

# Síntesis de nuevos derivados del naftaleno

**Suchtil Rivera-Marrero, Marquiza Sablón-Carrazana, Rosa María López-Barroso,\* Rafaela Pérez-Perera, Alejandro Perera-Pintado,\*\* Anais Prats-Capote,\*\* Raine Garrido-Arteaga,\*\*\* Aniel Sánchez-Puente\*\*\*\* y Chryslaine Rodríguez-Tanty.**

Dpto. Biología Molecular, Centro de Neurociencias de Cuba, Avenida 25, No. 15202, esquina a 158, Playa, La Habana. Correo electrónico: suchtil@neuro.edu.cu. \*Facultad de Química, Universidad de la Habana, La Habana. \*\*Centro de Investigaciones Clínicas. Calle 34, esquina a 45, No.4501. Reparto Kholy, Playa, La Habana. \*\*\*Dpto. de Análisis, Centro de Química Biomolecular, 200 y 21, Atabey, Playa, La Habana. \*\*\*\*Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Avenida 31 entre 158 y 190, Playa, Apartado Postal 6162, La Habana, Código Postal 10600, Cuba.

Recibido: 13 de diciembre de 2010.

Aceptado: 28 de febrero de 2011.

Palabras clave: derivados del naftaleno, placas seniles, enfermedad de Alzheimer, fármacos antiinflamatorios no esteroidales, SPECT.  
Key words: naphthalene derivatives, senile plaques, Alzheimer's disease, non-steroidal anti-inflammatory drugs, SPECT.

**RESUMEN.** La enfermedad de Alzheimer (EA) constituye la causa más frecuente de demencia para la cual no existe cura hasta el momento. Se conoce que se desencadena por la aparición de placas seniles como resultado de la aglomeración de péptidos  $\beta$ -amiloides. El diagnóstico certero de la EA se realiza post-mortem. Recientemente, se evalúan métodos no invasivos para el diagnóstico *in vivo* de la enfermedad, mediante técnicas PET (de sus siglas en inglés Positron Emission Tomography), SPECT (de sus siglas en inglés Single Photon Emission Computed Tomography) y MRI (de sus siglas en inglés Magnetic Resonance Imaging). En el caso de la técnica SPECT, son descritos nuevos compuestos orgánicos marcados con los radionúclidos  $^{123}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ , y  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . De estudios epidemiológicos realizados se conoce que el empleo de fármacos antiinflamatorios no-esteroidales conduce a una disminución del riesgo relativo de padecer la EA. De ahí que en los últimos años, se haya incrementado la búsqueda de compuestos con estructura similar, para ser empleados como diagnosticadores o fármacos. El objetivo del presente trabajo consistió en sintetizar nuevos derivados del naftaleno, para ser utilizados posteriormente como agentes quelatantes del  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , para la detección de placas  $\beta$ -amiloides presentes en la EA. Para ello, mediante diversas reacciones, se introdujeron diferentes brazos espaciadores con distintas longitudes en la posición  $\alpha$ - (o 1-) de la molécula de naftaleno. Los compuestos fueron caracterizados estructuralmente por medio de las espectroscopias IR, RMN- $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  y espectrometría de masas.

**ABSTRACT.** Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia and there is no cure for this disease. It is known that it is triggered by the apparition of the senile plaques produced for the agglomeration of  $\beta$ -amyloid peptides. AD's reliable diagnosis is done post-mortem. Recently, non-invasive methods are evaluated for *in vivo* diagnosis of this disease by means of imaging techniques PET (Positron Emission Tomography), SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) and MRI (Magnetic Resonance Imaging). In the case of the SPECT technique, new organic compounds labeled with radionuclides  $^{123}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ , and  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  have been described. Epidemiological studies have revealed that the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs decreases the relative risk of AD. In the last years, the search of compounds with similar structures it has increased in order to be used as labels or drugs. The objective of this paper was to synthesize new naphthalene derivatives, for its further use as chelating agents of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , for the detection of  $\beta$ -amyloid plaque in the AD. Thus, spacer arms with different lengths were introduced at  $\beta$ -position (or 1-) of naphthalene molecule through various different reactions. The compounds were structurally characterized by IR,  $^1\text{H}$ -NMR and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopies and mass spectrometry.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) constituye la causa más frecuente de demencia y dadas las tendencias demográficas actuales, ha sido llamada la epidemia del siglo, por lo que se encuentra entre las seis afecciones consideradas por la OMS como una prioridad en relación con la salud mental.<sup>1</sup> Se calcula que a escala mundial 25 millones de personas sufren de la EA. Solo en los Estados Unidos de América, la prevalencia se estimó en 5 millones de personas en 2007 y se proyecta un incremento de hasta 13 millones para el 2050.<sup>2,3</sup>

La EA es un padecimiento neurodegenerativo que conduce a una demencia progresiva, cuya manifesta-

ción principal es la pérdida de la memoria. Actualmente, se realizan ingentes esfuerzos para su diagnóstico temprano con el objetivo de diseñar un tratamiento eficaz.

El diagnóstico definitivo de la enfermedad requiere el análisis de biopsias *post-mortem*,<sup>4</sup> que confirman la presencia de depósitos de amiloides o de enrejados neurofibrilares intraneuronales o de ambos, los cuales son identificados como los causantes de la enfermedad por diferentes investigadores.<sup>5,6</sup> En general, se emplean técnicas fluorescentes, con compuestos de tioflavina, chrisamina-G y otros, para la identificación de estas estructuras.<sup>4</sup>

A raíz de los estudios epidemiológicos,<sup>7-10</sup> en los cuales se relacionó el empleo de fármacos antiinflamatorios no-esteroidales con la reducción del riesgo relativo de padecer la EA, han surgido diferentes investigaciones en la búsqueda de moléculas, con estructuras similares a estos compuestos, para ser empleados como diagnósticos o fármacos para esta enfermedad. De acuerdo con lo reportado, existen evidencias de la afinidad de los derivados del naftaleno por las estructuras moleculares anteriormente mencionadas<sup>11,12</sup> y algunos derivados fueron marcados con <sup>18</sup>F con este fin (Fig. 1).<sup>13-16</sup>

El empleo del <sup>18</sup>F como radioisótopo presenta limitaciones, ya que su obtención depende de la existencia de un ciclotrón, cuya adquisición es costosa. Por otra parte, la importación del radioisótopo resulta engorrosa debido a que su tiempo de vida media es corto ( $t_{1/2} = 109,68$  min).<sup>17</sup> En medicina nuclear, el <sup>99m</sup>Tc es el radionúclido más utilizado (80 % de los procedimientos de diagnóstico), dado que es un emisor gamma puro, con una energía  $E_{\gamma} = 140$  keV, que se encuentra en el intervalo de mayor eficiencia de detección de las cámaras  $\gamma$ . Además, presenta un período de semidesintegración apropiado para los estudios de diagnóstico ( $t_{1/2}$ : 6,02 h). Estos factores permiten que el paciente reciba bajas dosis de radiación y una gran eficiencia de detección. En Cuba, su obtención a través de un generador de <sup>99</sup>Mo/<sup>99m</sup>Tc<sup>18</sup> es viable a precios asequibles.

