

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年3月3日(03.03.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/045093 A1

(51) 国際特許分類:

C07D 417/06 (2006.01) A61K 51/04 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) C07D 417/14 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2021/030899

(22) 国際出願日: 2021年8月24日(24.08.2021)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2020-142080 2020年8月25日(25.08.2020) JP

(71) 出願人: 国立研究開発法人
量子科学技術研究開発機構
(NATIONAL INSTITUTES FOR QUANTUM
AND RADIOLOGICAL SCIENCE AND TECH-
NOLOGY) [JP/JP]; 〒2638555 千葉県千葉市稲
毛区穴川四丁目9番1号 Chiba (JP). エーザイ
・アール・アンド・ディー・マネジメント株式
会社 (EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.)
[JP/JP]; 〒1128088 東京都文京区小石川四丁目
6番10号 Tokyo (JP). 小野薬品工業株式会
社 (ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/
JP]; 〒5418526 大阪府大阪市中央区道修町2
丁目1番5号 Osaka (JP). 武田薬品工業株式会
社 (TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY

LIMITED) [JP/JP]; 〒5410045 大阪府大阪市中央
区道修町四丁目1番1号 Osaka (JP).

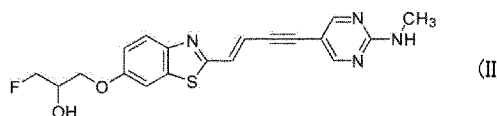
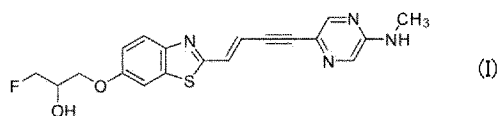
(72) 発明者: 樋口 真人 (HIGUCHI, Makoto);
〒2638555 千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9
番1号 国立研究開発法人量子科学技術研
究開発機構内 Chiba (JP). 小野 麻衣子 (ONO,
Maiko); 〒2638555 千葉県千葉市稲毛区穴川
四丁目9番1号 国立研究開発法人量子科
学技術研究開発機構内 Chiba (JP). 張 明栄
(CHO, Meiei); 〒2638555 千葉県千葉市稲毛区
穴川四丁目9番1号 国立研究開発法人量子
科学技術研究開発機構内 Chiba (JP). 山本 武
志 (YAMAMOTO, Takeshi); 〒2510012 神奈川
県藤沢市村岡東二丁目26番地の1 武田
薬品工業株式会社内 Kanagawa (JP). 若林 健
志 (WAKABAYASHI, Kenji); 〒2510012 神奈川
県藤沢市村岡東二丁目26番地の1 武田
薬品工業株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人 H A R A K E N Z
O W O R L D P A T E N T &
R A D E M A R K (HARAKENZO WORLD
PATENT & TRADEMARK); 〒5300041 大阪府
大阪市北区天神橋2丁目北2番6号 大
和南森町ビル Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,

(54) Title: NOVEL COMPOUND, α -SYNUCLEIN AGGREGATE BINDER, AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 新規化合物、 α シヌクレイン凝集体結合剤及びその利用



(57) Abstract: The present invention relates to a compound represented by formula (I) or (II), a pharmaceutically acceptable salt of the compound, or a solvate of the compound or the pharmaceutically acceptable salt.

(57) 要約: 本発明は、式 (I) 又は (II) で表される化合物、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物に関する。

[続葉有]



WO 2022/045093 A1

EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：

新規化合物、 α シヌクレイン凝集体結合剤及びその利用

技術分野

[0001] 本発明は、新規化合物、 α シヌクレイン凝集体結合剤及びその利用に関し、詳細には、新規化合物、当該新規化合物を含有する α シヌクレイン凝集体結合剤、 α シヌクレイン凝集体の光学イメージング用組成物、 α シヌクレイン凝集体の放射イメージング用組成物、脳内 α シヌクレイン凝集体の光学イメージング方法、脳内 α シヌクレイン凝集体の放射イメージング方法、及び、新規化合物を合成するための中間体に関する。

背景技術

[0002] α シヌクレイン凝集体は、パーキンソン病、レビー小体型認知症（DLB）、多系統萎縮症（MSA）の中核病理を形成し、神経変性と密接な因果関係を有すると考えられている。こうした疾患の確定診断は、剖検脳の病理解析で α シヌクレイン凝集体（本明細書中「 α シヌクレイン病変」ともいう）の存在を指標として行われるため、生前に診断を確定することはできない。しかしながら、生体脳で α シヌクレイン凝集体を可視化できれば、早期からこれら疾患の診断に関する確定的な情報（確定診断）に近い情報を得ることが可能になる。また、疾患モデル動物の生体脳で α シヌクレイン凝集体を可視化できれば、経時的なイメージング等により、 α シヌクレイン凝集体を標的とする治療又は予防薬の候補物質の薬効評価にも役立ちうる。

[0003] 従来生体脳で α シヌクレインに結合することが示されているPET（ポジトロン断層撮影法）プローブとして、 $[^{11}\text{C}] \text{BF}-227$ がある（非特許文献1及び2）。しかしながら $[^{11}\text{C}] \text{BF}-227$ は、 α シヌクレイン凝集体への結合親和性が十分ではなく、上記の疾患のうち、MSA患者の一部で α シヌクレイン病変が検出できるとどまっている。また、 $[^{11}\text{C}] \text{BF}-227$ は、非特異的な脳内集積という問題、及びアミロイド β 凝集体へ結

合するため α シヌクレイン凝集体への結合選択性が低いという問題がある。

[0004] ところで、発明者らは、脳内に蓄積したタウタンパク質をイメージング（画像化）するための化合物を開発した（特許文献1参照）。特許文献1に記載の化合物は、脳内に蓄積したタウタンパク質をイメージングできるため、特許文献1の技術は、タウタンパク質の蓄積により生じる疾患、例えばアルツハイマー病（AD）の治療及び予防等に役立つ。しかし、特許文献1には α シヌクレイン凝集体への結合について記載されていない。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：国際公開第2014/097474号パンフレット

非特許文献

[0006] 非特許文献1：Kikuchi, A. et al., Brain, 133:1772-1778 (2010)

非特許文献2：Verdurand, M. et al., Contrast Media Mol. Imaging, 2018: 9165458 (2018)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、上記の状況に鑑みてなされたものであり、 α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い α シヌクレイン凝集体結合剤、この α シヌクレイン凝集体結合剤を用いたイメージング方法、及び α シヌクレイン凝集体結合剤に用いることができる新規化合物を提供することを目的とする。

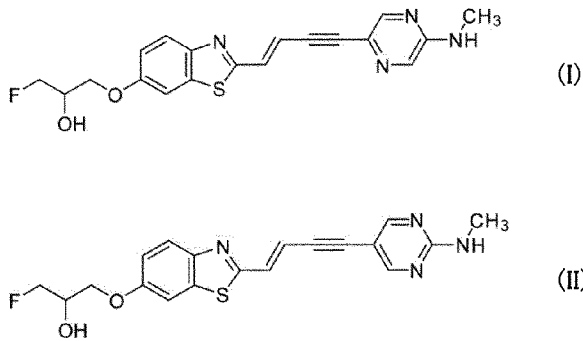
課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、特定の構造を有する化合物が α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高いことを見出し、さらに検討を重ねて、本発明を完成するに至った。より具体的には、本発明は以下のものを提供する。

[0009] 本発明の一態様は、下記式（I）又は（II）で表される化合物、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物である。

[0010]

[化1]



発明の効果

[0011] 本発明によれば、 α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い α シヌクレイン凝集体結合剤を提供することができる。

図面の簡単な説明

- [0012] [図1] D L B 患者脳及び A D 患者脳の蛍光顕微鏡測定結果を示す図である。
- [図2] 病変領域及び病変非形成領域の蛍光輝度の定量結果を示す図である。
- [図3] α シヌクレイン線維接種マウスの蛍光顕微鏡測定結果を示す図である。
- [図4] α シヌクレイン線維接種 6 週間以降のモデルマウスの二光子レーザー scanning 蛍光顕微鏡検査結果を示す図である。
- [図5] α シヌクレイン線維接種マウスの P E T イメージング結果を示す図である。
- [図6] α シヌクレイン線維接種マウスの P E T イメージング結果を示す図である。
- [図7] α シヌクレイン線維接種マウスの P E T イメージング結果を示す図である。
- [図8] マウス脳のエキソビボイメージング結果を示す図である。
- [図9] α シヌクレイン線維接種マウスの P E T イメージング結果を示す図である。
- [図10] D L B 患者脳及び A D 患者脳のインビトロ結合試験結果を示す図である。
- [図11] D L B 患者脳及び M S A 患者脳のオートラジオグラフィ結果を示す図

である。

[図12] D L B 患者脳及び M S A 患者脳のインビトロ蛍光顕微鏡測定の結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0013] 以下、本発明の一実施形態について説明する。なお、本明細書において、「A 及び／又は B」とは、A 及び B の少なくとも一方を意図している。

[0014] [定義]

用語「医薬として許容し得る塩」とは、哺乳動物、特にヒトに対して有害でない塩を指す。医薬として許容し得る塩は、無機酸若しくは無機塩基、又は有機酸若しくは有機塩基を含む、無毒性の酸又は塩基を用いて形成することができる。医薬として許容し得る塩の例を挙げると、アルミニウム、カルシウム、リチウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウム及び亜鉛などから形成される金属塩、又はリジン、N, N' -ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグルミン (N -メチルグルカミン) 及びプロカインなどから形成される有機塩などがある。また、医薬として許容し得る塩は、酸付加塩及び塩基付加塩を包含する。

[0015] 用語「医薬として許容し得る担体」とは、生理食塩水溶液、液体若しくは固体の充填剤、希釈剤、溶媒、又は封入材料などの医薬として許容し得る材料、組成物、又はビヒクルを意味する。医薬として許容し得る担体の例を挙げると、水、食塩水、生理食塩水又はリン酸緩衝食塩水 (P B S)、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張性デキストロース注射液、無菌水注射液、デキストロース、及び乳酸リンゲル注射液などがある。

[0016] 用語「有効量」とは、目的の効果をすることができる、化合物又は組成物の量をいう。例えば、一部の実施態様において、有効量は、 α シヌクレイン凝集体等の脳内に蓄積する物質の光学イメージング又は放射イメージングが可能な、化合物又は組成物の量をいう。

[0017] 用語「溶媒和物」とは、化合物に対する 1 つ又は複数の溶媒分子の会合に

より形成される含溶媒化合物を意味する。溶媒和物は、例えば、一溶媒和物、二溶媒和物、三溶媒和物、及び四溶媒和物を含む。また、溶媒和物は、水和物を含む。

[0018] 用語「水和物」とは、非共有結合性分子間力によって拘束された化学量論的又は非化学量論的量の水をさらに含む化合物又はその塩を意味する。水和物は、例えば、一水和物、二水和物、三水和物、及び四水和物などを含む。

[0019] 用語「治療」とは、疾患又は状態の進行、重症度及び／又は持続期間を低減すること又は寛解することを意味する。

[0020] 用語「予防」とは、所定の疾患又は状態を獲得する又は進行させる危険の低減、或いは、所定の疾患又は条件の1つ又は複数の症状の再発、開始、又は進行の低減又は抑制を意味する。

[0021] 用語「結合性」とは、ある特定のタンパク質凝集体に対する化合物の結合強度を意味する。

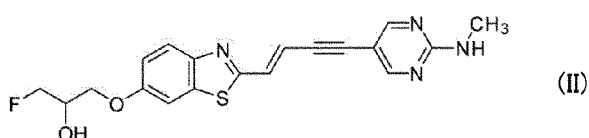
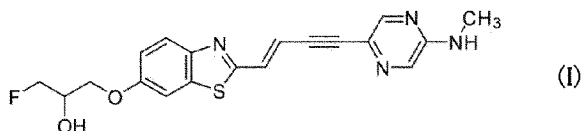
[0022] 用語「結合選択性」とは、化合物の、ある特定のタンパク質凝集体に対する結合性と、その他のタンパク質凝集体に対する結合性を比較したとき、それらの結合性に差がある（ある特定のタンパク質凝集体に対する結合性がその他のタンパク質凝集体に対する結合性より高い又は低い）ことを指す。「結合選択性が高い」とは、上記の結合性の差が大きいことを意味する。例えば、ある化合物が「 α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い」とは、当該化合物の α シヌクレイン凝集体に対する結合性とその他のタンパク質凝集体に対する結合性には大きな差があり、 α シヌクレイン凝集体により高い結合性を有していることを示す。

[0023] [化合物]

一実施形態において、本発明は、下記構造式(1)で表される(E)-1-フルオロ-3-((2-(4-(5-(メチルアミノ)ピラジン-2-イル)ブター-1-エン-3-イン-1-イル)ベンゾ[d]チアゾール-6-イル)オキシ)プロパン-2-オール、又は下記構造式(11)で表される(E)-1-フルオロ-3-((2-(4-(2-(メチルアミノ)ピリミ

ジン-5-イル) ブター-1-エン-3-イン-1-イル) ベンゾ[d]チアゾール6-イル) オキシ) プロパン-2-オール、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を提供する。

[0024] [化2]



本明細書において、式 (I) 及び (II) で表される化合物をそれぞれ「化合物 (I)」及び「化合物 (II)」ともいう。

[0025] 一実施態様において、化合物 (I) 及び化合物 (II) は、1 個又はそれ以上の原子が該原子の放射性同位体である化合物、その塩、又はその溶媒和物である。放射性同位体は、 ^{15}O 、 ^{13}N 、 ^{11}C 、及び ^{18}F などからなる群から選択されるが、特に限定されない。好ましくは、放射性同位体は、 ^{11}C 又は ^{18}F である。このうち、 ^{11}C の半減期が約 20 分であり、 ^{18}F の半減期が約 110 分であることを考慮すれば、 ^{18}F で標識した化合物の方が、商業的利用価値が高いものと考えられる。したがって、最も好ましくは、放射性同位体は、 ^{18}F である。

[0026] 好ましくは、ピリミジン環若しくはピラジン環に結合しているメチルアミノ基、及びベンゾチアゾール環に結合している 3-フルオロ-2-ヒドロキシプロポキシ基 ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{F}$) の少なくとも一方が、放射性同位体を含む基である。より好ましくは、ベンゾチアゾール環に結合している 3-フルオロ-2-ヒドロキシプロポキシ基が、放射性同位体を含む基である。さらに好ましくは、3-フルオロ-2-ヒドロキシプロポキシ基におけるフッ素原子が放射性同位体である。

[0027] 一実施態様において、放射性同位体を含む化合物 (I) は、好ましくは、

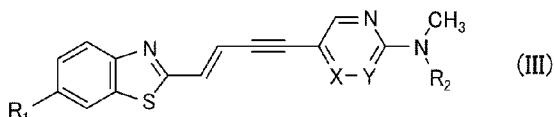
[^{18}F] - (E) - 1-フルオロ-3-((2-(4-(5-(メチルアミノ)ピラジン-2-イル)ブター-1-エン-3-イン-1-イル)ベンゾ[d]チアゾール-6-イル)オキシ)プロパン-2-オールである。

[0028] 一実施態様において、放射性同位体を含む化合物(ⅠⅠ)は、好ましくは、 ^{18}F - (E) - 1-フルオロ-3-((2-(4-(2-(メチルアミノ)ピリミジン-5-イル)ブター-1-エン-3-イン-1-イル)ベンゾ[d]チアゾール-6-イル)オキシ)プロパン-2-オールである。

[0029] [中間体]

下記の化合物の製造方法に示されている通り、下記式(ⅠⅠⅠ)で表される化合物は、化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)の製造中間体化合物(本明細書において、単に“中間体”ともいう。)である。

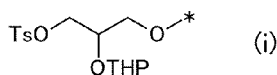
[0030] [化3]



式(ⅠⅠⅠ)中、X及びYは一方が窒素原子であり、他方が置換されていない炭素原子である。本明細書において「置換されていない炭素原子」は、CHを示す。すなわち、式(ⅠⅠⅠ)において、Xが窒素原子(N)の場合Yは置換されていない炭素原子(CH)であり、Xが置換されていない炭素原子(CH)の場合Yは窒素原子(N)である。

[0031] R_1 は、ヒドロキシ基又は下記式(i)で表される基である。

[0032] [化4]



ここで、Tsはp-トルエンスルホニル基を表し、THPはテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル基を表し、*はベンゾチアゾール環との結合位置を表す。

[0033] R_2 は、水素原子又はtert-ブトキシカルボニル(Boc)基である。

[0034] これら中間体化合物は、化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)の合成、さらに

放射性同位体標識された化合物（Ⅰ）及び化合物（ⅠⅠ）の合成に好適に用いられる。また、これら中間体化合物は、塩であってもよい。

[0035] 化合物（Ⅰ）又は化合物（ⅠⅠ）が、各々立体異性体（光学異性体及び回転異性体を含む）、互変異性体、又は極性体等の各種異性体を含有する場合には、これらの異性体も、化合物（Ⅰ）又は化合物（ⅠⅠ）に包含される。これらの異性体は、公知の合成手法、分離手法により、それぞれを単品として得ることができる。化合物（ⅠⅠⅠ）もまた、各種異性体を包含し得る。

[0036] 化合物（Ⅰ）、化合物（ⅠⅠ）又は化合物（ⅠⅠⅠ）はまた、公知の結晶化法により製造される結晶であってもよい。

[0037] [化合物（Ⅰ）及び化合物（ⅠⅠ）並びに中間体の製造方法]

化合物（Ⅰ）及び化合物（ⅠⅠ）並びに中間体である化合物（ⅠⅠⅠ）は、以下に示す製造法に準ずる方法に従い製造することができる。また、所望により、脱保護反応、アミド化反応、ウレア化反応、アルキル化反応、光延反応、酸化反応、還元反応、ハロゲン化反応、カップリング反応、カルボアニオンによる求核付加反応、G r i g n a r d 反応、脱水反応などを各々、単独又はその二つ以上を組み合わせることで行うことにより化合物（Ⅰ）、化合物（ⅠⅠ）及び化合物（ⅠⅠⅠ）を製造することができる。また、各反応における溶媒、試薬及び温度等の反応条件は、当業者の技術常識に基づき適宜設定すればよい。官能基の保護及び脱保護反応は、公知の反応方法、参考例又は実施例に記載された方法に準じて行われ、保護基としては慣用のものが用いられる。

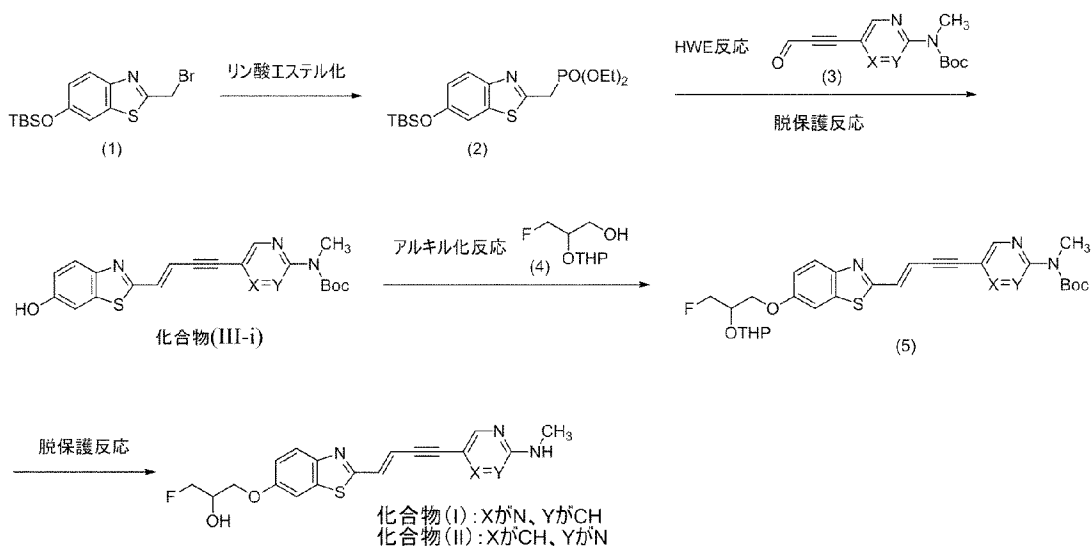
[0038] 下記の製造法中、特に指定しない限り、用いられる各記号の意味は先述と同様である。

[0039] （製造法 A）

化合物（Ⅰ）、化合物（ⅠⅠ）及び R_1 がヒドロキシ基であり R_2 が B o c 基である化合物（ⅠⅠⅠ）（化合物（ⅠⅠⅠ-i））は、製造スキーム 1 で示す以下の方法で製造することができる。以下では、各スキーム中、（1）、（2）等で示す化合物を、化合物（1）、化合物（2）等と称する。

[0040] (製造スキーム 1)

[0041] [化5]



化合物 (2) は、化合物 (1) と亜リン酸トリエステルとの反応により製造することができる。化合物 (1) 中、TBSはtert-ブチルジメチルシリル基である。

[0042] 化合物 (III-i) は、化合物 (2) と後述する化合物 (3) とのホーナー・ワズワース・エモンズ反応 (HWE 反応)、及び反応中に進行する脱保護反応により製造することができる。化合物 (3) 中、X及びYは一方が窒素原子であり、他方が置換されていない炭素原子 (CH) である。

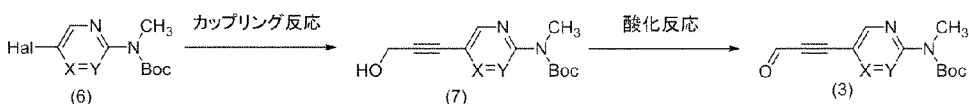
[0043] 化合物 (5) は、化合物 (III-i) と後述する化合物 (4) との光延反応などのアルキル化反応により製造することができる。

[0044] 化合物 (I) 及び化合物 (II) は、化合物 (5) の脱保護反応により製造することができる。

[0045] 製造法 A で用いられる化合物 (3) は、製造スキーム 2 で示す以下の方法で化合物 (6) から製造することができる。

[0046] (製造スキーム 2)

[0047] [化6]



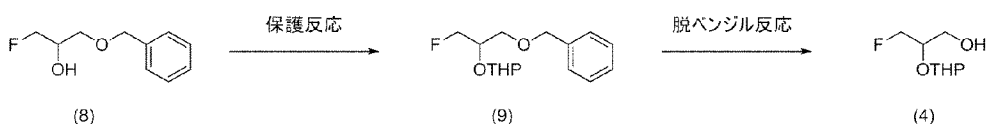
化合物（６）中、H a lはハロゲン原子（例えば、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子）を示す。化合物（７）は、化合物（６）と２－プロピン－１－オールとのカップリング反応などにより製造することができる。

