerebro sano y un cerebro con EA. Más concretamente, al utilizar el protocolo de lavado suave, los depósitos de amiloide eran claramente visibles en la materia gris con poca captación de materia blanca. Los resultados fueron corroborados tanto por la IHC de anticuerpos como por la tinción de amiloide T, confirmando la especificidad de la captación. Estos sorprendentes resultados demuestran que este trazador posee la cualidad única de un rápido lavado de la materia blanca y una alta y significativa captación en la materia gris que es específica para las placas de la EA.

Los carbazoles compiten directamente contra el 18F-PiB por los mismos sitios de unión en los cerebros humanos de la EA. Este sorprendente resultado no podría haberse predicho dadas sus diferentes estructuras y la falta de CB-003 de un grupo fenólico OH y NH-Me terminal, que se consideran esenciales para la unión a las placas de EA. A pesar de que el CB-003 carece de estos dos grupos funcionales, sigue compitiendo con el 18F-PiB por los sitios de unión en los cerebros humanos de la EA. Debido a la simplicidad de su estructura, los rendimientos de marcaje de CB-001 y CB-003 son excepcionalmente altos y mejores que los rendimientos de marcaje de 18F-PiB.

Ensayo de Resonancia Plasmónica Superficial (SPR)

Se desarrolló un ensayo utilizando un instrumento Biacore que introdujo los ligandos sobre proteínas objetivo-inmovilizadas en la superficie de oro y midió las tasas resultantes de asociación y disociación para probar varios diversos que se unen a oligómeros, polímeros y fibrillas solubles de EA.

[Figuras 12 a 17]

La serie de carbazoles también demostró una capacidad única y sorprendente de unirse favorable y preferentemente a agregados insolubles (9 nM) sobre agregados solubles (262 nM). PiB también se une bien a los agregados insolubles (16 nM) pero también se une esencialmente igual de bien a los agregados solubles (48 nM). Para las aplicaciones de obtención de imágenes en las que es favorable distinguir entre la unión de un trazador a agregados insolubles frente a los solubles, el CB-003 proporciona una mayor relación de unión de 29:1, mientras que el PiB sólo proporciona una relación de 3:1. Por lo tanto, CB-003 puede proporcionar una información de unión más selectiva en relación con PiB. Los resultados indican que 1) para la unión de agregados solubles, PiB > CB3 > CB4; y 2) para la unión de agregados insolubles, PiB = CB3 > CB4.

Figura 18: La obtención de imágenes de microPET con [18F]-CB-001 en ratones App y WT demuestran una muy buena captación cerebral.

Figura 19: La obtención de imágenes de MicroPET con [18F]-CB-003 en ratones WT y App.

[Figuras 20 y 21]

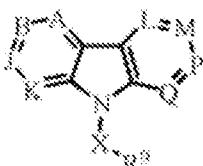
Los resultados demuestran que 1) los ratones WT y App muestran diferencias estadísticamente significativas en la retención del trazador en el cerebro; 2) los ratones App muestran una relación cerebro / músculo hasta 25 % mayor en comparación con los ratones WT. Los carbazoles muestran tanto una sorprendente alta captación en los cerebros de los ratones (tanto WT como APP) como un lavado lo suficientemente lento como para poder distinguir los ratones WT de los APP. Sin estar atados a ninguna teoría propuesta en el presente documento, se especula que la razón detrás de estos resultados puede ser que el CB-003 posee una tasa de lavado más rápida que el 18F-PiB, lo cual es consistente con los datos de tinción: el 18F-PiB requiere unas condiciones de lavado más duras para dar una relación razonable de materia gris y blanca. El rápido lavado del CB-003 es presumiblemente un factor importante para su baja unión no específica, aunque el lavado es lo suficientemente lento como para distinguir el WT del APP. Esto sugiere que los carbazoles muestran una combinación única de excelentes propiedades de lavado y retención en los cerebros humanos de la EA que no son evidentes a partir de los datos de la técnica anterior. El CB-003, al ser un compuesto neutro, también poseería potencialmente mayores valores de captación frente a los agentes de obtención de imágenes con base en zwitteriónica, como tal el azul de metileno. La comparación de [18F]PiB y [18F]-CB003 en el cerebro de ratones WT y App indica que el aclaramiento cerebral de [18F]-CB-003 es mucho más rápido que con [18F]PiB.

Figura 22: [18F]PiB.

Figura 23: [18F]-CB003.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la siguiente Fórmula I:



Fórmula I

- en la que A es N o CR¹; B es N o CR², J es N o CR³, K es N o CR⁴; L es N o CR⁵; M es N; P es N o CR⁷; y Q es N o CR⁸; a condición de que no más de dos de A, B, J, K, L, M, P y Q puedan ser N;
- 5 en la que X es un enlace;
- R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente hidrógeno o se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en C₃₋₆cicloalcoxi, C₃₋₁₂cicloalquilo C₁₋₅alcoxi, heteroarylC₂₋₅alcoxi, C₆₋₁₄ariloxi, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alcoxi, heteroariloxi, C₁₋₅ alquilo NR₁₀C(O)-, (C₁₋₆ alquilo)₂NC(O)CH(C₁₋₅ alquilo)-, C₁₋₅ alquilo NR₁₀C(O)O-, C₁₋₅ alquilo C(O)-, C₁₋₅ alquilo C(O)O-, C₆₋₁₀ arilo C(O)- y C₆₋₁₀ arilo C(O)O-;
- 10 y R³ se selecciona del grupo que consiste en C₃₋₆cicloalcoxi, C₃₋₁₂cicloalquilo C₁₋₅alcoxi, heteroarilo C₂₋₅alcoxi, C₆₋₁₄ariloxi, C₆₋₁₀ arilo C₁₋₄ alcoxi, heteroariloxi, C₁₋₅alquilo NR₁₀C(O)-, (C₁₋₆ alquilo)₂NC(O)CH(C₁₋₅ alquilo)-, C₁₋₅ alquilo NR₁₀C(O)O-, C₁₋₅ alquilo C(O)-, C₁₋₅ alquilo C(O)O-, C₆₋₁₀ arilo C(O)- y C₆₋₁₀arilo C(O)O-;
- 15 en la que al menos cuatro de R¹, R², R⁴, R⁵, R⁷, y R son hidrógenos;
- en la que R⁹ es hidrógeno;
- en la que cada R¹⁰ es independientemente H o alquilo C₁₋₆; y
- en la que los sustituyentes a R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷ R⁸ y R¹⁰ son opcionalmente sustituidos además por medio de sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en amino, halo, ciano, nitro, hidroxilo, -SH, -SC₁₋₆alquilo, -C(O)NH₂, -C(S)NH₂, haloC₁₋₆ alquilo, perhaloC₁₋₆ alquilo, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ cicloalquilo, C₃₋₁₂cicloalquilo, C₆₋₁₄ arilo y heteroarilo.
- 20
2. El compuesto de la reivindicación 1 que está radiomarcado, en el que el radiomarcado comprende un radionúclido seleccionado del grupo que consiste en ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I y ⁷⁷Br, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 25
3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o condición en un mamífero que lo necesite, seleccionado del grupo que consiste en ansiedad, depresión, esquizofrenia, enfermedad de Alzheimer, enfermedad relacionada con el estrés, pánico, una fobia, trastorno obsesivo compulsivo, obesidad, síndrome de estrés postraumático o epilepsia.
4. Una composición farmacéutica para la obtención de imágenes *in vivo* de los depósitos de amiloide, que comprende:
- 30
- un compuesto de la reivindicación 2; y
un portador farmacéuticamente aceptable.
5. El compuesto o composición de la reivindicación 2 o 4 para su uso en un procedimiento de diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer o de una predisposición a la misma en un mamífero, comprendiendo el procedimiento:
- 35
- a. administrar al mamífero una cantidad diagnóstica eficaz del compuesto radiomarcado o de la composición de la reivindicación 2 o 4, en la que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y se une preferentemente a los oligómeros, polímeros y fibrillas solubles de la EA en un tejido cerebral;
- b. permitir que el compuesto se distribuya en el tejido cerebral; y
- c. obtener imágenes del tejido cerebral, en las que un aumento de la unión del compuesto al tejido cerebral en comparación con un nivel de control normal de unión indica que el mamífero padece o corre el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer.
- 40
6. El compuesto o composición de la reivindicación 2 o 4 para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el compuesto se une preferentemente a las fibrillas.
7. El compuesto o composición de la reivindicación 2 o 4 para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el tejido cerebral comprende una región frontotemporal o la región del hipocampo.
- 45
8. El compuesto o composición de la reivindicación 2 o 4 para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el aumento de la unión es al menos 10 % mayor que dicho valor de control normal.

9. El compuesto o composición de la reivindicación 2 o 4 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que el compuesto se administra por inyección intravenosa.
10. El compuesto de la reivindicación 2 para su uso en un procedimiento de diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer o de una predisposición a la misma en un mamífero, comprendiendo el procedimiento:
 - 5 a. administrar al mamífero una cantidad diagnósticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 2, en el que el compuesto pasa la barrera hematoencefálica y se une preferentemente a oligómeros, polímeros, fibrillas, tau hiperfosforilada, ovillos neurofibriliares, filamentos helicoidales pareados y/u oligómeros solubles neurotóxicos de la EA en un cerebro;
 - 10 b. emplear una técnica de imagen nuclear seleccionada del grupo que consiste en la tomografía de emisión de positrones (PET) y la tomografía computarizada de emisión única (SPECT) para monitorizar o visualizar una distribución del compuesto radiomarcado dentro del cerebro o dentro de una porción del mismo.