El objetivo del presente trabajo es sintetizar nuevos derivados del naftaleno con diferentes brazos espaciadores en la posición  $\alpha$ - (o 1-) de la molécula, mediante diversas reacciones, para ser utilizados como agentes quelatantes del <sup>99m</sup>Tc, en estudios posteriores.

## PARTE EXPERIMENTAL

Todos los reactivos y disolventes fueron puros para síntesis (Merck, Inglaterra). La 1,2-etilendiamina y la 1,4-butilendiamina fueron destiladas y conservadas sobre perlas de KOH a -20 °C. La *N,N*-dimetilformamida (DMF) fue destilada a presión reducida y se conservó sobre tamices moleculares 4 Å. El 1,4-dioxano (puro para síntesis) se secó con sodio, se destiló y guardó sobre tamices moleculares 4 Å.

### Determinación del avance de la reacción y métodos de purificación de los productos

El progreso de las reacciones y la pureza de los productos obtenidos en las síntesis se determinaron mediante Cromatografía de Capa Delgada (CCD). Se

utilizaron placas pre-elaboradas de gel de sílice (Merck, Inglaterra), de 0,25 mm de grosor con indicador fluorescente (254 nm). Las fases móviles (f.m.) empleadas para el desarrollo de los cromatogramas fueron acetato de etilo (A), cloroformo-metanol (10 : 3) (B) y acetonitrilo-hidrógeno carbonato de amonio (0,1mol/L)-amoníaco (25 %) (7 : 1 : 1) (C).

Los productos obtenidos se purificaron por recristalización.

### Caracterización de los productos obtenidos

Las distancias relativas al frente del disolvente (Rf) de los productos obtenidos se calcularon y reportaron para cada sistema específico en que se realizaron las CCD. Las temperaturas de fusión (T.f.) fueron determinadas en un equipo *Electrothermal*, modelo 9100, las cuales no fueron corregidas. Los espectros infrarrojos se registraron en un espectrómetro de marca *ATI Mattson Genesis Serie FTIR* con transformada de *Fourier (FTIR)* en el intervalo de 400 a 4 000  $\text{cm}^{-1}$ . Se hicieron 35 barridos para cada muestra. Las muestras sólidas fueron preparadas en pastillas de bromuro de potasio a temperatura ambiente. La intensidad de las señales se clasificaron en: fuerte (f), media (m) y débil (d).

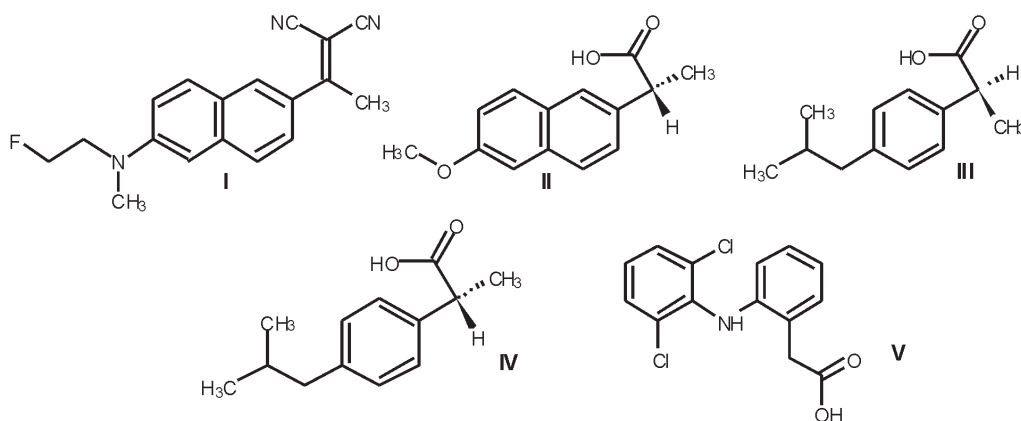
Los espectros monodimensionales RMN-<sup>1</sup>H y -<sup>13</sup>C fueron registrados en un equipo *Bruker* (modelo AC 250F) a 250,13 y 62,8 MHz, respectivamente. Los espectros HSQC se registraron en un equipo de la compañía *Variam Mercury-400F* a 400 y 100,5 MHz. Las muestras se disolvieron en dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- $d_6$ ). La multiplicidad de las señales para los espectros fue designada de la forma siguiente: singulete (s), doblete (d), triplete (t), cuadruplete (q), multiplete (m) y banda ancha (a). Las sustituciones de los átomos de carbono se obtuvieron a partir de los espectros *Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer (DEPT)* y fueron designadas las señales de la forma siguiente: carbono primario (p), secundario (s), terciario (t), el cuaternario (c).

Los espectros de masas se registraron en un Espectrómetro de Masas Híbrido con geometría ortogonal QTOF-2 (*Micromass, UK*).

### Síntesis de derivados del naftaleno

#### Obtención de la 1-(1-naftil)-2,5-pirrolidendiona (VII)

Cinco gramos de naftilamina (VI) (34,96 mmol), se disolvieron en 50 mL de 1,4-dioxano anhidro, se adicionaron 6,99 g de anhídrido succínico<sup>19</sup> (69,92 mmol) y 7,6 mL de *N*-metilmorfolina (NMM) (0,92 g/mL, 69,92 mmol).



**Fig. 1.** Estructura química de compuestos afines a placas  $\beta$ -amiloideas. I. 2-(1-(2-[(<sup>18</sup>F]fluoretil)(metil)amino]-2-naftil)etilen)malononitrilo (<sup>18</sup>FDDNP, marcador radioactivo).<sup>13-15</sup> II. (S)-naproxeno; III. (R)-ibuprofeno; IV. (S)-ibuprofeno; V. iclofenaco (antiinflamatorios no esteroidales).<sup>7-10</sup>

La mezcla de reacción (MR) se mantuvo a reflujo durante 5 h. Una vez concluida la reacción, se eliminó el disolvente mediante un evaporador rotatorio. El residuo sólido se disolvió en etanol, se enfrió y precipitó un sólido carmelita claro (5,20 g) (Rend.: 66 %). Posteriormente, el producto se recristalizó de etanol con el empleo de carbón activado, se obtuvieron 4,10 g de un sólido blanco (Rend.: 52 %). T.f.: 153,4 - 154,5 °C. (153 °C<sup>20</sup>). Rf: 0,5 (A). IR: 3 500 (d,  $\nu_{\text{CH}_2\text{SP}_2}$ ); 1 700 (f,  $\nu_{\text{CO}}$ ); 1 400 (m), 1 380 (m); 1 180 (f,  $\nu_{\text{CO}}$ ); 800(d); 780 (m). RMN-<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>/313K): 8,06 -7,41 (7H, m, 7CH<sub>arom</sub>); 3,04-2,84 (4H, m, 2-CH<sub>2</sub>). RMN-<sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>/313 K): 177,24 (2CO, c); 133,43 (C<sub>arom</sub>, c); 129,68 (C<sub>arom</sub>, c); 129,53 (C<sub>arom</sub>, c); 129,16 (CH<sub>arom</sub>, t); 128,20 (CH<sub>arom</sub>, t); 126,85 (CH<sub>arom</sub>, t); 126,60 (CH<sub>arom</sub>, t); 126,51 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,58 (CH<sub>arom</sub>, t); 122,83 (CH<sub>arom</sub>, t); 28,64 (2-CH<sub>2</sub>, s). ESI-MS (m/z) = 226 (M + 1)<sup>+</sup>.