[0048] 化合物（３）は、化合物（７）の酸化反応により製造することができる。

[0049] 製造法Aで用いられる化合物（４）は、製造スキーム3で示す以下の方法で化合物（８）から製造することができる。

[0050] （製造スキーム3）

[0051] [化7]



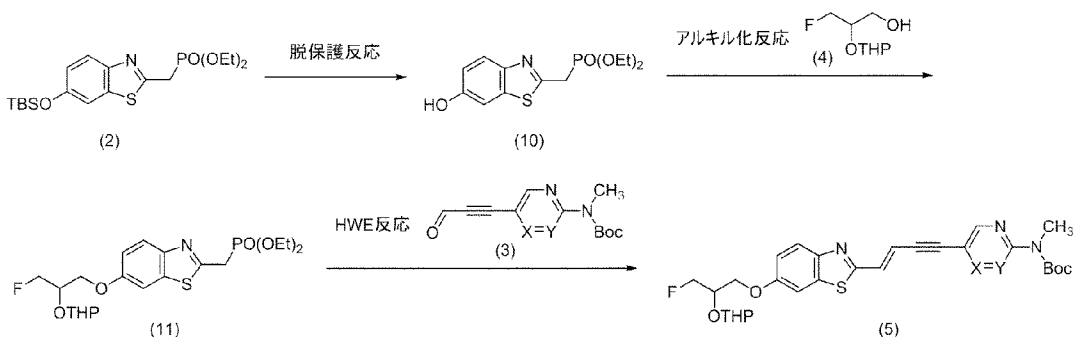
化合物（９）は、化合物（８）の保護反応により製造することができる。

[0052] 化合物（４）は、化合物（９）の脱ベンジル反応により製造することができる。

[0053] 製造法Aで用いられる化合物（５）は化合物（２）から、製造スキーム4で示す以下の方法で製造することもできる。

[0054] （製造スキーム4）

[0055] [化8]



化合物（１０）は、化合物（２）の脱保護反応により製造することができる。

[0056] 化合物（１１）は、化合物（１０）と化合物（４）との光延反応などのアルキル化反応により製造することができる。

[0057] 化合物（５）は、化合物（１１）と化合物（３）とのHWE反応により製

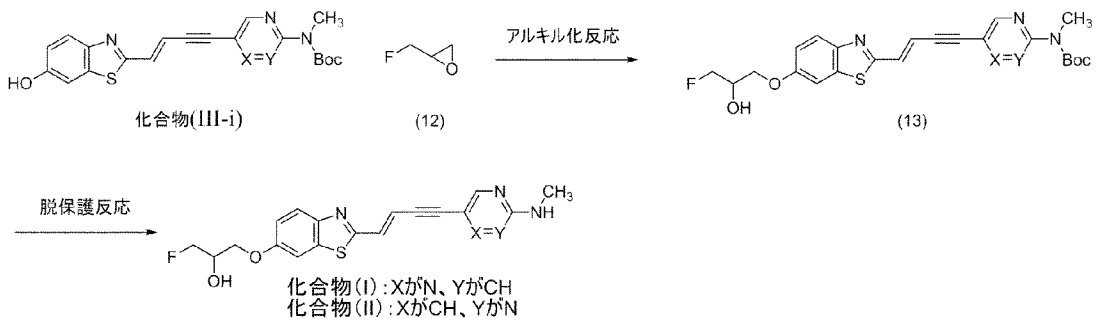
造することもできる。

[0058] (製造法B)

化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)は、製造スキーム5で示す以下の方法で製造することもできる。

[0059] (製造スキーム5)

[0060] [化9]



化合物(13)は、化合物(12)のオキシラン開環反応による、化合物(ⅠⅠⅠ-i)へのアルキル化反応により製造することができる。

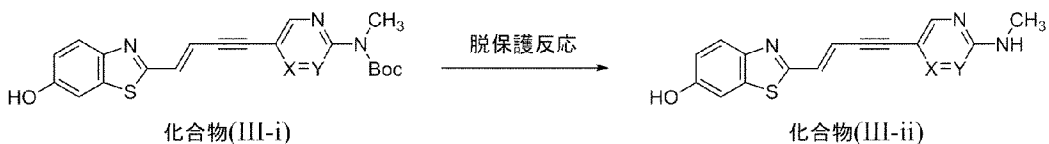
[0061] 化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)は、化合物(13)の脱保護反応により製造することができる。

[0062] (製造法C)

R_1 がヒドロキシ基であり R_2 が水素原子である化合物(ⅠⅠⅠ)(化合物(ⅠⅠⅠ-ii))は、下記製造スキーム6で示すように、化合物(ⅠⅠⅠ-i)の脱保護反応により製造することができる。

[0063] (製造スキーム6)

[0064] [化10]

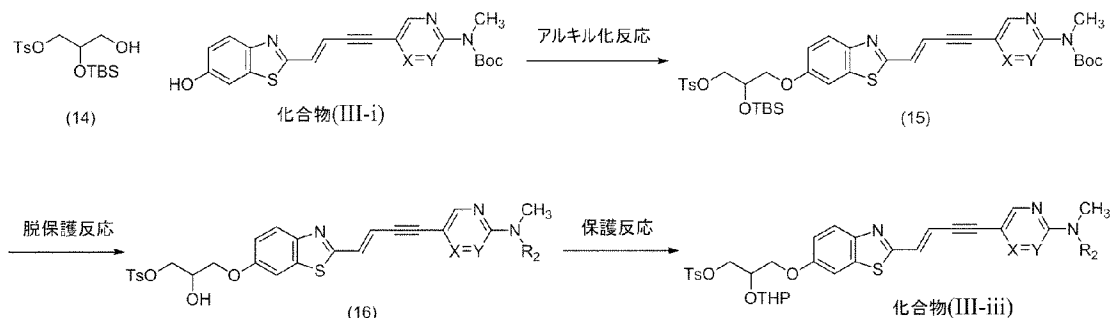


(製造法D)

R_1 が式(i)である化合物(ⅠⅠⅠ)(化合物(ⅠⅠⅠ-iii))は、製造スキーム7で示す以下の方法で製造することができる。

[0065] (製造スキーム7)

[0066] [化11]



化合物（１５）は、化合物（１１－ｉ）と後述する化合物（１４）との光延反応などのアルキル化反応により製造することができる。

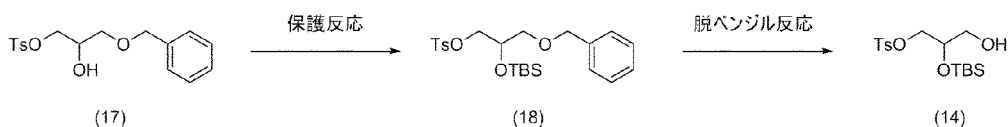
[0067] 化合物（１６）は、化合物（１５）の脱保護反応により製造することができる。

[0068] 化合物（１１－iii）は、化合物（１６）の保護反応により製造することができる。

[0069] 製造法Dで用いられる化合物（１４）は、製造スキーム8で示す以下の方法で製造することができる。

[0070] （製造スキーム8）

[0071] [化12]



化合物（１８）は、化合物（１７）の保護反応により製造することができる。

[0072] 化合物（１４）は、化合物（１８）の脱ベンジル反応により製造することができる。

[0073] [αシヌクレイン凝集体結合剤]

一実施形態において、本発明は、αシヌクレイン凝集体結合剤を提供する。本実施形態のαシヌクレイン凝集体結合剤（以下、結合剤又はαシヌクレイン凝集体結合剤とも記載する）は、化合物（１）若しくは化合物（１１）、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含有する。

[0074] 化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)は、タウタンパク質及びアミロイド β の凝集体よりも α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い。また、同様に、化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)の医薬として許容し得る塩、並びに化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)の溶媒和物も、タウタンパク質及びアミロイド β の凝集体よりも α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い。また、化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)は、蛍光を発する。また、上述の通り、化合物(Ⅰ)及び化合物(ⅠⅠ)において、1個又はそれ以上の原子を該原子の放射性同位体とすることができる。したがって、本実施形態の結合剤は、脳内に蓄積した α シヌクレイン凝集体の光学イメージング又は放射イメージングのための分子プローブとして用いることができる。

[0075] なお、 α シヌクレインは、正常な脳でもニューロンのシナプス等に局在するタンパク質であり、 α シヌクレインが凝集したものが α シヌクレイン凝集体である。

[0076] α シヌクレイン凝集体結合剤は、医薬として許容し得る担体を含むことができる。該医薬として許容し得る担体の例を挙げると、水、食塩水、生理食塩水又はリン酸緩衝食塩水(PBS)、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張性デキストロース注射液、無菌水注射液、デキストロース、及び乳酸リンゲル注射液などがある。

[0077] α シヌクレイン凝集体結合剤が含む化合物(Ⅰ)又は化合物(ⅠⅠ)、その医薬として許容される塩、又はその溶媒和物、及び医薬として許容し得る担体の含有量は、特に制限はない。これらの含有量は、使用される化合物の種類；投与される哺乳動物の年齢、体重、健康状態、性別及び食事内容；投与の回数、及び投与経路；治療期間；同時に使用される他の薬剤など、様々な要因により決定される。医薬として許容し得る担体の含有量は、 α シヌクレイン凝集体結合剤の1～99重量%の量とすることができる。 α シヌクレイン凝集体結合剤は、化合物(Ⅰ)又は化合物(ⅠⅠ)を、例えば、対象の体重(kg)あたりの化合物量が、5 ng/kg～5 mg/kgの量で投与できるように調製される。好ましくは、当該化合物量の下限は5 ng/kg

以上、 0.01 mg/kg 以上、 0.05 mg/kg 以上、又は、 0.1 mg/kg 以上である。また、当該化合物量の上限は 5 mg/kg 以下、 3 mg/kg 以下、 1 mg/kg 以下、又は、 $20\text{ }\mu\text{g/kg}$ 以下の量である。

[0078] $[\alpha]$ シヌクレイン凝集体の光学イメージング用組成物]

一実施形態において、本発明は、 α シヌクレイン凝集体の光学イメージング用組成物を提供する。本実施形態の α シヌクレイン凝集体の光学イメージング用組成物（以下、光学イメージング用組成物とも記載する）は、上述の本実施形態に係る結合剤を含む。当該光学イメージングは、インビトロ、エキソビボ、及びインビボイメージングを含む。

[0079] 光学イメージングとしては、例えば、蛍光顕微鏡測定法、多光子イメージング法、二光子イメージング法、及び近赤外蛍光イメージング法が挙げられる。

[0080] 光学イメージング用組成物は、医薬として許容し得る担体を含むことができる。該医薬として許容し得る担体の例を挙げると、水、食塩水、生理食塩水又はリン酸緩衝食塩水（PBS）、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張性デキストロース注射液、無菌水注射液、デキストロース、及び乳酸リンゲル注射液などがある。

[0081] 光学イメージング用組成物が含む化合物（I）又は化合物（II）、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物、及び医薬として許容し得る担体の含有量は、特に制限はない。これらの含有量は、使用される化合物の種類；投与される哺乳動物の年齢、体重、健康状態、性別及び食事内容；投与の回数、及び投与経路；治療期間；同時に使用される他の薬剤など、様々な要因により決定される。医薬として許容し得る担体の含有量は、光学イメージング用組成物の1～99重量%の量とすることができる。光学イメージング用組成物は、化合物（I）又は化合物（II）を、例えば、対象の体重（kg）あたりの化合物量（mg）が、 $0.01\text{ mg/kg} \sim 5\text{ mg/kg}$ 、好ましくは $0.05\text{ mg/kg} \sim 3\text{ mg/kg}$ 、さらに好ましくは、 $0.1\text{ mg/kg} \sim 1\text{ mg/kg}$ の量で投与できるように調製される。

[0082] [α シヌクレイン凝集体の放射イメージング用組成物]

一実施形態において、本発明は、 α シヌクレイン凝集体の放射イメージング用組成物を提供する。本実施形態の α シヌクレイン凝集体の放射イメージング用組成物（以下、放射イメージング用組成物とも記載する）は、上述の本実施形態に係る結合剤を含む。当該放射イメージングは、インビトロ、エキソビボ、及びインビボイメージングを含む。

[0083] 放射イメージングとしては、例えば、ポジトロン断層撮影法（Positron Emission Tomography、PET）、単一光子放射断層撮影法（Single photon emission computed tomography、SPECT）、及びオートルADIOグラフィが挙げられる。

[0084] 放射イメージング用組成物は、医薬として許容し得る担体を含むことができる。該医薬として許容し得る担体の例を挙げると、水、食塩水、生理食塩水又はリン酸緩衝食塩水（PBS）、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張性デキストロース注射液、無菌水注射液、デキストロース、及び乳酸リンゲル注射液などがある。

[0085] 放射イメージング用組成物に含まれる化合物（I）又は化合物（II）、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物、及び医薬として許容し得る担体の含有量は、特に制限はない。これらの含有量は、使用される化合物の種類；投与される哺乳動物の年齢、体重、健康状態、性別及び食事内容；投与の回数、及び投与経路；治療期間；同時に使用される他の薬剤など、様々な要因により決定される。医薬として許容し得る担体の含有量は、放射イメージング用組成物の1～99重量%の量とすることができる。放射イメージング用組成物は、化合物（I）又は化合物（II）を、例えば、対象の体重（kg）あたりの化合物量が、5 ng/kg～5 mg/kg、好ましくは5 ng/kg～20 μ g/kgの量で投与できるように調製される。

[0086] [α シヌクレイン凝集体が関連する疾患の診断薬、又は当該疾患の治療又は予防のためのコンパニオン診断薬]

一実施形態において、本発明は、 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患の

診断薬、又は当該疾患の治療又は予防のためのコンパニオン診断薬を提供する。本実施形態の α シヌクレイン凝集体が関連する疾患の診断薬、又は当該疾患の治療又は予防のためのコンパニオン診断薬（以下、コンパニオン診断薬ともいう）は、上述の本実施形態に係る結合剤を含む。治療のためのコンパニオン診断薬とは、疾患であることが判明した場合に、治療が見込めるかどうかを判断するための診断薬である。また、予防のためのコンパニオン診断薬とは、疾患の前駆状態であることが判明した場合に、今後の発症を予測する、若しくは発症を抑制する予防が見込めるかどうかを判断するための診断薬である。

[0087] 本実施形態に係る診断薬を用いて、対象から得られる脳内 α シヌクレイン凝集体の量及び／又は分布量に関するデータを、予め取得した疾患と α シヌクレイン凝集体の量及び／又は分布量との相関性に照合することで、対象の疾患に関する診断（具体的には、疾患の罹患有無、重篤性、及び発作可能性等）が可能である。

[0088] また、コンパニオン診断薬を用いて、対象から得られる脳内 α シヌクレイン凝集体の量及び／又は分布量に関するデータを、予め取得した疾患と脳内 α シヌクレイン凝集体の量及び／又は分布量との相関性に照合することで、対象の疾患状態を把握することができる。そのため、これに基づき、疾患の予防／治療計画（投与する予防薬又は治療薬の種類、組み合わせ、用量、及び用途など）を策定することができる。

[0089] 本発明の一実施形態は、 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患の治療又は予防のための医薬であって、コンパニオン診断で得られる脳内 α シヌクレイン凝集体の量及び／又は分布に関するデータに基づく投与計画で投与される医薬にも関する。

[0090] [脳内に蓄積する物質が関連する疾患の診断キット]

本発明の脳内に蓄積する物質が関連する疾患の診断キット（以下、診断キットともいう）は、上述の本実施形態に係る結合剤を含む。

[0091] 脳内に蓄積する物質としては、少なくとも α シヌクレイン凝集体を含み、

その他に、タウタンパク質又はアミロイド β の凝集体が挙げられる。

[0092] 脳内に蓄積する物質が関連する疾患としては、少なくとも α シヌクレイン凝集体が関連する疾患を含み、当該疾患としては、パーキンソン病、レビー小体型認知症（DLB）、及び多系統萎縮症（MSA）が挙げられる。脳内に蓄積する物質が関連する疾患は、この他に、タウタンパク質又はアミロイド β の凝集体が関連する疾患であるアルツハイマー病（AD）及び前頭側頭葉変性症が挙げられる。

[0093] 本実施形態の結合剤はタウタンパク質及びアミロイド β の凝集体よりも α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い。一方で、例えば、特許文献1記載の化合物は、 α シヌクレイン凝集体よりもタウタンパク質凝集体への結合性が高いことが、本発明者らの検討の結果から判明した。

[0094] 本実施形態の一実施態様において、診断キットは、 α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い化合物（I）若しくは化合物（II）又はその医薬として許容し得る塩若しくはその溶媒和物、及びタウタンパク質凝集体への結合選択性が高い他の化合物（例えば、特許文献1記載の化合物）の両方を含むことができる。このような診断キットにおいては、前者の検出結果（検出される光若しくは放射線の量及び／又は分布）と後者の検出結果とを比較することで、イメージングされた各領域に存在する物質がどの物質なのか特定できる。具体的には α シヌクレイン凝集体と、タウタンパク質凝集体とを分類することができ、さらに各々の存在量を定量することもできる。このため、 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患、及び／又は、タウタンパク質が関連する疾患を高精度に診断することができる。例えば、 α シヌクレイン凝集体への結合性と、タウタンパク質凝集体への結合性との比を、本実施形態の結合剤と、タウタンパク質凝集体への結合選択性が高い物質（例えば、特許文献1記載の化合物）との各々について予め特定しておく。そのうえで、被検体での前者及び後者投与後の脳内各領域での光又は放射線の量比を測定すれば、予め特定した比と測定した量比との関係から当該領域に α シヌクレイン凝集体、タウタンパク質凝集体のいずれが存在するのかを分類し、各量の

定量が可能である。

[0095] また、本実施形態の上記診断キットを、さらにアミロイド β のイメージング剤と組み合わせた診断キットとすることもできる。本実施形態の診断キットとアミロイド β のイメージング剤とを組み合わせた診断キットは、イメージングされた各領域に存在する物質がどの物質なのか特定できる。具体的には α シヌクレイン凝集体と、タウタンパク質凝集体と、アミロイド β 凝集体とを分類することができ、さらに各々の存在量を定量することもできる。このため、 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患、タウタンパク質が関連する疾患、及び／又はアミロイド β が関連する疾患を高精度に診断することができる。

[0096] 本発明の一実施形態は、 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患の治療又は予防のための医薬であって、本実施形態に係る診断キットで得られる α シヌクレイン凝集体を含む脳内蓄積物質の量及び／又は分布に関するデータに基づく投与計画で投与される医薬にも関する。

[0097] [光学イメージング方法]

一実施形態において、本発明は、光学イメージング方法を提供する。本実施形態の光学イメージング方法は、上述の本実施形態に係る結合剤を投与された被検体の生体脳に脳外から第1の波長の光を照射した後に、該脳から発せられる、第1の波長とは異なる第2の波長の光を検出する工程を含む。

[0098] 被検体に有効量の結合剤を投与すると、生体脳に移行した結合剤が、生体脳内に存在する α シヌクレイン凝集体に結合する。結合剤を励起させる第1の波長の光を、結合剤を投与された被検体の生体脳に脳外から照射し、脳内の結合剤から発せられる第2の波長の光（例えば、蛍光）を検出することにより、 α シヌクレイン凝集体の光学イメージング（画像化）をすることができる。

[0099] 被検体としては、哺乳動物が挙げられる。哺乳動物は、例えば、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、モルモット、ハムスター、サル、イヌ、フェレット、又はミニブタなどを含む。

[0100] 投与方法は、特に制限されないが、例えば、経口投与、及び静脈内投与又は腹腔内投与等の非経口投与がある。好ましくは、静脈内投与又は腹腔内投与である。最も好ましくは、静脈内投与である。投与量は、 0.01 mg/kg ～ 5 mg/kg 、 0.05 mg/kg ～ 3 mg/kg 、又は 0.1 mg/kg ～ 1 mg/kg であることが好ましく、最も好ましくは、 0.1 mg/kg ～ 1 mg/kg である。

[0101] [放射イメージング方法]

一実施形態において、本発明は、放射イメージング方法を提供する。本実施形態の放射イメージング方法は、1個又はそれ以上の原子が該原子の放射性同位体である化合物(Ⅰ)又は化合物(ⅠⅠ)、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含む本実施形態に係る結合剤を投与された被検体の生体脳から発せられる放射線を検出する工程を含む。

[0102] 被検体に有効量の結合剤を投与すると、生体脳に移行した結合剤が、生体脳内に存在する α シヌクレイン凝集体に結合する。脳内の結合剤から発せられる放射線を検出することにより、 α シヌクレイン凝集体の放射イメージング(画像化)をすることができる。

[0103] 被検体としては、哺乳動物が挙げられる。哺乳動物は、例えば、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、モルモット、ハムスター、サル、イヌ、フェレット、又はミニブタなどを含む。好ましくは、哺乳動物は、ヒトである。

[0104] 投与方法は、特に制限されないが、例えば、経口投与、及び静脈内投与又は腹腔内投与等の非経口投与がある。好ましくは、静脈内投与又は腹腔内投与である。最も好ましくは、静脈内投与である。投与量は、 5 ng/kg ～ 5 mg/kg であることが好ましく、 5 ng ～ $20\text{ }\mu\text{g/kg}$ であることがより好ましい。投与放射エネルギーは、個体あたり 37 MBq ～ 7.4 GBq であることが好ましく、 370 MBq ～ $3,700\text{ MBq}$ であることがより好ましい。

[0105] [脳内 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患の治療薬又は予防薬のスクリーニング方法]

一実施形態において、本発明は、脳内 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患の治療又は予防薬のスクリーニング方法を提供する。本実施形態の脳内 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患の治療又は予防薬のスクリーニング方法（以下、スクリーニング方法ともいう）は、被検体への候補物質の投与前後における、本実施形態に係る光学イメージング方法又は放射イメージング方法によって検出される光又は放射線の量及び／又は分布の差異に基づいて、候補物質を選抜する工程を有する。

[0106] 脳内 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患は、上記「脳内に蓄積する物質が関連する疾患の診断キット」に記載されたものと同様である。

[0107] また、被検体及び投与方法は、上記「光学イメージング方法」及び「放射イメージング方法」に記載されたものと同様である。

[0108] 例えば、候補物質の投与後、結合剤の蛍光等の光又は放射線の量（強度）が、候補物質を投与する前のものと比較して減少している場合、候補物質が、該疾患又は症状の治療用化合物として有用であり得る。

