

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-507345

(P2013-507345A)

(43) 公表日 平成25年3月4日 (2013. 3. 4)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 487/04 (2006. 01)	C 0 7 D 487/04 1 5 2	4 C 0 5 0
A 6 1 K 49/00 (2006. 01)	C 0 7 D 487/04 C S P	4 C 0 8 5
A 6 1 K 31/551 (2006. 01)	A 6 1 K 49/00 A	4 C 0 8 6
A 6 1 P 25/08 (2006. 01)	A 6 1 K 31/551	
A 6 1 P 25/22 (2006. 01)	A 6 1 P 25/08	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2012-532624 (P2012-532624)	(71) 出願人	305040710
(86) (22) 出願日	平成22年10月8日 (2010. 10. 8)		ジーイー・ヘルスケア・リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成24年6月1日 (2012. 6. 1)		イギリス国エイチビー7・9エヌエイ、バ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2010/065126		ッキンガムシャー、リトル・チャルフォン
(87) 国際公開番号	W02011/042550		ト、アメルシャム・プレイス
(87) 国際公開日	平成23年4月14日 (2011. 4. 14)	(74) 代理人	100137545
(31) 優先権主張番号	0917612. 4		弁理士 荒川 聡志
(32) 優先日	平成21年10月8日 (2009. 10. 8)	(74) 代理人	100105588
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		弁理士 小倉 博
(31) 優先権主張番号	61/250, 890	(74) 代理人	100129779
(32) 優先日	平成21年10月13日 (2009. 10. 13)		弁理士 黒川 俊久
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インビボイメージング剤としてのフルマゼニルの [1 8 F] 標識類似体

(57) 【要約】

本発明は、G A B A_A受容体のインビボイメージングのために有用な放射性フッ素化合物を提供する。本発明によればまた、本発明の放射性フッ素化合物の合成方法、特に自動化合成方法も提供される。本発明のさらに別の態様は、本発明の自動化合成方法を実施するのに適したカセットである。

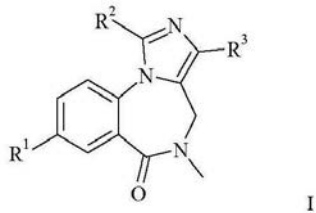
【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の式 I の放射性フッ素化合物。

【化 1】



10

(式中、

R^1 及び R^2 の一方は $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルキル又は $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルコキシであって、他方は水素であり、

R^3 は $C(=O) - O - R^4$ (式中、 R^4 は水素又は直鎖若しくは枝分れ C_{1-4} アルキルであるか、或いは R^4 は C_{3-5} 複素環である。) である。)

【請求項 2】

R^1 及び R^2 の一方が $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルキルである、請求項 1 記載の放射性フッ素化合物。

20

【請求項 3】

R^1 及び R^2 の一方が $[^{18}F]$ フルオロメチル又は $[^{18}F]$ 2 - フルオロエチルである、請求項 2 記載の放射性フッ素化合物。

【請求項 4】

R^1 及び R^2 の一方が $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルコキシである、請求項 1 記載の放射性フッ素化合物。

【請求項 5】

R^1 及び R^2 の一方が $[^{18}F]$ フルオロメトキシ又は $[^{18}F]$ 2 - フルオロエトキシである、請求項 4 記載の放射性フッ素化合物。

【請求項 6】

R^1 が $[^{18}F]$ フルオロメトキシ又は $[^{18}F]$ 2 - フルオロエトキシである、請求項 5 記載の放射性フッ素化合物。

30

【請求項 7】

R^1 が $[^{18}F]$ 2 - フルオロエトキシである、請求項 6 記載の放射性フッ素化合物。

【請求項 8】

R^3 が $C(=O) - O - R^4$ (式中、 R^4 は直鎖 C_{1-4} アルキルである。) である、請求項 1 乃至請求項 7 のいずれか 1 項記載の放射性フッ素化合物。

【請求項 9】

R^4 がメチル又はエチルである、請求項 8 記載の放射性フッ素化合物。

【請求項 10】

R^4 がエチルである、請求項 9 記載の放射性フッ素化合物。

40

【請求項 11】

R^3 が $C(=O) - O - R^4$ (式中、 R^4 は枝分れ C_{1-4} アルキルである。) である、請求項 1 乃至請求項 7 のいずれか 1 項記載の放射性フッ素化合物。

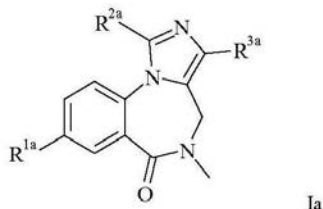
【請求項 12】

R^4 が *tert* - ブチルである、請求項 11 記載の放射性フッ素化合物。

【請求項 13】

請求項 1 乃至請求項 12 のいずれか 1 項記載の放射性フッ素化合物の合成方法であって、次の式 I a の前駆体化合物を適当な ^{18}F 供給源と反応させる段階を含んでなる方法。

【化 2】



(式中、

10

R^{1a} 及び R^{2a} の一方は前駆体基であって、他方は H であり、R^{1a} が前駆体基である場合にそれは C₁₋₄ アルキル - LG、C₁₋₄ アルコキシル - LG 及びヒドロキシルから選択され、R^{2a} が前駆体基である場合にそれは C₁₋₄ アルキル - LG 及び C₁₋₄ アルコキシル - LG から選択され、LG はプロミド、メシレート及びトシレートから選択される脱離基であり、R^{3a} は請求項 1 及び請求項 8 乃至請求項 12 のいずれか 1 項で R³ に関して定義した通りである。)

【請求項 14】

R^{1a} が前記前駆体基である、請求項 13 記載の方法。

【請求項 15】

R^{1a} がアルコキシ - LG であり、前記適当な ¹⁸F 供給源が [¹⁸F] フッ化物イオンである、請求項 14 記載の方法。

20

【請求項 16】

R^{1a} がヒドロキシルであり、前記適当な ¹⁸F 供給源が C₁₋₄ [¹⁸F] フルオロアルキル - LG である、請求項 14 記載の方法。

【請求項 17】

当該方法が自動化される、請求項 13 乃至請求項 16 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 18】

請求項 17 記載の方法を実施するためのカセットであって、

(i) 請求項 13 乃至請求項 16 のいずれか 1 項記載の方法で定義された式 Ia の前駆体化合物を含む容器、及び

30

(i i) 適当な ¹⁸F 供給源を用いて容器を溶出するための手段を含んでなるカセット。

【請求項 19】

さらに、過剰の ¹⁸F を除去するためのイオン交換カートリッジを含む、請求項 18 記載のカセット。

【請求項 20】

請求項 1 乃至請求項 12 のいずれか 1 項記載の放射性フッ素化合物を、哺乳動物への投与に適した形態の生体適合性キャリアと共に含んでなる放射性医薬組成物。

【請求項 21】

PET イメージング方法で使用するための、請求項 1 乃至請求項 12 のいずれか 1 項記載の放射性フッ素化合物。

40

【請求項 22】

被験体の中枢神経系 (CNS) における GABA_A 受容体の分布を決定するための陽電子放出断層撮影 (PET) イメージング方法であって、

(i) 請求項 1 乃至請求項 12 のいずれか 1 項記載の放射性フッ素化合物を前記被験体に投与する段階、

(i i) 段階 (i) で投与した前記放射性フッ素化合物を前記被験体の CNS 内の GABA_A 受容体に結合させる段階、

(i i i) 段階 (i i) で結合させた前記放射性フッ素化合物中に存在する ¹⁸F の陽電子放出崩壊から導かれる信号を検出する段階、並びに

50

(i v) 前記信号の位置及び量の画像を形成する段階であって、前記信号が前記被験体における $GABA_A$ 受容体の分布を表す段階を含んでなる PET 方法。

【請求項 23】

前記放射性フッ素化合物が請求項 20 記載の放射性医薬組成物として投与される、請求項 22 記載の PET 方法。

【請求項 24】

前記被験体は $GABA_A$ 状態を有することが知られ又は疑われている、請求項 22 又は請求項 23 記載の PET 方法。

【請求項 25】

前記被験体に関する治療計画の進行中に繰り返して実施される請求項 22 又は請求項 23 記載の PET 方法であって、前記治療計画が $GABA_A$ 状態と戦うための薬物の投与を含む PET 方法。

【請求項 26】

請求項 22 記載の PET 方法を、 $GABA_A$ 発現の分布を特定の臨床像に帰因させる追加段階 (v) と共に含んでなる診断方法。

【請求項 27】

請求項 25 記載の PET 方法又は請求項 26 記載の診断方法で使用するための、請求項 1 乃至請求項 12 のいずれか 1 項記載の放射性フッ素化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、インビロイメージング、特に中枢神経系 (CNS) の γ -アミノ酪酸 ($GABA$) 受容体のインビロイメージングに関する。本発明は、ベンゾジアゼピンアンタゴニストであるフルマゼニルに基づく新規な放射性フッ素化合物を提供する。

【背景技術】

【0002】

γ -アミノ酪酸 ($GABA$) は、ヒトの脳における最も重要な抑制性神経伝達物質である。 $GABA$ 受容体は膜貫通受容体であり、2つの主なタイプ、即ち $GABA_A$ 受容体及び $GABA_B$ 受容体に分けられる。 $GABA_A$ 受容体は、これまで薬理学的開発の主要な対象となってきた。多くの $GABA_A$ 受容体サブタイプが発見され、これらのサブタイプに対して選択的な新規化学構造が開発されている。 $GABA_A$ 受容体が正常に活性化されれば、塩化物イオンがその細孔を選択的に通過する。この塩化物イオンチャンネルゲーティングは、膜電位を静止レベル付近に安定化することにより、ニューロンに対して一般に抑制的である。

【0003】

$GABA_A$ 受容体神経伝達の欠陥は、 $GABA_A$ 受容体の減少或いは例えば $GABA_A$ 受容体遺伝子の遺伝的突然変異、外傷性脳損傷又は薬学的傷害に原因する $GABA_A$ 受容体の機能欠陥によって引き起こされることがあり、てんかん、不安障害、パーキンソン病及び慢性疼痛をはじめとする若干の神経学的及び精神医学的障害に関連している。したがって、 $GABA_A$ 受容体に対して選択的な放射性リガンドの開発は、生きているヒト患者、特に $GABA_A$ 受容体神経伝達の欠陥に関連する障害に罹患している患者における脳イメージング検査に関して価値がある。

【0004】

(フルマゼピルとしても知られる)フルマゼニル(コード名 Ro 15-1788、商品名 Anexate、Lanexat、Mazicon、Romazicon)はイミダゾ[1,5-a][1,4]ベンゾジアゼピンであって、これは CNS における $GABA_A$ 受容体の中和性アロステリックモジュレーターである (Johnston 1996 Pharmacol Ther ; 69 (3) : 173 - 198)。フルマゼニルの化学構造は次の通りである。

10

20

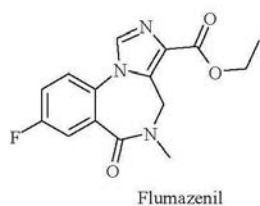
30

40

50

【 0 0 0 5 】

【 化 1 】



10

【 0 0 0 6 】

これまで、フルマゼニルの最も普通の用途は、ベンゾジアゼピンの過量に対する解毒剤としてのものであった。これは、フルマゼニルが $GABA_A$ 受容体のベンゾジアゼピン結合部位における競合阻害によってベンゾジアゼピンの効果を逆転させるからである。その上、フルマゼニルはアゴニスト活性をほとんど又は全く有しないので、その放射性標識バージョンが陽電子放出断層撮影 (PET) ラジオトレーサーとして開発されてきた。