#### Obtención del ácido 4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoico (VIII)

Diez gramos de VI (69,84 mmol) se disolvieron en 100 mL de 1,4-dioxano y se adicionaron 13,96 g de anhídrido succínico<sup>19</sup> (140 mmol). La MR se mantuvo a reflujo durante 2 h. A continuación, se enfrió a -20 °C y precipitó un sólido violeta que se filtró al vacío y se lavó con 1,4-dioxano. Se obtuvieron 15,82 g (Rend.: 93 %). Este sólido se recristalizó de etanol con el empleo de carbón activado. Se obtuvieron 11,40 g de un sólido blanco (Rend.: 67 %). T.f.: 167 - 169 °C (164 - 165 °C).<sup>21</sup> Rf: 0,32 (A). IR: 3 291 (m,  $\nu_{\text{COOH}}$ ); 1 714 (f,  $\nu_{\text{CO}}$ ), 1 656 (f); 1 533 (f); 1 500 (m); 1 431 (m); 1 398 (f); 1 348 (m); 1 250 (f); 1 203 (m); 1 170 (m); 913 (m); 789 (m); 775 (m). RMN-<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>/313K): 12,06 (1H, s, -COOH); 9,87 (1H, s, NH); 8,12-7,43 (7H, m, 7CH<sub>arom</sub>); 2,72 (2H, m, -NHCOCH<sub>2</sub>-); 2,60 (2H, m, -CH<sub>2</sub>COOH). RMN-<sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>/313 K): 173,71 (-COOH, c); 170,78 (-NHCO-, c); 133,62 (C<sub>arom</sub>, c); 133,62 (C<sub>arom</sub>, c); 127,91 (C<sub>arom</sub>, c); 127,91 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,71 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,58 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,4 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,04 (CH<sub>arom</sub>, t); 122,78 (CH<sub>arom</sub>, t); 121,52 (CH<sub>arom</sub>, t); 30,63 (-NHCOCH<sub>2</sub>-, s); 29,08 (-CH<sub>2</sub>COOH, s). ESI-MS (m/z) = 244 (M+1)<sup>+</sup>.

#### Obtención de la 4-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxy]-N-1-naftil-4-oxobutanamida (IX)

Dos gramos de VIII (8,23 mmol), 1,42 g de N-hidroxisuccinimida<sup>22</sup> (NHS, 12,34 mmol) y 2,54 g de dicitlohexilcarbodiimida (DCC, 12,33 mmol) se adicionaron a 32 mL de 1,4-dioxano anhidro. La MR se mantuvo a reflujo durante 3 h, se dejó enfriar a TA y se separó mediante filtración, la dicitlohexilurea (DCU) que se formó. A continuación, la fase líquida se concentró hasta la tercera parte de su volumen y se enfrió a -20 °C. El sólido blanco que precipitó se filtró, se lavó con abundante agua y éter, se secó al aire sobre papel y se obtuvieron 2,29 g del producto (Rend.: 82 %). T.f.: 168 - 171 °C. Rf: 0,5 (A). IR: 3 283 (m); 2916 (d); 1 729 (f,  $\nu_{\text{CO}}$ ); 1 666 (f); 1 562 (m); 1 208 (m); 1 104 y 1 083 (m). RMN-<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>/313K): 9,73 (1H, a, NH); 7,86-7,19 (7H, m, 7CH<sub>arom</sub>); 3,01-3,06 (4H, a, 2-CH<sub>2</sub>CO-); 2,66 (2H, m, -NHCOCH<sub>2</sub>-); 2,41 (2H, m, -CH<sub>2</sub>COO-). RMN-<sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>/313K): 171,67 (CO, c); 171,29 (CO, c); 133,72 (2CH<sub>arom</sub>, c); 127,83 (CH<sub>arom</sub>, c); 128,08 (CH<sub>arom</sub>, t); 126,00 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,77 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,57 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,15 (CH<sub>arom</sub>, t); 122,90 (CH<sub>arom</sub>, t); 121,59 (CH<sub>arom</sub>, t); 38,48 (2-CH<sub>2</sub>CO-, s); 31,38 (-CH<sub>2</sub>CONH-, s); 30,73 (-CH<sub>2</sub>COO-, s). ESI-MS (m/z) = 341 (M+1)<sup>+</sup>.

#### Obtención de la N<sup>1</sup>-(2-aminoetil)-N<sup>4</sup>-(1-naftil)succinimida (X)

**Método A (one pot).** A 5 mL de 1,4-dioxano anhidro, bajo atmósfera de N<sub>2</sub> seco, se adicionaron a 500 mg de VIII (2,06 mmol) y 283 mg de NHS<sup>22</sup> (2,46 mmol). A continuación, se goteó mediante un embudo igualador de presión, 507 mg de DCC (2,46 mmol) disueltos en 8 mL de

1,4-dioxano anhidro. La MR se mantuvo a reflujo durante 3 h, se dejó enfriar a TA y luego a -20 °C. La DCU que precipitó, se eliminó por filtración, la fase líquida se enfrió hasta 15 °C y se le adicionaron 180  $\mu$ L (2,7 mmol) de 1,2-etilendiamina disuelta en 1 mL de 1,4-dioxano. La mezcla MR se agitó durante 30 min a TA. Cuando concluyó la reacción (CCD), se enfrió a -20 °C hasta que precipitó un sólido blanco que se filtró y se lavó con 1,4-dioxano y éter de petróleo (30 - 40 °C). Se secó al aire y obtuvieron 584 mg de un sólido (Rend.: 98 %). Este sólido se resuspendió en agua, se filtró y lavó con abundante éter dietílico. Se secó al aire y obtuvieron 502 mg del producto puro (Rend.: 84 %). T.f.: 128,9 - 130,5 °C. Rf: 0 (A), 0,11 (C).

**Método B:** A un balón de 50 mL se le adicionan 24 mL de 1,4-dioxano anhidro, 2,00 g de VII (8,88 mmol) y 1,2 mL de 1,2-etilendiamina (17,76 mL). La mezcla de reacción se agita a TA durante 24 h. La pasta blanca que se forma se filtra y se lava con 1,4-dioxano y luego con éter de petróleo (30 - 40 °C). El filtrado (aguas madres de 1,4-dioxano), se agita por 24 h adicionales a TA, para obtener una segunda cosecha con igual procedimiento. Se obtuvieron 1,38 g (Rend.: 55 %). T.f.: 126,9 °C. A esta temperatura reblandece y a 193 °C funde con descomposición. Rf: 0,11 (C). IR: 3 283 y 3 200 (f,  $\nu_{\text{NH}_2}$ ); 1 644 (f,  $\nu_{\text{CO}}$ ); 1 535 (f,  $\delta_{\text{NH}}$ ,  $\nu_{\text{NHCO}}$  sim). RMN-<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>/313K): 9,46 (1H, a, -NH); 7,75-7,08 (7H, m, 7 CH<sub>arom</sub>); 2,74 (2H, m, -CONHCH<sub>2</sub>-); 2,38 (2H, m, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-); 2,35 (2H, a, -NH<sub>2</sub>-); 2,22 (2H, m, -COCH<sub>2</sub>-); 2,13 (2H, m, -CH<sub>2</sub>CO-). RMN-<sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>/313K): 171,32 (-NHCO-, c); 171,11 (-CONH-, c); 133,65 (2C<sub>arom</sub>, c); 133,56 (C<sub>arom</sub>, c); 127,82 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,67 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,46 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,30 (CH<sub>arom</sub>, t); 124,84 (CH<sub>arom</sub>, t); 122,63 (CH<sub>arom</sub>, t); 121,30 (CH<sub>arom</sub>, t); 41,02 (-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-, s); 38,38 (-CONHCH<sub>2</sub>-, s); 31,36 (-NHCOCH<sub>2</sub>-, s); 30,71 (-CH<sub>2</sub>CO-, s). ESI-MS (m/z) = 286 (M+1)<sup>+</sup>.

