



GRADO EN CIENCIAS EXPERIMENTALES

Curso académico 2023/2024

Trabajo Fin de Grado



Síntesis Radiomarcadores PET para la detección de placas β -amiloides en el cerebro:

un estudio bibliográfico

Autor: Jose Rafael Galué Blanco

Director: Elena Gala Sánchez

Codirector: María Mar Ramos Gallego

Índice

GLOSARIO.....	3
RESUMEN.....	5
1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.....	6
1.2 BIOMARCADORES	7
1.3 LA PROTEÍNA B-AMILOIDE Y LA FASE PRECLÍNICA DEL ALZHEIMER	8
1.4 TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES Y RADIOMARCADORES PET.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
3. METODOLOGÍA	13
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
4.1 ETAPAS DE INVESTIGACIÓN Y APROBACIÓN DE MARCADORES PET PARA LA DETECCIÓN DE PLACAS B-AMILOIDES	14
4.2 DISEÑO DE LA SÍNTESIS DE UN MARCADOR PET.....	16
4.3 RADIOMARCADORES BASADOS EN CARBONO-11.....	16
4.3.1 COMPUESTO B DE PITTSBURGH (¹¹ C-PIB).....	18
4.4 RADIOMARCADORES BASADOS EN FLUOR-18.....	19
4.4.1 FLORBETAPIR Y FLORBETABEN.....	19
• 4.4.1.1 FLORBETAPIR	21
• 4.4.1.2 FLORBETABEN	24
• 4.4.1.3 SÍNTESIS DE FLORBETAPIR Y FLORBETABEN A PARTIR DE 4.....	25
4.4.2 FLUTEMETAMOL	28
4.4.3 RADIOMARCADORES NO APROBADOS.....	32
• 4.4.3.1 [¹⁸ F]-AZD4694.....	32
• 4.4.3.2 [¹⁸ F]-MK-3328 Y [¹⁸ F]-AD-269.....	35
• 4.4.3.3 [¹⁸ F]-FLUOROSULFATOS DE ARILO.....	37
5. CONCLUSIONES.....	39
6. BIBLIOGRAFÍA.....	41

Glosario

Ac₂O = Anhídrido acético

APOE = Apolipoproteína E

Aβ = β-Amiloides

Bs: = Base

BHE = Barrera Hematoencefálica

Boc = *tert*-Butiloxicarbonilo

DCM = Diclorometano

DIPEA = Diisopropiletilamina

DMAP = *N,N*-Dimetilaminopiridina

DMF = *N,N*-Dimetilformamida

DMSO = Dimetilsulfóxido

dppf = 1,1'-Ferrocenodil-bis(difenilfosfina)

EA = Enfermedad de Alzheimer

EMA = *European Medicine Agency* (Agencia Europea del Medicamento)

FDA = *Foods and Drugs Administration*

¹⁸F-FDG = 2-(¹⁸F)-Fluoro-2-desoxi-D-glucosa

HPLC = High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia)

K222 = Kryptofix 222

LCR = Líquido Cefalorraquídeo

MOM = Metoximetiléter

MW = Microondas

NBS = *N*-bromosuccinimida

PET = Positron Emission Tomography (Tomografía por Emisión de Positrones)

s.f. = Sin fecha

S_N2 = Sustitución Nucleófila bimolecular

SNC = Sistema Nervioso Central

SuFEx = *Sulfur Fluoride Exchange* (Intercambio de fluoruro de azufre)

TBAF = Fluoruro de tetra(*n*-butilamonio)

TBS = *tert*-Butildimetilsililo

TBSCl = *tert*-Butildimetilsililo

THF = Tetrahidrofurano

TPSA = *Topological Polar Surface Area* (Área de Superficie Polar Topológica)

Ts = Tosilo

©2024 Jose Rafael Galué Blanco

Algunos derechos reservados

Este documento se distribuye bajo la licencia "Atribución- CompartirIgual 4.0 Internacional" de Creative Commons, disponible en: <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/deed.es>

Resumen

La Enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por la muerte neuronal progresiva, en la actualidad no tiene cura y un diagnóstico precoz es esencial para mejorar la calidad de vida del enfermo y sus familiares. Sin embargo, esto último no es fácil debido a que el deterioro cognitivo inicial no es exclusivo de esta enfermedad, por lo que el diagnóstico basado únicamente en el historial clínico del paciente se suele producir en estados más avanzados de la patología. Sin embargo, la EA se distingue de otras enfermedades neurológicas con las que se confundir en etapas tempranas por la acumulación de placas β -amiloides en el cerebro. La detección temprana *in vivo* de dichas placas mediante una técnica no invasiva es útil para ayudar a descartar o no un posible caso de EA. La Tomografía por Emisión de Positrones permite llevar a cabo dicha detección, para lo cual resulta necesario desarrollar radiomarcadores que contengan Carbono-11 o Flúor-18 y que se desplacen de manera específica al sistema nervioso central e interactuar con dichas placas.

En la actualidad existen tres marcadores PET aprobados para su uso: Florbetapir, Florbetaben y Flutemetamol, todos ellos basados en ^{18}F . Sin embargo, sigue siendo hoy en día deseable el diseño y desarrollo de nuevas moléculas que permitan detectar los agregados de proteína β -amiloide de manera más selectiva y eficaz. Por esto, se sigue realizando un gran esfuerzo en el diseño y síntesis de nuevos marcadores PET hoy en día y que se encuentran en distintas fases de desarrollo y evaluación para su aprobación.

Este trabajo se centra en la descripción de la síntesis de marcadores PET para la detección de placas β -amiloides basados tanto en ^{11}C como en ^{18}F . Se destaca la síntesis detallada de las moléculas que ya han sido aprobadas por agencias del medicamento (Florbetapir, Florbetaben y Flutemetamol) a partir de moléculas orgánicas de relativa sencillez. También se describe la obtención de otros compuestos, esta vez candidatos a ser marcadores PET, cuya afinidad estructura y propiedades para llegar al cerebro e interactuar con las placas β -amiloides también es la adecuada para su futuro uso como marcadores PET.

1. Introducción

1.1 Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un proceso neurodegenerativo del sistema nervioso central que se caracteriza principalmente por la muerte neuronal progresiva en la corteza cerebral e hipocampo, aunque el resto de las zonas del cerebro están afectadas en menor medida. Además, como la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas, hoy en día no está determinada su causa ni existe cura o tratamiento que frene el avance ni revierta el progreso de la enfermedad. Actualmente solo existen fármacos que pueden ralentizar parcialmente el avance de los síntomas de la EA, pero la muerte neuronal sigue teniendo lugar (Martínez, 2009).

Esta enfermedad recibe su nombre en honor al Dr. Alois Alzheimer (1864-1915) tras ser el primero en estudiar y describir esta demencia en 1911 sobre una paciente que fue ingresada en el hospital de enfermos mentales y epilépticos de Frankfurt, Alemania, con los síntomas de la enfermedad a la que este trabajo se refiere. El Dr. Alois Alzheimer, tras el fallecimiento de la paciente y realización de la autopsia, observó una muerte celular acusada en la materia gris había reducido el tejido, además de otros cambios cerebrales. Los posteriores estudios de la enfermedad han permitido poder establecer que los síntomas que presentan los enfermos de EA varían según la persona, pero generalmente se caracterizan por deterioro de memoria, afasia, cambios de personalidad y reducción de la motricidad. En función del grado de gravedad de los síntomas, se han establecido tres etapas de la enfermedad: fase inicial, intermedia y avanzada. En la etapa inicial no hay gran pérdida cognitiva y los síntomas apenas son apreciables, siendo la persona con EA independiente y pudiendo mantener su puesto de trabajo. En la etapa intermedia los síntomas son evidentes y la persona comienza a tener limitaciones en su día a día, comenzando su dependencia de los demás. En la etapa avanzada las funciones cognitivas del enfermo son graves, dependiendo al completo de los cuidados de otras personas (Martínez, 2009).

El principal factor de riesgo para parecer la EA es la edad avanzada, aunque también existe cierto riesgo asociado a traumatismos, hipertensión, arteriosclerosis, tabaquismo, obesidad y diabetes. Recientemente se han descrito los primeros casos de demencia y posible EA asociados a una transmisión a través de inyecciones de hormonas del crecimiento procedentes de cadáveres (Banerjee *et al.*, 2024). Se estima que existen 50 millones de personas con la EA en todo el mundo (Demencia, 2022), de los cuales 800.000 se encontrarían en España. La distribución de la enfermedad es muy distinta por el mundo ya que, al estar fuertemente ligado a la edad avanzada, hay una mayor prevalencia en los países desarrollados, donde la esperanza de vida es mayor. La prevalencia por grupos de edad es de 0,02% en el rango de entre 30 y 59 años, para mayores de 65 años duplica su frecuencia cada 5 años, mientras que de los 80 a los 89 años aumenta a más del 10%. Por sexos, en Europa, la incidencia del Alzheimer en

mujeres es mayor que en los hombres, siendo de 6,9 y 13,1 cada 1.000 habitantes respectivamente. Esto se puede explicar debido a que las mujeres tienen una esperanza de vida mayor, aunque existen otras hipótesis como que se produce mayor muerte neuronal por la falta de protección hormonal debido a la menopausia (Martínez, 2009).

Dado que no existe cura y que los únicos tratamientos posibles únicamente logran ralentizar el avance de los síntomas, es fundamental poder realizar un diagnóstico precoz ante la aparición de los primeros signos de demencia. Sin embargo, dado que los primeros síntomas del EA son similares a los de otras enfermedades neurodegenerativas o daños cerebrales, en fases tempranas de la enfermedad existe una gran dificultad para poder diagnosticarlo teniendo en cuenta únicamente el historial clínico del paciente (Aygün y Güngör, 2015). Por ello, es fundamental la búsqueda de marcadores biológicos (o biomarcadores) que permitan detectar o descartar un posible caso de EA ante los primeros síntomas de demencia con el fin de comenzar con la terapia pertinente lo antes posible.

1.2 Biomarcadores

Un biomarcador es una biomolécula presente en cualquier tejido y/o líquido corporal y que su presencia es un indicador de un proceso biológico normal, proceso patológico o respuestas a una cirugía. El número de biomarcadores descritos es inmenso, pero en este trabajo se muestran únicamente los relacionados con la Enfermedad de Alzheimer y que se muestran a continuación (Cummings y Kinney, 2022).

- Gen APOE
- Beta-amiloide
- Tau
- Vascularidad (reducción de flujo sanguíneo)
- Factor de crecimiento y hormonas
- Ómicas
- Genética y genómica
- Inflamación
- Plasticidad sináptica
- Neurodegeneración
- Estrés oxidativo

El estudio y comparación de los valores de cada uno de estos biomarcadores presentes en tejidos y líquidos biológicos entre personas sanas y personas con EA ha permitido establecer unos parámetros que ayudan al diagnóstico de la EA. Los marcadores pueden detectarse mediante distintas técnicas,

como análisis de fluidos o diagnóstico por imagen. Este trabajo se centra en la proteína Beta-amiloide como biomarcador, cuya formación en el cerebro ya fue descubierta por el Dr. Alzheimer durante la autopsia de la paciente de sus estudios. Su interés como biomarcador y métodos de detección se describen a continuación.

1.3 La proteína β -amiloide y la fase preclínica del Alzheimer

La proteína β -amiloide ($A\beta$) es un péptido de 39 a 43 aminoácidos de longitud que se forma a partir de una proteína transmembrana, la denominada proteína precursora amiloide (Figura 1). Esta proteína $A\beta$ no es peligrosa por sí misma pero cuando se produce un desequilibrio en el proceso de producción y aclaramiento de la $A\beta$ se comienzan a formar agregados que terminan depositándose en el espacio interneuronal formando placas β -amiloides (Martínez, 2009, Edwards, 2019).

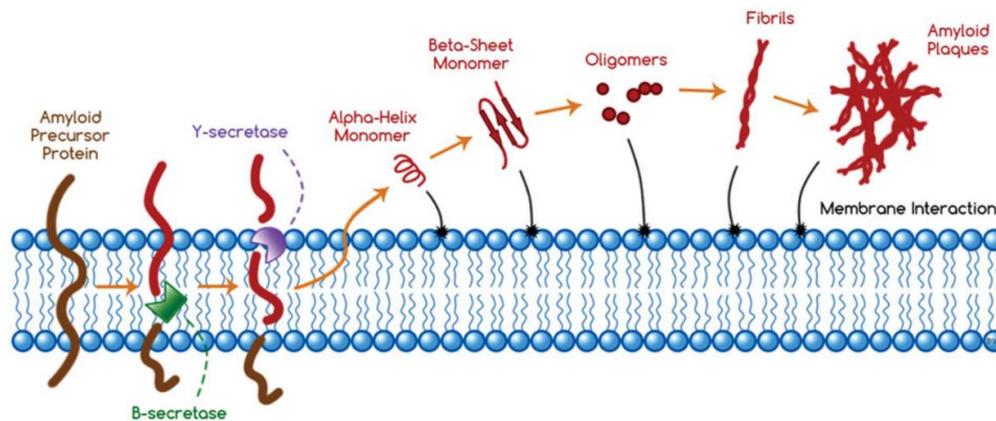


Figura 1. Esquema de formación de placas β -amiloides o amiloidosis (Fuente: Drolle et al., 2014).

El proceso de acumulación de placas β -amiloides en los tejidos biológicos se conoce como amiloidosis y es responsable de distintas enfermedades localizadas en diversas partes del cuerpo humano. Este proceso de amiloidosis también se produce en el SNC en pacientes con enfermedades neurodegenerativas como la Enfermedad de Alzheimer y Parkinson. (Blancas-Mejía y Ramirez-Alvarado, 2013).

La principal hipótesis respecto al comienzo de la EA es que la acumulación de placas β -amiloides está implicada de alguna manera en el comienzo de la denominada cascada neurodegenerativa ya que se crea un medio potencialmente tóxico para las neuronas. Una vez que comienza el proceso neurodegenerativo, tiene lugar el resto de las alteraciones cerebrales características de la Enfermedad de

Alzheimer, tal y como se muestra de manera esquemática en la Figura 2 (*Alzheimer's Disease fact Sheet*, s. f.).

Se ha observado que la acumulación progresiva de placas $A\beta$ en personas que terminan desarrollando la enfermedad de Alzheimer comienza entre 20 y 30 años antes de la aparición de los primeros síntomas de demencia, lo que ha dado lugar a describir la EA en dos fases: La primera, la denominada fase preclínica, en la que el cerebro comienza a sufrir las alteraciones propias de la enfermedad, pero en la que la persona no ha experimentado ningún deterioro cognitivo asociado a la EA, por lo que también se le suele denominar fase presintomática. La segunda fase, la fase clínica, comprende el periodo donde el enfermo comienza a desarrollar los síntomas que han sido descritos con anterioridad (Selkoe y Hardy, 2016).

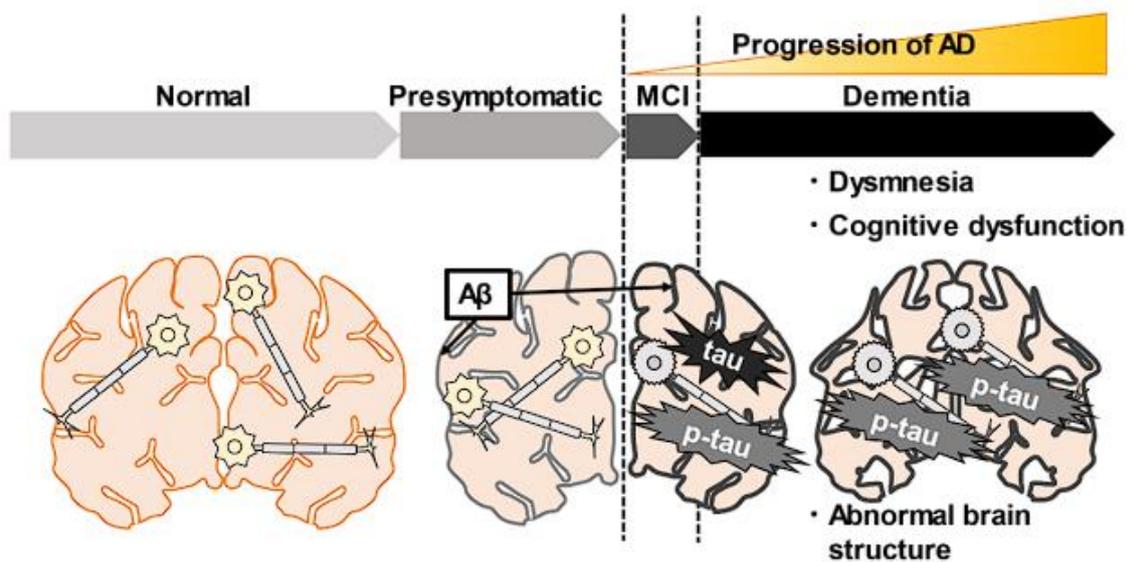


Figura 2. Cambios cerebrales durante el progreso de la EA (Fuente: Gunes et al., 2022).