【 0 0 0 7 】

当技術分野で知られているフルマゼニルの放射性フッ素化誘導体は、 $[^{18}F]$ フルマゼニル ($[^{18}F]$ FMZ)、 $[^{18}F]$ フルオロフルマゼニル ($[^{18}F]$ FFMZ) 及び $[^{18}F]$ フルオロエチルフルマゼニル ($[^{18}F]$ FEFMZ) である。

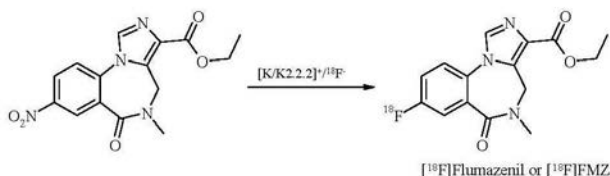
20

【 0 0 0 8 】

$[^{18}F]$ FMZ は、ニトロ前駆体化合物の直接放射性フッ素化によって ^{18}F が導入されている点を除き、フルマゼニルと同じ化学式を有している。

【 0 0 0 9 】

【 化 2 】



30

【 0 0 1 0 】

$[^{18}F]$ FMZ は、高い親和性 ($K_i =$ 約 0.5 nM) 及び選択性をもって $GABA_A$ 受容体に結合する。Ryzhikov et al (2005 Nuc Med Biol; 32: 109 - 116) は、ニトロ前駆体化合物からの $[^{18}F]$ FMZ の製法を記載している。しかし、本発明者らによれば、この合成法は $2.7 \sim 7.7\%$ という最適と言えない合成終了時 (EOS) 収率を有することがわかった (本明細書中に比較例として記載されている)。さらに、Ryzhikov et al によって記載された合成法は、すべての放射合成プラットフォーム上における自動化にはなじまない高い反応温度を使用する。これらの EOS 収率は、Odano et al (Neuroimage 2009 45 (3) 891 - 902) によって報告されたものと同等である。

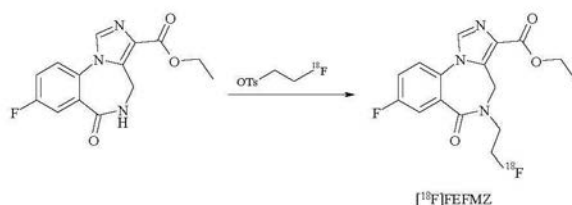
40

【 0 0 1 1 】

$[^{18}F]$ FFMZ は、カルボン酸前駆体化合物のフルオロエチル化によって ^{18}F が導入されているフルマゼニルの ^{18}F 標識誘導体である (Mitterhauser et al 2004 Nuc Med Biol; 31: 291 - 295)。

【 0 0 1 2 】

【化 3】



【0013】

10

[¹⁸F] F F M Z は、高い脳取込み及び G A B A_A 受容体に対する高い選択的結合を有するものとして報告されている。しかし、[¹⁸F] F F M Z の合成法は低い E O S 収率を与える。

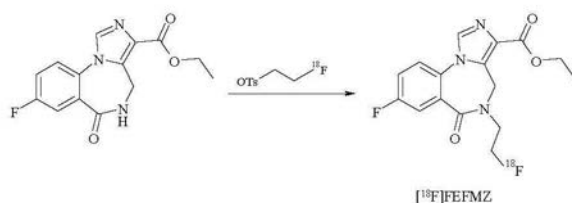
【0014】

[¹⁸F] F E F M Z は、ワンポット合成において、[¹⁸F] フルオロエチルトシレートを用いたデスメチル前駆体化合物の N - アルキル化によって得ることができる (M o e r l e i n a n d P e r l m u t t e r 1992 E u r J P h a r m a c o l ; 218 : 109 - 115)。

【0015】

20

【化 4】



【0016】

30

この [¹⁸F] F E F M Z 合成法は、高い収率を与えるものとして報告されている。しかし、インビボ投与後におけるこの化合物のクリアランスは、インビボイメージングを可能にするには速すぎる。

【0017】

本発明は、インビボで G A B A_A 受容体を検査するのに適した代替りの放射性フッ素化合物であって、先行技術で知られたものに比べて改善された性質を有する放射性フッ素化合物を提供しようとするものである。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0018】

40

米国特許第 4 , 3 1 6 , 8 3 9 号明細書

【発明の概要】

【0019】

本発明は、G A B A_A 受容体のインビボイメージングのために有用な新規放射性フッ素化合物を提供する。本発明の放射性フッ素化合物の合成は高い収率を与える。本発明によればまた、本発明の放射性フッ素化合物の合成方法、特に自動化合成方法も提供される。本発明のさらに別の態様は、本発明の自動化合成方法を実施するのに適したカセットである。

【発明を実施するための形態】

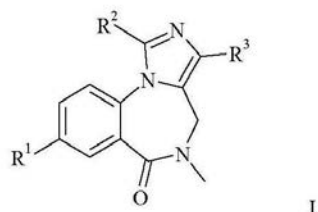
【0020】

一態様では、本発明は次の式 I の放射性フッ素化合物に関する。

50

【 0 0 2 1 】

【 化 5 】



10

【 0 0 2 2 】

式中、

R^1 及び R^2 の一方は $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルキル又は $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルコキシであって、他方は水素であり、

R^3 は $C(=O) - O - R^4$ (式中、 R^4 は水素又は直鎖若しくは枝分れ C_{1-4} アルキルであるか、或いは R^4 は C_{3-5} 複素環である。) である。

【 0 0 2 3 】

「放射性フッ素化合物」という用語は、その分子式が ^{18}F を含む化合物をいう。 ^{18}F の容易な入手可能性及び物理的性質の点で、それは PET ラジオトレーサーの開発において特に好まれる放射性同位体である (Snyder and Kilbourn "Chemistry of Fluorine-18 Radiopharmaceuticals" pp 195 - 227; "Handbook of Radiopharmaceuticals" 2003: Welch and Redvanly, Eds)。

20

【 0 0 2 4 】

本発明に係る好適な塩には、(i) 鉱酸 (例えば、塩酸、臭化水素酸、リン酸、メタリン酸、硝酸及び硫酸) から導かれるもの並びに有機酸 (例えば、酒石酸、トリフルオロ酢酸、クエン酸、リンゴ酸、乳酸、フマル酸、安息香酸、グリコール酸、グルコン酸、コハク酸、メタンスルホン酸及び p - トルエンスルホン酸) から導かれるもののような生理学的に許容される酸付加塩、並びに (ii) アンモニウム塩、アルカリ金属塩 (例えば、ナトリウム塩及びカリウム塩)、アルカリ土類金属塩 (例えば、カルシウム塩及びマグネシウム塩)、有機塩基 (例えば、トリエタノールアミン、N - メチル - D - グルカミン、ピペリジン、ピリジン、ピペラジン及びモルホリン) との塩、及びアミノ酸 (例えば、アルギニン及びリシン) との塩のような生理学的に許容される塩基塩がある。

30

【 0 0 2 5 】

本発明に係る好適な溶媒和物には、エタノール、水、食塩水、生理的緩衝液及びグリコールと共に生成されるものがある。

【 0 0 2 6 】

「アルキル」という用語は、好ましくは 1 ~ 4 の炭素原子を含む直鎖又は枝分れアルキル基を意味する。かかる基の例には、メチル、エチル及びプロピルがある。

【 0 0 2 7 】

「アルコキシ」という用語はアルキルエーテル基を意味し、ここでアルキルという用語は上記に定義した通りである。好適なアルコキシ基の例には、メトキシ、エトキシ及びプロポキシがある。

40

【 0 0 2 8 】

「 $[^{18}F]$ フルオロアルキル」及び「 $[^{18}F]$ フルオロアルコキシ」という用語は、それぞれ、上記に定義したようなアルキル基及びアルコキシ基を ^{18}F で置換したものをいう。好適には、 ^{18}F は置換基の遠位端にある水素の 1 つと置き換わる。即ち、 $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルキルは $-(CH_2)_n - ^{18}F$ であり、 $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルコキシは $-O - (CH_2)_n - ^{18}F$ であり、式中の n はいずれの場合にも 1 ~ 4 である。

【 0 0 2 9 】

50

「複素環」という用語は、本明細書中では、芳香族又は脂肪族環式基であって、環が窒素、酸素及び硫黄から選択される 1 以上のヘテロ原子を含むものをいう。

【0030】

式 I の放射性フッ素化合物の好ましい実施形態では、 R^1 及び R^2 の一方が $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルキルであり、最も好ましくは R^1 である。好ましい $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルキル基は $[^{18}F]$ フルオロメチル及び $[^{18}F]$ 2 - フルオロエチルである。

【0031】

式 I の放射性フッ素化合物のさらに好ましい実施形態では、 R^1 及び R^2 の一方が $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルコキシであり、最も好ましくは R^1 である。好ましい $C_{1-4} [^{18}F]$ フルオロアルコキシ基は $[^{18}F]$ フルオロメトキシ及び $[^{18}F]$ 2 - フルオロエトキシであり、最も好ましくは $[^{18}F]$ 2 - フルオロエトキシである。

10

【0032】

式 I の好ましい R^3 基は、 $C(=O) - O - R^4$ (式中、 R^4 は直鎖又は枝分れ C_{1-4} アルキルであり、最も好ましくはメチル、エチル又は *tert* - ブチルである。) である。

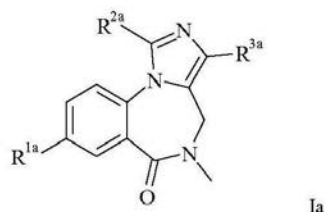
【0033】

別の態様では、本発明は、式 I の放射性フッ素化合物の合成方法であって、次の式 I a の前駆体化合物を適当な ^{18}F 供給源と反応させる段階を含んでなる方法を提供する。

【0034】

【化 6】

20



【0035】

式中、

30

R^{1a} 及び R^{2a} の一方は前駆体基であって、他方は H であり、 R^{1a} が前駆体基である場合にそれは C_{1-4} アルキル - LG、 C_{1-4} アルコキシル - LG 及びヒドロキシルから選択され、 R^{2a} が前駆体基である場合にそれは C_{1-4} アルキル - LG 及び C_{1-4} アルコキシル - LG から選択され、LG はプロミド、メシレート及びトシレートから選択される脱離基であり、 R^{3a} は式 I の R^3 に関して定義した通りである。

【0036】

「適当な ^{18}F 供給源」とは、 ^{18}F が共有結合して式 I の放射性フッ素化合物を生じるようにして前駆体化合物中の前駆体基と反応し得る化学形態の ^{18}F を意味する。適当な ^{18}F 供給源の選択は、それを反応させる予定の前駆体基に依存する。一層詳しい論議を以下に示す。

40

【0037】

概して言えば、前駆体化合物を適当な ^{18}F 供給源と「反応させる」段階は、できるだけ高い放射化学収率 (RCY) で所望の放射性フッ素化合物を生成するのに適した反応条件下で 2 種の反応体を合わせることを含んでいる。若干の詳細な経路を以下に示す。

【0038】

本発明の「前駆体化合物」は、 ^{18}F の好都合な化学形態との化学反応が部位特異的に起こるように ^{18}F ラベルの所望位置に前駆体基を含む式 I の放射性フッ素化合物の非放射性誘導体からなる。前駆体基は、放射性フッ素化が最小数の段階 (理想的にはただ 1 つの段階) で実施でき、かつ格別の精製の必要なしに (理想的にはいかなる追加の精製も必要なしに) 式 I の所望放射性フッ素化合物が得られるように設計されている。かかる前駆

50

体化合物は合成品であり、良好な化学純度で簡便に得ることができる。前駆体化合物は、キット中又は自動化合成装置と共に使用するのに適したカセット中に溶液状態で供給することができる。キット及びカセットは本発明の追加の態様をなし、以下に一層詳しく論議される。

