

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6831802号  
(P6831802)

(45) 発行日 令和3年2月17日(2021.2.17)

(24) 登録日 令和3年2月2日(2021.2.2)

(51) Int.Cl.

F 1

**C07D 471/04** (2006.01)  
**A61K 51/04** (2006.01)  
**C07B 59/00** (2006.01)

C07D 471/04 108Q  
C07D 471/04 CSP  
A61K 51/04 200  
C07B 59/00

請求項の数 9 (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願2018-3564 (P2018-3564)  
(22) 出願日 平成30年1月12日 (2018.1.12)  
(65) 公開番号 特開2019-123675 (P2019-123675A)  
(43) 公開日 令和1年7月25日 (2019.7.25)  
審査請求日 令和2年8月5日 (2020.8.5)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 518194774  
上海富吉医療器械有限公司  
Shanghai Chartwell Medical Instrument Co., Ltd.  
中華人民共和国上海市徐匯区桂平路470号12号楼3層  
3rd Floor, House No. 12, 470 Gui Ping Rd., Xuhui District, Shanghai, People's Republic of China  
(74) 代理人 110000084  
特許業務法人アルガ特許事務所

最終頁に続く

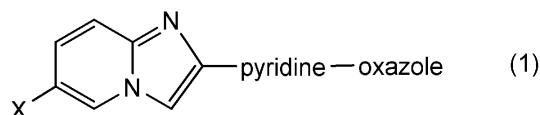
(54) 【発明の名称】放射性核種標識化合物及びこれを含有するイメージング剤

(57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

下記一般式(1)で表される放射性核種標識化合物又はその塩。

## 【化 1】



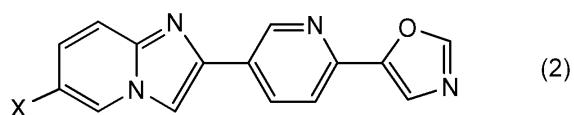
10

(式中、Xは放射性ヨウ素原子、<sup>18</sup>F又は<sup>11</sup>CH<sub>3</sub>を示し、  
Pyridineとoxazoleは炭素原子で結合しており、  
Pyridineは炭素原子でイミダゾピリジンと結合している)

## 【請求項 2】

下記一般式(2)で表される請求項1に記載の放射性核種標識化合物又はその塩。

## 【化2】



(式中、Xは放射性ヨウ素原子、 $^{18}\text{F}$ 又は $^{11}\text{C H}_3$ を示す)

## 【請求項3】

Xが、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 又は $^{131}\text{I}$ である、請求項1又は2に記載の放射性核種標識化合物又はその塩。

10

## 【請求項4】

請求項1～3のいずれか1項に記載の放射性核種標識化合物又はその塩を含む、タウ及びアミロイドの画像化に用いられる、イメージング剤。

## 【請求項5】

請求項1～3のいずれか1項に記載の放射性核種標識化合物又はその塩を含む、タウの画像化に用いられる、イメージング剤。

## 【請求項6】

請求項1～3のいずれか1項に記載の放射性核種標識化合物又はその塩を含む、タウ及びアミロイドの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられる、放射性医薬。

20

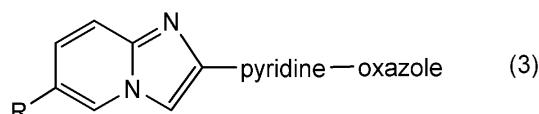
## 【請求項7】

請求項1～3のいずれか1項に記載の放射性核種標識化合物又はその塩を含む、タウの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられる、放射性医薬。

## 【請求項8】

下記一般式(3)で表される化合物又はその塩。

## 【化3】



30

(式中、Rはトリアルキルスタニル基を示し、

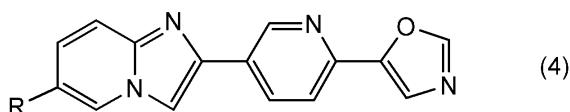
Pyridineとoxazoleは炭素原子で結合しており、

Pyridineは炭素原子でイミダゾピリジンと結合している)

## 【請求項9】

下記一般式(4)で表される請求項8に記載の化合物又はその塩。

## 【化4】



40

(式中、Rはトリアルキルスタニル基を示す)

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

50

**【0001】**

本発明は、放射性核種標識化合物及びこれを含有するイメージング剤に関する。

**【背景技術】****【0002】**

高齢化が進む我が国では、認知症患者数が増加の一途をたどっており、大きな社会問題となっている。厚労省研究班が2013年に発表した統計によれば、65歳以上の15%が認知症であり、認知症患者は462万人、その予備軍である軽度認知障害(Mild Cognitive Impairment; MCI)患者は400万人と推定されている。この統計における認知症患者の内訳は、アルツハイマー型認知症(Alzheimer's Disease; AD)が67.6%、血管性認知症が19.5%、レビー小体型認知症(Dementia with Lewy body; DLB)が4.3%の順で多かったと報告されている(非特許文献1)。また、別の統計においては、初老期認知症患者のうち約20%を前頭側頭型変性症(Frontotemporal Lobar Degeneration; FTD)患者が占め、ADに次いで多いと報告されている(非特許文献2、3)。

