

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0711481-8 A2**



(22) Data de Depósito: 01/05/2007
(43) Data da Publicação: 16/11/2011
(RPI 2132)

(51) *Int.Cl.:*
A61K 51/00
A61P 43/00
C07D 455/06

(54) **Título:** DERIVADOS RADIOMARCADOS DE DIHIDROTETRABENZENO E SEU USO COMO AGENTE DE IMAGENS

(30) **Prioridade Unionista:** 02/05/2006 US 60/796,518, 26/03/2007 US 60/908,116

(73) **Titular(es):** The Regents Of The University Michigan, The Trustees Of The University Of Pennsylvania

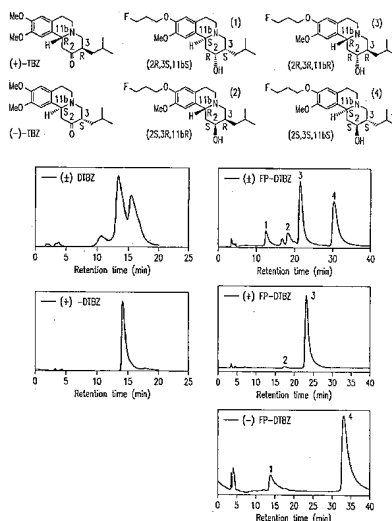
(72) **Inventor(es):** Daniel M. Skovronsky, Hank F. Kung, Mei-Ping Kung, Michael Kilbourn

(74) **Procurador(es):** Guerra ADV

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2007010478 de 01/05/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/130365de 15/11/2007

(57) **Resumo:** DERIVADOS RADIOMARCADOS DE DIIDRO-TETRABENZAZINA E SEU USO COMO AGENTE DE IMAGENS. Este invento se refere a um método de imagem de transportadores vesiculares de monoamina e a compostos marcados e composições farmacêuticas deles, e métodos de tornar os compostos marcados úteis para obter imagem de transportadores vesiculares de monoamina. este invento também se refere a compostos e métodos de monitorar a progressão de uma doença relacionada com os transportadores vesiculares de monoamina.



DERIVADOS RADIOMARCADOS DE DIIDRO-TETRABENAZINA E SEU USO COMO AGENTE DE IMAGENS

Declaração referente à pesquisa e desenvolvimento com patrocínio federal

Parte do trabalho realizado durante o desenvolvimento deste invento
5 utilizou fundos do Governo dos EUA. O Governo dos EUA tem certos direitos neste
invento sob uma subvenção concedida pelos National Institutes of Health (EB-
002171 e NS-015655).

Fundamentos do Invento

Campo de Atuação do Invento

10 Este invento se relaciona com novos compostos bioativos, métodos de
imagem diagnóstica usando compostos radioamarcados, e métodos de fabricar
compostos radiomarcados.

Arte do Fundamento

Os sistemas neuronais de monoamina, isto é, os neurotransmissores
15 serotoninérgicos, dopaminérgicos e adrenérgicos, têm sido implicados em vários
distúrbios neurológicos e psiquiátricos. Diferentes tipos de agentes terapêuticos
mirando esses sistemas neuronais, tais como a base farmacológica para tratamento,
são bem conhecidos. A avaliação da inervação desses sistemas neurais é essencial
e importante para se compreender a patofisiologia e para monitorar o progresso do
20 tratamento do paciente. Métodos de imagem novos e poderosos que permitem
avaliar o cérebro vivo, *in vivo* e, desse modo, monitorar a eficácia dos medicamentos
e substâncias que afetam a química do cérebro, têm sido recentemente
desenvolvidos. Métodos tais como tomografia por emissão de pósitrons (PET) e
tomografia por emissão de fóton único (SPECT) envolvem a administração, a um
25 paciente, de substâncias rastreadoras radioativas englobando um ligante que se liga

aos neuro-receptores no cérebro do paciente. As emissões (principalmente raios gama que são emitidos de pósitrons ou fótons emitidos do rastreador radioativo) são medidas. Essas emissões são indicativas do número e grau de ocupação ou bloqueio dos neuro-receptores. O número de neuoreceptores e o grau de ocupação ou bloqueio são calculados utilizando-se um modelo matemático e comparando-se com um controle intrapessoal e interpessoal para determinar o grau de resposta do medicamento. O tratamento adicional do paciente com medicamentos pode ser baseado nas comparações feitas.

Os sistemas neuronais do SNC podem apreender neurotransmissores seletivos, tais como dopamina, serotonina, norepinefrina etc., a partir do plasma ou da fissura sináptica. Este processo de reabsorção é alcançado através de um mecanismo de transporte seletivo baseado em um receptor específico de reabsorção no tipo específico de terminal neuronal pré-sináptico. Entretanto, uma vez que os neurotransmissores estejam dentro do tipo específico de neurônio, um segundo transportador ou mecanismo de reabsorção e armazenamento é responsável por armazenar e empacotar os neurotransmissores em vesículas (ou grânulos).

O segundo mecanismo de transporte, contrário àquele para a reabsorção pré-sináptica, está baseado em um transportador comum dependente de ATP que reside na superfície das vesículas. Os segundos transportadores são não-seletivos e são eficazes para catecolaminas, serotonina e histamina. Os neurotransmissores armazenados nas vesículas são protegidos da degradação pelas monoaminas oxidases (MAOs) no citosol. Quando transmissões neurais são induzidas por sinais elétricos, as vesículas nos neurônios pré-sinápticos se fundem com a membrana e os neurotransmissores armazenados são liberados dentro da fissura sináptica para a ligação do receptor pós-sináptico, o que leva à transdução

de sinal adicional.

A reserpina é um produto natural que inibe o mecanismo de reabsorção-armazenamento de monoamina dos grânulos de amina na sinapse. A tetrabenazina, 3-(2-metilpropil)-9,10-dimetóxi-1,3,4,6,7,11b-hexa-hidro-2H-benzo[a]quinolizina-2-ona (TBZ), é um análogo da reserpina, a qual exibe um perfil biológico similar. Devido à sua capacidade de fazer a depleção das monoaminas no SNC, ambas foram usados como agentes antipsicóticos nos anos 50 (Cooper J. R., Bloom F. E., Ruth R. H., In *Biochemical Basis of Neurochemistry*, 5th ed., Oxford University Press, New York, 1986, p. 290; Neumeyer J. L., Neuroleptics and Axioleptic Agents, In *Principles of Medicinal Chemistry*, Foye, W. O., ed. Lea and Febiger, Philadelphia, Pa., 1981; Kaiser C., Setler P. E., Antipsychotic Agents, *Burger's Medicinal Chemistry*, 4th Ed. Wolf M. E., ed. Wiley-Interscience, New York, 1981, pp 860-964). A depleção das catecolaminas e da serotonina no cérebro pela reserpina é duradoura, e o mecanismo de armazenamento é irreversivelmente danificado. A tetrabenazina produz um efeito similar; entretanto os efeitos do medicamento da TBZ são de uma duração mais curta e não causam danos irreversíveis aos neurônios (Cooper J. R., et al. In *Biochemical Basis of Neurochemistry*; e Neumeyer J. L. In *Principles of Medicinal Chemistry*). Estudos clínicos parecem sugerir que o tratamento de pacientes com TBZ com até 300 mg diariamente melhorou a discinesia tardia em vários ensaios clínicos (Neumeyer J. L.).

Recentemente, a [³H]diidro-TBZ (2-hidróxi-3-(2-metilpropil)-9,10-dimetóxi-1,3,4,6,7,11b-hexa-hidro-2H -benzo[a]quinolizina) tem sido usada como um marcador seletivo para o sistema de transporte de monoamina *in vitro*. Uma revisão detalhada do uso de [³H]diidro-TBZ e [³H]reserpina como ligantes para investigação *in vitro* do transportador de monoamina dos grânulos de cromafin e das vesículas

sinápticas do SNC foi publicada recentemente (Henry, J. P., Scherman D., Radioligands of the vesicular monoamine transporter and their use as markers of monoamine storage vesicles, (Comentário) *Biochem. Pharmacol.*, 38:2395-2404, 1989). Estudos *in vitro* da ligação de [³H]diidro-TBZ usando membrana de grânulos de cromafin e amostras de tecido cerebral demonstraram uma alta afinidade de ligação (K_d=2-9 nM) (Darchen F., Masuo Y., Vial M., Rostene W., Scherman D., Quantitative autoradiography of the rat brain vesicular monoamine transporter using the binding of [³H]dihydrotetrabenazine and 7-amino-8-[¹²⁵I]iodoketanserin, *Neurosci.*, 33:341-349, 1989; Meshgin-Azarian S., Chang W., Cugier D. L., Vincent M. S., Near J. A., Distribution of [³H]dihydrotetrabenazine binding in bovine striatal subsynaptic fractions: Enrichment of higher affinity binding in a synaptic vesicle fraction. *J. Neurochem.* 50:824-830, 1988; Near J. A., [³H]Dihydrotetrabenazine binding to bovine striatal subsynaptic vesicles, *Mol. Pharmacol.*, 30:252-257, 1986; Scherman D., Raisman R., Ploska A., Agid Y., [³H]Dihydrotetrabenazine, a new *in vitro* monoaminergic probe for human brain, *J. Neurochem.*, 50:1131-1136, 1988; Suchi R., Stern-Bach Y., Gabay T., Schuldiner S. Covalent modification of the amine transporter with N,N'-dicyclohexylcarbodiimide, *Biochem.*, 30:6490-6494, 1991).

A distribuição regional dos locais de ligação de diidro-TBZ nos cortes do cérebro correspondeu aos corpos de células de monoamina e terminações de nervos em cortes do cérebro normais e lesionados. (Masuo Y., Pelaprat D., Scherman D., Rostene W., [³H]Dihydro-tetrabenazine, a new marker for the visualization of dopaminergic denervation in the rat stratum. *Neurosci. Lett.*, 114:45-50, 1990). Vários derivados de TBZ foram relatados (Kaiser C. and Setler P. E. In *Burger's Medicinal Chemistry*; Neumeyer J. L., In *Principles of Medicinal Chemistry*; Clarke F. H., Hill R. T., Koo J., Lopano R. M., Maseda M. A., Smith M., Soled S.,

VonVeh G., Vlattas I., A series of hexahydro[1,4]oxazino[3,4-a]isoquinolines as potential neuroleptics, *J. Med. Chem.* 21:785-791, 1978; Saner A., Pletscher A., A benzo[a]quinoline derivative with a neuroleptic-like action on cerebral monoamine turnover. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 203:556-563, 1977; Lednicer D., Mitscher L. A.

5 *The Organic Chemistry of Drug Synthesis*, Wiley-Interscience Inc., New York, 1977, pp 349-361; Fahrenholtz K. E., Capomaggi A., Lurie M., Goldberg M. W., Kierstead R. W. Octahydrophenanthrene analogs of tetrabenazine, *J. Med. Chem.* 9:304-310, 1967; Harnden M. R., Short J. H. 2-Thiol-1,3,4,6,7,11b-hexahydro-9,10-dimethoxy-2H-benzo[a]quinolizines. *J. Med. Chem.*, 10:1183-1184, 1967; Tretter J. R., U.S. Pat.

10 No. 3,053,845; Pletscher A., Brossi A., Gey K. F. Benzoquinoline derivatives: A new class of monoamine decreasing drugs with psychotropic action, *Rev. Neurobiol.*, 4:275-302, 1962; Brossi A., Lidlar H., Walter M., Schnider O. 16. Synthesenversuche in der Emetin-Reihe. 1. Mitteilung. 2-Oxo-hydrobenz[a]chilazine, *Helv. Chim. Acta.*, 41:119-139, 1958). A redução da cetona para dihidro-TBZ não afeta a afinidade de

15 ligação. Os derivados de álcoois alquilados também exibiram alta potência. Além disso, também se demonstrou que o acetilderivado de diidro-TBZ retém alta afinidade para o transportador. (Scherman D., Gasnier B., Jaudon P., Henry J. P. Hydrophobicity of the tetrabenazine-binding site of the chromaffin granule monoamine transporter, *Mol. Pharmacol.*, 33:72-77, 1988).

20 Há dois transportadores vesiculares de monoamina (VMAT): VMAT1, encontrado no tecido adrenal e VMAT2. Quando localizados no cérebro, os VMAT2 neuronais são uma parte integrante do mecanismo para o armazenamento vesicular dos neurotransmissores de monoamina nos neurônios cerebrais. Em contraste com a situação na membrana sináptica, onde existem transportadores específicos para a

25 reabsorção ativa de dopamina, serotonina ou norepinefrina da sinapse, o movimento

das monoaminas (dopamina, serotonina e norepinefrina) do citosol para o lúmen vesicular é via um transportador comum dependente de ATP. Portanto, o VMAT2 para imagem no cérebro fornece uma medida que reflete a integridade (número total) de todos os três neurônios monoaminérgicos (Albin R, Koeppe R., Rapid loss of striatal VMAT2 binding associated with onset of Lewy body dementia, *Mov Disord.*, 2006;21:287-88.) Usando VMAT2 como um marcador de populações neuronais identificadas sugeriu a degeneração seletiva dos neurônios de projeção no estriado da doença de Huntington (Frey KA, Koeppe RA, Kilbourn MR., *Adv. Neurol.*; 86:237-47; Bohnen NI, Albin RL, Koeppe RA, Wernette KA, Kilbourn MR, Minoshima S, Frey KA., *J. Cereb Blood Flow Metab.* (no prelo)).

A doença de Parkinson (DP) é um distúrbio de movimento caracterizado por tremor e discinesia. A degeneração dos neurônios dopaminérgicos nigrostriatais desempenha um papel central na DP. Atualmente, o desenvolvimento de agentes neuroprotetores para retardar ou prevenir a progressão dessa doença está ativamente sendo perseguido. Há uma necessidade persuasiva de agentes para imagem de PET (tomografia por emissão de pósitron) e SPECT (tomografia computadorizada por emissão de fóton único) para diagnóstico precoce e monitoramento da progressão da DP (Tatsch K., Can SPET imaging of dopamine uptake sites replace PET imaging in Parkinson's disease?, *For, Eur J Nucl Med Mol Imaging.*, 2002;29:711-14.) Na base dos mecanismos de localização, os agentes de imagem atuais para DP, PET e SPECT podem ser geralmente divididos em três diferentes categorias: 1. Atividade enzimática (ácido amino-aromático descarboxilase, AADC); 2. Transportadores de dopamina (DAT); 3. Transportadores vesiculares de monoamina (VMAT2).

O 6-fluoro-dopa (FDOPA) marcado com ^{18}F foi o primeiro agente de

imagem de PET para DP e permanece um agente para PET normalmente usado. Ele é um falso substrato para ácido amino-aromático descarboxilase (AADC), a primeira etapa da síntese da dopamina. A imagem de PET com [¹⁸F]6-FDOPA fornece um relance da função neuronal – síntese *in situ* da dopamina (ou a falta dela) (Brooks DJ., Monitoring neuroprotection and restorative therapies in Parkinson's disease with PET, *J. Neural. Transm. Suppl.*, 2000:60:125-37; Brooks DJ., The early diagnosis of Parkinson's disease, *Ann Neurol.*, 1998:44:S10-S18.)

A AADC não está localizada somente nos neurônios dopamínicos, mas também em outras células do cérebro. No cérebro dos pacientes com DP, a enzima AADC está freqüentemente regulada para cima e os metabólitos periféricos, os derivados O-metilados, também serão absorvidos no cérebro, contribuindo para o ruído de fundo. A imagem com [¹⁸F]6-FDOPA reflete a perda da função neuronal relacionada com a AADC, e pode subestimar o grau da perda neuronal devida às mudanças compensatórias (Tatsch K., *Eur J Nucl Med Mol Imaging*; Frey KA. Can SPET imaging of dopamine uptake sites replace PET imaging in Parkinson's disease? Against, *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2002:29:715-17; Lee CS, Samii A, Sossi V, Ruth TJ, Schulzer M, Holden JE, Wudel J, Pal PK, de la Fuente-Fernandez R, Calne DB, Stoessl AJ., *In vivo* positron emission tomographic evidence for compensatory changes in presynaptic dopaminergic nerve terminals in Parkinson's disease, *Ann. Neurol.*, 2000:47:493-503).

Nos últimos dez anos tem havido um excesso de agentes de imagem de DAT, a maioria dos quais são derivados de tropano (ou cocaína) que têm graus variáveis de afinidade a transportadores de serotonina e norepinefrina (Meegalla SK, Plössl K, Kung M-P, Stevenson DA, Mu M, Kushner S, Liable-Sands LM, Rheingold AL, Kung HF. Specificity of diastereomers of [^{99m}Tc]TRODAT-1 as dopamine

transporter imaging agents, *J. Med. Chem.*, 1998;41:428-36; Mozley PD, Schneider JS, Acton PD, Plössl K, Stern MB, Siderowf A, Leopold NA, Li PY, Alavi A, Kung HF, Binding of [^{99m}Tc]TRODAT-1 to dopamine transporters in patients with parkinson's disease and in healthy volunteers, *J. Nucl. Med.*, 2000;41:584-89). Um recente relato
5 chamou a atenção para as deficiências na imagem de PD baseada em rastreadores de DAT, o qual destacou a urgente necessidade de agentes de imagem que podem confiavelmente diagnosticar e prever o progresso desta doença neurodegenerativa. (Ravina B, Eidelberg D, Ahlskog JE, Albin RL, Brooks DJ, Carbon M, Dhawan V, Feigin A, Fahn S, Guttman M, Gwinn-Hardy K, McFarland H, Innis R, Katz RG,
10 Kieburtz K, Kish SJ, Lange N, Langston JW, Marek K, Morin L, Moy C, Murphy D, Oertel WH, Oliver G, Palesch Y, Powers W, Seibyl J, Sethi KD, Shults CW, Sheehy P, Stoessl AJ, Holloway R., The role of radiotracer imaging in Parkinson disease, *Neurology*, 2005;64:208-15).

Como alternativa, derivados de TBZ (tetrabenazina) marcados com ¹¹C
15 têm sido desenvolvidos com sucesso almejando VMAT2 e testados em humanos (Albin RL, Koeppe RA, Bohnen NI, Nichols TE, Meyer P, Wernette K, *Minoshima S*, Kilbourn MR, Frey KA., Increased ventral striatal monoaminergic innervation in Tourette syndrome, *Neurology*, 2003;61:310-5). Dados em animais sugeriram fortemente que a [¹¹C](+)-DTBZ (diidrotetrabenazina) é menos sensível aos
20 medicamentos que afetam os níveis de dopamina no cérebro, portanto ele reflete mais precisamente a concentração de neurônios monoamínicos viáveis. (Kilbourn MR, Frey KA, Vander Borgh T, Sherman PS., Effects of dopaminergic drug treatments on *in vivo* radioligand binding to brain vesicular monoamine transporters, *Nucl Med Biol.*, 1996;23:467-71; Frey KA, Koeppe RA, Kilbourn MR. Imaging the
25 vesicular monoamine transporter, *Adv. Neurol.*, 2001;86:237-47; Bohnen NI, Albin

RL, Koeppe RA, Wernette KA, Kilbourn MR, Minoshima S, Frey KA. Positron emission tomography of monoaminergic vesicular binding in aging and Parkinson disease, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2006:no prelo; Lee CS, Schulzer M, de la Fuente-Fernandez R, Mak E, Kuramoto L, Sossi V, Ruth TJ, Calne DB, Stoessl AJ.,
5 Lack of regional selectivity during the progression of Parkinson disease: implications for pathogenesis, *Arch. Neurol.*, 2004:61:1920-5). O isômero opticamente resolvido [¹¹C](+)-DTBZ (marcado na posição 9-MeO) é um excelente marcador para PET para medir VMAT2 no cérebro (Kilbourn MR, Lee LC, Heeg MJ, Jewett DM., Absolute configuration of (+)-alpha-dihydrotrabenzazine, an active metabolite of
10 tetrabenazine, *Chirality*, 1997:9:59-62; Frey KA, Koeppe RA, Kilbourn MR, Vander Borcht TM, Albin RL, Gilman S, Kuhl DE., Presynaptic monoaminergic vesicles in Parkinson's disease and normal aging; *Ann. Neurol.* 1996:40:873-84).

Os transportadores vesiculares de monoamina (VMAT2) também são expressos nas células beta do pâncreas. O número total de locais de ligação para o
15 VMAT2 no pâncreas foi determinado. O B_{max} = 0,2 mM que se traduz para 12 fmol/mg de proteína nas células beta. Há cerca de 1.000.000 de células beta no pâncreas humano (Maffei, A, Z Liu, P Witkowski, *et al.* "Identification of tissue-restricted transcripts in human islets." *Endocrinology* 145:4513, 2004). A massa de células beta (BCM) insuficiente é um estado patofisiológico de diabetes tanto do tipo
20 1 (T1D) quanto do tipo 2 (T2D). Milhões de americanos sofrem de diabetes. Além disso, muitos milhões mais têm pré-diabetes, uma condição que aumenta significativamente o risco de desenvolver T2D, doença cardíaca e derrame. O diabetes é uma das principais causas tanto de cegueira adquirida quanto de insuficiência renal em adultos e um fator de risco importante tanto para doença
25 cardíaca quanto para derrame. O diabetes, assim, representa uma carga para a

saúde pública importante e em rápido crescimento.

O diabetes mellitus é um espectro de distúrbios que compartilham todos uma anormalidade comum de níveis de glicose elevados no sangue. Embora as causas iniciais desta anormalidade sejam variadas (incluindo autoimunidade, fatores de risco genéticos, obesidade, gravidez, medicamentos etc.), o resultado final comum é uma insuficiência relativa de insulina, isto é, as células beta pancreáticas não produzem insulina suficiente para atender às demandas metabólicas (Olefsky, 2001). Os dois tipos mais comuns de diabetes são o diabetes Tipo 1 (T1D) e o diabetes Tipo 2 (T2D).

O T1D normalmente ocorre em crianças ou adultos jovens e é responsável por menos que 10% de todos os casos de diabetes. O T1D é causado pela destruição autoimune das células beta, conduzindo à insuficiência da secreção de insulina. Esse processo pode levar anos para se manifestar e, durante o estágio pré-clínico, os anticorpos autoimunes direcionados contra as células beta podem ser detectados nos pacientes afetados. Assim, em estágios precoces da doença, a modulação imune pode desempenhar um importante papel no tratamento, enquanto que, em estágios mais tardios, o tratamento necessitará de reposição de células beta, através de estratégias regenerativas ou de transplante.

O T2D é um distúrbio poligênico heterogêneo que responde por aproximadamente 90% de todos os casos de diabetes. Além dos fatores de risco genéticos, obesidade, falta de atividade física, e envelhecimento são importantes fatores de risco para T2D. O T2D é caracterizado pela resistência à insulina, um defeito que está presente por anos no estado pré-clínico (pré-diabetes). Essa resistência à insulina conduz a aumentos compensatórios na produção de insulina pelas células beta nos pré-diabéticos. Finalmente, em alguns pacientes, a função

das células beta, então, declina, levando à insuficiência relativa de insulina (Butler et al., 2003). Na verdade, séries de autópsia revelam que a BCM [massa de células beta] é reduzida em 50 - 60% nos pacientes de T2D quando comparado com os controles (revisto em Porte e Kahn, 2001; Prentki e Nolan, 2006). Essa perda de células beta pode ser uma etapa chave na patogênese do diabetes T2D uma vez que um estudo longitudinal em índios Pima sugeriu que a insuficiência das células beta, em vez da resistência à insulina, foi o determinante principal da progressão do pré-diabetes para diabetes (Weyer et al, 1999). Assim, na T2D, a resistência à insulina sobreposta na insuficiência das células beta e na secreção prejudicada de insulina conduz à hiperglicemia descompensada e ao diabetes. Os tratamentos de modificação da doença para T2D devem ter como alvo tanto a insuficiência das células beta quanto a resistência à insulina de modo a ser eficaz ao máximo. (Olefsky, 2001).

Breve Resumo do Invento

O presente invento fornece compostos novos de Fórmulas I e II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II') que são úteis para imagem de transportadores vesiculares de monoamina.

Em um aspecto, os compostos são agentes de imagem PET úteis.

Em outro aspecto, os compostos são agentes de imagem SPECT úteis.

O presente invento também fornece composições diagnósticas que compreendem um composto radiomarcado de Fórmulas I e II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II') e um transportador ou diluente farmacologicamente aceitáveis.

O invento ainda fornece um método de imagem de transportadores vesiculares de monoamina, método que compreende introduzir em um paciente uma quantidade detectável do composto marcado de Fórmulas I e II (incluindo aqueles de

Fórmulas I' e II') ou um sal, éster, amida ou pro-medicação disso farmacologicamente aceitável.

Mais um aspecto deste invento está direcionado aos métodos e intermediários úteis para sintetizar os compostos de imagem de transportador vesicular de monoamina de Fórmulas I e II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II') aqui descritos.

O invento também está direcionado para um método de monitorar o *status*, quantidade, mudança ou progressão de um distúrbio ou doença relacionado com os transportadores vesiculares de monoamina.

10 Breve Descrição das Figuras

A FIG. 1 mostra a separação dos estereoisômeros de FP-(±)-DTBZ (também referido aqui como "6b" ou "(±)-6b") em uma coluna quiral AD com hexanos/isopropanol (9/1) como solvente de eluição (taxa de fluxo de 1 ml/min). A razão dos dois estereoisômeros maiores (picos 3 e 4) para os picos menores (picos 1 e 2) é 5:1. A resolução óptica do FP-(+)-DTBZ (2R, 3R, 11bR) (são referidos aqui como "(+)-6b") alcançou 98% (apresentado como pico 3) e do isômero FP-(-)-DTBZ apresentou um pico importante (pico 4, 90%) com um pico de contaminante (pico 1, 10%).

A FIG. 2 retrata uma auto-radiografia *ex vivo* de um cérebro de camundongo normal revelando a localização anatômica dos locais de VMAT marcados pelo [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ. 500 µCi de [¹⁸F]FP-(+)-DTBZ foram injetados em um camundongo ICR normal e o camundongo foi sacrificado aos 30 minutos pós-injeção. Os locais marcados de alta densidade refletem a distribuição regional dos neurônios monoaminérgicos no cérebro: CPu, putâmen caudado; OT, tubérculo olfatório; Ac, nucleus accumbens; núcleo hipotalâmico; SN, substância negra; DR,

rafe dorsal; MR, rafe mediana; LC Locus coeruleus.

A FIG. 3 retrata uma auto-radiografia *ex vivo* (30 minutos pós-injeção) de [^{18}F]FP-(+)-DTBZ diferenciando o lado lesionado (L, indicado por uma flecha) do não lesionado (N) nos cérebros de camundongos lesionados unilateralmente com 6-OH-DA. 300 μCi [^{18}F]FP-(+)-DTBZ foram injetados e os animais foram sacrificados aos 30 minutos pós-injeção.

A FIG. 4 retrata uma varredura auto-radiográfica da localização *in vitro* no cérebro de camundongo de um composto representativo, 6b do presente invento. Os cortes foram incubados à RT por 90 minutos com 1,2 nM [^{18}F]6b ou 4,6 nM [^3H](\pm)DTBZ. CPu: putâmen caudado; Acb: nucleus accumbens; Of. Tu.: tubérculo olfatório

A FIG. 5 retrata a separação quiral por HPLC de (+)-6b de uma mistura racêmica.

