



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102639154 B

(45) 授权公告日 2015.06.17

(21) 申请号 201080056579.3

(22) 申请日 2010.12.16

(30) 优先权数据

0921967.6 2009.12.17 GB

61/287233 2009.12.17 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012.06.13

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2010/069866 2010.12.16

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/073304 EN 2011.06.23

(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 H. J. 瓦德斯沃思 D. 奥舍亚

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

代理人 林毅斌 林森

(51) Int. Cl.

A61K 51/04(2006.01)

A61K 101/00(2006.01)

(56) 对比文件

MASAO IMAIZUMI, et al. Kinetic Evaluation in Nonhuman Primates of Two New PET Ligands for Peripheral Benzodiazepine Receptors in Brain. 《SYNAPSE》. 2007, 第 61 卷(第 8 期), 第 595 - 605 页.

审查员 沈小春

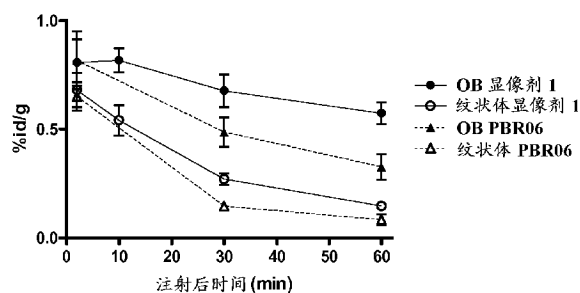
权利要求书2页 说明书19页 附图2页

(54) 发明名称

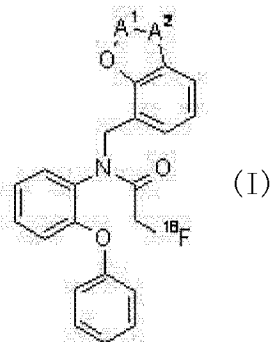
芳氧基酞苯胺显像剂

(57) 摘要

本发明提供适合体内显像的新的放射性标记芳氧基苯胺衍生物。与已知的芳氧基苯胺衍生物体内显像剂相比,本发明的体内显像剂具有更好的体内显像性质。本发明的体内显像剂在给予受试者后,证明对外周苯二氮_卓受体(PBR)良好的选择性结合,组合良好的脑吸收和体内动力学。



1. 一种式 I 体内显像剂：

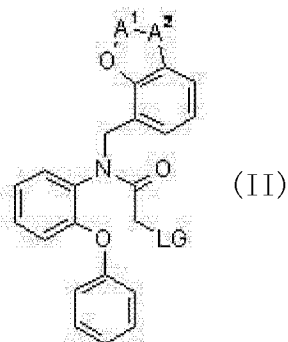


其中：

A¹是 -CH₂-；

A²是 -CH₂-、-O- 或 -O-CH₂-。

2. 权利要求 1 限定的体内显像剂的制备方法，其中所述方法包含使合适的 ¹⁸F 源与式 II 前体化合物反应：



其中 A¹和 A²如关于权利要求 1 中式 I 体内显像剂的限定，LG 是离去基团。

3. 权利要求 2 限定的方法，其中 LG 选自氯化物、溴化物、碘化物、甲苯磺酸酯、甲磺酸酯和三氟甲磺酸酯。

4. 权利要求 2 或 3 中限定的方法，其中所述方法为自动化的。

5. 在权利要求 2-4 中任一项的方法中限定的前体化合物。

6. 一种放射性药用组合物，其包含如权利要求 1 限定的体内显像剂以及适合哺乳动物给药形式的生物相容性载体。

7. 用于实施权利要求 4 限定的方法的盒，所述盒包含：

(i) 装有权权利要求 5 限定的前体化合物的容器；和

(ii) 用合适的 ¹⁸F 源洗脱容器的工具，其中所述合适的 ¹⁸F 源如权利要求 2 限定。

8. 权利要求 1 限定的体内显像剂用于制备权利要求 6 限定的放射性药用组合物的用途，所述放射性药用组合物用于一种用于确定受试者中 PBR 表达的分布和 / 或程度的体内显像方法，所述方法包含：

(i) 提供已预先给予权利要求 1 限定的体内显像剂的受试者；

(ii) 让所述体内显像剂与所述受试者的 PBR 结合；

(iii) 通过由所述体内显像剂的 ¹⁸F 发射的体内显像程序信号进行检测；

(iv) 产生代表所述信号的位置和 / 或量的图像；和

(v) 确定在所述受试者中 PBR 表达的分布和程度,其中所述表达与由所述体内显像剂发射的所述信号直接相关。

芳氧基酞苯胺显像剂

[0001] 发明的技术领域

[0002] 本发明涉及体内显像特别是外周苯二氮_卓受体 (PBR) 的体内显像。提供以纳摩尔亲和力结合 PBR, 给药后在脑内具有良好吸收, 和对 PBR 具有良好的选择性结合的芳氧基酞苯胺体内显像剂。本发明还提供可用于合成本发明体内显像剂的前体化合物, 以及包含使用所述前体化合物合成所述体内显像剂的方法, 和用于实施所述方法的试剂盒。还提供用于自动合成体内显像剂的盒。此外, 本发明提供包含本发明体内显像剂的放射性药用组合物, 以及使用所述体内显像剂的方法。

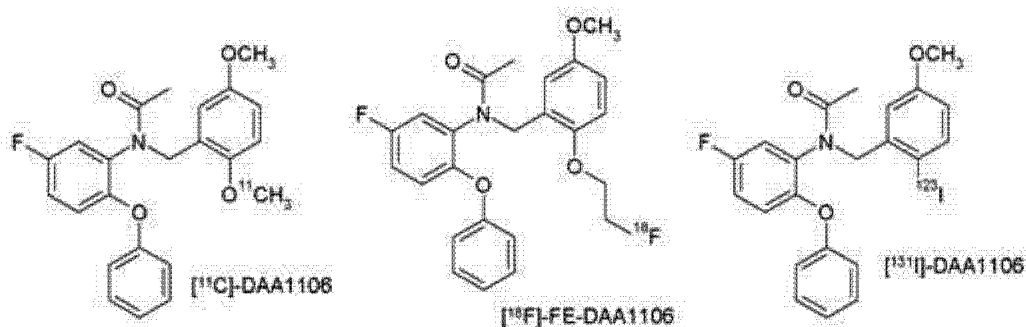
[0003] 相关技术的描述

[0004] 已知外周苯二氮_卓受体 (PBR) 主要局限于外周组织和胶质细胞中, 但其生理功能仍未得到清楚阐明。在亚细胞上, 已知 PBR 局限于线粒体外膜, 显示调节线粒体功能和在免疫系统中的潜在作用。而且已假定 PBR 涉及细胞增殖、甾体生成、钙流动和细胞呼吸。PBR 与多种病况关联, 包括急性和慢性应激、焦虑、抑郁、帕金森病、阿尔茨海默病、脑损伤、癌 (Gavish 等 Pharm Rev 1999; 51: 629)、亨廷顿病 (Meßmer 和 Reynolds Neurosci Lett 1998; 241: 53-6)、哮喘 (Pelaia 等 Gen Pharmacol 1997; 28(4): 495-8)、类风湿性关节炎 (Bribes 等 Eur J Pharmacol 2002; 452(1): 111-22)、动脉粥样硬化 (Davies 等 J Nucl Med 2004; 45: 1898-1907) 和多发性硬化 (Banati 等 Brain 2000; 123: 2321)。PBR 还与神经性疼痛关联, Tsuda 等已观察到在神经性疼痛受试者中活化的小胶质细胞 (TINS 2005; 28(2): 101-7)。

[0005] 使用 PBR 选择性配体——(R)-[¹¹C]PK11195 的正电子发射断层扫描 (PET) 显像提供中枢神经系统 (CNS) 炎症的一般指示。尽管成功使用 (R)-[¹¹C]PK11195, 但它具有其局限性。已知它具有高蛋白结合, 和对非特异性结合的低特异性。其放射性标记代谢物的作用未知, 结合的量化需要复杂模型化。已努力提供对 PBR 具有高亲和力和选择性以能够改善测量 CNS 中 PBR 的化合物。

[0006] 已提出芳氧基苯胺衍生物具有高 PBR 亲和力, 以及高 PBR 选择性, 超过中枢苯二氮_卓受体 (CBR) (Chaki 等 Eur J Pharmacol 1999; 371: 197-204)。[¹¹C]-DAA1106 和 [¹⁸F]-FE-DAA1106 是基于这些芳氧基苯胺化合物的 PET 放射性配体。这些 PET 放射性配体在 US 6870069 中教导, 并已在人类中研究 (Ikomo 等 J Cereb Blood Flow Metab 2007; 27: 173-84 和 Fujimura 等 J Nuc Med 2006; 47: 43-50)。在 WO 2007/074383 教导了备选放射性氟化 DAA1106 衍生物。备选 ¹¹C- 标记 DAA1106 衍生物描述于 WO 2007/036785。放射性碘化 DAA1106 描述于 EP 1854781, 和 Zhang 等 (J Med Chem 2007; 50: 848-55)。[¹¹C]-DAA1106、[¹⁸F]-FE-DAA1106 和 [¹²³I]-DAA1106 的化学结构如下:

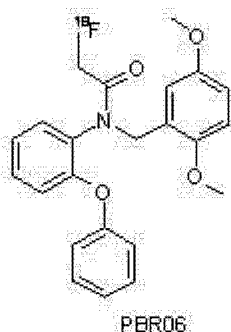
[0007]



[0008] 但是,这些化合物的动力学性质对于体内显像是不理想的,以致它们对定量研究的应用据信受到限制。

[0009] 最近,已报道称为 PBR06 的化合物具有比上述化合物改善的体内显像性质。该化合物的结构如下:

[0010]