**【0003】**

このように認知症は様々な病型に分類されるが、AD患者、DLB患者の一部、並びにFTD患者の一部などでは、脳内にアミロイドあるいはタウ蛋白と呼ばれるタンパク質が、発症の数十年前から凝集して蓄積し、認知機能の低下や神経細胞死をもたらす(非特許文献4、5、6)。AD患者の脳内にはアミロイドが蓄積しており、また、同時にタウ蛋白が蓄積している(非特許文献5)。DLB患者の40%以上では、脳内にアミロイドあるいはタウ蛋白が蓄積している(非特許文献7、8)。一方、FTD患者の約半数では、脳内にタウ蛋白のみが蓄積し、アミロイドの蓄積がない(大脳皮質基底核変性症(Corticobasal Degeneration; CBD)、進行性核上性麻痺(Progressive Supranuclear Palsy; PSP)、Pick病(Pick's disease; PiD)、嗜銀性顆粒性認知症(Argyrophilic grain dementia; AGD)など; FTD-tau)(非特許文献2、3、6)。さらに、神経原線維変化(NFT)型老年期認知症(Senile dementia of the NFT type; SD-NFT)は、海馬領域を中心にタウ蛋白が蓄積するが、アミロイド蓄積のない認知症であり、認知症高齢者剖検例の1.7~5.6%を占めると報告されている(非特許文献9)。

**【0004】**

過去、アミロイドやタウ蛋白を画像化する放射性薬剤が数多く開発されてきたが、これらの放射性薬剤はアミロイド又はタウ蛋白のいずれか一方にのみ親和性が高いため(特許文献1~4)、脳内に蓄積したアミロイド及びタウ蛋白の双方を同時に画像化することはできない。一方、アミロイド及びタウ蛋白の双方に高い親和性を持つ放射性薬剤は、脳内に蓄積したアミロイド及びタウ蛋白の両方を同時に画像化することが可能である。したがってこのような放射性薬物は、ADやFTD-tauをはじめとした、脳内にアミロイドやタウ蛋白又はその両方が蓄積する多様な認知症関連疾患を、発症前の早期に広く同時に検出することができ、早期診断・早期治療に寄与できる(非特許文献10、11)。

**【先行技術文献】****【特許文献】****【0005】**

【特許文献1】国際公開第2005/016888号明細書

【特許文献2】国際公開第2008/078424号明細書

【特許文献3】国際公開第2007/063946号明細書

【特許文献4】国際公開第2014/097474号明細書

**【非特許文献】****【0006】**

【非特許文献1】朝田隆.厚生労働科学研究費補助金 認知症対策総合研究事業都市部に 50

における認知症有病率と認知症の生活機能障害への対応 . 平成 23 ~ 24 年度総合研究報告書

【非特許文献 2】 Ratnavalli E , Brayne C , Dawson K , Hodges JR . The prevalence of frontotemporal dementia . Neurology . 2002 ; 58 : 1615 - 21 .

【非特許文献 3】 Hodges JR , Davies RR , Xuereb JH , Casey B , Broe M , Bak TH , Krill JJ , Halliday GM . Clinicopathological correlates in frontotemporal dementia . Ann Neurol . 2004 ; 56 : 399 - 406 .

【非特許文献 4】 Lee VM , Goedert M , Trojanowski JQ . Neurodegenerative tauopathies . Annu Rev Neurosci . 2001 ; 24 : 1121 - 59 .

【非特許文献 5】 德田 隆彦 . アルツハイマー病の病態発現仮説 : その Paradigm Shift . 京府医大誌 . 2016 ; 125 : 797 - 804 .

【非特許文献 6】 吉村 教あき . 前頭側頭葉変性症 (Frontotemporal Lobar Degeneration) - 特に MND と運動系外封入体を伴う前頭側頭性認知症に関して . 弘前医療福祉大学 . 2009 ; 1 : 1 - 22 .

【非特許文献 7】 Shimada H , Shinotoh H , Hirano S , Miyoshi M , Sato K , Tanaka N , Ota T , Fukushi K , Irie T , Ito H , Higuchi M , Kuwabara S , Suhara T . - Amyloid in Lewy body disease is related to Alzheimer's disease-like atrophy . Mov Disord . 2013 ; 28 : 169 - 75 .

【非特許文献 8】 Gomperts SN , Locascio JJ , Makaretz SJ , Schultz A , Caso C , Vasdev N , Sperling R , Growdon JH , Dickerson BC , Johnson K . Tau PET imaging in the Lewy body diseases . JAMA Neurol . 2016 ; 73 : 1334 - 41 .

【非特許文献 9】 山田 正仁 . 神経原線維変化型老年期認知症 . 認知神経科学 . 2015 ; 17 : 32 - 9 .

【非特許文献 10】 Villemagne VL , Fodero-Tavoletti MT , Masters CL , Rowe CC . Tau imaging : early progress and future directions . Lancet Neurol . 2015 ; 14 : 114 - 24 .

【非特許文献 11】 Rowe CC and Villemagne VL Brain amyloid imaging . J Nucl Med . 2011 ; 52 : 1733 - 40 .

#### 【発明の概要】

##### 【発明が解決しようとする課題】

##### 【0007】

本発明は、タウ親和性とアミロイド親和性を併せ持つ、放射性核種標識化合物を提供することを課題とする。

また、本発明は、放射性核種標識化合物を含む、タウ及び / 又はアミロイドの画像化に用いられる、イメージング剤を提供することを課題とする。

また、本発明は、放射性核種標識化合物を含む、タウ及び / 又はアミロイドの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられる、放射性医薬を提供することを課題とする。

##### 【課題を解決するための手段】

##### 【0008】

そこで本発明者は、タウ親和性とアミロイド親和性を併せ持つ化合物を探索したところ

10

20

30

40

50

、アミロイド親和性を有する化合物を開示する国際公開第2007/63946号に記載の化合物のうち、後記一般式(1)で表わされる化合物がタウ親和性をも具備し、タウ及び/又はアミロイドの画像化に用いられるイメージング剤、また、タウ及び/又はアミロイドの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられる放射性医薬として有用であることを見出し、本発明を完成した。