**SENSOGRAMA
AJUSTADO**

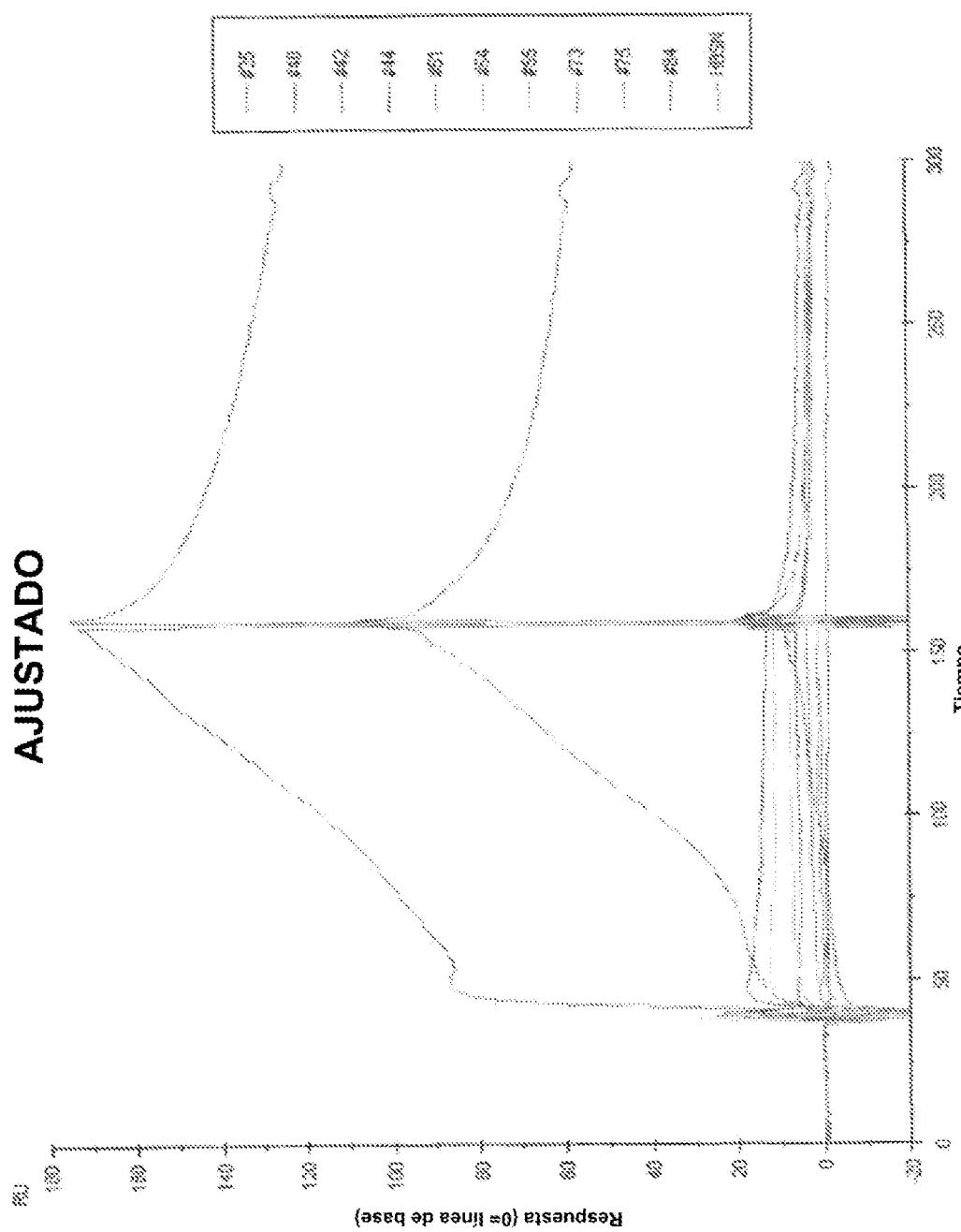


FIGURA 1

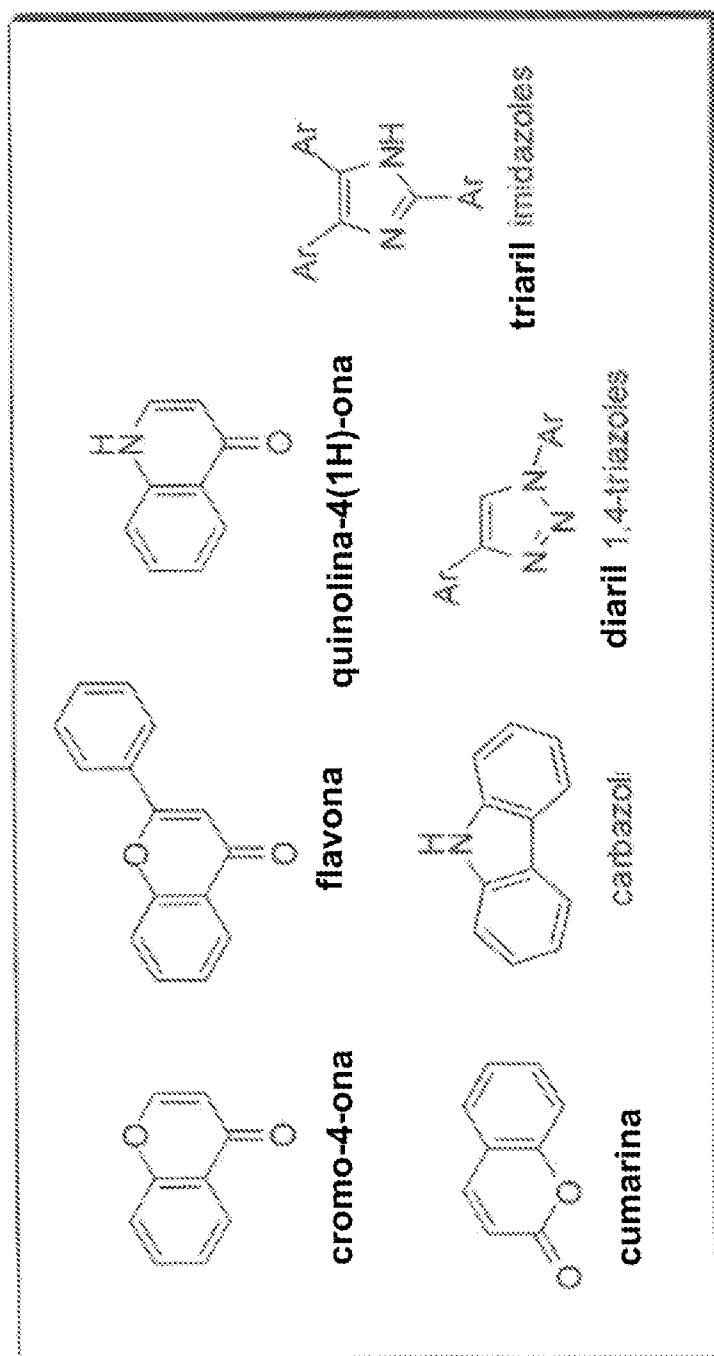


FIGURA 2

ANÁLISIS UV

CROMATOGRAMA

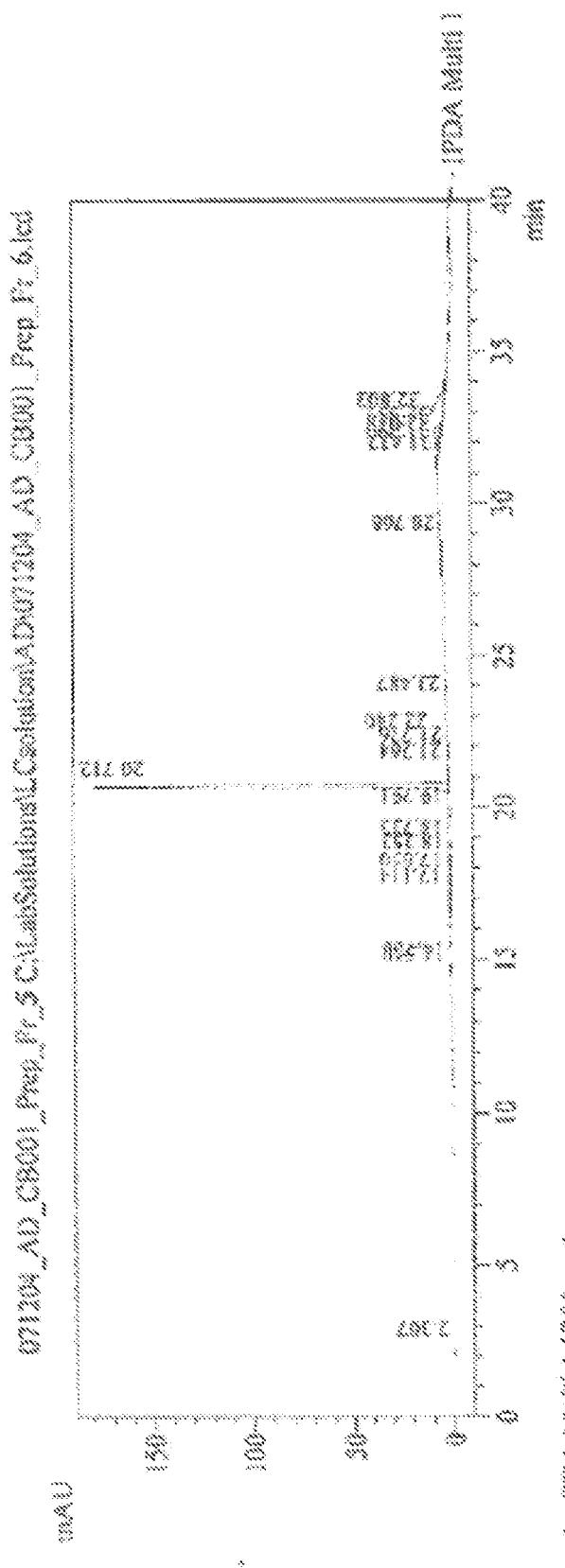


FIGURA 3A

ANÁLISIS RADIOQUÍMICO

CROMATOGRAMA

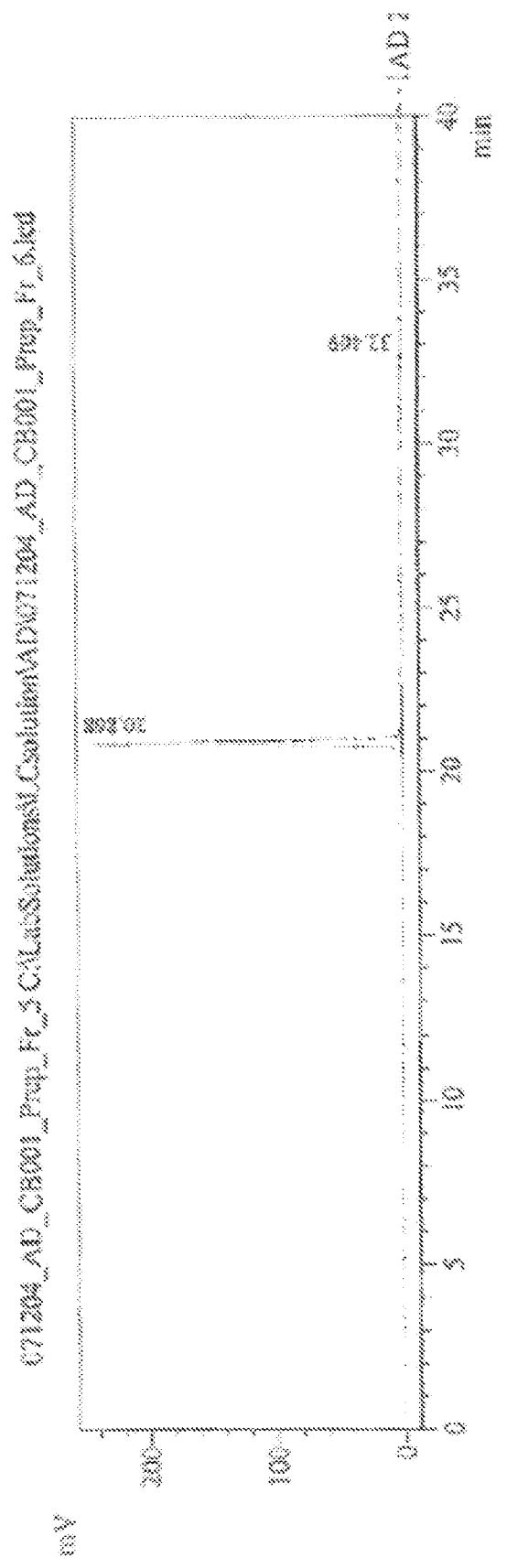


FIGURA 11

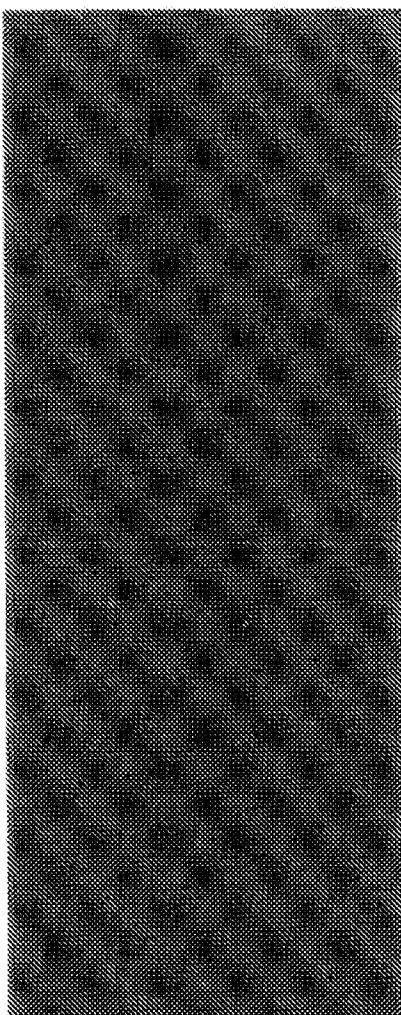
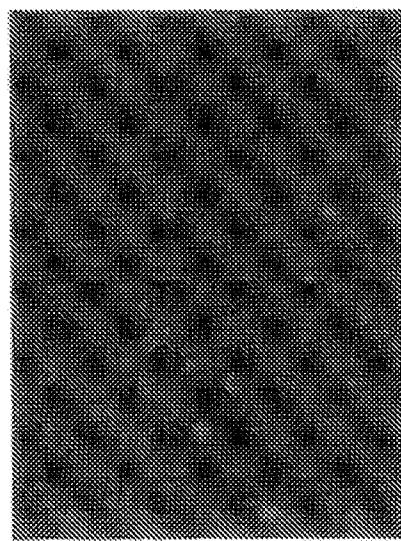