A FIG. 6 retrata os dados que mostram que a absorção de (+)-6b é reduzida em camundongos diabéticos, correlacionando-se com uma BCM [massa de células beta] mais baixa nos estados diabéticos.

A FIG. 7 retrata a imagem microPET de babuíno após a injeção iv de [^{18}F]FP-(+)-6b (injeção de 7 mCi); dados coletados entre 70-90 min mostrando absorções estriatais e nenhuma indicação de absorção (do osso) da caixa craniana.

A FIG. 8 retrata a ligação *in vitro* de [^{18}F]-(+)-6b com os homogenados de célula ilhota, indicando que a ligação é específica e saturável.

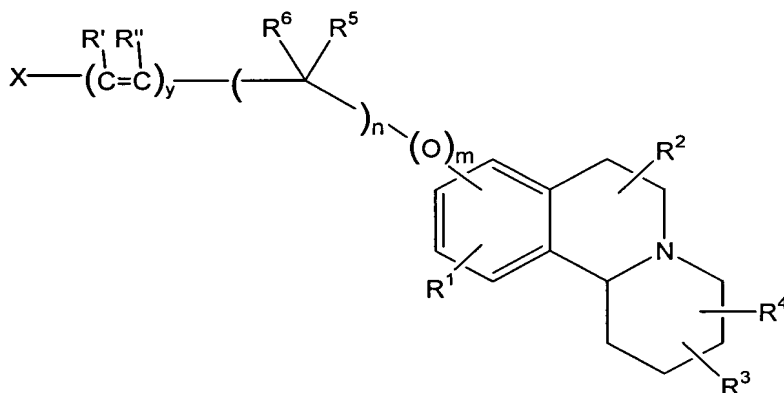
A FIG. 9 retrata as estruturas e dados de ligação de certos compostos do invento.

A FIG. 10 retrata as estruturas e dados de ligação (K_i na ligação de ^3H -TBZ com o VMAT2 (homogenados estriatais de rato)) de certos derivados



fluoropropil ceto e epóxido do invento.

Descrição Detalhada do Invento

Um primeiro aspecto do presente invento é direcionado aos compostos da Fórmula I a seguir:



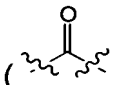

I

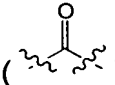
- 5 ou um sal farmaceuticamente aceitável aqui, onde: n é um número inteiro de 0 a 10; m é 1 ou 0; y é 1 ou 0; X é halogênio; R¹ e R² são independentemente hidrogênio, C₁₋₅ alquil, amino(C₁₋₅)alquil, halo(C₁₋₄)alquil, mono- ou di-(C₁₋₅)alquilamino, haloarilalquil, C₁₋₅ alcóxi; R³ é ceto () , um anel epóxido () , hidróxi, hidrogênio, amino(C₁₋₅)alquil, mono- ou di-(C₁₋₅)alquilamino, C₁₋₅ alcóxi ou C₁₋₄ alquil;
- 10 R⁴ é hidrogênio, C₁₋₁₀ alquil, amino(C₁₋₅)alquil, mono- ou di-(C₁₋₅)alquilamino; e, quando presentes, R', R'', R⁵ e R⁶ são independentemente hidrogênio, hidróxi, hidróxi(C₁₋₅)alquil ou (C₁₋₅)alquil.

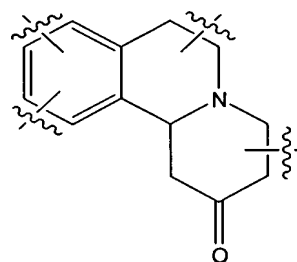
Os valores úteis de X incluem qualquer halogênio. Nesta materialização, é preferível que o halogênio seja um rádio-halogênio. Os rádio-halogênios incluem ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, ¹⁸F, ¹⁹F, ⁷⁶Br e ⁷⁷Br. Mais preferivelmente, X é ¹⁸F ou ¹²³I. Em uma materialização, os compostos de Fórmula I mais preferidos são aqueles compostos onde X é ¹⁸F. Esses compostos são particularmente úteis para imagem de PET. Em outra materialização, os compostos de Fórmula I mais


preferidos são aqueles compostos onde X é ^{125}I , ^{123}I , ^{131}I , particularmente ^{123}I . Esses compostos são particularmente úteis para imagem de SPECT.

Os valores úteis de R^3 incluem aqueles listados acima. Preferivelmente,

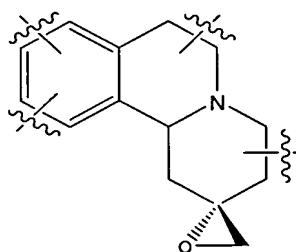
R^3 é ceto () , anel epóxido () ou hidróxi. Mais preferivelmente, R^3 é

5 hidróxi. Quando R^3 é ceto () , o O está duplamente ligado a qualquer dos carbonos de anel disponíveis. Assim, por exemplo, estes compostos podem ter a seguinte estrutura de anel, a qual contém substituintes conforme descrito aqui:



Quando R^3 é um anel epóxido () , o O está ligado a qualquer um dos carbonos disponíveis do anel bem como um grupo metileno que está também

10 ligado ao mesmo carbono do anel para formar o sistema de anel de 3 membros. Assim, por exemplo, esses compostos podem ter a seguinte estrutura de anel, que contém substituintes conforme aqui descrito (apresentando a estereoquímica preferida):



Valores úteis de R^4 incluem todos aqueles listados acima. Os valores

15 preferidos incluem C_{1-10} alquil, amino(C_{1-5})alquil mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino. Mais

preferivelmente, R^4 é C_{1-5} alquil e, mais especificamente, isobutil.

Os valores úteis de R^1 incluem todos aqueles listados acima. Os valores preferidos incluem amino(C_{1-5})alquil, mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino e C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^1 é C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^1 é metóxi.

5 Os valores úteis de R^2 incluem todos aqueles listados acima. Nas materializações preferidas, R^2 é hidrogênio.

Os valores úteis de R^5 e R^6 incluem hidróxi, hidrogênio and C_{1-5} alquil. O número de ocorrências de R^5 e R^6 depende do valor de n. Quando R^5 e R^6 ocorrem mais que uma vez, cada ocorrência é independente da outra. Nas materializações preferidas, pelo menos um dos R^5 e R^6 é hidrogênio. Most preferably, R^5 e R^6 são ambos hidrogênio em toda ocorrência.

10

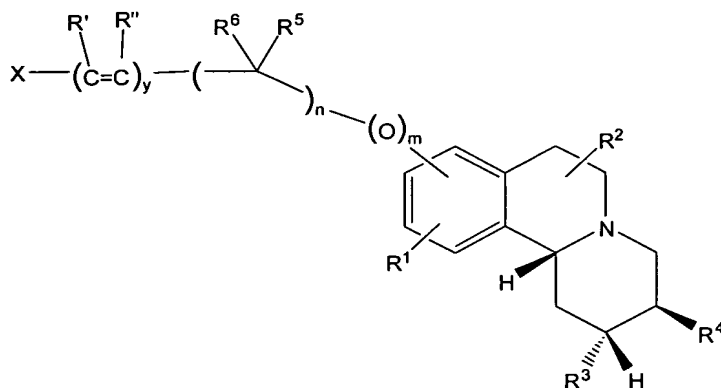
Os valores úteis de m e n são todos aqueles listados acima. O valor de m, em cada ocasião, é independente em relação ao valor de n. Nos compostos de Fórmula I, os valores preferidos de n são números inteiros de 1 a 6. Mais preferivelmente, n é um número inteiro de 1 a 4. Mais preferivelmente ainda, n é 2, 3 ou 4. Os valores úteis de m incluem 1 ou 0. Entretanto, em uma das materializações preferidas, quando m é 0, n também é 0.

15


Os valores úteis de y incluem 1 e 0. Preferivelmente, y é 0.

Em uma materialização particular, o presente invento é dirigido aos compostos de Fórmula I, que tem a seguinte estrutura estereoquímica, Fórmula I':


20



I'

ou um sal farmaceuticamente aceitável disso, onde: n é um inteiro de 0 a 10; m é 1 ou 0; y é 1 ou 0; X é halogênio; R^1 e R^2 são independentemente hidrogênio, C_{1-5} alquil, amino(C_{1-5})alquil, halo(C_{1-4})alquil, mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino, haloarilaquil, C_{1-5} alcóxi; R^3 é hidróxi, ceto, um anel epóxido () , hidrogênio, amino(C_{1-5})alquil, mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino, C_{1-5} alcóxi ou C_{1-4} alquil; R^4 é hidrogênio, C_{1-10} alquil, amino(C_{1-5})alquil, mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino; e, quando presentes, R' , R'' , R^5 e R^6 são independentemente hidrogênio, hidróxi, hidróxi(C_{1-5})alquil ou C_{1-5} alquil.

Os valores úteis de X incluem qualquer halogênio. Nesta materialização, é preferível que o halogênio seja um radio-halogênio. Os rádio-halogênios incluem ^{125}I , ^{123}I , ^{131}I , ^{18}F , ^{19}F , ^{76}Br e ^{77}Br . Mais preferivelmente, X é ^{18}F ou ^{123}I . Em uma materialização, os compostos mais preferidos de Fórmula I' são aqueles compostos onde X é ^{18}F . Esses compostos são particularmente úteis para imagem por PET. Em outra materialização, os compostos mais preferidos de Fórmula I' são aqueles compostos onde X é ^{125}I , ^{123}I , ^{131}I , particularmente ^{123}I . Esses compostos são particularmente úteis para imagem por SPECT.

Os valores úteis de R^3 incluem aqueles listados acima. Mais preferivelmente, R^3 é ceto, hidróxi ou um anel epóxido () .

Os valores úteis de R^4 incluem todos aqueles listados acima. Os

valores preferidos incluem C_{1-10} alquil, amino(C_{1-5})alquil e mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino. Mais preferivelmente, R^4 é C_{1-5} alquil e, mais especificamente, isobutil.

Os valores úteis de R^1 incluem todos aqueles listados acima. Os valores preferidos incluem amino(C_{1-5})alquil, mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino e C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^1 é um C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^1 é um metóxi.

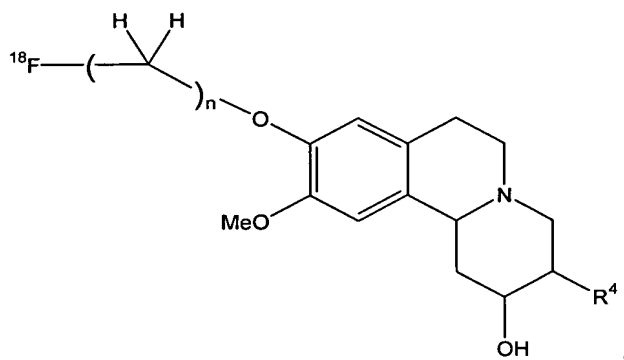
Os valores úteis de R^2 incluem todos aqueles listados acima. Nas materializações preferidas, R^2 é hidrogênio.

Os valores úteis de R^5 e R^6 incluem hidróxi, hidrogênio e C_{1-5} alquil. O número de ocorrências de R^5 e R^6 depende do valor de n . Quando R^5 e R^6 ocorrem mais que uma vez, cada ocorrência é independente da outra. Nas materializações preferidas, pelo menos um dos R^5 e R^6 é hidrogênio. Mais preferivelmente, ambos R^5 e R^6 são hidrogênio em todas as ocorrências.

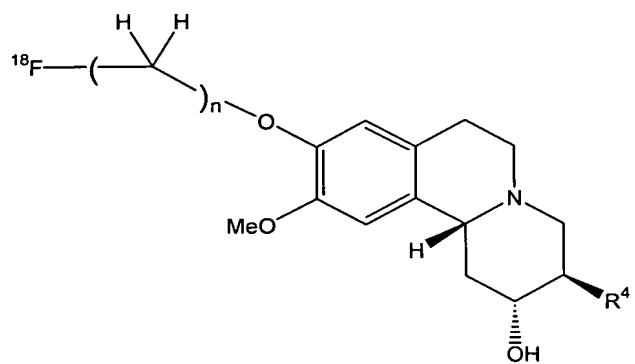
Os valores úteis de m e n são todos aqueles listados acima. O valor de m , em cada caso, é independente em relação ao valor de n . Em compostos de Fórmula I', os valores preferidos de n são inteiros de 1 a 6. Mais preferivelmente, n é um inteiro de 1 a 5, especialmente 1 a 4. Entretanto, mais preferivelmente, n é 2, 3 ou 4. Os valores úteis de m incluem 1 ou 0. Entretanto, em uma materialização preferida, quando m é 0, n também é 0.

Os valores úteis de y incluem 1 e 0. Preferivelmente, y é 0.

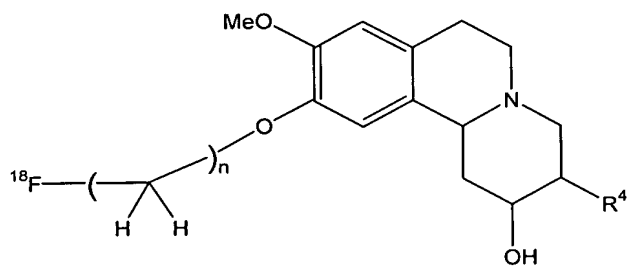
Os compostos preferidos de Fórmula I ou I' incluem aqueles com as seguintes estruturas:



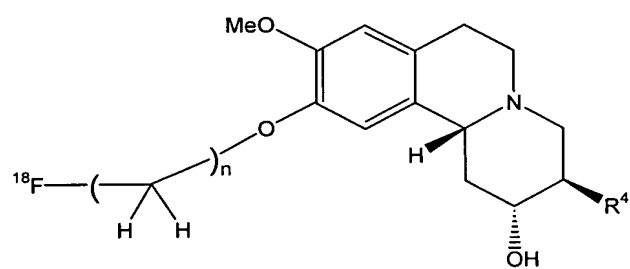
la



lb

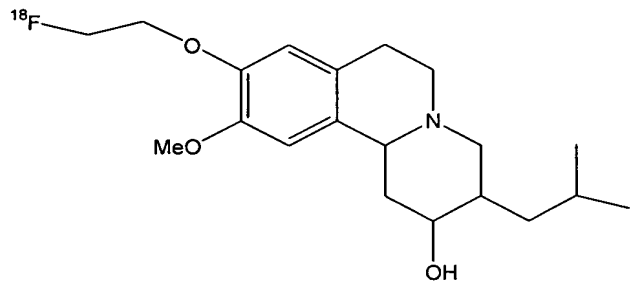


lc

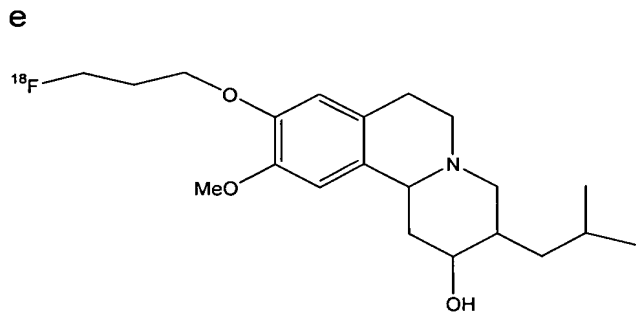


ld

onde, nos compostos la, lb, lc e ld, n é um inteiro de 1 a 6, e R^4 é C_{1-10} alquil, preferivelmente C_{1-4} alquil, mais preferivelmente isobutil;



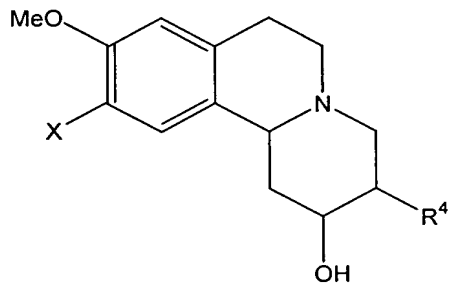
1e



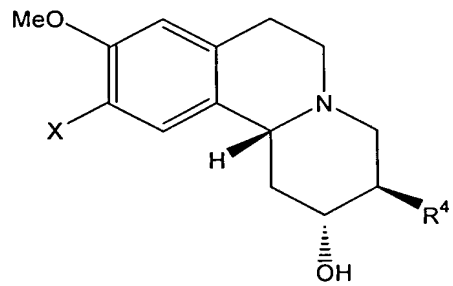
1f

Os compostos preferidos de Fórmula I ou I', onde y é 0, m é 0 e n é 0

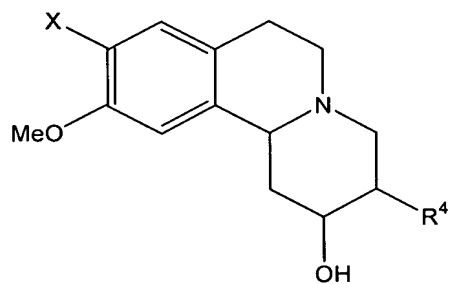
incluem aqueles com as seguintes estruturas:



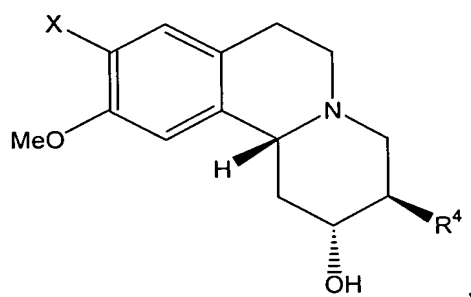
1g



1h

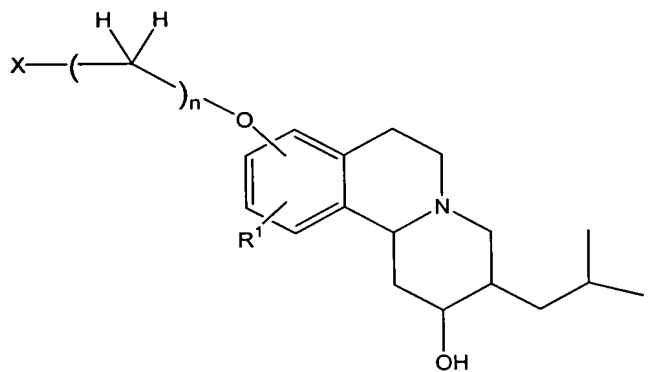


li

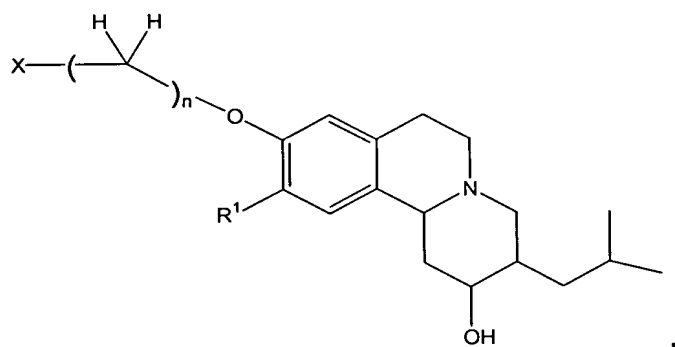


lj

onde, nos compostos lg, lh, li e lj, X é ¹⁸F ou ¹²³I, e R⁴ é C₁₋₁₀ alquil, preferivelmente C₁₋₄ alquil, mais preferivelmente isobutil;

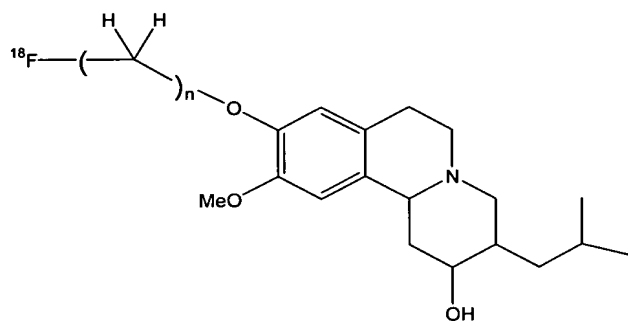


lk



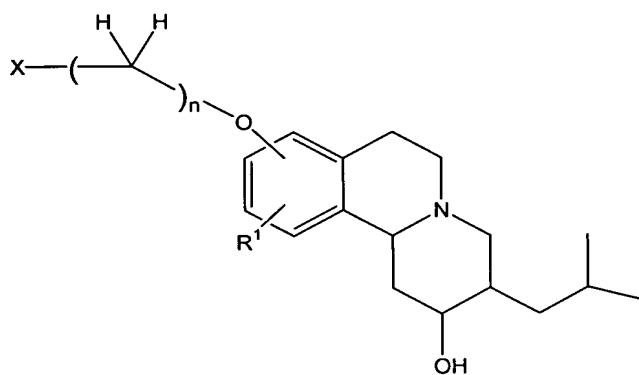
ll

onde n é um inteiro de 1 a 6; X é ¹⁸F ou ¹²³I; e R¹ é C₁₋₅ alcóxi;



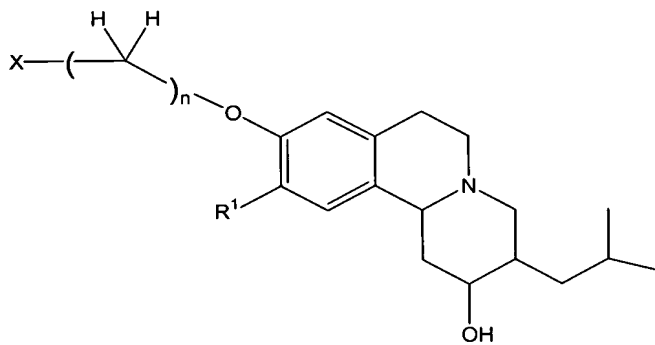
Im

onde n é 2, 3 ou 4;



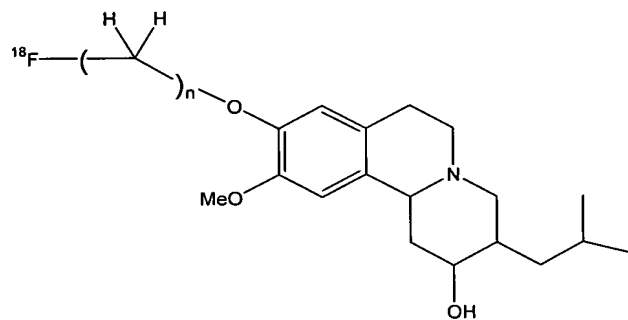
In

onde n é um inteiro de 1 a 5; X é ^{18}F ou ^{123}I ; e R^1 é C_{1-5} alcóxi;



Io

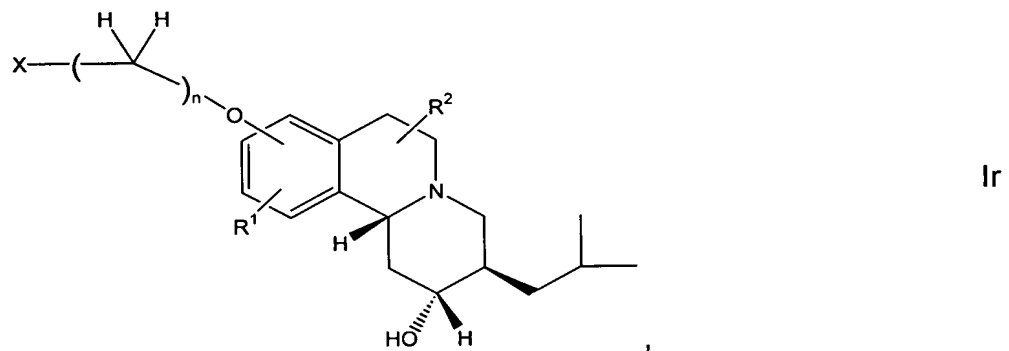
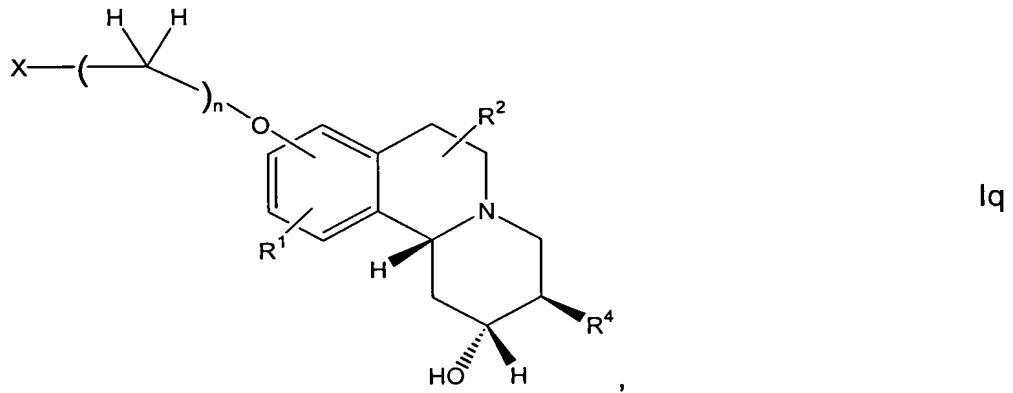
onde n é um inteiro de 1 a 4; X é ^{18}F ou ^{123}I ; e R^1 é C_{1-5} alcóxi; e



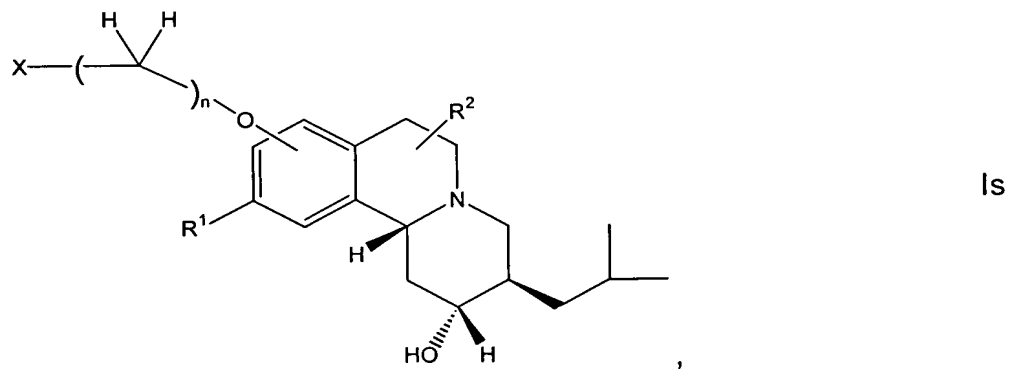
Ip

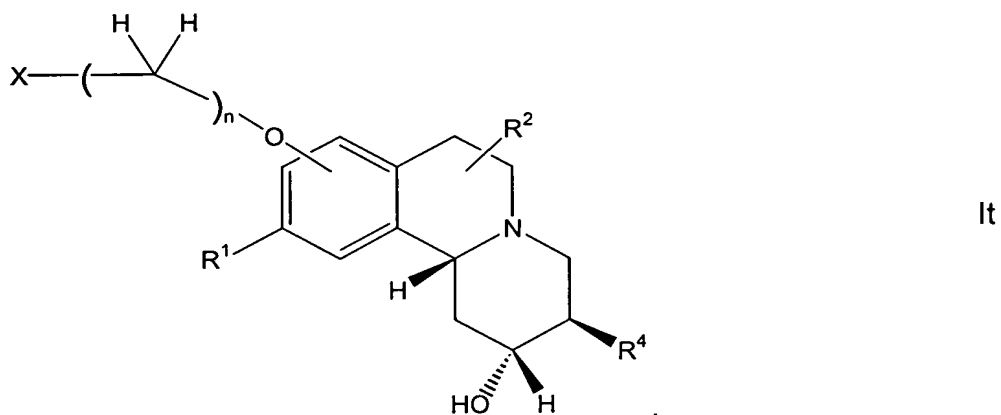
onde n é 2, 3 ou 4.

