

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 160**

51 Int. Cl.:

C07F 9/59 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61K 31/4725 (2006.01)

C07D 295/155 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.11.2019 PCT/US2019/059538**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2020 WO20093008**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2019 E 19878749 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2024 EP 3873466**

54 Título: **Compuestos de fosfato para la detección de trastornos neurológicos**

30 Prioridad:

02.11.2018 US 201862755331 P

31.05.2019 US 201962855442 P

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

25.11.2024

73 Titular/es:

**AMYDIS, INC. (100.0%)
1800 Century Park East, Suite 600
Los Angeles, CA 90067, US**

72 Inventor/es:

**SARRAF, STELLA;
RANDOLPH, LYND SAY M. y
RASOOL, SUHAIL**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 989 160 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

Compuestos de fosfato para la detección de trastornos neurológicos

5 ANTECEDENTES

10 Los trastornos neurológicos son enfermedades del cerebro, la médula espinal y el sistema nervioso periférico. Los mayores costos sociales, en términos de epidemiología y morbilidad individual, los imponen las condiciones neurológicas. Entre las más destacadas se encuentran la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson. Otras afecciones neurológicas incluyen afecciones relacionadas con la edad (p. ej., demencia de Parkinson, demencia vascular, esclerosis lateral amiotrófica), síndromes genéticos (p. ej., síndrome de Down), afecciones relacionadas con lesiones (p. ej., lesión cerebral traumática, encefalopatía traumática crónica) y afecciones típicamente consideradas como de naturaleza puramente psiquiátrica, como la esquizofrenia y la depresión.

15 Los compuestos para la detección de estos y otros trastornos neurológicos son útiles en la detección, diagnóstico, seguimiento y tratamiento de estas enfermedades. El documento WO 2016/040891 A2 describe compuestos utilizados para el tratamiento de trastornos neurológicos.

20 RESUMEN

La divulgación proporciona compuestos para detectar y tratar una enfermedad o trastorno neurológico. Se ha descubierto que ciertos compuestos de diagnóstico útiles en la detección de trastornos neurológicos adolecen de propiedades fisicoquímicas inferiores a las ideales, por ejemplo, baja solubilidad en agua y alta cristalinidad. En el presente documento se describen compuestos con propiedades fisicoquímicas mejoradas útiles para diagnosticar y tratar trastornos neurológicos.

25 En algunas formas de realización se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en un método para determinar si un paciente tiene una enfermedad o trastorno neurológico, que comprende administrar al paciente el compuesto o la sal descritos en el presente documento. En algunas formas de realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para detectar una enfermedad o trastorno neurológico en un paciente, que comprende administrar al paciente el compuesto o sal descrito en el presente documento que es capaz de unirse a una proteína diana detectable o generar un compuesto capaz de unirse a una proteína diana detectable después de ser administrado al paciente, determinando la presencia o ausencia de la unión, en donde la presencia de la unión indica que el paciente tiene o está en riesgo de desarrollar la enfermedad o trastorno neurológico. El compuesto puede ser un compuesto de Fórmula I. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8, el Compuesto 9 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8, el Compuesto 9 o el Compuesto 10. Por lo tanto, en el presente documento se proporcionan compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y composiciones para usar en métodos para determinar si un paciente tiene una enfermedad o trastorno neurológico que comprende detectar la presencia de una proteína diana detectable, o una masa acumulada de la misma, por ejemplo, proteína beta amiloide o proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de la misma, en un tejido o una muestra del paciente. La detección puede comprender poner en contacto la proteína diana con un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo descrito en el presente documento.

40 En algunas formas de realización, el paciente no presenta ningún síntoma de la enfermedad o trastorno a detectar. En algunas formas de realización, el paciente tiene uno o más síntomas de la enfermedad o trastorno a detectar.

45 En algunas formas de realización, el método comprende administrar a un paciente un compuesto descrito en el presente documento. En algunas formas de realización, la administración es intravenosa o está localizada en la retina del ojo. En algunas formas de realización, la administración es una inyección en bolo. En algunas formas de realización, la administración es tópica.

50 En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico se selecciona de una enfermedad o trastorno relacionado con la edad, una enfermedad o trastorno genético, una enfermedad o trastorno relacionado con una lesión y una enfermedad o trastorno psiquiátrico. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno relacionado con la edad se selecciona entre enfermedad de Parkinson, demencia vascular y esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad o trastorno genético es síndrome de Down, la enfermedad o trastorno relacionado con lesión se selecciona entre lesión cerebral traumática y encefalopatía traumática crónica, y la enfermedad o trastorno psiquiátrico se selecciona entre esquizofrenia y depresión. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es la enfermedad de Alzheimer o una lesión cerebral traumática (LCT).

55 En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es una enfermedad priónica. Por consiguiente, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para detectar la deposición de priones en un paciente. En determinadas formas de realización, la detección se realiza en la retina. En determinadas formas de realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

para su uso en un método para detectar la deposición de priones en la retina de un paciente, en el que el paciente puede presentar o no manifestaciones clínicas de una enfermedad o trastorno relacionado con el mismo, tal como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (p. ej., cambios de comportamiento, confusión, disfunción cognitiva, problemas de movimiento, alteraciones visuales, cifosis, ataxia, caminar de puntillas, etc.).

En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es angiopatía amiloide cerebral (AAC). La angiopatía amiloide cerebral (AAC) es una enfermedad del envejecimiento caracterizada por el depósito de amiloide dentro de las paredes de los vasos sanguíneos cerebrales. Por consiguiente, en determinadas formas de realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para detectar A β 340 en un paciente.

En determinadas formas de realización, la detección se realiza en la retina. En determinadas formas de realización, la detección diferencia entre las isoformas de A β , A β 40 y A β 42.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las FIGS. 1A-1C ilustran un espectro de RMN ^1H para el Compuesto 8.

Las FIG. 2A-2B ilustran un espectro de RMN ^1H para el Compuesto 9.

La FIG. 3 presenta las imágenes de retina *in vivo* utilizando el Compuesto 10 con un ratón antes y después de una ICC. Fila superior: Imagen de retina con el transcurso del tiempo de un ratón de 3 meses de edad pre-ICC después de la administración i.v. del Compuesto 10. El curso de tiempo etiquetado en la parte superior indica puntos de tiempo de imágenes de la retina *in vivo* antes ($t = 0$) y después de la administración i.v. de Compuesto 10. Fila inferior: formación de imágenes de retina en el transcurso del tiempo con Compuesto 10 del mismo ratón 24 horas después de la ICC.

FIG. 4 y FIG. 5 muestran imágenes de fluorescencia retiniana de ratones sin anclaje GPI presintomáticos (Figura 4) y terminales (Figura 5). Las imágenes se adquirieron en el sistema de imágenes de retina de roedor Phoenix Micron IV antes (preinyección, $t=0$) y después (post-inyección) de la administración sistémica del Compuesto 10. La parte iluminada en las imágenes indica áreas donde se observan depósitos de priones retinianos.

FIGS. 6A-6C muestran la tinción de depósitos de amiloide en el hipocampo de un paciente con enfermedad de Alzheimer familiar. Figura 6A) Tinción con el Compuesto 7. Figura 6B) Tinción con 6E10, un anticuerpo anti-A. Figura 6C) Imagen fusionada de A y B que muestra la tinción conjunta del Compuesto 7 con 6E10 (flechas blancas).

FIG. 7 muestra imágenes de retina *in vivo* e IHQ *ex vivo* de ratones después de la administración i.v. del Compuesto 10. Imágenes de retina de APPSwDI (10 meses, F), PSAPP (10 meses, F) o tipo salvaje (9 meses, F) en $t = 0$ (primera columna) o $t = 5$ minutos (segunda columna) después de la inyección i.v. con el Compuesto 10. Se obtuvieron imágenes de campo brillante (recuadro) o imágenes de fluorescencia de la retina usando el sistema de imágenes de retina de roedores Phoenix Micron IV. Última columna: IHQ *ex vivo* de retina teñida con una tinción nuclear DAPI o anticuerpo 6E10. El marcaje del Compuesto 7 proviene de la inyección *in vivo* con el Compuesto 10 (es decir, no se realizó tinción adicional). Cada canal se muestra individualmente y los tres canales se fusionaron para demostrar la co-localización del Compuesto 7 con 6E10. Las flechas blancas indican áreas donde se observan depósitos.

FIG. 8 muestra IHQ *ex vivo* de secciones de cerebro de ratones 15 minutos después de recibir una administración i.v. del Compuesto 10. Las secciones de cerebro se tiñeron con una tinción nuclear DAPI y 6E10. El etiquetado del Compuesto 7 proviene de la inyección con el Compuesto 10 *in vivo*. APPSwDI: las flechas blancas muestran depósitos de amiloide a lo largo de un vaso marcado con el Compuesto 7 y 6E10. PSAPP: marcaje de placas amiloides con el Compuesto 7 y 6E10 (flechas blancas).

FIG. 9 muestra la tinción *ex vivo* de tejido cerebral humano de cuatro pacientes diferentes diagnosticados con AAC y cuatro controles sanos. La tinción es la siguiente: azul = tinción nuclear DAPI, rojo = tinción 6E10, verde/amarillo = tinción con el Compuesto 7. Barra de escala = 50 μm . Las flechas blancas indican áreas donde se observa verde/amarillo.

FIG. 10 muestra la detección *in vivo* de depósitos de $\alpha\text{-syn}$ en la retina asociados con la enfermedad de Parkinson usando el modelo Línea 61.

FIG. 11 muestra tejido de retina extraído post mortem de ratones teñidos con DAPI y un anticuerpo SYN1.

FIG. 12 muestra que la administración del Compuesto 10 puede detectar de manera reproducible depósitos de $\alpha\text{-syn}$ en la retina en el mismo animal.

FIG. 13 muestra que la administración del Compuesto 10 puede detectar depósitos de $\alpha\text{-syn}$ en la retina a una dosis más baja de 3 mg/kg.

FIG. 14 muestra imágenes de ejemplo de la retina humana sana derecha.

FIG. 15 muestra imágenes de ejemplo de la retina humana izquierda sana.

5 FIG. 16 muestra imágenes de ejemplo de cada región de la retina derecha extraídas de un varón de 71 años diagnosticado con enfermedad de Parkinson (EP) teñidas con el Compuesto 7 y SYN-1 Ab (alfa-sinucleína).

FIG. 17 muestra imágenes de ejemplo de cada región de la retina izquierda extraídas de un varón de 71 años diagnosticado con enfermedad de Parkinson (EP) teñidas con el Compuesto 7 y SYN-1 Ab (alfa-sinucleína).

10 FIG. 18 muestra que el Compuesto 7 se colocaliza con SYN1 en los cuatro cuadrantes de un par de ojos con enfermedad de Parkinson.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

15 Definiciones

La siguiente descripción establece formas de realización ejemplares de la presente tecnología. Sin embargo, se debe reconocer que dicha descripción no pretende ser una limitación del alcance de la presente divulgación, sino que se proporciona como una descripción de formas de realización ejemplares.

Tal como se usan en la presente especificación, las siguientes palabras, frases y símbolos generalmente tienen el significado que se establece a continuación, excepto en la medida en que el contexto en el que se usan indique lo contrario.

25 Un guion (p. ej., "-" o "-") indica un enlace, que puede ser un punto de unión para un sustituyente. Por ejemplo, $-C(O)NH_2$ está unido a través del átomo de carbono. Los grupos químicos pueden representarse con o sin uno o más guiones sin perder su significado habitual. Una línea ondulada trazada a través de una línea en una estructura indica un punto de unión de un sustituyente o grupo.

30 El prefijo "C_{u-v}" indica que el siguiente grupo tiene de u a v átomos de carbono. Por ejemplo, "alquilo C₁₋₆" indica que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

La referencia a "acerca de" un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) formas de realización que están dirigidas a ese valor o parámetro *per se*. En determinadas formas de realización, el término "aproximadamente" incluye la cantidad indicada $\pm 10\%$. En otras formas de realización, el término "aproximadamente" incluye la cantidad indicada $\pm 5\%$. En ciertas otras formas de realización, el término "aproximadamente" incluye la cantidad indicada $\pm 1\%$. Además, el término "sobre X" incluye la descripción de "X". Además, las formas singulares "un" y "el" incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "el compuesto" incluye una pluralidad de dichos compuestos y la referencia a "el ensayo" incluye la referencia a uno o más ensayos y equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la técnica.

45 "Alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, representa una cadena lineal (es decir, no ramificada) o ramificada, o una combinación de las mismas, que puede estar completamente saturada, mono o poliinsaturada y puede incluir radicales di y multivalentes, que tienen el número de átomos de carbono designados (por ejemplo, C₁-C₁₀ significa de uno a diez carbonos). Los ejemplos de radicales hidrocarbonados saturados incluyen, entre otros, grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, (ciclohexil)metilo, homólogos e isómeros de, por ejemplo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo y similares.

50 "Alqueno" se refiere a un grupo alifático que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que tiene de 2 a 20 átomos de carbono (es decir, alqueno C₂₋₂₀), de 2 a 8 átomos de carbono (es decir, alqueno C₂₋₈), de 2 a 6 átomos de carbono (es decir, alqueno C₂₋₆), o de 2 a 4 átomos de carbono (es decir, alqueno C₂₋₄). Ejemplos de grupos alqueno incluyen etenilo, propenilo, butadienilo (incluidos 1,2-butadienilo y 1,3-butadienilo).

55 "Alquino" se refiere a un grupo alifático que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono y que tiene de 2 a 20 átomos de carbono (es decir, alquino C₂₋₂₀), de 2 a 8 átomos de carbono (es decir, alquino C₂₋₈), de 2 a 6 átomos de carbono (es decir, alquino C₂₋₆), o de 2 a 4 átomos de carbono (es decir, alquino C₂₋₄). El término "alquino" también incluye aquellos grupos que tienen un triple enlace y un doble enlace.

60 "Ariolo" se refiere a un grupo carbocíclico aromático que tiene un anillo único (por ejemplo, monocíclico) o anillos múltiples (por ejemplo, bicíclicos o tricíclicos) que incluyen sistemas condensados. Como se usa en el presente documento, ariolo tiene de 6 a 20 átomos de carbono en el anillo (es decir, ariolo C₆₋₂₀), de 6 a 12 átomos de carbono en el anillo (es decir, ariolo C₆₋₁₂) o de 6 a 10 átomos de carbono en el anillo (es decir, ariolo C₆₋₁₀). Ejemplos de grupos ariolo incluyen fenilo, naftilo, fluorenilo y antrilo. Ariolo, sin embargo, no abarca ni se superpone de ninguna manera con el heteroarilo definido a continuación. Si uno o más grupos ariolo están fusionados con un anillo heteroarilo, el sistema de anillos resultante es heteroarilo.

"Ciano" se refiere a -CN.

"Cicloalquilo" se refiere a un grupo alquilo, alqueno o alquino cíclico saturado o parcialmente insaturado que tiene un anillo único o anillos múltiples que incluyen sistemas de anillos condensados, con puentes y espiro. Cicloalquilo también se refiere a sistemas de anillos que incluyen múltiples anillos carbocíclicos fusionados entre sí en los que uno de los anillos fusionados es un anillo aromático pero el sistema de anillos no es completamente aromático. Como se usa en el presente documento, cicloalquilo tiene de 3 a 20 átomos de carbono en el anillo (es decir, cicloalquilo C₃₋₂₀), de 3 a 12 átomos de carbono en el anillo (es decir, cicloalquilo C₃₋₁₂), de 3 a 10 átomos de carbono en el anillo (es decir, cicloalquilo C₃₋₁₀), de 3 a 8 átomos de carbono en el anillo (es decir, cicloalquilo C₃₋₈), o de 3 a 6 átomos de carbono en el anillo (es decir, cicloalquilo C₃₋₆). Ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y ciclohexenilo.

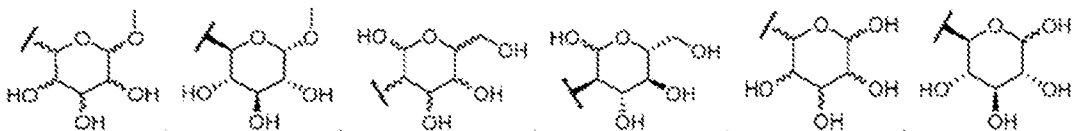
Los términos "halo" o "halógeno", por sí mismos o como parte de otro sustituyente, significan, a menos que se indique lo contrario, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

"Haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo ramificado o no ramificado como se define anteriormente, en el que uno o más átomos de hidrógeno están reemplazados por un halógeno. Por ejemplo, cuando un residuo alquilo está sustituido con más de un halógeno, se puede hacer referencia a él utilizando un prefijo correspondiente al número de restos de halógeno unidos. Dihaloalquilo y trihaloalquilo se refieren a alquilo sustituido con dos ("di") o tres ("tri") grupos halo, respectivamente, que pueden ser o no el mismo halógeno. Los ejemplos de haloalquilo incluyen, entre otros, difluorometilo (-CHF₂), trifluorometilo (-CF₃), fluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo y 3-bromopropilo.

"Heteroalquilo", por sí mismo o en combinación con otro término, significa, a menos que se indique lo contrario, una cadena lineal o ramificada que consta de al menos un átomo de carbono y al menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en N, O, S, P y Si, y en el que los átomos de N y S pueden opcionalmente estar oxidados y el N opcionalmente puede estar cuaternizado. El o los heteroátomos N, O, S, P y Si pueden incluirse en cualquier posición no terminal del grupo heteroalquilo o en la posición en la que está unido el grupo heteroalquilo. En la cadena puede haber dos o más heteroátomos consecutivos. Los ejemplos de heteroalquilo incluyen, entre otros, -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-CH₂-N(CH₃)-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃, -CH=CH-O-CH₃, -Si(CH₃)₃, -CH₂-CH=N-OCH₃, -CH=CH-N(CH₃)-CH₃, O-CH₃ y -O-CH₂-CH₃.

"Heteroarilo" se refiere a un grupo aromático, incluidos grupos que tienen un tautómero aromático o estructura de resonancia, que tienen un anillo único, anillos múltiples o anillos condensados múltiples, con uno o más heteroátomos en el anillo seleccionados independientemente de N, O y S, en los que los átomos de nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados, y el (los) átomo(s) de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. Como se usa en el presente documento, heteroarilo incluye de 3 a 20 átomos en el anillo (es decir, heteroarilo de 3 a 20 miembros), de 3 a 12 átomos en el anillo (es decir, heteroarilo de 3 a 12 miembros), o de 5 a 10 átomos en el anillo (es decir, heteroarilo de 5 a 10 miembros), y de 1 a 5 heteroátomos seleccionados independientemente entre N, O y S. El heteroarilo no abarca ni se superpone con arilo como se definió anteriormente. Un grupo heteroarilo puede unirse al resto de la molécula a través de un carbono o un heteroátomo. Los ejemplos no limitantes de grupos arilo y heteroarilo incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, triazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 2-fenil-4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-benzotiazolilo, purinilo, 2-bencimidazolilo, 5-indolilo, 1-isoquinolilo, 5-isoquinolilo, 2-quinoxalino, 5-quinoxalino, 3-quinolilo, 6-quinolilo, piridin-2(1H)-ona, piridazin-3(2H)-ona, pirimidin-4(3H)-ona, quinolin-2(1H)-ona, pirimidinilo, purinilo, piridilo, piridazinilo, benzotiazolilo y pirazolilo. Los sustituyentes para cada uno de los sistemas de anillos de arilo y heteroarilo mencionados anteriormente se seleccionan del grupo de sustituyentes aceptables que se describen a continuación.

El término "heterociclilo" significa una versión cíclica de "heteroalquilo". Además, para el heterociclilo, un heteroátomo puede ocupar la posición en la que el heterociclilo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, entre otros, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo y similares. Los ejemplos de heterociclilo incluyen, entre otros, tetrahidropirano, 1-(1,2,5,6-tetrahidropiridilo), 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-morfolinilo, 3-morfolinilo, tetrahidrofuran-2-ilo, tetrahidrofuran-3-ilo, tetrahidrotien-2-ilo, tetrahidrotien-3-ilo, 1-piperazinilo, 2-piperazinilo y similares. Los ejemplos de heterociclilo incluyen, entre otros, glucosa, manosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, galactosa y talosa. Los ejemplos de heterociclilo incluyen, entre otros:



y similares.

"Hidroxilo" e "hidroxi" se usan indistintamente y se refieren a -OH. "Oxo" se refiere a un doble enlace O, escrito como, por ejemplo, (=O) o (O). Cuando existen formas tautoméricas del compuesto, los grupos hidroxilo y oxo son intercambiables.

"Tiol" se refiere a -SH.

Un "arileno" y un "heteroarileno", solos o como parte de otro sustituyente, significan un radical divalente derivado de un arilo y heteroarilo, respectivamente.

Cada uno de los términos anteriores (por ejemplo, "alquilo", "heteroalquilo", "arilo" y "heteroarilo") puede incluir formas tanto sustituidas como no sustituidas del radical indicado.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "heteroátomo" o "heteroátomo de anillo" pretende incluir oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S), fósforo (P) y silicio (Si).

Se pueden utilizar ciertos nombres químicos alternativos de uso común. Por ejemplo, un grupo divalente tal como un grupo "alquilo" divalente, un grupo "arilo" divalente, etc., también puede denominarse grupo "alquilenilo" o grupo "alquilenilo", grupo "arileno" o un grupo "arilenilo", respectivamente. Además, a menos que se indique explícitamente lo contrario, cuando en el presente documento se hace referencia a combinaciones de grupos como un resto, por ejemplo, arilalquilo, el último grupo mencionado contiene el átomo mediante el cual el resto se une al resto de la molécula.

Los términos "opcional" u "opcionalmente" significan que el evento o circunstancia descrito posteriormente puede ocurrir o no, y que la descripción incluye casos en los que dicho evento o circunstancia ocurre y casos en los que no. Además, el término "opcionalmente sustituido" se refiere a uno o más átomos de hidrógeno en el átomo o grupo designado que pueden o no estar reemplazados por un resto distinto de hidrógeno.

Algunos de los compuestos existen como tautómeros. Los tautómeros están en equilibrio entre sí. Por ejemplo, los compuestos que contienen amida pueden existir en equilibrio con tautómeros de ácido imídico, y los compuestos que contienen carbonilo pueden existir en equilibrio con tautómeros de enol. Independientemente de qué tautómero se muestra, y de la naturaleza del equilibrio entre tautómeros, un experto en la técnica entiende que los compuestos comprenden todos los tautómeros. Por tanto, se entiende que los compuestos que contienen amida incluyen sus tautómeros de ácido imídico. Asimismo, se entiende que los compuestos que contienen ácido imídico incluyen sus tautómeros de amida.

Cualquier fórmula o estructura proporcionada en el presente documento también pretende representar formas no marcadas, así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en este documento, excepto que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa seleccionado. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a los compuestos de la divulgación incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como, entre otros, ^2H (deuterio, D), ^3H (tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl y ^{125}I . Diversos compuestos marcados isotópicamente de la presente divulgación, por ejemplo, aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos como ^3H , ^{13}C y ^{14}C . Dichos compuestos marcados isotópicamente pueden ser útiles en estudios metabólicos, estudios cinéticos de reacción, técnicas de detección o de obtención de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), incluidos ensayos de distribución de fármacos o sustratos en tejido o en el tratamiento radiactivo de pacientes.

La divulgación también incluye análogos deuterados de compuestos de Fórmula I en los que 1 a n hidrógenos unidos, por ejemplo, a un átomo de carbono, se reemplazan por deuterio, en la que n es el número de hidrógenos en la molécula. Dichos compuestos pueden presentar una mayor resistencia al metabolismo y pueden ser útiles para aumentar la vida media de cualquier compuesto de Fórmula I cuando se administra a un mamífero, particularmente a un ser humano. Véase, por ejemplo, Foster, "Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism", Trends Pharmacol. Science. 5(12):524-527 (1984). Dichos compuestos se sintetizan por medios bien conocidos en la técnica, por ejemplo, empleando materiales de partida en los que uno o más hidrógenos han sido reemplazados por deuterio.

Los compuestos de la divulgación marcados o sustituidos con deuterio pueden tener propiedades DMPK (metabolismo y farmacocinética de fármacos) mejoradas, relacionadas con la distribución, el metabolismo y la excreción (ADME). La sustitución con isótopos más pesados tales como el deuterio puede proporcionar ciertas ventajas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor vida media *in vivo*, requisitos de dosificación reducidos y/o una mejora en el índice terapéutico. Un compuesto marcado con ^{18}F puede resultar útil para estudios PET o SPECT. Los compuestos marcados isotópicamente de esta divulgación y sus profármacos generalmente se pueden preparar llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas o en los ejemplos y preparaciones descritos a continuación

sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente disponible por un reactivo no marcado isotópicamente. Se entiende que en este contexto el deuterio se considera un sustituyente en los compuestos descritos en el presente documento.

La concentración de dicho isótopo más pesado, específicamente el deuterio, puede definirse mediante un factor de enriquecimiento isotópico. En los compuestos de esta divulgación, cualquier átomo no designado específicamente como un isótopo particular pretende representar cualquier isótopo estable de ese átomo. A menos que se indique lo contrario, cuando una posición se designa específicamente como "H" o "hidrógeno", se entiende que la posición tiene hidrógeno en su composición isotópica de abundancia natural. En consecuencia, en los compuestos de esta divulgación cualquier átomo específicamente designado como deuterio (D) pretende representar deuterio.

En algunas formas de realización, los compuestos son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos.

También se proporcionan sales, hidratos, farmacéuticamente aceptables, solvatos, formas tautoméricas, polimorfos y profármacos de los compuestos descritos en el presente documento. "Farmacéuticamente aceptable" o "fisiológicamente aceptable" se refieren a compuestos, sales, composiciones, formas de dosificación y otros materiales que son útiles para preparar una composición farmacéutica que sea adecuada para uso farmacéutico veterinario o humano.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto dado se refiere a sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades del compuesto dado, y que no son biológicamente o de otro modo indeseables. Las "sales farmacéuticamente aceptables" o "sales fisiológicamente aceptables" incluyen, por ejemplo, sales con ácidos inorgánicos y sales con ácidos orgánicos. Además, si los compuestos descritos en el presente documento se obtienen como una sal de adición de ácido, la base libre se puede obtener basificando una solución de la sal de ácido. Por lo contrario, si el producto es una base libre, se puede producir una sal de adición, particularmente una sal de adición farmacéuticamente aceptable, disolviendo la base libre en un disolvente orgánico adecuado y tratando la solución con un ácido, de acuerdo con procedimientos convencionales para preparar sales de adición de ácido de compuestos básicos. Los expertos en la técnica reconocerán diversas metodologías sintéticas que pueden usarse para preparar sales de adición no tóxicas y farmacéuticamente aceptables. Se pueden preparar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos. Las sales derivadas de ácidos inorgánicos incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Las sales derivadas de ácidos orgánicos incluyen ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares. Asimismo, se pueden preparar sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables a partir de bases orgánicas e inorgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen, sólo a modo de ejemplo, sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, entre otras, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, tales como alquilaminas (es decir, $\text{NH}_2(\text{alquil})$), dialquilaminas (es decir, $\text{HN}(\text{alquil})_2$), trialquilaminas (es decir, $\text{N}(\text{alquil})_3$), alquenilaminas (es decir, $\text{NH}_2(\text{alquenil})$), dialquenilaminas (es decir, $\text{HN}(\text{alquenil})_2$), trialquenilaminas (es decir, $\text{N}(\text{alquenil})_3$), mono-, di- o tricicloalquilaminas (es decir, $\text{NH}_2(\text{cicloalquilo})$, $\text{HN}(\text{cicloalquil})_2$, $\text{N}(\text{cicloalquil})_3$), mono-, di- o triarilaminas (es decir, $\text{NH}_2(\text{arilo})$, $\text{HN}(\text{arilo})_2$, $\text{N}(\text{arilo})_3$), o alquil, alquenil, cicloalquil y/o arilaminas mixtas. Ejemplos específicos de aminas adecuadas incluyen, sólo a modo de ejemplo, diisopropilamina, trietilamina, dietilamina, tri(isopropil)amina, tri(n-propil)amina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, piperazina, piperidina, morfolina, N-etilpiperidina y similares.

El término "sustituido" significa que uno o más átomos de hidrógeno en el átomo o grupo designado se reemplazan con uno o más sustituyentes distintos del hidrógeno, siempre que no se exceda la valencia normal del átomo designado. A menos que se indique lo contrario, uno o más sustituyentes pueden ser cualquier sustituyente proporcionado en el presente documento, o una combinación de los mismos. Los polímeros o estructuras indefinidas similares a las que se llega definiendo sustituyentes con sustituyentes adicionales añadidos hasta el infinito (por ejemplo, un arilo sustituido que tiene un alquilo sustituido que a su vez está sustituido con un grupo arilo sustituido, que además está sustituido con un grupo heteroalquilo sustituido, etc.) no se destinan a ser incluidos en este documento.

Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones farmacéuticas. También se pueden incorporar ingredientes activos suplementarios a las composiciones.

Un "solvato" se forma por la interacción de un disolvente y un compuesto. También se proporcionan solvatos de sales de los compuestos descritos en el presente documento. También se proporcionan hidratos de los compuestos descritos en el presente documento.

"Profármaco" se refiere a cualquier compuesto que, cuando se administra a un sistema biológico, genera un compuesto original, como resultado de reacciones químicas espontáneas, reacciones químicas catalizadas por enzimas, fotólisis y/o

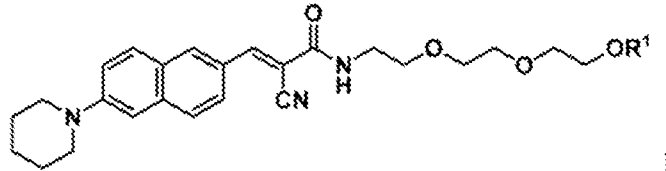
reacciones químicas metabólicas. Por tanto, un profármaco es un análogo modificado covalentemente o una forma latente de un compuesto original biológicamente activo. En algunas formas de realización, el compuesto original es el Compuesto 7.

5 **Compuestos**

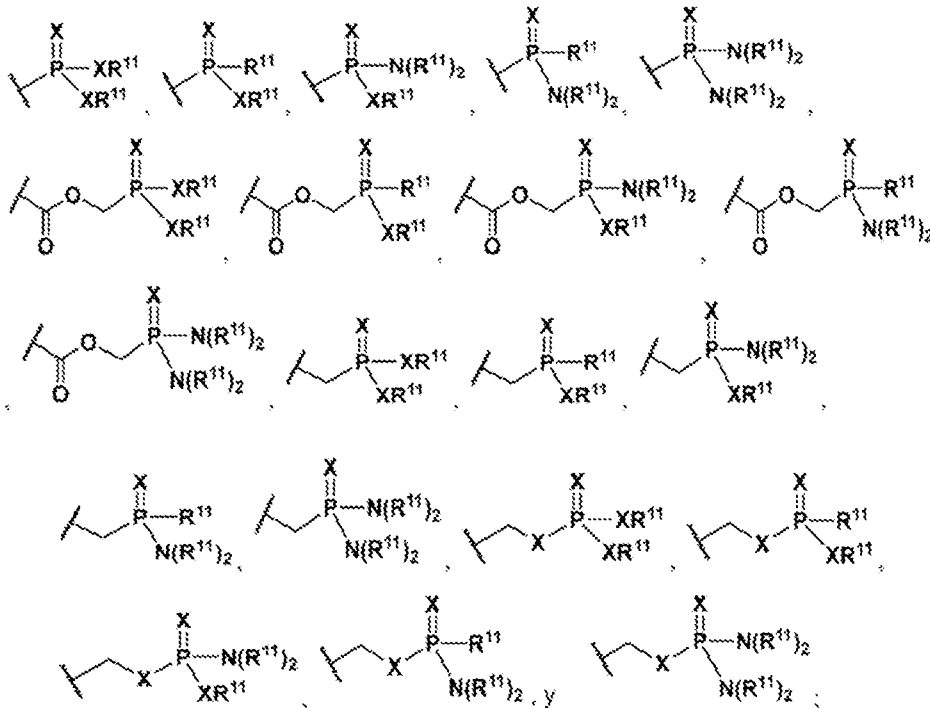
La presente divulgación proporciona compuestos útiles en la detección y tratamiento de enfermedades y trastornos neurológicos. Los compuestos descritos en el presente documento pueden ser útiles en la detección de una enfermedad o trastorno en un paciente, la detección para identificar pacientes en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno, el diagnóstico de una enfermedad o trastorno, o el seguimiento de una enfermedad o trastorno. Los compuestos de la presente divulgación pueden actuar como profármacos y, por tanto, la referencia a un compuesto descrito en el presente documento pretende incluir metabolitos y compuestos originales formados tras la administración del compuesto al paciente.

15 Debido a la escasa solubilidad en agua y al gran tamaño de partícula de compuestos como el Compuesto 7, se investigaron derivados profármacos de estos compuestos. Se descubrió que los profármacos de fosfato del Compuesto 7 presentaban ventajas en cuanto a solubilidad y reducción de la cristalinidad. Específicamente, se encontró que la solubilidad en agua aumentaba tras la adición de un grupo funcional fosfato al Compuesto 7. Se encontró que el grupo funcional fosfato se escinde en el cuerpo mediante fosfatasa, lo que resulta en la liberación del compuesto original.

El compuesto puede ser un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en la que R¹ se selecciona de



60 cada X es independientemente O o S;

65 cada R¹¹ se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros y heterociclilo de 4 a 10 miembros; en donde el alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterociclilo están opcionalmente sustituidos con uno a cuatro R²¹; o cada XR¹¹ independientemente es -XP(X)(R¹²)₂;

cada R¹² se selecciona independientemente entre hidroxil, tiol, -XP(X)(R¹³)₂, alquilo C₁₋₁₀, -O-alquilo C₁₋₁₀ y -S-alquilo C₁₋₁₀;

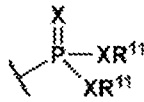
5 cada R¹³ se selecciona independientemente entre hidroxil, tiol, alquilo C₁₋₁₀, -O-alquilo C₁₋₁₀ y -S-alquilo C₁₋₁₀;

10 cada R²¹ se selecciona independientemente de halo, hidroxil, tiol, -NO₂, -N₃, ciano, alquilo C₁₋₁₀, alquenoilo C₂₋₆, alquinoilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₀, haloalquilo C₁₋₈, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 4 a 10 miembros, -O-alquilo C₁₋₁₀, -O-alquenoilo C₂₋₆, -O-alquinoilo C₂₋₆, -O-cicloalquilo C₃₋₁₀, -O-C₁₋₈ haloalquilo, -O-arilo, -O-heteroarilo, -O-heterociclilo, -NH₂, -NH(R³¹), -N(R³¹)₂, -C(O)(R³¹), -C(O)O(R³¹), -C(O)OH, -C(O)NH₂, -C(O)NH(R³¹), -C(O)N(R³¹)₂, -NHC(O)(R³¹), -NHC(O)O(R³¹), -NHC(O)NH(R³¹), -S(R³¹), -NHS(O)_y(R³¹), -N(alquilo C₁₋₁₀)S(O)_y(R³¹), -S(O)_yN(R³¹)₂, -S(O)NH(R³¹) y -S(O)_y(R³¹);

15 cada R³¹ se selecciona independientemente entre alquilo C₁₋₁₀, alquenoilo C₂₋₆, alquinoilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₀, haloalquilo C₁₋₈, arilo, heteroarilo y heterociclilo; y

cada y es independientemente 1 o 2.

20 En algunas formas de realización, R¹ es



25 En algunas formas de realización, cada X es independientemente O.

En algunas formas de realización, R¹ es



35 en donde cada uno de X¹, X², y X³ es independientemente O o S.

En algunas formas de realización, R¹ es



En algunas formas de realización, cada R¹¹ es independientemente hidrógeno.

45 En algunas formas de realización, R¹ es



En algunas formas de realización, el compuesto es una sal monobásica.

55 En algunas formas de realización, el compuesto es una sal dibásica.

En algunas formas de realización, el compuesto es una sal seleccionada de sal de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio o zinc.

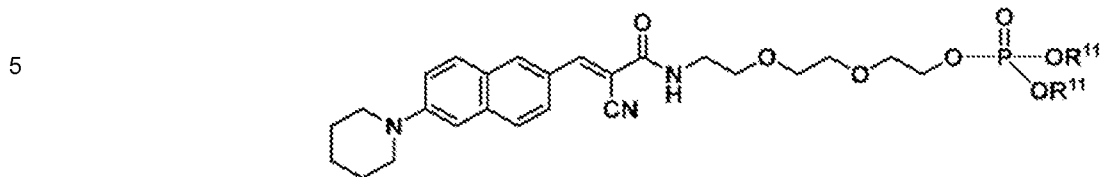
60 En algunas formas de realización, el compuesto es una sal de sodio.

En algunas formas de realización, el compuesto es una sal de potasio.

En algunas formas de realización, el compuesto es una sal de amonio. En algunas formas de realización, el compuesto es una sal de diamonio.

65

En algunas formas de realización, el compuesto de fórmula I es

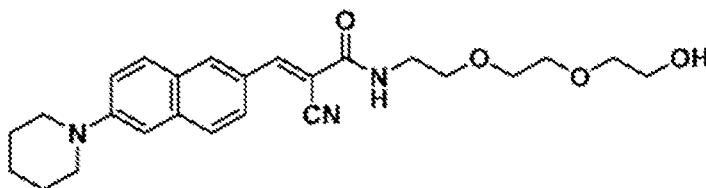


10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7:

15



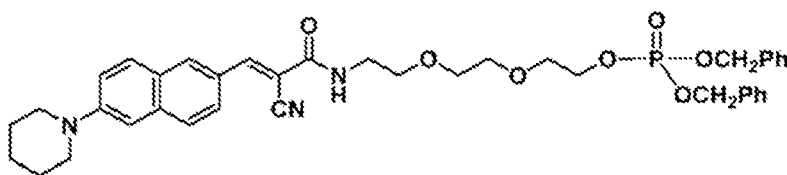
20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25

En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 8:

30

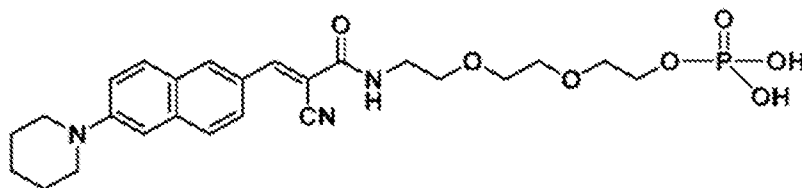


35

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 9:

40

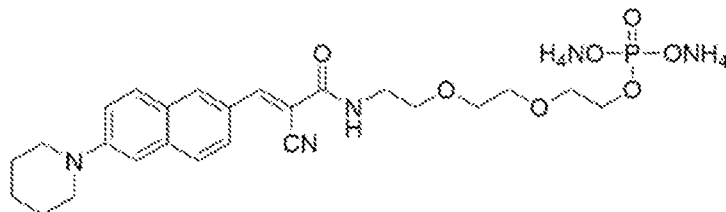


45

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, la sal es la sal de diamonio. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 10:

50

55



60

Síntesis general

Los compuestos de la divulgación se pueden preparar usando los métodos divulgados en el presente documento y modificaciones rutinarias de los mismos que serán evidentes dada la divulgación en el presente documento y los métodos bien conocidos en la técnica. Se pueden usar métodos sintéticos convencionales y bien conocidos además de las enseñanzas del presente documento. La síntesis de compuestos típicos de fórmula (I), por ejemplo, compuestos que

65

tienen estructuras descritas, por ejemplo, por la fórmula (I) o compuestos descritos en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se puede realizar como se describe en los ejemplos y como se conoce en la técnica.

5 Se pueden sintetizar formas de realización típicas de compuestos de acuerdo con la presente divulgación usando los esquemas de reacción y/o ejemplos que se describen a continuación. Será evidente dada la descripción en el presente documento que los esquemas pueden alterarse mediante la sustitución de los materiales con otros materiales que tengan estructuras similares para dar como resultado productos que sean correspondientemente diferentes. A continuación, se describen descripciones de síntesis para proporcionar ejemplos de cómo pueden variar los pasos para proporcionar los productos deseados. Las etiquetas de grupo (p. ej., R¹) utilizadas en los esquemas de reacción del presente documento tienen fines ilustrativos únicamente y, a menos que se especifique lo contrario, no necesariamente coinciden por nombre o función con las etiquetas utilizadas en otros lugares para describir compuestos de fórmula (I), o aspectos o fragmentos de los mismos.

15 Se apreciará que cuando se dan las condiciones del proceso (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, disolventes, presiones, etc.), también se pueden usar otras condiciones del proceso a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactivos o disolventes particulares utilizados, pero un experto en la técnica puede determinar dichas condiciones mediante procedimientos de optimización de rutina. Además, como resultará evidente para los expertos en la técnica, pueden ser necesarios grupos protectores convencionales para evitar que ciertos grupos funcionales experimenten reacciones no deseadas. Son bien conocidos en la técnica los grupos protectores adecuados para diversos grupos funcionales, así como las condiciones adecuadas para proteger y desproteger grupos funcionales particulares. Por ejemplo, se describen numerosos grupos protectores en T. W. Greene y G. M. Wuts (1999) *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3ª edición, Wiley, Nueva York, y las referencias allí citadas.

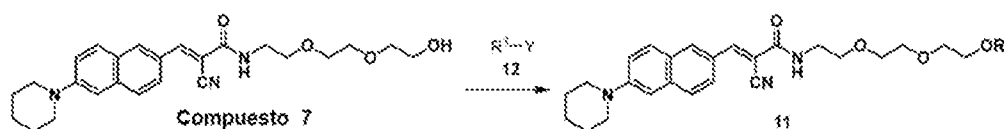
25 Los materiales y reactivos para las siguientes reacciones son compuestos generalmente conocidos o pueden prepararse mediante procedimientos conocidos o modificaciones obvias de los mismos. Por ejemplo, muchos de los materiales de partida están disponibles en proveedores comerciales tales como Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, EE. UU.). Otros pueden prepararse mediante procedimientos o modificaciones obvias de los mismos, descritos en textos de referencia estándar como Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, volúmenes 1-15 (John Wiley, and Sons, 1991), Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, volúmenes 1-5 y Suplementarios (Elsevier Science Publishers, 1989) Organic Reactions, volúmenes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991), March's Advanced Organic Chemistry (John Wiley and Sons, 5.ª edición, 2001) y Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989).

35 El Esquema 1 muestra una ruta sintética ejemplar para la síntesis de compuestos proporcionados en el presente documento (por ejemplo, compuestos de Fórmula I). Los compuestos de Fórmula I, por ejemplo, el compuesto 11 u otras fórmulas o compuestos descritos en el presente documento, se pueden preparar proporcionando primero el compuesto 7 y luego uniendo los sustituyentes R¹ deseados usando condiciones adecuadas (por ejemplo, desplazamiento nucleofílico). En el Esquema 1, R¹ es como se define en el presente documento, mientras que Y es un grupo saliente adecuado.

40

Esquema 1

45



50 En el Esquema 1, el compuesto 7 se hace reaccionar con el compuesto 12 en condiciones de desplazamiento nucleofílico (por ejemplo, usando una base) en un disolvente adecuado (por ejemplo, THF, DMF, etc.), opcionalmente bajo una atmósfera inerte, para proporcionar el compuesto 11. En algunos casos, el compuesto 7 se desprotona usando una base, tal como hidruro de sodio o butillitio, y luego se pone en contacto con el compuesto 12. La reacción se puede realizar a una temperatura de aproximadamente -78 a 0 °C, durante aproximadamente 5 minutos para aproximadamente 1 hora, o a una temperatura de aproximadamente 0 a 50 °C, durante aproximadamente 1 hora a aproximadamente 12 horas. Cuando la reacción se completa sustancialmente, el compuesto producto 11 se aísla por medios convencionales.

55

Proteínas diana detectables

60 Un compuesto descrito en el presente documento puede ser útil para detectar o tratar una enfermedad o trastorno neurológico. En este sentido, un compuesto descrito en el presente documento puede ser un profármaco. Por tanto, un compuesto descrito en el presente documento puede convertirse en un compuesto original a través de una vía química o enzimática y el compuesto original puede a su vez ser útil para detectar o tratar una enfermedad o trastorno neurológico.

65 Muchas enfermedades neurológicas, incluidas enfermedades neurodegenerativas y trastornos relacionados con lesiones, pueden detectarse mediante los compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en los métodos

descritos en el presente documento. La enfermedad o trastorno neurológico puede caracterizarse por ciertos péptidos, proteínas o masa acumulada de proteínas, descritas en el presente documento como proteínas detectables. La proteína detectable, o la masa acumulada de la misma, puede comprender, por ejemplo, proteína beta amiloide o proteína tau fosforilada. La proteína beta amiloide o la proteína tau fosforilada se pueden detectar poniéndolas en contacto con un compuesto, como se describe en el presente documento. Generalmente, los compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables y los métodos descritos en el presente documento son útiles para la detección de proteína beta amiloide o proteína tau fosforilada, o masa acumulada de las mismas, en un tejido o una muestra del paciente. Tal presencia de proteína beta amiloide o proteína tau fosforilada se puede detectar con compuestos que se unen a la proteína beta amiloide o proteína tau fosforilada, cuya unión luego se puede detectar.

La proteína beta amiloide (A β) es un polipéptido que generalmente contiene aproximadamente 40 residuos de aminoácidos, por ejemplo, aproximadamente 36-43, aproximadamente 39-43 o aproximadamente 40-42 residuos de aminoácidos. Las isoformas incluyen A β (1-40) y A β (1-42). En algunas formas de realización, A β es A β (1-42). Se cree que A β se produce mediante escisión enzimática de una proteína precursora más grande, la proteína precursora de beta-amiloide (APP), que está codificada por un gen en el cromosoma 21 humano. Las isoformas de APP incluyen NP_000475.1, NP_001129488.1, NP_001129601.1, NP_001129602.1, NP_001129603.1, NP_001191230.1, NP_001191231.1, NP_001191232.1, NP_958816.1 y NP_958817.1. Se cree que A β se genera por la acción de las enzimas y secretasas en APP. Se ha encontrado A β en depósitos, por ejemplo, placas, en el cerebro de individuos que padecen la enfermedad de Alzheimer. Se cree que A β participa en la patogénesis de enfermedades neurológicas. También se cree que A β es tóxico para las células nerviosas.

La proteína que se detecta mediante un compuesto de la divulgación incluye péptido beta amiloide (A β), péptido priónico (PrP), alfa-sinucleína, IAPP (amilina), Huntingtina, calcitonina (ACal), factor natriurético auricular (AANF), apolipoproteína A1 (ApoA1), amiloide A sérico (SAA), medin (AMed), prolactina (APro), transtiretina (ATTR), lisozima (ALys), beta 2 microglobulina (A β 2M), gelsolina (AGel), queratopitelina (Aker), cistatina (ACys), cadena ligera de inmunoglobulina AL (AL), S-IBM o superóxido dismutasa. En algunas formas de realización, el péptido amiloide detectado es un péptido A, un péptido priónico, alfa-sinucleína o superóxido dismutasa.

La "proteína tau asociada a microtúbulos", "MAPT", "proteína tau" o "tau" son una familia de proteínas que estabilizan los microtúbulos durante el ensamblaje y desmontaje, y se clasifican como proteínas asociadas a microtúbulos (MAP). Las secuencias de isoformas de Tau incluyen NP_001116538.2, NP_001116539.1, NP_001190180.1, NP_001190181.1, NP_005901.2, NP_058518.1, NP_058519.3 y NP_058525.1. Las proteínas tau son importantes en la estabilización y ensamblaje de los microtúbulos y, a su vez, afectan el transporte intraneuronal de cargas. Tau también puede estar involucrada en vías de señalización al interactuar con actina a través de terminales N ácidos, proyectándose desde microtúbulos para el crecimiento de neuritas y la estabilización durante el desarrollo del cerebro. Una proteína tau como se proporciona en el presente documento puede comprender cualquier isoforma o cualquier combinación de isoformas. Las transcripciones MAPT se expresan diferencialmente en el sistema nervioso, según la etapa de maduración neuronal y el tipo de neurona. Las mutaciones del gen MAPT se han asociado con varios trastornos neurológicos como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Pick, la demencia frontotemporal, la degeneración corticobasal y la parálisis supranuclear progresiva. La proteína tau puede incluir o no modificaciones postraduccionales. La familia de proteínas tau se caracteriza por un segmento N-terminal compartido por todos los miembros, secuencias de ~50 aminoácidos insertados en el segmento N-terminal, que están regulados por el desarrollo en el cerebro, una región de repetición en tándem característica que consta de 3 o 4 repeticiones en tándem de 31-32 aminoácidos y una cola C-terminal.

El gen tau humano se encuentra en el brazo largo del cromosoma 17 en la posición 17q21. Se cree que el gen contiene 16 exones, con el exón 21 como parte del promotor. La transcripción primaria de tau contiene 13 exones y los exones 4A, 6 y 8 no se transcriben en humanos. Los exones 21 y 14 se transcriben, pero no se traducen. Los exones 1, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13 son constitutivos, y los exones 2, 3 e 10 se empalman alternativamente, dando lugar a seis ARNm diferentes, traducidos en seis isoformas de tau diferentes. Estas isoformas se diferencian por la ausencia o presencia de una o dos repeticiones de 29 aminoácidos (0N, 1N o 2N) codificadas por los exones 2 y 3 en la parte amino terminal, en combinación con tres repeticiones de unión a microtúbulos (R1, R3 y R4) o cuatro (R1-R4) regiones repetidas en la parte carboxi terminal. El cuarto dominio de unión a microtúbulos está codificado por el exón 10. Se sabe que existen seis isoformas de la proteína tau en el tejido cerebral humano: (2+3+10+) isoforma (que tiene 441-aminoácidos), (2+3+10-) isoforma (que tiene 410-aminoácidos), (2+3-10+) isoforma (que tiene 412-aminoácidos), (2+3-10-) isoforma (que tiene 381-aminoácidos), (2-3-10+) isoforma (que tiene 383-aminoácidos) y (2-3-10-) isoforma (que tiene 352-aminoácidos). La tau puede ser una tau mutante. La mutación puede ser una mutación FTDP-17. Ejemplos de mutaciones incluyen G272V, N279K, N296, P201L, P301S, G303V, S305N, L315R, S320F, P332L, V337M, E342V, S352L, K369I, G389R, R5H, R5L, K257T, I260V, L266V, G272V, delK280, N296H, N296N, delN296, P301L, P301S, K317M, G335V, Q336R, R406W y R427M.

"Proteína tau fosforilada" o "tau fosforilada" es una proteína tau que tiene al menos un residuo de aminoácido modificado por un grupo fosfato. Se cree que Tau incluye hasta 85 residuos de aminoácidos compatibles con la fosforilación. Generalmente, el grupo fosfato es una modificación postraducciona y puede estar unido a una cadena lateral de un residuo de aminoácido. El residuo de aminoácido fosforilado puede ser, por ejemplo, un residuo de serina (S), treonina (T) o tirosina (Y), o una combinación de los mismos. Una proteína tau fosforilada puede incluir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,

11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 40 o al menos 50 moles de fosfato por mol de proteína. Una proteína tau fosforilada puede incluir al menos 3 moles de fosfato por mol de proteína. Una proteína tau fosforilada puede incluir uno o más residuos de aminoácidos fosforilados seleccionados de Thr39, Ser46Pro, Thr50Pro, Thr69Pro, Thr153Pro, Thr175Pro, Thr181Pro, Ser198, Ser199, Ser202Pro, Thr205Pro, Ser208, Ser210, Thr212Pro, Ser214, Thr217Pro, 231Pro, Ser235Pro, Ser237, Ser241, Ser262, Ser285, Ser305, Ser324, Ser352, Ser356, Ser396Pro, Ser400, Thr403, Ser404Pro, Ser409, Ser412, Ser413, Ser416 y Ser422Pro. La proteína tau fosforilada puede incluir Ser422 fosforilada. Una proteína tau fosforilada como se proporciona en el presente documento puede agregarse o no agregarse. Una proteína tau fosforilada como se proporciona en el presente documento puede ser soluble. Una proteína tau, o una proteína tau fosforilada, puede ser una tau de tres repeticiones, una tau de cuatro repeticiones o una combinación de las mismas. En algunas formas de realización, una proteína tau, o una proteína tau fosforilada, puede comprender una mezcla de tau de tres repeticiones y tau de cuatro repeticiones en la que la tau de cuatro repeticiones es más frecuente. En algunas formas de realización, una proteína tau, o una proteína tau fosforilada, puede comprender una mezcla de tau de tres repeticiones y tau de cuatro repeticiones en la que la tau de tres repeticiones es más frecuente. La proteína tau fosforilada puede ser fibrilar, por ejemplo, como un ovillo neurofibrilar (NFT). La NFT se puede encontrar en los compartimentos somatodendríticos de las neuronas.

"Contactar" se utiliza de acuerdo con su significado ordinario y se refiere al proceso de permitir que al menos dos especies distintas (por ejemplo, compuestos químicos que incluyen biomoléculas o células) se acerquen lo suficiente para interactuar. El término "poner en contacto" puede incluir permitir que dos especies moleculares reaccionen o se toquen físicamente, donde las dos especies pueden ser, por ejemplo, un compuesto como se describe en el presente documento, una biomolécula, una proteína o una enzima. En algunas formas de realización, el contacto incluye permitir que un compuesto descrito en el presente documento interactúe con una proteína (p. ej., proteína A β o una proteína tau fosforilada) o enzima.

Por lo tanto, de acuerdo con algunas formas de realización de la presente divulgación, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para determinar si un paciente tiene una enfermedad o trastorno neurológico. El método implica detectar la presencia de una proteína beta amiloide o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de las mismas, en un tejido o una muestra del paciente poniendo en contacto el tejido o la muestra del paciente con un compuesto descrito en el presente documento. El contacto puede ser *in vivo* o *ex vivo*. El contacto puede ser mediante administración, por ejemplo, administración tópica o intravenosa, del compuesto a un paciente.

En otra forma de realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en un método para preparar a un paciente para el diagnóstico de una enfermedad o trastorno neurológico, que comprende administrar al paciente el compuesto o sal descrito en el presente documento y unirse a una proteína beta amiloide o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de la misma. El compuesto puede administrarse por vía intravenosa. Una vez que el compuesto se administra al paciente, su unión y/o la unión de un compuesto original a la proteína beta amiloide o la proteína tau fosforilada, o la masa acumulada de la misma, se puede detectar con cualquier método, incluidos los métodos descritos en el presente documento. En algunas formas de realización, la unión indica una probabilidad de que el paciente tenga una enfermedad o trastorno neurológico.

Enfermedades y trastornos neurológicos y su tratamiento

En algunas formas de realización, la divulgación proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en un método para determinar la presencia o ausencia de una enfermedad o trastorno neurológico en un paciente. En algunas formas de realización, el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento, o una composición farmacéutica del mismo. El compuesto puede ser un compuesto de Fórmula I. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8 o el Compuesto 9. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8, el Compuesto 9 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 10. En algunas formas de realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en un método para determinar si un paciente tiene una enfermedad o trastorno neurológico, que comprende administrar al paciente el compuesto, o la composición farmacéutica. En algunas formas de realización, el compuesto o la sal se administra por vía intravenosa. En algunas formas de realización, el compuesto o la sal se administra al ojo del paciente. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es una enfermedad o trastorno caracterizado por agregación de proteínas o mal plegamiento de proteínas.

También se proporciona en el presente documento un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para determinar si un paciente tiene una enfermedad o trastorno neurológico, que comprende detectar la presencia de una proteína beta amiloide o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de la misma, en un tejido o una muestra del paciente en el que la detección comprende poner en contacto el tejido o la muestra con el compuesto o sal descrito en el presente documento. El compuesto puede ser un compuesto de Fórmula I. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8 o el Compuesto 9. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8, el Compuesto 9 o una sal farmacéuticamente aceptable

de los mismos. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 10. El contacto puede ser *in vivo*. El tejido puede ser un tejido ocular. La muestra puede ser una muestra de orina.

5 En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico se selecciona de una enfermedad o trastorno relacionado con la edad, una enfermedad o trastorno genético, una enfermedad o trastorno relacionado con una lesión y una enfermedad o trastorno psiquiátrico. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno relacionado con la edad se selecciona entre enfermedad de Parkinson, demencia vascular y esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad o trastorno genético es síndrome de Down, la enfermedad o trastorno relacionado con lesión se selecciona entre lesión cerebral traumática y encefalopatía traumática crónica, y la enfermedad o trastorno psiquiátrico se selecciona entre esquizofrenia y depresión. La enfermedad o trastorno neurológico puede ser una tauopatía. En algunas formas de
10 realización, la enfermedad o trastorno neurológico es la enfermedad de Alzheimer o una lesión cerebral traumática (LCT).

