



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102548996 B

(45) 授权公告日 2016.06.01

(21) 申请号 201080045665.4

(22) 申请日 2010.10.08

(30) 优先权数据

0917611.6 2009.10.08 GB

61/250892 2009.10.13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012.04.05

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2010/065077 2010.10.08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/042529 EN 2011.04.14

(73) 专利权人 通用电气健康护理有限公司

地址 英国白金汉郡

(72) 发明人 J·伍德克拉夫特 C·琼斯

A·盖塔 W·特里格 P·琼斯

S·普兰特 A·杰克逊

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

司 72001

代理人 李进 林森

(51) Int. Cl.

G07D 487/04(2006.01)

(56) 对比文件

EP 0433163 A2, 1990.06.19,

CN 1938244 A, 2007.03.28,

Nikolaj N. Ryzhikov et al..Preparation of highly specific radioactivity [18F] flumazenil and its evaluation in cynomolgus monkey by positron emission tomography.

《Nuclear Medicine and Biology》.2005, 第32卷第109-116页,第110页Fig.2,第115页第4.1节.

Nikolaj N. Ryzhikov et al..Preparation of highly specific radioactivity [18F] flumazenil and its evaluation in cynomolgus monkey by positron emission tomography.

《Nuclear Medicine and Biology》.2005, 第32卷第109-116页,第110页Fig.2,第115页第4.1节.

Philip W. Miller et al..Synthesis of <sup>11</sup>C, <sup>18</sup>F, <sup>15</sup>O, and <sup>13</sup>N Radiolabels for Positron Emission Tomography.《Angew. Chem. Int. Ed.》.2008, 第47卷第8998-9033页,第9017页Scheme 40.

审查员 吴永英

权利要求书1页 说明书18页

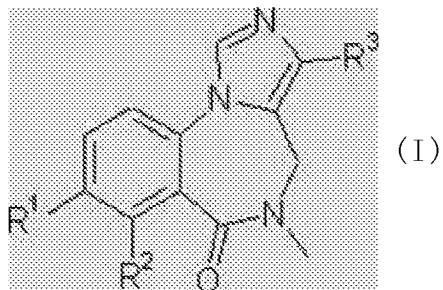
(54) 发明名称

自动化放射合成

(57) 摘要

本发明提供获得可用于 GABA<sub>A</sub>受体体内显像的放射氟化化合物的方法。本发明方法高收率,可方便地在自动合成仪比如 Fastlab™上实施。本发明又一方面是适合实施本发明自动化合成方法的盒。还提供可用于本发明方法的新前体化合物,同样提供通过本发明方法获得的多种新化合物。

1. 一种获得式I化合物的方法：



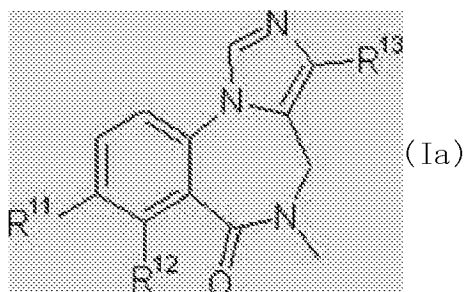
其中：

$R^1$ 是氢且 $R^2$ 是 $^{18}\text{F}$ ；和

$R^3$ 是 $\text{C}(=\text{O})-\text{O}-R^4$ ，其中 $R^4$ 是氢或者直链或支链 $\text{C}_{1-4}$ 烷基；

其中所述方法包含：

(i) 提供式Ia前体化合物：



其中：

$R^{11}$ 是氢且 $R^{12}$ 是选自硝基的离去基团；和

$R^{13}$ 如式I关于 $R^3$ 限定；和

(ii) 使所述前体化合物与合适 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物源反应，其中所述合适 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物源是 $[^{18}\text{F}]$ 氟化钾并使用Kryptofix™激活氟化物离子。

2. 权利要求1限定的方法，其中 $R^3$ 和 $R^{13}$ 独立地是 $\text{C}(=\text{O})-\text{O}-R^4$ ，其中 $R^4$ 是直链或支链 $\text{C}_{1-4}$ 烷基。

3. 权利要求2限定的方法，其中 $R^4$ 是乙基、异丙基或叔丁基。

4. 权利要求1-3中任一项限定的方法，其进一步包含：

(iii) 除去过量 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物；和/或

(iv) 除去任何保护基团；和/或

(v) 除去有机溶剂；和/或

(vi) 将所得化合物与生物相容性载体一起配制，以获得适合哺乳动物给药的放射性药用组合物。

5. 权利要求1-3中任一项限定的方法，其中所述方法是自动化的。

6. 权利要求1的方法限定的式I化合物，其中 $R^1$ 是氢， $R^2$ 是 $^{18}\text{F}$ ， $R^4$ 是乙基、异丙基或叔丁基。

## 自动化放射合成

[0001] 发明技术领域

[0002] 本发明涉及体内显像,特别是中枢神经系统(CNS)  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)受体的体内显像。本发明提供适合用于自动化合成放射氟化GABA受体拮抗剂化合物的方法。

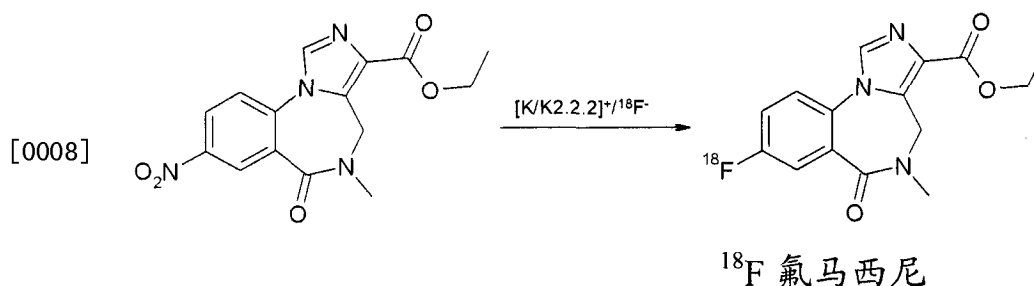
[0003] 相关领域描述

[0004]  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)是人脑最重要的抑制性神经递质。GABA受体是跨膜受体,分为两种主要类型,GABA<sub>A</sub>受体和GABA<sub>B</sub>受体。迄今为止GABA<sub>A</sub>受体是药物研发的主要焦点。已发现许多GABA<sub>A</sub>受体亚型,已研发对这些亚型为选择性的新化学结构。GABA<sub>A</sub>受体的正常活化导致氯化物离子选择性通过其孔传导。这种氯化物通道门控一般通过将膜电位稳定化接近静息水平而抑制神经元。

[0005] 缺陷性GABA<sub>A</sub>受体神经传递可由GABA<sub>A</sub>受体减少引起,或者由源自例如GABA<sub>A</sub>受体基因的遗传突变、外伤性脑损伤或药理学损害的GABA<sub>A</sub>受体功能缺陷引起,牵涉多种神经学和精神病学疾病,包括癫痫、焦虑症、帕金森病和慢性疼痛。因此关于活的人患者,特别是患与缺陷性GABA<sub>A</sub>受体神经传递相关疾病的患者的脑显像研究,有研发对GABA<sub>A</sub>受体有选择性的放射性配体的价值。

[0006] 氟马西尼(也称为氟马泽尼(flumazepil),代号Ro 15-1788,商品名Anexate, Lanexat, Mazicon, Romazicon)是咪唑并[1,5-a][1,4]苯二氮草,是CNS中GABA<sub>A</sub>受体的中和性变构调节剂(Johnston 1996 Pharmacol Ther;69(3):173-198)。迄今为止氟马西尼最常见的用途是作为苯二氮草过量的解药,因为它通过在GABA<sub>A</sub>受体的苯二氮草结合位点的竞争性抑制逆转苯二氮草的效应。此外,因为氟马西尼具有很小或无激动剂活性,所以已研发其放射性标记形式作为正电子发射断层摄影(PET)放射示踪剂。

[0007] [<sup>18</sup>F]FMZ具有与氟马西尼相同的化学式,但其中<sup>18</sup>F通过硝基前体的直接放射氟化掺入:



[0009] [<sup>18</sup>F]FMZ以高亲和力( $K_i$ 为约0.5nM)和选择性与GABA<sub>A</sub>受体结合。Ryzhikov等(2005Nuc Med Biol;32:109-116)描述了由硝基前体化合物制备[<sup>18</sup>F]FMZ。但是,本发明人已发现这种合成具有为2.7-7.7%的决非最佳的合成结束(EOS)收率(在本文描述为比较实施例)。这些EOS收率与由Odano等(Neuroimage 200945(3)891-902)报道的相当。

[0010] 本发明寻求手段,以与现有技术方法相比以改善的收率获得以高亲和力与GABA<sub>A</sub>受体结合的放射氟化的药剂。

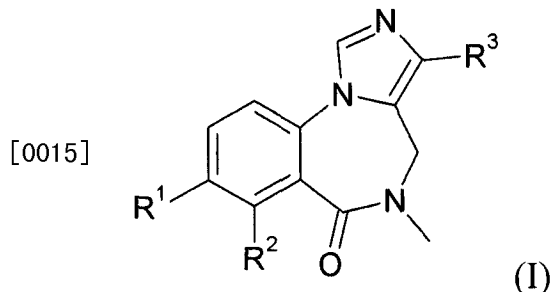
[0011] 发明概述

[0012] 本发明提供一种方法,以获得可用于GABA<sub>A</sub>受体体内显像的放射氟化化合物。本发

明方法与现有技术方法相比为高收率。本发明又一方面是适合实施本发明自动化合成方法的盒。还提供可用于本发明方法的新的前体化合物,同样提供通过本发明方法获得的某些新的放射氟化化合物。

