



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103596950 B

(45)授权公告日 2017.12.19

(21)申请号 201280027545.0

(22)申请日 2012.05.29

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103596950 A

(43)申请公布日 2014.02.19

(30)优先权数据

2011-140069 2011.06.24 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2013.12.05

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2012/063726 2012.05.29

(87)PCT国际申请的公布数据

W02012/176587 JA 2012.12.27

(73)专利权人 日本医事物理股份有限公司

地址 日本东京

(72)发明人 奥村侑纪 真矢启史 正山祥生
大西崇子

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 吴宗颐

(51)Int.Cl.

C07D 471/04(2006.01)

A61K 51/00(2006.01)

(56)对比文件

WO 2010/128595 A1,2010.11.11,

CN 101909659 A,2010.12.08,

WO 2007/033080 A2,2007.03.22,

审查员 郭晓赞

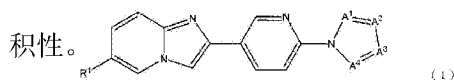
权利要求书1页 说明书22页 附图4页

(54)发明名称

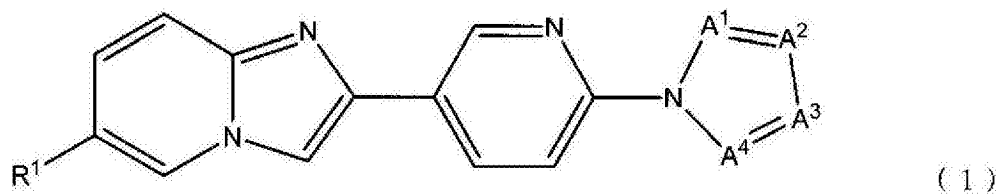
对淀粉状蛋白具有亲和性的化合物

(57)摘要

[课题]本发明提供一种作为靶向淀粉状蛋白的图像诊断探针有效的化合物和含有该化合物的阿尔茨海默病诊断剂。[解决手段]本发明提供下述式(1)(式中, R^1 为放射性卤素取代基; A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 中的0~2个为N,其余为CH)表示的化合物或其盐、以及含有下述式(1)表示的化合物或其盐的阿尔茨海默病诊断剂。本发明化合物和本发明的阿尔茨海默病诊断剂在给药后转移至脑内,显示出向脑内沉积的淀粉状蛋白的良好的蓄积性。



1. 下述式 (1) 表示的化合物或其盐,



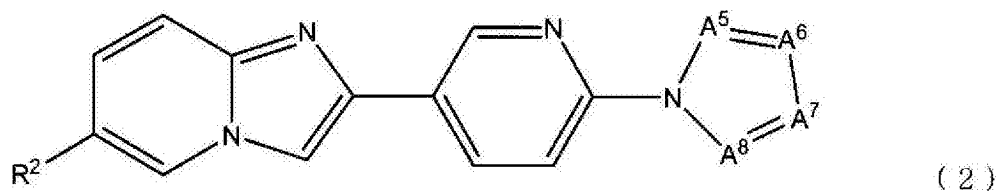
式中, R^1 为放射性碘取代基; A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 中的 2 个为 N, 其余为 CH。

2. 权利要求 1 所述的化合物或其盐, 其中, R^1 选自 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 和 ^{131}I 。

3. 权利要求 2 所述的化合物或其盐, 其中, 该化合物选自:

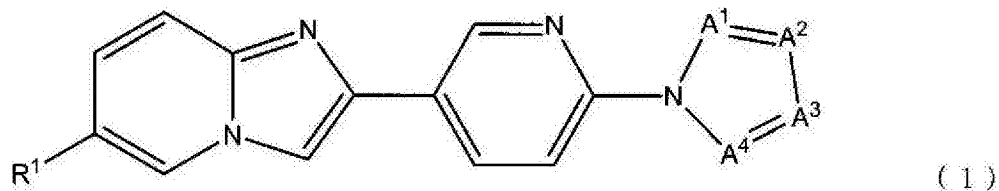
$[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶、
 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,3,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶、
 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶、和
 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。

4. 下述式 (2) 表示的化合物或其盐,



式中, R^2 为选自非放射性卤素取代基、烷基链的碳数为 1~4 的三烷基甲锡烷基取代基和三苯基甲锡烷基中的基团; A^5 、 A^6 、 A^7 和 A^8 中的 2 个为 N, 其余为 CH。

5. 阿尔茨海默病诊断剂, 其含有下述式 (1) 表示的化合物或其盐,



式中, R^1 为放射性碘取代基; A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 中的 2 个为 N, 其余为 CH。

6. 权利要求 5 所述的阿尔茨海默病诊断剂, 其中, R^1 选自 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 和 ^{131}I 。

7. 权利要求 6 所述的阿尔茨海默病诊断剂, 其含有选自以下的化合物或其盐:

$[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶、
 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,3,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶、
 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶、和
 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。

对淀粉状蛋白具有亲和性的化合物

技术领域

[0001] 本发明涉及用于诊断脑退行性疾病的化合物。更具体地,本发明涉及以阿尔茨海默病为代表的与淀粉状蛋白蓄积有关的疾病的诊断中用于在病灶位点检测淀粉状蛋白的化合物。

背景技术

[0002] 由被称作淀粉状蛋白的纤维状蛋白质在体内各种器官或组织中沉积而引发的疾病统称为淀粉样变性病。淀粉样变性病的共同特征是,富含 β -折叠结构的被称作淀粉状蛋白的纤维状蛋白质在全身各种器官中或在局部沉积,以至于在器官或组织中触发了功能异常。

[0003] 阿尔茨海默病(以下称作AD)是一种典型的淀粉样变性病,已知它是一种导致痴呆的疾病。随着淀粉状蛋白在脑中逐渐沉淀累积,该疾病是致命性的,因此,据称,这是一种与其他淀粉样变性病相比更受社会关注的疾病。近年来,老龄化社会的发达国家的AD患者数量急剧增加,导致了社会问题。

[0004] 从病理组织学的观点来看,AD的特征是在脑中发现三种病理特征,即老年斑(senile plaques)的发展,神经元纤维缠结(neurofibrillary tangles)的形成和广泛的神经元丢失。老年斑具有主要由淀粉状蛋白组成的结构,据称其在AD发病的最初阶段,也就是在临床症状出现的约10多年前在脑中就会发现这种病理学现象。

[0005] 诊断AD,包括在CT和MRI等图像诊断的辅助组合下,进行各种认知功能的评价(例如,长谷川痴呆量表(Hasegawa scale),ADAS-JCog和MMSE等)。但是,基于这些认知功能的评价的方法在发病初期阶段中诊断灵敏度较低,此外,存在诊断结果易受个体的先天认知功能影响的问题。当前,当AD患者仍然在世时,实际上不可能进行AD的确诊,因为确诊需要对疾病部位进行活组织检查(非专利文献1)。

[0006] 同时,一份报告指出,构成老年斑的淀粉状蛋白是淀粉样 β 蛋白(以下称为A β)的凝集物。同时,很多研究报告指出,A β 凝集物形成了导致神经细胞毒性的 β -折叠结构。基于这些发现,提出了所谓“淀粉状蛋白连锁反应假说”,它提出A β 的脑部沉淀引发了下游现象,即神经元纤维缠结的形成和神经元丢失(非专利文献2)。

[0007] 基于这些事实,近年来试图用与淀粉状蛋白具有高度亲和性的化合物作为标记物进行AD的体内检测。

[0008] 用于这样的脑内淀粉状蛋白的图像诊断的探针大多是疏水性的低分子量化合物,其与淀粉状蛋白具有高度的亲和性,且脑转移性很高,并且用各种放射性核素例如 ^{11}C 、 ^{18}F 和 ^{123}I 等标记。例如,作为其具体例,报道了以下化合物, ^{11}C 或放射性卤素标记的化合物包括:各种硫磺素衍生物例如6-碘-2-[4'-(N,N-二甲基氨基)苯基]苯并噻唑(以下称作TZDM)和6-羟基-2-[4'-(N-甲基氨基)苯基]苯并噻唑(以下称作6-OH-BTA-1)(专利文献1,非专利文献3);均二苯乙烯化合物例如(E)-4-甲基氨基-4'-羟基均二苯乙烯(以下称作SB-13)和(E)-4-二甲基氨基-4'-碘代均二苯乙烯(以下称作m-I-SB)(专利文献2,非专利文献4,非专

利文献5); 苯并噻唑衍生物例如6-碘-2-[4'-(N,N-二甲基氨基) 苯基] 苯并噻唑 (以下称作IBOX) 和6-[2-(氟) 乙氧基]-2-[2-(2-二甲基氨基噻唑-5-基) 乙烯基] 苯并噻唑 (非专利文献6, 非专利文献7); DDNP衍生物例如2-(1-{6-[(2-氟乙基) (甲基) 氨基]-2-萘基} 亚乙基) 丙二腈 (以下称作FDDNP) (专利文献4, 非专利文献8); 以及咪唑并吡啶衍生物例如6-碘-2-[4'-(N,N-二甲基氨基) 苯基] 咪唑并[1,2-a] 吡啶 (以下称作IMPY) (专利文献3, 非专利文献9) 等; 以及, 将在咪唑并吡啶-苯基上通过碳键合含氮5元芳族杂环基而成的化合物用放射性卤素等进行标记的化合物 (专利文献5, 专利文献6)。此外, 对这些图像诊断用探针的一部分, 已经进行了人体图像研究, 并且报道了与正常人相比, 在AD患者的脑中有显著的放射性蓄积 (非专利文献10, 非专利文献11, 非专利文献12, 非专利文献13)。

[0009] 现有技术文献

[0010] 专利文献

[0011] 专利文献1: 特表2004-506723号公报

[0012] 专利文献2: 特表2005-504055号公报

[0013] 专利文献3: 特表2005-512945号公报

[0014] 专利文献4: 特表2002-523383号公报

[0015] 专利文献5: 国际公开第2007/063946号小册子

[0016] 专利文献6: 国际公开第2010/128595号小册子

[0017] 非专利文献

[0018] 非专利文献1: J.A.Hardy&G.A.Higgins, "Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis.", Science, 1992, 256, p.184-185

[0019] 非专利文献2: G.McKhann等人, "Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease.", Neurology, 1984, 34, p.939-944

[0020] 非专利文献3: Z.-P.Zhuang等人, "Radioiodinated Styrylbenzenes and Thioflavins as Probes for Amyloid Aggregates.", J.Med.Chem., 2001, 44, p.1905-1914

[0021] 非专利文献4: Masahiro Ono等人, "11C-labeled stilbene derivatives as A β -aggregate-specific PET imaging agents for Alzheimer's disease.", Nuclear Medicine and Biology, 2003, 30, p.565-571