FIGURA 4



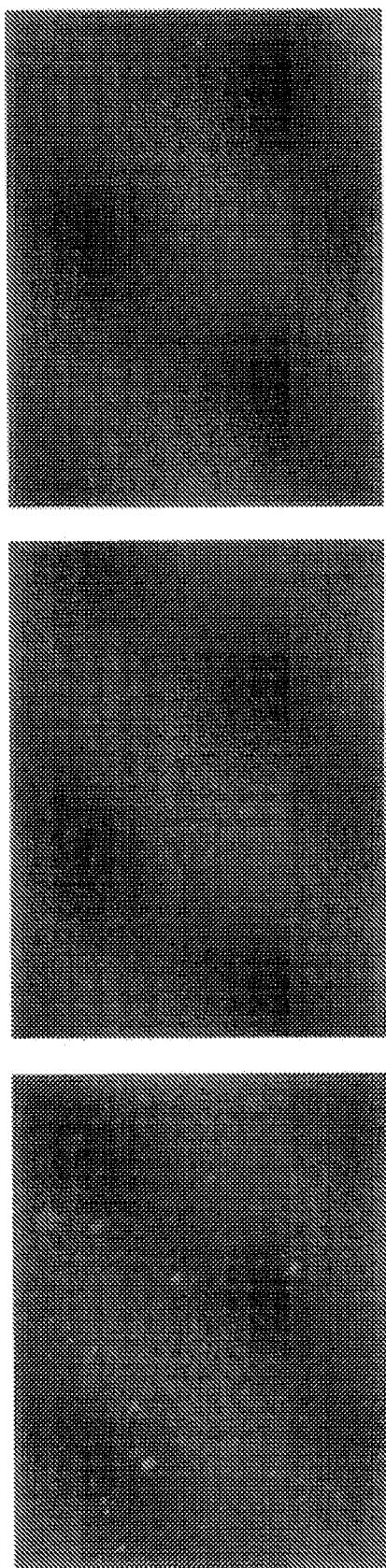


FIGURA 8

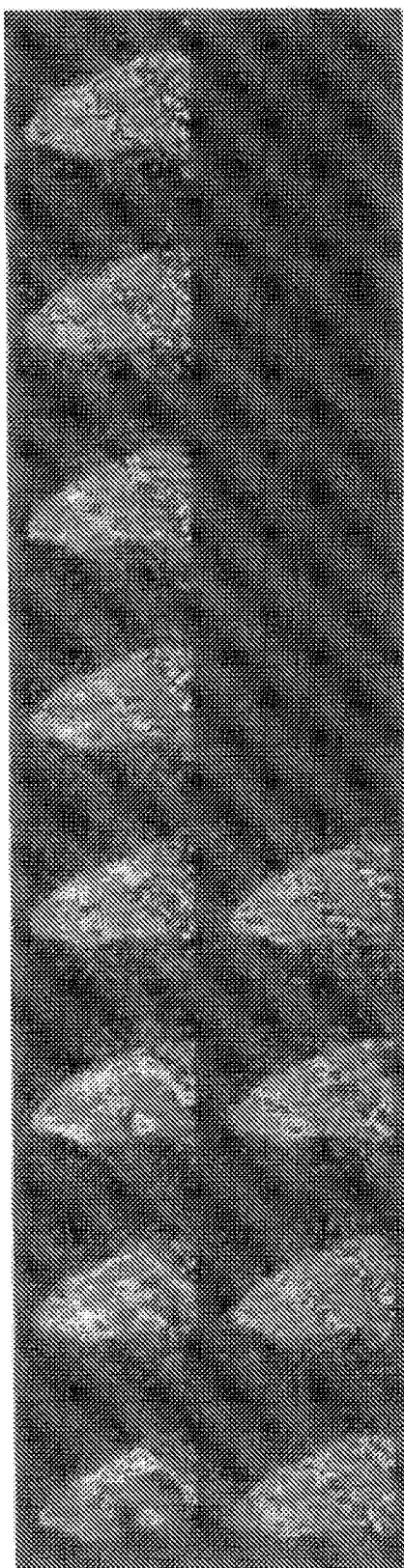


FIGURA 6

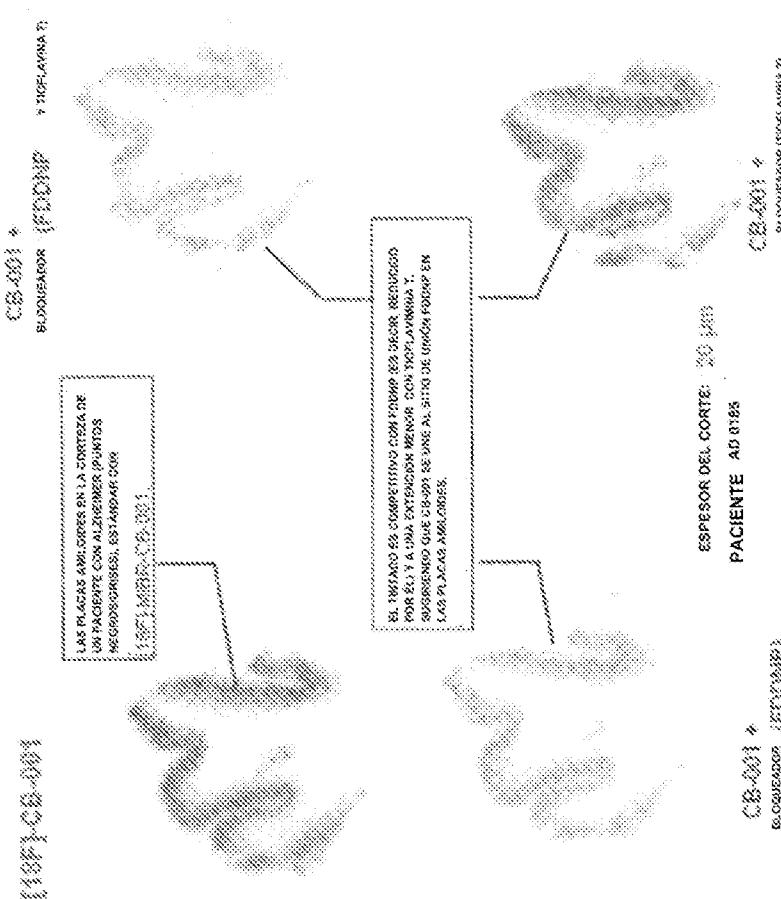


FIGURA 7

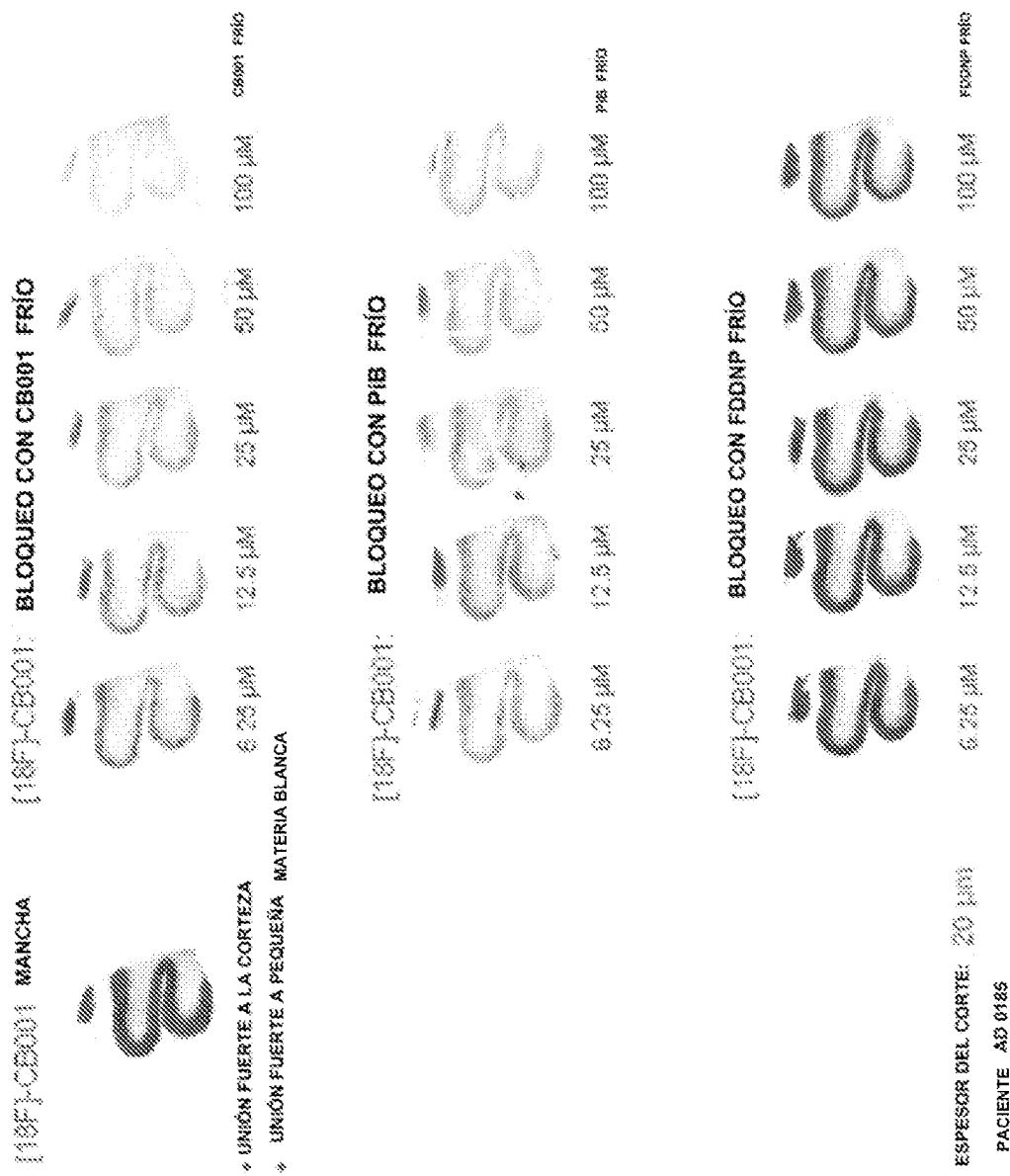
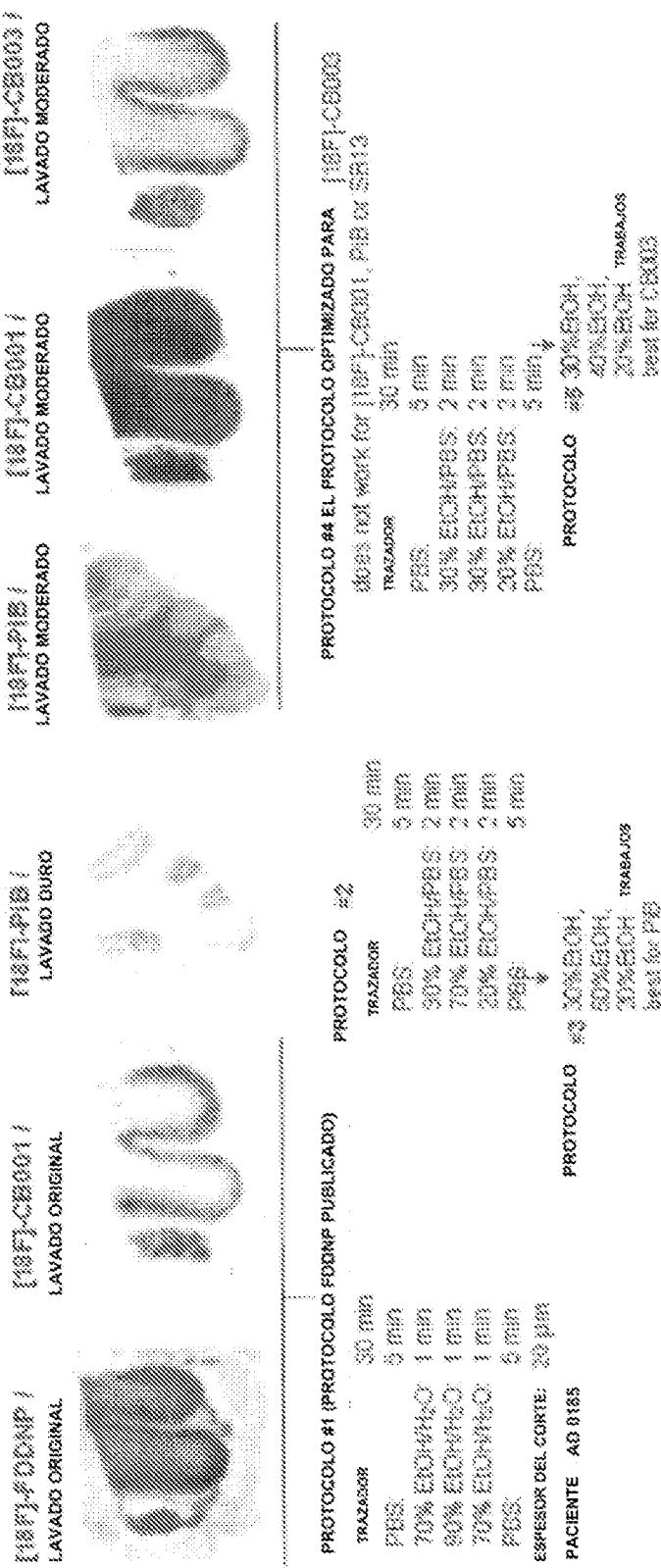