[0013] 发明详述

[0014] 一方面,本发明提供获得式I化合物的方法:



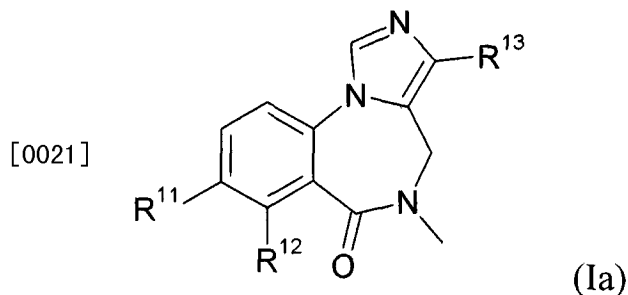
[0016] 其中:

[0017]  $R^1$ 和 $R^2$ 中一个是 $^{18}\text{F}$ 且另一个是氢;和

[0018]  $R^3$ 是 $\text{C}_{3-5}$ 杂环;或者 $R^3$ 是 $\text{C}(=\text{O})-\text{O}-R^4$ ,其中 $R^4$ 是氢或者直链或支链 $\text{C}_{1-4}$ 烷基;

[0019] 其中所述方法包含:

[0020] (i)提供式Ia的前体化合物:



[0022] 其中:

[0023]  $R^{11}$ 和 $R^{12}$ 中一个是离去基团且另一个是氢,其中:

[0024] 当 $R^{11}$ 是所述离去基团时,它选自三- $\text{C}_{1-3}$ 烷基铵或 $-\text{I}^+-\text{Ar}$ ,其中Ar是被一个或多个 $\text{R}^*$ 基团取代的苯基,其中 $\text{R}^*$ 选自氢、硝基、氰基、卤素、 $\text{C}_{1-10}$ 羟基烷基、 $\text{C}_{2-10}$ 羧基烷基、 $\text{C}_{1-10}$ 烷基、 $\text{C}_{2-10}$ 烷氧基烷基、 $\text{C}_{1-10}$ 羟基烷基、 $\text{C}_{1-10}$ 氨基烷基、 $\text{C}_{1-10}$ 卤代烷基、 $\text{C}_{6-14}$ 芳基、 $\text{C}_{3-12}$ 杂芳基、 $\text{C}_{3-20}$ 烷基芳基、 $\text{C}_{2-10}$ 烯基和 $\text{C}_{2-10}$ 炔基;和

[0025] 当 $R^{12}$ 是所述离去基团时,选自硝基、三- $\text{C}_{1-3}$ 烷基铵或 $-\text{I}^+-\text{Ar}$ ,其中Ar如上文关于 $R^{11}$ 限定;和

[0026]  $R^{13}$ 如式I关于 $R^3$ 限定;和

[0027] (ii)使所述前体化合物与合适的 $^{18}\text{F}$ 氟化物源反应。

[0028] “前体化合物”包含放射标记化合物的非放射性衍生物,将其设计为使其与可检测标记的方便化学形式的化学反应位点特异性地发生;可以最小步骤数(理想的是一步)进行;并且不需要显著纯化(理想的无进一步纯化),以得到期望的体内显像剂。此类前体化合物是合成的,可以方便地以良好化学纯度获得。前体化合物可任选包含用于前体化合物某些官能团的保护基团。

[0029] “离去基团”是如上文限定的前体化合物的取代基,当前体化合物与合适 $^{18}\text{F}$ 氟化

物源反应时将其用 $^{18}\text{F}$ 置换,从而允许 $^{18}\text{F}$ 位点特异性掺入以得到期望的式I放射氟化化合物。

[0030] 通过术语“保护基团”指抑制或阻遏不期望的化学反应的基团,但将其设计为具有足够反应性,以便在不改变分子其余部分的足够温和的条件下从所涉官能团断开。在脱保护后获得期望的产物。保护基团为本领域技术人员熟知,对于胺基适当地选自:Boc(其中Boc是叔丁氧基羰基)、Fmoc(其中Fmoc是芴基甲氧基羰基)、三氟乙酰基、烯丙基氧基羰基、Dde[即1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代亚环己基)乙基]或Npys(即3-硝基-2-吡啶次磺酰基);对于羧基选自:甲酯、叔丁酯或苄酯。对于羟基,合适的保护基团是:甲基、乙基或叔丁基;烷氧基甲基或烷氧基乙基;苄基;乙酰基;苯甲酰基;三苯甲基(Trt)或三烷基甲硅烷基比如四丁基二甲基甲硅烷基。其它保护基团的使用描述于‘Protective Groups in Organic Synthesis(有机合成中的保护基团)’,Theodorora W.Greene和Peter G.M.Wuts,(第三版, John Wiley & Sons,1999)。

[0031] 术语“烷基”单独使用或作为另一基团的部分使用,在本文限定为任何直形、分枝或环状的饱和或不饱和 $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ 基团。

[0032] 术语“芳基”单独使用或作为另一基团的部分使用,在本文限定为任何 $\text{C}_6\text{-14}$ 分子片段或基团,其衍生自单环或多环芳族烃,或者单环或多环杂芳族烃。

[0033] 术语“卤素”指选自氟、氯、溴和碘的基团。

[0034] 术语“硝基”指基团 $-\text{NO}_2$ 。

[0035] 术语“氰基”指基团 $-\text{CN}$ 。

[0036] 术语“羧基烷基”指被至少一个 $-\text{COOH}$ 取代的如上文限定的烷基。

[0037] 术语“烷氧基烷基”指烷基醚基团,其中术语烷基如上文限定。

[0038] 术语“羟基烷基”指如上文限定的烷基基团,其中至少一个氢原子已被 $-\text{OH}$ 基团置换。

[0039] 术语“氨基烷基”指如上文限定的烷基基团,其中至少一个氢原子已被 $-\text{NH}_2$ 基团置换。

[0040] 术语“卤代烷基”指如上文限定的烷基基团,其中至少一个氢原子已被卤素置换,其中卤素如本文限定。

[0041] 术语“杂芳基”指如上文限定的芳基,其中至少一个碳原子被选自O、N和S的杂原子置换。

[0042] 术语“烷基芳基”指如上文限定的烷基基团,其中至少一个氢原子被如上文限定的芳基基团置换。

[0043] 术语“杂环”在本文指脂族或芳族环状基团,其中环包含一个或多个选自氮、氧或硫的杂原子。

[0044] 术语“烯基”指具有一个或多个双键的直链或支链烃基团。

[0045] 术语“炔基”指具有一个或多个三键的直链或支链烃基团。

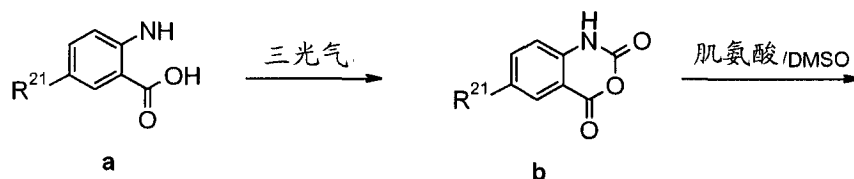
[0046] 在其中 $\text{R}^1$ 是 $^{18}\text{F}$ 的本发明方法的一个优选实施方案中, $\text{R}^{11}$ 是三甲基铵或 $-\text{I}^+-\text{Ar}$ 。

[0047] 在本发明方法最优选的实施方案中 $\text{R}^2$ 是 $^{18}\text{F}$ 。当 $\text{R}^2$ 是 $^{18}\text{F}$ 时,优选 $\text{R}^{12}$ 是硝基、三甲基铵或 $-\text{I}^+-\text{Ar}$ 。当 $\text{R}^2$ 是 $^{18}\text{F}$ 时,最优选 $\text{R}^{12}$ 是硝基。

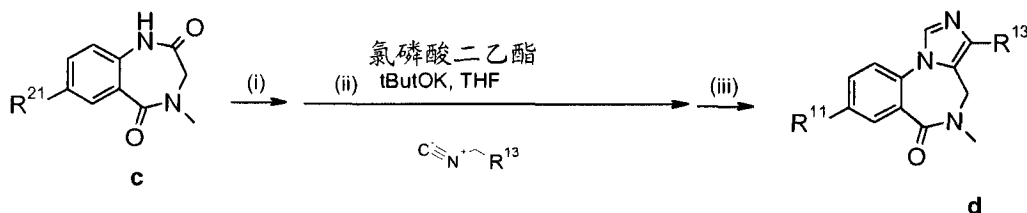
[0048] 式I的 $\text{R}^3$ 和式Ia的 $\text{R}^{13}$ 相同,优选 $\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}^4$ ,其中 $\text{R}^4$ 是直链或支链 $\text{C}_{1-4}$ 烷基,优选甲

基、乙基、异丙基或叔丁基。 $R^4$ 最优选乙基、异丙基或叔丁基,特别优选乙基。

[0049] 可将由Yang等公开的反应流程(2009Synthesis;6:1036-1040)改编以获得其中 $R^{11}$ 是离去基团的式Ia前体化合物。流程1说明如何可获得前体化合物:



