

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 988 770**

51 Int. Cl.:

C07D 513/04 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/4365 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.06.2019** **PCT/EP2019/065031**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.12.2019** **WO19234243**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2019** **E 19731187 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2024** **EP 3802548**

54 Título: **Nuevos compuestos para diagnóstico**

30 Prioridad:

08.06.2018 EP 18176768

05.12.2018 EP 18210495

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.11.2024

73 Titular/es:

AC IMMUNE SA (100.0%)
EPFL Innovation Park, Building B
1015 Lausanne, CH

72 Inventor/es:

MOLETTE, JÉRÔME

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 988 770 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nuevos compuestos para diagnóstico

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos compuestos que pueden emplearse en el diagnóstico, la monitorización de la progresión de la enfermedad o la monitorización de la actividad farmacológica de un grupo de trastornos y anomalías asociados con agregados de alfa-sinucleína (a-sinucleína, A-sinucleína, aSinucleína, asinucleína, A-syn, α -syn, aSyn, SNCA, componente distinto de beta amiloide de placas amiloides de la enfermedad de Alzheimer (AD), componente distinto de A4 de precursor amiloide, (NACP) incluidos, pero sin limitarse a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy, tales como enfermedad de Parkinson (PD). Los presentes compuestos son particularmente útiles en el diagnóstico del estado preclínico de tal trastorno, la monitorización del trastorno residual o la predicción de la respuesta de un paciente que padece tal trastorno al tratamiento con un cierto medicamento.

Antecedentes de la invención

Muchas enfermedades del envejecimiento se basan en o están asociadas con depósitos extracelulares o intracelulares de agregados de proteínas amiloides o similares a amiloides que contribuyen a la patogénesis así como a la progresión de la enfermedad. La proteína amiloidogénica mejor caracterizada que forma agregados extracelulares es el beta amiloide (A β , A β ta).

Las proteínas amiloidogénicas, que forman principalmente agregados intracelulares, incluyen, pero no se limitan a Tau, alfa-sinucleína y huntingtina (htt). Los trastornos y anomalías asociados con la alfa-sinucleína incluyen estados prepatológicos, así como enfermedades que implican agregados de alfa-sinucleína. Estas enfermedades se enumeran generalmente como sinucleinopatías (o α -sinucleinopatías) e incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Parkinson (esporádica, familiar con mutaciones y/o multiplicaciones de alfa-sinucleína, familiar con mutaciones distintas de alfa-sinucleína, insuficiencia autónoma pura y disfagia con cuerpos de Lewy), demencia con cuerpos de Lewy (demencia con cuerpos de Lewy "pura"), enfermedad de Alzheimer esporádica, enfermedad de Alzheimer familiar con mutaciones de APP, enfermedad de Alzheimer familiar con PS-1, PS-2 u otras mutaciones, demencia británica familiar, variante con cuerpos de Lewy de la enfermedad de Alzheimer y síndrome de Down. Las sinucleinopatías con agregados neuronales y gliales de alfa-sinucleína incluyen atrofia sistémica múltiple (MSA) (síndrome de Shy-Drager, degeneración estriatonigral y atrofia olivopontocerebelosa). Otras enfermedades que pueden tener lesiones inmunorreactivas con alfa-sinucleína incluyen lesión cerebral traumática, encefalopatía traumática crónica, enfermedad de las neuronas motoras, distrofia neuroaxonal, neurodegeneración con acumulación de hierro cerebral de tipo 1 (síndrome de Halervorden-Spatz), enfermedades priónicas, ataxia telangiectasia, síndrome de Meige, panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Gaucher, así como otros trastornos de almacenamiento lisosómico (incluidos síndrome de Kufor-Rakeb y síndrome de Sanfilippo) y trastorno del comportamiento del sueño de movimientos oculares rápidos (REM) (Jellinger, *Mov. Desord.* 2003, 18 Supl. 6, S2-12; Galvin *et al.*, *JAMA Neurology* 2001, 58 (2), 186-190; Kovari *et al.*, *Acta Neuropathol.* 2007, 114(3), 295-8; Saito *et al.*, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2004, 63(4), 323-328; McKee *et al.*, *Brain*, 2013, 136(Pt 1), 43-64; Puschmann *et al.*, *Parkinsonism Relat Disord* 2012, 18S1, S24-S27; Usenovic *et al.*, *J. Neurosci.* 2012, 32(12), 4240-4246; Winder-Rhodes *et al.*, *Mov. Disord.* 2012, 27(2), 312-315; Ferman *et al.*, *J. Int. Neuropsychol Soc.* 2002, 8(7), 907-914).

La alfa-sinucleína es una proteína de 140 aminoácidos desplegada nativamente (Iwai *et al.*, *Biochemistry* 1995, 34(32), 10139-10145). La secuencia de alfa-sinucleína puede dividirse en tres dominios principales: 1) la región N-terminal que comprende los residuos 1-60, que contiene los residuos de repetición imperfectos anfipáticos de 11 meros con hexámero altamente conservado (KTKEGV). Esta región se ha implicado en la regulación de la unión de alfa-sinucleína a membranas y su internalización; 2) el dominio del componente distinto de beta amiloide (NAC) hidrófobo que abarca los residuos 61-95; que es esencial para la agregación de alfa-sinucleína; y 3) la región C-terminal que abarca los residuos 96-140 que es altamente ácida y rica en prolina, que no tiene propiedades estructurales y funcionales distintas conocidas. Se ha demostrado que la alfa-sinucleína experimenta varias modificaciones postraduccionales, que incluyen, pero no se limitan a, truncamientos, fosforilación, ubiquitinación, oxidación y/o reticulación covalente de transglutaminasa (Fujiwara *et al.*, *Nat. Cell Biol.* 2002, 4(2), 160-164; Hasegawa *et al.*, *J. Biol. Chem.* 2002, 277(50), 49071-49076; Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102(6), 2162-2167; Oueslati *et al.*, *Prog Brain Res* 2010, 183, 115-145; Schmid *et al.*, *J Biol Chem* 2009, 284(19), 13128-13142). Curiosamente, la mayoría de estas modificaciones implican residuos dentro de la región C-terminal.

Se han detectado varios sitios de fosforilación en la región carboxilo-terminal en Tyr-125, Ser-133, -136 y -129 (Negro *et al.*, *FASEB J* 2002, 16(2), 210-212). La fosforilación extensa y selectiva de alfa-sinucleína en Ser-129 es evidente en lesiones de sinucleinopatía, incluidos cuerpos de Lewy (Fujiwara *et al.*, *Nat Cell Biol* 2002, 4(2), 160-164). Otras modificaciones postraduccionales en el extremo carboxilo, incluida la glucosilación en Ser-129 (McLean *et al.*, *Neurosci Lett* 2002, 323(3), 219-223) y nitración en Tyr-39, Tyr-125, -133 y -136 (Takahashi *et al.*, *Brain Res* 2002, 938(1-2), 73-80; Hodara *et al.*, *J Biol Chem* 2004, 279(46), 47746-47753), pueden afectar a la agregación de alfa-sinucleína. Se ha notificado que el truncamiento de la región carboxilo terminal por proteólisis desempeña un papel en la fibrillogénesis de alfa-sinucleína en diversas enfermedades neurodegenerativas (Rochet *et al.*, *Biochemistry* 2000, 39(35), 10619-10626). Se han detectado también agregados de alfa-sinucleína de longitud completa, así como parcialmente

truncados e insolubles en cuerpos de Lewy altamente purificados (Crowther *et al.*, FEBS Lett 1998, 436(3), 309-312).

La agregación anómala de proteínas parece ser una característica común en el envejecimiento cerebral y en varias enfermedades neurodegenerativas, aunque sigue sin definirse un papel claro en el proceso patológico. En modelos *in vitro*, la alfa-sinucleína (o algunas de sus formas truncadas) se ensambla fácilmente en filamentos que se asemejan a los aislados de cerebros de pacientes con demencia por LB y PD familiar (Crowther *et al.*, FEBS Lett 1998, 436(3), 309-312). La alfa-sinucleína y sus formas mutadas (A53T, A30P, E46K, H50Q, G51D, A53E y A53V) tienen una conformación de espiral aleatoria y no forman estructuras secundarias significativas en solución acuosa a bajas concentraciones; sin embargo, a concentraciones más altas, son propensas a autoagregarse, produciendo fibrillas de amiloide (Wood *et al.*, J Biol Chem 1999, 274(28), 19509-19512). Se han documentado varias diferencias en el comportamiento de agregación de los mutantes unidos a PD y la proteína de tipo silvestre. Agregados monoméricos de alfa-sinucleína *in vitro* forman fibrillas estables a través de un estado oligomérico metaestable (es decir, protofibrilla) (Voiles *et al.*, Biochemistry 2002, 41(14), 4595-4602).

La PD es el trastorno motor neurodegenerativo más común. La PD es principalmente una enfermedad idiopática, aunque, en al menos el 5 % de los pacientes con PD, la patología está ligada a mutaciones en uno o varios genes específicos (Lesage *et al.*, Hum. Mol. Genet., 2009, 18, R48-59). La patogénesis de la PD sigue siendo esquiva, sin embargo, cada vez más pruebas sugieren un papel del plegamiento patógeno de la proteína alfa-sinucleína que conduce a la formación de una variedad de agregados. De hecho, las características distintivas de la PD son la pérdida neuronal principalmente de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra, pero no se limitan a esta región cerebral y la presencia de estructuras de agregados intracelulares de alfa-sinucleína en el soma neuronal y neuritas denominadas cuerpos de Lewy y neuritas de Lewy, respectivamente. La alfa-sinucleína es una proteína presináptica desplegada nativamente que puede plegarse y agregarse erróneamente en formas oligoméricas y fibrilares más grandes que están ligadas con la patogénesis de la PD. Estudios recientes han implicado pequeñas formas oligoméricas y protofibrilares solubles de alfa-sinucleína como la especie más neurotóxica (Lashuel *et al.*, J. Mol. Biol., 2002, 322, 1089-102), sin embargo, el papel preciso de los agregados de alfa-sinucleína en la toxicidad de las células neuronales sigue sin aclararse (revisión: Cookson, Annu. Biochem., 2005, 74, 29-52).

El diagnóstico de la PD es en gran medida clínico y depende de la presencia de un conjunto específico de síntomas y signos (siendo la característica central inicial bradicinesia, rigidez, temblor en reposo e inestabilidad postural), la ausencia de características atípicas, un curso lentamente progresivo y una respuesta a la terapia farmacológica. El diagnóstico requiere conocimientos clínicos pero está abierto a un grado de subjetividad y error, ya que varias otras enfermedades degenerativas y no degenerativas pueden imitar la PD (MSA, parálisis supranuclear progresiva (PSP), AD, temblor esencial, temblor distónico), (Guideline No. 113: Diagnosis and pharmacological management of PD, enero de 2010. SIGN). La confirmación final del diagnóstico se realiza mediante análisis neuropatológico *post mortem*.

Las exploraciones cerebrales por tomografía computarizada (CT) y obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI) convencional de personas con PD generalmente parecen normales. Sin embargo, estas técnicas son útiles para descartar otras enfermedades que pueden ser causas secundarias de parkinsonismo, tales como tumores de ganglios basales, patología vascular e hidrocefalia. Se ha notificado que una técnica específica de MRI, MRI de difusión, es útil para discriminar entre parkinsonismo típico y atípico, aunque su valor diagnóstico exacto está todavía bajo investigación. La función dopaminérgica en los ganglios basales puede medirse con diferentes radiotrazadores de PET y SPECT. Ejemplos son ioflupano (^{123}I) (nombre comercial DaTSCAN) e iometopano (Dopascan) para SPECT o fluorodesoxiglucosa (^{18}F) y DTBZ para PET. Un patrón de actividad dopaminérgica reducida en los ganglios basales puede ayudar a diagnosticar la PD (Brooks, J. Nucl. Med., 2010, 51, 596-609; Redmond, Neuroscientist, 2002, 8, 457-88; Wood, Nat. Neurol., 2014, 10, 305).

Están desarrollándose estrategias para aplicar avances recientes de la causa de la PD al desarrollo de biomarcadores bioquímicos (Schapira, Curr Opin Neurol 2013; 26(4):395-400). Tales biomarcadores que se han investigado en diferentes fluidos corporales (por ejemplo, líquido cefalorraquídeo (LCR), plasma, saliva) incluyen niveles de alfa-sinucleína pero también DJ-1, Tau y Abeta, así como proteínas de neurofilamentos, interleucinas, osteopontina e hipocrontina (Schapira, Curr Opin Neurol 2013; 26(4):395-400), pero hasta ahora ninguno de estos biomarcadores solos o en combinación puede usarse como ensayo de diagnóstico determinante. Hasta lo que conocen los inventores, actualmente no está en el mercado ningún agente de diagnóstico de alfa-sinucleína aprobado o disponible para uso clínico a pesar de una necesidad crucial del mismo, para la investigación de la PD y el desarrollo de fármacos (Eberling *et al.*, J Parkinsons Dis. 2013; 3(4):565-7).

La capacidad de obtener imágenes de la deposición de alfa-sinucleína en el cerebro sería extremadamente útil y daría como resultado un gran avance para el diagnóstico de la PD, la investigación y el desarrollo de fármacos. La acumulación de alfa-sinucleína agregada en el cerebro es una característica distinta patológica de la PD y una diana prioritaria para el desarrollo de fármacos dada su hipótesis de contribución a la neurodegeneración. La obtención de imágenes *in vivo* de la patología de alfa-sinucleína podría ser útil como biomarcador de la presencia de la enfermedad y la progresión de la enfermedad y como herramienta farmacodinámica para el desarrollo de fármacos. El desarrollo de un agente de obtención de imágenes de PET de alfa-sinucleína se considera muy importante para el diagnóstico y la monitorización de los efectos de los agentes terapéuticos que se dirigen a la alfa-sinucleína (Eberling, Dave y Frasier, J. Parkinson's Disease, 3, 565-567 (2013)). A pesar de un gran esfuerzo por identificar un ligando de PET de alfa-sinucleína, hasta ahora se identificaron unos cuantos compuestos pero no son óptimos por varias razones: baja

o ninguna afinidad por los agregados patológicos de alfa-sinucleína presentes en los cerebros enfermos, baja o ninguna selectividad por la alfa-sinucleína sobre otras proteínas agregadas y propiedades fisicoquímicas inapropiadas (Eberling *et al.*, J Parkinsons Dis. 2013; 3(4):565-7; Neal *et al.*, Mol Imaging Biol. 2013; 15:585-595; Bagchi *et al.*, PLoS One 2013;8(2):e55031; Yu *et al.*, Bioorganic and Medicinal chemistry 2012; 20:4625-4634; Zhang *et al.*, Appl Sci (Basilea) 2014;4(1):66-78; Chu *et al.*, J Med Chem, 2015, 58 (15):6002-17).

Para lograr una alta selectividad por la alfa-sinucleína, se han usado sondas moleculares que reconocen y se unen a la alfa-sinucleína patológica. Con el fin de reducir la interferencia de la señal de fondo resultante de la unión fuera de diana no específica, y para reducir los requisitos de dosificación, los compuestos de obtención de imágenes de alfa-sinucleína deben unirse con alta afinidad y selectividad a su diana. Para la obtención de imágenes de agregados de alfa-sinucleína asociados con trastornos neurológicos tales como PD, es necesario que los compuestos de obtención de imágenes penetren en la barrera hematoencefálica y pasen a las regiones relevantes del cerebro. Para dirigirse a inclusiones intracelulares de tipo amiloide tales como alfa-sinucleína, la permeabilidad celular es un requisito adicional de los compuestos de obtención de imágenes. Un requisito previo adicional para evitar la acumulación innecesaria de un compuesto que puede dar como resultado un aumento del riesgo de efectos secundarios no deseados es un lavado rápido del compuesto del cerebro (u otro órgano de direccionamiento).

El documento WO 2011/128455 se refiere a compuestos específicos que son adecuados para tratar trastornos asociados con proteínas amiloides o proteínas de tipo amiloide. El documento US 2012/0302755 se refiere a ciertos agentes de obtención de imágenes para detectar disfunción neurológica. Otros compuestos para el diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas en el epitelio olfativo se analizan en el documento WO 2012/037928.

El documento WO 2010/063701 se refiere a un cierto agente de obtención de imágenes *in vivo* para su uso en un método para determinar la presencia de, o susceptibilidad a, PD, en donde el agente de obtención de imágenes *in vivo* comprende un aglutinante de alfa-sinucleína marcado con un resto de obtención de imágenes *in vivo*, y en donde el agente de obtención de imágenes *in vivo* se une a la alfa-sinucleína con una afinidad de unión.

El documento US 2014/0142089 se refiere a un método para prevenir o tratar una enfermedad cerebral degenerativa, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un compuesto específico, una sal farmacéuticamente aceptable, un isómero, un solvato, un hidrato y una combinación de los mismos.

El documento WO 2009/155017 describe derivados de azabenzoxazol sustituidos con arilo o heteroarilo, que se afirma que son útiles como trazadores en la obtención de imágenes por tomografía por emisión de positrones (PET) para estudiar depósitos de amiloide en el cerebro *in vivo* para permitir el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.

El documento WO 2016/033445 se refiere a un compuesto específico para la obtención de imágenes de la proteína huntingtina.

El documento WO 2017/153601 se refiere a los compuestos que pueden emplearse en el diagnóstico, la monitorización de la progresión de la enfermedad o la monitorización de la actividad farmacológica, de un grupo de trastornos y anomalías asociados con alfa-sinucleína.

Sumario de la invención

Un objeto de la presente invención era proporcionar compuestos que puedan emplearse en el diagnóstico, la monitorización de la progresión de la enfermedad, la monitorización de la actividad farmacológica, de un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy, tal como PD. En particular, los compuestos deben ser adecuados para el diagnóstico del estado preclínico de tal trastorno, la monitorización del trastorno residual o la predicción de la capacidad de respuesta de un paciente que padece tal trastorno al tratamiento con un cierto medicamento.

Además, existe una necesidad en la técnica de compuestos que puedan usarse como agentes de obtención de imágenes para agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy. En particular, un objeto de la presente invención era proporcionar compuestos que sean adecuados como composición diagnóstica para la obtención de imágenes por tomografía por emisión de positrones de sinucleinopatías, por ejemplo, en donde los compuestos están marcados de forma detectable con ¹⁸F. Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que estos objetos pueden lograrse mediante los compuestos de fórmula (I) como se describe a continuación en el presente documento.

Los compuestos de fórmula (I) muestran alta afinidad de unión a agregados de alfa-sinucleína. Además, los compuestos de fórmula (I) muestran alta selectividad por la alfa-sinucleína sobre Aβ permitiendo la diferenciación de la PD de otras proteinopatías que comparten características clínicas y patológicas comunes. Debido a sus características de diseño únicas, estos compuestos muestran propiedades tales como lipofilia y peso molecular apropiados, captación y farmacocinética cerebrales, permeabilidad celular, solubilidad y autofluorescencia para ser sondas de obtención de imágenes exitosas para la detección y cuantificación de agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, carga de cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy *in vivo*, *ex vivo* e *in vitro*.

La presente invención divulga nuevos compuestos de fórmula (I) que tienen propiedades de unión potenciadas a agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy. Algunos compuestos de fórmula (I) tienen parámetros farmacocinéticos (PK) mejorados, tales como lavado cerebral y retención no específica reducida. Los compuestos de esta invención pueden marcarse (por ejemplo, marcarse radiactivamente), de modo que puedan usarse para la obtención de imágenes *ex vivo* e *in vivo* para detectar agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy. La presente invención proporciona métodos para la detección de agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy, *ex vivo* usando un compuesto de fórmula (I) o una composición farmacéutica del mismo. La presente invención proporciona compuestos de fórmula (I) para su uso como agentes de obtención de imágenes, particularmente para el diagnóstico de PD presintomática y/o premotora y/o PD avanzada y/u otras alfa-sinucleinopatías, por ejemplo, usando tomografía por emisión de positrones (PET). La invención serviría como biomarcador para monitorizar la progresión topográfica de la patología, conduciendo a una mejora del diagnóstico clínico y el diseño del estudio clínico. La presente invención proporciona además una composición diagnóstica que comprende un compuesto de fórmula (I) y, opcionalmente, un portador, diluyente, adyuvante y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención se expone en el conjunto de reivindicaciones adjuntas.

Los compuestos, que se divulgan en los ejemplos o en las reivindicaciones así como estereoisómeros, mezclas racémicas, sales farmacéuticamente aceptables, hidratos, solvatos y polimorfos de los mismos, se considera que son compuestos particularmente adecuados de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención pueden contener opcionalmente un marcador detectable seleccionado de radionúclidos, emisores de positrones, emisores gamma, marcadores fluorescentes, marcadores luminiscentes y marcadores cromogénicos. Estos compuestos se indicarán como "derivados marcados detectablemente" por brevedad a continuación.

Definiciones

En el sentido de la presente solicitud, se aplican las siguientes definiciones: "Alquilo" se refiere a un resto orgánico saturado lineal o ramificado que consiste en átomos de carbono e hidrógeno. Los ejemplos de grupos alquilo adecuados tienen de 1 a 6 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono, e incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo e isobutilo.

"Fluoro-alquilo" se refiere a un "alquilo" unido a un flúor, por ejemplo $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$.

"Alquil-O-alquilo" se refiere a un "alquilo" unido a un oxígeno unido a un "alquilo", por ejemplo $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2-$.

"Hal" o "halogeno" se refiere a F, Cl, Br e I. Con respecto a aplicaciones de diagnóstico, se prefiere particularmente F (por ejemplo, ^{19}F y ^{18}F).

El término "grupo saliente" (LG) como se emplea en el presente documento es cualquier grupo saliente y significa un átomo o grupo de átomos que pueden reemplazarse por otro átomo o grupo de átomos. Se proporcionan ejemplos, por ejemplo, en Synthesis (1982), págs. 85-125, tabla 2, Carey y Sundberg, Organische Synthese, (1995), páginas 279-281, tabla 5.8; o Netscher, Recent Res. Dev. Org. Chem., 2003, 7, 71-83, esquemas 1, 2, 10 y 15 y otros). (Coenen, Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions, (2006), en: Schubiger P.A., Friebe M., Lehmann L., (eds), PET-Chemistry - The Driving Force in Molecular Imaging. Springer, Berlín Heidelberg, págs. 15-50, explícitamente: esquema 4 pág. 25, esquema 5 pág. 28, tabla 4 pág. 30, figura 7 pág. 33). Preferiblemente, el "grupo saliente" (LG) se selecciona de halógeno, trimetilamonio, sulfonato de alquilo C_{1-4} (por ejemplo, mesilato o triflato) y sulfonato de arilo C_{6-10} (por ejemplo, tosilato o nosilato).