15 La enfermedad o trastorno neurológico puede ser una tauopatía. Las tauopatías son una clase de enfermedades neurológicas asociadas con la agregación patológica de la proteína tau en ovillos neurofibrilares o gliofibrilares en el cerebro humano. Se pueden formar ovillos por hiperfosforilación de tau, lo que hace que la proteína tau se disocia de los microtúbulos y forme agregados en forma insoluble. Las agregaciones de proteína tau hiperfosforilada también pueden denominarse filamentos helicoidales pares. El mecanismo preciso de la formación de ovillos no se comprende completamente y todavía es controvertido si los ovillos son un factor causante principal de la enfermedad o desempeñan un papel más periférico. La tauopatía se ha encontrado en muchos trastornos neurológicos, como la degeneración
20 postraumática, las infecciones, las enfermedades metabólicas y la degeneración de las neuronas motoras. La distribución espacial, la apariencia temporal y los cambios estructurales de las proteínas tau se manifiestan de manera diferente entre las distintas enfermedades neurológicas. Los pacientes con EA tienen filamentos tau retorcidos, hiperfosforilados y únicos no periódicos, mientras que los pacientes con parálisis supranuclear progresiva y demencia frontotemporal (DFT) tienden a tener sólo filamentos tau rectos. Las tauopatías a menudo se superponen con las sinucleinopatías, posiblemente debido a la interacción entre la sinucleína y las proteínas tau. Las tauopatías no relacionadas con el Alzheimer a veces se agrupan como "complejo de Pick" debido a su asociación con la demencia frontotemporal o la degeneración del lóbulo frontotemporal. Un marcador de hiperfosforilación de tau es tau pS422. La encefalopatía traumática crónica (ETC) se asocia con lesiones cerebrales traumáticas leves (mTBI) repetitivas y tiene muchas similitudes con las tauopatías, incluida la hiperfosforilación y la agregación de tau, por ejemplo, como ovillos neurofibrilares (NFT).
25 30

35 En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico se selecciona de tauopatía primaria relacionada con la edad (TPRE), demencia senil con predominio de ovillos neurofibrilares, encefalopatía traumática crónica (ETC), parálisis supranuclear progresiva (PSP), degeneración corticobasal (CBD), demencia frontotemporal y parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (FTDP-17), enfermedad de Lytico-bodig (complejo Parkinson-demencia de Guam), ganglioglioma, gangliocitoma, meningioangiomas, parkinsonismo postencefalítico, panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE), encefalopatía por plomo, esclerosis tuberosa, pantotenato quinasa asociada neurodegeneración y lipofuscinosis.

40 La enfermedad o trastorno neurológico puede ser una enfermedad o trastorno neurodegenerativo. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es la enfermedad de Alzheimer (EA). La EA puede clasificarse como una tauopatía secundaria. La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por síntomas de pérdida de memoria en las primeras etapas de la enfermedad. Los ovillos neurofibrilares fueron uno de los primeros descriptores de la EA. Cuando tau se hiperfosforila, la proteína se disocia de los microtúbulos de los axones. A continuación, tau puede plegarse mal y comenzar a agregarse, lo que puede formar ovillos neurofibrilares (NFT). Los microtúbulos también se desestabilizan cuando se disocia tau, y la combinación de ovillos neurofibrilares y microtúbulos desestabilizados da como resultado la
45 interrupción de procesos como el transporte axonal y la comunicación neuronal. El grado de participación de NFT en la EA está definido por las etapas de Braak. Los estadios I y II de Braak se utilizan cuando la afectación del NFT se limita principalmente a la región transentorrinal del cerebro; estadios III y IV cuando se involucran regiones límbicas como el hipocampo; estadios V y VI cuando está indicada una afectación neocortical extensa. La EA también se clasifica como amiloidosis debido a la presencia de placas seniles. Además, ciertos portadores de Apoε4 tienen un mayor riesgo de desarrollar EA. Se cree que Apoε4 es menos eficaz que otras isoformas para eliminar Aβ y, por tanto, puede correlacionarse con una mayor carga de amiloide, fosforilación de tau, sinaptotoxicidad y densidad sináptica reducida. Haber sufrido una lesión cerebral traumática (LCT) es otro factor de riesgo para desarrollar EA, y los estudios indican que quienes experimentan una LCT tienen un riesgo significativamente mayor de sufrir EA.
50

55 A medida que avanza la EA, los síntomas incluyen confusión, pérdida de memoria a largo plazo, parafasia, pérdida de vocabulario, agresión, irritabilidad y/o cambios de humor. En etapas más avanzadas de la enfermedad, hay pérdida de funciones corporales. Los pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA) demuestran muchas neuropatías características, como aumento del estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, disfunción sináptica, alteración de la homeostasis del calcio, depósito de placas seniles y ovillos neurofibrilares y atrofia del cerebro. Los trastornos relacionados con la EA incluyen la demencia senil de tipo EA (DSTE), la demencia frontotemporal (DFT), la demencia vascular, el deterioro cognitivo leve (DCL) y el deterioro de la memoria asociado a la edad (DMAE). En algunas formas de realización, determinar si un paciente tiene la enfermedad de Alzheimer, que comprende detectar la presencia de una proteína tau fosforilada en un tejido o una muestra del paciente, en donde la detección comprende poner en contacto la proteína tau fosforilada con un compuesto descrito en el presente documento.
60 65

- 5 En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es la degeneración del lóbulo frontotemporal (FTLD) (por ejemplo, FTLD-tau, FTLD-TDP o FTLD-FUS). En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es demencia del lóbulo frontotemporal. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico incluye pérdida de memoria. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es la pérdida de memoria relacionada con la edad. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es FTLD-TDP tipo A. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es FTLD-TDP tipo B. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es FTLD-TDP tipo C. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es FTLD-TDP tipo D.
- 10 En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es la enfermedad de Parkinson. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es la demencia de Parkinson. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico está relacionado con (por ejemplo, caracterizado por) una masa acumulada de placas amiloides. En algunas formas de realización, un paciente que tiene una enfermedad o trastorno neurológico ha sufrido una lesión cerebral traumática antes, durante o después de la aparición de la enfermedad o
- 15 trastorno neurológico. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico incluye un deterioro neuronal. Un deterioro neuronal puede incluir atrofia u otra disminución en el funcionamiento efectivo de la neurona. Por ejemplo, se sabe que la enfermedad de Alzheimer se presenta con deterioro neuronal, especialmente en las neuronas corticales, por ejemplo, las neuronas del hipocampo y las neuronas próximas al hipocampo.
- 20 En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es lesión axonal traumática (LAT), trastorno cerebral traumático (TCT), demencia (por ejemplo, demencia general), demencia frontotemporal con parkinsonismo vinculado al cromosoma 17 (FTDP-17), tauopatía primaria relacionada con la edad (TPRE), demencia senil con predominio de ovillos neurofibrilares, parálisis supranuclear progresiva (PSP), degeneración corticobasal, enfermedad
- 25 lítico-Bodig (complejo Parkinson-demencia de Guam), ganglioglioma, gangliocitoma, meningioangiomas, parkinsonismo postencefalítico, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía por plomo, esclerosis tuberosa, neurodegeneración asociada a pantotenato quinasa, lipofuscinosis, enfermedad de Pick, degeneración corticobasal, enfermedad del grano argirófilo (EGA) o degeneración corticobasal.
- 30 La enfermedad o trastorno neurológico puede ser una afección relacionada con una lesión, como una lesión cerebral traumática (LCT) o una encefalopatía traumática crónica (ETC). La LCT es una enfermedad crónica causada por un daño al cerebro causado por una fuerza externa, como un golpe, una sacudida, una aceleración o desaceleración rápida o la penetración de un proyectil. La lesión que conduce a una lesión cerebral traumática puede producir estados de conciencia
- 35 disminuidos o alterados, lo que resulta en un deterioro temporal o permanente de la función cognitiva, sensoriomotora y psicosocial. ETC es una enfermedad degenerativa progresiva que se encuentra en personas que han sufrido traumatismos cerebrales repetitivos, incluidos golpes en la cabeza que no provocaron síntomas de LCT. Los aspectos físicos de la ETC incluyen encogimiento del cerebro, atrofia de los lóbulos frontal y temporal, agrandamiento de los ventrículos, atrofia del hipocampo, tálamo, tronco encefálico y cerebelo. Las personas con ETC pueden tener síntomas de demencia, pérdida de memoria, agresión, confusión, depresión e ideas suicidas que pueden ocurrir muchos años después de las lesiones.
- 40 La enfermedad o trastorno neurológico puede ser del ojo, por ejemplo, glaucoma, hipertensión ocular, degeneración macular, retinopatía diabética, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) o retinitis pigmentosa.
- 45 En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es una enfermedad priónica. Las enfermedades priónicas son trastornos neurológicos fatales y transmisibles, el más destacado de los cuales es la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o ECJ. A la ECJ a veces se le llama el "gran imitador" porque causa síntomas que ocurren en muchas otras enfermedades neurológicas. Los síntomas comunes de la ECJ incluyen diferentes indicaciones neurológicas y
- 50 psiquiátricas, incluidos cambios de comportamiento, confusión, disfunción cognitiva, problemas de movimiento y alteraciones visuales. La ECJ es difícil de diagnosticar y las prácticas actuales se basan en pruebas de líquido cefalorraquídeo. Curiosamente, informes recientes han indicado proteínas priónicas en tejido retiniano post mortem de pacientes con ECJ.
- 55 Por consiguiente, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para detectar la deposición de priones en un paciente. En determinadas formas de realización, la detección se realiza en la retina. En determinadas formas de realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para detectar la deposición de priones en la retina de un paciente, en el que el paciente puede presentar o no manifestaciones clínicas de una enfermedad o trastorno relacionado con el mismo, tal como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (p. ej., cambios de comportamiento, confusión, disfunción cognitiva, problemas de movimiento, alteraciones visuales, cifosis, ataxia, caminar de puntillas, etc.).
- 60 La angiopatía amiloide cerebral (AAC) es una enfermedad del envejecimiento caracterizada por el depósito de amiloide dentro de las paredes de los vasos sanguíneos cerebrales. Estos depósitos se desarrollan en las arterias corticales y leptomeníngeas, lo que aumenta el riesgo de hemorragia intracerebral espontánea, lesiones isquémicas y demencia progresiva en la población de edad avanzada. Los médicos a menudo pasan por alto el diagnóstico de AAC, ya que los
- 65 síntomas de presentación son similares a los de un ataque isquémico transitorio o "mini accidente cerebrovascular". El

diagnóstico puede complicarse aún más ya que el AAC se encuentra en hasta el 90 % de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Varios péptidos formadores de amiloide pueden provocar AAC; entre ellos, la beta amiloide (A β) es, con diferencia, la forma más frecuente. Se ha detectado depósito de A β dentro de las paredes de arteriolas, capilares y arterias de tejido cerebral humano con AAC grave. Se ha establecido que la isoforma A β 42 está presente preferentemente en las placas parenquimatosas de pacientes con Alzheimer, mientras que la isoforma A β 40 es más densa dentro de las deposiciones de la pared vascular cerebral en AAC. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno neurológico es angiopatía amiloide cerebral (AAC). La angiopatía amiloide cerebral (AAC) es una enfermedad del envejecimiento caracterizada por el depósito de amiloide dentro de las paredes de los vasos sanguíneos cerebrales.

Por consiguiente, en determinadas formas de realización, se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para detectar A β 40 en un paciente. En determinadas formas de realización, la detección se realiza en la retina. En determinadas formas de realización, la detección diferencia entre las isoformas de A β asociadas con AAC (A β 40) y la enfermedad de Alzheimer (A β 42).

Ejemplos adicionales de una enfermedad o trastorno neurológico incluyen la enfermedad de Alexander, la enfermedad de Alper, la depresión, la asfixia perinatal, la demencia de la enfermedad de Parkinson ("demencia por EP"), la esclerosis lateral amiotrófica, la ataxia telangiectasia, la enfermedad de Batten (también conocida como enfermedad de Spielmeyer Vogt-Sjogren-Batten), encefalopatía espongiiforme (p. ej., encefalopatía espongiiforme bovina (enfermedad de las vacas locas), Kuru, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, insomnio familiar mortal, enfermedad de Canavan, síndrome de Cockayne, degeneración corticobasal, síndrome del X frágil, demencia frontotemporal, síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker, Enfermedad de Huntington, demencia asociada al VIH, enfermedad de Kennedy, enfermedad de Krabbe, demencia con cuerpos de Lewy, enfermedad de Machado Joseph (ataxia espinocerebelosa tipo 3), esclerosis múltiple, atrofia multisistémica, narcolepsia, neuroborreliosis, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, esclerosis lateral primaria, enfermedades priónicas, Enfermedad de Refsum, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Schilder, degeneración combinada subaguda de la médula espinal secundaria a anemia perniciosa, esquizofrenia, ataxia espinocerebelosa (múltiples tipos con diferentes características), atrofia muscular espinal, enfermedad de Steele-Richardson Olszewski, tabes dorsal, parkinsonismo inducido por fármacos, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, atrofia multisistémica, enfermedad de Parkinson idiopática, enfermedad de Parkinson autosómica dominante, familiar, tipo I (PARK1), enfermedad de Parkinson 3, cuerpos de Lewy autosómico dominante (PARK3), enfermedad de Parkinson 4, cuerpo Lewy autosómico dominante (PARK4), enfermedad de Parkinson 5 (PARK5), enfermedad de Parkinson 6, enfermedad de Parkinson autosómica recesiva de inicio temprano (PARK6), enfermedad de Parkinson 2, enfermedad de Parkinson autosómica recesiva juvenil (PARK2), enfermedad de Parkinson 7, enfermedad de Parkinson autosómica recesiva de inicio temprano (PARK7), enfermedad Parkinson 8 (PARK8), enfermedad de Parkinson 9 (PARK9), enfermedad de Parkinson 10 (PARK10), enfermedad de Parkinson 11 (PARK11), enfermedad de Parkinson 12 (PARK12), enfermedad de Parkinson 13 (PARK13) y enfermedad de Parkinson mitocondrial.

Tras la determinación de una enfermedad o trastorno neurológico en un paciente, se pueden proporcionar ciertos procedimientos para tratar o mejorar los síntomas de la enfermedad o trastorno neurológico, o para retardar o detener su progresión. Una vez que se diagnostica una enfermedad o trastorno neurológico, la progresión de la enfermedad o trastorno también puede controlarse mediante los métodos descritos en el presente documento. Una vez diagnosticado, el médico tratante también puede sugerir tratamientos adicionales conocidos por los profesionales, incluidos los descritos en este documento.

"Tratamiento" o "tratar" es un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, incluidos resultados clínicos. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados pueden incluir uno o más de los siguientes: a) inhibir la enfermedad o afección (por ejemplo, disminuir uno o más síntomas resultantes de la enfermedad o afección, y/o disminuir la extensión de la enfermedad o afección); b) mejorar, retardar o detener el desarrollo de uno o más síntomas clínicos asociados con la enfermedad o afección (por ejemplo, estabilizar la enfermedad o afección, prevenir o retrasar el empeoramiento o progresión de la enfermedad o afección, y/o prevenir o retrasar la propagación (p. ej., metástasis) de la enfermedad o afección); y/o c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de los síntomas clínicos (por ejemplo, mejorar el estado de la enfermedad, proporcionar una remisión parcial o total de la enfermedad o afección, mejorar el efecto de otro medicamento, retrasar la progresión de la enfermedad, aumentar la calidad de vida y/o prolongar la supervivencia.

"Prevención" o "prevenir" significa cualquier tratamiento de una enfermedad o afección que hace que los síntomas clínicos de la enfermedad o afección no se desarrollen a un paciente (incluido un ser humano) que está en riesgo o tiene antecedentes familiares de la enfermedad o afección.

"Paciente" se refiere a un animal, tal como un mamífero (incluido un ser humano), que ha sido o será objeto de diagnóstico, tratamiento, observación o experimento. Los métodos descritos en el presente documento pueden ser útiles en aplicaciones humanas y/o veterinarias. En algunas formas de realización, el paciente es un mamífero. En una forma de realización, el paciente es un humano.

El término "cantidad efectiva" de un compuesto descrito en el presente documento o una sal, tautómero, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros, profármaco o análogo deuterado farmacéuticamente aceptable del mismo significa una cantidad suficiente para detectar una proteína beta amiloide o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de las

5 mismas, cuando se administra a un paciente o una muestra del paciente, o para proporcionar un beneficio terapéutico tal como una mejora de los síntomas o una desaceleración de la progresión de la enfermedad. Por ejemplo, una cantidad eficaz puede ser una cantidad suficiente para disminuir un síntoma de una enfermedad o afección de una enfermedad o trastorno neurológico. La cantidad eficaz puede variar dependiendo del paciente y de la enfermedad o afección que se esté tratando, el peso y la edad del paciente, la gravedad de la enfermedad o afección y la forma de administración, que puede ser determinada fácilmente por un experto en la técnica.

10 Los métodos descritos en el presente documento pueden aplicarse a poblaciones celulares *in vivo* o *ex vivo*. "In vivo" significa dentro de un individuo vivo, como dentro de un animal o un ser humano. En este contexto, los métodos descritos en el presente documento pueden usarse en un individuo. "Ex vivo" significa fuera de un individuo vivo. Ejemplos de poblaciones de células *ex vivo* incluyen cultivos celulares *in vitro* y muestras biológicas que incluyen muestras de fluido o tejido obtenidas de individuos. Dichas muestras pueden obtenerse mediante métodos bien conocidos en la técnica. Las muestras de fluidos biológicos ejemplares incluyen sangre, líquido cefalorraquídeo, orina y saliva. En este contexto, los compuestos y composiciones descritos en el presente documento se pueden usar para diversos fines, incluidos fines terapéuticos y experimentales. Por ejemplo, los compuestos y composiciones descritos en el presente documento se pueden usar *ex vivo* para determinar la dosificación óptima de administración de un compuesto de la presente divulgación para una indicación, tipo de célula, individuo y otros parámetros determinados. La información obtenida de dicho uso se puede utilizar con fines experimentales o en la clínica para establecer protocolos para uso *in vivo*. Otros usos *ex vivo* para los cuales los compuestos y composiciones descritos en el presente documento pueden ser adecuados se describen a continuación o resultarán evidentes para los expertos en la técnica. Los compuestos seleccionados se pueden caracterizar adicionalmente para examinar la dosis de seguridad o tolerancia en pacientes humanos o no humanos. Tales propiedades pueden examinarse usando métodos comúnmente conocidos por los expertos en la técnica.

25 **Detección de proteína diana**

Se proporcionan en el presente documento compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en métodos para el diagnóstico de una enfermedad o trastorno neurológico en un paciente, que comprende administrar a un tejido del paciente el compuesto o sal descrito en el presente documento. El compuesto puede ser un compuesto de Fórmula I. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8 o el Compuesto 9. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8, el Compuesto 9 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 10. El método puede comprender detectar una unión del compuesto, y/o la unión de un compuesto original, a una proteína diana detectable, por ejemplo, una proteína beta amiloide o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de la misma. La administración puede ser administración intravenosa. El método puede comprender detectar una unión del compuesto a una proteína diana detectable. En algunas formas de realización, el método comprende además la activación mediante una luz y la emisión de una señal detectable. En algunas formas de realización, el método incluye comparar la señal con un valor de control, donde un aumento en la señal en comparación con el valor de control indica una presencia de proteína diana detectable, donde el valor de control es la señal en ausencia de una proteína diana detectable. En algunas formas de realización del método, la señal detectable es una señal fluorescente o infrarroja. En algunas formas de realización, la luz es un láser.

45 En algunas formas de realización, la divulgación proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en un método para detectar una proteína diana detectable, por ejemplo, una proteína beta amiloide, o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de la misma. El método comprende poner en contacto un compuesto descrito en el presente documento con un tejido o una muestra que potencialmente comprende la proteína diana detectable, por ejemplo, una proteína beta amiloide, o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de la misma, en donde el compuesto se une con la proteína diana detectable. En algunas formas de realización, se proporcionan en el presente documento compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en métodos para detectar la presencia o ausencia de unión del compuesto o sal descrito en el presente documento, o un compuesto original o sal del mismo, con una proteína diana detectable, que comprende administrar a un paciente el compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, en el presente documento se proporcionan compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos para su uso en métodos para monitorear la respuesta de un paciente que tiene una enfermedad o afección caracterizada por la presencia de una proteína diana detectable a un tratamiento, que comprende la unión a la proteína diana detectable después de el tratamiento una cantidad eficaz del compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y detectar una señal creada en respuesta a la unión, en donde una disminución de la señal en comparación con antes del tratamiento indica que el paciente responde al tratamiento. En algunas formas de realización, la proteína diana detectable es una proteína amiloide o similar a amiloide, por ejemplo, péptido A β , péptido priónico, alfa-sinucleína o superóxido dismutasa. En algunas formas de realización, la proteína amiloide o similar al amiloide es beta amiloide (1-42) (A β (1-42)). En algunas formas de realización, la proteína diana detectable es una proteína tau fosforilada.

60 En algunas formas de realización, la proteína tau fosforilada es una tau de tres repeticiones o una tau de cuatro repeticiones. En algunas formas de realización, la detección se realiza dentro de aproximadamente 1 segundo, aproximadamente 5 segundos, aproximadamente 1 min, aproximadamente 10 min, aproximadamente 30 min o aproximadamente 60 min desde el contacto del compuesto con la proteína diana detectable, o la administración del

compuesto. En algunas formas de realización, la detección se realiza dentro de aproximadamente 1 a 5 minutos después del contacto del compuesto o de la administración del compuesto.

5 La detección in situ de la unión de una proteína diana detectable, por ejemplo, una proteína beta amiloide, o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de la misma, con un compuesto descrito en el presente documento, se puede facilitar con un dispositivo de obtención de imágenes, que es preferiblemente de mano o portátil. El dispositivo de imágenes puede incluir una lente y un sensor de imágenes y, opcionalmente, una fuente de luz láser. Cuando la fuente de luz emite luz láser al tejido, por ejemplo, la retina, si la proteína diana detectable se acumula allí y se ha unido a un compuesto descrito en el presente documento, la proteína diana puede detectarse y cuantificarse fácilmente mediante la lente y el sensor de imagen que recoge y detecta una señal fluorescente. El dispositivo de imágenes puede ser cualquier dispositivo capaz de detectar luz, por ejemplo, una cámara. El dispositivo de obtención de imágenes puede comprender una lente confocal. El dispositivo de obtención de imágenes puede ser un dispositivo de obtención de imágenes de retina. El dispositivo de imágenes puede comprender una cámara de fondo de ojo. La detección puede comprender microscopía de barrido láser confocal. La detección puede ser no midriática. Para obtener una visión general de las técnicas de obtención de imágenes de la retina, véase, por ejemplo, M. D. Abrámovich et al, Retinal Imaging and Image Analysis (2010), IEEE Rev Biomed Eng. 3:169-208.

La proteína beta amiloide o la proteína tau fosforilada pueden acumularse en el ojo del paciente. En algunas formas de realización, el contacto, tras la activación mediante una luz, provoca la emisión de una señal detectable. La señal puede ser una señal fluorescente o infrarroja.

En el presente documento se proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para tratar una enfermedad o trastorno neurológico en un paciente, que comprende administrar al paciente el compuesto descrito en el presente documento. El compuesto puede ser un compuesto de Fórmula I. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8 o el Compuesto 9. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8, el Compuesto 9 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 10.

Administración y composiciones farmacéuticas

30 También se proporcionan composiciones farmacéuticas de compuestos descritos en el presente documento para administración a un paciente. El compuesto puede ser un compuesto de Fórmula I. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8 o el Compuesto 9. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8, el Compuesto 9 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 10. El compuesto se puede administrar en dosis únicas o múltiples. El compuesto se puede administrar mediante diversos métodos que incluyen, por ejemplo, vía rectal, bucal, intranasal y transdérmica. En determinadas formas de realización, el compuesto se puede administrar mediante inyección intraarterial, intravenosa, intraperitoneal, parenteral, intramuscular, subcutánea, oral, tópica o como inhalante. En algunas formas de realización, un compuesto descrito en el presente documento se administra por vía intravenosa. La administración intravenosa puede ser administración en bolo o inyección continua. Modos de inyección adicionales incluyen intraarterial, intracardíaca, intratecal, intraósea, intraarticular, intrasinovial, intracutánea, subcutánea, intramuscular e intradérmica, intracraneal, intralesional e intratumoral.

En algunas formas de realización, un compuesto descrito en el presente documento se administra al ojo. En algunas formas de realización, los compuestos se administran tópicamente en el ojo. En algunas formas de realización, la administración es parenteral, por ejemplo, mediante inyección. En algunas formas de realización, un compuesto descrito en el presente documento se administra como una inyección en bolo, por ejemplo, en el brazo. En algunas formas de realización, los compuestos se administran tópicamente en el ojo. En algunas formas de realización, la administración es oral.

El compuesto puede ser eficaz en un amplio intervalo de dosificación. En algunas formas de realización, la dosis es de 0,01 a 1000 mg, de 0,5 a 100 mg, de 1 a 50 mg por día o de 5 a 40 mg. Las dosis ejemplares incluyen 10, 20, 30, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 y 1000 mg. En algunas formas de realización, la cantidad eficaz del compuesto corresponde a aproximadamente 50 a 500 mg. Una cantidad efectiva puede variar entre pacientes individuales. La dosis exacta dependerá de la vía de administración, la forma en la que se administra el compuesto, el paciente a tratar, el peso corporal o la superficie del paciente a tratar y la preferencia y experiencia del médico tratante.

En algunas formas de realización, la cantidad eficaz del compuesto es aproximadamente 0,01-1000 mg por dosis. En algunas formas de realización, la cantidad eficaz de compuesto es de 50 a 500 mg por dosis. En algunas formas de realización la cantidad eficaz es aproximadamente 0,01-100 mg, 0,01-200 mg, 0,01-300 mg, 0,01-400 mg, 0,01-500 mg, 0,01-600 mg, 0,01-700 mg, 0,01-800 mg, 0,01-900 mg, 0,01-1000 mg, 0,1-100 mg, 0,1-200 mg, 0,1-300 mg, 0,1-400 mg, 0,1-500 mg, 0,1-600 mg, 0,1-700 mg, 0,1-800 mg, 0,1-900 mg, 0,1-1000 mg, 1-100 mg, 1-200 mg, 1-300 mg, 1-400 mg, 1-500 mg, 1-600 mg, 1-700 mg, 1-800 mg, 1-900 mg, 100-200 mg, 100-300 mg, 100-400 mg, 100-500 mg, 100-600 mg, 100-700 mg, 100-800 mg, 100-900 mg, 100-1000 mg, 200-300 mg, 200-400 mg, 200-500 mg, 200-600 mg, 200-700 mg, 200-800 mg, 200-900 mg, 200-1000 mg, 300-400 mg, 300-500 mg, 300-600 mg, 300-700 mg, 300-800 mg, 300-900 mg,

300-1000 mg, 400-500 mg, 400-600 mg, 400-700 mg, 400-800 mg, 400-900 mg, 400-1000 mg, 500-600 mg, 500-700 mg, 500-800 mg, 500-900 mg, 500-1000 mg, 600-700 mg, 600-800 mg, 600-900 mg, 600-1000 mg, 700-800 mg, 700-900 mg, 700-1000 mg, 800-900 mg, 800-1000 mg o aproximadamente 900-1000 mg por dosis. En algunas formas de realización, la cantidad eficaz es aproximadamente 50-100 mg, 50-400 mg, 50-500 mg, 100-200 mg, 100-300 mg, 100-400 mg, 100-500 mg, 200-300 mg, 200-400 mg, 200-500, 300-400 mg, 300-500 mg o 400-500 mg por dosis.

En algunas formas de realización, el compuesto se administra en una dosis única. En algunas formas de realización, el compuesto se administra en múltiples dosis.

En algunas formas de realización, el compuesto se administra en una composición farmacéutica que comprende un vehículo líquido, por ejemplo, para administración intravenosa. En algunas formas de realización, el volumen de la composición farmacéutica es de aproximadamente 10 µL a aproximadamente 1000 mL. Por ejemplo, el volumen puede ser aproximadamente 10 µL, 50 µL, 100 µL, 300 µL, 500 µL, 1 mL, 10 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL, 300 mL, 400 mL, 500 mL, 600 mL, 700 mL, 800 mL, 900 mL o 1000 mL.

En algunas formas de realización, el compuesto se administra en forma de gotas. En algunas formas de realización, el tamaño de la gota administrada está en el intervalo de aproximadamente 10-100 µL, aproximadamente 20-50 µL o aproximadamente 50-80 µL. En algunas formas de realización, las gotas se administran varias gotas por administración, por ejemplo, de 1 a 3 gotas por vez, de 3 a 10 gotas por vez o de 7 a 10 gotas por administración. En un ejemplo, las formulaciones de la divulgación se administran aproximadamente una gota por vez y de 1 a 6 veces por día.

En algunas formas de realización, el compuesto descrito en el presente documento se formula en una composición farmacéutica. En algunas formas de realización, las composiciones farmacéuticas se formulan de manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida. Se utilizan cualesquiera técnicas, vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables que sean adecuados para formular las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania 1975; Liberman, H. A. y Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Nueva York, NY, 1980; y formas de dosificación farmacéutica y sistemas de administración de fármacos, séptima edición (Lippincott Williams y Wilkins 1999). En algunas formas de realización, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto descrito en el presente documento y un diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede ser un compuesto de Fórmula I. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8 o el Compuesto 9. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 7, el Compuesto 8, el Compuesto 9 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En algunas formas de realización, el compuesto es el Compuesto 10. En algunas formas de realización, el compuesto se administra como composiciones farmacéuticas en las que uno o más compuestos se mezclan con otros ingredientes activos, como en la terapia de combinación. En algunas formas de realización, las composiciones farmacéuticas incluyen uno o más compuestos como se describe en el presente documento.