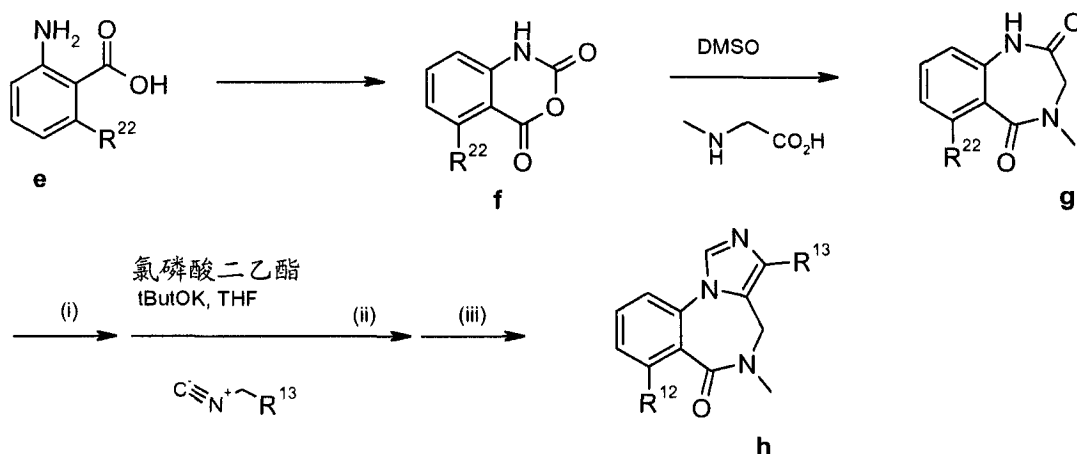
[0050]



[0051] 流程1

[0052] 在流程1中,当 $R^{11}$ 是三烷基铵时 $R^{21}$ 是 $\text{NO}_2$ ,当 $R^{11}$ 是碘鎓盐时 $R^{21}$ 是溴。 $R^{13}$ 如式Ia限定。适当的氨基苯甲酸化合物a,其预备进行所需化学作用以在后期引入期望的离去基团,使其与三光气反应以得到苯并咪唑-2,4-二酮中间体b。b与肌氨酸在DMSO中反应得到苯二氮草c。在此阶段,当 $R^{11}$ 是三烷基铵时,在步骤(i)中将化合物c的 $R^{21}$ 转化为三烷基铵之后在实施步骤(ii)以获得化合物d。当 $R^{11}$ 是碘鎓盐时,在实施步骤(ii)之后在步骤(iii)中将 $R^{21}$ 转化为碘鎓盐。

[0053] 当 $R^{12}$ 是离去基团时,流程2可用于获得前体化合物:



[0055] 流程2

[0056]  $R^{22}$ 如上文流程1关于 $R^{21}$ 限定。化合物e是通过标准化学转换用市售获得的2,6-二硝基苯甲酸原料获得。将化合物e按照流程1关于化合物a的描述处理以得到苯二氮草中间体g,转而将其在引入期望的离去基团之前(即(ii)且然后(iii))或之后(即(i)且然后(ii))转换为期望的咪唑并苯二氮草。步骤(i)-(iii)如上文关于流程1所描述。

[0057] 获得的 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物通常为水溶液,是照射 $[^{18}\text{O}]$ -水靶的产物。已广泛实践实施各种步骤以将 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物转化为反应性亲核剂,以便适合用于亲核放射性标记反应。这些步

骤包括从 $[^{18}\text{F}]$ -氟化物离子消除水和提供合适的反离子(Handbook of Radiopharmaceuticals(放射性药物手册)2003Welch&Redvanly eds.第6章,第195-227页)。然后用无水溶剂进行亲核放射氟化反应(Aigbirhio等1995 J Fluor Chem;70:279-87)。为了增加氟化物的反应性和避免因存在水而产生羟化副产物,通常在反应之前从 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物除去水和用无水反应溶剂进行放射氟化反应(Aigbirhio等1995 J Fluor Chem;70:279-87)。从 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物除去水称为制备“裸(naked)” $[^{18}\text{F}]$ 氟化物。在亲核氟化相关的现有技术将这视为增加氟化物反应性以及避免因存在水而产生羟化副产物的必需步骤(Moughamir等1998Tett Letts;39:7305-6)。

[0058] 用于改善放射氟化反应的 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物反应性的又一个步骤是在除去水之前加入阳离子反离子。反离子在无水反应溶剂内应当具备足够溶解度以维持氟化物离子的溶解度。已使用的反离子包括大而柔软的金属离子比如铷或铯、与穴合剂比如Kryptofix™络合的钾,或者四烷基铵盐。用于本发明方法的优选的合适 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物源选自 $[^{18}\text{F}]$ 氟化钾和 $[^{18}\text{F}]$ 氟化铯。最优选 $[^{18}\text{F}]$ 氟化钾,其与穴合剂比如Kryptofix™络合时,因为其在无水溶剂中良好的溶解度和增强的氟化物反应性而特别优选。

[0059] 在优选实施方案中,本发明方法可进一步包含:

[0060] (iii)除去过量 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物;和/或

[0061] (iv)除去任何保护基团;和/或

[0062] (v)除去有机溶剂;和/或

[0063] (vi)将所得化合物与生物相容性载体一起配制,以获得适合哺乳动物给药的放射性药用组合物。

[0064] “生物相容性载体”是流体,特别是液体,其中放射氟化化合物悬浮或溶解,以便放射性药用组合物在生理学上可耐受,即可以给予哺乳动物机体且无毒性或过度不适。生物相容性载体适合地为可注射的载体液体比如无菌、无热原注射用水;水溶液比如盐水(其可有利地平衡,以便注射用终产物等渗或不低渗);一种或多种张力调节物质(如血浆阳离子与生物相容性反离子的盐)、糖(如葡萄糖或蔗糖)、糖醇(如山梨醇或甘露醇)、甘醇(如甘油)或其它非离子多元醇材料(如聚乙二醇、丙二醇等)的水溶液。生物相容性载体还可包含生物相容性有机溶剂比如乙醇。此类有机溶剂可用于增溶更多亲脂化合物或制剂。优选生物相容性载体是无热原注射用水、等渗盐水或乙醇水溶液。用于静脉内注射的生物相容性载体的pH适合地在4.0-10.5范围内。

[0065] 目前,特别用作PET示踪剂的 $^{18}\text{F}$ -标记化合物的合成最方便通过自动合成装置如Tracerlab™和Fastlab™(都是GE Healthcare)实施。但是,现有技术方法不适合自动化。在本文比较实施例1中,证明硝基马西尼(nitromazenil)的放射氟化不是在Fastlab上自动合成 $[^{18}\text{F}]$ FMZ的理想途径,因为收率低,还因为获得 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物有效掺入需要的温度。现有FASTlab反应器用可在至多130℃温度使用的环烯烃共聚物(COC)制造。用硝基前体制备 $[^{18}\text{F}]$ FMZ的现有技术方法需要大约160℃温度。在这些温度COC反应器失去密封度。

[0066] 如下文实验实施例证明,将硝基马西尼前体上的离去基团从硝基改为三甲基铵让反应温度降低至130℃,同时维持7%的EOS收率。将硝基离去基团从酰胺羰基的间位移至酰胺羰基的邻位使EOS收率从2.7-7.7%改善至18-23%同时还降低反应温度。

[0067] 在特别优选的实施方案中,本发明方法是自动化的。通过将“盒”安装在自动化合

成装置上而在装置上进行放射化学。此类盒正常包括流体通道、反应器和接收试剂管瓶以及用于放射合成后清洗步骤的任何固相提取柱体的口。

[0068] 在本发明又一方面提供实施本发明自动化方法的盒,其包含:

[0069] (i)装有前体化合物的容器,其中所述前体化合物如上文合适和优选地限定;和

[0070] (ii)用合适 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物源洗脱容器的工具,其中所述合适 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物源如上文合适和优选地限定。

[0071] 盒还可包含用于除去过量 $^{18}\text{F}$ 的离子交换柱体。还可包括试剂、溶剂及其它自动合成需要的消耗品,以及数据媒体,比如携带软件的光盘,其让自动合成仪以一定方式操作,以满足最终用户对浓度、体积和递送时间等的要求。

[0072] 另一方面,本发明提供如本发明方法限定的式I化合物,其中 $\text{R}^1$ 是氢, $\text{R}^2$ 是 $[^{18}\text{F}]$ , $\text{R}^4$ 是乙基、异丙基或叔丁基,其中 $\text{R}^4$ 最优选乙基。

[0073] 又一方面,本发明提供如上文限定的式Ia前体化合物,其中 $\text{R}^{11}$ 和 $\text{R}^{12}$ 中一个是三甲基铵或 $-\text{I}^+-\text{Ar}$ ,另一个是氢。优选 $\text{R}^{11}$ 和 $\text{R}^{12}$ 中一个是三甲基铵且另一个是氢。最优选 $\text{R}^{12}$ 是硝基、三甲基铵或 $-\text{I}^+-\text{Ar}$ ,最特别优选 $\text{R}^{12}$ 是硝基。 $\text{R}^{13}$ 优选 $\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}^4$ ,其中 $\text{R}^4$ 是乙基、异丙基或叔丁基,其中 $\text{R}^4$ 优选乙基。

[0074] 实施例简述

[0075] 比较实施例1描述用硝基前体化合物制备 $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼。

[0076] 实施例2描述用三甲基铵前体化合物制备 $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼。

[0077] 实施例3描述制备 $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼的碘鎓盐前体化合物。

[0078] 实施例4描述用硝基前体化合物制备邻位- $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼。

[0079] 实施例5描述用硝基前体化合物制备邻位- $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼叔丁酯。

[0080] 实施例6描述用硝基前体化合物制备邻位- $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼异丙酯。

[0081] 实施例7描述评价邻位- $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼体内生物分布的方法。