Los términos "grupo protector" (PG) y "grupo protector de amino" como se emplean en el presente documento son cualquier grupo protector que sea adecuado para proteger un grupo amina durante una reacción química prevista. Los ejemplos de grupos protectores adecuados los conoce bien un experto en la técnica. Se comentan grupos protectores adecuados, por ejemplo, en el libro de texto Greene y Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, tercera edición, páginas 494-653, que se incluye en el presente documento por referencia. Pueden elegirse grupos protectores de carbamatos, amidas, imidas, N-alquilaminas, N-arilaminas, iminas, enaminas, boranos, grupos protectores N-P, N-sulfenilo, N-sulfonilo y N-sililo. Ejemplos específicos preferidos de grupos protectores (PG) son carbobenciloxi (Cbz), p-metoxibencilcarbonilo (Moz o MeOZ), terc-butiloxycarbonilo (BOC), 9-fluorenilmetiloxycarbonilo (Fmoc), bencilo (Bn), p-metoxibencilo (PMB), 3,4-dimetoxibencilo (DMPM), p-metoxifenilo (PMP), trifenilmetilo (trilito), metoxifenildifenilmetilo (MMT) o dimetoxitritilo (DMT).

Los compuestos de la presente invención que tienen uno o más carbonos ópticamente activos pueden existir como racematos y mezclas racémicas, estereoisómeros (incluyendo mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales, mezclas enantioméricas y enantiómeros individuales, mezclas de confómeros y confómeros individuales), tautómeros, atropisómeros y rotámeros. Todas las formas isoméricas están incluidas en la presente invención. Los compuestos descritos en esta invención que contienen dobles enlaces olefinicos incluyen isómeros geométricos E y Z. También se incluyen en esta invención todas las formas de sal, polimorfos, hidratos y solvatos.

El término "polimorfos" se refiere a las diversas estructuras cristalinas de los compuestos de la presente invención. Esto puede incluir, pero no se limita a, morfologías cristalinas (y materiales amorfos) y todas las formas de red cristalina. Las sales de la presente invención pueden ser cristalinas y pueden existir como más de un polimorfo. Los solvatos, hidratos así como las formas anhidras de la sal también están abarcados por la invención. El disolvente incluido en los solvatos no está particularmente limitado y puede ser cualquier disolvente farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos incluyen agua y alcoholes C₁₋₄ (tales como metanol o etanol).

Las "sales farmacéuticamente aceptables" se definen como derivados de los compuestos divulgados en donde el compuesto original se modifica fabricando sales de ácido o base del mismo. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto original formadas, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales no tóxicas convencionales incluyen las derivadas de ácidos inorgánicos tales como, pero sin limitarse a, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como, pero sin limitarse a, acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamoico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etanodisulfónico, oxálico, isetiónico, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto original que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Los disolventes orgánicos incluyen, pero no se limitan a, medios no acuosos como éteres, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Pueden encontrarse listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990, pág. 1445, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia.

"Farmacéuticamente aceptable" se define como aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del criterio médico razonable, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación acorde con una razón de beneficio/riesgo razonable.

Los compuestos en forma de profármaco, concretamente, un compuesto que se metaboliza *in vivo* al metabolito activo también se divulgan pero no se reivindican. La referencia de Goodman y Gilman (The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8 ed., McGraw-Hill, Int. Ed. 1992, Biotransformation of Drugs, págs. 13-15) que describe profármacos se incorpora en general en el presente documento por referencia.

Los pacientes o sujetos en la presente invención son normalmente animales, particularmente mamíferos, más particularmente seres humanos.

"Agregados de alfa-sinucleína" son: conjuntos ricos en lámina beta multiméricos de monómeros de alfa-sinucleína que pueden formar oligómeros solubles, protofibrillas solubles/insolubles, fibrillas maduras y/o agregados amorfos que coalescen en depósitos intracelulares detectados como una variedad de patologías de Lewy en PD y otras sinucleinopatías. La alfa-sinucleína agregada es la base de patologías en pacientes y puede detectarse en las siguientes morfologías: cuerpos de Lewy, neuritas de Lewy, cuerpos de Lewy prematuros o cuerpos pálidos, depósitos pericariales con patrones difusos, granulares, punteados o pleomórficos. Además, los agregados de alfa-sinucleína son el componente principal de las inclusiones fibrilares intracelulares detectadas en oligodendrocitos (también denominadas inclusiones citoplásmicas gliales) y en somas, axones y núcleos neuronales (denominados inclusiones citoplásmicas neuronales) que son las características distintivas histológicas de la atrofia sistémica múltiple. Los agregados de alfa-sinucleína en pacientes a menudo muestran un aumento sustancial en las modificaciones postraduccionales tales como fosforilación, ubiquitinación, nitración y truncamiento.

Los "cuerpos de Lewy" son agregados anómalos de proteínas que se desarrollan dentro de las células nerviosas en la PD, demencia con cuerpos de Lewy y otras sinucleinopatías. Los cuerpos de Lewy aparecen como masas esféricas que desplazan otros componentes celulares. Morfológicamente, los cuerpos de Lewy pueden clasificarse como de tipo troncoencefálico o cortical. Los cuerpos de Lewy del tronco encefálico clásicos son inclusiones citoplásmicas eosinofílicas que consisten en un núcleo denso rodeado por un halo de fibrillas radiantes de 5-10 nm de ancho, cuyo componente estructural primario es alfa-sinucleína; los cuerpos de Lewy corticales difieren por carecer de un halo. La presencia de cuerpos de Lewy es una característica distintiva de la PD.

Las "neuritas de Lewy" son procesos neuronales anómalos en neuronas enfermas, que contienen material granular, filamentos anómalos de alfa-sinucleína similares a los encontrados en cuerpos de Lewy, estructuras puntiformes, varicosas y esferoides axonales. Al igual que los cuerpos de Lewy, las neuritas de Lewy son una característica de las α -sinucleinopatías tales como demencia con cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson y atrofia sistémica múltiple.

El "estado preclínico" de la enfermedad se define como la fase de la enfermedad en la que los cambios asociados a la enfermedad a nivel molecular no conducen a una representación clínica manifiesta en el paciente.

Las definiciones preferidas facilitadas en la sección "Definición" se aplican a todas las realizaciones descritas a continuación a menos que se indique lo contrario.

Descripción de las figuras

Figura 1: Farmacocinética de cerebro completo medida después de inyección i.v. en NHP (primate no humano) de ^{18}F -6 y ^{18}F -Ejemplo 70 del documento WO2017/153601.

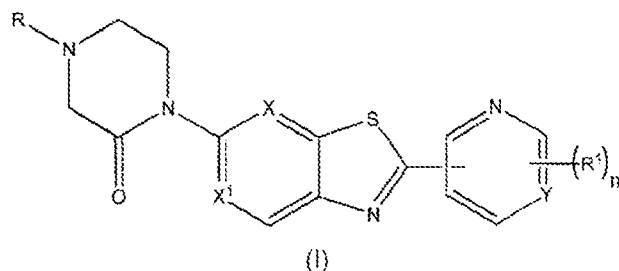
Figura 2: Normalización de la farmacocinética de NHP de cerebro completo de SUV para comparar las propiedades de lavado de ^{18}F -6 y ^{18}F -Ejemplo 70 del documento WO2017/153601.

Figura 3: Incubación de secciones cerebrales de amígdala (AMG) de varios donantes con PD/PDD o secciones del giro frontal medio (MFG) y región cerebral de amígdala de controles no dementes (NDC) con ^3H -6. Para determinar la unión no específica, se incubaron secciones adyacentes para cada caso con ^3H -6 en presencia de ligando no marcado en exceso (5 μM). Se muestran imágenes representativas de la señal de autorradiografía total ('-') y no específica ('+') para cada caso.

Descripción detallada de la invención

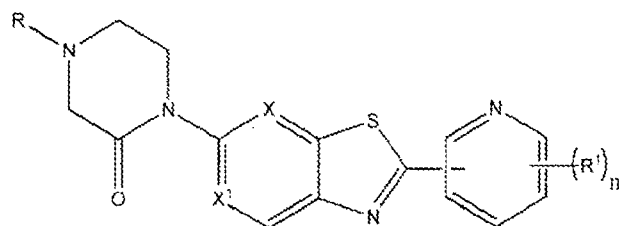
Los compuestos de la presente invención se describirán a continuación. Debe entenderse que también se contemplan todas las combinaciones posibles de las siguientes definiciones.

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

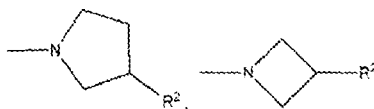


y derivados, estereoisómeros, mezclas racémicas, sales farmacéuticamente aceptables, hidratos, solvatos y polimorfos de los mismos marcados detectablemente.

El compuesto de fórmula (I) puede ser, por ejemplo, un compuesto de fórmula (I*)

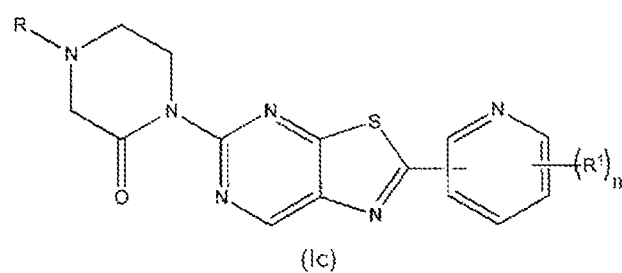
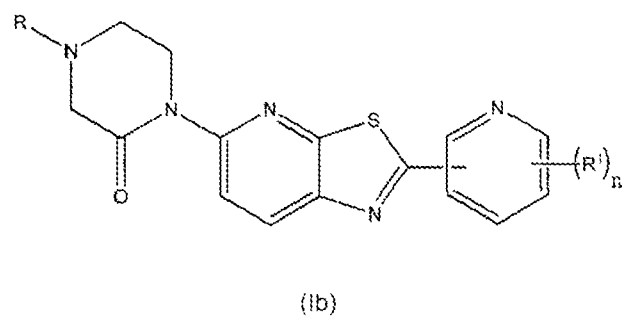
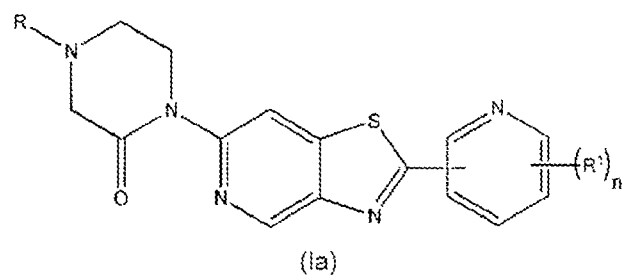


en donde R, X, X¹, R¹ y n son como se definen en el presente documento. En una realización, R¹ se selecciona independientemente del grupo que consiste en flúor,



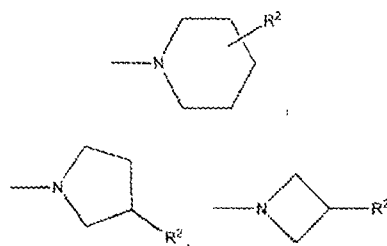
y -NR³R⁴.

Compuestos preferidos son también compuestos de fórmula (Ia), (Ib) o (Ic)

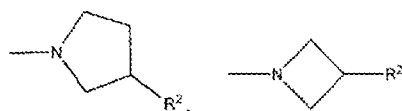


5 **R** se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo. Preferiblemente, **R** es alquilo.

R¹ se selecciona independientemente del grupo que consiste en flúor,

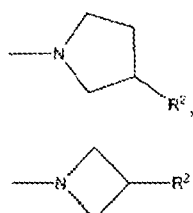


y -NR³R⁴. Preferiblemente, **R¹** se selecciona de flúor,

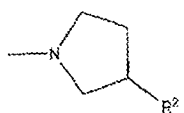


10

y -NR³R⁴, más preferiblemente



y -NR³R⁴, incluso más preferiblemente **R¹** es



R^2 se selecciona del grupo que consiste en flúor e hidrógeno, más preferiblemente R^2 es flúor.

R^3 y R^4 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, fluoro-alquilo, alquil-O-alquilo e hidrógeno. Más preferiblemente, R^3 y R^4 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo o hidrógeno.

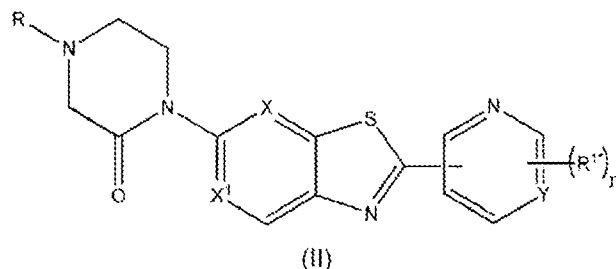
X y X^1 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N y CH, siempre que al menos uno de X y X^1 sea N.

Y se selecciona independientemente del grupo que consiste en N y CH o Y es C si Y está unido a R^1 .

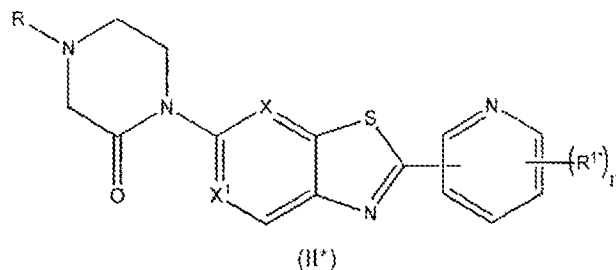
n es 1 o 2, preferiblemente n es 1.

En los compuestos de fórmula (I), preferiblemente al menos uno de R^1 , R^2 , R^3 y R^4 contiene flúor.

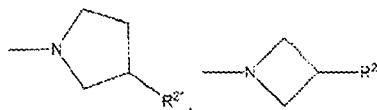
En una realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (II):



En una realización, el compuesto de fórmula (II) es un compuesto de fórmula (II*):

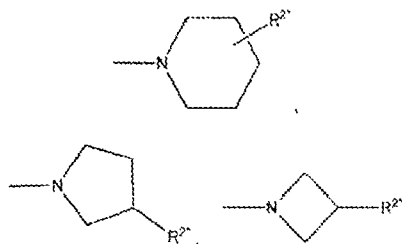


en donde R , X , X^1 , R^1 y n son como se definen en el presente documento. En una realización, R^1 se selecciona independientemente del grupo que consiste en LG,

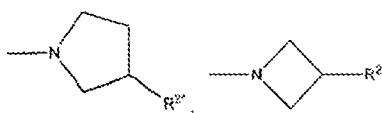


y $-NR^3R^4$.

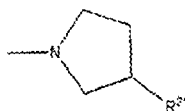
R^1 se selecciona independientemente del grupo que consiste en LG,



y $-NR^3R^4$. Preferiblemente, R^1 se selecciona de LG,



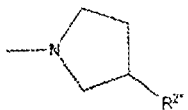
y $-NR^{3*}R^{4*}$, más preferiblemente de



y



incluso más preferiblemente R^{1*} es



R^{2*} se selecciona del grupo que consiste en **LG** e hidrógeno, más preferiblemente R^{2*} es **LG**.

R^{3*} y R^{4*} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, **LG**-alquilo, alquil-O-alquilo, **PG** e hidrógeno.

En los compuestos de fórmula (II), preferiblemente al menos uno de R^{1*} , R^{2*} , R^{3*} y R^{4*} contiene **LG**.

LG es un grupo saliente seleccionado del grupo que consiste en halógeno, trimetilamonio, sulfonato de alquilo C_{1-4} o sulfonato de arilo C_{6-10} . Preferiblemente, **LG** es sulfonato de alquilo C_{1-4} o sulfonato de arilo C_{6-10} . Más preferiblemente, el **LG** es mesilato, triflato, tosilato o nosilato.

PG es un grupo protector de amino seleccionado de carbobenciloxi, p-metoxibencilcarbonilo, terc-butiloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, bencilo, p-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, p-metoxifenilo, trifenilmetilo, metoxifenildifenilmetilo y dimetoxitritilo.

Compuestos preferidos de fórmula (I) son los compuestos facilitados en la sección de ejemplos de la presente memoria descriptiva.

Los compuestos de la presente invención pueden marcarse detectablemente con un marcador detectable seleccionado de radionúclidos, emisores de positrones, emisores gamma, así como marcadores fluorescentes, luminiscentes y cromogénicos. Con respecto a los compuestos marcados detectablemente de la presente invención que incluyen un radioisótopo, un emisor de positrones o un emisor gamma, debe entenderse que el radioisótopo, el emisor de positrones o el emisor gamma debe estar presente en una cantidad que no sea idéntica a la cantidad natural del radioisótopo respectivo, el emisor de positrones o el emisor gamma. Además, la cantidad empleada debe permitir la detección del mismo mediante el método de detección elegido.

Los ejemplos de isótopos adecuados tales como radionúclidos, emisores de positrones y emisores gamma incluyen 2H , 3H , ^{18}F , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O y ^{77}Br , preferiblemente 2H , 3H , ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O y ^{18}F , más preferiblemente 2H , 3H y ^{18}F , incluso más preferiblemente ^{18}F . Más preferiblemente 2H , 3H , ^{13}N y ^{18}F , incluso compuestos marcados con ^{18}F son particularmente adecuados para aplicaciones de obtención de imágenes tales como PET. Los compuestos correspondientes que incluyen flúor que tiene un isótopo natural ^{19}F también son de particular interés ya que pueden usarse como patrones analíticos y referencias durante la fabricación, el control de calidad, la liberación y el uso clínico de sus análogos de ^{18}F .

Pueden prepararse variaciones isotópicas de los compuestos de la invención generalmente mediante procedimientos convencionales tal como mediante los métodos ilustrativos o mediante las preparaciones descritas en los ejemplos y ejemplos preparativos a continuación en el presente documento usando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados, disponibles comercialmente o preparados mediante técnicas de síntesis conocidas.

Los radionúclidos, emisores de positrones y emisores gamma pueden incluirse en los compuestos de la presente invención mediante métodos que son habituales en el campo de la síntesis orgánica. Normalmente, se introducirán usando un material de partida marcado correspondientemente cuando se prepara el compuesto deseado de la presente invención. Se describen métodos ilustrativos para introducir marcadores detectables, por ejemplo, en el documento US 2012/0302755.

La posición en la que el marcador detectable va a unirse a los compuestos de la presente invención no está particularmente limitada.

Los radionúclidos, emisores de positrones y emisores gamma, por ejemplo, pueden unirse en cualquier posición donde también pueda unirse el átomo no emisor correspondiente. Por ejemplo, ^{18}F puede unirse en cualquier posición que sea adecuada para unir F. Lo mismo se aplica a los otros radionúclidos, emisores de positrones y emisores gamma. Si se emplea ^3H como marcador detectable, preferiblemente se une en forma de $-\text{C}(^3\text{H})_3$ en cualquier posición en la que puede unirse un grupo metilo. Alternativamente, ^3H puede unirse *per se* en cualquier posición disponible. Si se emplea ^2H como marcador detectable, preferiblemente se une en forma de $-\text{C}(^2\text{H})_3$ en cualquier posición en la que puede unirse un grupo metilo. Pueden incorporarse ^{11}C , ^{13}N y ^{15}O en los compuestos de la presente invención en cualquier posición en la que aparecen C, N y O.

Además, la sustitución con isótopos tales como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas diagnósticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica reduciendo, por ejemplo, la desfluoración, semivida aumentada *in vivo* o requisitos de dosificación reducidos, manteniendo o mejorando al mismo tiempo la eficacia del compuesto original.

Composiciones diagnósticas

Los compuestos de fórmula (I) son particularmente adecuados para la obtención de imágenes de agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy. Con respecto a la proteína alfa-sinucleína, los compuestos de fórmula (I) son particularmente adecuados para unirse a diversos tipos de agregados de alfa-sinucleína incluyendo, pero sin limitarse a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy.

Debido a su diseño y a las características de unión, los compuestos de fórmula (I) son adecuados para su uso en el diagnóstico de trastornos y anomalías asociados con agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy. Los compuestos de fórmula (I) son particularmente adecuados para la obtención de imágenes por tomografía por emisión de positrones de agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy. Las enfermedades que implican agregados de alfa-sinucleína se enumeran generalmente como sinucleinopatías (o α -sinucleinopatías). Los compuestos de fórmula (I) son adecuados para su uso en el diagnóstico de trastornos que incluyen, pero sin limitación, PD (esporádica, familiar con mutaciones de alfa-sinucleína, familiar con mutaciones distintas de alfa-sinucleína, insuficiencia autónoma pura y disfagia con cuerpos de Lewy), demencia con cuerpos de Lewy (demencia con cuerpos de Lewy "pura"), enfermedad de Alzheimer esporádica, enfermedad de Alzheimer familiar con mutaciones de APP, enfermedad de Alzheimer familiar con PS-1, PS-2 u otras mutaciones, demencia británica familiar, variante con cuerpos de Lewy de la enfermedad de Alzheimer y síndrome de Down. Las sinucleinopatías con agregados neuronales y gliales de alfa sinucleína incluyen atrofia sistémica múltiple (síndrome de Shy-Drager, degeneración estriatonigral y atrofia olivopontocerebelosa). Otras enfermedades que pueden tener lesiones inmunorreactivas con alfa-sinucleína incluyen lesión cerebral traumática, encefalopatía traumática crónica, enfermedad de las neuronas motoras, distrofia neuroaxonal, neurodegeneración con acumulación de hierro cerebral de tipo 1 (síndrome de Halervorden-Spatz), enfermedades priónicas, ataxia telangiectasia, síndrome de Meige, panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Gaucher, así como otros trastornos de almacenamiento lisosómico (incluyendo síndrome de Kufor-Rakeb y síndrome de Sanfilippo) y trastorno del comportamiento del sueño de movimientos oculares rápidos (REM). (Jellinger, *Mov Disord* 2003, 18 Supl. 6, S2-12; Galvin *et al.*, *JAMA Neurology* 2001, 58 (2), 186-190; Kovari *et al.*, *Acta Neuropathol.* 2007, 114(3), 295-8; Saito *et al.*, *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004, 63(4), 323-328; McKee *et al.*, *Brain*, 2013, 136(Pt 1), 43-64; Puschmann *et al.*, *Parkinsonism Relat Disord* 2012, 18S1, S24-S27; Usenovic *et al.*, *J Neurosci.* 2012, 32(12), 4240-4246; Winder-Rhodes *et al.*, *Mov Disord.* 2012, 27(2), 312-315; Ferman *et al.*, *J Int Neuropsychol Soc.* 2002, 8(7), 907-914). Preferiblemente, los compuestos de fórmula (I) son adecuados para su uso en el diagnóstico de la PD.