FIGURA 8



FIGURA

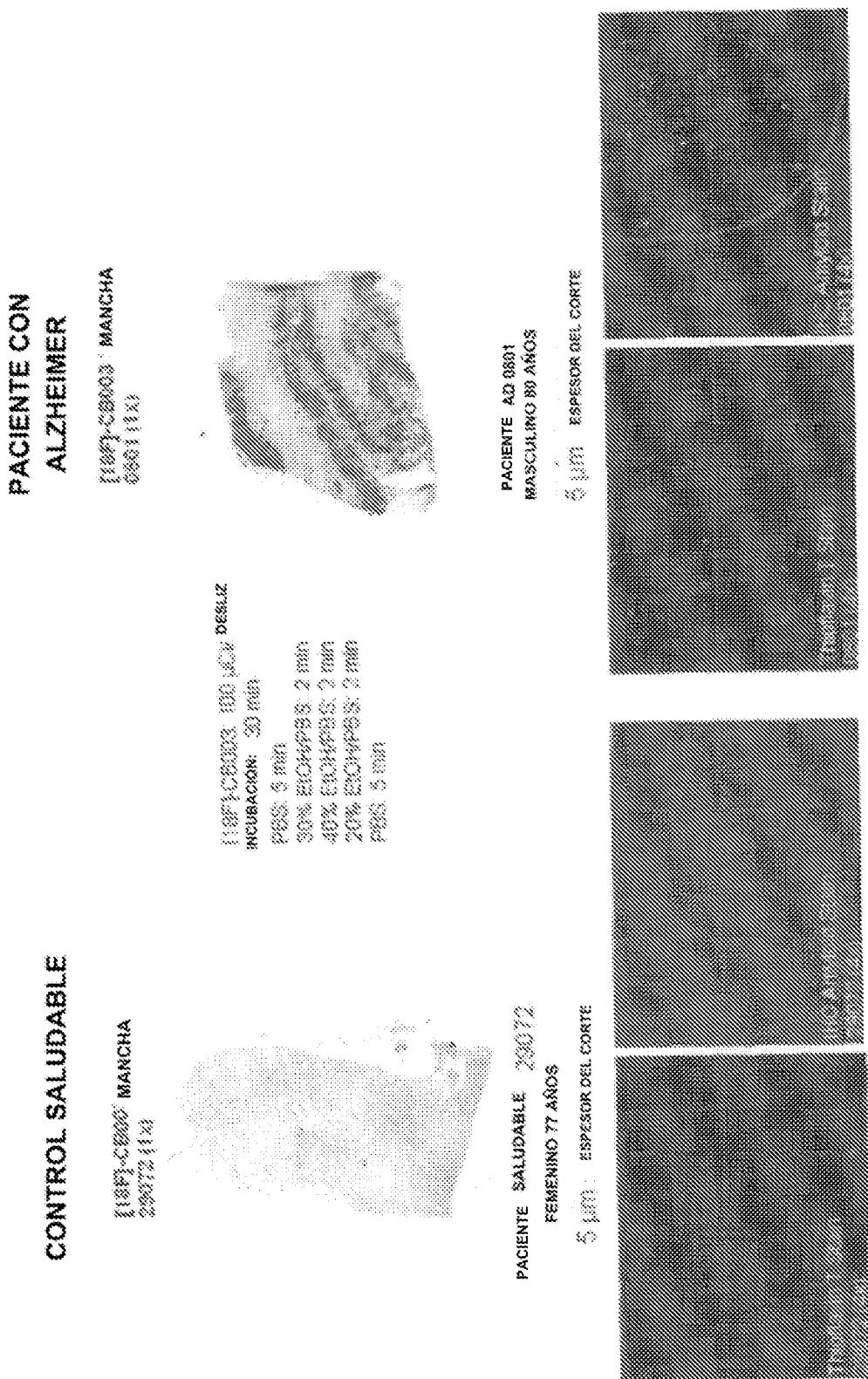


FIGURA 10

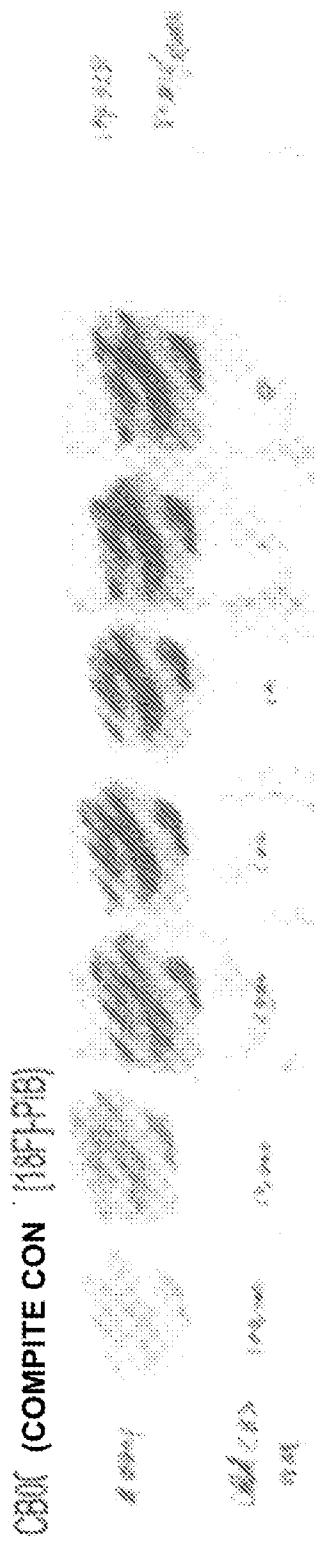
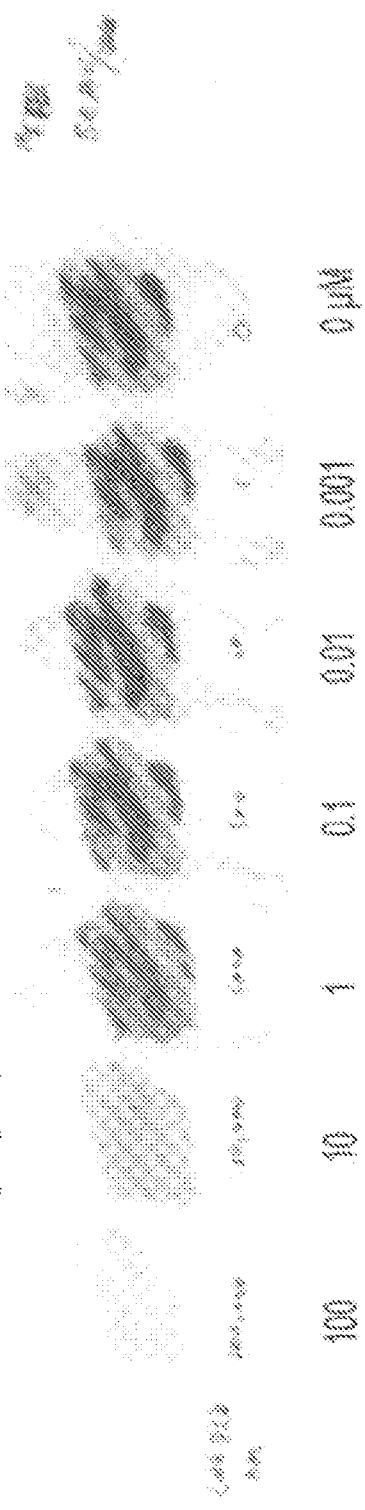


FIG (COMPITE CON 18778)