[0022] 非专利文献5: H.F.Kung等人, "Novel Stilbenes as Probes for amyloid plaques.", J.American Chemical Society, 2001, 123, p.12740-12741

[0023] 非专利文献6: Zhi-Ping Zhuang等人, "IBOX (2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-iodobensoxazole): a ligand for imaging amyloid plaques in the brain.", Nuclear Medicine and Biology, 2001, 28, p.887-894

[0024] 非专利文献7: Furumoto Y等人, "[¹¹C]BF-227: A New ¹¹C-Labeled 2-Ethenylbenzoxazole Derivative for Amyloid- β Plaques Imaging.", European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2005, 32, Sup.1, P759

[0025] 非专利文献8:Eric D.Agdeppa等人,“2-Dialkylamino-6-Acylmalononitrile Substituted Naphthalenes (DDNP Analogs):Novel Diagnostic and Therapeutic Tools in Alzheimer's Disease.”,Molecular Imaging and Biology,2003,5,p.404-417

[0026] 非专利文献9:Zhi-Ping Zhuang等人,“Structure-Activity Relationship of Imidazo[1,2-a]pyridines as Ligands for Detecting β -Amyloid Plaques in the Brain.”,J.Med.Chem,2003,46,p.237-243

[0027] 非专利文献10:W.E.Klunk等人,“Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B.”,Ann.Neurol.,2004,55,p.306-319

[0028] 非专利文献11:Nicolaas P.L.G.Verhoeff等人,“In-VivoImaging of Alzheimer Disease β -Amyloid With[11C]SB-13PET.”,American Journal of Geriatric Psychiatry,2004,12,p.584-595

[0029] 非专利文献12:Hiroyuki Arai等人,“[11C]-BF-227AND PETto Visualize Amyloid in Alzheimer's Disease Patients”,Alzheimer's & Dementia:The Journal of the Alzheimer's Association,2006,2,Sup.1,S312

[0030] 非专利文献13:Christopher M.Clark等人,“Imaging Amyloid with I123IMPY SPECT”,Alzheimer's & Dementia:The Journal of the Alzheimer's Association,2006,2,Sup.1,S342

发明内容

[0031] 发明要解决的课题

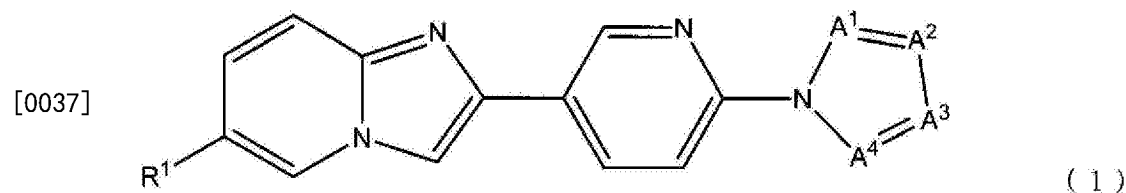
[0032] 如上所述,公开了各种化合物可以作为以淀粉状蛋白为对象的图像诊断的探针,并探索了其临床用途。但是,迄今为止仍然不存在确认具有能耐受临床使用性能的化合物。另外,考虑到广泛的临床应用,则期望开发出不仅用PET核素、而且在用SPECT核素标记的情况下均具有充分的诊断性能的化合物。

[0033] 本发明正是鉴于上述情况而完成的,其目的在于提供一种作为靶向淀粉状蛋白的图像诊断探针有效的新化合物及含有该化合物的阿尔茨海默病诊断剂。

[0034] 解决课题的手段

[0035] 本发明人等反复进行了研究,结果发现,通过使用在咪唑并吡啶骨架中的吡啶基的2'位碳上经由5元含氮杂环的氮原子键合该5元含氮杂环而得的化合物,可得到具有充分的诊断性能的阿尔茨海默病诊断剂,至此完成了本发明。

[0036] 根据本发明的一个方面,提供下述式(1)表示的化合物或其盐及含有下述式(1)表示的化合物或其盐的阿尔茨海默病诊断剂,

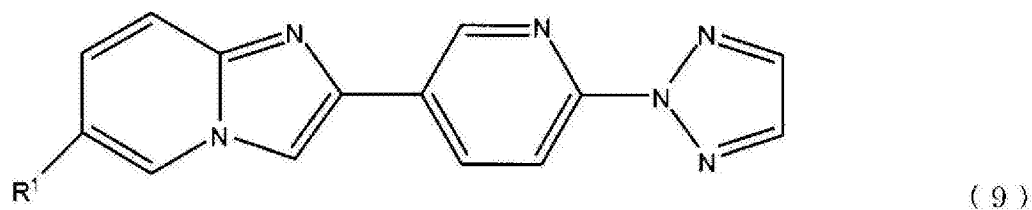
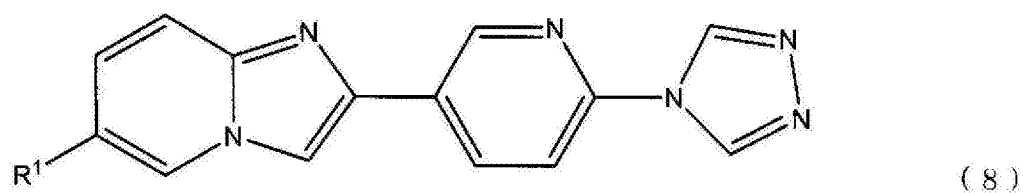
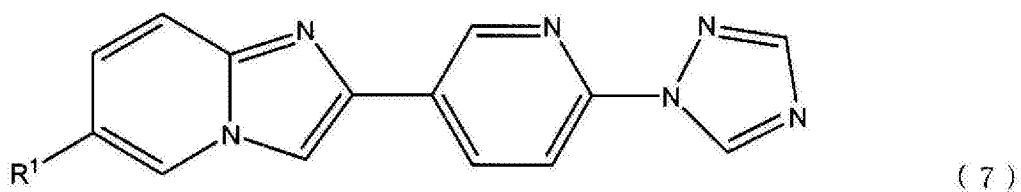
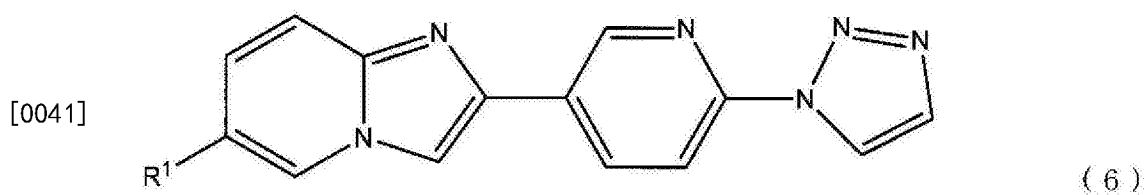
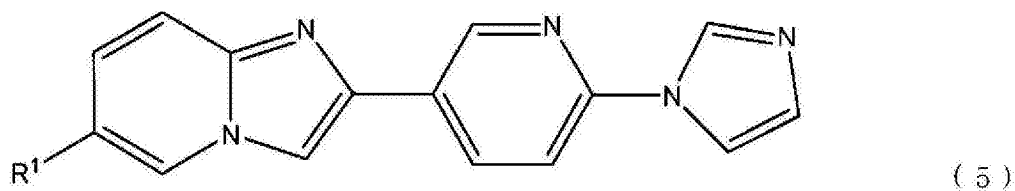
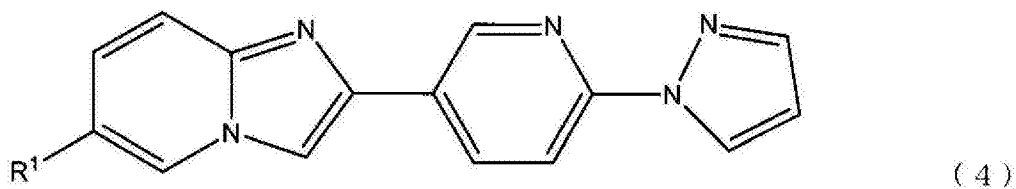
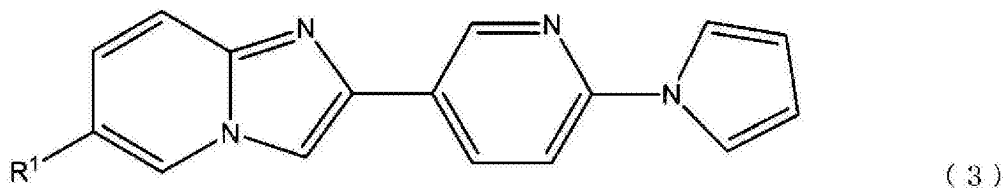


[0038] 式(1)中, R^1 为放射性卤素取代基。作为 R^1 ,可使用各种放射性卤素,优选使用选自 ^{18}F 、 ^{76}Br 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 和 ^{131}I 中的放射性卤素,更优选使用 ^{18}F 或 ^{123}I 。

[0039] 关于 A^1 、 A^2 、 A^3 和 A^4 ,它们当中的0~2个为N,其余为CH,优选它们当中的1个或2个为

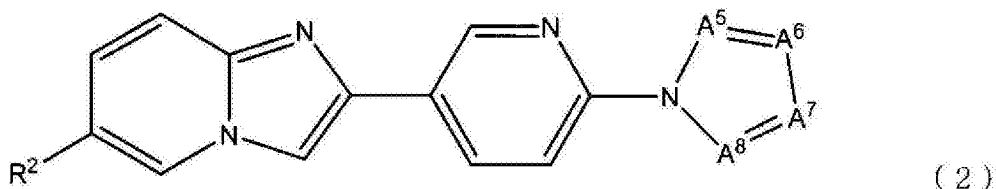
N,其余为CH。

[0040] 因此,根据本发明的优选实施方案,可提供下述式(3)~(9)表示的化合物或其盐、以及含有下述式(3)~(9)表示的化合物或其盐的阿尔茨海默病诊断剂。



[0042] 根据本发明的另一方面,提供下述式(2)表示的化合物或其盐。

[0043]

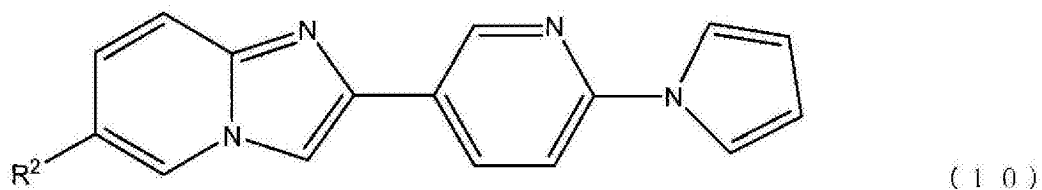


[0044] 式(2)中, R^2 为选自非放射性卤素取代基、硝基、烷基链的碳数为1~4的三烷基铵基、烷基链的碳数为1~4的三烷基甲锡烷基取代基和三苯基甲锡烷基中的基团; A^5 、 A^6 、 A^7 和 A^8 中的0~2个为N,其余为CH。