Una composición farmacéutica, como se usa en el presente documento, se refiere a una mezcla de un compuesto descrito en el presente documento, con otros componentes químicos, tales como vehículos, estabilizadores, diluyentes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o excipientes. La composición farmacéutica puede facilitar la administración del compuesto a un paciente. En algunas formas de realización, se administran cantidades eficaces de uno o más compuestos descritos en el presente documento en una composición farmacéutica a un paciente que tiene una enfermedad o afección que se va a detectar, diagnosticar o tratar. En algunas formas de realización, el paciente es un ser humano. Una cantidad eficaz puede variar dependiendo de la gravedad de la enfermedad, la edad y la salud relativa del paciente, la potencia del compuesto utilizado y otros factores. Los compuestos descritos en el presente documento se usan solos o en combinación con uno o más agentes de diagnóstico o terapéuticos como componentes de mezclas.

Para la administración mediante inyección, un compuesto descrito en el presente documento puede dispersarse en un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable. El vehículo líquido farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier vehículo acuoso o no acuoso conocido en la técnica. Ejemplos de vehículos acuosos incluyen soluciones salinas fisiológicas, soluciones de azúcares tales como dextrosa o manitol y soluciones tamponadas farmacéuticamente aceptables. En algunas formas de realización, el vehículo acuoso es un tampón fisiológicamente compatible, tal como, por ejemplo, solución de Hank, solución de Ringer, tampón de acetato acuoso, tampón de citrato acuoso, tampón de carbonato acuoso, tampón de fosfato acuoso, tampón de succinato acuoso, tampón de lactato acuoso, o tampón salino fisiológico. Ejemplos de vehículos no acuosos incluyen aceites vegetales fijos, glicerina, polietilenglicoles, alcoholes y oleato de etilo. El vehículo puede incluir además conservantes antibacterianos, antioxidantes, agentes de tonicidad, tampones, estabilizadores, tensioactivos y otros componentes. La composición farmacéutica puede comprender una ciclodextrina, por ejemplo, sulfobutiléter β-ciclodextrina o hidroxipropil β-ciclodextrina.

Una composición farmacéutica de un compuesto descrito en el presente documento puede ser para administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección. Un compuesto para administración mediante inyección se puede preparar como, por ejemplo, una suspensión o emulsión acuosa u oleosa en un medio para inyección. El medio de inyección puede comprender aceite de ricino (aceite de ricino), aceite de ricino (etoxilado), aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón o aceite de cacahuete, así como elixires, manitol, dextrosa, alcohol bencílico, PEG 400, etileno glicol, polisorbato 20, éter monoetilico de dietilenglicol, poloxámero-188 acuoso al 10 %, glicerol, poloxámero-407 acuoso al 10 % o poloxámero 124.

En algunas formas de realización, la formulación farmacéutica comprende uno o más tensioactivos. Un tensioactivo es un material que es hidrófobo o anfifílico (es decir, que incluye un componente o región tanto hidrófilo como hidrófobo). Los tensioactivos se pueden utilizar para modificar las propiedades de la superficie de una partícula y alterar la forma en que una partícula se dispersa, emulsiona o suspende. En algunas formas de realización, el tensioactivo comprende un lípido. Los lípidos que pueden usarse incluyen las siguientes clases de lípidos: ácidos grasos y derivados, diglicéridos y triglicéridos, fosfolípidos, esfingolípidos, colesterol y derivados de esteroides, terpenos, prostaglandinas y vitaminas. Ejemplos de ácidos grasos incluyen los ácidos láurico, fisetérico, miristoleico, palmitoleico, petroselinico y oleico, y mono, diglicéridos y triglicéridos de los mismos. Dichos mono, di y triglicéridos incluyen, por ejemplo, digalactosildiglicérido, 1,2-dioleoil-sn-glicerol, 1,2-dipalmitoil-sn-3 succinilglicerol y 1,3-dipalmitoil-2-succinilglicerol. En algunas formas de realización, el tensioactivo comprende un fosfolípido. Los fosfolípidos que pueden usarse incluyen ácidos fosfatídicos, fosfatidilcolinas con lípidos tanto saturados como insaturados, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilgliceroles, fosfatidilserinas, fosfatidilinositoles, derivados de lisofosfatidilo, cardiolipina y β -acil-y-alkilfosfolípidos. Los esteroides que pueden usarse incluyen colesterol, sulfato de colesterol, hemisuccinato de colesterol, 6-(5-colesterol 3 β -iloxi) hexil-6-amino-6-desoxi-1-tio- α -D-galactopiranosido, 6-(5-colesterol 3 β -iloxi) hexil-6-amino-6-desoxi-1-tio- α -D-manopiranosido, (4'-trimetilamonio)butanoato de colesterilo y desoxicolato de sodio (NaDOC). Los productos tensioactivos incluyen Tween 20, Tween 80 y Neobee M-5.

Otros tensioactivos incluyen ésteres de sorbitán etoxilados, ésteres de sorbitán, sales de ácidos grasos, ésteres de azúcar, plurónicos, tetrónicos, óxidos de etileno, óxidos de butileno, óxidos de propileno, tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos, mono y diacilgliceroles, mono y diaciltilenglicoles, mono y diacilsorbitoles, succinatos de mono y diacilglicerol, fosfátidos de alquilacilo, alcoholes grasos, aminas grasas y sus sales, éteres grasos, ésteres grasos, amidas grasas, carbonatos grasos, ésteres de colesterol, amidas de colesterol y éteres de colesterol, monoestearato de aluminio, laurilsulfato de amonio, estearato de calcio, sulfosuccinato de dioctil calcio, sulfosuccinato de dioctil potasio, sulfosuccinato de dioctil sodio, cera emulsionante, lauril sulfato de magnesio, oleato de potasio, aceite de ricino de sodio, cetostearyl sulfato de sodio, lauril éter sulfato de sodio, lauril sulfato de sodio, lauril sulfoacetato de sodio, oleato de sodio, estearato de sodio, estearilfumarato de sodio, tetradecilsulfato de sodio, oleato de zinc, estearato de zinc, cloruro de benzalconio, cetrimida, bromuro de cetrimida y cloruro de cetilpiridinio.

La administración oral puede ser otra vía para la administración de los compuestos descritos en el presente documento. La composición farmacéutica puede tener la forma de, por ejemplo, una cápsula o un comprimido con recubrimiento entérico. Por tanto, un compuesto descrito en el presente documento puede diluirse mediante un excipiente y/o dentro de un vehículo. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede estar en forma de un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como vehículo, soporte o medio para el ingrediente activo. Así, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobres, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un medio sólido o líquido), ungüentos que contienen, por ejemplo, hasta el 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles.

Algunos ejemplos de excipientes, vehículos y vehículos adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábiga, fosfato cálcico, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato cálcico, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona (PVP), celulosa y agua esterilizada, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y suspensores; agentes conservantes tales como hidroxibenzoatos de metilo y propilo; agentes edulcorantes; y agentes aromatizantes.

En algunas formas de realización, los compuestos descritos en el presente documento se formulan para administración ocular. En algunas formas de realización, las formulaciones oculares son líquidas (en forma de soluciones, suspensiones, polvo para reconstitución, sistemas de sol a gel), semisólidas (pomadas y geles), sólidas (insertos oculares) y formas de dosificación intraocular (inyecciones, soluciones de irrigación e implantes).

En el presente documento se proporcionan formulaciones oftálmicas que comprenden los compuestos descritos en el presente documento y un componente oftalmológicamente aceptable. La formulación oftálmica se puede administrar en cualquier forma adecuada para la administración de fármacos oculares, por ejemplo, como una solución, suspensión, pomada, gel, dispersión liposomal, suspensión de micropartículas coloidales o similares, o en un inserto ocular, por ejemplo, en una matriz polimérica de liberación controlada opcionalmente biodegradable.

Por componente "farmacéuticamente aceptable" o "oftalmológicamente aceptable" se entiende un componente que no es biológicamente o de otro modo indeseable, es decir, el componente puede incorporarse en una formulación oftálmica de la divulgación y administrarse tópicamente al ojo de un paciente sin causar ningún efecto biológico indeseable o interactuar de manera nociva con cualquiera de los otros componentes de la composición de formulación en la que está contenido.

5 Cuando el término "farmacéuticamente aceptable" se utiliza para referirse a un componente que no es un agente farmacológicamente activo, se da a entender que el componente ha cumplido con los estándares requeridos de pruebas toxicológicas y de fabricación o que está incluido en la Guía de ingredientes inactivos preparada por el Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU.

10 Las formulaciones oftálmicas pueden adaptarse para administración tópica al ojo en forma de suspensión o emulsión. La formulación oftálmica puede incluir un vehículo oftalmológicamente aceptable. Dichos vehículos incluyen, por ejemplo, agua, mezclas de agua, por ejemplo, tampón fosfato, ácido bórico, cloruro de sodio y borato de sodio, y disolventes miscibles en agua tales como alcoholes inferiores, alcoholes arílicos, polialquilenglicoles, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona y miristato de isopropilo. La formulación oftálmica también puede incluir uno o más excipientes tales como agentes emulsionantes, agentes conservantes, agentes humectantes y agentes corporales. Por ejemplo, la formulación oftálmica puede incluir polietilenglicoles 200, 300, 400 y 600, carboceras 1.000, 1.500, 4.000, 6.000 y 10.000, componentes antibacterianos tales como compuestos de amonio cuaternario, sales fenilmercúricas, timerosal, metil y propil parabeno, alcohol bencílico, feniletanol, agentes tampón tales como borato de sodio, acetatos de sodio, tampones de gluconato y otros agentes tales como monolaurato de sorbitán, trietanolamina, oleato, monopalmitilato de polioxietilensorbitán, sulfosuccinato de dioctilo sodio, monotioglicerol, tiosorbitol y ácido etilendiaminotetracético. La formulación oftálmica puede ser isotónica. La formulación oftálmica también puede incluir un tensioactivo o un estabilizador. Los tensioactivos incluyen Carbopol®. Los estabilizadores incluyen bisulfito de sodio, metabisulfato de sodio y tiosulfato de sodio.

25 La formulación puede incluir una cantidad eficaz de un potenciador de la permeación que facilite la penetración de los componentes de la formulación a través de membranas celulares, tejidos y matrices extracelulares, incluida la córnea. La "cantidad eficaz" del potenciador de la permeación representa una concentración que es suficiente para proporcionar un aumento mensurable en la penetración de uno o más de los componentes de la formulación a través de membranas, tejidos y matrices extracelulares como se acaba de describir. Los potenciadores de la permeación adecuados incluyen, a modo de ejemplo, metilsulfonilmetano (MSM; también denominado metilsulfona), combinaciones de MSM con dimetilsulfóxido (DMSO), o una combinación de MSM y, en una forma de realización menos preferida, DMSO, prefiriéndose especialmente MSM.

Kits y paquetes

35 Se proporciona en el presente documento un kit que incluye un compuesto descrito en el presente documento, un dispositivo de imágenes y, opcionalmente, un embalaje adecuado. El dispositivo de obtención de imágenes puede ser un dispositivo de obtención de imágenes de retina. En algunas formas de realización, el kit incluye además instrucciones de uso.

40 El dispositivo de imágenes puede incluir lentes y sensores de imágenes para detectar una señal emitida. En algunas formas de realización, el dispositivo de imágenes detecta una señal fluorescente. En algunas formas de realización, el dispositivo de imágenes incluye además una fuente de luz láser que puede usarse para activar la señal fluorescente. El dispositivo de obtención de imágenes puede comprender un escáner de retina adecuado.

Tabla de siglas y abreviaturas

	Abreviatura	Significado
5	Ac	Acetilo
	Aq.	Acuoso
	BINAP	(2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil)
10	Bn	Bencilo
	br	Amplio
	d	Doblete
15	DCM	Diclorometano/cloruro de metileno
	dd	Doblete de dobletes
	DMF	Dimetilformamida
	Equiv o eq	Equivalentes
20	Et	Etilo
	EA	Acetato de etilo
	EtOH	Etanol
25	H o hr	Horas
	Hz	Hertz
	J	Constante de acoplamiento (MHz)
	m	multiplete
30	M+	Pico de masa
	M+H	Pico de masa más hidrógeno
	Me	Metilo
35	Min o m	Minuto
	MS	Espectroscopía de masas
	M/Z	Masa/Carga
40	N	Normal
	ND	No determinado
	RMN	Resonancia magnética nuclear
45	PCC	Clorocromato de piridinio
	Pd/C	Paladio sobre carbono
	PE	Éter de petróleo
	Ph	Fenilo
50	pH	Expresión de la acidez o alcalinidad de una solución
	prep	Preparativo
	PVP	Polivinilpirrolidona
55	Rf	Factor de retención
	RT o rt	Temperatura ambiente
	s	Segundo
	s	Singlete
60	sat.	Saturado
	SGF	Fluido gástrico simulado
	t	Triplete

(Continuación)

	LCMS o LC-MS	Cromatografía líquida-espectrometría de masas
5	temp.	Temperatura
	THF	Tetrahidrofurano
	TLC	Cromatografía en capa fina
10	v/v o v/v/v	Relación de volumen
	δ	Desplazamiento químico (ppm)

EJEMPLOS

15

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar formas de realización específicas de la divulgación. Los expertos en la técnica deberían apreciar que las técnicas descritas en los ejemplos que siguen representan técnicas que funcionan bien en la práctica de la divulgación y, por lo tanto, pueden considerarse que constituyen modos específicos para su práctica. Sin embargo, los expertos en la técnica deberían, a la luz de la presente divulgación, apreciar que se pueden realizar muchos cambios en las formas de realización específicas que se divulgan y aún obtener un resultado similar sin apartarse del espíritu y alcance de la divulgación.

20

EJEMPLO 1

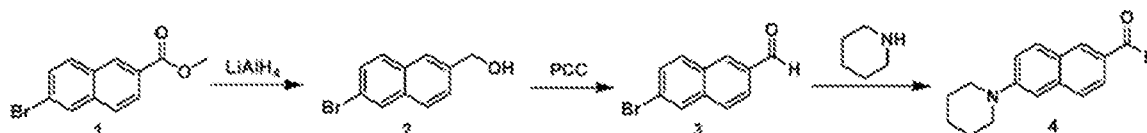
25

Basándose en estudios farmacocinéticos preliminares en conejos con diversas formulaciones del derivado éster metílico del Compuesto 7, se llevaron a cabo estudios para alterar y mejorar ciertas propiedades fisicoquímicas. Se descubrió que el compuesto hidroxilo, es decir, el Compuesto 7, presentaba propiedades fluorescentes adecuadas para su uso con instrumentos convencionales. Es importante destacar que el Compuesto 7 también demostró la capacidad de detectar A β agregado *in vitro* y *ex vivo* en tejido cerebral humano de Alzheimer.

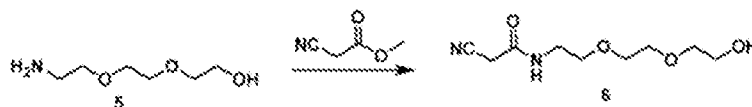
30

Síntesis

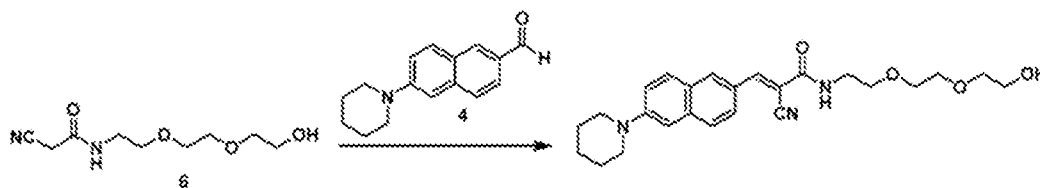
35



40



45



50

Compuesto 7**Síntesis de (6-bromonaftalen-2-il)metanol (2)**

55

A una solución de LiAlH₄ (8,2 g, 217 mmol en 500 mL de THF) a 0 °C en atmósfera de N₂, se le añadió una solución de 6-bromo-2-naftoato de metilo (1) (50,0 g, 189 mmol) en 500 mL de THF anhidro se añadió gota a gota. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 1 hora a 0 °C. Una vez completada la reacción, controlada por TLC, la mezcla se trató con H₂O, NaOH al 15 %, H₂O (1:1:3, v/v/v). Después de la filtración, el filtrado se concentró y se extrajo con EA, y se secó sobre NaSO₄. El producto bruto se purificó a partir de (PE:EA=3:1) para obtener el compuesto del título.

60

Síntesis de 6-bromo-2-naftaldehído (3)

En una suspensión de (6-bromonaftalen-2-il)metanol (2) (42,0 g, 177 mmol) y gel de sílice (76,4 g) en DCM (500 mL), Se añadió PCC (76,4 g, 354 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente (temperatura ambiente, 25 ± 5 °C) durante

1,5 h. Al finalizar, se filtró a través de una capa de sílice y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título.

Síntesis de 6-(piperidin-1-il)-2-naftaldehído (4)

En tolueno seco y desgasificado (300 mL), se añadieron Pd(OAc)₂ (1,5 g, 6,3 mmol), BINAP (4,4 g, 7,1 mmol), 6-bromo-2-naftaldehído (3) (30,0 g, 127,8 mmol), Cs₂CO₃ (60,0 g, 183,9 mmol) y piperidina (12,7 g, 149,5 mmol). La reacción se dejó en agitación durante 8 a 115 °C. Después de enfriar, la mezcla se filtró y se lavó con EA, después se concentró hasta un tercio del volumen, a lo que se añadieron 200 ml de ácido clorhídrico 6 N con agitación total. La fase acuosa se separó y se extrajo con DCM tres veces, luego se ajustó a alcalinidad con NaOH 5 N y se extrajo con EA. La fase orgánica se concentró para producir material bruto, que se purificó adicionalmente mediante cromatografía en gel de sílice (PE:EA=20:1 a 2:1) para obtener el compuesto del título.

Síntesis de 2-ciano-N-(2-(2-(2-hidroxi)etoxi)etil)acetamida (6)

En un matraz con forma de pera, se añadió 5 (6,0 g, 40 mmol) a 2-cianoacetato de metilo (4,0 g, 40 mmol) con agitación. La mezcla se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente y se concentró hasta obtener un material bruto. El material bruto se utilizó directamente en el siguiente paso.

Síntesis de (E)-2-ciano-N-(2-(2-(2-hidroxi)etoxi)etil)-3-(6-(piperidin-1-il)naftalen-2-il)acrilamida (Compuesto 7)

A una solución de 6-(piperidin-1-il)-2-naftaldehído (4) (7,0 g, 29,3 mmol) y 2-ciano N-(2-(2-(2-hidroxi)etoxi)etil)acetamida (6) (7,9 g, 36,5 mmol) en THF anhidro (250 mL) se añadió piperidina (0,5 g, 5,9 mmol) y la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 12 h. A continuación, la reacción se concentró a presión reducida hasta obtener un material en bruto, que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice para obtener el compuesto del título. Masa Exacta 437,23; m/e 437,23 (100 %), 438,23 (28,9 %), 439,24 (4,7 %); análisis elemental (C₂₅H₃₁N₃O₄): C 68,63 %, H 7,14 %, N 9,60 %, O 14,63 %.

Propiedades del Compuesto 7

Se determinaron las propiedades físicas del Compuesto 7. La solubilidad del Compuesto 7 en diversos medios se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Solubilidad del Compuesto 7

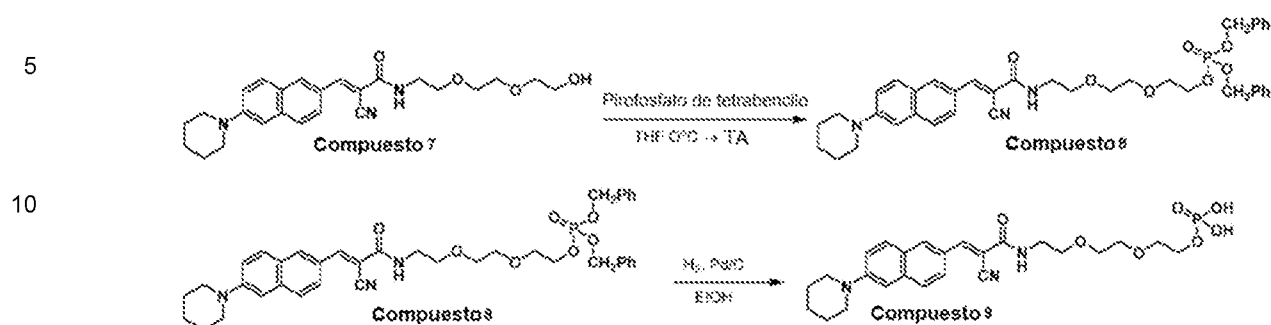
Disolvente	Solubilidad (mg/mL)
Agua	0,0017
SGF	3,6
tampón pH 4,0	0,070
tampón pH 7,0	0,0046
tampón pH 7,4	0,0033
tampón pH 9,0	0,0048
n-octanol	> 8,0
Aceite de ricino	> 9,0

Debido a la escasa solubilidad en agua (Tabla 1), se exploró una posible formulación de nanosuspensión. El objetivo era alcanzar un tamaño medio de partícula <0,5 µm. Los datos con respecto al tamaño de partícula del Compuesto 7 en la formulación en suspensión se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Tamaño de partícula del Compuesto 7 en la formulación en suspensión (NaDOC = desoxicolato de sodio)

Excipientes	Tamaño medio de partícula (µm)
3 % Compuesto 7, 0,6 % PVP K12, 0,03 % NaDOC	21,3±8,79
3 % Compuesto 7, 0,6 % Poloxámero 188, 0,03 % NaDOC	24,2±0,76
3 % Compuesto 7, 0,3 % Tween 80	31,9±10,28

EJEMPLO 2

**Síntesis del Compuesto 8**

Los intentos de preparar el Compuesto 9 usando métodos tradicionales, tales como POCl₃ y bases tales como trietilamina, resultaron infructuosos. Debido a la alta reactividad de ciertos grupos funcionales presentes en el Compuesto 7, como la NH amida que reacciona negativamente con POCl₃, se requirieron rutas sintéticas alternativas. Otras bases, tales como LDA y LiHMDS, dieron una mezcla de productos mediante TLC, productos que no se aislaron. Se determinó que el pirofosfato de tetrabencilo con hidruro de sodio proporcionaba el Compuesto 8. El Compuesto 8 se preparó según el siguiente procedimiento.

25 A 1 g (2,3 mM) del Compuesto 7 en 15 mL de THF a cero grados se le añadieron 1,6 g (3 mM) de pirofosfato de tetrabencilo preparado usando la preparación de Síntesis Orgánica de Merck, dando como resultado una solución de color rojo intenso. Se añadió hidruro de sodio (100 mg, 2,5 mM, 60 % en aceite). Después de 15 minutos y de calentar a temperatura ambiente, comenzó a precipitar un sólido. Se añadió DMF (5 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron agua (200 mL) y acetato de etilo (200 mL). La capa de acetato de etilo se secó y se evaporó. La purificación por ISCO® en un cartucho de gel de sílice de 80 g usando hexano/acetato de etilo al 0-100 % proporcionó el compuesto del título. En las Figs. 1A a 1C. EM (m/z) 701,3 [M+H]⁺.

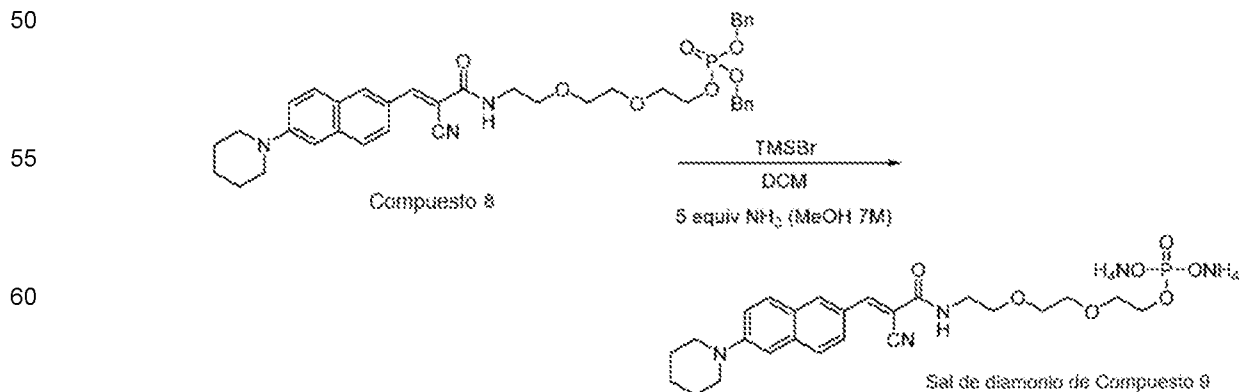
Síntesis del Compuesto 9

35 A 1 gramo de (Compuesto 8), se añadió etanol al 95 % (150 mL), desgasificado con argón. Se añadieron 120 mg de Pd/C al 10 % y se burbujeó gas hidrógeno en la mezcla de reacción durante 5 min. Después la mezcla se agitó bajo un globo de hidrógeno durante 3 horas. La mezcla de reacción se desgasificó con argón y se evaporó. Purificación por LC/MS preparatoria en una columna C18 de 25 x 250 mm utilizando agua 0 al 100 % que contiene 2 g por litro de acetato de amonio. Después del secado libre, se obtuvo el Compuesto 9 en las figuras 2A y 2B se presenta un espectro de RMN ¹H (D₂O) del Compuesto 9.

Se encontró que la síntesis anterior usando hidrogenación con gas hidrógeno produce productos secundarios mediante, por ejemplo, la reducción del doble enlace. Esta reducción da como resultado una purificación larga y tediosa por HPLC.

Síntesis de la sal de diamonio del Compuesto 9 (también denominada Compuesto 10)

Se descubrió que el uso de bromuro de trimetilsililo a cero grados durante un corto tiempo disminuía las reacciones secundarias y la necesidad de cromatografía.



Se enfrió una solución del Compuesto 8 (5 mmol, 3,49 g, 1 equiv.) en CH₂Cl₂ anhidro (100 mL) a 0 °C en una atmósfera de argón y se añadió bromuro de trimetilsililo (50 mmol, 6,8 ml, 10 equiv.) mediante una jeringa. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos y se controló la finalización de la conversión mediante HPLC. A continuación, la mezcla se inactivó con MeOH (~50 mL) y se agitó durante 10 minutos. La solución se evaporó hasta sequedad; esta etapa se repitió cuatro veces.

Los disolventes orgánicos se evaporaron al vacío, el residuo se suspendió en trazas de MeOH y se añadió EtOAc para inducir la precipitación del ácido fosfónico. Se filtró y se lavó con EtOAc (x2). A continuación, el residuo se secó al vacío para dar el ácido fosfato deseado.

Se trató el ácido fosfónico con NH₄OAc (25 mmol, 1,93 g, 5 equiv.) y 150 mL de agua a temperatura ambiente y agitando durante otros 15 minutos para dar una solución transparente de color rojo/naranja. A continuación, se liofilizó la mezcla de reacción para dar el producto final. LC-MS: (ES, *m/z*) 518 [M+1]⁺. RMN ¹H: (400MHz, CD₃OD) δ 8,31-8,22 (m, 2H), 8,08 (dd, *J* = 8,8, 1,9 Hz, 1H), 7,81 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,74 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,40 (dd, *J* = 9,2, 2,5 Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 4,08-3,98 (m, 2H), 3,79-3,65 (m, 8H), 3,58 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H), 3,45-3,39 (m, 4H), 1,86-1,63 (m, 6H).

Solubilidad del Compuesto 9

Se encontró que la solubilidad del Compuesto 9 era de 20-30 mg/mL en tampón fosfato a pH 7,4.

Farmacocinética del Compuesto 9

El Compuesto 9 se inyectó en conejos como una solución en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4, de modo que los conejos recibieron 30 mg del Compuesto 9 (Estudio 1) o 28 mg del Compuesto 9 (Estudio 2). El propósito de estos estudios fue confirmar que el Compuesto 9 podría convertirse fácilmente en el Compuesto 7 *in vivo*.

Estudio 1: Los conejos recibieron una inyección de 1,5 mL de una solución de 20 mg/mL del Compuesto 9 en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4. Los conejos se sacrificaron en los puntos de tiempo especificados (N=3 por punto de tiempo) en las tablas siguientes y se determinó la concentración promedio del Compuesto 9 y el Compuesto 7 en la retina (Tabla 3), el cerebro (Tabla 4) y la sangre (Tabla 5).

Tabla 3. Concentraciones de retina promedio para el Compuesto 9 y el Compuesto 7.