## 【0009】

すなわち、本発明は、次の〔1〕～〔21〕を提供するものである。

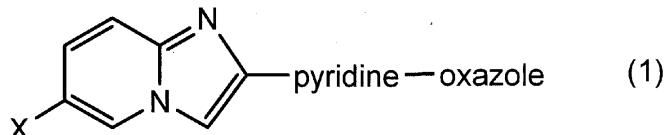
## 【0010】

〔1〕下記一般式(1)で表される放射性核種標識化合物又はその塩。

## 【0011】

10

## 【化1】



## 【0012】

(式中、Xは放射性ヨウ素原子、<sup>18</sup>F又は<sup>11</sup>C H<sub>3</sub>を示し、

Pyridineとoxazoleは炭素原子で結合しており、

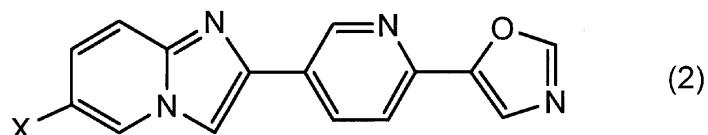
Pyridineは炭素原子でイミダゾピリジンと結合している)

20

〔2〕下記式一般式(2)で表される〔1〕に記載の放射性核種標識化合物又はその塩。

## 【0013】

## 【化2】



## 【0014】

(式中、Xは放射性ヨウ素原子、<sup>18</sup>F又は<sup>11</sup>C H<sub>3</sub>を示す)

30

〔3〕Xが、<sup>123</sup>I、<sup>124</sup>I、<sup>125</sup>I又は<sup>131</sup>Iである、〔1〕又は〔2〕に記載の放射性核種標識化合物又はその塩。

〔4〕〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩を含む、タウ及び/又はアミロイドの画像化に用いられる、イメージング剤。

〔5〕〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩を含む、タウの画像化に用いられる、イメージング剤。

〔6〕〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩を含む、タウ及び/又はアミロイドの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられる、放射性医薬。

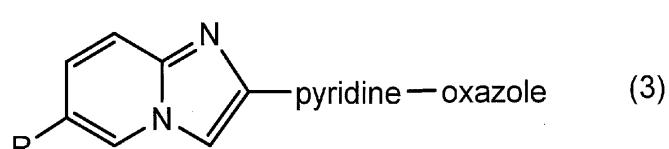
〔7〕〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩を含む、タウの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられる、放射性医薬。

40

〔8〕下記一般式(3)で表される化合物又はその塩。

## 【0015】

## 【化3】



## 【0016】

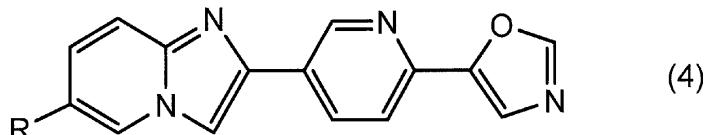
(式中、Rはトリアルキルスタニル基を示し、

50

Pyridineとoxazoleは炭素原子で結合しており、  
Pyridineは炭素原子でイミダゾピリジンと結合している)  
〔9〕下記一般式(4)で表される〔8〕に記載の化合物又はその塩。

【0017】

【化4】



10

【0018】

(式中、Rはトリアルキルスタニル基を示す)

〔10〕タウ及び／又はアミロイドの画像化に用いられるイメージング剤製造のための、  
〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩の使用。

〔11〕タウの画像化に用いられるイメージング剤製造のための、〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩の使用。

〔12〕タウ及び／又はアミロイドの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられる放射性医薬製造のための、〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩の使用。

〔13〕タウの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられる放射性医薬製造のための、〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩の使用。

〔14〕タウ及び／又はアミロイドの画像化に用いるための、〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩。

〔15〕タウの画像化に用いるための、〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩。

〔16〕タウ及び／又はアミロイドの凝集に起因する疾患の画像診断に用いるための、〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩。

〔17〕タウの凝集に起因する疾患の画像診断に用いるための、〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩。

〔18〕〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩を投与することを特徴とする、タウ及び／又はアミロイドの画像化方法。

〔19〕〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩を投与することを特徴とする、タウの画像化方法。

〔20〕〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩を投与することを特徴とする、タウ及び／又はアミロイドの凝集に起因する疾患の画像診断方法。

〔21〕〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の放射性核種標識化合物又はその塩を投与することを特徴とする、タウの凝集に起因する疾患の画像診断方法。

【発明の効果】

【0019】

一般式(1)で表される放射性核種標識化合物又はその塩(本発明化合物(1))は、  
タウ及びアミロイドに対する親和性を有する。従って、本発明化合物(1)は、タウ及び  
／又はアミロイドの画像化に用いられるイメージング剤として有用である。また、本発明  
化合物(1)は、タウ及び／又はアミロイドの凝集に起因する疾患の画像診断に用いられ  
る放射性医薬として有用である。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】進行性核上性麻痺(PSP)患者剖検脳組織切片を用いた、 $^{125}\text{I}$ -DRK09  
2Nと $^{11}\text{C}$ -PiBのインビトロ結合試験及び当該患者脳内のリン酸化タウとアミロイド  
の蓄積を示す免疫染色像を示す。

【図2】健常者(HC)、アルツハイマー型認知症(AD)患者及びアミロイド前駆蛋白

20

30

40

50

強制発現 ( A P P - T g ) マウスの剖検脳組織切片を用いた、 $^{125}\text{I}$  - D R K 0 9 2 N と  $^1\text{C}$  - P i B のインビトロ結合試験結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 1 】