【0039】

「前駆体基」は、上記に定義した前駆体化合物の置換基であって、 ^{18}F が部位特異的に組み込まれて式 I の所望放射性フッ素化合物を生じるようにして ^{18}F 供給源と反応するものである。

【0040】

「脱離基」は、結合電子を伴って安定な化学種として排除される原子又は原子団である。本発明の文脈中における好適な脱離基には、プロミド、メシレート及びトシレートがある。

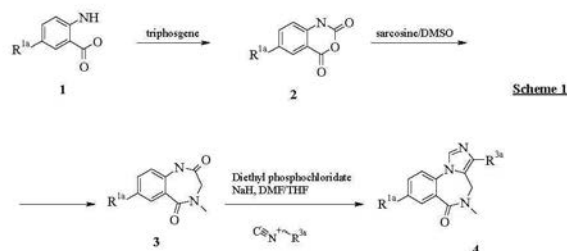
10

【0041】

Yang et al (2009 Synthesis; 6: 1036 - 1040) によって開示された反応スキームを改変することで、 R^{1a} が前駆体基である前駆体化合物を得ることができる。スキーム 1 は、いかにして前駆体化合物が得られるかを示している。

【0042】

【化 7】



20

【0043】

後の段階で所望の脱離基を導入するために必要な化学反応を実行するように準備された適当なアミノ安息香酸化合物 (1) をトリホスゲンと反応させることで、ベンゾキサジン - 2, 4 - ジオン中間体 (2) を得る。DMSO 中における 2 とサルコシンとの反応はベンゾジアゼピン (3) を生じる。記載された条件を用いて、一般式 4 の化合物が良好な収率で得られる。4 をさらに修飾することで、標準的な化学変換を用いて適当な前駆体化合物を得ることができる。

30

【0044】

下記の実施例 2 は、 R^{1a} がヒドロキシルであり、 R^{2a} が水素であり、 R^{3a} が $\text{C}(=\text{O}) - \text{O} - \text{R}^4$ (式中、 R^4 はエチルである。) である「前駆体化合物 1」を得るための方法を記載している。下記の実施例 4 は、 R^{1a} がヒドロキシルであり、 R^{2a} が水素であり、 R^{3a} が $\text{C}(=\text{O}) - \text{O} - \text{R}^4$ (式中、 R^4 は tert - ブチルである。) である「前駆体化合物 2」を得るための方法を記載している。

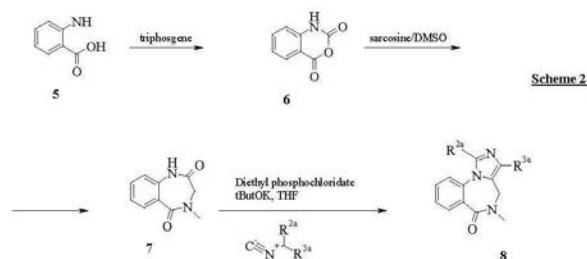
40

【0045】

R^2 が前駆体基である場合、前駆体化合物は下記のスキーム 2 に記載された化学反応を用いて得ることができる。この場合、適当なイソシアネートアセテートは標準的なアルキル化条件を用いて商業的に入手可能な材料から製造される。標準的な化学変換を用いて化合物 8 を適宜に修飾することで、所望の前駆体を生成することができる。

【0046】

【化 8】



10

【0047】

R^{3a} が複素環を含む式 I a の前駆体化合物は、W a t j e n e t a l (J M e d C h e m 1989 ; 32 (10) : 2282 - 2291) によって記載された方法で得ることができる。

【0048】

^{18}F の導入は、脱離基 (L G) (即ち、プロミド、メシレート又はトシレート、好ましくはトシレート) を含む前駆体化合物と、好適な ^{18}F 供給源である ^{18}F - フッ化物イオンとの反応を含む直接標識によって達成できる。放射性フッ素化反応用の $[^{18}\text{F}]$ フッ化物イオン ($^{18}\text{F}^-$) は、通常は核反応 $^{18}\text{O} (p , n) ^{18}\text{F}$ から水溶液として得られ、次いでカチオン性対イオンの添加及びそれに続く水の除去によって反応性にされる。好適なカチオン性対イオンは、無水反応溶媒中において、 $^{18}\text{F}^-$ の溶解性を維持するのに十分な溶解度を有するべきである。したがって、使用されてきた対イオンには、ルビジウム又はセシウムのような大きい軟らかい金属イオン、K r y p t o f i x (商標) のようなクリプタンドと錯体化したカリウム、或いはテトラアルキルアンモニウム塩がある。好ましい対イオンは、無水溶媒中での溶解性が良く、 $^{18}\text{F}^-$ の反応性を向上させることから、K r y p t o f i x (商標) のようなクリプタンドと錯体化したカリウムである。このようにして反応性になった $^{18}\text{F}^-$ を、 C_{1-4} アルキル - L G 又は C_{1-4} アルコキシ - L G を含む式 I a の前駆体化合物と反応させることで、 $\text{C}_{1-4} [^{18}\text{F}]$ フルオロアルキル又は $\text{C}_{1-4} [^{18}\text{F}]$ フルオロアルコキシを含む式 I の放射性フッ素化化合物が得られる。 C_{1-4} アルキル - L G 又は C_{1-4} アルコキシ - L G 中のアルキル又はアルコキシは、 $\text{C}_{1-4} [^{18}\text{F}]$ フルオロアルキル又は $\text{C}_{1-4} [^{18}\text{F}]$ フルオロアルコキシ中のアルキル又はアルコキシにそれぞれ対応している。ここで、 $\text{C}_{1-4} [^{18}\text{F}]$ フルオロアルキル又は $\text{C}_{1-4} [^{18}\text{F}]$ フルオロアルコキシは式 I に関して上記に好適なもの及び好ましいものとして定義した通りである。脱離基 L G の好適なもの及び好ましいものは上記に定義した通りである。

20

30

【0049】

^{18}F はまた、 ^{18}F を含むシント (例えば、 $[^{18}\text{F}]$ フルオロアルキルプロミド、 $[^{18}\text{F}]$ フルオロアルキルメシレート又は $[^{18}\text{F}]$ フルオロアルキルトシレート) で前駆体化合物中のヒドロキシル基を O - アルキル化することによっても導入できる。したがって、 R^{1a} の前駆体基がヒドロキシルである式 I a の前駆体化合物を、好適な ^{18}F 供給源としての $\text{C}_{1-4} [^{18}\text{F}]$ フルオロアルキル - L G と反応させることで、 $\text{C}_{1-4} [^{18}\text{F}]$ フルオロアルコキシを含む式 I の放射性フッ素化化合物が得られる。

40

【0050】

実施例 2 (i i i) は、ヒドロキシル前駆体基を含む前駆体化合物 1 を $[^{18}\text{F}]$ フルオロエチルトシレートで放射性フッ素化して $[^{18}\text{F}]$ - 化合物 1 を得る場合を記載している。非放射性化合物 1 の K_i は 2 . 4 n M であることがわかった (実施例 5 参照) 。インビボモデルにおける $[^{18}\text{F}]$ - 化合物 1 の体内分布は、良好な領域差別化、即ち脳の G A B A リッチ領域と G A B A プア領域との差別化を示した (実施例 6 参照) 。

【0051】

実施例 4 (v) は、やはりヒドロキシル前駆体基を含む前駆体化合物 2 を $[^{18}\text{F}]$ フルオロエチルトシレートで放射性フッ素化して $[^{18}\text{F}]$ - 化合物 2 を得る場合を記載してい

50

る。非放射性化合物 2 の K_1 は 0.53 nM であることがわかった（実施例 5 参照）。インビボモデルにおける $[^{18}\text{F}]$ -化合物 2 の体内分布は、良好な領域差別化、即ち脳の GABA リッチ領域と GABA プア領域との差別化を示した（実施例 7 参照）。

【0052】

本発明の方法の好ましい実施形態では、式 I a の前駆体化合物の R^{1a} が前駆体基である。 R^{1a} が前駆体基である場合、それは好ましくは C_{1-4} アルコキシ - LG 又はヒドロキシルであり、特に好ましくはメトキシ - LG、エトキシ - LG 又はヒドロキシルであり、最も好ましくはヒドロキシルである。

【0053】

現在、特に PET トレーサーとして使用するための ^{18}F 標識化合物の合成は、例えば Tracerlab（商標）及び Fastlab（商標）（いずれも GE Healthcare 社製）のような自動化放射合成装置によって最も簡便に実施されている。Fastlab（商標）は自動化 PET ラジオトレーサー合成プラットフォームに関する技術の現状を表すものである結果、新しい PET ラジオトレーサーの開発に当たっては、その合成が Fastlab（商標）に適合していることが望ましい。本発明の放射性フッ素化合物は、その合成が Fastlab（商標）に適合しているので、この点で先行技術のものに比べて有利である。放射化学は、「カセット」を装置に取り付けることにより、自動化合成装置上で実施される。通常、かかるカセットは流体通路、反応器、及び試薬バイアル並びに放射合成後の清掃段階で使用される任意の固相抽出カートリッジを受け入れるためのポートを含んでいる。

【0054】

本発明のさらに別の態様では、本発明の自動化方法を実施するためのカセットであって、

- (i) 本発明の方法に関して上記に定義された前駆体化合物を含む容器、及び
 - (ii) 本発明の方法に関して上記に定義された適当な ^{18}F 供給源を用いて容器を溶出するための手段
- を含んでなるカセットが提供される。

【0055】

かかるカセットはまた、過剰の ^{18}F を除去するためのイオン交換カートリッジも含み得る。自動化合成のために必要な試薬、溶媒及び他の消耗品もまた、濃度、容量、送出時間などに関する最終ユーザーの要求条件を満たすように自動化合成装置を運転させるソフトウェアを保持したコンパクトディスクのようなデータ媒体と共に含めることができる。

【0056】

本発明によればまた、本明細書中に定義される放射性フッ素化合物を、哺乳動物への投与に適した形態の生体適合性キャリアーと共に含んでなる「放射性医薬組成物」も提供される。

【0057】

「生体適合性キャリアー」は、放射性医薬組成物が生理学的に認容され得るようにして（即ち、毒性又は過度の不快感なしに哺乳動物体に投与できるようにして）放射性フッ素化合物を懸濁又は溶解するための流体（特に液体）である。生体適合性キャリアーは、好適には、無菌のピロジェンフリー注射用水、（有利には注射用の最終生成物が等張性又は非低張性になるように平衡させ得る）食塩水のような水溶液、或いは 1 種以上の張度調整物質（例えば、血漿陽イオンと生体適合性対イオンとの塩）、糖（例えば、グルコース又はスクロース）、糖アルコール（例えば、ソルビトール又はマンニトール）、グリコール（例えば、グリセロール）又は他の非イオン性ポリオール物質（例えば、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールなど）の水溶液のような注射可能なキャリアー液体である。生体適合性キャリアーはまた、エタノールのような生体適合性有機溶媒を含んでもよい。かかる有機溶媒は、親油性の高い化合物又は配合物を可溶化するために有用である。好ましくは、生体適合性キャリアーはピロジェンフリー注射用水、等張食塩水又はエタノール水溶液である。静脈内注射用生体適合性キャリアーの pH は、好適には 4

． 0 ～ 1 0 ． 5 の範囲内にある。

【 0 0 5 8 】

本発明の放射性医薬組成物中に含まれる場合における放射性フッ素化合物の好適な実施形態及び好ましい実施形態は、本明細書中に既に記載した通りである。

【 0 0 5 9 】

かかる放射性医薬組成物は非経口的に（即ち、注射によって）投与でき、最も好ましくは水溶液である。かかる組成物は、緩衝剤、薬学的に許容される可溶化剤（例えば、シクロデキストリン或いは P l u r o n i c 、 T w e e n 又はリン脂質のような界面活性剤）、薬学的に許容される安定剤又は酸化防止剤（例えば、アスコルビン酸、ゲンチジン酸又は p - アミノ安息香酸）のような追加成分を任意に含み得る。本発明の放射性フッ素化合物が放射性医薬組成物として提供される場合、前記放射性フッ素化合物の製造方法はさらに、放射性医薬組成物を得るために必要な段階（例えば、有機溶媒の除去、生体適合性緩衝剤及び任意の追加成分の添加）を含むことができる。非経口的投与のためには、放射性医薬組成物が無菌性かつ無発熱原性であることを保証するための手段を講じることも必要である。