Tiempo (min)	Conc. promedio del Compuesto 9 (ng/g)	Conc. promedio de Compuesto 7 (ng/g)
15	ND	10,1±7,30
30	ND	2,13±1,71
60	ND	0,779±0,325

Tabla 4. Concentraciones cerebrales promedio para el Compuesto 9 y el Compuesto 7.

Tiempo (min)	Conc. promedio del Compuesto 9 (ng/g)	Conc. promedio de Compuesto 7 (ng/g)
15	0,439±ND	0,987±0,273
30	ND	ND
60	ND	ND

Tabla 5. Concentraciones sanguíneas promedio para el Compuesto 9 y el Compuesto 7.

Tiempo (min)	Conc. promedio del Compuesto 9 (ng/g)	Conc. promedio de Compuesto 7 (ng/g)
15	5443±767	217±31,2
30	374±301	9,41±1,89
60	24,9±31,8	2,10±2,43

Estudio 2: El propósito de este estudio fue determinar si estaban presentes concentraciones más altas del Compuesto 9 y/o del Compuesto 7 en puntos de tiempo anteriores en los tejidos especificados. Los conejos recibieron una inyección de 1,4 mL de una solución de 20 mg/mL del Compuesto 9 en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4. Se recogió sangre de conejos (N=6) dos minutos después de recibir el Compuesto 9 para determinar la concentración en sangre en este momento

(Tabla 8). A continuación, se sacrificaron los conejos en los puntos de tiempo especificados (N=3 por punto de tiempo) en las tablas siguientes y se determinaron las concentraciones promedio del Compuesto 9 y el Compuesto 7 en la retina (Tabla 6), el cerebro (Tabla 7) y la sangre (Tabla 8).

5 **Tabla 6.** Concentraciones promedio en retina para el Compuesto 9 y el Compuesto 7.

Tiempo (min)	Conc. promedio del Compuesto 9 (ng/g)	Conc. promedio de Compuesto 7 (ng/g)
5	ND	682±119
10	ND	183±152

10 **Tabla 7.** Concentraciones promedio en cerebro para el Compuesto 9 y el Compuesto 7.

Tiempo (min)	Conc. promedio del Compuesto 9 (ng/g)	Conc. promedio de Compuesto 7 (ng/g)
5	7,2±2,62	316±91,6
10	2,23±0,426	68,1±8,86

15 **Tabla 8.** Concentraciones plasmáticas promedio para el Compuesto 9 y el Compuesto 7.

Tiempo (min)	Conc. promedio del Compuesto 9 (ng/g)	Conc. promedio de Compuesto 7 (ng/g)
2	67571±18785	1480±409
5	39980±11763	975±317
10	8859±1311	251±13,9

20 En base a estos datos, se concluye que el Compuesto 9 se convierte rápidamente en el Compuesto 7 *in vivo* en un modelo de conejo sano.

25 La modificación del grupo alcohol terminal del Compuesto 7 a un fosfato aumentó significativamente la solubilidad en agua. Una característica beneficiosa de la sal de diamonio del Compuesto 9 es que las fosfatasa en la sangre escinden inmediatamente el grupo fosfato, generando el Compuesto 7. Se ha demostrado que el Compuesto 7 pasa la barrera hematoencefálica (BHE) y, lo que es más importante, llega al tejido de la retina a través de administración de sal de diamonio del Compuesto 9. El Compuesto 9 se convierte rápidamente en el Compuesto 7 ($K_{p,cerebro}$ del Compuesto 7 fue más alto 5 minutos después de la dosis) y disminuyó significativamente a valores indetectables a los 30 minutos. La $K_{p,cerebro}$ del Compuesto 9 fue $<0,001$, lo que sugiere que se había convertido principalmente en el Compuesto 7 antes de llegar al cerebro. El tiempo de circulación del Compuesto 7 en la retina es relativamente corto, y los niveles de sonda disminuyen significativamente en una hora. Es importante destacar que el Compuesto 7 se suministró en altas concentraciones al tejido de la retina (682 ng/g) mientras que el Compuesto 9 permaneció indetectable. Además, no se observaron reacciones adversas en conejos durante el transcurso de este estudio. Con base en los datos que se muestran a continuación, se concluyó que el Compuesto 9 se convierte rápidamente en el Compuesto 7, cuyo compuesto puede 1) detectar fluorescentemente A β 40 *in vitro*, 2) emitir fluorescencia a una longitud de onda que es detectable usando instrumentos convencionales, y 3) penetrar a la retina cuando se administra sistémicamente como Compuesto 9 (por ejemplo, sal de diamonio del Compuesto 9).

50 EJEMPLO 3

A ratones modelo que tienen una proteína diana detectable, por ejemplo, una proteína beta amiloide, o una proteína tau fosforilada, o una masa acumulada de la misma, se les administra el Compuesto 9 por vía intravenosa. Se extraen las retinas de los ratones y se montan en portaobjetos. Las retinas se lavan con PBS 2 veces durante 5 minutos. Se añade una solución de ácido fórmico al 98 %: 5 minutos para la recuperación del antígeno. Las muestras se lavan con agua destilada 2 veces durante 5 minutos. Las muestras se equilibran en PBS 1x durante 15 minutos, luego se bloquean con suero de cabra/burro al 10 % en PBST 1x (dependiendo de los anticuerpos) durante 1 hora. Las muestras se cubren con papel de aluminio y se lavan con PBS 1x 3 veces durante 5 minutos cada una. Las muestras se tiñen con DAPI (300 nM o 100 ng/mL) en la oscuridad durante 10 minutos y luego los tejidos se lavan 3 x 10 minutos con PBS. Se agrega el medio de montaje Antifade DAKO, se cubre y se mantiene debajo de papel de aluminio hasta la obtención de imágenes.

60 El estudio de imágenes fluorescentes de las muestras se realiza en un microscopio Leica DMI 4000B (Leica, Alemania) equipado con una cámara TCS SPE y objetivos Leica 10, 20 y 40X. Los siguientes láseres se utilizan para visualizar sondas fluorescentes pertenecientes a DAPI (tinción nuclear azul), Compuesto 7 (verde) y tau hiperfosforilada (rojo): 408, 488 y 568 nm. Las imágenes apiladas en Z se toman a 40x en incrementos de 0,5 μ m para visualizar todo el espesor del

tejido. Se detecta proteína tau hiperfosforilada de tres repeticiones en la retina, lo que produce una señal fluorescente detectable, mientras que, en ratones de tipo salvaje de edad comparable, no se detecta inmunotinción con anticuerpo tau de tres repeticiones. En conclusión, el estudio indica que el Compuesto 9 se puede utilizar como agente de diagnóstico para detectar la proteína beta amiloide o la proteína tau hiperfosforilada.

5

EJEMPLO 4

Este ejemplo se lleva a cabo para determinar si el Compuesto 9 detecta A β en la retina de un modelo de ratón con LCT.

10

A ratones modelo Blast 24 horas después de la lesión y a un ratón no lesionado se les administra el Compuesto 9 por vía intravenosa. Las retinas de los ratones se escanean mediante oftalmoscopia con láser de barrido (OLB). Se genera una imagen que muestra la presencia de placas A β .

15

Alternativamente, o además de la exploración de la retina, los tejidos de la retina se extraen y se tiñen con un anticuerpo anti-A β (6E10). El ratón que recibe una lesión por explosión muestra inmunoreactividad a A β en el tejido de la retina, mientras que el ratón ileso no muestra reactividad a 6E10. El compuesto 7 marca de forma fluorescente los depósitos retinianos que son visibles tras la activación fluorescente, pero no muestra ningún aumento fluorescente en el tejido del ratón ileso.

20

EJEMPLO 5

Detección de agregación A β retiniana *in vivo*

25

Se realizó un estudio de imágenes de retina *in vivo* utilizando ratones antes y después de recibir un impacto cortical controlado (ICC). El modelo ICC aplica un impacto controlado a la duramadre intacta después de una craneotomía y es un modelo animal de LCT de uso común.

30

Se tomaron imágenes de los ratones antes de someterse a una LCT mediante ICC para obtener imágenes retiniales de referencia. Los ratones anestesiados recibieron una administración i.v. de sal de diamonio del Compuesto 9 (Compuesto 10) (15 mg/kg de una solución de 20 mg/mL en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4) antes de la ICC y 24 horas después de la ICC. Como se muestra en la **FIG. 3**, se observó un aumento de la fluorescencia de fondo en la vasculatura retiniana 3 minutos después de la administración del Compuesto 10 de un ratón ileso (antes de ICC). Esta mejora ya no se observó 15 minutos después de la administración del Compuesto 10 (**FIG. 3**, fila superior).

35

Veinticuatro horas después de la obtención de imágenes iniciales, para realizar la ICC, se anestesió a los ratones, se montó la cabeza en un marco estereotáxico y se realizó una craneotomía en el lado derecho de la corteza motora. Usando un impactador estereotáxico, los ratones recibieron un impacto en el lado derecho de la corteza motora usando un pistón de 5 m/s de velocidad, 2 mm de profundidad y 3 mm de diámetro. Después de la lesión, la incisión se cerró con puntos, se terminó la anestesia y se colocó al animal sobre una almohadilla térmica para mantener la temperatura central normal. Veinticuatro horas después de la ICC, se realizaron imágenes de retina en vivo en ratones anestesiados después de la administración i.v. del Compuesto 10. Como se muestra en la **FIG. 3**, la vasculatura retiniana permaneció iluminada durante el período de obtención de imágenes de 15 minutos, lo que indica que A β puede estar presente en los vasos (**FIG. 3**, fila inferior). Esto contrasta con las imágenes previas a la ICC, donde el aumento de la fluorescencia de los vasos era visible 3 minutos después de la inyección, pero disminuye durante el período de imágenes de 15 minutos.

45

Este ejemplo muestra que dentro de las 24 horas posteriores a una ICC, se puede usar la sal de diamonio del Compuesto 9 (Compuesto 10) para detectar un cambio en la vasculatura retiniana que puede ser indicativo de la acumulación de A β debido a una LCT.

50

EJEMPLO 6

Diagnóstico temprano de priones a través del ojo

55

Se realizaron experimentos de imágenes retinianas fluorescentes *in vivo* en ratones vivos anestesiados con ketamina utilizando un sistema de imágenes retinianas fluorescentes de roedores Phoenix Micron IV (análogo a una cámara de retina humana comercial utilizada en angiografía fluoresceínica). Los ratones se examinaron después de una administración sistémica del Compuesto 10 antes de las manifestaciones clínicas de la enfermedad (50 % de incubación después de la inoculación con priones de ratón (N = 5 + N = 4 controles) y 75 % de incubación después de la inoculación con priones de ratón (N = 3 + N = 4 controles)) y en enfermedad priónica terminal (N = 4 + N = 4 controles). Como se muestra en la Figura 4 y la Figura 5, el Compuesto 7, cuando se administró como Compuesto 10, marcó con éxito objetos grandes alrededor del disco óptico y la vasculatura que se cree que son depósitos de priones en la retina tanto de ratones presintomáticos (Figura 4) como de ratones con enfermedades terminales (Figura 5). Los ratones infectados de forma simulada (control negativo) no mostraron signos de depósitos de amiloide en la retina, como se esperaba. Por primera vez, los priones retinianos en este modelo de ratón se identificaron en una etapa presintomática de la enfermedad, lo que

60

indica que el Compuesto 7, cuando se administra como Compuesto 10, puede marcar los depósitos de priones antes del diagnóstico clínico.

EJEMPLO 7

5 **Detección de AP retiniana en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer.**

Análisis ex vivo con tejido de la enfermedad de Alzheimer humana:

10 Se obtuvieron tejido retiniano post-mortem y cerebros de humanos con enfermedad de Alzheimer confirmada o probable (Universidad de Miami, FL). Este estudio se realizó para determinar 1) si existe una correlación entre la amiloidosis en el cerebro y las retinas de pacientes con enfermedad de Alzheimer, y 2) si los compuestos descritos en el presente documento podrían identificar pacientes con acumulación de amiloide en el cerebro mediante la inspección fluorescente de las retinas como método para el diagnóstico de pacientes con enfermedad de Alzheimer.

15 Se llevó a cabo un experimento de colocalización en tejido cerebral de un paciente diagnosticado con enfermedad de Alzheimer familiar. Se tiñeron secciones flotantes libres de la región del hipocampo post-mortem de este paciente con un anticuerpo específico de secuencia A β (6E10) junto con el Compuesto 7. La imagen de microscopía de fluorescencia en la Figura 6A demuestra que el Compuesto 7 se une a objetos consistentes en tamaño y morfología a placas centrales densas de A β . Significativamente, la unión del Compuesto 7 se co-localizó con la inmunorreactividad de las placas amiloides de núcleo denso 6E10 (Figura 6C, flechas blancas), pero no con objetos difusos teñidos por 6E10. Una limitación de 6E10 es que reconoce una secuencia específica de aminoácidos en lugar de la agregación de A β , lo que explica la fluorescencia tanto de las placas centrales densas como de otros objetos difusos observados en las Figuras 6B y C.

25 Estos resultados respaldan que el Compuesto 7 se une a placas A β asociadas con la enfermedad de Alzheimer. Es importante destacar que esto demuestra la capacidad del Compuesto 7 para unirse a las placas A β tanto en el cerebro como en el tejido de la retina de pacientes humanos con Alzheimer. Estos datos muestran que el Compuesto 7 puede unirse a A β en tejido humano y, por lo tanto, se contempla que el Compuesto 9, o una sal del mismo (Compuesto 10), pueda usarse para administrar el Compuesto 7 *in vivo*, para diagnosticar la enfermedad de Alzheimer.

EJEMPLO 8

Angiopatía amiloide cerebral (AAC)

35 **Detección de A β 40 *in vivo* después de la administración sistémica**

Se desarrollaron dos modelos de ratón Tg diferentes para el desarrollo de depósitos vasculares de amiloide en la retina asociados con AAC. Los ratones APP^{SwDI} y PSAPP se seleccionaron en función de la acumulación de depósitos de amiloide en la vasculatura en el cerebro, pero hasta la fecha no se había explorado la retina. Los ratones APP^{SwDI} expresan el gen APP humano (isoforma 770) que contiene las mutaciones sueca (K670N/M671L), holandesa (E693Q) e Iowa (D694N) bajo el control del promotor Thy1 de ratón. Los ratones PSAPP expresan una proteína precursora de amiloide quimérica de ratón/humano (Mo/HuAPP695swe) y una presenilina 1 humana mutante (PS1-dE9), ambas dirigidas a las neuronas del SNC por el promotor de la proteína priónica de ratón. Se criaron colonias de ratones y se examinaron a lo largo del tiempo para detectar el desarrollo de depósitos vasculares de amiloide en la retina. Inicialmente se examinaron ratones de ambos sexos con edades comprendidas entre 12 y 16 meses. En este rango de edad, los ratones comenzaron a desarrollar cataratas que impedían la capacidad de obtener imágenes de la retina *in vivo*. Por lo tanto, se seleccionaron ratones más jóvenes para examinarlos con el Compuesto 10.

50 Se adquirieron imágenes de retina de APP^{SwDI} de 8-10 meses de edad (N = 6, 1 macho y 5 hembras), PSAPP (N = 2, hembras) y ratones de control de tipo salvaje (N = 3 mujeres). Se tomaron imágenes de los ratones 5 minutos después de la inyección intravenosa (i.v.) en la vena de la cola con 25 μ L del Compuesto 10 (20 mg/mL en tampón fosfato 0,1M, pH 7,4). Una hembra de ratón APP^{SwDI} de 10 meses reveló pequeños depósitos fluorescentes brillantes principalmente a lo largo de la vasculatura (Figura 7 flechas blancas). La fluorescencia disminuyó durante un período de 15 minutos, momento en el que se sacrificó al ratón y se recogieron el cerebro y el tejido de la retina para inmunohistoquímica (IHQ). Como se muestra en la Figura 7, estos depósitos se marcaron fluorescentemente con el Compuesto 7 en la retina y, de manera importante, se co-localizaron con un anticuerpo de secuencia específica para A β (6E10). Curiosamente, demuestra que el Compuesto 7, cuando se administra como Compuesto 10, marca tanto los vasos como los depósitos difusos en el tejido de la retina de este ratón APP^{SwDI} (Figura 7, esquina superior derecha).

60 Para comprender mejor la correlación cerebro/ ojo, se examinó el cerebro mediante IHQ. El ratón APP^{SwDI} mostró depósito de amiloide dentro de los vasos sanguíneos, así como placas de amiloide difusas en el cerebro (Figura 8, flechas blancas), como lo que se observó en la IHQ de la retina, lo que indica una buena correlación. Para el ratón PSAPP al que se le inyectó el Compuesto 10, se observó *in vivo* un gran depósito en el cuadrante inferior derecho de la retina (Figura 7). Se confirmó que ese mismo depósito era A β , como lo demuestra la colocalización del Compuesto 7 con 6E10. En el cerebro, se observaron placas centrales densas análogas a las de la patología de Alzheimer, pero no se observó depósito vascular

de amiloide en el cerebro de este ratón (Figura 8). Nuevamente, esto demostró una buena correlación cerebro/ojo ya que no se observó patología vascular en la retina de este ratón PSAPP. Por último, no se observaron depósitos en ratones de tipo salvaje inyectados con el Compuesto 10 como se esperaba (Figura 7, fila inferior).

5 **Análisis ex vivo de tejido cerebral humano de pacientes post-mortem con AAC**

Se examinó el tejido cerebral post-mortem de pacientes diagnosticados con AAC para eliminar el riesgo de traducción de los limitados y robustos modelos animales preclínicos a humanos. Este estudio fue diseñado para comprender la base fundamental de la detección fluorescente de amiloides utilizando tejido humano. La Figura 9 demuestra que los compuestos descritos en el presente documento pueden detectar depósitos de amiloide en el cerebro de pacientes humanos con AAC.

Se adquirió tejido cerebral AAC humano y tejido cerebral de control sano (Universidad de California, San Diego, CA). La Tabla 9 resume la población de pacientes incluyendo edad, sexo y diagnóstico del tejido cerebral humano post mortem examinado con el Compuesto 7. Todos los pacientes con AAC eran mujeres y tenían edades comprendidas entre 70 y 93 años. Los cerebros de control se obtuvieron de pacientes cognitivamente normales con edades comprendidas entre 82 y 94 años, tanto de donantes masculinos como femeninos. Se tiñeron secciones flotantes libres de la corteza frontal media de cerebro AAC humano y cerebros de control con un anticuerpo específico de secuencia Aβ (6E10) junto con el Compuesto 7.

Tabla 9. Población de pacientes examinada ex vivo con el Compuesto 7.

Nº de paciente	Edad	Sexo	Diagnóstico
CAA 1	87	F	PSP ¹ , enfermedad cerebrovascular, AAC e infartos lacunares
CAA 2	70	F	Enfermedad de Alzheimer estadio VI de Braak con AAC grave
CAA 3	93	F	Enfermedad de Alzheimer estadio VI de Braak con cuerpos de Lewy y AAC grave
CAA 4	77	F	Enfermedad de Alzheimer estadio VI de Braak con AAC grave
Sano 1	82	M	Normal
Sano 2	84	F	Normal
Sano 3	84	M	Normal
Sano 4	94	M	Normal

¹ Parálisis supranuclear progresiva.

40 éxito los depósitos de amiloide asociados con AAC en tejido humano.

Este ejemplo demuestra que los compuestos divulgados detectan Aβ40 *in vivo* en animales tg (administrado como una inyección en bolo i.v., Figura 7) y *ex vivo* con tejidos de la enfermedad AAC humana (Figura 9). Se realizaron imágenes ante mortem de depósitos vasculares de amiloide en la retina de un ratón enfermo utilizando el Compuesto 10. El análisis *ex vivo* de la misma retina enferma confirmó los hallazgos *in vivo* de que los depósitos eran efectivamente Aβ. En consecuencia, los compuestos divulgados pueden proporcionar un agente de obtención de imágenes eficaz y asequible para el diagnóstico de AAC.

50 **EJEMPLO 9**

Diagnóstico oftálmico no invasivo para la enfermedad de Parkinson

El siguiente ejemplo muestra que los compuestos descritos en el presente documento proporcionan una prueba de diagnóstico de la enfermedad de Parkinson, que puede tener dos impactos principales. En primer lugar, se contempla que los compuestos de diagnóstico actualmente divulgados identificarán a los pacientes con enfermedad de Parkinson potencialmente años antes que los criterios actuales, permitiendo intervenciones tempranas con las terapias actuales. En segundo lugar, los compuestos de diagnóstico actualmente descritos pueden ayudar en el desarrollo de terapias que modifican la enfermedad optimizando la selección de pacientes a tratar, mejorando así la probabilidad de un resultado clínico exitoso de los candidatos a fármacos para la enfermedad de Parkinson.

60 Basado en la premisa de que α-syn se acumula en la retina, se produjo y utilizó el siguiente modelo para probar la eficacia de los compuestos de diagnóstico actualmente divulgados para el desarrollo de una sonda de diagnóstico que puede apuntar a α-syn en el ojo para diagnosticar y monitorear la progresión de la enfermedad de Parkinson.

Se examinaron dos modelos de ratón transgénicos de la enfermedad de Parkinson (línea D y línea 61) para detectar depósitos de α -syn en la retina. Los modelos seleccionados producen depósito de α -syn en el cerebro, pero hasta la fecha no se había determinado la producción en la retina. Se obtuvieron imágenes de retina de ratones antes y después de la administración i.v. del Compuesto 10. Después de obtener imágenes en vivo, se sacrificaron los ratones y se recogieron el cerebro y la retina para inmunofluorescencia y bioquímica.

Modelo de ratón Tg con enfermedad de Parkinson de línea D:

La tinción retiniana *ex vivo* preliminar con SYN1 no detectó α -syn en el tejido de la retina. Como se esperaba, el Compuesto 10 no detectó ningún depósito retiniano *in vivo* o *ex vivo*. En consecuencia, el modelo de línea D no es un modelo viable para explorar los depósitos de α -syn en la retina.

Modelo de ratón Tg con enfermedad de Parkinson de línea 61:

Se observaron depósitos de α -syn en la retina *in vivo* en 4/14 ratones después de la administración sistémica del Compuesto 10. La tinción retiniana *ex vivo* con el anticuerpo SYN1 confirmó que α -syn estaba presente en el tejido de la retina de los ratones, donde se observaron depósitos *in vivo*. En consecuencia, el modelo de línea 61 manifiesta α -syn retiniano en aproximadamente el 30 % de los ratones y fue útil para mostrar la utilidad de los compuestos descritos. Se evaluaron ratones WT (N = 10) como controles y no se detectó α -syn retiniano *in vivo* o *ex vivo*, como se anticipó. Se extrajo tejido cerebral post mortem de ratones después de la última sesión de imágenes y se tiñó con DAPI y un anticuerpo SYN1 que confirma la presencia de α -syn en el cerebro del ratón de línea 61.

Utilizando el modelo de línea 61, se confirmó que el Compuesto 7, mediante la administración del Compuesto 10, es específico para los depósitos de α -syn asociados con la enfermedad de Parkinson y puede detectar depósitos de α -syn en la retina *in vivo* (Figura 10).

Para confirmar que los objetos detectados *in vivo* eran α -syn, se extrajo tejido de retina post mortem de los ratones después de la última sesión de imágenes y se tiñó con DAPI y un anticuerpo SYN1 (Figura 11).

Este ejemplo muestra que la administración i.v. del Compuesto 10 puede detectar α -syn retiniano *in vivo* con ratones de la línea 61 y que la mejora de la fluorescencia es específica para α -syn. En consecuencia, el Compuesto 7 colocaliza con un anticuerpo anti-alfa-sinucleína (SYN1) en el cerebro y el tejido retiniano de ratones Tg.

Para ampliar la comprensión y la utilidad de la administración del Compuesto 10 como diagnóstico de retina para la enfermedad de Parkinson, se realizaron los siguientes estudios.

Para confirmar que la administración del Compuesto 10 puede detectar de manera reproducible depósitos de α -syn en la retina, los ratones Tg de la línea 61 recibieron dos administraciones i.v. de 15 mg/kg del Compuesto 10 separadas por un período de lavado de 7 días. Se observó un número similar de depósitos durante ambas sesiones de imágenes. La Figura 12 muestra que la administración del Compuesto 10 puede detectar de manera reproducible depósitos de α -syn en la retina en el mismo animal.

Para comprender la dosis más baja de Compuesto 10 que puede detectar α -syn retiniano, a ratones Tg de la línea 61 se les inyectaron 3 mg/kg y 15 mg/kg de Compuesto 10 separados por un período de lavado de 6 días. Se observó el mismo número de depósitos para ambas concentraciones de dosis. La Figura 13 muestra que la administración del Compuesto 10 puede detectar depósitos de α -syn en la retina a una dosis más baja de 3 mg/kg.

Tinción ex vivo de ojos con enfermedad de Parkinson humana

Para comprender si el Compuesto 7 (fármaco activo) puede detectar α -syn retiniano en ojos humanos, se extrajo tejido de retina humana post mortem de un paciente sano y de un paciente diagnosticado con la enfermedad de Parkinson, y se tiñó con el Compuesto 7, DAPI y un anticuerpo SYN1.

Disección del ojo: Se retiraron la córnea, el iris y el cristalino del ocular y se colocó el ojo en PFA al 4 % durante 1 hora. Se diseccionó el ocular utilizando la mácula como guía para estimar la orientación del ojo, luego se recuperó la retina y se dividieron las valvas en 4 partes (superior, inferior, temporal y nasal). Las diferentes regiones se montaron en portaobjetos separados.

Tinción de retina de montaje plano: el tejido se fijó en PFA al 4 % a temperatura ambiente durante 20 minutos, se lavó, se permeabilizó, se bloqueó (suero de cabra al 2,5 % en PBST), se tiñó con anticuerpo alfa sinucleína (SYN-1) en una dilución de 1:1000, e incubó durante la noche a 4 °C, lavar con PBST (3 veces durante 5 minutos), incubó con anticuerpo secundario (Alexa fluor 647 anti-ratón) en la oscuridad durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, el tejido se lavó con PBST (3 veces durante 5 minutos), se incubó con Compuesto 7 60 μ M durante 30 minutos a temperatura ambiente, se lavó con PBS (3 veces durante 10 minutos), se incubó con DAPI (300 nM o 100 ng/mL) en oscuridad durante

10 minutos, y se lavó con PBS (3 veces durante 5 minutos). A continuación, se montó el tejido utilizando medios de montaje DAKO antifade.

5 Como control, se extrajeron un par de retinas de un hombre de 72 años que murió de leucemia sin trastornos neurológicos, cáncer cerebral ni enfermedades relacionadas con los ojos. Las retinas se tiñeron con el Compuesto 7 y SYN-1 Ab (alfa-sinucleína). En el tejido retiniano post-mortem de un paciente humano sano, hubo muy poca o ninguna colocalización del Compuesto 7 y alfa-sinucleína (SYN-1 Ab). La Figura 14 y la Figura 15 muestran imágenes de ejemplo de cada región de la retina derecha e izquierda.

10 Se extrajeron un par de retinas de un hombre de 71 años diagnosticado con la enfermedad de Parkinson (EP). Las retinas se tiñeron con el Compuesto 7 y SYN-1 Ab (alfa-sinucleína). En la retina de un paciente humano con EP, existe colocalización del compuesto 7 y depósitos de alfa-sinucleína (SYN-1 Ab) en todas las regiones. La Figura 16 y la Figura 17 muestran imágenes de ejemplo de cada región de la retina derecha e izquierda.

15 Para determinar el número de objetos co-teñidos con el Compuesto 7 y SYN1, se cuantificó el número promedio de objetos co-teñidos con el Compuesto 7 y SYN1. Esto se completó para cada cuadrante del ojo izquierdo y derecho (Tabla 10 y Tabla 11).

20 **Tabla 10.** Cuantificación manual de objetos observados en cada región de la retina del ojo derecho

Región	Nº de áreas inspeccionadas	Nº Promedio de objetos coteñidos	Nº Promedio de objetos teñidos individualmente	
			SYN-1	Compuesto 7
Superior	8	16	0,62	0,5
Inferior	8	12,12	0,25	0,75
Temporal	8	11,62	0,75	0,5
Nasal	8	14,3	0,12	1,75

30 *Nota: cada área corresponde a ~250.000 μm^2 (es decir, un campo de 500 μm X 500 μm)

35 **Tabla 11.** Cuantificación manual de objetos observados en cada región de la retina del ojo izquierdo

Región	Nº de áreas inspeccionadas	Nº Promedio de objetos coteñidos	Nº Promedio de objetos teñidos individualmente	
			SYN-1	Compuesto 7
Superior	8	20	1,62	0,25
Inferior	8	13,6	0,37	0,87
Temporal	8	12,37	0,75	0,5
Nasal	8	13	0	0,75

40 *Nota: cada área corresponde a ~250.000 μm^2 (es decir, un campo de 500 μm X 500 μm)

45 Los objetos co-localizados se pueden visualizar de forma fluorescente en muestras de retina de montaje plano que se tiñeron conjuntamente con el Compuesto 7 y el SYN-1 Ab. La colocalización del Compuesto 7 y SYN-1 Ab fue más frecuente a aproximadamente 2/3 de la distancia desde el nervio óptico y el borde de la retina cerca de la ora serrata. La colocalización del Compuesto 7 y SYN-1 Ab prevaleció en todas las regiones, observándose la mayor parte de la colocalización en la región superior de la retina izquierda.