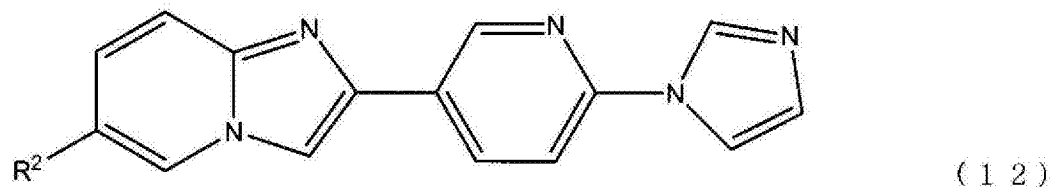
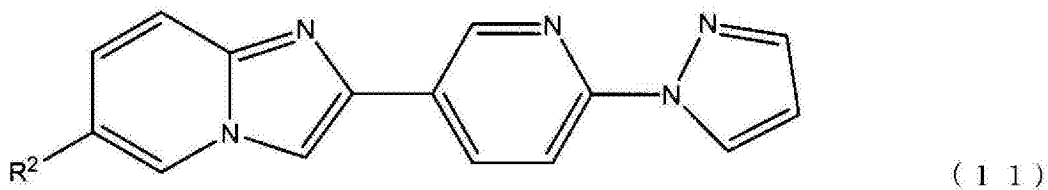
[0045] 式(2)表示的化合物优选用作上述式(1)化合物的标记前体。

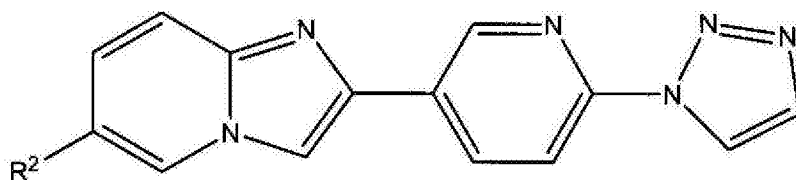
[0046] 作为非放射性卤素取代基,可使用:能够成为使用放射性氟的亲核取代反应的靶标的卤素、或者能够成为与放射性碘的同位素交换反应的靶标的卤素,优选使用氯、碘或溴。作为三烷基甲锡烷基取代基,可使用各种取代基,优选使用三甲基甲锡烷基取代基和三丁基甲锡烷基取代基。

[0047] 因此,根据本发明的优选的实施方式,可提供下述式(10)~(16)表示的化合物。

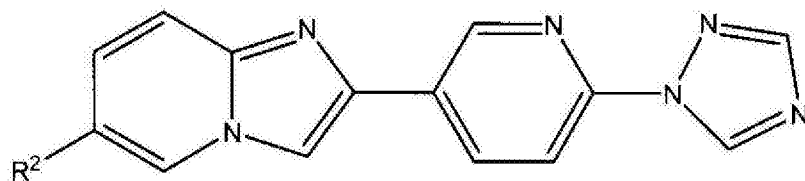


[0048]



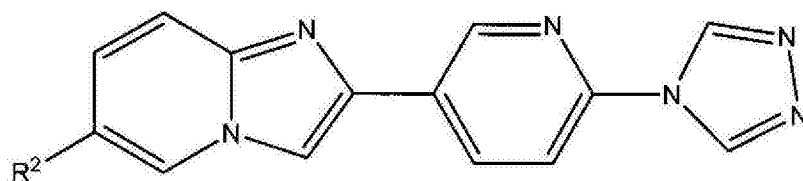


(13)

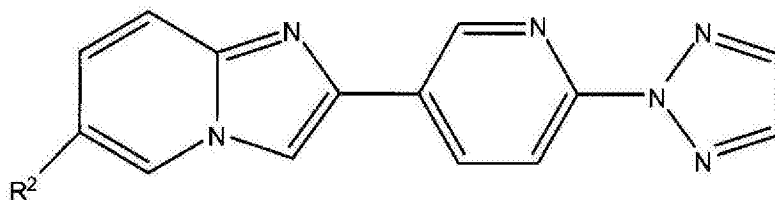


(14)

[0049]



(15)



(16)

[0050] 发明效果

[0051] 根据本发明,可得到在生物体内具有良好的淀粉状蛋白显影能力的、对淀粉状蛋白具有亲和性的新化合物以及阿尔茨海默病诊断剂。

附图说明

[0052] 图1是2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成路线图。

[0053] 图2是2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成路线图。

[0054] 图3是2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成路线图。

[0055] 图4是2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成路线图。

[0056] 图5是2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成路线图。

[0057] 图6是与AD患者脑灰质匀浆或者AD患者脑白质匀浆结合的放射性活度的百分比(%)。

[0058] 图7是使用 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶的AD患者脑切片的放射自显影图。

[0059] 图8是使用 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]

吡啶的AD患者脑切片的放射自显影图。

[0060] 图9是使用 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶的AD患者脑切片的放射自显影图。

[0061] 图10是使用 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶的AD患者脑切片的放射自显影图。

[0062] 图11是使用 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶的AD患者脑切片的放射自显影图。

[0063] 图12是使用 $[^{123}\text{I}]$ -IMPY的AD患者脑切片的放射自显影图。

[0064] 图13是使用抗淀粉状蛋白抗体的AD患者脑切片的免疫染色。

具体实施方式

[0065] (放射性卤素标记化合物的前体化合物的合成方法)

[0066] 下面,以2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶为例,对本发明的一实施方式的放射性卤素标记化合物的前体化合物的合成方法进行说明。该化合物是作为本发明的放射性碘标记化合物的前体化合物优选使用的化合物。

[0067] 予以说明,以下记载的合成方法是最优选的合成法的例子,但没有意图限定本发明化合物的制法。

[0068] 将2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成路线示于图1。在合成2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶时,首先使1H-1,2,3-三唑与5-乙酰基-2-溴吡啶反应,合成5-乙酰基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶(图1,步骤1)。该步骤例如可以按照下述的要点进行。

[0069] 首先,将5-乙酰基-2-溴吡啶和1H-1,2,3-三唑溶解于二甲基甲酰胺中,添加碳酸钾。将该混合物在100℃下搅拌2~6小时后,将反应液注入水中,用二氯甲烷萃取,将二氯甲烷层浓缩,进行色谱法精制,由此得到5-乙酰基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶(图1,步骤1)。碳酸钾的用量只要为能够中和反应中产生的氢溴酸的量即可,典型地,只要使用与作为原料的5-乙酰基-2-溴吡啶相等的量以上即可。另外,1H-1,2,3-三唑的用量,只要相对于底物为过剩的量即可,典型地,相对于5-乙酰基-2-溴吡啶,按摩尔比计,使用3.0倍左右的量即可。

[0070] 然后,将得到的5-乙酰基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶溶解于二氯甲烷和三乙胺中,冷却至0℃左右后,添加三甲基溴硅烷。将该反应液在室温下搅拌10~24小时左右后,将反应液注入到水中,用二氯甲烷萃取,将二氯甲烷层浓缩。将浓缩得到的油状物质充分干燥,将其溶解于四氢呋喃中。将该混合物冷却至0℃左右后,添加N-溴琥珀酰亚胺,在室温下搅拌10~60分钟左右。反应结束后,蒸馏除去溶剂,进行色谱法精制,由此得到5-(2-溴乙酰基)-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶(图1,步骤2)。三甲基溴硅烷的用量只要相对于反应底物为相等的量以上即可,典型地,相对于5-乙酰基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶,按摩尔比计,只要使用2.0倍左右的量即可。另外,三乙胺的用量只要为能够中和反应中产生的氢溴酸的量即可,典型地,只要相对于三甲基溴硅烷为过剩的量即可。N-溴琥珀酰亚胺的用量只要相对于反应底物为相等的量以上即可,优选按摩尔比计使用与5-乙酰基-2-(1H-1,2,

3-三唑-1-基)吡啶为1.0倍左右的量。

[0071] 采用公知的方法(例如,文献Zhi-Ping Zhuang等人,J.Med.Chem,2003,46,p.237-243记载的方法),使得到的5-(2-溴乙酰基)-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶与2-氨基-5-碘吡啶反应,得到6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(图1,步骤3)。

[0072] 然后,采用公知的方法(例如,文献Zhi-Ping Zhuang等人,J.Med.Chem,2003,46,p.237-243记载的方法),使得到的6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶与双三丁基锡反应(图1,步骤4),进行精制,由此得到作为目的物的2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶。

[0073] 予以说明,在想要得到咪唑并吡啶环的6位上的取代基为三丁基甲锡烷基取代基以外的三烷基甲锡烷基取代基的化合物的情况下,只要根据目的使用各种双三烷基锡代替图1的步骤4中的双三丁基锡即可。例如,在合成6位上的取代基为三甲基甲锡烷基取代基的化合物的情况下,只要在图1的步骤4中使用双三甲基锡进行与上述同样的反应即可。另外,咪唑并吡啶环的6位上的取代基为硝基的化合物可以通过在图1的步骤3中使用2-氨基-5-硝基吡啶代替2-氨基-5-碘吡啶,采用公知的方法使其反应,并省略步骤4来得到。

[0074] 本发明的其他前体化合物可以通过使用通常可购得的原料,组合本领域技术人员公知的反应来合成。例如,上述式(2)中的A⁵为N,A⁶、A⁷和A⁸均为CH的化合物可以通过在图1的步骤1中使用吡啶代替1H-1,2,3-三唑,按照上述图1的步骤来合成。另外,上述式(2)中的A⁵、A⁶、A⁷和A⁸均为CH的化合物可以通过在图1的步骤1中使用吡咯代替1H-1,2,3-三唑,按照上述图1的步骤来合成。

[0075] (放射性卤素标记化合物的合成方法)

[0076] 接着,以放射性碘标记的化合物为例,对本发明另一方面的放射性卤素标记化合物的制备方法进行说明。

[0077] 放射性碘标记的化合物的合成可以通过如下操作进行:将根据上述要点合成的标记前体化合物溶解于惰性有机溶剂中,向其中加入通过公知方法得到的[¹²³I]碘化钠溶液等,加入酸和氧化剂使其反应。作为溶解标记前体化合物的惰性有机溶剂,可使用与标记前体及[¹²³I]碘化钠等之间不具有反应性的各种溶剂,优选使用乙腈。