[0109] また、検出される被検体の光又は放射線の量及び／又は分布を、他の正常な哺乳動物のものと比較し、候補化合物の投与後に投与前よりも正常な哺乳動物のものに近づく場合、該候補化合物が、該疾患又は症状の治療用化合物として有用であり得る。

[0110] 例えば、候補物質を投与された対象から得られる候補物質投与前後の結合剤の蛍光等の光又は放射線の量（強度）及び／又は分布に関するデータを、予め取得した候補物質を投与されていない哺乳動物における、脳内 α シヌクレイン凝集体が関連する疾患発症前後での結合剤の蛍光等の光又は放射線の増加量及び／又は分布の変化と比較する。そして、疾患発症後に見られる当該蛍光等の光又は放射線量の増加が、候補物質の投与により抑制されている、及び／又は、当該蛍光等の光又は放射線量が、候補物質の投与後において、投与前と同様に正常な哺乳動物のものと近い値を示す場合、候補物質が、該疾患又は症状の予防用化合物として有用であり得る。同様に、疾患発症後に見られる当該蛍光等の光又は放射線の分布の変化が、候補物質の投与によ

り抑制されるか、及び／又は、当該蛍光等の光又は放射線の分布の変化が、候補物質の投与後において、投与前と同様に正常な哺乳動物における分布に近い場合にも、候補物質が、該疾患又は症状の予防用化合物として有用であり得る。

[0111] [脳内 α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量又は判定する方法]

一実施形態において、本発明は、脳内 α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量又は判定する方法を提供する。本実施形態の脳内 α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量又は判定する方法は、化合物（I）又は化合物（II）、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含む上記結合剤を投与された被検体の生体脳に脳外から第1の波長の光を照射した後に、該脳から発せられる、第1の波長とは異なる第2の波長の光を検出する工程を含み、該検出した光の量及び／又は分布に基づいて、脳内 α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量又は判定する。この方法は、光学イメージングにより、脳内 α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量又は判定する方法である。

[0112] 被検体及び投与方法は、上記「光学イメージング方法」に記載されたものと同様である。

[0113] 検出される被検体の光の量及び／又は分布と、他の正常な哺乳動物のものとの差を求めることで、脳内の α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量すること、及び脳内の α シヌクレイン凝集体の蓄積の有無を判定することができる。

[0114] 本実施形態の脳内 α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量又は判定する方法の別の態様では、1個又はそれ以上の原子が該原子の放射性同位体である化合物（I）又は化合物（II）、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含む本実施形態に係る結合剤を投与された被検体の生体脳から発せられる放射線を検出する工程を含み、該検出した放射線の量及び／又は分布に基づいて、脳内 α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量又は判定する。この方法は、放射イメージングにより、脳内 α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量又は判定する方法である。

[0115] 被検体及び投与方法は、上記「放射イメージング方法」に記載されたもの

と同様である。

[0116] 検出される被検体の光又は放射線の量及び／又は分布と、他の正常な哺乳動物のものとの差を求めることで、脳内の α シヌクレイン凝集体の蓄積を定量すること、及び脳内の α シヌクレイン凝集体の蓄積の有無を判定することができる。

[0117] [脳内に蓄積する物質の分類及び蓄積を判定する方法]

一実施形態において、本発明は、脳内に蓄積する物質の分類及び蓄積を判定する方法を提供する。本発明の脳内に蓄積する物質の分類及び蓄積を判定する方法は、化合物（I）又は化合物（II）、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含む本実施形態に係る結合剤を投与された被検体の生体脳に脳外から第1の波長の光を照射した後に、該脳から発せられる、第1の波長とは異なる第2の波長の光を検出する第1の工程と、タウタンパク質凝集体への結合選択性が高い物質（例えば、特許文献1記載の化合物）を、第1の工程と異なる時期に投与された該被検体の生体脳に脳外から第3の波長の光を照射した後に、該脳から発せられる、第3の波長とは異なる第4の波長の光を検出する第2の工程と、を含み、第1の工程において検出した光の量及び／又は分布データと、第2の工程において検出した光の量及び／又は分布データと、に基づいて、脳内に蓄積する物質の分類及び蓄積を判定する。この方法は、光学イメージングにより、脳内に蓄積する物質の分類及び蓄積を判定する方法である。

[0118] 被検体及び投与方法は、上記「光学イメージング方法」に記載されたものと同様である。

[0119] α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い結合剤の投与に起因する脳から発せられる光を検出する第1の工程と、同じ被検体における、タウタンパク質凝集体への結合選択性が高い物質の投与に起因する脳から発せられる光を検出する第2の工程との両方を含むため、第1の工程の検出結果（検出される光の量及び／又は分布）と第2の工程の検出結果とを比較することで、脳内に蓄積する物質が α シヌクレイン凝集体及び／又はタウタンパク質凝集

体であるか否かの分類及び蓄積を判定することができる。

[0120] 本実施形態の脳内に蓄積する物質の分類及び蓄積を判定する方法の別の態様では、1個又はそれ以上の原子が該原子の放射性同位体である化合物(Ⅰ)又は化合物(ⅠⅠ)、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含む本実施形態に係る結合剤を投与された被検体の生体脳から発せられる放射線を検出する第1の工程と、タウタンパク質凝集体への結合選択性が高い物質(例えば、特許文献1記載の化合物)を、第1の工程と異なる時期に投与された該被検体の脳から発せられる放射線を検出する第2の工程と、を含み、第1の工程において検出した放射線の量及び／又は分布データと、第2の工程において検出した光の量及び／又は分布データと、に基づいて、脳内に蓄積する物質の分類及び蓄積を判定する。この方法は、放射イメージングにより、脳内に蓄積する物質の分類及び蓄積を判定する方法である。

[0121] 被検体及び投与方法は、上記「放射イメージング方法」に記載されたものと同様である。

[0122] α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い結合剤の投与に起因して脳から発せられる放射線を検出する第1の工程と、同じ被検体における、タウタンパク質凝集体への結合選択性が高い物質の投与に起因する脳から発せられる放射線を検出する第2の工程との両方を含むため、第1の工程の検出結果(検出される放射線の量及び／又は分布)と第2の工程の検出結果とを比較することで、脳内に蓄積する物質が α シヌクレイン凝集体及び／又はタウタンパク質凝集体であるか否かの分類及び蓄積を判定することができる。

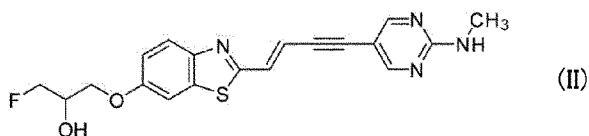
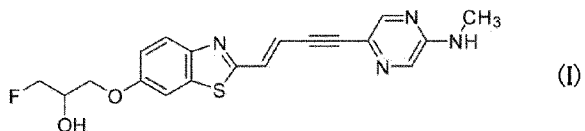
[0123] (まとめ)

以下に本発明の実施形態をまとめる。

[0124] 本発明の一態様は、下記式(Ⅰ)又は(ⅠⅠ)で表される化合物、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物である。

[0125]

[化13]



本発明の一態様は、前記化合物、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含有する、 α シヌクレイン凝集体結合剤である。

[0126] 本発明の一態様は、前記結合剤を含む、 α シヌクレイン凝集体の光学イメージング用組成物である。

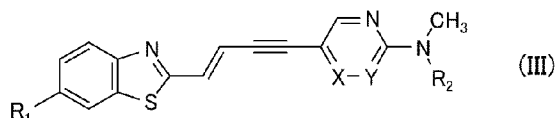
[0127] 本発明の一態様は、前記結合剤を含む、 α シヌクレイン凝集体の放射イメージング用組成物である。

[0128] 本発明の一態様は、前記結合剤を投与された被検体の生体脳に脳外から第1の波長の光を照射した後に、前記脳から発せられる、第1の波長とは異なる第2の波長の光を検出する工程を含む、脳内 α シヌクレイン凝集体の光学イメージング方法である。

[0129] 本発明の一態様は、前記結合剤を投与された被検体の生体脳から発せられる放射線を検出する工程を含む、脳内 α シヌクレイン凝集体の放射イメージング方法である。

[0130] 本発明の一態様は、下記式（III）で表される、前記化合物を合成するための中間体である。

[0131] [化14]



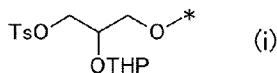
（式（III）中、

X及びYの一方は窒素原子（N）であり、他方は置換されていない炭素原子（CH）であり（すなわち、Xが窒素原子の場合、Yは置換されていない

炭素原子（C H）であり、Xが置換されていない炭素原子（C H）の場合、Yは窒素原子であり）；

R₁は、ヒドロキシ基又は下記式（i）で表される基であり；

[0132] [化15]



ここで、Tsはp-トルエンスルホニル基を表し、

THPはテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル基を表し、

*はベンゾチアゾール環との結合位置を表し、

R₂は、水素原子又はtert-ブトキシカルボニル（Boc）基である

。

[0133] 本発明の一態様は、αシヌクレイン凝集体への結合選択性が高い前記化合物（I）又は化合物（II）を含む診断キットである。

[0134] 本発明は上述した各実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせて得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。

実施例

[0135] （製造例）

以下の製造例（参考例及び実施例）中の「室温」は通常約10℃～約35℃を示す。％は特に断らない限り重量％を示す。また各製造例の使用化合物の説明に関し、「参考例（実施例）Xで製造した」は、「参考例（実施例）Xと同様にして製造した」場合も含むことを意図している。

[0136] 製造例のカラムクロマトグラフィーにおける溶出は、特に言及しない限り、TLC（Thin Layer Chromatography, 薄層クロマトグラフィー）による観察下に行った。TLC観察においては、TLCプレートとしてメルク（Merck）社製の60 F254を用い、展開溶媒として、カラムクロマトグラフィーで溶出溶媒として用いた溶媒を用いた。また、検出にはUV検出器を採用

した。

[0137] ^1H NMRの解析にはA C D / S p e c M a n a g e r (商品名) ソフトウェアなどを用い、得られた解析値を記載した。ヒドロキシ基及びアミノ基などのプロトンピークが非常に緩やかなピークについては記載していないことがある。

[0138] 以下の実施例においては下記の略号を使用する。

M : モル濃度

DMSO- d_6 : 重ジメチルスルホキシド

^1H NMR : プロトン核磁気共鳴

D I E A : N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン

DMF : N, N-ジメチルホルムアミド (本明細書中「dimethylformamide」とも記載する)

T H F : テトラヒドロフラン

M e O H : メタノール

E t O H : エタノール

DMSO : ジメチルスルホキシド

T E A : トリエチルアミン

T F A : トリフルオロ酢酸。

[0139] 参考例1 : ジ-*t e r t*-ブチル (5-ヨードピラジン-2-イル)-2-イミドジカルボナートの製造

[0140] [化16]



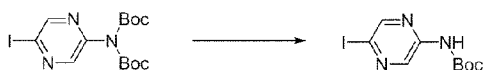
5-ヨードピラジン-2-アミン (CAS [886860-50-0]) (10.5 g) のTHF (100 ml) 溶液に二炭酸ジ-*t e r t*-ブチル (25.9 g) のTHF (50 ml) 溶液とN, N-ジメチルピリジン-4-アミン (1.45 g) を0℃で加えた。その混合物を0℃から室温で終夜攪拌後、水と酢酸エチルで希釈して、不溶物を濾別したのち、酢酸エチルで

抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、短いシリカゲルカラムを通して減圧下で濃縮し、標題化合物（18.8g）を茶色固体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1.37–1.41 (18 H, m), 8.65 (1 H, d, $J=1.3$ Hz), 8.90 (1 H, d, $J=1.5$ Hz)。

[0141] 参考例2: *tert*-ブチル (5-ヨードピラジン-2-イル) カルバマートの製造

[0142] [化17]



参考例1で製造したジ-*tert*-ブチル (5-ヨードピラジン-2-イル) -2-イミドジカルボナート (18.8g) のMeOH (200ml) 溶液に炭酸カリウム (7.40g) を室温で加えた。その混合物を室温で2時間攪拌後、減圧下に4分の1程度に濃縮し、0℃に冷却後、5%クエン酸水溶液中で中和後に水で希釈した。析出した固体を濾取して、水で洗浄後に乾燥し、標題化合物 (13.7g) を茶色固体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1.47 (9 H, s), 8.55 (1 H, d, $J=1.3$ Hz), 8.87 (1 H, d, $J=1.5$ Hz), 10.29 (1 H, brs)。

[0143] 参考例3: *tert*-ブチル (5-ヨードピラジン-2-イル) (メチル) カルバマートの製造

[0144] [化18]



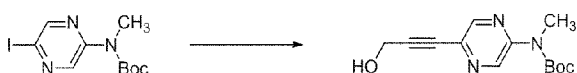
参考例2で製造した *tert*-ブチル (5-ヨードピラジン-2-イル) カルバマート (13.7g) と炭酸セシウム (20.9g) のDMF (85ml) 溶液にヨウ化メチル (3.45ml) を0℃で加えた。その混合物を0℃から室温で終夜攪拌後、0℃に冷却して、水で希釈した。析出した固

体を濾取して、水で洗浄後に乾燥し、標題化合物（13.0 g）をベージュ色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.49 (9 H, s), 3.27 (3 H, s), 8.72 (1 H, d, $J=1.5$ Hz), 8.83 (1 H, d, $J=1.5$ Hz)。

[0145] 参考例4: tert-ブチル (5-(3-ヒドロキシプロプ-1-イン-1-イル)ピラジン-2-イル) (メチル)カルバマートの製造

[0146] [化19]



参考例3で製造したtert-ブチル (5-ヨードピラジン-2-イル) (メチル)カルバマート (13.0 g)、2-プロピン-1-オール (3.43 ml) 及びヨウ化銅 (I) (739 mg) のTEA (27 ml) とTHF (27 ml) との混合溶液に、ジクロロビス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (II) (545 mg) を窒素雰囲気下に室温で加えた。その混合物を室温で2時間攪拌したのち、酢酸エチルで希釈後、セライト濾過をした。濾液を減圧下で濃縮し、残渣を酢酸エチルで希釈後、5%クエン酸水溶液で酸性にして、セライト濾過をし、濾液を酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、シリカゲルパッドを通して減圧下で濃縮し、標題化合物 (10.2 g) を茶色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.50 (9 H, s), 3.31 (3 H, s), 4.35 (2 H, d, $J=6.0$ Hz), 5.48 (1 H, t, $J=6.0$ Hz), 8.52 (1 H, d, $J=1.5$ Hz), 8.98 (1 H, d, $J=1.5$ Hz)。

[0147] 参考例5: tert-ブチル (5-(3-ヒドロキシプロプ-1-イン-1-イル)ピリミジン-2-イル) (メチル)カルバマートの製造

[0148]

[化20]



t e r t -ブチル (5-ヨードピリミジン-2-イル) (メチル) カルバマート (CAS [1578264-18-2]) (250mg) を用いて参考例4と同様な方法により、標題化合物 (195mg) を茶色固体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1.44 (9H, s), 3.31 (3H, s), 4.34 (2H, d, $J=5.7\text{ Hz}$), 5.44 (1H, t, $J=5.8\text{ Hz}$), 8.77 (2H, s)。

[0149] 参考例6: t e r t -ブチル メチル (5-(3-オキソプロプ-1-イン-1-イル) ピラジン-2-イル) カルバマートの製造

[0150] [化21]



参考例4で製造した t e r t -ブチル (5-(3-ヒドロキシプロプ-1-イン-1-イル) ピラジン-2-イル) (メチル) カルバマート (10.4g) のアセトニトリル (200ml) 溶液に、1, 1, 1-トリアセトキシ-1, 1-ジヒドロ-1, 2-ベンゾヨードキソール-3-(1H)-オン (20.1g) を室温で加えた。その混合物を室温で2時間攪拌したのち、0℃に冷却し、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液と5%炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて5分間攪拌後、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、短いシリカゲルカラムを通して減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製し、標題化合物 (6.20g) を黄色固体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1.52 (9H, s), 3.35 (3H, s), 8.82 (1H, d, $J=1.3\text{ Hz}$), 9.17 (1H, d, $J=1.5\text{ Hz}$), 9.48 (1H, s)。

[0151] 参考例7：tert-ブチル メチル（5-（3-オキソプロポ-1-イン-1-イル）ピリミジン-2-イル）カルバマートの製造

[0152] [化22]

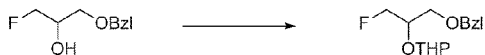


参考例5で製造したtert-ブチル（5-（3-ヒドロキシプロ-1-イン-1-イル）ピリミジン-2-イル）（メチル）カルバマート（190mg）を用いて参考例6と同様な方法により、標題化合物（149mg）を白色固体として得た。

^1H NMR（300MHz，DMSO- d_6 ） δ 1.47（9H，s），3.36（3H，s），9.00（2H，s），9.46（1H，s）。

[0153] 参考例8：2-（（1-（ベンジルオキシ）-3-フルオロプロパン-2-イル）オキシ）テトラヒドロ-2H-ピランの製造

[0154] [化23]

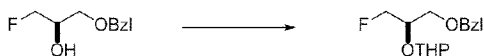


1-（ベンジルオキシ）-3-フルオロプロパン-2-オール（CAS [112482-36-7]）（6.37g）と3，4-ジヒドロ-2H-ピラン（3.75ml）とのTHF（67ml）溶液に、p-トルエンスルホン酸一水和物（132mg）を室温に加えた。その混合物を室温で終夜撹拌したのち、DIEA（0.242ml）を加えて減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）で精製し、標題化合物（8.37g）を無色液体として得た。

^1H NMR（300MHz，DMSO- d_6 ） δ 1.35-1.54（4H，m），1.56-1.80（2H，m），3.36-3.47（1H，m），3.48-3.63（2H，m），3.80（1H，ddd， $J=11.2, 7.9, 3.4\text{ Hz}$ ），3.90-4.06（1H，m），4.35-4.70（2H，m），4.51（2H，d， $J=2.1\text{ Hz}$ ），4.74-4.81（1H，m），7.24-7.41（5H，m）。

[0155] 参考例 9 : 2 - ((R) - 1 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロプロパン - 2 - イル) オキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピランの製造

[0156] [化24]

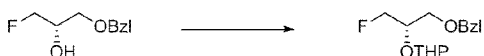


(R) - 1 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロプロパン - 2 - オール (CAS [1 4 7 3 3 2 - 3 4 - 1]) (7 . 8 5 g) を用いて参考例 8 と同様な方法により、標題化合物 (1 0 . 3 6 g) を無色液体として得た。

^1H NMR (3 0 0 MHz , DMSO - d_6) δ 1 . 4 7 (4 H , b r d d , $J = 7 . 4 , 3 . 9 \text{ Hz}$) , 1 . 5 6 - 1 . 8 0 (2 H , m) , 3 . 3 5 - 3 . 4 7 (1 H , m) , 3 . 4 7 - 3 . 6 3 (2 H , m) , 3 . 8 0 (1 H , d d d , $J = 1 1 . 3 , 8 . 0 , 3 . 4 \text{ Hz}$) , 3 . 8 9 - 4 . 1 1 (1 H , m) , 4 . 3 4 - 4 . 6 9 (4 H , m) , 4 . 7 3 - 4 . 8 3 (1 H , m) , 7 . 1 9 - 7 . 4 9 (5 H , m) 。

[0157] 参考例 1 0 : 2 - ((S) - 1 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロプロパン - 2 - イル) オキシ) テトラヒドロ - 2 H - ピランの製造

[0158] [化25]



(S) - 1 - (ベンジルオキシ) - 3 - フルオロプロパン - 2 - オール (CAS [1 7 0 7 1 4 6 - 2 1 - 1]) (7 . 5 5 g) を用いて参考例 8 と同様な方法により、標題化合物 (1 0 . 4 8 g) を無色液体として得た。

^1H NMR (3 0 0 MHz , DMSO - d_6) δ 1 . 4 7 (4 H , b r d d , $J = 7 . 4 , 3 . 9 \text{ Hz}$) , 1 . 5 6 - 1 . 7 9 (2 H , m) , 3 . 3 5 - 3 . 4 7 (1 H , m) , 3 . 4 8 - 3 . 6 2 (2 H , m) , 3 . 8 0 (1 H , d d d , $J = 1 1 . 2 , 7 . 9 , 3 . 3 \text{ Hz}$) , 3 . 9 0 - 4 . 0 8 (1 H , m) , 4 . 3 5 - 4 . 7 0 (4 H , m) , 4 . 7 3 - 4 . 8 1 (1 H , m) , 7 . 2 4 - 7 . 4 2 (5 H , m) 。

[0159] 参考例 1 1 : 3 - (ベンジルオキシ) - 2 - ((t e r t - ブチルジメチ

ルシリル) オキシ) プロピル 4-メチルベンゼンスルホナートの製造

[0160] [化26]

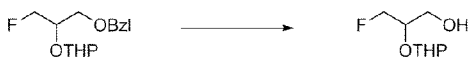


3-(ベンジルオキシ)-2-ヒドロキシプロピル 4-メチルベンゼンスルホナート (CAS [99881-48-8]) (2.80 g) と 1H-イミダゾール (737 mg) の DMF (30 ml) 溶液に *tert*-ブチルジメチルクロロシラン (1.51 g) を 0℃ で加えた。その混合物を室温で終夜撹拌し、0℃ に冷却後に酢酸エチルと水で希釈して、5% クエン酸水溶液で pH 約 5 としたのち、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製して、標題化合物 (3.37 g) を無色液体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 0.02 (6H, d, J = 1.1 Hz), 0.79 (9H, s), 2.41 (3H, s), 3.36 (2H, d, J = 5.3 Hz), 3.86–4.05 (3H, m), 4.43 (2H, s), 7.20–7.39 (5H, m), 7.47 (2H, d, J = 8.1 Hz), 7.77 (2H, d, J = 8.3 Hz)。

[0161] 参考例 12: 3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) プロパン-1-オール の製造

[0162] [化27]



参考例 8 で製造した 2-((1-(ベンジルオキシ)-3-フルオロプロパン-2-イル) オキシ) テトラヒドロ-2H-ピラン (8.30 g) と 10% パラジウム-炭素 (50% 含水, 1.98 g) 及び EtOH (85 ml) の混合物を常圧の水素雰囲気下、室温で終夜撹拌した。触媒を濾去し、濾液を減圧下で濃縮して、標題化合物 (5.45 g) を無色液体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.33–1.55 (4H

, m), 1.56–1.86 (2H, m), 3.36–3.58 (3H, m), 3.68–3.88 (2H, m), 4.31–4.70 (2H, m), 4.71–4.86 (2H, m)。

[0163] 参考例13: (2R)–3–フルオロ–2–((テトラヒドロ–2H–ピラン–2–イル)オキシ)プロパン–1–オールの製造

[0164] [化28]