50 La Figura 18 muestra que el Compuesto 7 se colocaliza con SYN1 en los cuatro cuadrantes de un par de ojos con enfermedad de Parkinson. Estos datos muestran que el Compuesto 7 puede detectar α -syn en tejido de retina humana.

55 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta divulgación.

60 Las divulgaciones descritas ilustrativamente en el presente documento pueden practicarse adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no divulgadas específicamente en el presente documento. Así, por ejemplo, los términos "que comprende", "que incluye", "que contiene", etc. se leerán de forma amplia y sin limitación. Además, los términos y expresiones empleados en este documento se han utilizado como términos de descripción y no de limitación, y no existe ninguna intención en el uso de dichos términos y expresiones de excluir ningún equivalente de las características mostradas y descritas o partes de las mismas, pero se reconoce que son posibles varias modificaciones dentro del alcance de la divulgación reivindicada.

Debe entenderse que, si bien la divulgación se ha descrito junto con las formas de realización anteriores, la descripción y los ejemplos anteriores pretenden ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define en las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones resultarán evidentes para los expertos en la técnica a la que pertenece la divulgación.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

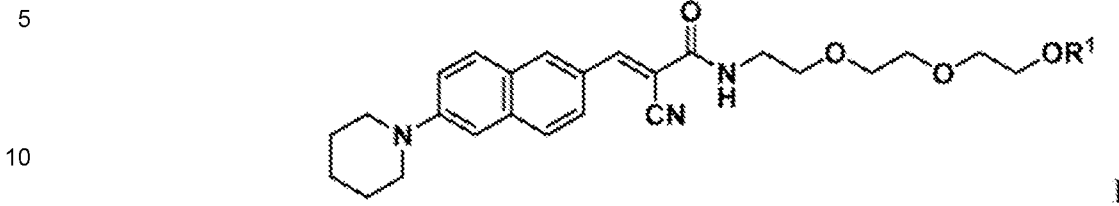
55

60

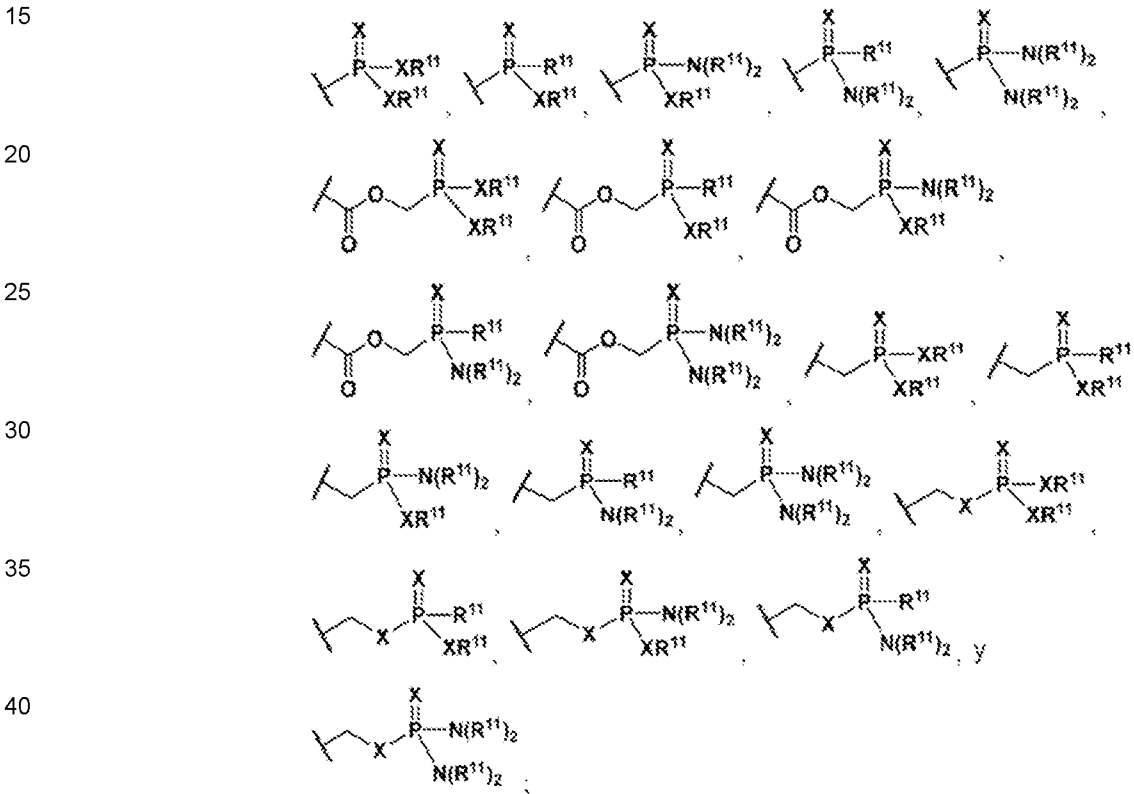
65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde R¹ se selecciona de



45 cada X es independientemente O o S;

50 cada R¹¹ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros y heterociclilo de 4 a 10 miembros, donde alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterociclilo están opcionalmente sustituidos con de uno a cuatro R²¹; o cada XR¹¹ puede ser independientemente -XP(X)(R¹²)₂;

55 cada R¹² se selecciona independientemente entre hidroxilo, tiol, -XP(X)(R¹³)₂, alquilo C₁₋₁₀, -O-alquilo C₁₋₁₀ y -S-alquilo C₁₋₁₀;

60 cada R¹³ se selecciona independientemente de hidroxilo, tiol, alquilo C₁₋₁₀, -O-alquilo C₁₋₁₀ y -S-alquilo C₁₋₁₀

65 cada R²¹ se selecciona independientemente de entre; halo, hidroxilo, tiol, -NO₂, -N₃, ciano, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₀, haloalquilo C₁₋₈, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, heterociclilo de 4 a 10 miembros, -O-alquilo C₁₋₁₀, -O-alquenilo C₂₋₆, -O alquinilo C₂₋₆,

-O-cicloalquilo C₃₋₁₀, -O-haloalquilo C₁₋₈, -O-arilo, -O-heteroarilo, -O-heterociclilo, -NH₂, -NH(R³¹),

-N(R³¹)₂, -C(O)(R³¹), -C(O)O(R³¹), -C(O)OH, -C(O)NH₂, -C(O)NH(R³¹), -C(O)N(R³¹)₂, -NHC(O)(R³¹), -NHC(O)O(R³¹), -NHC(O)NH(R³¹), -S(R³¹), -NHS(O)_y(R³¹), -N(alquil C₁₋₁₀)S(O)_y(R³¹), -S(O)_yN(R³¹)₂, -S(O)NH(R³¹) y -S(O)_y(R³¹);

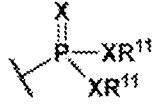
cada R³¹ se selecciona independientemente entre alquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₀, haloalquilo C₁₋₈, arilo, heteroarilo y heterociclilo; y

cada y es independientemente 1 o 2.

5

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es

10

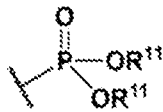


3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que cada X es independientemente O.

15

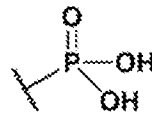
4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R¹ es

20



5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que R¹ es

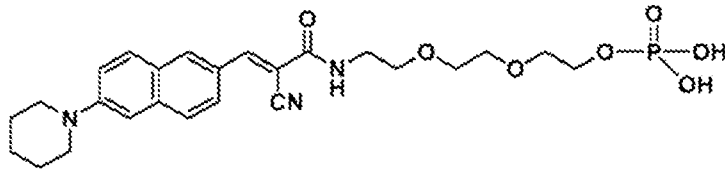
25



30

6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que tiene la fórmula

35

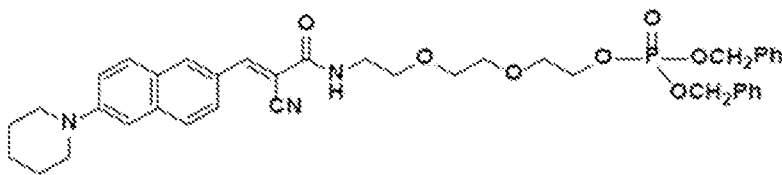


40

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 que tiene la fórmula

45

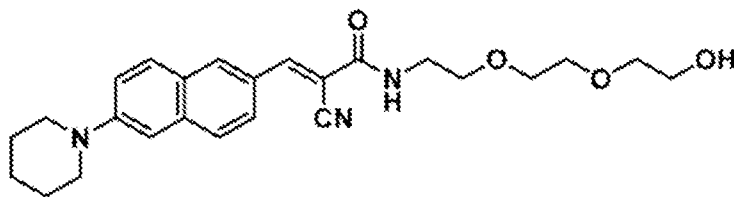


50

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Un compuesto que tiene la fórmula

55



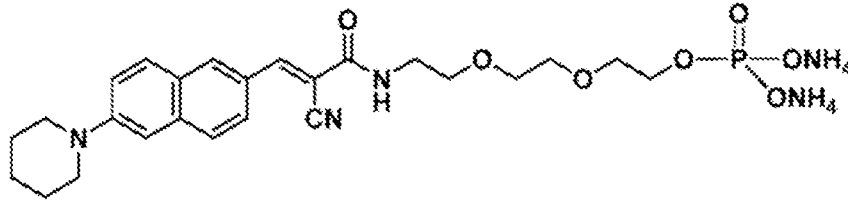
60

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

65

9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, como una sal de sodio, sal de potasio, sal de litio, sal de calcio, sal de magnesio, sal de zinc, sal de diisopropilamina, sal de trietilamina, sal de dietilamina, sal de amonio, sal de diamonio, sal de tri(isopropil)amina, sal de tri(n-propil)amina, sal de etanolamina, sal de 2-dimetilaminoetanol, sal de piperazina, sal de piperidina, sal de morfolina, sal de N-etilpiperidina o una sal mixta de alquil y arilamina.

10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que tiene la fórmula



11. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

12. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 6-10 para uso en un método para determinar si un paciente tiene una enfermedad o trastorno neurológico, que comprende administrar al paciente el compuesto o la sal.

13. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso de la reivindicación 12, en el que el compuesto o sal se administra al ojo del paciente.

14. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso de la reivindicación 12, que comprende además detectar la presencia o ausencia de unión del compuesto, sal o su compuesto original con una proteína diana detectable.

15. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso de la reivindicación 14, en el que la detección comprende la activación de un tejido del paciente a examinar mediante una luz, produciendo así la emisión de una señal detectable y detectando la señal detectable.

16. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso de la reivindicación 12, en el que la enfermedad o trastorno neurológico es la enfermedad de Alzheimer o una lesión cerebral traumática (LCT) o la enfermedad o trastorno neurológico se selecciona de una enfermedad o trastorno relacionado con la edad, un gen enfermedad o trastorno, una enfermedad o trastorno relacionado con una lesión y una enfermedad o trastorno psiquiátrico.

17. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso de la reivindicación 16, en donde la enfermedad o trastorno relacionado con la edad se selecciona de enfermedad de Parkinson, demencia vascular y esclerosis lateral amiotrófica, en donde la enfermedad o trastorno genético es el síndrome de Down, en donde la enfermedad o trastorno relacionado con la enfermedad se selecciona entre lesión cerebral traumática y encefalopatía traumática crónica, y en el que la enfermedad o trastorno psiquiátrico se selecciona entre esquizofrenia y depresión.