En los métodos de diagnóstico de un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína, tal como PD, o un estado preclínico del mismo en un sujeto, el método comprende:

- a) administrar al sujeto una cantidad diagnósticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I);
- b) permitir que el compuesto de fórmula (I) se distribuya en la muestra o en un área corporal o parte corporal específica (tal como tejido cerebral, o fluidos corporales tales como líquido cefalorraquídeo (LCR)); y
- c) obtener imágenes de la muestra o un área corporal o parte corporal específica, en donde un aumento en la unión del compuesto de fórmula (I) a la muestra o un área corporal o parte corporal específica en comparación con un nivel de control normal de unión indica que el sujeto padece o está en riesgo de desarrollar un trastorno o una anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína.

Los compuestos de fórmula (I) pueden usarse para la obtención de imágenes de agregados de alfa-sinucleína en cualquier muestra o un área corporal o parte corporal específica (por ejemplo, en el sistema nervioso entérico, intestino, ojos y corazón) de un paciente que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína. Los compuestos de fórmula (I) son capaces de pasar la barrera hematoencefálica. Por consiguiente, son particularmente adecuados para la obtención de imágenes de agregados de alfa-sinucleína en el cerebro, así como en fluidos corporales tales como líquido cefalorraquídeo (LCR).

En aplicaciones diagnósticas, el compuesto de fórmula (I) se administra preferiblemente en una composición diagnóstica que comprende el compuesto de fórmula (I). Una "composición diagnóstica" se define en la presente invención como una composición que comprende uno o más compuestos de fórmula (I), una forma adecuada para la administración a un paciente, por ejemplo, un mamífero tal como un ser humano, y que es adecuada para su uso en el diagnóstico del trastorno o anomalía específico en cuestión. Preferiblemente, una composición diagnóstica comprende además un portador, diluyente, adyuvante o excipiente fisiológicamente aceptable. La administración se lleva a cabo preferiblemente como se define a continuación, más preferiblemente mediante inyección de la composición como una solución acuosa. Tal composición puede contener opcionalmente componentes adicionales tales como tampones; solubilizantes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, ciclodextrinas o tensioactivos tales como Pluronic, Tween o fosfolípidos); y estabilizantes o antioxidantes farmacéuticamente aceptables (tales como ácido ascórbico, ácido gálico o ácido para-aminobenzoico). La dosis del compuesto de fórmula (I) variará dependiendo del compuesto exacto que va a administrarse, el peso del paciente y otras variables como sería evidente para un médico experto en la técnica.

Aunque es posible que los compuestos de fórmula (I) se administren solos, es preferible formularlos en una composición diagnóstica de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional. Por tanto, la invención también proporciona una composición diagnóstica que comprende una cantidad diagnósticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) opcionalmente en combinación con un portador, diluyente, adyuvante y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En la técnica farmacéutica se conocen bien excipientes farmacéuticamente aceptables, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª ed., Mack Publishing Co., Nueva Jersey (1975). El excipiente farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía de administración prevista y la práctica farmacéutica convencional. El excipiente debe ser aceptable en el sentido de no ser perjudicial para el receptor del mismo.

Los excipientes farmacéuticamente útiles que pueden usarse en la formulación de la composición diagnóstica de la presente invención pueden comprender, por ejemplo, portadores, vehículos, diluyentes, disolventes tales como alcoholes monohidroxilados tales como etanol, isopropanol y alcoholes polihidroxilados tales como glicoles y aceites comestibles tales como aceite de soja, aceite de coco, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón, ésteres oleosos tales como oleato de etilo, miristato de isopropilo, aglutinantes, adyuvantes, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes, disgregantes, deslizantes, agentes lubricantes, agentes tamponantes, emulsionantes, agentes humectantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, colorantes, aromatizantes, agentes de recubrimiento, conservantes, antioxidantes, agentes de procesamiento, modificadores y potenciadores de la administración de fármacos tales como fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, dextrosa, hidroxipropil-β-ciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico.

Las vías para la administración (suministro) de los compuestos de fórmula (I) incluyen, pero no se limitan a, una o más de: oral (por ejemplo, como un comprimido, cápsula o como una solución ingerible), tópica, mucosa (por ejemplo, como pulverización nasal o aerosol para inhalación), nasal, parenteral (por ejemplo, mediante una forma inyectable), gastrointestinal, intraespinal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intrauterina, intraocular, intradérmica, intracraneal, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, subcutánea, oftálmica (incluyendo intravítrea o intracameral), transdérmica, rectal, bucal, epidural y sublingual.

Por ejemplo, los compuestos pueden administrarse por vía oral en forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, soluciones o suspensiones, que pueden contener agentes aromatizantes o colorantes, para aplicaciones de liberación inmediata, retardada, modificada, sostenida, pulsada o controlada.

Los comprimidos pueden contener excipientes tales como celulosa microcristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de calcio dibásico y glicina, disgregantes tales como almidón (preferiblemente almidón de maíz, patata o tapioca), glicolato sódico de almidón, croscarmelosa sódica y ciertos silicatos complejos, y aglutinantes de granulación tales como polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), sacarosa, gelatina y goma arábiga. Adicionalmente, pueden incluirse agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina. Los excipientes preferidos a este respecto incluyen lactosa, almidón, una celulosa, azúcar de la leche o polietilenglicoles de alto peso molecular. Para suspensiones acuosas y/o elixires, el agente puede combinarse con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materia colorante o colorantes, con agentes emulsionantes y/o de suspensión y con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol y glicerina, y combinaciones de los mismos.

Preferiblemente, en aplicaciones diagnósticas, los compuestos de fórmula (I) se administran por vía parenteral. Si los compuestos de fórmula (I) se administran por vía parenteral, los ejemplos de tal administración incluyen uno o más de: administrar los compuestos por vía intravenosa (i.v.), intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intraesternal, intracraneal, intramuscular o subcutánea; y/o usando técnicas de infusión. Para la administración parenteral, los compuestos se usan mejor en forma de una solución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo, suficientes sales o glucosa para hacer que la solución sea isotónica con la sangre. Las soluciones acuosas deben tamponarse adecuadamente (preferiblemente a un pH de 3 a 9), si es necesario. La

preparación de formulaciones parenterales adecuadas en condiciones estériles se realiza fácilmente mediante técnicas farmacéuticas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica.

Como se indica, los compuestos de fórmula (I) pueden administrarse por vía intranasal o por inhalación y se suministran convenientemente en forma de un inhalador de polvo seco o una presentación de pulverización en aerosol desde un recipiente presurizado, bomba, pulverizador o nebulizador con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, un hidrofluoroalcano tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA134AT) o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA 227EA), dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. El recipiente presurizado, bomba, pulverizador o nebulizador puede contener una solución o suspensión del compuesto activo, por ejemplo usando una mezcla de etanol y el propelente como disolvente, que puede contener adicionalmente un lubricante, por ejemplo trioleato de sorbitán. Las cápsulas y cartuchos (hechos, por ejemplo, de gelatina), para su uso con un inhalador o insuflador pueden formularse para contener una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Alternativamente, los compuestos de fórmula (I) pueden administrarse en forma de supositorio o pesario, o pueden aplicarse por vía tópica en forma de gel, hidrogel, loción, solución, crema, pomada o polvo fino. Los compuestos de fórmula (I) también pueden administrarse por vía dérmica o transdérmica, por ejemplo, mediante el uso de un parche cutáneo.

También pueden administrarse por vía pulmonar o rectal. También pueden administrarse por vía ocular. Para uso oftálmico, los compuestos pueden formularse como suspensiones micronizadas en solución salina estéril isotónica, con el pH ajustado o, preferiblemente, como soluciones en solución salina estéril isotónica, con el pH ajustado, opcionalmente en combinación con un conservante tal como un cloruro de benzalconio. Alternativamente, pueden formularse en una pomada tal como vaselina.

Para la aplicación tópica a la piel, los compuestos de fórmula (I) pueden formularse como una pomada adecuada que contiene el compuesto activo suspendido o disuelto en, por ejemplo, una mezcla con uno o más de los siguientes: aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, cera emulsionante y agua. Alternativamente, pueden formularse como una loción o crema adecuada, suspendida o disuelta en, por ejemplo, una mezcla de uno o más de los siguientes: aceite mineral, monoestearato de sorbitán, un polietilenglicol, parafina líquida, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

Normalmente, un médico determinará la dosis real que será la más adecuada para un sujeto individual. El nivel de dosis específico y la frecuencia de dosificación para cualquier individuo particular pueden variarse y dependerán de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el modo y el tiempo de administración, la velocidad de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad de la afección particular y el individuo que está sometiéndose a diagnóstico.

Generalmente, la dosis podría estar preferiblemente en el intervalo de 0,001 $\mu\text{g/kg}$ a 10 $\mu\text{g/kg}$, preferiblemente de 0,01 $\mu\text{g/kg}$ a 1,0 $\mu\text{g/kg}$. La dosis dependerá de la vía de administración. Se apreciará que puede ser necesario realizar variaciones rutinarias en la dosificación dependiendo de la edad y el peso del paciente, así como de la gravedad del trastorno o la anomalía. La dosis y la vía de administración precisas estarán finalmente a criterio del médico o veterinario encargado.

Las composiciones diagnósticas de la invención pueden producirse de una manera conocida *per se* por el experto en la técnica tal como se describe, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª ed., Mack Publishing Co., Nueva Jersey (1975).

Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) pueden emplearse en una composición liposomal como se describe en el documento WO2016057812A1 que comprende un compuesto de fórmula (I) como ligando para su uso en la detección selectiva de trastornos y anomalías asociadas con agregados de alfa-sinucleína mediante obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI) no radiactiva.

Los compuestos de fórmula (I) son útiles como referencia analítica *in vitro* o herramienta de cribado *in vitro*. También son útiles en métodos de diagnóstico *in vivo*.

Los compuestos de fórmula (I) también pueden proporcionarse en forma de una mezcla que comprende un compuesto de fórmula (I) y al menos un compuesto seleccionado de un agente de obtención de imágenes diferente del compuesto de fórmula (I), un portador farmacéuticamente aceptable, un diluyente y un excipiente. El agente de obtención de imágenes diferente del compuesto de fórmula (I) está presente preferiblemente en una cantidad eficaz para el diagnóstico. Más preferiblemente, el agente de obtención de imágenes diferente del compuesto de fórmula (I) es un agente de obtención de imágenes de abeta o Tau.

El diagnóstico de un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína o de un estado preclínico para un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína en un paciente puede lograrse mediante la detección de la unión específica de un compuesto de fórmula (I) a los agregados de alfa-sinucleína en una muestra o

anomalía *in situ*, que incluye:

(a) poner en contacto la muestra o un área corporal o parte corporal específica que se sospecha que contiene los agregados de alfa-sinucleína con un compuesto de fórmula (I) que se une a los agregados de alfa-sinucleína,

5 (b) permitir que el compuesto de fórmula (I) se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) (a continuación en el presente documento "complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína)" se abreviará como "complejo de compuesto/agregado proteico"),

(c) detectar la formación del complejo de compuesto/agregado proteico,

(d) correlacionar opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/agregado proteico con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra, área o parte corporal específica, y

10 (e) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico con un valor de control normal, en donde un aumento en la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico en comparación con un valor de control normal puede indicar que el paciente padece o está en riesgo de desarrollar un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína.

15 Se reivindica la realización en la que el compuesto se pone en contacto con una muestra. La realización en la que el compuesto se pone en contacto con un área corporal o parte corporal específica no se reivindica.

20 El compuesto de fórmula (I) puede ponerse en contacto con la muestra o el área corporal o parte corporal específica que se sospecha que contiene los agregados de alfa-sinucleína mediante un método adecuado. En métodos *in vitro*, el compuesto de fórmula (I) y una muestra líquida pueden mezclarse simplemente. En pruebas *in vivo*, el compuesto de fórmula (I) se administra normalmente al paciente por cualquier medio adecuado. Estas vías de administración incluyen, pero no se limitan a, una o más de: oral (por ejemplo, como un comprimido, cápsula o como una solución ingerible), tópica, mucosa (por ejemplo, como una pulverización nasal o aerosol para inhalación), nasal, parenteral (por ejemplo, mediante una forma inyectable), gastrointestinal, intraespinal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intrauterina, intraocular, intradérmica, intracraneal, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, subcutánea, oftálmica (incluyendo intravítrea o intracameral), transdérmica, rectal, bucal, epidural y sublingual. En algunos casos, puede preferirse la administración parenteral.

Después de que la muestra o un área corporal o parte corporal específica se haya puesto en contacto con el compuesto de fórmula (I), se deja que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína. La cantidad de tiempo requerido para la unión dependerá del tipo de prueba (por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*) y puede determinarlo un experto en el campo mediante experimentos rutinarios.

30 El compuesto que se une a los agregados de alfa-sinucleína puede detectarse posteriormente mediante cualquier método apropiado. El método específico elegido dependerá del marcador detectable que se haya elegido. Los ejemplos de posibles métodos incluyen, pero no se limitan a, una técnica de obtención de imágenes por fluorescencia o una técnica de obtención de imágenes nucleares tal como tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI) y obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI) potenciada por contraste. Estas se han descrito y permiten la visualización de biomarcadores amiloides. La técnica de obtención de imágenes por fluorescencia y/o la técnica de obtención de imágenes nucleares pueden emplearse para monitorizar y/o visualizar la distribución del compuesto marcado detectablemente dentro de la muestra o un área corporal o parte corporal específica.

40 La presencia o ausencia del complejo de compuesto/agregado proteico se correlaciona entonces opcionalmente con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra o área o parte corporal específica. Finalmente, la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico puede compararse con un valor de control normal que se ha determinado en una muestra o un área corporal o parte corporal específica de un sujeto sano, en donde un aumento en la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico en comparación con un valor de control normal puede indicar que el paciente padece o está en riesgo de desarrollar un trastorno o anomalía asociado con los agregados de alfa-sinucleína.

La presente invención también se refiere a un método para determinar la cantidad de agregados de alfa-sinucleína en una muestra o un área corporal o parte corporal específica. Este método comprende las etapas de:

(a) proporcionar una muestra o un área corporal o parte corporal específica;

50 (b) someter a prueba la muestra o un área corporal o parte corporal específica para determinar la presencia de agregados de alfa-sinucleína con un compuesto de la presente invención;

(c) determinar la cantidad de compuesto unido a los agregados de alfa-sinucleína; y

(d) calcular la cantidad de agregados de alfa-sinucleína en la muestra o un área corporal o parte corporal específica.

Se reivindica la realización en la que el compuesto se pone en contacto con una muestra. La realización en la que el compuesto se pone en contacto con un área corporal o parte corporal específica no se reivindica. La muestra o un área corporal o parte corporal específica puede someterse a prueba para determinar la presencia de agregados de alfa-sinucleína con un compuesto de fórmula (I) poniendo la muestra o un área corporal o parte corporal específica en contacto con un compuesto de fórmula (I), permitiendo que el compuesto de fórmula (I) se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/agregado proteico y detectando la formación del complejo de compuesto/agregado proteico como se explicó anteriormente.

La monitorización del trastorno residual mínimo en un paciente que padece un trastorno o anomalía asociado con los agregados de alfa-sinucleína que se ha tratado con un medicamento con un compuesto de fórmula (I) puede lograrse:

- (a) poniendo en contacto una muestra o un área corporal o parte corporal específica que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto de fórmula (I);
- (b) permitiendo que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/agregado proteico;
- (c) detectando la formación del complejo de compuesto/agregado proteico;
- (d) correlacionando opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/agregado proteico con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra o área corporal o parte corporal específica; y
- (e) comparando opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico con un valor de control normal, en donde un aumento en la cantidad del agregado en comparación con un valor de control normal puede indicar que el paciente puede padecer todavía una enfermedad residual mínima.

Se reivindica la realización en la que el compuesto se pone en contacto con una muestra. La realización en la que el compuesto se pone en contacto con un área corporal o parte corporal específica no se reivindica. La forma en que pueden llevarse a cabo las etapas (a) a (e) ya se ha explicado anteriormente.

En el método para monitorizar un trastorno residual mínimo, el método puede comprender además las etapas (i) a (vi) antes de la etapa (a):

- (i) poner en contacto una muestra o área corporal o parte corporal específica que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto de fórmula (I), compuesto que se une específicamente a los agregados de alfa-sinucleína;
- (ii) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);
- (iii) detectar la formación del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);
- (iv) correlacionar la presencia o ausencia del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en el área corporal o parte corporal específica de muestra;
- (v) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con un valor de control normal; y
- (vi) tratar al paciente con el medicamento.

Se reivindica la realización en la que el compuesto se pone en contacto con una muestra. La realización en la que el compuesto se pone en contacto con un área corporal o parte corporal específica no se reivindica. Opcionalmente, el método puede comprender además la etapa (A) después de la etapa (d) o la etapa (e):

- (A) comparar la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) determinada en la etapa (iv) con la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) determinada en la etapa (d).

Para monitorizar el trastorno residual mínimo a lo largo del tiempo, las etapas (a) a (c) y opcionalmente las etapas (d) y (e) del método de monitorización del trastorno residual mínimo pueden repetirse una o más veces.

En el método para monitorizar el trastorno residual mínimo, la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico puede compararse opcionalmente en diversos puntos de tiempo durante el tratamiento, por ejemplo, antes y después del inicio del tratamiento o en diversos puntos de tiempo después del inicio del tratamiento. Un cambio, especialmente una disminución, en la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico puede indicar que el trastorno residual está disminuyendo.

Puede lograrse la predicción de la capacidad de respuesta de un paciente que padece un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína y que está tratándose con un medicamento

(a) poniendo en contacto una muestra o un área corporal o parte corporal específica que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto de fórmula (I);

(b) permitiendo que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/agregado proteico;

5 (c) detectando la formación del complejo de compuesto/agregado proteico;

(d) correlacionando opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/agregado proteico con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra o área corporal o parte corporal específica; y

10 (e) comparando opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico con un valor de control normal.

Se reivindica la realización en la que el compuesto se pone en contacto con una muestra. La realización en la que el compuesto se pone en contacto con un área corporal o parte corporal específica no se reivindica. La forma en que pueden llevarse a cabo las etapas (a) a (e) ya se ha explicado anteriormente.

15 En el método para predecir la capacidad de respuesta, el método puede comprender además las etapas (i) a (vi) antes de la etapa (a):

(i) poner en contacto una muestra o área corporal o parte corporal específica que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con el compuesto como un compuesto de fórmula (I), compuesto que se une específicamente a los agregados de alfa-sinucleína;

20 (ii) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(iii) detectar la formación del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(iv) correlacionar la presencia o ausencia del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra o área corporal o parte corporal específica;

25 (v) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/(agregados de alfa-sinucleína) con un valor de control normal; y

(vi) tratar al paciente con el medicamento.

Se reivindica la realización en la que el compuesto se pone en contacto con una muestra. La realización en la que el compuesto se pone en contacto con un área corporal o parte corporal específica no se reivindica. En la presente invención, la etapa de tratamiento del paciente no está cubierta por las reivindicaciones.

30 Opcionalmente, el método puede comprender además la etapa (A) después de la etapa (d) o la etapa (e):

(A) comparar la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) determinada en la etapa (iv) con la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) determinada en la etapa (d).

Para determinar la capacidad de respuesta a lo largo del tiempo, las etapas (a) a (c) y opcionalmente las etapas (d) y (e) del método de predicción de la capacidad de respuesta pueden repetirse una o más veces.

35 En el método para predecir la capacidad de respuesta, la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico puede compararse opcionalmente en diversos puntos de tiempo durante el tratamiento, por ejemplo, antes y después del inicio del tratamiento o en diversos puntos de tiempo después del inicio del tratamiento. Un cambio, especialmente una disminución, en la cantidad del complejo de compuesto/agregado proteico puede indicar que el paciente tiene un alto potencial de responder al tratamiento respectivo.

40 Opcionalmente, la composición diagnóstica puede usarse antes, durante y después de procedimientos quirúrgicos (por ejemplo, estimulación cerebral profunda (DBS)) y estimulación cerebral no invasiva (tal como estimulación magnética transcraneal repetitiva (rTMS)), para visualizar agregados de alfa-sinucleína antes, durante y después de tales procedimientos. Las técnicas quirúrgicas, incluida DBS, mejoran los síntomas avanzados de la PD además de la mejor terapia médica usada actualmente. Durante las últimas 2 décadas, la rTMS se ha examinado estrechamente como un posible tratamiento para la PD (Ying-hui Chou *et al.* JAMA Neurol. 1 de abril de 2015; 72(4): 432-440).

45 En una realización adicional de la invención, la composición diagnóstica puede usarse en un método de recogida de datos para monitorizar el trastorno residual en un paciente que padece un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína que se ha tratado con un procedimiento quirúrgico o procedimiento de estimulación cerebral no invasivo, en donde el método comprende:

50

(a) poner en contacto una muestra o área corporal o parte corporal específica que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto de fórmula (I), compuesto que se une específicamente a los agregados de alfa-sinucleína;

5 (b) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(c) detectar la formación del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(d) correlacionar opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra o área corporal o parte corporal específica; y

10 (e) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con un valor de control normal.

Se reivindica la realización en la que el compuesto se pone en contacto con una muestra. La realización en la que el compuesto se pone en contacto con un área corporal o parte corporal específica no se reivindica. En los métodos descritos anteriormente, los "agregados de alfa-sinucleína" incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy.

En los métodos descritos anteriormente, "una muestra o área corporal o parte corporal específica" es preferiblemente una muestra o una parte corporal específica obtenida de un paciente, por ejemplo, un tejido y/o un fluido corporal. Se entiende que la muestra o área corporal o parte corporal específica debe ser representativa de la muestra o área corporal o parte corporal específica en investigación.