[0078] 作为酸,可使用各种酸,优选使用盐酸。

[0079] 作为氧化剂,只要能使反应液中的碘氧化就没有特殊限定,优选使用过氧化氢或过醋酸。氧化剂的添加量只要是对于氧化反应溶液中的碘来说为充分的量即可。

[0080] 碘以外的放射性卤素标记物可以通过用根据目的的放射性卤素标记根据合成目的的标记前体来合成。例如,当合成[¹⁸F]-6-氟-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶的情况下,只要使作为标记前体的6-硝基-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶在相转移催化剂和碳酸钾的存在下与[¹⁸F]氟离子反应即可。

[0081] (本发明的诊断剂的制备方法和使用方法)

[0082] 本发明的诊断剂可以与其它通常已知的放射性诊断剂同样地制备成将本发明的放射性卤素标记化合物配合在根据期望调整为适当pH的水或生理盐水、或者格林液等而形成的液体。此时该化合物的浓度必须设定为使所含有的该化合物保持稳定的浓度以

下。该化合物的用量只要是对于使所给予的药剂的分布图像化来说为充分的浓度就没有特殊限定。例如,在使用 ^{123}I 标记化合物和 ^{18}F 标记化合物的情况下,相对于体重60kg的成人,每人可以静脉施用或局部施用50~600MBq左右。给药的药剂的分布可以通过公知的方法进行图像化,例如,在使用 ^{123}I 标记化合物的情况下,可以使用SPECT装置进行图像化,在使用 ^{18}F 标记化合物的情况下,可以使用PET装置进行图像化。

[0083] 下面,描述实施例、比较例及参考例更详细地说明本发明,但本发明并不限于这些内容。予以说明,在下述实施例中,供于实验的各化合物的名称如表1中所定义。

[0084] 表1实施例中使用的评价用化合物的化合物名称

[0085]

化合物名称	通用名
化合物 1	[^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶
化合物 2	[^{123}I]-6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶
化合物 3	[^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶
化合物 4	[^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶
化合物 5	[^{123}I]-6-碘-2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶

[0086] (实施例1) 2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成

[0087] 将207mg(相当于3.00mmol)的1H-1,2,3-三唑溶解于5mL二甲基甲酰胺中,然后,加入200mg(相当于1.00mmol)的5-乙酰基-2-溴吡啶和414mg(相当于3.00mmol)的碳酸钾,在100℃下加热3小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,加入饱和氯化铵水溶液和水,用二氯甲烷萃取3次。将合并的二氯甲烷层用水和饱和食盐水洗涤后,用无水硫酸镁干燥后减压浓缩,将得到的粗产物用硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=4/1)精制,得到57.2mg(相当于0.304mmol)的5-乙酰基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶(图1,步骤1)。

[0088] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0089] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 9.05(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.65(d, $J=1.1\text{Hz}$, 1H), 8.46(dd, $J=8.7, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.34(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.86(d, $J=1.1\text{Hz}$, 1H), 2.68(s, 3H)。

[0090] 将57.2mg(相当于0.304mmol)的5-乙酰基-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶溶解于2.0mL二氯甲烷和127 μL 三乙胺中,然后,在冰冷下滴加78.9 μL (相当于0.608mmol)的三甲基溴硅烷。在氩气氛中在室温下搅拌过夜,然后,向反应液中加入水,用二氯甲烷萃取3次。将合并的二氯甲烷层用水、饱和食盐水洗涤,用硫酸镁干燥。蒸馏除去溶剂,将得到的残留物溶解于2.0mL的四氢呋喃中,在冰冷下加入54.1mg(相当于0.304mmol)的N-溴琥珀酰亚胺,在室温下搅拌30分钟。反应结束后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=4/1)精制,得到66.4mg(相当于0.249mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶(图1,步骤2)。

[0091] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0092] $^1\text{H-NMR}$ (溶剂: 氘代氯仿, 共振频率: 500MHz): δ 9.12 (d, $J = 2.1\text{Hz}$, 1H), 8.67 (d, $J = 1.1\text{Hz}$, 1H), 8.51 (dd, $J = 8.7, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.38 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 7.87 (d, $J = 1.1\text{Hz}$, 1H), 4.44 (s, 2H)。

[0093] 将66.4mg (相当于0.249mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶和54.8mg (相当于0.249mmol)的2-氨基-5-碘吡啶溶解于2.0mL乙腈中,在100℃的油浴中加热回流1.5小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,过滤出沉淀物后,用乙腈洗涤,在减压下干燥。将得到的粗结晶混悬于2mL水-2mL甲醇的混合液中,然后,向其中加入约1mL的饱和碳酸氢钠溶液,并在超声波洗涤器中振荡5分钟。从得到的混合物中过滤出沉淀物,用水充分洗涤并在减压下干燥,得到44.0mg (相当于0.113mmol)的6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(图1,步骤3)。

[0094] 使用的NMR装置: JNM-ECP-500 (日本电子株式会社制)

[0095] $^1\text{H-NMR}$ (溶剂: 氘代二甲亚砜, 共振频率: 500MHz): δ 9.11 (d, $J = 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.91 (brs, 1H), 8.82 (d, $J = 0.9\text{Hz}$, 1H), 8.57 (dd, $J = 8.5, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 8.5\text{Hz}$, 1H), 7.94 (d, $J = 0.9\text{Hz}$, 1H), 7.45 (brs, 2H)。

[0096] 将20mg (相当于0.0515mmol)的6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶溶解于0.8mL二噁烷中,加入0.2mL三乙胺后,加入51.5 μL (相当于0.130mmol)的双三丁基锡和6.0mg (催化剂量)四(三苯基膦)钯。将反应混合物在100℃下搅拌16小时后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液: 己烷/乙酸乙酯=2/1)精制。将得到的粗结晶用己烷-乙酸乙酯重结晶,得到8.7mg (相当于0.016mmol)的2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶(图1,步骤4)。

[0097] 使用的NMR装置: JNM-ECP-500 (日本电子株式会社制)

[0098] $^1\text{H-NMR}$ (溶剂: 氘代氯仿, 共振频率: 500MHz): δ 9.05 (d, $J = 1.4\text{Hz}$, 1H), 8.63 (brs, 1H), 8.48 (dd, $J = 8.4, 2.1\text{Hz}$, 1H), 8.28 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 1H), 8.03 (t, $J = 14.7\text{Hz}$, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.85 (d, $J = 1.4\text{Hz}$, 1H), 7.63 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 7.23 (d, $J = 8.7\text{Hz}$, 1H), 1.64-1.49 (m, 6H), 1.36 (tt, $J = 7.3, 7.3\text{Hz}$, 6H), 1.21-1.07 (m, 6H), 0.91 (t, $J = 7.3\text{Hz}$, 9H)。

[0099] (实施例2) [^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(化合物1)的合成

[0100] 向90 μL 实施例1中合成的2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的乙腈溶液(浓度: 1mg/mL)中加入2mol/L的盐酸85 μL 、641MBq的[^{123}I]碘化钠60 μL 、30% (W/V)的过氧化氢10 μL 。将该混合液在40℃下静置10分钟后,在下述条件下进行HPLC,分级出[^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶级分。

[0101] HPLC条件:

[0102] 柱: YMC PackPro C8 (商品名, YMC公司制, 尺寸: 4.6 $\times$ 150mm)

[0103] 流动相: 含0.1%三氟乙酸的水/含0.1%三氟乙酸的乙腈=80/20 $\rightarrow$ 0/100 (20分钟)

[0104] 流速: 1.0mL/分钟

[0105] 检测器: 紫外可见吸光光度计(检测波长: 260nm)和放射线检测器(Raytest公司,

STEFFI型)

[0106] 向该级分中添加5mL水,将所得液体通入到Sep-Pak(注册商标)C18柱(商品名: Sep-Pak(注册商标)Light C18Cartridges,Waters公司制,填充剂的填充量:130mg)中,使该柱吸附收集 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。用1mL水洗涤该柱,然后通入1mL乙醚,洗脱出 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,3-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。得到的放射性活度在合成刚刚结束时为239MBq。另外,在下述条件下进行TLC分析,结果,其放射化学纯度为99.1%。

[0107] TLC分析条件:

[0108] TLC板:硅胶60F₂₅₄(商品名,默克公司制)

[0109] 展开相:乙酸乙酯/甲醇/二乙胺=100/4/1

[0110] 检测器:Rita Star(商品名,Raytest公司制)

[0111] (实施例3) 2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成

[0112] 将207mg(相当于3.00mmol)的1H-1,2,3-三唑溶解于5mL二甲基甲酰胺中,然后,加入200mg(相当于1.00mmol)的5-乙酰基-2-溴吡啶和414mg(相当于3.00mmol)的碳酸钾,在100℃下加热3小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,加入饱和氯化铵水溶液和水,用二氯甲烷萃取3次。将合并的二氯甲烷层用水、饱和食盐水洗涤后,用无水硫酸镁干燥后减压浓缩,将得到的粗产物用硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=4/1)精制,得到31.9mg(相当于0.170mmol)的5-乙酰基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(图2,步骤1)。

[0113] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0114] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 9.13(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.45(dd, $J=8.6, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.21(d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 7.97(s, 2H), 2.69(s, 3H)。

[0115] 将31.9mg(相当于0.170mmol)的5-乙酰基-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶溶解于1.0mL二氯甲烷和71 μL 三乙胺中,然后,在冰冷下滴加44.1 μL (相当于0.51mmol)的三甲基溴硅烷。在氩气氛中在室温下搅拌过夜,然后,向反应液中加入水,用二氯甲烷萃取3次。将合并的二氯甲烷层用水、饱和食盐水洗涤,用硫酸镁干燥。蒸馏除去溶剂,将得到的残留物溶解于1.0mL四氢呋喃中,在冰冷下加入33.3mg(相当于0.17mmol)的N-溴琥珀酰亚胺,在室温下搅拌30分钟。反应结束后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=2/1)精制,得到20.2mg(相当于0.076mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶(图2,步骤2)。

[0116] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0117] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 9.18(d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.49(dd, $J=8.5, 2.1\text{Hz}$, 1H), 8.24(d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 7.98(s, 2H), 4.45(s, 2H)。

[0118] 将20.4mg(相当于0.0764mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)的吡啶和16.8mg(相当于0.0764mmol)的2-氨基-5-碘吡啶溶解于2.0mL乙腈中,在100℃的油浴中加热回流1.5小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,过滤出沉淀物后,用乙腈洗涤,在减压下干燥。将得到的粗结晶混悬于2mL水-2mL甲醇的混合液中,然后,向其中加入约1mL饱和碳酸氢钠溶液,并在超声波洗涤器中振荡10分钟。从得到的混合物中过滤出沉淀物,用水充分洗涤并在减压下干燥,得到10.4mg(相当于0.027mmol)的6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-