100 10 1 0.1 0.01 0.001 μm

FIG. 11A

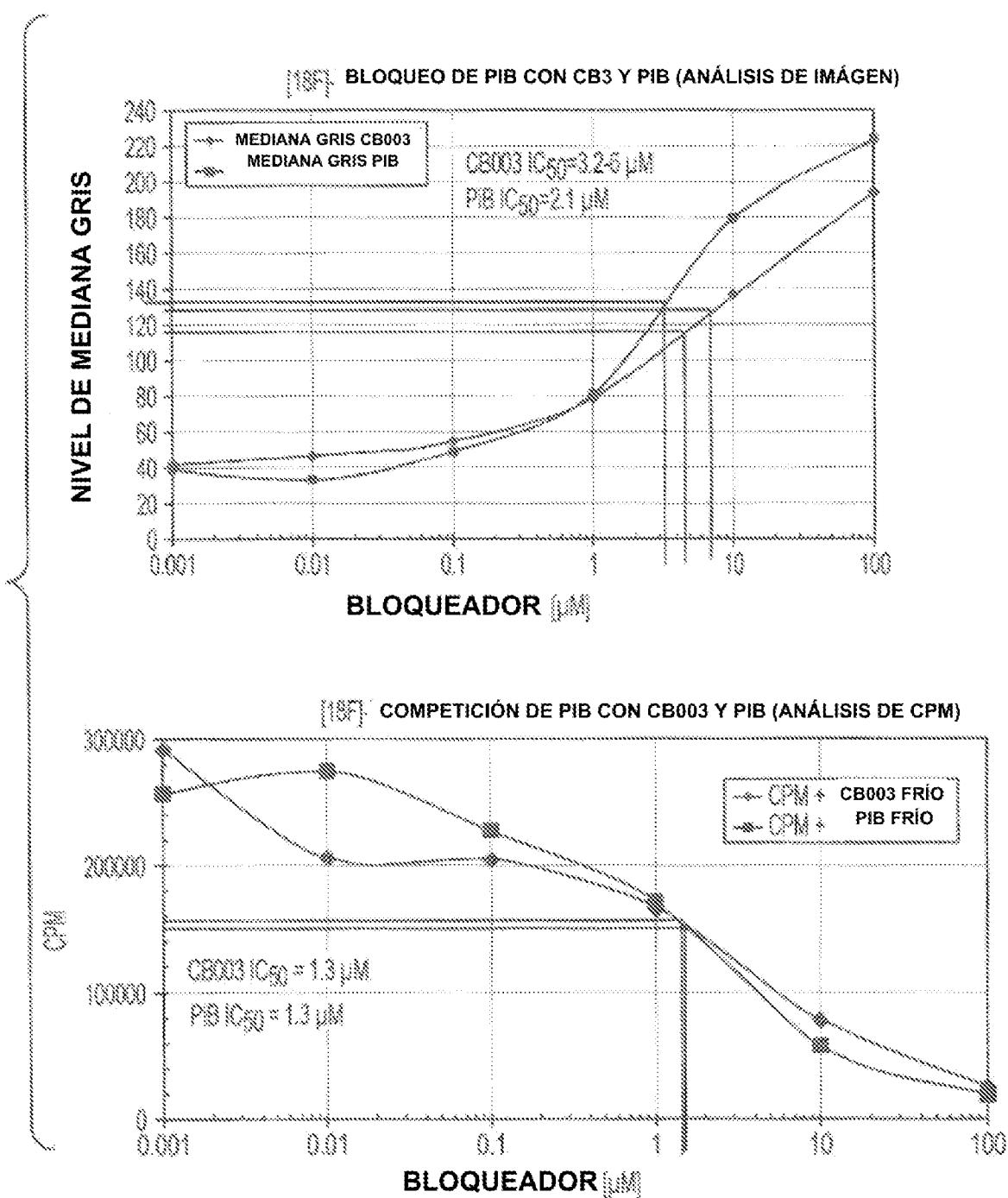


FIG. 11B

Análisis cinético de la unión de CB003 a agregados insolubles A β 42

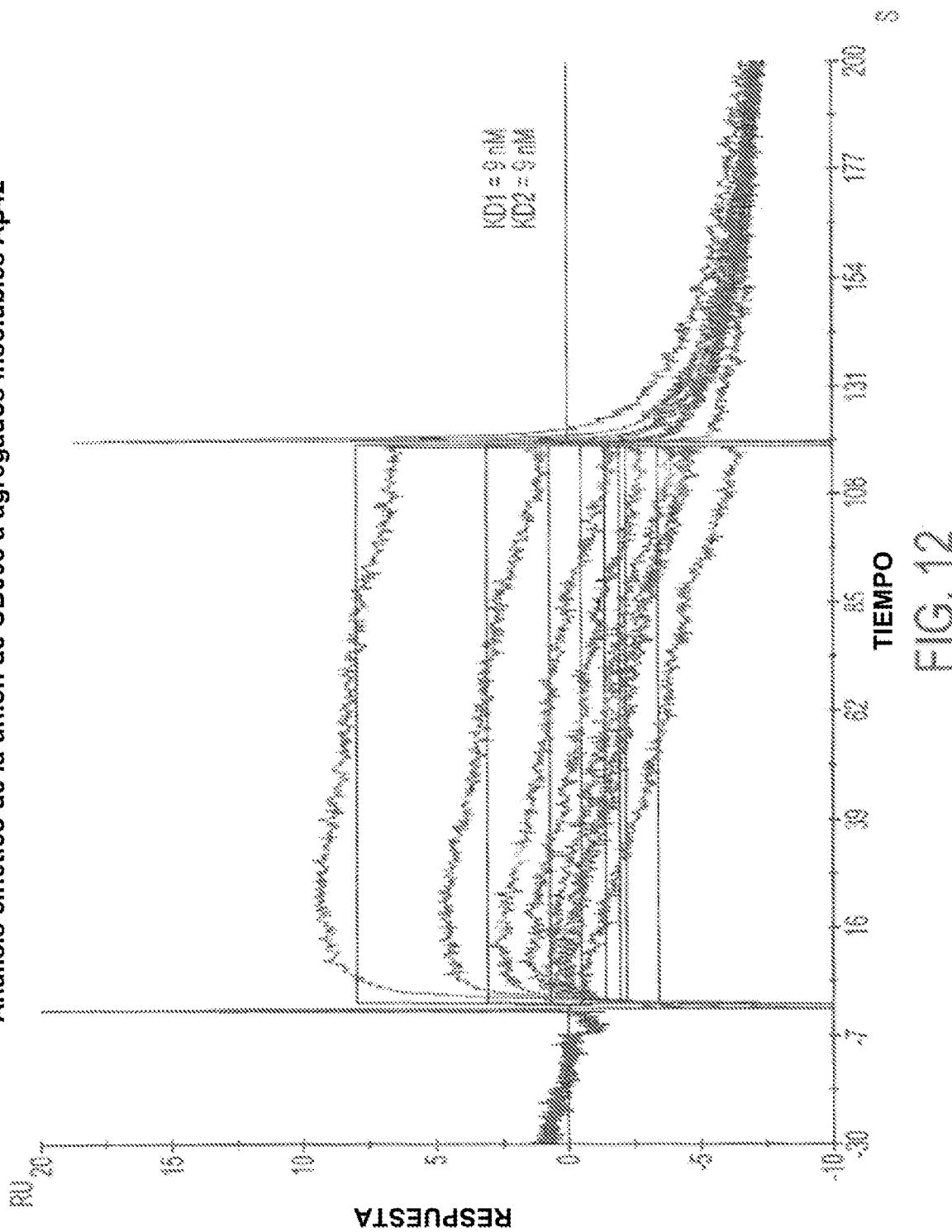


FIG. 12

Análisis cinético de la unión de CB003 a agregados solubles A β 42

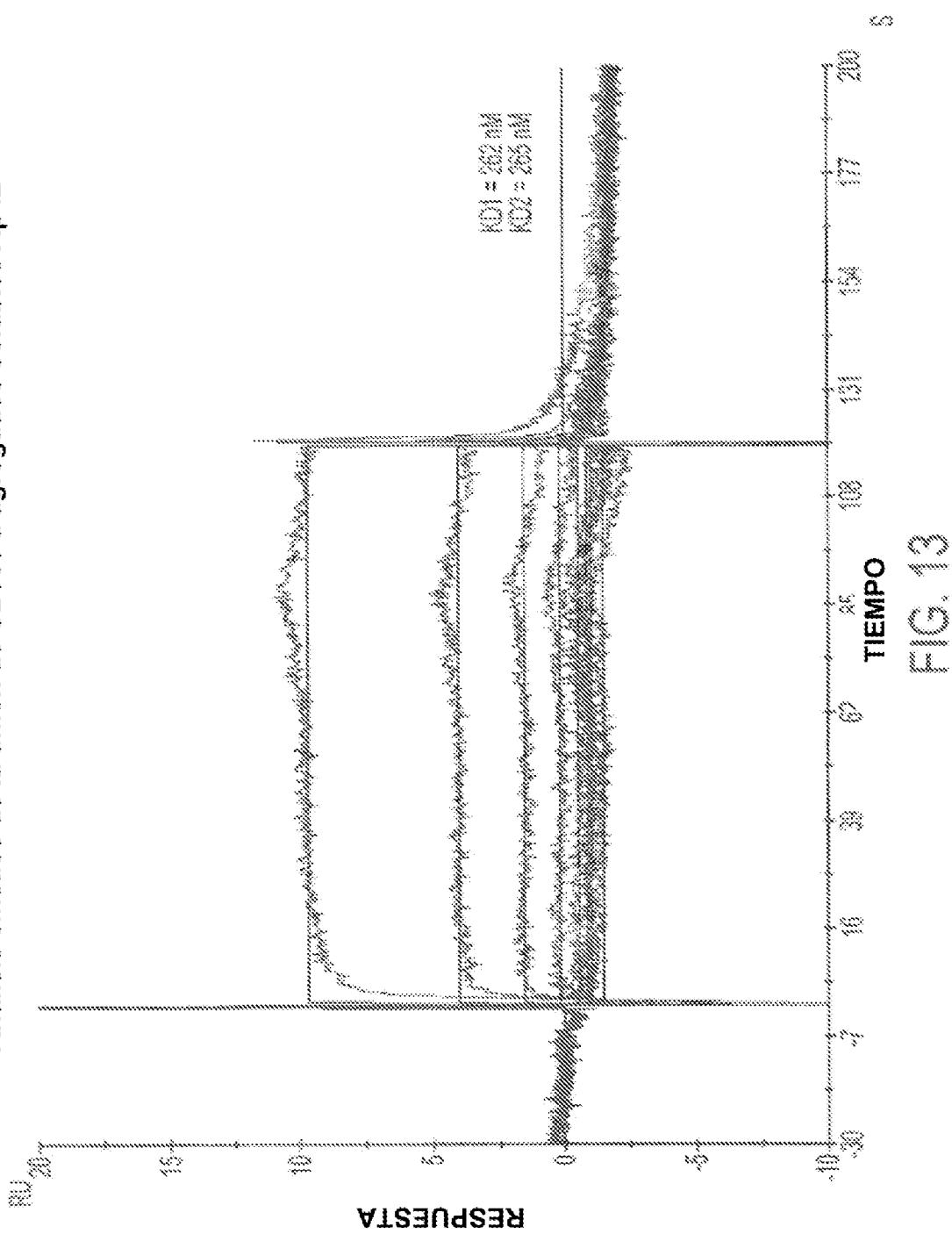
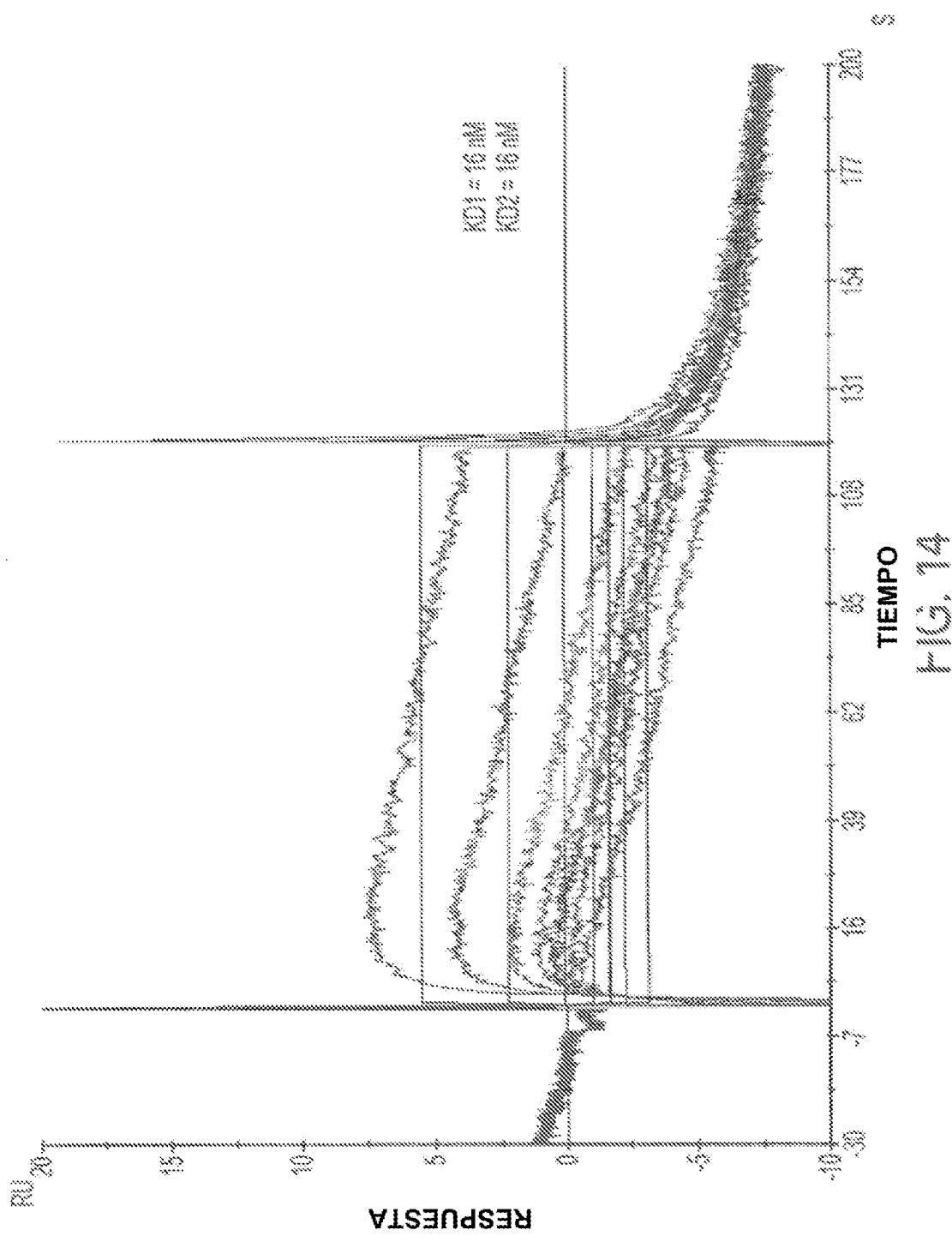