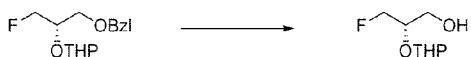


参考例9で製造した2–((R)–1–(ベンジルオキシ)–3–フルオロプロパン–2–イル)オキシ)テトラヒドロ–2H–ピラン(10.35g)を用いて参考例12と同様な方法により、標題化合物(6.85g)を無色液体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1.35–1.53 (4H, m), 1.55–1.81 (2H, m), 3.37–3.62 (3H, m), 3.67–3.91 (2H, m), 4.29–4.69 (2H, m), 4.71–4.87 (2H, m)。

[0165] 参考例14: (2S)–3–フルオロ–2–((テトラヒドロ–2H–ピラン–2–イル)オキシ)プロパン–1–オールの製造

[0166] [化29]



参考例10で製造した2–((S)–1–(ベンジルオキシ)–3–フルオロプロパン–2–イル)オキシ)テトラヒドロ–2H–ピラン(10.45g)を用いて参考例12と同様な方法により、標題化合物(6.90g)を無色液体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1.33–1.56 (4H, m), 1.57–1.81 (2H, m), 3.35–3.59 (3H, m), 3.69–3.90 (2H, m), 4.31–4.68 (2H, m), 4.71–4.87 (2H, m)。

[0167] 参考例 15 : 2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-3-ヒドロキシプロピル 4-メチルベンゼンスルホナートの製造

[0168] [化30]

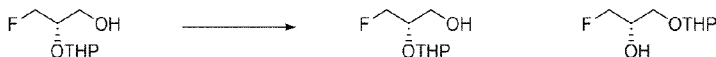


参考例 11 で製造した 3-(ベンジルオキシ)-2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)プロピル 4-メチルベンゼンスルホナート (3.36 g) を用いて参考例 12 と同様な方法により、標題化合物 (2.66 g) を無色液体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 0.01 (3H, s), 0.01 (3H, s), 0.80 (9H, s), 2.42 (3H, s), 3.20–3.38 (2H, m), 3.75–3.91 (2H, m), 4.02–4.10 (1H, m), 4.81 (1H, t, $J=5.6$ Hz), 7.49 (2H, dd, $J=8.6, 0.7$ Hz), 7.77 (2H, d, $J=8.3$ Hz)。

[0169] 参考例 16 : (2S)-3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロパン-1-オールと (2S)-1-フルオロ-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロパン-2-オールの混合物の製造

[0170] [化31]

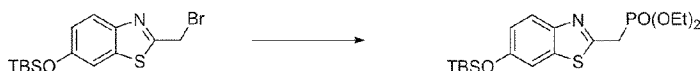


参考例 14 で製造した (2S)-3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロパン-1-オール (6.90 g) を室温で保管して、標題化合物 (6.90 g) を無色液体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.33–1.54 (4H, m), 1.56–1.85 (2H, m), 3.28–3.96 (5H, m), 4.18–4.92 (3H, m), 4.92–5.20 (1H, m)。

[0171] 参考例 17 : ジエチル ((6-((tert-ブチルジメチルシリル)

オキシ)ベンゾ[d]チアゾール-2-イル)メチル)ホスホナートの製造
[0172] [化32]



2-(ブロモメチル)-6-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)ベンゾ[d]チアゾール(CAS[1638685-65-0])(3.06g)と亜リン酸トリエチル(1.78ml)との混合物を100℃で3時間攪拌したのち、室温に冷却してシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/メタノール)で精製し、標題化合物(2.39g)を黄色液体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 0.22 (6H, s), 0.97 (9H, s), 1.23 (6H, t, $J=7.0\text{ Hz}$), 3.80-3.92 (2H, m), 4.01-4.13 (4H, m), 7.00 (1H, dd, $J=8.7, 2.5\text{ Hz}$), 7.56 (1H, d, $J=2.4\text{ Hz}$), 7.81 (1H, d, $J=8.8\text{ Hz}$)。

[0173] 参考例18: ジエチル ((6-ヒドロキシベンゾ[d]チアゾール-2-イル)メチル)ホスホナートの製造

[0174] [化33]

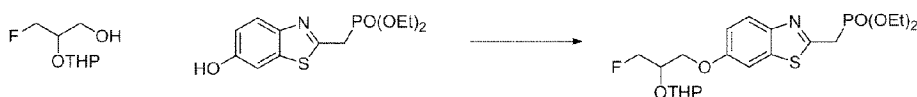


参考例17で製造したジエチル ((6-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)ベンゾ[d]チアゾール-2-イル)メチル)ホスホナート(4.87g)のTHF(50ml)溶液に、テトラ-*n*-ブチルアンモニウムフルオリド(1M THF溶液, 12.9ml)を室温に加えた。その混合物を室温で1時間攪拌したのち、水で希釈して、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下で濃縮した。残渣の固体をヘキサン/酢酸エチルに懸濁したのち、濾取してヘキサン/酢酸エチルで洗浄後に乾燥し、標題化合物(2.85g)を黄色固体として得た。 ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1.22

(6 H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.81 (2 H, d, $J = 21.4$ Hz), 4.05 (4 H, dq, $J = 8.3, 7.1$ Hz), 6.93 (1 H, dd, $J = 8.8, 2.5$ Hz), 7.34 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz), 7.73 (1 H, d, $J = 8.8$ Hz), 9.78 (1 H, br s)。

[0175] 参考例 19：ジエチル ((6-(3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロポキシ)ベンゾ[d]チアゾール-2-イル)メチル)ホスホナートの製造

[0176] [化34]



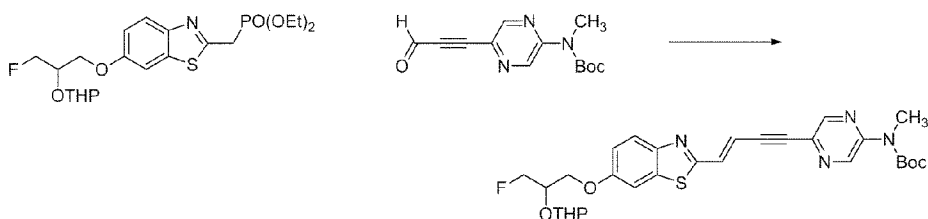
参考例 18 で製造したジエチル ((6-ヒドロキシベンゾ[d]チアゾール-2-イル)メチル)ホスホナート (2.84 g)、参考例 12 で製造した 3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロパン-1-オール (2.52 g) とトリフェニルホスフィン (4.20 g) との THF (50 ml) 溶液に、アゾジカルボン酸ジイソプロピル (3.15 ml) を室温で加えた。その混合物を室温で 1 日攪拌し、参考例 12 で製造した 3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロパン-1-オール (0.504 g)、トリフェニルホスフィン (0.742 g) とアゾジカルボン酸ジイソプロピル (0.555 ml) を室温で加え、室温で終夜攪拌したのち、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製し、標題化合物 (3.78 g) を黄色液体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.22 (6 H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.37–1.56 (4 H, m), 1.59–1.80 (2 H, m), 3.41–3.53 (1 H, m), 3.78–3.94 (3 H, m), 4.01–4.11 (4 H, m), 4.12–4.29 (3 H, m), 4.48–4.65 (1 H, m), 4.65–4.81 (1 H, m), 4.83–4.94 (1 H, m), 7.12 (1 H, dt, $J = 9.0, 2.$

1 Hz), 7.70 (1 H, d, J = 2.4 Hz), 7.84 (1 H, d, J = 8.9 Hz)。

[0177] 参考例20: tert-ブチル (E) - (5 - (4 - (6 - (3 - フルオロ - 2 - ((テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) オキシ) プロポキシ) ベンゾ [d] チアゾール - 2 - イル) ブター - 3 - エン - 1 - イン - 1 - イル) ピラジン - 2 - イル) (メチル) カルバマートの製造

[0178] [化35]

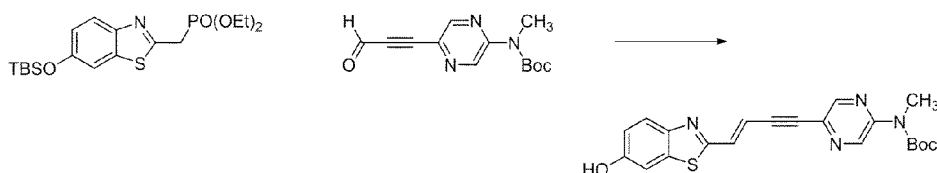


参考例19で製造したジエチル ((6 - (3 - フルオロ - 2 - ((テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) オキシ) プロポキシ) ベンゾ [d] チアゾール - 2 - イル) メチル) ホスホナート (3.77 g) と参考例6で製造した tert-ブチル メチル (5 - (3 - オキソプロプ - 1 - イン - 1 - イル) ピラジン - 2 - イル) カルバマート (2.56 g) との THF (30 ml) 溶液に、水素化ナトリウム (60%油性, 392 mg) を 0℃ で加えた。その混合物を 0℃ で 10 分間攪拌後、DMF (30 ml) を 0℃ で加え、0℃ から室温で 3 時間攪拌した。その混合物に参考例6で製造した tert-ブチル メチル (5 - (3 - オキソプロプ - 1 - イン - 1 - イル) ピラジン - 2 - イル) カルバマート (256 mg) を室温で加えて室温で 1 時間攪拌したのち、酢酸エチル及び水で希釈後、5%クエン酸水溶液で中和して、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製し、標題化合物を含むフラクションを減圧下で濃縮した。残渣の固体をヘキサンに懸濁して、濾取により得た固体をヘキサンで洗浄後に乾燥し、標題化合物 (2.06 g) を黄色固体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1.39–1.58 (13 H, m), 1.59–1.81 (2H, m), 3.33 (3H, s), 3.41–3.52 (1H, m), 3.78–3.95 (1H, m), 4.13–4.31 (3H, m), 4.48–4.66 (1H, m), 4.66–4.83 (1H, m), 4.84–4.93 (1H, m), 7.01 (1H, d, $J=16.2\text{ Hz}$), 7.17 (1H, dt, $J=9.0, 2.2\text{ Hz}$), 7.48 (1H, d, $J=16.0\text{ Hz}$), 7.77 (1H, d, $J=2.4\text{ Hz}$), 7.92 (1H, d, $J=8.9\text{ Hz}$), 8.65 (1H, d, $J=1.5\text{ Hz}$), 9.06 (1H, d, $J=1.5\text{ Hz}$)。

[0179] 実施例1: *tert*-ブチル (E)-(5-(4-(6-ヒドロキシベンゾ[d]チアゾール-2-イル)ブター-3-エン-1-イン-1-イル)ピラジン-2-イル)(メチル)カルバマートの製造

[0180] [化36]



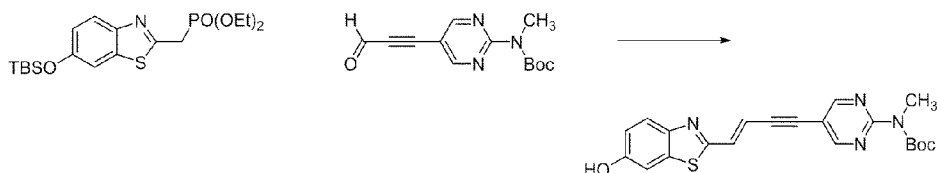
参考例17で製造したジエチル ((6-((*tert*-ブチルジメチルシリル)オキシ)ベンゾ[d]チアゾール-2-イル)メチル)ホスホナート(2.39g)と参考例6で製造した*tert*-ブチル メチル(5-(3-オキソプロプ-1-イン-1-イル)ピラジン-2-イル)カルバマート(1.65g)とのTHF(25ml)溶液に、水素化ナトリウム(60%油性, 322mg)を0℃で加えた。その混合物を0℃で5分間攪拌後、DMF(25ml)を0℃で加え、0℃で2時間攪拌した。その混合物に水素化ナトリウム(60%油性, 138mg)と参考例6で製造した*tert*-ブチル メチル(5-(3-オキソプロプ-1-イン-1-イル)ピラジン-2-イル)カルバマート(601mg)を0℃で加えて、0℃から室温で2時間攪拌したのち、0℃に冷却して5%クエン酸水溶液でpH約5とし、水で希釈後に、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無

水硫酸ナトリウムで乾燥し、短いシリカゲルカラムクロマトグラフィーを通して減圧下で濃縮した。残渣の固体を酢酸エチル／ヘキサンに懸濁後に、濾取により得た固体を酢酸エチル／ヘキサンで洗浄したのちに乾燥し、標題化合物（1.85 g）を黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.51 (9H, s), 3.33 (3H, s), 6.94 (1H, d, $J=16.0$ Hz), 7.00 (1H, dd, $J=8.9, 2.4$ Hz), 7.39 (1H, d, $J=2.3$ Hz), 7.44 (1H, d, $J=16.0$ Hz), 7.82 (1H, d, $J=8.9$ Hz), 8.64 (1H, d, $J=1.5$ Hz), 9.05 (1H, d, $J=1.5$ Hz), 10.14 (1H, brs)。

[0181] 実施例2: *tert*-ブチル (E)-(5-(4-(6-ヒドロキシベンゾ[d]チアゾール-2-イル)ブター-3-エン-1-イン-1-イル)ピリミジン-2-イル)(メチル)カルバマートの製造

[0182] [化37]

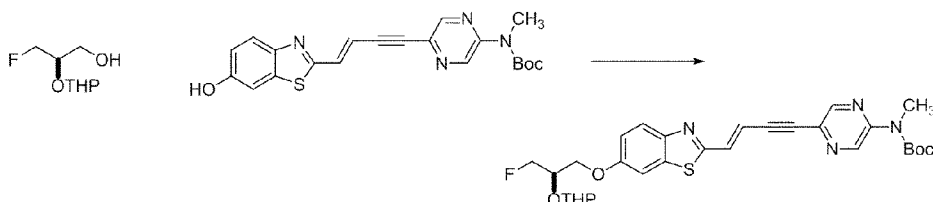


参考例17で製造したジエチル ((6-((*tert*-ブチルジメチルシリル)オキシ)ベンゾ[d]チアゾール-2-イル)メチル)ホスホナート (254 mg) と参考例7で製造した *tert*-ブチル メチル (5-(3-オキソプロプ-1-イン-1-イル)ピリミジン-2-イル)カルバマート (145 mg) とを用いて実施例1と同様な方法により、標題化合物 (101 mg) を黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.46 (9H, s), 3.34 (3H, s), 6.92 (1H, d, $J=16.0$ Hz), 7.00 (1H, dd, $J=8.9, 2.4$ Hz), 7.38 (1H, d, $J=16.0$ Hz), 7.39 (1H, d, $J=2.4$ Hz), 7.82 (1H, d, $J=8.9$ Hz), 8.87 (2H, s), 10.01 (1H, s)。

[0183] 参考例 21 : *tert*-ブチル (5-(*(E)*-4-(6-(*(2R)*-3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2*H*-ピラン-2-イル)オキシ)プロポキシ)ベンゾ[d]チアゾール-2-イル)ブター-3-エン-1-イン-1-イル)ピラジン-2-イル)(メチル)カルバマートの製造

[0184] [化38]



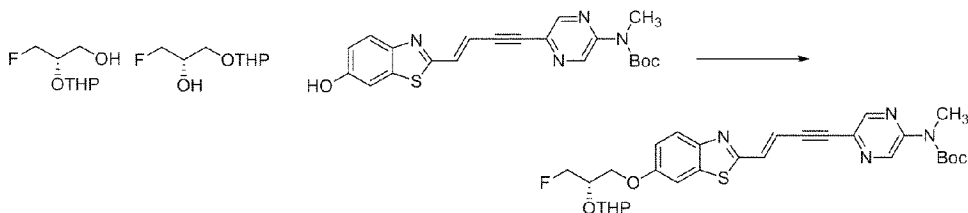
実施例 1 で製造した *tert*-ブチル (5-(*(E)*-4-(6-ヒドロキシベンゾ[d]チアゾール-2-イル)ブター-3-エン-1-イン-1-イル)ピラジン-2-イル)(メチル)カルバマート (100 mg)、参考例 13 で製造した (*(2R)*-3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2*H*-ピラン-2-イル)オキシ)プロパン-1-オール (114 mg) とアゾジカルボン酸ビス(2-メトキシエチル) (172 mg) を用いて参考例 19 と同様な方法により、標題化合物 (100 mg) を淡黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.51 (13 H, s), 1.60–1.79 (2 H, m), 3.34 (3 H, s), 3.42–3.54 (1 H, m), 3.79–3.96 (1 H, m), 4.14–4.31 (3 H, m), 4.49–4.82 (2 H, m), 4.84–4.96 (1 H, m), 7.02 (1 H, d, $J=16.1$ Hz), 7.17 (1 H, d, $J=9.0$, 2.1 Hz), 7.48 (1 H, d, $J=16.1$ Hz), 7.77 (1 H, d, $J=2.5$ Hz), 7.92 (1 H, d, $J=9.0$ Hz), 8.65 (1 H, d, $J=1.4$ Hz), 9.06 (1 H, d, $J=1.5$ Hz)。

[0185] 参考例 22 : *tert*-ブチル (5-(*(E)*-4-(6-(*(2S)*-3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2*H*-ピラン-2-イル)オキシ)

) プロポキシ) ベンゾ [d] チアゾール-2-イル) ブター-3-エン-1-イン-1-イル) ピラジン-2-イル) (メチル) カルバマートの製造

[0186] [化39]



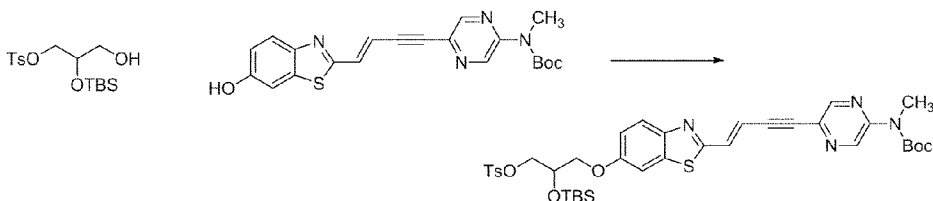
実施例1で製造したtert-ブチル (E)-(5-(4-(6-ヒドロキシベンゾ [d] チアゾール-2-イル) ブター-3-エン-1-イン-1-イル) ピラジン-2-イル) (メチル) カルバマート (100 mg) と、参考例16で製造した(2S)-3-フルオロ-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) プロパン-1-オール及び(2S)-1-フルオロ-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) プロパン-2-オールの混合物 (114 mg) と、アゾジカルボン酸ビス(2-メトキシエチル) (172 mg) とを用いて参考例19と同様な方法により、標題化合物 (22 mg) を淡黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.51 (13 H, s), 1.60–1.79 (2 H, m), 3.34 (3 H, s), 3.42–3.54 (1 H, m), 3.79–3.95 (1 H, m), 4.13–4.30 (3 H, m), 4.49–4.82 (2 H, m), 4.84–4.96 (1 H, m), 7.02 (1 H, d, $J=16.2$ Hz), 7.17 (1 H, d, $J=8.8, 2.4$ Hz), 7.48 (1 H, d, $J=16.0$ Hz), 7.77 (1 H, d, $J=2.3$ Hz), 7.92 (1 H, d, $J=9.0$ Hz), 8.65 (1 H, d, $J=1.3$ Hz), 9.06 (1 H, d, $J=1.3$ Hz)。

[0187] 参考例23: (E)-3-((2-(4-(5-((tert-ブトキシカルボニル) (メチル) アミノ) ピラジン-2-イル) ブター-1-エン-3-イン-1-イル) ベンゾ [d] チアゾール-6-イル) オキシ)-2-

(*t e r t*－ブチルジメチルシリル) オキシ) プロピル 4－メチルベンゼ
ンスルホナートの製造

[0188] [化40]

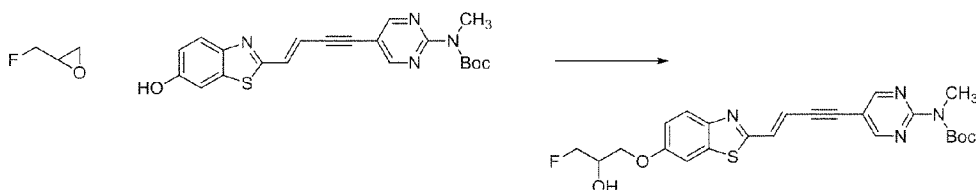


実施例1で製造した(*t e r t*－ブチル (E)－(5－(4－(6－ヒドロキシベンゾ[d]チアゾール－2－イル)ブター3－エン－1－イン－1－イル)ピラジン－2－イル)(メチル)カルバマート(971mg)と、参考例15で製造した2－((*t e r t*－ブチルジメチルシリル)オキシ)－3－ヒドロキシプロピル 4－メチルベンゼンスルホナート(1.11g)と、アゾジカルボン酸ビス(2－メトキシエチル)(835mg)とを用いて参考例19と同様な方法により、標題化合物(1.47g)を淡黄色固体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 0.04 (3H, s), 0.04 (3H, s), 0.81 (9H, s), 1.51 (9H, s), 2.38 (3H, s), 3.34 (3H, s), 3.90–4.19 (4H, m), 4.20–4.32 (1H, m), 7.02 (1H, d, $J=16.0$ Hz), 7.02–7.08 (1H, m), 7.45 (2H, brd, $J=8.1$ Hz), 7.48 (1H, brd, $J=16.0$ Hz), 7.66 (1H, d, $J=2.3$ Hz), 7.79 (2H, d, $J=8.3$ Hz), 7.91 (1H, d, $J=9.0$ Hz), 8.65 (1H, d, $J=1.5$ Hz), 9.06 (1H, d, $J=1.5$ Hz)。

[0189] 参考例24：*t e r t*－ブチル (E)－(5－(4－(6－(3－フルオロ－2－ヒドロキシプロポキシ)ベンゾ[d]チアゾール－2－イル)ブター3－エン－1－イン－1－イル)ピリミジン－2－イル)(メチル)カルバマートの製造

[0190] [化41]