Outras estruturas estereo-específicas que são preferidas incluem:

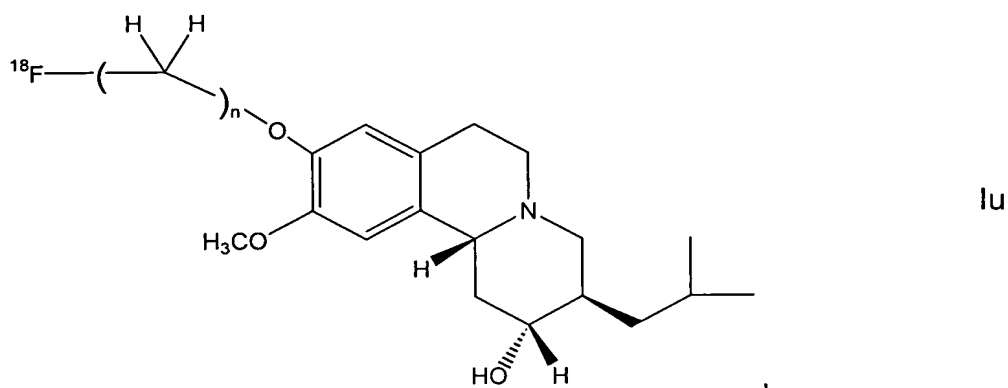


onde n é um inteiro de 1 a 5; X é ^{18}F ou ^{123}I , R^4 é C_{1-4} alquil e R^1 é C_{1-5} alcóxi;

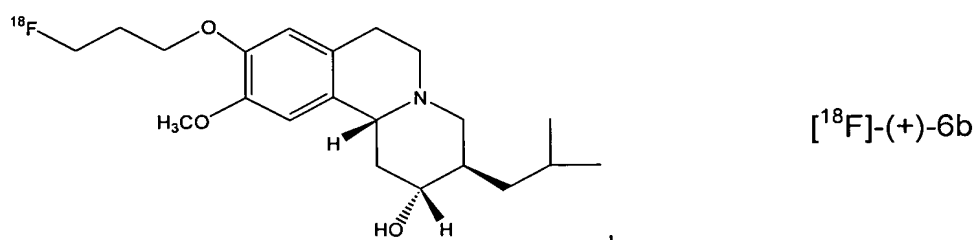




onde n é um inteiro de 1 a 4, X é ^{18}F ou ^{123}I , R^4 é C_{1-4} alquil e R^1 é C_{1-5} alcóxi;

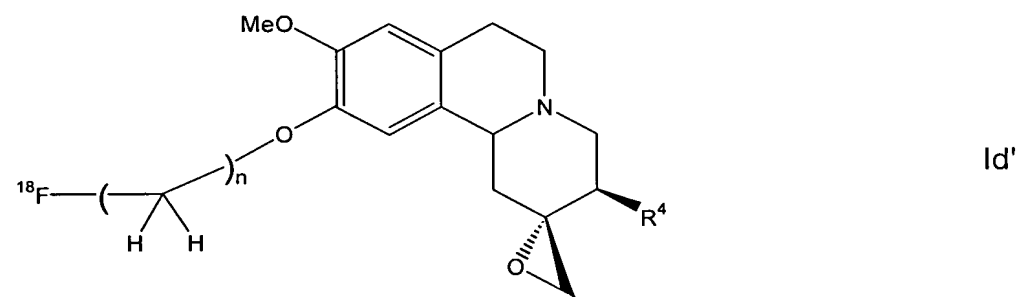
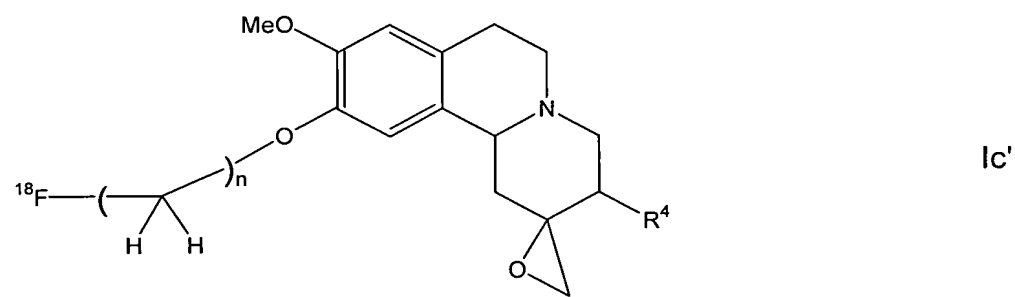
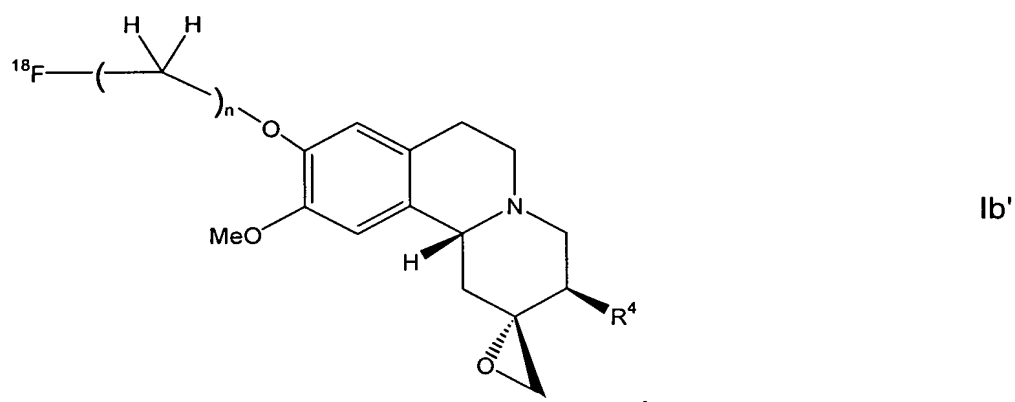
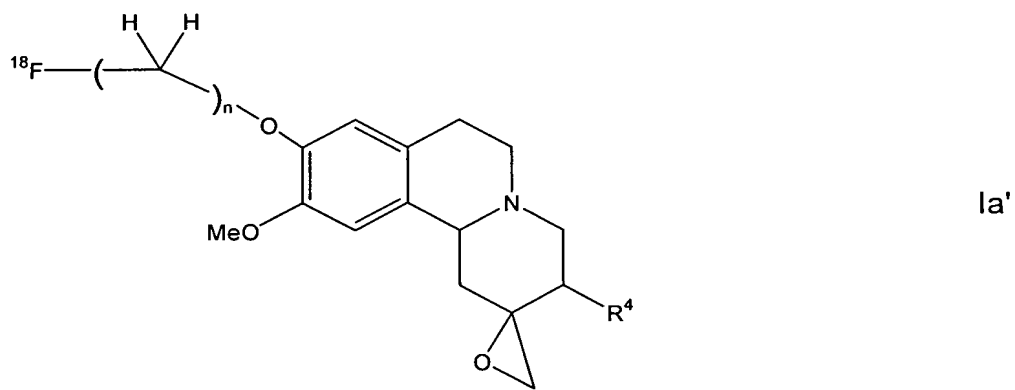


onde n é 2 ou 3; e

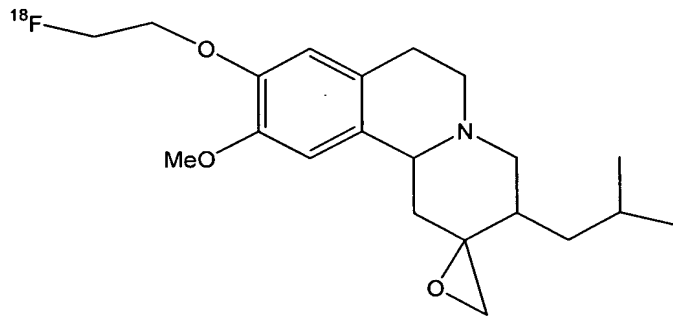


ou um sal farmacologicamente aceitável disso.

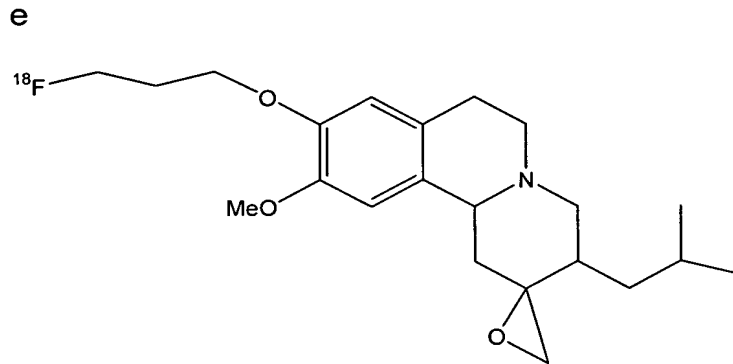
Alternativamente, onde R^3 é um anel epóxido (), os compostos preferidos de Fórmula I ou I' incluem aqueles com as seguintes estruturas:



onde, nos compostos Ia, Ib, Ic e Id, n é um inteiro de 1 a 6, e R^4 é C_{1-10} alquil, preferivelmente C_{1-4} alquil, mais preferivelmente isobutil;



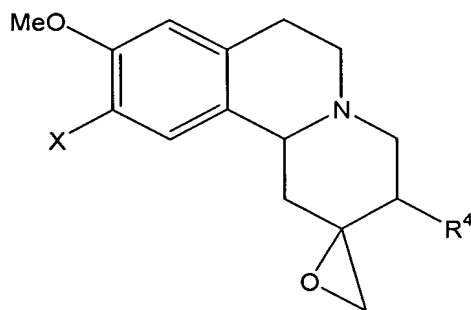
1e'



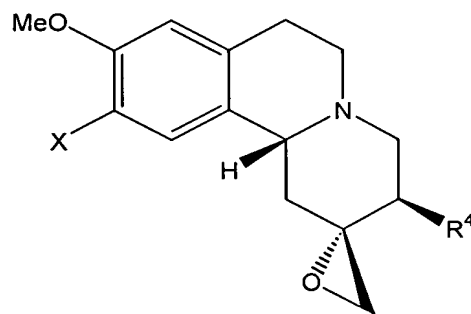
1f'

Os compostos preferidos de Fórmula I ou I', onde y é 0, m é 0 e n é 0

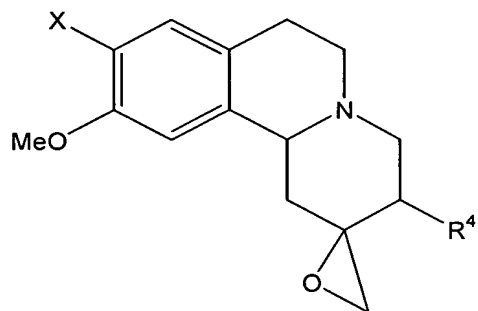
incluem aqueles com as seguintes estruturas:



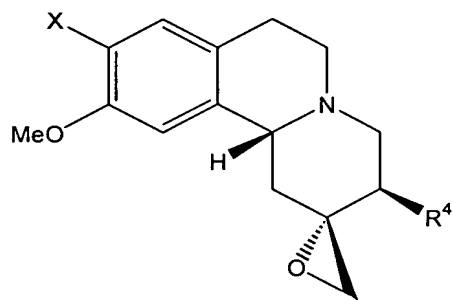
1g'



1h'

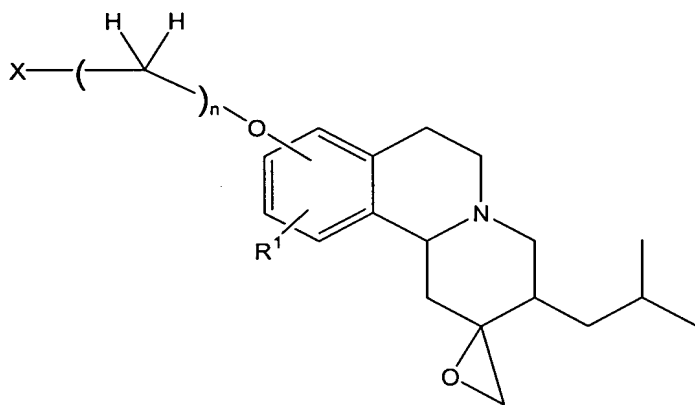


II'

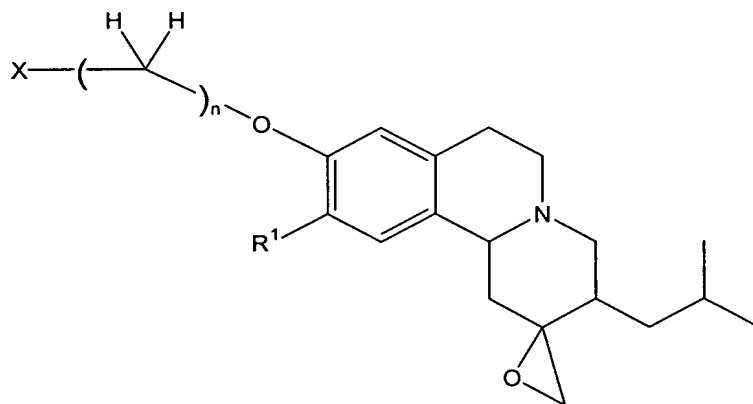


II''

onde, nos compostos Ig, Ih, Ii e Ij, X é ¹⁸F ou ¹²³I, e R⁴ é C₁₋₁₀ alquil, preferivelmente C₁₋₄ alquil, mais preferivelmente isobutil;



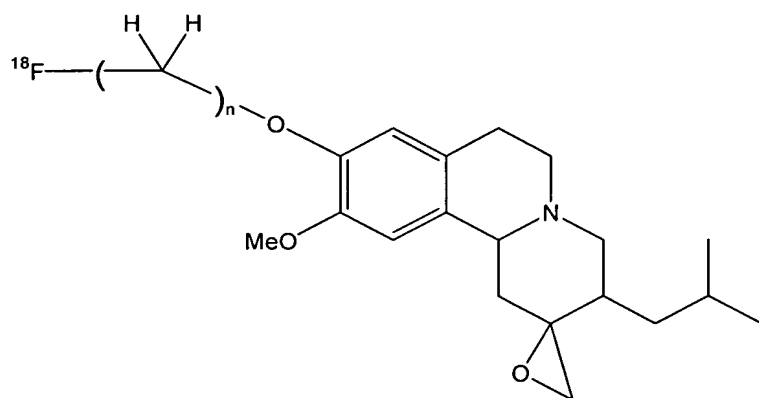
Ii'



Ii''

onde, n é um inteiro de 1 a 6, preferivelmente 1 a 5 e mais preferivelmente 1 a 4; X é

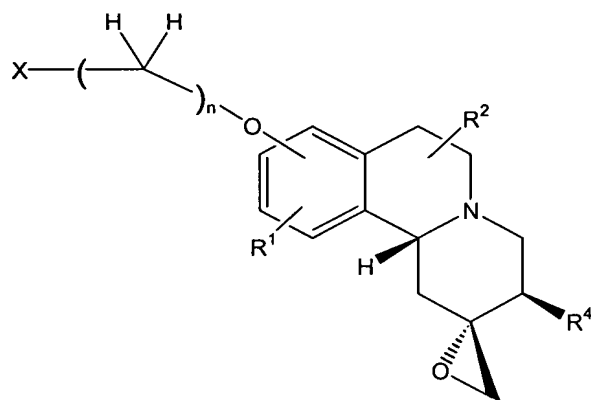
^{18}F ou ^{123}I ; e R^1 é C_{1-5} alcóxi;



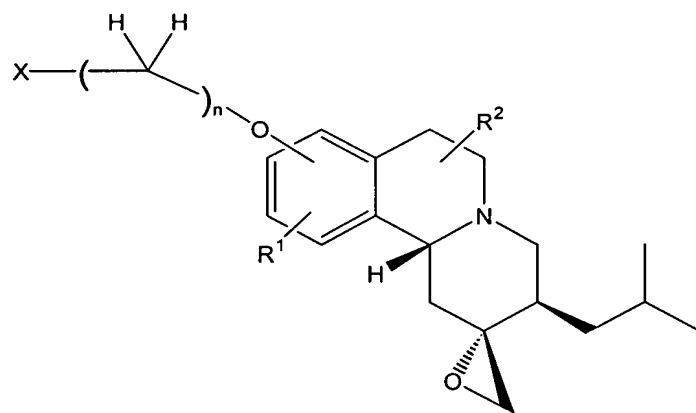
Im'

onde n é 2, 3 ou 4.

Outras estruturas estéreo-específicas que são preferidas incluem:

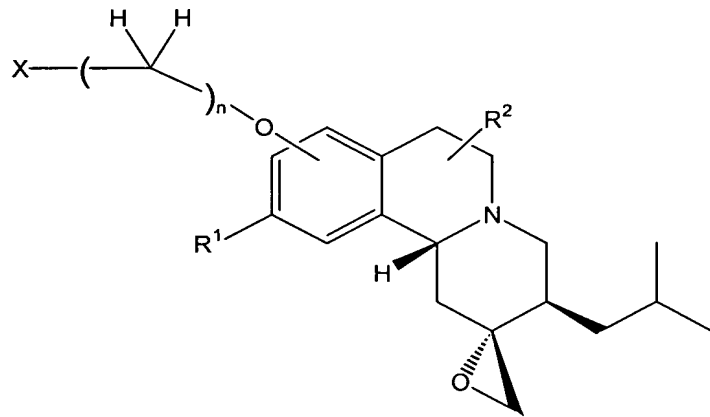


In'

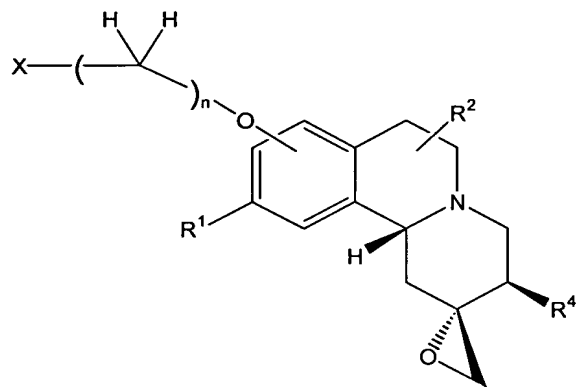


Io'

onde, n é um inteiro de 1 a 5; X é ^{18}F ou ^{123}I , R^4 é C_{1-4} alquil e R^1 é C_{1-5} alcóxi;

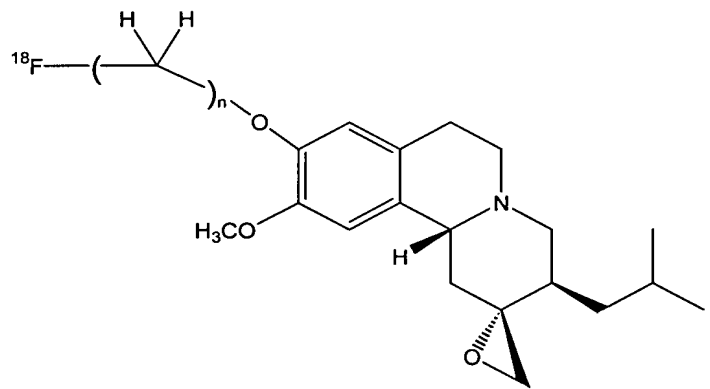


Ip'



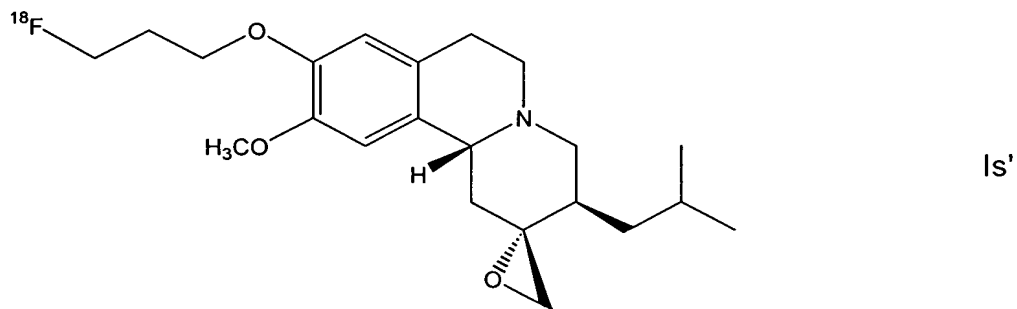
Iq'

onde, n é um inteiro de 1 a 4, X é ¹⁸F ou ¹²³I, R⁴ é C₁₋₄ alquil e R¹ é C₁₋₅ alcóxi;




Ir'

onde n é 2 ou 3; e



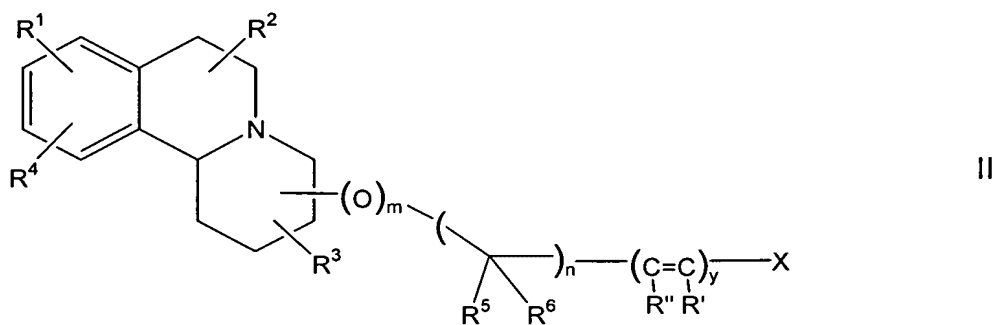
ou um sal farmacologicamente aceitável disso.

Nos compostos onde R³ é ceto () , o O está duplamente ligado a algum dos carbonos do anel disponíveis, por exemplo:

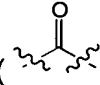



Em outro aspecto, o presente invento é dirigido a compostos da

5 seguinte Fórmula II:



ou um sal farmacologicamente aceitável disso, onde: n é um inteiro de 1 a 10; m é 1 ou 0; y é 1 ou 0; X é halogênio; R¹, R² e R⁴ são, independentemente, hidrogênio, C₁₋₅ alquil, amino(C₁₋₅)alquil, halo(C₁₋₄)alquil, mono- ou di-(C₁₋₅)alquilamino,



haloarilalquil, C₁₋₅ alcóxi; R³ é ceto () , um anel epóxido () , hidróxi,


10 hidrogênio, amino(C₁₋₅)alquil, mono- ou di-(C₁₋₅)alquilamino, C₁₋₅ alcóxi ou C₁₋₄ alquil;

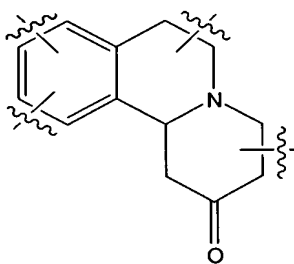
e, quando presentes, R', R'', R⁵ e R⁶ são, independentemente, hidrogênio, hidróxi, hidróxi(C₁₋₅)alquil ou C₁₋₅ alquil.


Os valores úteis de X incluem halogênio. Nesta materialização, é preferível que o halogênio seja um rádio-halogênio. Os rádio-halogênios incluem ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, ¹⁸F, ¹⁹F, ⁷⁶Br e ⁷⁷Br. Mais preferivelmente, X é ¹⁸F ou ¹²³I. Em uma materialização, os compostos mais preferidos de Fórmula II são aqueles compostos onde X é ¹⁸F e y é 0. Esses compostos são particularmente úteis para imagem por PET. Em outra materialização, os compostos mais preferidos de Fórmula II são aqueles compostos onde X é ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, particularmente ¹²³I, e y é 1. Esses compostos são particularmente úteis para imagem por SPECT.

Os valores úteis de R³ incluem aqueles listados acima. Preferivelmente,

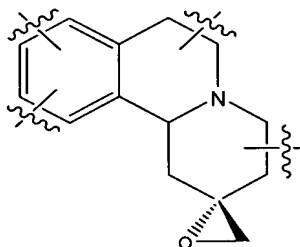
R³ é ceto () hidroxila ou um anel epóxido (). Mais preferivelmente, R³ é

hidróxi. Quando R³ é ceto (), o O está duplamente ligado a algum dos carbonos do anel disponíveis. Assim, por exemplo, esses compostos podem ter a seguinte estrutura de anel, a qual contém os substituintes conforme descrito aqui:



Quando R³ is um anel epóxido (), o O está ligado a algum dos carbonos do anel disponíveis bem como um grupo metileno que também está ligado ao mesmo carbono do anel para formar o sistema de anel de 3 membros. Assim, por exemplo, esses compostos podem ter a seguinte estrutura de anel, a qual contém os

substituintes conforme descrito aqui:



Os valores úteis de R^4 incluem todos aqueles listados acima. Os valores preferidos incluem amino(C_{1-5})alquil, mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino e C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^4 é C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^4 é metóxi.

5 Os valores úteis de R^1 incluem todos aqueles listados acima. Valores preferidos incluem amino(C_{1-5})alquil, mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino e C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^1 é C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^1 é metóxi.

Os valores úteis de R^2 incluem todos aqueles listados acima. Nas materializações preferidas, R^2 é hidrogênio.

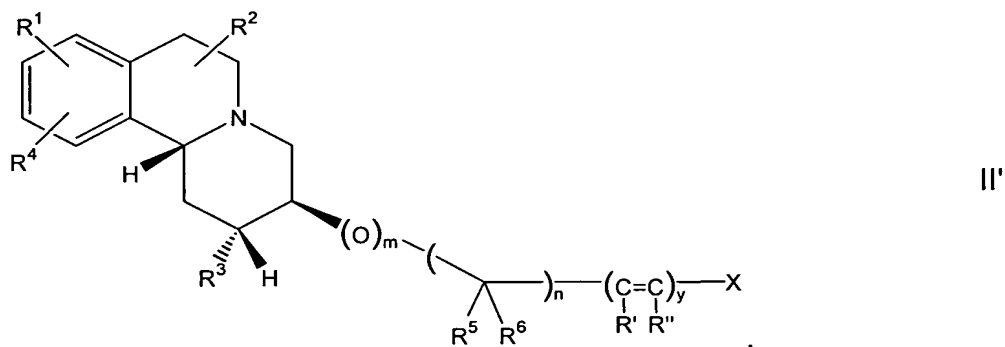
10 Os valores úteis de R^1 , R^2 , R^5 e R^6 incluem hidróxi, hidrogênio e C_{1-5} alquil. O número de ocorrências de R^5 e R^6 depende do valor de n . Quando R^5 e R^6 ocorrem mais que uma vez, cada ocorrência é independente da outra. Nas materializações preferidas, pelo menos um dos R^5 e R^6 é hidrogênio. Mais preferivelmente, R^5 e R^6 are ambos hidrogênio em todas as ocorrências.

15 Os valores úteis de m e n são todos aqueles listados acima. O valor de m , em cada caso, é independente em relação ao valor de n . Nos compostos de Fórmula II, os valores preferidos de n incluem um inteiro de 1 a 10. Mais preferivelmente, n é um inteiro de 2 a 7. Mais preferivelmente, n é de 3 a 6. Os valores úteis de m incluem 1 ou 0. Em uma materialização preferida, m é 0.