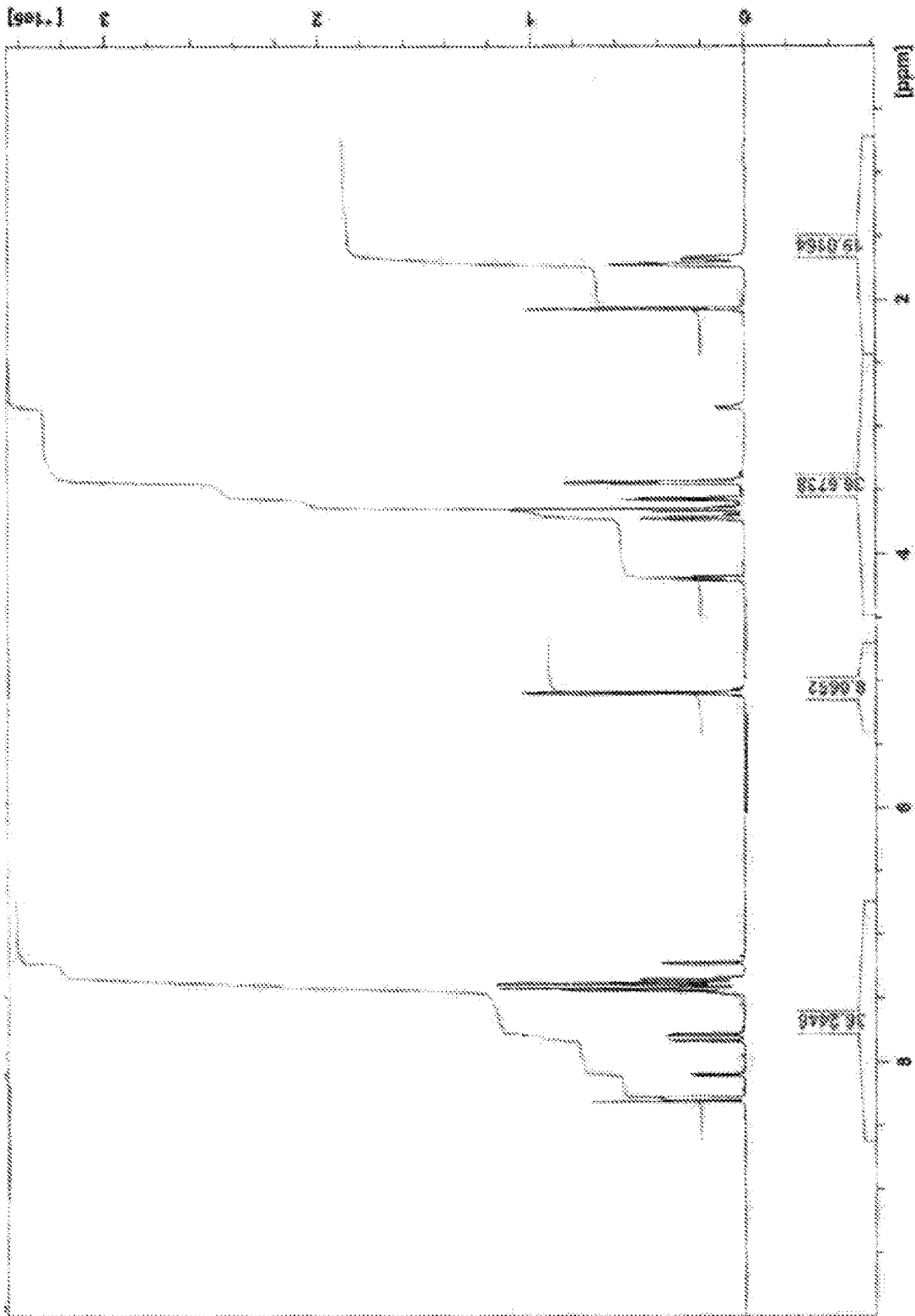


FIG. 1A

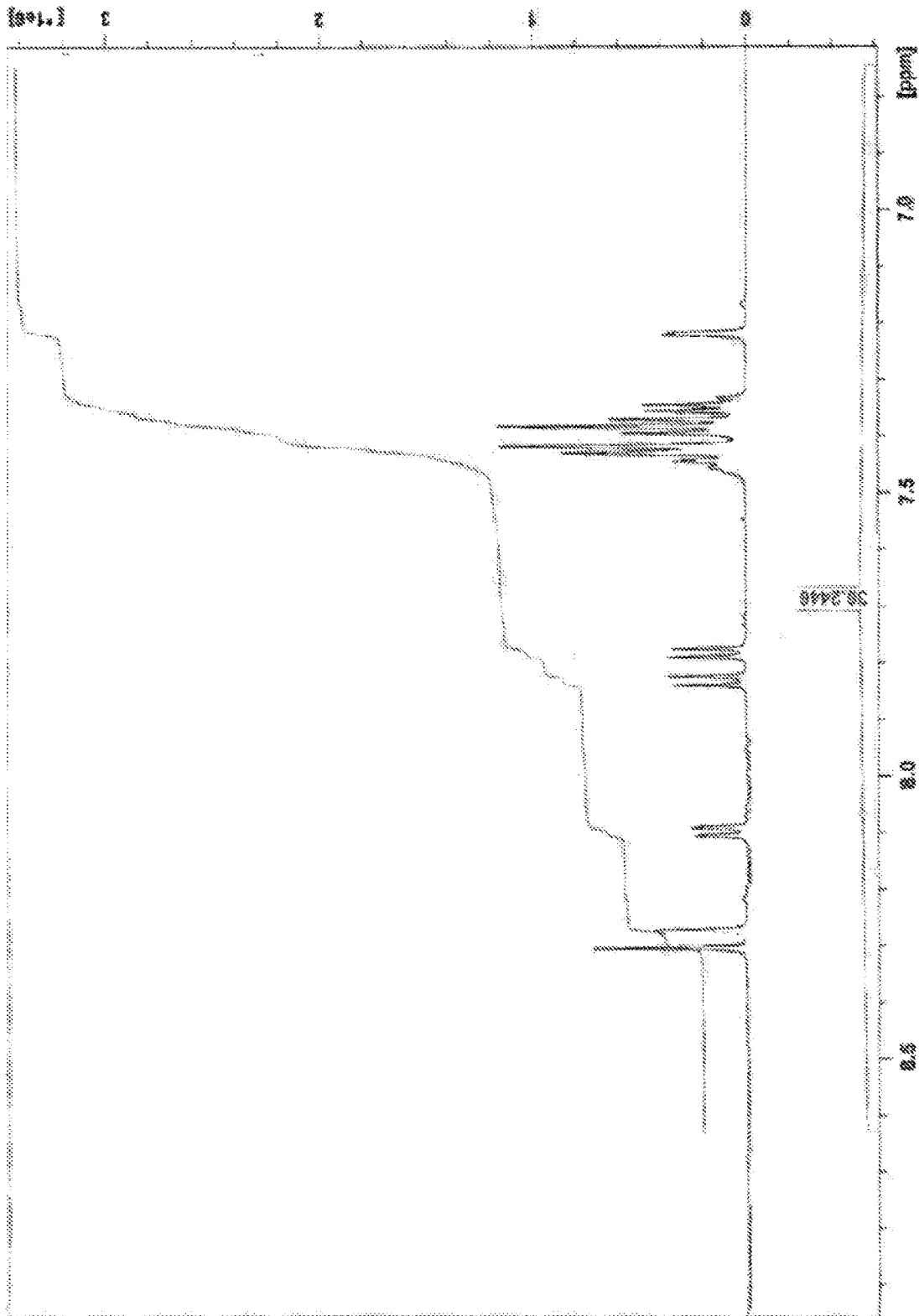


FIG. 1B

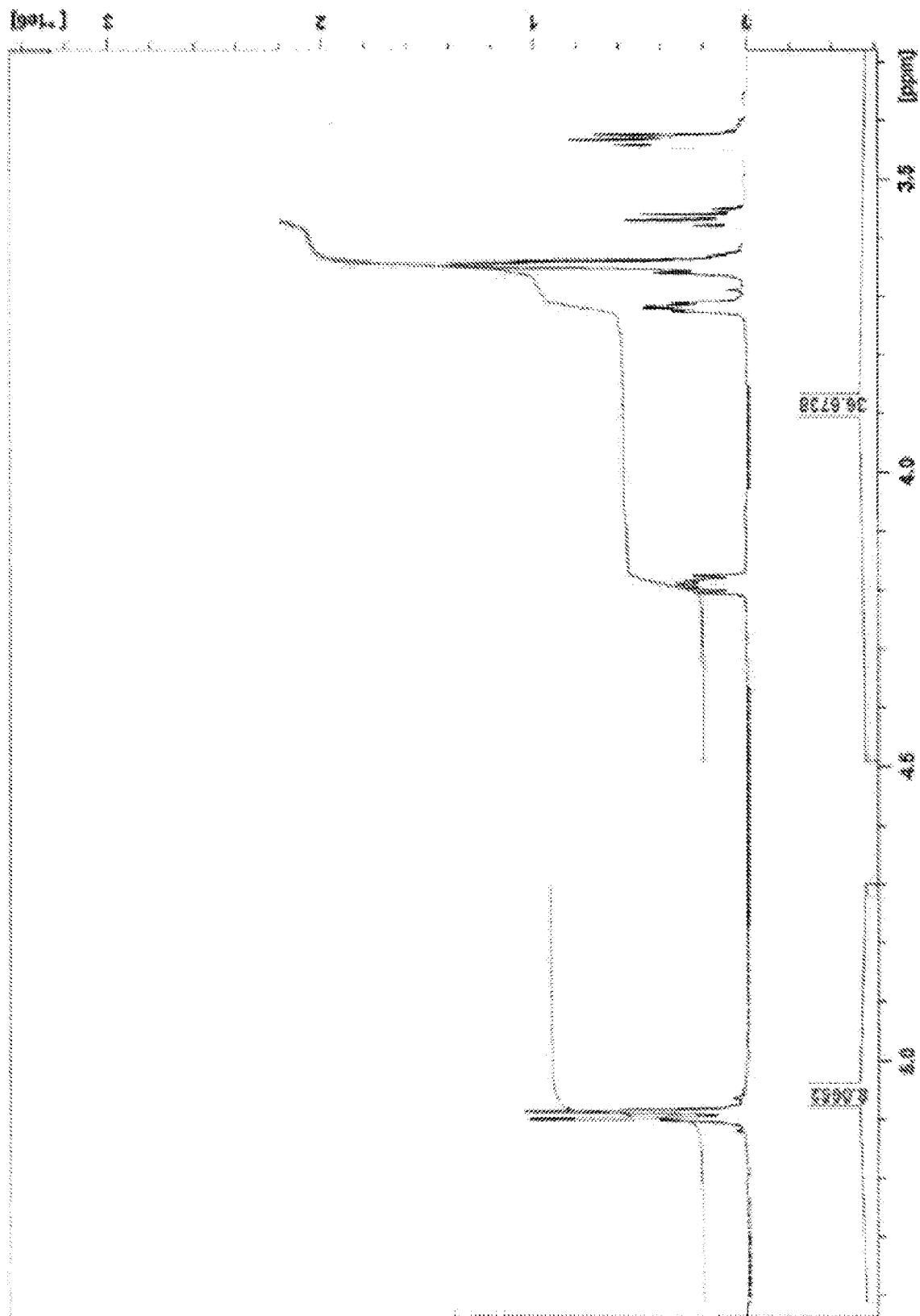


FIG. 1C

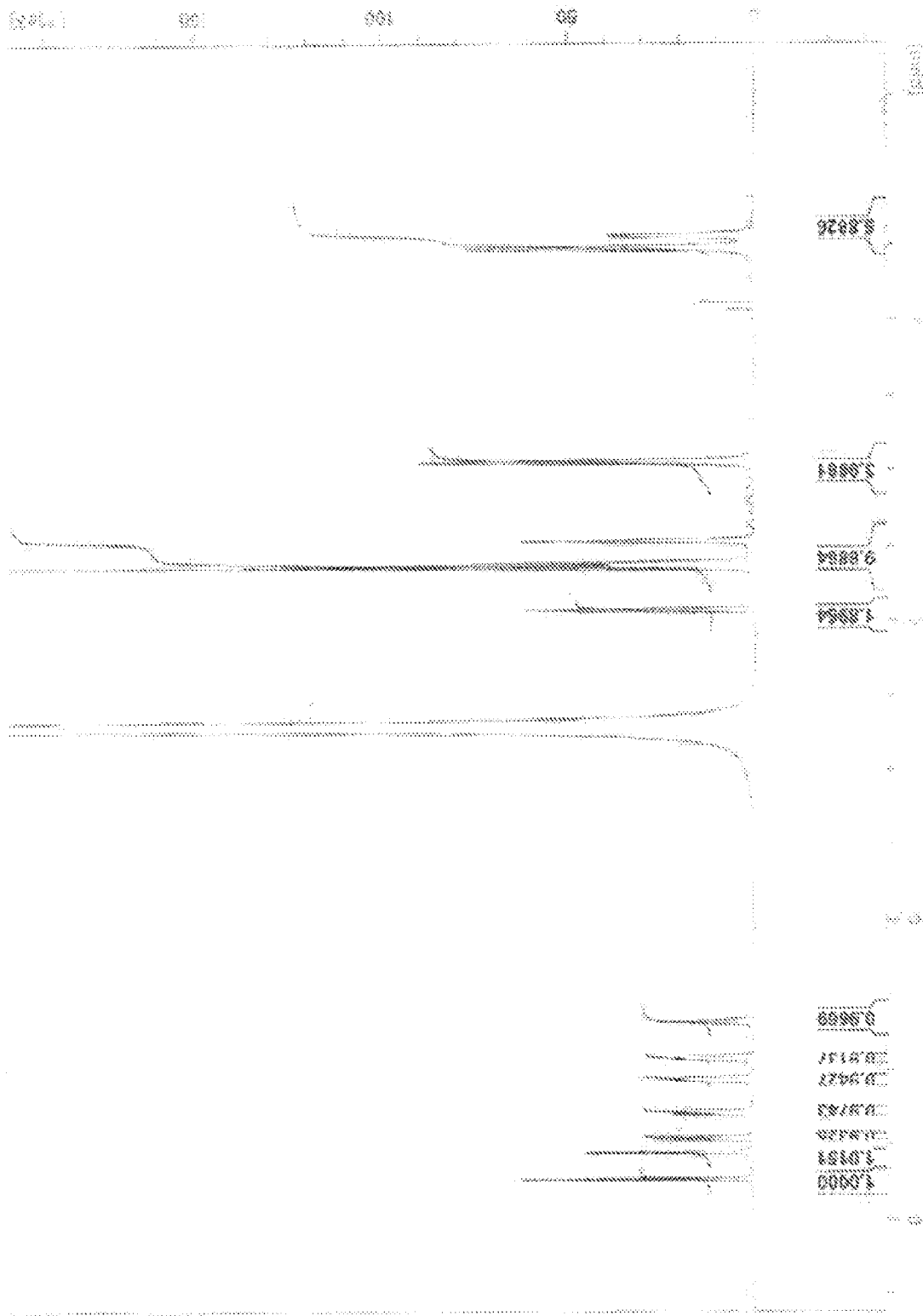


FIG. 2A

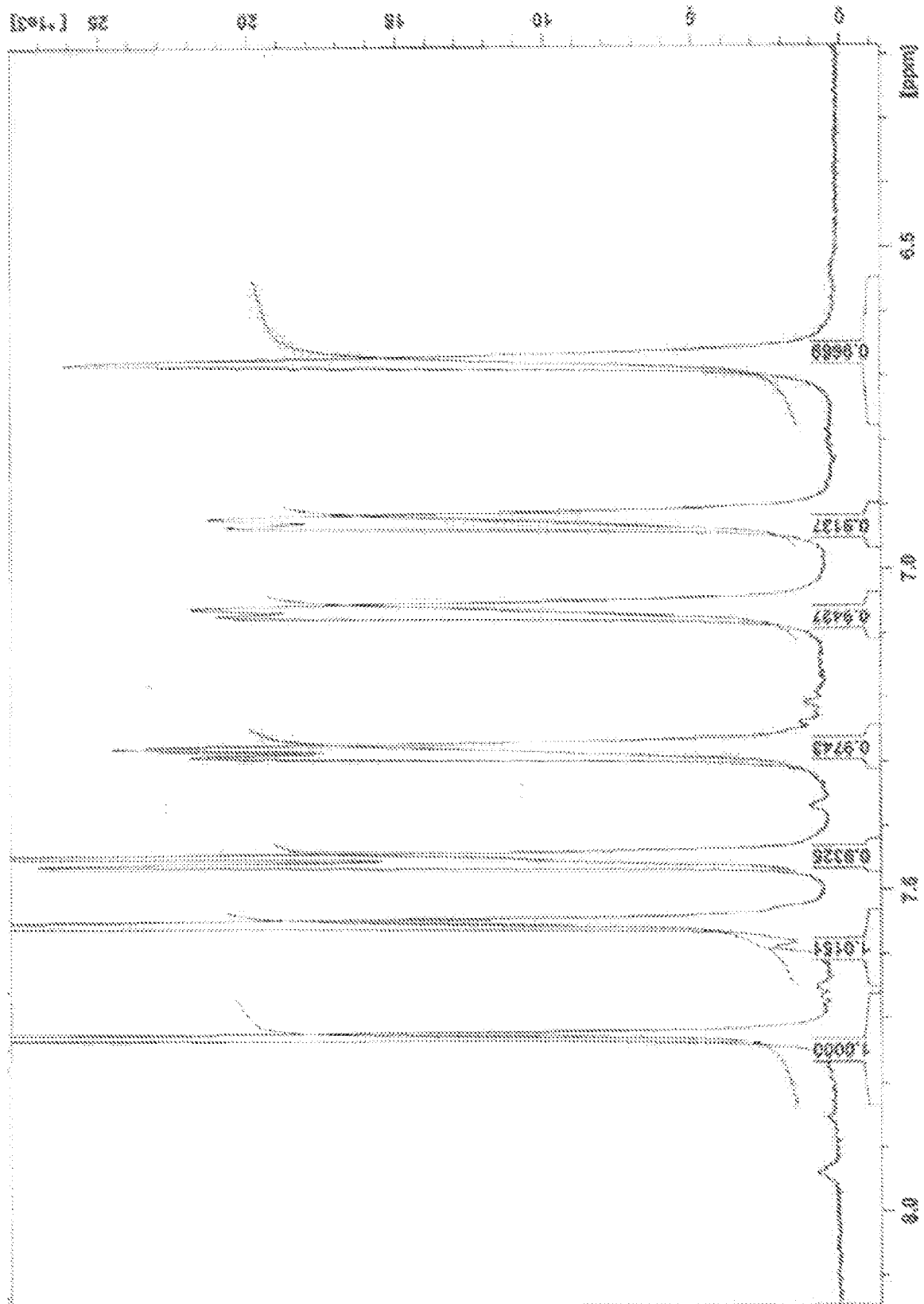


FIG. 2B

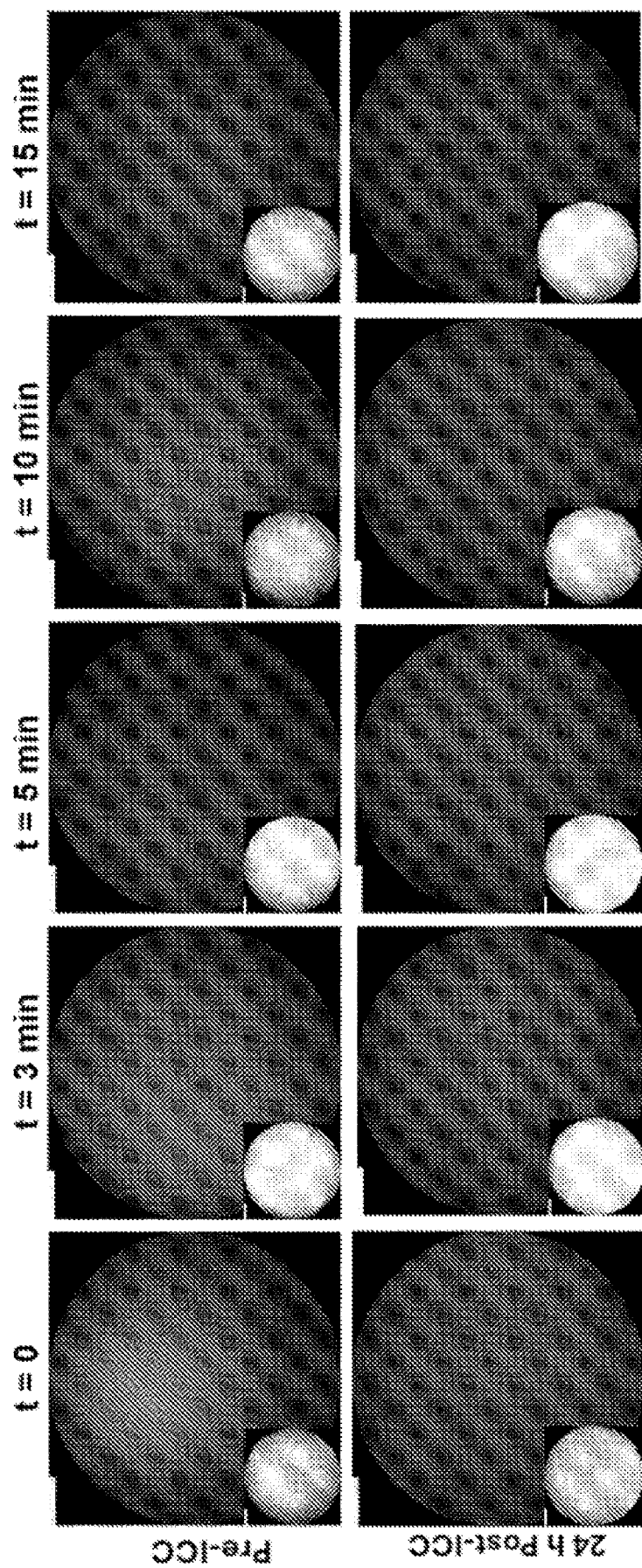


FIG. 3

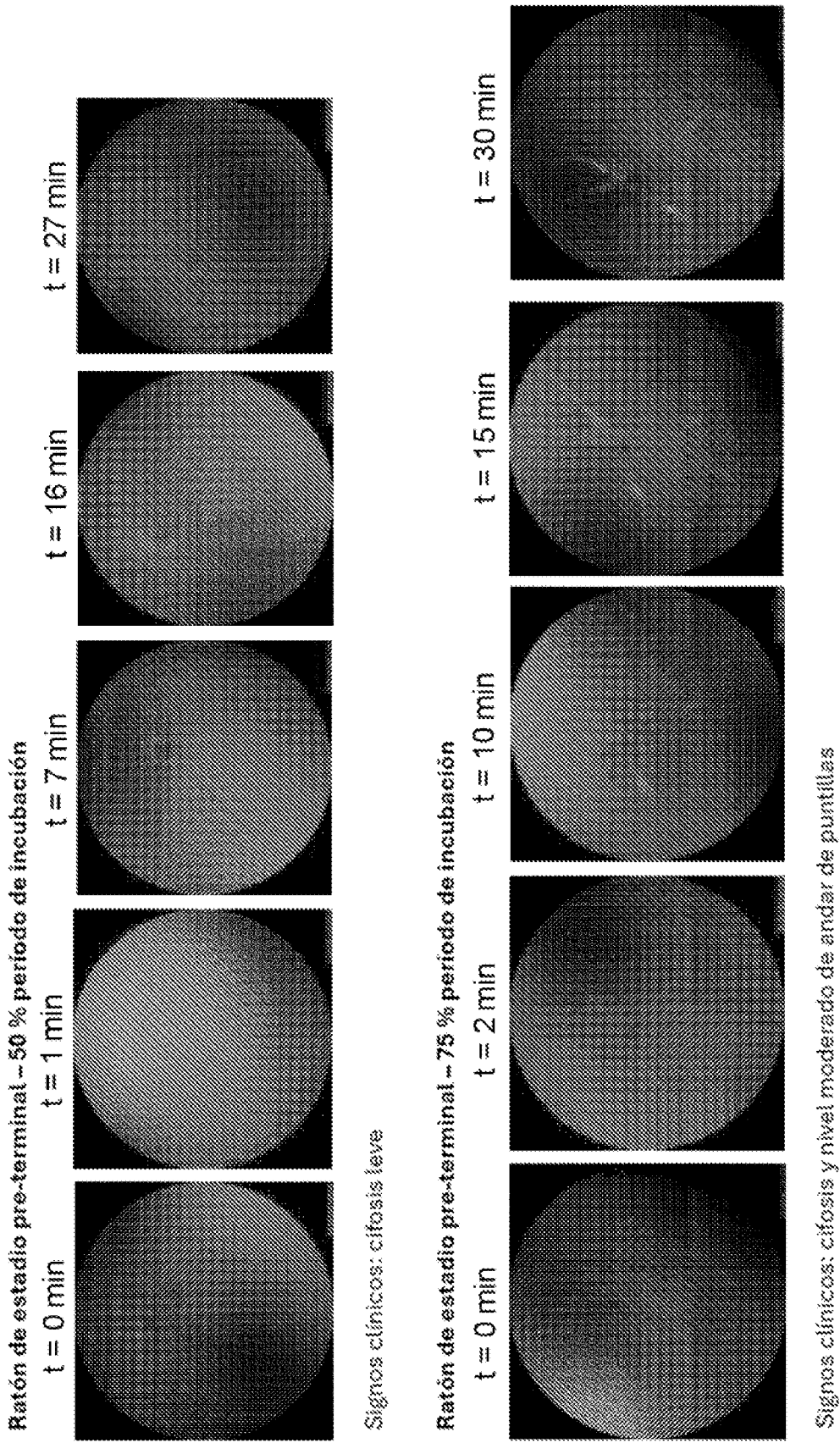


FIG. 4

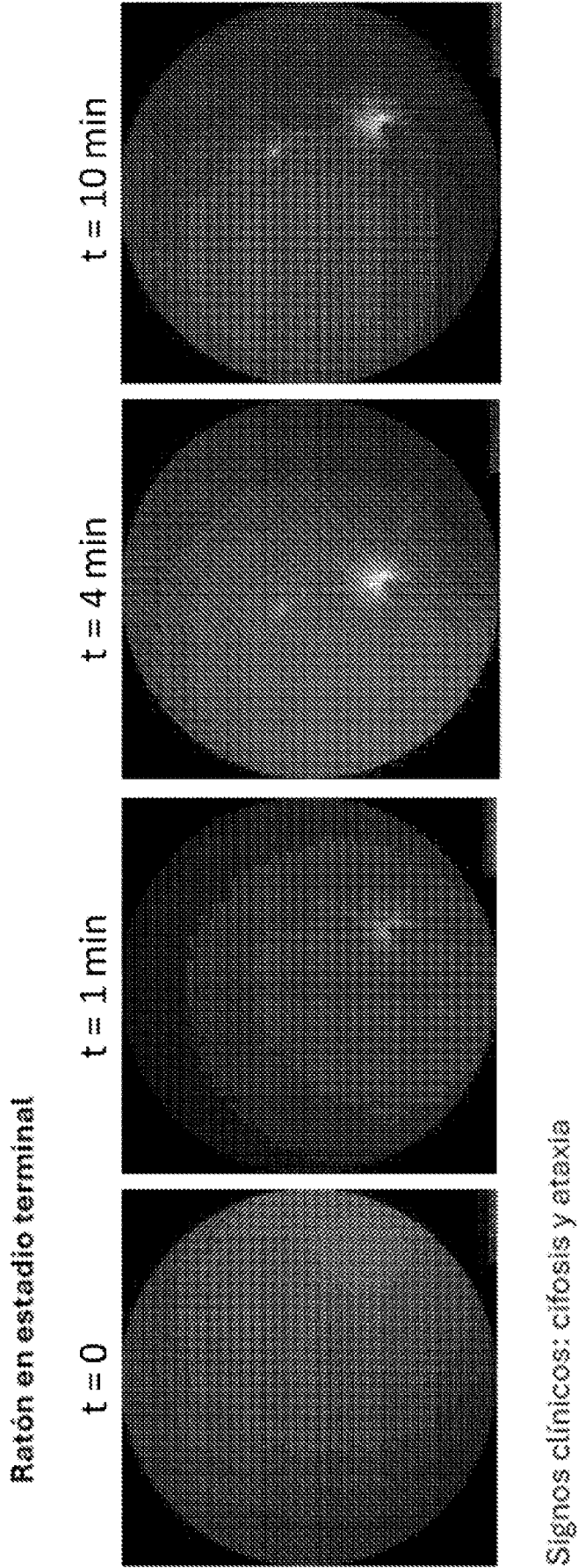


FIG. 5

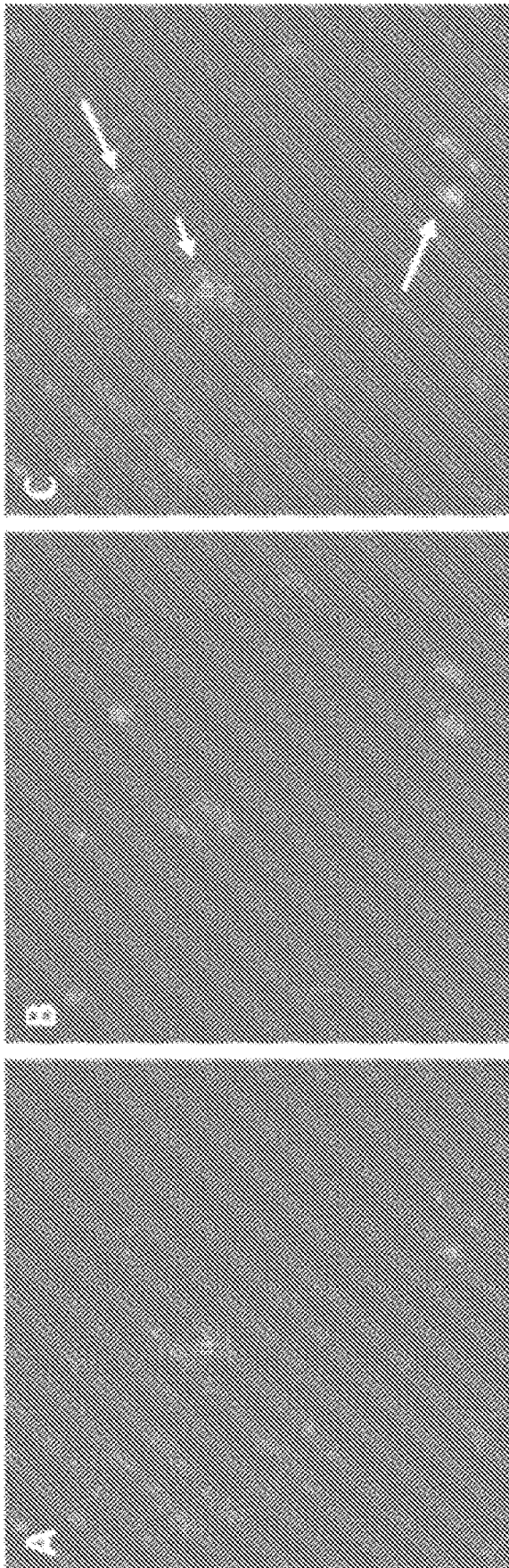


FIG. 6

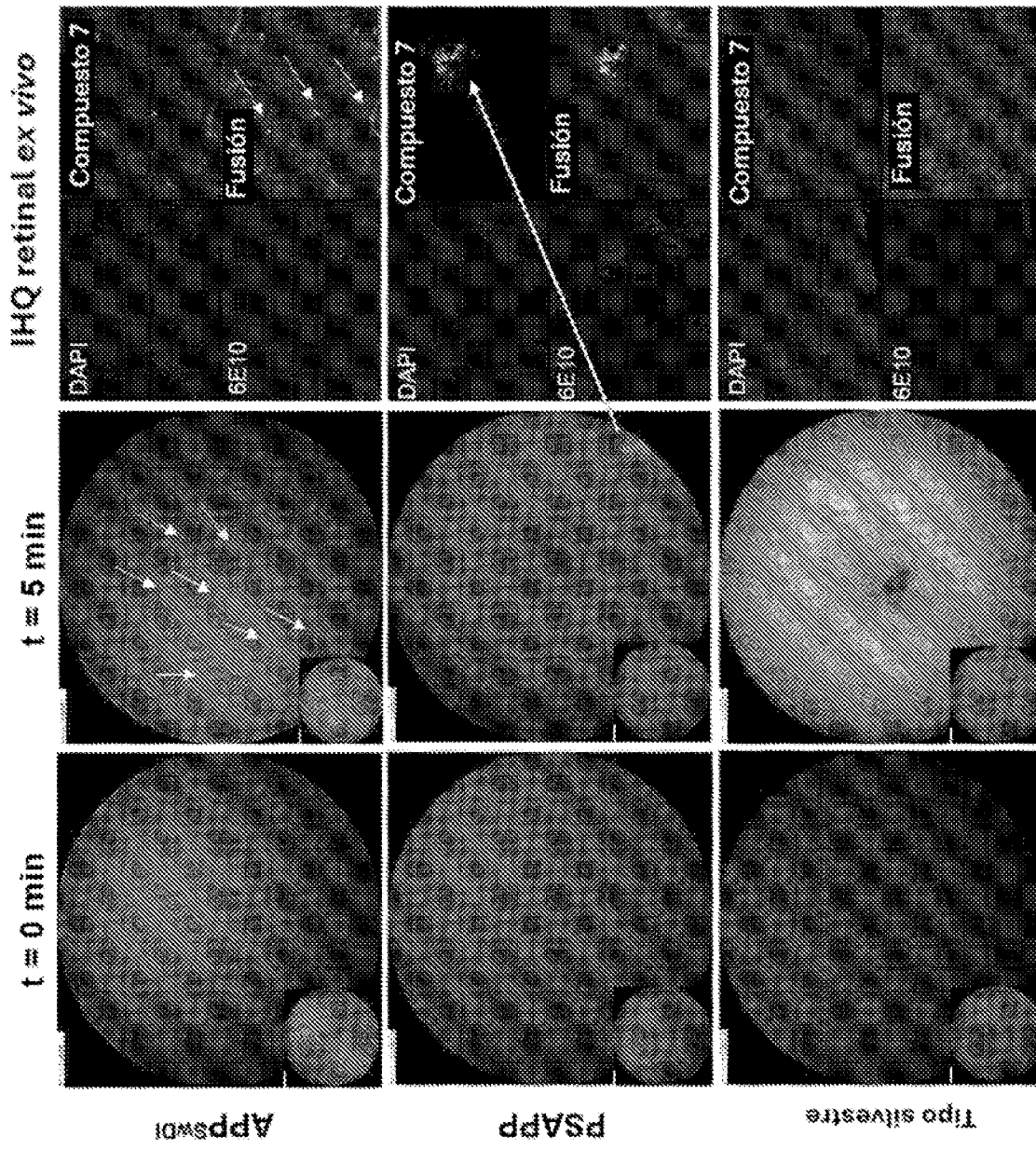


FIG. 7

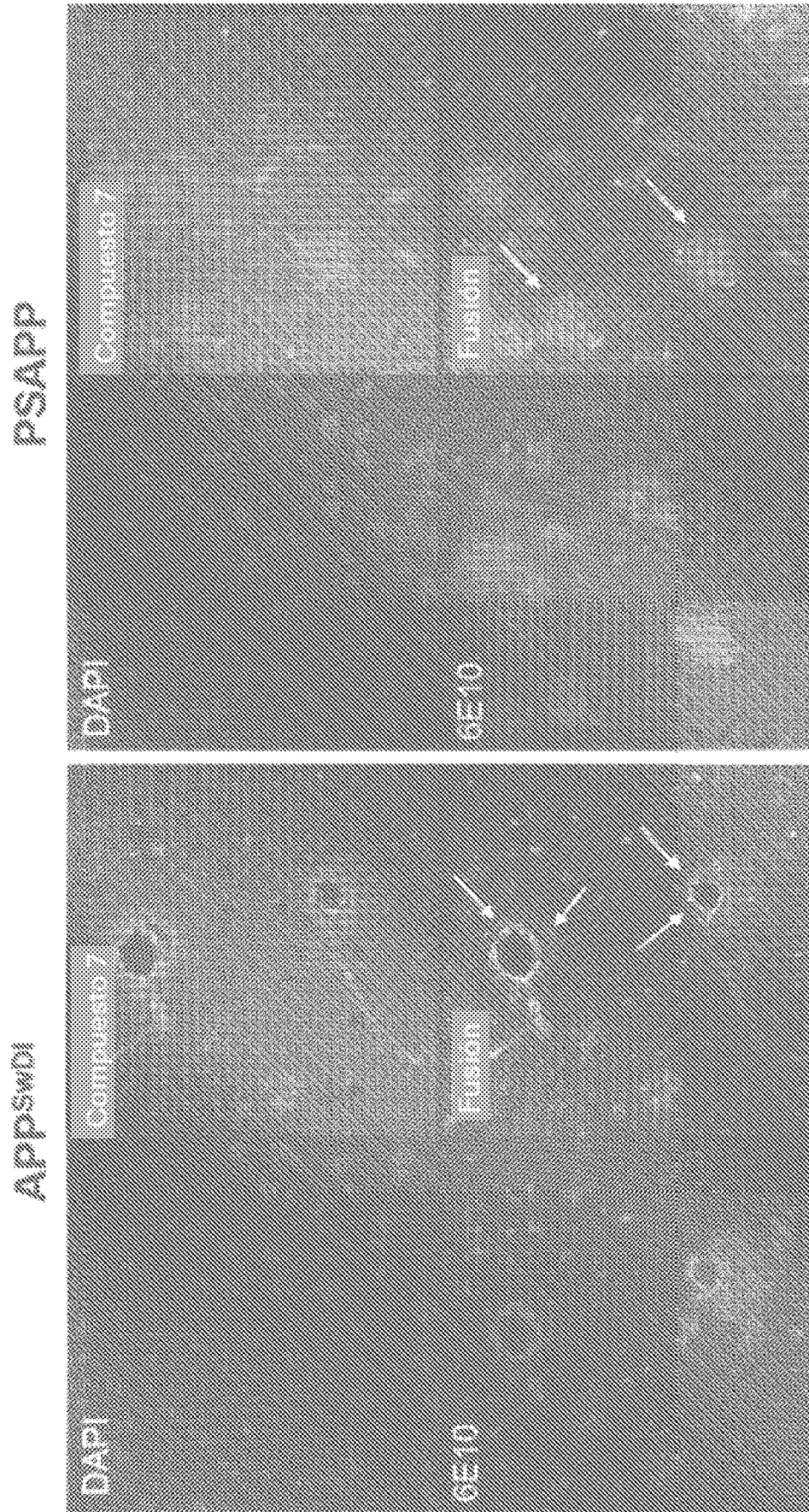


FIG. 8

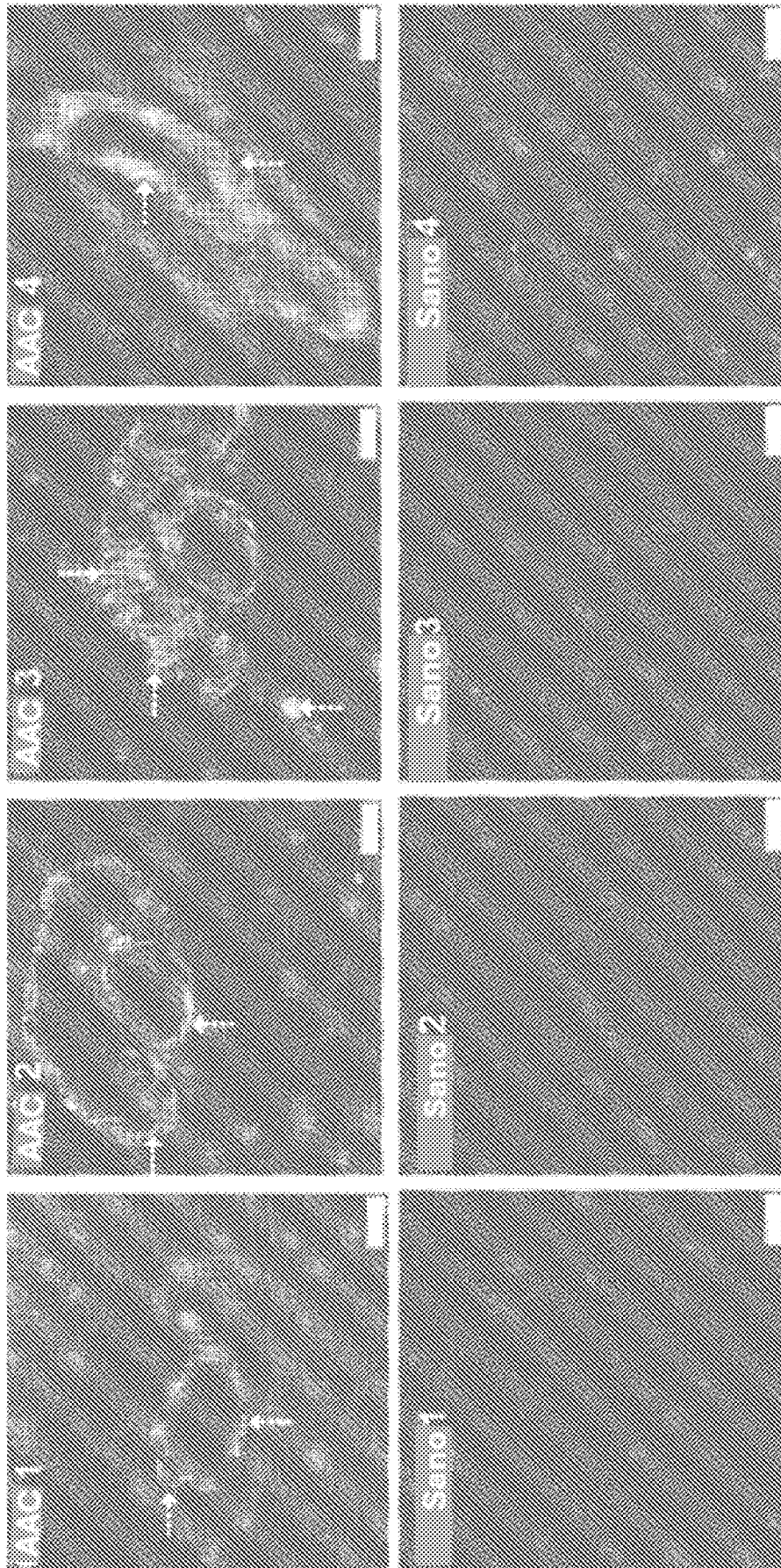