以下、本発明を詳細に説明する。

【 0 0 2 2 】

一般式 ( 1 ) 中、X は放射性ヨウ素原子、 $^{18}\text{F}$  又は  $^{11}\text{C H}_3$  を示す。すなわち、本発明化合物 ( 1 ) は、X が放射性核種である放射性核種標識化合物である。放射性ヨウ素原子とは、ヨウ素の放射性同位体を示し、好ましくは、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{124}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、又は  $^{131}\text{I}$  であり、 $^{123}\text{I}$  がより好ましい。

10

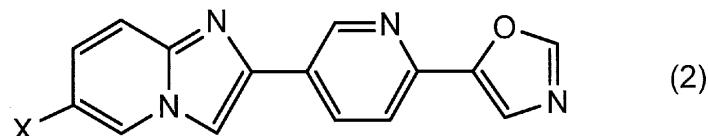
【 0 0 2 3 】

一般式 ( 1 ) 中、pyridine と oxazole は、炭素原子で結合しており、pyridine は炭素原子でイミダゾピリジンと結合している。pyridine 上のイミダゾピリジンと oxazole は、オルト、メタ又はパラ位のいずれでもよいが、パラ位が好ましい。pyridine とイミダゾピリジンとの結合は、pyridine の 2、3、5 又は 6 位のいずれでもよいが、5 位が好ましい。また、pyridine と oxazole との結合は、pyridine の 2、3、5 又は 6 位のいずれでもよく、oxazole の 2、4 又は 5 位のいずれでもよいが、pyridine の 2 位と oxazole の 5 位が好ましい。従って、次の一般式 ( 2 ) の構造であるのが特に好ましい。

20

【 0 0 2 4 】

【化 5】



【 0 0 2 5 】

( 式中、X は放射性ヨウ素原子、 $^{18}\text{F}$  又は  $^{11}\text{C H}_3$  を示す )

【 0 0 2 6 】

本発明化合物 ( 1 ) は、塩を形成していてもよく、そのような塩としては、通常知られているアミノ酸などの塩基性基における塩を挙げることができる。塩基性基における塩としては、たとえば、塩酸、臭化水素酸、硝酸及び硫酸などの鉱酸との塩；ギ酸、酢酸、クエン酸、シュウ酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、リンゴ酸、酒石酸、アスパラギン酸、トリクロロ酢酸及びトリフルオロ酢酸などの有機カルボン酸との塩；並びにメタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、メチレンスルホン酸及びナフタレンスルホン酸などのスルホン酸との塩が挙げられる。

30

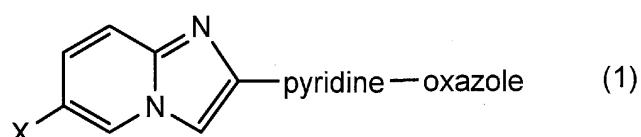
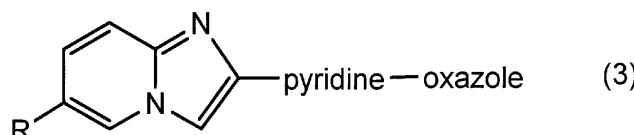
【 0 0 2 7 】

本発明の放射性核種標識化合物 ( 1 ) は、国際公開第 2007 / 063946 号に記載の方法に従って合成することができる。一般式 ( 1 ) で表される放射性核種標識化合物は、一般式 ( 3 ) で表される化合物を標識前駆体として用いて放射性核種標識反応を実行することにより得ることができる。

40

【 0 0 2 8 】

## 【化6】



10

## 【0029】

(式中、Rはトリアルキルスタニル基を示し、X、pyridine及びoxazoleは前記と同じ)

## 【0030】

一般式(3)中、Rで示されるトリアルキルスタニル基としては、トリ(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)スタニル基が挙げられ、トリブチルスタニル基又はトリメチルスタニル基がより好ましく、トリブチルスタニル基が特に好ましい。ここで、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基としては、メチル基、エチル基、n-プロピル、n-ブチル基が挙げられる。

20

## 【0031】

放射性核種標識反応は、例えばp-トルエンスルホクロロアミドナトリウム等の酸化剤の存在下、一般式(3)で表される化合物に、放射性ヨウ化ナトリウムを反応させることにより行うことができる。

## 【0032】

本発明のイメージング剤または放射性医薬は、一般式(1)の放射性核種標識化合物を適当なpHになるよう緩衝剤を含有させた製剤としてもよく、水、生理食塩液に溶解させた製剤として調製することができる。製剤には放射線に起因する放射性核種標識化合物の分解を抑制するために安定化剤を適宜配合させてもよい。

30

## 【0033】

本発明の放射性核種標識化合物は、タウ及びアミロイドに親和性を有することから、脳内のタウ及び/又はアミロイドを画像化する化合物として有用である。すなわち、本発明の放射性核種標識化合物は、タウ及び/又はアミロイドのイメージング剤として有用である。従って、本発明の放射性核種標識化合物を用いればタウ及び/又はアミロイドの凝集が脳に蓄積する疾患の画像診断が可能となる。タウ及び/又はアミロイドの凝集が脳に蓄積する疾患としては、例えば、AD、MCI、DLB、CBD、PSP、PiD、AGDを含むFTLD-tauやSD-NFTが挙げられ、タウの凝集が脳に蓄積する疾患としては、例えば、CBD、PSP、PiD、AGDを含むFTLD-tauやSD-NFTが挙げられる。