10

【 0 0 6 0 】

本発明は、さらに別の態様において、本明細書中に好適なもの及び好ましいものとして定義した放射性フッ素化合物であって、インビボイメージング方法で使用するためのものを提供する。最も好ましくは、インビボイメージング方法で使用するための放射性フッ素化合物は、本明細書中に好適なもの及び好ましいものとして定義した放射性医薬組成物として提供される。

20

【 0 0 6 1 】

さらに別の態様では、本発明は、被験体の中枢神経系（C N S ）における G A B A_A 受容体の分布を決定するための陽電子放出断層撮影（P E T ）方法であって、
（ i ）本明細書中に好適なもの及び好ましいものとして定義した放射性フッ素化合物を前記被験体に投与する段階、
（ i i ）段階（ i ）で投与した前記放射性フッ素化合物を前記被験体の C N S 内の G A B A_A 受容体に結合させる段階、
（ i i i ）段階（ i i ）で結合させた前記放射性フッ素化合物中に存在する ¹⁸ F の陽電子放出崩壊から導かれる信号を検出する段階、並びに
（ i v ）前記信号の位置及び量の画像を形成する段階であって、前記信号が前記被験体における G A B A_A 受容体の分布を表す段階
を含んでなる P E T 方法を提供する。。

30

【 0 0 6 2 】

本発明の P E T 方法に関しては、放射性フッ素化合物の好適な実施形態及び好ましい実施形態は本明細書中に前述した通りである。

【 0 0 6 3 】

放射性フッ素化合物を「投与する」段階は、好ましくは非経口的に実施され、最も好ましくは静脈内に実施される。静脈内経路は、放射性フッ素化合物を被験体の身体全域に送達するための、したがって血液脳関門（B B B ）を横切って前記被験体の C N S 内で発現された G A B A_A 受容体に接触させるための最も効率的な方法である。本発明の放射性フッ素化合物は、好ましくは本明細書中に定義した本発明の医薬組成物として投与される。

40

【 0 0 6 4 】

投与段階後かつ検出段階前に、放射性フッ素化合物を G A B A_A 受容体に結合させる。放射性フッ素化合物は哺乳動物の身体を通して動的に移動し、体内の様々な組織に接触する。ひとたび放射性フッ素化合物が G A B A_A 受容体に接触すれば、特異的な相互作用が起こる結果、G A B A_A 受容体をもった組織からの放射性フッ素化合物のクリアランスは、G A B A_A 受容体をもたない組織又は G A B A_A 受容体の少ない組織よりも長い時間がかかる。一定の時点に達すれば、G A B A_A 受容体をもった組織に結合した放射性

50

フッ素化化合物と $GAB A_A$ 受容体をもたない組織又は $GAB A_A$ 受容体の少ない組織に結合した放射性フッ素化化合物との比の結果として、 $GAB A_A$ 受容体に特異的に結合した放射性フッ素化化合物の検出が可能となる。理想的には、この比は 2 : 1 以上である。

【0065】

本発明の方法の「検出」段階は、 ^{18}F の陽電子放出崩壊から導かれる信号を、前記信号に対して感受性を有する検出器（PET スキャナー中に存在するシンチレーター）によって検出することを含んでいる。陽性崩壊としても知られる陽電子放出崩壊では、陽電子が放出され、次いで最大数ミリメートルまで飛行して電子と遭遇する。陽電子と電子との遭遇は 1 対の消滅（線）光子を生成し、これらは互いに約 180 度の角をなして放出される。これらの消滅光子が「陽電子放出崩壊から導かれる信号」である。

10

【0066】

本発明の方法の「形成」段階は、取得された信号データに再構築アルゴリズムを適用してデータセットを得るコンピューターによって実施される。次いで、このデータセットを操作することで、 ^{18}F から放出される信号の位置及び / 又は量を示す画像が形成される。

【0067】

本発明の「被験体」は、任意のヒト又は動物被験体であり得る。好ましくは、本発明の被験体は哺乳動物である。最も好ましくは、前記被験体はインタクトな哺乳動物生体である。特に好ましい実施形態では、本発明の被験体はヒトである。

【0068】

本 PET 方法は、健常被験体或いは $GAB A_A$ 受容体の異常発現に関連する病的状態（「 $GAB A_A$ 状態」）を有することが知られ又は疑われる被験体において $GAB A_A$ 受容体を検査するために使用できる。本発明の PET 方法が役に立つかかる $GAB A_A$ 状態の例には、てんかん、不安障害、パーキンソン病及び慢性疼痛がある。本発明の放射性フッ素化化合物は、中枢神経系（CNS）における $GAB A_A$ 受容体発現の PET イメージングに特に適している。

20

【0069】

別の実施形態では、本発明の PET 方法は前記被験体に関する治療計画の進行中に繰り返して実施することができ、前記治療計画は $GAB A_A$ 状態と戦うための薬物の投与を含んでいる。例えば、本明細書中に好適なもの及び好ましいものとして定義した PET 方法は、 $GAB A_A$ 状態と戦うための薬物による治療前、治療中及び治療後に実施できる。このようにすれば、前記治療の効果を経時的にモニターすることができる。PET は優れた感度及び分解能を有する結果、病変部における比較的小さい変化でも経時的に観察でき、これは治療モニタリングのために有利である。PET スキャナーは、日常的にピコモル範囲内の放射能濃度を測定している。現在、マイクロ PET スキャナーは約 1 mm の空間分解能に接近しているが、臨床スキャナーは約 4 ~ 5 mm である。

30

【0070】

さらに別の態様では、本発明は $GAB A_A$ 状態の診断方法を提供する。本発明の診断方法は、上記に好適なもの及び好ましいものとして定義した PET 方法を、 $GAB A_A$ 受容体発現の分布を特定の臨床像に帰因させる追加段階（v）（即ち、演繹的な医学的決断段階）と共に含んでいる。

40

【0071】

別の態様では、本発明は、本明細書中で定義した診断方法で使用するための、本明細書中に好適なもの及び好ましいものとして定義した放射性フッ素化化合物を提供する。

【0072】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書中で定義した診断方法で使用するための本明細書中で定義した放射性医薬組成物の製造で使用するための、本明細書中で定義したインビボイメージング剤を提供する。

【実施例】

【0073】

以下、一連の非限定的な実施例によって本発明を例示する。

50

【 0 0 7 4 】

実施例の簡単な説明

実施例 1 は、非放射性化合物 1 の合成法を記載している。

【 0 0 7 5 】

実施例 2 は、前駆体化合物 1 からの放射性フッ素化合物 1 の合成法を記載している。

【 0 0 7 6 】

実施例 3 は、非放射性化合物 2 の合成法を記載している。

【 0 0 7 7 】

実施例 4 は、前駆体化合物 2 からの放射性フッ素化合物 2 の合成法を記載している。

【 0 0 7 8 】

実施例 5 は、GABA_A受容体に対する非放射性化合物 1 及び化合物 2 の親和性を評価するために使用したインビトロアッセイを記載している。

10

【 0 0 7 9 】

実施例 6 及び実施例 7 は、それぞれ [¹⁸F] - 化合物 1 及び [¹⁸F] - 化合物 2 のインビボ体内分布を記載している。

【 0 0 8 0 】

比較例 8 は、[¹⁸F] フルマゼニルを得るための既知方法を記載している。

【 0 0 8 1 】

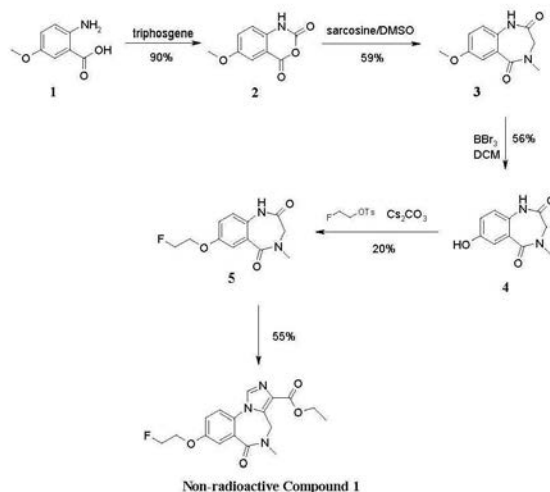
実施例中で使用される略語のリスト

% i d	パーセント注射量	20
% i d / g	1 グラム当たりのパーセント注射量	
D C M	ジクロロメタン	
D M S O	ジメチルスルホキシド	
F F M Z	フルオロフルマゼニル	
F E F M Z	フルオロエチルフルマゼニル	
F M Z	フルマゼニル	
M B q	メガベクレル	
O T s	トシレート	
p i	注射後	
S D	標準偏差	30
T H F	テトラヒドロフラン	

実施例 1 : 非放射性化合物 1 の合成法

【 0 0 8 2 】

【 化 9 】



40

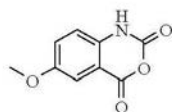
【 0 0 8 3 】

50

実施例 1 (i) : 6 - メトキシ - 1 H - ベンゾ [d] [1 , 3] オキサジン - 2 , 4 - ジオン (2) の合成

【 0 0 8 4 】

【 化 1 0 】



10

【 0 0 8 5 】

商業的に入手可能な 2 - アミノ - 5 - メトキシ安息香酸 (2 0 g 、 1 2 0 m m o l) をジオキサン (2 0 0 m L) に溶解した。冷却しながらトリホスゲン (1 5 g 、 5 0 . 6 m m o l) を添加した (添加中に濃厚な沈殿が生じた) 。流動性を高めるためにジオキサン (5 0 m L) を添加した。混合物を 1 時間加熱還流し、次いで放冷した。得られた沈殿を濾過によって集めることで、中間体 2 をベージュ色の粉末 (2 0 . 8 g 、 9 0 %) として得た。

【 0 0 8 6 】

$^1\text{H NMR}$ (D_6 - DMSO) : 3 . 8 1 (3 H , s , $\text{C}\underline{\text{H}}_3$) 、 7 . 1 1 (1 H , d , $J = 9 \text{ Hz}$, $\text{NH}\text{C}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\text{CHCOCH}_3$) 、 7 . 3 4 (1 H , d , $J = 3 \text{ Hz}$, $\text{CH}_3\text{OC}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\text{CCO}$) 、 7 . 3 9 (1 H , dd , $J = 9 \text{ and } 3 \text{ Hz}$, $\text{C}\underline{\text{H}}\text{COCH}_3\text{CH}$) 、 1 1 . 6 (1 H , br s , NH) 。

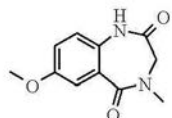
20

【 0 0 8 7 】

実施例 1 (i i) : 7 - メトキシ - 4 - メチル - 3 , 4 - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [e] [1 , 4] ジアゼピン - 2 , 5 - ジオン (3) の合成

【 0 0 8 8 】

【 化 1 1 】



30

【 0 0 8 9 】

中間体 2 (2 0 . 8 g 、 1 0 8 m m o l) を DMSO (5 5 m L) 中に懸濁した。次いで、混合物を予熱したマントル (1 5 7) 上に配置した。混合物を撹拌した。ほとんどすべての出発原料が溶解した後、サルコシン (3 2 . 0 g 、 1 0 8 m m o l) を少しずつ添加した。ほとんど直ぐに、発泡が認められた。混合物を 2 時間加熱した後、約 7 0 まで放冷し、次いで水 (3 0 0 m L) 中に注ぎ込んだ。小さな白色のボール (b a u b l e s) の形成が見られ、次いでこれらが拡大して白色の粉末を生じた。これを濾過によって集め、次いで真空オープン内において 5 0 で一晩乾燥した (1 3 . 9 g 、 5 9 %) 。