2-基]吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(图2,步骤3)。

[0119] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0120] ^1H -NMR(溶剂:氘代二甲亚砜,共振频率:500MHz): δ 9.13(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.96(brs, 1H), 8.56(dd, $J=8.7, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.50(s, 1H), 8.17(s, 2H), 8.10(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.48(brs, 2H)。

[0121] 将7mg(相当于0.018mmol)的6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶溶解于0.5mL二噁烷中,加入0.1mL三乙胺后,加入18 μL (相当于0.036mmol)的双三丁基锡和2mg(催化剂量)的四(三苯基膦)钯。将反应混合物在100℃下搅拌16小时后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:己烷/乙酸乙酯=2/1)精制。将得到的粗结晶用己烷-乙酸乙酯重结晶,得到2.3mg(相当于0.004mmol)的2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶(图2,步骤4)。

[0122] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0123] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 9.09(d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.52(dd, $J=8.6, 2.1\text{Hz}$, 1H), 8.16(d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H), 8.03(s, 1H), 7.97(s, 1H), 7.91(s, 2H), 7.632(d, $J=8.9\text{Hz}$, 1H), 7.2(d, $J=8.9\text{Hz}$, 1H), 1.60-1.50(m, 6H), 1.36(tt, $J=7.3, 7.3\text{Hz}$, 6H), 1.20-1.06(m, 6H), 0.91(t, $J=7.1\text{Hz}$, 9H)。

[0124] (实施例4) [^{123}I]-6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(化合物2)的合成

[0125] 向45 μL 实施例3中合成的2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的乙腈溶液(浓度:1mg/mL)中添加2mol/L的盐酸42.5 μL 、341MBq的 [^{123}I]碘化钠30 μL 、30% (W/V)的过氧化氢5 μL 。将该混合液在40℃下静置10分钟后,在下述条件下进行HPLC,分级出 [^{123}I]-6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶级分。

[0126] HPLC条件:

[0127] 柱:YMC PackPro C8(商品名,YMC公司制,尺寸:4.6 $\times$ 150mm)

[0128] 流动相:含0.1%三氟乙酸的水/含0.1%三氟乙酸的乙腈=80/20 $\rightarrow$ 0/100(20分钟)

[0129] 流速:1.0mL/分钟

[0130] 检测器:紫外可见吸光光度计(检测波长:260nm)和放射线检测器(Raytest公司, STEFFI型)

[0131] 向该级分中添加5mL水,将所得液体通入到Sep-Pak(注册商标)C18柱(商品名: Sep-Pak(注册商标)Light C18Cartridges,Waters公司制,填充剂的填充量130mg)中,使该柱吸附收集 [^{123}I]-6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。用1mL水洗涤该柱,然后通入1mL乙醚,洗脱出 [^{123}I]-6-碘-2-[2-(2H-1,2,3-三唑-2-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。得到的放射性活度在合成刚刚结束时为91.8MBq。另外,在下述条件下进行TLC分析,结果,其放射化学纯度为97.6%。

[0132] TLC分析条件:

[0133] TLC板:硅胶60F₂₅₄(商品名,默克公司制)

[0134] 展开相:乙酸乙酯/甲醇/二乙胺=100/4/1

[0135] 检测器:Rita Star(商品名, Raytest公司制)

[0136] (实施例5) 2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成

[0137] 将204mg(相当于3.00mmol)的咪唑溶解于5mL二甲基甲酰胺中,然后,加入200mg(相当于1.00mmol)的5-乙酰基-2-溴吡啶和414mg(相当于3.00mmol)的碳酸钾,在100℃下加热3小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,加入饱和氯化铵水溶液和水,用二氯甲烷萃取3次。将合并的二氯甲烷层用水、饱和食盐水洗涤后,用无水硫酸镁干燥后减压浓缩,将得到的粗产物用硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=4/1)精制,得到87mg(相当于0.462mmol)的5-乙酰基-2-(1H-咪唑-1-基)吡啶(图3,步骤1)。

[0138] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0139] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 9.03(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.43(brs, 1H), 8.38(dd, $J=8.5, 2.3\text{Hz}$, 1H), 7.69(brs, 1H), 7.44(d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 7.23(brs, 1H), 2.66(s, 3H)。

[0140] 将87mg(相当于0.462mmol)的5-乙酰基-2-(1H-咪唑-1-基)吡啶溶解于3.0mL二氯甲烷和193 μL 三乙胺中,然后,在冰冷下滴加120 μL (相当于0.924mmol)的三甲基溴硅烷。在氩气氛中在室温下搅拌过夜,然后,向反应液中加入水,用二氯甲烷萃取3次。将合并的二氯甲烷层用水、饱和食盐水洗涤,用硫酸镁干燥。蒸馏除去溶剂,将得到的残留物溶解于3.0mL四氢呋喃中,在冰冷下加入82.2mg(相当于0.462mmol)的N-溴琥珀酰亚胺,在室温下搅拌30分钟。反应结束后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=2/1)精制,得到24.3mg(相当于0.091mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(1H-咪唑-1-基)吡啶的粗结晶(图3,步骤2)。

[0141] 将24.3mg(相当于0.0876mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(1H-咪唑-1-基)吡啶的粗结晶和19.3mg(相当于0.0876mmol)的2-氨基-5-碘吡啶溶解于2.0mL乙腈中,在100℃的油浴中加热回流1.5小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,过滤出沉淀物后,用乙腈洗涤,在减压下干燥。将得到的粗结晶混悬于2mL水-2mL甲醇的混合液中,然后,向其中加入约1mL饱和碳酸氢钠溶液,并在超声波洗涤器中振荡10分钟。从得到的混合物中过滤出沉淀物,用水充分洗涤并在减压下干燥,得到6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶的粗结晶。将得到的粗结晶用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:乙酸乙酯/甲醇=10/1)精制,得到17.7mg(相当于0.046mmol)的6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(图3,步骤3)。

[0142] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0143] ^1H -NMR(溶剂:氘代二甲亚砜,共振频率:500MHz): δ 9.05(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.94(s, 1H), 8.55(s, 1H), 8.48(dd, $J=8.5, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.46(s, 1H), 7.97(s, 1H), 7.89(d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 7.47(brs, 2H), 7.14(s, 1H)。

[0144] 将10mg(相当于0.029mmol)的6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶溶解于0.5mL二氯甲烷中,加入0.1mL三乙胺后,加入26 μL (相当于0.052mmol)的双三丁基锡和3mg(催化剂量)的四(三苯基膦)钯。将反应混合物在100℃下搅拌16小时后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:己烷/乙酸乙酯=2/1)精制。将得到的粗结晶用己烷-乙酸乙酯重结晶,得到3.1mg(相当于0.006mmol)的2-[2-(1H-咪

唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶(图3,步骤4)。

[0145] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0146] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 8.99(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.44(dd, $J=8.5, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.40(brs, 1H), 8.02(brs, 1H), 7.91(s, 1H), 7.68(brs, 1H), 7.62(d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 7.44(d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 7.23(brs, 1H), 7.22(d, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 1.62-1.50(m, 6H), 1.36(tt, $J=7.3, 7.3\text{Hz}$, 6H), 1.20-1.08(m, 6H), 0.91(t, $J=7.3\text{Hz}$, 9H)。

[0147] (实施例6) [^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(化合物3)的合成

[0148] 向45 μL 实施例5中合成的2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的乙腈溶液(浓度:1mg/mL)中,添加2mol/L的盐酸42.5 μL 、485MBq的 [^{123}I]碘化钠30 μL 、30%(W/V)的过氧化氢5 μL 。将该混合液在40 $^{\circ}\text{C}$ 下静置10分钟后,在下述条件下进行HPLC,分级出 [^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶级分。

[0149] HPLC条件:

[0150] 柱:YMC PackPro C8(商品名,YMC公司制,尺寸:4.6 $\times$ 150mm)

[0151] 流动相:含0.1%三氟乙酸的水/含0.1%三氟乙酸的乙腈=90/10 $\rightarrow$ 0/100(25分钟)

[0152] 流速:1.0mL/分钟

[0153] 检测器:紫外可见吸光光度计(检测波长:260nm)和放射线检测器(Raytest公司, STEFFI型)

[0154] 向该级分中添加5mL水,将所得液体通入到Sep-Pak(注册商标)C18柱(商品名: Sep-Pak(注册商标)Light C18Cartridges, Waters公司制,填充剂的填充量130mg)中,使该柱吸附收集 [^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。用1mL水洗涤该柱,然后通入1mL乙醚,洗脱出 [^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-咪唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。得到的放射性活度在合成刚刚结束时为40.1MBq。另外,在下述条件下进行TLC分析,结果,其放射化学纯度为91.3%。

[0155] TLC分析条件:

[0156] TLC板:硅胶60F₂₅₄(商品名,默克公司制)

[0157] 展开相:乙酸乙酯/甲醇/二乙胺=100/4/1

[0158] 检测器:Rita Star(商品名,Raytest公司制)

[0159] (实施例7) 2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成

[0160] 将622mg(相当于9.00mmol)的1H-1,2,4-三唑溶解于10mL二甲基甲酰胺中,然后,加入600mg(相当于3.00mmol)的5-乙酰基-2-溴吡啶和1.24g(相当于9.00mmol)的碳酸钾,在100 $^{\circ}\text{C}$ 下加热3小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,加入饱和氯化铵水溶液和水,用二氯甲烷萃取3次。将合并的二氯甲烷层用水、饱和食盐水洗涤后,用无水硫酸镁干燥后减压浓缩,将得到的粗产物用硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=4/1)精制,得到480mg(相当于2.55mmol)的5-乙酰基-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶(图4,步骤1)。

[0161] 将480mg(相当于2.55mmol)的5-乙酰基-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶溶解于10mL二氯甲烷和1.07mL三乙胺中,然后,在冰冷下滴加662 μL (相当于5.10mmol)的三甲基溴

硅烷。在氩气氛中在室温下搅拌过夜,然后,向反应液中加入水,用二氯甲烷萃取3次。将合并的二氯甲烷层用水、饱和食盐水洗涤,用硫酸镁干燥。蒸馏除去溶剂,将得到的残留物溶解于10mL四氢呋喃中,在冰冷下加入454mg(相当于2.55mmol)的N-溴琥珀酰亚胺,在室温下搅拌30分钟。反应结束后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=2/1)精制,得到657mg(相当于2.46mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶(图4,步骤2)。