#### Obtención de la N<sup>1</sup>-(4-aminobutil)-N<sup>4</sup>-(1-naftil)succinamida (XI)

**Método A (one pot):** A 2,12 g de VIII (8,72 mmol), 1,42 g de NHS<sup>22</sup> (12,34 mmol) y 2,54 g de DCC (12,33 mmol) se adicionaron a 30 mL de 1,4-dioxano anhidro. La MR se mantuvo a reflujo durante 3 h, se dejó enfriar a TA y mediante filtración se separó la DCU que se formó. A la fase líquida, se le gotearon lentamente 2,6 mL (26,14 mmol) de 1,4-butilendiamina y se agitó durante 30 min, a TA. La mezcla de reacción se concentró a sequedad y el sirope que se obtuvo se disolvió en 10 mL de CHCl<sub>3</sub> y se lavó con agua (3 x 5 mL). Posteriormente, la fase clorofórmica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se concentró a sequedad. Al sirope que se obtuvo se le adicionaron 10 mL de éter dietílico y precipitó un sólido blanco que se filtró (Rend.: 72 %). T.f.: 142,2 - 150,8 °C. Rf: 0,1 (B).

**Método B:** A un balón de 50 mL se le adicionaron 24 mL de 1,4-dioxano anhidro, 2,00 g de VII (8,88 mmol) y 1,8 mL de 1,4-butilendiamina (17,76 mL). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 24 h. La pasta blanca que se formó se filtró y se lavó con 1,4-dioxano y luego con éter de petróleo (30 - 40 °C). El filtrado (aguas madres de 1,4-dioxano) se agitó por 24 h adicionales a TA, para obtener una segunda cosecha con igual procedimiento. Se obtuvieron 1,29 g (Rend.: 46 %). T.f.: 139,9 °C. A esta temperatura reblandece y a 215,2 °C funde con descomposición. Rf: 0,07 (C). RMN-<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>/313K): 9,45 (1H, a, NH); 7,73-7,08 (7H, m, 7CH<sub>arom</sub>); 2,73 (2H, m, -CONHCH<sub>2</sub>-); 2,56 (2H, a, -NH<sub>2</sub>-); 2,37 (2H, m, -CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-); 2,13 (4H, m, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CONH-); 1,06 (4H, a, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-). RMN-<sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>/313K): 171,24 (2-CO, c); 133,85 (CH<sub>arom</sub>, c); 133,73 (CH<sub>arom</sub>, c); 127,98 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,84 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,62 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,44 (CH<sub>arom</sub>, t); 125,00 (CH<sub>arom</sub>, t); 122,80 (CH<sub>arom</sub>, t); 121,40 (CH<sub>arom</sub>, t); 38,55 (-CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-, s); 38,36 (-CH<sub>2</sub>CO-, s);



31,59 (-NHCOCH<sub>2</sub>-, s); 30,85 (-CH<sub>2</sub>CONH-, s); 26,62 (2C, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-, s). ESI-MS (m/z) = 314 (M+1)<sup>+</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existen complejos obtenidos a partir de derivados de Rojo Congo y Chrisamina-G con <sup>99m</sup>Tc, que fueron evaluados como marcadores de placas β-amiloides.<sup>23-25</sup> Sin embargo, su empleo fue insatisfactorio debido a que los complejos obtenidos son cargados y tienen un peso molecular superior a los 500 Da, lo que impide que crucen la barrera hematoencefálica (BHC). Existen una serie de requisitos, además de los mencionados anteriormente, que deben cumplir los compuestos marcados para ser empleados como neuromarcadores, estos son: ser estables *in vivo*, presentar una lipofilidad moderada, poseer una baja interferencia con los metabolitos del cerebro, quedar retenidos por un tiempo suficiente que permita la realización de imágenes, ser muy específicos y sensibles por los depósitos β-amiloides, no presentar especificidad cruzada y no ser tóxicos.<sup>26-28</sup>

En el presente trabajo se exponen los resultados obtenidos en la síntesis de nuevos derivados del naftaleno, a los cuales se le han introducido diferentes brazos espaciadores con diferentes longitudes, en la posición α- (o 1-) de la molécula, mediante diversas reacciones (Fig. 2). En una próxima etapa del trabajo, se realizará la formación de complejos de <sup>99m</sup>Tc con núcleos de <sup>99m</sup>Tc-nitrilo y de <sup>99m</sup>Tc-oxo.<sup>29,30</sup>

La síntesis del intermediario 1-(1-naftil)-2,5-pirrolidendiona (**VII**) fue reportada a partir de la 1-naftilamina (**VI**) mediante diferentes procedimientos.<sup>31-33</sup> En los procedimientos descritos,<sup>31, 32</sup> la obtención se lleva a cabo mediante la fusión de **VI** y anhídrido succínico con bajos rendimientos. En 1992, Hubbard y col.<sup>20</sup> evaluaron el método reportado por Meyer<sup>33</sup> y comprobaron, a través de la caracterización espectroscópica, que el producto reportado no correspondía con **VII**, sino con el ácido 4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoico (**VIII**). En este mismo trabajo, Hubbard y col.<sup>20</sup> describieron la obtención de **VII**, a través de un procedimiento en dos pasos de reacción. En la primera etapa, la arilamina, disuelta en tolueno, se mantiene a reflujo con anhídrido succínico para obtener **VIII**. A continuación, el producto **VIII** se hace reaccionar con anhídrido acético y acetato de sodio para obtener finalmente **VII**, con un 52 % de rendimiento.