40

## 【実施例】

## 【0034】

次に、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は、これらに限定されるものではない。

## 【0035】

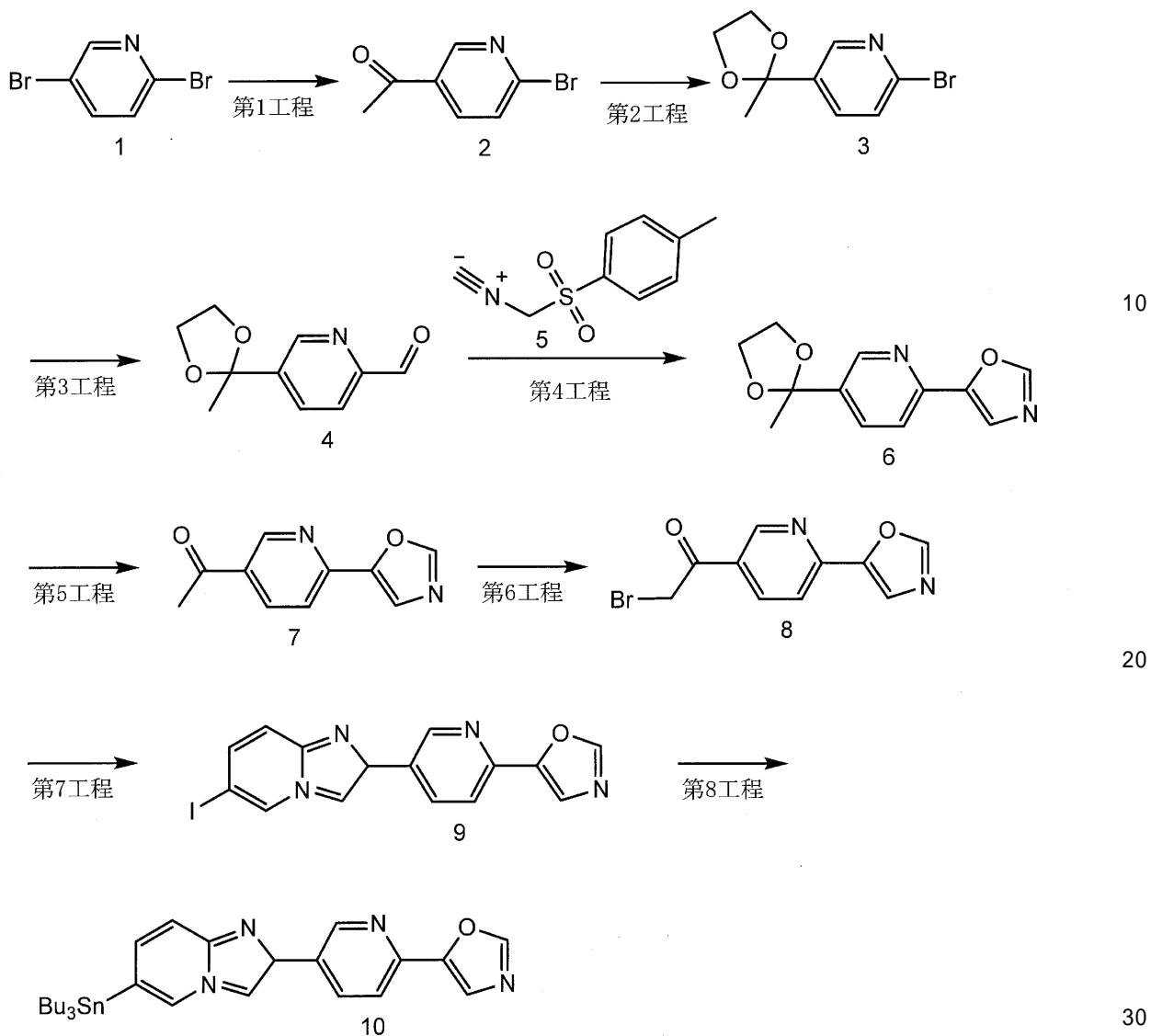
実施例1：DRK092N標識前駆体（化合物10）の合成

化合物10は、下記に示すスキームに沿って合成した。

## 【0036】

50

## 【化7】



## 【0037】

## 実施例1-1：化合物2の合成

アルゴン雰囲気下、50.9 g の化合物1のジエチルエーテル溶液848 mLを冷却し、-62℃以下にて、1.64 mol/Lのn-BuLiへキサン溶液131 mLを30分間で滴下した。同温にて、30分攪拌後、21.5 g の脱水N,N-ジメチルアセトアミドを10分間で滴下した。塩化アンモニウム水溶液を加え2日間室温で攪拌した。酢酸エチルにて抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下濃縮した。これ以上の精製はせず、化合物2はそのまま、次の反応に使用した。

## 【0038】

## 実施例1-2：化合物3の合成

化合物2のトルエン溶液830 mLに、40.0 g の1,2-エタンジオールと12.3 g のp-トルエンスルホン酸一水和物を加え、生成する水を除去しつつ20時間還流した。冷却後、炭酸ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルを少量加え、抽出した。得られた有機層を水洗し、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下濃縮した。

濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ（移動相：ヘプタン/酢酸エチル=9/1~7/3）で精製することによって、24.3 g の化合物3を得た（收率46%）。

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) : δ 8.48(1H, s), 7.63(1H, dd, J=8.2, 4.1 Hz), 7.45(1H, dd, J=8.2, 4.1 Hz), 4.08-4.05(2H, m), 3.81-3.75(2H, m), 1.67(3H, s).