40

【 0 0 9 0 】

$^1\text{H NMR}$ (D_6 - DMSO) 3 . 1 4 (3 H , s , NCH_3) 、 3 . 7 5 (3 H , s , OCH_3) 、 3 . 8 2 (2 H , s , NCH_2) 、 7 . 0 3 (1 H , d , $J = 9 \text{ Hz}$, $\text{C}\underline{\text{H}}\text{CHCOCH}_3$) 、 7 . 1 2 (1 H , dd , $J = 9 \text{ and } 3 \text{ Hz}$, CHCHCOCH_3) 、 7 . 2 2 (1 H , d , $J = 3 \text{ Hz}$, $\text{COCC}\underline{\text{H}}\text{COCH}_3$) 、 1 0 . 3 (1 H , br s , NH) 。

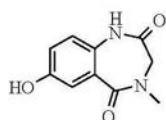
【 0 0 9 1 】

実施例 1 (i i i) : 7 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 3 , 4 - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [e] [1 , 4] ジアゼピン - 2 , 5 - ジオン (4) の合成

50

【 0 0 9 2 】

【 化 1 2 】



【 0 0 9 3 】

無水DCM (1 0 m L) 中における中間体 3 (0 . 5 g 、 2 . 2 7 m m o l) の攪拌懸濁液に、三臭化ホウ素 (D C M 中 1 M) (6 . 8 m L 、 6 . 8 1 m m o l) を (窒素流下及び - 7 8 ° で) 滴下した。滴下の完了後、混合物を窒素下室温で 1 6 時間攪拌し続けた。次いで、溶媒を真空中で除去し、残留物中に氷水を注意深く注ぎ込んだ。次いで、不溶物を濾過によって集めたところ、所望の生成物 (0 . 2 g 、 4 3 %) であることがわかった。

10

【 0 0 9 4 】

$^1\text{H NMR}$ (D_6 - DMSO) 3 . 0 8 (3 H , s , NCH_3) 、 3 . 7 0 - 3 . 8 0 (2 H , m , NCH_2) 、 6 . 9 1 (2 H , s , $\text{ArCH}_2 \times 2$) 、 7 . 1 0 (1 H , s , ArCH) 、 1 0 . 2 (1 H , b r s , NH) 。

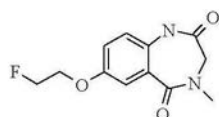
【 0 0 9 5 】

実施例 1 (i v) : 7 - (2 - フルオロエトキシ) - 4 - メチル - 3 , 4 - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [e] [1 , 4] ジアゼピン - 2 , 5 - ジオン (5) の合成

20

【 0 0 9 6 】

【 化 1 3 】



【 0 0 9 7 】

DMF (1 0 0 m L) 中の中間体 4 (3 . 4 g 、 1 6 . 4 m m o l) 及びフルオロエチルトシレート (5 . 4 g 、 2 4 . 6 m m o l) に、炭酸セシウム (8 . 0 g 、 2 4 . 6 m m o l) を添加した。混合物を 6 0 ° で 2 時間加熱した (その間に混合物は暗褐色になった) 。 T L C (9 0 % D C M 、 1 0 % M e O H) は反応が完了したことを示した。溶媒を減圧下で除去し、次いで残留物を水で洗浄し、有機物を酢酸エチルで抽出した。次いで、有機層を MgSO_4 上で乾燥し、濾過し、蒸発乾固して粗生成物を得た。次いで、これをフラッシュクロマトグラフィー (1 0 0 % D C M 9 5 % D C M 、 5 % M e O H) で精製して所望の生成物 (0 . 8 g 、 2 0 %) を得た。

30

【 0 0 9 8 】

$^1\text{H NMR}$ (D_6 - DMSO) 3 . 1 1 (3 H , s , NCH_3) 、 3 . 8 2 (2 H , s , NCH_2) 、 4 . 2 5 (2 H , d t , $J_{\text{HF}} = 3 0 \text{ Hz}$, $J_{\text{HH}} = 4 \text{ Hz}$, CH_2O) 、 4 . 7 4 (2 H , d t , $J_{\text{HF}} = 4 8 \text{ Hz}$, $J_{\text{HH}} = 4 \text{ Hz}$, CH_2F) 、 7 . 0 4 (1 H , d , $J = 9 \text{ Hz}$, $\text{CHCHCOCH}_2\text{CH}_2\text{F}$) 、 7 . 1 6 (1 H , d d , $J = 9$ and 3 Hz , $\text{CHCHCOCH}_2\text{CH}_2\text{F}$) 、 7 . 2 4 (1 H , d , $J = 3 \text{ Hz}$, $\text{COCCCHCOCH}_2\text{CH}_2\text{F}$) 、 1 0 . 3 0 (1 H , b r s , NH) 。

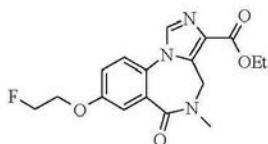
40

【 0 0 9 9 】

実施例 1 (v) : 非放射性化合物 1 の合成

【 0 1 0 0 】

【化 1 4】



【0101】

中間体 5 (0.80 g、3.17 mmol) を DMF (6 mL) 及び THF (10 mL) 中に懸濁した。次に、窒素下で冷却しながら水素化ナトリウム (鉱油中 60% 分散液 0.15 g、3.79 mmol) を添加した。水素発生がやんだ後、冷却しながらジエチルホスホクロリデート (0.67 mL、4.75 mmol) を滴下した (溶液は鮮黄色になった)。直後に、イソシアノ酢酸エチル (0.41 mL、3.80 mmol) を DMF (3 mL) に溶解した溶液を N₂ 下で調製した。次いで、冷却しながら水素化ナトリウム (鉱油中 60% 分散液 0.11 g、4.58 mmol) を添加した。水素発生がやんだ後、冷却しながらこの混合物を中間体 5 に滴下した。混合物を 0 で 30 分間攪拌し、室温で 18 時間攪拌し続けた。次いで、酢酸 (0.17 mL、6.14 mmol) を反応物に添加した。次いで、混合物を氷水中に注ぎ込み、有機物を酢酸エチルで抽出し、MgSO₄ 上で乾燥し、濾過し、蒸発乾固した。次いで、得られた褐色の油状物を、100% DCM 95% DCM、5% MeOH を用いるフラッシュクロマトグラフィーに 2 回付した。次いで、得られた鮮黄色の固体をエーテルで洗浄し、エーテルが無色になるまで続けた。淡黄色の固体を濾過によって集めた (0.6 g、55%)。

10

20

30

【0102】

¹H NMR (CDCl₃) 1.44 (3H, s, CH₃), 3.24 (3H, s, NCH₃), 4.19 - 4.45 (5H, m, OCH₂, NCH, OCH₂), 4.78 (2H, dt, J_{HF} = 47 Hz, J_{HH} = 4 Hz, CH₂F), 5.20 (1H, br s, NCH'), 7.21 (1H, dd, J = 9 and 3 Hz, CHCHCOCH₂CH₂F), 7.36 (1H, d, J = 8 Hz, CHCHCOCH₂CH₂F), 7.54 (1H, d, J = 3 Hz, COCCHCOCH₂CH₂F), 7.84 (1H, s, NCHN)。

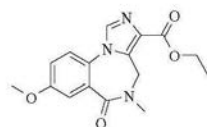
【0103】

実施例 2：放射性フッ素化合物 1 の合成法

実施例 2 (i)：8 - メトキシ - 5 - メチル - 6 - オキソ - 5, 6 - ジヒドロ - 4 H - 2, 5, 10 b - トリアザ - ベンゾ [e] アズレン - 3 - カルボン酸エチルエステル (6) の合成

【0104】

【化 1 5】



40

【0105】

中間体 3 (1.0 g、4.54 mmol、合成法は実施例 1 (ii) に記載) を DMF (9 mL) 及び THF (14 mL) 中に懸濁した。次に、窒素下で冷却しながら水素化ナトリウム (鉱油中 60% 分散液 0.13 g、5.41 mmol) を添加した。水素発生がやんだ後、冷却しながらジエチルホスホクロリデート (1.18 g、0.99 mL、6.81 mmol) を滴下した (溶液は鮮黄色になった)。直後に、イソシアノ酢酸エチル

50

(0.62 g、0.60 mL、5.48 mmol)をDMF (4.5 mL)に溶解した溶液をN₂下で調製した。次いで、冷却しながら水素化ナトリウム(鉱油中60%分散液0.15 g、6.25 mmol)を添加した。水素発生がやんだ後、冷却しながらこの混合物を中間体3に滴下した。混合物は橙色の懸濁液であった。混合物を室温で18時間攪拌し続けた。次いで、酢酸(1 mL)を反応物に添加した。次いで、混合物を氷水中に注ぎ込んだ。沈殿が認められた。これを濾過によって集め、水で洗浄し、乾燥し、次いでジエチルエーテルで洗浄した。固体は純粋な生成物(0.58 g)であることがわかった。水性濾液を酢酸エチルで洗浄し、MgSO₄上で乾燥し、濾過し、蒸発乾固した。次いで、得られた橙色の固体をエーテルで洗浄した。次いで、淡黄色の固体を濾過によって集めた(0.2 g + 0.58 g = 57%)。

10

【0106】

¹H NMR (CDCl₃) 1.45 (3H, s, CH₃), 3.25 (3H, s, NCH₃), 3.91 (3H, s, OCH₃), 4.25 - 4.49 (3H, m, OCH₂, NCH), 5.16 - 5.21 (1H, m, NCH'), 7.13 (1H, dd, J = 9 and 3 Hz, CHCHCOCH₃), 7.35 (1H, d, J = 9 Hz, CHCHCOCH₃), 7.55 (1H, d, J = 3 Hz, COCCHCOCH₃), 7.84 (1H, s, NCHN)。

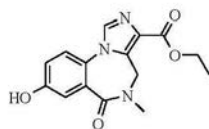
【0107】

実施例2 (ii) : 前駆体化合物1の合成

20

【0108】

【化16】



【0109】

中間体6 (0.55 g、1.74 mmol)をDCM (5 mL)に溶解し、次いで三臭化ホウ素(ジクロロメタン中1 M溶液1.75 mL、1.75 mmol)を-70℃で滴下した。1時間後、混合物から試料を採取し、メタノールで希釈した。TLC (95% DCM、5% MeOH)は、基線に出発原料及び新しいスポットの存在を示した。この試料のNMRは、それがイミダゾールのH塩であり、脱メチル化はまだ起こっていないことを示した。反応物をフリーザー内に一晩放置した。翌日、さらに同等量の三臭化ホウ素を-70℃で滴下した。1時間後、TLCは出発原料、基線物質、及び出発原料直下の新しいスポットの存在を示した。混合物を室温で3時間攪拌し続けた。TLCは出発原料の大部分が消失したことを示し、LCMSは生成物の存在を示した。メタノールで希釈し、蒸発させ、重水素化メタノールに再溶解することで、別のNMR試料を採取した。NMRは4種の化合物の存在を示したが、そのうちの2種はメチルエステルであった。これは、BBR₃反応中にエステルの加水分解が起こってカルボン酸を生じ、次いでそれがメタノール処理中にメチル化されることを示している。したがって、インサイチュでの再エステル化によって一層多くの生成物を得ることができよう。そこで、バルク反応混合物をエタノールで(注意しながらゆっくりと)希釈した。この添加後に反応混合物はわずかに温かく、次いで終末中RTで攪拌し続けた。次いで、混合物を蒸発させ、水に溶解し、中和した。次に、水性相を酢酸エチルで洗浄し、次いで有機相を合わせ、MgSO₄上で乾燥し、濾過し、蒸発乾固して橙色の固体を得た。これをエーテルで洗浄し、エーテルが無色になるまで続けた。次いで固体を、99% DCM、1% MeOH、3% MeOHを用いるカラムクロマトグラフィーに付した。生成物は30 CVで溶出した。不純物は5 CV (1% MeOH)で除去された。固体をシリカ4 gのカラム上に装填した。所望の生成物は白色の固体(20 mg、4%)として得られた。

30

40

【0110】

50

^1H NMR (D_3 -Methanol) 1.41 (3H, s, CH_3), 3.20 (3H, s, NCH_3), 4.32 - 4.55 (3H, m, NCH_2 , OCH_2), 5.12 (1H, br d, $J = 15\text{ Hz}$, NCH), 7.11 (1H, dd, $J = 9\text{ Hz}$ and 3 Hz , CHCHCOH), 7.34 (1H, d, $J = 3\text{ Hz}$, OCCCHCOH), 7.51 (1H, d, $J = 9\text{ Hz}$, CHCHCOHCH), 8.18 (1H, s, NCHN).