[0011] 虽然在外周代谢很快,但 PBR06 的代谢物不穿透血脑屏障 (Briard 等 J Med Chem 2009; 52: 688-699)。与较早的化合物相反,几乎全部来自脑的信号都是来自完整的 PBR06。这使 PBR 在脑的浓度能够被精确测定。因此 PBR06 被视为有希望的体内显像剂。

[0012] 但是,如在本说明书指出,PBR06 在具有相对高表达 PBR 的组织(即嗅球)中与背景组织(即纹状体)相比的吸收比率并非体内显像的最佳值。还有改善完整化合物在脑内的比例余地。

[0013] 因此需要备选的体内显像剂,其具有比 PBR06 改善的体内显像性质,即在 PBR- 表达组织中特异性吸收更高,和 / 或完整化合物在脑内的比例更高。

[0014] 发明概述

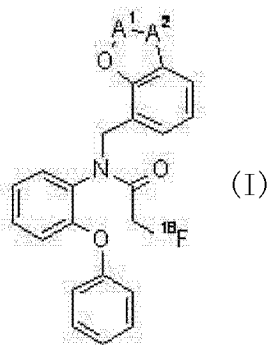
[0015] 本发明提供适合体内显像的新的放射性标记芳氧基苯胺衍生物。与已知的芳氧基苯胺衍生物体内显像剂相比,本发明的体内显像剂用于体内显像具有更好的性质。本发明的体内显像剂证明对外周苯二氮_草受体 (PBR) 改善的特异性结合,此外具有良好的脑吸收和有利的体内动力学。

[0016] 发明详述

[0017] 显像剂

[0018] 一方面,本发明提供式 I 体内显像剂:

[0019]



[0020] 其中：

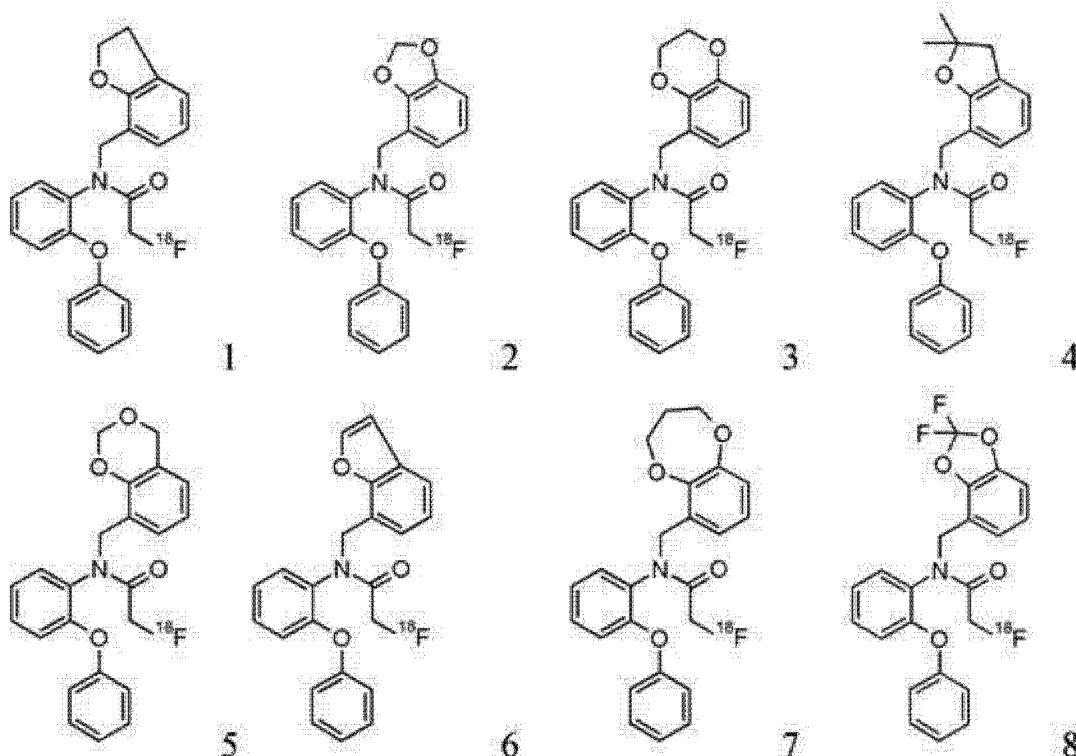
[0021] A^1 是 $-CR^1R^2-(CH_2)_n-$ 其中 R^1 和 R^2 独立选自氢、氟代基或 C_{1-3} 烷基, n 是 0、1 或 2；[0022] A^2 是 $-CH_2-$ 、 $-O-$ 或 $-O-CH_2-$ ；或者[0023] $-A^1-A^2-$ 是 $-CH=CH-$ 。

[0024] 在本发明上下文中“体内显像剂”是适合体内显像的放射性标记化合物。术语“体内显像”用于本文指非侵入性产生受试者全部或部分内部方面的图像的那些技术。此类体内显像方法的实例是单光子发射计算断层扫描 (SPECT) 和正电子发射断层扫描 (PET)。

[0025] 除非另外指定, 术语“烷基”单独或组合, 指含有优选为 1-3 个碳原子的直链或支链烷基。此类基团的实例包括甲基、乙基和丙基。

[0026] 一些本发明体内显像剂的实例如下：

[0027]



[0028] 式 I 的 A^1 优选 $-CR^1R^2-(CH_2)_n-$, 最优选 $-(CH_2)_m-$ 其中 m 是 1、2 或 3, 特别优选 1 或 2。式 I 的 A^2 优选 $-CH_2-$ 或 $-O-$ 。特别优选 $-A^1-A^2-$ 选自 $-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-O-$ 和 $-CH_2-CH_2-O-$ 。本发明的优选体内显像剂是体内显像剂 1-4, 最优选体内显像剂 1-3, 特别优选体内显像剂 1 和 2, 最特别优选体内显像剂 1。

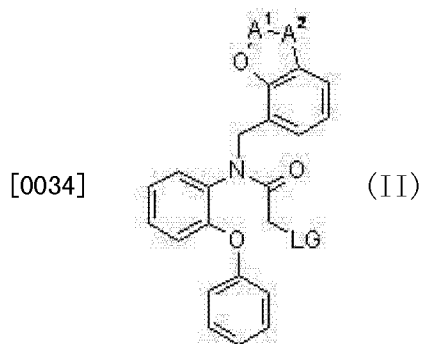
[0029] 实施例 11 描述用于比较本发明体内显像剂与 PBR06 的大鼠生物分布模型。与 PBR06 相比的 OB: 纹状体吸收评价揭示, 体内显像剂 1 在 OB 吸收比在纹状体相对更大 (见本文图 1), 体内显像剂 2 和 3 与 PBR06 可相比 (见图 2 和 3)。因为已知 OB 与大鼠脑其它区域相比表达较高水平的 PBR (见“Handbook of Substance Abuse (药物滥用手册)” Tarter, Ammerman 和 Ott; Springer 1998: 398-99), 所以 OB: 纹状体比率是测试化合物吸收特异性的量度。

[0030] 实施例 12 描述用于评价在注射后 60 分钟大鼠脑的完整测试体内显像剂的量的测定。体内显像剂 1-4 证明与 PBR06 同样有利的代谢分布, 即发现在注射后 60 分钟在脑内高比例的放射性是完整的测试化合物。发现体内显像剂 1 和 2 与 PBR06 相比在注射后 60 分钟在脑内具有甚至更高的完整比例。

[0031] 本文显示本发明的体内显像剂与已知的此类剂相比具有优越的 PBR 体内显像性质。

[0032] 制备方法

[0033] 又一方面, 本发明提供制备如本文限定的体内显像剂的方法, 其中所述方法包含使合适的 ^{18}F 源与式 II 前体化合物反应:



[0035] 其中 A^1 和 A^2 如本文关于式 I 体内显像剂同样适合和优选地限定, LG 是离去基团。

[0036] “前体化合物”包含体内显像剂的非放射性衍生物, 如此设计以便与方便的 ^{18}F 化学形式发生位点特异性化学反应; 可以最少步骤 (理想的是单步骤) 进行; 不需要显著纯化 (理想的是不再纯化), 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。

[0037] 术语“合适的 ^{18}F 源”指化学形式的 ^{18}F , 其对前体化合物的取代基为反应性以便 ^{18}F 变为共价连接从而形成期望的体内显像剂。

[0038] 广义来讲, 前体化合物与所述合适 ^{18}F 源“反应”的步骤包括在适合以尽可能高的放射化学收率 (RCY) 形成期望的体内显像剂的反应条件下将两种反应物放在一起。一些更详细的途径在下文实验部分呈现。

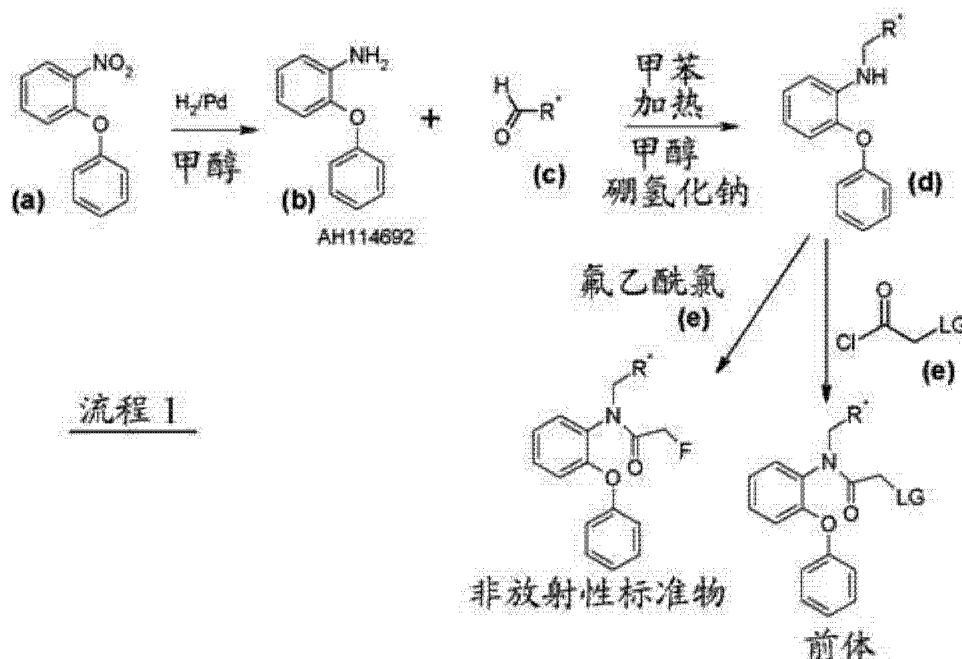
[0039] 术语“离去基团”指在异裂中留下具有一对电子的分子的原子或原子团, 通常将被亲核试剂置换。离去基团可以是阴离子或中性分子。优选的离去基团 (LG) 如下文提到。