実施例2で製造したtert-ブチル (E) - (5 - (4 - (6 - ヒドロキシベンゾ [d] チアゾール - 2 - イル) ブター - 3 - エン - 1 - イン - 1 - イル) ピリミジン - 2 - イル) (メチル) カルバマート (99 mg) と炭酸カリウム (66 mg) とのDMF (3 ml) 溶液に2 - (フルオロメチル) オキシラン (CAS [503-09-3]) (0.060 ml) を室温で加えた。その混合物を80℃で4時間加熱して、室温に冷却後、酢酸エチルと水で希釈して、5%クエン酸水溶液で中和後に、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製して、標題化合物 (36 mg) を黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.46 (9H, s), 3.34 (3H, s), 4.02-4.16 (3H, m), 4.39-4.46 (1H, m), 4.56-4.63 (1H, m), 5.49 (1H, d, $J=5.3$ Hz), 6.99 (1H, d, $J=16.2$ Hz), 7.16 (1H, dd, $J=9.0, 2.6$ Hz), 7.41 (1H, d, $J=16.2$ Hz), 7.73 (1H, d, $J=2.3$ Hz), 7.91 (1H, d, $J=9.0$ Hz), 8.87 (2H, s)。

[0191] 参考例25: (E) - 3 - ((2 - (4 - (5 - ((tert-ブトキシカルボニル) (メチル) アミノ) ピラジン - 2 - イル) ブター - 1 - エン - 3 - イン - 1 - イル) ベンゾ [d] チアゾール - 6 - イル) オキシ) - 2 - ヒドロキシプロピル 4 - メチルベンゼンスルホナートの製造

[0192] [化42]



参考例 23 で製造した (E) - 3 - ((2 - (4 - (5 - ((t e r t - ブトキシカルボニル) (メチル) アミノ) ピラジン-2-イル) ブター-1-エン-3-イン-1-イル) ベンゾ [d] チアゾール-6-イル) オキシ) - 2 - ((t e r t - ブチルジメチルシリル) オキシ) プロピル 4-メチルベンゼンスルホナート (100 mg) と酢酸 (0.023 ml) との THF (10 ml) 溶液にテトラ-n-ブチルアンモニウムフルオリド (1 M THF 溶液, 0.533 ml) を 0℃ で加えた。その混合物を 0℃ で 0.5 時間攪拌したのち、水で希釈して、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製し、標題化合物 (37 mg) を黄色固体として得た。

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1.51 (9H, s), 2.35 (3H, s), 3.34 (3H, s), 3.91-4.19 (5H, m), 5.59 (1H, d, J=4.9 Hz), 7.02 (1H, d, J=16.1 Hz), 7.00-7.07 (1H, m), 7.35-7.43 (2H, m), 7.48 (1H, d, J=16.1 Hz), 7.62 (1H, d, J=2.5 Hz), 7.77 (2H, d, J=8.3 Hz), 7.89 (1H, d, J=9.0 Hz), 8.65 (1H, d, J=1.5 Hz), 9.06 (1H, d, J=1.5 Hz)。

[0193] 参考例 26 : (E) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ((2 - (4 - (5 - (メチルアミノ) ピラジン-2-イル) ブター-1-エン-3-イン-1-イル) ベンゾ [d] チアゾール-6-イル) オキシ) プロピル 4-メチルベンゼンスルホナートの製造

[0194] [化43]



参考例 23 で製造した (E) - 3 - ((2 - (4 - (5 - ((t e r t - ブトキシカルボニル) (メチル) アミノ) ピラジン-2-イル) ブター-1-

エン-3-イン-1-イル)ベンゾ[d]チアゾール-6-イル)オキシ)-2-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)プロピル 4-メチルベンゼンスルホナート(750mg)のTFA(13.5ml)と水(1.5ml)との混合溶液を室温で0.5時間攪拌後、0℃に冷却し、酢酸エチルで希釈後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和して、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後に、抽出液から析出した固体を濾取した。濾液を無水硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下で濃縮した。残渣の固体と濾取した固体を合わせてヘキサンに懸濁した。濾取により得た固体をヘキサンで洗浄後に乾燥し、標題化合物(550mg)を黄色固体として得た。

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 2.34 (3H, s), 2.84 (3H, d, $J=4.8\text{ Hz}$), 3.90–3.98 (2H, m), 4.02–4.17 (3H, m), 5.60 (1H, d, $J=4.8\text{ Hz}$), 6.95 (1H, d, $J=16.0\text{ Hz}$), 7.00 (1H, dd, $J=8.8, 2.4\text{ Hz}$), 7.29 (1H, d, $J=16.0\text{ Hz}$), 7.40 (2H, d, $J=8.0\text{ Hz}$), 7.59 (1H, d, $J=2.4\text{ Hz}$), 7.68 (1H, brs), 7.77 (2H, d, $J=8.4\text{ Hz}$), 7.86 (1H, d, $J=8.8\text{ Hz}$), 7.94 (1H, d, $J=1.6\text{ Hz}$), 8.21 (1H, d, $J=1.2\text{ Hz}$)。

[0195] 実施例3：(E)-2-(4-(5-(メチルアミノ)ピラジン-2-イル)ブター-1-エン-3-イン-1-イル)ベンゾ[d]チアゾール-6-オール

[0196] [化44]



実施例1で製造したtert-ブチル (E)-(5-(4-(6-ヒドロキシベンゾ[d]チアゾール-2-イル)ブター-3-エン-1-イン-1-イル)ピラジン-2-イル)(メチル)カルバマート(230mg)のTFA(4ml)溶液を室温で1時間攪拌後、減圧下で濃縮した。残渣に酢酸

エチルを加え 0℃ に冷却後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和して酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣の固体を酢酸エチルに懸濁し、濾取により得た固体を酢酸エチルで洗浄後に乾燥し、標題化合物 (140 mg) を黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2.84 (3 H, d, $J = 4.9$ Hz), 6.81–6.92 (1 H, m), 6.98 (1 H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz), 7.26 (1 H, d, $J = 15.8$ Hz), 7.37 (1 H, d, $J = 2.3$ Hz), 7.63 (1 H, q, $J = 5.0$ Hz), 7.79 (1 H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.94 (1 H, d, $J = 1.5$ Hz), 8.20 (1 H, d, $J = 1.1$ Hz), 9.97 (1 H, s)。

[0197] 実施例 4 : (E) - 1 - フルオロ - 3 - ((2 - (4 - (5 - (メチルアミノ) ピラジン - 2 - イル) ブター - 1 - エン - 3 - イン - 1 - イル) ベンゾ [d] チアゾール - 6 - イル) オキシ) プロパン - 2 - オール (以下、「S P A L - T - 0 6」 という) の製造

[0198] [化45]



参考例 20 で製造した t e r t - ブチル (E) - (5 - (4 - (6 - (3 - フルオロ - 2 - ((テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) オキシ) プロポキシ) ベンゾ [d] チアゾール - 2 - イル) ブター - 3 - エン - 1 - イン - 1 - イル) ピラジン - 2 - イル) (メチル) カルバマート (2.06 g) の T F A (20 m l) 溶液を室温で 0.5 時間攪拌後、減圧下で濃縮した。残渣にトルエンを加え、その混合物を減圧下で濃縮した。残渣に酢酸エチルと水を加え、5%炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した。析出した固体を濾取して、水と酢酸エチルで洗浄して乾燥した。濾液と洗浄液を合わせて、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウム

で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣の固体を酢酸エチルに懸濁し、濾取により得た固体を酢酸エチルで洗浄後乾燥した。この固体と抽出前に濾取した固体と合わせて酢酸エチルに懸濁し、濾取により得た固体を酢酸エチルで洗浄後に乾燥し、標題化合物（1.07 g）を黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2.84 (3 H, d, $J = 4.9$ Hz), 4.00–4.16 (3 H, m), 4.37–4.49 (1 H, m), 4.53–4.66 (1 H, m), 5.51 (1 H, d, $J = 5.1$ Hz), 6.95 (1 H, d, $J = 16.0$ Hz), 7.15 (1 H, dd, $J = 9.0, 2.6$ Hz), 7.29 (1 H, d, $J = 16.0$ Hz), 7.67 (1 H, q, $J = 4.6$ Hz), 7.71 (1 H, d, $J = 2.6$ Hz), 7.89 (1 H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.94 (1 H, d, $J = 1.5$ Hz), 8.21 (1 H, d, $J = 1.3$ Hz)。

[0199] 実施例5：(R, E)–1–フルオロ–3–((2–(4–(5–(メチルアミノ)ピラジン–2–イル)ブター–1–エン–3–イン–1–イル)ベンゾ[d]チアゾール–6–イル)オキシ)プロパン–2–オール

[0200] [化46]



参考例21で製造したtert-ブチル (5–((E)–4–(6–((2R)–3–フルオロ–2–((テトラヒドロ–2H–ピラン–2–イル)オキシ)プロポキシ)ベンゾ[d]チアゾール–2–イル)ブター–3–エン–1–イン–1–イル)ピラジン–2–イル) (メチル)カルバマート (98 mg) を用いて実施例4と同様な方法により、標題化合物 (58 mg) を淡黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2.84 (3 H, d, $J = 4.8$ Hz), 4.01–4.17 (3 H, m), 4.37–4.49 (1 H, m), 4.53–4.65 (1 H, m), 5.50 (1 H, d, $J = 5.1$ Hz), 6.95 (1 H, d, $J = 16.1$ Hz), 7.15 (1 H,

d d, $J=8.9, 2.6 \text{ Hz}$), 7.29 (1H, d, $J=16.1 \text{ Hz}$), 7.66 (1H, q, $J=4.9 \text{ Hz}$), 7.71 (1H, d, $J=2.5 \text{ Hz}$), 7.89 (1H, d, $J=9.0 \text{ Hz}$), 7.94 (1H, d, $J=1.4 \text{ Hz}$), 8.21 (1H, d, $J=1.3 \text{ Hz}$)。

[0201] 実施例6：(S, E)－1－フルオロ－3－((2－(4－(5－(メチルアミノ)ピラジシン－2－イル)ブター1－エン－3－イン－1－イル)ベンゾ[d]チアゾール－6－イル)オキシ)プロパン－2－オールの製造

[0202] [化47]

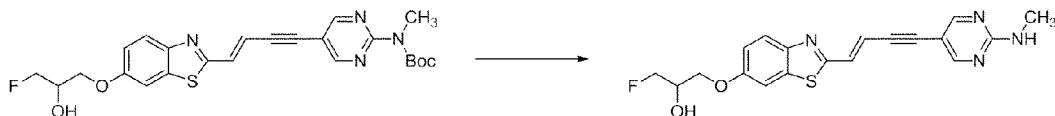


参考例22で製造したtert-ブチル (5－((E)－4－(6－((2S)－3－フルオロ－2－((テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル)オキシ)プロポキシ)ベンゾ[d]チアゾール－2－イル)ブター3－エン－1－イン－1－イル)ピラジシン－2－イル)(メチル)カルバマート(20mg)を用いて実施例4と同様な方法により、標題化合物(12mg)を淡黄色固体として得た。

^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 2.84 (3H, d, $J=4.7 \text{ Hz}$), 4.00–4.17 (3H, m), 4.37–4.49 (1H, m), 4.53–4.65 (1H, m), 5.51 (1H, d, $J=4.7 \text{ Hz}$), 6.95 (1H, d, $J=16.0 \text{ Hz}$), 7.15 (1H, d d, $J=8.9, 2.5 \text{ Hz}$), 7.29 (1H, d, $J=16.2 \text{ Hz}$), 7.62–7.70 (1H, m), 7.71 (1H, d, $J=2.4 \text{ Hz}$), 7.89 (1H, d, $J=8.9 \text{ Hz}$), 7.94 (1H, d, $J=1.3 \text{ Hz}$), 8.21 (1H, d, $J=1.1 \text{ Hz}$)。

[0203] 実施例7：(E)－1－フルオロ－3－((2－(4－(2－(メチルアミノ)ピリミジン－5－イル)ブター1－エン－3－イン－1－イル)ベンゾ[d]チアゾール－6－イル)オキシ)プロパン－2－オール(以下、「SPAL-T-05」という)の製造

[0204] [化48]



参考例24で製造したtert-ブチル (E) - (5 - (4 - (6 - (3 - フルオロ - 2 - ヒドロキシプロポキシ) ベンゾ [d] チアゾール - 2 - イル) ブター - 3 - エン - 1 - イン - 1 - イル) ピリミジン - 2 - イル) (メチル) カルバマート (34 mg) を用いて実施例4と同様な方法により、標題化合物 (15 mg) を黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2.84 (3 H, d, $J = 4.5$ Hz), 4.00 - 4.16 (3 H, m), 4.36 - 4.50 (1 H, m), 4.52 - 4.66 (1 H, m), 5.49 (1 H, d, $J = 5.3$ Hz), 6.86 - 6.99 (1 H, m), 7.10 - 7.18 (1 H, m), 7.25 (1 H, d, $J = 15.8$ Hz), 7.67 - 7.77 (2 H, m), 7.88 (1 H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.38 - 8.58 (2 H, m)。

[0205] 実施例8: (E) - 3 - ((2 - (4 - (5 - ((tert-ブトキシカルボニル) (メチル) アミノ) ピラジン - 2 - イル) ブター - 1 - エン - 3 - イン - 1 - イル) ベンゾ [d] チアゾール - 6 - イル) オキシ) - 2 - ((テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) オキシ) プロピル 4 - メチルベンゼンスルホナートの製造

[0206] [化49]



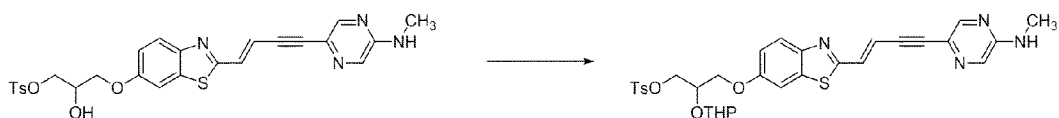
参考例25で製造した (E) - 3 - ((2 - (4 - (5 - ((tert-ブトキシカルボニル) (メチル) アミノ) ピラジン - 2 - イル) ブター - 1 - エン - 3 - イン - 1 - イル) ベンゾ [d] チアゾール - 6 - イル) オキシ) - 2 - ヒドロキシプロピル 4 - メチルベンゼンスルホナート (35 mg)

と3, 4-ジヒドロ-2H-ピラン (0.050 ml) とのTHF (15 ml) 溶液にp-トルエンスルホン酸一水和物 (21 mg) を室温に加えた。その混合物を室温で4時間攪拌したのち、3, 4-ジヒドロ-2H-ピラン (0.249 ml) とp-トルエンスルホン酸一水和物 (21 mg) を室温に加えた。その混合物を室温で終夜攪拌したのち、酢酸エチルで希釈後、5%炭酸水素ナトリウム水溶液で中和して、水で希釈後に酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製し、標題化合物を含むフラクションを減圧下で濃縮した。残渣の固体をヘキサンに懸濁して濾取により得た固体をヘキサンで洗浄後に乾燥し、標題化合物 (28 mg) を黄色固体として得た。

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1.32–1.72 (15 H, m), 2.35 (3 H, s), 3.34–3.46 (4 H, m), 3.61–3.93 (1 H, m), 4.01–4.41 (5 H, m), 4.66–4.90 (1 H, m), 6.99–7.05 (1 H, m), 7.02–7.09 (1 H, m), 7.41 (2 H, brd, $J=8.1$ Hz), 7.48 (1 H, d, $J=16.2$ Hz), 7.65 (1 H, d, $J=2.1$ Hz), 7.79 (2 H, brd, $J=7.3$ Hz), 7.90 (1 H, d, $J=8.9$ Hz), 8.65 (1 H, d, $J=1.1$ Hz), 9.06 (1 H, d, $J=0.9$ Hz)。

[0207] 実施例9: (E)-3-((2-(4-(5-(メチルアミノ)ピラジン-2-イル)ブター-1-エン-3-イン-1-イル)ベンゾ[d]チアゾール-6-イル)オキシ)-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル 4-メチルベンゼンスルホナートの製造

[0208] [化50]



参考例26で製造した(E)-2-ヒドロキシ-3-((2-(4-(5

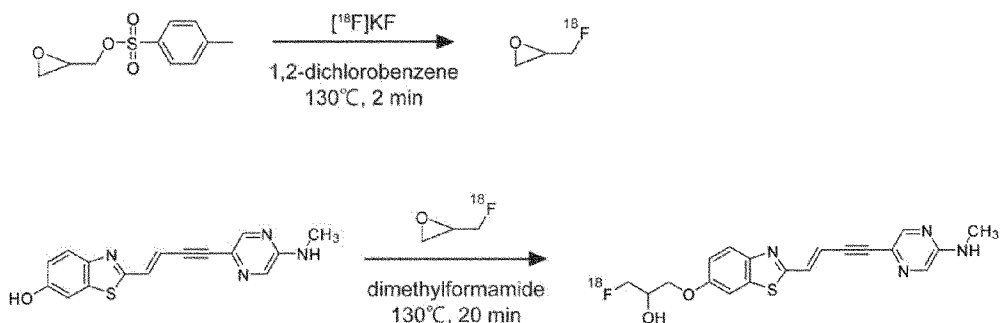
ー（メチルアミノ）ピラジニン-2-イル）ブター-1-エン-3-イン-1-イル）ベンゾ[d]チアゾール-6-イル）オキシ）プロピル 4-メチルベンゼンスルホナート（35 mg）と3,4-ジヒドロ-2H-ピラン（0.018 ml）とのTHF（15 ml）溶液にp-トルエンスルホン酸-1-水和物（12 mg）を室温で加えた。その混合物を室温で0.5時間攪拌し、DMF（5 ml）と3,4-ジヒドロ-2H-ピラン（0.159 ml）とp-トルエンスルホン酸-1-水和物（24 mg）を室温で加えた。その混合物を室温で終夜攪拌したのち、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水と食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）で精製し、標題化合物を含むフラクションを減圧下で濃縮した。残渣の固体をヘキサンに懸濁し、濾取により得た固体をヘキサンで洗浄後に乾燥し、標題化合物（21 mg）を黄色固体として得た。

^1H NMR（300 MHz, DMSO- d_6 ） δ 1.32–1.71（6 H, m）, 2.35（3 H, s）, 2.84（3 H, d, $J=4.9$ Hz）, 3.35–3.46（1 H, m）, 3.62–3.87（1 H, m）, 4.05–4.19（3 H, m）, 4.20–4.36（2 H, m）, 4.65–4.87（1 H, m）, 6.96（1 H, d, $J=16.2$ Hz）, 7.02（1 H, dd, $J=8.9, 1.6$ Hz）, 7.30（1 H, d, $J=16.0$ Hz）, 7.41（2 H, d, $J=7.9$ Hz）, 7.62（1 H, d, $J=2.6$ Hz）, 7.67（1 H, q, $J=4.4$ Hz）, 7.79（2 H, dd, $J=8.4, 1.6$ Hz）, 7.86（1 H, d, $J=9.0$ Hz）, 7.94（1 H, d, $J=1.5$ Hz）, 8.21（1 H, d, $J=1.3$ Hz）。

[0209] 実施例10：[^{18}F] SPAL-T-06の製造例1

以下のスキームにより、フッ素原子が ^{18}F であるSPAL-T-06（以下、[^{18}F] SPAL-T-06）を製造した。

[化51]



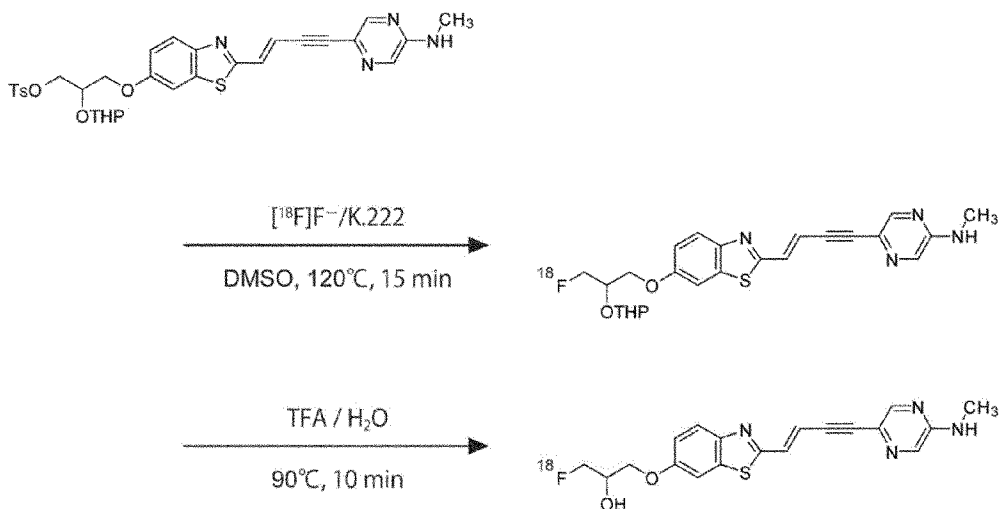
[0210] $[^{18}\text{F}]$ エピフルオロヒドリンの合成は、 $[^{18}\text{F}]$ フッ化物イオンを用いたグリシジルトシレートと求核置換及び蒸留による精製により実施した。以下の反応は薄暗下で行った。 $[^{18}\text{F}]$ エピフルオロヒドリン、実施例3で製造した(E)-2-(4-(5-(メチルアミノ)ピラジン-2-イル)ブター-1-エン-3-イン-1-イル)ベンゾ[d]チアゾール-6-オール(2 mg)を含むDMF(250 μl)溶液、及び1 M水酸化ナトリウム水溶液(6.5 μl)を反応容器に加えた。反応混合液を、 130°C にて20分間加熱した。反応容器を冷却後、この後のHPLCに用いるHPLC溶媒(500 μl)を加えた。混合液を、HPLC(HPLC: CAPCELL PAK C18 UG80 10 mm $\times$ 250 mm、アセトニトリル/水=4/6(0.1%トリエチルアミンを含む)、5 ml/分)にて精製した。 $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06に相当する画分を、エタノール(300 μl)、25%アスコルビン酸(100 μl)及びTween 80(75 μl)を含むフラスコに回収し、減圧下で溶媒を留去した。残渣を、生理食塩水(3 ml、pH 7.4)に溶解し、注射溶液として、 $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06を得た。

[0211] 実施例11： $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06の製造例2

以下のスキームにより、 $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06を製造した。

[0212]

[化52]



$[^{18}\text{F}]$ フッ化物イオンを、K. 222 (K r y p t o f i x 222) (7.5 mg) と炭酸カリウム (2.77 mg) を含む50%アセトニトリル溶液 (0.4 ml) で溶出し、反応容器に導入した後、窒素ガス気流下で加熱し、溶媒を乾固させた。その後、無水アセトニトリル (0.1 ml) を加えて共沸留去し、十分に反応容器内を乾燥させた。以下の反応は薄暗下で行った。実施例9で製造した (E) -3-((2-(4-(5-(メチルアミノ)ピラジン-2-イル)ブター-1-エン-3-イン-1-イル)ベンゾ[d]チアゾール-6-イル)オキシ)-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル 4-メチルベンゼンスルホナート (2 mg) を含むDMSO (300 μl) 溶液を反応容器に加えた。反応混合液を、 120°C にて15分間加熱した。反応容器を冷却後、TFA/水 (600 μl) を加え、 90°C で10分間加水分解を行った。反応容器を冷却後、4N酢酸ナトリウム水溶液 (1 ml) を加えて攪拌した。混合液を、HPLC (HPLC: CAPCELL PAK C18 UG80 10mm $\times$ 250mm、アセトニトリル/水=4/6 (0.1%トリエチルアミンを含む)、5 ml/分) にて精製した。 $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06に相当する画分を、エタノール (300 μl)、25%アスコルビン酸 (100 μl) 及びTween 80 (75 μl) を含むフラスコに回収し、減圧下で溶媒を留