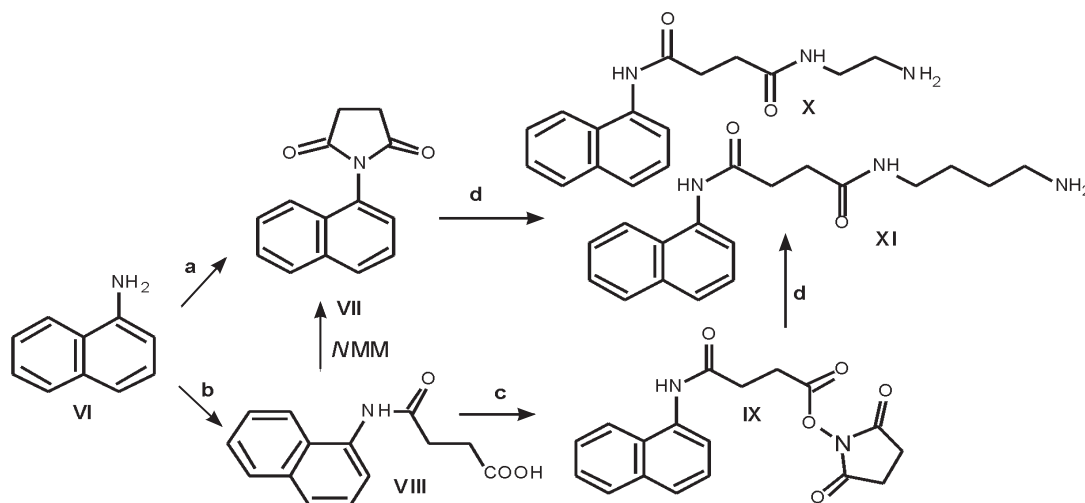
En el presente trabajo, se desarrolló un nuevo procedimiento que tiene como ventaja que no es necesario aislar **VIII** para la obtención de **VII**. Este procedimiento *one pot* se realiza a partir de la reacción de **VI** con anhídrido succínico, en presencia de una base como la N-metilmorfolina (Fig. 2, paso a). Diferentes experiencias se realizaron con el objetivo de determinar la relación molar óptima entre la NMN y la 1-naftilamina (Tabla 1).

De acuerdo con los resultados obtenidos por CCD, se comprobó que solo en el caso en que se empleen dos equivalentes de NMM, se produce la conversión total del producto de partida (**VI**, pKa = 3,92) en **VII**. La obtención de este compuesto tiene lugar por la formación del ácido **VIII** (CCD) que en presencia de la NMM (pKa = 7,58) se transforma inmediatamente en la sal de amonio del ácido [(Fig. 3) intermediario A]. En el caso, que exista un exceso de la NMM, se produce la extracción del protón del NH del grupo amida, lo que da lugar a que se incremente la nucleofilidad del átomo de N [(Fig. 3), intermediario B]. Esto facilita el ataque nucleofílico sobre el átomo de carbono del grupo carbonílico de la sal de amonio del ácido. Finalmente, se produce la ciclación y la formación de una molécula de agua. El rendimiento final del producto purificado es de un 52 %. La temperatura de fusión se corresponde con la reportada.<sup>20</sup>

Cuando la reacción se realizó en ausencia de la NMM (Fig. 2, paso b) se obtuvo el ácido 4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoico (**VIII**) con un 67 % de rendimiento, similar al descrito en otros trabajos.<sup>21,34</sup>

La caracterización espectroscópica de los compuestos **VII** y **VIII** no se reporta completa en la literatura,<sup>20, 21, 34</sup> y en el presente trabajo se lleva a cabo la misma de manera inequívoca con el auxilio de los espectros IR, RMN-<sup>1</sup>H y -<sup>13</sup>C y masas. En el espectro IR del compuesto **VII** se observó como bandas a destacar una débil a 3 500 cm<sup>-1</sup> y una fuerte a 1 700 cm<sup>-1</sup>, pertenecientes a las vibraciones de valencia de CH<sub>sp2</sub> y CO, respectivamente. Asimismo, en el caso del compuesto **VIII** apareció una banda de intensidad mediana a 3 291cm<sup>-1</sup> y otra fuerte a 1 714 cm<sup>-1</sup>, las que correspondieron con las vibraciones de valencia del grupo -COOH.

En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **VII**, se observaron dos grupos de señales que integran a todos los protones de la molécula. En la región alifática, se observó la no equivalencia de los protones del grupo succinimido como un



**Fig. 2.** Procedimiento general de síntesis para la introducción de diferentes brazos espaciadores en la molécula del naftaleno en la posición α-(o 1-). a) anhídrido succínico, N-metilmorfolina (NMM); b) anhídrido succínico; c) N-hidroxisuccinimida (NHS), dicitclohexilcarbodiimida (DCC); d) 1,2-tilendiamina o 1,4-butylendiamina.

**Tabla 1.** Variación del número de equivalentes de NMM con respecto a la 1-naftilamina (VI) en la reacción de obtención de la 1-(1-naftil)-2,5-pirrolidindiona (VII), en 1,4-dioxano anhidro.

Número de equivalentes NMM : VI	Rendimientos VII (%) <sup>a</sup>
1 : 0	0
1 : 1	10
1 : 2	52
1 : 4	32

<sup>a</sup> Obtenido luego de la purificación.

multiplete simétrico a 2,93 ppm, similar a lo reportado por Hubbard y col.<sup>20</sup> En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C, se corroboró la estructura del compuesto al detectarse todas las señales de los átomos de carbono de la molécula. La señal a 28,64 ppm correspondió a los dos átomos de carbono metilénicos del grupo succinimido.

En el caso del compuesto VIII, se observaron cuatro grupos de señales en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H, que agruparon todos los protones de la molécula. Las señales a 12,06 y 9,87 ppm correspondieron al protón ácido del grupo carboxilo y al protón del grupo amido, respectivamente. Adicionalmente, las diferencias del entorno químico de los dos grupos metilénicos (-NHCOCH<sub>2</sub>- y -CH<sub>2</sub>COOH), se evidenciaron en los corrimientos químicos de las señales separadas a 2,72 y a 2,60 ppm, respectivamente. En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C también se observaron todas las señales del compuesto. De ellas, se destacaron las de los átomos de carbonos cuaternarios a 173,71 y a 170,78 ppm, que pertenecen a los carbonilos de los grupos carboxilo y amida, respectivamente. También, aparecieron como señales independientes, las correspondientes a los átomos de carbono de los grupos metilénicos, adyacentes a los grupos amida y carboxílico a 30,63 y a 29,08 ppm, respectivamente.

Ambas estructuras, VII y VIII, fueron corroboradas a través de sus espectros de masas.

Con el objetivo de construir una cadena amidoalquímica para ser empleada como ligando del <sup>99m</sup>Tc, se llevó a cabo la obtención del nuevo éster de N-hidroxi-succinimida del ácido 4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoico (IX). De manera general, los ésteres de succinimida son agentes acilantes suaves y selectivos a grupos aminos primarios,<sup>22</sup> lo que facilita la obtención de una cadena