La detección mediante una técnica no invasiva *in vivo* de placas β -amiloides en el cerebro permite descartar o no un caso de EA. Dado que la amiloidosis cerebral no es exclusiva de la EA, su detección en el cerebro no permite diagnosticar con certeza esta enfermedad, por lo que sería necesario una evaluación más exhaustiva de la evolución clínica del paciente para determinar un posible caso de Alzheimer (Porsteinsson et al., 2021). Sin embargo, su ausencia en el cerebro de un paciente con deterioro cognitivo sí que permite descartar un caso de EA, lo que ayudará también al diagnóstico precoz de cualquier otro tipo de daño cerebral.

1.4 Tomografía por Emisión de Positrones y radiomarcadores PET

En general, la detección de cualquier biomarcador presente en el cerebro requiere del uso de técnicas de imagen no invasiva, como rayos X, resonancia magnética nuclear, ultrasonidos o tomografía por emisión de positrones. Esta última es la empleada para detectar la presencia o no de placas β -amiloides en los casos sospechosos de EA y que se describe a continuación.

La tomografía por emisión de positrones (PET) es una técnica de imagen no invasiva basada en la inyección de una sustancia marcada con elemento radiactivo de vida media ultracorta como ^{11}C , ^{15}O y ^{18}F cuya desintegración genera positrones (partículas elementales de antimateria, con misma masa que el electrón, con carga positiva). La aniquilación del positrón con algún electrón del medio circundante produce dos fotones gamma que se mueven en misma dirección, pero sentido contrario, siendo detectados por el tomógrafo (Baksai *et al.*, 2002). Esta técnica resulta de gran interés ya que permite visualizar imágenes de metabolismo de los tejidos, flujo sanguíneo o estado de los receptores del paciente ya que el radiomarcador tenderá a acumularse en determinados tejidos, desde donde se emitirá una mayor radiación. Esta tendencia a acumularse en un tejido u en otro dependerá de la interacción del radiomarcador inyectado con la diana. Por ejemplo, entre los marcadores PET más empleados se encuentra la 2- (^{18}F) -fluoro-2-desoxi-D-glucosa (^{18}F -FDG), que permite detectar tumores (los tejidos consumen una mayor cantidad de glucosa (Peñuelas Sánchez, 2001)) o falta de actividad cerebral (Ruiz Hernández *et al.*, 2005). Este compuesto, ^{18}F -FDG, también se emplea como herramienta de diagnóstico del EA ya que su menor acumulación en el cerebro implica una menor actividad cerebral, otra de las características de los enfermos de EA (Minoshima *et al.*, 2021).

En cuanto a la aplicación del PET como técnica para la detección de β -amiloide al paciente se le suministra un marcador con alta interacción mediante fuerzas intermoleculares con las placas β -amiloides y con capacidad de ser transportado al cerebro de manera pasiva. Las imágenes que se toman muestran la densidad de la proteína en diferentes zonas del cerebro, (Delso *et al.*, 2015) observando que el patrón que siguen las imágenes PET de pacientes con EA es la acumulación de los radiomarcadores en las cortezas frontal, parietal y temporal, tal y como se observa en las autopsias *post mortem* (Valotassiou *et al.*, 2018).

El diseño de cualquier radiomarcador PET para la detección de placas β -amiloides supone un reto ya que hay que considerar una serie de propiedades clave que permitan al marcador llegar al SNC e interactuar con los agregados de $\text{A}\beta$. La primera limitación se encuentra en la llegada de los marcadores al cerebro tras su administración vía intravenosa, debido a la presencia de la barrera hematoencefálica (BHE), una barrera selectiva que se forma con las células endoteliales de los microvasos cerebrales. La BHE es la responsable de regular el flujo de nutrientes y iones, así como proteger el cerebro de neurotoxinas (Lombardo *et al.*, 2020). Además, el radiomarcador debe tener unos

valores de lipofilia e hidrofilia adecuados para poder ser transportados tanto a través del torrente sanguíneo (medio acuoso) como para poder atravesar la BHE (medio lipófilo) (Lu *et al.*, 2014). Se ha observado que los valores de lipofilia ideales, medidos en forma de $\log P^1$, para que un radiomarcador atraviese la BHE y llegue al cerebro deben oscilar entre 2 y 4. Otros aspectos clave para tener en cuenta a la hora del diseño son la superficie polar tipológica (TPSA²), que debe ser inferior a 90 Å² y un pK_a^3 entre 4 y 10,5 (Lindberg *et al.*, 2023).

¹ Coeficiente de partición. Relación de la concentración de una molécula en un medio acuoso y una fase orgánica.

² Suma de la superficie de todos los átomos o moléculas polares

³ Cantidad de pH en la cual la molécula o parte de la molécula será protonada o desprotonada

2. Objetivos

Con el presente Trabajo de Fin de Grado se pretende conseguir los siguientes objetivos:

- Conocer qué es la enfermedad de Alzheimer, los cambios más importantes que se producen a nivel cerebral, y la importancia de un diagnóstico precoz.
- Establecer la importancia de detectar las placas β -amiloides mediante Tomografía por Emisión de Positrones para el descarte o no de un posible caso de Enfermedad de Alzheimer.
- Conocer las etapas de desarrollo de un marcador PET para su posterior aprobación por las agencias del medicamento.
- Exponer la síntesis de marcadores PET, tanto aprobados para su uso como en desarrollo, poniendo de manifiesto la importancia de la Química Orgánica en el sector farmacéutico.
- Conocer los mecanismos de reacción de las reacciones de las síntesis expuestas en el trabajo.
- Valorar la importancia del desarrollo de nuevos marcadores PET con el fin de obtener mejores estrategias para la detección de placas β -amiloides.

3. Metodología

Para llevar a cabo este trabajo bibliográfico sobre radiomarcadores PET para la detección de placas amiloides, se han realizado múltiples búsquedas bibliográficas en diferentes bases de datos y se han consultado libros de la Biblioteca del Campus Móstoles de la Universidad Rey Juan Carlos. Para dicha búsqueda bibliográfica, se utilizaron diversas palabras clave, como “Alzheimer”, “radiomarcadores”, “PET”, “placas amiloides”, “radiosíntesis”, “radiofármaco” e “isótopo”, con el fin de obtener resultados concretos relacionados con el tema de estudio. Las bases de datos consultadas incluyeron Buscador de recursos BRAIN, PubMed, PubChem, Web Of Science (WOS), Science Direct, Europe PMC, Google Scholar, Sigma-Aldrich, DrugBank y SwissADME.

Tras la búsqueda bibliográfica, se seleccionaron y evaluaron los artículos y estudios más relevantes y adecuados, tomando en cuenta criterios como la calidad y actualidad de la información. Así mismo, se han seleccionado moléculas con distintas estructuras y en distintos estados de desarrollo y evaluación. La mayoría de los artículos y estudios seleccionados en la elaboración del trabajo estaban en inglés, con un pequeño porcentaje en español.

Las rutas sintéticas que se muestran para distintos compuestos han sido extraídas de un único artículo cuando este mostraba la síntesis total de la molécula en la publicación. En el caso de otras sustancias, ha sido necesario buscar en varias fuentes bibliográficas la síntesis tanto de la molécula final como de los intermedios de reacción con el fin de obtener una síntesis de las moléculas a partir de reactivos sencillos. Las referencias de las que se ha extraído cada síntesis aparecen junto a las descripciones de cada sección.

Las figuras que aparecen en el trabajo son o de elaboración propia o tomadas de artículos científicos. En este último caso, se indica la fuente de la figura junto a la descripción de esta. Los esquemas de reacción han sido realizados empleando el software ACD/ChemSketch Freeware.

4. Resultados y discusión

4.1 Etapas de investigación y aprobación de marcadores PET para la detección de placas β -amiloides

La presencia de una gran concentración de placas β -amiloides en fases tempranas de la EA ha llamado la atención de numerosos investigadores para su detección mediante Tomografía por Emisión de Positrones. Las dos líneas principales de investigación y desarrollo se centran en radiomarcadores marcados con carbono-11 o con fluor-18, tal y como se muestran a continuación en este trabajo.

Para que los radiomarcadores PET sean útiles para la obtención de imágenes de objetivos proteicos en el cerebro, deben poseer unas propiedades específicas (Pike, 2009). Las propiedades más importantes que un radiomarcador ideal debe poseer para ser empleado para la detección de $A\beta$ son las siguientes:

- Alta afinidad con las placas $A\beta$.
- Selectividad interaccionando con las placas $A\beta$.
- Lipofilia adecuada para atravesar la BHE.
- Masa y superficie moleculares adecuadas.
- Farmacocinética cerebral adecuada a la vida media del marcador (para captación del cerebro y eliminación del cerebro)
 - No tóxico a bajas dosis.
 - No generar metabolitos o radiometabolitos nocivos.
 - Estabilidad en el torrente sanguíneo.

Respecto a este último punto, aunque los radiomarcadores presentan estabilidad en medio acuoso, al administrarse de manera intravenosa se exponen a enzimas que los metabolizan con rapidez, haciendo que realmente la cantidad de radiomarcador que llega al SNC disminuya drásticamente en pocos minutos (Pike, 2009).

Pese a que las propiedades físico-químicas y fármaco-cinéticas de las moléculas candidatas a fármaco o radiomarcador PET pueden ser predichas con una relativa facilidad gracias a los programas avanzados con los que se dispone en la actualidad, la realidad es que muy pocas moléculas de las que se sintetizan y pasan a fase de ensayos clínicos llegan a aprobarse. La tasa de éxito es aún menor cuando se trata de moléculas que deben llegar al SNC. El proceso de desarrollo de un radiomarcador PET, desde su diseño hasta su aprobación por alguna de las agencias del medicamento es un proceso largo y tedioso sujeto a normativas estatales para cada una de las etapas del desarrollo (Harapanhalli, 2010). Las etapas principales en las que se desarrolla un fármaco son cinco, que de forma resumida consisten en

descubrimiento de la molécula candidata, ensayos *in vitro*, ensayos con animales, ensayos en humanos y aprobación y seguimiento del fármaco en el mercado. En estas etapas también son aplicables para el desarrollo de un marcador PET con el requerimiento adicional de un mayor número de estudios y permisos por parte de las administraciones debido a los ensayos que deben ser llevados a cabo con sustancias radiactivas, tal y como aparece en la Figura 3 (Mosessian *et al.*, 2014).

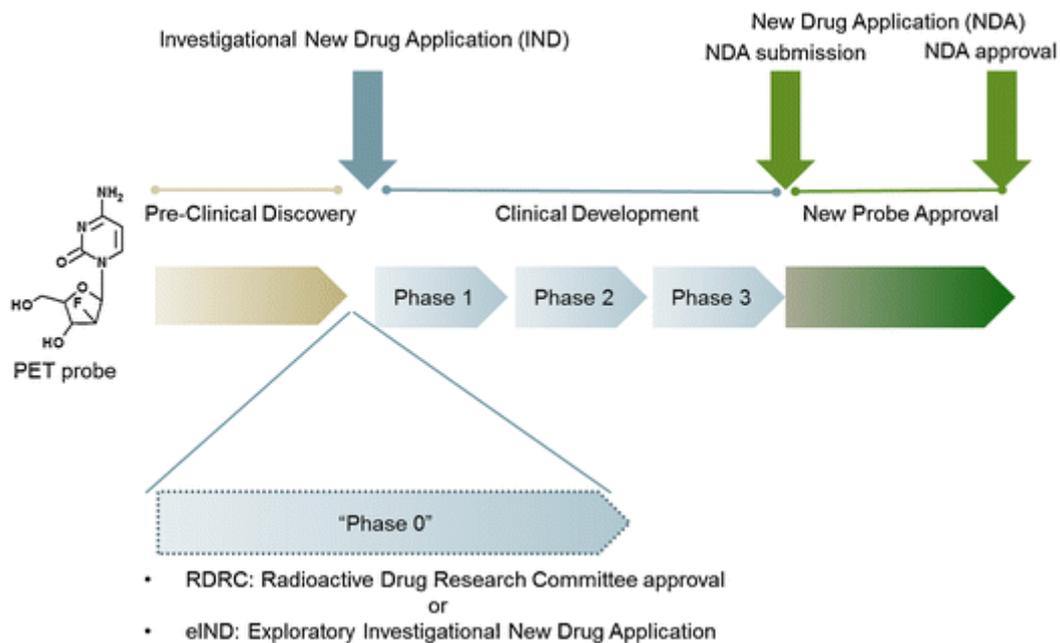


Figura 3. Etapas de descubrimiento y aprobación de un marcador PET por la FDA (Fuente: Mosessian *et al.*, 2014).

Así, pese a la gran cantidad de recursos y de estudios dedicados al desarrollo de nuevos marcadores PET, solo existen en la actualidad un número ínfimo de radiomarcadores aprobados para su uso en la detección de A β . Los organismos encargados de validar y aprobar el uso de fármacos, radiomarcadores y otras moléculas para el uso del ámbito sanitarios varían en función de la región donde van a ser empleados. En este trabajo se consideran dos de las agencias más importantes a nivel mundial: La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) en Estados Unidos y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) en Europa. Hay otros muchos organismos que regulan los medicamentos a lo largo del planeta, como la Administración Nacional de Productos Médicos en China, Minzdrav en Rusia, la Administración de Bienes Terapéuticos en Australia y la Agencia de Productos Farmacéuticos y Dispositivos Médicos en Japón. Los mayores objetivos de estos organismos son proteger a la población de los medicamentos dañinos, que todas las actividades farmacéuticas, ya sean privadas o públicas, tengan una legalización adecuada y, por último, aumentar la regulación a nivel mundial para una mayor protección. Sin embargo, aunque el objetivo de todos estos organismos es el mismo, la protección de la población, los criterios para la aprobación de un fármaco no son unánimes, por lo que son comunes los casos de fármacos aprobados para su uso en unos países antes que en otros o medicamentos que directamente se pueden vender en algunas naciones y en otras no.

A continuación, en este trabajo se presenta la síntesis de diversas moléculas para su aplicación como radiomarcadores PET de placas β -amiloides que se encuentran en diversas etapas de desarrollo y de ensayo. Mientras que algunas ya han sido aprobadas otras se encuentran en diversas etapas de desarrollo.

4.2 Diseño de la síntesis de un marcador PET

Como toda síntesis de una sustancia orgánica, se requiere un proceso de diseño de una ruta sintética por la cual conseguir la molécula objetivo. En el caso de las moléculas marcadas con algún radionucleido, la introducción del átomo inestable debe producirse en la última etapa de la síntesis, en la que los procesos posteriores, tales como desprotección de grupos funcionales o purificación, deben realizarse en un periodo corto de tiempo en procesos que suelen estar automatizados para garantizar la máxima celeridad del proceso, así como la seguridad del personal (Peñuelas Sánchez, 2001). Es por ello por lo que los científicos encargados de diseñar la síntesis deben tener especial cuidado en no incluir un paso de reacción tras la introducción del isótopo radiactivo que pueda impedir el rápido proceso de las sustancias. Las consideraciones a tener en cuenta son las siguientes (Peñuelas Sánchez, 2001):

- La molécula precursora, sobre la que se va a introducir el radionucleido, debe reaccionar rápidamente con el reactivo que le permitirá introducir el ^{11}C o el ^{18}F , teniendo protegidos el resto de los grupos funcionales susceptibles de reaccionar con el reactivo en cuestión.
- La reacción de marcaje debe transcurrir de tal manera que se respete la configuración de los carbonos asimétricos que se desea tener.
- Las etapas de eliminación de grupos protectores que sean necesarias realizar deben transcurrir de manera muy rápida.
- El posterior proceso de purificación y formulación de la solución inyectable debe ser rápido.

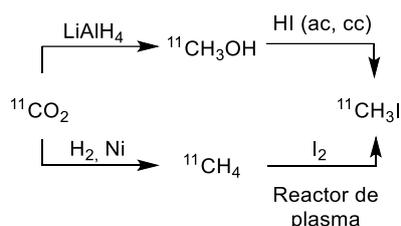
Como puede verse a lo largo de este trabajo, todos los pasos de síntesis de las sustancias descritas incluyen la introducción del ^{11}C o ^{18}F en las etapas finales de síntesis donde, de haber algún paso adicional de reacción, las únicas transformaciones realizadas tras el marcaje de la molécula son desprotecciones que transcurren en unos pocos minutos de reacción.

4.3 Radiomarcadores basados en Carbono-11

El carbono 11 es un isótopo radiactivo que emite positrones durante su desintegración. Tiene una vida media de 20,4 minutos. Este tiempo tan reducido hace que los individuos a los que se les inyecta alguna sustancia marcada con ^{11}C no estén expuestos a una dosis elevada de radiación, por lo que se le

puede realizar varias pruebas PET en un corto periodo de tiempo cuando el proceso de diagnóstico lo requiera (Peñuelas Sánchez, 2001). Otro de los motivos por los que estos marcadores PET resultan tan atractivos es porque pueden diseñarse marcando con carbono-11 fármacos y moléculas ya aprobadas, de tal manera que sus propiedades físico-químicas, fármaco-cinéticas y metabólicas, entre otros aspectos, permanecen inalteradas, por lo que el proceso de ensayo clínico y aprobación se simplifica enormemente (Peñuelas Sánchez, 2001).