[0082] 用于实施例的缩写列表

aq            水性

[0083] CIP        2-氯代-1,3-二甲基咪唑烷鎓六氟磷酸盐

DCM        二氯甲烷

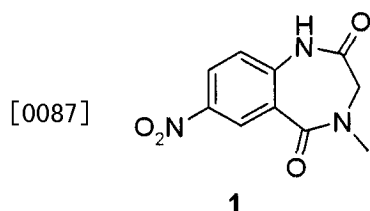


|        |       |            |
|--------|-------|------------|
|        | DIPEA | N,N-二异丙基乙胺 |
|        | DMF   | 二甲基甲酰胺     |
|        | DMSO  | 二甲基亚砷      |
|        | EOS   | 合成结束       |
|        | Et    | 乙基         |
|        | g     | 克          |
|        | h     | 小时         |
|        | HPLC  | 高效液相层析     |
|        | LCMS  | 液相层析质谱     |
|        | MeCN  | 乙腈         |
|        | min   | 分钟         |
| [0084] | mL    | 毫升         |
|        | mM    | 毫摩尔        |
|        | mmol  | 毫摩尔        |
|        | mol   | 摩尔         |
|        | QMA   | 四甲基铵       |
|        | Rf    | 保留系数       |
|        | rt    | 室温         |
|        | SPE   | 固相提取       |
|        | TBA   | 四丁基铵       |
|        | TEA   | 三乙醇胺       |
|        | THF   | 四氢呋喃       |
|        | TLC   | 薄层层析       |
|        | UV    | 紫外线        |

#### 实施例

[0085] 比较实施例1:用硝基马西尼制备 $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼( $[^{18}\text{F}]$ FMZ)

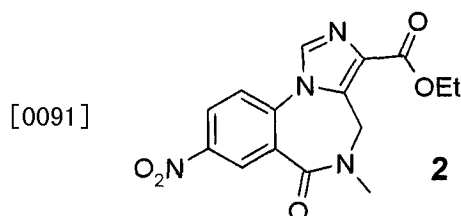
[0086] 实施例1(i):4-甲基-7-硝基-3,4-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-2,5-二酮(1)的合成



[0088] 通过搅拌和将烧瓶缓慢加热至140℃使市售可获得的5-硝基衣托酸酐(40g, 0.192mol)溶于DMSO(50mL)中。将肌氨酸(17.1g, 0.192mol)缓慢地分批加入溶液内。添加后,在140℃,溶液开始起泡(产生CO<sub>2</sub>)。将混合物搅拌2.5小时。让混合物冷却,缓慢倒在烧杯中的冰冷水上。将溶液用玻璃棒搅拌,沉淀出黄色固体。将固体过滤分离,用水洗涤几次,然后在40℃真空烘箱中干燥过夜。分离的黄色固体鉴定为期望的产物1,为78%收率。

[0089] <sup>1</sup>H NMR(D<sub>6</sub>-DMSO): δ3.14(3H, s, NCH<sub>3</sub>), 3.97(2H, s, NCH<sub>2</sub>CO), 7.30(1H, d, J=9Hz, HNCCHCH), 8.33(1H, dd, J=9和3Hz, CHCHCN<sub>2</sub>CH), 8.33(1H, d, J=3Hz, OC-CCH), 11.05(1H, s, NH)。

[0090] 实施例1(ii):硝基马西尼(2)的制备



[0092] 在氮气下在0℃将叔丁醇钾(0.6g, 5mmol)加入中间体1(1g, 4.3mmol)在THF(10mL)和DMF(2mL)中的溶液内。30分钟后使反应物冷却至0℃,用氯磷酸二乙酯(0.7mL, 5mmol)滴加处理,并搅拌30分钟。同时在氮气下在0℃向异氰基乙酸乙酯(0.6mL, 5mmol)在THF(10mL)中的搅拌溶液内加入叔丁醇钾(0.6g, 5mmol)并搅拌15分钟。然后在0℃将其缓慢加入中间体1的混合物内。将其在0℃搅拌0.5小时,然后在室温下再搅拌2小时。TLC(乙酸乙酯)通过UV和KMnO<sub>4</sub>显示原料(Rf0.4)和新斑点(Rf0.2)。

[0093] 将反应物用乙酸猝灭并搅拌过夜。将反应混合物倒入冰/水中。将其用乙酸乙酯提取,将有机层用水、盐水洗涤,干燥和浓缩成浓稠的黑色致密油状物。将其用以下条件层析几次:

[0094] 1) Companion, 使用DCM1/乙酸乙酯(2次)

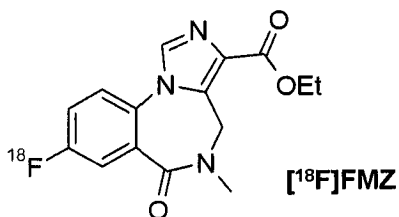
[0095] 2) Companion使用汽油/乙酸乙酯(2次)

[0096] 获得为无色固体的50mg纯材料2(收率4%)

[0097] <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>): δ1.39(3H, t, J=7Hz, CH<sub>3</sub>), 3.28(3H, s, ArCONCH<sub>3</sub>), 4.37(2H, q, J=7Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.40(1H, br s, CH<sub>2</sub>), 5.26(1H, br s, CH<sub>2</sub>), 7.60(1H, d, J=89Hz, ArCHCHCN<sub>2</sub>), 7.94(1H, s, NCHN), 8.45(1H, dd, J=8.9和28Hz, ArCHCHCN<sub>2</sub>), 8.95(1H, d, J=2.5Hz, ArCHCN<sub>2</sub>)。

[0098] 实施例1(iii):硝基马西尼(2)的放射氟化以获得[<sup>18</sup>F]氟马西尼([<sup>18</sup>F]FMZ)

[0099]



[0100]  $^{18}\text{F}$ 标记在TRACERlab自动合成模块(GE Healthcare)上进行。使 $^{18}\text{F}$ 氟化物截留在预调节的QMA柱体上,然后来自管瓶1的四正丁基碳酸氢铵在MeCN/水中的溶液(MeCN 1400 $\mu\text{L}$ ,水100 $\mu\text{L}$ ,TBA. $\text{HCO}_3$ 27mg)转移至反应器中。将溶液用氮气加真空流在100 $^\circ\text{C}$ 干燥10分钟,然后在120 $^\circ\text{C}$ 干燥20分钟,然后冷却至50 $^\circ\text{C}$ 。

[0101] 向干燥的 $^{18}\text{F}$ 氟化物内加入来自管瓶3的在DMF(1mL)中的硝基马西尼(18.8mg)。将反应混合物在160 $^\circ\text{C}$ 加热30分钟,然后使其冷却至50 $^\circ\text{C}$ 。将反应混合物用来自管瓶5的10mM磷酸(2.5mL)稀释并转移至粗产物管内。

[0102] 然后将粗产物手工转移至制备HPLC回路上。制备HPLC得到保留时间为17.5分钟的峰,将其切割放入装有水(12mL)的TRACERlab圆底烧瓶内。制备HPLC系统安装有液流闪烁计数器。

[0103]

|       |                                                 |
|-------|-------------------------------------------------|
| HPLC柱 | Phenomenex Luna C18(2)250 $\times$ 10mm 5 $\mu$ |
| 溶剂    | A=10mM磷酸,B=MeCN,25%B无梯度                         |
| 流速    | 4mL/min                                         |
| UV    | 254nm                                           |
| 回路    | 5mL                                             |
| 灵敏度   | 2000K                                           |

[0104] 将圆底烧瓶中的混合物截留在tC18 plus lite SPE柱体(先后用1mL乙醇和2mL水预调节)上。用水(3mL)洗涤SPE柱体,将粗产物用EtOH(0.5mL)和水(4.5mL)洗脱到P6管瓶内。

[0105] 初始活性 193.8MBq 于11:14

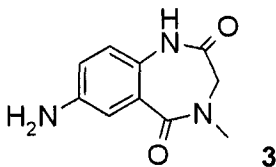
[0106] 配制产物的活性 14.8MBq 于12:48

[0107] =7.7%合成结束收率

[0108] 实施例2:用三甲基铵前体化合物制备 $^{18}\text{F}$ 氟马西尼( $^{18}\text{F}$ FMZ)

[0109] 实施例2(i):4-甲基-7-氨基-3,4-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂~~草~~-2,5-二酮(3)的合成

[0110]

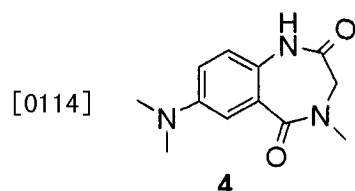


[0111] 使中间体1(3.48g,15mmol,制备描述于实施例1)悬浮于120mLTHF/乙醇的1:1溶液中。将混悬液先后用氮气和真空处理,之后加入Pd/C 10%(0.7g),悬浮于乙醇中。然后将反应器装在Parr氢化器上,置于氢气压(20psi)下搅拌约3小时。真空除去过量氢气,然后用氮气吹扫通过溶液。用硅藻土滤出催化剂,将滤液蒸发至极小量的乙醇。将形成的白色沉淀物

过滤分离,真空干燥以得到918mg期望的材料3,收率30%。

[0112]  $^1\text{H}$  NMR(DMSO):  $\delta$ 3.07(3H, s,  $\text{NCH}_3$ ), 3.74(2H, s,  $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 5.19(2H, s,  $\text{NH}_2$ ), 6.69(1H, dd,  $J=8.6$ 和 $2.5\text{Hz}$ ,  $\text{ArCHCNH}_2$ ), 6.77(1H, d,  $J=8.6\text{Hz}$ ,  $\text{ArCHCNHCO}$ ), 6.90(1H, d,  $J=2.5\text{Hz}$ ,  $\text{COCHCNH}_2$ ), 9.97(1H, s,  $\text{NH}$ )。