20 También puede incorporarse un compuesto de fórmula (I) en un kit de prueba para detectar agregados de proteína alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy. El kit de prueba comprende normalmente un recipiente que contiene uno o más compuestos de fórmula (I) e instrucciones para usar el compuesto con el propósito de unirse a agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy para formar un complejo de compuesto/agregado proteico y detectar la formación del complejo de compuesto/agregado proteico de manera que la presencia o ausencia del complejo de compuesto/agregado proteico se correlacione con la presencia o ausencia de los agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy.

25 El término "kit de prueba" se refiere en general a cualquier kit de diagnóstico conocido en la técnica. Más específicamente, este último término se refiere a un kit de diagnóstico como se describe en Zrein *et al.*, Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1998, 5, 45-49.

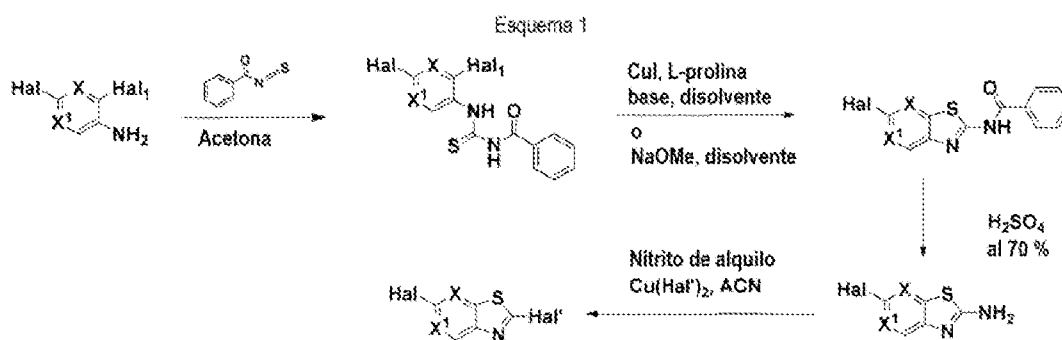
Preparaciones radiofarmacéuticas

Los compuestos de fórmula (II) también pueden emplearse en kits para la preparación de preparaciones radiofarmacéuticas. Debido a la desintegración radiactiva, los productos radiofarmacéuticos habitualmente se preparan inmediatamente antes de su uso. El kit comprende un precursor del compuesto de fórmula (I) y un agente que reacciona con el precursor para introducir un marcador radiactivo en el compuesto de fórmula (I). El precursor del compuesto de fórmula (I) puede ser, por ejemplo, un compuesto que tiene la fórmula (II). El agente puede ser un agente que introduce un marcador radiactivo tal como ^{18}F .

Los compuestos preferidos se ilustran en los ejemplos.

40 Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse mediante uno de los métodos generales mostrados en los siguientes esquemas. Estos métodos se proporcionan únicamente con fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitativos.

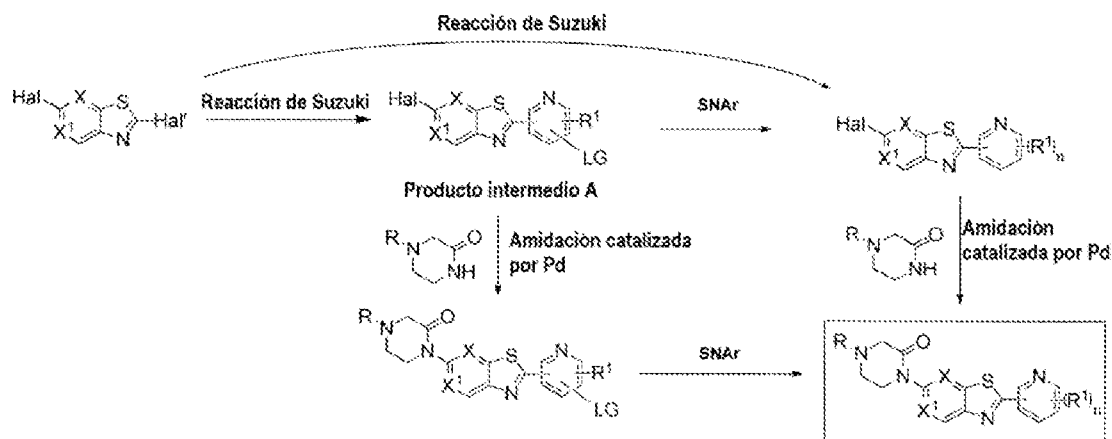
Esquemas de síntesis generales para la preparación de bloques de construcción de esta invención



Se hacen reaccionar aminopiridinas halogenadas disponibles comercialmente con isotiocianato de benzoilo en un disolvente tal como acetona para proporcionar los derivados de benzoiltioureapiridina deseados después de la purificación. Entonces, las tiureas se ciclaron usando un catalizador de cobre. Alternativamente, la ciclación puede procesarse usando metóxido de sodio en un disolvente adecuado. La desprotección de los grupos benzoilo se logró usando condiciones ácidas. Finalmente, los grupos amino se transformaron en halógeno usando condiciones estándar.

Esquema de síntesis general para la preparación de compuestos de esta invención

Esquema 2



Se trataron bloques de construcción bicíclicos (Hal, Hal' = Br, Cl) con ésteres o ácidos piridinborónicos en un disolvente mediante condiciones de acoplamiento cruzado catalizado por paladio (reacción de Suzuki) para proporcionar el derivado deseado después de la purificación. El producto intermedio A puede funcionalizarse adicionalmente usando condiciones de SNAr seguidas de amidación catalizada por paladio o reacción de Ullmann, para introducir el derivado de oxopiperazina, para suministrar compuestos deseados. Alternativamente, la introducción del derivado de oxopiperazina puede realizarse antes de la reacción con SNA.

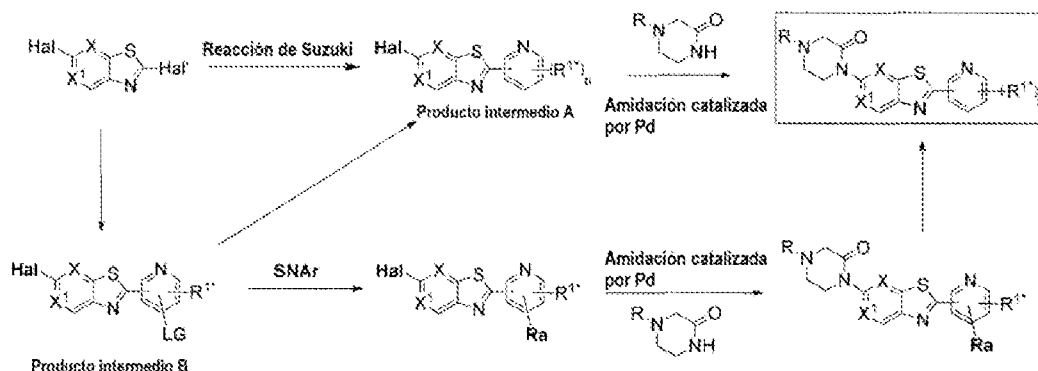
Síntesis general de compuestos marcados con ^{18}F de la presente invención

Pueden prepararse compuestos de fórmula (I) marcados con ^{18}F haciendo reaccionar un compuesto precursor, como se describe a continuación, con un agente ^{18}F -fluorante, de modo que el LG comprendido en el compuesto precursor se sustituye por ^{18}F .

Puede emplearse cualquier agente ^{18}F -fluorante adecuado. Los ejemplos típicos incluyen H^{18}F , ^{18}F -fluoruros alcalinos o alcalinotérreos (por ejemplo, K^{18}F , Rb^{18}F , Cs^{18}F y Na^{18}F). Opcionalmente, el agente de ^{18}F -fluoración puede usarse en combinación con un agente quelante tal como un criptando (por ejemplo: 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]-hexacosano - Kryptofix®) o un éter corona (por ejemplo: 18-corona-6). Alternativamente, el agente de ^{18}F -fluoración puede ser una sal de tetraalquilamonio de ^{18}F o una sal de tetraalquifosfonio de ^{18}F ; por ejemplo, sal de tetra(alquil C_{1-6})amonio de ^{18}F o una sal de tetra(alquil C_{1-6})fosfonio de ^{18}F . Preferiblemente, el agente de ^{18}F -fluoración es K^{18}F , H^{18}F , Cs^{18}F , Na^{18}F o $[\text{F}^{18}]\text{fluoruro}$ de tetrabutilamonio.

Esquema de síntesis general para la preparación de compuestos precursores

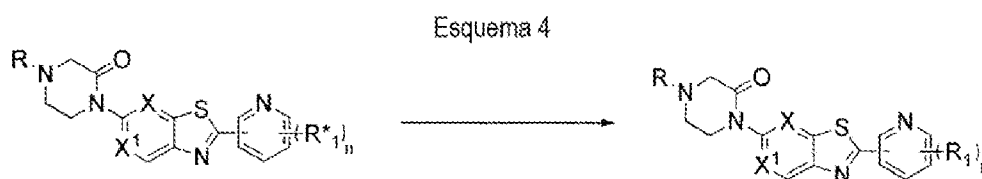
Esquema 3



Ra = alquilamina lineal o amina cíclica que lleva un grupo hidroxilo

Se trataron bloques de construcción bicíclicos (Hal, Hal' = Br, Cl) se trataron con ésteres o ácidos piridinborónicos en un disolvente mediante condiciones de acoplamiento cruzado catalizadas por paladio (reacción de Suzuki) para proporcionar el producto intermedio A deseado después de la purificación. El producto intermedio A puede funcionalizarse adicionalmente usando reacción de amidación mediante condiciones de acoplamiento cruzado catalizadas por paladio o condiciones de Ullmann, para introducir el derivado de oxopiperazina, para proporcionar los compuestos precursores deseados que contienen un grupo saliente (LG) después de la purificación. Puede usarse una ruta alternativa haciendo reaccionar ésteres o ácidos piridinborónicos que llevan un grupo saliente y bloques de construcción bicíclicos (Hal, Hal' = Br, Cl) para proporcionar el producto intermedio B. El producto intermedio B puede funcionalizarse adicionalmente para proporcionar el producto intermedio A. Una tercera ruta consiste en introducir el sustituyente Ra a través de reacción de S_NAr seguido de reacción de amidación usando condiciones de acoplamiento cruzado catalizado por paladio o condiciones de Ullmann, para introducir el derivado de oxopiperazina. Finalmente, el grupo LG se introduce en el grupo Ra para proporcionar los compuestos precursores deseados que contienen un grupo saliente (por ejemplo, el grupo hidroxilo en el sustituyente Ra puede transformarse en un LG sulfonato).

Esquema de síntesis general para la preparación de compuestos marcados con ¹⁸F



Las reacciones tienen lugar en presencia de un agente fluorante y normalmente un disolvente.

Pueden prepararse compuestos marcados con ¹⁸F haciendo reaccionar los compuestos precursores que contienen un LG con un agente ¹⁸F-fluorante, de manera que el LG se sustituye por ¹⁸F. Los reactivos, disolventes y condiciones que pueden usarse para la ¹⁸F-fluoración los conoce bien un experto en el campo (L. Cai, S. Lu, V. Pike, Eur. J. Org. Chem., 2008, 2853-2873; J. Fluorine Chem., 27 (1985):177-191; Coenen, Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions, (2006), en: Schubiger P.A., Friebe M., Lehmann L., (eds), PET-Chemistry - The Driving Force in Molecular Imaging. Springer, Berlín Heidelberg, págs. 15-50). Preferiblemente, los disolventes usados en la ¹⁸F-fluoración son DMF, DMSO, acetonitrilo, DMA, o mezclas de los mismos, preferiblemente el disolvente es acetonitrilo, DMSO.

Aunque la reacción se ha mostrado anteriormente con respecto a ¹⁸F como marcador radiactivo, pueden introducirse otros marcadores radiactivos siguiendo procedimientos similares.

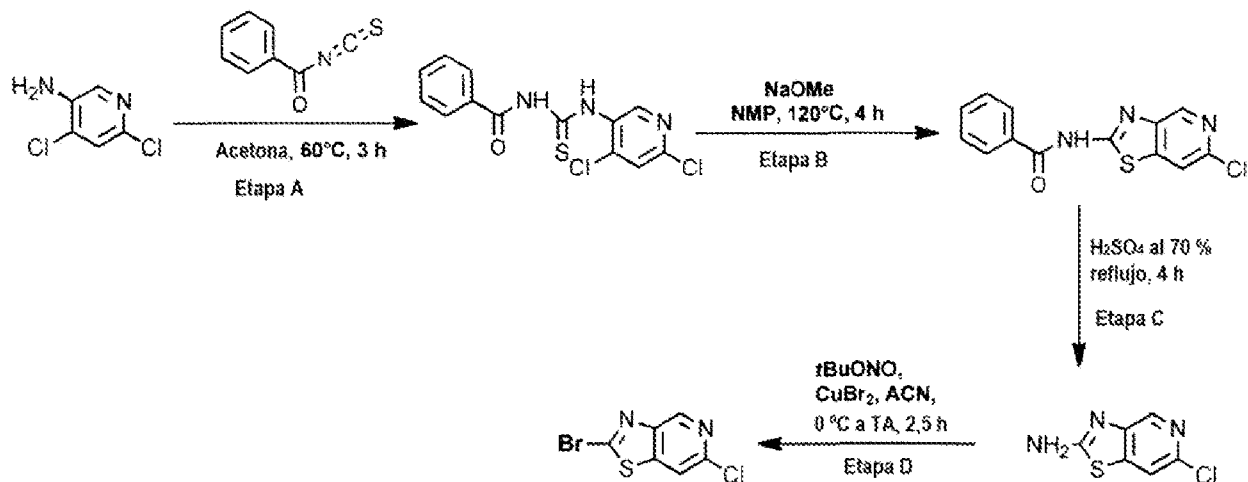
La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos que, sin embargo, no deben interpretarse como limitativos.

Ejemplos

Todos los reactivos y disolventes se obtuvieron de fuentes comerciales y se usaron sin purificación adicional. Se registraron espectros protónicos (espectros de ¹H) en un espectrómetro de RMN Bruker DRX-400 MHz o en un espectrómetro de RMN Bruker AV-400 MHz en disolventes deuterados. Se registraron espectros de masas (MS) en un espectrómetro de masas Advion CMS. Se realizó cromatografía usando gel de sílice (Fluka: gel de sílice 60, 0,063-0,2 mm) y disolventes adecuados como se indica en los ejemplos específicos. Se realizó purificación ultrarrápida con un sistema de purificación ultrarrápida Biotage Isolera One usando cartuchos HP-Sil o KP-NH SNAP (Biotage) y el gradiente de disolvente indicado en los ejemplos específicos. Se llevó a cabo cromatografía en capa fina (TLC) en placas de gel de sílice con detección UV.

Aunque algunos de los presentes ejemplos no indican que los respectivos compuestos se marcaron detectablemente, se entiende que se pretenden compuestos marcados detectablemente correspondientes y que pueden prepararse fácilmente, por ejemplo, usando materiales de partida marcados detectablemente, tales como materiales de partida que contienen C(³H)₃, (¹³C)₃ o ¹⁸F.

Ejemplo preparativo 1



Etapa A:

5 Una solución de 4,6-dicloropiridin-3-amina (5,0 g, 30,67 mmol) e isotiocianato de benzoilo (4,5 ml, 33,74 mmol, 1,1 eq.) en acetona (75 ml, 15 vol.) se agitó a 60 °C durante 3 horas, la reacción se monitorizó por TLC. El disolvente se evaporó y el sólido se filtró, se lavó con n-hexano (100 ml) y se secó para dar el producto deseado como 8,0 g de un sólido blanquecino con un rendimiento del 80 %.

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,38 (s, 1H), 12,00 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 8,01 (d, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,68 (t, 1H), 7,55 (t, 2H).

10 MS (ESI); m/z = 326,2 [M+H]⁺

Etapa B:

15 A una solución de N-((4,6-dicloropiridin-3-il)carbamotioil)benzamida (9,0 g, 27,69 mmol) en N-metil-2-pirrolidona (NMP) (45 ml, 5 vol.) se le añadió metóxido de sodio (NaOMe) (2,99 g, 55,38 mmol, 2,0 eq.), a 0 °C. Después, la mezcla se calentó hasta 120 °C y la agitación continuó durante 4 horas. La reacción se monitorizó por TLC. La mezcla de reacción se vertió en 100 ml de agua fría y se obtuvo un precipitado blanco. El sólido se filtró y se lavó con agua (200 ml) y n-hexano (100 ml). El compuesto se secó al vacío durante 6 h para dar el producto deseado como 7,0 g de un sólido blanco con un rendimiento del 87 %.

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,87 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,14 (d, 2H), 7,69 (t, 1H), 7,59 (t, 2H).

MS (ESI); m/z = 289,7 [M+H]⁺

Etapa C:

25 Una suspensión de N-(6-clorotiazolo[4,5-c]piridin-2-il)benzamida (5,0 g, 17,30 mmol) en H₂SO₄ al 70 % (15,0 ml, 3,0 vol.) se calentó a 110 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se vertió lentamente en 200 ml de agua fría (0 °C). Después, la mezcla de reacción se ajustó a pH básico mediante la adición de NaOH acuoso al 50 % sólido. Después, el compuesto se extrajo con EtOAc (6 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se filtraron, después el disolvente se retiró para dar el producto deseado en forma de 1,8 g de un sólido de color amarillo claro con un rendimiento del 56 %.

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,88 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 5,82 (s a, 2H).

MS (ESI); m/z = 186,4 [M+H]⁺

Etapa D:

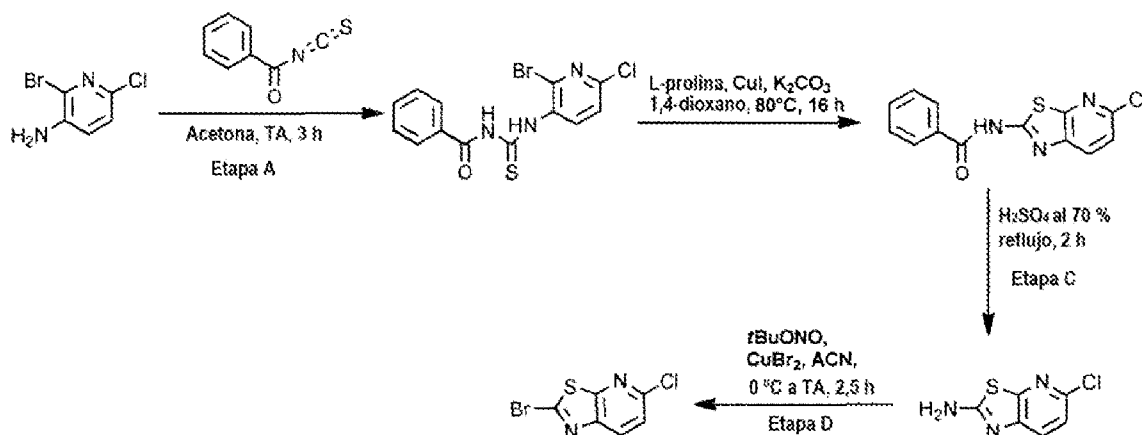
30 A una suspensión de 6-clorotiazolo[4,5-c]piridin-2-amina (2,5 g, 13,51 mmol) en acetonitrilo (33,0 ml, 13,0 vol.) a 0 °C se le añadió nitrito de terc-butilo (2,4 ml, 20,27 mmol, 1,5 eq.) durante un periodo de 10 min con una jeringa. Después, se añadió bromuro de cobre (II) (4,5 g, 20,27 mmol, 1,5 eq.) en porciones. Después de 30 minutos a 0 °C, la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante 2,5 horas. El progreso de la reacción se monitorizó por TLC. Después de la finalización de la reacción, el disolvente se evaporó y la mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y metanol al 5 %/diclorometano (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (60-120), se eluyó con metanol al 1 %/diclorometano para

proporcionar el compuesto del título en forma de 2,0 g de un sólido blanco con un rendimiento del 60 %.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,09 (s, 1H), 8,34 (s, 1H).

MS (ESI); $m/z = 249,3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

Ejemplo preparativo 2



Etapa A:

Una solución de 2-bromo-6-cloropiridin-3-amina (30,0 g, 144,46 mmol) e isotiocianato de benzoilo (23,4 ml, 173,52 mmol, 1,2 eq.) en acetona (600 ml, 20 vol.) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, la reacción se monitorizó por TLC. El disolvente se evaporó y el sólido se filtró y se lavó con n-hexano (500 ml) y se secó para dar el producto deseado como 37,0 g de un sólido blanquecino con un rendimiento del 69 %.

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 9,18 (s a, 1H), 8,84 (d, 1H), 7,93 (d, 2H), 7,69 (t, 1H), 7,59-7,56 (m, 2H), 7,37 (d, 1H).

MS (ESI); $m/z = 369,8$ $[\text{M}-\text{H}]^+$

Etapa B:

A una solución de *N*-((2-bromo-6-cloropiridin-3-il)carbamotioil)benzamida (36,0 g, 97,20 mmol) en 1,4-dioxano (540 ml, 15 vol.) se le añadió carbonato de potasio (20,1 g, 145,81 mmol, 1,5 eq.), L-prolina (2,20 g, 19,45 mmol, 0,2 eq.) y yoduro de cobre (I) (3,70 g, 19,45 mmol, 0,2 eq.). Después, la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 16 horas, la reacción se monitorizó por TLC. La mezcla de reacción se vertió en 1,0 l de agua y 1,0 l de solución acuosa saturada de NH_4Cl . La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El sólido se filtró, se lavó con solución acuosa saturada de NH_4Cl (2 x 500 ml), agua (2 x 500 ml) y se secó para dar el producto deseado como 25,2 g de un sólido blanquecino con un rendimiento del 89 %.

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 10,15 (s a, 1H), 7,99 (d, 2H), 7,74 (d, 1H), 7,66 (t, 1H), 7,55 (t, 2H), 7,34 (d, 1H).