FIG. 13

Análisis cinético de la unión de PiB a agregados insolubles A_β42



Análisis cinético de la unión de PiB a agregados solubles A_β42

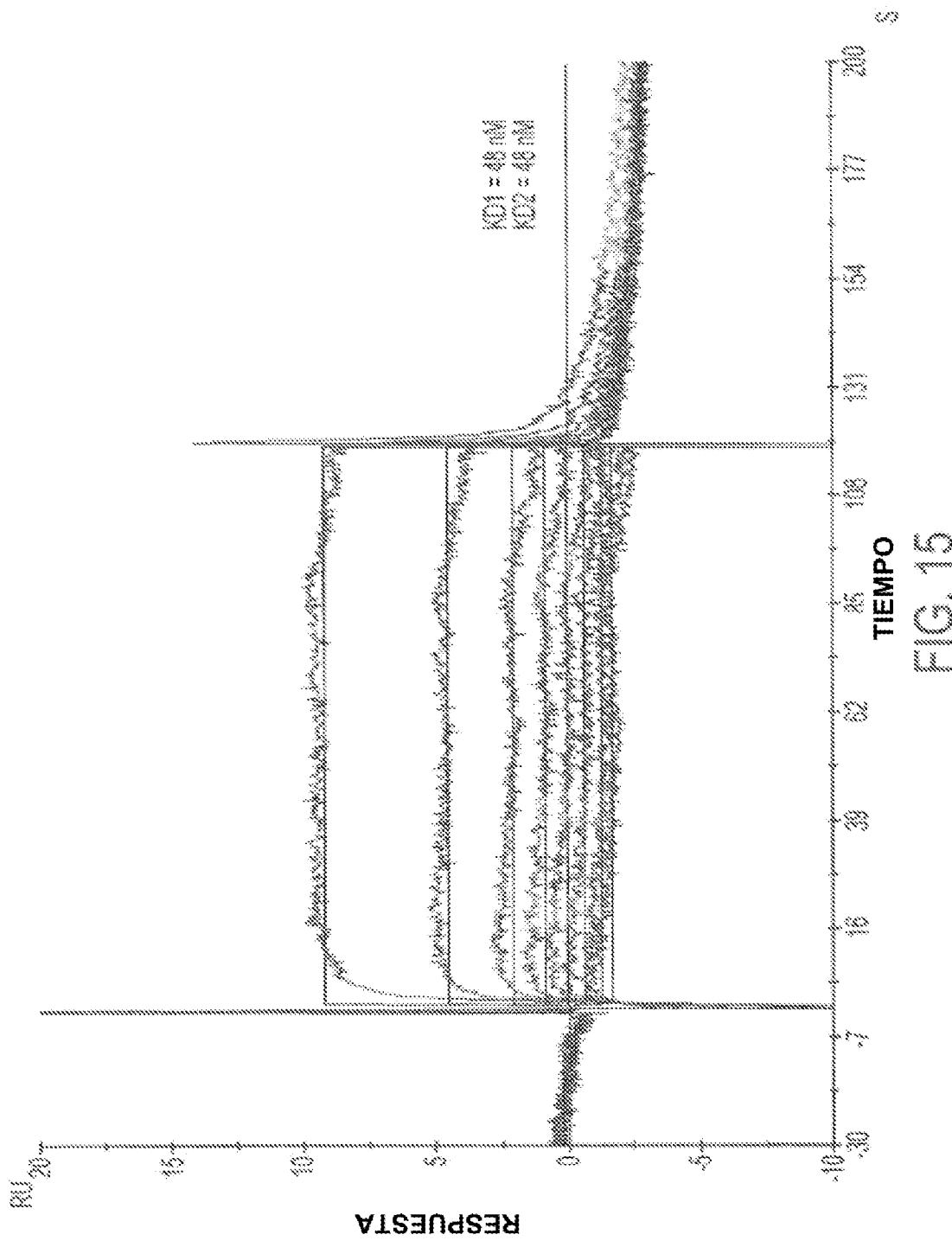


FIG. 15

Análisis cinético de la unión de CB004 a agregados insolubles A_β42

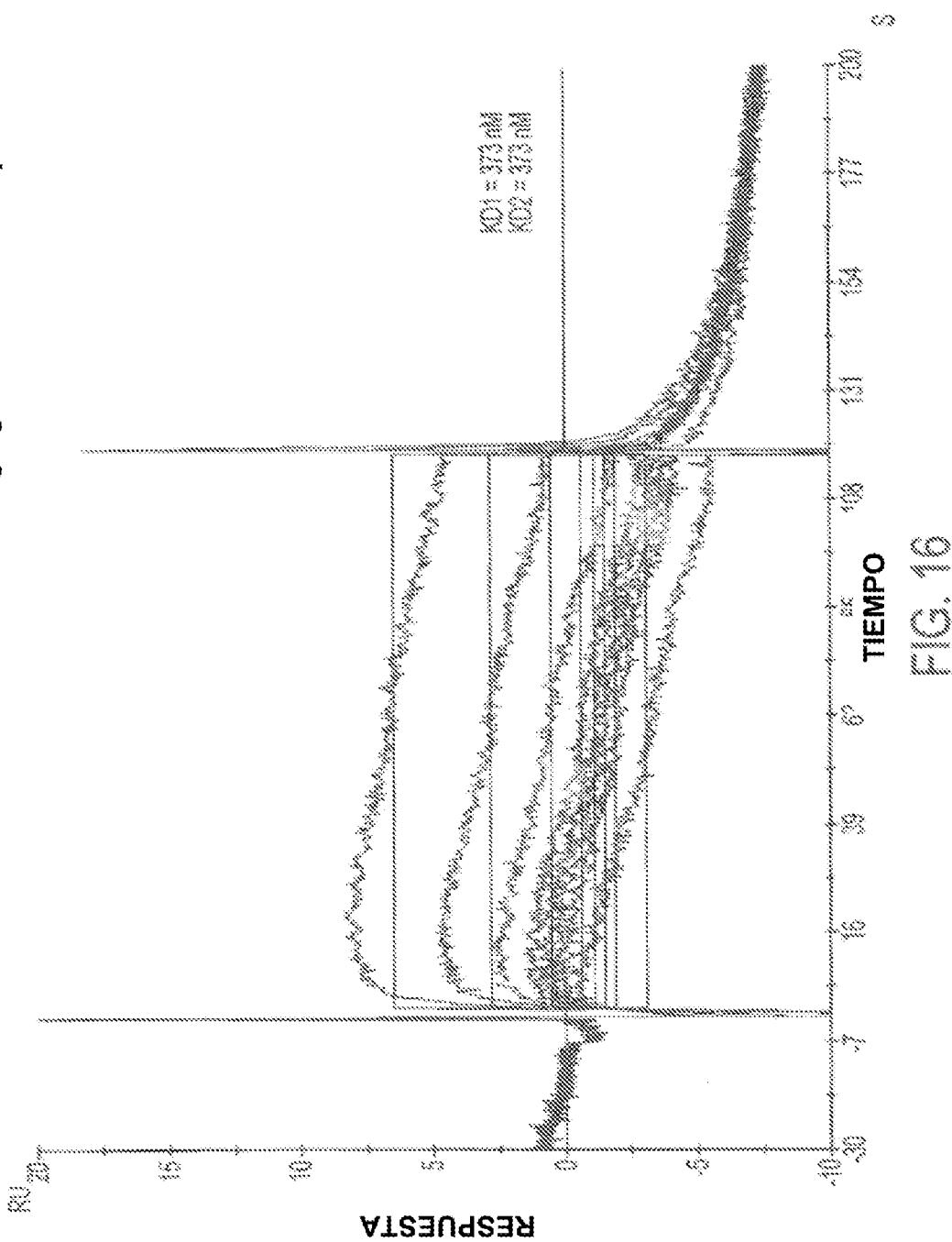


FIG. 16

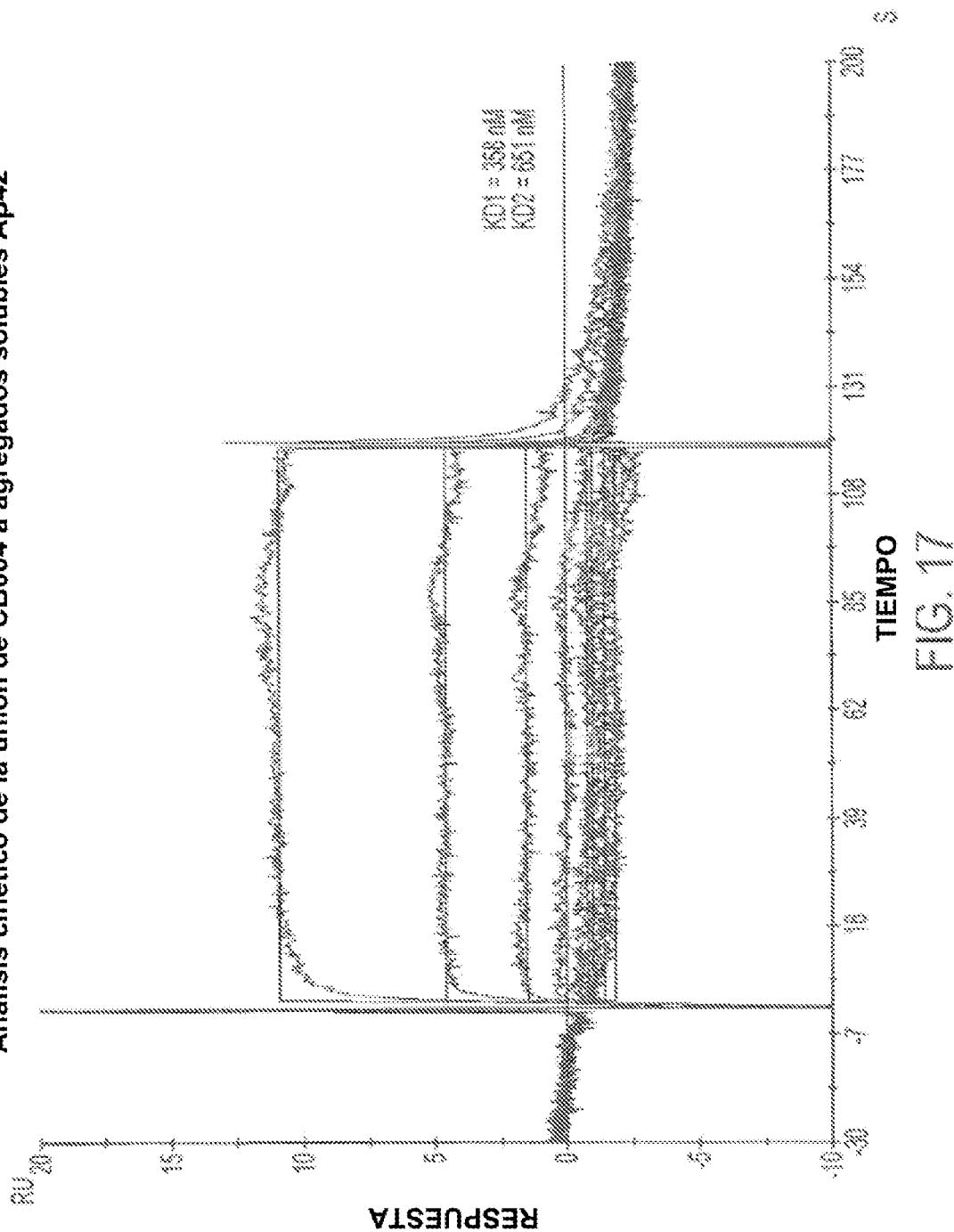
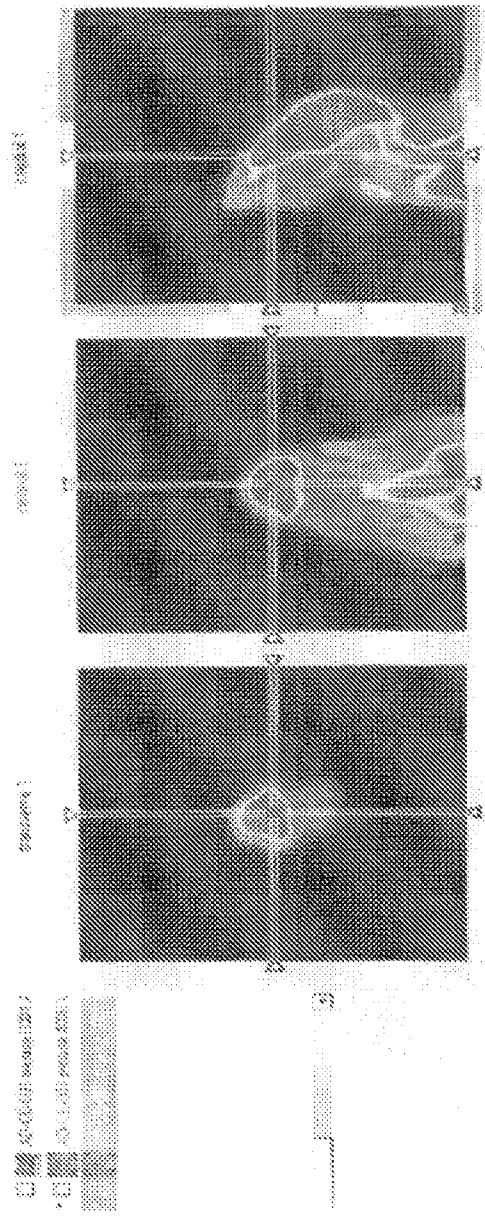
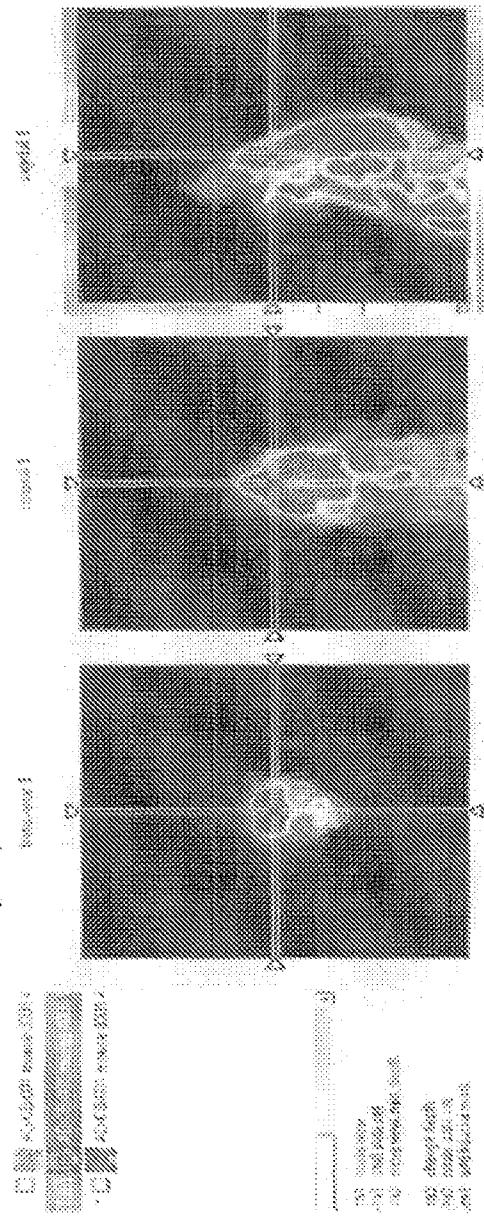
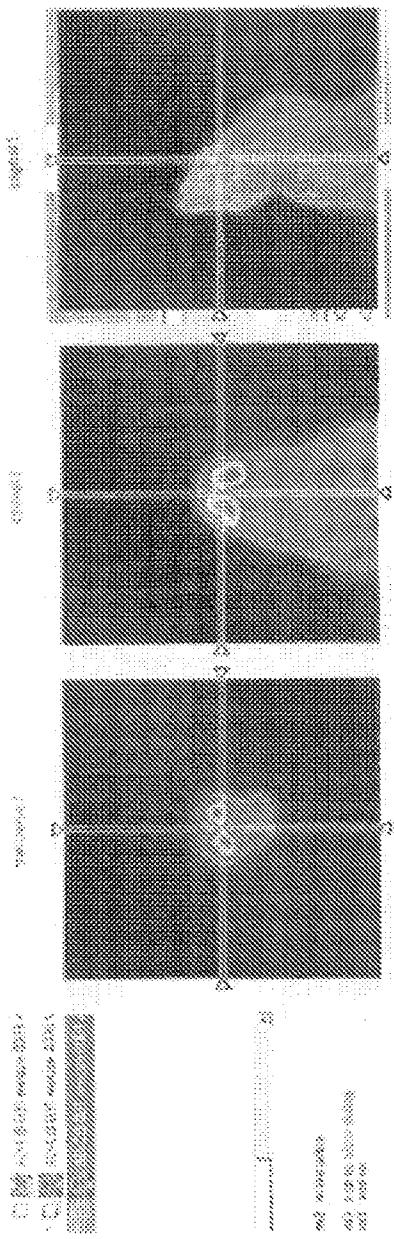
Análisis cinético de la unión de CB004 a agregados solubles A_β42