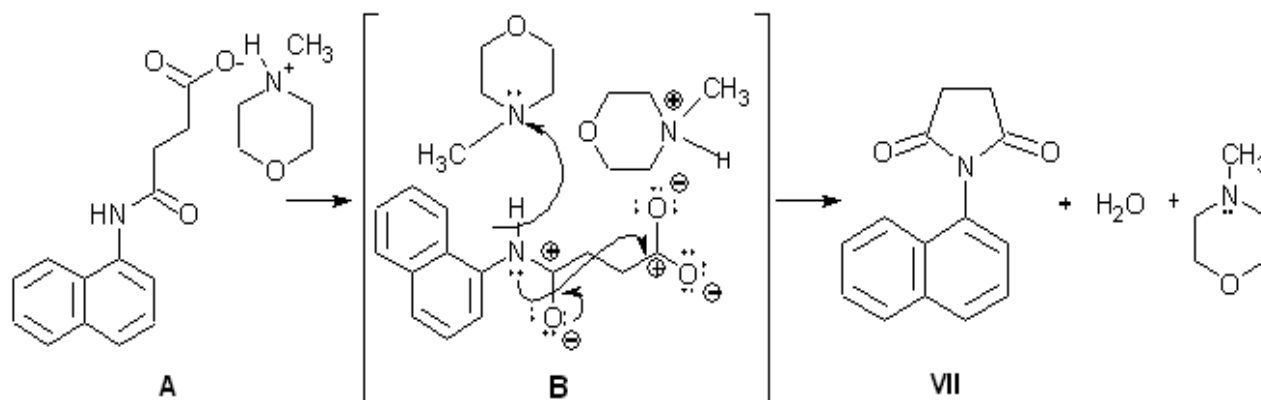
amidoalquímica, sin la necesidad de emplear condiciones drásticas de reacción que puedan acarrear gran cantidad de productos de descomposición. Así, IX se obtuvo a partir de la reacción de acilación de VIII con NHS, en presencia de un agente condensante como la DCC<sup>35</sup> y en 1,4-dioxano anhidro como disolvente, con un rendimiento de un 82 % (Fig. 2, paso c). La estructura de este compuesto se corroboró a través de los espectros de RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C. En el primero, se observó la desaparición de la señal a 12,06 ppm del protón ácido y la aparición en el intervalo de 3,1 a 3,06 ppm de un multiplete, que agrupó a los cuatro protones del grupo succinimido. En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C aparecieron todas las señales de los átomos de carbono de la molécula. Entre ellas, se destacó la aparición de un señal a 38,48 ppm perteneciente a los dos grupos metilénicos del anillo succinimido. En el espectro de masas se observó un pico de m/z = 341 (M+1)<sup>+</sup>, que permitió corroborar la estructura de este compuesto.

Tanto el éster de NHS como el compuesto VII fueron empleados convenientemente para introducir el grupo amino de las diaminas para elongar la cadena alquímica, a través de dos vías fundamentales (vías A y B) y así obtener dos nuevos compuestos (Fig. 4).

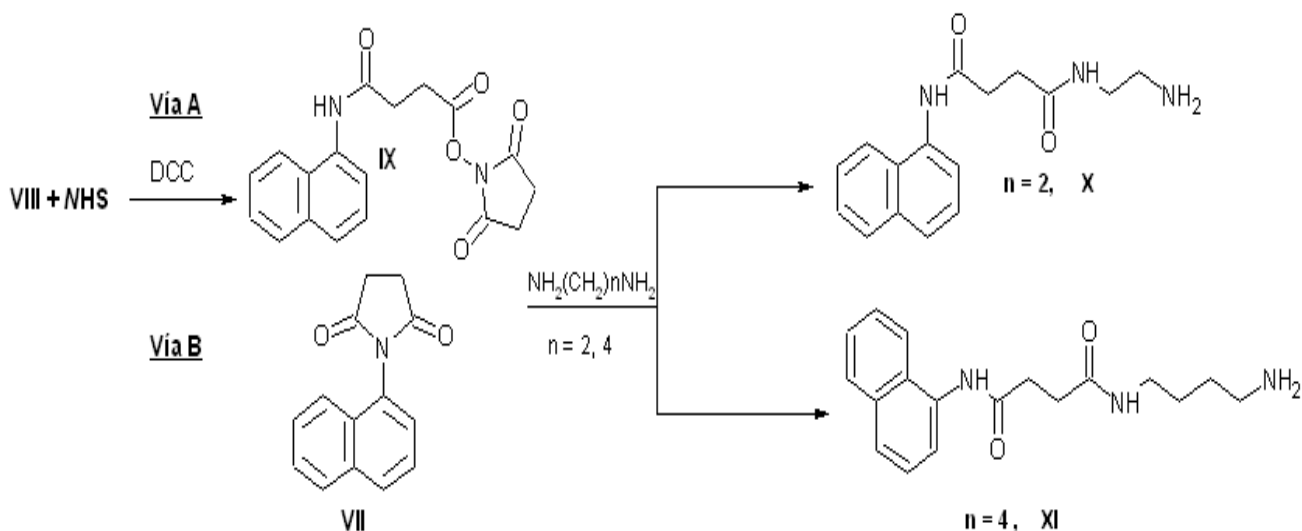
El procedimiento desarrollado en la vía A, se basó en una reacción *one-pot*, a partir de VIII. La reacción consistió en hacer reaccionar VIII con NHS en presencia de DCC, en 1,4-dioxano anhidro y una vez que se eliminó la DCU que se formó, se hizo reaccionar IX con las diferentes diaminas alifáticas. La formación de los compuestos X y XI, se produjo mediante un ataque nucleofílico del átomo de nitrógeno del grupo amino primario de las diaminas empleadas, sobre el átomo de carbono del grupo carbonilo de IX.

Estas diaminas deben ser empleadas en exceso con respecto a IX, con el objetivo de disminuir la obtención de productos colaterales. En estas condiciones, las reacciones transcurrieron en menos de 30 min, a TA, y los rendimientos obtenidos se encontraron entre un 84 y un 72 % para N<sup>1</sup>-(2-aminoetil)-N<sup>4</sup>-(1-naftil)succinimida (X) y N<sup>1</sup>-(4-aminobutil)-N<sup>4</sup>-(1-naftil)succinimida (XI), respectivamente. Los nuevos compuestos X y XI fueron caracterizadas espectroscópicamente.

En el espectro de IR de X se observaron las bandas, de intensidad fuerte, correspondientes a las vibraciones de valencia de los grupos -NH<sub>2</sub> (3 283 y 3 200 cm<sup>-1</sup>) y -CO (1 644 cm<sup>-1</sup>). En los espectros de RMN-<sup>1</sup>H, se observaron todas las señales protónicas correspondientes a ambos compuestos. Entre ellas, se destacaron, la señal



**Fig. 3.** Formación de la 1-(1-naftil)-2,5-pirrolidindiona (VII) a partir de la 1-naftilamina (VI) y anhídrido succínico, en presencia de N-metilmorfolina (NMM).



**Fig. 4.** Obtención de la  $N^1$ -(2-aminoetil)- $N^4$ -(1-naftil)succinimida (X) y la  $N^1$ -(4-aminobutil)- $N^4$ -(1-naftil)succinimida (XI) a partir de la reacción de la  $N^4$ -[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxy]- $N$ -(1-naftil)-4-oxobutanamida (IX, Vía A) o de la 1-(1-naftil)-2,5-pirrolidendiona (VII, Vía B) con las diaminas alifáticas 1,2-etilendiamina y 1,4-butilendiamina, respectivamente.

del segundo grupo amida del brazo espaciador a 9,46 y 9,45 ppm para **X** y **XI**. Las distintas señales de los grupos metilénicos, en forma de multipletes aparecieron en los intervalos de 2,74 a 2,13 ppm y 2,77 a 1,06 ppm para **X** y **XI**, respectivamente. Los protones de los grupos aminas terminales aparecieron a 2,35 y a 2,56 ppm para **X** y **XI**, respectivamente. Las señales de los hidrógenos lábiles de los grupos -NH y amino terminales se asignaron por la disminución de la intensidad de las señales en los experimentos de intercambio de hidrógeno por deuterio (H/D) para ambos compuestos.