[0113] 实施例2(iii):4-甲基-7-二甲基氨基-3,4-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-2,5-二酮(4)的合成



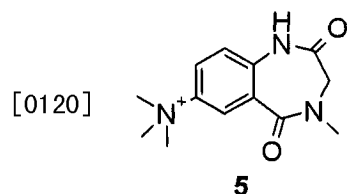
[0115] 在 $0^\circ\text{C}$ 向中间体3(3.0g, 13mmol)和37%水性甲醛(21mL, 0.26mol)在乙腈中的溶液内,分批加入 $\text{NaBH}_3\text{CN}$ (4.8g, 77mmol)。将反应混合物在 $0^\circ\text{C}$ 搅拌2小时,然后在室温搅拌1小时。然后加入乙酸(1.4mL),将反应混合物再搅拌2小时。将反应混合物倒入乙醚中,用2N KOH洗涤,将碱性层用乙酸乙酯提取几次。将有机相收集和干燥,真空除去溶剂以得到非晶态微黄色固体。

[0116] 注意:在加入乙酸后观察到气体形成,反应强烈放热。

[0117] 将获得的固体与乙酸乙酯一起研磨,过滤分离,用乙醚洗涤以得到淡黄色蓬松固体。质子NMR证实该材料是中间体4(2.97g, 98%)。

[0118]  $^1\text{H}$  NMR(DMSO):  $\delta$ 3.09(3H, s,  $\text{NCH}_3$ ), 3.77(2H, s,  $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 6.92–6.98(3H, m,  $\text{ArCHCN}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{ArCHCNHCO}$ ,  $\text{COCHCN}(\text{CH}_3)_2$ ), 10.09(1H, s,  $\text{NH}$ )。

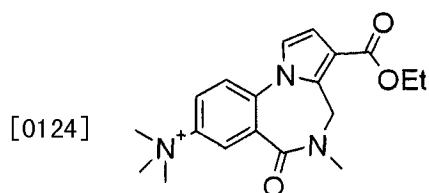
[0119] 实施例2(iii):三甲基-(4-甲基-2,5-二氧代-2,3,4,5-四氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-7-基)-铵(5)的合成



[0121] 使中间体4(2.97g, 13mmol)溶于DCM(75mL)中,在室温在氮气流下滴加三氟甲磺酸甲酯(1.67mL, 15mmol)。1分钟内固体开始从溶液中坠落。10分钟后TLC分析(乙酸乙酯)显示SM已消失。因此停止反应。加入乙醚(20mL),将固体过滤分离为白色粘性材料。反应以定量收率得到中间体5。

[0122]  $^1\text{H}$  NMR(DMSO):  $\delta$ 3.15(3H, s,  $\text{CONCH}_3$ ), 3.61(9H, s,  $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ ), 3.91(2H, s,  $\text{NCH}_2\text{CO}$ ), 7.28(1H, d,  $J=9.19\text{Hz}$ ,  $\text{ArCHCNHCO}$ ), 8.10(1H, dd,  $J=3.06$ 和 $9.19\text{Hz}$ ,  $\text{ArCHCN}^+(\text{CH}_3)_3$ ), 8.25(1H, d,  $J=3.06\text{Hz}$ ,  $\text{COCHCN}^+(\text{CH}_3)_3$ ), 10.73(1H, s,  $\text{NH}$ )。

[0123] 实施例2(iv):三甲基铵前体化合物(6)的合成



6

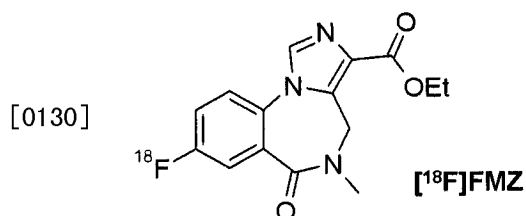
[0125] 在室温在氮气下将氢化钠(240mg的60%矿物油分散体,6mmol)加入中间体5(2g,5mmol)在THF(15mL)和DMF(10mL)中的溶液内。40分钟后使反应物冷却至0℃,用氯磷酸二乙酯(1.08mL,7.5mmol)滴加处理并搅拌30分钟。同时在0℃在氮气下向异氰基乙酸乙酯(0.656mL,6mmol)在DMF(6mL)中的搅拌溶液内加入氢化钠(280mg的60%矿物油分散体,7mmol)并搅拌15分钟。然后在0℃将其缓慢加入中间体5的混合物内。将其在0℃搅拌0.5小时然后在室温搅拌30分钟。该时间后粗产物的LCMS分析显示存在期望的物质。将反应物用乙酸猝灭并处理。

[0126] 将反应混合物倒入冰/水中。将其先后用乙酸乙酯和DCM提取。有机物和水的LCMS分析提示在水层存在期望的材料。因此将其干燥(用旋转蒸发),然后用半制备HPLC分析粗产物。以25%收率分离期望的产物6。

[0127] HPLC条件:经过30分钟5-95%甲醇/水梯度;Luna 10C18(2)250×50mm柱。

[0128]  $^1\text{H}$  NMR( $\text{D}_2\text{O}$ ): $\delta$ 1.37(3H,t, $J=7.1\text{Hz}$ , $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ),3.22(3H,s, $\text{NCH}_3$ ),3.73(9H,s, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ),4.41(2H,m, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ),4. (1H,br d, $J=15.3\text{Hz}$ , $\text{NCH}_2$ ),5.13(1H,br d, $J=15.3\text{Hz}$ , $\text{NCH}_2$ ),7.93(1H,d, $J=9.2\text{Hz}$ , $\text{ArCHCNHCO}$ ),8.25(1H,dd, $J=9.2$ 和 $3.1\text{Hz}$ , $\text{ArCHCN}^+(\text{CH}_3)_3$ ),8.27(1H,s, $\text{ArNCHN}$ ),8.40(1H,d, $J=31\text{Hz}$ , $\text{COCHCN}^+(\text{CH}_3)_3$ ).

[0129] 实施例2(v):三甲基铵前体化合物(6)的放射氟化以获得 $^{18}\text{F}$ 氟马西尼( $^{18}\text{F}$ FMZ)

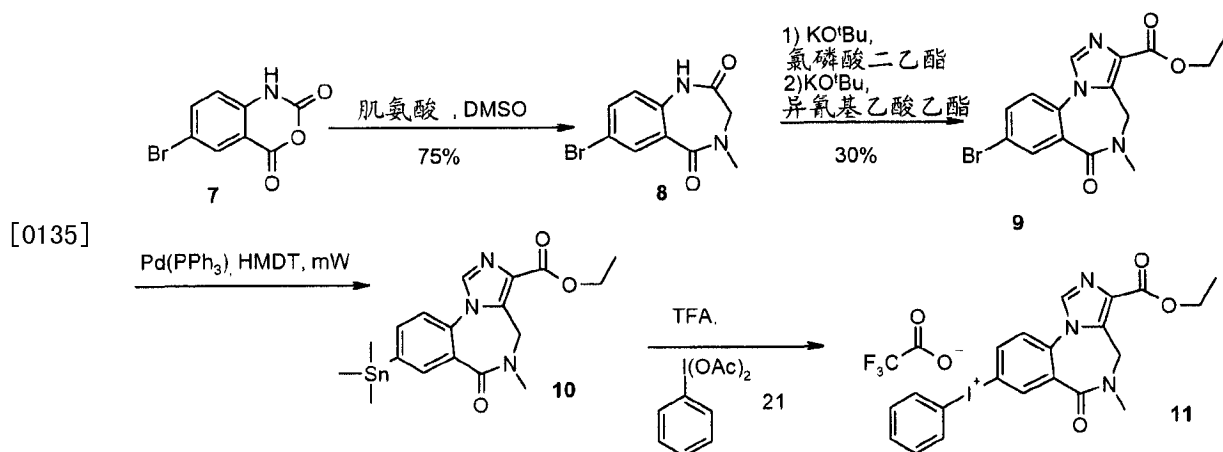


[0131] 将 $^{18}\text{F}$ 氟化物转移至Wheaton管瓶,向其内加入 $\text{TBA}\cdot\text{HCO}_3$ (400 $\mu\text{L}$ )。将溶液在110℃在 $\text{N}_2$ 气流( $\sim 0.5\text{L/min}$ )下干燥30分钟,然后冷却至室温。

[0132] 向干燥的 $^{18}\text{F}$ 氟化物内加入在DMSO(1mL)中的三甲基铵前体(31mg)。将反应混合物在130℃加热25分钟,此时使其冷却至室温。将反应混合物从Wheaton管瓶转移入P6管瓶内。将Wheaton管瓶用水(1mL)冲洗,转移至P6管瓶,加入另外3mL乙酸铵(50mM)。将反应混合物装载在制备HPLC(Hichrom ACE C510×100mm柱;溶剂A=50mM乙酸铵,溶剂B=MeCN;4mL/min;UV 254nm)上用于纯化。

[0133] 分析HPLC(Phenomenex Luna C18(2)50×2mm柱;溶剂A=50mM乙酸铵,溶剂B=MeCN;0.4mL/min;UV 254nm)证实获得95%放射化学纯度的 $^{18}\text{F}$ 氟马西尼。使用这种方法 $^{18}\text{F}$ 氟马西尼的合成结束收率是6%。