FIG. 17

Ratón de App 8001 ("ratón AD" 18 meses) [10%CCB-40%PEI, 2 min. má.**Ratón de tipo salvaje [10%CCB-40%PEI, 2 min. má.****FIGURA 10A**

Ratón de App 8001 ("ratón AD" 18 meses) | 1871-CCB-001 PET, 20-30 min p.i.



Ratón de tipo salvaje | 1871-CCB-001 PET, 20-30 min p.i.

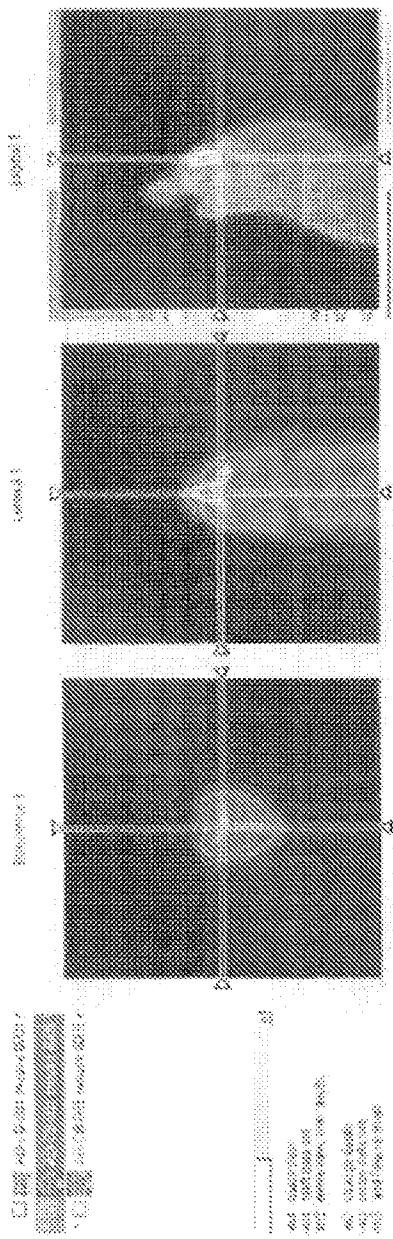
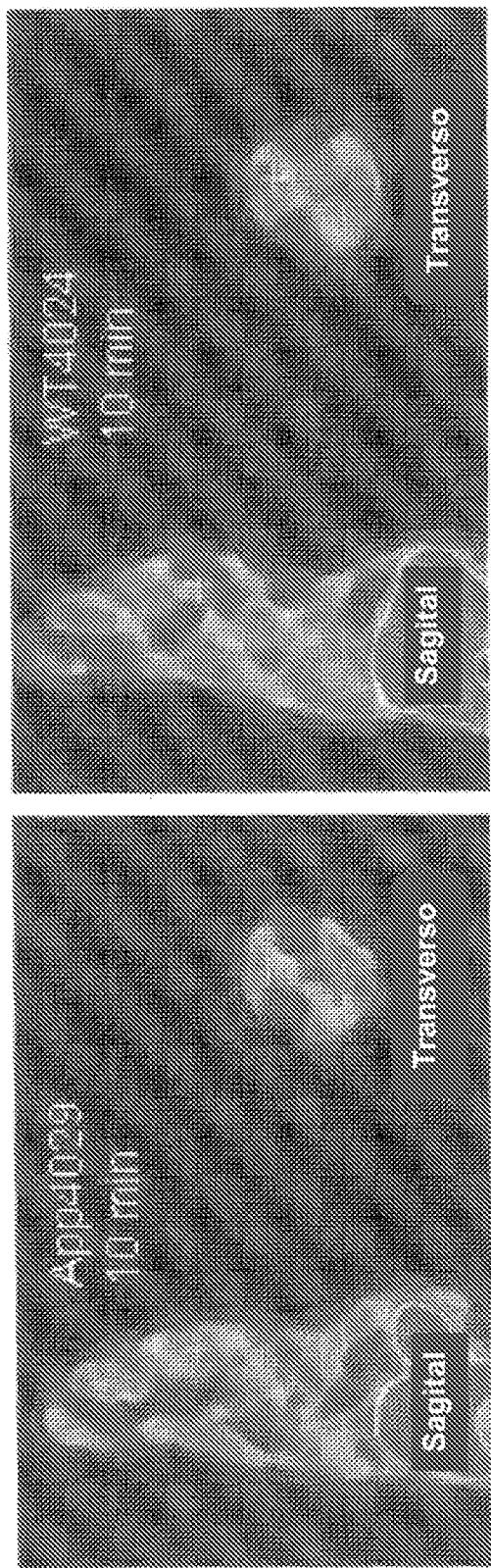
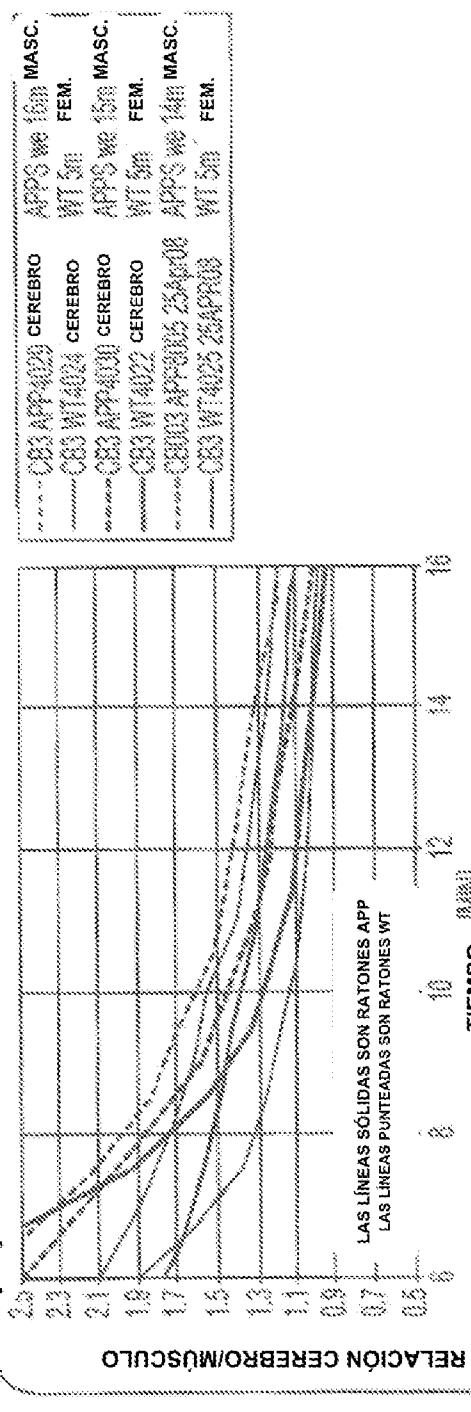
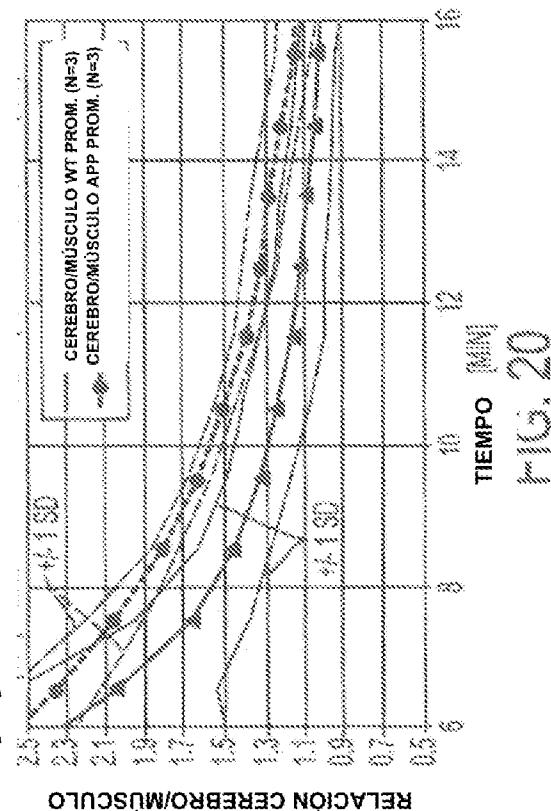
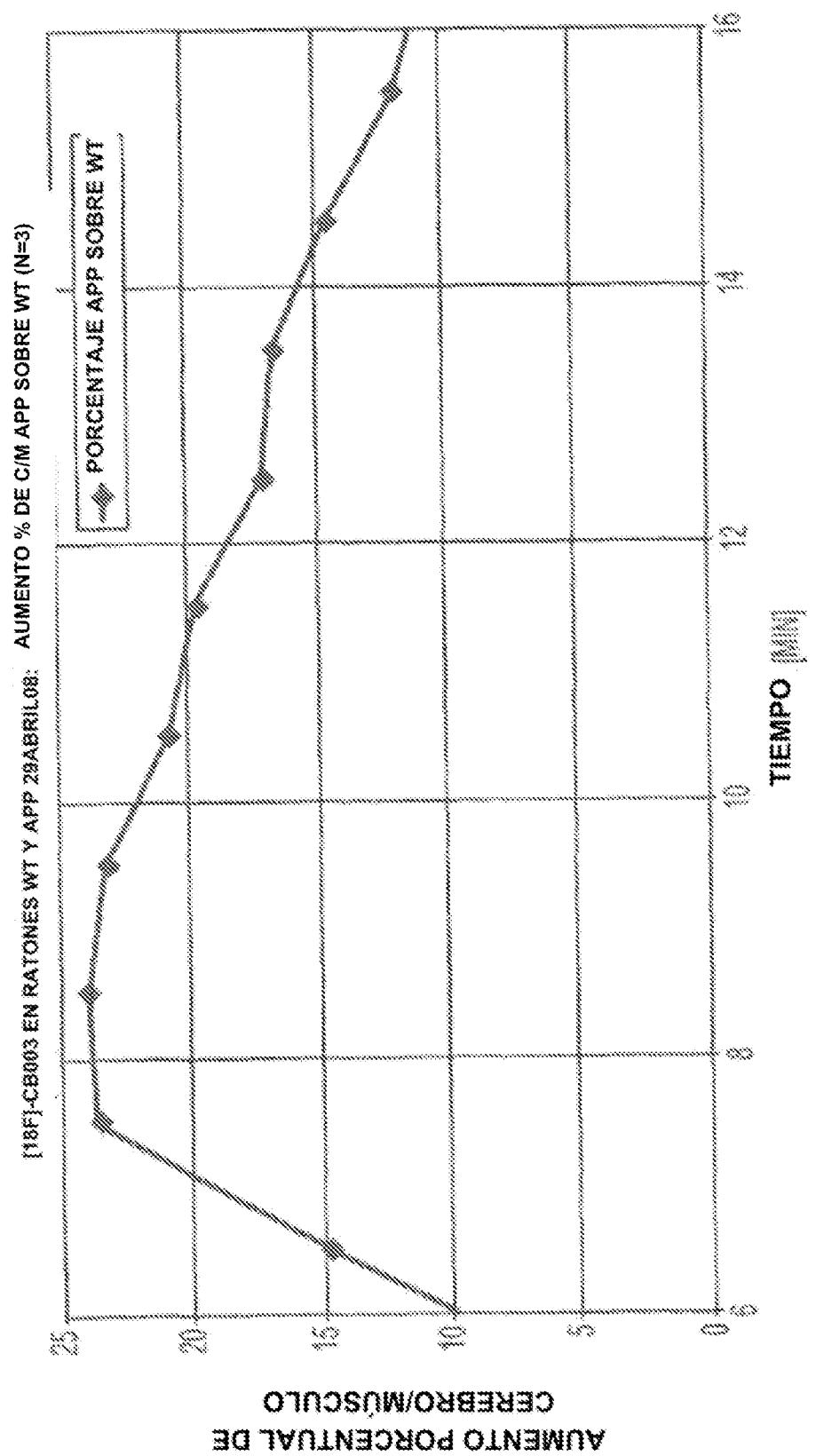