## 【0039】

## 実施例1-3：化合物4の合成

アルゴン雰囲気下、24.2 g の化合物3のジエチルエーテル溶液519 mLを冷却し、-68 ℃以下にて、1.64 mol/Lのn-BuLiへキサン溶液60.5 mLを30分間で滴下した。同温にて、30分攪拌後、脱水DMF 18.8 gを15分間で滴下した。炭酸水素ナトリウム水溶液を加え室温になるまで攪拌した。酢酸エチルにて抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下濃縮した。濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(移動相：ヘプタン/酢酸エチル=90/10~85/15)で精製することによって、8.71 gの化合物4を得た(収率45%)。

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 10.09(1H, s), 8.91-8.90(1H, m), 7.99-7.94(2H, m), 4.11-4.09(2H, m), 3.82-3.78(2H, m), 1.69(3H, s). 10

## 【0040】

## 実施例1-4：化合物6の合成

アルゴン雰囲気下、8.50 g の化合物4のジエチルエーテル溶液315 mLに、21.6 g の化合物5と15.2 g の炭酸カリウムを加え、2.5時間攪拌した。反応混合物を減圧下濃縮後、水を加え、酢酸エチルにて抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下濃縮した。濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(1回目、移動相：酢酸エチルのみ、2回目、移動相：トルエン~酢酸エチル)で精製することによって、9.35 gの化合物6を得た(収率91%)。 20

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 8.76(1H, d, J=2.3 Hz), 7.98(1H, s), 7.86(1H, dd, J=8.2, 2.3 Hz), 7.71(2H, s), 7.65(2H, d, J=8.2 Hz), 4.10-4.08(2H, m), 3.81-3.80(2H, m), 1.69(3H, s). 20

## 【0041】

## 実施例1-5：化合物7の合成

9.25 g の化合物6のTHF溶液50 mLに、1 mol/L 塩酸50 mLを加え50で1時間攪拌した。冷却後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルにて抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下濃縮した。濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(移動相：酢酸エチル)で精製することによって、3.20 gの化合物7を得た(収率42%)。 30

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 9.17(1H, d, J=2.3 Hz), 8.32(1H, dd, J=8.2, 2.3 Hz), 8.04(1H, s), 7.85(1H, s), 7.78(1H, d, J=8.2 Hz), 2.66(3H, s). 30

## 【0042】

## 実施例1-6：化合物8の合成

3.10 g の化合物7の塩化メチレン溶液65 mLに、9.50 g のトリエチルアミンを加え、次に、0 ℃にて、5.04 g のブロモトリメチルシランを加えた。0 ℃で30分間攪拌後、室温にて18時間攪拌した。2.20 g のブロモトリメチルシランを追加し、30分間攪拌し、さらに、2.04 g のトリメチルシランを追加し、30分間攪拌した。反応溶液に水を加え、クロロホルムで抽出後、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧下濃縮した。濃縮残渣に45 mLのTHFを加え、氷冷下、2.93 g のN-ブロモスクシンイミドを加え、室温にて1時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、濃縮残渣をシリカゲルクロマトグラフィ(移動相：ヘプタン/酢酸エチル=2/1~4/3)で精製することによって、1.92 gの化合物8を得た(収率43%)。 40

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 9.22-9.21(1H, m), 8.36(1H, dd, J=8.2, 2.3 Hz), 8.05(1H, s), 7.88(1H, s), 7.80(1H, d, J=8.2 Hz), 4.43(2H, s). 40

## 【0043】

## 実施例1-7：化合物9の合成

1.88 g の化合物 8 のアセトニトリル溶液 15 mL に、1.55 g の 2 - アミノ - 5 - ヨードピリジンを加え、2 時間還流した。冷却後、濾過し、固体をアセトニトリルで洗浄した。粗精製物を混合溶液（水 15 mL、メタノール 15 mL、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 7.5 mL）で懸濁攪拌し、濾過した。粗精製物を水とメタノール、酢酸エチルで洗浄し、1.89 g の化合物 9 を得た（収率 69 %）。

<sup>1</sup>H - NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 9.22 - 9.21 (1H, m), 8.96 - 8.97 (1H, m), 8.57 (1H, s), 8.50 (1H, s), 8.43 (1H, dd, J = 8.2, 1.8 Hz), 7.86 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.85 (1H, s), 7.49 (2H, s).

#### 【0044】

10

#### 実施例 1 - 8 : 化合物 10 の合成

アルゴン雰囲気下、0.33 g の化合物 9 の 1,4 - ジオキサン溶液 16.5 mL に、トリエチルアミン 1.65 mL と 0.99 g のビス(トリプチルスズ)、49.1 mg のテトラキス(トリフェニルfosfin)パラジウム(0)を加え、100 °C にて 16 時間攪拌した。反応溶液を減圧下濃縮し、濃縮残渣をシリカゲルクロマトグラフィ(移動相：ヘプタン / 酢酸エチル = 4 / 1 ~ 3 / 2) で精製することによって、0.14 g の化合物 10 を得た（収率 30 %）。

<sup>1</sup>H - NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 9.15 (1H, m), 8.40 (1H, dd, J = 8.2, 2.3 Hz), 8.02 (1H, s), 7.99 (1H, s), 7.95 (1H, s), 7.76 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.73 (1H, s), 7.62 (1H, d, J = 8.7 Hz), 7.22 (1H, d, J = 8.7 Hz), 1.63 - 1.49 (6H, m), 1.41 - 1.31 (6H, m), 1.22 - 1.05 (6H, m), 0.91 (9H, t, J = 7.3 Hz)。