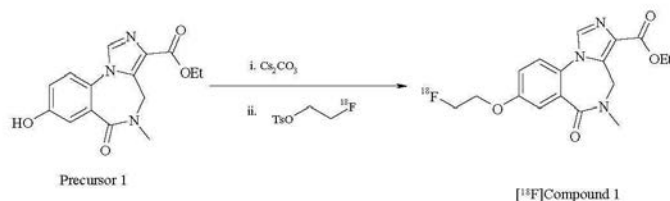
【0111】

実施例 2 (iii) : [^{18}F] - 化合物 1 を得るための放射性フッ素化

【0112】

【化 17】

10



【0113】

[^{18}F] フッ化物を吸引によって P 6 バイアルから 3 mL の V バイアルに移した。P 6 バイアルに、Kryptofix 222 (4 mg) を MeCN (0.5 mL) 及び KHCO_3 (100 μL , 0.1 M) に溶解した予備調製溶液を添加した。バイアルをかきまぜ、溶液を吸引によって V バイアルに移した。バイアルを窒素流 (0.2 L / 分) 下において 110 で 20 分間加熱し、次いで室温に冷却した。乾燥した [^{18}F] フッ化物及び Kryptofix 222 の混合物に、MeCN (1 mL) 中のエタンジオール - p - トルエンスルホネート (5 mg) を添加した。得られた黄色の溶液を 80 で 10 分間加熱し、次いで室温に冷却した。反応バイアルに水 (1.5 mL) を添加し、精製用の分取 HPLC (Hichrom ACE C5 10 x 100 mm カラム、溶媒 A = 50 mM 酢酸アンモニウム, 溶媒 B = MeCN、流量 4 mL / 分、UV 254 nm) 上に装填した。単離された HPLC 画分を水 (20 mL) 中に希釈し、次いで Waters tC18 - light Sep Pak カートリッジ上に装填した。次いで、カートリッジを高圧窒素ライン上で 15 分間乾燥した。

20

30

【0114】

1 mL のホイートンバイアル中に前駆体化合物 1 (2 mg) 及び炭酸セシウム (10 mg) を注意深く秤取し、次いで DMF (0.1 mL) を攪拌棒と共に添加した。懸濁液を室温で 10 分間攪拌した。乾燥した [^{18}F] フルオロエチルトシレート DMF (0.5 mL) で SPE からホイートンバイアル中に溶出し、得られた反応混合物を 130 で 10 分間攪拌した。反応混合物を冷却し、50 mM 酢酸アンモニウム (3.5 mM) 中に希釈し、次いで HPLC (Hichrom ACE C5 10 x 100 mm カラム、溶媒 A = 50 mM 酢酸アンモニウム, 溶媒 B = MeCN、流量 4 mL / 分、UV 254 nm) によって精製した。

40

【0115】

単離された HPLC 画分を水 (20 mL) 中に希釈し、tC18 light Sep Pak 上に捕捉し、次いで PBS (0.5 mL) を含む予備秤量バイアル中にエタノール (0.5 mL) で溶出した。元の塊状体得られるまで、エタノールを真空中で除去した。下記実施例 6 に記載されるインビボ体内分布アッセイで使用するため、[^{18}F] - 化合物 1 のアリコート (50 MBq) を 5 MBq / mL で PBS 中に製剤化した。

【0116】

分析 HPLC (Phenomenex Luna C18 (2) 50 x 2 mm カラム、溶媒 A = 0.01 M リン酸, 溶媒 B = MeCN、0.4 mL / 分、UV 254 nm) によ

50

り、 $[^{18}\text{F}]$ -化合物 1 が 23 % の合成終了時収率と共に 95 % の放射化学純度で得られたことが確認された。

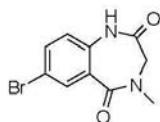
【0117】

実施例 3：非放射性化合物 2 の合成法

実施例 3 (i)：7-ブロモ-4-メチル-3,4-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e][1,4]ジアゼピン-2,5-ジオン(7)の合成

【0118】

【化18】



10

【0119】

DMSO (100 mL) 中における 5-プロモイサト酸無水物 (40.0 g、165 mmol) 及びサルコシン (14.7 g、165 mmol) の混合物を、148 ~ 150 に予熱された加熱マントル内に配置した。間もなく、濃い橙色の溶液は淡い橙色に変わり、発泡が認められた。混合物を 150 で約 30 分間加熱し、次いで水 (600 mL) 中に注ぎ込んだ。得られた淡黄色の沈殿を濾過によって集めることで、33.4 g (75 %) の 7 を得た。

20

【0120】

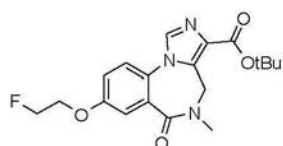
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 3.11 (3H, s, NCH_3)、3.89 (2H, s, CH_2)、7.06 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, NHCCCHCH)、7.69 (1H, dd, $J = 9.0$ and 2.0 Hz, BrCHCH)、7.82 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, OCCCH)、and 10.6 (1H, br s, NH)。

【0121】

実施例 3 (ii)：非放射性化合物 2 の合成

【0122】

【化19】



30

【0123】

THF (52 mL) 中の 7 (0.65 g、2.58 mmol) に、0 でカリウム tert-ブトキシド (0.32 g、2.83 mmol) を添加した。次に、混合物を 0 で 20 分間撹拌し (その間に鮮黄色の沈殿が認められた)、次いで -35 に冷却した。ジエチルクロロホスフェート (0.58 g、3.35 mmol、0.49 mL) をゆっくりと添加した。反応物を 0 で 30 分間撹拌し、その間に混合物は鮮黄色になった。反応フラスコを -35 に冷却し、tert-ブチルイソシアノアセテートの溶液 (0.4 g、2.83 mmol、0.41 mL) を添加し、次いでカリウム tert-ブトキシド (0.32 g、2.83 mmol) を添加した。次いで、懸濁液を室温で一晩撹拌し続けた。反応物を NaHCO_3 水溶液 (70 mL) で奪活し、EtOAc (3 x 70 mL) で抽出した。有機層を合わせ、 MgSO_4 上で乾燥し、濃縮して橙色のシロップを得た。粗物質を、DCM (A) : MeOH (B) (1 ~ 5 % B、9 CV、120 g、40 mL / 分) で

40

50

溶出するシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。非放射性化合物 2を淡黄色の固体 (0.53 g (55%)) として得た。

【0124】

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): H 1.65 (9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$)、3.25 (3H, s, NCH_3)、4.23 - 4.41 (5H, m, OCH_2 , $\text{CONCH}_3\text{CH}_a\text{H}_b$)、4.80 (2H, dt, $J_{\text{HF}} = 47.0$ and $J = 4.0$ Hz, CH_2F)、5.15 (1H, br d, $J = 14.0$ Hz, $\text{CONCH}_3\text{CH}_a\text{H}_b$)、7.21 (1H, dd, $J = 9.0$ and 3.0 Hz, $\text{CHCHCOCH}_2\text{CH}_2\text{F}$)、7.36 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, NCCHCH)、7.55 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, OCCCH)、and 7.84 (1H, s, NCHN)。

10

【0125】

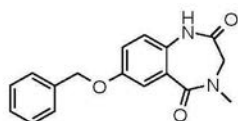
実施例 4：放射性フッ素化合物 2 の合成法

実施例 4 (i)：7 - ベンジルオキシ - 4 - メチル - 3 , 4 - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ

[e] [1 , 4] ジアゼピン - 2 , 5 - ジオン (8) の合成

【0126】

【化 20】



20

【0127】

DMF (50 mL) 中の 4 (4.13 g、20 mmol、実施例 1 (iii) に従って製造した) 及び臭化ベンジル (3.42 g、20 mmol、2.38 mL) に、炭酸セシウム (6.53 g、20 mmol) を添加した。混合物を 60 で 2 時間加熱した。その後、TLC (90% DCM、10% MeOH) は反応が完了していないことを示した。さらに同等量の臭化ベンジルを添加したところ、1 時間後の TLC は反応が完了したことを示した。溶媒を減圧下で除去し、次いで残留物を水及び酢酸エチルで洗浄した。溶媒界面間に白色の沈殿が認められ、これを濾過によって集めた。これを少量の酢酸エチルでトリチュレートし、濾過によって集めることで、8を白色の固体 (2.77 g (47%)) として得た。

30

【0128】

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): H 3.11 (3H, s, NCH_3)、3.82 (2H, s, NCH_2)、5.12 (2H, s, OCH_2)、7.04 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, HNCCCHCH)、7.19 (1H, dd, $J = 9.0$ and 3.0 Hz, $\text{BnOCCCH}_a\text{H}_b$)、7.31 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, O=CCCH)、7.33 - 7.47 (5H, m, $\text{CH} \times 5$)、and 10.30 (1H, br s, NH)。

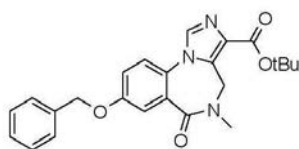
40

【0129】

実施例 4 (ii)：8 - ベンジルオキシ - 5 - メチル - 6 - オキソ - 5 , 6 - ジヒドロ - 4 H - 2 , 5 , 10 b - トリアザ - ベンゾ [e] アズレン - 3 - カルボン酸 tert - ブチルエステル (9) の合成

【0130】

【化 2 1】



【0131】

8 (2.7 g、9.11 mmol) を DMF (24 mL) 及び THF (38 mL) 中に懸濁した。次に、窒素下で冷却しながら水素化ナトリウム (鉱油中 60% 分散液 0.43 g、10.8 mmol) を添加した。水素発生がやんだ後、冷却しながらジエチルクロロホスフェート (2.36 g、13.7 mmol、1.98 mL) を滴下した (溶液は黄色になった)。直後に、イソシアノ酢酸 tert - ブチル (1.54 g、10.9 mmol、1.59 mL) を DMF (12 mL) に溶解した溶液を N₂ 下で調製した。次いで、冷却しながら水素化ナトリウム (鉱油中 60% 分散液 0.51 g、12.9 mmol) を添加した。水素発生がやんだ後、冷却しながらこの混合物を 8 の混合物に滴下した。混合物は橙色の懸濁液であった。混合物を室温で 18 時間攪拌し続けた。次いで、酢酸 (1 mL) を反応物に添加した。次いで、混合物を氷水中に注ぎ込み、有機物を酢酸エチルで抽出し、MgSO₄ 上で乾燥し、濾過し、蒸発乾固した。粗物質を、DCM (A) : MeOH (B) (0 ~ 5% B、10 CV、50 g、40 mL / 分) で溶出するシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した。生成物を最少の酢酸エチルに溶解し、次いで混合物が不透明になるまで石油スピリットを滴下した。数滴の酢酸エチルを添加すると、溶液は透明になった。次いで、混合物を 2 時間静置することで、9 を白色の固体 (0.18 g (5%)) として得た。