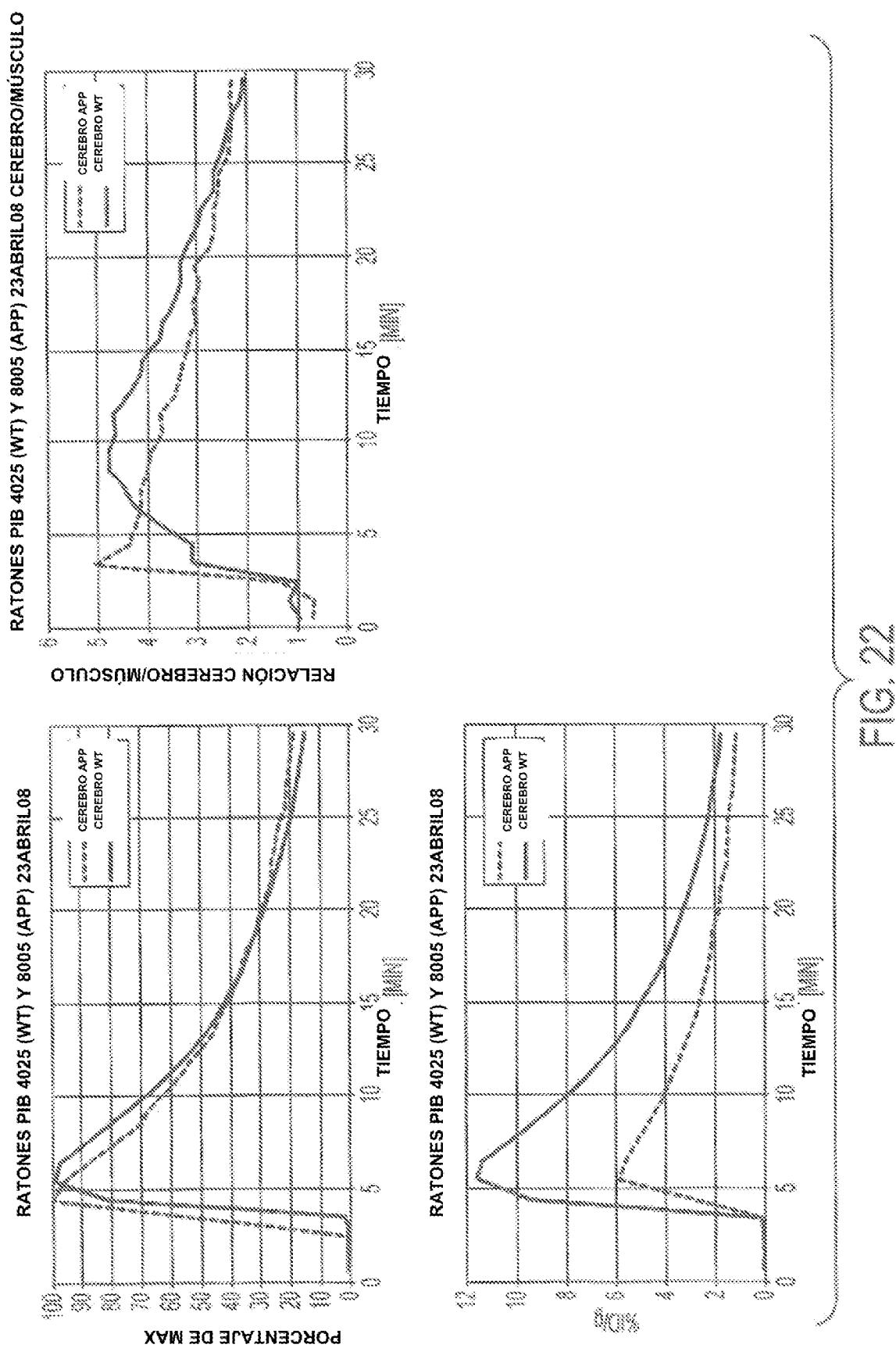
FIGURA 121

FIGURA 19



[¹⁸F]-CB003 EN RATONES WT Y APP 29ABRIL08 CEREBRO/MÚSCULO[¹⁸F]-CB003 EN RATONES WT Y APP 29ABRIL08 CEREBRO/MÚSCULO (N=3)





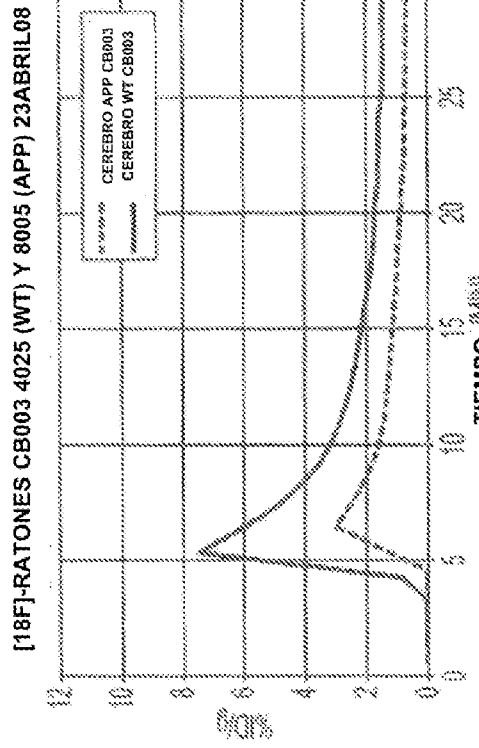
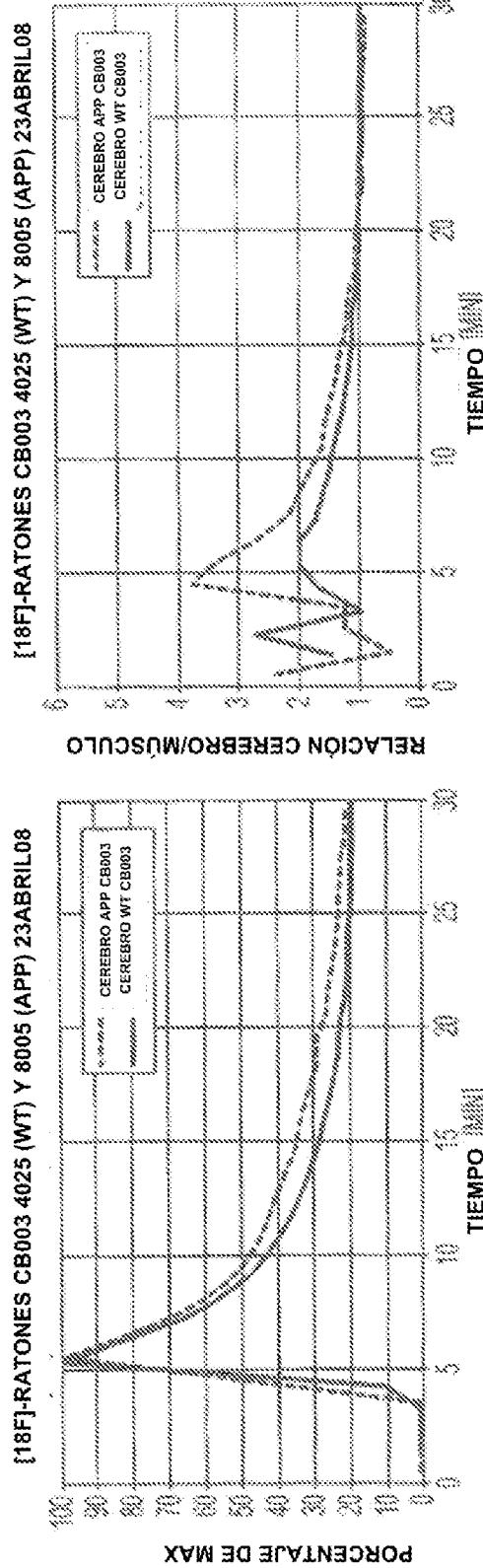


FIG. 23