[0162] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0163] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 9.27 (brs, 1H), 9.07 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.48 (dd, $J=8.5, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.06 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 4.43 (s, 2H)。

[0164] 将657mg(相当于2.46mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶和541mg(相当于2.46mmol)的2-氨基-5-碘吡啶溶解于5.0mL乙腈中,在100℃的油浴中加热回流1.5小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,过滤出沉淀物后,用乙腈洗涤,在减压下干燥。将得到的粗结晶混悬于2mL水-2mL甲醇的混合液中,然后,向其中加入约1mL饱和碳酸氢钠溶液,并在超声波洗涤器中振荡10分钟。从得到的混合物中过滤出沉淀物,用水充分洗涤并在减压下干燥,得到675mg(相当于1.74mmol)的6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(图4,步骤3)。

[0165] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0166] ^1H -NMR(溶剂:氘代二甲亚砜,共振频率:500MHz): δ 9.38 (brs, 1H), 9.10 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.96 (brs, 1H), 8.57 (dd, $J=8.5, 2.1\text{Hz}$, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.96 (d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H), 7.49 (brs, 2H)。

[0167] 将100mg(相当于0.258mmol)的6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶溶解于5.0mL二噁烷中,加入0.5mL三乙胺后,加入258 μL (相当于0.516mmol)的双三丁基锡和29.8mg(催化剂量)的四(三苯基膦)钯。将反应混合物在100℃下搅拌16小时后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:己烷/乙酸乙酯=2/1)精制。将得到的粗结晶用己烷-乙酸乙酯重结晶,得到47mg(相当于0.085mmol)的2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶(图4,步骤4)。

[0168] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0169] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 9.21 (s, 1H), 8.99 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.48 (dd, $J=8.4, 2.1\text{Hz}$, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.97 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 8.02 (t, $J=14.7\text{Hz}$, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.62 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.22 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 1.65-1.49 (m, 6H), 1.36 (tt, $J=7.3, 7.3\text{Hz}$, 6H), 1.21-1.07 (m, 6H), 0.91 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 9H)。

[0170] (实施例8) [^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(化合物4)的合成

[0171] 向90 μL 实施例7中合成的2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的乙腈溶液(浓度:1mg/mL)中,添加2mol/L的盐酸85 μL 、1127MBq的[^{123}I]碘化钠60 μL 、30% (W/V)的过氧化氢10 μL 。将该混合液在40℃下静置10分钟后,在下述条件下进行HPLC,分级出[^{123}I]-6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶级分。

[0172] HPLC条件:

[0173] 柱:YMC PackPro C8(商品名,YMC公司制,尺寸:4.6×150mm)

[0174] 流动相:含0.1%三氟乙酸的水/含0.1%三氟乙酸的乙腈=90/10→0/100(20分钟)

[0175] 流速:1.0mL/分钟

[0176] 检测器:紫外可见吸光光度计(检测波长:260nm)和放射线检测器(Raytest公司,STEFFI型)

[0177] 向该级分中添加5mL水,将所得液体通入到Sep-Pak(注册商标)C18柱(商品名:Sep-Pak(注册商标)Light C18Cartridges,Waters公司制,填充剂的填充量130mg)中,使该柱吸附收集 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。用1mL水洗涤该柱,然后通入1mL乙醚,洗脱出 $[^{123}\text{I}]$ -6-碘-2-[2-(1H-1,2,4-三唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。得到的放射性活度在合成刚刚结束时为536MBq。另外,在下述条件下进行TLC分析,结果,其放射化学纯度为95.5%。

[0178] TLC分析条件:

[0179] TLC板:硅胶60F₂₅₄(商品名,默克公司制)

[0180] 展开相:乙酸乙酯/甲醇/二乙胺=100/4/1

[0181] 检测器:Rita Star(商品名,Raytest公司制)

[0182] (参考例1) $[^{123}\text{I}]$ -IMPY的合成

[0183] 根据下述步骤合成在用于测定淀粉状蛋白结合性以及研究脑中蓄积性的比较例中使用的 $[^{123}\text{I}]$ -IMPY。

[0184] 根据文献(Zhi-Ping Zhuang等人,J.Med.Chem,2003,46,p.237-243)中记载的方法合成2-[4'-(N,N-二甲基氨基)苯基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶,将其溶解于乙腈中(浓度:1mg/mL)。向50μL该溶液中添加2mol/L的盐酸50μL、1075MBq的 $[^{123}\text{I}]$ 碘化钠80μL、1mmol/L碘化钠溶液23μL和30%(W/V)的过氧化氢15μL。将该混合液在40℃下静置10分钟后,按与实施例2同样的条件进行HPLC,分级出 $[^{123}\text{I}]$ -IMPY级分。

[0185] 向该级分中添加10mL水,将所得液体通入到Sep-Pak C18柱(商品名:Sep-Pak(注册商标)Light C18Cartridges,Waters公司制,填充剂的填充量130mg)中,使该柱吸附收集 $[^{123}\text{I}]$ -IMPY。用1mL水洗涤该柱,然后通入1mL乙醚,洗脱出 $[^{123}\text{I}]$ -IMPY。得到的放射性活度在合成刚刚结束时为170MBq。另外,按与实施例2同样的条件进行TLC分析,结果,其放射化学纯度为98.5%。

[0186] (实施例9)利用辛醇萃取法测定分配系数

[0187] 利用众所周知的辛醇萃取法测定了分配系数(以下称为 $\log P_{\text{辛醇}}$),该分配系数是化合物通过血脑屏障(以下称为BBB)的透过性的指标。

[0188] (方法)

[0189] 用水饱和1-辛醇溶液分别将化合物1、化合物2、化合物3和化合物4调制成约1MBq/mL,制成试样溶液。将各试样溶液的各30μL分别添加到3个微管中。向添加有各试样溶液的3个微管中,分别添加水饱和的1-辛醇和1-辛醇饱和的水这两者至各200μL、400μL或800μL(分别称为200μL添加试样、400μL添加试样、800μL添加试样)。搅拌各微管后,振荡5分钟(20~25±2℃,转数20转/分钟)。接着,将各微管内的混合液用离心机(型号:T2-MC,BECKMAN公

司制)离心分离(23℃,3000g×20分钟),然后,分别取样辛醇层和水层各50μL,用Autowell Gamma系统(型号:ARC-7001,Aloka公司制)测定放射性计数。使用所测得的放射性计数,根据下述公式(1)计算logP_{辛醇}。予以说明,logP_{辛醇}的值是分别由200μL添加试样、400μL 添加试样、800μL添加试样计算出的值的平均值。

$$[0190] \quad \log P_{\text{辛醇}} = \log_{10} \left(\frac{\text{辛醇层的放射性计数}}{\text{水层的放射性计数}} \right) \dots \dots (1)$$

[0191] (结果)

[0192] 将结果示于表2中。化合物1、化合物2、化合物3和化合物4的logP_{辛醇}值分别为2.10、2.05、1.91和2.23。已知BBB透过性中的化合物的最佳logP_{辛醇}值的范围在1~3之间(Douglas D.Dischino等人,J.Nucl.Med.,(1983),24,p.1030-1038)。以上结果显示,化合物1、化合物2、化合物3和化合物4具有BBB透过性。

[0193] 表2本发明化合物的logP_{辛醇}值

[0194]

化合物	logP _{辛醇} 值
化合物1	2.10
化合物2	2.05
化合物3	1.91
化合物4	2.23

[0195] (实施例10) 2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的合成

[0196] 将407.9mg(相当于5.99mmol)的吡唑溶解于10mL二甲基甲酰胺中,然后,加入400.0mg(相当于1.99mmol)的5-乙酰基-2-溴吡啶和827.9mg(相当于5.99mmol)的碳酸钾,在100℃下加热5小时。反应结束后,将反应液冷却至室温,加入水,用二氯甲烷萃取2次。将合并的二氯甲烷层用水、饱和食盐水洗涤后,用无水硫酸镁干燥后减压浓缩,将得到的粗产物用硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=50/1)精制,得到304.0mg(相当于1.62mmol)的5-乙酰基-2-(吡唑-1-基)吡啶(图5,步骤1)。

[0197] 将100.0mg(相当于0.53mmol)的5-乙酰基-2-(吡唑-1-基)吡啶溶解于4mL二氯甲烷和230μL三乙胺中,然后,在冰冷下滴加140μL(相当于1.07mmol)的三甲基溴硅烷。在氩气氛中在室温下搅拌过夜,然后,将反应液用水、饱和食盐水洗涤,用硫酸镁干燥。蒸馏除去溶剂,将得到的残留物溶解于4mL四氢呋喃中,加入94.3mg(相当于0.53mmol)的N-溴琥珀酰亚胺,在室温下搅拌1小时。反应结束后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:二氯甲烷/乙酸乙酯=50/1)精制,得到100.0mg(相当于0.38mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(吡唑-1-基)吡啶(图5,步骤2)

[0198] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0199] ¹H-NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz):δ9.02(d,J=1.9Hz,1H),8.63(d,J=1.9Hz,1H),8.38(dd,J=8.7,1.9Hz,1H),8.10(d,J=8.7Hz,1H),7.79(s,1H),6.52(t,J=1.9Hz,1H),4.41(s,2H)。

[0200] 将100.0mg(相当于0.38mmol)的5-(2-溴乙酰基)-2-(吡唑-1-基)吡啶和83.6mg(相当于0.38mmol)的2-氨基-5-碘吡啶溶解于3.8mL乙腈中,在100℃的油浴中加热回流4小

时。反应结束后,将反应液冷却至室温,过滤出沉淀物后,用乙腈洗涤,在减压下干燥。将得到的粗结晶混悬于50mL水-50mL甲醇的混合液中,然后,向其中加入约50mL饱和碳酸氢钠溶液,并在超声波洗涤器中振荡1小时。从得到的混合物中过滤出沉淀物,用水充分洗涤并在减压下干燥,得到80.2mg(相当于0.21mmol)的2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]-6-碘咪唑并[1,2-a]吡啶(图5,步骤3)

[0201] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0202] ^1H -NMR(溶剂:氘代二甲亚砜,共振频率:500MHz): δ 9.04(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.97(s, 1H), 8.66(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.50(dd, $J=8.3, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.46(s, 1H), 8.01(d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 7.86-7.85(m, 1H), 7.48(s, 2H), 6.61-6.60(m, 1H)。