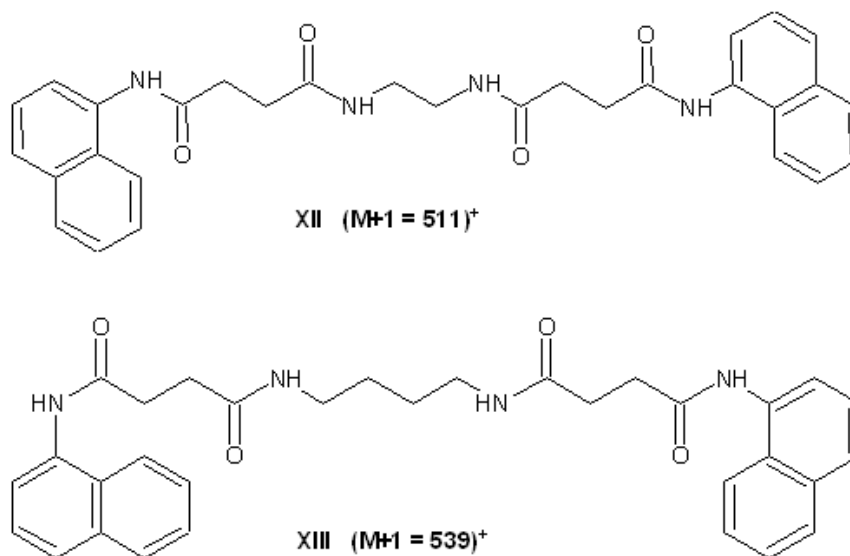
En los espectros de RMN- $^{13}\text{C}$  aparecieron todas las señales de los átomos de carbono de las dos moléculas. Las señales más revelantes que corroboraron la estructura, son las que correspondieron a los grupos metilénicos de las moléculas. Así, a 41,02 y a 38,55 ppm se encontraron las señales correspondientes a los  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$  de **X** y **XI**. A 30,71 y 30,85 ppm aparecieron los pertenecientes a

$-\text{CH}_2\text{CONH}-$  y a 38,38 y 38,36 ppm, los que correspondieron a  $-\text{CONHCH}_2-$ . En el caso de **XI**, los grupos metilénicos internos aparecieron a 26,62 ppm. Las asignaciones de las señales del compuesto **X** se corroboraron a través del espectro bidimensional HSQC.

Finalmente, la estructura de ambos compuestos fue corroborada por espectrometría de masas:  $m/z = 286$  ( $M+1$ ) $^+$  para **X** y  $m/z = 314$  ( $M+1$ ) $^+$  para **XI**.

Los compuestos **X** y **XI** también fueron obtenidos, a partir de la reacción de **VII** con la 1,2-etilen- y la 1,4-butilen-diaminas respectivamente (Fig. 4, Vía B). Las reacciones se realizaron con el empleo de un exceso de cuatro equivalentes de las diaminas, a TA, con buenos rendimientos y un elevado grado de conversión.

En ambas vías de síntesis (A y B), si la reacción se realiza a temperaturas superiores de 40 °C se obtienen como productos colaterales las diaminas  $N,N'$ -disustituidas (Fig. 5).



**Fig. 5.** Estructuras químicas de los productos colaterales formados en la reacción de las diaminas, 1,2-etilendiamina (XII:  $N^1$ -(1-naftil)- $N^4$ -(2-([4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoil]amino)etil)succinimida) y 1,4-butilendiamina (XIII:  $N^1$ -(1-naftil)- $N^4$ -(4-([4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoil]amino)butil)succinimida), con el derivado 4-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxy]- $N$ -(1-naftil)-4-oxobutanamida (IX) o el derivado 1-(1-naftil)-2,5-pirrolidendiona (VII).

La obtención de estos productos colaterales aumenta, si se disminuyen las cantidades molares de las diaminas alifáticas con respecto a **VII**, hasta obtenerse como únicos productos cuando se utiliza medio equivalente de las diaminas. En sus espectros de masas, aparecen las señales de los iones moleculares a  $m/z = 511$  [ESI-MS ( $M+1$ )<sup>+</sup>] para la  $N^1$ -(1-naftil)- $N^4$ -(2-[[4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoil]amino]etil)succinimida (**XII**) y a  $m/z = 539$  [ESI-MS ( $M+1$ )<sup>+</sup>] para la  $N^1$ -(1-naftil)- $N^4$ -(4-[[4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoil]amino]butil)succinimida (**XIII**).

## CONCLUSIONES

Se describió un nuevo procedimiento *one-pot* para la síntesis la 1-(1-naftil)-2,5-pirrolidendiona (**VII**), a partir de la reacción de la 1-naftilamina con anhídrido succínico en presencia de una amina terciaria, cuyo pKa sea alrededor de 7. Asimismo, se reporta la caracterización espectroscópica completa del producto.

Se sintetizaron nuevos derivados del naftaleno que portan, en la posición 1, grupos amidoalquílicos con diferente longitudes:  $N^1$ -(2-aminoetil)- $N^4$ -(1-naftil)succinimida (**X**) y  $N^1$ -(4-aminobutil)- $N^4$ -(1-naftil)succinimida (**XI**), los cuales fueron caracterizados estructuralmente.

Se comprobó que es posible obtener la  $N^1$ -(2-aminoetil)- $N^4$ -(1-naftil)succinimida (**X**) y la  $N^1$ -(4-aminobutil)- $N^4$ -(1-naftil)succinimida (**XI**) por dos vías de síntesis: a partir de la reacción de la 1,2-etilendiamina y la 1,4-butilendiamina con la 1-(1-naftil)-2,5-pirrolidendiona (**VII**) o con el éster de *N*-hidroxisuccinimida del ácido 4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoico (**IX**) con buenos rendimientos, en 1,4-dioxano.