Etapa C:

Una suspensión de *N*-(5-clorotiazolo[5,4-b]piridin-2-il)benzamida (5,0 g, 17,30 mmol) en H_2SO_4 al 70 % (15,0 ml, 3,0 vol.) se calentó a 120 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y la mezcla de reacción se vertió lentamente en 300 ml de agua fría (0 °C). Después, la mezcla de reacción se ajustó a pH básico mediante la adición de NaOH acuoso al 50 % sólido. Después, el compuesto se extrajo con EtOAc (6 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se filtraron, después el disolvente se retiró para dar el producto deseado en forma de 1,5 g de un sólido de color amarillo claro con un rendimiento del 46 %.

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ 7,92 (s a, 2H), 7,66 (d, 1H), 7,31 (d, 1H).

Etapa D:

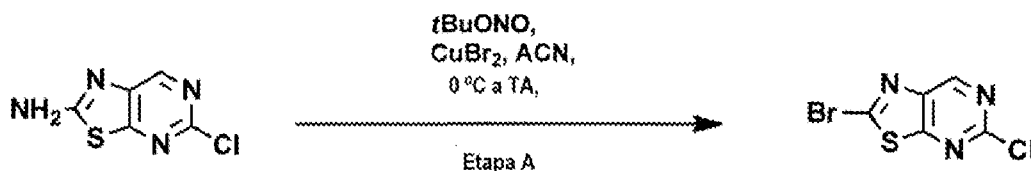
A una suspensión de 5-clorotiazolo[5,4-b]piridin-2-amina (10,0 g, 54,05 mmol) en acetonitrilo (125 ml, 12,5 vol.) a 0 °C se le añadió nitrito de terc-butilo (9,6 ml, 81,08 mmol, 1,5 eq.) durante un periodo de 10 min con una jeringa. Después, se añadió bromuro de cobre (II) (14,4 g, 64,81 mmol, 1,2 eq.) en porciones. Después de 30 minutos a 0 °C, la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante 2,5 horas. El progreso de la reacción se monitorizó por TLC. Después de la finalización de la reacción, el disolvente se evaporó y la mezcla de reacción se diluyó con agua (300 ml) y metanol al 5%/diclorometano (3 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (300 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (60-120), se eluyó con metanol al 1%/diclorometano para

proporcionar el compuesto del título en forma de 10,0 g de un sólido blanquecino con un rendimiento del 74%.

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8,48 (d, 1H), 7,72 (d, 1H).

MS (ESI); m/z = 249,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Ejemplo preparativo 3

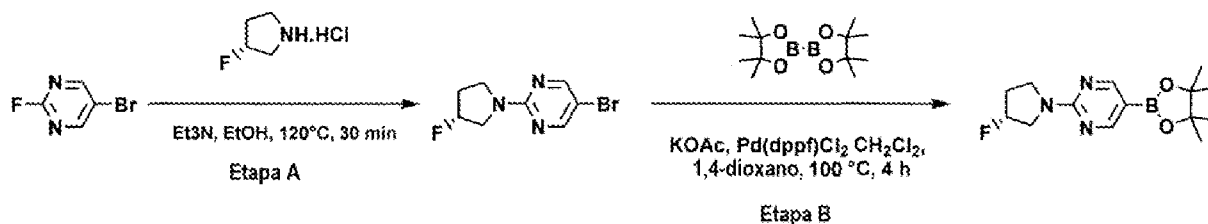


Etapa A:

A una suspensión de 5-clorotiazolo[5,4-d]pirimidin-2-amina preparada según el documento WO2010008847 (1 g, 5,36 mmol) en acetonitrilo (20 ml) a 0 °C se le añadió nitrito de terc-butilo (0,829 g, 8,04 mmol) durante 30 min. Después, se añadió bromuro de cobre (II) (1,436 g, 6,43 mmol) en porciones. Después de 30 minutos a 0 °C, la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas. Se añadieron agua (50 ml) y EtOAc (100 ml) y las fases se separaron. La capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó en cartuchos HP-Sil SNAP usando un sistema de purificación Biotage Isolera One empleando EtOAc/n-heptano (20/80) para proporcionar el compuesto del título (660 mg, 40 %).

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9,41 (s, 1H).

Ejemplo preparativo 3A



Etapa A:

Una solución de 2-fluoro-5-bromo-pirimidina (0,500 g, 2,8248 mmol, 1,0 eq.), clorhidrato de (R)-3-fluoropirrolidina (390 mg, 3,1073 mmol) y trietilamina (1,2 ml, 8,4745 mmol) en etanol (5 ml) se calentó a 120 °C durante 30 min con irradiación de microondas. Después, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró, se lavó con etanol frío y pentano, se secó a presión reducida para dar el producto deseado (0,370 g, 53 %).

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8,4 (s, 2H), 5,49-5,37 (m, 1H), 3,80-3,57 (m, 3H), 3,04 (c, 1H), 2,10-2,30 (m, 2H).

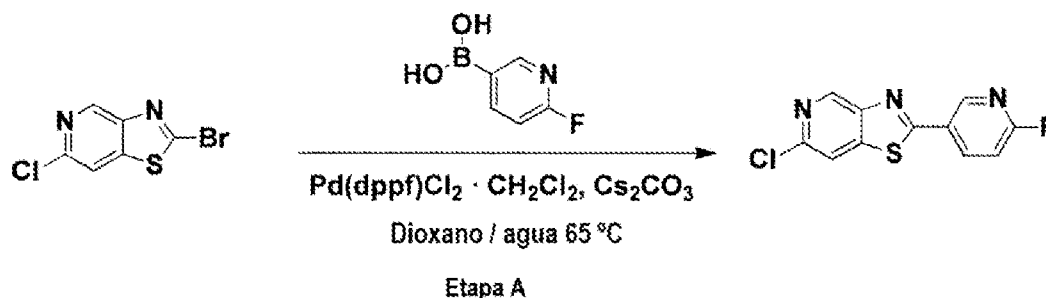
MS (ESI); m/z = 245,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Etapa B:

Se cargó un matraz con el compuesto de bromo de la etapa A (370 mg, 1,5040 mmol), KOAc (295 mg, 3,0081 mmol) y bis(pinacolato)diborano (764 mg, 3,0081 mmol) y 1,4-dioxano (18 ml) y se desgasificó con nitrógeno durante 10 minutos. Después, se añadió catalizador de $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2\cdot\text{DCM}$ (123 mg, 0,1504 mmol) a la reacción anterior a temperatura ambiente. Después de agitar a 100 °C durante 4 horas, la masa de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió agua y la capa acuosa se extrajo con DCM (3 X 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se evaporaron a presión reducida y el sólido obtenido se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional (600 mg).

MS (ESI); m/z = 294,20 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Ejemplo preparativo 4



Etapa A:

- Se desgasificaron 1,4-dioxano (135 ml) y agua (45 ml) durante 10 min. A continuación, se añadieron el ejemplo preparativo 1 (3,0 g, 0,01202 mol), ácido 6-fluoropiridin-3-borónico (1,86 g, 0,01320 mol), carbonato de cesio (7,8 g, 0,02404 mol) y complejo de Pd(dppf)Cl₂·diclorometano (980 mg, 0,001202 mol) y la mezcla de reacción se calentó a 65 °C durante 12 h. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo dos veces más con metanol al 5 % en diclorometano [2 x 200 ml]. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (100-200), eluyendo con acetato de etilo al 5 % en diclorometano para dar el producto deseado en forma de un sólido blanquecino (2,0 g, 62 %).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 9,0 (s, 1H), 8,70 (t, 1H), 8,56 (d, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,47 (d, 1H), 7,68 (t, 1H), 7,55 (t, 2H).

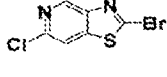
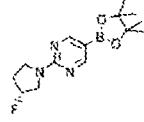
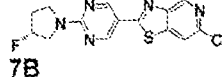
MS (ESI); m/z = 266,02 [M+H]⁺

Ejemplos preparativos 5 a 7B

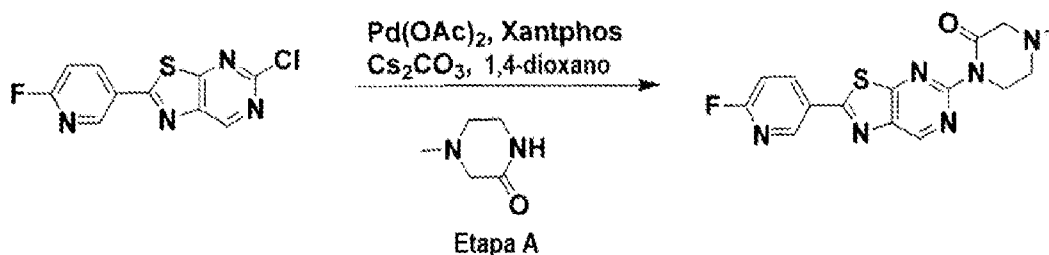
- 15 Siguiendo el procedimiento de acoplamiento de Pd como se describe en el ejemplo preparativo 4, usando el material de partida dihalogenado y el éster o ácido borónico apropiado indicado en la tabla a continuación, se prepararon los siguientes compuestos.

Tabla 1:

Material de partida halogenado	Éster/ácido borónico	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 5	1. 1.44 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,23 (s, 1H), 9,06-8,97 (m, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,48 (dd, 1H) 3. NA
		 6	1. 11 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,51 (s, 1H), 9,05 (d, 1H), 8,74 (ddd, 1H), 7,50 (dd, 1H) 3. ESI-QTOF-MS: 266,9908
		 7	1. 49% 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,00 (d, 1H), 8,71-8,68 (m, 1H), 8,56 (d, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,46 (dd, 1H) 3. NA
		 7A	1. 53 % 2. ¹ H-RMN (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,35 (d, 1H), 8,91-8,87 (m, 1H), 8,83-8,77 (m, 1H), 8,25 (d, 1H). 3. 282,03 (MH ⁺)

Material de partida halogenado	Éster/ácido borónico	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ^1H -RMN 3. $\text{MH}^+(\text{ESI})$
		 7B	1. 50% 2. NA 3. 335,79

Ejemplo preparativo 8



Etapa A:

- 5 Se añadieron acetato de paladio (II) (0,020 g, 0,090 mmol), 4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno (0,078 g, 0,135 mmol), 4-metilpiperazin-2-ona (0,061 g, 0,540 mmol), carbonato de cesio (0,440 g, 1,350 mmol) y el compuesto del título del ejemplo preparativo 6 (0,120 g, 0,450 mmol) a un vial de reacción seguido de 1,4-dioxano desgasificado (5 ml). El vial se llenó con gas argón y se selló y calentó a 120 °C durante 45 minutos. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el residuo se recogió con diclorometano (40 ml) y agua (50 ml), las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano (50 ml). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 y el producto bruto se purificó en una columna HP-Sil (biotage) empleando un gradiente de diclorometano/metanol (100/0 $\rightarrow$ 90/10) para proporcionar el compuesto del título (83 mg, 54 %).
- 10

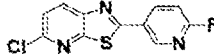
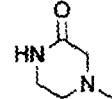
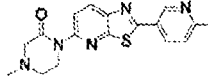
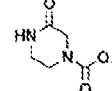
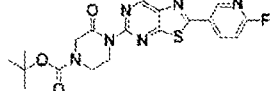
MS (ESI); $m/z = 345,12 [\text{M}+\text{H}]^+$

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 9,53 (s, 1H), 9,04 (d, 1H), 8,73 (ddd, 1H), 7,49 (dd, 1H), 3,98-3,83 (m, 2H), 3,22 (s, 2H), 2,87-2,66 (m, 2H), 2,33 (s, 3H).

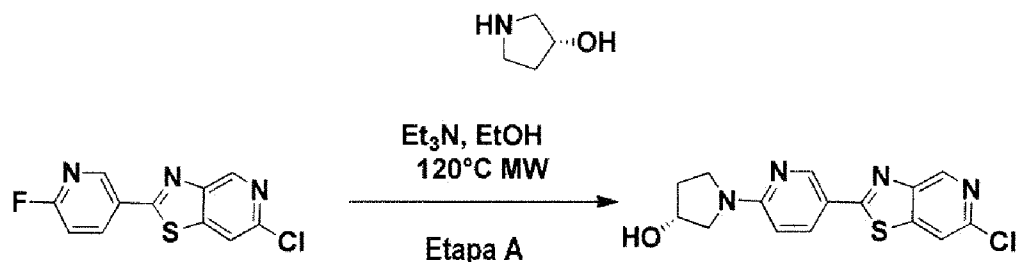
15 Ejemplos preparativos 9 y 9A

Siguiendo el procedimiento de acoplamiento de Pd como se describe en el ejemplo preparativo 8, excepto que se usaron el material de partida dihalogenado y la amida apropiada indicada en la tabla a continuación, se prepararon los siguientes compuestos.

Tabla 2:

Material de partida halogenado	Amida	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ^1H -RMN 3. $\text{MH}^+(\text{ESI})$
		 9	1. 76 % 2. NA 3. 344,47
		 9A	1. 66% 2. ^1H -RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,32 (s, 1H), 8,98 -8,87 (m, 1H), 8,51 (ddd, 1H), 7,14 (dd, 1H), 4,36 (s, 2H), 4,23 -4,09 (m, 2H), 3,89 -3,75 (m, 2H), 1,50 (s, 9H). 3. 431,10

Ejemplo preparativo 10



Etapa A:

A un tubo de microondas se le añadieron el compuesto del título del ejemplo preparativo 4 (0,3 g, 1,129 mmol), (R)-pirrolidin-3-ol (0,295 g, 3,39 mmol), etanol (20 ml), seguido de trietilamina (0,315 ml, 2,258 mmol). El tubo se selló y se calentó a 120 °C durante 30 minutos usando un microondas Biotage Initiator. La mezcla de reacción se vertió en NaOH acuoso 1 N y la suspensión se extrajo varias veces con diclorometano/metanol. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El sólido se trituró después en metanol y se filtró para proporcionar el compuesto del título (0,250 g, 67 %).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,98 (s, 1H), 8,88-8,74 (m, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,22-8,06 (m, 1H), 6,71-6,56 (m, 1H), 5,04 (s, 1H), 4,43 (s, 1H), 3,71-3,51 (m, 4H), 2,16-1,83 (m, 2H).

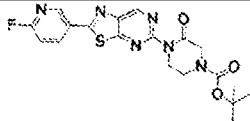
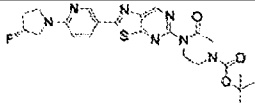
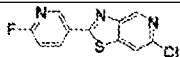
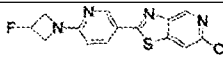
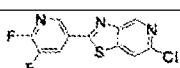
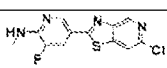
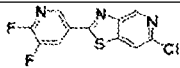
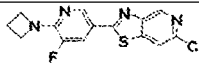
MS (ESI); m/z = 333,16 [M+H]⁺

Ejemplos preparativos 11 a 14E

Seguendo el procedimiento descrito en el ejemplo preparativo 10, excepto que se usaron los fluoroderivados y aminas indicados en la tabla a continuación, se prepararon los siguientes compuestos.

Tabla 3:

Derivado fluorado	Amina	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 11	1. 62 % 2. NA 3. 335,11
		 12	1. 73% 2. NA 3. 335,13
		 13	1.85% 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 8,99 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,14 (d, 1H), 6,63 (d, 1H), 5,05 (s, 1H), 4,44 (s, 1H), 3,69-3,39 (m, 4H), 2,16 -1,86 (m, 2H). 3. 333,12
		 14	1. 35% 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,02 (s, 1H), 8,48-8,21 (m, 2H), 7,98 (s, 1H), 6,58 (dd, 1H), 2,86 (d, 3H) 3. 295,41
		 14A	1. 93 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,15 (s, 1H), 8,80 (d, 1H), 8,15-8,04 (m, 1H), 6,54-6,42 (m, 1H), 4,68 (s, 1H), 4,13-4,00 (m, 2H), 3,80-3,54 (m, 4H), 3,38 (s, 2H), 2,86 (t, 2H), 2,43 (s, 3H), 2,30-2,06 (m, 2H) 3. 412,13

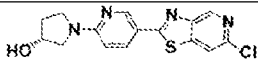
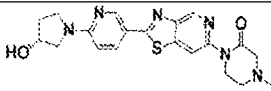
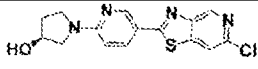
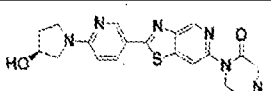
Derivado fluorado	Amina	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 14B	1. 83% 2. ¹ H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,17 (s, 1H), 8,84 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,14 (dd, J = 8,9, 2,5 Hz, 1H), 6,50 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 5,42 (dt, J = 52,5, 3,6 Hz, 1H), 4,35 (s, 2H), 4,16 -4,06 (m, 2H), 4,04 -3,89 (m, 1H), 3,89 -3,75 (m, 3H), 3,75 -3,62 (m, 2H), 2,58 -2,39 (m, 1H), 2,33 -2,06 (m, 1H), 1,50 (s, 9H). 3. 500,23
		 14C	1. 66% 2. ¹ H-RMN (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,03 (d, 1H), 8,83 (dd, 1H), 8,35 (d, 1H), 8,20 (dd, 1H), 6,61 (d, 1H), 5,56 (dt, 1H), 4,43 (dddd, 2H), 4,17 (dddd, 2H). 3. 321,08
		 14D	1. 65% 2. ¹ H-RMN (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,14 (d, 1H), 8,68 (dd, 1H), 8,02 (d, 1H), 7,96 (dd, 1H), 7,74-7,66 (m, 1H), 2,95 (d, 3H). 3. 293,03 (MH ⁺)
		 14E	1. 49 % 2. ¹ H-RMN (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 8,99 (d, 1H), 8,60 (t, 1H), 8,33 (d, 1H), 8,02-7,95 (m, 1H), 4,30-4,17 (m, 4H), 2,37 (p, 2H). 3. 320,08

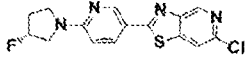
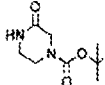
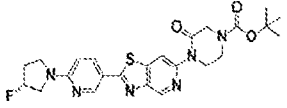
Ejemplos preparativos 15 a 17

Si siguiendo el procedimiento de acoplamiento de Pd como se describe en el ejemplo preparativo 8, excepto que se usaron el material de partida dihalogenado y la amida apropiada indicada en la tabla a continuación, se prepararon los siguientes compuestos.

5

Tabla 4:

Material de partida halogenado	Amida	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 15	1. 41 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,04 (s, 1H), 8,82-8,75 (m, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,12 (dd, 1H), 6,62 (d, 1H), 5,06 (s, 1H), 4,42 (s, 1H), 3,99-3,89 (m, 2H), 3,70-3,49 (m, 4H), 3,21 (s, 2H), 2,81-2,73 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,12-1,88 (m, 2H). 3. 411,17
		 16	1. 68% 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,04 (s, 1H), 8,88-8,70 (m, 1H), 8,56-8,41 (m, 1H), 8,19-7,99 (m, 1H), 6,62 (d, 1H), 5,04 (s, 1H), 4,42 (s, 1H), 4,00-3,79 (m, 2H), 3,72-3,40 (m, 4H), 3,21 (s, 2H), 2,81-2,71 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,11-1,84 (m, 2H). 3. 411,19

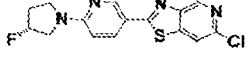
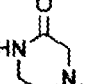
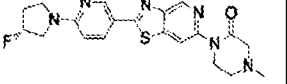
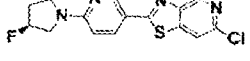
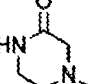
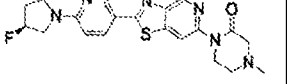
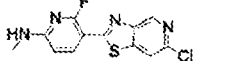
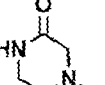
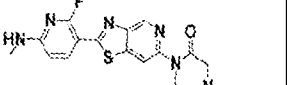
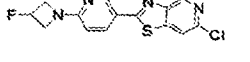
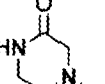
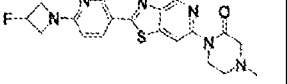
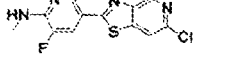
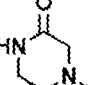
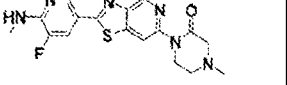
Material de partida halogenado	Amida	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 17	1. 42% 2. ¹ H-RMN (500 MHz, cloroformo-d) δ 9,03 (s, 1H), 8,82 (d, 1H), 8,49 (s a, 1H), 8,16 (dd, 1H), 6,49 (d, 1H), 5,48-5,36 (m, 1H), 4,32 (s, 1H), 4,22-4,20 (m, 2H), 4,02-3,90 (m, 1H), 3,80-3,67 (m, 5H), 2,50-2,42 (m, 1H), 2,25-2,15 (m, 1H), 1,51 (s, 9H). 3. 499,2

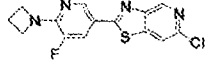
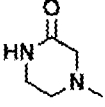
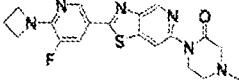
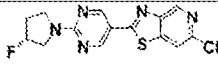
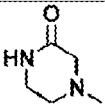
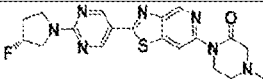
Ejemplos 1 a 3D

Siguiendo el procedimiento de acoplamiento de Pd como se describe en el ejemplo preparativo 8, usando el material de partida halogenado y la amida apropiada indicada en la tabla a continuación, se prepararon los siguientes compuestos.