10

20

【0132】

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.69 (3H, s, 3 × CH₃), 3.24 (3H, s, NCH₃), 4.36 (1H, br s, CONCH₃CH_aH_b), 5.05 - 5.16 (3H, m, OCH₂, CONCH₃CH_aH_b), 7.20 (1H, dd, J = 9.0 and 3.0 Hz, CHCHCOBn), 7.32 (1H, d, J = 9.0 Hz, NCCHCH), 7.35 - 7.46 (5H, m, ArCH_x × 5), 7.63 (1H, d, J = 3.0 Hz, OCCCH), and 7.81 (1H, s, NCHN)。

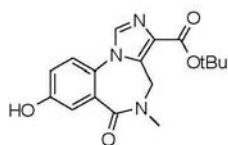
30

【0133】

実施例 4 (iii) : 8 - ヒドロキシ - 5 - メチル - 6 - オキソ - 5, 6 - ジヒドロ - 4 H - 2, 5, 10 b - トリアザ - ベンゾ [e] アズレン - 3 - カルボン酸 tert - ブチルエステル (前駆体化合物 2) の合成

【0134】

【化 2 2】



40

【0135】

9 (50 mg、0.36 mmol) をメタノール (10 mL) に溶解した。次いで、混合物を (1 mL / 分の流量で) パラジウムカートリッジに通し、60 で水素流フル H₂ モードに付した。TLC は反応が完了したことを示した。溶液を蒸発乾固することで、前駆体化合物 2 を白色の固体 (30 mg、77%) として得た。

【0136】

¹H NMR (300 MHz, DMSO - d₆): δ 1.56 (3H, s, C(CH₃))

50

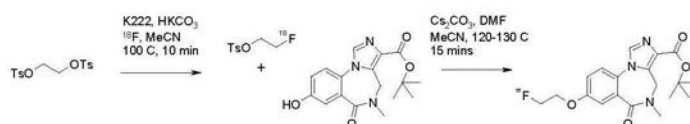
₃)、3.09 (3H, s, NCH₃)、4.42 (1H, br s, CONCH₃CH_aH_b)、4.85 (1H, br s, CONCH₃CH_aH_b)、7.09 (1H, dd, J = 9.0 and 3.0 Hz, CHCHCOH)、7.25 (1H, d, J = 3.0 Hz, OC-CHCOH)、7.53 (1H, d, J = 9.0 Hz, NCCCHCH)、and 8.22 (1H, s, NCHN)。

【0137】

実施例4(v)：[¹⁸F]-化合物2を得るための放射性フッ素化

【0138】

【化23】



10

【0139】

FASTlabの反応器内に[¹⁸F]フッ化物イオンを吸引し、次いで浸漬管入口を通してアセトニトリル(500 μl)及びKHCO₃(0.1 mol dm⁻³, 50 μl)中のKryptofix 2.2.2(2 mg)を添加した。第1の窒素ガスラインを第2の短い入口に連結し、第2の窒素ガスラインを閉鎖浸漬管弁に連結した。窒素ガス流量は0.2~0.4 L/分に設定した。ヒーターコントローラーは100 に設定した。これに到達した後、¹⁸F⁻を5分間乾燥した。5分後、窒素ガス流量を0.1~0.2 L/分未満に減少させ、浸漬弁を開放し、さらに4分間加熱した。4分後、窒素ガス流量を0.2~0.4 L/分に増加させ、さらに11~16分間乾燥した。

20

【0140】

浸漬管弁を通してアセトニトリル(1000 μl)中のTsO-Et-OTs(5 mg)を添加した。反応器を密封し、コントローラーを100 に設定し、10分間加熱した。反応物を冷却し、浸漬管を通して抜き取り、反応器を水(1500 μl)ですすぎ、主たる粗反応物を含むガラスバイアルに加えた。全反応物を半分取HPLCループに装填し、精製を開始した(条件については下記参照)。^[18F]F(CH₂)₂OTsカットピーク(保持時間8分)を水で約20 mlの体積に希釈し、コンディショニング済みのlight-C18 sep pak上に装填し、H₂O(1×2 ml)でフラッシュした。sep pakを高圧窒素ガスライン上で20分間乾燥した。

30

【0141】

攪拌機を含むホイートンバイアル内で、DMF(100 μl)中の前駆体化合物2(5 mg)及びCs₂CO₃(10 mg)を室温で1~2時間攪拌した。^[18F]F(CH₂)₂OTsをCH₃CN(0.5 ml)でホイートンバイアル中に溶出した。反応物を120~130 の油浴中で15分間加熱攪拌した。その後、反応物を冷却し、水(500 μl)で奪活した。全反応物をHPLCシステム上に装填し、下記に記載する条件を用いて生成物を精製した(保持時間11分)。

40

【0142】

カットピークを水(10 mL)で希釈し、真空ポンプを用いてプレコンディショニング済みのlight-C18 sep pak上に捕捉した。捕捉した物質を水(2 mL)で洗浄し、エタノール(0.7 mL)及びリン酸緩衝食塩水(6.3 mL)で溶出した。

【0143】

18.4%の合成終了時収率。2.2 μgのコールドリガンド総量。>99%の放射化学純度。

【0144】

50

分取 HPLC システムの詳細：HPLC カラム - H I C H R O M A C E 5 C 1 8 カラム，5 μ ，100 x 10 mm、溶媒 A = 水，B = M e O H、流量 3 m l / 分、U V 254 nm、ループ 5 m L。

【0145】

[^{18}F] F E t O T s カットに関する HPLC 条件：0 - 1 分 50 % (B)、1 - 2 5 分 50 - 95 % (B)、25 - 30 分 95 %、30 - 31 分 95 - 50 % (B)、31 - 33 分 50 % (B)。

【0146】

[^{18}F] - 化合物 2 に関する HPLC 条件：0 - 1 分 30 % (B)、1 - 20 分 30 - 95 % (B)、20 - 25 分 95 % (B)、25 - 26 分 95 - 30 % (B)、26 - 28 分 30 % (B)。

10

【0147】

分析 HPLC：HPLC カラム - L u n a C 8 (2) 150 x 4 . 6 mm、溶媒 A = 水，B = M e C N、流量 1 m L / 分、U V 254 nm、ループ 100 μ L。

【0148】

実施例 5：インビトロ親和性アッセイ

本発明の化合物の親和性を評価するため、トリチウム化 FMZ を競合剤として利用する競合放射性リガンド結合アッセイを実施した。トリチウム化フルマゼニルは、1 m C i / m L の濃度で M E N P e r k i n E l m e r 社 (C a t . N E T 7 5 7 2 5 0 U C) から購入した。簡単に述べれば、10 μ l の試験化合物を (40 nM に希釈した) 2 nM トリチウム化 FMZ の存在下でラット小脳の粗ホモジネートと共にインキュベートした。ホモジネートは、D o u n c e ホモジナイザーを用いて、10 x 容量のホモジナイゼーション緩衝液 (10 mM K H ₂ P O ₄ 緩衝液、pH 7 . 4) 中で小脳をホモジナイズすることで調製した。ホモジネートを 48000 g (S W 4 0 T i ローターを用いて 1956 R P M) で 4 で 30 分間遠心した。ホモジネートは常に氷上に保った。90 分後、アッセイ物をガラス繊維マットで濾過し、それによってホモジネート及びそれに結合したリガンドを濾別した。次いで、液体シンチレーションを用いてフィルターマット上の放射能の量を測定した。化合物 1 及び化合物 2 に関する親和性データを、商業的に入手可能な先行技術の化合物であるフルマゼニルと共に、下記表 1 に示す。

20

【0149】

30

【表 1】

表 1：FMZ (フルマゼニル) 及び FMZ 類似体に関するインビトロ親和性データ

	FMZ	化合物 1	化合物 2
<i>K_i</i> (nM)	0.5	2.4	0.52

【0150】

実施例 6：[^{18}F] - 化合物 1 のインビボ体内分布

成体雄 S p r a g u e - D a w l e y ラット (体重 202 \pm 37 g、平均 \pm S D) に、側尾静脈を通して 1 ~ 5 M B q の [^{18}F] - 化合物 1 を注射した。いずれの動物も意識があったが、注射中は軽く拘束し、次いで短期代謝ケージ内に収容した。特定の時点、即ち注射後 (p i) 30 秒、2 分、10 分、30 分及び 60 分 (各時点について n = 3) に、動物を頸部脱臼によって屠殺した。剖検後、脳及び末梢の組織又は体液を試料採取した。W a l l a c ガンマカウンターを用いて脳試料中の放射能を測定した。アッセイ後、放射性崩壊に関する自動補正を含む双晶ガンマカウンターシステム (B A S I L 社) を用いて脳組織を残りの器官又は組織試料と共にアッセイした。下記表 2 は、脳領域において得られたデータを示している。

40

【0151】

【表 2】

表 2：ナイーブな雄 Sprague-Dawley ラットにおける ^{18}F -化合物 1 の投与後の領域別脳内分布データ。データは平均 ($\pm\text{SD}$)として表され、すべてが $n=3$ である。アステリスク(*)で示されたデータは% id/g である。

	^{18}F -化合物 1 の分布				
	注射後時間 [分(標準偏差)]				
	0.5	2	10	30	60
脳領域 (% id/g)					
線条	0.26 (0.07)	0.41 (0.04)	0.36 (0.04)	0.21 (0.04)	0.18 (0.04)
小脳	0.28 (0.06)	0.43 (0.03)	0.36 (0.05)	0.23 (0.04)	0.20 (0.05)
海馬	0.26 (0.08)	0.43 (0.06)	0.43 (0.07)	0.32 (0.05)	0.26 (0.07)
前前頭皮質	0.33 (0.1)	0.57 (0.02)	0.53 (0.09)	0.35 (0.07)	0.24 (0.06)
視床	0.30 (0.11)	0.47 (0.07)	0.39 (0.05)	0.24 (0.05)	0.20 (0.07)
下垂体	0.60 (0.1)	0.69 (0.13)	0.55 (0.10)	0.30 (0.02)	0.26 (0.08)
橋/髄質	0.23(0.04)	0.34 (0.02)	0.28 (0.05)	0.18 (0.04)	0.19 (0.05)
前前頭皮質:視床	1.13	1.23	1.35	1.44	1.21

10

20

【0152】

^{18}F - 化合物 1 の全脳取込みは注射後 10 分で 0.9 % のピークに達し、次いで (プラトーに向かって) 減少する速度でゆっくりと排出された。(脳の GABA リッチ領域と GABA プア領域との間には) 良好な領域差別化が存在し、これは注射後 30 分でも明らかに保たれた。

【0153】

実施例 7： ^{18}F - 化合物 2 のインビボ体内分布

化合物 1 に関して実施例 6 に記載した体内分布プロトコルを用いて化合物 2 を評価した。下記表 3 は、脳領域において得られたデータを示している。

【0154】

30

【表 3】

表 3：ナイーブな雄 Sprague-Dawley ラットにおける ^{18}F -化合物 2 の投与後の領域別脳内分布データ。データは平均 ($\pm\text{SD}$)として表され、すべてが $n=3$ である。