去した。残渣を、生理食塩水（3 ml、pH 7.4）に溶解し、注射溶液として、 $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06を得た。

[0213] [ヒト脳の光学イメージング]

(解剖脳組織)

死後ヒト脳を、レビー小体型認知症（DLB）患者、及び、アルツハイマー病（AD）患者に対して行われた剖検から得た。凍結DLB組織をクリオスタット（HM560、Carl Zeiss）内で20 μm 厚にスライスした。また、AD脳組織を10%中性緩衝ホルマリンに固定し、パラフィンブロックに埋め込み、6 μm 厚にスライスした。

[0214] (インビトロ蛍光顕微鏡測定)

DLB患者脳扁桃核組織の後固定新鮮凍結切片、及び、脱パラフィンしたAD患者脳前頭回組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片を使用した。30 μM の試験化合物と脳切片を50%エタノール溶液中にて30分間室温でインキュベートした。その後切片を50%エタノール溶液で5分間、超純水で3分間、2回洗浄した。封入剤（VECTASHIELD H-1000、Vector Laboratories）を用いて切片を封入後、蛍光顕微鏡（DM4000、Leica、励起波長391–437 nm）を用いて切片上の病変蓄積領域の画像を取得した、蛍光画像を図1に示す。図1において、矢頭はDLB患者脳の α シヌクレイン凝集体に結合した化合物の蛍光を、矢印はAD患者脳のアミロイド β 凝集体に結合した化合物の蛍光を、アスタリスクはAD患者脳のタウ凝集体に結合した化合物の蛍光を示す。解析ソフトウェア（Image J）を用いて病変領域及び病変非形成領域（バックグラウンド）の蛍光輝度を定量した。結果を図2に示す。なお、試験化合物としては、SPAL-T-05及びSPAL-T-06を用いた。また対照の化合物としては、ナード研究所から入手したBF-227（2-（2-〔2-ジメチルアミノチアゾール-5-イル〕エテニル）-6-（2-〔フルオロ〕エトキシ）ベンゾオキサゾール（カタログ番号NP039-0））及びPBB3（2-（（1E, 3E）-4-（6-（メチルアミノ）

ピリジン-3-イル)ブター-1, 3-ジエニル)ベンゾ[d]チアゾール-6-オール)(カタログ番号NP039-0)を使用した。

[0215] 図1及び図2に示すように、SPALT-06及びSPALT-05は、PBB3より強い強度でDLBの患者脳で形成される α シヌクレイン凝集体に結合していることが確認された。また、SPALT-06及びSPALT-05の α シヌクレイン凝集体への結合性は、ADの患者脳で形成されるタウ又はアミロイド β の凝集体への結合よりも強いことが確認された。すなわち、本発明の化合物は α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高いことが示された。なお、多系統萎縮症(MSA)患者脳についても、上記DLB患者脳と同様にしてインビトロ蛍光顕微鏡測定を行ったところ、同様の結果を得た。

[0216] なお、 α シヌクレイン病変のPETプローブとして報告されているBF-227は、主としてADのアミロイド β 凝集体に結合し、 α シヌクレイン凝集体への結合は、SPALT-06及びSPALT-05に比較して弱いことが確認された。すなわち、BF-227は α シヌクレイン凝集体への結合選択性が低いことが示された。

[0217] [マウス脳の光学イメージング]

(α シヌクレイン線維接種マウスモデルの作製)

マウス α シヌクレインをリコンビナントタンパク質として大腸菌で発現させて抽出し、試験管内でインキュベートすると、不溶性の凝集体を形成する。この α シヌクレイン凝集体をマウスの線条体に接種すると、神経回路を経路として α シヌクレインの凝集体が周囲の領域に伝播し、数か月後には大脳新皮質で α シヌクレイン病変が観察される(Masuda-Suzukake et al. Acta Neuropathol Commun 2, 88, 2014; Shimozaawa et al. Acta Neuropathol Commun 5, 12, 2017)。このマウスの脳を摘出し、切片を作製して蛍光染色で解析すると、リン酸化 α シヌクレインからなる病変に、本発明の化合物が結合するかどうかを確認することができる。

[0218] (α シヌクレイン線維接種マウスモデル作製)

まず、マウス α シヌクレインをリコンビナントタンパク質として大腸菌で発現させて抽出し、試験管内でインキュベートして、不溶性の α シヌクレイン凝集体を形成した。そして、この α シヌクレイン凝集体をマウスの線条体に接種したところ、神経回路を経路として α シヌクレインの凝集体が周囲の領域に伝播し、数か月後には大脳新皮質で α シヌクレイン病変が観察された。なお、この α シヌクレイン凝集体のマウスの線条体への接種は、以下の方法で行った。まず、1. 5% (v/v) イソフルランで麻酔した9週齢のC57/BL/6オスマウスの頭部の毛を取り除き、頭皮をイソジンで消毒後、キシロカインを塗り、頭皮に切れ込みを入れて頭蓋を露出させた。そして、Bregma 0.05 mm、Lateral 2 mmの位置の頭蓋にドリルで穴を開け、ガラスピペットを用いて2 μ mの深さ位置に α シヌクレイン線維溶液（マウス α シヌクレイン線維 4 mg/ml in saline）3 μ lを注入した後、頭皮を戻して縫合した。

[0219] （インビトロ蛍光顕微鏡測定）

この α シヌクレイン線維接種マウスの脳を摘出し、切片を作製して蛍光染色で解析した。具体的には、 α シヌクレイン線維接種マウス脳切片と30 μ Mの化合物を20%エタノール溶液中にて30分間室温でインキュベートした。その後切片を20%エタノール溶液で5分間、超純水で3分間、2回洗浄した。封入剤（VECTASHIELD H-1000）を用いて切片を封入後、蛍光顕微鏡（DM4000（励起波長391–437 nm））を用いて切片上の α シヌクレイン凝集体蓄積領域の画像を取得した。リン酸緩衝液を用いて同一切片を洗浄後、抗原性賦活化のためにオートクレーブで処理した。抗リン酸化 α シヌクレインモノクローナル抗体（pS129、abcam、ab59264）（1:1000）による免疫組織化学染色を行い、封入剤（VECTASHIELD H-1000）を用いて切片を封入後、蛍光顕微鏡（DM4000（励起波長460–500 nm））を用いて上記と同一領域の画像を取得した。結果を図3に示す。図3の（a）及び（b）はそれぞれSPALT-05及びSPALT-06についての結果を示

し、図3の(a)及び(b)において、右側が抗リン酸化 α シヌクレイン抗体染色、左側がSPAL-T-05及びSPAL-T-06蛍光染色である。図3において、矢頭は α シヌクレイン線維接種マウス脳のリン酸化 α シヌクレインからなる病変、及びそれらに結合した化合物の蛍光を示している。

[0220] 図3の結果から、リン酸化 α シヌクレインからなる病変に、SPAL-T-05及びSPAL-T-06が結合することが示された。

[0221] [インビボ二光子レーザースキャニング蛍光顕微鏡検査]

α シヌクレイン線維溶液注入6週間以降のモデルマウスを1.5% (v/v) イソフルランで麻酔し、Seylaz-Tomita法 (Tomita et al., J Cereb Blood Flow Metab 25, 858-67, 2005) に従い頭蓋窓を設置した。頭蓋窓設置から2週間以降のマウスを1.5% (v/v) イソフルランで麻酔し、BF-227、PBB3、SPAL-T-05又はSPAL-T-06を0.1%含むDMSO溶液50 μ lを腹腔内投与した。投与30分後にマウスを二光子レーザ蛍光顕微鏡下に固定し、スルホローダミン101を5mM含む生理食塩水100 μ lを腹腔内投与した後、励起波長900nmにて生体二光子蛍光イメージングを行った。BF-227、PBB3、SPAL-T-05及びSPAL-T-06に対する検出波長を500~550nm、スルホローダミン101に対する検出波長を573~648nmとした。結果を図4に示す。図4において、矢頭は血管、矢印は α シヌクレイン病変に結合した化合物の蛍光を示している。

[0222] 図4の結果から、SPAL-T-05及びSPAL-T-06を腹腔内投与すると、該化合物が生体の脳内さらにニューロン内に移行して、個々の α シヌクレイン病変に結合する様子が生体二光子レーザ蛍光顕微鏡で観察された。したがって、該病変の密度又は総数が少なく、PETで検出困難な場合でも、本発明の化合物を用いた生体蛍光イメージングにより病変を検出可能であると言える。一方、BF-227及びPBB3を腹腔内投与して観察を行っても α シヌクレイン病変は検出されなかった。

[0223] [マウス脳のインビボPET (ポジトロン断層撮影法) イメージング]

PETスキャンは0.851mm厚で（中心間）95枚のスライス、19.0cm体軸方向視野（FOV）、及び7.6cm断面内FOVを提供する、micro PET Focus 220動物スキャナー（Siemens Medical Solutions）を用いて行った。スキャン前に、 α シヌクレイン線維接種マウス及び生理食塩水注入マウス（対照）を、1.5%（v/v）イソフルランで麻酔した。エミッションスキャンは、 $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06（SPAL-T-06をポジトロン放出核種で標識した化合物）（ $30.1 \pm 0.13 \text{ MBq}$ ）の静脈内注射後に、90分間、3Dリストモード、エネルギーウィンドウ350–750 keVで行った。放射性化合物の注射及びスキャンは、該化合物の光異性化を避けるように薄暗下で行った。全てのリストモードデータを、3Dサイノグラムにソートし、その後、Fourier-rebinningにより2Dサイノグラムに変換した（フレーム：10×1、6×5、5×10分）。放射性化合物の注射後、0～30分、30～60分、及び60～90分間での加算イメージを、最大事後確率推定法による再構成（maximum a posteriori reconstruction）により得た。また、ダイナミックイメージを、0.5mmハニングフィルターを用いて、フィルター補正逆投影法により再構成した。関心体積（Volume of interest（VOI））を、MRIテンプレートを参照して、線条体、大脳皮質及び小脳に、PMODイメージ分析ソフトウェア（PMOD Technologies）を用いて設定した。結果を図5～7に示す。

[0224] 図5左は $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06静注後30～60分における、 α シヌクレイン線維接種マウスの場合の結果であり、図5右は生理食塩水注入マウスの場合の結果であり、それぞれ上段が線条体を含む脳の冠状断面、下段が小脳を含む脳の冠状断面の画像で、標準脳MRI画像に重ね合わせて表示している。また、図6は線条体、大脳皮質、小脳における $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06静注後の時間－放射能曲線であり、図7の（a）～（d）は $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06静注後の小脳を対照とした線条体及び大脳皮質のs

t a n d a r d i z e d u p t a k e v a l u e r a t i o (S U V R) の時間推移、及び30～60分におけるS U V Rの平均の α シヌクレイン線維接種マウスと生理食塩水注入マウスとの比較である ($n=2$ 、平均 $\pm$ S E M s)。図7の(a)は、 $[^{18}\text{F}]$ S P A L - T - O 6 静注後の小脳を対照領域とした線条体のS U V Rの時間推移を、図7の(b)は、線条体のS U V R (対照領域：小脳)の30～60分における平均を、図7の(c)は、 $[^{18}\text{F}]$ S P A L - T - O 6 静注後の小脳を対照領域とした大脳皮質のS U V Rの時間推移を、そして図7の(d)は、大脳皮質のS U V R (対照領域：小脳)の30～60分における平均を、それぞれ示す。

[0225] S P A L - T - O 6 をポジトロン放出核種で標識し、 α シヌクレイン線維接種モデルマウス及び生理食塩水注入マウス(対照)に静注してP E T スキャンを実施したところ、図5～7に示すように、適切な脳移行性又は脳からのクリアランス速度を有し、P E T で α シヌクレイン凝集体を画像化するプローブとして良好な特性を示すことが明らかになった。なお、 α シヌクレイン線維接種モデルマウスでは、 α シヌクレイン病変を豊富に含む線条体及び大脳皮質への $[^{18}\text{F}]$ S P A L - T - O 6 の明らかな集積が見られ、 $[^{18}\text{F}]$ S P A L - T - O 6 を用いたP E T スキャンで α シヌクレイン凝集体を画像化できることが確認された。

[0226] [マウス脳のエキソビボイメージング]

生理食塩水注入マウスを1.5% (v/v) イソフルランで麻酔し、 $[^{18}\text{F}]$ S P A L - T - O 6 (28.9 MBq) を静脈内注射した。 $[^{18}\text{F}]$ S P A L - T - O 6 投与40分後に脳を採取して凍結し、クリオスタット(H M 5 6 0)内で20 μ m厚のB r e g m a 0.50、-0.46、-1.94、-3.16、-6.64 mmを含む冠状断凍結切片を作製した。切片を風乾後、カセット内にて切片とイメージングプレートを15分間コンタクトし、その後B A S - 5 0 0 0 (F u j i F i l m) を用いてオートラジオグラフを取得した。結果を図8に示す。

[0227] 図8の結果から、生理食塩水注入マウスに $[^{18}\text{F}]$ S P A L - T - O 6 を

静注しても、脳内に移行した該化合物は白質領域に非特異的な集積を示さないことが確認された。

[0228] [マーモセット脳のPET（ポジトロン断層撮影法）イメージング]

（ α シヌクレイン線維接種マーモセットモデル作製）

まず、マーモセット α シヌクレインをリコンビナントタンパク質として大腸菌で発現させて抽出し、試験管内でインキュベートして、不溶性の α シヌクレイン凝集体を形成した。そして、この α シヌクレイン凝集体をマーモセットの尾状核及び被殻に接種したところ、神経回路を経路として α シヌクレインの凝集体が周囲の領域に伝播し、数か月後には黒質で α シヌクレイン病変が観察された。この α シヌクレイン凝集体のマーモセットの尾状核及び被殻への接種は、以下の方法で行った。まず、ケタミン（5～10 mg/kg）及びキシラジン（0.2～0.5 mg/kg）により不動化したマーモセットに器官内チューブを挿管した後、1～3%（v/v）イソフルランで麻酔した。マーモセットの頭部の毛を取り除き、頭皮をイソジンで消毒後、キシロカインを塗り、頭皮に切れ込みを入れて頭蓋を露出させた。Interaural 9.75 mmの位置の頭蓋にドリルで穴（直径～3 mm）を開け、ハミルトンシリンジを用いて、右脳の尾状核及び被殻に α シヌクレイン線維溶液（マーモセット α シヌクレイン線維4 mg/ml in saline）50 μ lをそれぞれ注入した。さらに、左脳の尾状核及び被殻に同様の方法にて生理食塩水50 μ lをそれぞれ注入した後、頭皮を戻して縫合した。

[0229] （マーモセット脳のインビボPET（ポジトロン断層撮影法）イメージング）

PETスキャンは0.851 mm厚で（中心間）95枚のスライス、19.0 cm体軸方向視野（FOV）、及び7.6 cm断面内FOVを提供する、micro PET Focus 220動物スキャナー（Siemens Medical Solutions）を用いて行った。スキャン前に、 α シヌクレイン線維接種マーモセットを1～3%（v/v）イソフルラン

で麻酔した。トランスミッションスキャンは、PET校正用線源 $Ge-68$ を用いて約20分間実施した。エミッションスキャンは、 $[^{18}F]$ SPAL-T-06 (SPAL-T-06をポジトロン放出核種で標識した化合物) (73.0 MBq) の静脈内注射後に90分間、3Dリストモード、エネルギーウィンドウ350–750 keVで行った。放射性化合物の注射及びスキャンは、該化合物の光異性化を避けるように薄暗下で行った。全てのリストモードデータを、3Dサイノグラムにソートし、その後、Fourier-rebinningにより2Dサイノグラムに変換した(フレーム: 10×1、6×5、5×10分)。放射性化合物の注射後、0–30分、30–60分、及び60–90分間での加算イメージを、最大事後確率推定法による再構成(maximum a posteriori reconstruction)により得た。また、ダイナミックイメージを、0.5 mmハニングフィルターを用いて、フィルター補正逆投影法により再構成した。結果を図9に示す。図9の(a)は $[^{18}F]$ SPAL-T-06静注後20–60分における、 α シヌクレイン線維接種マーモセットの尾状核を含む脳の冠状断面画像で、標準脳MRI画像に重ね合わせて表示している。

[0230] (インビトロ蛍光顕微鏡測定)

この α シヌクレイン線維接種マーモセットの脳を摘出し、切片を作製して免疫組織化学染色で解析した。具体的には、リン酸緩衝液を用いて α シヌクレイン線維接種マーモセット脳切片を洗浄後、抗原性賦活化のためにオートクレーブで処理した。抗リン酸化 α シヌクレインモノクローナル抗体(pS129、abcam、ab59264) (1:1000) による免疫組織化学染色を行い、封入剤(VECTASHIELD H-1000)を用いて切片を封入後、蛍光顕微鏡(BZ-X710, KEYENCE (励起波長450–490 nm)、及びDM4000 (励起波長460–500 nm))を用いて画像を取得した。結果を図9に示す。図9の(b)は α シヌクレイン線維接種マーモセットの尾状核を含む脳の冠状切片の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体染色像である。2は α シヌクレイン線維を接種した右脳の尾状核

の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体染色の拡大画像、1は生理食塩水を注入した左脳の尾状核の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体染色の拡大画像である。

[0231] SPAL-T-06をポジトロン放出核種で標識し、 α シヌクレイン線維接種モデルマウスの脳に静注してPETスキャンを実施したところ、 α シヌクレイン病変を豊富に含む尾状核への $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06の明らかな集積が見られ、 $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06を用いたPETスキャンで α シヌクレイン凝集体を画像化できることが確認された。

[0232] [ヒト脳のインビトロ結合試験]

DLB患者脳扁桃体の新鮮凍結組織、及び、AD患者脳前頭皮質の新鮮凍結組織を使用した。新鮮凍結脳組織に、組織の湿重量の10倍量の緩衝液とジルコニアビーズ(ZB-20, TOMY)を加え、Micro Smash (MS-100R, TOMY)で粉砕した後、 -80°C で保存した。Tris-HCl緩衝液(20%エタノールを含む)中にDLB患者脳ホモジェネート又はAD患者脳ホモジェネート、 $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06(最終濃度5 nM)、非標識SPAL-T-06(最終濃度0.01 nM~1 μM)を混合した。室温で30分インキュベートした後、吸引ろ過及び洗浄によるB/F分離(B:結合リガンド、F:遊離リガンド)を行い、ガラスフィルター上に捕捉された放射能をガンマカウンター(2480WIZARD2、ParkinElmer)にて測定した。非標識SPAL-T-06の各濃度について、試験は三連にて実施した。結果をPrism 6J(GraphPad)を用いて解析し、被験物質の置換曲線、 IC_{50} を算出した。結果を図10に示す。

[0233] SPAL-T-06をポジトロン放出核種で標識し、DLB患者脳及びAD患者脳のホモジェネートを用いて結合試験を実施したところ、 α シヌクレイン病変を豊富に含むDLB患者脳ホモジェネートへの $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06の高い親和性での結合($\text{IC}_{50}=1.58$ nM)が確認された。AD患者脳ホモジェネートへの $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06の結合親和性は、DLB患者脳ホモジェネートと比較して低く($\text{IC}_{50}=10.86$ nM)、

[^{18}F] SPAL-T-06は、PETによるイメージングで α シヌクレイン凝集体を画像化するプローブとして良好な結合親和性を示し、また、 α シヌクレイン凝集体への結合は、タウ又はアミロイド β の凝集体への結合よりも強く、 α シヌクレイン凝集体に高い結合選択性を有することが確認された。

[0234] [ヒト脳のインビトロオートラジオグラフィ]

(解剖脳組織)

死後ヒト脳を、DLB患者、多系統萎縮症(MSA)患者、及び、健常対象者に対して行われた剖検から得た。凍結DLB組織、及び、凍結健常対象者組織をクリオスタット(HM560、Carl Zeiss)内で20 μm 厚にスライスした。また、MSA脳組織を10%中性緩衝ホルマリンに固定し、パラフィンブロックに埋め込み、6 μm 厚にスライスした。

[0235] (オートラジオグラフィ試験)

DLB患者脳扁桃体組織、及び、健常対象者脳前頭皮質組織の後固定新鮮凍結切片、及び、脱パラフィンしたMSA患者脳小脳組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片を使用した。 [^{18}F] SPAL-T-06 (最終濃度10nM) と脳組織切片を、20%エタノールを含む50mM Tris-HCl 中にて室温で1時間インキュベートした。特異結合を検出するため、 [^{18}F] SPAL-T-06 (最終濃度10nM) と非標識SPAL-T-06 (最終濃度10 μM) を含む50mM Tris-HCl (20%エタノールを含む) 中においても脳組織切片をインキュベートした。その後4℃の50mM Tris-HCl (20%EtOHを含む) にて切片を2分間、2回洗浄し、MilliQでリンスした。切片を風乾後、カセット内にて切片とイメージングプレートとを5分間コンタクトし、その後BAS-5000 (Fuji Film) を用いてオートラジオグラフを取得した。結果を図11に示す。図11の矢頭は、DLB患者脳、及び、MSA患者脳のリン酸化 α シヌクレインからなる病変を含む領域を示している。

[0236] (インビトロ蛍光顕微鏡測定)

オートラジオグラフィを実施した切片について、蛍光染色で解析した。具体的には、切片と30 μ MのSPAL-T-06を50%エタノール溶液中にて30分間室温でインキュベートした。その後切片を50%エタノール溶液で5分間、超純水で3分間、2回洗浄した。封入剤（VECTASHIELD H-1000）を用いて切片を封入後、蛍光顕微鏡（DM4000（励起波長391–437 nm））を用いて切片上の α シヌクレイン凝集体蓄積領域の画像を取得した。また、隣接する脳切片を、リン酸緩衝液を用いて洗浄後、抗原性賦活化のためにオートクレーブで処理した。抗リン酸化 α シヌクレインモノクローナル抗体（pS129、abcam、ab59264）（1：1000）による免疫組織化学染色を行い、封入剤（VECTASHIELD H-1000）を用いて切片を封入後、蛍光顕微鏡（BZ-X710（励起波長450–490 nm）及びDM4000（励起波長460–500 nm））を用いて画像を取得した。結果を図12に示す。図12の（a）（図中「1」で示す）はDLB患者脳の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体染色、及び、SPAL-T-06蛍光染色であり、図12の（b）（図中「2」で示す）はMSA患者脳の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体染色、及び、SPAL-T-06蛍光染色である。