5

Tabla 5:

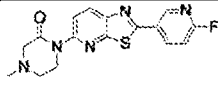
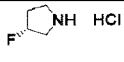
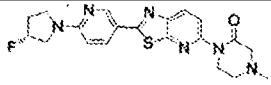
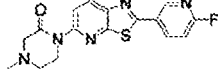
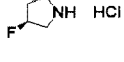
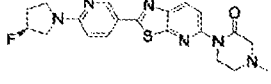
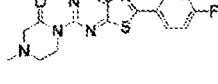
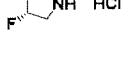
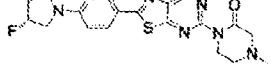
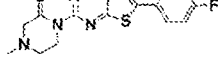
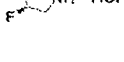
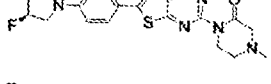
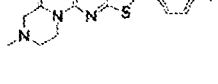
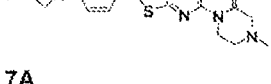
Material de partida halogenado	Amida	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 1	1. 85 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,06 (d, 1H), 8,82 (d, 1H), 8,54 -8,45 (m, 1H), 8,17 (dd, 1H), 6,76-6,64 (m, 1H), 5,49 (d, 1H), 4,00-3,91 (m, 2H), 3,91-3,60 (m, 3H), 3,53 (td, 1H), 3,21 (s, 2H), 2,83-2,72 (m, 2H), 2,38-2,10 (m, 5H). 3. 413,09
		 2	1. 20 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,04 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,82 (dd, J = 2,4, 0,7 Hz, 1H), 8,49 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 8,16 (dd, J = 8,9, 2,5 Hz, 1H), 6,57-6,44 (m, 1H), 5,56-5,32 (m, 1H), 4,20-4,06 (m, 2H), 3,96 (dd, J = 25,0, 13,2 Hz, 1H), 3,85 - 3,60 (m, 3H), 3,35 (s, 2H), 2,93 - 2,71 (m, 2H), 2,42 (s, 4H), 2,33 - 2,01 (m, 1H). 3. 413,22
		 3	1. 15 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,07 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 6,67-6,49 (m, 1H), 4,02-3,87 (m, 2H), 3,21 (s, 2H), 2,85 (d, 3H), 2,80-2,73 (m, 2H), 2,30 (s, 3H). 3. 373,42
		 3A	1. 64 % 2. ¹ H-RMN (500 MHz, cloroformo-d) δ 9,05 (s, 1H), 8,81 (d, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,28-8,09 (m, 1H), 6,39 (d, 1H), 5,49 (dtt, 1H), 4,54-4,35 (m, 2H), 4,26 (ddd, 2H), 4,19-4,07 (m, 2H), 3,35 (s, 2H), 2,91-2,78 (m, 2H), 2,42 (s, 3H). 3. 399,10
		 3B	1. 55 % 2. ¹ H-RMN (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,07 (d, 1H), 8,60 (dd, 1H), 8,51 (d, 1H), 7,96 (dd, 1H), 7,58-7,51 (m, 1H), 3,97-3,91 (m, 2H), 3,21 (s, 2H), 2,95 (d, 3H), 2,79-2,75 (m, 2H), 2,30 (s, 3H). 3. 373,0

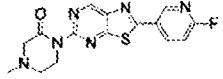
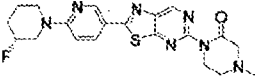
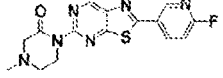
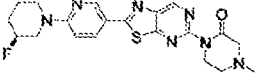
Material de partida halogenado	Amida	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 3C	1. 48 % 2. ¹ H-RMN (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,09 (d, 1H), 8,64-8,60 (m, 1H), 8,53 (d, 1H), 8,01 (dd, 1H), 4,31-4,21 (m, 4H), 3,99-3,91 (m, 2H), 3,23 (s, 2H), 2,78 (t, 2H), 2,44-2,37 (m, 2H), 2,31 (s, 3H). 3. 399,10
		 3D	1. 33 % 2. ¹ H-RMN (500 MHz, DMSO-d ₆) δ 9,12 (d, 1H), 9,05 (d, 2H), 8,58-8,54 (m, 1H), 5,57-5,39 (m, 1H), 3,93 (dtd, 4H), 3,78 (ddd, 1H), 3,61 (td, 1H), 3,22 (s, 2H), 2,82-2,74 (m, 2H), 2,31 (s, 5H). 3. 414,22

Ejemplos 4 a 7C

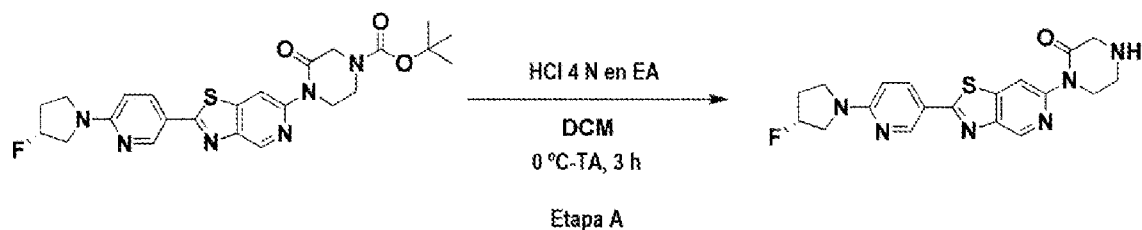
Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo preparativo 10, excepto que se usaron los fluoroderivados y aminas indicados en la tabla a continuación, se prepararon los siguientes compuestos.

Tabla 6:

Derivado fluorado	Amina	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 4	1. 55 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 8,80 (s, 1H), 8,31 (d, 1H), 8,15 (d, 1H), 7,98 (d, 1H), 6,75-6,62 (m, 1H), 5,49 (d, 1H), 3,94 (t, 2H), 3,90-3,60 (m, 3H), 3,58-3,46 (m, 1H), 3,22 (s, 2H), 2,77 (t, 2H), 2,37-2,10 (m, 5H). 3. 413,51
		 5	1. 70 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 8,80 (d, 1H), 8,31 (d, 1H), 8,15 (dd, 1H), 7,98 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 5,49 (d, 1H), 3,94 (t, 2H), 3,91-3,61 (m, 3H), 3,52 (q, 1H), 3,22 (s, 2H), 2,77 (t, 2H), 2,41-2,11 (m, 5H). 3. 413,53
		 6	1. 40 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,17 (s, 1H), 8,83 (d, 1H), 8,14 (dd, 1H), 6,49 (d, 1H), 5,42 (dt, 1H), 4,15-3,90 (m, 3H), 3,86-3,59 (m, 3H), 3,37 (s, 2H), 2,92-2,76 (m, 2H), 2,42 (s, 4H), 2,35-2,07 (m, 1H). 3. 414,0
		 7	1. 33 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,16 (s, 1H), 8,83 (d, 2H), 8,14 (dd, 1H), 6,49 (d, 1H), 5,57-5,32 (m, 1H), 4,15-3,87 (m, 3H), 3,87-3,59 (m, 3H), 3,36 (s, 2H), 2,84 (t, 2H), 2,41 (s, 4H), 2,38-2,01 (m, 1H). 3. 414,0
		 7A	1. 25 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,18 (s, 1H), 8,91-8,74 (m, 1H), 8,14 (dd, 1H), 6,39 (d, 1H), 5,49 (dtt, 1H), 4,45 (dq, 2H), 4,28 (dd, 2H), 4,19-4,07 (m, 2H), 3,47 (s, 2H), 2,96 (s, 2H), 2,50 (s, 3H). 3. 400,52

Derivado fluorado	Amina	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
		 7B	1. 39 % 2. ¹ H-RMN (500 MHz, cloroformo-d) δ 9,07 (s, 1H), 8,72 (d, 1H), 8,05 (dd, 1H), 6,75-6,68 (m, 1H), 4,90-4,57 (m, 1H), 4,07-3,95 (m, 3H), 3,81 (ddd, 1H), 3,72 (ddd, 1H), 3,32 (s, 2H), 3,29 (s, 1H), 2,88-2,76 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,02-1,79 (m, 3H), 1,65-1,52 (m, 1H). 3. 428,16
		 7C	1. 24 % 2. ¹ H-RMN (500 MHz, DMSO-d6) δ 9,32 (s, 1H), 8,83 (d, 1H), 8,16 (dd, 1H), 7,06 (d, 1H), 4,98-4,68 (m, 1H), 4,19 (ddd, 1H), 4,08-3,97 (m, 1H), 3,93-3,85 (m, 2H), 3,73 (ddd, 1H), 3,44 (t, 1H), 3,19 (s, 2H), 2,82-2,73 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,01-1,84 (m, 2H), 1,83-1,69 (m, 1H), 1,65-1,51 (m, 1H). 3. 428,26

Ejemplo 8



Etapa A:

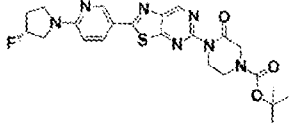
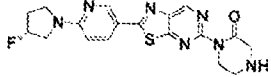
- 5 Una solución del ejemplo preparativo 17 (95 mg, 0,190 mmol) en diclorometano (1,9 ml) se enfrió hasta 0 °C y se añadió lentamente HCl 4 N en EtOAc (1 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto en bruto se disolvió en metanol al 10 % en diclorometano, se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El material resultante se purificó mediante lavados con disolvente usando pentano (10 ml) para proporcionar el producto del título en forma de un sólido de color amarillo (54 mg, 70 %).
- 10 ¹H-RMN (500 MHz, cloroformo-d) δ 9,04 (d, 1H), 8,88-8,80 (m, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,16 (dd, 1H), 6,49 (d, 1H), 5,51-5,33 (m, 1H), 4,14-4,05 (m, 2H), 4,04-3,88 (m, 1H), 3,85-3,61 (m, 5H), 3,33-3,22 (m, 2H), 2,51-2,39 (m, 1H), 2,31-2,09 (m, 1H).

MS (ESI); m/z = 399,0 [M+H]⁺

Ejemplo 9

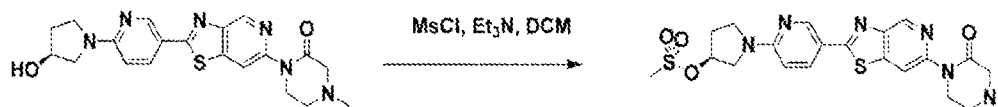
- 15 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 8, se preparó el siguiente compuesto.

Tabla 7:

Derivado Boc	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ¹ H-RMN 3. MH ⁺ (ESI)
	 9	1. 68 % 2. ¹ H-RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,17 (s, 1H), 8,84 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 8,15 (dd, J = 8,9, 2,5 Hz, 1H), 6,50 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 5,42 (dt, J = 52,6, 3,8 Hz, 1H), 4,03 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 4,01-3,88 (m, 1H), 3,88-3,79 (m, 1H), 3,77 (s, 2H), 3,74-3,62 (m, 2H), 3,28 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,53-2,39 (m, 1H), 2,20 (m, 1H). 3. 399,7

Síntesis de síntesis de compuestos marcados con ^{18}F

Precursor 1



A una solución del ejemplo preparativo 16 (60 mg, 0,146 mmol) y trietilamina (0,407 ml, 2,92 mmol) en diclorometano (10 ml) se le añadió gota a gota cloruro de mesilo (0,114 ml, 1,462 mmol). Después de 1 h a temperatura ambiente, el producto bruto se vertió en NaOH 1 N y la fase acuosa se extrajo varias veces con diclorometano (4 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó en cartuchos HP-Sil SNAP usando un sistema de purificación Biotage Isolera One empleando un gradiente de metanol/diclorometano (2/98 $\rightarrow$ 10/90) para proporcionar el compuesto del título (36 mg, 50 %).

^1H -RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,12-9,03 (m, 1H), 8,83 (d, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,18 (dd, 1H), 6,71 (d, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,00-3,92 (m, 2H), 3,92-3,67 (m, 3H), 3,55 (q, 1H), 3,28 (s, 3H), 3,21 (s, 2H), 2,82-2,73 (m, 2H), 2,41-2,27 (m, 5H).

MS (ESI); m/z = 488,95 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Precursores 2 a 6

Siguiendo el procedimiento descrito con respecto al precursor 1, excepto que se usó el siguiente material de partida de hidroxilo, se prepararon los siguientes compuestos.

Tabla 8:

Material de partida de hidroxilo	Producto Ejemplo	1. Rendimiento 2. ^1H -RMN 3. MH^+ (ESI)
	 Precursor 2	1. 77 % 2. ^1H -RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,06 (s, 1H), 8,88-8,78 (m, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,18 (dd, 1H), 6,70 (d, 1H), 5,46 (s, 1H), 3,98-3,91 (m, 2H), 3,91-3,67 (m, 3H), 3,55 (q, 1H), 3,28 (s, 3H), 3,21 (s, 2H), 2,81-2,73 (m, 2H), 2,40-2,25 (m, 5H). 3. 489,12
	 Precursor 3	1. 80 % 2. ^1H -RMN (400 MHz, cloroformo-d) δ 9,17 (s, 1H), 8,83 (d, 1H), 8,15 (dd, 1H), 6,50 (d, 1H), 5,52-5,43 (m, 1H), 4,22-4,08 (m, 2H), 4,01 (d, 1H), 3,90-3,64 (m, 3H), 3,47 (s, 2H), 3,07 (s, 3H), 3,03-2,88 (m, 2H), 2,59-2,43 (m, 4H), 2,36 (dtd, 1H) 3. 490,16
	 Precursor 4	1. 68 % 2. ^1H -RMN (500 MHz, DMSO-d_6) δ 9,32 (s, 1H), 8,80 (d, 1H), 8,63-8,57 (m, 2H), 8,42 (d, 1H), 8,17 (dd, 1H), 7,98 (t, 1H), 6,66 (d, 1H), 5,46 (s, 1H), 3,92-3,85 (m, 2H), 3,85-3,75 (m, 1H), 3,70 (dd, 2H), 3,53 (td, 1H), 3,19 (s, 2H), 2,81-2,73 (m, 2H), 2,35-2,19 (m, 5H). 3. 597,4
	 Precursor 5	1. 7 % 2. ^1H -RMN (500 MHz, DMSO-d_6) δ 9,32 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,21-8,14 (m, 1H), 7,84 (d, 2H), 7,49 (d, 2H), 6,66 (d, 1H), 5,25 (s, 1H), 3,91-3,86 (m, 2H), 3,69 (td, 3H), 3,50 (td, 1H), 3,18 (s, 2H), 2,80-2,74 (m, 2H), 2,42 (s, 3H), 2,30 (s, 4H), 2,19-2,09 (m, 1H). 3. 566,0
	 Precursor 6	1. NA 2. NA 3. NA

Ejemplo ¹⁸F-1

Se adquirió de PETNET [¹⁸F]fluoruro (964 mCi al inicio de la síntesis), producido a través de reacción nuclear de ¹⁸O(p,n)¹⁸F usando un ciclotrón equipado con una diana de agua con oxígeno-18 de alto rendimiento. El [¹⁸F]fluoruro en ~2 ml de [¹⁸O]H₂O se atrapó en un cartucho Waters QMA preacondicionado con agua de calidad para HPLC (5 ml) para eliminar [¹⁸O]H₂O. Se eluyó [¹⁸F]fluoruro en el recipiente de reacción haciendo pasar solución de K₂CO₃ (7,5 mg/0,75 mg en 0,4 ml/0,4 ml de acetonitrilo/agua de calidad para HPLC) a través del cartucho. El [¹⁸F]fluoruro se secó entonces por calor (70 °C) y una corriente de nitrógeno a vacío completo durante 5 min, seguido de solo vacío completo a 100 °C durante 5 min. Después del secado, se añadió una solución de Precursor 1 (2,0 mg) en DMSO anhidro (1 ml) y la solución resultante se calentó a 100 °C con agitación durante 10 minutos. La mezcla de reacción se enfrió después hasta 50 °C, seguido de dilución con 4 ml de agua de calidad para HPLC. La mezcla de reacción diluida se transfirió después al vial de carga en bucle. El contenido del vial de carga en bucle se transfirió a la HPLC semipreparativa para purificación como se describió anteriormente. El pico del producto (Rt ~28 min) se recogió en el matraz de dilución de HPLC y se diluyó con agua de calidad para HPLC (40 ml). El ¹⁸F-1 purificado se atrapó entonces en un cartucho C18-E (cartucho Phenomenex, C18-E-50 mg PN 8B-S001-DAK) preacondicionado con etanol (5 ml) y agua (5 ml), seguido de lavado con agua (5 ml). El ¹⁸F-1 atrapado se eluyó con etanol (0,5 ml) en el matraz de formulación, seguido de dilución con 4,5 ml de solución salina. La formulación de ¹⁸F-1 se transfirió después a un vial vacío estéril y se sometió a pruebas de control de calidad. Las purezas/identidades químicas y radioquímicas se analizaron usando una HPLC Agilent 1100 equipada con un detector de radiactividad y un detector ultravioleta (UV). La pureza radioquímica para las dosis fue > 99 %, y la identidad se confirmó comparando el tiempo de retención del producto radiomarcado con el del patrón de referencia no marcado correspondiente Ejemplo 1.

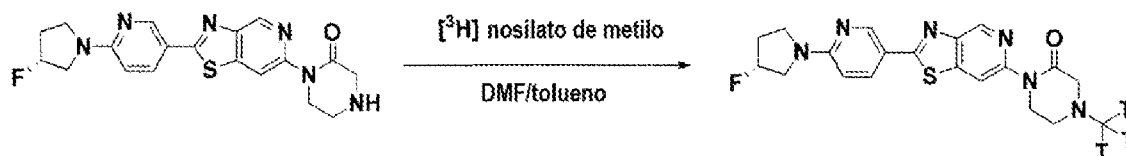
Ejemplo ¹⁸F-2

Se adquirió de PETNET [¹⁸F]fluoruro (1148 mCi al inicio de la síntesis), producido a través de reacción nuclear de ¹⁸O(p,n)¹⁸F usando un ciclotrón equipado con una diana de agua con oxígeno-18 de alto rendimiento. El [¹⁸F]fluoruro en ~2 ml de [¹⁸O]H₂O se atrapó en un cartucho Waters QMA preacondicionado con agua de calidad para HPLC (5 ml) para eliminar [¹⁸O]H₂O. Se eluyó [¹⁸F]fluoruro en el recipiente de reacción haciendo pasar solución de K₂CO₃ (7,5 mg/0,75 mg en 0,4 ml/0,4 ml de acetonitrilo/agua de calidad para HPLC) a través del cartucho. El [¹⁸F]fluoruro se secó entonces por calor (70 °C) y una corriente de nitrógeno al vacío completo durante 5 min, seguido de solo vacío completo a 100 °C durante 5 min. Después del secado, se añadió una solución de Precursor 2 (2,0 mg) en DMSO anhidro (1 ml) y la solución resultante se calentó a 100 °C con agitación durante 10 minutos. La mezcla de reacción se enfrió después hasta 50 °C, seguido de dilución con 4 ml de agua de calidad para HPLC. La mezcla de reacción diluida se transfirió después al vial de carga en bucle. El contenido del vial de carga en bucle se transfirió a la HPLC semipreparativa para la purificación. El pico de producto se recogió en el matraz de dilución de HPLC y se diluyó con agua de calidad para HPLC (40 ml). El ¹⁸F-2 purificado se atrapó entonces en un cartucho C18-E (cartucho Phenomenex, C18-E-50 mg PN 8B-S001-DAK), preacondicionado con etanol (5 ml) y agua (5 ml), seguido de lavado con agua (5 ml). El ¹⁸F-2 atrapado se eluyó con etanol (0,5 ml) en el matraz de formulación, seguido de dilución con 4,5 ml de solución salina. La formulación de ¹⁸F-2 se transfirió después a un vial vacío estéril y se sometió a pruebas de control de calidad. Las purezas/identidades químicas y radioquímicas se analizaron usando una HPLC Agilent 1100 equipada con un detector de radiactividad y un detector ultravioleta (UV). La pureza radioquímica para las dosis fue > 99 %, y la identidad se confirmó comparando el tiempo de retención del producto radiomarcado con el del patrón de referencia no marcado correspondiente Ejemplo 2.

Ejemplo ¹⁸F-6

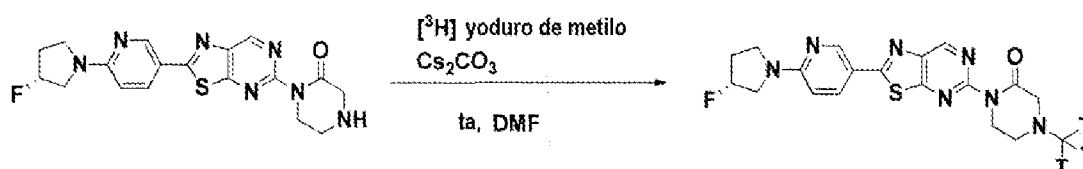
Siguiendo un procedimiento similar al procedimiento de radiomarcado de ¹⁸F-2, se radiomarcó el precursor 3. La purificación se realiza por HPLC usando una columna C18 Phenomenex Gemini semipreparativa (5 µm, 250 x 10 mm) y se eluye con una mezcla de acetonitrilo/solución de tampón fosfato (25 mM) (25/75, v/v) a un caudal de 4 ml/min. La fracción de producto se recoge en un matraz, que contiene 20 ml de ascorbato de sodio en WFI. La mezcla de producto diluida se hace pasar a través de un cartucho de extracción en fase sólida C18 y el cartucho se enjuaga con 10 ml de ascorbato de sodio en WFI. El producto radiomarcado ¹⁸F-6 se eluye del cartucho SPE con 1 ml de etanol de calidad de prueba 200 de USP en el matraz de formulación, precargado con 10 ml de base de formulación. El cartucho se enjuaga con 4 ml de base de formulación y el enjuague se mezcla con el contenido del matraz de formulación. La solución resultante se hace pasar a través de un filtro de membrana de 0,2 µm esterilizante a un vial ventilado con filtro estéril (vial de producto final, FPV), llenado previamente con 15 ml de solución salina normal. Las purezas/identidades químicas y radioquímicas se analizaron usando una HPLC Agilent 1100 equipada con un detector de radiactividad y un detector ultravioleta (UV). La pureza radioquímica para las dosis fue > 99 %, y la identidad se confirmó comparando el tiempo de retención del producto radiomarcado con el del patrón de referencia no marcado correspondiente Ejemplo 6.

Síntesis de radioligandos

Ejemplo ³H-1

El ejemplo 8 se disolvió en DMF/tolueno (1/1, 0,3 ml), se añadió carbonato de potasio (1,0 mg) y la mezcla se añadió a nosilato de metilo seco ([³H] 25 mCi) en un matraz cónico. La solución se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se transfirió a un matraz más grande y el recipiente de reacción se enjuagó con 4 x 2 ml de metanol. El metanol combinado se eliminó al vacío. El material se purificó por HPLC. Se eliminó la fase móvil. Se repitió todo el proceso y se combinaron los dos productos de reacción finales. (3 mCi con una pureza radioquímica de > 99 % y una actividad específica de 60 Ci/mmol).