Por otro lado, la vida media ultracorta del ^{11}C hace que los centros donde se realiza la prueba diagnóstica empleando moléculas marcadas con carbono-11 deban disponer de un ciclotrón donde se genere *in situ* el radionucleido, el cual se suele preparar a partir de CO_2 (Antoni, 2019). Una vez obtenido el $^{11}\text{CO}_2$, esta especie poco reactiva se transforma en otros precursores primarios, como yoduro de metilo ($^{11}\text{CH}_3\text{I}$), el más empleado dada su versatilidad como agente metilante. Este yoduro se puede preparar tanto en disolución, transformando el $^{11}\text{CO}_2$ en $^{11}\text{CH}_3\text{OH}$ mediante reducción con hidruro de litio y aluminio y posterior tratamiento del alcohol con ácido yodhídrico concentrado, produciéndose el yoduro de metilo mediante un proceso de sustitución nucleófila bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) (Esquema 1) (Antoni, 2015). Otro método de síntesis, que requiere un equipamiento más avanzado, consiste transformar el $^{11}\text{CO}_2$ en metano ($^{11}\text{CH}_4$) por hidrogenación a alta temperatura catalizada por níquel y posteriormente, el metano es transformado en yoduro de metilo por reacción con yodo en un reactor de plasma (Esquema 1) (Eriksson *et al.*, 2006). Esta última reacción cabe destacar que, a contrario que las halogenaciones radicalarias de alcanos, que transcurren con una pésima selectividad, obteniendo mezclas de productos polihalogenados, las condiciones de reacción en el reactor de plasma generan el producto de monohalogenación del yodo sin observar la formación de yoduro de metileno, yodoformo o tetrayodometano (Okimoto y Mizuno, 2001).



Esquema 1. Síntesis de $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ a partir de $^{11}\text{CO}_2$

El proceso para la producción $^{11}\text{CO}_2$, $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ y producción del marcador PET debe estar automatizado y optimizado para la obtención dado el tiempo limitado del que se dispone para realizar la prueba diagnóstica.

4.3.1 Compuesto B de Pittsburgh (^{11}C -PiB)

El Compuesto B de Pittsburgh o ^{11}C -PiB (Figura 4) es de los radiomarcadores PET más investigados para las imágenes de las placas β -amiloides aunque actualmente no está aprobado por la FDA o la EMA para su uso en pacientes. La investigación de este radiomarcador ha conseguido interés por la comunidad científica debido a su capacidad de interactuar no solo con las placas β -amiloides, sino también con formas menos agregadas de la proteína como oligómeros y fibras (Figura 1) (Yamin y Teplow, 2017). Su nombre según las normas de la IUPAC es (*N*-metil- ^{11}C)2-(4'-metilaminofenil)-6-hidroxi-benzotiazol y tiene una masa molecular de 255,33 g/mol.

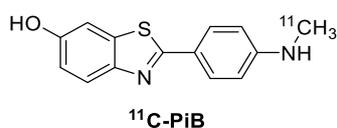
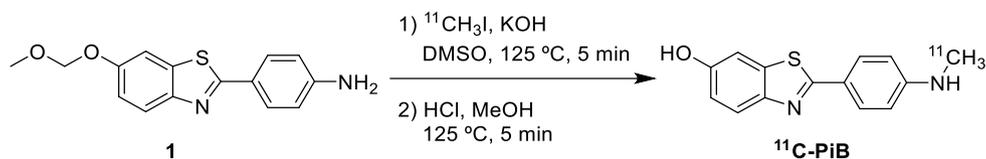


Figura 4. Estructura del ^{11}C -PiB

El precursor del ^{11}C -PiB es la 4-[[6-(metoximetoxi)benzo[*D*]tiazol-2-il]amino}anilina **1**. Este compuesto presenta un grupo amina y un grupo hidroxilo protegido en forma de éter, de tal manera que el primer paso, el de metilación con $^{11}\text{CH}_3\text{I}$ transcurre de manera selectiva sobre el grupo amino de **1**. Acto seguido, el tratamiento con medio ácido a alta temperatura permite la eliminación del grupo protector metoximetiléter en un corto tiempo de reacción, obteniéndose el ^{11}C -PiB (Esquema 2).



Esquema 2. Síntesis del ^{11}C -PiB

La retención que presenta el ^{11}C -PiB en el tejido cerebral de pacientes *in vivo* con EA muestran una distribución similar *post mortem* de las placas amiloides, dejando claro una de las propiedades importantes para los radiomarcadores, que es la alta afinidad por la diana en pacientes *in vivo* (Buccino *et al.*, 2019). En la figura 5 se muestran dos imágenes de cortezas cerebrales a las que se les ha administrado el radiomarcador ^{11}C -PiB. La imagen de la izquierda muestra una corteza cerebral sin absorción del radiomarcador por la ausencia de las placas amiloides: al no haber placas β -amiloides no hay una concentración elevada de ^{11}C -PiB en el cerebro, por lo que el radiomarcador se encuentra diseminado por el cuerpo del paciente y la radiación está diseminada. La imagen de la derecha pertenece a un paciente con presencia de placas $\text{A}\beta$ en el cerebro: la interacción de las placas β -amiloides con el ^{11}C -PiB hace que se produzca radiación desde el cerebro del paciente.

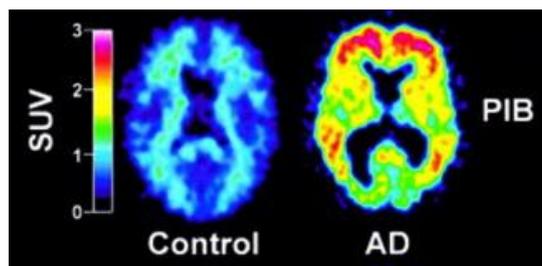


Figura 5. Exploración con PiB. Adaptado de (George *et al.*, 2014)

4.4 Radiomarcadores basados en fluor-18

El radioisótopo de flúor-18 es el más empleado en PET dada la gran importancia que ha adquirido la previamente mencionada ^{18}F -FDG. Sin embargo, no es el único marcador PET basado en ^{18}F , sino que sus propiedades han dado lugar a una gran proliferación de radiomarcadores (Wang *et al.*, 2022). Este éxito se debe, entre otros factores, a la gran variedad de sustratos y de reacciones disponibles para la introducción del flúor y al tiempo de vida media del radioisótopo, de 110 minutos aproximadamente (Wang *et al.*, 2022). Este último aspecto permite que los marcadores basados en ^{18}F puedan ser empleados en síntesis más complejas o que precisen tiempos de reacción algo mayores, realizar estudios PET que se prolonguen durante varias horas y que no tengan por qué ser generados en el mismo centro de administración del radiomarcador, pudiendo ser transportados desde el centro de su producción a hospitales u centros de investigación cercanos. Además, en el caso de marcadores PET cuyo destino sea el SNC, la introducción de flúor aumenta notablemente la lipofilia del compuesto, por lo que su llegada al cerebro está mucho más favorecida. (Peñuelas Sánchez, 2001).

Las propiedades favorables que presentan los compuestos marcados con flúor-18 para llegar al cerebro son tales que la gran mayoría de moléculas estudiadas para su uso como marcadores PET de placas β -amiloides están basados en este radioisótopo del flúor.

A continuación, se describe la síntesis de marcadores PET ya aprobados (Florbetapir, Florbetaben y Flutemetamol) como de otros en distintas fases de evaluación.

4.4.1 Florbetapir y Florbetaben

El Florbetapir (^{18}F -AV-45), también conocido comercialmente como Amyvid, y cuya estructura se muestra en la figura 6, fue aprobado por la FDA en 2012 y por la EMA en 2013. Este radiomarcador se ha desarrollado para estimar la densidad de las placas amiloides en el cerebro cuando el sujeto aún está vivo, consiguiendo una sensibilidad y una especificidad del 92% y del 100% respectivamente (Salloway

et al., 2017). Su estructura es adecuada para atravesar la BHE, con valores de Log P de 3,36, TPSA de 52,61 Å² y pKa de 4,62. Su fórmula molecular es C₂₀H₂₅[¹⁸F]N₂O₃ y su peso molecular es de 359,4 g/mol. Su nombre según la IUPAC es: (*E*)-4-{2-[6-(2-{2-[2-[¹⁸F]fluoroetoxi]etoxi]etoxi)piridin-3-il]vinil}-*N*-metilbencenamina (EMA, 2018).

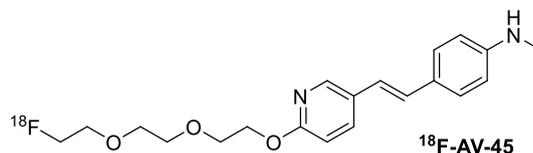


Figura 6. Estructura del Florbetapir.

Por otro lado, el ¹⁸F-Florbetaben, **¹⁸F-BAY-94-9172**, conocido comercialmente como Neuraceq, fue aprobado por la EMA en 2013 y la FDA en 2014. Su estructura, muy similar a la del Florbetapir y que se muestra en la figura 7, también cumple las cualidades ideales para poder atravesar la BHE: log P de 3,97, TPSA de 39,72 Å², pKa de 4,62. Es un radiomarcador derivado de estilbeno que tiene como función la misma que el Florbetapir. Su peso molecular es de 358,45 g/mol y la fórmula molecular es C₂₁H₂₆[¹⁸F]NO₃. Su nomenclatura química es la siguiente: 4-[(*E*)-2-(4-{2-[2-(2-[¹⁸F]fluoroetoxi]etoxi]etoxi}fenil)vinil)-*N*-metilanilina (EMA, 2017).

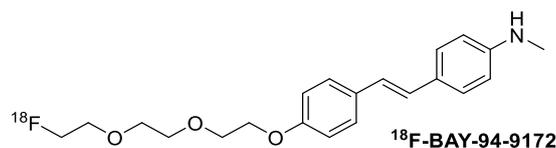
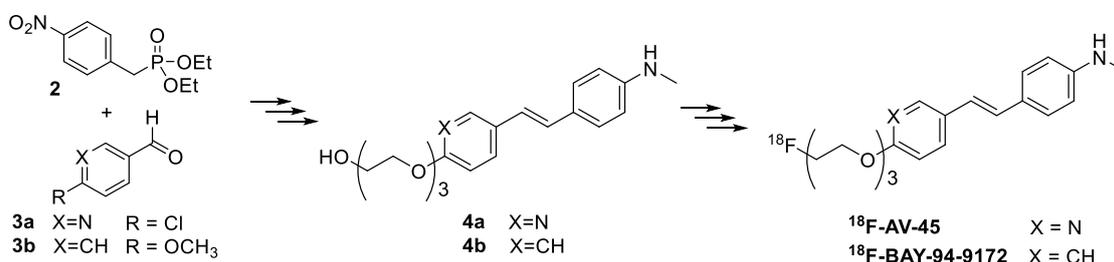


Figura 7. Estructura del Florbetaben.

La síntesis de ambos compuestos es análoga, diferenciando únicamente en los pasos de síntesis previos a la obtención de los compuestos **4**, a partir de los cuales es posible obtener los marcadores PET **¹⁸F-BAY-94-9172** y **¹⁸F-AV-45** (Esquema 3).

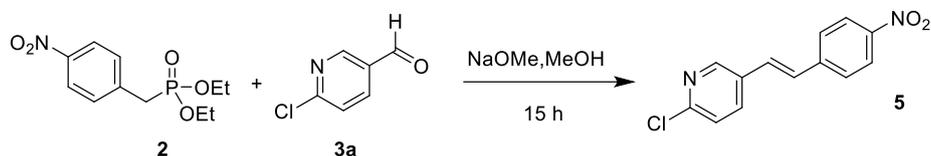


Esquema 3. Esquema de síntesis de **¹⁸F-BAY-94-9172** y **¹⁸F-AV-45**.

La síntesis de cada uno de estos compuestos se describe a continuación en este trabajo:

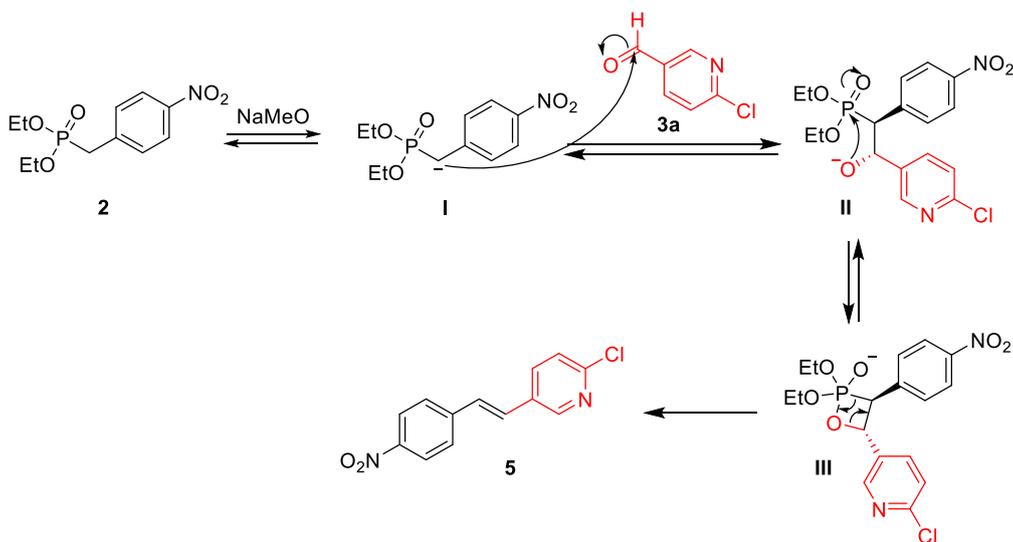
4.4.1.1 Florbetapir

La síntesis de este compuesto comienza por una reacción de Horner-Wadsworth-Emmons entre dietil(4-nitrobenzil)fosfato **2** y el compuesto **3a** (Esquema 4) (WIPO, s. f. c-).



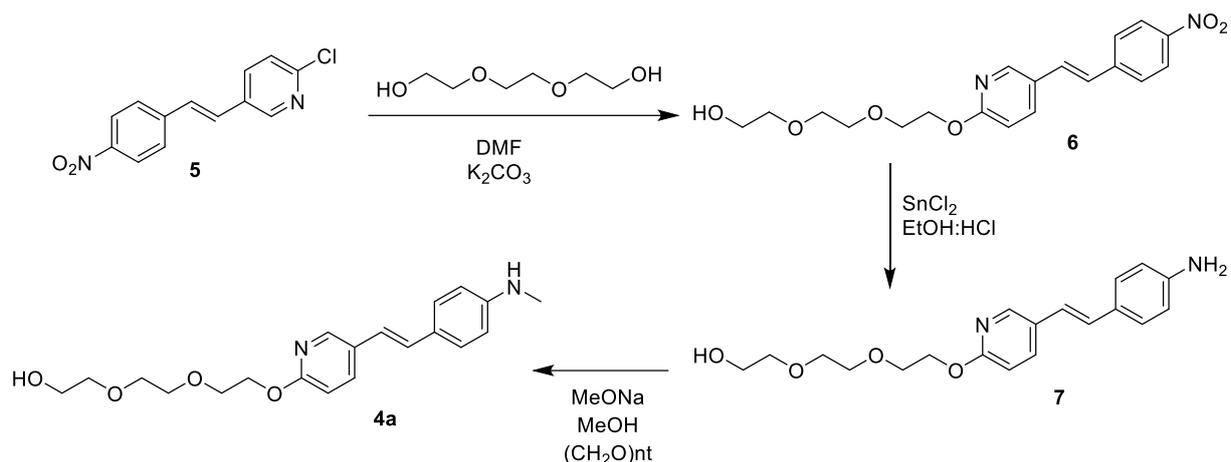
Esquema 4. Reacción de Horner-Wadsworth-Emmons entre **2** y **3a**.

Esta reacción de Horner-Wadsworth-Emmons (también conocida como Wittig-Horner), análoga a la reacción de Wittig, permite la obtención de alquenos a partir de un aldehído o cetona y un carbanión fosfato estabilizado que se genera en el mismo medio de reacción (Esquema 5). Este carbanión **I** ataca nucleófilamente al carbono carbonílico, de **3a**, generándose el intermedio **II**, el cual tiene una configuración en la cual los dos anillos aromáticos se encuentran lo más alejados entre sí. El intermedio **I** sufre un proceso de ciclación intramolecular, formándose el oxafosfetano **III** el cual evoluciona al producto de reacción **5** gracias la formación del enlace P=O, que es la fuerza conductora del último paso de reacción, el único irreversible. La reacción transcurre con buen rendimiento y con alta estereoselectividad hacia el isómero *E* del proceso se produce gracias a que la reacción transcurre por una serie de pasos de equilibrio, requiriéndose tiempos largos de reacción tal y como se observa en el esquema 4 (Pascariu *et al.*, 2003).