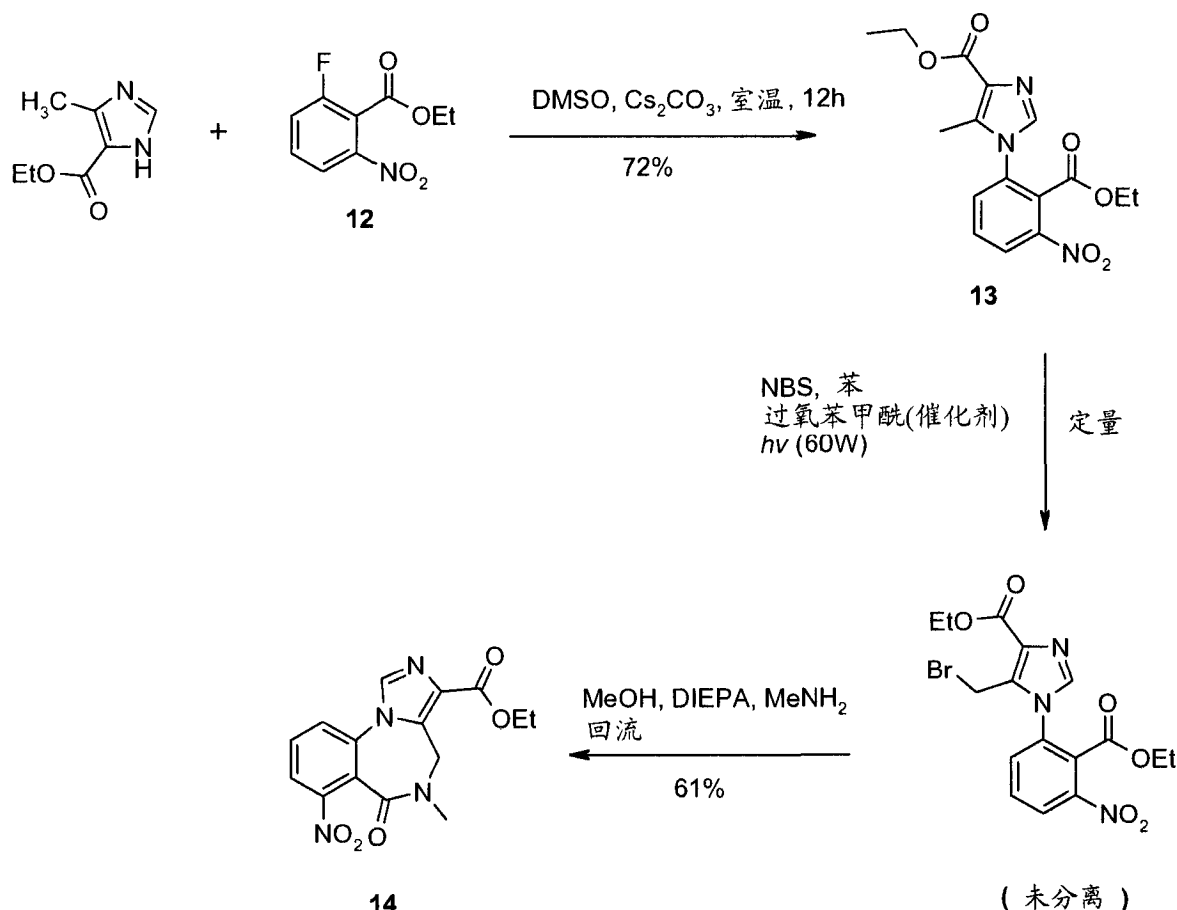
[0134] 实施例3:制备 $^{18}\text{F}$ 氟马西尼( $^{18}\text{F}$ FMZ)的碘鎓盐前体化合物



[0136] 将市售可获得的5-溴衣托酸酐(7)在DMSO中与肌氨酸在150℃加热。这以75%收率得到中间体8。用该反应流程中说明的条件成环以30%收率得到中间体9。将中间体9和六甲基二锡/ $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 在130℃微波加热15分钟,以35%收率得到锡烷中间体10。用1:5比率的中  
 中间体10和(二乙酰氧基碘)苯获得碘鎓转化,在室温24小时后反应已完成。以21%收率获得  
 期望的碘鎓盐前体化合物11。

[0137] 实施例4:用邻位-硝基马西尼制备邻位- $^{18}\text{F}$ 氟马西尼

[0138]



[0139] 实施例4(i):2-氟代-6-硝基苯甲酸乙酯(12)的制备

[0140] 在0℃在氮气流下使2-氟代-6-硝基苯甲酸(1.5g, 8mmol)悬浮于DCM(30mL)中。缓慢加入草酰氯(1.5g, 1.06mL, 12mmol),让反应物搅拌过夜。形成酰基氯后可接着TLC(乙酸

乙酯)。真空除去溶剂,使残留物再溶于DCM(20mL)中。在0℃加入乙醇(0.4g,0.5mL,8mmol)和TEA(0.8g,11mL,8mmol),让反应物在室温搅拌3小时。该时间后通过<sup>1</sup>H & <sup>19</sup>F NMR分析少量混合物显示定量形成12。

[0141] 将反应混合物用DCM(20mL)稀释,用水(2×50mL)洗涤。将有机层分离,用MgSO<sub>4</sub>干燥和过滤。将溶剂除去至干以得到褐色油状物,其随着时间推移得到12的白色晶体(1.5g, 88%)。

[0142] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>):H 1.39(3H, t, J=7.1Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.47(2H, q, J=7.1Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7.47(1H, td, J=8.3和1.2Hz, NO<sub>2</sub>CCHCHCHCF), 7.59(1H, td, J=8.3和5.2Hz, NO<sub>2</sub>CCHCHCHCF), 7.98(1H, dt, J=8.3和0.9Hz, NO<sub>2</sub>CCHCHCHCF); <sup>19</sup>F NMR(282MHz, CDCl<sub>3</sub>):F-112.4.

[0143] 实施例4(ii):中间体13的制备

[0144] 使12(3g, 0.014mol)和4-甲基-5-咪唑-羧酸乙酯(1.96g, 0.013mol)溶于30mL DMSO中。加入碳酸铯(4.6g, 0.014mol),将混合物在室温搅拌3天。

[0145] 用3分钟内梯度为5-95%乙腈/水的LCMS分析粗产物。这显示以正模式质量348.03的新物质。

[0146] TLC分析(乙酸乙酯)显示rf 0.4的新斑点。

[0147] 将反应混合物倒入冰水中,接着先后用乙酸乙酯(×1)和DCM(×3)提取。将合并的有机物浓缩,液体装载在硅胶柱上用于快速层析(细节在下一页)。分离产物13(3.5g),为72%收率。

[0148] <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>):1.19(6H, t, J=7.05Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.42(3H, t, J=7.05Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.37(3H, s, NCCH<sub>3</sub>), 4.21(2H, q, J=7.05Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.41(2H, q, J=7.05Hz, COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7.49(1H, s, NCHN), 7.62(1H, dd, J=7.97Hz, CCHCHCHCNO<sub>2</sub>), 7.77(1H, t, J=7.97 & 8.27Hz, CCHCHCHCNO<sub>2</sub>), 8.37(1H, dd, J=8.27Hz, CCHCHCHCNO<sub>2</sub>)。

[0149] 实施例4(iii):邻位-硝基马西尼(14)的制备

[0150] 向溴化物(4.25g, 0.010mol)在50mL甲醇中的搅拌溶液内,缓慢加入DIPEA(2.84g, 3.8mL, 0.022mol)和甲胺(6.5mL 2M甲醇溶液, 0.013mol)在甲醇(50mL)中的溶液。使反应物回流过夜。用乙酸乙酯的TLC分析显示原料13定量转化为两种主要新斑点(rf0.5和0.3)。用3分钟内梯度为5-95%乙腈/水的LCMS分析粗产物。这显示以正模式质量331.03的新物质和两个其它主峰。将溶剂除去至干,将粗产物液体装载在柱上,用DCM/乙酸乙酯1%甲醇快速层析。2种主要合并流分的LCMS显示与两种其它产物混合的期望的材料。

[0151] 对各流分用DCM/乙酸乙酯进行第二次纯化。然后用乙醇使产物14从两种流分中再结晶。以15%收率分离纯的期望材料。

[0152] <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)δ1.43(3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.20(3H, s, NCH<sub>3</sub>), 4.32-4.50(2H, m, OCH<sub>2</sub>), 4.54(1H, d, J=16Hz, NCH), 5.30(1H, d, J=16Hz, NCH'), 7.66(1H, dd, J=8Hz and 1Hz, NCCH), 7.70(1H, dd, J=8和8Hz, CHCHCH), 7.94(1H, dd, J=8和1Hz, CHCNO<sub>2</sub>), 7.97(1H, s, NCHN)。

[0153] 实施例4(iv):邻位-硝基马西尼的放射氟化以获得邻位-[<sup>18</sup>F]氟马西尼

[0154] 放射氟化在FASTlab自动合成模块(GE Healthcare)上进行。

[0155] 用以下组成部分组装箱。将装有20.5mg K<sub>2</sub>222、140μl K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.9mg在水中)和1.06ml MeCN的11mm管瓶,第二个装有1.3ml前体溶液(6.5mg前体14在1.3ml无水DMF中)的

11mm管瓶,装有磷酸(2.6mL,10mM)的13mm管瓶,装有盐水的(0.9%,2.4mL)的13mm管瓶和装有乙醇(4mL)的13mm管瓶插入盒内。安装经预处理的QMA柱体,和tC18+柱体。

[0156] 将所需操作程序文件从控制PC上载至FASTlab的内存储器。将盒安装在FASTlab合成仪上。用连接FASTlab上氟化物入口的线路的针穿入 $[^{18}\text{F}]$ 氟化物管瓶内。连接干净、空的产物收集管瓶,该管瓶预先装有0.9%盐水(7mL)。然后合成程序开始,FASTlab硬件测试步骤完成。将氟化物截留在QMA柱体上,在反应器中干燥。加入前体14的溶液,在130°C加热30分钟。用磷酸(10mM,2.2mL)稀释反应混合物。一旦将粗产物转移至HPLC回路,则开始HPLC运行(见下文制备HPLC条件的细节)。