[0237] SPAL-T-06をポジトロン放出核種で標識し、DLB患者脳扁桃体切片、MSA患者脳小脳切片、及び健常対象者脳前頭皮質切片を用いてオートラジオグラフィを実施したところ、DLB患者脳及びMSA患者脳のリン酸化 α シヌクレインからなる病変を豊富に含む領域への $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06の結合が確認された。オートラジオグラフィを実施した切片について、蛍光染色及び免疫組織化学染色を実施したところ、これらの脳切片に含まれる α シヌクレイン病変へのSPAL-T-06の結合が確認された。また、健常対象者脳前頭皮質切片においては、灰白質、白質の双方に $[^{18}\text{F}]$ SPAL-T-06の非特異結合はほとんど見られなかった。

産業上の利用可能性

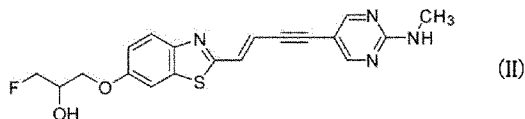
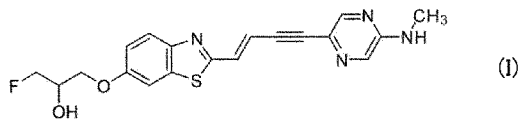
[0238] 本発明によれば、 α シヌクレイン凝集体への結合選択性が高い α シヌクレ

イン凝集体結合剤を提供することができる。そして、この α シヌクレイン凝集体結合剤を用いた、イメージング方法を提供することができる。また、 α シヌクレイン凝集体結合剤又はその他の用途に用いることができる新規化合物を提供することができる。

請求の範囲

【請求項1】 下記式（I）又は（I'）で表される化合物、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物。

【化1】



【請求項2】 前記式（I）又は（I'）で表される化合物において1個又はそれ以上の原子が該原子の放射性同位体である、請求項1に記載の化合物、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物。

【請求項3】 請求項1に記載の化合物、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含有する、 α シヌクレイン凝集体結合剤。

【請求項4】 請求項2に記載の化合物、その医薬として許容し得る塩、又はその溶媒和物を含有する、 α シヌクレイン凝集体結合剤。

【請求項5】 請求項3に記載の α シヌクレイン凝集体結合剤を含む、 α シヌクレイン凝集体の光学イメージング用組成物。

【請求項6】 請求項4に記載の α シヌクレイン凝集体結合剤を含む、 α シヌクレイン凝集体の放射イメージング用組成物。

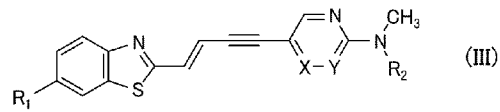
【請求項7】 請求項3に記載の α シヌクレイン凝集体結合剤を投与された被検体の生体脳に脳外から第1の波長の光を照射した後に、前記脳から発せられる、第1の波長とは異なる第2の波長の光を検出する工程を含む、脳内 α シヌクレイン凝集体の光学イメージング方法。

【請求項8】 請求項4に記載の α シヌクレイン凝集体結合剤を投与された被検体の生体脳から発せられる放射線を検出する工程を含む、脳内 α シヌクレイン凝集体の放射イメージング方法。

【請求項9】 下記式（I'）で表される、請求項1又は2に記載の化合物を合

成するための中間体。

[化2]

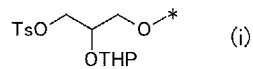


(式 (I I I) 中、

X 及び Y の一方は窒素原子 (N) であり、他方は置換されていない炭素原子 (C H) であり、

R₁ は、ヒドロキシ基又は下記式 (i) で表される基であり、

[化3]



ここで、T s は p -トルエンスルホン基を表し、

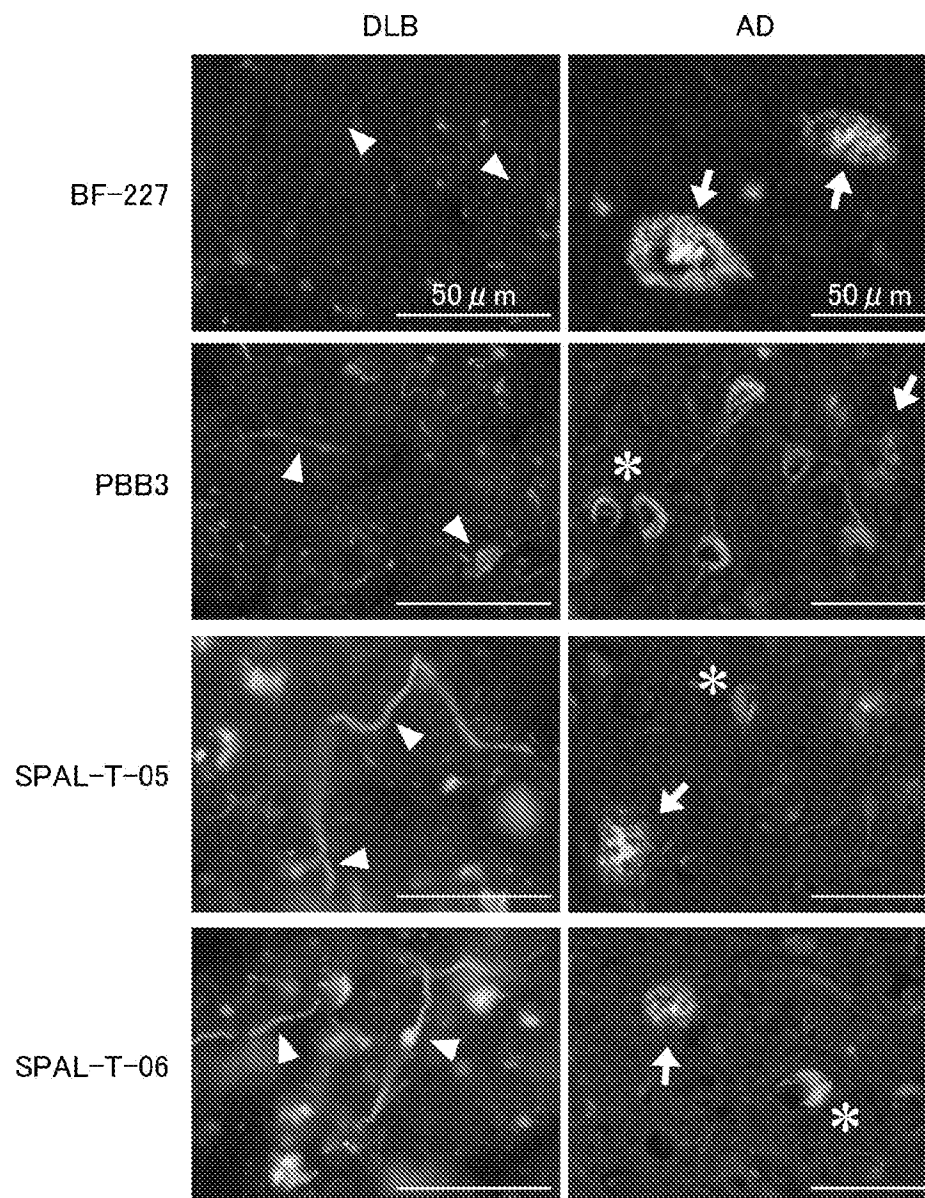
T H P はテトラヒドロ-2 H -ピラン-2 -イル基を表し、

* はベンゾチアゾール環との結合位置を表し、

R₂ は、水素原子又は t e r t -ブトキシカルボニル (B o c) 基である)

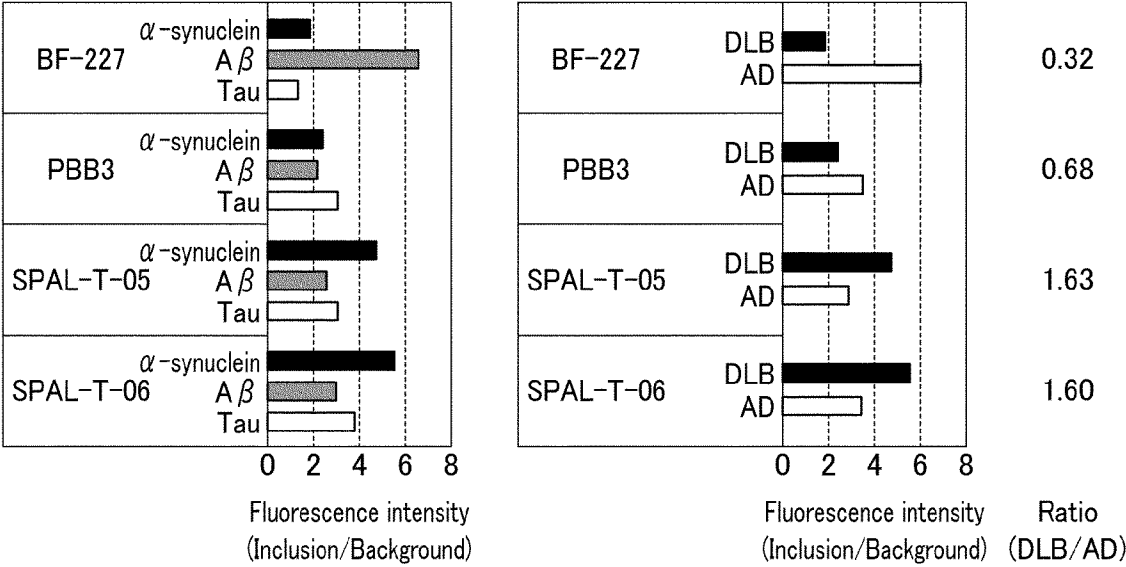
[図1]

図 1



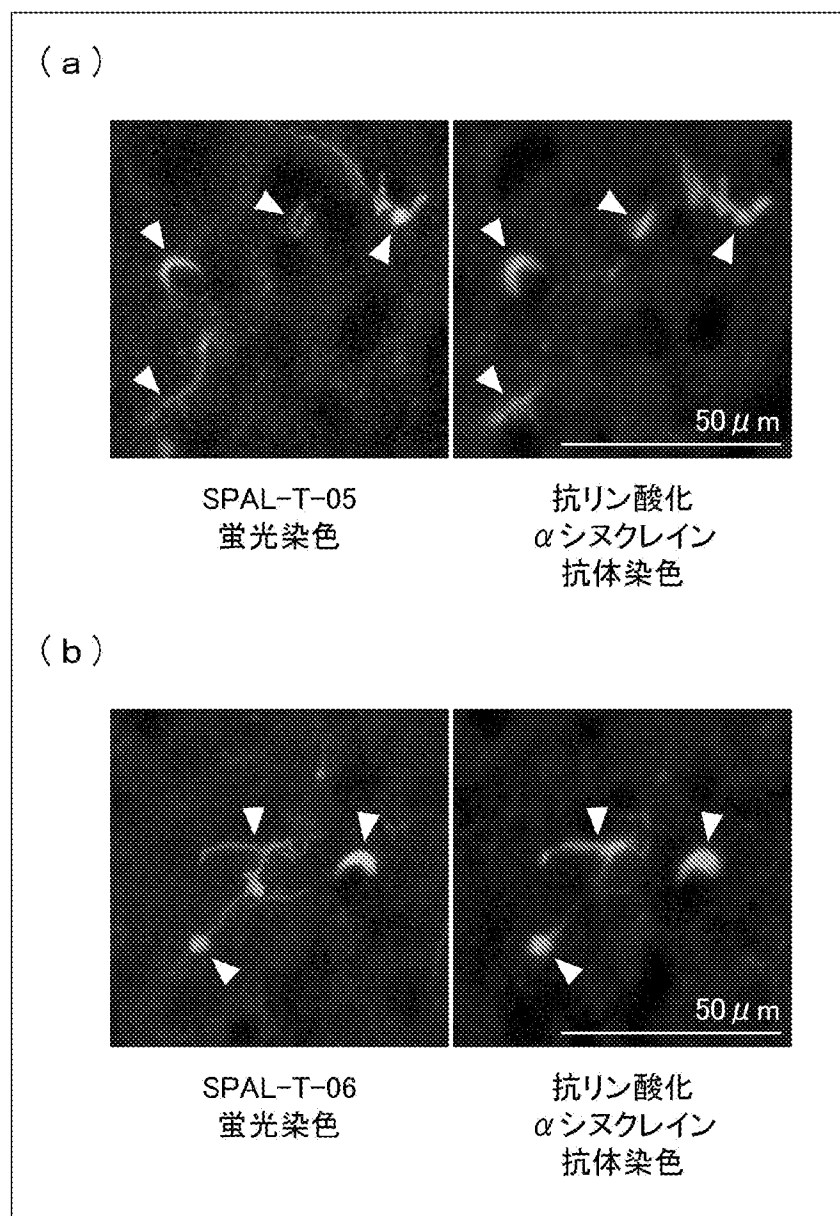
[図2]

図 2



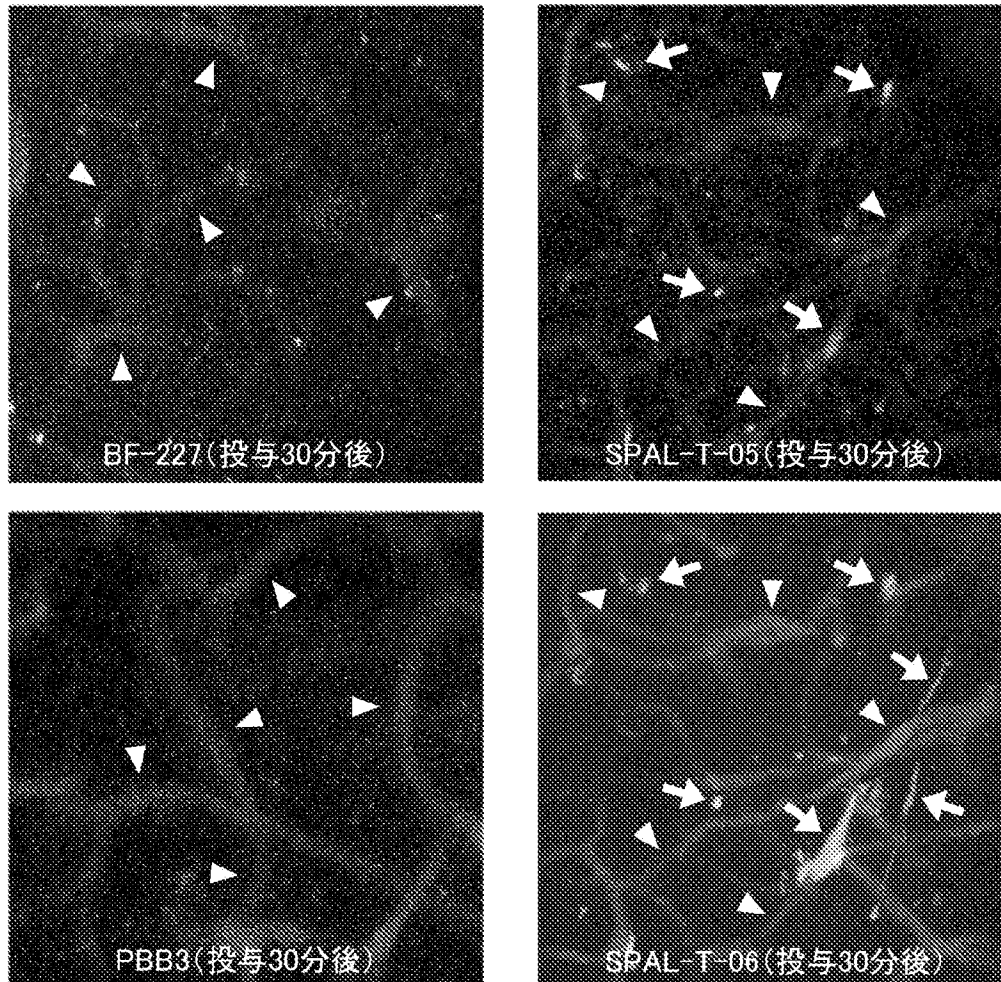
[図3]

図 3



[図4]

図 4



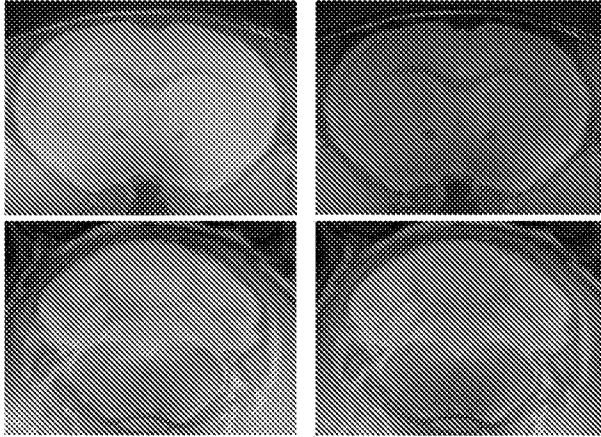
[図5]

図 5

[¹⁸F]SPAL-T-06, 30–60 min
SUVR (/cerebellum) images

α -Syn fibril-injected
mouse

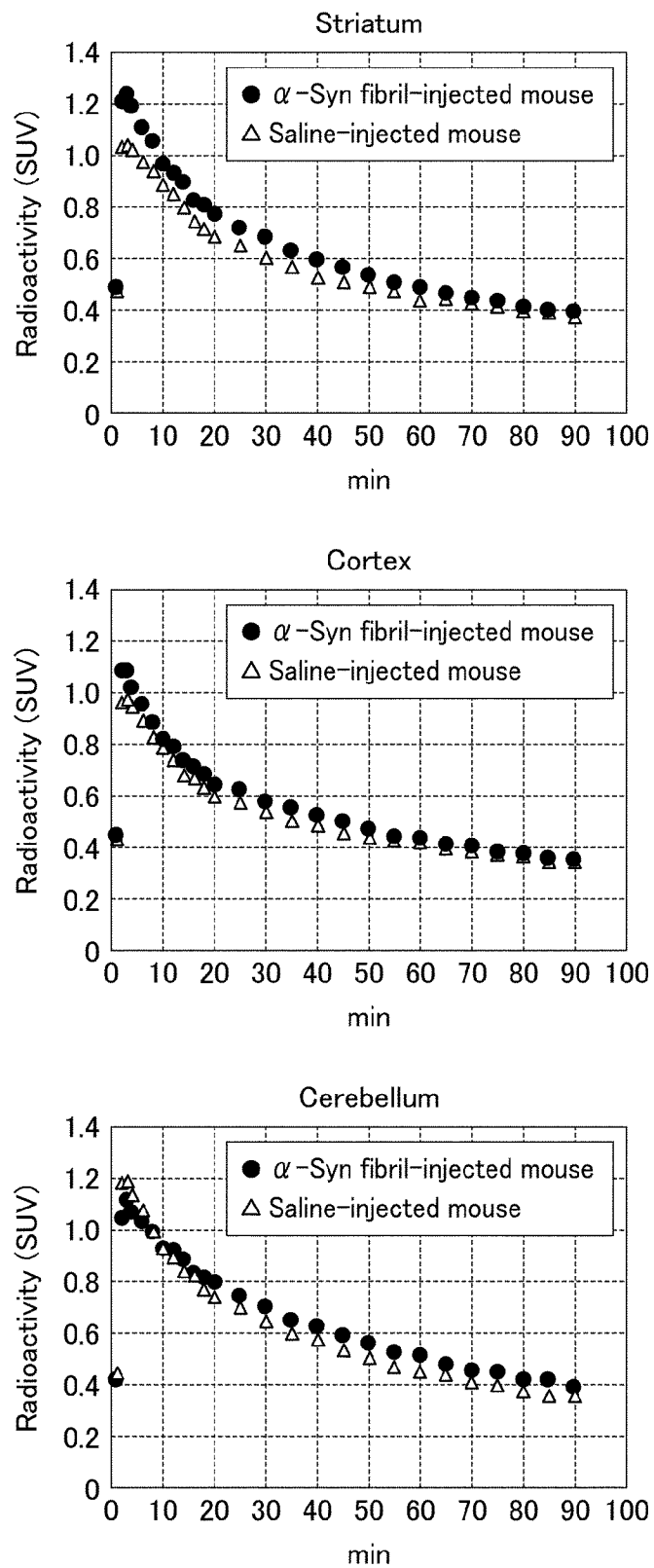
Saline-injected
mouse



SUVR 0.7 1.25

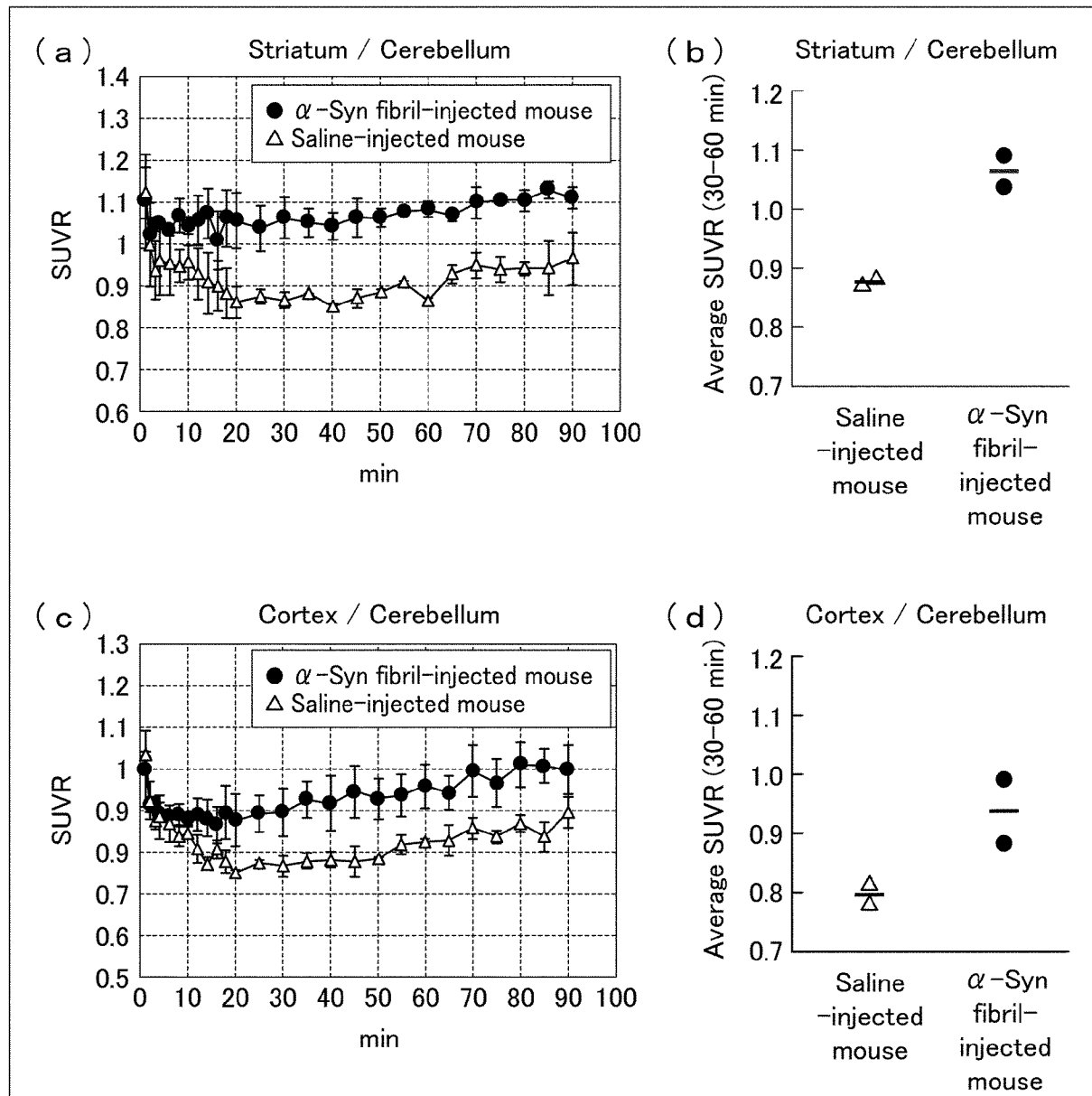
[図6]