[0203] 将50.0mg(相当于0.129mmol)的2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]-6-碘咪唑并[1,2-a]吡啶溶解于2.0mL二噁烷中,加入0.5mL三乙胺后,加入129 μL (相当于0.258mmol)的双三丁基锡和15.0mg(催化剂量)的四(三苯基膦)钯。将反应混合物在100 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌26小时后,在减压下蒸馏除去溶剂,将残留物用快速硅胶柱色谱法(洗脱液:己烷/乙酸乙酯=2/1)精制。将得到的粗结晶用己烷-乙酸乙酯重结晶,得到25.1mg(相当于0.046mmol)的2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶。(图5,步骤4)

[0204] 使用的NMR装置:JNM-ECP-500(日本电子株式会社制)

[0205] ^1H -NMR(溶剂:氘代氯仿,共振频率:500MHz): δ 8.94(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.66(d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H), 8.40(dd, $J=8.7, 2.3\text{Hz}$, 1H), 8.05(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 8.01(s, 1H), 7.89(s, 1H), 7.75(s, 1H), 7.61(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 7.20(d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.48(s, 1H), 1.59-1.53(m, 6H), 1.39-1.32(m, 6H), 1.14-1.09(m, 6H), 0.90(t, $J=7.4\text{Hz}$, 9H)。

[0206] (实施例11) [^{123}I]-6-碘-2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶(化合物5)的合成

[0207] 向90 μL 实施例10中合成的2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]-6-三丁基甲锡烷基咪唑并[1,2-a]吡啶的乙腈溶液(浓度:1mg/mL)中,添加1mol/L的盐酸170 μL 、426MBq的[^{123}I]碘化钠60 μL 、30%(W/V)的过氧化氢10 μL 。将该混合液在40 $^{\circ}\text{C}$ 下静置10分钟后,在下述条件下进行HPLC,分级出[^{123}I]-6-碘-2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶级分。

[0208] HPLC条件:

[0209] 柱:YMC PackPro C8(商品名,YMC公司制,尺寸:4.6 $\times$ 150mm)

[0210] 流动相:含0.1%三氟乙酸的水/含0.1%三氟乙酸的乙腈=80/20 $\rightarrow$ 10/90(20分钟)

[0211] 流速:1.0mL/分钟

[0212] 检测器:紫外可见吸光光度计(检测波长:260nm)和放射线检测器(Raytest公司, STEFFI型)

[0213] 向该级分中添加10mL水,将所得液体通入到Sep-Pak(注册商标)C18柱(商品名: Sep-Pak(注册商标)Light C18Cartridges, Waters公司制,填充剂的填充量130mg)中,使该柱吸附收集[^{123}I]-6-碘-2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。用1mL水洗涤该柱,然后通入1mL乙醚,洗脱出[^{123}I]-6-碘-2-[2-(吡唑-1-基)吡啶-5-基]咪唑并[1,2-a]吡啶。得到的放射性活度在合成刚刚结束时为49MBq。另外,在下述条件下进行TLC分析,结果,其放射化学纯度为97.8%。

[0214] TLC分析条件:

[0215] TLC板:硅胶60F₂₅₄(商品名,默克公司制)

[0216] 展开相:乙酸乙酯/甲醇/二乙胺=100/4/1

[0217] 检测器:Rita Star(商品名,Raytest公司制)

[0218] (实施例12)淀粉状蛋白结合性的测定

[0219] 采用以下的体外结合试验来评价化合物1、化合物3、化合物4、化合物5以及[¹²³I]-IMPY对淀粉状蛋白凝聚物的结合性。

[0220] 使用由Analytical Biological Services公司(美国)销售的AD患者脑组织(额叶)制备的AD患者脑灰质匀浆和AD患者脑白质匀浆来实施。予以说明,关于本实验中使用的脑组织,通过使用来自同一供体的薄切片的抗淀粉状蛋白抗体{抗人淀粉状蛋白β(N)(82E1)小鼠IgG MoAb(株式会社免疫生物研究所)},经免疫染色,确认淀粉状蛋白沉积在灰质中,而且,白质中不存在淀粉状蛋白。

[0221] (方法)

[0222] 使用含有50mmol/L的L-半胱氨酸盐酸盐的生理盐水,按照使放射性浓度成为50MBq/mL的条件来调制化合物1、化合物3、化合物4、化合物5以及[¹²³I]-IMPY。将调制好的溶液用含0.1%牛血清白蛋白(以下称为BSA)的5mmol/L磷酸盐缓冲生理盐水稀释,以使反应溶液中各被测物质的浓度为0.05~5.5pmol/L,由此调制试样溶液。向96孔微板的各孔中加入含0.1%BSA的5mmol/L的磷酸盐缓冲生理盐水 150μL、所调制的各试样溶液50μL,如此调制各试样溶液各2个。在添加有各试样溶液的各2个孔中,一个孔中添加AD患者脑灰质匀浆50μL,另一个孔中添加AD患者脑白质匀浆50μL(最终浓度100μg蛋白质/mL),开始反应。将反应溶液振荡(22℃,400rpm)3小时后,使用玻璃纤维过滤器(Multiscreen HTS FB, Millipore公司制)过滤反应溶液。将过滤后的过滤器用含0.1%BSA的5mmol/L磷酸盐缓冲生理盐水洗涤(200μL×3次),然后,用Autowell Gamma系统(型号:ARC-7001,Aloka公司制)测定过滤器中残留的放射性。由得到的放射性计数计算出结合到AD患者脑灰质匀浆或AD患者脑白质匀浆上的放射性活度相对于所添加的放射性活度的百分比(%)。予以说明,上述操作重复进行3次。

[0223] (结果)

[0224] 结果示于图6和表3。对于加入AD患者脑灰质匀浆的组,与添加有AD患者脑白质匀浆的组相比,结合的百分比(%)总体来说显示出高值。因此,与¹²³I-IMPY同样,化合物1、化合物3、化合物4和化合物5显示出对脑内沉积的淀粉状蛋白具有结合性。

[0225] 表3结合到AD患者脑灰质或白质的放射性活度的比例(%)

[0226]

化合物	结合到 AD 患者脑组织的放射性活度的比例 (%)	
	灰质	白质
化合物 1	2.59	0.48
化合物 3	2.00	0.83
化合物 4	1.13	0.17
化合物 5	2.41	0.77
[¹²³ I]-IMPY	1.97	0.77

[0227] (实施例13)脑内转移性和清除率的测定

[0228] 使用化合物1、化合物2、化合物3、化合物4和化合物5,测定雄性Wistar大鼠(8周龄)在脑内的放射性蓄积。

[0229] (方法)

[0230] 分别制备将化合物1、化合物2、化合物4和化合物5各自溶解于含有50mmol/L的L-半胱氨酸盐酸盐的生理盐水中而成的液体,作为试样溶液(放射性浓度均为37MBq/mL)。制备将化合物3溶解于含有10%乙醇和50mmol/L的L-半胱氨酸盐酸盐的生理盐水中而成的溶液(放射性浓度为37MBq/mL),作为试样溶液。将这些试样溶液在无麻醉下注入到雄性Wistar大鼠(8周龄)的尾静脉(给药量:0.2mL,给药的放射性活度:相当于7.4MBq)。在给药后2分钟和60分钟,在无麻醉下断头,采集血液及脑。测定脑的质量,再使用单通道分析仪(检测器型号:SP-20,应用光研工业株式会社制)测定脑的放射性(以下,在本实施例中称为A)。此外,按照与上述同样的方式测定包括血液在内的全身其余部分的放射性活度(以下,在本实施例中称为B)。使用这些测定结果,由下述公式(2)计算出在各解剖时间点的每单位脑质量的放射性蓄积量(%ID/g)。

[0231] 另外,制备将[¹²³I]-IMPY溶解于含有50mmol/L的L-半胱氨酸盐酸盐的生理盐水中而成的溶液(放射性浓度为37MBq/mL),进行与上述同样的操作,计算出在各解剖时间点的每单位脑质量的放射性蓄积量(%ID/g)。

[0232] 予以说明,在本实施例中,在各时间点分别使用3只动物进行实验。

$$[0233] \quad \%ID/g = \frac{A}{B \times \text{脑质量}} \times 100 \quad \dots \quad (2)$$

[0234] (结果)

[0235] 将结果示于表4。如表4所示,化合物1、化合物2、化合物3、化合物4和化合物5显示出以下倾向:在给药后2分钟确认与¹²³I-IMPY同样的高放射性蓄积,随后经60分钟迅速消失。该结果启示,化合物1、化合物2、化合物3、化合物4和化合物5与[¹²³I]-IMPY同样,具有高的脑转移性以及从脑中的迅速清除率。

[0236] 表4本发明化合物在静脉注射后的脑内放射性蓄积(大鼠)

[0237]

化合物	每单位质量的放射性蓄积量 (%ID/g)	
	2 分钟	60 分钟
化合物 1	1.226	0.028
化合物 2	1.160	0.027
化合物 3	1.186	0.246
化合物 4	1.287	0.056
化合物 5	1.500	0.079
[¹²³ I]-IMPY	1.644	0.085

[0238] (实施例14) 利用放射自显影图确认化合物对AD患者脑切片的结合性

[0239] 为了评价出本发明化合物能否描绘出AD患者脑内的淀粉状蛋白,进行了下述实验。

[0240] (方法)

[0241] (1) 使用由Analytical Biological Services公司(美国)销售的AD患者脑组织来制作厚5 μ m的AD患者脑切片。

[0242] (2) 将由各被测物质制备的脑切片在PBS中按顺序分别浸渍15分钟、5分钟、5分钟各3次,接着,在含1%BSA的PBS中浸渍30分钟,进行亲水化。作为被测物质,分别制备含有化合物1、化合物2、化合物3、化合物4、化合物5和[¹²³I]-IMPY的含1%BSA的PBS(放射性浓度为10kBq/mL)。将上述亲水化的脑切片分别在室温下浸渍各被测物质30分钟。然后,按顺序浸渍在含1%BSA的PBS中5分钟,接着在PBS中浸渍5分钟,再在PBS中浸渍5分钟,如此进行脑切片的洗涤。充分干燥洗涤后的脑切片,然后,在显像板上曝光16小时,使用生物图像分析仪(型号:BAS-2500,富士胶片株式会社制)进行放射自显影图像分析(图7、图8、图9、图10、图11、图12)。

[0243] (3) 另外,使用按照与上述同样要点进行了亲水化处理的相邻的切片,通过抗淀粉状蛋白抗体进行淀粉状蛋白沉积部位的免疫染色。使用抗人淀粉状蛋白 β (N)(82E1)小鼠IgG MoAb(株式会社免疫生物研究所)作为抗淀粉状蛋白抗体,使用抗小鼠IgG(H+L)山羊IgGFab'-HRP(株式会社免疫生物研究所)作为二抗。通过对与二抗结合的HRP应用DAB+(3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐)·底物试剂盒(Dako),检测淀粉状蛋白沉积部位(图13)。