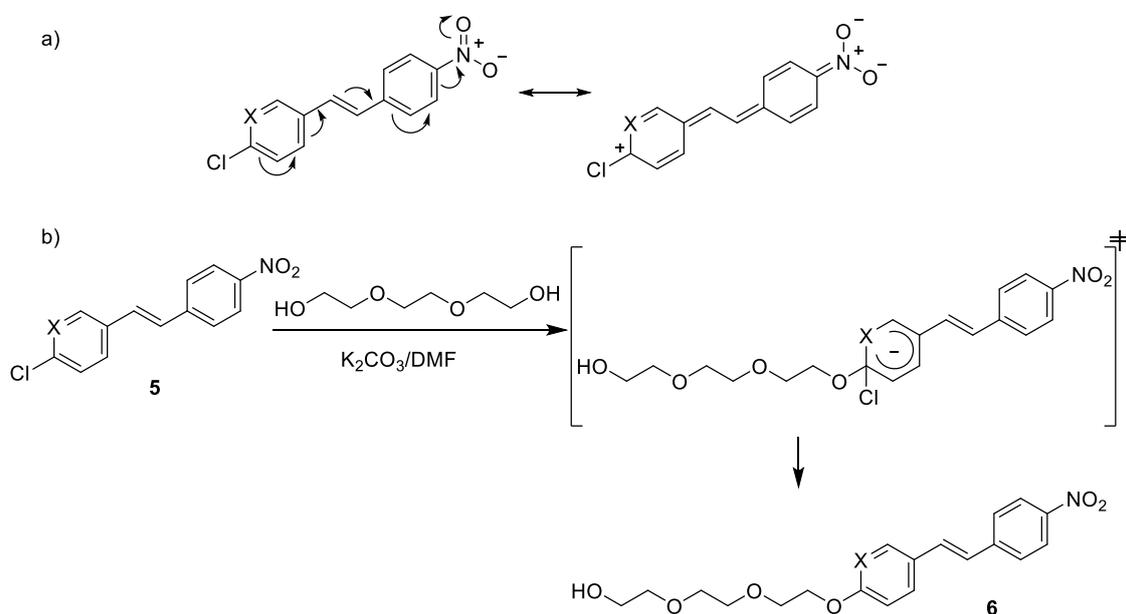
Esquema 5. Mecanismo de reacción de Horner-Wadsworth-Emmons.

La transformación del nitrocompuesto **5** en el derivado de anilina **4a** se realiza en tres pasos de reacción tal y como se muestra en el Esquema 6: Introducción del trietilenglicol sobre el anillo aromático, reducción del grupo nitro y alquilación de la amina (WIPO, s. f. c-).



Esquema 6. Síntesis del derivado **4a** a partir de **5**.

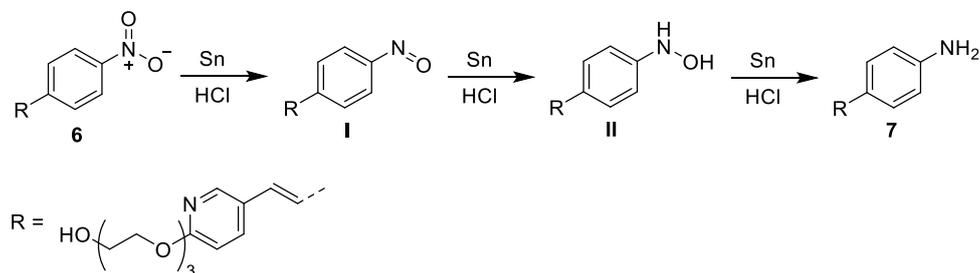
La primera reacción, la sustitución del cloro por la cadena de trietilenglicol se produce mediante un mecanismo de sustitución nucleófila en un proceso que transcurre en dos etapas: adición y eliminación (Esquema 7). Aunque el proceso más común en los compuestos aromáticos es la sustitución electrófila aromática, también puede tener lugar el ataque de un nucleófilo sobre un anillo aromático siempre que este tenga grupos electro atractores que lo activen. Este es el caso del derivado **5**, cuyo sustituyente *p*-nitroestilbeno activa la posición sobre la que se encuentra localizado el cloro por efecto conjugativo (Esquema 7a) pudiendo ser este atacado por un nucleófilo como un alcóxido, eliminándose cloro y formándose el producto **6** (Esquema 7b) (WIPO, s. f. c-):



Esquema 7. a) Representación de una de las formas resonantes del producto **5**. b) Mecanismo de síntesis del compuesto **6**.

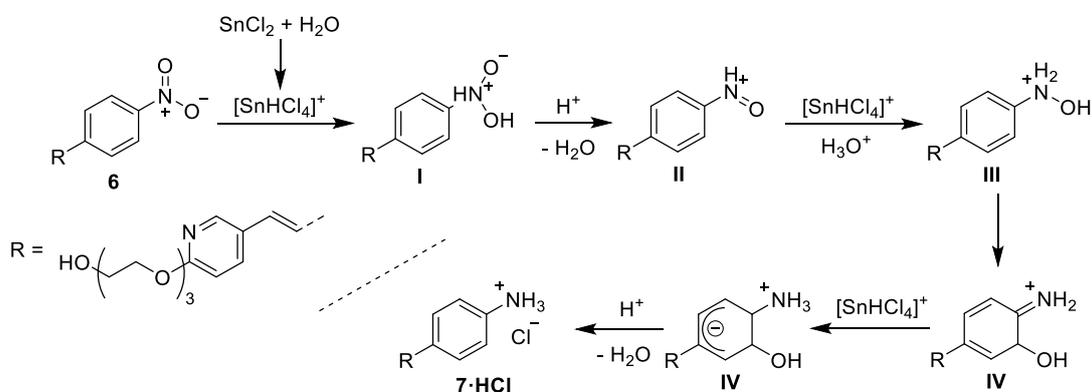
La reducción del grupo nitro del compuesto **6** a amina se realiza empleando SnCl_2 en medio ácido como agente reductor (Ashenhurst, 2023). La transformación del grupo $-\text{NO}_2$ en $-\text{NH}_2$ no está

esclarecido mecanísticamente, pero comúnmente se ha aceptado como correcta la transformación representada en el esquema 8, en la que el grupo nitro se transforma en -NO (**I**), este en hidroxilamina (-NH-OH, **II**) y este ya por último en la amina (**7**) (Yamabe y Yamazaki, 2016).



Esquema 8. Secuencia de reducción del grupo nitro a amina para la transformación de 6 en 7.

Sin embargo, la falta total de esclarecimiento del mecanismo sigue dando lugar a estudios para tratar de esclarecer cómo transcurre esta transformación. Un estudio teórico sugiere que el verdadero agente reductor es un complejo hidruro de $[\text{SnHCl}_4]^+$ que se forma tras la reacción de oxidación de Sn (**II**) a Sn (**IV**) (Yamabe y Yamazaki, 2016). El complejo mencionado actúa como dador de hidruro sobre el grupo nitro, formándose el intermedio **I** que se muestra en el esquema 9. En el mismo estudio teórico referenciado se realiza una simulación sobre cómo **II** se transforma en **7**, proponiendo que dicha transformación transcurre vía un reordenamiento de tipo Bamberger (Esquema 9).

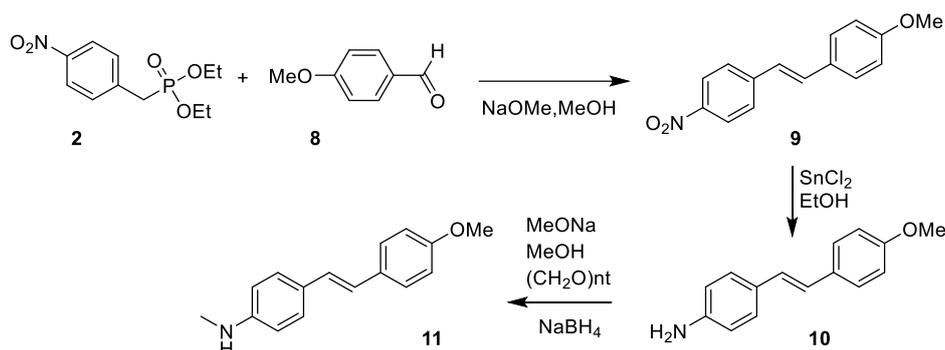


Esquema 9. Secuencia de reducción del grupo nitro a amina según el estudio teórico de Yamabe y Yamazaki (2016).

La metilación del grupo amino del compuesto **7** para obtener **4a** se realiza empleando polioximetileno [poliformaldehído; $(\text{CH}_2\text{O})_n$] en medio básico (metóxido sódico en metanol). El poliformaldehído en este medio de reacción sufre hidrólisis, generando formaldehído, el cual reacciona con el compuesto **7** dando lugar a un proceso de metilación reductora.

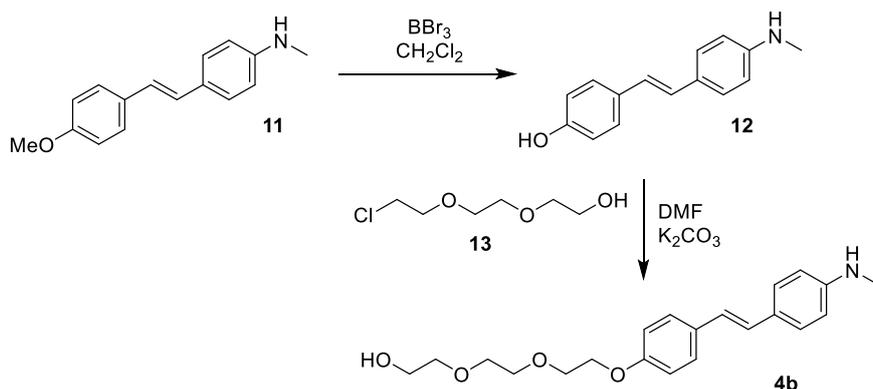
4.4.1.2 Florbetaben

La síntesis de este compuesto comienza por la reacción de Horner-Wadsworth-Emmons entre **2** y el *p*-metoxibenzaldehído **8** seguida de la reducción del grupo nitro a amino, obteniéndose así el compuesto **10**. Este último compuesto se metila para obtener así **11**, volviéndose a emplear la estrategia de metilación reductiva empleando poliformaldehído como reactivo. (Esquema 10) (Ono et al., 2003 y Barluenga et al., 1984).



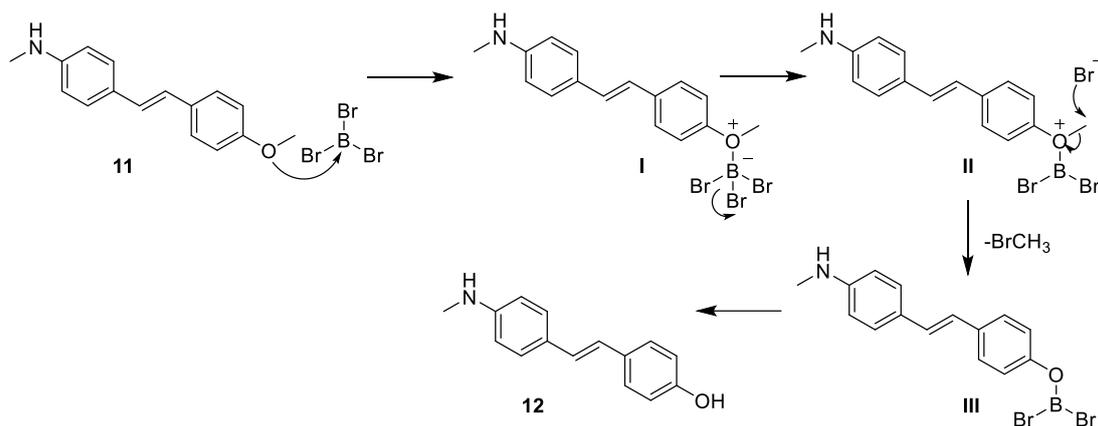
Esquema 10. Síntesis de la metilamina **11**.

A continuación, se desmetila el oxígeno para obtener un grupo alcohol libre, el cual se desprotona al tratarlo con base, haciendo posible que este ataque al cloruro **13** y se genere **4b** (Esquema 11) (Ono et al., 2003).



Esquema 11. Síntesis del derivado **4b** a partir de **11**.

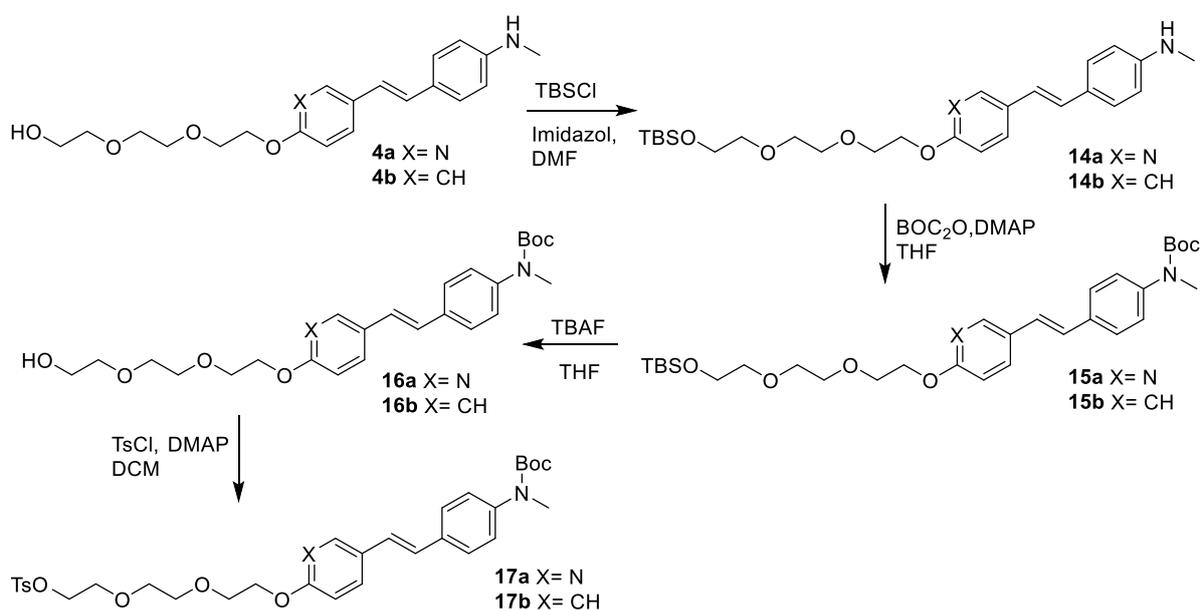
La desmetilación de **11** empleando el tribromuro de boro comienza por la formación de un enlace dativo entre el heterociclo y el ácido de Lewis, liberándose un anión bromuro el cual se encarga de abstraer el metilo. El procesado de la reacción añadiendo agua al medio de reacción permite aislar el alcohol **12** (Esquema 12) (Kosak et al., 2015).



Esquema 12. Mecanismo de desmetilación de **11** empleando BBr_3 .

4.4.1.3 Síntesis de Florbetapir y Florbetaben a partir de **4**

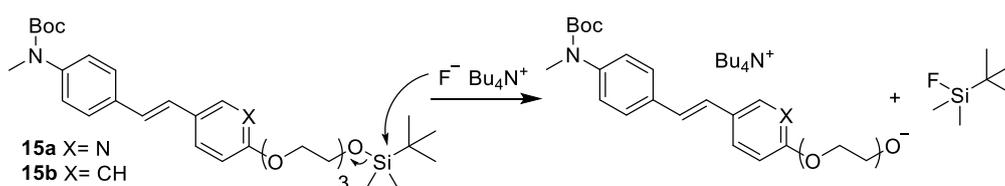
Una vez ambas rutas sintéticas hayan convergido en **4**, los siguientes pasos de reacción consisten en una serie de operaciones de protección-desprotección de los grupos hidroxilo y amino y, por último, activación del OH introduciendo el resto tosilo (Esquema 13) (WIPO, s. f. c-; Zhang et al., 2005).



Esquema 13. Transformación de la amina **4** en el tosionato **17**.

Esta serie de transformaciones comienza con la protección del resto hidroxilo en forma de silano para formar el compuesto **14** (Esquema 13). Para ello, se emplea el cloruro de *tert*-butilidimetilsililo (TBSCl) en presencia de imidazol. Este heterociclo actúa como base, interaccionando con los hidrógenos del grupo hidroxilo y fomentando el ataque del oxígeno sobre el silicio. Este compuesto **14** a continuación se hace reacción con dicarbonato de di-*tert*-butilo (también conocido como BOC anhídrido) en medio

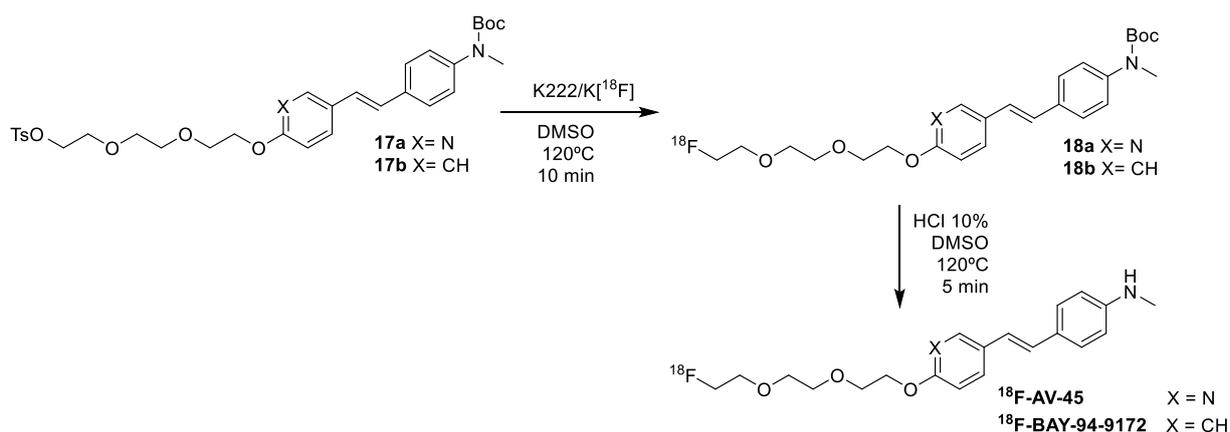
básico con el fin de proteger el grupo amino, que es susceptible de sufrir tosilación, una reacción no deseada en esta ruta sintética (Gala *et al.*, 2022). La distinta reactividad entre los grupos protectores permite eliminar uno u otro de forma selectiva seleccionando las condiciones de reacción, como es el caso de la transformación de **15** a **16** (Esquema 13) en el que se elimina únicamente el grupo protector silano. Esta reacción se realiza con fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF). Esta reacción transcurre vía S_N2 , en el que el fluoruro ataca nucleófilamente al silicio de la molécula y actuando como grupo saliente el alcóxido correspondiente al compuesto **16** (Esquema 14), el cual se aísla en su forma neutra tras el tratamiento de la reacción (WIPO, s. f. c-; Zhang *et al.*, 2005).