[0040] Okubu 等 (2004 Bioorg. Med. Chem.; 12: 423-38) 描述了获得非放射性芳氧基酰苯胺化合物的方法。获得芳氧基酰苯胺化合物的合成流程还由 Briard 等 (J. Med. Chem. 2008; 51: 17-31)、Wilson 等 (Nuc. Med. Biol. 2008; 35: 305-14) 和 Zhang 等 (J. Med. Chem. 2007; 50: 848-55) 描述。可轻易地改编这些现有技术方法以获得式 II 的前体化合

物。

[0041] 下文流程 I 是获得非放射性标准物和适合制备本发明体内显像剂的前体化合物的一般反应流程：

[0042]



[0043] 在以上反应流程中，LG 是如本文限定的离去基团，R*代表包括 A 环的稠合双环结构，如包含在上文式 I 和式 II 中。将市售获得 2-硝基联苯基醚 (a) 的硝基通过氢化还原得到相应的苯胺 (b)。用芳族醛 (c) 还原性烷化得到苄胺 (d)。与适当的乙酰基 (e) 反应得到期望的非放射性标准物或前体化合物。

[0044] 通过从式 II 前体化合物亲核置换离去基团 LG 完成用 ^{18}F 标记。优选的离去基团 (LG) 包括氯化物、溴化物、碘化物、甲苯磺酸酯、甲磺酸酯、三氟甲磺酸酯，最优选溴化物和甲苯磺酸酯。可在一步反应中标记式 II 的前体化合物，其中合适的 ^{18}F 源是 $[\text{F}^{18}]^-$ 氟化物。用于放射性氟化反应的 $[\text{F}^{18}]^-$ 氟化物 (^{18}F) 通常作为水溶液从核反应 $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ 获得，并通过添加阳离子反离子然后除去水而制成反应性的。合适的阳离子反离子应具备在无水反应溶剂中充分的溶解度以维持 ^{18}F 的溶解度。因此，已使用的反离子包括大但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。优选反离子是与与穴合剂比如 Kryptofix™络合的钾，因为其在无水溶剂中良好的溶解度和提高的 ^{18}F 反应性。

[0045] 为确保放射性氟化在特定位点发生，可能需要将前体化合物选择性化学保护。上文已讨论保护基团。

[0046] 将前体化合物理想地以无菌、无热原形式提供。因此可将其用于制备包含体内显像剂和适合哺乳动物给药的生物相容性载体的药用组合物。前体化合物还适合作为组分包含在用于制备此类药用组合物的试剂盒中。

[0047] 在一个优选实施方案中，将前体化合物提供在溶液中和作为试剂盒或经设计用于自动合成装置的盒的一部分。这些方面在下文关于本发明的另外的方面更详细地讨论。

[0048] 在另一个优选实施方案中，前体化合物与固相结合。优选使前体化合物共价连接至固体载体基质而供应。这样，期望的产物在溶液中形成，而原料和杂质保持与固相结

合。作为此类系统的一个实例,用 ^{18}F - 氟化物进行固相亲电氟化的前体化合物描述于 WO 03/002489,用 ^{18}F - 氟化物进行固相亲核氟化的前体化合物描述于 WO 03/002157。

[0049] 为便于实施,优选本发明的方法自动化。

[0050] 前体化合物

[0051] 如上文关于本发明方法描述的适合和优选的前体化合物本身形成本发明另外的方面。

[0052] 放射性药用组合物

[0053] 又一方面,本发明提供“放射性药用组合物”,它是包含本发明的体内显像剂以及适合哺乳动物给药形式的生物相容性载体的组合物。

[0054] “生物相容性载体”是流体,特别是液体,其中使体内显像剂悬浮或溶解,以便放射性药用组合物在生理学上可耐受,即可给予哺乳动物体且无毒性或过度不适。生物相容性载体适合地是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用于注射的终产物等渗或不低渗);一种或多种张度调节物(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。

[0055] 当包含在本发明的放射性药用组合物中时,体内显像剂的合适和优选实施方案如上文限定。

[0056] 放射性药用组合物可以胃肠外给药,即通过注射给药,最优选水溶液。此类组合物可任选含有其它成分比如缓冲液;药学上可接受的增溶剂(如环糊精或表面活性剂比如 Pluronic、Tween 或磷脂);药学上可接受的稳定剂或抗氧化剂(比如抗坏血酸、龙胆酸或对氨基苯甲酸)。当将本发明的体内显像剂作为放射性药用组合物提供时,制备所述体内显像剂的方法可进一步包含获得放射性药用组合物需要的步骤,如除去有机溶剂,加入生物相容性缓冲液和任何任选其它成分。关于胃肠外给药,还需要采取确保放射性药用组合物无菌和无热原的步骤。

[0057] 试剂盒和盒

[0058] 在优选实施方案中,制备本发明体内显像剂的方法通过试剂盒或者使用可插入自动合成仪的盒实施。这些试剂盒和盒继而形成本发明其它方面,特别方便制备如本文限定的本发明放射性药用组合物。

[0059] 本发明的试剂盒包含在密封容器中的本发明的前体化合物。“密封容器”优选允许维持无菌完整性和/或放射安全性,任选加上惰性顶空气体(如氮气或氩气),同时允许通过注射器添加或抽出溶液。优选的密封容器是隔膜密封管瓶,其中用顶封(overseal,通常为铝的)使气密式封闭物(closure)折边。此类密封容器具有另外的优点,即封闭物可经得起真空,如果期望,如用于改变顶空气体或给溶液除气。

[0060] 当用于本发明试剂盒时,前体化合物的合适和优选实施方案如已在本文描述的。

[0061] 可在无菌制备条件下采用用于试剂盒的前体化合物以得到期望的无菌、无热原材料。或者可在非无菌条件下采用前体化合物,接着用如 γ - 照射、高压灭菌、干热或化学处

理（如用环氧乙烷）终末消毒。优选提供无菌、无热原形式的前体化合物。最优选将无菌、无热原前体化合物在如上文描述的密封容器中提供。

[0062] 优选试剂盒的所有组分都是一次性的，以将多次运行之间污染的可能性降到最低并确保无菌和质量保证。

[0063] 另一方面，本发明提供盒，其可插入适当修改的自动合成仪用于合成本发明的体内显像剂。特别是现在经常方便地在自动放射合成装置上制备 [^{18}F]-放射性示踪剂。此类装置有几种可市售获得的实例，包括 Tracerlab[™] 和 Fastlab[™]（两种都购自 GE Healthcare）。通过将盒装在装置上，在自动合成装置上进行放射化学。盒正常包括流体通道、反应器和接收试剂管瓶的口以及用于放射合成后清洁步骤的任何固相提取柱体。

[0064] 用于自动合成本发明体内显像剂的盒包含：

[0065] (i) 装有如本文限定的前体化合物的容器；和

[0066] (ii) 用合适的 ^{18}F 源洗脱容器的工具，如本文限定。

[0067] 盒可另外包含：

[0068] (iii) 用于除去过量 ^{18}F 的离子交换柱体；和任选的

[0069] (iv) 用于将所得放射性标记产物脱保护以形成如本文限定体内显像剂的柱体。

[0070] 还可包括自动合成需要的试剂、溶剂及其它消耗品，以及数据媒介，比如携带软件的光盘，其允许自动合成仪以一定方式操作以满足最终使用者对浓度、体积、递送时间等的要求。

[0071] 使用方法

[0072] 又一方面，本发明提供用于确定受试者 PBR 表达的分布和 / 或程度的体内显像方法，其包含：

[0073] (i) 给予所述受试者如本文限定的体内显像剂；

[0074] (ii) 让所述体内显像剂与所述受试者的 PBR 结合；

[0075] (iii) 检测由所述体内显像剂的 ^{18}F 发射的体内显像程序信号；

[0076] (iv) 产生代表所述信号的位置和 / 或量的图像；和

[0077] (v) 确定在所述受试者中 PBR 表达的分布和程度，其中所述表达与由所述 ^{18}F 发射的所述信号直接相关。

[0078] 关于本发明的体内显像方法，体内显像剂的合适和优选方面如在说明书中较早时限定的。

[0079] “给予”体内显像剂优选胃肠外实施，最优选静脉内实施。静脉内途径代表将体内显像剂递送至受试者身体各处，因此也跨过血脑屏障 (BBB) 并与表达于所述受试者的 PBR 接触的最有效方式。本发明的体内显像剂优选作为本发明的药用组合物给药，如本文限定。在备选实施方案中，可将给药步骤理解为在体内显像方法本身之前实施的预步骤，使得可将步骤 (i) 限定为提供已预先给予体内显像剂的受试者。

[0080] 在给药步骤之后和检测步骤之前，让体内显像剂与 PBR 结合。例如，当受试者是完整的哺乳动物时，体内显像剂将动态移动通过哺乳动物体，接触其中各种组织。一旦体内显像剂接触 PBR，则发生特异性相互作用，以致体内显像剂从具有 PBR 的组织清除比没有或较少 PBR 的组织要更久。将达到一定时间点，此时能够检测与 PBR 特异性结合的体内显像剂，作为在具有 PBR 的组织中结合与在没有或较少 PBR 的组织中结合的体内显像剂之间比率的