FIG. 9

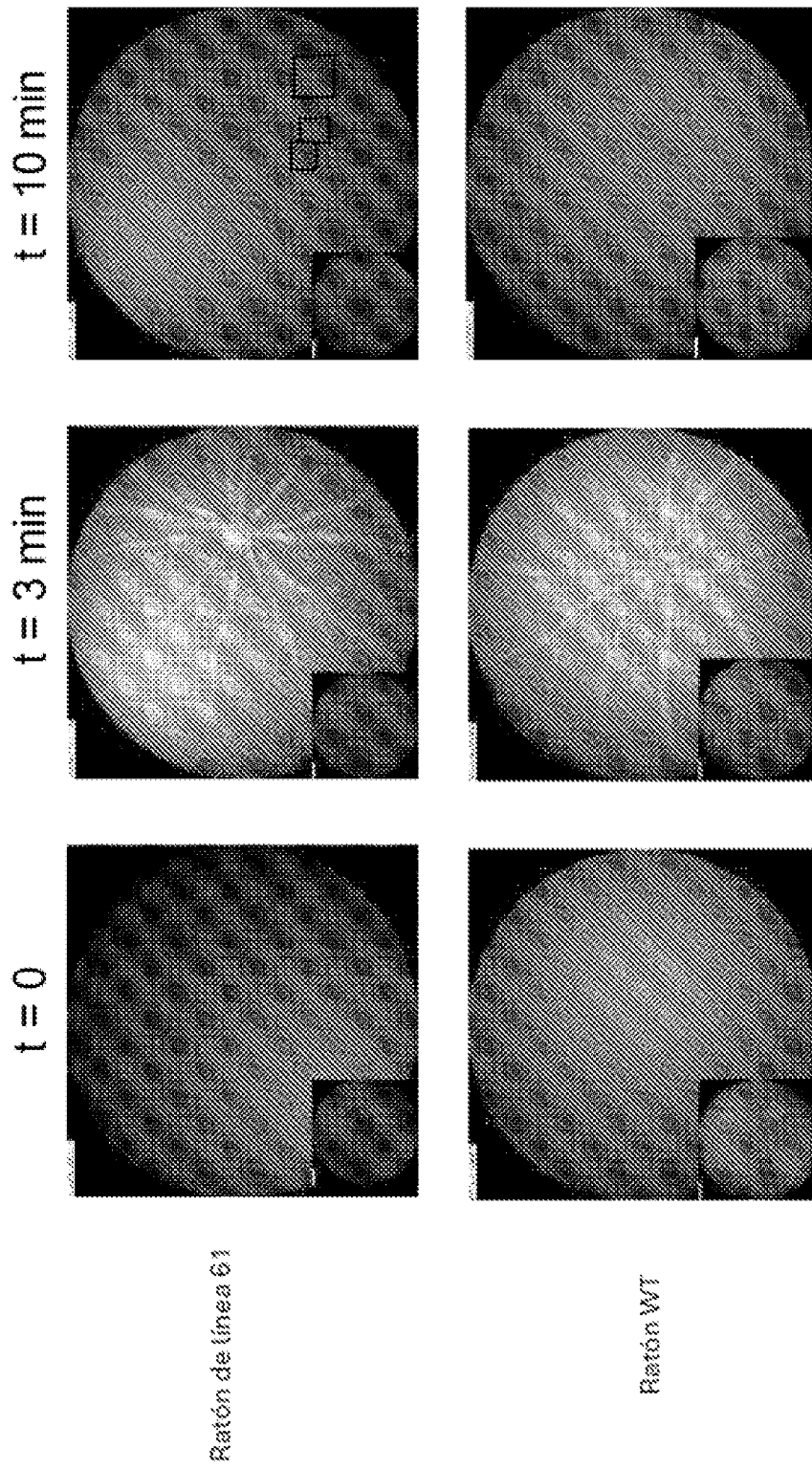


FIG. 10

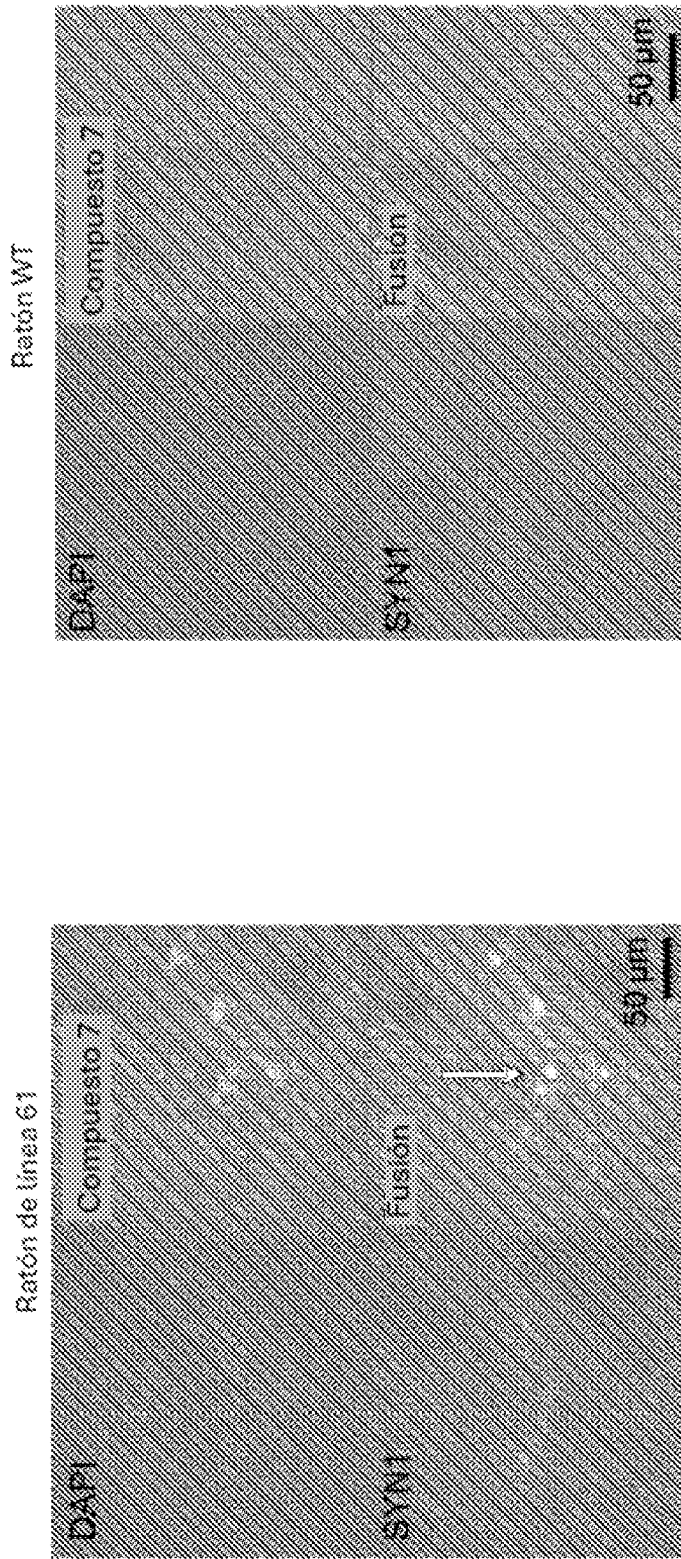
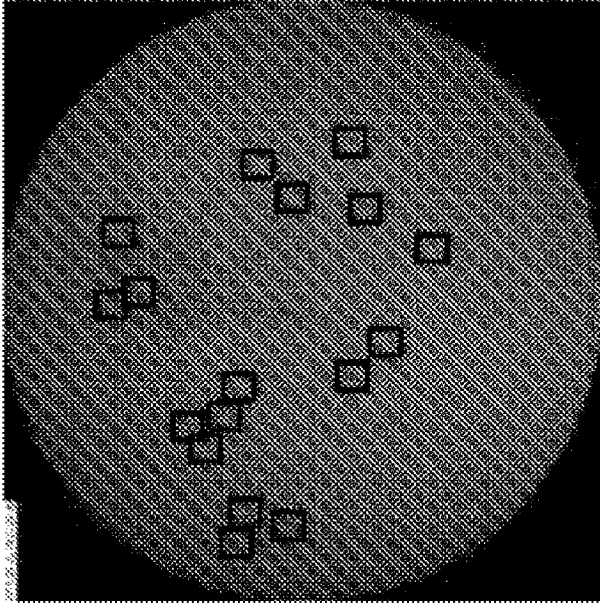


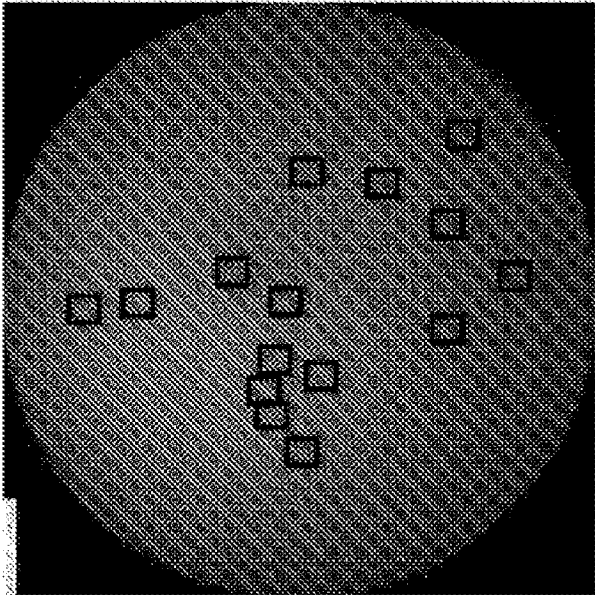
FIG. 11

Día 8 dosificado a 15 mg/kg



17 depósitos

DÍA 1 dosificado a 15 mg/kg



15 depósitos

FIG. 12

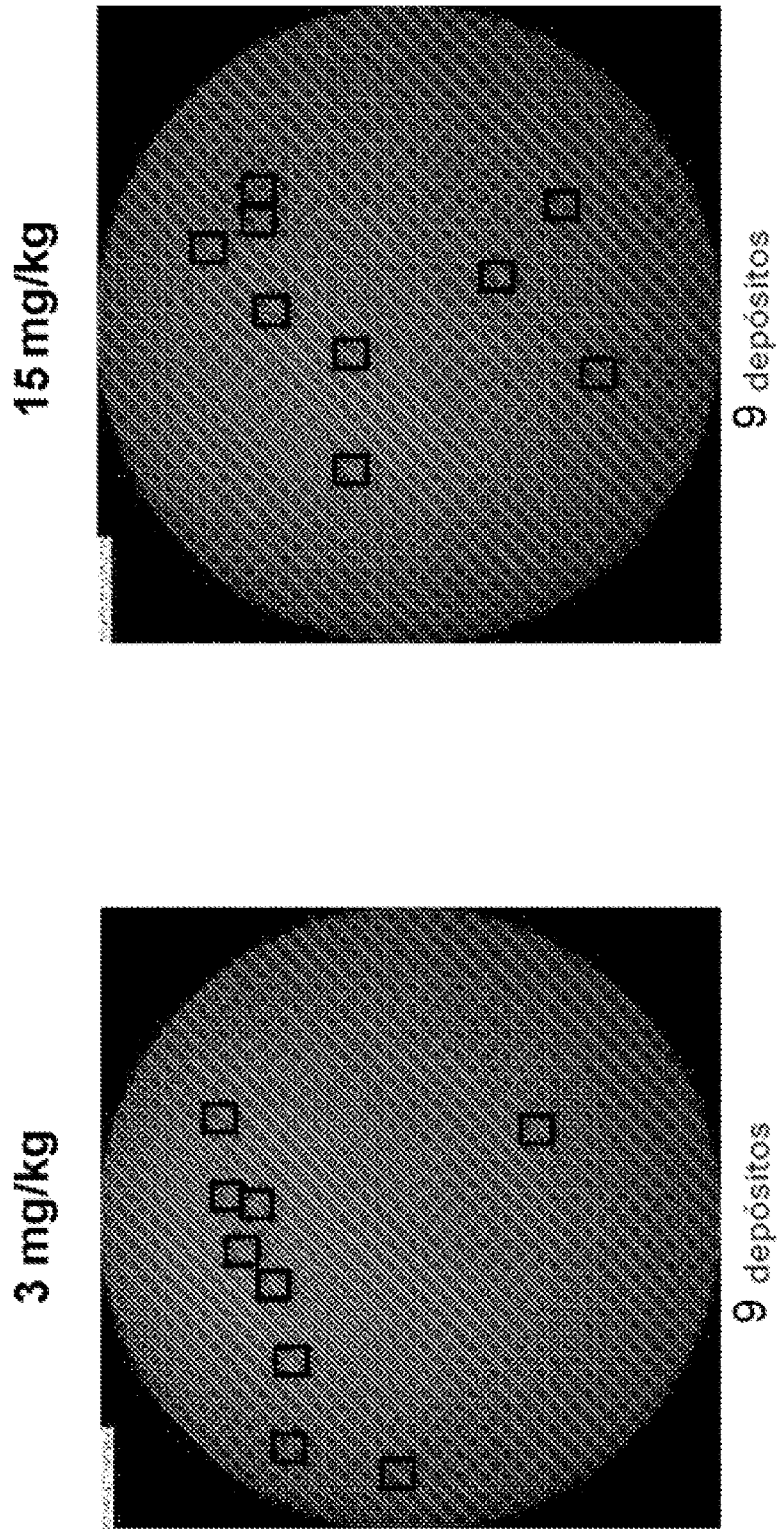


FIG. 13

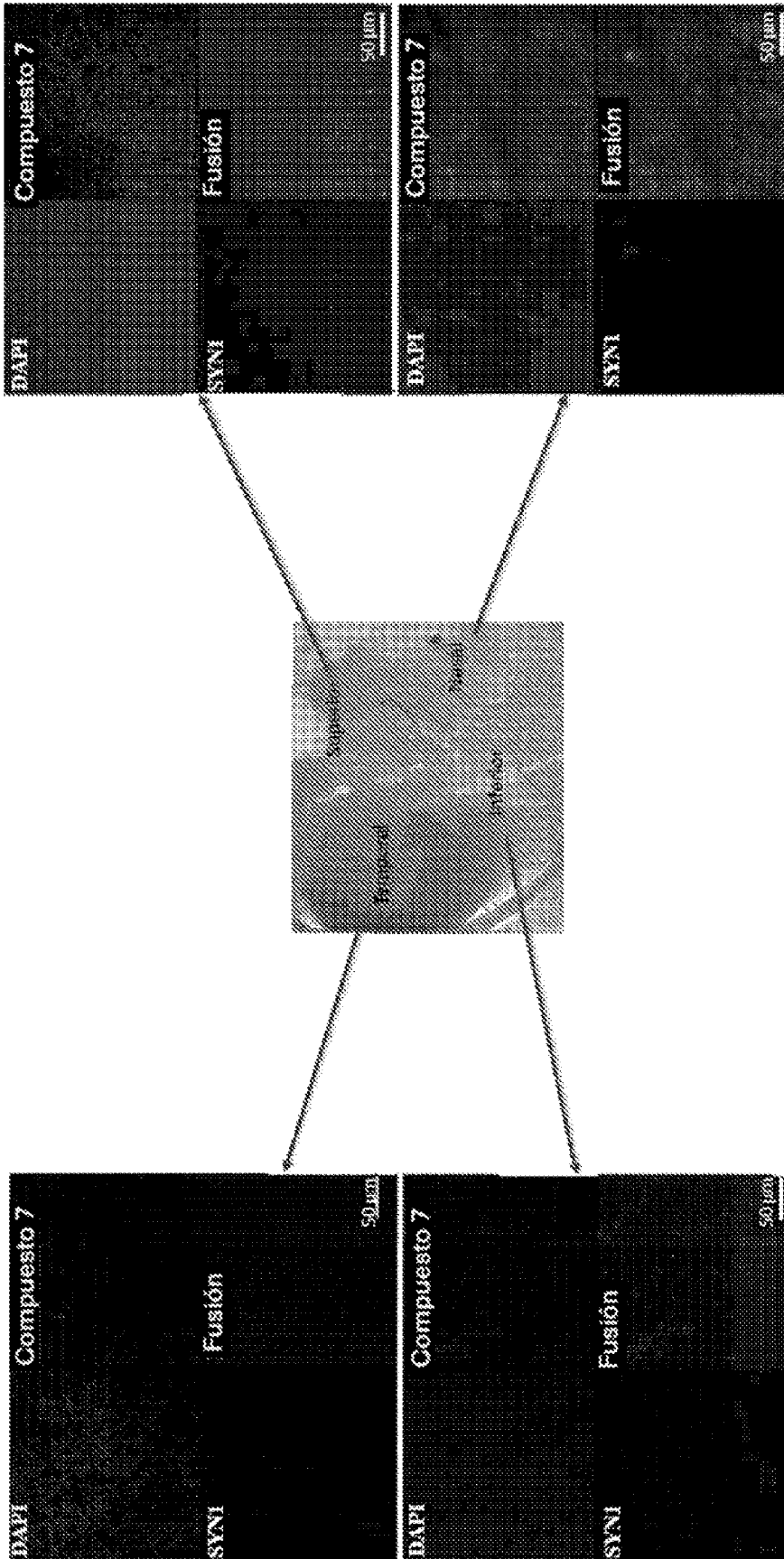


FIG. 14

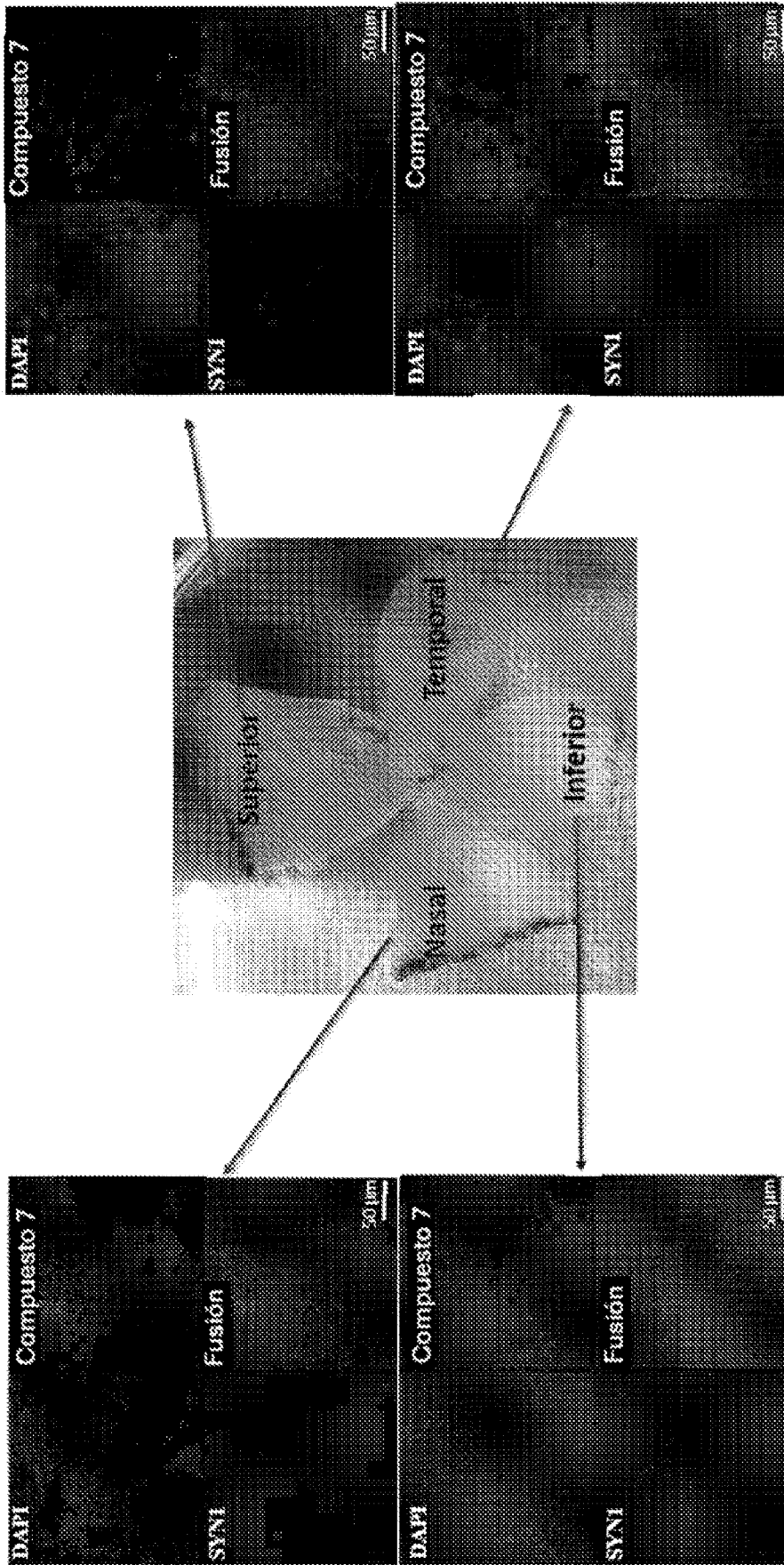


FIG. 15

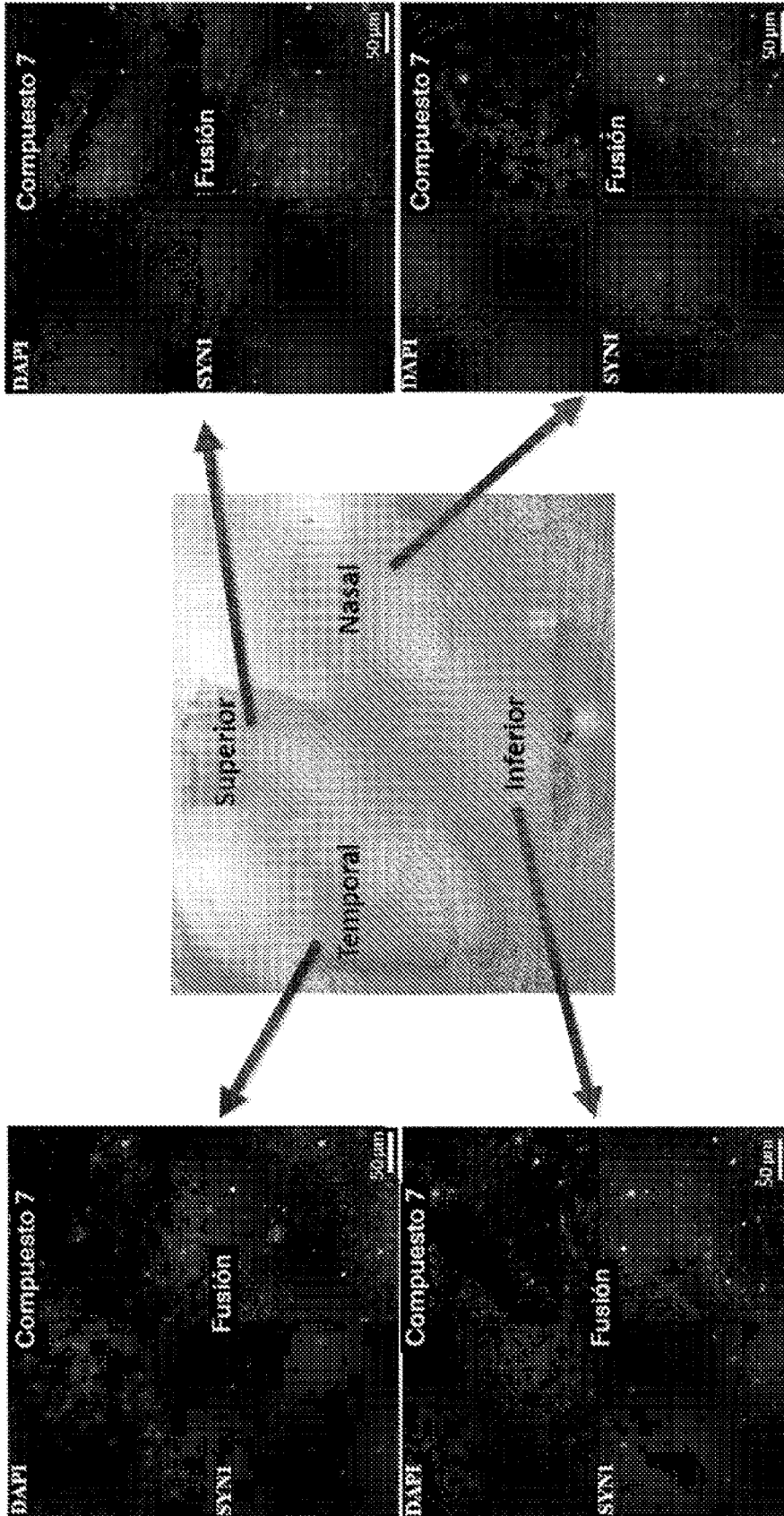


FIG. 16

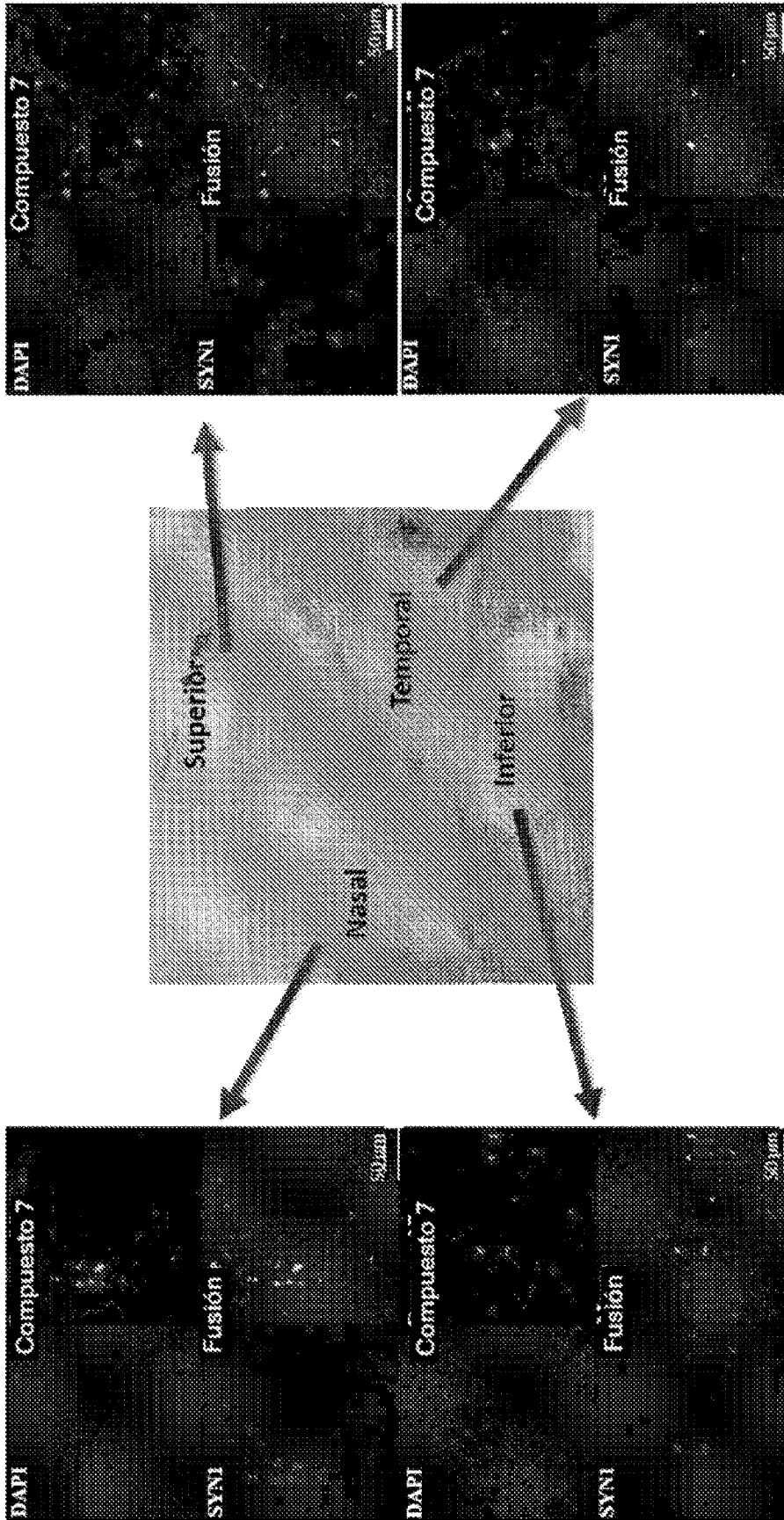


FIG. 17

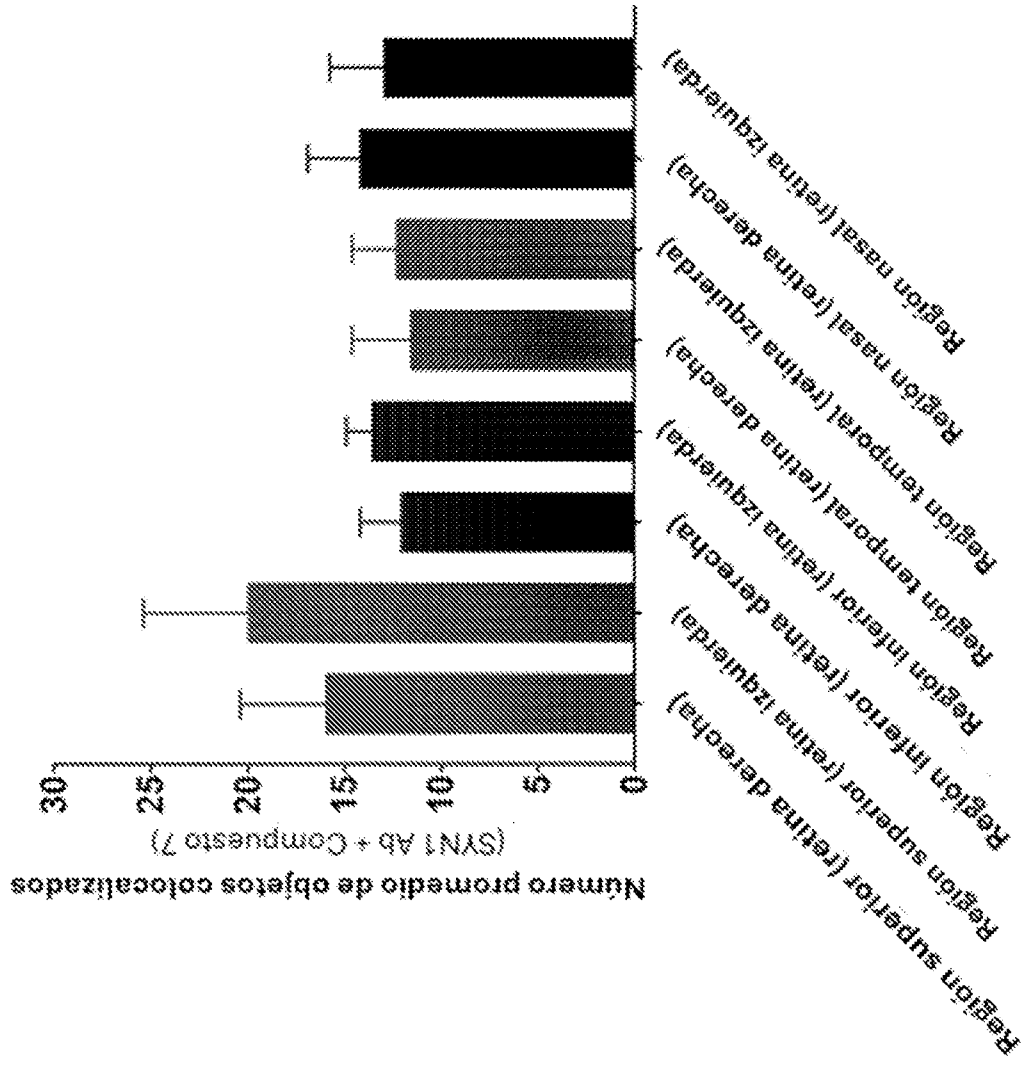


FIG. 18