Esquema 14. Mecanismo de desprotección de silanos con TBAF.

El último paso, la activación del hidroxilo, es el previo a la introducción del flúor-18 sobre la molécula. El tosilato **17** (Esquema 13) se obtiene por reacción de **16** con cloruro de tosilo y en presencia de DMAP como base. El mecanismo por el cual tiene lugar este proceso es similar al descrito para la síntesis del silano **4** (Benedum, 2008).

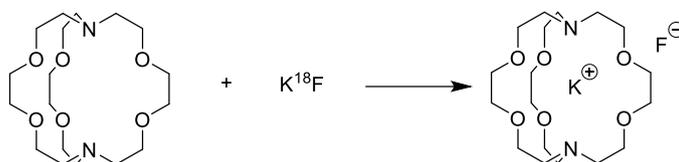
La síntesis del Florbetapir ^{18}F -AV-45 y Florbetaben ^{18}F -BAY-94-9172 se lleva a cabo en dos pasos a partir del tosilato **17**: Fluoración y desprotección de la amina (Leung, 2010; Wang *et al.*, 2013) (Esquema 15). Como ya se ha comentado en la introducción, es fundamental que estos procedimientos de síntesis y purificación sean rápidos ya que en ellos se habrá introducido el isótopo de flúor radiactivo.



Esquema 15. Síntesis de Florbetapir y Florbetaben a partir del tosilato **18** (Leung, 2010; Zhang *et al.*, 2005).

En el paso de fluoración de **17** se utiliza K^{18}F como fuente de anión fluoruro. Para que esta reacción se produzca de manera exitosa en un corto tiempo de reacción es necesario que el anión se encuentre lo

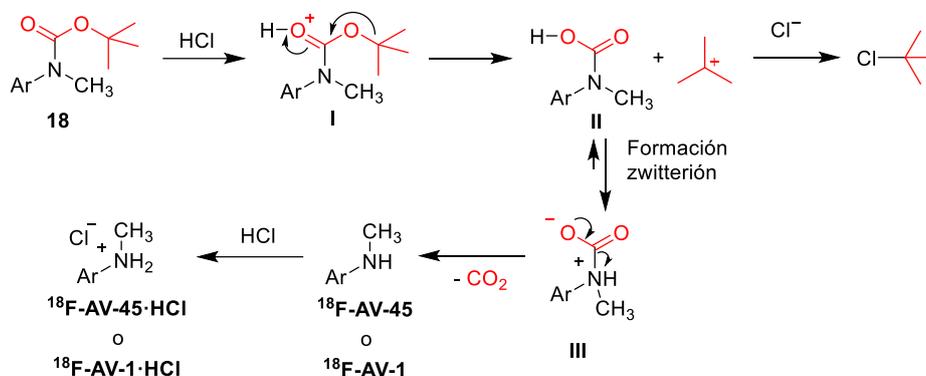
más desligado posible del potasio para que pueda atacar de manera rápida mediante un proceso S_N2 al tosilato. Esto se consigue gracias a la adición de *4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.8]hexacosano* o Kryptofix 222 (K222), un compuesto de tipo criptando que actúa como agente quelante del potasio, quedando el anión fluoruro disponible para realizar un ataque nucleófilo (Esquema 16) (Marcus, 2004).



Esquema 1. Quelación del catión potasio y liberación del anión fluoruro con K222.

La alta velocidad de reacción también está debida a la facilidad con la que se desplaza el grupo tosilato de la molécula **17**. La causa de que sea tan buen grupo saliente se debe a que se trata de una base muy débil, muy estabilizada por resonancia.

El último paso de esta ruta sintética consiste en la desprotección del grupo amino. En este caso, el grupo BOC se elimina en medio ácido tal según el mecanismo de eliminación de carbamatos que se muestra en el Esquema 17. Aunque esta hidrólisis está tan favorecida que suele tener lugar a temperatura ambiente, la necesidad de disminuir al máximo el tiempo de reacción hace necesario que dicha transformación se realice a altas temperaturas (Cheraiet *et al.*, 2012).



Esquema 17. Mecanismo de eliminación del grupo protector BOC (La estructura del grupo BOC aparece en rojo en este esquema para su identificación).

Los productos finales Florbetapir $^{18}\text{F-AV-45}$ y Florbetaben $^{18}\text{F-BAY-94-9172}$ obtenidos tras la eliminación del grupo BOC deben ser tratados rápidamente para poder preparar la solución inyectable. Como se muestra en el esquema 17, se espera que los productos $^{18}\text{F-AV-45}$ y $^{18}\text{F-BAY-94-9172}$ en un principio se obtengan en forma de sal ($^{18}\text{F-AV-45}\cdot\text{HCl}$ y $^{18}\text{F-BAY-94-9172}\cdot\text{HCl}$) debido al medio ácido en el que se realiza el último paso de reacción, por lo que es necesario liberar la molécula de manera previa a su purificación mediante HPLC.

La optimización de todas las operaciones en las que está implicado el flúor-18 ha permitido que el tiempo de operación necesario desde la fluoración de **17** (Esquema 15) hasta la obtención de la fórmula inyectable apta sea de 105 minutos (Liu *et al.*, 2010).

En cuanto a su comportamiento en el cuerpo humano, se ha observado que a los pocos minutos de la inyección se produce la captación más alta del marcador en el cerebro, seguida del aclaramiento durante los 30 minutos siguientes. La eliminación, mayoritariamente ocurre a través del hígado y su excreción por la vesícula biliar y el intestino. (EMA, s.f.-a).

En la Figura 8A se muestran imágenes comparativas de tomografías en pacientes a los que se les ha suministrado Florbetapir **¹⁸F-AV-45**. Las dos imágenes a la izquierda muestran las imágenes de un cerebro sin amloidosis, mientras que en la sección derecha pertenecen a un paciente con presencia de placas β -amiloides en el cerebro. Como puede observarse, la intensidad de la emisión de radiación gamma es mayor en el caso de la derecha debido a la presencia de una mayor concentración de **¹⁸F-AV-45**. En la Figura 8B se muestran resultados análogos en la inyección de Florbetaben **¹⁸F-BAY-94-9172**: La fila superior de imágenes muestra un ensayo negativo, mientras que el positivo aparece en la parte inferior.

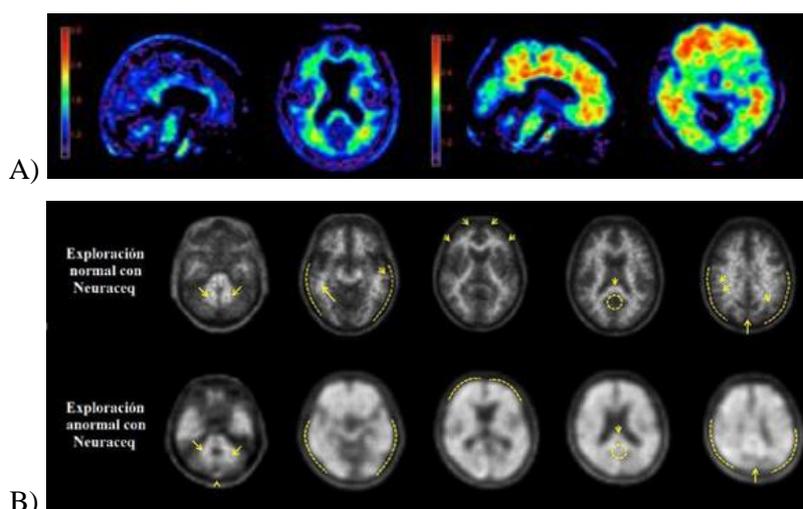


Figura 8. A) Imágenes PET con Florbetapir (Amyvid) (Amyvid gains European approval for Alzheimer's imaging, 2021). B) Exploración con Florbetaben negativa (fila superior) y positiva (fila inferior) (EMA, s.f.-b)

4.4.2 Flutemetamol

El Flutemetamol **¹⁸F-GE-067** (Figura 9), comercializado con el nombre de Vizamyl, fue aprobado por la FDA en 2013 y la EMA en 2014. El Flutemetamol también posee las propiedades ideales para atravesar la BHE con los siguientes datos: log P de 3,8, un TPSA de 45,15 Å² y un pKa de 9,23 ideales.

Su masa molecular es 273,32 g/mol y su fórmula molecular es $C_{14}H_{11}[^{18}F]N_2OS$. Su nombre es: 2-[3- ^{18}F]fluoro-4-(metilamino)fenil]-6-benzotiazolol (EMA, 2019).

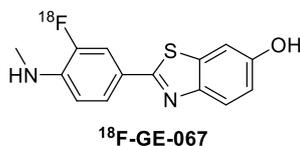
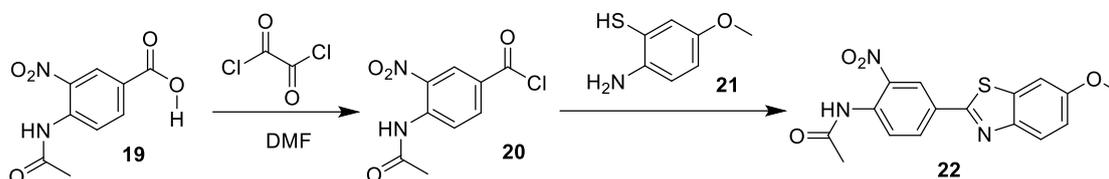


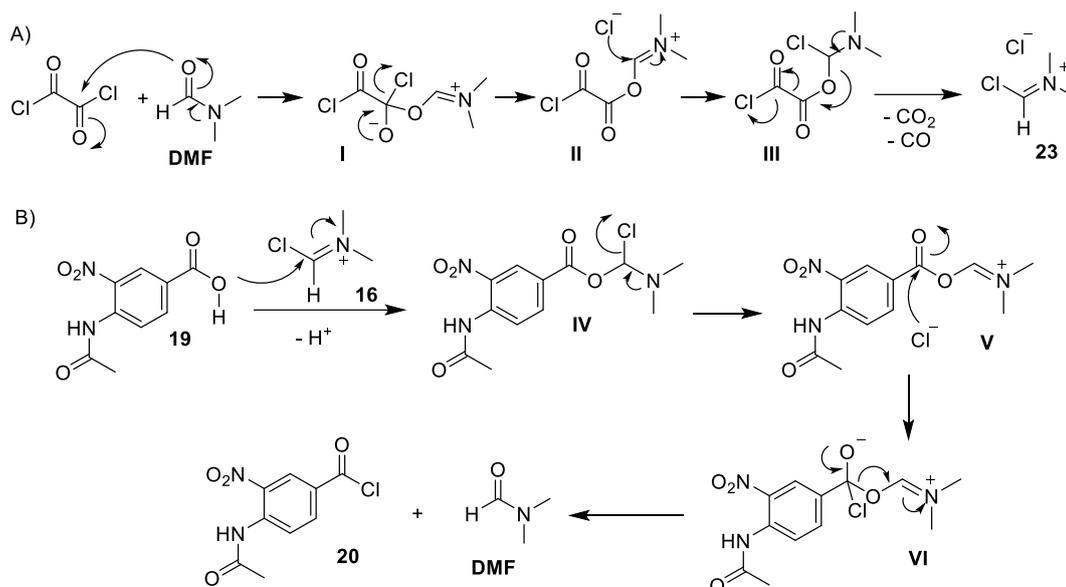
Figura 9. Estructura del Flutemetamol.

La síntesis del Flutemetamol ^{18}F -GE-067 (WIPO, s.f. a-) parte del ácido 4-acetamido-3-nitrobenzoico **19**. Este ácido se transforma en el cloruro acilo correspondiente **20** haciéndolo reaccionar con cloruro de oxalilo en DMF como disolvente y como catalizador (Esquema 18). Este cloruro **20** se hace entonces reaccionar con el derivado de 2-mercaptoanilina **21** para dar lugar al núcleo de benzotiazol presente en la estructura del Flutemetamol mediante un proceso de cicloadición oxidativa.

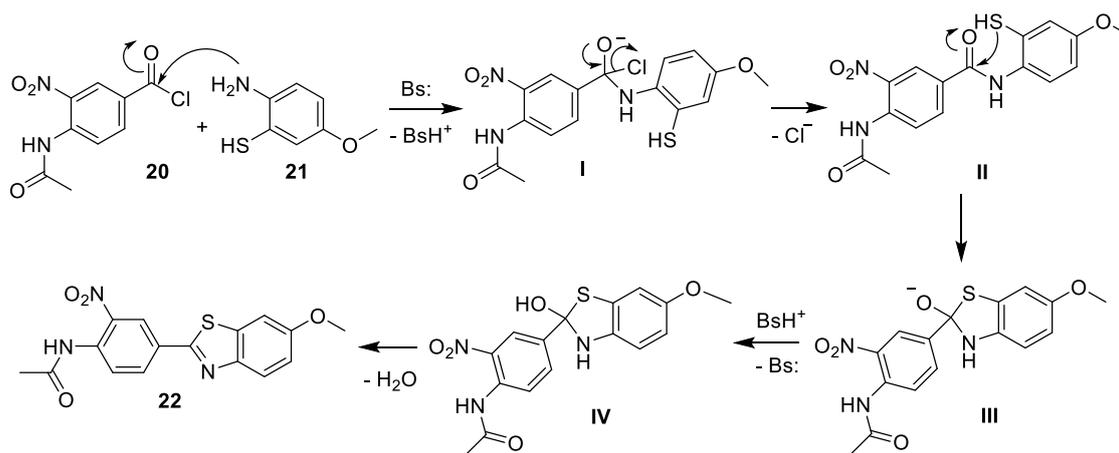


En cuanto al mecanismo pormenorizado, la formación del cloruro de acilo **20** comienza con la reacción entre el cloruro de oxalilo y la DMF presentes en el medio, generándose el compuesto altamente reactivo **23** (también conocido como reactivo de Vilsmeier) mostrado en el esquema 19A (Gazvoda et al., 2013). Este compuesto **23** es atacado por el ácido carboxílico, generándose el intermedio **IV** el cual evoluciona a **V** liberando cloruro. Este mismo vuelve a atacar al intermedio, generándose un proceso de adición-eliminación en el cual finalmente se obtiene el cloruro de ácido y regenerándose DMF (Esquema 19B).

La cicloadición oxidativa que tiene lugar entre el compuesto **20** y el derivado de 2-mercaptoanilina **21** transcurriría según el mecanismo que se propone en el esquema 20: En primer lugar, el producto **21** atacaría al cloruro de ácido **20** a través de su grupo amino (un nucleófilo más fuerte que el grupo tiol). Tras el proceso de adición-eliminación, quedaría la amida intermedia **II**. Esta sufre el ataque intramolecular del grupo tiol, formándose el anillo heterocíclico el cual, por pérdida final de agua, daría lugar al derivado de benzotiazol **22**.



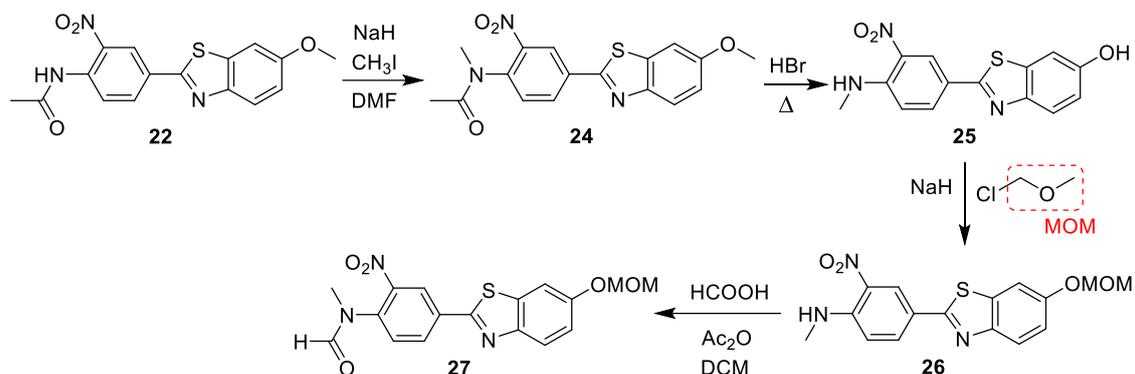
Esquema 19. A) Obtención del reactivo de Vilsmeier 23. B) Síntesis del cloruro de ácido 20 por reacción del ácido carboxílico 19 con el reactivo de Vilsmeier 23. (Magano, 2022)



Esquema 20. Mecanismo de cicloadición oxidativa entre 20 y 21 (Gao et al., 2020).