结果。理想地,该比率是 2:1 或更大。

[0081] 本发明方法的“检测”步骤包括通过正电子发射断层扫描 (PET) 检测器检测由 ^{18}F 发射的信号。这种检测步骤也可理解为信号数据的采集。

[0082] 本发明方法的“产生”步骤通过计算机进行,其将重建程序应用于采集的数据以得到数据集。然后处理该数据集以产生显示由所述 ^{18}F 发射的信号位置和 / 或量的图像。发射的信号与 PBR 的表达直接相关,使得可通过评价产生的图像进行“确定”步骤。

[0083] 本发明的“受试者”可以是任何人或动物受试者。优选本发明的受试者是哺乳动物。最优选所述受试者是完整的哺乳动物活体。在特别优选的实施方案中,本发明的受试者是人。体内显像方法可用于在健康受试者中,或者在已知或怀疑具有与 PBR 异常表达关联的病理状态 (“PBR 病况”) 的受试者中研究 PBR。本发明的体内显像剂特别适合在中枢神经系统 (CNS) 中 PBR 表达的体内显像。

[0084] 在备选实施方案中,本发明的体内显像方法可在所述受试者治疗方案过程中重复实施,所述方案包含给予药物以对抗 PBR 病况。例如,本发明的体内显像方法可在用药物治疗以对抗 PBR 病况之前、期间和之后实施。这样,可随着时间推移监测所述治疗的效果。PET 显像特别适合本实施方案。PET 具有优秀的灵敏度和分辨率,使得随着时间推移可观察到病变甚至相对小的改变,这有利于治疗监测。PET 扫描仪常规测量皮摩尔范围的放射性浓度。微-PET 扫描仪现在达到约 1 mm 的空间分辨率,临床扫描仪为约 4-5mm。

[0085] 优选所述方法涉及已知或怀疑具有 PBR 病况的受试者的体内显像,因此可用作所述病况诊断方法的部分。本发明的体内显像方法因此可包含进一步的步骤 (vi) 将 PBR 表达的分布和程度归于诊断所述受试者是否患有 PBR 病况。其中体内显像将有用的此类 PBR 病况实例包括神经病理学比如帕金森病、多发性硬化、阿尔茨海默病和其中存在神经炎症的亨廷顿病。可用本发明化合物有效显像的其它 PBR 病况包括神经性疼痛、关节炎、哮喘、动脉粥样硬化,一定范围的恶性疾病包括但不限于结肠直肠癌和乳腺癌,还有一定范围的心境障碍包括但不限于双相精神障碍、精神分裂症、焦虑症和创伤后应激障碍。

[0086] 另一方面,本发明提供如本文限定的体内显像剂,用于如本文适合和优选限定的体内显像方法。

[0087] 又一方面,本发明提供如本文限定的体内显像剂,用于制备如本文限定的放射性药用组合物,所述组合物用于如本文适合和优选限定的体内显像方法。

[0088] 现在通过一系列非限制性实施例说明本发明。

[0089] 实施例简述

[0090] 实施例 1 描述体内显像剂 1 的直接标记前体的合成。

[0091] 实施例 2 描述体内显像剂 2 的直接标记前体的合成。

[0092] 实施例 3 描述体内显像剂 3 的直接标记前体的合成。

[0093] 实施例 4 描述体内显像剂 4 的直接标记前体的合成。

[0094] 实施例 5 描述用于获得体内显像剂 1-4 的放射性氟化方法。

[0095] 实施例 6 描述体内显像剂 1 的非放射性标准物的合成。

[0096] 实施例 7 描述体内显像剂 2 的非放射性标准物的合成。

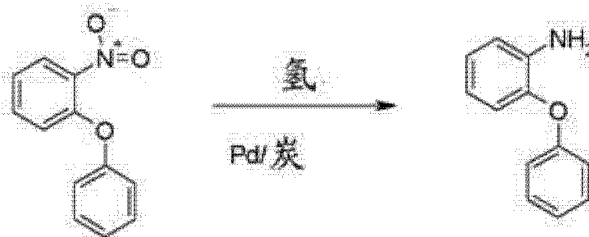
[0097] 实施例 8 描述体内显像剂 3 的非放射性标准物的合成。

[0098] 实施例 9 描述体内显像剂 4 的非放射性标准物的合成。

- [0099] 实施例 10 描述用于评价本发明显像剂的非放射性标准物对 PBR 亲和力的体外测定。
- [0100] 实施例 11 描述用于确定静脉内给药后本发明显像剂生物分布的动物模型。
- [0101] 实施例 12 描述用于评价静脉内给药后本发明显像剂代谢的测定。
- [0102] 用于实施例的缩写名单
- [0103] °C 摄氏度
- [0104] aq 水性
- [0105] BGO 锗酸铋
- [0106] DCM 二氯甲烷
- [0107] DMF 二甲基甲酰胺
- [0108] DMSO 二甲基亚砷
- [0109] EtOAc 乙酸乙酯
- [0110] g 克
- [0111] h 小时
- [0112] K_i 最大抑制的一半需要的化合物浓度
- [0113] MBq 兆贝可勒尔
- [0114] mg 毫克
- [0115] min 分钟
- [0116] ml 毫升
- [0117] mM 毫摩尔的
- [0118] mmol 毫摩尔
- [0119] n 实验号
- [0120] NMR 核磁共振
- [0121] PBR 外周苯二氮_草受体
- [0122] rpm 每分钟转数
- [0123] TEA 三乙胺
- [0124] TLC 薄层层析
- [0125] Tris 三(羟甲基)氨基甲烷
- [0126] UV 紫外线。

实施例

- [0127] 实施例 1: 体内显像剂 1 直接标记前体的合成
- [0128] 实施例 1(i): 2-氨基二苯醚
- [0129]



[0130] 在 20-50℃ 氮气气氛下将 2-硝基二苯醚 (16g, 74mmol) 在甲醇 (250ml) 中与炭载钯 (1.6g) 振荡 30 分钟。有氢的迅速吸收和可检测的放热曲线 20-50℃, 温度迅速上升然后冷却。以短周期停止振荡以控制温度防止上升高于 50℃。然后将反应物通过硅藻土过滤, 高真空浓缩以得到呈油状物的 2-氨基二苯醚 (13.5g, 72.9mmole, 98%), 其静置后结晶以得到米黄色固体。

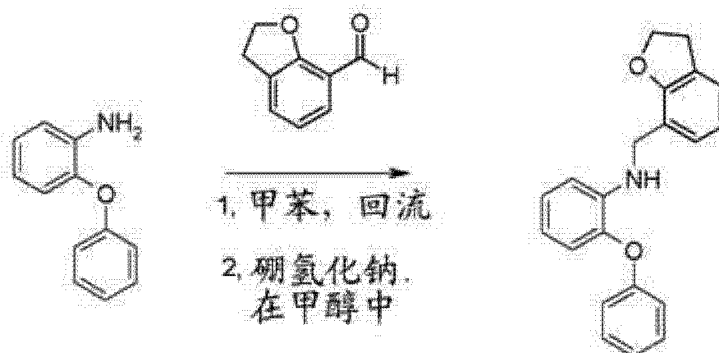
[0131]

^1H NMR (CDCl_3) 300MHz δ 3.82 (2H, brm, NH_2), 6.7-7.1 (7H, m, ArH) 7.33 (2H, m, ArH).

^{13}C NMR (CDCl_3) 75MHz δ 116.41, 117.03, 118.70 (2C), 120.22, 122.57, 124.85, 129.65 (2C), 138.70, 142.97, 157.43.

[0132] 实施例 1(ii): N-(2,3-二氢-苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)-胺

[0133]



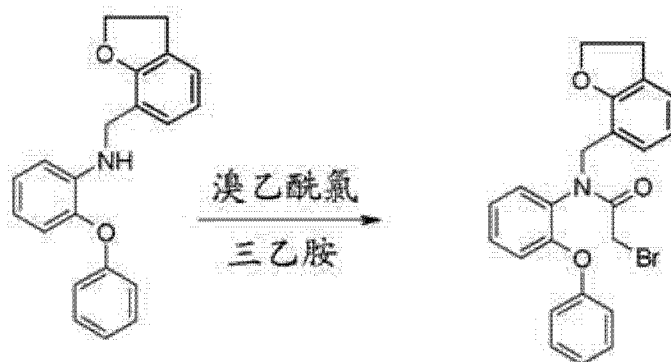
[0134] 将 2-氨基二苯醚 (1g, 5.4mmol) 用 2,3-二氢-苯并呋喃-7-甲醛 (1g, 7.02mmol) 和甲苯 (10ml) 处理, 在氮气气氛下伴随剧烈搅拌回流加热 4 小时。溶液变黄色和均匀。然后将反应物真空浓缩以除去甲苯, 冷却至 0℃, 用甲醇 (15ml) 稀释, 用 20 分钟用硼氢化钠 (612mg 16mmol) 分批处理。然后让反应物加温至室温, 再搅拌 30 分钟。加入 2N 盐酸 (5ml), 将反应物再搅拌 30 分钟。然后将反应物真空浓缩为胶状物, 加入 10% 水性碳酸钾 (50ml)。然后通过提取到乙酸乙酯 (50ml) 内回收产物, 将提取物用硫酸镁干燥, 真空浓缩为胶状物。将胶状物在 120g 硅胶柱上以在汽油中的 10-30% 乙酸乙酯的梯度层析。将主要的快速流动流分, N-(2,3-二氢-苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)-胺收集, 为胶状物 (1.2824g, 4.04 mmole, 74.9%), 静置后结晶。

[0135]

^1H NMR CDCl_3 , 300MHz, δ 3.19(2H, t, CH_2Ph), 4.35(2H, s, CH_2N)
 4.51(2H, t, CH_2O) 4.87(1H, brs, NH), 6.6, -7.31(12H, m ArH).
 ^{13}C NMR CDCl_3 , 75MHz δ 29.69, 42.63, 71.11, 112.01, 116.82,
 117.27, 119.34, 120.31, 122.48, 123.64, 126.96, 129.55, 140.50, 143.07,
 157.71, 157.83.