20 Os valores úteis de y incluem 1 e 0.


Em uma materialização particular, o presente invento é dirigido aos

compostos de Fórmula II, que têm a seguinte estrutura estereoquímica, Fórmula II'



ou um sal farmaceuticamente aceitável disso, onde: n é um inteiro de 1 a 10; m é 1 ou 0; y é 1 ou 0; X é halogênio; R¹, R² e R⁴ são, independentemente, hidrogênio, C₁₋₅ alquil, amino(C₁₋₅)alquil, halo(C₁₋₄)alquil, mono- ou di-(C₁₋₅)alquilamino, haloarilalquil, C₁₋₅ alcóxi; R³ é hidróxi, hidrogênio, amino(C₁₋₅)alquil, mono- ou di-(C₁₋₅)alquilamino, C₁₋₅ alcóxi ou C₁₋₄ alquil e; quando presentes, R', R'', R⁵ e R⁶ são, independentemente, hidrogênio, hidróxi, hidróxi(C₁₋₅)alquil ou C₁₋₅ alquil.

Os valores úteis de X incluem halogênio. Nesta materialização, é preferível que o halogênio seja um rádio-halogênio. Os rádio-halogênios incluem ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, ¹⁸F, ¹⁹F, ⁷⁶Br e ⁷⁷Br. Mais preferivelmente, X é ¹⁸F ou ¹²³I. Em uma materialização, os compostos mais preferidos de Fórmula II' são aqueles compostos onde X é ¹⁸F e y é 0. Esses compostos são particularmente úteis para imagem de PET. Em outra materialização, os compostos mais preferidos de Fórmula II' são aqueles compostos onde X é ¹²⁵I, ¹²³I, ¹³¹I, particularmente ¹²³I, e y é 1. Esses compostos são particularmente úteis para imagem de SPECT.

Os valores úteis de R³ incluem aqueles listados acima. Mais preferivelmente, R³ é ceto, hidróxi ou um anel epóxido (o ).

Os valores úteis de R⁴ incluem todos aqueles listados acima. Valores preferidos incluem amino(C₁₋₅)alquil, mono- ou di-(C₁₋₅)alquilamino e C₁₋₅ alcóxi.

Mais preferivelmente, R^4 é C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^4 é metóxi.

Os valores úteis de R^1 incluem todos aqueles listados acima. Os valores preferidos incluem amino(C_{1-5})alquil, mono- ou di-(C_{1-5})alquilamino e C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^1 é C_{1-5} alcóxi. Mais preferivelmente, R^1 é metóxi.

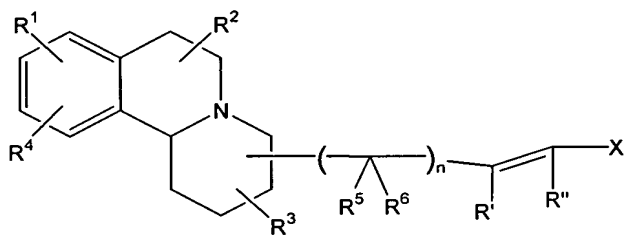
5 Os valores úteis de R^2 incluem todos aqueles listados acima. Nas materializações preferidas, R^2 é hidrogênio.

Os valores úteis de R' , R'' , R^5 e R^6 incluem hidróxi, hidrogênio e C_{1-5} alquil. O número de ocorrências de R^5 e R^6 depende do valor de n . Quando R^5 e R^6 ocorrem mais que uma vez, cada ocorrência é independente da outra. Nas
10 materializações preferidas, pelo menos um dos R^5 e R^6 é hidrogênio. Mais preferivelmente, R^5 e R^6 são ambos hidrogênio em todas as ocorrências.

Os valores úteis de m e n são todos aqueles listados acima. O valor de m , em cada caso, é independente em relação ao valor de n . Nos compostos de
15 Fórmula II', os valores preferidos de n incluem um inteiro de 1 a 10. Mais preferivelmente, n é um inteiro de 2 a 7. Mais preferivelmente, n é de 3 a 6. Os valores úteis de m incluem 1 ou 0. Em uma materialização preferida, m é 0.

Os valores úteis de y incluem 1 e 0.

Os compostos preferidos de Fórmula II incluem aqueles com a seguinte estrutura geral, onde m é 0 e y é 1:

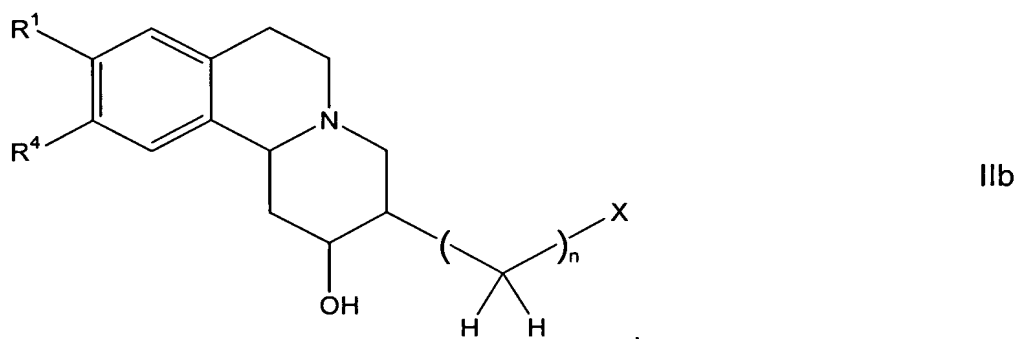


IIa

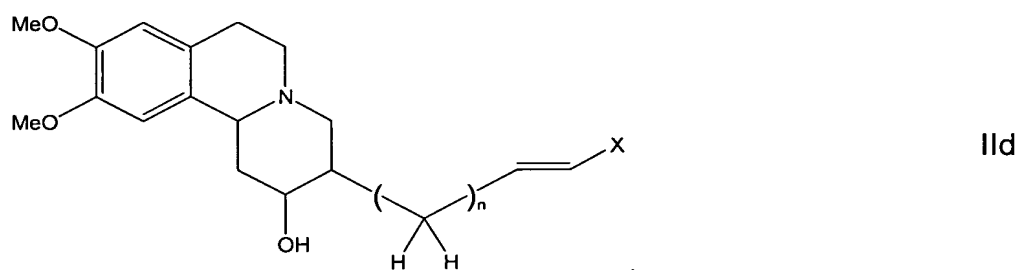
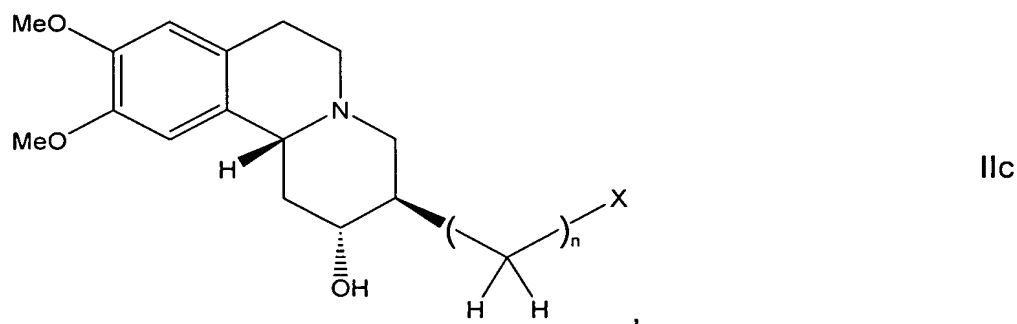
20 onde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R' , R'' são conforme descrito acima sob a Fórmula II, e X é Br ou I (incluindo seus radioisótopos). Preferivelmente, R^1 e R^4 são C_{1-5} alcóxi,

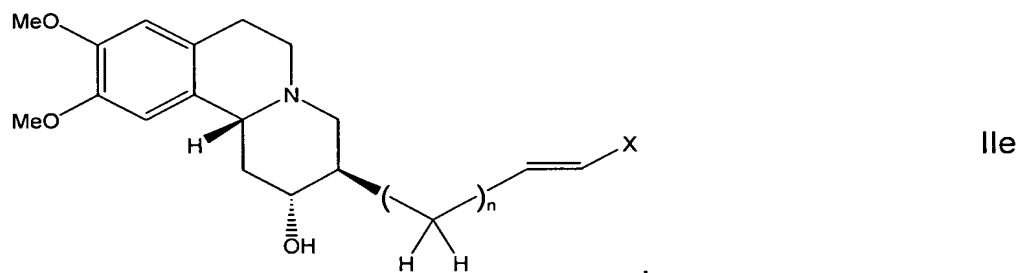
mais preferivelmente metóxi; preferivelmente R^2 é hidrogênio; preferivelmente R^3 é hidróxi; preferivelmente n é um inteiro de 1 a 10, mais preferivelmente de 2 a 7, e mais preferivelmente 3 a 6; preferivelmente R' e R'' são hidrogênio e X é um halogênio radiomarcado.

5 Os compostos preferidos de Fórmula II incluem aqueles com as seguintes estruturas:



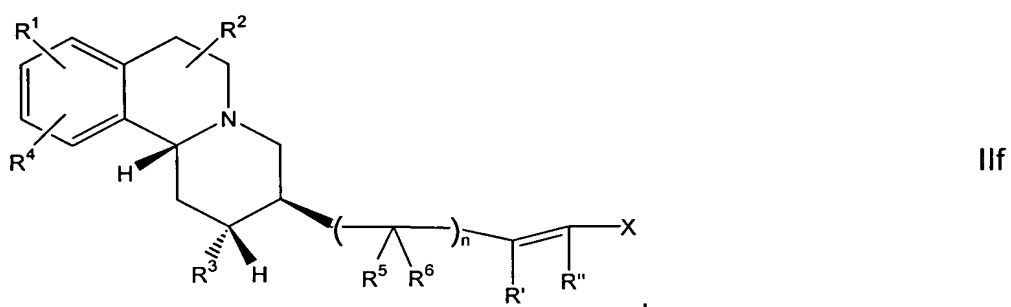
onde R^1 e R^4 são C_{1-5} alcóxi, preferivelmente metóxi; n é um inteiro de 1 a 10, preferivelmente 2 a 7, e mais preferivelmente 3 a 6; e X é ^{18}F . Outros compostos preferidos de Fórmula II ou II' incluem aqueles com as seguintes estruturas:



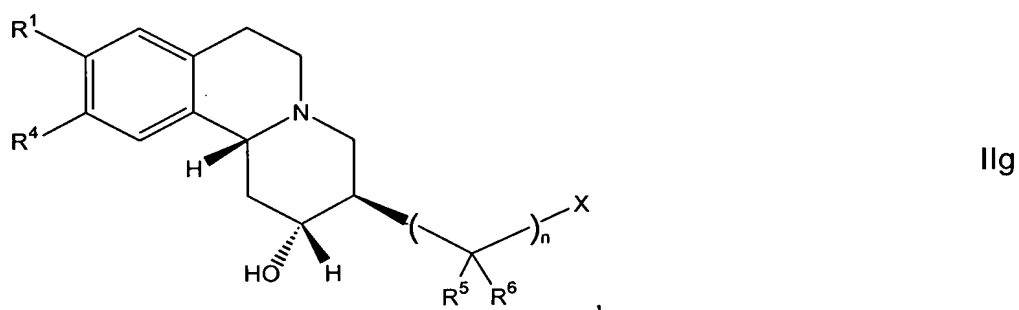


onde, nos compostos IIc, II d, e IIe, n é um inteiro de 1 a 10, preferivelmente 2 a 7, mais preferivelmente 3 a 6, e X é ^{18}F ou ^{123}I .

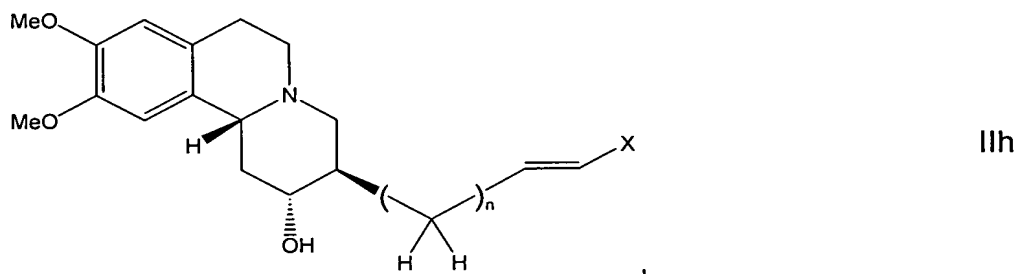
Outras estruturas estéreo-específicas que são preferidas incluem:



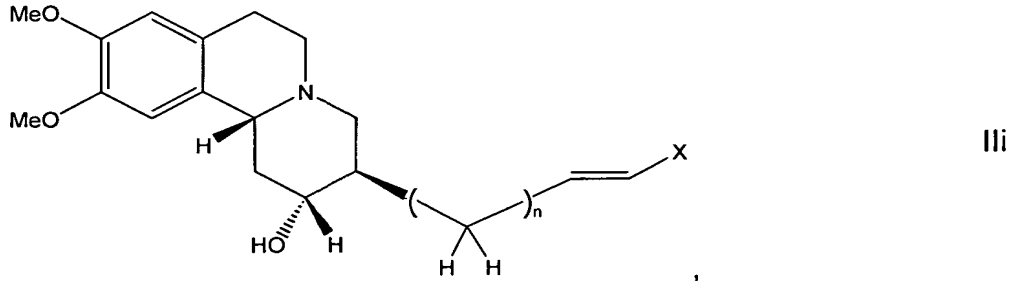
onde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R' e R'' são como descrito acima, n é de 2 a 7, e X é ^{123}I ;



5 onde n é de 2 a 7, R^1 e R^4 são independentemente C_{1-5} alcóxi e X é ^{18}F ;



onde n é um inteiro de 1 a 10, e X é ^{123}I ; e



onde n é um inteiro de 1 a 10 e X é ^{18}F ; ou um sal farmacologicamente aceitável disso.

Em outra materialização, o presente invento é dirigido a um composto de Fórmula I' ou II' que é substancialmente purificado a partir de seus estereoisômeros. Substancialmente purificado significa que o composto de Fórmula I' ou II' está presente em não menos que cerca de 75% de pureza. Em uma materialização preferida, o composto de Fórmula I' ou II' está presente em não menos que cerca de 85% de pureza. Mais preferivelmente, o composto de Fórmula I' ou II' está presente em não menos que cerca de 95% de pureza.

Também se deve entender que se considera que o presente invento inclui estereoisômeros, bem como isômeros ópticos, por exemplo, misturas de enantiômeros, assim como enantiômeros individuais e diastereômeros, que surgem como consequência da assimetria estrutural em compostos selecionados do presente invento.

Os compostos de Fórmulas I e II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II') também podem ser solvatados, especialmente hidratados. A hidratação pode ocorrer durante a fabricação dos compostos ou composições que abrangem os compostos, ou a hidratação pode ocorrer ao longo do tempo devido à natureza higroscópica dos compostos. Além disso, os compostos do presente invento podem existir tanto nas formas não-solvatadas quanto nas solvatadas com solventes farmacologicamente aceitáveis, tais como água, etanol e assim por diante. Em geral, as formas

solvatadas são consideradas equivalentes às formas não-solvatadas para os fins do presente invento.

Quando alguma variável ocorre mais que uma vez em qualquer constituinte ou na Fórmula I ou II (incluindo aqueles das Fórmulas I' e II'), sua
5 definição em cada ocorrência é independente de sua definição em ocorrências alternadas. Também as combinações de substituintes e/ou variáveis são permissíveis apenas se tais combinações resultam em compostos estáveis.

Outro aspecto deste invento está relacionado com os métodos de preparar compostos de Fórmulas I e II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II').

10 Em outro aspecto, o invento é dirigido a métodos de imagem de transportadores vesiculares de monoamina. Especificamente, os compostos aqui descritos são úteis para imagem de VMAT-2. A imagem de transportadores vesiculares de monoamina também pode ser realizada quantitativamente de tal modo que a quantidade ou mudança na quantidade de transportadores vesiculares
15 de monoamina também possa ser determinada. Esse método de imagem quantitativa pode ser usado para diagnosticar ou rastrear o progresso de uma doença. Esse método ainda fornece a capacidade de obter imagem da localização dos transportadores, e também determinar qualquer mudança nos transportadores, refletida nas imagens produzidas pelos métodos.

20 Por exemplo, é desejável localizar os transportadores vesiculares de monoamina no cérebro de modo a diagnosticar ou rastrear o progresso de uma doença relacionada com transportador vesicular de monoamina em um paciente, tal como, mas não limitada à, de Huntington e Parkinson. Em outro exemplo não limitante, é desejável localizar os transportadores vesiculares de monoamina no
25 pâncreas de modo a diagnosticar ou rastrear o progresso de uma doença vesicular

de monoamina em um paciente. Tais doenças incluem, mas não estão limitadas ao diabetes. O invento fornece um método de rastrear o progresso de uma condição, distúrbio ou doença comparando a quantidade, densidade e/ou localização dos transportadores vesiculares de monoamina ao longo do tempo.

5 Em um aspecto, os métodos de imagem são dirigidos a um método de imagem de transportadores vesiculares de monoamina neuronais. Um dos pré-requisitos chave para um agente de imagem *in vivo* do cérebro é a capacidade de cruzar a barreira intacta sangue-cérebro após uma injeção de bolus *iv*. Tem-se demonstrado, pelos dados aqui apresentados, que os compostos do presente
10 invento possuem essa propriedade.

 Em outro aspecto, os métodos de imagem são dirigidos à imagem de transportadores vesiculares de monoamina. Tem-se demonstrado, pelos dados aqui apresentados, que os compostos do presente invento possuem afinidade com os transportadores pancreáticos VMAT-2. Esse método é, portanto, útil para imagem de
15 células beta do pâncreas e, também, para determinar quantitativamente a localização, *status* ou quaisquer mudanças nas células beta. As densidades das células beta em áreas do pâncreas refletem a "Massa de Células Beta" ("BCM"). Assim, o presente método é útil para imagem das densidades de células beta e, depois, determinar a BCM. É provável que a perda de BCM desempenhe um
20 importante papel na patogênese de T1D e T2D e apresenta um alvo atrativo para intervenção terapêutica. Além disso, a capacidade de quantificar a BCM em pacientes vivos permitirá uma avaliação clínica mais eficiente das estratégias terapêuticas atualmente em desenvolvimento, incluindo transplante de células
25 ilhotas, terapias protetoras de células ilhotas e terapias regenerativas de células ilhotas. A imagem de BCM pode ser útil para selecionar pacientes para cursos

particulares de terapia. Por exemplo, as sulfoniluréias agem diretamente nas células beta das ilhotas para estimular a secreção de insulina, uma função que requer adequada BCM restante para ser eficaz.

O termo "alquil", conforme empregado aqui por si só ou como parte de
5 outro grupo, se refere a radicais de cadeia tanto linear quanto ramificada de até 8 carbonos, preferivelmente 6 carbonos, mais preferivelmente 4 carbonos, tais como metil, etil, propil, isobutil, butil, *t*-butil e isobutil.

O termo "alcóxi" é usado aqui para significar um radical alquil de cadeia linear ou ramificada, conforme definido acima, a menos que o comprimento da
10 cadeia esteja limitado a isso, ligado a um átomo de oxigênio, incluindo, mas não se limitando a, metóxi, etóxi, *n*-propóxi, isopropóxi e assim por diante. Preferivelmente, a cadeia alcóxi tem comprimento de 1 a 6 átomos de carbono, mais preferivelmente 1-4 átomos de carbono de comprimento.

O termo "monoalquilamina", conforme empregado aqui por si só ou
15 como parte de outro grupo, se refere a um grupo amina que é substituído com um grupo alquil como definido acima.

O termo "dialquilamina" conforme empregado aqui por si só ou como parte de outro grupo, se refere a um grupo amina que é substituído com dois grupos alquil como definido acima.

20 O termo "halo" ou "halogênio" conforme empregado aqui por si só ou como parte de outro grupo, se refere a cloro, bromo, flúor ou iodo. Como ficará claro a partir da presente revelação, o termo halo ou halogênio abrange radioisótopos dos halogênios listados acima, isto é, rádio-halogênios.

O termo "aril" conforme empregado aqui por si só ou como parte de
25 outro grupo, se refere a grupos aromáticos monocíclicos ou bicíclicos contendo de 6

a 12 carbonos na parte do anel, preferivelmente 6-10 carbonos na parte do anel, tais como fenil, naftil ou tetra-hidronaftil.

O racêmico de 9-fluoroetil (FE) e 9-fluoropropil (FP)-9-desmetil-DTBZ e os derivados de hidroxila correspondentes foram preparados com sucesso.

5 Derivados de ^{18}F -DTBZ sem transportador adicionado foram sintetizados pelo deslocamento de um ^{18}F fluoreto dos mesilatos correspondentes com bons rendimentos (30-40%) e alta atividade específica (S.A.= 1.500-2.000 Ci/mmol). FE-DTBZ, **6a**, e FP-DTBZ, **6b**, apresentaram excelentes afinidades de ligação ($K_i = 0,76$ e 0,56 nM, respectivamente) para os locais de ligação de VMAT2 em homogenados

10 estriatais de rato. Consistentemente, ^{18}F **6a** e **6b** apresentaram valores K_d de 0,52 e 0,48 nM, respectivamente (com base na S.A.= 2000 Ci/mmol) para locais de ligação de VMAT2 usando homogenados estriatais de camundongo. Ambos os agentes apresentaram densidades de ligação comparáveis com aquelas obtidas com ^3H (\pm)tetrabenazina (TBZ). Os resultados da auto-radiografia *in vitro* com ^{18}F **6b**

15 demonstraram uma ligação distinta na região do putâmen caudado consistente com a localização do VMAT2 no cérebro do camundongo, o qual estava bloqueado por TBZ não-radioativo eficientemente. Estudos de biodistribuição em camundongos após uma injeção iv do rastreador apresentaram excelentes absorções cerebrais (4,66 e 7,08 % ID/g em 2 min para ^{18}F **6a** e ^{18}F **6b**, respectivamente). Determinou-se que o ^{18}F **6b** apresentou um desaparecimento cerebral mais rápido que o ^{18}F **6a**.

20 Como resultado, o ^{18}F **6b** produziu uma melhor razão entre alvo (estriado, ST) e razão de fundo (cerebelo, CB) (ST/CB = 3,0 e 1,9 para **6b** e **6a**, respectivamente). O estudo de bloqueio com DTBZ não-radioativo confirmou a competição *in vivo* e a especificidade da ligação do ^{18}F **6b** para os locais de VMAT2.

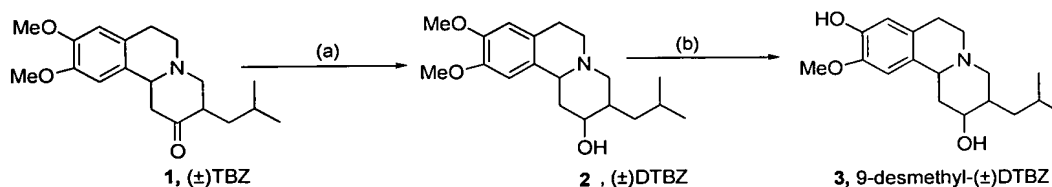
25 Os compostos deste invento podem ser preparados através das

reações descritas nos Esquemas 1-4. As sínteses de derivados fluoroetil e fluoropropil radiomarcados de (\pm)DTBZ, **2**, racêmico são apresentadas nos Esquemas 1, 2 e 3. O FP-(\pm)-DTBZ racêmico produziu um perfil HPLC com quatro picos distintos. Os tempos de retenção foram 12,5 (pico 1), 18,3 (pico 2), 21,6 (pico 3) e 30,4 (pico 4), (Figura 1). A resolução óptica foi realizada usando um sistema de HPLC equipado com uma coluna quiral - AD Chiracel.

A tetrabenazina racêmica, (\pm)TBZ, **1**, foi reduzida a diidrotetrabenazina (\pm)DTBZ, **2**, com boro-hidreto de sódio em etanol. O grupo metóxi na posição C-9 do núcleo do anel de tetrabenazina foi seletivamente desmetilado (Kilbourn MR, Lee LC, Heeg MJ, Jewett DM., *Chirality*, 1997:9:59-62) aquecendo DTBZ com *N*-metil anilida sódica em HMPA e xileno a 65°C para produzir 9-O-desmetil-DTBZ, **3** (Esquema 1). Este último composto serviu como ponto de partida para a síntese dos fluoroalquil derivados. Primeiramente, os derivados fluoroetil e fluoropropil “frios” de (\pm)DTBZ foram preparados. O 9-O-desmetil-DTBZ, **3**, foi alquilado por 1-bromo-1-fluoro etano ou 3-fluoropropil-*p*-tolueno-sulfonato com carbonato de cézio a 110°C em DMF para produzir fluoroetil-DTBZ, **6a**, e fluoropropil-DTBZ, **6b**, respectivamente (Esquema 2). Uma abordagem completamente diferente para a síntese dos derivados fluoroetil e fluoropropil de DTBZ radiomarcados com ^{18}F foi adotada. O fenol no composto **3** foi alquilado com 2-bromo etanol ou 3-bromo-propanol para dar os derivados 2-hidroxietil, **4a** ou 3-hidroxipropil, **4b**, 9-desmetil-DTBZ. Esses hidroxicompostos foram mesilados com MsCl em cloreto de metileno a 0°C para produzir **5a** e **5b**. Na reação de mesilação, somente um equivalente de MsCl foi usado para evitar a mesilação do grupo hidróxi secundário passado para trás na posição C-2. Esses mesilados foram, então, usados como precursor para a radiosíntese dos derivados de DTBZ radiomarcados com ^{18}F .

Para produzir os derivados de DTBZ marcados com ^{18}F desejados, $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$ e $\mathbf{6b}$, os mesilados $\mathbf{5a}$ e $\mathbf{5b}$ foram empregados como os precursores (Esquema 3). Cada um dos mesilados, $\mathbf{5a}$ ou $\mathbf{5b}$, foi misturado com $[^{18}\text{F}]$ fluoreto/carbonato de potássio e Kryptofix \square 222 em DMSO e aquecido a $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5-7 min. O produto cru foi purificado através de HPLC (pureza radioquímica $> 99\%$, rendimento radioquímico 30-40%, corrigido quanto ao decaimento). A preparação de cada composto marcado com ^{18}F , $[^{18}\text{F}]\mathbf{6a}$ e $\mathbf{6b}$, levou cerca de 50-55 min e a atividade específica foi estimada em 1.500-2.000 Ci/mmol no final da síntese.