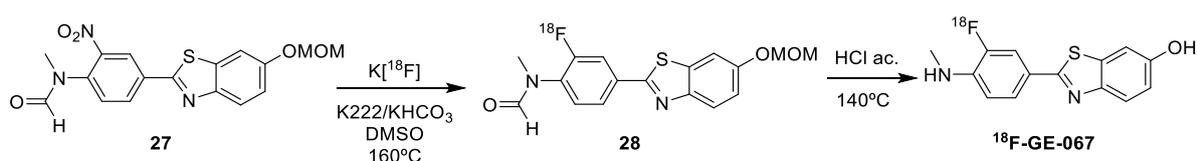
La síntesis continúa con una serie de transformaciones sobre la molécula que tienen como finalidad la obtención de un compuesto que tras la introducción de flúor-18 pueda ser fácilmente modificado y purificado para su inyección en el paciente. La secuencia de síntesis se muestra en el esquema 21 y consta de 5 pasos de reacción. La metilación del grupo amida de 22 se logra tratándola con una base muy fuerte: hidruro sódico. Así, el nitrógeno cargado negativamente puede atacar al yoduro de metilo, formando 24. En el siguiente paso se obtiene 25 por hidrólisis simultánea de dos grupos, quedando libres tanto el grupo amino recién metilado como un hidroxilo por la rotura del éter. Este grupo hidroxilo inmediatamente se vuelve a proteger con metoximetiléter (MOM), un grupo protector muy lábil y fácilmente eliminable en un paso posterior. Así, el producto 26 se obtiene tratando a 25 nuevamente con NaH, formándose un fenóxido que ataca al clorometilmetiléter una vez añadido al medio de reacción.

Al igual que el oxígeno, el grupo amina de **26** también se vuelve a proteger en forma de formamida, otro grupo protector rápido de eliminar en algún paso posterior. Dada la labilidad tanto del grupo MOM como de la formamida en un medio acuoso ligeramente ácido, es importantísimo mantener un medio estrictamente anhidro, por ello se añade anhídrido acético a la reacción: este anhídrido se hidroliza rápidamente en presencia de agua, generando ácido acético y manteniendo el medio anhidro (WIPO, s. f. a-).



Esquema 21. Continuación de la síntesis del Flutemetamol.

El compuesto **27** es el último precursor del Flutemetamol que no contiene el radioisótopo. Los siguientes pasos de esta síntesis consisten en la fluoración del compuesto y eliminación de los dos grupos protectores anteriormente descritos. La introducción del flúor-18 se realiza mediante una sustitución nucleófila aromática empleando fluoruro potásico como fuente de ^{18}F , en presencia de base y K222 y empleando condiciones severas de reacción con el fin de acelerar al máximo el proceso (Esquema 22). Por último, la hidrólisis de los grupos protectores MOM y formamida se realiza con tratamiento con ácido clorhídrico en condiciones de sobrecalentamiento (WIPO, s. f. b-).



Esquema 22. Síntesis de Flutemetamol $^{18}\text{F-GE-067}$ a partir de **27** (Mason et al., 2013).

El proceso de síntesis en el que está implicado el fluor-18 dura 55 minutos. El proceso de purificación, automatizado, se realiza mediante HPLC obtenido un compuesto con una pureza del 98%. Se estima que la absorción máxima de Flutemetamol en el cerebro se produce a los dos minutos de la inyección del radiomarcador, produciéndose posteriormente su aclaramiento y excreción por tracto urinario (EMA.,2019).

4.4.3 Radiomarcadores no aprobados

Pese a que los marcadores aprobados resultan válidos para la detección de β -amiloide, existe un gran margen de mejora para obtener moléculas con una mayor selectividad, facilidad para llegar al SNC, etc. con el fin de conseguir pruebas diagnósticas con una mayor sensibilidad y selectividad. Así, se siguen realizando esfuerzos por diseñar nuevos marcadores PET por diversos grupos de investigación ligados a la Química Médica, como los ejemplos que se muestran a continuación. Estos ejemplos se han seleccionado entre los numerosos que existen en la actualidad por su interés en cuanto a sus resultados prometedores como por la estructura de los compuestos mostrados, ya sea porque en su síntesis tienen lugar reacciones de interés general para la Química Orgánica o porque la estructura del compuesto es muy diferente a las de las moléculas ya aprobadas.

4.4.3.1 [^{18}F]-AZD4694

El [^{18}F]-AZD4694 (Figura 10), desarrollado por el grupo de Therriault *et al.* (2020), se está evaluando como radiomarcador basado en fluor-18 pero se caracteriza por poseer una estructura similar al ^{11}C -PiB, teniendo una alta afinidad por la proteína β -amiloide. Sus propiedades medidas para atravesar la BHE son adecuadas (el log P de 2,77, TPSA de 58,29 \AA^2 y 2 enlaces rotacionales). Su masa molecular es de 258,25 g/mol y su nombre químico es: 2-(2-[^{18}F]-fluoro-6-metilaminopiridin-3-il)benzofuran-5-ol.

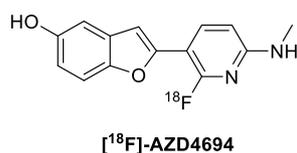
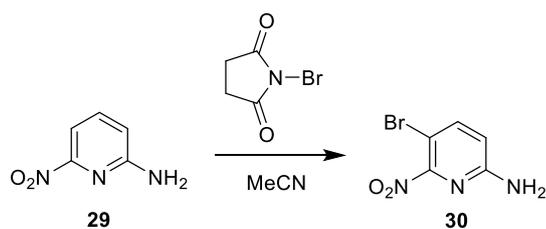


Figura 10. Estructura del ^{18}F -AZD4694

A diferencia de las síntesis de los compuestos ya descritos, que se tratan de métodos sintéticos lineales, la síntesis del [^{18}F]-AZD4694 se trata de un proceso convergente (European Patent Office, 2011). Primero, por un lado, se parte de la 2-amino-6-nitropiridina **29**, la cual se bromo empleando *N*-bromosuccinimida (NBS) empleando acetonitrilo como disolvente (Esquema 23).



Esquema 23. Bromación de la 2-amino-6-nitropiridina

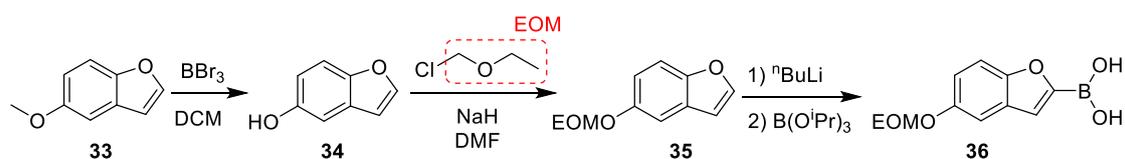
La piridina, como anillo π -deficiente que es, es una especie desactivada para tener una sustitución electrófila aromática. Sin embargo, la presencia del grupo amino que por efecto conjugativo cede densidad electrónica al anillo aromático activa lo suficiente al compuesto para que pueda atacar a la NBS pese incluso a la presencia del grupo nitro. El efecto orientador del grupo amino (activante) a posiciones *orto* y *para* se manifiesta sobre la orientación a *meta* que ejerce el grupo nitro.

A continuación, sobre el grupo amino de la piridina **30** se introduce un resto BOC y un grupo metilo, obteniéndose el compuesto **32** (Esquema 24). Para ello, la protección de **31** se realiza formando el amiduro correspondiente, esta vez empleando NaHMDS como base y adicionando dicarbonato de di-*tert*-butilo BOC₂O, obteniendo así **31**. Como en síntesis descritas con anterioridad, la metilación se realiza formando nuevamente un amiduro mediante tratamiento con hidruro de sodio en THF, el cual tras la adición de yoduro de metilo se transforma en el producto **32** (European Patent Office, 2011).



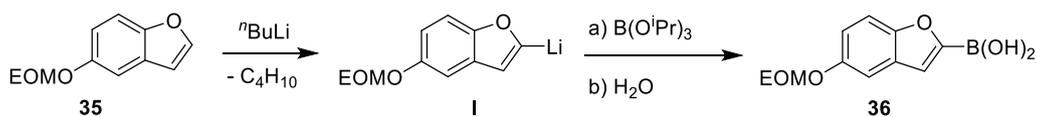
Esquema 24. Protección y metilación y protección del grupo amino del compuesto **30**.

Continuando con la descripción de la síntesis convergente, por otro lado, es preciso obtener un ácido borónico el cual se acoplará con el compuesto recién descrito **30**. La síntesis del ácido borónico mencionado se muestra en el Esquema 25 y parte del 4-metoxibenzofurano **33**, desmetilando igual que en el mecanismo del esquema 12. Las dos primeras transformaciones son análogas a las ya mostradas en la síntesis del Flutemetamol y consisten en la liberación del grupo hidroxilo para inmediatamente protegerlo en forma de éter de etoximetilo (EOM), un grupo protector lábil en medio ácido acuoso. El último paso consiste en la preparación del ácido borónico **36** (European Patent Office, 2011).



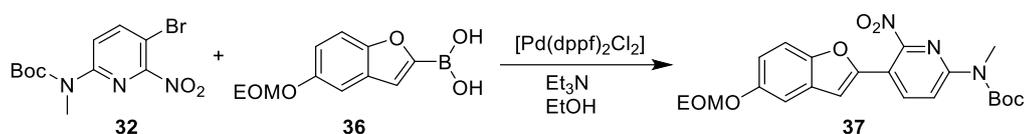
Esquema 25. Síntesis del ácido borónico **36** a partir del 4-metoxibenzofurano **33**.

La reacción de síntesis del ácido borónico **36** consta de dos etapas: 1º) tratamiento del benzofurano **35** con *n*-butillitio y 2º) posterior adición de triisopropilborato (Esquema 26). El *n*-butillitio actúa como base abstrayendo el protón en la posición 2- del benzofurano **35**. Cuando se añade sobre el organolítico intermedio **I** el borato, se produce la reacción entre ambos generándose, tras la elaboración de la reacción con disoluciones acuosas, el ácido borónico **36**.



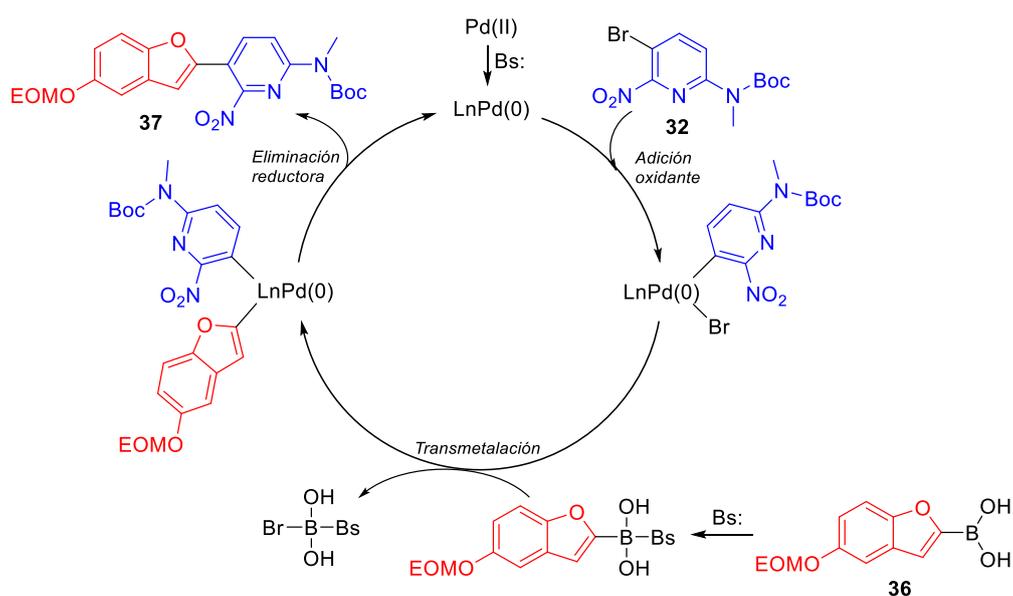
Esquema 26. Reacción de síntesis del ácido borónico **36**.

Una vez obtenidos los compuestos **32** y **36** se hicieron reaccionar mediante una reacción de tipo Suzuki en presencia de dicloruro de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II) ($[\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2]$) como catalizador y trietilamina como base en etanol como disolvente, obteniendo el compuesto **37** (Esquema 27) (European Patent Office, 2011).



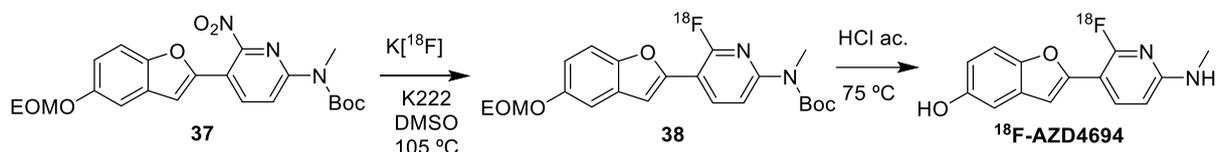
Esquema 27. Reacción de Suzuki entre la bromopiridina **32** y el ácido benzoico **36**.

Esta reacción de Suzuki es una reacción de acoplamiento cruzado carbono-carbono entre un ácido borónico y un halocarburo en el que un complejo de paladio (0) generado en el mismo medio de reacción actúa como catalizador. Este ciclo consta de 3 etapas: adición oxidante, transmetalación y eliminación reductora (Esquema 28). En la adición oxidante, el paladio se inserta en el enlace $\text{Csp}^2\text{-Br}$ de **32**, generándose un complejo organometálico de paladio (II). En la siguiente etapa, la transmetalación, se intercambia el bromo del complejo de Pd (II) por el anillo de benzofurano procedente del compuesto borónico. Por último, durante la etapa de eliminación reductora, se forma el nuevo enlace $\text{Csp}^2\text{-Csp}^2$ y regenerándose el complejo de Pd (0), que queda listo para un nuevo ciclo catalítico (Kandathil *et al.*, 2020).



Esquema 28. Ciclo catalítico de la reacción de Suzuki.

Como en el resto de las síntesis descritas en este trabajo, los dos últimos pasos de la ruta consisten en la fluoración y eliminación de grupos protectores en condiciones análogas a las descritas a las del Flutemetamol: Tratamiento con fluoruro potásico en presencia de K222 en DMSO seguido de hidrólisis en medio ácido a alta temperatura (Therriault *et al.*, 2020).



Esquema 29. Síntesis de ^{18}F -AZD4694.

La radiosíntesis del ^{18}F -AZD4694 se completa en aproximadamente 53 minutos: 27 minutos para los pasos de fluoración y desprotección y aproximadamente 26 minutos para su purificación, que se llevó a cabo mediante HPLC

Este compuesto ha llegado a fase 3 de ensayos clínicos, realizándose pruebas sobre humanos. En la Figura 11 se muestra un estudio cerebral desde dos ángulos distintos sobre la absorción del radiomarcador ^{18}F -AZD4694 en las estructuras diana (Therriault *et al.*, 2020).

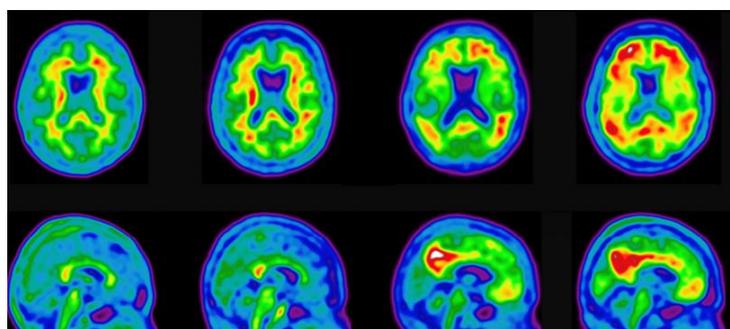


Figura 11. Imágenes PET de ensayos clínicos del ^{18}F -AZD4694.

4.4.3.2 [^{18}F]-MK-3328 y [^{18}F]-AD-269

Estos dos radiomarcadores desarrollados por el grupo de Harrison *et al.* (2011), están basados en benzoxazol y es uno de los ejemplos de moléculas que llegaron a hacerse pruebas en humanos, pero finalmente fueron descartadas por los motivos que se aportan al final de la discusión (Figura 12). Ambos compuestos tienen mejoras en la farmacocinética: Ambos radiomarcadores cumplen los parámetros para atravesar la BHE: MK-3328 posee un log P de de 2,53 y TPSA de 56,74 Å². Y AD-269 tiene un log P

de 3,07 y TPSA de 43,85 Å². Ambos compuestos tienen una buena afinidad por la materia gris, lo cual facilita que interactúen con las placas β-amiloides (Uzuegbunam *et al.*, 2020).