[0136] 实施例 1(iii): 2-溴代-N-(2,3-二氢呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)-乙酰胺

[0137]



[0138] 使N-(2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)胺(0.5g, 1.57mmol)在二氯甲烷(10ml)中冷却至0℃,用溴乙酰氯(272mg, 1.73mmol)和三乙胺(175mg, 1.73mmol)处理,在氮气气氛下搅拌1小时。将反应物用二氯甲烷(50ml)稀释,用5N盐酸(20ml)洗涤以除去三乙胺和用水性碳酸钾(20ml)洗涤以除去过量溴乙酰氯。将有机层分离,用硫酸镁干燥,高真空浓缩以得到2-溴代-N-(2,3-二氢呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺。(661mg, 1.51mmole, 96%)。

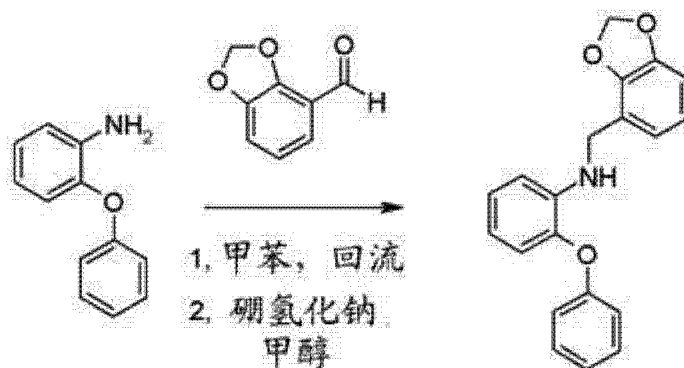
[0139] ^1H NMR (CDCl_3) 300MHz, δ 3.06(2H, m, CH_2Ph), 3.8(2H, d, d CH_2O), 4.2-4.4(2H, d, q, CH_2Br) 4.7, (1H, d, CHN), 5.12, (1H, d, CHN), 6.62-7.32(12H, m, ArH).

[0140] ^{13}C NMR (CDCl_3) 75MHz δ 27.81, 29.68, 46.78, 70.89, 118.04, 119.36, 120.26, 123.06, 124.13, 124.17, 129.82, 153.48, 155.59, 158.55, 166.64。

[0141] 实施例 2: 体内显像剂 2 直接标记前体的合成

[0142] 实施例 2(i): N-(苯并[1,3]二氧杂环戊烯-4-基甲基)-N-(2-苯基氧基-苯基)胺

[0143]

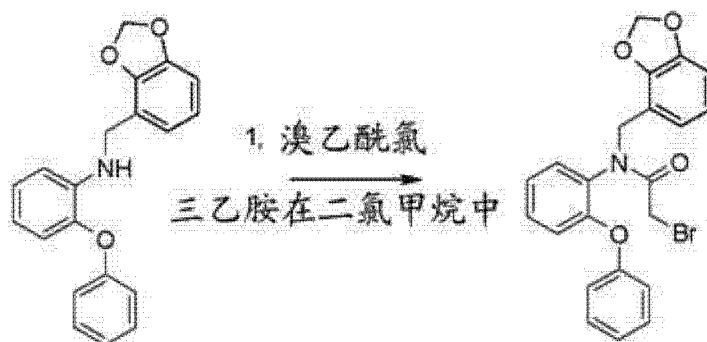


[0144] 在氮气下将2-苯氧基-苯基胺 (410 mg, 2.22 mmol) 和2,3-(亚甲基二氧基)-苯甲醛 (500 mg, 3.33 mmol) 的混合物在90℃加热2小时。使反应物冷却至0℃,加入MeOH (4 mL),接着用20分钟分批加入NaBH₄ (253 mg, 6.70 mmol)。将混合物在室温搅拌24小时。加入甲酸 (0.4mL),将混合物搅拌15分钟。真空除去溶剂,将残留物用饱和水性NaHCO₃ (50 mL) 猝灭,用DCM (2 x 30 mL) 提取,用MgSO₄干燥,过滤和真空除去溶剂。将粗材料通过硅胶层析纯化,用石油精(A)和乙酸乙酯(B) (5% B, 80 g, 4.0 CV, 60 mL/min) 洗脱以得到呈白色固体的360mg (51%) N-(苯并[1,3]二氧杂环戊烯-4-基甲基)-N-(2-苯基氧基-苯基)胺。

[0145] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 4.35 (2H, d, *J* = 5.2 Hz, ArCH₂), 4.66 (1H, s, NH), 5.88 (2H, s, OCH₂O), 6.60–7.10 (10H, m, ArH), 7.24–7.34 (2H, m, ArH)。

[0146] 实施例2(ii): N-(苯并[1,3]二氧杂环戊烯-4-基甲基)-2-溴代-N-(2-苯基氧基-苯基)乙酰胺

[0147]



[0148] 向N-(苯并[1,3]二氧杂环戊烯-4-基甲基)-N-(2-苯基氧基-苯基)胺 (0.18 g, 0.58 mmol) 溶于DCM (4 mL) 的溶液内加入三乙胺 (0.24 g, 2.32 mmol, 0.32 mL)。使反应物冷却至0℃,加入溴乙酰氯 (0.18 g, 1.16 mmol, 0.10 mL)。将混合物在室温搅拌2小时。LC-MS 指示原料和产物 (1:1)。加入更多三乙胺 (0.24 g, 2.32 mmol, 0.32 mL) 和溴乙酰氯 (0.18 g, 1.16 mmol, 0.10 mL),在室温搅拌2小时。真空除去溶剂,将残留物用水 (10 mL) 猝灭,用DCM (2 x 20 mL) 提取,用MgSO₄干燥,过滤和真空除去溶剂。将粗材料通过硅胶层析纯化,用DCM (A) 和MeOH (B) (1% B, 80 g, 2 CV, 60 mL/min) 洗脱。将不纯产物进一步通过硅胶层析纯化,用DCM (A) 和EtOAc (B) (1–5% B, 80 g, 4.5 CV, 60 mL/min) 洗脱以得到呈无色油状物的120mg (47%) N-(苯并[1,3]二氧杂环戊烯-4-基甲基)-2-溴代-N-(2-苯基氧基-苯基)乙酰胺。

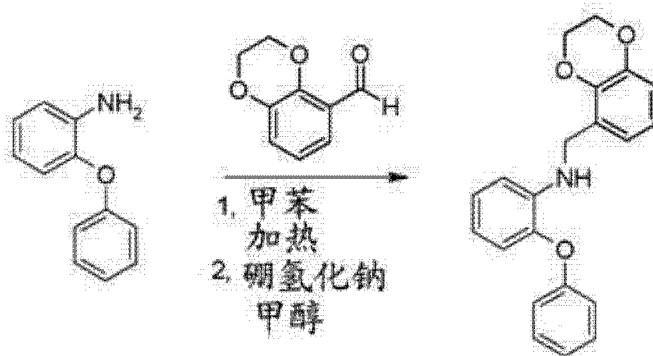
[0149] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.76 (1H, d, $J = 11$ Hz, BrCH), 3.82 (1H, d, $J = 11$ Hz, BrCH), 4.72 (1H, d, $J = 14$ Hz, ArCH), 5.13 (1H, d, $J = 14$ Hz, ArCH), 5.63 (1H, d, $J = 1$ Hz, OCH), 5.79 (1H, d, $J = 1$ Hz, OCH), 6.65–7.40 (12H, m, ArH).

[0150] LC-MS: $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{BrNO}_4$ 的 m/z 计算值 440.3; 实测值 441.9 (M+H)+。

[0151] 实施例 3: 体内显像剂 3 直接标记前体的合成

[0152] 实施例 3(i): N-(2,3-二氢苯并[1,4]二噁英基-5-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)-胺

[0153]



[0154] 将 2-氨基二苯醚 (1g, 5.4mmol) 用 2,3-二氢-苯并[1,4]二噁英基-5-醛 (885mg, 5.4mmol) 和甲苯 (10ml) 处理,在氮气气氛下伴随剧烈搅拌回流加热 4 小时。溶液变黄色和均匀。然后将反应物真空浓缩以除去甲苯,冷却至 0℃,用甲醇 (25ml) 稀释,伴随持续搅拌用硼氢化钠 (1g, 小粒) 处理。然后让反应物加温至室温过夜,此时已沉淀白色结晶固体。过滤收集的固体是 (N-(2,3-二氢苯并-[1,4]二噁英基-5-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)-胺, 1.128g, 3.56mmole, 66%。

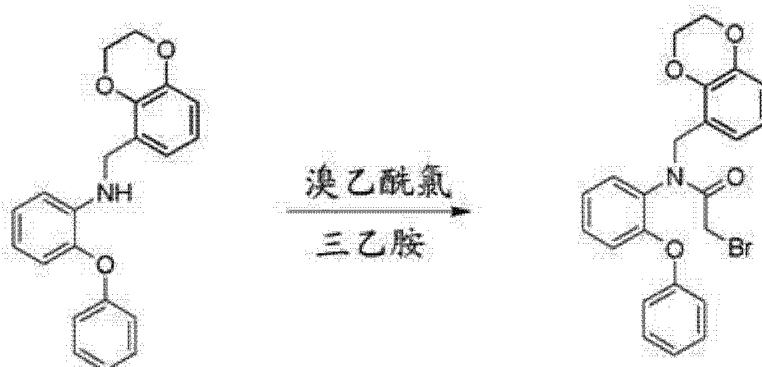
[0155]

^1H NMR CDCl_3 300MHz, δ 4.16, (4H, s, $\text{CH}_2\text{-Ox}_2$), 4.35(2H, d, CH_2N), 4.68(1H, t, NH), 6.6-7.1(10H, m ArH), 7.29, (2H, t, ArH).