#### 【0045】

20

#### (実施例 2) <sup>125</sup>I 標識化合物 9 (<sup>125</sup>I - DRK092N) の合成

<sup>125</sup>I 標識化合物 9 は、化合物 10 を標識前駆体として用い調製した。

1.0 mg / mL の化合物 10 のメタノール溶液 60 μL、0.3 M リン酸緩衝液 (pH 5.5) 210 μL、[<sup>125</sup>I]ヨウ化ナトリウム溶液 (333 MBq) 25 μL の混合溶液に、0.1 mg / mL の p - トルエンスルホクロロアミドナトリウム水溶液 60 μL を添加した。室温で 2 分間放置した後、2.0 mg / mL の二亜硫酸ナトリウム水溶液 300 μL を添加して、反応を終了させた。反応混合物を逆相カラム (SHISEIDO CAPCELLPAK C18 UG120、6.0 × 150 mm) を用いて、50 % メタノール水溶液の移動相で分離精製した。得られた HPLC 分取液を固相抽出カラム (Sep-Pak Light C18) に通液し、保持した標識化合物をエタノールで抽出した。最終的に 37 MBq / mL の 5.0 mmol / L アスコルビン酸 / 90 % エタノール水溶液の組成になるようにエタノールと 50 mmol / L アスコルビン酸水溶液を適量添加して目的物の溶液を調製した。TLC (展開溶媒: 95 % メタノール水溶液、逆相シリカゲルプレート: Whatman、KC18F) を用いて放射化学的純度を分析したところ、96 % であった。

#### 【0046】

30

#### (実施例 3) 正常マウス体内分布試験

実施例 2 で得られた <sup>125</sup>I - DRK092N を生理食塩水で希釈して、1 群 4 - 5 匹の 8 週齢 FVB マウス (雄 25 - 30 g) に尾静脈より 1 匹あたり 200 μL (108.4 kBq) 投与し、2、10、30、60 分後に断頭、採血後、臓器を取り出し、湿重量計測し、カウンター (PerkinElmer Wallac Wizard 3" 1480) で放射活性を測定した。結果を表 1 に示す。表 1 中、血液、各臓器の放射活性 (重量あたり投与量のパーセンテージ (% of injection dose / g tissue、1 mL 血液は 1 g とみなす)；甲状腺のみ投与量のパーセンテージ (% of injection dose)) の Mean ± SD を示す。

#### 【0047】

40

50

【表1】

Biodistribution of  $^{125}\text{I}$ -DRK092N in normal mice

Organ	% ID/g tissue (Mean $\pm$ SD)			
	2 min	10 min	30 min	60 min
Blood	3.24 $\pm$ 1.23	2.52 $\pm$ 1.55	1.67 $\pm$ 0.71	1.53 $\pm$ 0.94
Brain	6.73 $\pm$ 3.28	1.17 $\pm$ 0.45	0.29 $\pm$ 0.09	0.15 $\pm$ 0.03
Heart	4.56 $\pm$ 1.55	1.51 $\pm$ 0.45	0.79 $\pm$ 0.17	0.62 $\pm$ 0.14
Lung	9.34 $\pm$ 3.02	4.12 $\pm$ 1.04	2.41 $\pm$ 0.54	2.01 $\pm$ 0.32
Liver	13.2 $\pm$ 3.85	18.1 $\pm$ 3.34	10.4 $\pm$ 4.04	5.66 $\pm$ 0.69
Spleen	6.62 $\pm$ 2.73	2.54 $\pm$ 0.33	1.50 $\pm$ 0.23	1.24 $\pm$ 0.43
Kidney	29.2 $\pm$ 13.8	14.3 $\pm$ 8.20	7.16 $\pm$ 3.95	5.05 $\pm$ 3.38
Pancreas	3.79 $\pm$ 1.32	2.31 $\pm$ 0.49	1.18 $\pm$ 0.27	0.87 $\pm$ 0.23
10				
Organ	% ID (Mean $\pm$ SD)			
	2 min	10 min	30 min	60 min
Thyroid gland	0.23 $\pm$ 0.05	0.11 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.04
20				

## 【0048】

$^{125}\text{I}$ -DRK092Nは高い脳移行性を示し、その後は脳からの速やかな排出が認められた。

## 【0049】

(実施例4)進行性核上性麻痺(PSP)患者剖検脳組織切片を用いたインビトロ結合試験

## 5-1: In vitro autoradiography

未固定凍結したPSP患者死後脳から20  $\mu\text{m}$ 厚の脳切片を作製した。実施例2で得られた $^{125}\text{I}$ -DRK092NをPBSで0.5nMに希釈し、incubation溶液とした。脳切片をincubation溶液に漬け、1時間静置した。その後、PBSで2分×2回洗浄した。イメージングプレート(富士フィルム製MS2025E)に2時間密着して、バイオイメージングアナライザ(富士フィルム製BAS5000)で画像の読み取りならびに定量分析を行った。また、 $^{11}\text{C}$ -PiB(アミロイドイメージング薬剤のゴールドスタンダード、incubation溶液濃度1nM)を用いて、同様な実験を行った。

## 【0050】

## 5-2: 免疫染色

アミロイド及びリン酸化タウの染色は抗A(6E10、Signet Laboratories社)抗体と抗リン酸化タウ(AT8, Thermo Scientific社)抗体で行った。In vitro autoradiographyに使った脳切片を4%パラホルムアルデヒド液(PFA)で一晩固定し、PBSで残留4%PFAを洗浄した。アミロイド染色用切片はギ酸(2分)、リン酸化タウ染色用切片はオートクレーブ(クエン酸バッファー(0.01M クエン酸ナトリウム: 0.01M クエン酸 = 5:1)で10分間煮沸した。

10

20

30

40

50

)、121、5分)処理した後、5分流水で洗浄し、脳切片全体にTSA block in gバッファー(パーキンエルマー社TSA Fluorescein System, NEL70000)を滴下し、1時間静置した後、一次抗体(6E10, 1:1000; AT8, 1:1000)を含むblockingバッファーを滴下して、一晩静置した。一次抗体を捨て、PBSで5分洗浄を繰り返し3回行った。二次抗体(Alexa-488蛍光色素を有する)を含むTSA blocking溶液を滴下し、さらに1時間静置した。その後TSA増感キット(パーキンエルマー社TSA Fluorescein System, NEL70000)で蛍光シグナルを増幅して、VECTASHIELD封入剤(H-1000, Vector Laboratories Inc.)で封入し、顕微鏡観察を行った。