El nombre de [¹⁸F]MK-3328 es: 5-([¹⁸F]-fluoro)-2-(1-metil-2,3-dihidro-1H-pirrolo[2,3-*b*]piridin-5-il)oxazolo[5,4-*b*]piridina, y tiene una masa molecular de 269,27 g/mol. El nombre de [¹⁸F]AD-269 es: 5-([¹⁸F]-fluoro)-2-(1-metilindolin-5-il)oxazolo[5,4-*b*]piridina y tiene una masa molecular de 268,28 g/mol.

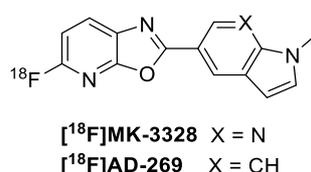
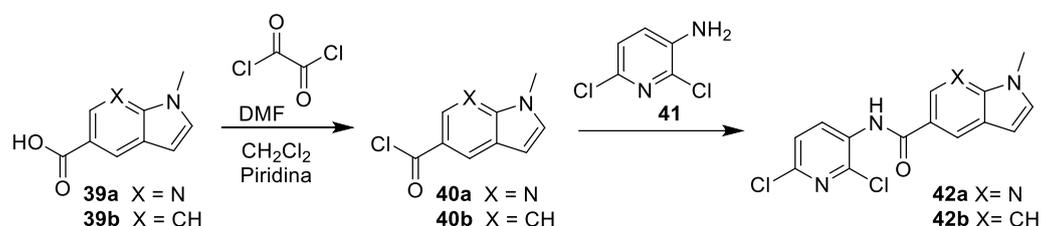


Figura 12. Esquema de reacción de [¹⁸F]-MK-3328 y [¹⁸F]-AD-269.

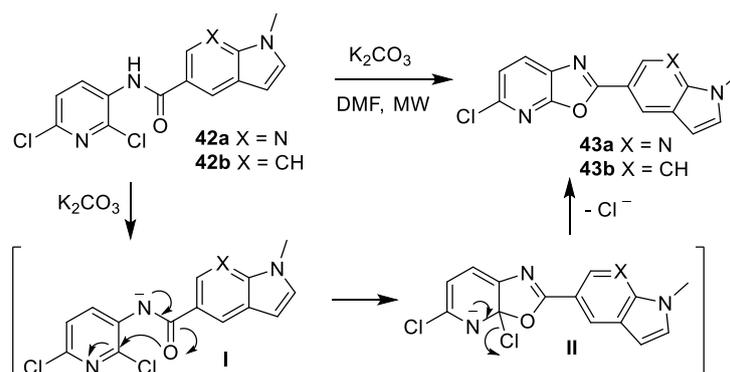
Comparados con otros radiomarcadores, [¹⁸F]MK-3328 y [¹⁸F]AD-269 tienen menos afinidad por la materia blanca que los radiomarcadores aprobados hasta la fecha, por lo que su uso idealmente ayudaría a obtener imágenes con una mayor sensibilidad (Chopra, 2012).

La síntesis de estos compuestos parte de los derivados de indol o azaindol **39**, los cuales se transforman en los cloruros de acilo **40** empleando cloruro de oxalilo con DMF como catalizador (Esquema 30), tal y como se mostró en el Esquema 19. Este reacciona con la 3-amino-2,6-dicloropiridina **41** para formar la amida **42** correspondiente (Esquema 30) (Harrison *et al.*, 2011).



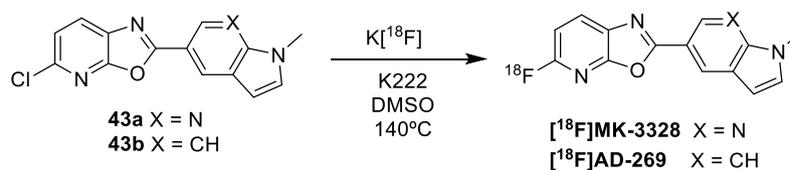
Esquema 30. Síntesis de las amidas **42** a partir de los ácidos carboxílicos **39**.

Seguidamente se realiza la ciclación oxidativa de **42** utilizando K₂CO₃ como base en DMF y bajo irradiación en microondas, obteniéndose así el compuesto **43** (Esquema 31). El medio básico posibilita la desprotonación de la amida pueda ser desprotonada, favoreciéndose el ataque del oxígeno sobre la posición 2- de la piridina. Este ataque nucleofílico sobre el anillo aromático se produce con relativa facilidad gracias al carácter π-deficiente de la piridina. El complejo de Meisenheimer **II** formado evoluciona al anillo heterocíclico neutro gracias a la rearomatización de la piridina y eliminación de anión cloruro (Esquema 31) (Harrison *et al.*, 2011).



Esquema 31. Ciclación oxidativa de 42.

El último paso de la síntesis de [^{18}F]MK-3328 y [^{18}F]AD-269 consiste en la fluoración (Esquema 32), que se realiza bajo las mismas condiciones de reacción ya descritas en este trabajo. Cabe destacar que en estos compuestos en particular no es necesario llevar ningún proceso adicional de desprotección de grupos funcionales, con el consiguiente ahorro de tiempo y recursos (Harrison et al., 2011).



Esquema 32. Esquema de reacción de [^{18}F]-MK-3328 y [^{18}F]-AD-269.

Actualmente, las pruebas en humanos han finalizado debido a la baja participación de sujetos de investigación con EA en las pruebas médicas. No se pudo realizar la determinación de la carga de placa amiloide y tampoco se realizó el umbral utilizando datos de imágenes PET obtenidos después de la administración de [^{18}F]MK-3328 (Harrison et al., 2011).

4.4.3.3 [^{18}F]-Fluorosulfatos de arilo

Las síntesis de los marcadores PET aprobados por agencias del medicamento así como otros que están en estudio se caracterizan por el uso de múltiples pasos de reacción y por la necesidad de añadir pasos de desprotección de grupos funcionales una vez que el compuesto está marcado con ^{18}F pero, como ya se ha visto en el apartado anterior, muchas de las síntesis están poniendo un esfuerzo considerable en hacer los compuestos deseados en menos pasos y en que la fluoración sea la última etapa de la síntesis. Las ventajas de reducir al máximo el tiempo de operación desde que se introduce el flúor-18 en la molécula hasta que se suministra el radiomarcador al paciente son tales que en el estudio publicado por He et al. (2022) y que se describe a continuación se consigue una fluoración en 30 segundos y a temperatura ambiente.

En dicho estudio (He *et al.*, 2022), se han sintetizado y evaluado 6 marcadores PET basados en derivados de benzotiazol (**SFA-1** y **SFA-2**), estilbeno (**SFA-3** y **SFA-4**) y estirilpiridina (**SFA-5** y **SFA-6**), donde cabe destacar el grupo funcional sobre el que se encuentra el flúor-18: un fluorosulfonato (Figura 13).

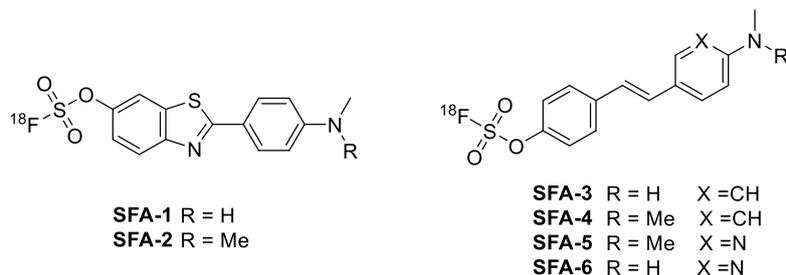


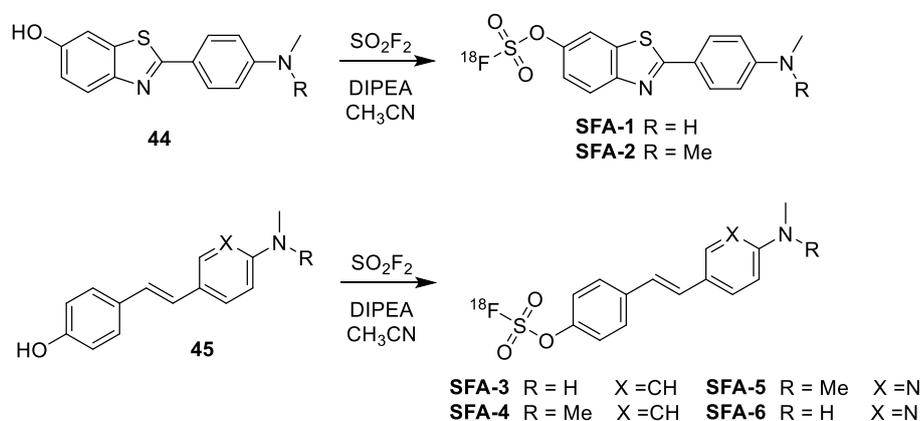
Figura 13. Estructura de los arilfluorosulfonatos SFA.

Todos los compuestos mostrados tienen características fisicoquímicas óptimas para su llegada al cerebro, exceptuando el TPSA de SFA-1 y SFA-2 (Tabla 1).

	log P	TPSA	Enlaces Rotacionales
SFA-1	2,78	117,8	4
SFA-2	2,95	109	4
SFA-3	3,4	63,78	5
SFA-4	3,54	54,99	5
SFA-5	2,92	67,88	5
SFA-6	2,74	76,67	5

Tabla 1. Características fisicoquímicas de los fluorosulfatos de arilo SFA.

Los derivados **SFA** que aparecen en la Figura 13 fueron preparados a partir de los compuestos **50** y **51** haciéndolos reaccionar con fluoruro de sulfurilo en presencia de diisopropilietilamina (DIPEA) como base y en acetonitrilo como disolvente (Esquema 33). La reacción se produce en 30 segundos y a temperatura ambiente gracias a la baja energía del enlace S-F que se debe romper, posibilitando la formación del fluorosulfonato rápidamente.



Esquema 33. Síntesis de los sulfonatos de arilo SFA.

Los ensayos realizados con seres vivos mostrados en la publicación para este grupo de radiomarcadores fueron realizados en ratones, donde todos resultaron llegar adecuadamente al cerebro y tener afinidad por β -amiloide. En la Figura 14 aparecen la absorción cerebral en los ratones con cada compuesto, medido a los 10-15 minutos y a los 60-65 minutos desde la inyección. Se puede observar que el aclaramiento de **SFA-1** y **SFA-2** es más lento que en el resto mientras que **SFA-5** y **SFA-6** (derivados de estirilpiridina) son eliminados más rápidamente del cerebro. Ese último resultado, tanto de llegada como de retirada rápida del cerebro es muy deseable para las pruebas diagnósticas PET con el fin de someter al paciente a una menor radiación.

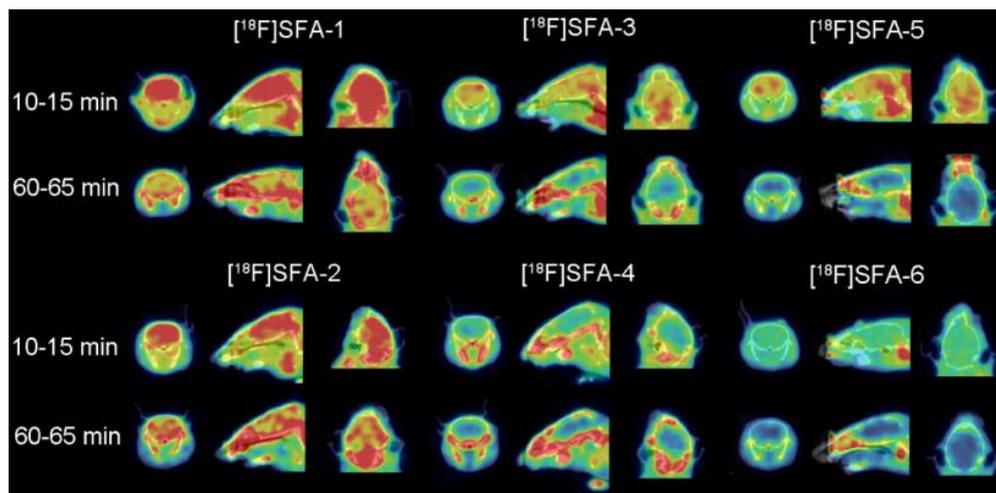


Figura 14. Imágenes PET de los ratones con SFA

Por último, en el estudio de He *et al.* (2022) se realizaron ensayos de afinidad y sensibilidad de los compuestos **SFA** en cerebro humano se realizaron *in vitro*, observando interacción selectiva por las placas β -amiloides, por lo que estas moléculas son un ejemplo de compuestos en desarrollo que, en un futuro, tras seguir todo el proceso de ensayos clínicos, podrían alcanzar la aprobación para su uso en ensayos PET.

5. Conclusiones

La detección de placas β -amiloides en el cerebro de personas que comienzan a manifestar síntomas de deterioro cognitivo es una herramienta clave para la ayuda al diagnóstico de cualquier daño cerebral o enfermedad neurodegenerativa.

Dichos agregados proteicos pueden ser detectados *in vivo* mediante técnicas no invasivas, siendo la Tomografía por Emisión de Positrones una de las más adecuadas. Para ello, ya se han desarrollado y aprobado tres radiomarcadores (Florbetapir, Florbetaben y Flutemetamol), aunque sigue siendo deseable el desarrollo de nuevos marcadores que permitan detectar de manera más selectiva y eficaz las placas β -

amiloides, por ello sigue haciéndose un gran esfuerzo por parte de investigadores para el desarrollo de nuevos marcadores PET.

En este trabajo se ha descrito la síntesis de los compuestos ya aprobados para su administración en pacientes, mostrando cuidadosamente los mecanismos de las reacciones que no resultan triviales. Estas síntesis en general son lineales, largas y requieren un paso adicional de desprotección de grupos funcionales tras la introducción del flúor-18.

También se han incluido la síntesis detallada de otros compuestos que se encuentran en desarrollo para su evaluación en humanos. De una manera u otra, se trata de desarrollar nuevas moléculas que permitan detectar β -amiloides en cerebros de humanos de una forma más eficaz, ya sea porque tienen una mayor selectividad y afinidad por las placas o porque su síntesis transcurre en menos pasos de reacción y/o menor tiempo de operación desde que se introduce el flúor radiactivo.

Como conclusión, cabe destacar que todos estos esfuerzos por parte de investigadores de todo el mundo conducirán a, algún día, lograr un diagnóstico precoz para llevar a cabo una terapia eficaz contra la enfermedad de Alzheimer y otras neurodegenerativas. Esto será posible a medida que se vaya consiguiendo comprender sus causas, mecanismos de acción y formas de detener e, idealmente, revertir los efectos de tales enfermedades.

6. Bibliografía

- Alzheimer's Dement. 2016 March; 12(3): 292–323. <https://doi:10.1016/j.jalz.2016.02.002>.
- Alzheimer's Disease fact Sheet. (s. f.). National Institute on Aging. <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-and-dementia/alzheimers-disease-fact-sheet>
- Amyvid gains European approval for Alzheimer's imaging. (2021, 3 octubre). Imaging Technology News. <https://www.itnonline.com/content/amyvid-gains-european-approval-alzheimer%E2%80%99s-imaging>
- Antoni, G. (2015). Development of carbon-11 labelled PET tracers—radiochemical and technological challenges in a historic perspective. *Journal Of Labelled Compounds And Radiopharmaceuticals*, 58(3), 65-72. <https://doi.org/10.1002/jlcr.3258>
- Antoni, G. (2019). *The Radiopharmaceutical Chemistry of Carbon-11: Basic Principles*. SpringerLink. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-98947-1_11
- Ashenhurst, J. (2023). More Reactions on the Aromatic Sidechain: Reduction of Nitro Groups and the Baeyer Villiger. *Master Organic Chemistry*. <https://www.masterorganicchemistry.com/2018/10/08/nitration-baeyer-villiger/>
- Aygün, D., y Güngör, İ. (2015). Why is Alzheimer disease confused with other dementias? *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45, 1010-1014. <https://doi.org/10.3906/sag-1405-47>
- Bacskaï, B. J., Klunk, W. E., Mathis, C. A. y Hyman, B. T. (2002). Imaging Amyloid- β Deposits In Vivo. *Journal of Cerebral Blood Flow y Metabolism*, 22(9), 1035-1041. <https://doi.org/10.1097/00004647-200209000-00001>
- Banerjee, G.; Farmer, S.F.; Hyare, H.; Jaunmuktane, Z.; Mead, S.; Ryan, N.S.; Schott, J.M.; Werring, D.J.; Rudge, P. y Collinge, J. (2024) Iatrogenic Alzheimer's disease in recipients of cadaveric pituitary-derived growth hormone. *Nature Medicine*. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02729-2>
- Barluenga, J., Bayón, A. M., & Asensio, G. (1984). A new and specific method for the monomethylation of primary amines. *Journal Of The Chemical Society*, 0(20), 1334-1335. <https://doi.org/10.1039/c39840001334>
- Benedum, T.; Golding, G.; Lim, N. y Zhang, W. (2008). WO2010078370A1 - Synthesis of 18f-radiolabeled styrylpyridines from tosylate precursors and stable pharmaceutical compositions thereof - Google Patents. <https://patents.google.com/patent/WO2010078370A1/en>