^{13}C NMR CDCl_3 , 75MHz, δ 42.6, 64.06, 64.21, 112.18, 116.25, 117.09, 119.57, 120.62, 120.79, 124.97, 128.00, 129.58, 140.55, 141.00, 142.97, 143.33, 157.78.

[0156] 实施例 3(ii): N-(2,3-二氢-苯并-[1,4]二噁英基-5-基甲基)-2-溴代-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺

[0157]



[0158] 在 0℃ 将 N-(2,3-二氢-苯并[1,4]二噁英-5-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)-胺 (纯) (0.5g, 1.5mmol) 在二氯甲烷 (20ml) 中用溴乙酰氯 (259mg, 1.65mmol) 和三乙胺 (168mg, 1.65mmol) 处理 1 小时。然后将反应物用二氯甲烷 (50ml) 稀释, 用 2N 盐酸 (20ml) 洗涤以除去三乙胺, 用 10% 碳酸钾水溶液洗涤以除去过量氟乙酰氯。将有机层分离, 用硫酸镁干燥和高真空浓缩为 2-溴代-N-(2,3-二氢-苯并-[1,4]二噁英基-5-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺, 637mg, 1.40mmole, 93%。

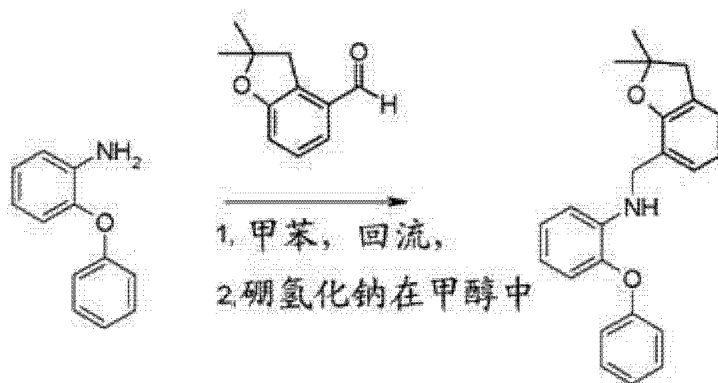
[0159] ^1H NMR CDCl_3 , 300MHz, δ 3.77(2H, dd, CH_2Br), 3.85-4.2(4H, m, $\text{CH}_2\text{O} \times 2$), 4.75, 和 5.15(1H, d, 一起 CH_2N), 6.65-7.4(12H, m, ArH).

[0160] ^{13}C NMR CDCl_3 75MHz, δ 27.77, 46.08, 63.95, 64.02, 116.68, 119.39, 120.66, 122.97, 123.00, 124.78, 124.28, 124.70, 129.50, 129.90, 130.40, 131.00 141.98, 143.16, 153.58, 155.50, 166.53。

[0161] 实施例 4: 体内显像剂 4 直接标记前体的合成

[0162] 实施例 4(i): N-(2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)胺

[0163]



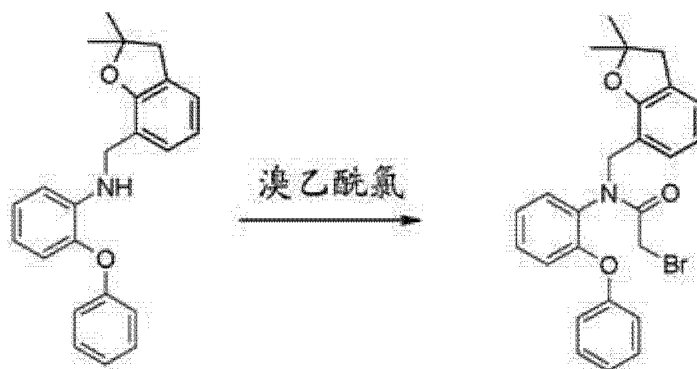
[0164] 在氮气下将 2-苯氧基-苯基胺 (350 mg, 1.89 mmol) 和 2,2-二甲基-2,3-二氢-1-苯并呋喃-7-甲醛 (500 mg, 2.83 mmol) 的混合物在 90℃ 加热 2 小时。使反应物冷却至 0℃, 加入 MeOH (4 mL), 接着用 20 分钟分批加入 NaBH_4 (216 mg, 5.70 mmol)。将混合物在室温搅拌 24 小时。加入甲酸 (0.4 mL), 将混合物搅拌 15 分钟。真空除去溶剂, 将残留物用饱和水性 NaHCO_3 (50 mL) 猝灭, 用 DCM (2 x 30 mL) 提取, 用 MgSO_4 干燥, 过滤和真空除去溶剂。将粗材料通过硅胶层析纯化, 用石油精 (A) 和乙酸乙酯 (B) (5-10% B, 80 g,

3 CV, 60 mL/min) 洗脱以得到呈无色油状物的 560 mg (86%) N-(2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)胺。

[0165] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.43 (6H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.98 (2H, s, ArCH_2), 4.32 (2H, s, NCH_2), 4.79 (1H, s, NH), 6.60–7.10 (10H, m, ArH), 7.30 (2H, m, ArH)。

[0166] 实施例 4(ii): 2-溴代-N-(2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺

[0167]



[0168] 向 N-(2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)胺 (0.20 g, 0.58 mmol) 溶于 DCM (2 mL) 的溶液内加入三乙胺 (0.24 g, 2.32 mmol, 0.32 mL)。使反应物冷却至 0℃, 加入溴乙酰氯 (0.18 g, 1.16 mmol, 0.10 mL)。将混合物在室温搅拌 2 小时。LC-MS 指示原料和产物 (1:1)。加入更多三乙胺 (0.24 g, 2.32 mmol, 0.32 mL) 和溴乙酰氯 (0.18 g, 1.16 mmol, 0.10 mL), 在室温搅拌 2 小时。真空除去溶剂, 将残留物用水 (10 mL) 猝灭, 用 DCM (2 x 20 mL) 提取, 用 MgSO_4 干燥, 过滤和真空除去溶剂。将粗材料通过硅胶层析纯化, 用石油精 (A) 和 EtOAc (B) (30% B, 80 g, 2.5 CV, 60 mL/min) 洗脱。将不纯产物进一步通过硅胶层析纯化, 用 DCM (A) 和 EtOAc (B) (1–5% B, 80 g, 5 CV, 60 mL/min) 洗脱以得到呈无色油状物的 170 mg (63%) 2-溴代-N-(2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺。

[0169] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.14 (3H, s, CH_3), 1.31 (3H, s, CH_3), 2.83 (1H, d, $J = 15$ Hz, ArCH), 2.90 (1H, d, $J = 15$ Hz, ArCH), 3.74 (1H, d, $J = 11$ Hz, BrCH), 3.80 (1H, d, $J = 11$ Hz, BrCH), 4.59 (1H, d, $J = 14$ Hz, NCH), 5.22 (1H, d, $J = 14$ Hz, NCH), 6.65–7.40 (12H, m, ArH)

[0170] LC-MS: $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{BrNO}_3$ 的 m/z 计算值 466.4; 实测值 467.9 (M+H)+。

[0171] 实施例 5: 使实施例 1–4 的前体化合物放射性氟化以获得体内显像剂 1–4

[0172] 5(i) 干燥 ^{18}F 氟化物

[0173] 向供应在 15 μl 水中的 ^{18}F -氟化物内再加入 200 μl 水, 将氟化物吸入 C0C 容器内。在溶于 0.5 mL 乙腈和 0.1 M 碳酸氢钾溶液 (50 μl , 5×10^{-6} mole) 中的 Kryptofix (2 mg, 5.3×10^{-6} mole) 存在下, 将 ^{18}F -氟化物在氮气流下以 110℃ / 30 分钟干燥 (0.3 L/min ~ 20 分钟, 接着 0.1 L/min, 此时长旋塞 (long tap) 打开。当不再有飞溅危险时使流速上升至 0.5 L/min (~10 min), 然后冷却至室温。

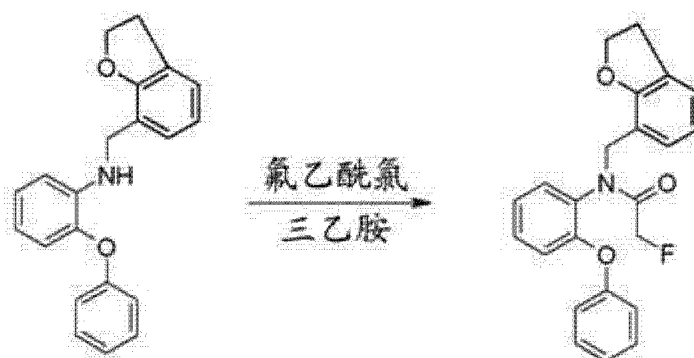
[0174] 5(ii) 放射性氟化

[0175] 向在步骤 5(i) 获得的干燥残留物内加入在 1ml 乙腈中的 0.7mg 所选前体化合物, 将反应物在密封系统中以 100℃ /10 分钟加热。冷却后, 将反应混合物转移至 N46 管瓶内, 用 1.5ml 水漂洗 COC 管瓶。将洗涤物转移至同一个玻璃管瓶内。将制剂 (其总体积是 ~2.5mL) 吸到制备 HPLC 上, 将 HPLC 流分 (cut) 稀释在 ~15ml 水中, 然后装在 Sep-Pak tC18 light (用 2.5ml 乙醇和 5ml 水预调节) 上。然后将 Sep-Pak 用 0.5ml 乙醇洗脱 (收集入 P6 管瓶内), 接着将 4.6ml Dulbecco's 磷酸盐缓冲盐水收集入同一个 P6 管瓶内。通过 HPLC 测量 RCP。