10 ESQUEMA 1

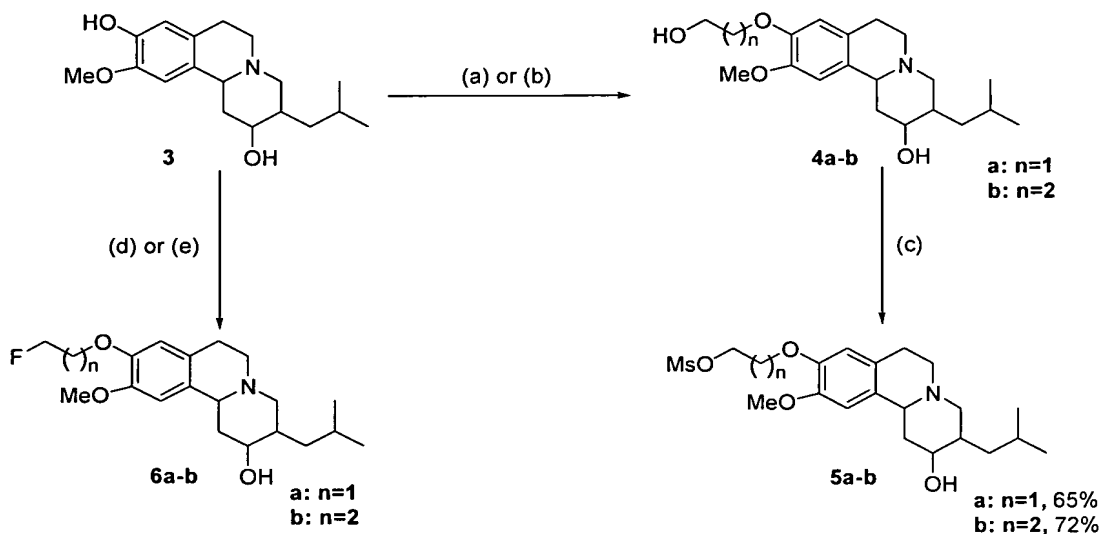


(a). NaBH_4 , EtOH, RT, 1hr, 100% (b). HMPA, *N*-methylaniline, xylene, NaH, 65°C , 48 hrs, 36%

9-desmethyl-(±)DTBZ = 9-desmetil-(±)DTBZ; hr = h; *N*-methylaniline = *N*-metilanilina; xylene = xileno; NaH, 65°C , 48 h, 36%

hrs = h; demais termos permanecem os mesmos

ESQUEMA 2



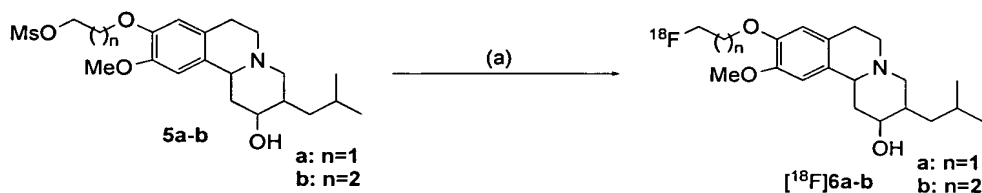
(a). HOCH₂CH₂Br (1.3 eq.), Cs₂CO₃ (1.5 eq.), DMF, 110°C, 16hr, 60%; (b). HOCH₂CH₂CH₂Br (1.3 eq.), Cs₂CO₃ (1.5 eq.), DMF, 110°C, 16hr, 70%; (c). MsCl (1.0 eq.), Et₃N (1.5 eq.), DCM, 0°C to RT, 5 hr; (d). FCH₂CH₂Br (1.4 eq.), Cs₂CO₃ (1.4 eq.), DMF, 110°C, 15hr, 60% or FCH₂CH₂Br (2 eq.), Cs₂CO₃ (2 eq.), NaI (2 eq.), DMF, 200°C, microwave 10 minutes, 50%; (e). FCH₂CH₂CH₂OTs (1.4 eq.), Cs₂CO₃ (1.5 eq.), DMF, 110°C, 16hr, 45%

Legenda

(a). HCOCH₂CH₂Br (1,3 eq.), CS₂CO₃ (1,5 eq.), DMF, 110°C, 16h, 60%; (b). HOCH₂CH₂CH₂Br (1,3 eq.), CS₂CO₃ (1,5 eq.), DMF, 110°C, 16h, 70%; (c). MsCl (1,0 eq.), Et₃N (1,5 eq.), DCM, 0°C à RT, 5 h, (d). FCH₂CH₂Br (1,4 eq.), CS₂CO₃ (1,4 eq.), DMF, 110°C, 15h, 60% ou FCH₂CH₂Br (2 eq.), CS₂CO₃ (2 eq.), NaI (2 eq.), DMF, 200°C, microondas 10 minutos, 50%; (e). FCH₂CH₂CH₂OTs (1,4 eq), Cs₂CO₃ (1,5 eq.), DMF, 110°C, 16h, 45%

or = ou; os demais termos permanecem os mesmos

ESQUEMA 3

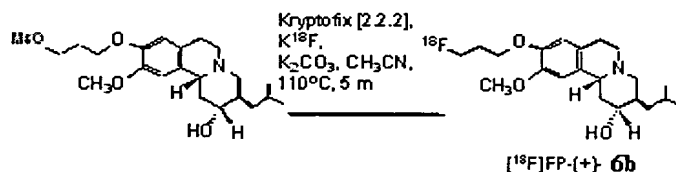


(a). K₂CO₃, Kryptofix [2.2.2], ¹⁸F anion, 110°C, 7 min

legenda

(a). K₂CO₃, Kryptofix [2.2.2], ânion ¹⁸F; 110°C, 7 min os demais termos permanecem os mesmos

ESQUEMA 4



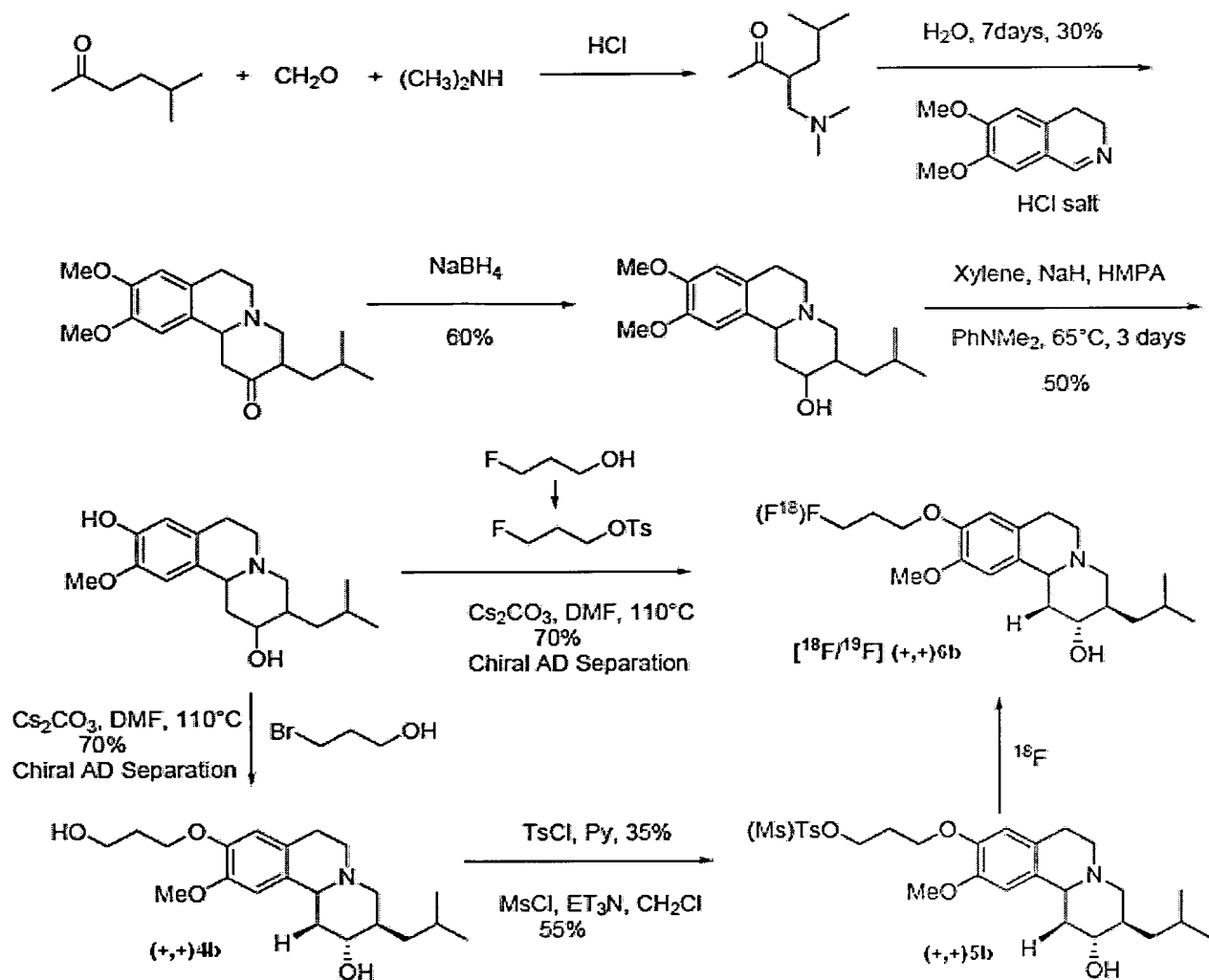
Conforme mostrado no esquema a seguir, o fluoropropil (±)DTBZ pode ser sintetizado convertendo-se o composto de hidroxila no tosilato ou mesilato correspondente. Qualquer um desses intermediários é apropriado para o uso

5 posterior em direção à radiosíntese. A separação via uma coluna Chiracel AD produziu (+,+)**4b** enantiomericamente purificado. A tosilação de (+,+)**4b** prosseguiu até um rendimento de cerca de 35%. Para a radiosíntese de [¹⁸F](+,+)**6b**, [¹⁸F]fluoreto foi eluído através de um cartucho de troca aniônica QMA e misturado com Kryptofix e carbonato de potássio em acetonitrila:água. Após a secagem

10 azeotrópica, 1 mg de (+,+)**5b** dissolvido em uma mistura 3:2 de dimetilformamida e acetonitrila foi adicionado às atividades secas. A reação foi aquecida a 110°C por 7 min., resfriada até a temperatura ambiente e purificada usando um cartucho de fase sólida (Waters Oasis). Uma HPLC foi utilizada para produzir [¹⁸F](+,+)**6b** em um rendimento radioquímico de cerca de 40% com cerca de 99% de pureza

15 radioquímica. A atividade específica do [¹⁸F](+,+)**6b** era de cerca de 1500 a cerca de 2000 Ci/mmol.

ESQUEMA 5

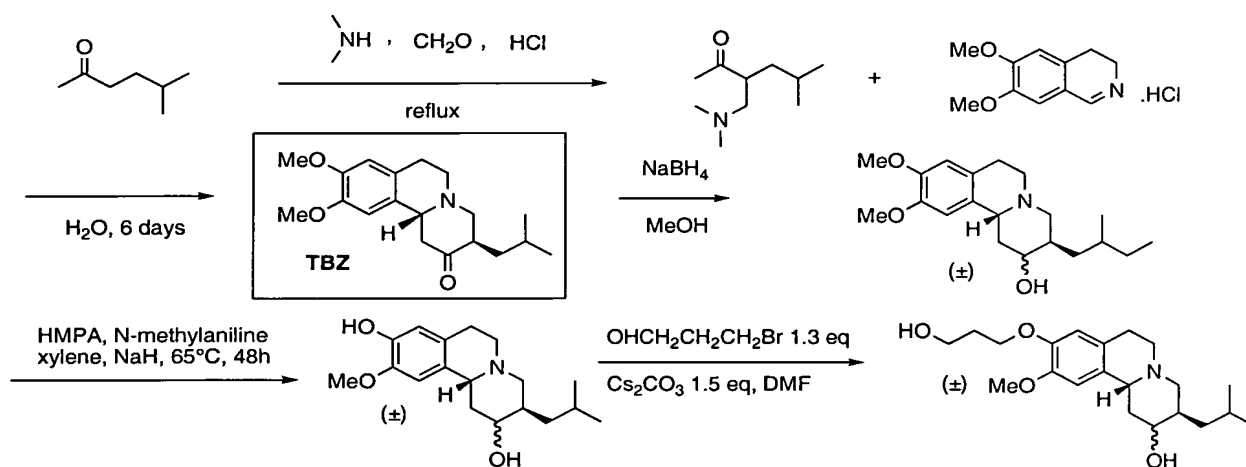


Legenda - 7 days = 7 dias; HCl salt = sal de HCl; Xylene = Xileno; 3 days = 3 dias; Chiral AD Separation = Separação com Chiral AD; demais termos permanecem os mesmos

Os compostos do invento são sintetizados usando as rotas sintéticas representadas nos Esquemas 6-9.

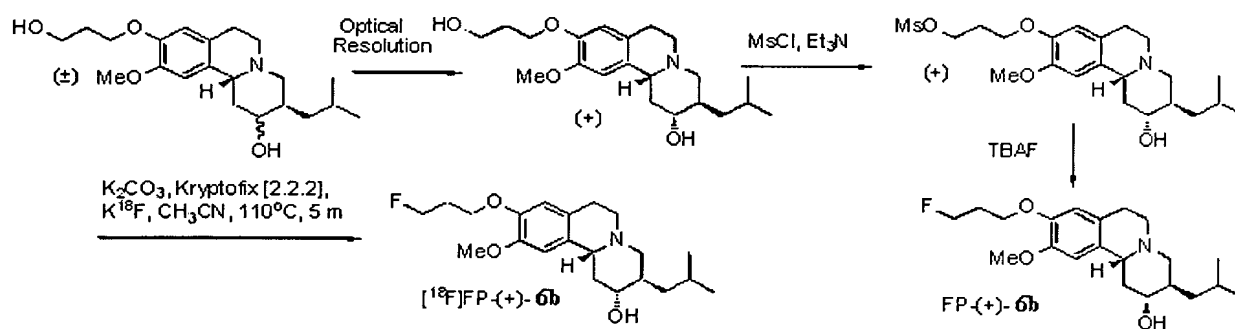
ESQUEMA 6

47/84



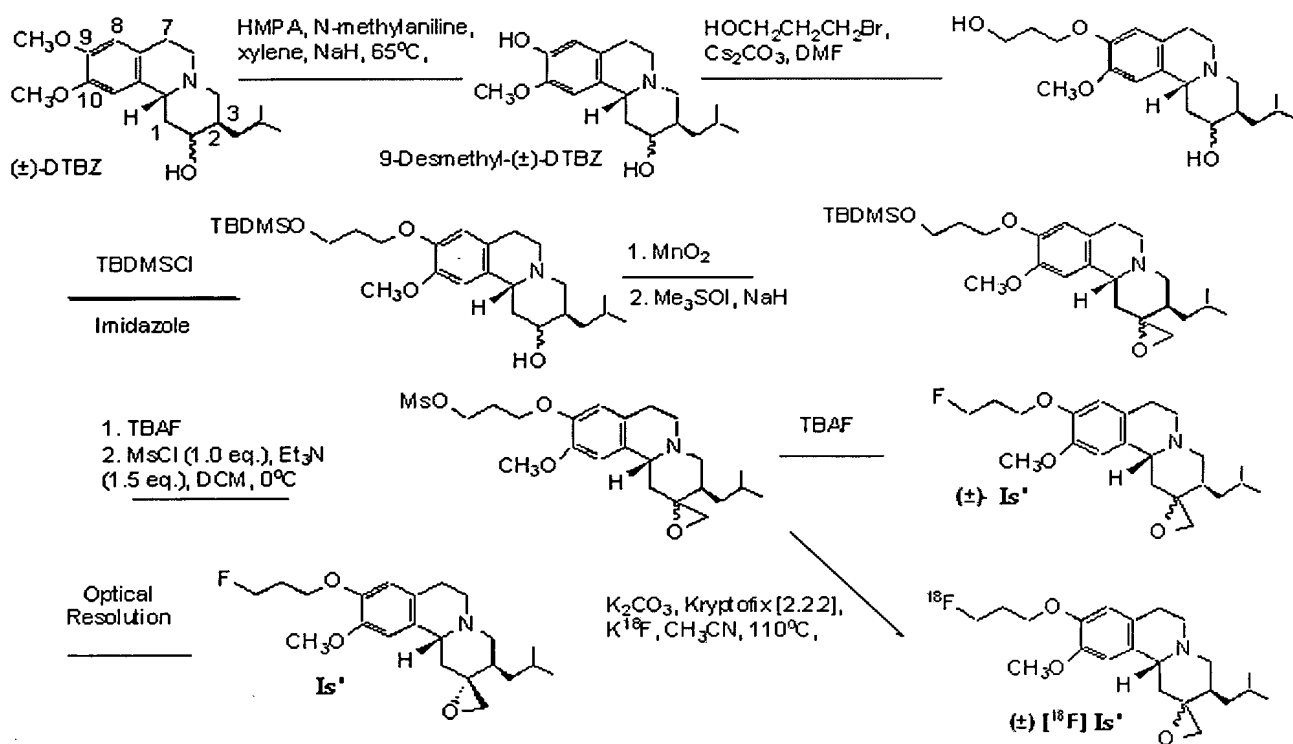
Legenda - reflux = refluxo; 6 days = 6 dias; N-methylaniline = N-metilnilina; xylene = xileno; substituir ponto decimal por vírgula; demais termos permanecem os mesmos

ESQUEMA 7



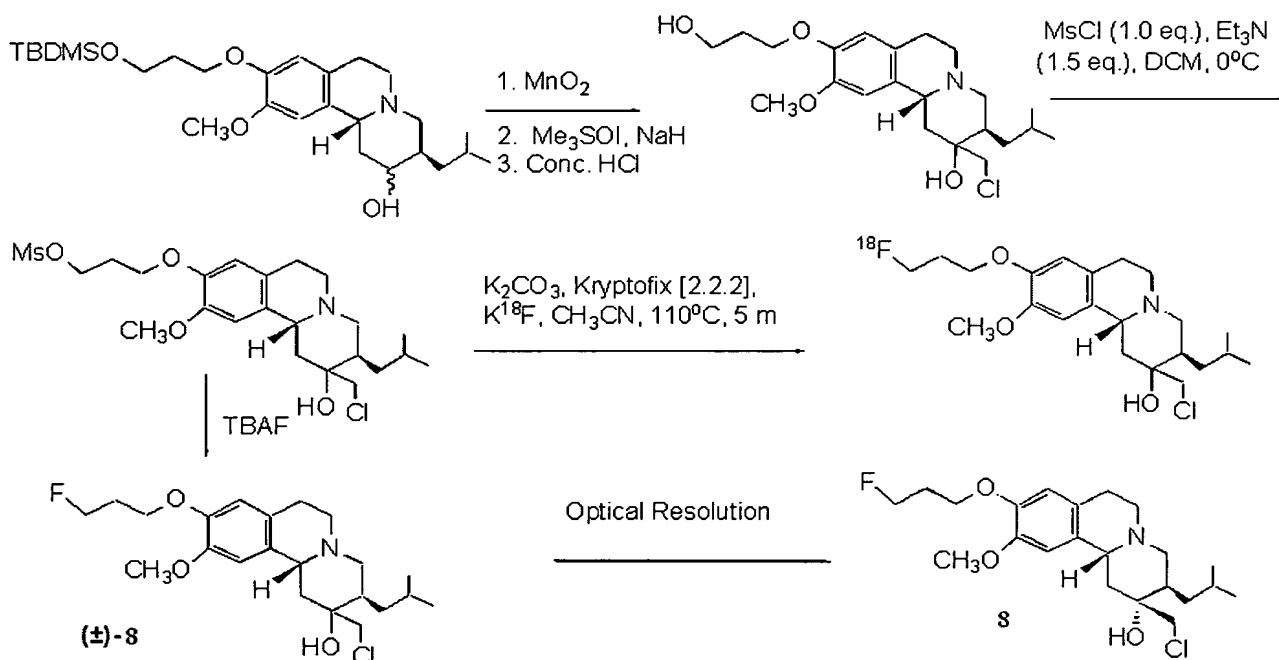
Legenda - Optical Resolution = Resolução Óptica; demais termos permanecem os mesmos

ESQUEMA 8



Legenda - N-methylaniline = N-metilalanina; xylene = xileno; 9-Desmethyl-(±)DTBZ = 9-Desmetil-(±)DTBZ; Imidazole = Imidazol; 1.0 eq. = 1,0 eq.; 1.5 eq. = 1,5 eq.; Optical Resolution = Resolução Óptica; demais termos permanecem os mesmos

ESQUEMA 9



Legenda - 1.0 eq. = 1,0 eq.; 1.5 eq. = 1,5 eq.; Optical Resolution = Resolução Óptica; demais termos permanecem os mesmos

Quando os compostos deste invento têm que ser usados como agentes de imagem, eles devem ser marcados com isótopos radioativos adequados. Preferivelmente, o isótopo é um rádio-halogênio tal como ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{18}F , ^{76}Br ou ^{77}Br . Mais preferivelmente, o halogênio é um radiofluoreto, tal como ^{18}F . Embora os isótopos de ^{125}I sejam úteis para testes de laboratório, eles geralmente não serão úteis para fins diagnósticos reais devido à meia-vida relativamente longa (60 dias) e à baixa emissão gama (30-65 KeV) do ^{125}I . O isótopo ^{123}I tem uma meia-vida de treze horas e energia gama de 159 KeV, e se espera, portanto, que a marcação dos ligantes a serem usados para fins diagnósticos sejam com este isótopo. Outros isótopos que podem ser usados incluem o ^{131}I . Os isótopos de bromo adequados incluem ^{77}Br e ^{76}Br . O agente diagnóstico radioativo deve ter suficiente radioatividade e concentração de radioatividade que possam garantir um diagnóstico confiável. Determinar a radioatividade suficiente para os isótopos revelados aqui está bem dentro do campo de ação daqueles habilitados na arte.

Os compostos radiomarcados deste invento prestam-se facilmente à formação a partir de materiais que poderiam ser fornecidos aos usuários em kits. Os kits para formação de agentes para imagem podem conter, por exemplo, uma ampola contendo uma solução fisiologicamente adequada de um intermediário das Fórmulas I ou II (incluindo aqueles de Fórmulas I' and II') em uma concentração adequada e em um pH adequado. O usuário adicionaria à ampola uma quantidade apropriada de radioisótopo, por exemplo, Na^{123}I , e um oxidante, tal como peróxido de hidrogênio. O ligante marcado resultante pode, então, ser administrado intravenosamente a um paciente e receptores no cérebro, terem imagem obtida por meio da medição de raios gama ou fotoemissões a partir daí.

Quando desejado, o agente diagnóstico radioativo pode conter qualquer aditivo tal como agentes controladores de pH (por exemplo, ácidos, bases, tampões), agentes estabilizadores (por exemplo, ácido ascórbico) ou isotonzantes (por exemplo, cloreto de sódio).

5 O termo "sal farmacologicamente aceitável" como usado aqui se refere àqueles sais carboxilatos ou sais de adição de ácido dos compostos do presente invento que são, dentro do escopo do bom julgamento médico, adequado ao uso em contato com os tecidos dos pacientes, sem indevida toxicidade, irritação, resposta alérgica, e assim por diante, comensurado com uma razão risco/benefício razoável, e eficaz para seu uso pretendido, bem como as formas zwitteriônicas, onde possível, dos compostos do invento. O termo "sais" se refere aos sais de adição de ácido orgânico e inorgânico, relativamente não-tóxicos de compostos do presente invento. Também incluídos estão aqueles sais derivados de ácidos orgânicos não-tóxicos, tais como ácidos e ácidos mono- e dicarboxílicos alifáticos, por exemplo, ácido acético, ácidos alcanóicos fenil-substituídos, ácidos hidroxialcanóicos e alcanodióicos, ácidos aromáticos, e ácidos sulfônicos alifáticos e aromáticos. Esses sais podem ser preparados *in situ* durante o isolamento e purificação final dos compostos ou reagindo separadamente o composto purificado em sua forma básica livre com um ácido orgânico ou inorgânico adequado e isolando o sal assim formado.

10 Mais sais representativos incluem os sais bromidrato, cloridrato, sulfato, bissulfato, nitrato, acetato, oxalato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartarato, naftilato, mesilato, glicohexptonato, lactobionato e sais laurilsulfonatos, propionato, pivalato, ciclamato, isetionato e assim por diante. Estes podem incluir cátions

15 baseados em metais alcalinos e alcalino-terrosos, tais como sódio, lítio, potássio,

20

25

cálcio, magnésio e assim por diante, bem como amônio não-tóxico, amônio quaternário e cátions de amina incluindo, mas não limitados ao amônio, tetrametilamônio, tetraetilamônio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina e assim por diante. (Ver, por exemplo, Berge S. M., *et al.*,
5 *Pharmaceutical Salts, J. Pharm. Sci.* 66:1-19 (1977) que está incorporada aqui pela referência).

Na primeira etapa do presente método de imagem, um composto marcado de Fórmulas I ou II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II') é introduzido em um tecido ou um paciente em uma quantidade detectável. O composto é tipicamente
10 parte de uma composição farmacêutica e é administrado ao tecido ou ao paciente pelos métodos bem conhecidos para aqueles habilitados na arte. Por exemplo, o composto pode ser administrado oral, retal, parenteral (intravenosa, intramuscular ou subcutaneamente), intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, intravesical, localmente (pós, pomadas ou gotas), ou como um spray bucal ou nasal. A
15 administração do composto marcado a um paciente pode ser por uma via de administração geral ou local. Por exemplo, o composto marcado pode ser administrado ao paciente de modo que ele seja distribuído por todo o corpo. Alternativamente, o composto marcado pode ser administrado a um órgão ou tecido específico de interesse.

20 Após ter passado tempo suficiente para o composto associar-se com transportadores vesiculares de monamina, o composto marcado é detectado não-invasivamente dentro do paciente. Em outra materialização do invento, um composto marcado de Fórmulas I ou II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II') é introduzido em um paciente, permite-se tempo suficiente para o composto associar-se com
25 transportadores vesiculares de monoamina e, depois, uma amostra de tecido do

paciente é removida e o composto marcado no tecido é detectado separado do paciente. Em uma terceira materialização do invento, uma amostra de tecido é removida de um paciente e um composto marcado de Fórmulas I ou II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II') é introduzido na amostra de tecido. Após um período suficiente de tempo para o composto se ligar aos transportadores vesiculares de monoamina, o composto é detectado. Preferivelmente, os transportadores vesiculares de monoamina são neuronais ou pancreáticos. Se o presente rádio-halogênio no composto marcado é um emissor de pósitrons, tal como ^{18}F , então o método ainda propicia medir a distribuição da composição dentro do mamífero através da tomografia por emissão de pósitrons. Se o rádio-halogênio presente no composto marcado é um emissor de fóton único, tal como ^{123}I , então o método ainda propicia medir a distribuição da composição dentro do mamífero através de tomografia de emissão de fóton único.

Aqueles habilitados na arte estão familiarizados com várias maneiras de detectar compostos radiomarcados. Por exemplo, imagem por ressonância magnética (IRM), tomografia por emissão de pósitrons (PET), ou tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) podem ser usadas para detectar compostos radiomarcados. O marcador que é introduzido no composto dependerá do método de detecção desejado. Por exemplo, se a PET for selecionada como um método de detecção, o composto deve possuir um átomo emissor de pósitrons, tal como ^{11}C ou ^{18}F .

Aqueles habilitados na arte também estão familiarizados com a determinação da quantidade de tempo suficiente para um composto se tornar associado com os transportadores vesiculares de monoamina. O tempo necessário pode ser facilmente determinado introduzindo-se uma quantidade detectável de um

composto marcado de Fórmula I ou II (incluindo aqueles de Fórmulas I' e II') em um paciente e, depois, detectando o composto marcado em vários instantes após a administração.