	^{18}F -化合物 2 の分布				
	注射後時間 [分(標準偏差)]				
	0.5	2	10	30	60
脳領域 (% id/g)					
線条	0.63 (0.05)	0.71 (0.16)	0.61 (0.10)	0.55 (0.096)	0.45 (0.02)
小脳	0.75 (0.10)	0.82 (0.19)	0.74 (0.08)	0.59 (0.06)	0.47 (0.02)
海馬	0.63 (0.08)	0.89 (0.20)	0.94 (0.06)	0.75 (0.03)	0.53 (0.01)
前前頭皮質	0.80 (0.05)	1.07 (0.29)	1.04 (0.15)	0.75 (0.06)	0.51 (0.03)
視床	0.67 (0.12)	0.78 (0.20)	0.69 (0.12)	0.62 (0.12)	0.49 (0.02)
下垂体	0.82 (0.21)	1.07 (0.19)	0.69 (0.11)	0.64 (0.04)	0.51 (0.04)
橋/髄質	0.58 (0.09)	0.61 (0.14)	0.56 (0.09)	0.52 (0.05)	0.45 (0.02)
前前頭皮質:視床	1.22	1.36	1.51	1.23	1.05

40

【0155】

^{18}F - 化合物 2 の全脳取込みは注射後 2 分で 0.82 % のピークに達し、次いで (

50

プラトーに向かって)減少する速度でゆっくりと排出された。(脳のGABAリッチ領域とGABAプア領域との間には)良好な領域差別化が存在し、これは注射後10分でも明らかに保たれた。

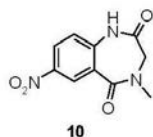
【0156】

比較例8: [^{18}F]フルマゼニル([^{18}F]FMZ)の合成法

比較例8(i): 4-メチル-7-ニトロ-3,4-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e][1,4]ジアゼピン-2,5-ジオン(10)の合成

【0157】

【化24】



10

【0158】

フラスコを撹拌しながらゆっくりと140 に加熱することで、商業的に入手可能な5-ニトロイサト酸無水物(40g、0.192mol)をDMSO(50mL)に溶解した。溶液にサルコシン(17.1g、0.192mol)を少しずつゆっくりと添加した。添加後、140 で溶液は泡立ち始めた(CO₂の生成)。混合物を2.5時間撹拌し続けた。混合物を放冷し、ピーカー内の氷冷水中にゆっくりと注ぎ込んだ。溶液をガラス棒で撹拌したところ、黄色の固体が析出した。固体を濾過によって分離し、水で数回洗浄し、次いで40 の真空オープン内で一晚乾燥した。単離された黄色の固体は、収率78%の所望生成物10であることが確認された。

20

【0159】

^1H NMR(D₆-DMSO): 3.14(3H, s, NCH₃)、3.97(2H, s, NCH₂CO)、7.30(1H, d, J = 9 Hz, HNCCHCH)、8.33(1H, dd, J = 9 and 3 Hz, CHCHCNO₂CH)、8.33(1H, d, J = 3 Hz, OC-CCH)、11.05(1H, s, NH)。

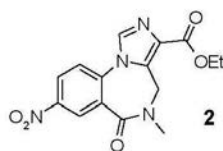
30

【0160】

比較例8(ii): ニトロマゼニル(11)の製造

【0161】

【化25】



40

【0162】

中間体10(1g、4.3mmol)をTHF(10mL)及びDMF(2mL)に溶解した溶液に、窒素下0 でカリウムtert-ブトキシド(0.6g、5mmol)を添加した。30分後、反応物を0 に冷却し、ジエチルクロロホスフェート(0.7mL、5mmol)の滴下で処理し、30分間撹拌した。他方、エチルイソシアノアセレート(0.6mL、5mmol)をTHF(10mL)に溶解した撹拌溶液に、窒素下0 でカリウムtert-ブトキシド(0.6g、5mmol)を添加し、15分間撹拌した。次いで、これを中間体10の混合物に0 でゆっくりと添加した。これを0 で0.5時間撹拌し、次いで室温でさらに2時間撹拌した。TLC(酢酸エチル)は、UV及びKMnO₄により、出発原料(Rf 0.4)及び新しいスポット(Rf 0.2)を示した。

50

【0163】

反応物を酢酸で奪活し、一晚攪拌し続けた。反応混合物を氷水中に注ぎ込んだ。これを酢酸エチルで抽出し、有機層を水及びブラインで洗浄し、乾燥し、濃縮して濃暗色の濃厚油状物を得た。これを、下記の条件を用いたクロマトグラフィーによって数回処理した。

1) DCM / 酢酸エチルを用いた Companion (2回)

2) ペトルール / 酢酸エチルを用いた Companion (2回)

50 mg の純物質 11 を無色の固体 (収率 4 %) として得た。

【0164】

^1H NMR (CDCl_3): 1.39 (3H, t, $J = 7\text{ Hz}$, CH_3)、3.28 (3H, s, ArCONCH_3)、4.37 (2H, q, $J = 7\text{ Hz}$, OCH_2)、4.40 (1H, br s, CH_2)、5.26 (1H, br s, CH_2)、7.60 (1H, d, $J = 8.9\text{ Hz}$, ArCHCHCNO_2)、7.94 (1H, s, NCHN)、8.45 (1H, dd, $J = 8.9$ and 2.8 Hz , ArCHCHCNO_2)、8.95 (1H, d, $J = 2.5\text{ Hz}$, ArCHCNO_2)。

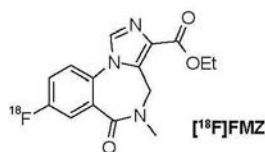
10

【0165】

比較例 8 (iii): $[^{18}\text{F}]$ フルマゼニル ($[^{18}\text{F}]$ FMZ) を得るためのニトロマゼニル (11) の放射性フッ素化

【0166】

【化26】



20

【0167】

TRACER Lab 自動化合成モジュール (GE Healthcare 社) 上で ^{18}F 標識を行った。プレコンディショニング済みの QMA カートリッジ上に $[^{18}\text{F}]$ フッ化物イオンを捕捉し、次いでテトラ - n - ブチルアンモニウム重炭酸塩を MeCN / 水に溶解した溶液 (MeCN 1400 μL 、水 100 μL 、TBA $\cdot\text{HCO}_3$ 27 mg) を用いてバイアル 1 から反応器に移した。窒素 + 真空フローを使用しながら、溶液を 100 で 10 分間、次いで 120 で 20 分間乾燥し、次いで 50 に冷却した。

30

【0168】

乾燥した $[^{18}\text{F}]$ フッ化物イオンに、DMF (1 mL) 中のニトロマゼニル (18.8 mg) をバイアル 3 から添加した。反応混合物を 160 で 30 分間加熱し、次いで 50 に冷却した。反応混合物をバイアル 5 からの 10 mM リン酸 (2.5 mL) で希釈し、粗生成物管に移した。

【0169】

次いで、粗生成物を分取 HPLC ループに手動で移した。分取 HPLC は 17.5 分の保持時間を有するピークを与えたが、これを水 (12 mL) の入った TRACER Lab の丸底フラスコ内にカットした。分取 HPLC システムは液体フローシンチレーションカウンタを備えていた。

40

【0170】

【表 4】

HPLC カラム	Phenomenex Luna C18(2) 250x10mm 5 μ
溶媒	A = 10 mM リン酸, B = MeCN, 25% B イソクラディック
流量	4 mL/min
UV	254 nm
ループ	5 mL
感度	2000K

10

【 0 1 7 1 】

丸底フラスコ内の混合物を、(1 mL のエタノール、次いで 2 mL の水でプレコンディショニングを施した) t C 1 8 p l u s l i t e S P E カートリッジ上に捕捉した。S P E カートリッジを水 (3 mL) で洗浄し、E t O H (0 . 3 mL) 及び水 (4 . 5 mL) を用いて粗生成物を P 6 バイアル中に溶出した。

【 0 1 7 2 】

【表 5】

20

初期放射能	193.8 MBq	@11:14
製剤化生成物の放射能	14.8 MBq	@12:48
= 7.7% 合成終了時収率		

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2010/065126

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D487/04 A61K51/04
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RYZHIKOV N N ET AL: "Preparation of highly specific radioactivity [^{18}F]flumazenil and its evaluation in cynomolgus monkey by positron emission tomography", NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY, ELSEVIER, NY, US, vol. 32, no. 2, 1 February 2005 (2005-02-01), pages 109-116, XP004756707, ISSN: 0969-8051, DOI: DOI:10.1016/J.NUCMEDBIO.2004.11.001 cited in the application Figure 1	1-27
A	US 4 316 839 A (GERECKE MAX ET AL) 23 February 1982 (1982-02-23) claim 1	1-27

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 February 2011

Date of mailing of the international search report

22/03/2011

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentean 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Grassi, Damian

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2010/065126

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 670 433 A (WAETJEN FRANK [DK] ET AL) 2 June 1987 (1987-06-02) claim 1	1-27
A	----- MITTERHAUSER M ET AL: "Biological evaluation of 2'-[<18>F]fluoroflumazenil ([<18>F]FFMZ), a potential GABA receptor ligand for PET", NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY, ELSEVIER, NY, US, vol. 31, no. 2, 1 February 2004 (2004-02-01), pages 291-295, XP004495516, ISSN: 0969-8051, DOI: DOI:10.1016/J.NUCMEDB10.2003.09.003 cited in the application the whole document -----	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2010/065126

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4316839	A	23-02-1982	AR 227293 A1 15-10-1982
			AU 533641 B2 01-12-1983
			AU 6278280 A 09-04-1981
			BR 8006404 A 14-04-1981
			CA 1143728 A1 29-03-1983
			DE 3067868 D1 20-06-1984
			DK 391280 A 05-04-1981
			EP 0027214 A1 22-04-1981
			FI 803135 A 05-04-1981
			GB 2060632 A 07-05-1981
			GR 70772 A1 22-03-1983
			HU 182675 B 28-02-1984
			IE 50318 B1 02-04-1986
			IL 61160 A 31-07-1983
			JP 1156968 A 20-06-1989
			JP 1704279 C 14-10-1992
			JP 3069913 B 05-11-1991
			LU 88298 A9 04-05-1994
			MC 1355 A 10-08-1981
			NL 930056 I1 01-09-1993
			NO 802946 A 06-04-1981
			NZ 195071 A 24-08-1984
			PH 16607 A 24-11-1983
			PT 71874 A 01-11-1980
			US 4346030 A 24-08-1982
			US 4346031 A 24-08-1982
			US 4346032 A 24-08-1982
			US 4346033 A 24-08-1982
			US 4346034 A 24-08-1982
			US 4359420 A 16-11-1982
			US 4346035 A 24-08-1982
			US 4363762 A 14-12-1982
			US 4346036 A 24-08-1982
			ZW 21580 A1 29-04-1981
US 4670433	A	02-06-1987	AU 587802 B2 31-08-1989
			AU 5401386 A 11-09-1986
			CA 1261322 A1 26-09-1989
			DE 197282 T1 09-04-1987
			DK 63388 A 08-02-1988
			DK 94686 A 09-09-1986
			EP 0197282 A1 15-10-1986
			FI 860894 A 09-09-1986
			GR 860639 A1 26-06-1986
			NO 860857 A 09-09-1986
			PT 82115 A 01-03-1986
US 4670433	A		US 4772696 A 20-09-1988
			US 4727153 A 23-02-1988

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 25/16 (2006.01)		A 6 1 P 25/22	
A 6 1 P 25/04 (2006.01)		A 6 1 P 25/16	
		A 6 1 P 25/04	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ウッドクラフト, ジョン
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー７・９エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド

(72)発明者 ジョーンズ, クレア
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー７・９エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド

(72)発明者 ゲータ, アレサンドラ
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー７・９エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド

(72)発明者 トリッグ, ウィリアム
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー７・９エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド

(72)発明者 ジョーンズ, ポール
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー７・９エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド

(72)発明者 ブラント, スチュアート
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー７・９エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド

F ターム(参考) 4C050 AA01 AA07 BB05 CC11 EE03 FF03 GG03 HH01
4C085 HH03 KA29 KA36 KB20 KB56 LL13
4C086 AA01 AA02 CB11 MA01 MA04 MA17 MA55 NA14 ZA02 ZA06
ZA12