[0176] 实施例 6: 体内显像剂 1 非放射性标准物的合成

[0177] 实施例 6(i): N-(2, 3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-2-氟代-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺

[0178]



[0179] 在 0℃ 将 N-(2, 3-二氢-苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)-胺 (0.5g, 1.78mmol) 在 DCM (20ml) 中用 氟乙酰氯 (199mg, 1.96mmol) 和 TEA (199mg, 1.96mmol) 处理 1 小时。然后将反应物用 DCM (50ml) 稀释, 用 2N 盐酸 (20ml) 洗涤以除去 TEA 和用 10% 水性碳酸钾洗涤以除去 氟乙酰氯。将有机层分离, 用硫酸镁干燥和高真空浓缩以得到 N-(2, 3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-2-氟代-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺 455mg, 1.61 mmole, 91%。

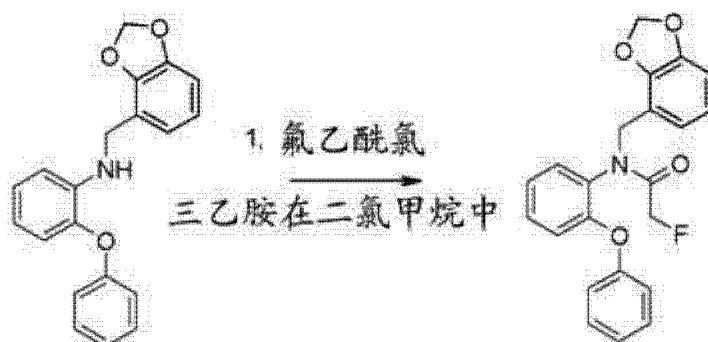
[0180] ^1H NMR 在 CDCl_3 中, 300MHz, δ 2.9-3.13 (2H, m, CH_2Ph), 4.22, 和 4.38 (1H, q, 一起 CH_2O) 4.7 和 4.9 (1H, q, 一起 CH_2F), 4.8 和 5.1 (1H, d, 一起 CH_2N), 6.63-7.5 (12H, m, ArH)。

[0181] ^{13}C NMR 在 CDCl_3 中, 75MHz, δ 26.73, 43.31, 68.03, 77.00, 114.00, 115.00 116.39, 117.32, 120.23, 121.34, 124.00, 126.36, 126.94, 127.45, 150.84, 152.58, 155.76, 164.11, 164.38。

[0182] 实施例 7: 体内显像剂 2 非放射性标准物的合成

[0183] 实施例 7(i): N-(苯并[1,3]二氧杂环戊烯-4-基甲基)-2-氟代-N-(2-苯氧基-苯基)乙酰胺

[0184]



[0185] 向N-(苯并[1,3]二氧杂环戊烯-4-基甲基)-N-(2-苯基氧基-苯基)胺(0.16g, 0.50 mmol)溶于DCM(2 mL)中的溶液内加入TEA(0.20 g, 2.00 mmol, 0.28 mL)。使反应物冷却至0℃,加入氟乙酰氯(0.10 g, 1.00 mmol, 0.07 mL)。将混合物在室温搅拌1小时。真空除去溶剂,将残留物用水(10 mL)猝灭,用DCM(2 x 20 mL)提取,用MgSO₄干燥,过滤和真空除去溶剂。将粗材料通过硅胶层析纯化,用DCM(A)和MeOH(B)(1-5% B, 80 g, 4.0 CV, 60 mL/min)洗脱以得到呈黄色油状物的160 mg(84%) N-(苯并[1,3]二氧杂环戊烯-4-基甲基)-2-氟代-N-(2-苯基氧基-苯基)乙酰胺。结构由¹H NMR证实(300 MHz, CDCl₃) δ 4.67 (1H, d, J = 2 Hz, FCH), 4.83 (1H, d, J = 2 Hz, FCH), 4.74 (1H, d, J = 14 Hz, ArCH), 5.12 (1H, d, J = 14 Hz, ArCH), 5.63 (1H, d, J = 1Hz, OCHO), 5.79 (1H, d, J = 1Hz, OCHO), 6.66-6.88 (6H, m, ArH), 6.96-7.06 (2H, m, ArH), 7.12-7.38 (4H, m, ArH)。

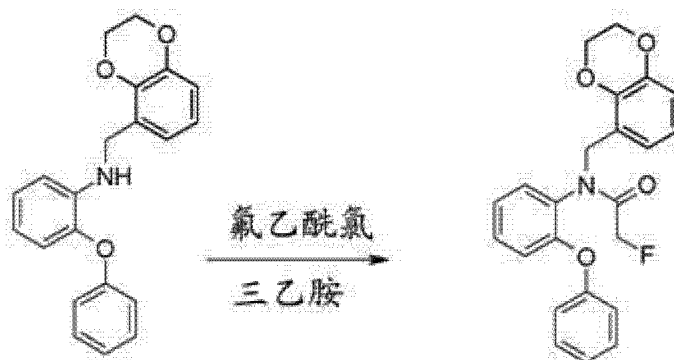
[0186] ¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ -226.8, -227.0, -227.2。

[0187] LC-MS: C₂₂H₁₈FNO₄的m/z 计算值 379.4; 实测值 380.1 (M+H)+。

[0188] 实施例8: 体内显像剂3非放射性标准物的合成

[0189] 实施例8(i): 2-氟代-N-(2,3-二氢-苯并-[1,4]二噁英基-5-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺

[0190]



[0191] 在0℃将N-(2,3-二氢-苯并[1,4]-5-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)-胺(0.5g, 1.5mmol)在DCM(20ml)中用氟乙酰氯(168mg, 1.65mmol)和TEA(168mg, 1.65mmol)处理1小时。然后将反应物用DCM(50ml)稀释,用2N盐酸(20ml)和10%碳酸钾水溶液洗涤。将有机层分离,用硫酸镁干燥和高真空浓缩为胶状物。然后将胶状物在120g硅胶柱上以在汽油中15-40%乙酸乙酯的梯度层析。收集主要流分,得到2-氟代-N-(2,3-二氢-苯

并-[1,4]二噁英基-5-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺 (0.538g, 1.43mmole, 95%.)

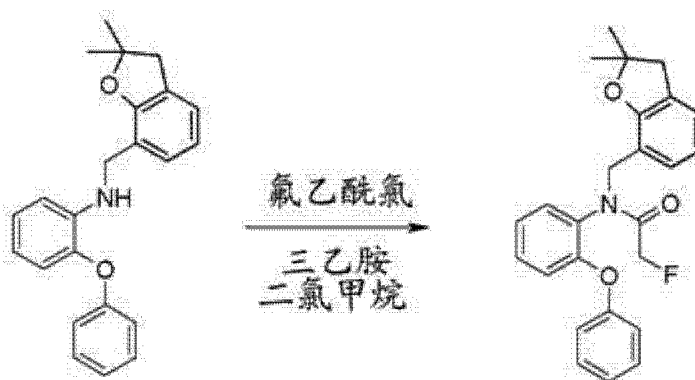
[0192] ^1H NMR 在 CDCl_3 中, 300MHz, δ 3.8-4.1 (4H, m, $\text{CH}_2\text{O} \times 2$), 4.65, 和 4.81 (1H, d, d, 一起, CH_2F), 4.8, 和 5.1 (1H, d, d, 一起 CH_2N), 6.6-7.4, (12H m, ArH).

[0193] ^{13}C NMR 在 CDCl_3 中, 75MHz, δ 45.2, 63.72, 63.83, 77.41, 79.75, 116.58, 119.16, 120.41, 122.98, 123.00, 124.16, 124.30, 129.00, 129.74, 130.00, 141.91, 143.05, 153.71, 155.23, 166.49, 166.75.

[0194] 实施例 9: 体内显像剂 4 非放射性标准物的合成

[0195] 实施例 9(i): -N-(2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-2-氟代-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺

[0196]



[0197] 向 N-(2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-N-(2-苯氧基苯基)胺 (0.20 g, 0.58 mmol) 溶于 DCM (2 mL) 的溶液内加入 TEA (0.24 g, 2.32 mmol, 0.32 mL)。使反应物冷却至 0°C , 加入氟乙酰氯 (0.11 g, 1.16 mmol, 0.08 mL)。将混合物在室温搅拌 1 小时。真空除去溶剂, 将残留物用水 (10 mL) 猝灭, 用 DCM (2 x 20 mL) 提取, 用 MgSO_4 干燥, 过滤和真空除去溶剂。将粗材料通过硅胶层析纯化, 用 DCM (A) 和 MeOH (B) (1% B, 80 g, 2 CV, 60 mL/min) 洗脱以得到呈淡黄色油状物的 170 mg (72%) N-(2,2-二甲基-2,3-二氢苯并呋喃-7-基甲基)-2-氟代-N-(2-苯氧基苯基)乙酰胺。

[0198] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.12 (3H, s, CH_3), 1.30 (3H, s, CH_3), 2.83 (1H, d, $J = 15$ Hz, ArCH), 2.90 (1H, d, $J = 15$ Hz, ArCH), 4.58 (1H, d, $J = 14$ Hz, NCH), 4.65 (1H, s, FCH), 4.81 (1H, s, FCH), 5.22 (1H, d, $J = 14$ Hz, NCH), 6.65-7.40 (12H, m, ArH).

[0199] ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ -226.6, -226.8, -227.0

[0200] LC-MS: $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{FNO}_3$ 的 m/z 计算值 405.5; 实测值 406.1 (M+H)+.