O termo “paciente” significa humanos e outros animais. O termo “tecido” significa uma parte do corpo de um paciente. Exemplos de tecidos incluem cérebro, coração, fígado, vasos sanguíneos e artérias. Uma quantidade detectável é uma quantidade do composto marcado necessário para ser detectado através do método de detecção escolhido. A quantidade de um composto marcado a ser introduzido em um paciente de modo a propiciar a detecção pode prontamente ser determinada através daquele habilitado na arte. Por exemplo, quantidades crescentes de composto marcado podem ser fornecidas a um paciente até o composto ser detectado pelo método de detecção de escolha. Um marcador é introduzido nos compostos para propiciar a detecção dos compostos.

O termo “associado” significa uma interação química entre o composto marcado e um ou mais transportadores vesiculares de monoamina. Exemplos de associações incluem ligações covalentes, ligações iônicas, interações hidrofílicas-hidrofílicas, hidrofóbicas-hidrofóbicas, e complexas.

As afinidades de ligação dos não-radioativos **6a** e **6b** com o VMAT2 foram determinadas usando [³H](±)TBZ como radioligante nos homogenados de tecido estriatal de rato (Tabela 1). Tanto **6a** como **6b** exibiram excelente afinidade com valores K_i de 0,76 e 0,56 mM, respectivamente, para VMAT2. Os hidroxietil- e hidroxipropilderivados correspondentes **4a** e **4b** mostraram afinidades de ligação muito inferiores (K_i = 48,5 e 75,8 nM, respectivamente). Além disso, estimamos as constantes de dissociação (valores K_d) para sondas radiofluoradas [¹⁸F]**6a** e [¹⁸F]**6b**, usando homogenados estriatais de camundongo. Consistentemente, constatou-se

que os valores de K_d estimados com base na S.A. = 2.000 Ci/mmol são $0,52 \pm 0,04$ e $0,48 \pm 0,01$ nM para [^{18}F]6a e [^{18}F]6b, respectivamente (dados não apresentados). Os valores K_d são consistentes com os valores de K_i medidos pelos experimentos de competição.

5 Determinou-se que a lipofilicidade dessas séries de derivados de TBZ é como segue: (coeficiente de partição = 131 e 411, medida entre 1-octanol e tampão de fosfato para [^{18}F]6a e [^{18}F]6b, respectivamente). Ambas as sondas marcadas com ^{18}F penetraram facilmente através da barreira intacta sangue-cérebro mostrando reabsorções cerebrais excelentes em camundongos normais (4,66% e
10 7,08% dose/g para [^{18}F]6a e [^{18}F]6b, respectivamente em 2 minutos de pós-injeção intravenosa) (Tabela 2). [^{18}F]6b apresentou um desaparecimento mais rápido no cérebro (restando 13% em 30 min p.i.) quando comparado com [^{18}F]6a (restando >50% em 30 min, p.i.). Fígado e rim são dois órgãos importantes para a excreção de ambos os derivados marcados com ^{18}F . A absorção óssea mais alta observada para
15 [^{18}F]6b quando comparada com [^{18}F]6a (9,62% vs 3,88% dose/g, respectivamente) indicou que provavelmente havia uma desfluoração *in vivo* mais rápida para [^{18}F]6b. Ambos os ligantes fluorados exibiram localização significativa nas estruturas enriquecidas com monoamina, com a de estriado (ST) sendo a mais alta (Tabela 2). Usando cerebelo (CB) como a região de fundo (região não-alvo contendo uma
20 quantidade mínima de VMAT2), a razão ST/CB alcançou o pico de 3,0 em 30 min p.i. para [^{18}F]6b. Este valor é comparável com os valores relatados para [^{11}C]DTBZ (Kilbourn M, Sherman P. In vivo binding of (+)-[α]- ^3H]dihydratetrabenazine to the vesicular monoamine transporter of rat brain: bolus vs. equilibrium studies, *Eur. J. Pharmacol.*, 1997;331:161-68). Uma razão estacionária (ST/CB) foi observada de
25 15 min a 60 min para [^{18}F]6b. Inesperadamente, constatou-se que as razões ST/CB

para [¹⁸F]6a eram inferiores (1,91, 1,71 e 1,71 para 15, 30 e 60 min, p.i., respectivamente). As propriedades cinéticas *in vivo* favoráveis associadas com o fluoropropil derivado, [¹⁸F]6b (absorção cerebral mais alta e desaparecimento rápido do fundo), pareceram contribuir com melhores razões alvo (ST) para não-alvo (CB).

5 Essas razões obtidas foram para as misturas racêmicas (teoricamente contendo 50% do isômero ativo (Kilbourn M, Lee L, Borght TV, Jewett D, Frey K. Binding of [alpha]-dihydrotetraabenazine to the vesicular monoamine transporter is stereospecific, *Eur. J. Pharmacol.*, 1995:278:249-52).

A especificidade da ligação para VMAT2 de ligantes de DTBZ
10 fluorados, 6a e 6b, foi posteriormente confirmada por um experimento de bloqueio. Como apresentado na Tabela 3, a co-injeção de (±)DTBZ (3 mg/kg), um ligante específico de VMAT2 bem caracterizado, com [¹⁸F]6b, aboliu completamente a localização seletiva resultando na razão de ST/CB próxima da unidade (3,40 vs 0,98, ver Tabela 3). Em contraste, a co-injeção de [¹⁸F]6b com o ligante não-VMAT2, isto
15 é, racloprida (1.2 mg/kg), um antagonista receptor de dopamina D2/D3, não afetou a razão alvo (ST) para não-alvo (CB) (3,40 vs 3,93, respectivamente). Além disso, a auto-radiografia *in vitro* claramente indicou a similaridade de localização regional entre [³H]TBZ e [¹⁸F]6b. Uma região rica no local de ligação de VMAT2, isto é, os
20 gânglios basais no cérebro do camundongo apresentaram a mais alta ligação de [¹⁸F]6b (Fig 2). As regiões correspondentes ao putâmen caudado, tubérculo olfatório e nucleus accumbens podem ser claramente visualizadas. Essa marcação regional distinta foi completamente eliminada na presença de 1 μM (±)TBZ (dados não apresentados), indicando que a TBZ e o ligante radiofluorado [¹⁸F]6b estão competindo pelos mesmos locais de VMAT2 no cérebro.

25 Os exemplos a seguir são ilustrativos, mas não limitantes do método e

das composições do presente invento. Outras modificações e adaptações adequadas da variedade de condições e parâmetros normalmente encontrados e óbvios para aqueles habilitados na arte estão dentro do espírito e do escopo do invento.

5 Todos os reagentes usados na síntese eram produtos comerciais e foram usados sem purificação adicional a menos que indicado de outra forma. Espectros de NMR de ^1H foram obtidos em um espectrômetro Bruker DPX (200 MHz) em CDCl_3 . As mudanças químicas são relatadas como valores δ (partes por milhão) em relação ao TMS interno. As constantes de acoplamento são relatadas em 10 hertz. A multiplicidade é definida por s (singlete), d (doublete), t (triplete), br (ampla), m (multiplete).

EXEMPLO 1

SÍNTESE

(±)-2-hidróxi-3-isobutil-9-(2-hidroxietóxi)-10-metóxi-1,2,3,4,6,7-hexa-
15 hidro-11bH-benzo[a]quinolizina (4a)

À (±)-9-O-Desmetil-diidrotetrabenazina (3) (35 mg, 0,11 mmol), preparada conforme relatado previamente [15] em DMF seco (1,5 ml), adicionou-se Cs_2CO_3 (49 mg, 10,15 mmol) e a mistura agitada por 30 minutos à temperatura ambiente. Uma solução DMF (0,5 ml) de 2-bromo-etanol (17,8 mg, 0,14 mmol) foi
20 adicionada à solução laranja resultante. A mistura foi agitada a 110°C por 18 horas, durante as quais a solução se tornou vermelho-escura. A mistura foi, então, extinta com H_2O (10 ml) e a fase aquosa extraída com EtOAc (3x25 ml). Os extratos orgânicos combinados foram secos em MgSO_4 , evaporados e purificados pela cromatografia de coluna *flash* [$R_f = 0,18$, (MeOH/diclorometano 5:95, v/v)] para
25 produzir 24 mg do álcool resultante (4a) como óleo amarelo em 60% de rendimento;

1H-NMR (CDCl₃) δ 0,90 (d, J = 4,3 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 4,2 Hz, 3H), 1,06 (m, 1H), 1,55-1,83 (m, 5H), 2,0 (t, J = 11,2 Hz, 1H), 2,24-2,67 (m, 4H), 2,97-3,19 (m, 4H), 3,35-3,43 (m, 1H), 3,80 (s, 3H, diastereômero maior), 3,82 (s, 3H, diastereômero menor), 3,89 (t, J = 4,5 Hz, 2H), 4,08 (t, J = 4,6 Hz, 2H), 6,59 (s, 1H, diastereômero menor), 6,63 (1H, diastereômero maior), 6,67 (s, 1H, diastereômero maior), 6,73 (s, 1H, diastereômero menor); HRMS calc. para C₂₀H₃₁NO₄ [M⁺] 349,2253, encontrado 349,2243.

(±)-2-hidróxi-3-isobutil-9-(2-metano-sulfoniloxietóxi)-10-metóxi-1,2,3,4,6,7-hexa-hidro-11bH-benzo[a]quinolizina (5a)

10 A uma solução contendo hidroxiquinolizina (4a) (38 mg, 0,11 mmol) e Et₃N (22,3 mg, 0,22 mmol) em diclorometano seco (1,7 ml), MsCl (12,5 mg, 0,11 mmol) em diclorometano (0,5 ml) foi adicionado *dropwise* [de um modo em gotas] a 0°C e a mistura agitada por 4 horas. A mistura de reação foi, então, extinta com H₂O (10 ml) e a fase aquosa extraída com diclorometano (3x25 ml). Os extratos
15 orgânicos combinados foram secos em MgSO₄, evaporados e purificados pela cromatografia de coluna *flash* [R_f = 0,45, (MeOH/diclorometano 5:95, v/v)] para produzir 26 mg do mesilato resultante (5a) como sólido fofo branco em 56% de rendimento junto com 11,4 mg do material de partida; 1H-NMR (CDCl₃) δ 0,92 (d, J = 5,7 Hz, 3H), 0,94 (d, J = 4,6 Hz, 3H), 1,0 (m, 1H), 1,49-1,80 (m, 5H), 2,01 (t, J =
20 11,2 Hz, 1H), 2,48-2,68 (m, 3H), 3,02-3,1 (m, 4H), 3,13 (s, 3H), 3,32-3,47 (m, 1H), 3,8 (s, 3H), 4,23 (t, J = 4,6 Hz, 2H), 4,57 (t, J = 4,3 Hz, 2H), 6,57 (s, 1H, diastereômeros maior e menor), 6,67 (s, 1H, diastereômero maior), 6,72 (s, 1H, diastereômero menor); HRMS calc. para C₂₁H₃₃NO₆S [M⁺] 427,2029, encontrado 427,2004.

25 (±)-2-hidróxi-3-isobutil-9-(2-fluoroetóxi)-10-metóxi-1,2,3,4,6,7-hexa-

hidro-11bH-benzo[a]quinolizina (6a)

(±)-9-O-Desmetildiidotetrabenzazina (3) (30 mg, 0,1 mmol) foi dissolvida em DMF seco (1,0 ml) em um tubo de microondas sob argônio de 2 ml, Cs₂CO₃ (64 mg, 0,19 mmol) foi adicionado e a mistura agitada por 20 minutos à temperatura ambiente, durante os quais a solução amarela se tornou laranja. NaI (30 mg, 0,19 mmol) e uma solução DMF (0,5 ml) de 1-bromo-2-fluoroetano (25,4 mg, 0,19 mmol) foram, então, adicionados e a mistura aquecida a 200°C em microondas por 10 minutos. A solução marrom foi, então extinta com H₂O (10 ml) e a fase aquosa extraída com EtOAc (3x25 ml). Os extratos orgânicos combinados foram secos em MgSO₄, evaporados e purificados pela cromatografia de coluna *flash* [R_f = 0,25, MeOH/diclorometano 5:95, v/v)] para produzir 17,3 mg do fluoreto (6a) como sólido amarelo em 50% de rendimento; 1H-NMR (CDCl₃) δ 0,90 (d, J = 5,5 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 4,9 Hz, 3H), 1,04 (m, 1H), 1,48-1,82 (m, 5H), 1,99 (t, J = 11,4 Hz, 1H), 2,4-2,7 (m, 3H), 3,0-3,15 (m, 4H), 3,3-3,48 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 4,22 (dt, J = 27,5, 4,3 Hz, 2H), 4,74 (dt, J = 47,3, 4,1 Hz, 2H), 6,53 (s, 1H, diastereômero menor), 6,56 (s, 1H, diastereômero maior), 6,62 (s, 1H, diastereômero maior), 6,68 (s, 1H, diastereômero menor); HRMS calc. para C₂₀H₃₀FNO₃ [M⁺] 351,2210, encontrado 351,2226.

(±)-2-hidróxi-3-isobutil-9-(3-hidróxi-propóxi)-10-metóxi-1,2,3,4,6,7-hexa-hidro-11bH-benzo[a]quinolizina (4b)

Para uma solução amarela de (±)-9-O-Desmetildiidotetrabenzazina (3) (70 mg, 0,22 mmol) em DMF seco (2,5 ml), Cs₂CO₃ (97 mg, 0,3 mmol) foi adicionado e a mistura agitada por 30 minutos à temperatura ambiente. Uma solução DMF (0,5 ml) de 3-bromo-propanol (41,4 mg, 0,3 mmol) foi, então, adicionada à solução laranja resultante. A mistura foi agitada a 110°C por 18 horas, durante as quais a solução se tornou vermelho-escura. A mistura foi extinta com H₂O (10 ml) e com a

fase aquosa extraída com EtOAc (3x25 ml). Os extratos orgânicos combinados foram secos em MgSO₄, evaporados e purificados pela cromatografia de coluna *flash* [R_f = 0,18, MeOH/diclorometano 5:95, v/v] para produzir 59 mg do álcool resultante (4b) como um óleo amarelo em 71% de rendimento; 1H-NMR (CDCl₃) δ 0,90 (d, J = 4,4 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 4,4 Hz, 3H), 1,04 (m, 1H), 1,49 -1,90 (m, 5H), 1,98-2,07 (m, 3), 2,46-2,66 (m, 4H), 3,0-3,19 (m, 4H), 3,30-3,48 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,85 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 4,14 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 6,57 (s, 1H, diastereômero menor), 6,60 (s, 1H, diastereômero maior), 6,66 (s, 1H, diastereômero maior), 6,72 (s, 1H, diastereômero menor); HRMS calc. para C₂₁H₃₃NO₄ [M⁺] 363,2410, encontrado 363,2404.

(±)-2-hidróxi-3-isobutil-9-(3-metano-sulfonilóxi-propóxi)-10-metóxi-

1,2,3,4,6,7-hexa-hidro-11bH-benzo[a]quinolizina (5b)

À hidroxiquinolizina (4b) (50 mg, 0,14 mmol) e Et₃N (27,7 mg, 0,27 mmol) em diclorometano seco (2,5 ml), uma solução de diclorometano (0,5 ml) de MsCl (15,7 mg, 0,14 mmol) foi adicionada *dropwise* a 0°C. Após agitar por 4 horas, a mistura de reação foi extinta com H₂O (10 ml) e a fase aquosa extraída com diclorometano (3x25 ml). Os extratos orgânicos combinados foram secos em MgSO₄, evaporados e purificados pela cromatografia de coluna *flash* [R_f = 0,45, MeOH/diclorometano 5:95, v/v] para produzir 24 mg do mesilato (5b) como um sólido fofo branco em 40% de rendimento junto com 15 mg do material de partida recuperado; 1H-NMR (CDCl₃) δ 0,91 (d, J = 4,1 Hz, 3H), 0,93 (d, J = 4,6 Hz, 3H), 1,06 (m, 1H), 1,54-1,72 (m, 5H), 2,0 (t, J = 11,4 Hz, 1H), 2,2-2,26 (m, 2H), 2,54-2,70 (m, 3H), 2,98 (s, 3H), 2,99-3,09 (m, 4H), 3,30-3,45 (m, 1H), 3,79 (s, 3H, diastereômero menor), 3,80 (s, 3H, diastereômero maior), 4,09 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 4,45 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 6,60 (s, 1H, diastereômeros maior e menor), 6,67 (s, 1H,

diastereômero maior), 6,67 (s, 1H, diastereômero menor); HRMS calc. para $C_{22}H_{35}NO_6S$ [M⁺] 441,2185, encontrado 441,2172.

3-fluoropropil-p-tolueno-sulfonato

A 3-fluoro-propano-1-ol (0,2 mg, 2,56 mmol) em diclorometano (7 ml),
5 DMAP (63 mg, 0,5 mmol) e piridina (0,4 mg, 5,12 mmol) foram adicionados. A mistura
foi resfriada até 0°C e, depois, TsCl (0,73 mg, 3,84 mmol) foi adicionado e a mistura
agitada durante a noite. HCl 1M (10 ml) foi adicionado e as camadas foram separadas.
A fase aquosa foi extraída em diclorometano (3x40 ml). Os extratos orgânicos
combinados foram secos em $MgSO_4$, evaporados e purificados pela cromatografia de
10 coluna *flash* para dar 0,447 mg do tosilato em 70% de rendimento; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ
2,02 (dq, J = 25,8, 5,9 Hz, 2H), 2,45 (s, 3H), 4,16 (t, J = 6,14 Hz, 2H), 4,47 (dt, J =
46,8, 5,6 Hz, 2H), 7,35 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,80 (d, J = 8,2 Hz, 2H).

(±)-2-hidróxi-3-isobutil-9-(3-fluoropropóxi)-10-metóxi-1,2,3,4,6,7-hexa-
hidro-11bH-benzo[a]quinolizina (6b)

15 (±)-9-O-Desmetildiidrotetrabenazina (3) (43 mg, 0,14 mmol) foi
dissolvido em DMF seco (1,0 ml) sob argônio, Cs_2CO_3 (60 mg, 0,18 mmol) foi
adicionado e a mistura agitada por 20 minutos à temperatura ambiente, durante os
quais a solução amarelo se tornou laranja. Uma solução DMF (0,5 ml) de 3-
fluoropropil-p-tolueno-sulfonato (8) (43 mg, 0,18 mmol) foi adicionada e a mistura
20 aquecida a 110°C por 18 horas. A solução vermelho-escura foi, então, extinta com
 H_2O (10 ml) e a fase aquosa extraída com EtOAc (3x25 ml). Os extratos orgânicos
combinados foram secos em $MgSO_4$, evaporados e purificados pela cromatografia
de coluna *flash* [R_f = 0,25, MeOH/diclorometano 5:95, v/v] para produzir 29,8 mg do
fluoreto (6b) como um sólido em 45% de rendimento; 1H -NMR ($CDCl_3$) δ 0,91 (d, J =
25 4,7 Hz, 3H), 0,94 (d, J = 4,5 Hz, 3H), 1,04 (m, 1H), 1,48-1,85 (m, 5H), 2,0 (t, J = 11,4

Hz, 1H), 2,19 (dq, J = 26,2, 5,9 Hz, 2H), 2,37-2,74 (m, 3H), 2,90-3,22 (m, 4H), 3,25-3,40 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 4,11 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 4,64 (dt, J = 47, 5,7 Hz, 2H), 6,58 (s, 1H, diastereômero menor), 6,61 (s, 1H, diastereômero maior), 6,68 (s, 1H, diastereômero maior), 6,73 (s, 1H, diastereômero menor); HRMS calc. para $C_{21}H_{32}FNO_3$ [M⁺] 365,2366, encontrado 365,2350.

EXEMPLO 2

RADIOSSÍNTESE

[¹⁸F]Fluoreto foi produzido por irradiação de ciclotron de [¹⁸O]água e isolado passando a água alvo através de um cartucho Sep-Pak Light QMA. O íon [¹⁸F]fluoreto foi eluído do cartucho QMA com 1 mL de solução de acetonitrila (0,8 mL) e água (0,2 mL) contendo Kryptofix (13 mg) e carbonato de potássio (0,2 mg). A água foi azeotropicamente evaporada desta mistura usando acetonitrila de grau HPLC (3 X 0,5 mL) em um banho de óleo a 110°C sob uma corrente de nitrogênio. Após a seqüência de secagem final, 1 mg de 5a ou 5b dissolvido em 0,5 mL de DMF: ACN (3:2) foram adicionados ao resíduo de ¹⁸F. O conteúdo foi brevemente misturado usando-se nitrogênio e aquecido a 110°C por 5 minutos. Depois, a mistura de reação foi diluída com água (6 mL). A purificação da fase sólida foi realizada usando-se um cartucho Waters (HLB-6cc, part no 186000115, 200 mg) Oasis® previamente enxaguado com uma solução de 5% etanol em água (10 mL). Após a amostra radioativa ter sido aplicada, o cartucho foi enxaguado com água adicional 3 X 6 mL para eliminar o fluoreto não reagido, e o produto radiomarcado foi eluído com acetonitrila (4 mL). Quando a evaporação de 2 mL de acetonitrila foi completada, então 3 mL de água foram adicionados e, depois, foi purificada por HPLC semi-preparatória. O controle de qualidade de [¹⁸F]6a e [¹⁸F]6b apresentou o produto eluindo em 4,9 e 6,5 min, respectivamente e co-eluindo com 6a e 6b de padrão não-

radioativo na HPLC analítica. A área de pico de UV correspondente ao produto foi comparada com uma curva de calibração padrão e foi usada para determinar a atividade específica de [¹⁸F]6a ou [¹⁸F]6b. A atividade específica de [¹⁸F]6a e [¹⁸F]6b foi estimada em torno de 2000 Ci/mmol. A síntese completa requereu cerca de 50-55 minutos; a pureza radioquímica foi >98% e o rendimento radioquímico foi de 40 ± 5 (corrigido quanto ao decaimento).

EXEMPLO 3

PURIFICAÇÃO POR HPLC

Dois sistemas HPLC foram usados para confirmar as purezas dos compostos 4a, 4b, 6a e 6b. Pureza maior que 95% foi obtida para ambos os derivados fluoroetil e fluoropropil, 6a e 6b, assim como para ambos os hidroxiderivados, 4a e 4b.

Sistema A: HPLC Agilent série 1100, coluna: Phenomenex, Luna 5 μ , C-18, 250 x 4,6 mm e o sistema de solvente era 1:2 (acetonitrila: solução de acetato de amônio 50 mM, pH 4,5, ajustado com ácido fosfórico) a uma taxa de fluxo de 1 mL/min com UV a 280 nm. Tempo de retenção: 6a, 4,9 min; 6b, 6,1 min; 4a, 2,6 e 3,0 min; 4b, 2,6 e 3,2 min.

Sistema B: HPLC Ranin; coluna: Hamilton PRP-1, 5 μ , 250 x 4,6 mm e o sistema de solvente era 7:3 (acetonitrila: ácido dimetilglutárico 5 mM, pH 7,0) a uma taxa de fluxo de 0,5 ml/min com UV a 280 nm. Tempo de retenção: 6a, 8,7 min; 6b, 10,2 min; 4a, 6,0 min; 4b, 6,4 min.

Condição de HPLC semipreparatória: HPLC Agilent série 1100, Coluna: Phenomenex, Luna 5 μ , C-18, 250 x 10 mm e o sistema de solvente era 1:2 (acetonitrila: solução de acetato de amônio 50 mM, pH 4,5 ajustado com ácido fosfórico) a uma taxa de fluxo de 3 mL/min. Condição de HPLC analítica: HPLC

Agilent série 1100, Coluna: Phenomenex, Luna 5 u, C-18, 250 x 4,6 mm e o sistema de solvente era 1:2 (acetonitrila: solução de acetato de amônio 50 mM, pH de 4,5 ajustado com ácido fosfórico) a uma taxa de fluxo de 1 mL/min com UV a 240 nm. O tempo de retenção da HPLC de [¹⁸F]6a e [¹⁸F]6b foi de 4,9 min e 6,5 min, respectivamente.

EXEMPLO 4

LIGAÇÃO DE HOMOGENADOS

As regiões basais do prosencéfalo de rato e cérebros de camundongo foram, depois, dissecadas. Os homogenados de tecido foram preparados em HEPES 50 mM, pH 7,5 e sacarose 0,3 M. A ligação específica dos ligantes de ³H ou ¹⁸F foi determinada seguindo os procedimentos descritos (Scherman D, Raisman R, Ploska A, Agid Y., [³H]Dihydrotetrabenazine, a new in vitro monoaminergic probe for human brain, *J. Neurochem.*, 1988;50:1131-36). O volume total de reação para o ensaio foi de 0,2 ml. Em experimentos de competição, os compostos em concentrações de até 10⁻⁵ M foram examinados quanto a suas capacidades de competir com a ligação de [³H](±)TBZ (1,0-1,5 nM). Em experimentos de saturação, concentrações crescentes de ligante marcado (0,01-0,5 nM) em 50 µl de tampão incubado com 100 µl de homogenados (100-250 µg). A incubação foi realizada rotineiramente à temperatura ambiente por 90 min. As amostras foram, depois, filtradas através de filtros de fibra de vidro No. 25 (Schleicher e Schuell, Keene, NH) e a radioatividade da ligação foi determinada para ¹⁸F em um contador gama (Packard 5000) com 70% de eficiência. Filtros contendo ligante ³H foram dissolvidos em 7 ml de Ecolite(+) durante a noite e a radioatividade foi contada no dia seguinte no contador de cintilação (Beckman) com eficiência de contagem de 65%. As determinações de proteínas foram realizadas com o método de Lowry e colaboradores (Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL,

Randall RJ., Protein measurement with Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 1951:193:265-75) usando albumina bovina 0,1% do soro como padrão. A ligação não-específica foi determinada na presença de tetrabenazina 10 μ M. Tanto os experimentos de saturação quanto de competição foram analisados usando o programa de ajuste não-linear de curva pelos mínimos quadrados LIGAND. (Munson PJ, Rodbard D., LIGAND: a versatile computerized approach for characterization of ligand-binding systems, *Anal. Biochem.*, 1980:107:220-39.) Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1

Composto	Ki (nM \pm SEM)
1,TBZ	1,3 \pm 0,1
3,9-desmetil-(\pm)DTBZ	11,8 \pm 1,7
6a	0,76 \pm 0,1
6b	0,58 \pm 0,03
4a	75,8 \pm 3,5
4b	48,5 \pm 8,8

10 Kd de 8,1 nM para [3 H](\pm)TBZ foi usado para o cálculo com base no valor de Ki relatado previamente (Kilbourn M, Sherman P., *In vivo* binding of (+)-[α]-[3 H]dihydrotetrabenazine to the vesicular monoamine transporter of rat brain: bolus vs. equilibrium studies, *Eur. J. Pharmacol.*, 1997:331:161-68.)