Se reportan como nuevos compuestos el éster de *N*-hidroxisuccinimida del ácido 4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoico (**IX**),  $N^1$ -(1-naftil)- $N^4$ -(2-[[4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoil]amino]etil)succinimida (**XII**) y la  $N^1$ -(1-naftil)- $N^4$ -(4-[[4-(1-naftilamino)-4-oxobutanoil]amino]butil)succinimida (**XIII**).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chicot JV, Rajkumar S, Tanyakitpisal P, Chandra V. When Old age Becomes a Disease. Alzheimer's Disease: The Brain Killer. World Health Organization. Regional Office for South-East Asia. 2001;10-21.
- Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA. Alzheimer disease Disease-a-month. 2010;56(9):484-546.
- Andrieu S, Grand A. Epidemiologic context and forms of care for patients with Alzheimer's disease. Soins Gerontol. 2010; Sep-Oct;(85):18-9.
- Ball M, Braak H, Coleman P, Dicson D, Duyckaerts C, Gambetti P, et al. Consensus recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer's disease. The National Institute on Aging, and Reagan Institute Working Group on Diagnostic Criteria for the Neuropathological Assessment of Alzheimer's disease. Neurobiol Aging. 1997;18(4 Suppl):S1-2.
- Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, Chui H, Corey-Bloom J, Relkin N, et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Neurology. 2001;56(9):1143-53.
- Bartolini M, Andrisano V. ChemBioChem. Strategies for the Inhibition of Protein Aggregation in Human Diseases. ChemBioChem. 2010;11(8):1018-1035.
- Breitner JCS, Welsh KA, Helms MJ, Gaskell PC, Gau BA, Roses AD, et al. Delayed onset of Alzheimer's disease with nonsteroidal anti-inflammatory and histamine H2 blocking drugs. Neurobiol Aging. 1995;16:523-530.
- Stewart WF, Kawas C, Corrada M, Metter EJ. Risk of Alzheimer's disease and duration of NSAID use. Neurology. 1997;48:626-632.
- Lim GP, Yang F, Chu T, Chen P, Beech W, Teter B, et al. Ibuprofen suppresses plaque pathology and inflammation in a mouse model for Alzheimer's disease. J. Neurosci. 2001;20(15):5709-5714.
- Rogers J, Kirby LC, Hempelman SR, Berry DL, McGeer PL, Kaszniak AW, et al. Clinical trial of indomethacin in Alzheimer's disease. Neurology. 1993; 43:1609-1611.
- Agdeppa ED, Kepe V, Petri A, Satyamurthy N, Liu J, Huang SC, et al. *In vitro* detection of (S)-naproxen and ibuprofen binding to plaques in the Alzheimer's brain using the positron emission tomography molecular imaging probe 2-(1-[6-[(2-[(18F]fluoroethyl)(methyl)amino]-2-naphthyl]ethylidene)malono nitrile. Neurosciences. 2003;117:723-730.
- Agdeppa ED, Kepe V, Liu J, Flores-Torres S, Satyamurthy N, Petric A, et al. Binding characteristics of radiofluorinated 6-dialkylamino-2-naphthylethylidene derivatives as positron emission tomography imaging probes for beta-amyloid plaques in Alzheimer's disease. J. Neurosci. 2001;21(24):RC189(1-5).
- Shoghi-Jadid K, Small GW, Agdeppa ED, Kepe V, Ercoli LM, Siddarth P, et al. Localization of neurofibrillary tangles and beta-amyloid plaques in the brains of living patients with Alzheimer's disease. Am. J. Geriatr. Psychiatry. 2002;10:24-35.
- Braskie MN, Klunder AD, Hayashi KM, Protas H, Kepe V, Miller KJ, et al. Plaque and tangle imaging and cognition in normal aging and Alzheimer's disease. Neurobiol. Aging. 2010;31(10):1669-1678.
- Barrio JR, Kepe V, Satyamurthy N, Huang SC, Small G. Amyloid and tau imaging, neuronal losses and function in mild cognitive impairment. J. Nutr. Health Aging. 2008;12(1):61S-65S.
- Henriksen G, Yousefi BH, Drzezga A, Wester HJ. Development and evaluation of compounds for imaging of  $\beta$ -amyloid plaque by means of positron emission tomography. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2008;35(Suppl 1):S75-S81.
- De Volder AG. Functional brain imaging of childhood clinical disorders with PET and SPECT. Developmental Science. 2002;5(3):344-60.
- Banerjee S, Raghavan M, Pillai A, Ramamoorthy N. Evolution of Tc-99m in Diagnostic Radiopharmaceuticals. Seminars in Nuclear Medicine. 2001;XXI(4):260-76.
- Fieser LF, Martin EL, Noller CR. Organic Syntheses, New York USA: John Wiley & Sons: 1943;2:560.
- Hubbard JL, Carl III JM, Anderson GD, Rankin GO. Synthesis and <sup>1</sup>H NMR spectra of some 1-aryl-2,5-pyrrolidinediones (1). Journal of Heterocyclic Chemistry. 1992;29(4):719-721.
- Gholap AD, Patel MV, Patil RC, Balasubramaniyan P, Balasubramaniyan V. Cyclic anhydrides convenient reagents for aromatic primary amines. Indian Journal of Chemical Education. 1980;7(2):26-27.
- Anderson GW, Zimmerman JE, Callahan FM. Synthesis of *N*-hydroxysuccinimide esters of acyl peptides by the mixed anhydride method. Journal American Chemical Society. 1964;86:1839-42.
- Valotassiou V, Archimandritis S, Sifakis N, Papatriantafyllou J, Georgoulas P. Alzheimer's disease: SPECT and PET tracers for beta-amyloid imaging. Curr. Alzheimer Res. 2010;7(6):477-486.
- Dezutter NA, Dom RJ, De Groot TJ, Bormans GM, Verbruggen AM. <sup>99m</sup>Tc-MAMA-chrysamine G, a probe for beta-amyloid protein of Alzheimer's disease. European Journal of Nuclear Medicine. 1999; November, 26(11):1392-1399.
- Zhen W, Han H, Anguiano M, Lemere CA, Cho CG, Lansbury PT. Synthesis and Amyloid Binding Properties of Rhenium Complexes: Preliminary Progress Toward a Reagent for SPECT Imaging of Alzheimer's Disease Brain. J Med Chem. 1999;42(15):2805-2815.
- Meade TJ, Taylor AK, Bull SR. New magnetic resonance contrast agents as biochemical reporters. Curr Opin Neurobiol. 2003;13(9):597-602.
- Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. Ann Neurol. 2004;55(3):306-319.
- Chen X, Yu P, Zhang L, Liua B. Synthesis and biological evaluation of <sup>99m</sup>Tc, Re-monoamine-monoamide conjugated to 2-(4-aminophenyl)benzothiazole as potential probes for



- beta-amyloid plaques in the brain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2008;18:1442-1445.
29. Liu S. Bifunctional coupling agents for radiolabeling of biomolecules and target-specific delivery of metallic radio-nuclides. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008;60:1347-1370.
30. Cui M, Tang R, Li Z, Ren H, Liu B.  $^{99m}\text{Tc}$ - and Re-labeled 6-dialkylamino-2-naphthylethylidene derivatives as imaging probes for b-amyloid plaques. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011;21(3):1064-1068.
31. Hübner A. Ueber Anhydroverbindungen. *Liebigs Ann Chem*. 1881;209:339-384.
32. Pellizzari, G. and Matteucci, V. Ueber Sanrederivate von Amidosulfonsauren. *Liebigs Ann Chem*. 1888;248:152-160.
33. Meyer R. Studien ilber die Ringschliessung. *Liebigs Ann Chem*. 1906;347:17-54
34. Dolzhenko AV, Koz´minykh VO, Kolotova NV, Syropyatov BY, Novoselova GN. Substituted amides and hydrazines of dicarboxylic acids. Part 16. Synthesis and antibacterial activity of some amides and acylhydrazides of succinic acid. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2003;37(5):229-231.
35. Arch J. *Advanced Organic Chemistry. Reactions, mechanisms, and estructure*. Third Edition. New York: John Wiley & Sons: 1985:p.349-350.