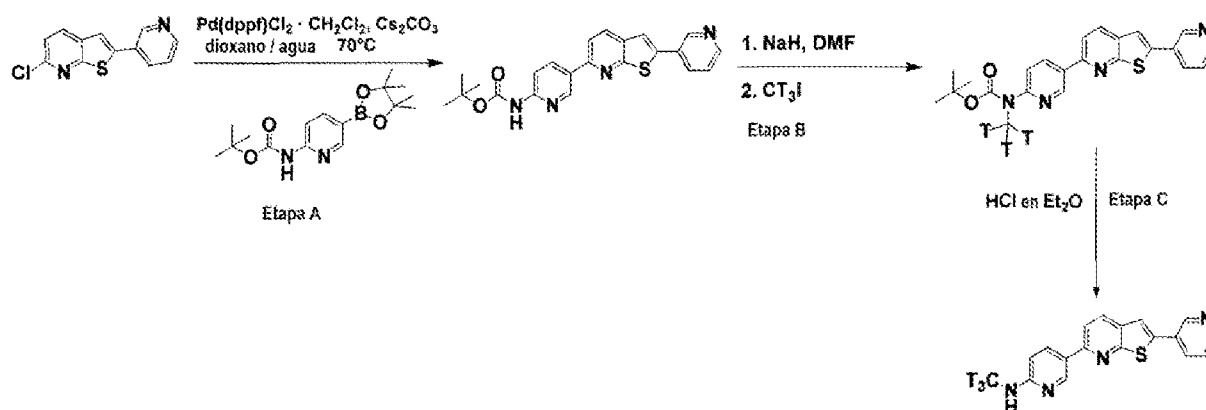
MS (ESI): $m/z = 419$ (100%) $[M+H]^+$

Ejemplo ³H-6

El ejemplo 9 (1 mg) se disolvió en DMF (0,1 ml), se añadió carbonato de cesio (1,0 mg) y la mezcla se añadió a [³H] yoduro de metilo (75 mCi). La solución se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se transfirió a un matraz más grande y el recipiente de reacción se enjuagó con 4 x 2 ml de metanol. El metanol combinado se eliminó al vacío. El material se purificó por HPLC. Se eliminó la fase móvil. Se repitió todo el proceso y se combinaron los dos productos de reacción finales. (10 mCi con pureza radioquímica > 99 % y una actividad específica de 75 Ci/mmol).

MS (ESI): $m/z = 442$ (100 %) $[M+Na]^+$

[³H] Ejemplo 47 del documento WO2017/153601



Etapa A:

Una mezcla de 6-cloro-2-(piridin-3-il)tieno[2,3-b]piridina preparada como se describe en el documento WO 2017/153601 (58 mg, 0,203 mmol), (5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridin-2-il)carbamato de terc-butilo (78 mg, 0,24 mmol), carbonato de cesio (0,130 g, 0,406 mmol) y complejo de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II) con diclorometano (0,008 g, 0,010 mmol) se añadieron a un tubo de presión seco, seguido de dioxano desgasificado (4 ml) y agua desgasificada (1 ml). La mezcla de reacción se desgasificó con una corriente de argón durante 10 minutos y se calentó a 70 °C durante 2 horas. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y los disolventes se eliminaron. El producto en bruto se recogió en DCM (20 ml), se lavó con agua (2 x 20 ml) y salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. El producto en bruto se trituró con (10 ml) de isopropanol durante 10 horas y el sólido se filtró y se secó a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (42 mg, 52 %).

^1H -RMN (400 MHz, cloroformo- d) δ 9,02 (dd, 2H), 8,63 (dd, 1H), 8,42 (dd, 1H), 8,11 (dd, 2H), 8,01 (dt, 1H), 7,78-7,67 (m, 2H), 7,56 (s, 1H), 7,41 (dd, 1H), 1,57 (d, 9H).

MS (ESI); m/z = 348,89 [M-Boc].

Etapa B:

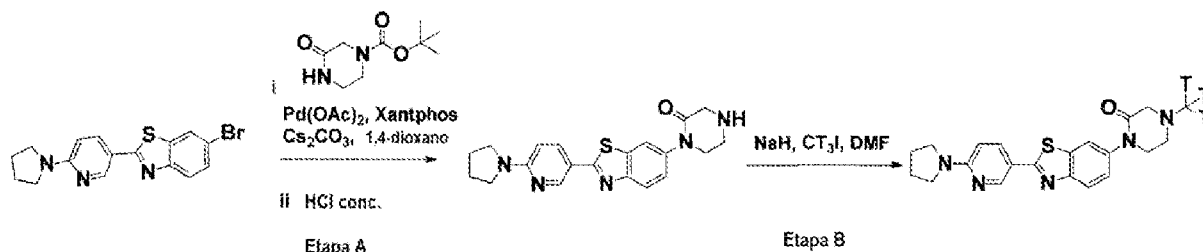
- 5 El compuesto del título se preparó a partir del compuesto de la etapa A anterior usando hidruro de sodio en DMF seguido de la adición de yoduro de metilo marcado con tritio (Moravek Biochemical and Radiochemicals (EE. UU.)).

Etapa C:

- 10 El compuesto del título marcado con tritio de la etapa B anterior se desprotegió usando HCl en dietil éter. Después de la purificación por HPLC (Phenomenex Prodigy ODS(2), 4,6 x 250 mm, 5 μm ; disolventes A: agua con TFA al 0,1 %; B: acetonitrilo; 0-20 minutos B al 0-100 %; mantener hasta 30 minutos), se obtuvo [^3H] Ejemplo 47 del documento WO 2017/153601 con una pureza radioquímica del 99,3 % y una actividad específica de 70,0 Ci/mmol).

MS (ESI): m/z = 319 (9 %) [M+H] $^+$; 323 (54 %) [M+H] $^+$; 325 (100 %) [M+H] $^+$.

[^3H] Ejemplo 69 del documento WO2017/153601



- 15 Etapa A:

- 20 Se degasificó 1,4-dioxano (8 ml) 10 min. Se añadieron diacetoxipaladio (93 mg, 0,416 mmol) y xantfos (72,3 mg, 0,125 mmol). La suspensión se calentó entonces a 110 °C durante 2 minutos. Se añadieron 6-bromo-2-(6-(pirrolidin-1-il)piridin-3-il)benzo[d]tiazol preparado como se describe en el documento WO 2017/153601 (150 mg, 0,416 mmol), 3-oxopiperazin-1-carboxilato de terc-butilo (83 mg, 0,416 mmol) y carbonato de cesio (136 mg, 0,416 mmol) y la agitación continuó a 110 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se añadieron 10 ml de HCl conc. y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se añadió agua (20 ml) y se extrajo varias veces con DCM. El pH de la fase acuosa se ajustó entonces a pH 14 y se extrajo varias veces con DCM. Los extractos orgánicos combinados de las extracciones básicas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se secaron a presión reducida. El residuo se purificó en cartuchos HP-Sil SNAP usando un sistema de purificación Biotage Isolera One empleando un gradiente de metanol/diclorometano (2/98 $\rightarrow$ 20/80) para proporcionar el compuesto del título (70 mg, 44 %).

^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6) (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,76 (d, 1H), 8,10 (dd, 1H), 8,03 (d, 1H), 7,93 (d, 1H), 7,42 (dd, 1H), 6,60 (d, 1H), 3,66 (t, 2H), 3,54-3,44 (m, 4H), 3,42 (s, 2H), 3,04 (t, 2H), 2,80 (s, 1H), 2,05-1,87 (m, 4H).

MS (ESI); m/z = 380,14 [M+H] $^+$

Etapa B:

- 30 El compuesto del título se preparó a partir del compuesto de la etapa A anterior usando hidruro de sodio en DMF seguido de la adición de yoduro de metilo marcado con tritio (Moravek Biochemical and Radiochemicals (EE. UU.)). Después de la purificación por HPLC (Phenomenex Prodigy ODS(2), 4,6 x 250 mm, 5 μm ; disolventes A: agua con TFA al 0,1 %; B: acetonitrilo; 0-20 minutos B al 0-100 %; mantener hasta 30 minutos), se obtuvo [^3H] Ejemplo 69 del documento WO 2017/153601 con una pureza radioquímica del 98,8 % y se obtuvo una actividad específica de 36,0 Ci/mmol).

MS (ESI): m/z = 394 (100 %) [M+H] $^+$; 396 (39,1 %) [M+H] $^+$; 398 (58,3 %) [M+H] $^+$; 400 (51,1 %) [M+H] $^+$.

DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO BIOLÓGICO

Preparación de fibrillas de aSyn de longitud completa

- 40 Se obtuvo aSyn de tipo silvestre de longitud completa humana recombinante expresada de manera bacteriana de un proveedor comercial (rPeptide, EE. UU.). La preparación de proteínas se transfirió a tubos de centrifuga de policarbonato (8 x 51 mm; Beckman 355657) y se centrifugó a 100.000 g (38.000 revoluciones por minuto, RPM) en una ultracentrifuga (Beckman, XL100K) durante 60 min a 4 °C usando el rotor de 50,4 Ti preenfriado (Beckman) para sedimentar cualquier material agregado. El sobrenadante se transfirió a un tubo estéril de baja retención a una

concentración final de 5 mg/ml y un volumen final de 0,5 ml en PBS. La proteína se colocó en un Thermomixer (Eppendorf) y se incubó durante 7 días a 37 °C con agitación orbital a 1000 rpm para generar fibrillas de aSyn.

El material que contenía fibrillas de aSyn se transfirió a tubos de centrifuga de policarbonato (8 x 51 mm; Beckman 355657) y se centrifugó a 100.000 g (38.000 RPM) en una ultracentrifuga (Beckman, XL100K) durante 60 min a 4 °C usando el rotor de 50,4 Ti preenfriado. El sobrenadante que contenía aSyn todavía monomérica se transfirió a nuevos tubos y se determinó su concentración. El sedimento se resuspendió con igual volumen de PBS y se sometió a rondas adicionales de ultracentrifugación hasta que la concentración obtenida para el sobrenadante estaba por debajo de 0,1 mg/ml. El sedimento obtenido en la última ronda de ultracentrifugación que contenía fibrillas de aSyn se dividió en alícuotas y se almacenó a -80 °C hasta su uso. Se usó aSyn agregada a una concentración de 1 µM en ensayos de radiounión.

Preparación de fracción insoluble de cerebro humano con enfermedad de Alzheimer

Se adquirieron 4,7 g de tejido del lóbulo frontal de cerebro *post mortem* de un paciente con enfermedad de Alzheimer (AD) de un proveedor externo (Tissue Solutions Ltd., Reino Unido). El paciente era un hombre caucásico y murió a la edad de 76 años. La muestra de cerebro se recogió 7,7 horas *post mortem* y se caracterizó para determinar el estadio de enfermedad de Braak (Break, H.; Break, E. Acta Neuropathol., 1991, 82, 239-259) como estadio VI. Para la preparación de las fracciones insolubles, se descongelaron alrededor de 3 g del cerebro humano con AD en hielo y se homogeneizaron con 8,9 ml de tampón de homogeneización (NaCl 0,75 M, EDTA 5 mM, Tris-HCl 50 mM, pH 7,5) complementado con inhibidores de proteasa (Complete; Roche 11697498001) en un homogeneizador Dounce de vidrio. La homogeneización se realizó a 4 °C. El homogeneizado se transfirió a tubos de centrifuga de policarbonato (16 x 76 mm; Beckman 355603) y se centrifugó a 100.000 g (38.000 RPM) en una ultracentrifuga (Beckman, XL100K) durante 60 min a 4 °C usando el rotor de 70,1 preenfriado (Beckman, 342184). Los sobrenadantes se desecharon y los sedimentos se resuspendieron en 8,9 ml de tampón de homogeneización complementado con Triton X-100 al 1 % (Sigma 93426) y se procesaron con un homogeneizador Dounce de vidrio a 4 °C. La solución se transfirió entonces a botellas de centrifuga de policarbonato (16 x 76 mm; Beckman 355603) y se centrifugó a 100.000 g (38.000 RPM) en una ultracentrifuga (Beckman, XL100K) durante 60 min a 4 °C usando el rotor de 70,1 Ti. El proceso se repitió una vez más (los sobrenadantes se desecharon y los sedimentos se resuspendieron en 8,9 ml de tampón de homogeneización complementado con Triton X-100 al 1 % y sacarosa 1 M y se procesaron con un homogeneizador Dounce de vidrio a 4 °C. La solución se centrifugó entonces a 100.000 g (38.000 rpm) durante 60 min a 4 °C usando el rotor de 70,1 Ti). El sobrenadante se desechó y el sedimento se resuspendió en 4 ml de PBS para obtener la fracción insoluble. El material se dividió en alícuotas y se almacenó a -80 °C hasta su uso.

Determinación de la afinidad de unión (K_i) mediante ensayo de competición de radiounión

Se incubaron fibrillas de aSyn recombinantes a una concentración de 1 µM con [3 H] Ejemplo 69 divulgado en el documento WO2017/153601, usado como aglutinante de referencia de aSyn, a concentraciones de entre 25 nM y 35 nM. Los compuestos de ejemplo de esta invención se incubaron a concentraciones crecientes en el intervalo de 0,4 nM a 2 pM durante 120 minutos a 25 °C. Después, se filtraron al vacío 90 µl de muestras por duplicado en una placa de filtro GF/C (PerkinElmer 6005174) para atrapar las fibrillas de aSyn con el radioligando unido y se lavaron cinco veces con tampón Tris 50 mM pH 7-5. Los filtros GF/C se secaron a vacío, se añadieron 50 µl de líquido de centelleo (Ultimate Gold MB, PerkinElmer) en cada pocillo, y los filtros se analizaron en un dispositivo Microbeta2. La señal no específica se determinó con un exceso de ligando no marcado y la unión específica se calculó restando la señal no específica de la señal total. La competición se calculó como porcentaje, donde el 0 % se definió como la unión específica en presencia de vehículo (DMSO al 0,1 % en Tris 50 mM en NaCl al 0,9 %, BSA al 0,1 %) y el 100 % como los valores obtenidos en presencia del exceso del Ejemplo 69 frío divulgado en el documento WO2017/153601. Todas las mediciones se realizaron con al menos dos réplicas técnicas. Los valores de K_i se calcularon mediante regresión no lineal, unión específica de un sitio usando Prism V7 (GraphPad). Los valores de K_i para las fibrillas de aSyn recombinantes se determinaron en experimentos independientes y dos lotes diferentes de fibrillas de aSyn, derivadas de la misma fuente pero diferentes lotes de aSyn monomérico. Los resultados del ensayo de competición de radiounión para los compuestos de ejemplo sometidos a prueba en paralelo dentro del mismo experimento se muestran en la tabla 9 como mediciones A y B. La medición A se realizó en un lote de fibrillas de aSyn; la K_d para el radioligando [3 H] Ejemplo 69 divulgado en el documento WO2017/153601 para este lote de fibrillas de aSyn fue de 32 nM. La medición B se realizó en un segundo lote de fibrillas de aSyn, la K_d correspondiente para el radioligando [3 H] Ejemplo 69 divulgado en el documento WO2017/153601 para el segundo lote de fibrillas de aSyn fue de 60 nM.

Como se muestra en la tabla 9, los compuestos 1 a 7 de la presente invención muestran una unión superior a fibrillas de aSyn en comparación con los compuestos 70 y 71 correspondientes divulgados en el documento WO2017/153601. Los resultados para los compuestos 1 y 2 se reprodujeron en dos lotes independientes de fibrillas de aSyn. El valor de K_i en fibrillas de aSyn para los compuestos 1, 2, 4 y 5 de la presente invención mejora en al menos dos veces cuando se comparan directamente dentro de la misma medición con los compuestos 70 y 71 divulgados en el documento WO2017/153601.

Los compuestos 3A a 3D y 7A a 7C muestran una unión similar (7A y 3A) o mejorada (3B, 3C, 3D, 7B, 7C) a fibrillas de aSyn en comparación con los ejemplos 70 y 71 del documento WO2017/153601. El compuesto 3C muestra una afinidad considerablemente mayor por las fibrillas de aSyn cuando se compara con los ejemplos 70 y 71 del documento

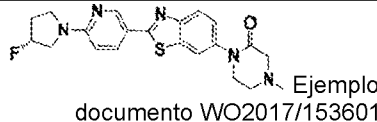
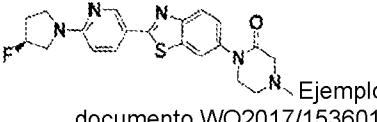
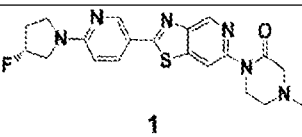
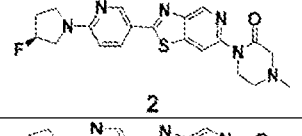
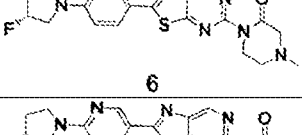
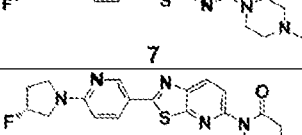
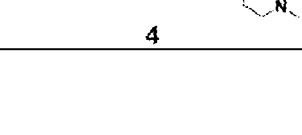
WO2017/153601, como se indica por el valor de K_i determinado en la misma medición.

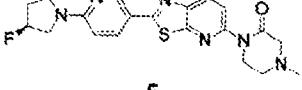
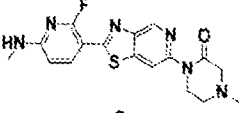
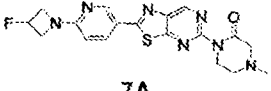
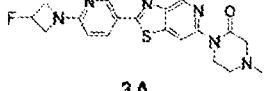
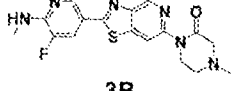
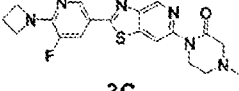
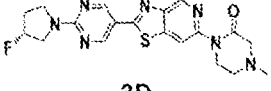
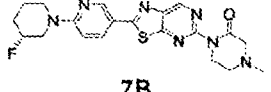
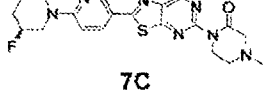
Se incubaron fracciones insolubles de AD diluidas 1/100 en presencia de [3 H] Ejemplo 47 divulgado en el documento WO2017/153601 como aglutinante de referencia de A β , a una concentración de 7 nM y los compuestos de ejemplo de esta invención se prepararon a concentraciones crecientes en el intervalo de 0,4 nM a 2 μ M durante 120 minutos a 25 °C. Después, se filtraron al vacío 90 μ l de muestras por duplicado en una placa de filtro GF/C (PerkinElmer 6005174) para atrapar los agregados de A β dentro de las fracciones insolubles de AD con el radioligando unido, y se lavaron cinco veces con tampón Tris 50 mM pH 7-5. Los filtros GF/C se secaron a vacío, se añadieron 50 μ l de líquido de centelleo (Ultimate Gold MB, PerkinElmer) en cada pocillo, y los filtros se analizaron en un dispositivo Microbeta2. La señal no específica se determinó con un exceso de ligando no marcado y la unión específica se calculó restando la señal no específica de la señal total. La competición se calculó como porcentaje, donde el 0 % se definió como la unión específica en presencia de vehículo (DMSO al 0,1 % en Tris 50 mM en NaCl al 0,9 %, BSA al 0,1 %) y el 100 % como los valores obtenidos en presencia del exceso del Ejemplo 47 frío divulgado en el documento WO2017/153601. Los valores de K_i se calcularon mediante regresión no lineal, unión específica de un sitio usando Prism V7 (GraphPad). Los valores de K_i para la fracción insoluble de AD se determinaron en experimentos independientes. Los resultados del ensayo de competición de radiounión sobre la fracción insoluble de AD se muestran en la tabla 9 como mediciones C y D. La K_d para el radioligando [3 H] Ejemplo 47 divulgado en el documento WO2017/153601 sobre la fracción insoluble de AD en las mediciones C y D fue de 8 nM.

Los compuestos de ejemplo se clasifican basándose en los valores de K_i medidos para agregados patológicos de A β presentes en las fracciones insolubles de AD. A los compuestos de ejemplo que muestran afinidad por encima de 500 nM se les asigna una puntuación de +++, a una afinidad por debajo de 50 nM se le asigna una puntuación de +, y finalmente a los compuestos de ejemplo con valores de K_i intermedios entre 500 nM y 50 nM se les asigna una puntuación de ++.

Basándose en el ensayo de competición de radiounión en estas dos dianas, todos los compuestos de ejemplo muestran buena selectividad por aSyn sobre agregados de A β patológicos presentes en las fracciones insolubles de AD humana.

Tabla 9

Ejemplo	Ki en fibrillas de aSyn (nM) ^a		Ki en la fracción insoluble de AD humana (nM) ^b	
	A	B	C	D
 Ejemplo 70 del documento WO2017/153601	39,0	97,7	+++	ND
 Ejemplo 71 del documento WO2017/153601	46,9	73,7	+++	ND
 1	14,7	31,9	+++	ND
 2	12,2	31,9	+++	+++
 6	ND	28,3	+++	+++
 7	ND	52,8	ND	+++
 4	ND	41,7	ND	+++

	ND	32,9	ND	+++
	ND	66,9	ND	++
	55,3	ND	ND	+++
	ND	96,8	ND	+++
	27,8	ND	++	++
	5,8	ND	ND	+++
	38,4	ND	ND	+++
	31,3	ND	ND	+++
	34,2	ND	+++	+++

Leyenda de la tabla: ^aKi en fibrillas de aSyn mostrada para la medición A y la medición B en dos lotes diferentes de fibrillas de aSyn. La Kd del radioligando [³H] Ejemplo 69 del documento WO2017/153601 en los dos lotes de fibrillas de aSyn fue de 32 nM (en la medición A) y de 60 nM (en la medición B). ^bKi en la fracción insoluble de AD humana mostrada para la medición C y la medición D: +++ >500 nM, ++500>x>50 nM, + <50 nM; ND no determinado. La Kd del radioligando [³H] Ejemplo 47 del documento WO2017/153601 en la fracción insoluble de AD en la medición C y la medición D fue de 8 nM.

Estudios PK en monos sanos

Se inyectó en NHP por vía intravenosa (i.v.) el compuesto marcado con ¹⁸F ¹⁸F-Ejemplo 70 del documento WO2017/153601 (3,49 mCi) usando solución salina normal (NaCl al 0,9 %) formulada con la intención de contener aproximadamente un 3,3 % (v/v) de etanol (EtOH) y ascorbato de sodio (4,67 mg/ml). Se realizaron exploraciones de PET usando un instrumento Siemens Focus 220. La adquisición de PET comenzó inmediatamente antes de que se inyectara la dosis radiactiva. Se generaron imágenes como exploraciones dinámicas durante 180 minutos.