EXEMPLO 5

15 ESTUDOS AUTO-RADIOGRÁFICOS

Para estudos auto-radiográficos *in vivo*, camundongos foram anestesiados com isoflurano e sacrificados por deslocamento cervical; os cérebros foram removidos imediatamente e congelados com gelo seco em pó. Cortes

coronais de 20 μm de espessura foram realizados em um micrótomo criostato, montados descongelados no supercongelador Fisher mais lamínulas, e armazenadas a -20°C até o uso. Antes de cada ensaio de ligação, os cortes foram descongelados, secos à temperatura ambiente, e pré-incubados por 20 min em tampão de incubação resfriado com gelo (Hepes 10 mM, pH 7,5). A incubação foi depois realizada em jarras de Coplin em tampão (Hepes 10 mM, pH 7,5, sacarose 0,3 M e albumina do soro bovina 0,1%) contendo 4,6 nM [^3H](\pm)TBZ ou 1,28 nM [^{18}F]6b por 90 min: Após a incubação, os cortes foram enxaguados no tampão Hepes resfriado com gelo duas vezes por 30 minutos cada vez. Os cortes de tecido foram, então, mergulhados em água destilada resfriada com gelo 30 seg para remover os sais tampão antes da secagem em uma corrente de ar frio. Cortes adjacentes foram marcados similarmente, mas na presença de tetrabenazina 10 μM para definir a ligação não-específica. Os cortes de tecido seco foram, então, expostos ao filme Kodak Biomax MR para o rastreador ^{18}F (durante a noite) em um cassette auto-radiográfico com padrões de ^{125}I de 20 μm de espessura (Amersham, Arlington Heights, IL). A exposição ao ligante de ^3H foi feita usando Amersham Hyperfilm por 6 semanas.

EXEMPLO 6

DISTRIBUIÇÃO NOS ÓRGÃOS EM CAMUNDONGOS NORMAIS

Enquanto sob anestesia de isoflurano, 0,15 mL de uma solução de albumina do soro bovina 0,1% contendo rastreadores [^{18}F] (10-20 μCi) foram injetados diretamente na veia caudal de camundongos ICR (22-25 g, machos). Os camundongos ($n = 3$ para cada instante de tempo) foram sacrificados através do deslocamento cervical nos instantes de tempo pós-injeção indicados. Os órgãos de interesse foram removidos e pesados, e a radioatividade foi contada com um

contador gama automático. A porcentagem de dose por órgão foi calculada através de uma comparação das contagens de tecido com alíquotas adequadamente diluídas do material injetado. As atividades totais do sangue foram calculadas sob a suposição de que elas eram 7% do peso corporal total. A porcentagem de dose/g das amostras foi calculada comparando as contagens de amostra com a contagem da dose inicial diluída. Regiões diferentes correspondentes ao estriado (ST), hipocampo (HP), cerebelo (CB) e córtex (CX) foram dissecados fora do cérebro.

Estudos de bloqueio foram realizados através de co-injeção (iv) do rastreador ^{18}F com (\pm)DTBZ (3 mg/kg) ou racloprida (1,2 mg/kg) nos animais. Trinta minutos após a injeção, os animais foram sacrificados e as regiões do cérebro incluindo ST, HP, CB e CX foram dissecadas e a % dose/g foi calculada. As razões de alvo (ST) vs não-alvo (CB) foram comparadas entre grupos de controle e bloqueados.

Tabela 2. Biodistribuição de [^{18}F]6a e [^{18}F]6b nos camundongos normais (injeção iv)

15 **Distribuição nos órgãos de [^{18}F]6a (%dose/g, méd. de 3 camundongos \pm SD)**

Órgão	2 min	15 min	30 min	1 h	2 h
Sangue	\pm 2,68 0,37	2,0 \pm 5 0,17	\pm 2,27 0,11	\pm 1,75 0,16	\pm 1,38 0,20
Coração	\pm 4,49 0,85	1,9 \pm 9 0,19	\pm 2,14 0,11	\pm 1,53 0,15	\pm 1,22 0,13
Músculo e Pulmão	\pm 0,66 0,10	1,0 \pm 1 0,02	\pm 1,52 0,07	\pm 1,05 0,03	\pm 0,73 0,13

	±	2,9 ±	±	±	±
	5,83 1,25	6 0,30	2,83 0,25	1,74 0,04	1,29 0,19
Rim	±	5,5 ±	±	±	±
	10,7 3,06	1 1,55	4,18 0,33	2,27 0,39	1,40 0,30
Baço	±	2,7 ±	±	±	±
	8,11 0,90	7 0,33	2,62 0,20	1,56 0,07	1,06 0,10
	±	10, ±	±	±	±
	18,2 4,14	5 1,48	8,85 1,34	3,88 0,40	3,36 0,32
Pele	±	1,1 ±	±	±	±
	0,91 0,10	9 0,03	1,72 0,11	1,23 0,06	0,85 0,10
Cérebro	±	2,1 ±	±	±	±
	4,66 0,78	0 0,25	2,09 0,09	1,51 0,20	1,13 0,10
Osso	±	2,4 ±	±	±	±
	2,07 0,05	0 0,23	3,88 0,47	5,84 1,42	8,89 0,75

Distribuição regional no cérebro

Região	2 min	15 min	30 min	1 h	2 h
Cerebelo	4,4 ±	1,9 ±	1,9 ±	1,8 ±	1,0
(CB)	2 0,74	7 0,22	7 0,14	5 0,20	9 ± 0,03
Estriado	5,4 ±	3,7 ±	3,3 ±	3,1 ±	1,3
	6 0,80	6 0,51	7 0,06	7 0,79	9 ± 0,03
Hipocampo	4,8 ±	2,3 ±	2,0 ±	1,9 ±	1,2
	4 0,72	3 0,30	2 0,10	5 0,49	2 ± 0,18
Córtex	4,7 ±	1,8 ±	1,9 ±	2,0 ±	0,8
	0 0,66	2 0,19	6 0,14	7 0,42	8 ± 0,21

Razão (vs CB)					
Estriado	1,2	1,9	1,7	1,7	1,2
	3	1	1	1	8
Hipocampo	1,0	1,1	1,0	1,0	1,1
	9	8	3	5	2
Córtex	1,0	0,9	1,0	1,1	0,8
	6	2	0	2	1

Distribuição no órgão de [¹⁸F]6b (%dose/g, méd. de 3 camundongos ± SD)

Órgão	2 min	15 min	30 min	1 h	2 h
Sangue	2,6	1,7 ±	±	±	±
	0 ± 0,31	5 0,07	1,92 0,22	1,04 0,07	0,56 0,07
Coração	6,7	2,4 ±	±	±	±
	9 ± 1,49	3 0,16	2,67 0,26	1,74 0,14	1,02 0,09
Músculo	1,1	1,1 ±	±	±	±
	7 ± 0,16	6 0,35	1,53 0,16	1,05 0,41	0,56 0,11
Pulmão	7,9	3,5 ±	±	±	±
	7 ± 1,46	8 0,33	3,46 0,36	2,15 0,12	1,40 0,09
Rim	16,	5,9 ±	±	±	±
	1 ± 3,13	0 0,25	6,80 0,65	3,63 0,30	2,40 0,51
Baço	9,1	3,3 ±	±	±	±
	9 ± 0,26	8 0,49	3,40 0,43	2,05 0,05	1,15 0,41
Fígado	24,	15, ±	±	±	±
	1 ± 4,93	8 1,65	17,3 2,00	10,4 0,95	8,53 1,73

Pele	1,1	1,1 ±	±	±	±
	3 ± 0,25	5 0,16	2,22 0,20	1,38 0,03	1,24 0,53
Cérebro	7,0	2,0 ±	±	±	±
o	8 ± 2,17	1 0,10	1,76 0,27	0,91 0,25	0,53 0,05
Osso	2,7	3,6 ±	±	±	±
	0 ± 0,44	5 0,49	9,62 3,42	16,6 1,60	17,8 1,83

Distribuição regional no cérebro

Região	2 min	15 min	30 min	1 h	2 h
Cerebelo	6,2 ±	1,6 ±	1,3 ±	0,7 ±	0,4 ±
(CB)	6 2,89	3 0,05	0 0,19	7 0,06	5 0,01
Estriado	8,4 ±	4,1 ±	3,8 ±	2,0 ±	0,8 ±
	9 1,12	2 0,52	4 1,05	8 0,27	7 0,24
Hipocampo	7,0 ±	2,1 ±	2,5 ±	1,0 ±	0,5 ±
	7 1,66	4 0,16	5 1,20	4 0,16	0 0,06
Córtex	8,2 ±	1,6 ±	1,4 ±	0,8 ±	0,4 ±
	5 2,51	2 0,05	5 0,38	5 0,12	1 0,06

Razão (vs CB)					
Estriado	1,3	2,5	2,9	2,7	1,9
	6	3	5	1	4
Hipocampo	1,1	1,3	1,9	1,3	1,1
	3	1	7	5	2
Córtex	1,3	1,0	1,1	1,1	0,9
	2	0	1	0	1

Tabela 3. Biodistribuição nos camundongos normais em 30 min após uma injeção iv de [^{18}F]6b em salina com 3 mg/kg de (+)DTBZ ou 1,2 mg/kg de racloprida

Distribuição nos órgãos (%dose/g, méd. de 3 camundongos \pm SD)

Órgão	Controle	(+)-DTBZ	racloprida
Sangue			1,6
	1,41 \pm 0,20	1,67 \pm 0,04	0 \pm 0,08
Coração			2,2
	2,05 \pm 0,13	2,36 \pm 0,07	9 \pm 0,06
Músculo			1,1
	1,06 \pm 0,06	1,28 \pm 0,07	5 \pm 0,03
Pulmão			3,3
	2,78 \pm 0,20	3,27 \pm 0,17	4 \pm 0,24
Rim			6,0
	5,90 \pm 0,42	4,94 \pm 3,38	1 \pm 0,50
Baço			3,2
	2,90 \pm 0,14	2,67 \pm 0,17	5 \pm 0,20
Fígado			14,
	13,9 \pm 1,15	14,0 \pm 0,56	6 \pm 0,44
Pele			1,5
	1,48 \pm 0,09	1,67 \pm 0,02	8 \pm 0,09
Cérebro			1,6
	1,40 \pm 0,12	0,86 \pm 0,04	4 \pm 0,16
Osso			6,0
	6,06 \pm 1,11	6,54 \pm 0,84	3 \pm 1,07

Distribuição regional no cérebro

Região	controle	(+)-DTBZ	racloprida
Cerebelo(CB)	1,05 ± 0,09	0,89 ± 0,16	1,19 ± 0,11
Estriado	3,57 ± 0,30	0,87 ± 0,18	4,67 ± 1,29
Hipocampo	1,43 ± 0,12	0,83 ± 0,27	1,89 ± 0,85
Córtex	1,21 ± 0,15	0,91 ± 0,13	1,41 ± 0,15
Hipotálamo	2,67 ± 0,30	0,92 ± 0,23	2,52 ± 0,77

Razão (vs CB)			
Estriado	3,40	0,98	3,93
Hipocampo	1,36	0,94	1,59
Córtex	1,15	1,03	1,18
Hipotálamo	2,54	1,04	2,12

EXEMPLO 7

DISTRIBUIÇÃO NOS ÓRGÃOS DE [¹⁸F]FP-(±)-6b EM CAMUNDONGOS NORMAIS

Após anestésiar os camundongos ICR (22-25 g machos) com isoflurano, 0,15 ml de solução de albumina do soro bovina 0,1% contendo [¹⁸F]FP-

5 (+)-6b (10-20 µCi) foi injetado diretamente na veia caudal. Os camundongos (n = 3 para cada instante de tempo) foram sacrificados através de deslocamento cervical (sob anestesia com isoflurano) em instantes de tempo pós-injeção indicados. Os órgãos de interesse foram removidos e pesados, e a radioatividade foi contada com um contador automático. A dose percentual por órgão foi calculada através de uma

10 comparação de contagens de tecido para alíquotas diluídas adequadamente do material injetado. A atividade total do sangue foi calculada sob a suposição de que ela era 7% do peso corporal total. A %dose/g das amostras foi calculada comparando as contagens de amostra com a contagem da dose inicial diluída.

Regiões diferentes correspondentes ao estriado (ST), hipocampo (HP), cerebelo (CB) e córtex (CX) foram dissecadas do cérebro e contadas para obter a distribuição regional do rastreador.

Quatro camundongos lesionados foram injetados com uma mistura de 20 μCi de $[^{18}\text{F}]\text{FP-(+)-DTBZ}$ e $[^{125}\text{I}]\text{IPT(N-(3'-iodopropeno-2'-il)-2-beta-carbometóxi-3-beta-(4-clorofenil)tropano}$, um ligante transportador de dopamina). Trinta minutos após injeção, os camundongos foram sacrificados e os cérebros removidos. Diferentes regiões correspondentes ao estriado (ST), hipocampo (HP), cerebelo (CB), e córtex (CX) foram dissecados. Em particular, a região lesionada estava separada da área não-lesionada dos tecidos estriais. As amostras foram contadas em um contador gama com dois diferentes ajustes de janela para F-18 e I-125, respectivamente, para obter a distribuição de cada rastreador.

Tabela 4. Biodistribuição de $[^{18}\text{F}]\text{FP-(}\pm\text{)-6b}$ em camundongos normais (% dose/g, méd. de 3 camundongos \pm SD)

15 Distribuição nos órgãos

Órgão	2 min		30 min		60 min		2 h		4 h	
Sangue	\pm		1,7	\pm	\pm		\pm		\pm	
	2,12	0,17	3	0,15	0,97	0,04	0,57	0,09	0,06	0,02
Coração	\pm		2,4	\pm	\pm		\pm		\pm	
	5,47	1,19	3	0,22	1,67	0,02	0,91	0,14	0,12	0,01
Músculo	\pm		1,1	\pm	\pm		\pm		\pm	
	0,78	0,11	0	0,12	0,73	0,04	0,53	0,05	0,06	0,01
Pulmão	\pm		3,1	\pm	\pm		\pm		\pm	
	9,04	4,71	7	0,33	2,00	0,05	1,26	0,13	0,19	0,01

Rim	±	5,8 ±	±	±	±	±
	10,7 2,02	1 1,15	3,48 0,34	2,28 0,34	0,31 0,02	
Baço	±	3,6 ±	±	±	±	
	7,38 1,62	9 0,25	2,11 0,05	1,40 0,35	0,17 0,02	
Fígado	±	22, ±	±	±	±	
	24,6 1,37	2 1,98	14,5 0,91	9,81 0,94	1,58 0,08	
Pele	±	1,4 ±	±	±	±	
	1,05 0,12	2 0,03	1,06 0,04	0,67 0,06	0,09 0,01	
Cérebro	±	2,0 ±	±	±	±	
	4,82 0,86	5 0,37	1,10 0,32	0,68 0,11	0,16 0,03	
Osso	±	4,8 ±	±	±	±	
	1,95 0,30	8 1,43	9,22 0,48	12,7 1,84	3,49 0,35	

Distribuição regional no cérebro (%dose/g)

Região	2 min	30 min	60 min	2 h	4 h
Cerebelo	4,6 ±	1,4 ±	0,8 ±	0,5 ±	0,4
(CB)	7 0,74	1 0,23	9 0,01	4 0,09	1 ± 0,02
Estriado	7,2 ±	6,3 ±	4,2 ±	1,7 ±	0,4
	8 0,80	4 1,01	4 0,78	6 0,33	6 ± 0,13
Hipocampo	4,5 ±	2,2 ±	1,1 ±	0,5 ±	0,4
	4 0,72	3 0,59	8 0,12	8 0,15	1 ± 0,01
Córtex	4,5 ±	1,8 ±	0,8 ±	0,5 ±	0,3
	4 0,66	8 0,63	9 0,11	1 0,02	6 ± 0,02
Restante	4,7 ±	2,0 ±	1,3 ±	0,6 ±	0,4
	1 0,74	4 0,28	0 0,08	2 0,10	2 ± 0,05

Hipotálamo	6,4 ±	4,9 ±	2,4 ±	1,0 ±	0,4
	1 1,11	5 0,84	2 0,52	2 0,11	7 ± 0,01

Razão (vs CB)					
Estriado	1,5	4,5	4,7	3,2	1,1
	6	1	4	8	1
Hipocampo	0,9	1,5	1,3	1,0	0,9
	7	9	2	9	9
Córtex	0,9	1,3	1,0	0,9	0,8
	7	4	0	6	7
Restante	1,0	1,4	1,4	1,1	1,0
	1	5	5	5	2
Hipotálamo	1,3	3,5	2,7	1,9	1,1
	7	2	1	0	5

EXEMPLO 8

DISTRIBUIÇÃO NOS ÓRGÃOS DE [¹⁸F](+)-6b EM RATOS NORMAIS

A capacidade do (+)-6b se dirigir ao pâncreas foi mostrada em ratos normais. Usando os métodos descritos acima sob o Exemplo 6, a biodistribuição de (+)-6b após injeção IV em doze ratos normais foi medida. Os resultados são mostrados na Tabela 5. Quanto aos órgãos estudados, o pâncreas tinha a mais alta %dose/grama dentro de 30 minutos após a injeção. Também são apresentados dados indicando a distribuição no estriado, que é outra área rica em receptores VMAT-2.

10 Tabela 5 Biodistribuição de [¹⁸F]FP-(±)-6b em ratos normais (%dose/g)

	2 min	30 min	60 min	120 min
Sangue	0,26±0,03	0,23±0,06	0,18±0,02	0,12±0,03
Coração	0,71±0,07	0,41±0,03	0,30±0,10	0,22±0,01
Músculo	0,14±0,03	0,17±0,02	0,13±0,01	0,10±0,01
Pulmão	0,94±0,04	0,69±0,03	0,54±0,14	0,35±0,03
Rim	2,10±0,17	1,06±0,06	0,84±0,09	0,55±0,06
Pâncreas	2,51±0,22	5,50±0,97	4,98±0,24	2,76±0,61
Baço	1,46±0,15	1,03±0,18	0,83±0,18	0,48±0,04
Fígado	3,53±0,56	2,82±0,24	2,47±0,30	1,47±0,13
Pele	0,23±0,05	0,28±0,01	0,23±0,04	0,16±0,02
Cérebro	0,71±0,05	0,62±0,08	0,42±0,04	0,35±0,02
Cerebelo	0,63±0,03	0,40±0,04	0,28±0,04	0,20±0,01
Estriado	1,52±0,20	2,25±0,48	1,85±0,26	1,42±0,54
Hipocampo	0,68±0,07	0,61±0,12	0,36±0,08	0,23±0,03
Córtex	0,65±0,02	0,44±0,06	0,27±0,07	0,20±0,06

EXEMPLO 9

ESTUDOS DE BLOQUEADORES PARA ALVO PANCREÁTICO ESPECÍFICO

Estudos de competição foram realizados para demonstrar a especificidade da imagem vista no pâncreas. Ratos foram pré-tratados com DBTZ não-marcado (3,8 mg/kg) cinco minutos antes da injeção com (+)-6b. O experimento de biodistribuição foi realizado conforme descrito no Exemplo 6. Os níveis de (+)-6b eram significativamente inferiores nos órgãos alvos como resultado dele ser bloqueado pela presença de DBTZ não-radiomarcado.

Tabela 6. Bloqueio do Sinal Pancreático de [¹⁸F]-(+)-6b através de DTBZ (%dose/g em 30 min, média ± SD [Desvio Padrão])

	30 min Controle	30 min Bloqueio
Sangue	0,20±0,01	0,32±0,04
Pâncreas	4,39±0,64	3,10±0,30 (30% Bloqueio)

Distribuição Regional no Cérebro (% dose/grama ± SD)

	30 min Controle	30 min Bloqueio
Cerebelo	0,36±0,00	0,25±0,03
Estriado	1,94±0,03	0,27±0,02 (> 90% Bloqueio)
Hipocampo	0,54±0,03	0,25±0,03
Córtex	0,36±0,00	0,26±0,05
Hipotálomo	1,20±0,07	0,25±0,04

EXEMPLO 10

EXPERIMENTO COM ISÓTOPOS DUPLOS EM CAMUNDONGOS LESIONADOS

As razões de alvo (ST) vs não-alvo (CB) foram comparadas entre os grupos bloqueados.

- 5 Para medir o grau da lesão, um experimento de isótopo duplo comparando as reabsorções estriatais nos locais lesionados vs. locais não-lesionados usando [¹⁸F]FP-DTBZ foi realizado. Um marcador [¹²⁵I]IPT (seletivo para transportadores de dopamina) foi injetado simultaneamente. Os camundongos apresentaram uma variação de dano neuronal, de lesão leve até lesão severa como evidenciado pela
- 10 ligação reduzida de ambos os rádio-rastreadores no lado lesionado. Absorções inferiores nos locais lesionados conforme medido pelo [¹⁸F]FP-DTBZ (locais VMAT2) muito bem correlacionadas com os dados obtidos com [¹²⁵I]IPT (locais DAT)(r = 0,95). Os resultados estão apresentados abaixo na Tabela 7.

Tabela 7. Experimento de Isótopo Duplo com [¹⁸F]FP-6b e [¹²⁵I]IPT em

Camundongos Lesionados

Distribuição regional no cérebro (%dose/g) e [razão vs. CB]

medida aos 30 min pós-injeção

¹⁸ F]FP- DTBZ	camundongo 1	camundong o 2	camundongo 3	camundongo 4
Cerebelo (CB)	1,5 8 [1,00]	1,6 2 [1,00]	1,2 6 [1,00]	1,7 6 [1,00]
Estriado L	3,3 6 [2,13]	4,1 2 [2,54]	4,1 7 [3,30]	8,0 3 [4,57]
Estrato N	8,4 6 [5,37]	6,2 9 [3,87]	7,2 8 [5,76]	8,9 0 [5,07]
Hipocampo	2,9 5 [1,87]	3,0 0 [1,85]	2,2 4 [1,78]	3,0 0 [1,71]
Córtex	1,5 3 [0,97]	1,5 1 [0,93]	1,3 1 [1,04]	1,9 4 [1,10]
Restante	2,3 0 [1,46]	2,2 4 [1,38]	2,0 6 [1,63]	2,4 5 [1,39]
Hipotálomo	5,1 9 [3,29]	5,0 4 [3,10]	4,0 1 [3,18]	5,6 8 [3,23]
*% StrL / StrN	39, 7	65, 6	57, 3	90, 1
¹²⁵ I]IPT	camundongo 1	camundong o 2	camundongo 3	camundongo 4

Cerebelo	0,9	0,7	0,8	0,7
(CB)	6 [1,00]	7 [1,00]	1 [1,00]	6 [1,00]
Estriado L	3,0	3,5	4,7	6,8
	0 [3,14]	3 [4,55]	5 [5,90]	9 [9,07]
Estrato N	9,2	6,3	9,0	7,7
	1 [9,63]	3 [8,17]	9 [11,3]	7 [10,2]
Hipocampo	0,8	0,7	0,8	0,6
	7 [0,91]	0 [0,90]	1 [1,00]	2 [0,81]
Córtex	0,6	0,6	0,6	0,8
	9 [0,72]	2 [0,80]	6 [0,81]	7 [1,15]
Restante	1,3	1,1	1,5	1,1
	4 [1,40]	6 [1,49]	7 [1,95]	6 [1,53]
Hipotálamo	1,2	1,2	1,4	0,9
	8 [1,34]	2 [1,58]	2 [1,76]	9 [1,31]
*% StrL /	32,	55,	52,	88,
StrN	6	7	3	7

EXEMPLO 11

COEFICIENTE DE PARTIÇÃO

- Coeficientes de partição foram medidos misturando o rastreador [18F] com 3 g cada de 1-octanol e tampão (fosfato 0,1 M, pH 7,4) em um tubo de ensaio. O tubo de ensaio foi agitado no equipamento Vortex por 3 minutos à temperatura ambiente, seguido de centrifugação por 5 min. Duas amostras pesadas (0,5 g cada) de 1-octanol e camadas de tampão foram contadas em um contador de poços. O coeficiente de partição foi determinado calculando a razão de cpm/g de 1-octanol

com aquela do tampão. Amostras da camada de 1-octanol foram reparticionadas até partições consistentes serem obtidas. Os valores são a média \pm SEM de três experimentos independentes, cada um em duplicata.

EXEMPLO 12

LIGAÇÃO DE HOMOGENADO DE (+)-6b

Os tecidos basais do prosencéfalo contendo a região estriatal foram dissecados e removidos dos cérebros congelados de rato. Os homogenados de tecido foram preparados em HEPES 50 mM, pH 7,5 e sacarose 0,32 M. A ligação específica de [3 H] \pm TBZ foi determinada em seguida ao procedimento Scherman D, *et al.*, [3 H]Dihydrotrabenzazine, a new in vitro monoaminergic probe for human brain, *J. Neurochem.* 1988;50:1131-36). O volume total de reação para o ensaio foi de 0,2 mL. Em experimentos de competição, os compostos nas concentrações até 10^{-5} M foram examinados quanto a suas capacidades de competir pela ligação de [3 H] \pm TBZ (1,0 – 1,5 nM). Incubações foram realizadas rotineiramente à temperatura ambiente por 90 min. As amostras foram filtradas através de filtros de fibra de vidro No.25. Os filtros contendo ligante de 3 H ligado estavam dissolvidos em 7 ml de Ecolite(+) durante a noite, e a radiatividade foi contada no dia seguinte em um contador de cintilação com eficiência de contagem de 65%. A ligação não-específica foi determinada na presença de (\pm)-TBZ 10 μ M. Os resultados dos experimentos de inibição estavam sujeitos à análise de regressão não-linear usando análise de dados de ligação de equilíbrio através da qual os valores de K_i foram calculados.

Tabela 8. Constantes de inibição (K_i , média \pm SEM) de FP-(\pm)-DTBZ, FP-(+)- DTBZ e FP-(-)-DTBZ no [3 H](\pm)-TBZ ligando ao VMAT2 nos homogenados estriatais de rato.

Composto	K_i (nM)
FP-(\pm)-DTBZ	0,19 \pm 0,04

FP-(+)-DTBZ	0,10 ± 0,01
FP-(-)-DTBZ	>3000
(±)-TBZ	1,3 ± 0,1

O valor de K_d de 8,2 nM para [^3H](±)-TBZ foi usado para o cálculo baseado no valor K_i relatado (Kilbourn, M, Sherman P, In vivo binding of (+)-[α]- ^3H]dihydrotetrabenazine to the vesicular monoamine transporter of rat brain: bolus vs. equilibrium studies, *Eur. J. Pharmacol.*, 1997;331:161-68). Os resultados são

5 médias \pm SEM de três medidas independentes feitas em duplicata.

EXEMPLO 13

ESTUDOS AUTO-RADIOGRÁFICOS *EX VIVO*

Camundongos ICR normais, bem como lesionados, foram injetados com 200-400 μCi [^{18}F]FP-(±)-DTBZ e sacrificados 30 minutos pós-injeção. Os

10 cérebros foram, então, removidos imediatamente e congelados com gelo seco em pó. Cortes coronais de 20 μm de espessura foram cortados em um micrótomo criostat montados por descongelamento em lâminas de Fisher Superfrost Plus e secas em temperatura ambiente. Os cortes de tecido seco foram, então, expostos ao filme Kodak Biomax MR para rastreador ^{18}F (durante a noite) em um cassette auto-

15 radiográfico junto com padrões ^{125}I de 20 μm de espessura. Esses estudos estão representados nas figures 2 e 3.