[0157]

|       |                                          |
|-------|------------------------------------------|
| HPLC柱 | Phenomenex Prodigy ODS-prep 250×10mm 10μ |
| 溶剂    | A=10mM磷酸,B=MeCN,25%B无梯度                  |
| 流速    | 4mL/min                                  |
| UV    | 254nm                                    |
| 回路    | 5mL                                      |
| 灵敏度   | 2000K                                    |

[0158] 一旦已将产物注射在制备HPLC上,则手工进行切割流分(保留时间13.7分钟)大约1分钟进入装有~13ml水的管瓶内。将稀释的切割流分取回FASTlab上,在tC18 plus柱体上再配制。在离子室中测量配制产物(在1mL乙醇和9mL盐水)中放射性的量。将产物样品亚(sub)分配,从热室取出用于分析。

[0159] 初始活性 21100MBq 于12:00

[0160] 配制产物的活性 4880MBq 于13:28

[0161] =23%合成结束收率

[0162] 在合成结束后2小时放射化学纯度>99%。

[0163] 测量的总冷配体是3μg/10mL体积。其计算是用分析HPLC UV峰面积,用冷参比化合物作为校正标准。

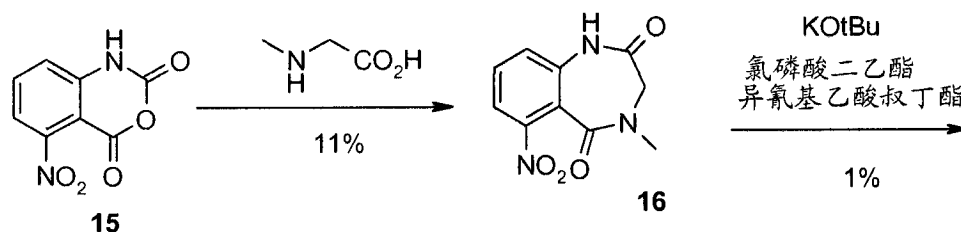
[0164] 这种自动合成方法产生总计带有大约1μg冷杂质的放射标记材料。这种自动方法还得到超过开始放射性水平范围的一致收率。下文显示4种连续合成的结果。

[0165]

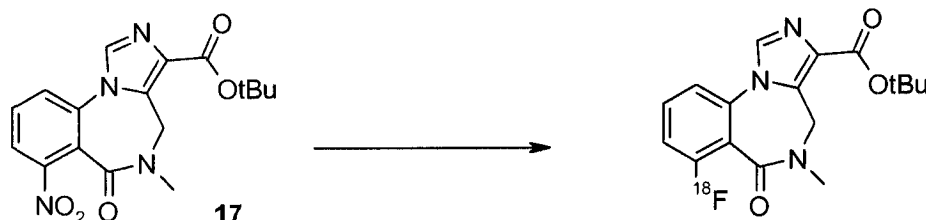
| 无衰减校正的 EOS 收率 | 配制产物的量 (MBq) | 放射化学纯度 | 冷配体量 μg | 杂质量 μg |
|---------------|--------------|--------|---------|--------|
| 18.22         | 72.7         | >99    |         |        |
| 23.13         | 4880         | >99    |         |        |
| 20.34         | 7220         | >99    |         |        |
| 21.59         | 38           | >99    | 0.6     | ~ 1.0  |

[0166] 实施例5:用邻位-硝基马西尼叔丁酯(17)制备邻位- $[^{18}\text{F}]$ 氟马西尼叔丁酯





[0167]



[0168] 实施例5(i):硝基衣托酸(15)的制备

[0169] 将2,6-二硝基苯甲酸(0.5g, 2.36mmol)在乙醇(5mL)中加热至80℃。然后加入硫化铵(40-48%在水中)(0.36mL, 2.36mmol)(黄色溶液变成明亮橙色混悬液)使混合物回流下加热0.5小时。TLC(DCM 80%, MeOH 20%)显示原料下方的模糊斑点。加入硫化铵(3.6mL, 20.4mmol), 混合物变为更暗的橙色。然后将该混合物回流下加热1小时, 该时间后TLC提示反应已完成。减压除去溶剂, 然后用甲醇洗涤残留物。将甲醇溶液倾析分离和蒸发至干以得到2-硝基-6-氨基苯甲酸, 为橙色固体。然后将其用快速层析(DCM 90%/MeOH 10%→20% MeOH在60CV、12g柱上)纯化以得到期望的材料(0.2g, 46%)。

[0170] <sup>1</sup>H NMR(D<sub>6</sub>-DMSO) δ 3.16(2H, s, NH<sub>2</sub>), 6.80(1H, dd, J=8和1Hz, H<sub>2</sub>NCC<sub>H</sub>), 6.93(1H, dd, J=8和1Hz, CHCN<sub>O</sub>), 7.22(1H, dd, J=8和8Hz, CHCH<sub>CH</sub>)。

[0171] 使2-硝基-6-氨基苯甲酸(2.8g, 15.4mmol)溶于二噁烷(20mL)中。加入三光气(1.52g, 5.1mmol)。然后使混合物回流下加热1小时。然后让混合物冷却。将沉淀物过滤收集, 以得到定量收率的衣托酸酐。

[0172] <sup>1</sup>H NMR(D<sub>6</sub>-DMSO) δ 7.33(1H, dd, J=8和1Hz, ArCH), 7.59(1H, dd, J=8 and 1Hz, ArCH), 7.89(1H, dd, J=8Hz, ArCH), 12.2(1H, brs, NH)。

[0173] 实施例5(ii):4-甲基-6-硝基-3,4-二氢-1H-苯并[e][1,4]二氮杂草-2,5-二酮(16)的制备

[0174] 使硝基衣托酸(15)(3.5g, 16.8mmol)和肌氨酸(1.50g, 16.8mmol)溶于DMSO(8mL)中。然后将混合物置于150℃的预热加热罩中。然后将混合物在该温度加热约30分钟; 该时间后将反应混合物倒入水(50mL)中。将所得褐色沉淀物过滤收集, 与乙酸乙酯一起研磨以得到淡褐色粉末(0.9g, 11%)。

[0175] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>H</sub> 3.08(3H, s, NCH<sub>3</sub>), 4.16(2H, br s, CH<sub>2</sub>), 7.39(1H, dd, J=8.0和2.0Hz, HNCCH), 7.66(1H, dd, J=8.0和8.0Hz, CHCH<sub>CH</sub>), 7.72(1H, dd, J=8.0和2.0Hz, CHCN<sub>O</sub>), 和10.80(1H, br s, NH); <sup>13</sup>C NMR(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>C</sub> 34.9(NCH<sub>3</sub>), 51.8(NCH<sub>2</sub>), 119.9(CHCHCNH), 121.0(C-CO), 125.1(CHCHCN<sub>O</sub>), 138.3(CNH), 151.0(C-N<sub>O</sub>), 163.2(C=O), 和169.7(C=O)。

[0176] 实施例5(iii):邻位-硝基马西尼叔丁酯(17)的制备

[0177] 在0℃将叔丁醇钾(0.37g, 3.27mmol)加入在THF(56mL)中的中间体16(0.7g, 2.98mmol)。然后将混合物在0℃搅拌20分钟(在此期间观察到嫩黄色沉淀物),然后冷却至-35℃。缓慢加入氯磷酸二乙酯(0.67g, 3.88mmol, 0.56mL)。将反应物在0℃搅拌30分钟,在此期间混合物颜色变得稍微更黄。将反应烧瓶冷却至-35℃,加入异氰基乙酸叔丁酯溶液(0.46g, 3.26mmol, 0.48mL),接着加入叔丁醇钾(0.37g, 3.27mmol)。然后让混悬液在室温搅拌过夜。将反应物用aq NaHCO<sub>3</sub>(50mL)猝灭,用EtOAc(3×50mL)提取。将合并的有机层用MgSO<sub>4</sub>干燥和浓缩以得到褐色油状物。将粗材料用硅胶层析纯化,用乙酸乙酯(A):甲醇(B)(0-1%B, 100g, 40mL/min)洗脱。获得为淡黄色固体的17(9mg, 1%)。

[0178] <sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>H</sub> 1.64(9H, s, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.19(3H, s, NCH<sub>3</sub>), 4.52(1H, d, J=15.0Hz, CONCH<sub>3</sub>CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>), 5.45(1H, d, J=15Hz, CONCH<sub>3</sub>CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>), 7.64(1H, dd, J=9.0和3.0Hz, NCCHCH), 7.73(1H, dd, J=9.0和9.0Hz, NCCHCH), 7.93(1H, dd, J=9.0和3.0Hz, O<sub>2</sub>NCCHCHCH), 和7.94(1H, s, NCHN)

[0179] 实施例5(iv): 邻位-硝基马西尼叔丁酯(17)的放射氟化以获得邻位-[<sup>18</sup>F]氟马西尼叔丁酯

[0180] 放射氟化在TRACERlab自动合成模块(GE Healthcare)上进行。将[<sup>18</sup>F]氟化物截留在预调节的QMA柱体上,然后用来自管瓶1的Kryptofix 2.2.2(11mg)在MeCN(2000μL)中和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(在80μL水中, 1.7mg)的溶液转移至反应器。将溶液用氮气加真空流在100℃干燥10分钟,然后在120℃干燥20分钟,然后冷却至50℃。