- Berger, A. (2003b). Positron emission tomography. *BMJ*, 326(7404), 1449-1449. <https://doi.org/10.1136/bmj.326.7404.1449>
- Blancas-Mejía, L.M., Ramirez-Alvarado, M. (2013) Systemic Amyloidoses. *Annu. Rev. Biochem.* 2013, 82, 745–774. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-072611-130030>.
- Buccino, P., Savio, E., y Porcal, W. (2019). Fully-automated radiosynthesis of the amyloid tracer [11C] PiB via direct [11C]CO₂ fixation-reduction. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/s41181-019-0065-4>
- Cheraïet, Z., Ouarna, S., Hessainia, S., Berredjem, M. y Aouf, N. E. (2012). N-tert-Butoxycarbonylation of Structurally Diverse Amines and Sulfamides under Water-Mediated Catalyst-Free Conditions. *ISRN Organic Chemistry*, 2012, 1-8. <https://doi.org/10.5402/2012/404235>
- Chopra, A (16 de Febrero de 2012). Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD). National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK84117/>
- Cummings, J., y Kinney, J. (2022). Biomarkers for Alzheimer’s Disease: Context of Use, Qualification, and Roadmap for Clinical Implementation. *Medicina*, 58(7), 952. <https://doi.org/10.3390/medicina58070952>
- Delso, G., Ter Voert, E. E. G. W., y Veit-Haibach, P. (2015). How does PET/MR work? Basic physics for physicians. *Abdominal Radiology*, 40(6), 1352-1357. <https://doi.org/10.1007/s00261-015-0437-5>
- Demencia. (2022, 20 septiembre). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- Drolle, E., Hane, F., Lee, B., Leonenko, Z. (2014) Atomic force microscopy to study molecular mechanisms of amyloid fibril formation and toxicity in Alzheimer’s disease. *Drug Metab. Rev.* 46, 207–223. <https://doi.org/10.3109/03602532.2014.882354>.
- Dubois, B., Hampel, H., Feldman, H. H., Scheltens, P., Aisen, P., Andrieu, S., Bakardjian, H., Benali, H., Bertram, L., Blennow, K., Broich, K., Cavado, E., Crutch, S., Dartigues, J., Duyckaerts, C., Epelbaum, S., Frisoni, G. B., Gauthier, S., Genthon, R., . . . Jack, C. R. (2016). Preclinical Alzheimer’s disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer’s y Dementia*, 12(3), 292-323. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.02.002>
- Edwards, F.A. (2019) A Unifying Hypothesis for Alzheimer’s Disease: From Plaques to Neurodegeneration. *Trends in Neurosciences* 42(5), 310-332. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.03.003>

- EMA (2017). *Ficha técnica o resumen de las características del producto. Florbetaben*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/neuraceq-epar-product-information_es.pdf
- EMA (2018). *Ficha técnica o resumen de las características del producto. Florbetapir*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/amyvid-epar-product-information_es.pdf
- EMA (2019). *Ficha técnica o resumen de las características del producto. Flutemetamol*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vizamyl-epar-product-information_es.pdf
- European Patent Office (2011). New benzofurans suitable as precursors to compounds that are useful for imaging amyloid deposits. <https://data.epo.org/publication-server/document?iDocId=5298862&iFormat=2>
- Eriksson, J., Ulin, J., y Långström, B. (2006). [11C]methyl iodide from [11C]methane and iodine using a non-thermal plasma method. *Journal Of Labelled Compounds And Radiopharmaceuticals*, 49(13), 1177-1186. <https://doi.org/10.1002/jlcr.1135>
- Gala, E., Recio, J., Alvarez-Builla, J., y Izquierdo, M. L. (2022). Synthesis of Florbetapir aza-analogues using chemistry of pyridinium N-aminides. *Arkivoc*, 2021(10), 164–182. <https://doi.org/10.24820/ark.5550190.p011.676>
- Gao, X., Liu, J., Zuo, X., Feng, X., y Gao, Y. (2020). Recent Advances in Synthesis of Benzothiazole Compounds Related to Green Chemistry. *Molecules*, 25(7), 1675. <https://doi.org/10.3390/molecules25071675>
- Gazvoda, M., Kočevár, M., y Polanc, S. (2013). In Situ Formation of Vilsmeier Reagents Mediated by Oxalyl Chloride: a Tool for the Selective Synthesis of N-Sulfonylformamidines. *European Journal Of Organic Chemistry*, 2013(24), 5381-5386. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201300402>
- George, N., Gean, E., Nandi, A., Brašić, J. R., y Wong, D. F. (2014). Radiotracers Used to Image the Brains of Patients with Alzheimer's Disease. *Imaging of the Human Brain in Health and Disease*, 407-416. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-418677-4.00016-6>
- Gunes, S., Aizawa, Y., Sugashi, T., Sugimoto, M. y Rodrigues, P. P. (2022). Biomarkers for Alzheimer's Disease in the Current State: A Narrative Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4962. <https://doi.org/10.3390/ijms23094962>

- Harapanhalli, R.S. (2010) Food and Drug Administration Requirements for Testing and Approval of New Radiopharmaceuticals. *Sem. Nucl. Med.* 40(5), 364-384. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2010.05.002>.
- Harrison, S. T., Mulhearn, J., Wolkenberg, S. E., Miller, P. E., O'Malley, S. S., Zeng, Z., Williams, D. R., Hostetler, E. D., Sanabria-Bohórquez, S. M., Gammage, L., Fan, H. J., Sur, C., Culberson, J. C., Hargreaves, R., Cook, J. J., Hartman, G. D., y Barrow, J. C. (2011). Synthesis and Evaluation of 5-Fluoro-2-aryloxazolo[5,4-b]pyridines as β -Amyloid PET Ligands and Identification of MK-3328. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2(7), 498-502. <https://doi.org/10.1021/ml200018n>
- He, Y., Zhu, X., Wang, K., Xie, J., Zhu, Z., Ni, M., Wang, S., y Xie, Q. (2022). Design, synthesis, and preliminary evaluation of [18F]-aryl fluorsulfates PET radiotracers via SuFEx methods for β -amyloid plaques in Alzheimer's disease. *Bioorganic y Medicinal Chemistry*, 75, 117087. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2022.117087>
- Hughes, C., Choi, M. L., Yi, J. H., Kim, S. C., Drews, A., George-Hyslop, P. S., Bryant, C., Gandhi, S., Cho, K., y Klenerman, D. (2020). Beta amyloid aggregates induce sensitised TLR4 signalling causing long-term potentiation deficit and rat neuronal cell death. *Communications Biology*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0792-9>
- Jiang, H., DiMagno, S. G., y DeGrado, T. R. (2015). Production and transport of gaseous 18F-synthons: 18F-acyl fluorides. *Journal of Fluorine Chemistry*, 180, 181-185. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2015.09.012>
- Kandathil, V., Kulkarni, B. S., Siddiqua, A., Kempasiddaiah, M., Sasidhar, B. S., Patil, S. A., y Patil, S. A. (2020). Immobilized N-Heterocyclic Carbene-Palladium(II) Complex on Graphene Oxide as Efficient and Recyclable Catalyst for Suzuki–Miyaura Cross-Coupling and Reduction of Nitroarenes. *Catalysis Letters*, 150(2), 384-403. <https://doi.org/10.1007/s10562-019-03083-0>
- Kosak, T. M., Conrad, H., Korich, A. L., & Lord, R. L. (2015). Ether Cleavage Re-Investigated: Elucidating the Mechanism of BBr₃-Facilitated Demethylation of Aryl Methyl Ethers. *European Journal Of Organic Chemistry*, 2015(34), 7460-7467. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201501042>
- Leung, K. (9 de Diciembre de 2010). Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32300/>
- Lindberg, A., Chassé, M., Varlow, C., Pees, A., y Vasdev, N. (2023). Strategies for designing novel positron emission tomography (PET) radiotracers to cross the blood–brain barrier. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 66(9), 205-221. <https://doi.org/10.1002/jlcr.4019>

- Lisova, K., Wang, J., Chao, P. H. y van Dam, R. M. (2020). A simple and efficient automated microvolume radiosynthesis of [18F]Florbetaben. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s41181-020-00113-w>
- Liu, Y., Zhu, L., Plössl, K., Choi, S. R., Qiao, H., Sun, X., Li, S., Zha, Z., y Kung, H. F. (2010). Optimization of automated radiosynthesis of [18F]AV-45: a new PET imaging agent for Alzheimer's disease. *Nuclear Medicine and Biology*, 37(8), 917-925. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2010.05.001>
- Lombardo, S. M., Schneider, M., Türeli, A. E. y Günday Türeli, N. (2020). Key for crossing the BBB with nanoparticles: the rational design. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 11, 866-883. <https://doi.org/10.3762/bjnano.11.72>
- López Durán, F. A., y Drucker Colín, R. (2004). La radioquímica de la [18-F]-FDG: la primera experiencia en México. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 7(2), 76-82.
- Lu, C., Zhao, Y., Wong, H.L., Cai, J., Peng, L., Tian, X., (2014) Current approaches to enhance CNS delivery of drugs across the brain barriers. *Int J Nanomedicine*. 9 (1), 2241-2257. <https://doi.org/10.2147/IJN.S61288>
- Magano, J. (2022). Large-Scale amidations in Process Chemistry: Practical considerations for reagent selection and reaction execution. *Organic Process Research y Development*, 26(6), 1562-1689. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.2c00005>
- Marcus, Y. (2004). Metal Ion Complexing by Cryptand 222 in Solutions. A Thermodynamic Approach. *Reviews in Analytical Chemistry*, 23(4). <https://doi.org/10.1515/revac.2004.23.4.269>
- Martínez, Ana. *El Alzheimer / Ana Martínez*. Madrid: CSIC, 2009. Print. ¿Qué Sabemos De? ; 2.
- Mason, N. S., Mathis, C. A., y Klunk, W. E. (2013). Positron emission tomography radioligands for in vivo imaging of A β plaques. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 56(3-4), 89-95. <https://doi.org/10.1002/jlcr.2989>
- Minoshima, S., Mosci, K., Cross, D., y Thientunyakit, T. (2021). Brain [F-18]FDG PET for Clinical Dementia Workup: Differential Diagnosis of Alzheimer's Disease and Other Types of Dementing Disorders. *Seminars In Nuclear Medicine*, 51(3), 230-240. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2021.01.002>
- Mosessian, S., Duarte-Vogel, S.M., Stout, D.B., Roos, K.P., Lawson, G.W., Jordan, M.C., Ogden, A., Matter, C., Sadeghi, S., Mills, G.Q., Schelbert, H.R., Radu, C.G., Czernin, J., Couto, M., Phelps,

- M.E. (2014) INDs for PET Molecular Imaging Probes—Approach by an Academic Institution. *Mol Imaging Biol* 16, 441–448. <https://doi.org/10.1007/s11307-014-0735-2>
- Naguib, Y. M. (2009). Synthesis of a [2.2.2] Cryptand Containing Reactive Functional Groups. *Molecules*, 14(9), 3600-3609. <https://doi.org/10.3390/molecules14093600>
- Nordberg, A. (2015). The use of amyloid imaging in clinical praxis: a critical review. *Clinical and Translational Imaging*, 3(1), 7-11. <https://doi.org/10.1007/s40336-015-0100-8>
- Okumoto, M. y Mizuno, A. (2001) Conversion of methane for higher hydrocarbon fuel synthesis using pulsed discharge plasma method. *Catalysis Today*, 71, 211–217. [https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(01\)00431-X](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(01)00431-X).
- Ono, M., Wilson, A. A., Nóbrega, J. N., Westaway, D., Verhoeff, P., Zhuang, Z., Kung, M., y Kung, H. F. (2003). ¹¹C-labeled stilbene derivatives as A β -aggregate-specific PET imaging agents for Alzheimer's disease. *Nuclear Medicine And Biology*, 30(6), 565-571. [https://doi.org/10.1016/s0969-8051\(03\)00049-0](https://doi.org/10.1016/s0969-8051(03)00049-0)
- Pascariu, A., Iliu, G., Bora, A., Iliescu, S., Popa, A., Dehelean, G., y Pacureanu, L. (2003). Wittig and Wittig-Horner reactions under phase transfer catalysis conditions. *Open Chemistry*, 1(4), 491-534. <https://doi.org/10.2478/bf02475230>
- Peñuelas Sánchez, I. (2001). Radiofármacos PET. *Rev. Esp. Med. Nuclear*, 20(6), 477-498.
- Pike, V. W. (2009). PET radiotracers: crossing the blood–brain barrier and surviving metabolism. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(8), 431-440. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.05.005>
- Porsteinsson, A., Isaacson, R., Knox, S., Sabbagh, M., y Rubino, I. (2021). Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. *The Journal Of Prevention of Alzheimer's Disease*, 1-16. <https://doi.org/10.14283/jpad.2021.23>
- Ruiz Hernández, G., Ávila y Ávalos, C.R. de, Carreras Delgado, J.L., (2005). Valor de la tomografía por emisión de positrones mediante ¹⁸F-fluoro-2-desoxi-D-glucosa (PET-FDG) en el diagnóstico de las neoplasias. *Med. Clin. (Barc)*, 124, 229–236. <https://doi.org/10.1157/13071769>
- Salloway, S., Gamez, J., Singh, U., Sadowsky, C., Villena, T., Sabbagh, M. N., Beach, T. G., Duara, R., Fleisher, A., Frey, K. A., Walker, Z., Hunjan, A., Escovar, Y. M., Agronin, M. E., Ross, J., Bozoki, A., Akinola, M., Shi, J., Vandenberghe, R., . . . Curtis, C. (2017). Performance of [¹⁸F] Flutemetamol amyloid imaging against the neuritic plaque component of CERAD and the current (2012) NIA-AA recommendations for the neuropathologic diagnosis of Alzheimer's disease.

- Alzheimer's y Dementia: Diagnosis, Assessment y Disease Monitoring, 9(1), 25-34. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2017.06.001>
- Selkoe, D.J. y Hardy, J. (2016) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol. Med.*, 8, 595-608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>
- Sergey, y Korenev, Sergey. (2014). Accelerators system for production of medical isotopes ^{18}F for PET Accelerators system for production of medical isotopes ^{18}F for PET Sergey Korenev.
- Therriault, J., Benedet, A. L., Pascoal, T. A., Savard, M., Ashton, N. J., Chamoun, M., Tissot, C., Lussier, F., Kang, M. S., Bezgin, G., Wang, T., Fernandes-Arias, J., Massarweh, G., Vitali, P., Zetterberg, H., Blennow, K., Saha-Chaudhuri, P., Soucy, J. P., Gauthier, S., y Rosa-Neto, P. (2020). Determining Amyloid- β Positivity Using ^{18}F -AZD4694 PET Imaging. *Journal of Nuclear Medicine*, 62(2), 247-252. <https://doi.org/10.2967/jnumed.120.245209>
- Uzuegbunam, B. C., Librizzi, D. y Yousefi, B. H. (2020). PET Radiopharmaceuticals for Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease Diagnosis, the Current and Future landscape. *Molecules*, 25(4), 977. <https://doi.org/10.3390/molecules25040977>
- Valotassiou, V., Malamitsi, J., Papatriantafyllou, J., Dardiotis, E., Tsougos, I., Psimadas, D., Alexiou, S., Hadjigeorgiou, G. y Georgoulas, P. (2018). SPECT and PET imaging in Alzheimer's disease. *Annals of Nuclear Medicine*, 32(9), 583-593. <https://doi.org/10.1007/s12149-018-1292-6>
- Wang, Y.; Lin, Q.; Shi, H. y Cheng, D. (2022) Fluorine-18: Radiochemistry and Target-Specific PET Molecular Probes Design. *Front. Chem.* 10:884517. <http://doi.org/10.3389/fchem.2022.884517>
- WIPO - Search International and National Patent Collections. (s. f. a-). <https://patentimages.storage.googleapis.com/a7/39/e7/404db8c5ed0c46/WO2007020400A1.pdf>
- WIPO - Search International and National Patent Collections. (s. f. b-). <https://patentimages.storage.googleapis.com/c2/e9/9f/72c3ee2fe175bf/WO2017071980A1.pdf>
- WIPO - Search International and National Patent Collections. (s. f. c-). <https://patentimages.storage.googleapis.com/e8/20/69/9877f09a1838ca/WO2010078370A1.pdf>
- Yamabe, S. y Yamazaki, S. (2016) A DFT study of reduction of nitrobenzene to aniline with SnCl_2 and hydrochloric acid. *J. Phys. Org. Chem.* 2016, 29 361–367. <https://doi.org/10.1002/poc.3543>.
- Yamin, G. y Teplow, D.B. (2017) Pittsburg Compound-B (PiB) binds amyloid β -protein protofibrils. *J. Neurochem.* 140, 210—215. <https://doi.org/10.1111/jnc.13887>
- Zhang, W., Oya, S., Kung, M., Hou, C., Maier, D. L., y Kung, H. F. (2005). F-18 Polyethyleneglycol stilbenes as PET imaging agents targeting $\text{A}\beta$ aggregates in the brain. *Nuclear Medicine And Biology*, 32(8), 799-809. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2005.06.001>

Zhang, X.; Hou, Y.; Peng, C.; Wang, C.; Wang, X.; Liang, Z.; Chen, B.; Dai, J.; Liu, B. y Cui, M. (2018) Oligoethyleneoxy-Modified ^{99m}Tc -Labeled β -Amyloid Imaging Probes with Improved Brain Pharmacokinetics fo rSingle-Photon Emission Computed Tomography. J. Med. Chem. 61, 1330-1339. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01834>