EXEMPLO 14

ESTABILIDADE METABÓLICA NO CÉREBRO DO CAMUNDONGO

Dois camundongos foram injetados com 200 μCi [^{18}F]FP-(+)-DTBZ e

20 sacrificados 30 minutos após a injeção. Os cérebros foram removidos e as regiões estriatais foram dissecadas. Os homogenizados estriatais (preparados em PBS, 10% p/v) foram extraídos com 0,5 mL de acetato de etila na presença de uma quantidade

pequena do transportador (10 µg de [¹⁸F]FP-(±)-DTBZ). A extração foi repetida três vezes e as camadas de acetato de etila e as camadas de tampão foram contadas separadamente para determinar a porcentagem extraída. Após condensar as camadas de etil acetato, as amostras foram analisadas na TLC (placa Sílica 254F
5 com o desenvolvimento de solvente de clorofórmio/etanol/con.amônio = 8/2/gota) para identificação de metabólito. Um controle da amostra ([¹⁸F]FP-(±)-DTBZ misturado com homogenados estriatais normais *in situ*) foi realizado em paralelo para comparação. Os dados indicaram menos que 5% de degradação.

EXEMPLO 15

10 AFINIDADE DE LIGAÇÃO DE (+)-6b NÃO-MARCADO COM VMAT-2

Usando homogenados de tecido estriatal de rato, (+)-6b não-marcado em concentrações até 10⁻⁵ M foram colocados para competir contra [³H](±)-TBZ (1,0-1,5 nM), um conhecido ligante para VMAT-2. As incubações foram realizadas à temperatura ambiente por 90 min. As amostras foram, então, filtradas através de
15 filtros de fibra de vidro (No. 25) e os filtros contendo ligante de ³H ligado foram dissolvidos em 7 ml de Ecolite(+) durante a noite. A radioatividade foi contada em um contador cintilante (Beckman) com eficiência de contagem de 65%. A ligação não-específica foi determinada na presença de (±)-TBZ 10 µM. Os resultados dos experimentos de inibição foram sujeitos à análise de regressão não-linear usando
20 análise de dados de ligação de equilíbrio pelos quais os valores de K_i foram calculados. Baseados no valor K_d publicadso de 8,1 nm (Goswami, 2006) para [³H](±)-TBZ, constatou-se que a afinidade de ligação de (+)-6b era 0,10 nM.

EXEMPLO 16

ESTIMATIVAS DA DOSIMETRIA DE RADIAÇÃO

25 A partir dos dados de biodistribuição na Tabela 4 do Exemplo 7,

estimativas da dosimetria de radiação em humanos foram calculadas. Na extrapolação baseada na massa, a concentração em órgãos de animais é convertida em uma concentração em órgãos humanos multiplicando a concentração animal por uma razão do peso corporal total de animais e humanos (Kirschner, *et al.*, 1975).

5 Então, o percentual de órgãos humanos é derivado usando massas de órgão obtidas de um modelo padrão do corpo humano para machos adultos (Cristy e Eckerman, 1987). Os dados foram ajustados usando o software SAAM II (Foster e Barrett, 1999). Integrais de tempo de atividade foram calculadas e convertidas em tempos de residência (Loevinger, *et al.*, 1988); os tempos de residência de órgão foram
 10 inseridos no software OLIND/EXM (STabin, *et al.*, 2005) usando o modelo de macho adulto. Nenhuma excreção da atividade foi assumida; qualquer atividade não atribuída foi considerada estando uniformemente distribuída pelo restante do corpo ou removida somente através da decomposição física. Com base nesta metodologia, as estimativas da dose de radiação humana para [¹⁸F]-(+)-6b indicam
 15 que a maioria dos órgãos recebem cerca de 0,04-0,06 rem/mCi, com fígado e superfície de osso recebendo uma dose levemente mais alta, ao redor de 0,11 rem/mCi. A dose eficaz estimada (0,047 rem/mCi) também compara favoravelmente as doses de radiação recebidas com outras radiofarmacêuticas. As estimativas da dose de radiação são apresentadas na Tabela 9 abaixo.

20 Tabela 9 Estimativas da Dose de Radiação Humana para [¹⁸F]-(+)-6b

<u>Órgão Alvo</u>	<u>Dose Estimada</u>	
	<u>mSv/MBq</u>	<u>rem/mCi</u>
Adrenais	1,38E-02	5,09E-02
Cérebro	3,01E-03	1,11E-02
Seios	9,14E-03	3,38E-02

Parede da Vesícula Biliar	1,57E-02	5,80E-02
Parede de LLI	1,31E-02	4,84E-02
Intestino Delgado	1,36E-02	5,02E-02
Parede do Estômago	1,27E-02	4,70E-02
Parede de ULI	1,35E-02	4,99E-02
Parede do Coração	9,78E-03	3,62E-02
Rins	1,24E-02	4,57E-02
Fígado	2,72E-02	1,01E-01
Pulmões	9,28E-03	3,43E-02
Músculo	1,10E-02	4,05E-02
Ovários	1,35E-02	5,01E-02
Pâncreas	1,41E-02	5,22E-02
Medula Vermelha	1,48E-02	5,48E-02
Células Osteogênicas	3,11E02	1,15E-01
Pele	8,59E-03	3,18E-02
Baço	9,73E-03	3,60E-02
Testículos	1,07E-02	3,98E-02
Timo	1,12E-02	4,16E-02
Tiróide	1,12E-02	4,14E-02
Parede da Bexiga Urinária	1,29E-02	4,76E-02
Útero	1,36E-02	5,04E-02
Corpo Total	1,19E	4,42E-02
Equivalente de Dose Eficaz	1,40E-02	5,17E-02
Dose Eficaz (mSv/MBq)	1,27E-02	4,69E-02

Tendo agora descrito totalmente este invento, será entendido para

àqueles com habilidade comum na arte, que o mesmo pode ser realizado dentro de uma faixa ampla, e equivalente de condições, formulações, e outros parâmetros sem afetar o escopo do invento ou qualquer materialização disso. Todas as patentes, aplicações de patente e publicações aqui citadas estão completamente incorporadas

5 pela referencia aqui contida em sua totalidade.

REIVINDICAÇÕES

1. Estrutura deformável não-pneumática, caracterizada pelo fato de que compreende uma banda anular externa tendo uma rigidez predeterminada, um conjunto de elementos de raio tendo uma extremidade externa e uma extremidade interna, dita extremidade externa é conectada com a banda externa, dito elemento de raio estendendo-se para dentro e dita extremidade interna é conectada com um cubo interno, o cubo sendo configurado para fixar a estrutura a um eixo de veículo ou outro aparelho capaz de rotação em torno de um eixo geométrico; cada de ditos elementos de raio tem um comprimento curvilíneo maior que o comprimento de um segmento de linha reta estendendo-se de um ponto de conexão de dita extremidade externa de dito elemento de raio com a banda anular externa para um ponto de conexão de dita extremidade interna de dito elemento de raio para o cubo interno, e em que dita extremidade externa de dito elemento de raio é tangente ao dito segmento de linha reta e dita extremidade interna de dito elemento de raio é tangente ao dito segmento de linha reta.

2. Estrutura deformável de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que uma seção transversal de dito elemento de raio compreende pelo menos dois segmentos côncavos e pelo menos um segmento convexo.

3. Estrutura deformável de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que ditos segmentos côncavos e dito segmento convexo são mutuamente tangentes em seus pontos de interseção.

4. Estrutura deformável de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que ditos segmentos côncavos e dito segmento convexo são, cada um, formados de um segmento de arco circular tendo um raio de curvatura.

5. Estrutura deformável de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que dito raio de curvatura de cada um de ditos

segmentos convexos e côncavos são iguais uns aos outros.

5 6. Estrutura deformável de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que uma diferença no comprimento curvilíneo de dito elemento de raio e no comprimento de dito segmento de linha reta define um comprimento em excesso de raio, e em que dito comprimento em excesso pode ser variado para obter um nível predeterminado da carga vertical contra rigidez à flexão de dita estrutura deformável.

10 7. Estrutura deformável de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que dito comprimento em excesso é maior ou igual a em torno de 0,5 % e menor que ou igual a em torno de 15%.

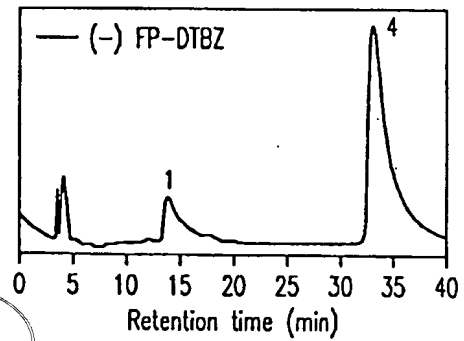
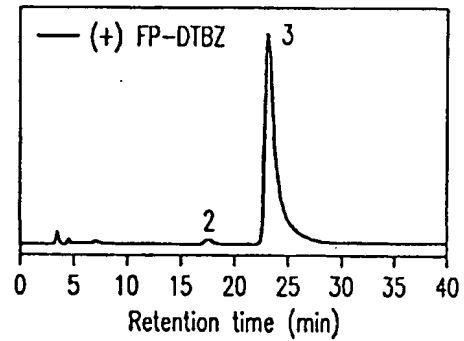
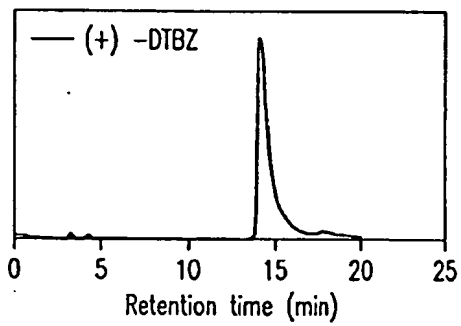
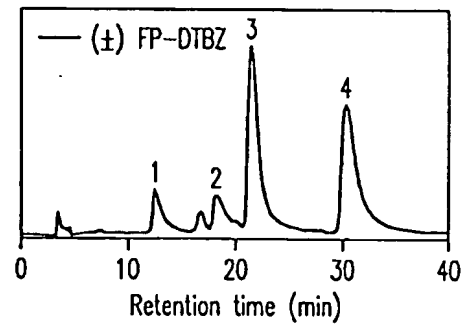
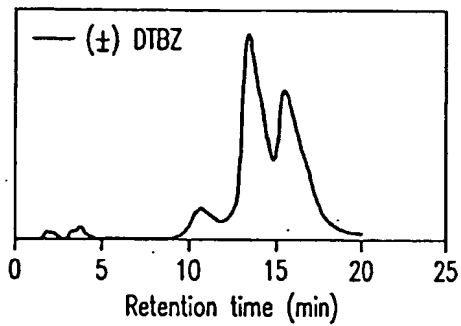
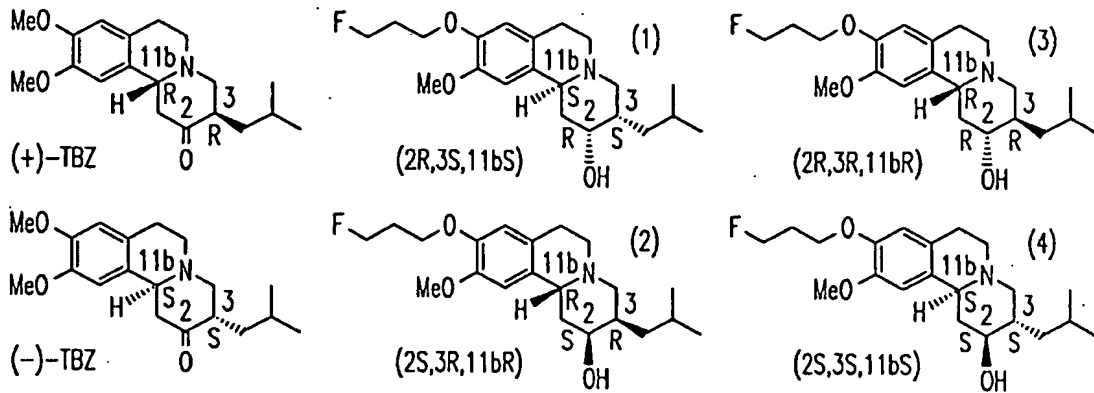


FIG. 1

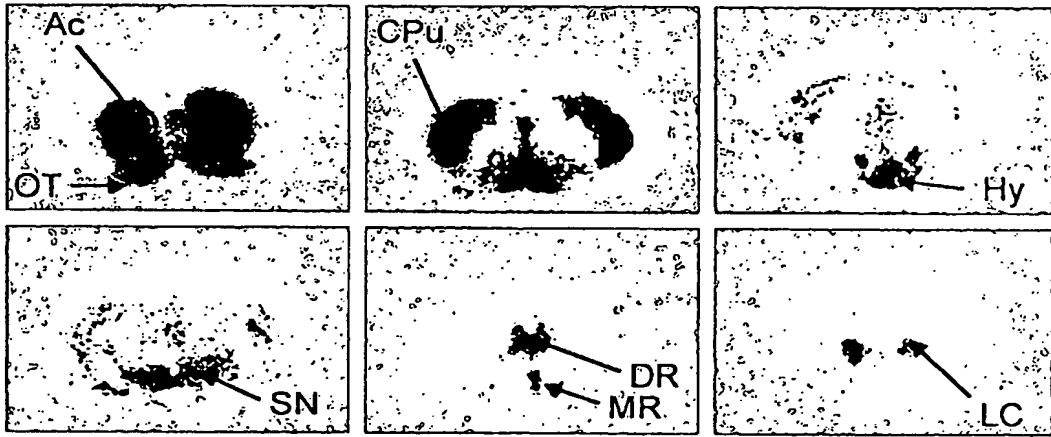


FIG.2

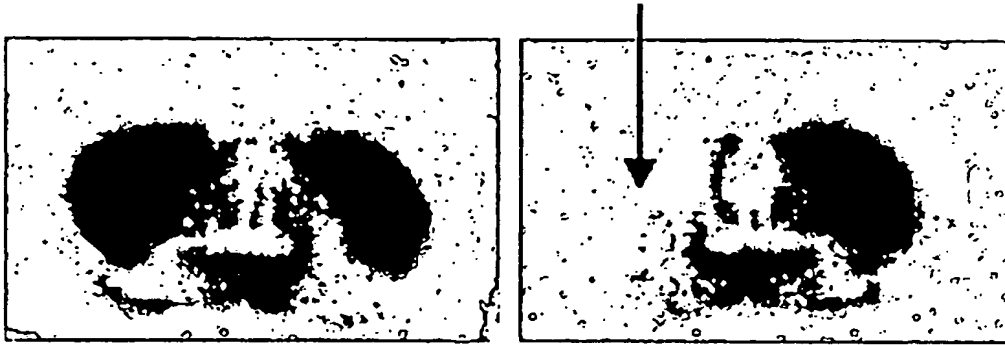


FIG.3

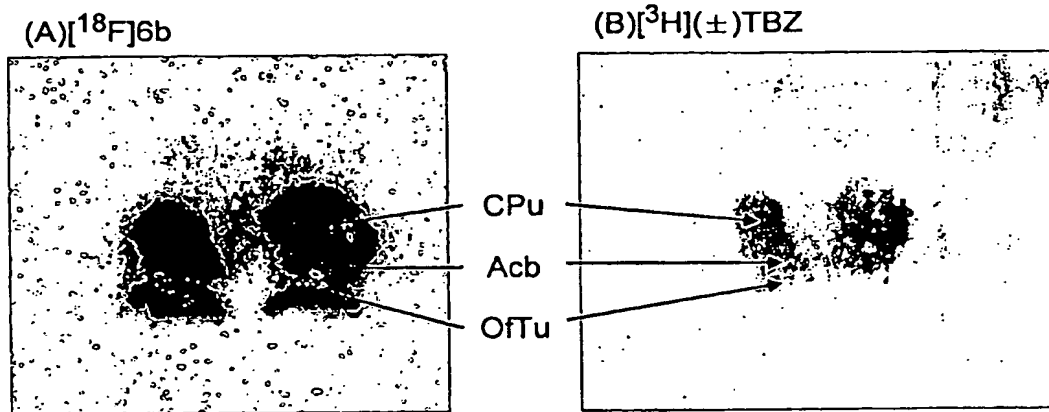


FIG. 4

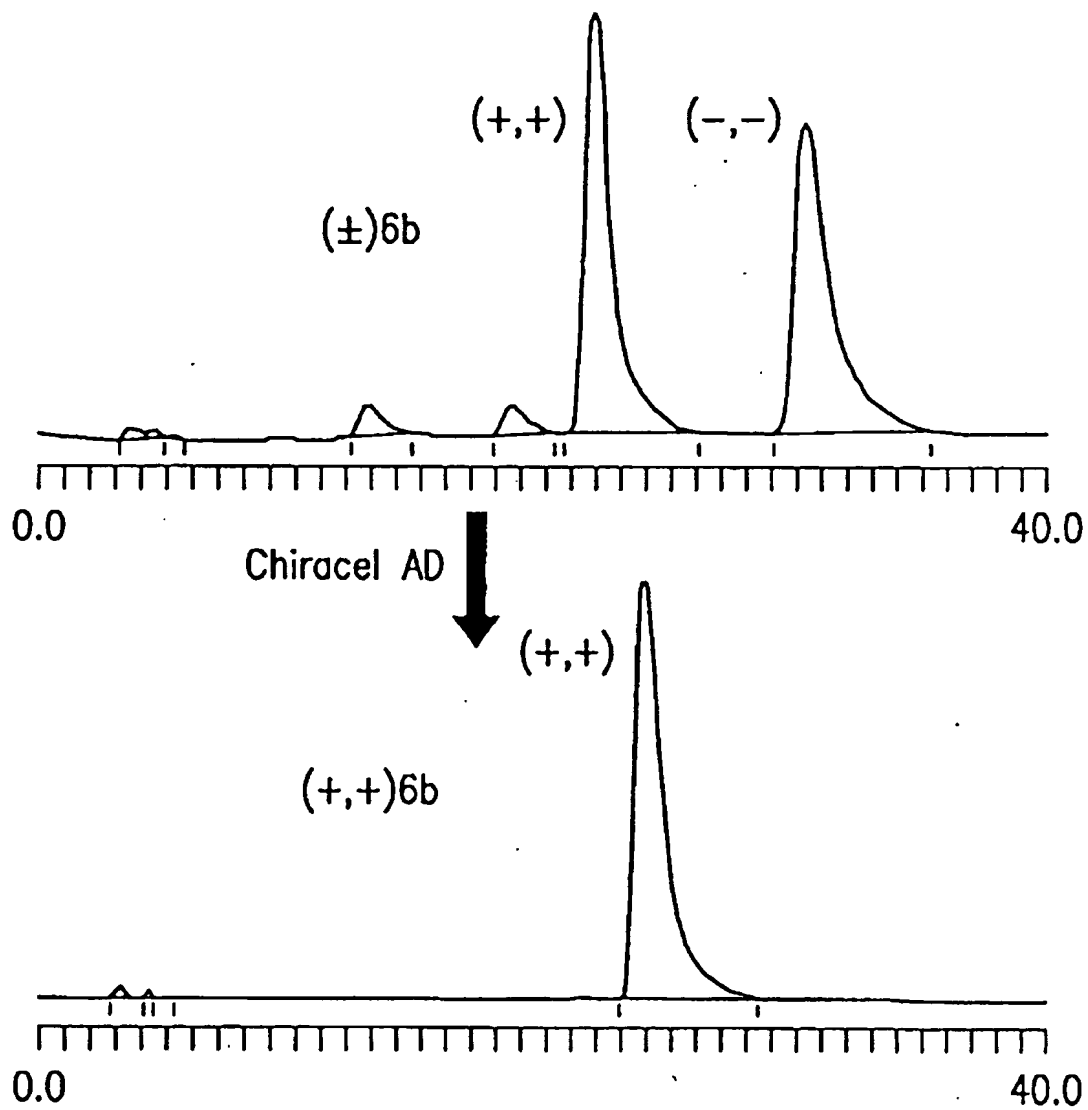


FIG.5

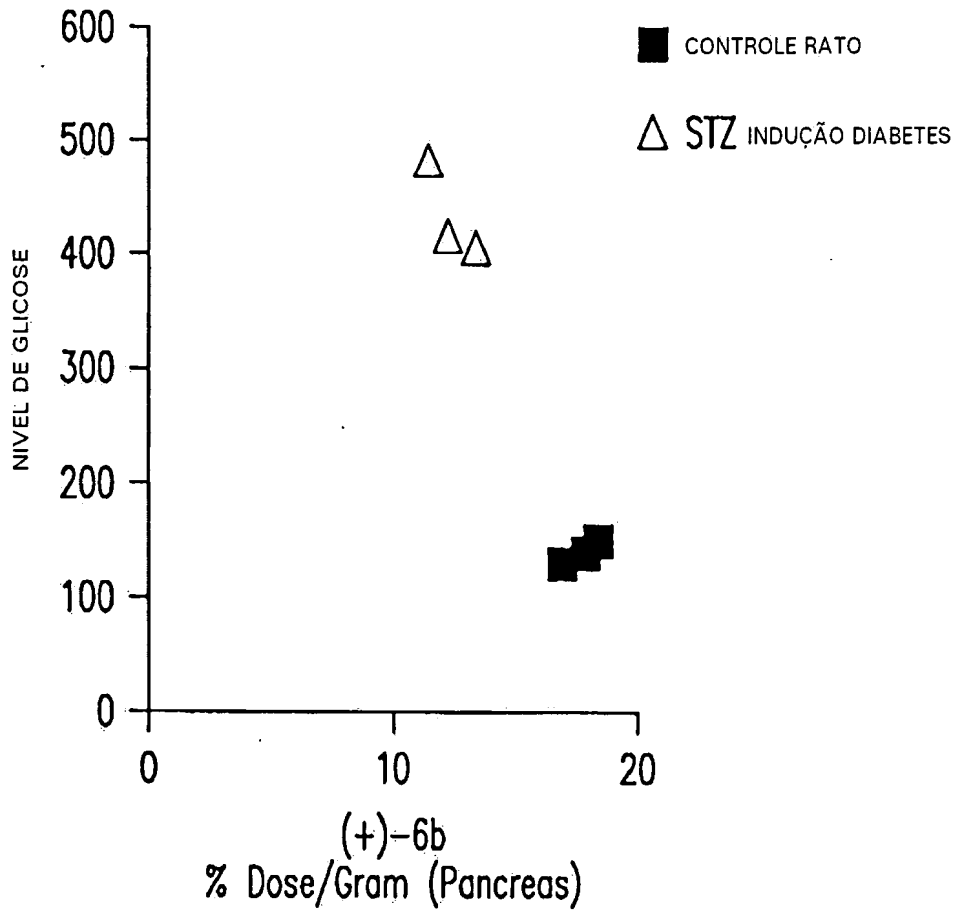


FIG.6

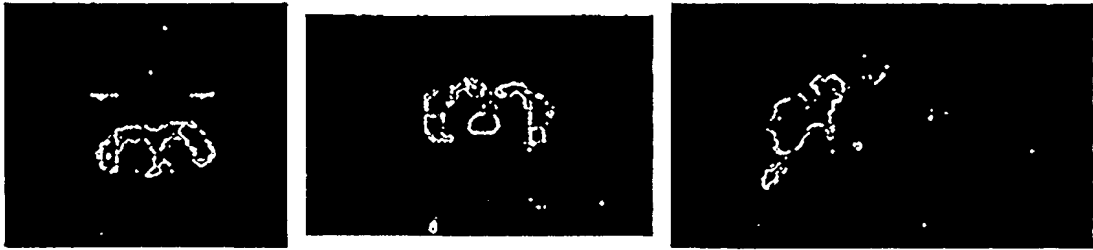


FIG.7

LIGAÇÃO DE F-18-FP-6b

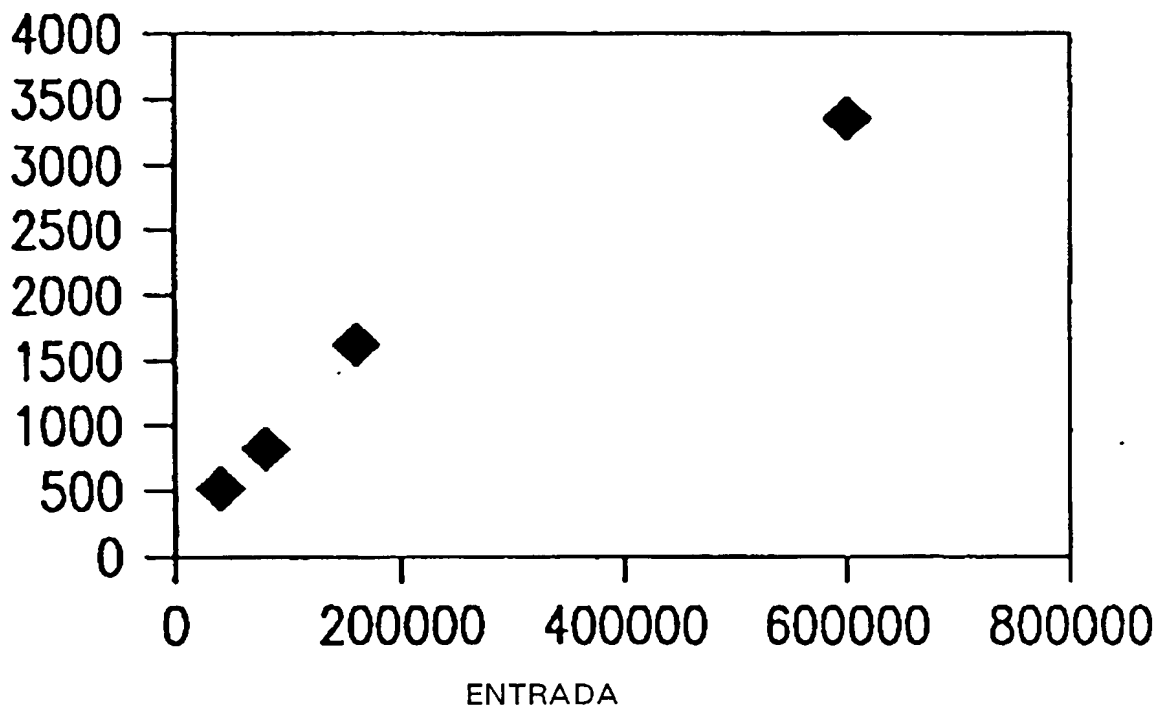
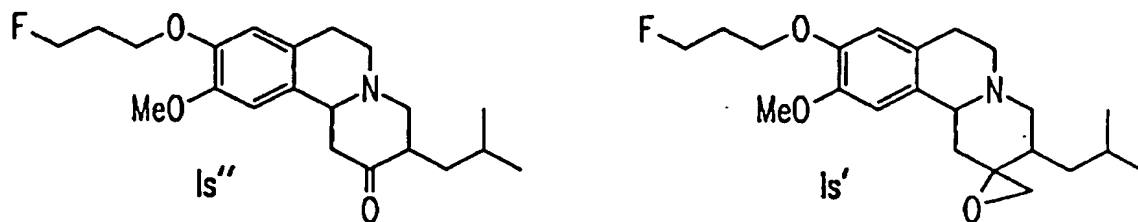


FIG.8



COMPOSTO	Ki (nM \pm SEM)
<i>Is''</i>	0.38 \pm 0.06
<i>Is'</i>	0.15 \pm 0.01

FIG.10

RESUMO

DERIVADOS RADIOMARCADOS DE DIIDRO-TETRABENAZINA E SEU USO COMO AGENTE DE IMAGENS. Este invento se refere a um método de imagem de transportadores vesiculares de monoamina e a compostos marcados e composições farmacêuticas deles, e métodos de tornar os compostos marcados úteis para obter imagem de transportadores vesiculares de monoamina. este invento também se refere a compostos e métodos de monitorar a progressão de uma doença relacionada com os transportadores vesiculares de monoamina.