[0181] 向干燥的[<sup>18</sup>F]氟化物内加入来自管瓶3的在DMF(1mL)中的邻位-硝基马西尼叔丁酯(17, 5mg)。将反应混合物在130℃加热30分钟,然后使其冷却至50℃。将反应混合物用来自管瓶5的10mM磷酸(2.5mL)稀释,转移至粗产物管。

[0182] 然后将粗产物手工转移至制备HPLC回路上。制备HPLC得到保留时间为13.5分钟的峰,将其切入装有水(12mL)的TRACERlab圆底烧瓶内。制备HPLC系统安装有液流闪烁计数器。

[0183]

|       |                                          |
|-------|------------------------------------------|
| HPLC柱 | Phenomenex Prodigy ODS-prep 250×10mm 10μ |
| 溶剂    | A=10mM磷酸, B=MeCN, 25%B无梯度                |
| 流速    | 4mL/min                                  |
| UV    | 254nm                                    |
| 回路    | 5mL                                      |
| 灵敏度   | 2000K                                    |

[0184] 将圆底烧瓶中的混合物截留在C18 lite SPE(用1mL乙醇然后用2mL水预调节)上。将SPE用水(3mL)洗涤,将粗产物用EtOH(0.5mL)和磷酸盐缓冲盐水(4.5mL)洗脱入P6管瓶内。将产物用磷酸盐缓冲盐水进一步稀释以得到10mL终体积。

[0185] 初始活性 828MBq 于9:59

[0186] 配制产物的活性 121MBq 于11:51

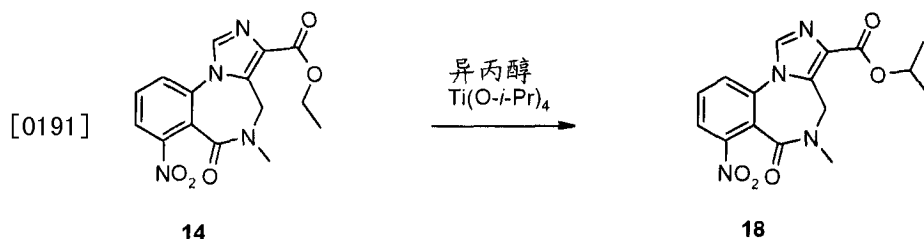
[0187] =14.6%合成结束收率

[0188] 在合成结束后2小时放射化学纯度>99%。

[0189] 测量的总冷配体是6μg/10mL体积(用分析HPLC UV峰面积计算,用冷参比化合物作

为校正标准)。

[0190] 实施例6:邻位-硝基马西尼异丙酯(18)的放射氟化以获得邻位- $^{18}\text{F}$ 氟马西尼异丙酯



[0192] 实施例6(i):邻位-硝基马西尼异丙酯(18)的制备

[0193] 在微波容器中使14(制备描述于实施例4(iii);20mg,0.06mmol)溶于2mL异丙醇内,加入50 $\mu\text{l}$ 异丙醇钛(IV)。微波条件:温度:85 $^{\circ}\text{C}$ ;时间:60分钟。LCMS证实原料定量转化为期望的产物。这也通过TLC用乙酸乙酯证实。除去过量异丙醇至干,将粗混合物液体装载在柱上用汽油和乙酸乙酯作为洗脱剂快速层析。将材料用DCM/甲醇再次纯化。获得纯的18(15mg)(73%)。

[0194]  $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 1.43(3H,d,J=6.1Hz, $\text{CH}_3$ ),1.45(3H,d,J=6.1Hz, $\text{CH}_3$ ),3.20(3H,s, $\text{NCH}_3$ ),4.53(1H,d,J=16Hz, $\text{CH}$ ),5.28(1H,d,J=16Hz, $\text{CH}'$ ),5.33(1H,m, $\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$ ),7.66(1H,dd,J=0.92,8.27Hz, $\text{CHCHCHCN}_2$ ),7.75(1H,t,J=8.3Hz, $\text{CHCHCHCN}_2$ ),7.94(1H,dd,J=0.92,8.27Hz, $\text{CHCHCHCN}_2$ ),7.97(1H,s, $\text{NCHN}$ )

[0195] 实施例6(ii):邻位-硝基马西尼异丙酯(18)的放射氟化以获得邻位- $^{18}\text{F}$ 氟马西尼异丙酯

[0196] 放射氟化在TRACERlab自动合成模块(GE Healthcare)上进行。将 $^{18}\text{F}$ 氟化物截留在预调节的QMA柱体上,然后用来自管瓶1的Kryptofix 2.2.2(11mg)在MeCN(2000 $\mu\text{L}$ )中和 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (在80 $\mu\text{L}$ 水中,1.7mg)的溶液转移至反应器。将溶液用氮气加真空流在100 $^{\circ}\text{C}$ 干燥10分钟,然后在120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥20分钟,然后冷却至50 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0197] 向干燥的 $^{18}\text{F}$ 氟化物内加入来自管瓶3的在DMF(1mL)中的邻位-硝基马西尼叔丁酯(2.5mg)。将反应混合物在130 $^{\circ}\text{C}$ 加热30分钟,然后使其冷却至50 $^{\circ}\text{C}$ 。将反应混合物用来自管瓶5的10mM磷酸(2.5mL)稀释,并转移至粗产物管。

[0198] 然后将粗产物手工转移至制备HPLC回路上。制备HPLC得到保留时间为23分钟的峰,将其切入装有水(15mL)的TRACERlab圆底烧瓶内。制备HPLC系统装有液流闪烁计数器。

[0199]

|       |                                                        |
|-------|--------------------------------------------------------|
| HPLC柱 | Phenomenex Prodigy ODS-prep 250 $\times$ 10mm 10 $\mu$ |
| 溶剂    | A=10mM磷酸,B=MeCN,25%B无梯度                                |
| 流速    | 4mL/min                                                |
| UV    | 254nm                                                  |
| 回路    | 5mL                                                    |
| 灵敏度   | 2000K                                                  |

[0200] 将圆底烧瓶中的混合物截留在C18 lite SPE(用1mL乙醇然后用2mL水预调节)上。将SPE用水(3mL)洗涤,将粗产物用EtOH(0.8mL)和磷酸盐缓冲盐水(7.2mL)洗脱入P6管瓶内。

- [0201] 初始活性 800MBq 于10:51
- [0202] 配制产物的活性 114MBq 于12:56
- [0203] =14.2%合成结束收率
- [0204] 在合成结束后3小时放射化学纯度>99%。
- [0205] 测量的总冷配体是2.4 $\mu$ g/8mL体积(用分析HPLC UV峰面积计算,用冷参比化合物作为校正标准)。总的冷杂质为大约2 $\mu$ g。
- [0206] 实施例7:邻位-[<sup>18</sup>F]-氟马西尼的体内生物分布
- [0207] 对成年雄性Sprague-Dawley大鼠(体重202 $\pm$ 37g;均数 $\pm$ SD)经侧面尾静脉注射1-5MBq邻位-[<sup>18</sup>F]-氟马西尼。所有动物都是清醒的,但在注射期间稍加约束,接着圈养在短期代谢笼中。在适当的时间点:注射后(pi)30秒,2、10、30和60分钟(n=3每时间点),通过颈脱位处死动物。死后对脑和周围组织或流体取样。用Wallac  $\gamma$  计数器测量脑样品中的放射性。一旦测定,将脑样品,连同其余器官或组织样品一起用双晶  $\gamma$  计数器系统(BASIL)测定,并自动校正放射性衰减。下表显示在脑区获得的数据。将数据以均数( $\pm$ SD)表示,所有都是n=3。用星号(\*)指出的数据是%id/g(id,注射剂量)。
- [0208]

| 邻位-[ <sup>18</sup> F]-氟马西尼的分布 |             |             |             |             |             |
|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 注射后时间[分钟(标准差)]                |             |             |             |             |             |
|                               | 0.5         | 2           | 10          | 30          | 60          |
| 脑区(% id/g)                    |             |             |             |             |             |
| 纹状体                           | 0.90 (0.02) | 0.83 (0.22) | 0.68 (0.08) | 0.15 (0.02) | 0.06 (0.03) |
| 小脑                            | 0.99 (0.08) | 1.01 (0.28) | 0.96 (0.07) | 0.38 (0.08) | 0.11 (0.02) |
| 海马                            | 0.81 (0.04) | 0.78 (0.25) | 0.91 (0.06) | 0.48 (0.10) | 0.17 (0.01) |
| 额前皮质                          | 1.12 (0.03) | 1.14 (0.28) | 1.39 (0.06) | 0.76 (0.20) | 0.29 (0.04) |
| 丘脑                            | 1.03 (0.18) | 0.85 (0.29) | 0.94 (0.15) | 0.33 (0.07) | 0.08 (0.02) |
| 垂体                            | 0.98 (0.14) | 1.12 (0.31) | 0.46 (0.08) | 0.15 (0.09) | 0.02 (0.01) |
| 脑桥/延髓                         | 0.79 (0.03) | 0.79 (0.22) | 0.59 (0.05) | 0.21 (0.15) | 0.24 (0.38) |
| 额前皮质:丘脑                       | 1.11        | 1.37        | 1.50        | 2.28        | 3.96        |

- [0209] 在注射后30秒脑内放射性的初始吸收为1.4 $\pm$ 0.8%id,在注射后2分钟达到峰值1.8 $\pm$ 0.5%id。在注射后2分钟放射性水平平稳下降,从注射后30分钟的0.9 $\pm$ 0.2%id降低至注射后60分钟的0.3 $\pm$ 0.1%id。
- [0210] 在早期时间点,具有最高放射性水平的区域是额前皮质(注射后10分钟时1.39 $\pm$ 0.06%id)。注射后30分钟在GABA-富集与GABA-贫乏区之间有良好的分化。