[0201] 实施例 10: 体外效能测定

[0202] 用改编自 Le Fur 等 (Life Sci. 1983; USA 33: 449-57) 的方法筛选对 PBR 的亲合力。被测化合物是 PBR06 和体内显像剂 1-4。

[0203] 每种测试化合物 (溶于 50mM Tris-HCl, pH 7.4, 10mM MgCl_2 含有 1% DMSO) 与 0.3 nM [^3H] PK-11195 竞争与 Wistar 大鼠心脏 PBR 的结合。反应在 50mM Tris-HCl, pH 7.4 10mM MgCl_2 中在 25°C 进行 15 分钟。

[0204] 在估计的 K_i 附近浓度的大约 300 倍范围内以 6 种不同浓度筛选各测试化合物。发现 PBR06 和体内显像剂 1-4 的 K_i 值分别是 0.28nM、0.31nM、2.03nM、1.14nM 和 2.66nM。

[0205] 实施例 11: 体内生物分布方法

[0206] 在体内生物分布模型中测试 PBR06 (根据 Briard 等 J Med Chem 2009; 52: 688-699 合成) 和体内显像剂 1-3 并比较其各自的生物分布。

[0207] 向成年雄性 Wistar 大鼠 (200-300g) 经侧面尾静脉注射 1-3 MBq 测试化合物。在注射后 2、10、30 或 60 分钟 (n=3), 使大鼠安乐死, 将组织或流体取样用于在 γ 计数器上测量放射性。

[0208] 图 1-3 说明与在纹状体中吸收相比的在 OB 中 PBR06 和体内显像剂 1-3 各自的吸收比率。

[0209] 实施例 12: 代谢测定

[0210] 在注射测试体内显像剂后 60 分钟从成年雄性 Wistar 大鼠 (200-300g) 收集脑组织样品。然后将这些样品经过溶剂提取 (见下文) 处理以提取 ^{18}F - 标记的母体以及任何 ^{18}F - 标记的代谢物, 然后引入 HPLC 内。

[0211] 将脑 (减去小脑 + 延髓脑桥) 用 10ml 冰冷的乙腈匀化 (5000rpm 5 分钟) 以提取所有 ^{18}F - 标记物质。然后将所得上清液蒸发至干 (在 40°C 旋转蒸发), 浓缩在 2.5ml 流动相中, 过滤, 将 1ml 注射在 HPLC 上。

[0212] 将用于 ^{18}F 分析的 HPLC 装备连接双 BGO 放射 & UV 检测器。使用具有尺度 7.8 x 300mm; 10 μm ; 125Å 的 μ Bondapak C18 制备柱。使用等度洗脱系统, 其中使用 30-40% 水和 60-70% 乙腈。流速是 3ml/min。对于各测试体内显像剂改变水相与有机相的比率以获得保留时间在 10 min $\pm$ 2 min 或其附近的母峰。

[0213] 关于 PBR06 和体内显像剂 1-3, 在注射后 60 分钟代表完整测试化合物的脑内放射性百分数分别是 90%、93%、92% 和 82%。

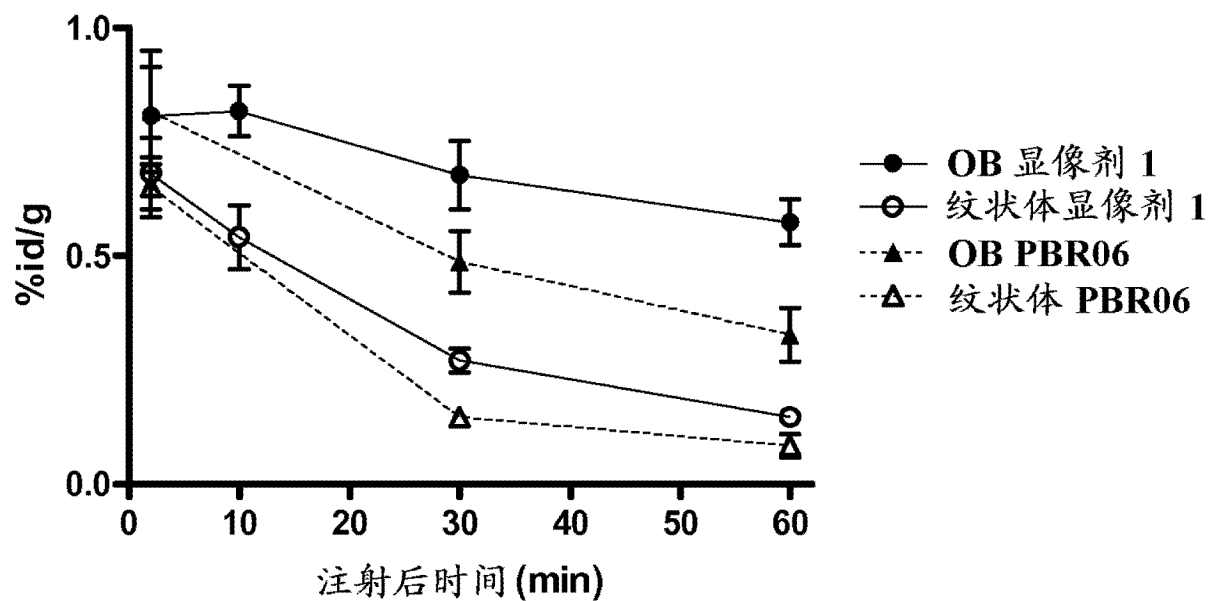


图 1

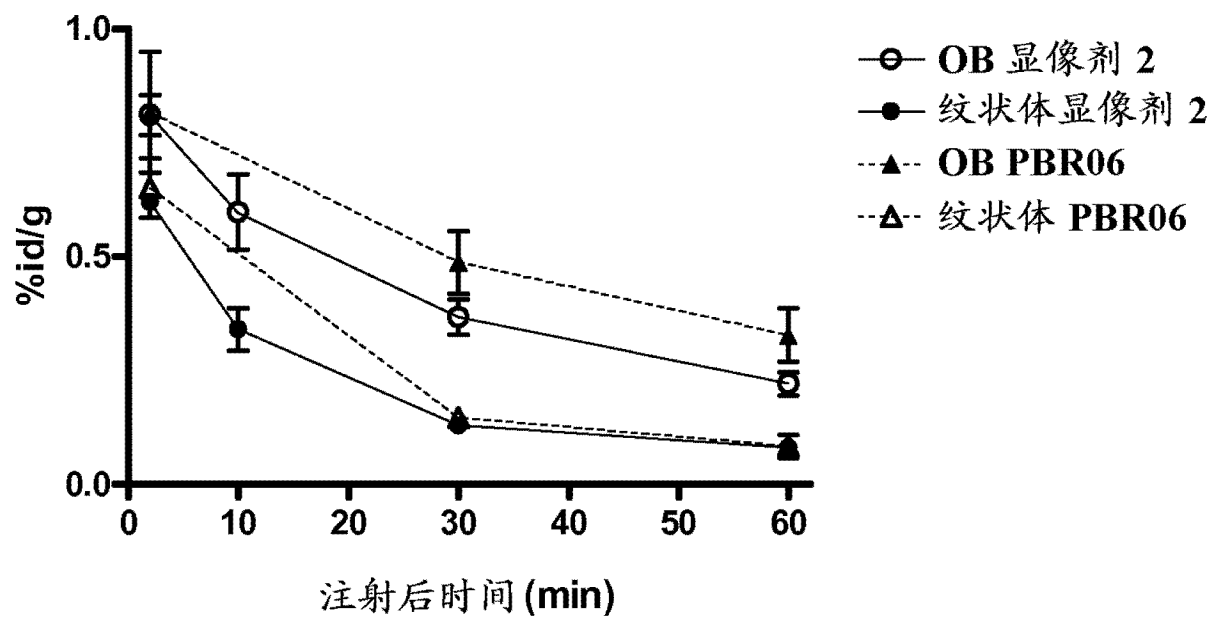


图 2

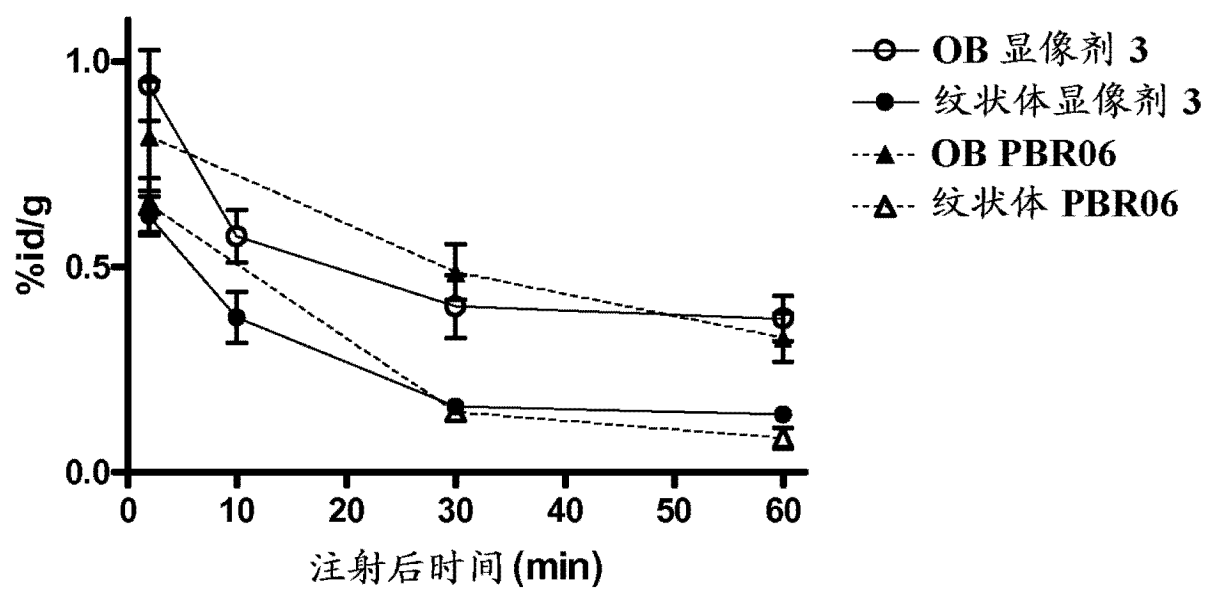


图 3