Se inyectó en NHP por vía intravenosa (i.v.) el compuesto marcado con ¹⁸F ¹⁸F-6 (4,92 mCi) usando solución salina normal (NaCl al 0,9 %) formulada con la intención de contener aproximadamente un 3,3 % (v/v) de etanol (EtOH) y ascorbato de sodio (4,67 mg/ml). Se realizaron exploraciones de PET usando un instrumento Siemens Focus 220. La adquisición de PET comenzó inmediatamente antes de que se inyectara la dosis radiactiva. Se generaron imágenes como exploraciones dinámicas durante 120 minutos.

El compuesto ¹⁸F-Ejemplo 70 del documento WO2017/153601 tiene una captación pico de SUVmax 3,1, una razón de SUVmax/SUV30 min de 2,8 y una razón de SUVmax/SUV120 min de 7,8 (figuras 1 y 2). El compuesto ¹⁸F-6 tiene una captación pico de SUVmax de 2,2 pero muestra un lavado mejorado con una razón de SUVmax/SUV30 min de 7,3 y una razón de SUVmax/SUV120 min de 15,7 (figuras 1 y 2). El lavado mejorado es una consecuencia de la retención no específica disminuida del compuesto ¹⁸F-6 y da como resultado un fondo significativamente menor y, por consiguiente, una razón de señal a ruido mejorada.

Evaluación de la unión específica del compuesto ³H-6 en secciones de cerebro de PD, PDD y control no demente (NDC) por autorradiografía

5 Secciones humanas congeladas de tres casos de enfermedad de Parkinson (PD) marcadas como PD1, PD2 y PD3, un caso de enfermedad de Parkinson con demencia (PDD) y tres casos de control no dementes (NDC) (NDC1, NDC2, NDC3) se fijaron en primer lugar brevemente durante 15 minutos a 4 °C con paraformaldehído al 4 % y se lavaron tres veces durante cinco minutos con PBS (solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco, Sigma) a temperatura ambiente (TA). Todos los portaobjetos se equilibraron después durante al menos una hora en tampón Tris-HCl 50 mM pH 7,4 antes de su uso en el experimento. Cada sección de cerebro se incubó con 20 nM de compuesto ³H-6 en tampón Tris-HCl durante la noche a 4 °C en una cámara de humedad. Para determinar la unión no específica (NSB), 10 el compuesto ³H-6 se mezcló con 5 µM de compuesto no marcado 6 (autobloqueo, '+').

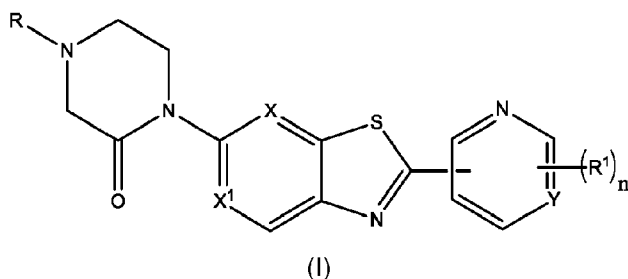
Al día siguiente, los portaobjetos se lavaron secuencialmente con PBS enfriado con hielo durante un minuto; dos veces con tampón Tris-HCl 50 mM enfriado con hielo pH 7,4 durante un minuto; y PBS durante un minuto. Los portaobjetos se dejaron secar al aire antes de colocarlos bajo pantallas de obtención de imágenes de fósforo (GE healthcare, BAS-IP TR 2025) en casetes de obtención de imágenes durante 10 días. Las pantallas de obtención de imágenes se 15 escanearon usando un sistema de obtención de imágenes de fósforo (Typhoon, FLA 7000) y las imágenes resultantes se analizaron usando Imaged. La unión específica se determinó restando la señal no específica de la señal total.

Como se muestra en la figura 3, el compuesto ³H-6 muestra señal desplazable en diferentes casos de PD y señal débil en múltiples casos de control no dementes, lo que indica la unión específica del compuesto a neuritas y cuerpos de Lewy en tejido cerebral de PD.

20

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):

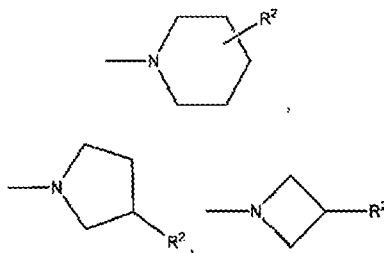


o estereoisómeros, mezclas racémicas, sales, hidratos, solvatos y polimorfos farmacéuticamente aceptables del mismo;

en donde

R se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo;

R¹ se selecciona independientemente del grupo que consiste en flúor,



y -NR³R⁴;

R² se selecciona del grupo que consiste en flúor e hidrógeno;

R³ y R⁴ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, fluoro-alquilo, alquil-O-alquilo e hidrógeno;

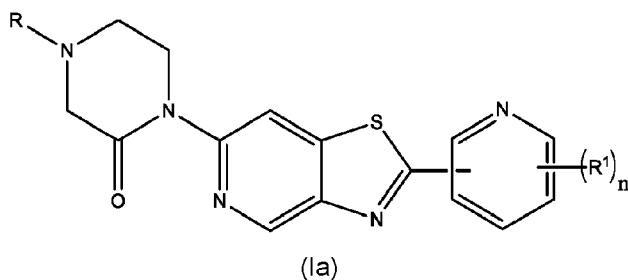
X y X¹ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en N y CH, siempre que al menos uno de X y X¹ sea N;

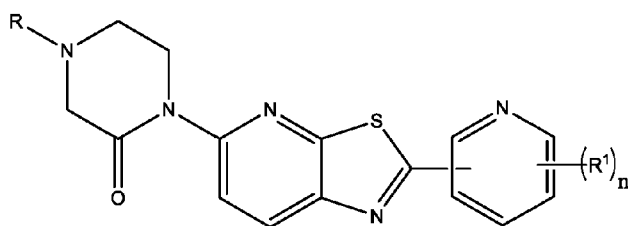
Y se selecciona independientemente del grupo que consiste en N y CH o Y es C si Y está unido a R¹;

n es 1 o 2;

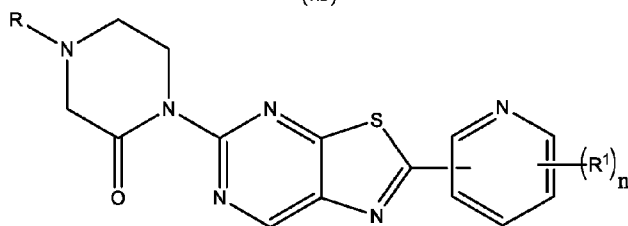
en donde el compuesto puede contener opcionalmente un marcador detectable seleccionado de radionúclidos, emisores de positrones, emisores gamma, marcadores fluorescentes, marcadores luminiscentes y marcadores cromogénicos.

2. El compuesto según la reivindicación 1, que es un compuesto de fórmula (Ia), (Ib) o (Ic):





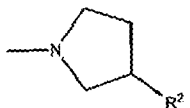
(Ib)



(Ic)

en donde **R**, **R¹** y **n** son como se definen en la reivindicación 1.

- 5 3. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde **R¹** es



4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde al menos uno de **R¹**, **R²**, **R³** y **R⁴** contiene flúor.

- 10 5. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el compuesto está marcado de forma detectable, preferiblemente con ²H, ³H, ¹⁸F o ¹³N, más preferiblemente con ¹⁸F.

6. Una composición diagnóstica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y opcionalmente un portador, diluyente, adyuvante y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en diagnóstico.

- 15 8. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en la obtención de imágenes de agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy, preferiblemente en donde el compuesto es para su uso en la obtención de imágenes por tomografía por emisión de positrones de agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy.

- 20 9. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el diagnóstico de un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy o un estado preclínico de los mismos.

- 25 10. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el trastorno se selecciona de enfermedad de Parkinson (incluidas mutaciones esporádicas, familiares con alfa-sinucleína, familiares con mutaciones distintas de alfa-sinucleína, insuficiencia autónoma pura o disfagia con cuerpos de Lewy), demencia con cuerpos de Lewy (incluida demencia con cuerpos de Lewy "pura"), enfermedad de Alzheimer esporádica, enfermedad de Alzheimer familiar con mutaciones de APP, enfermedad de Alzheimer familiar con PS-1, PS-2 u otras mutaciones, demencia británica familiar, variante con cuerpos de Lewy de la enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, atrofia sistémica múltiple (incluidos síndrome de Shy-Drager, degeneración estriatonigral o atrofia olivopontocerebelosa), lesión cerebral traumática, encefalopatía traumática crónica, enfermedad de las neuronas motoras, distrofia neuroaxonal, neurodegeneración con acumulación de hierro en el cerebro de tipo 1 (incluido síndrome de Halervorden-Spatz), enfermedades priónicas, ataxia telangiectasia, síndrome de Meige, panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Gaucher, trastornos de almacenamiento lisosómico (incluidos síndrome de Kufor-Rakeb y síndrome de Sanfilippo) y trastorno del comportamiento del sueño de movimientos oculares rápidos (REM).

- 30 11. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el trastorno es enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy o atrofia sistémica múltiple.

- 35 12. Un método de recogida de datos para el diagnóstico de un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-

sinucleína en un paciente que comprende:

(a) poner en contacto una muestra que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5;

(b) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína;

5 (c) detectar el compuesto unido a los agregados de alfa-sinucleína; y

(d) correlacionar opcionalmente la presencia o ausencia de unión del compuesto con los agregados de alfa-sinucleína con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra.

10 13. Un método de recogida de datos para el diagnóstico del estado preclínico de un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína en un paciente que comprende detectar la unión específica de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 a agregados de alfa-sinucleína en una muestra que comprende las etapas de:

(a) poner en contacto la muestra que se sospecha que contiene los agregados de alfa-sinucleína con el compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, compuesto que se une específicamente a los agregados de alfa-sinucleína;

15 (b) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(c) detectar la formación del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(d) correlacionar opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra; y

20 (e) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con un valor de control normal.

14. Un método de recogida de datos para monitorizar el trastorno residual en un paciente que padece un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína que se ha tratado con un medicamento, en donde el método comprende:

25 (a) poner en contacto una muestra que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, compuesto que se une específicamente a los agregados de alfa-sinucleína;

(b) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

30 (c) detectar la formación del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(d) correlacionar opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con la presencia o ausencia de agregado de alfa-sinucleína en la muestra; y

(e) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con un valor de control normal.

35 15. Un método para recogida de datos para predecir la capacidad de respuesta de un paciente que padece un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína y que se trata con un medicamento que comprende:

(a) poner en contacto una muestra que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, compuesto que se une específicamente a los agregados de alfa-sinucleína;

40 (b) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(c) detectar la formación del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);

(d) correlacionar opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra; y

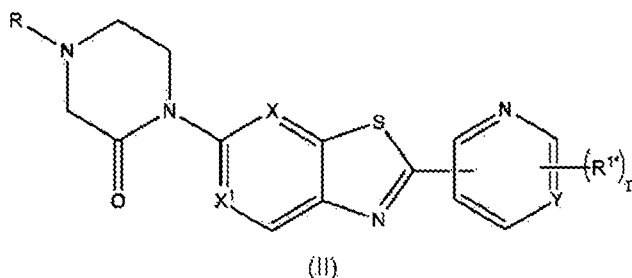
45 (e) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con un valor de control normal.

16. Un método para monitorizar el trastorno residual en un paciente que padece un trastorno o anomalía asociado con

agregados de alfa-sinucleína que se ha tratado con un medicamento, en donde el método comprende:

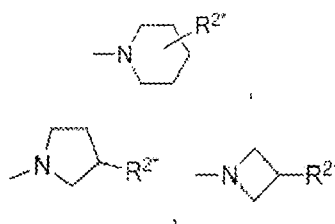
- (a) poner en contacto una muestra que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, compuesto que se une específicamente a los agregados de alfa-sinucleína;
 - 5 (b) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);
 - (c) detectar la formación del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);
 - (d) correlacionar opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra; y
 - 10 (e) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con un valor de control normal.
17. Un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente que padece un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína y que se trata con un medicamento que comprende:
- 15 (a) poner en contacto una muestra que se sospecha que contiene agregados de alfa-sinucleína con un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, compuesto que se une específicamente a los agregados de alfa-sinucleína;
 - (b) permitir que el compuesto se una a los agregados de alfa-sinucleína para formar un complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);
 - (c) detectar la formación del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína);
 - 20 (d) correlacionar opcionalmente la presencia o ausencia del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con la presencia o ausencia de agregados de alfa-sinucleína en la muestra; y
 - (e) comparar opcionalmente la cantidad del complejo de compuesto/(agregado de alfa-sinucleína) con un valor de control normal.
18. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 17, en donde el trastorno se selecciona de
- 25 enfermedad de Parkinson (incluidas mutaciones esporádicas, familiares con alfa-sinucleína, familiares con mutaciones distintas de alfa-sinucleína, insuficiencia autónoma pura o disfagia con cuerpos de Lewy), demencia con cuerpos de Lewy (incluida demencia con cuerpos de Lewy "pura"), enfermedad de Alzheimer esporádica, enfermedad de Alzheimer familiar con mutaciones de APP, enfermedad de Alzheimer familiar con PS-1, PS-2 u otras mutaciones, demencia británica familiar, variante con cuerpos de Lewy de la enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, atrofia
 - 30 sistémica múltiple (incluidos síndrome de Shy-Drager, degeneración estriatonigral o atrofia olivopontocerebelosa), lesión cerebral traumática, encefalopatía traumática crónica, enfermedad de las neuronas motoras, distrofia neuroaxonal, neurodegeneración con acumulación de hierro cerebral de tipo 1 (incluido síndrome de Halervorden-Spatz), enfermedades priónicas, ataxia telangiectasia, síndrome de Meige, panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Gaucher, trastornos de almacenamiento lisosómico (incluidos síndrome de Kufor-Rakeb y síndrome de Sanfilippo) y trastorno del comportamiento del sueño de movimientos oculares rápidos (REM).
 - 35
19. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 17, en donde el trastorno es enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy o atrofia sistémica múltiple.
20. Un método para determinar la cantidad de agregados de alfa-sinucleína en una muestra que comprende:
- (a) proporcionar la muestra;
 - 40 (b) someter a prueba la muestra para determinar la presencia de agregados de alfa-sinucleína con un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5;
 - (c) determinar la cantidad de compuesto unido a los agregados de alfa-sinucleína; y
 - (d) calcular la cantidad de agregados de alfa-sinucleína en la muestra.
21. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 20, en donde los agregados de alfa-sinucleína incluyen cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy.
- 45
22. Una mezcla que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y al menos un compuesto seleccionado de un agente de obtención de imágenes diferente del compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, preferiblemente un agente de obtención de imágenes de abeta o Tau, un portador farmacéuticamente aceptable, un diluyente y un excipiente.

23. Un compuesto de fórmula (II)



en donde **R**, **X**, **X'**, **Y** y **n** son como se definen en la reivindicación 1;

R¹* se selecciona independientemente del grupo que consiste en **LG**,



y $-NR^{3*}R^{4*}$;

en donde

R²* se selecciona del grupo que consiste en **LG** e hidrógeno;

R³* y **R⁴*** se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, **LG**-alquilo, alquil-O-alquilo, **PG** e hidrógeno;

LG es un grupo saliente seleccionado de halógeno, trimetilamonio, sulfonato de alquilo C₁₋₄ y sulfonato de arilo C₆₋₁₀; y

PG es un grupo protector de amino seleccionado de carbobenciloxi, p-metoxibencilcarbonilo, terc-butiloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, bencilo, p-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, p-metoxifenilo, trifenilmetilo, metoxifenildifenilmetilo y dimetoxitritilo,

en donde al menos uno de **R¹***, **R²***, **R³*** y **R⁴*** contiene **LG**.

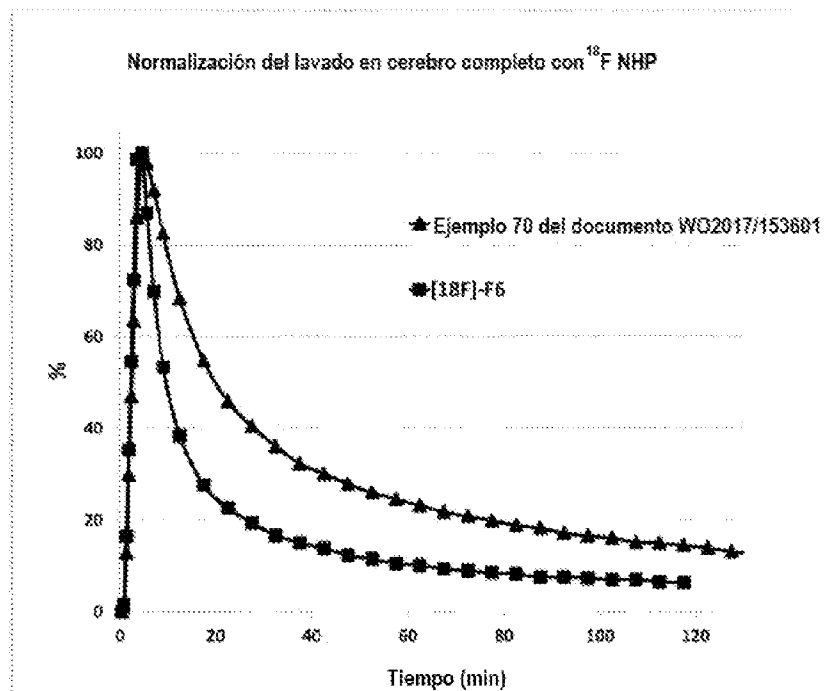
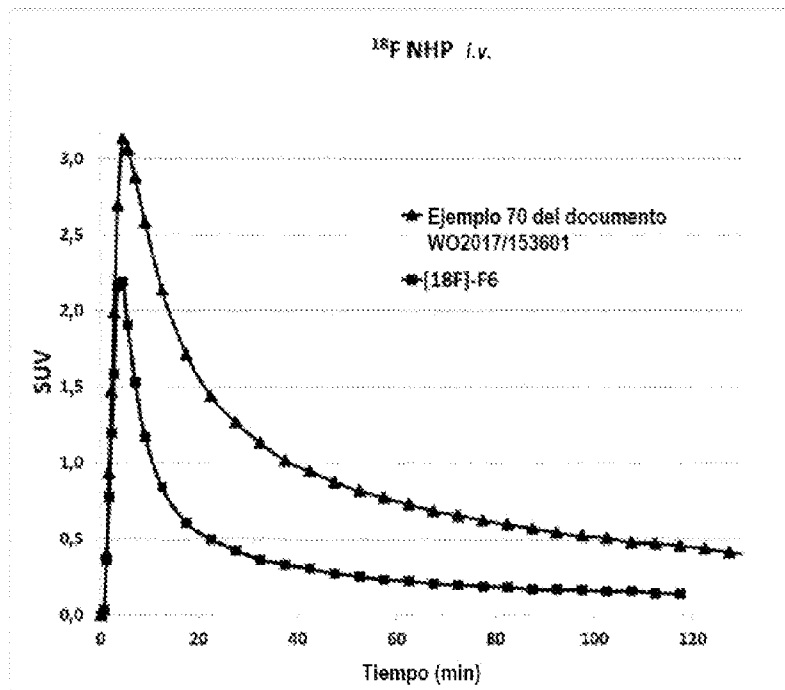
24. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 23, en donde **LG** se selecciona de mesilato, triflato, tosilato y nosilato.

25. Un método para preparar el compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el compuesto está marcado por ¹⁸F, que comprende hacer reaccionar el compuesto de acuerdo con la reivindicación 10 con un agente ¹⁸F-fluorante, de manera que **LG** se sustituye por ¹⁸F, preferiblemente en donde el agente ¹⁸F-fluorante se selecciona de K¹⁸F, H¹⁸F, Cs¹⁸F, Na¹⁸F y [¹⁸F]fluoruro de tetrabutilamonio.

26. Uso del compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 como referencia analítica *in vitro* o herramienta de cribado *in vitro*.

27. Un kit de prueba para su uso en la detección y/o diagnóstico de un trastorno o anomalía asociado con agregados de alfa-sinucleína que incluyen, pero no se limitan a, cuerpos de Lewy y/o neuritas de Lewy, en donde el kit de prueba comprende al menos un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

28. Un kit para preparar una preparación radiofarmacéutica, en donde el kit comprende un vial sellado que contiene al menos un compuesto como se define en la reivindicación 23.



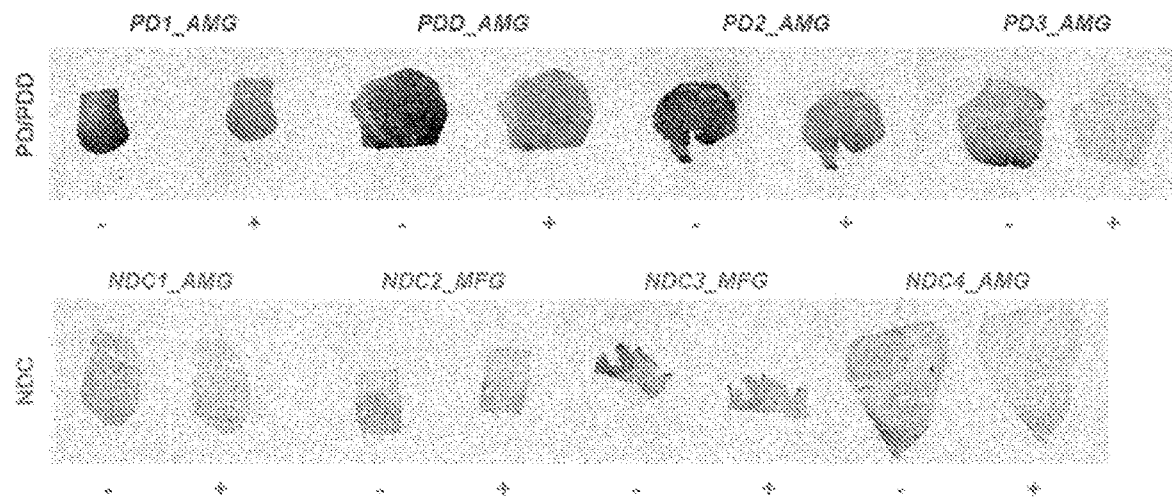


Figura 3