図 6



[図7]

図 7

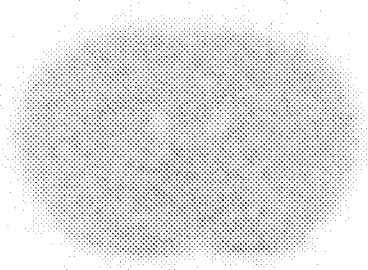


[図8]

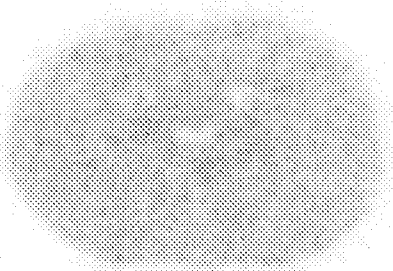
図 8

Bregma [18F]SPAL-T-06 (40 min)

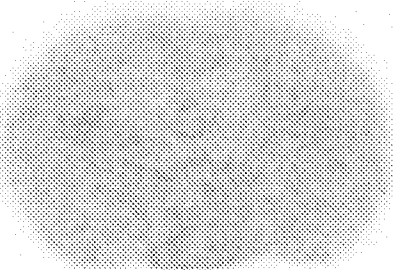
0.50 mm



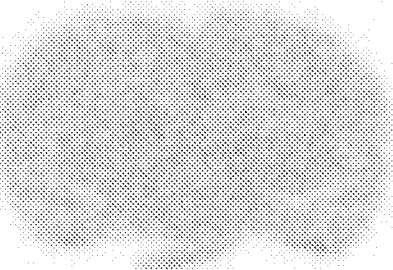
-0.46 mm



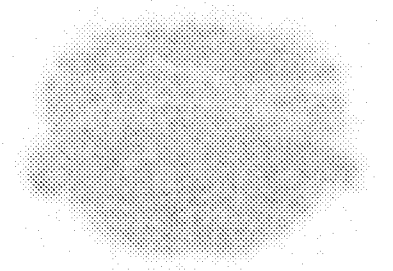
-1.94 mm



-3.16 mm

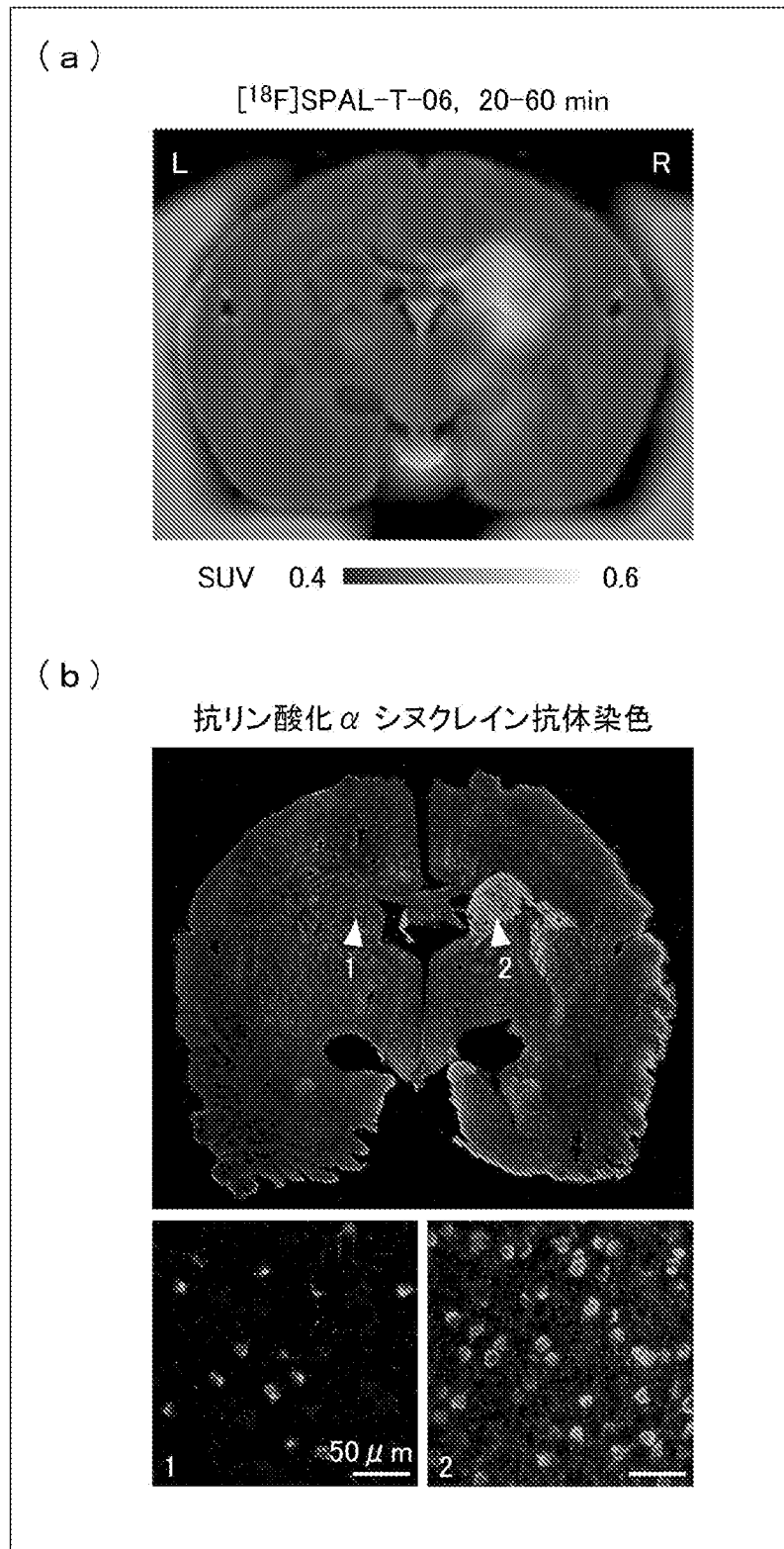


-6.64 mm



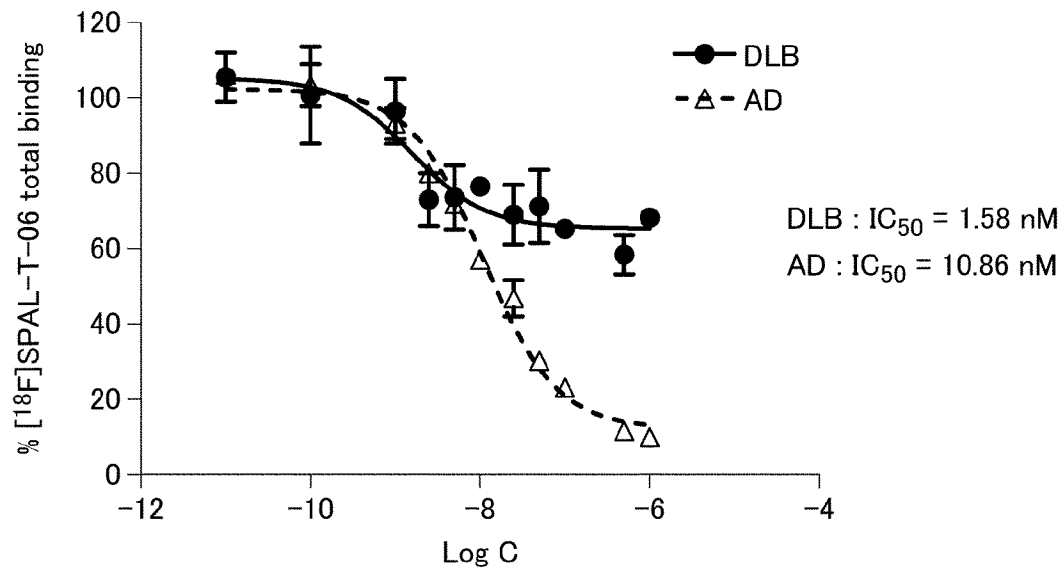
[図9]

図 9



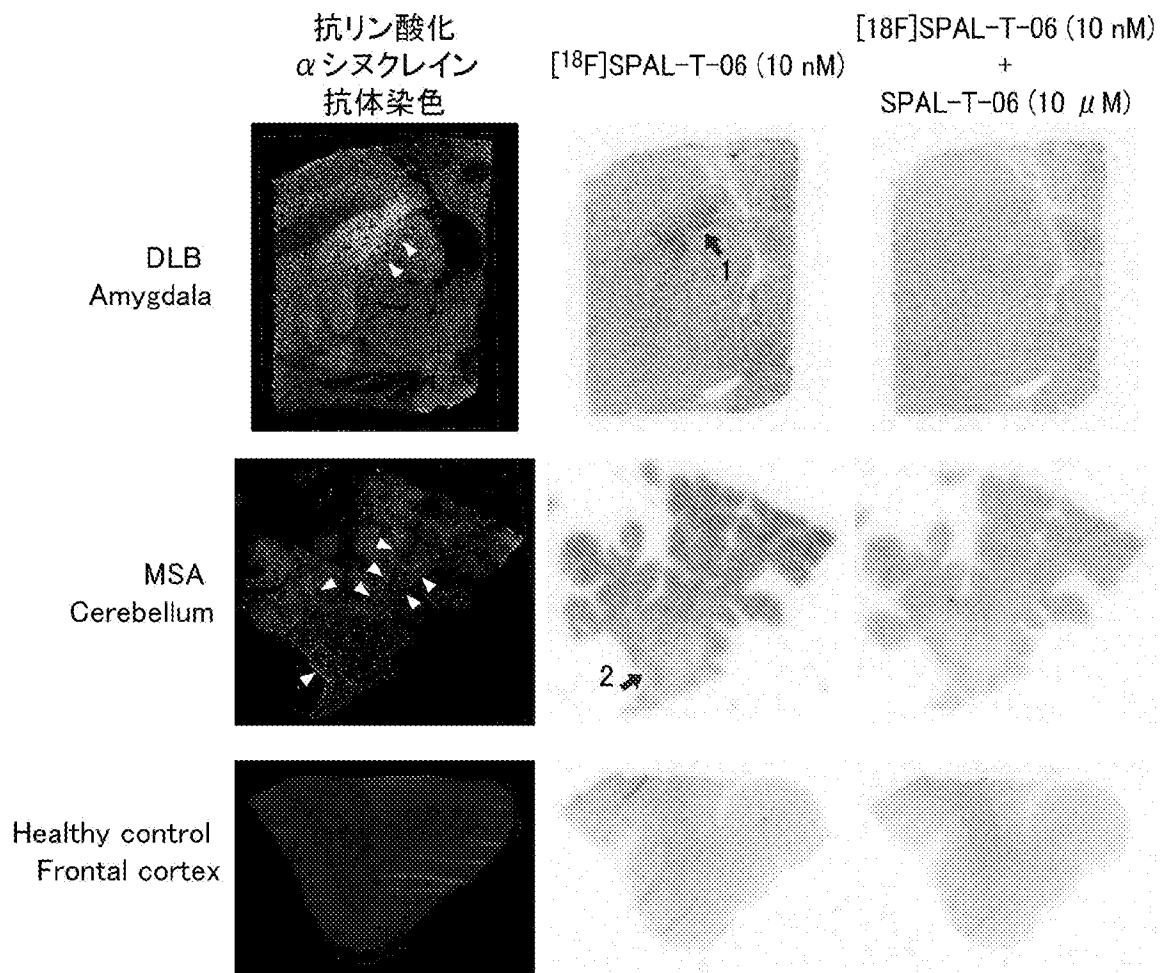
[図10]

図 10



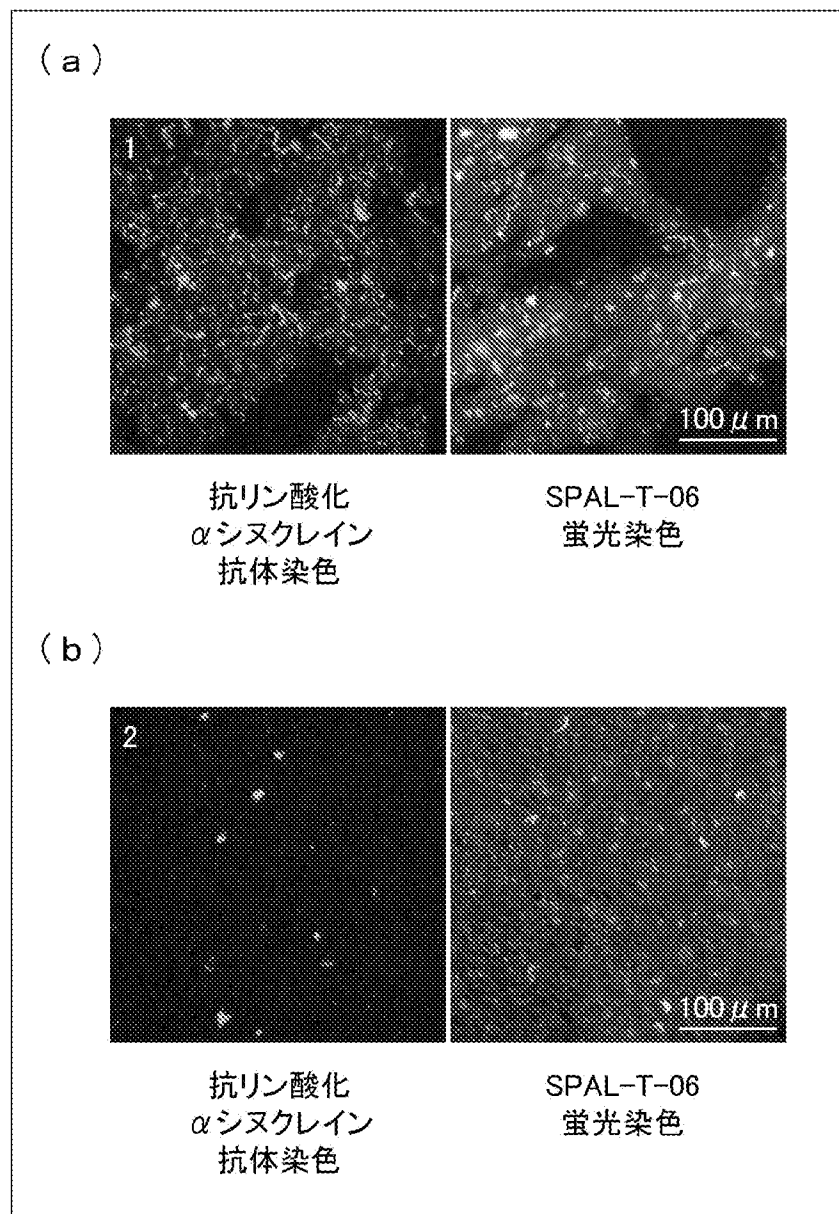
[図11]

図 11



[図12]

図 12



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/030899

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 417/06(2006.01)i; **A61K 31/497**(2006.01)i; **A61K 31/506**(2006.01)i; **A61K 49/00**(2006.01)i; **A61K 51/04**(2006.01)i; **A61P 43/00**(2006.01)i; **C07D 417/14**(2006.01)i

FI: C07D417/06 CSP; A61K31/497; A61K31/506; A61K49/00; A61K51/04 100; A61K51/04 200; A61P43/00 111; C07D417/14

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)

C07D417/06; A61K31/497; A61K31/506; A61K49/00; A61K51/04; A61P43/00; C07D417/14

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021
Registered utility model specifications of Japan 1996-2021
Published registered utility model applications of Japan 1994-2021

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

CAplus/REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2014/097474 A1 (NATIONAL INSTITUTE OF RADIOLOGICAL SCIENCES) 26 June 2014 (2014-06-26) entire text	1-9
A	WO 2018/138088 A1 (UCB BIOPHARMA SPRL) 02 August 2018 (2018-08-02) entire text	1-9
A	WO 2018/234864 A2 (KAINOS MEDICINE INC.) 27 December 2018 (2018-12-27) entire text	1-9
A	WO 2019/121661 A1 (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 27 June 2019 (2019-06-27) entire text	1-9
P, A	WO 2020/174963 A1 (NATIONAL INSTITUTES FOR QUANTUM AND RADIOLOGICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) 03 September 2020 (2020-09-03) entire text	1-9



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 application or patent 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

14 September 2021

Date of mailing of the international search report

28 September 2021

Name and mailing address of the ISA/JP

**Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan**

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2021/030899

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
WO	2014/097474	A1	26 June 2014	US	2015/0239878	A1
				entire text		
				EP	2767532	A1
				CN	104736524	A
				KR	10-2015-0095610	A
WO	2018/138088	A1	02 August 2018	US	2019/0367513	A1
				entire text		
				EP	3573986	A1
				CN	110167937	A
				KR	10-2019-0112022	A
WO	2018/234864	A2	27 December 2018	US	2020/0206191	A1
				entire text		
				EP	3641761	A2
				KR	10-2020-0010487	A
				CN	110891565	A
WO	2019/121661	A1	27 June 2019	CN	111511732	A
				entire text		
WO	2020/174963	A1	03 September 2020	(Family: none)		

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C07D 417/06(2006.01)i; A61K 31/497(2006.01)i; A61K 31/506(2006.01)i; A61K 49/00(2006.01)i; A61K 51/04(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C07D 417/14(2006.01)i FI: C07D417/06 CSP; A61K31/497; A61K31/506; A61K49/00; A61K51/04 100; A61K51/04 200; A61P43/00 111; C07D417/14																				
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C07D417/06; A61K31/497; A61K31/506; A61K49/00; A61K51/04; A61P43/00; C07D417/14 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2021年</td> </tr> </table> 国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAplus/REGISTRY (STN)			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2021年	日本国実用新案登録公報	1996-2021年	日本国登録実用新案公報	1994-2021年										
日本国実用新案公報	1922-1996年																			
日本国公開実用新案公報	1971-2021年																			
日本国実用新案登録公報	1996-2021年																			
日本国登録実用新案公報	1994-2021年																			
C. 関連すると認められる文献 <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014/097474 A1（独立行政法人放射線医学総合研究所）26.06.2014（2014-06-26） 全文</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018/138088 A1（UCB BIOPHARMA SPRL）02.08.2018（2018-08-02） 全文</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018/234864 A2（KAINOS MEDICINE INC.）27.12.2018（2018-12-27） 全文</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2019/121661 A1（F.HOFFMANN-LA ROCHE AG）27.06.2019（2019-06-27） 全文</td> <td>1-9</td> </tr> <tr> <td>P, A</td> <td>WO 2020/174963 A1（国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構）03.09.2020（2020-09-03） 全文</td> <td>1-9</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	A	WO 2014/097474 A1（独立行政法人放射線医学総合研究所）26.06.2014（2014-06-26） 全文	1-9	A	WO 2018/138088 A1（UCB BIOPHARMA SPRL）02.08.2018（2018-08-02） 全文	1-9	A	WO 2018/234864 A2（KAINOS MEDICINE INC.）27.12.2018（2018-12-27） 全文	1-9	A	WO 2019/121661 A1（F.HOFFMANN-LA ROCHE AG）27.06.2019（2019-06-27） 全文	1-9	P, A	WO 2020/174963 A1（国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構）03.09.2020（2020-09-03） 全文	1-9
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号																		
A	WO 2014/097474 A1（独立行政法人放射線医学総合研究所）26.06.2014（2014-06-26） 全文	1-9																		
A	WO 2018/138088 A1（UCB BIOPHARMA SPRL）02.08.2018（2018-08-02） 全文	1-9																		
A	WO 2018/234864 A2（KAINOS MEDICINE INC.）27.12.2018（2018-12-27） 全文	1-9																		
A	WO 2019/121661 A1（F.HOFFMANN-LA ROCHE AG）27.06.2019（2019-06-27） 全文	1-9																		
P, A	WO 2020/174963 A1（国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構）03.09.2020（2020-09-03） 全文	1-9																		
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。																				
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献																				
国際調査を完了した日 14.09.2021		国際調査報告の発送日 28.09.2021																		
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 神谷 昌克 4P 8379 電話番号 03-3581-1101 内線 3492																		

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/030899

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2014/097474	A1	26.06.2014	US	2015/0239878	A1	
				全文			
				EP	2767532	A1	
				CN	104736524	A	
				KR	10-2015-0095610	A	
WO	2018/138088	A1	02.08.2018	US	2019/0367513	A1	
				全文			
				EP	3573986	A1	
				CN	110167937	A	
				KR	10-2019-0112022	A	
WO	2018/234864	A2	27.12.2018	US	2020/0206191	A1	
				全文			
				EP	3641761	A2	
				KR	10-2020-0010487	A	
				CN	110891565	A	
WO	2019/121661	A1	27.06.2019	CN	111511732	A	
				全文			
WO	2020/174963	A1	03.09.2020	(ファミリーなし)			