[0244] (结果)

[0245] 将浸渍于使用了化合物1、化合物2、化合物3、化合物4、化合物5及[¹²³I]-IMPY的溶液的切片的放射自显影图分别示于图7、图8、图9、图10、图11和图12。本实验中使用的AD患者脑冷冻切片的灰质部分通过免疫染色可确认淀粉状蛋白的沉积(图13),在任一放射自显影图上均可确认由免疫染色确认的化合物与淀粉状蛋白沉积部位的结合。以上结果显示,本发明的化合物1、化合物2、化合物3、化合物4和化合物5与[¹²³I]-IMPY同样地可将脑内的淀粉状蛋白沉积部位图像化。

[0246] 产业实用性

[0247] 本发明的化合物可以用于诊断剂领域。

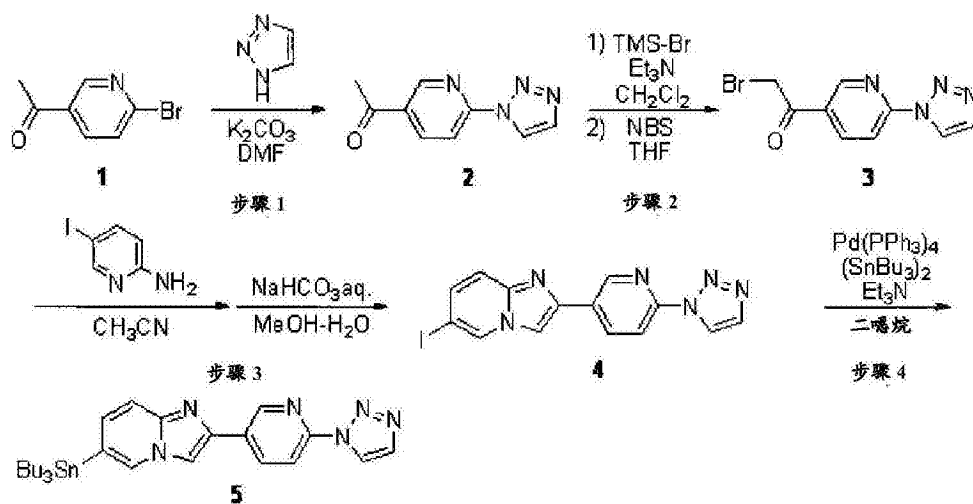


图1

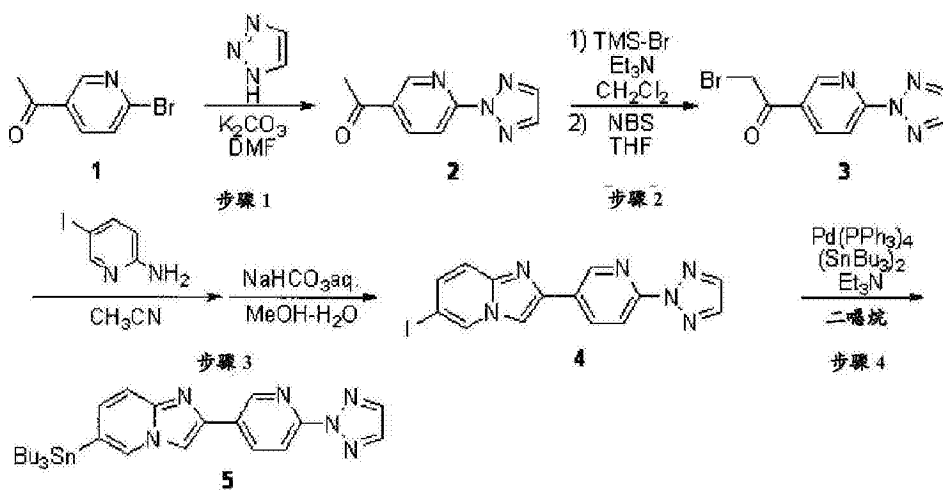


图2

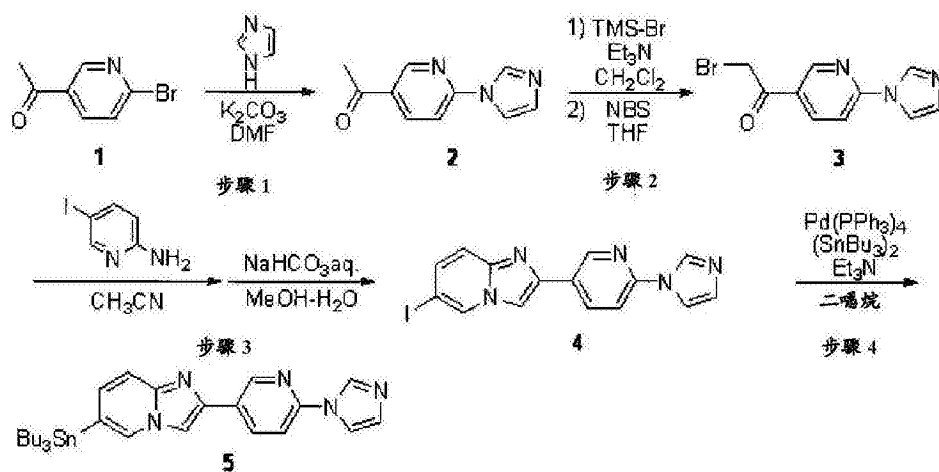


图3

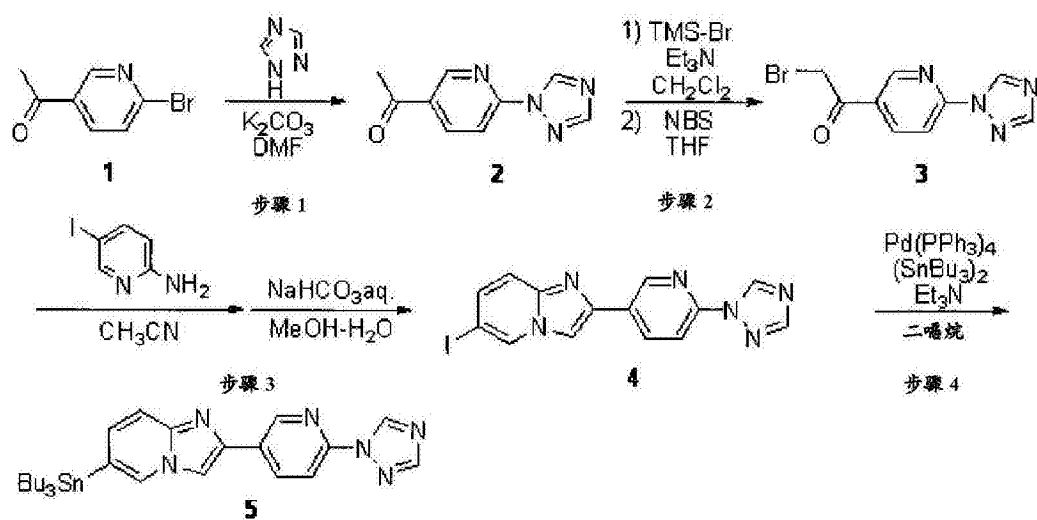


图4

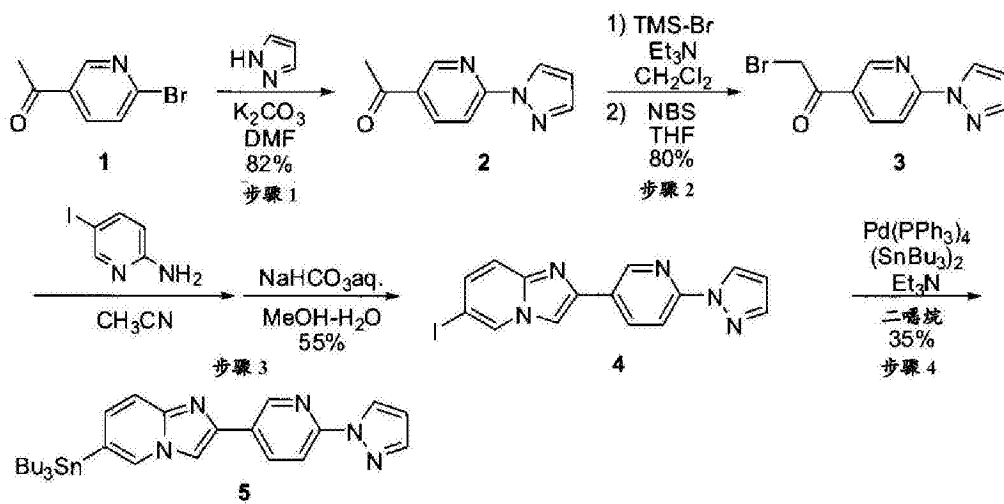


图5

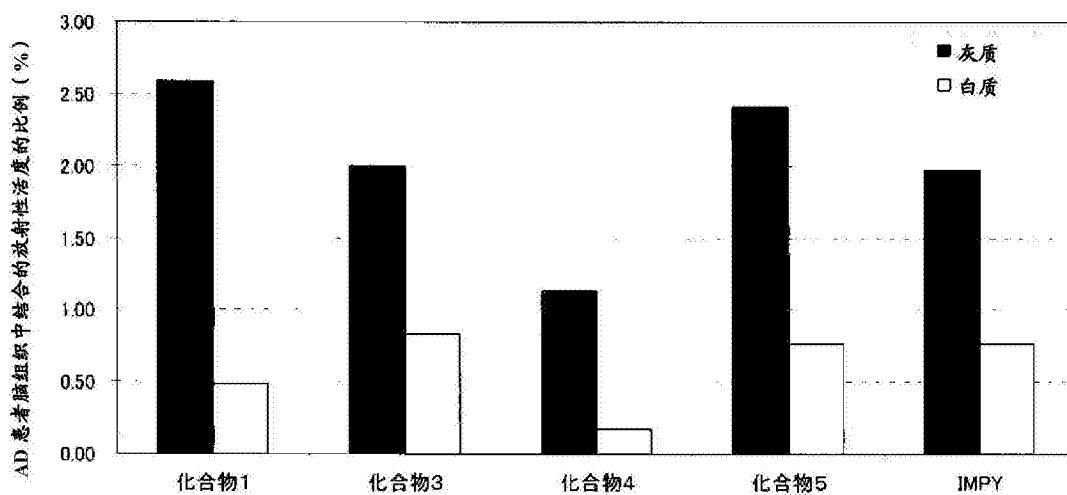


图6



图7



图8



图9

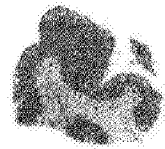


图10



图11



图12



图13