10

### 【0051】

#### 5-3: 結果

結果を図1に示す。図1-a、1-bはそれぞれ<sup>125</sup>I-DRK092Nと<sup>11</sup>C-PiBを用いたPSP患者脳のautoradiogramである。図1-c、1-dはそれ同一PSP患者脳のリン酸化タウ(AT8)とアミロイド(6E10)の染色像である。皮質部における<sup>125</sup>I-DRK092N結合は明らかに白質部(WM)より豊富で、リン酸化タウの分布とよく一致した。当該PSP患者脳切片において、アミロイド蓄積は認められず、<sup>11</sup>C-PiB結合もその結果と一致し、図1-aに示した<sup>125</sup>I-DRK092N特異的結合はすべてタウ凝集体に由来することが示唆された。

### 【0052】

#### (実施例5) AD患者剖検脳組織切片を用いたインビトロ結合試験

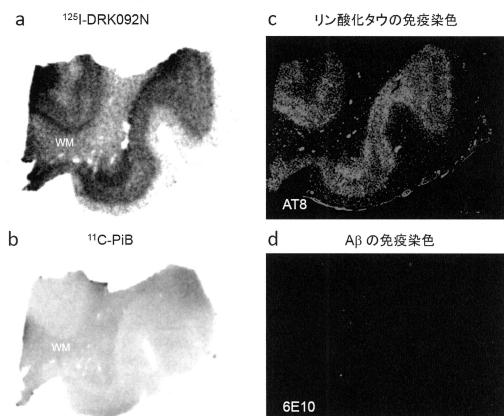
未固定凍結したADでない人(HC, healthy control)、AD患者及びアミロイド蓄積を有するアミロイド前駆蛋白(APP)強制発現マウス(APP-Tg; Tg2576, 24カ月齢)の死後脳から20μmの厚さで切片を作製し、実施例4と同じように、<sup>125</sup>I-DRK092Nと<sup>11</sup>C-PiBのin vitro autoradiographyを行った。

20

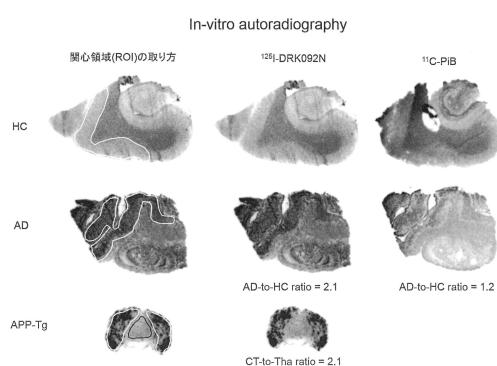
結果を図2に示す。上段は同一HCの脳における<sup>125</sup>I-DRK092N(左、中)と<sup>11</sup>C-PiB(右)、中段は同一AD患者脳における<sup>125</sup>I-DRK092N(左、中)と<sup>11</sup>C-PiB(右)、下段はAPP-Tg脳における<sup>125</sup>I-DRK092Nのautoradiogramである。ヒト脳(HC及びAD)では、一般にAD患者の脳においてAD病理が豊富である皮質(白実線)、APP-Tgマウスでは、アミロイドの蓄積が豊富な皮質(白実線)及びアミロイドの蓄積が無い視床(黒実線)に、それぞれ関心領域を設定し、これらの領域における単位面積あたりの放射活性を求めた(解析ソフトウェア: Multi Gauge V2.2)。その結果、AD患者とHCの皮質における単位面積あたりの放射活性の比は約2.1と高く、放射標識したDRK092NでAD病理を検出できることが示唆された。一方、APP-Tgでは、側頭葉皮質と視床の単位面積当たりの放射活性の比は約2.1と高かった。このことから、DRK092Nはアミロイドにも特異的に結合することが示された。

30

【図1】



【図2】



---

フロントページの続き

(72)発明者 季 畐

千葉県千葉市稻毛区穴川四丁目9番1号 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構内

(72)発明者 橋口 真人

千葉県千葉市稻毛区穴川四丁目9番1号 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構内

(72)発明者 須原 哲也

千葉県千葉市稻毛区穴川四丁目9番1号 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構内

(72)発明者 陳 忠正

千葉県山武市松尾町下大蔵453-1 富士フィルムR I ファーマ株式会社内

(72)発明者 藤本 央介

千葉県山武市松尾町下大蔵453-1 富士フィルムR I ファーマ株式会社内

審査官 高森 ひとみ

(56)参考文献 特開2009-007348 (JP, A)

特表2011-524864 (JP, A)

国際公開第2014/097474 (WO, A1)

国際公開第2005/016888 (WO, A1)

国際公開第2008/078424 (WO, A1)

特表2005-512945 (JP, A)

国際公開第2007/063946 (WO, A1)

ONO, M. et al., Highly selective tau-SPECT imaging probes for detection of neurofibrillary tangles in alzheimer's disease, SCIENTIFIC REPORTS, 2016年, Vol.6, pp.1-11, Article number:34197, URL, <https://www.nature.com/articles/srep34197>

岡村信行 ほか, アミロイドイメージング・タウイメージングの現状と展望, 日薬理誌, 2015年, Vol.146, pp.144-149

工藤幸司 ほか, タウイメージングの幕開け, 日本老年医学会雑誌, 2015年, Vol.52, No.2, pp.115-125

VILLEMAGNE, V. et al., Tau imaging: early progress and future directions, THE LANCET Neurology, 2015年, Vol.14, No.1, pp.114-124

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 07 D

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )