(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101970017 B
(45)授权公告日 2012.05.23

(21)申请号 200980106791.3

(22)申请日 2009.02.26

(30)优先权数据
0803729.3 2008.02.29 GB
61/032442 2008.02.29 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2010.08.27

(86)PCT申请的申请数据
PCT/EP2009/052280 2009.02.26

(87)PCT申请的公布数据
WO2009/106564 EN 2009.09.03

(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 P·A·琼斯 I·威尔逊
V·莫里森-艾夫森 C·琼斯
J·伍德克拉夫特 A·杰克逊
D·怀恩

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 关立新 李炳爱

(51)Int.Cl.
A61K 51/04(2006.01)

(56)对比文件

WO 2007141267 A1,2007.12.13,说明书第2页,第7页,权利要求书.

Nelson DW, et. al..《Structure-activity relationship studies on a series of novel,substituted 1-benzyl-5-phenyltetrazole P2X7 antagonists》.《J Med Chem.》.2006,第49卷(第12期),3659-66.

Stokes L, et. al..《Characterization of a selective and potent antagonist of human P2X(7) receptors, AZ11645373》.《Br J Pharmacol.》.2006,第149卷(第7期),880-7.

Michel AD, Chambers LJ, Walter DS..《Negative and positive allosteric modulators of the P2X(7) receptor》.《Br J Pharmacol.》.2008,第153卷(第4期),737-750.

审查员 豆波建

权利要求书 2 页 说明书 20 页

(54)发明名称

中枢神经系统的显像

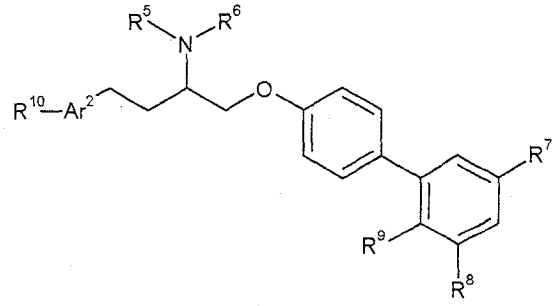
(57)摘要

本发明提供可用作体内显像剂的新化合物。本发明的化合物在受试者内$P2X_7$受体表达的显像方法中是有用的,因此作为一种手段以利于诊断疾病状态的程度。

CN 101970017 B

1. 适合受试者中枢神经系统体内显像的体内显像剂，其中所述体内显像剂为式 II 的化合物、或其盐或溶剂化物，其中：

式 II 定义如下：



(II)

其中 R^5-R^{10} 中的一个包含体内显像剂部分，其为 γ 发射的放射活性卤素或正电子发射放射活性非金属，且其中：

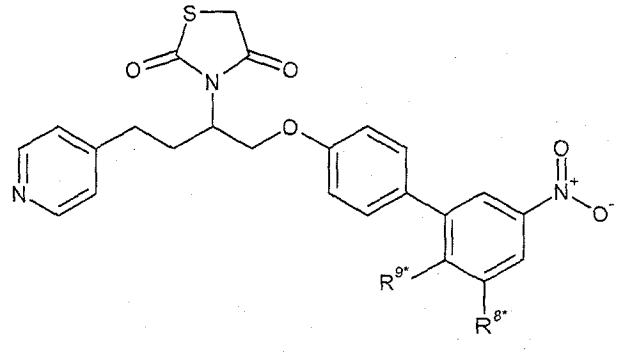
R^5 和 R^6 独立地选自氢、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 氟代烷基、C_{1-6} 酰基、C_{1-6} 氟代酰基、C_{1-6} 羧酸烷基酯、C_{1-6} 烷氧基、C_{1-6} 氟代烷氧基；或 R^5 和 R^6 与它们连接的氮一起形成 5- 或 6- 元含氮杂环，其任选包含另一个选自氮、硫或氧的杂原子，和任选在环上具有 1 或 2 个氧代基团；

R^7-R^9 独立地选自氢、卤素、硝基、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 卤代烷基、C_{5-6} 芳基、或 C_{5-6} 卤代芳基；

R^{10} 选自氢、羟基、硝基、卤素，或为基团 $C(=O)NR^{11}R^{12}$，其中 R^{11} 和 R^{12} 定义如 R^5 和 R^6；和，

Ar^2 为具有 0-3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 至 6- 元芳基基团。

2. 如权利要求 1 所述的式 II 体内显像剂，其是式 II^* 化合物：

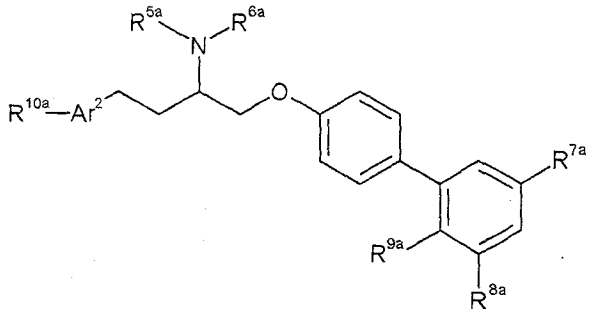


(II^*)

其中 R^{8*} 和 R^{9*} 中的一个是 ^{18}F，和另一个是氢。

3. 如权利要求 1 或权利要求 2 所述的体内显像剂，其中所述体内显像部分选自 ^{123}I、^{11}C 和 ^{18}F。

4. 如权利要求 1 所述的式 II 体内显像剂的合成方法，其中所述方法包含将所述体内显像部分的合适来源与式 IIa 的前体化合物反应：



(IIa)

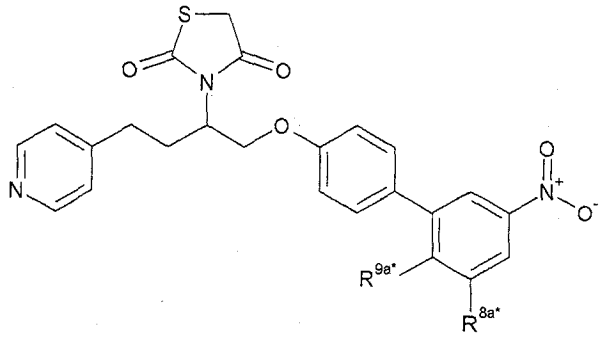
其中：

R^{5a} 和 R^{6a} 分别如同权利要求 1 中 R^5 和 R^6 的定义；和，

R^{7a}-R^{10a} 中的一个代表前体基团，且其余的如同权利要求 1 中 R^7-R^{10} 的定义；

其中所述前体基团选自碘、羟基、硝基、碘盐、溴、甲磺酸根、甲苯磺酸根、三烷基锡、$B(OH)_2$ 和三烷基铵盐。

5. 如权利要求 4 所述的方法，其中所述式 IIa 的前体化合物为式 IIa^* 化合物：



(IIa^*)

其中 R^{8a*} 和 R^{9a*} 中的一个为前体基团，和另一个为氢。

6. 如权利要求 4 或权利要求 5 所述的方法，其中所述方法是自动化的。

7. 用于实现如权利要求 6 所述方法的盒子，其包含：

(i) 含有如权利要求 4 或权利要求 5 方法中所述的前体化合物的容器；和

(ii) 用体内显像部分的适合来源洗脱容器的装置，所述体内显像部分如权利要求 1 或 3 中定义。

8. 如权利要求 7 所述的盒子，其额外包含：

(iii) 用于除去过量体内显像部分的离子交换柱体，和任选，

(iv) 用于将得到的放射标记的产品去保护以形成如此处定义的体内显像剂的柱体。

9. 如权利要求 1-3 任何一项所述的体内显像剂，用于确定受试者中枢神经系统中炎症的存在、位置和 / 或数量的方法中。

10. 如权利要求 1-3 任何一项所述的体内显像剂，用于制备确定受试者中枢神经系统中炎症的存在、位置和 / 或数量的药物中。

11. 放射药物组合物，其包含适合哺乳动物给药形式的如权利要求 1-3 任何一项所述的体内显像剂和生物相容性载体。

中枢神经系统的显像

[0001] 发明的技术领域

[0002] 本发明涉及嘌呤 P2 受体的领域。更具体地说，本发明涉及新的嘌呤 $P2X_7$ 受体的体内显像剂、其生产及其中间体。在进一步的细节中，本发明涉及本发明的体内显像剂在提供用于诊断牵涉 $P2X_7$ 受体表达的疾病状态的信息的方法中的用途。

[0003] 相关技术描述

[0004] $P2X_7$ 受体是直接通过胞外 ATP（唯一已知的生理学配体）和少数药理学 ATP 类似物门控的阳离子选择性离子通道 (North 2002 Physiol. Rev. 82 :1013-1067)。ATP 从损坏的细胞中释放和随后位于造血细胞（诸如小胶质细胞、巨噬细胞和淋巴细胞）的嘌呤 $P2X_7$ 受体的激活对炎症级联来说是重要的 (Ferrari D 等人 2006 J. Immunol. 176 :3877-83)。与质膜 $P2X_7$ 通道开放有关的阳离子运动是主要促炎细胞因子白细胞介素 -1β (IL-1β) 的成熟和释放所必需的。虽然 $P2X_7$ 的表达在正常组织中是低的，炎症期间（不论是中枢或周围），周边区域的 $P2X_7$ 对细胞的反应性有大量的增加。

[0005] 在中枢神经系统 (CNS)，$P2X_7$ 增加具有以下特征 :实验诱导的中风 (Franke 等人 2004 J. Neuropathol. Exp. Neurol. 63 :686-99) ；多发性硬化症 (MS)(Yiangou 等人 2006 BMC. Neurol. 6 :12) ；肌萎缩侧索硬化症 (ALS)(Yiangou 等人 2006 supra) ；癫痫 (Rappold 等人 2006 Brain Res. 1089 :171-8) ；和转基因的淀粉样蛋白阿尔茨海默氏病小鼠 (Parvathenani 等人 2003 J. Biol. Chem. 278 :13309-17)。在周围，$P2X_7$ 受体上调已显示伴有神经性疼痛 (Chessell 等人 2005 Pain 114 :386-96) ；多囊肾病 (Franco-Martinez 等人 2006 Clin. Exp. Immunol 146 :253-61) ；和肺结核 (Hillman 等人 2005 Nephron. Exp. Nephrol. 101 :e24-30)。

[0006] $P2X_7$ 上调也已显示在实验模型和在患者的多种癌症中，例如子宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、乳腺癌、皮肤癌和白血病中 (Feng 等人 2006 J. Biol. Chem. 281 :17228-37 ；Greig 等人 2003 J. Invest. Dermatol. 121 :315-327 ；Slater 等人 2004 Histopathology 44 :206-215 Slater 等人 2004 BreastCancer Res. Treat. 83 :1-10 ；Zhang 等人 2004 Leuk. Res. 28 :1313-1322 ；Li 等人 2006 Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 15 :1906-13)。

[0007] 已经合成了许多不同骨架结构种类的化合物，以产生治疗的 $P2X_7$ 拮抗作用。用作 $P2X_7$ 受体激动剂和拮抗剂的综述已由 Baraldi 等人出版 (2004 Curr. Topics Med. Chem. 4 :1707-17)。本文披露的化合物被论述为潜在有用的治疗药物。

[0008] 小分子 $P2X_7$ 结合化合物也已披露在有关的体内显像申请中。WO 2007/141267 主要有关于治疗和提供吡唑衍生物，其为 $P2X_7$ 拮抗剂，用于治疗疼痛、炎症和神经退行性变。这些化合物的同位素标记形式被论述为有益于通过单光子发射断层 (SPECT) 或 PET 在体内显像，虽然 WO 2007/141267 没有提供涉及如何获得这些同位素标记形式的细节。WO 2007/109154 和 WO 2007/109192 也主要涉及治疗且披露了二环杂芳基化合物作为 $P2X_7$ 调节剂。这些包含 ^{11}C、^{18}F、^{15}O 和 ^{13}N 的同位素变体被言及为有益于底物受体占有的 PET 研究，虽然 WO 2007/109154 或 WO 2007/109192 没有描述如何获得这些同位素变体。WO 2008/064432 的优先权日早于本发明，出版日期晚于本发明。WO 2008/064432 披露了多环

化合物，用于诊断、治疗和监测牵涉 $P2X_7$ 受体的疾病。WO 2008/064432 的化合物在 $P2X_7$ 受体功能测定中进行了试验，证实了这些化合物为 $P2X_7$ 受体拮抗剂。WO 2008/064432 的化合物可以用同位素放射性标记，以适合例如通过 SPECT 或 PET 用于体内显像，且具有特别适合于体内显像研究的生理化学性质。

[0009] 需要有适合 $P2X_7$ 受体显像的体内显像剂的替代范围，以利于诊断与 $P2X_7$ 受体相关的疾病状态，尤其是中枢神经系统 (CNS) 的那些疾病状态。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明提供可用作体内显像剂的新化合物。本发明的体内显像剂在受试者 CNS 的 $P2X_7$ 受体表达的显像方法中是特别有用的，因此作为一种手段以利于诊断疾病状态的程度。

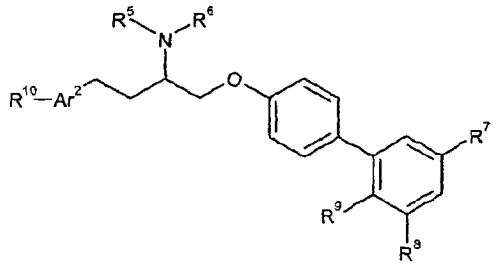
[0012] 发明详述

[0013] 体内显像剂

[0014] 在一个方面，本发明提供体内显像剂，适合受试者中枢神经系统 (CNS) 的体内显像，其中所述体内显像剂为式 II-IV 的任何一种化合物、或其盐或溶剂化物，其中：

[0015] 式 II 定义如下：

[0016]



(II)

[0017] 其中 R^5-R^{10} 中的一个包含体内显像剂部分，其为 γ 发射的放射活性卤素或正电子发射放射活性非金属，且其中：

[0018] R^5 和 R^6 独立地选自氢、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 氟代烷基、C_{1-6} 酰基、C_{1-6} 氟代酰基、C_{1-6} 羧酸烷基酯、C_{1-6} 烷氧基、C_{1-6} 氟代烷氧基；或 R^1 和 R^2 与它们连接的氮一起形成 5- 或 6- 元含氮杂环，其任选包含另一个选自氮、硫或氧的杂原子，和任选在环上具有 1 或 2 个氧代基团 (oxo groups)；

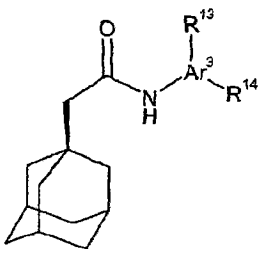
[0019] R^7-R^9 独立地选自氢、卤素、硝基、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 卤代烷基、C_{5-6} 芳基、或 C_{5-6} 卤代芳基；

[0020] R^{10} 选自氢、羟基、硝基、卤素，或为基团 $C(=O)NR^{11}R^{12}$，其中 R^{11} 和 R^{12} 定义如 R^5 和 R^6；和，

[0021] Ar^2 为具有 0-3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 至 6- 元芳基基团；

[0022] 式 III 定义如下：

[0023]



(III)

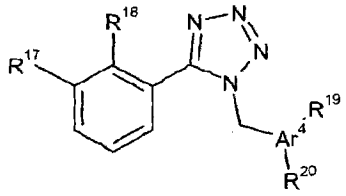
[0024] 其中 R^{13} 或 R^{14} 中的一个包含体内显像部分，其为 γ 发射的放射活性卤素或正电子发射放射活性非金属，且其中：

[0025] Ar^3 为具有 0-3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 至 10- 元芳环；和，

[0026] R^{13} 和 R^{14} 独立地选自氢、卤素、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 卤代烷基、C_{1-6} 亚烷基 $-NR^{15}R^{16}$、C(=O)$-NR^{15}R^{16}$、NH-C_{1-6} 亚烷基 $-NR^{15}R^{16}$，且 R^{15} 和 R^{16} 独立地选自氢、卤素、C_{1-6} 烷基、C_{1-6} 卤代烷基、C_{1-6} 卤代烷氧基、C_{1-6} 羟基烷基、C_{1-6} 酰基；或 R^{15} 和 R^{16} 与它们连接的氮一起形成含氮的 C_{5-12} 杂环，其任选包含 1-3 个另外选自氮、氧和硫的杂原子；

[0027] 和，式 IV 定义如下：

[0028]



(IV)

[0029] 其中 R^{17-20} 中的任何一个包含体内显像部分，其为 γ 发射的放射活性卤素或正电子发射放射活性非金属，且其中：

[0030] R^{17} 和 R^{18} 独立地选自氢、卤素、羟基、C_{1-3} 烷基、C_{1-3} 卤代烷基、和 C_{1-3} 羟基烷基；

[0031] R^{19} 和 R^{20} 独立地选自氢、卤素、C_{1-3} 烷基、和 C_{1-3} 氟代烷基；和

[0032] Ar^4 为具有 0-3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 5- 至 12- 元芳基基团。

[0033] 术语“体内显像剂”是指可用于检测活受试者内特定生理学或病理生理学的化合物，这凭借将其给所述受试者施用并随后检测所述受试者内的该化合物，其中检测是在所述受试者的体外进行。

[0034] 为了“适用于中枢神经系统体内显像 (CNS)”，体内显像剂必须能够穿越血脑障壁 (BBB)。“CNS”是受试者神经系统的一部分，包含大脑和脊髓，被脑膜覆盖。普遍认可的 BBB 渗透的生物物理学 / 物理化学的模型具有如下被动转运的主要决定因素：溶质的亲油性；氢键去溶剂化的潜力；pKa/ 电荷；和分子大小。例如，关于化合物穿透 BBB 的合适亲油性值，其 logP 应在 1.0-4.5、优选 2.0-3.5 的范围内。

[0035] 本发明的“受试者”优选哺乳动物、最优选完整体内的哺乳动物主体。在特别优选的实施方案中，本发明的受试者是人类。

[0036] 术语“其盐和溶剂化物”中，合适的盐可选自 (i) 生理上可接受的酸加成盐，诸如由无机酸如盐酸、氢溴酸、磷酸、偏磷酸、硝酸和硫酸所衍生的那些盐，和由有机酸如酒石酸、三氟乙酸、柠檬酸、苹果酸、乳酸、富马酸、苯甲酸、羟基乙酸、葡糖酸、琥珀酸、甲磺酸和对甲苯磺酸所衍生的那些盐；和 (ii) 生理上可接受的碱盐，诸如铵盐，碱金属盐 (例如钠和

钾盐），碱土金属盐（例如钙和镁盐），与有机碱如三乙醇胺、N- 甲基 -D- 葡萄糖胺、哌啶、吡啶、哌嗪和吗啉形成的盐，和与氨基酸如精氨酸和赖氨酸形成的盐。合适的溶剂化物可选自与乙醇、水、盐水、生理缓冲液和乙二醇形成的那些溶剂化物。

[0037] 术语“包含体内显像部分”是指如本文定义的任何一种式 I-IV 的所述体内显像剂的官能团包含体内显像部分。当官能团包含显像部分时，这是指′显像部分′形成化学结构的一部分，且放射活性同位素以显著高于所述同位素自然丰度水平的水平存在。这种升高或富集水平的同位素适当是至少 5 倍、优选至少 10 倍、最优选至少 20 倍；理想是至少 50 倍的自然丰度水平的所述同位素，或以其中所述同位素富集水平为 90 至 100％的水平存在。这种官能团的实例包括具有升高水平的 ^{123}I 的碘代苯基基团、具有升高水平的 ^{11}C 的 CH_3 基团、具有升高水平的 ^{18}F 的氟代烷基基团，使得显像部分在化学结构内同位素标记了 ^{11}C 或 ^{18}F 原子。这些和其他合适官能团如何掺入本发明的体内显像剂的更详细讨论在此说明书中稍后给出。

[0038] 本发明合适的“体内显像部分”是 γ 发射的放射活性卤素或正电子发射放射活性非金属。当体内显像部分是 γ 发射的放射活性卤素时，放射性卤素适合地选自 ^{123}I、^{131}I 或 ^{77}Br。^{125}I 是明确排除在外的，因为它不适合体内显像应用。体内显像优选的 γ 发射的放射活性卤素是 ^{123}I。当体内显像部分是正电子发射放射活性非金属时，这种适合的正电子发射体包括：^{11}C、^{13}N、^{15}O、^{17}F、^{18}F、^{75}Br、^{76}Br 或 ^{124}I。优选的正电子发射放射活性非金属是 ^{11}C、^{13}N、^{18}F 和 ^{124}I，特别是 ^{11}C 和 ^{18}F，最特别是 ^{18}F。

[0039] “$P2X_7$ 受体配体”的化合物表示在 HEK.293 细胞中至少 40％（优选至少 60％和最优选至少 70％）抑制激动剂的功能，以形成非选择性孔（参见 Michel 等人 B.J.Pharmacol.1998,125:1194-1201）。以亲合力的方式，$P2X_7$ 受体配体具有 0.01 和 100nM 之间、优选 0.01 和 10nM 之间、最优选 0.01 和 1nM 之间的 K_d 或 K_i（当如下测量时：Humphreys 等人 1998Molecular Pharmacology,54:22-32;Chessell 等人 1998 British Journal of Pharmacology,124:1314-1320）。在与 $P2X_7$ 受体亲和力一起结合时，本发明的体内显像剂优选对其他 P2 受体高至 10μM 均没有亲和性。本发明的体内显像剂优选是 $P2X_7$ 受体拮抗剂。

[0040] 除非另有指定，单独的或组合中的术语“烷基”是指含有 1 ～ 6 个碳原子优选 1 ～ 3 个碳原子的直链或支链烷基。这类基团的实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、己基。

[0041] 除非另有指定，单独的或组合中的术语“烷氧基”是指烷基醚基团，其中术语烷基如上定义。合适的烷基醚基团的实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基。

[0042] “芳基”是指在环系统中具有 5 ～ 12 个碳原子优选 5 ～ 6 个碳原子的芳环或环系统，如苯基或萘基。“杂芳基”取代基是如本文定义的芳基，其中环上的至少一个碳原子已被选自 N、S 或 O 的杂原子替换。

[0043] “酰基”被定义为包含原子团 RC(=O) 的任何基团，其中 R 是如上定义的烷基基团。“乙酰基”其中 R 为甲基的酰基基团。

[0044] 术语“卤素”是指选自氟、氯、溴或碘的取代基。“卤代烷基”、“卤代酰基”、“卤代烷氧基”和“卤代芳基”分别是被一个或多个卤素基团取代的如上定义的烷基、酰基、烷氧基和

芳基基团。

[0045] “羟基”为基团 -OH。术语“羟基烷基”代表被一个或多个羟基基团取代的如上定义的烷基基团。

[0046] “硝基”为基团 $-NO_2$。

[0047] “Oxo”为基团= O。

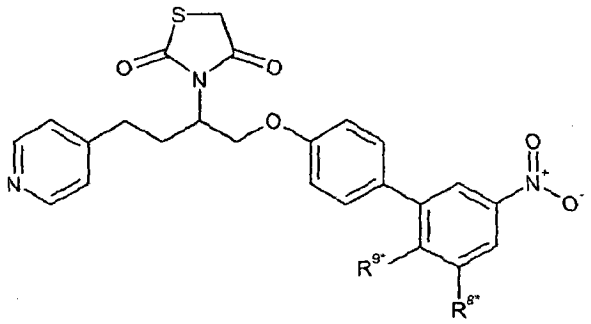
[0048] 术语“亚烷基”是指式 $(CH_2)_n$ 的二价连接部分，其中除非另有指定，n 优选为 1 ～ 6。

[0049] 术语“杂环”是指脂肪族或芳香族的 C_{5-12} 环状原子团，其中包含至少 1 个氮、氧或硫的环成员。优选 C_{6-10} 环状原子团。

[0050] 术语“羧酸烷基酯”是由式 R′ C(= O)OR″ 定义的基团，其中 R′ 和 R″ 为如上定义的 C_{1-6} 烷基基团。

[0051] 在优选的实施方案中，当本发明的体内显像剂是式 II 化合物时，它是式 II^* 化合物：

[0052]

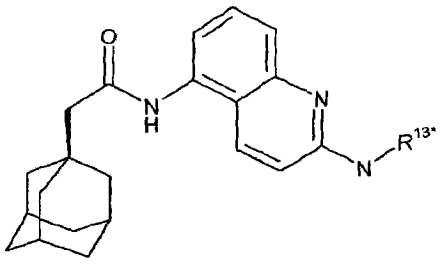


(II^*)

[0053] 其中 R^{8*} 和 R^{9*} 中的一个是 ^{18}F，和另一个是氢。

[0054] 在进一步优选的实施方案中，当本发明的体内显像剂是式 III 化合物时，它是式 III^* 化合物：

[0055]

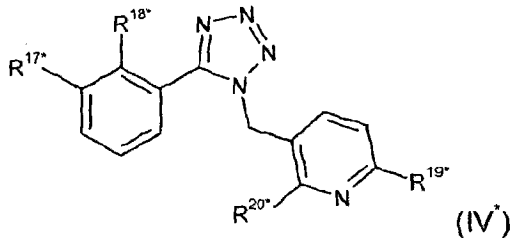


(III^*)

[0056] 其中 R^{13*} 是 C_{1-6} 亚烷基 $-NHR^{15*}$，其中 R^{15*} 是 $C_{1-6}[^{18}F]$- 氟代烷基或 $C_{1-6}[^{18}F]$- 氟代烷氧基。

[0057] 在还进一步优选的实施方案中，当本发明的体内显像剂是式 IV 化合物时，它是式 IV^* 化合物：

[0058]



[0059] 其中 R^{17*} 和 R^{18*} 都是卤素，R^{19*} 和 R^{20*} 中的一个是 ^{18}F，和另一个是氢。

[0060] 合成的方法和前体

[0061] 本发明的体内显像剂可通过前体化合物与期望的合适来源的体内显像部分起反应来获得。

[0062] “前体化合物”包含如上定义的任何式 II-IV 化合物的未标记的衍生物，它被设计成能与适宜化学形式的显像部分位点专一地发生化学反应；可以以最少的步骤数（最好是一步）进行；且不需要费力纯化（最好是不再纯化），以得到所要的如本文定义的式 II-IV 的任何一种体内显像剂。这样的前体化合物是合成的并能适宜地获得良好的化学纯度。前体化合物可任选地包含该前体化合物某些官能基团的保护基团。

[0063] 术语“保护基团”是指一种基团，其阻碍或抑制不想要的化学反应，但它被设计成有充分的反应活性，可以在足够温和的条件下从所述官能基团上裂解，而不会改变分子的其余部分。在脱保护之后，可获得所要的如本文定义的一种式 II-IV 的体内显像剂。保护基团是本领域技术人员所熟知的且适宜选自如下，对于胺基：Boc（在此 BOC 为叔丁氧羰基）、Fmoc（在此 Fmoc 为芴基甲氧羰基）、三氟乙酰基、烯丙氧基羰基、Dde[即 1-(4,4- 二甲基 -2,6- 二氧代环亚己基）乙基] 或 Npys（即 3- 硝基 -2- 吡啶亚磺酰基）；和对于羧基：甲酯、叔丁基酯或苄基酯。对于羟基，合适的保护基团是：甲基、乙基或叔丁基；烷氧基甲基或烷氧基乙基；苄基；乙酰基；苯甲酰基；三苯甲基 (Trt) 或三烷基甲硅烷基（例如四丁基二甲基甲硅烷基）。对于硫醇基，合适的保护基团是：三苯甲基和 4- 甲氧基苄基。其它保护基团的应用描述在′ Protective Groups in Organic Synthesis′，Theorodora W.Greene 和 Peter G.M.Wuts，（第 3 版，John Wiley & Sons,1999) 中。

[0064] 在显像部分为放射碘时，如本文定义的一种式 II-IV 的体内显像剂可经由前体化合物获得，所述前体化合物包含经受亲电子或亲核碘化或经受与标记的醛或酮缩合的衍生物。第一类的实例是：

[0065] (a) 有机金属衍生物，例如三烷基锡烷（例如三甲基甲锡烷基或三丁基甲锡烷基）、或三烷基硅烷（例如三甲基甲硅烷基）或有机硼化合物（例如硼酸酯或有机三氟硼酸酯）；

[0066] (b) 用于卤素交换的非放射活性烷基溴化物，或用于亲核碘化的甲苯磺酸烷基酯、甲磺酸烷基酯或三氟甲磺酸烷基酯；

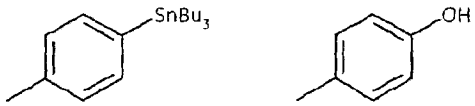
[0067] (c) 朝向亲核碘化活化的芳环（例如芳基碘鎓盐、芳基重氮盐、芳基三烷基铵盐或硝基芳基衍生物）。

[0068] 优选的此类前体化合物包含：非放射活性的卤原子，例如芳基碘化物或溴化物（以容许放射性碘交换）；有机金属前体化合物（例如三烷基锡、三烷基甲硅烷基或有机硼化合物）；有机前体例如三氮烯或用于亲核取代的优良离去基团（例如碘鎓盐）。对于放射性碘化，优选该前体化合物包含有机金属前体化合物，最优选三烷基锡。

[0069] Bolton [J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485-528(2002)] 描述了前体化合物和向有机分子中引入放射性碘的方法。Kabalka 等 [Nucl. Med. Biol., 29, 841-843(2002) 和 30, 369-373(2003)] 描述了合适的硼酸酯有机硼化合物及其制备。Kabalaka 等 [Nucl. Med. Biol., 31, 935-938(2004)] 描述了合适的有机三氟硼酸酯及其制备。

[0070] 以下给出了可以连接放射活性碘的芳基基团的实例：

[0071]



[0072] 两者均含有允许放射性碘容易地在芳环上发生取代的取代基。

[0073] 另外的含放射活性碘的取代基可以经由放射性卤素交换通过直接碘化来合成，例如

[0074]



[0075] 放射性碘原子优选通过直接的共价键与芳环（例如苯环）或乙烯基团连接，因为已知与饱和的脂族系统结合的碘原子容易在体内代谢，因此失去放射性碘。

[0076] 用 ^{11}C 标记的一种方法是使甲基化化合物的去甲基化形式的前体化合物与 [^{11}C] 甲基碘发生反应。也可以通过想要的体内显像剂特定烃的格利雅试剂与 [^{11}C]CO_2 反应引入 ^{11}C，以获得与前体化合物胺基团反应的 ^{11}C 试剂，从而形成感兴趣的 ^{11}C- 标记的体内显像剂。

[0077] ^{11}C 也可以作为芳环上的甲基引入，在这种情形前体化合物包括三烷基锡基团或 $B(OH)_2$ 基团。

[0078] 因为 ^{11}C 的半衰期只有 20.4 分钟，所以中间体 ^{11}C 部分具有高比放射性是重要的，且因此应用尽可能快的反应过程来产生。

[0079] 关于这种 ^{11}C 标记技术的全面评述可以在下述文献中查到：Antoni 等 " Aspects on the Synthesis of ^{11}C-Labelled Compounds " in Handbook of Radiopharmaceuticals, Ed. M. J. Welch and CS. Redvanly(2003, John Wiley 15 and Sons)。

[0080] 放射性氟化可以利用 ^{18}F- 氟化物与具有良好离去基团（诸如烷基溴化物、甲磺酸烷基酯或甲苯磺酸烷基酯）的前体化合物中的合适化学基团起反应，经由直接标记来进行。^{18}F 也可以通过 N- 卤代乙酰基团与 $^{18}F(CH_2)_3OH$ 反应物的烷基化来引入，以得到 $-NH(CO)CH_2O(CH_2)_3{}^{18}F$ 衍生物。对于芳基系统，从芳基重氮盐、芳基硝基化合物或芳基季铵盐进行的 ^{18}F- 氟化物亲核置换是得到芳基 $-{}^{18}F$ 衍生物的合适途径。

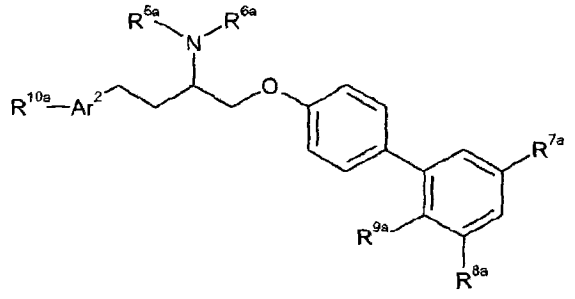
[0081] 本发明的 ^{18}F- 标记的体内显像剂可以通过形成 ^{18}F 氟化二烷基胺，和随后在 ^{18}F 氟化二烷基胺与含有例如氯、$P(O)Ph_3$ 或活化酯的前体起反应时形成酰胺而获得。

[0082] Bolton, J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485-528(2002) 描述了 ^{18}F 标记的衍生物的合成路线的进一步细节。

[0083] 联苯

[0084] 用于式II体内显像剂合成的前体可应用类似Alcaraz等人提出的方法获得(2003 Bioorg.Med.Chem.Lett.13:4043-6)。适合式II体内显像剂合成的前体化合物为式IIa的化合物：

[0085]



(IIa)

[0086] 其中：

[0087] 其中：

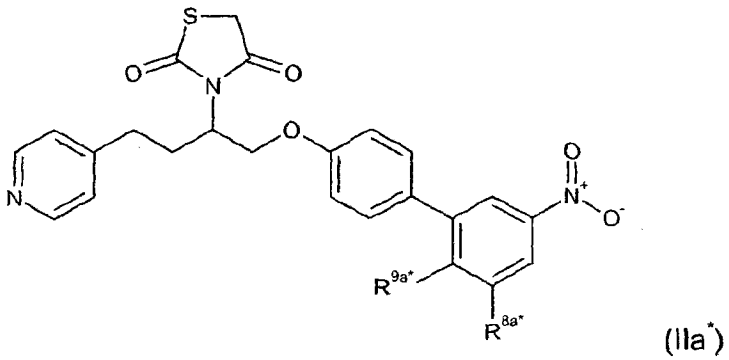
[0088] R^{5a}和R^{6a}分别如同上式II中R^5和R^6的定义；和

[0089] R^{7a}-R^{10a}中的一个代表前体基团，且其余的分别如同上式II中R^7-R^{10}的定义。

[0090] “前体基团”是与显像部分的适宜化学形式起反应的基团，以位点专一地掺入显像部分中。适合的这种前体基团已在上述说明中进行了论述。例如，这种前体基团包括但不限于碘、羟基、硝基、碘盐、溴、甲磺酸根(mesylate)、甲苯磺酸根(tosylate)、三烷基锡、$B(OH)_2$、和三烷基铵盐。

[0091] 优选地，所述式IIa的前体化合物为式IIa^*化合物：

[0092]



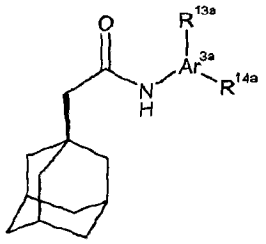
(IIa^*)

[0093] 其中R^{8a*}和R^{9a*}中的一个为前体基团，和另一个为氢。

[0094] 金刚烷

[0095] 用于式III体内显像剂合成的前体可应用类似以下文献中提出的方法获得：Baxter等人(2003 Bioorg.Med.Chem.Lett.13:4047-50)；Michel等人(2007 British J.Pharmacol.151:103-114)；Furber等人(2007 J.Med.Chem.50(24):5882-5885)；WO 03/080579；Deinet等人(1946 J.Am.Chem.Soc.;68(7):1325-1326)；Capps等人(1938 J.Am.Chem.Soc;60(9):2104-2106)；EP 1448195；WO 2004/105796；和WO 01/28992。适合式III体内显像剂合成的前体化合物为式IIIa的化合物：

[0096]



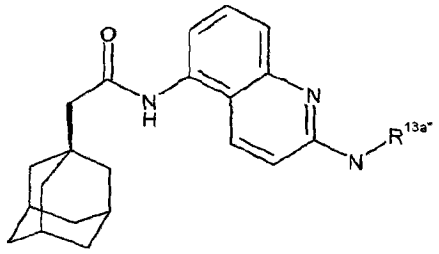
(IIIa)

[0097] 其中 R^{13a} 和 R^{14a} 中的一个包含前体基团，且另一个分别如同上式 III 中 R^{13} 和 R^{14} 的定义；

[0098] Ar^{3a} 如同上式 III 中 Ar^3 的定义。

[0099] 在优选的实施方案中，式 IIIa 的前体化合物为式 $IIIa^*$ 化合物：

[0100]



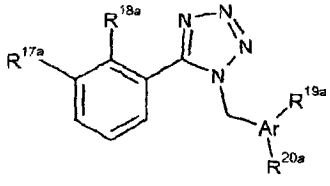
($IIIa^*$)

[0101] 其中 R^{13a*} 为 C_{1-6} 亚烷基 $-NHR^{15a*}$，其中 R^{15a*} 包含前体基团。

[0102] 四唑

[0103] 用于式 IV 体内显像剂合成的前体可应用类似以下文献中提出的方法获得：Sullivan 等 人 (1971 J.Med.Chem.14:211-4)；Nelson 等 人 (2006 J.Med.Chem.49, 3659-3666)；和 WO 2002/064598。适合式 IV 体内显像剂合成的前体化合物为式 IVa 的化合物：

[0104]



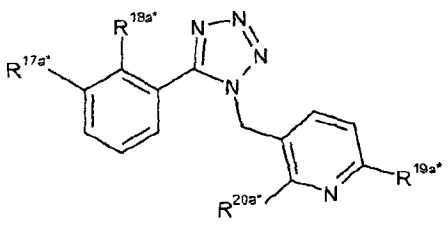
(IVa)

[0105] 其中 R^{19a} 和 R^{20a} 中的一个包含前体基团，且另一个分别如同上式 IV 中 R^{19} 和 R^{20} 的定义；和，

[0106] R^{17a} 和 R^{18a} 分别如同上式 IV 中 R^{17} 和 R^{18} 的定义。

[0107] 在优选的实施方案中，式 IVa 的前体化合物为式 IVa^* 化合物：

[0108]

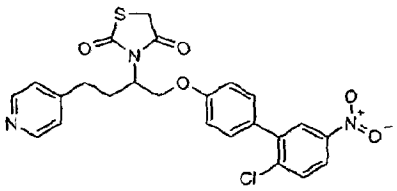
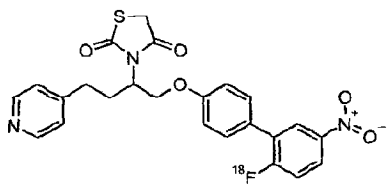
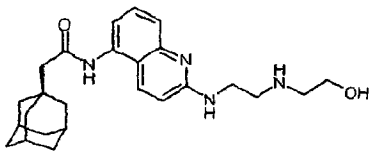
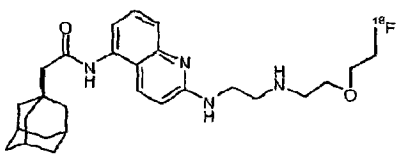
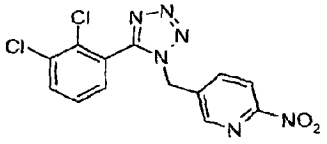
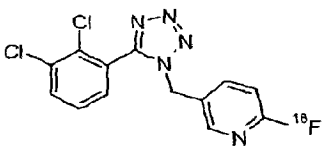
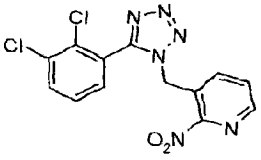
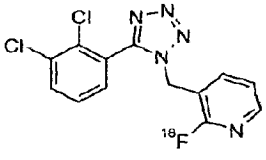


(IVa^*)

[0109] 其中 R^{17a*} 和 R^{18a*} 均为卤素，R^{19a*} 和 R^{20a*} 中的一个为前体基团，和另一个为氢。

[0110] 下表 I 提供一些特定前体化合物及其各自的本发明体内显像剂的实例：

[0111]

前体化合物	显像剂	% 抑制	
		10μM	100nM
 前体化合物 2	 显像剂 2	72.0	22.0
 前体化合物 3	 显像剂 3	62.0	0.00
 前体化合物 4	 显像剂 4	40.5	17.4
 前体化合物 5	 显像剂 5	69.6	10.0

[0112] 表 I 所示显像剂的非放射活性形式在 $P2X_7$ 受体功能测定中进行了筛选。这种测定描述在实施例 9 中，它基于 $P2X_7$ 受体在 $P2X_7$ 转染的 HEK.293 细胞中依靠激动剂激活，从而允许染料渗入细胞以形成非选择性孔的能力。用作评估本发明的非放射活性化合物的参考抑制剂的非选择性 P2X 通道拮抗剂为吡哆醛 - 磷酸 -6- 偶氮苯基 -2′，4′ - 二磺酸 (PPADS)，且测定结果在上表 I 中提供。本发明显像剂的非放射活性形式被发现在 10μM 时

抑制 $P2X_7$ 功能，和通常在 100nM 浓度时具有与 PPADS（参考化合物）相比的类似程度。

[0113] 用于获得表 I 所示显像剂的合成路线，连同他们的非放射活性等同物在实施例 1-8 中提供。

[0114] 前体化合物可适宜地以药盒部分提供，例如在放射药学中应用。这种药盒包含如本文定义的在密封容器中的前体化合物。密封容器优选允许维持无菌完整性和 / 或放射活性安全，以及任选惰性的顶空气体（如氮或氩），同时允许用注射器加入和抽出溶液。优选的密封容器是隔膜密封的小瓶，其中气密封闭是用覆盖密封（通常是铝）起皱褶的。这种密封容器具有额外的优点：该封闭可以在需要时承受真空以改变顶空气体或将溶液脱气。

[0115] 用于药盒使用的前体化合物可以在无菌制造条件下使用以得到预想的无菌、无热原的材料。替代选择地，前体化合物可以在非无菌条件下使用，随后应用例如 γ - 辐射、高压灭菌、干热或化学处理（例如用环氧乙烷）进行终端灭菌。优选地以无菌、无热原的形式提供前体化合物。最优选地，在如上所述的密封容器内提供无菌、无热原的前体化合物。

[0116] 优选地，药盒的所有组件都是用后可弃的，以将运行之间污染的可能性减到最少并确保无菌和质量保证。

[0117] 自动化合成和盒子

[0118] 在优选的方面，本发明合成的方法是自动化的。特别地，[^{18}F]- 放射性示踪剂是现在经常适宜在自动化放射合成仪器上制备的。这种仪器有几种商业上可用的实例，包括 Tracerlab™ 和 Fastlab™（均可用地来自 GE Heathcare）。放射化学通过使盒子 (cassette) 适于仪器，在自动化合成仪器上进行。盒子正常地包括流体通路、反应器、和接收试剂瓶的部分以及任何用于放射合成后净化步骤的固相萃取柱体。

[0119] 在又进一步的方面，本发明提供可插入适应自动化合成器的盒子，用于本发明体内显像剂的自动化合成。

[0120] 用于本发明体内显像剂的自动化合成的盒子包含：

[0121] (i) 含有如本文定义的前体化合物的容器；和

[0122] (ii) 携带适合来源的体内显像部分的洗脱容器的装置，所述体内显像部分如本文所定义。

[0123] 所述盒子可额外包含：

[0124] (iii) 用于除去过量体内显像部分的离子交换柱体，和任选

[0125] (iv) 用于将合成放射标记的产品去保护以形成如本文定义的体内显像剂的柱体。

[0126] 用于合成所需的试剂、溶剂和其他消耗品也可以用数据媒体诸如携带软件的光盘包括一起，其允许自动化合成器以满足最终用户对浓度、体积、递送时间等要求的方式进行操作。

[0127] 显像方法

[0128] 本发明的体内显像剂通过对受试者 CNS 中 $P2X_7$ 受体的数量和 / 或位置的体内显像而特别有用于评估。因此在进一步方面中，本发明提供受试者显像的方法，以利于确定受试者 CNS 中 $P2X_7$ 受体的存在、位置和 / 或数量，所述方法包含以下步骤：

[0129] (i) 提供已施用可检测量的如本文定义的体内显像剂的受试者；

[0130] (ii) 让体内显像剂结合所述受试者的 $P2X_7$ 受体；

[0131] (iii) 通过体内显像方法检测所述体内显像剂发射的信号；和，

[0132] (iv) 产生代表所述信号的位置和 / 或数量的图像。

[0133] 本发明的方法通过“提供”已施用可检测量的本发明的体内显像剂的受试者开始。由于该方法的最终目的是提供诊断 - 有用的图像，受试者对本发明体内显像剂的施用，可被理解为利于所述图像产生必须的预备步骤。

[0134] 本发明体内显像剂的性质使其适合于穿越 BBB 并结合 CNS 内的 $P2X_7$ 受体。因此，在本发明的方法中，检测和产生的步骤可在所述受试者 CNS 优选大脑上进行。

[0135] 本发明的方法可用于研究健康受试者内 $P2X_7$ 受体的位置和 / 或数量。但是，当所述受试者已知或怀疑有与 $P2X_7$ 受体异常表达有关的病理情况时，且特别是其中所述异常表达在 CNS（$P2X_7$ 情况）时，该方法是非常有用的。这些情况包括中风、多发性硬化、肌萎缩侧索硬化、癫痫、和阿尔茨海默氏病，以及各种包含神经炎症的病理生理学。术语“神经炎症”是指 CNS 中基础炎症样特征的小胶质细胞和星形细胞的响应和作用。这些响应对许多种神经学疾病的发病机制和进展是中枢性的，所述疾病包括中风、癫痫、帕金森氏病、多发性硬化 (MS)、肌萎缩侧索硬化 (ALS)、阿尔茨海默氏病和亨廷顿氏病。因此，发现了本发明方法产生的图像在这类疾病的诊断中为临床医生提供指导中的用途。

[0136] 在替代选择的方面，本发明提供诊断方法，包含如上定义的显像方法的步骤 (i)-(iv)，和进一步包含以下步骤：

[0137] (v) 评估步骤 (iv) 中产生的图像，以诊断 CNS 中 $P2X_7$ 受体异常表达有关的病理情况（“$P2X_7$ 情况”）

[0138] 步骤 (v) 的 $P2X_7$ 情况是本文所述的任何一种情况。评价步骤是由医生或兽医即有资格适合作出临床诊断的人进行。这种诊断代表演绎的医学或兽医的决定，这是为了作出是否需要任何治疗以恢复受试者健康决定的目的。

[0139] 在进一步替代选择的实施方案中，该方法可包括给受试者施用本发明的体内显像剂的预备步骤。本发明体内显像剂的施用优选经胃肠外进行，最优选经静脉进行。静脉途径代表递送本发明体内显像剂穿过 BBB 并进入与 CNS 中 $P2X_7$ 受体接触的最快方式。所述体内显像剂和受试者的优选实施方案如先前定义。

[0140] 本发明的体内显像剂优选以“放射药物组合物”施用，所述组合物以适合哺乳动物给药的形式包含一种式 II-IV 的体内显像剂和生物相容性载体。

[0141] “生物相容性载体”是流体，尤其是液体，其中一种式 II-IV 的体内显像剂悬浮或溶解于其中，从而使放射药物组合物是生理上相容的，即可以对哺乳动物身体施用而没有毒性或过度不适。生物相容性载体介质适宜为可注射的载体液体，例如无菌、无热原的注射用水；水溶液，例如盐水（其可以有利地平衡，使得最终的注射产品是等渗的或者不是低渗的）；一种或多种渗透性调节物质（例如血浆阳离子与生物相容性反离子的盐）、糖（例如葡萄糖或蔗糖）、糖醇（例如山梨醇或甘露醇）、二醇（例如甘油）、或其它非离子多元醇材料（例如聚乙二醇、聚丙二醇等）的水溶液。生物相容性载体介质还可以包含生物相容性有机溶剂，例如乙醇。这些有机溶剂用于更亲脂性化合物或制剂的增溶。优选该生物相容性载体介质是无热原的注射用水，等渗盐水或乙醇水溶液。用于静脉注射的生物相容性载体介质的 pH 适宜在 4.0 至 10.5 的范围。

[0142] 这类放射药物组合物适宜在提供密封的容器内供应，该密封适合用皮下注射针头单次或多次穿刺（例如卷边紧合的隔膜密封盖），同时保持无菌完整性。这样的容器可以

含有单个或多个患者剂量。优选的多剂量容器包含单个散装(single bulk)小瓶(例如容积 10-30cm^3),它含有多个患者剂量,因此可以在制剂的有效寿命期间于不同的时间间隔将单个患者剂量抽吸到临床级的注射器中,以适合临床情况。预灌装的注射器是设计成含有单个人用剂量,或"单位剂量",因此优选是一次性注射器或适合临床使用的其它注射器。预灌装注射器可以任选地提供注射器屏蔽物,以保护操作人员免遭放射活性剂量。合适的放射性药物注射器屏蔽物是本领域已知的,优选含铅或钨。

[0143] 放射药物组合物可以从药盒制备。替代选择地,它们可以在无菌制造条件下制备以得到预期的无菌产品。放射药物组合物也可以在非无菌条件下制备,然后利用例如γ-射线辐照、高压灭菌、干热或化学处理(例如用环氧乙烷)进行终端灭菌。

[0144] 本发明显像方法也可用作为研究工具。例如,为进行竞争性研究,它允许研究药物与 $P2X_7$ 受体的相互作用。这些研究包括剂量-占领研究、确定最佳治疗剂量、候选药物筛选研究、和确定 $P2X_7$ 受体在有关组织中的分布。

[0145] 在替代选择的实施方案中,本发明的方法重复地(例如在用药物竞争 $P2X_7$ 条件的治疗之前、期间和之后)进行。在这种方式,所述治疗的效果可以随时间进行监测。

[0146] 本发明也提供本发明的体内显像剂用于药物中,且特别地用于确定受试者 CNS 中炎症的存在、位置和/或数量的方法中。

[0147] 所述体内显像剂、方法和受试者的适当和优选的实施方案如先前所定义。

[0148] 在本发明进一步的方面中,本发明的体内显像剂可用于制备药物,所述药物用于确定受试者 CNS 中炎症的存在、位置和/或数量。所述体内显像剂和所述受试者的适当和优选的实施方案如先前所定义。

[0149] 用于合成本发明具体的体内显像剂的详细方法在以下非限制的实施例中提供。

[0150] 实施例的简要说明

[0151] 实施例 1、3、5 和 7 分别描述了非放射活性显像剂 2-5 的合成。

[0152] 实施例 2、4、6 和 8 分别描述了显像剂 2-5 的合成。

[0153] 实施例 9 描述了用于评估结合 $P2X_7$ 受体的测定。

[0154] 实施例中所用的缩写

[0155] AIBN 偶氮二异丁腈

[0156] ATP 三磷酸腺苷

[0157] BOC 叔丁氧羰基

[0158] Bz-ATP 2′ 和 3′ -O-(4-苯甲酰苯甲酰)-ATP

[0159] DEAD 偶氮二甲酸二乙酯

[0160] DMSO 二甲基亚砜

[0161] DNA 脱氧核糖核酸

[0162] EDCI 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺

[0163] HEPES 4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸

[0164] HPLC 高效液相色谱法

[0165] IC50 半数最大抑制浓度

[0166] LDA 二异丙基氨基锂

[0167] MeOH 甲醇

[0168] NBS N- 溴琥珀酰亚胺

[0169] PPADs 磷酸吡哆醛 (pyrdoxalphosphate)-6- 偶氮苯基 -2′ ,4′ - 二磺酸

[0170] RNA 核糖核酸

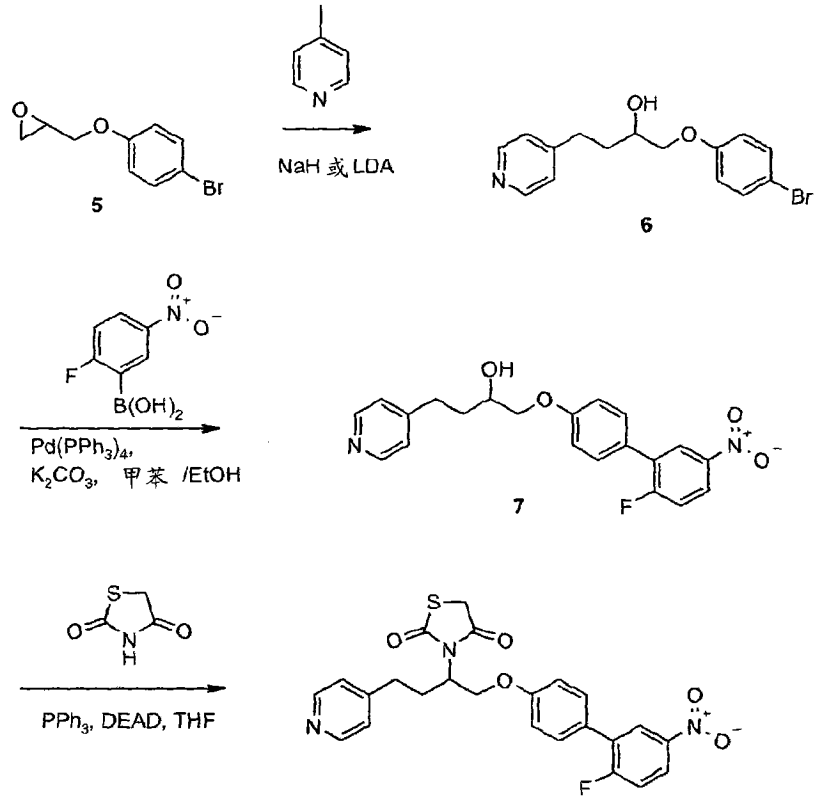
[0171] RT 室温

[0172] THF 四氢呋喃

实施例

[0173] 实施例 1 :非放射活性显像剂 2 的合成

[0174]



非放射活性显像剂 2

[0175] 3(i) 2-((4- 溴代苯氧基) 甲基) 环氧乙烷 (5)

[0176] 向烘干的圆底 2- 颈烧瓶中,加入 4- 溴苯酚 (15g 86.7mmol)。加入碳酸钾 (14.3g, 1.2eqv(当量)),并在室温将混合物搅拌 10 分钟。加入表氯醇 (39.8g,430mmol),并将混合物在 120℃加热 3 小时。反应物质在减压下浓缩,以除去过量的表氯醇。向反应物质中加水 (100mL),并用乙酸乙酯 (4x50mL) 萃取。将合并后的有机层经无水硫酸钠干燥,过滤和减压浓缩。粗制的剩余物用硅胶柱色谱法纯化,应用己烷和乙酸乙酯作为洗脱剂,得到所需的产品 (13.6g,69% 产率)。

[0177] ^{1}H-NMR :(300MHz, $CDCl_3$) δ 7.40(d,2H, J = 9Hz),6.83(d,2H, J = 9Hz),4.23(dd, 1H, J = 12Hz),3.93(dd,1H, J = 9Hz),3.37(m,1H),2.93(t,1H),2.77(m,1H),LCMS :质量实测值 $[M+H]^+$ 227/229,计算值 $C_9H_9BrO_2$228。

[0178] 3(ii) 1-(4- 溴代苯氧基)-4-(吡啶 -4- 基) 丁 -2- 醇 (6)

[0179] 向烘干的圆底烧瓶中,加入 4- 甲基吡啶 (1.0g,10.74mmol),并用氮气清洗。向其

中加入无水四氢呋喃 (8ml)。混合物在氮气下保存并冷却到 -78℃，在此温度搅拌 30 分钟。加入丁基锂溶液 (4.6mL，2.5M)，将混合物再搅拌 30 分钟。然后在 0℃向含有 2-((4- 溴代苯氧基）甲基）环氧乙烷 (2.4g 10.48mmol) 的圆底烧瓶中，加入反应物质。整个反应物质通过加入饱和氯化铵水溶液 (25mL) 淬火，用二氯甲烷 (3x10mL) 萃取。将合并后的提取物经无水硫酸钠干燥，过滤和减压蒸发。粗制的产物经硅胶柱色谱法纯化，应用己烷和乙酸乙酯作为洗脱剂，得到所需的产品 (1.12g，32％产率）。

[0180] ^{1}H-NMR :(300MHz，$CDCl_3$) δ 8.52(d，2H，J ＝ 3Hz)，7.39(d，2H，J ＝ 9Hz)7.18(d，2H，J ＝ 6Hz)6.79(d，2H，J ＝ 9Hz)，3.79-4.07(m，3H)，2.69-3.01(m，2H)，1.96(m，2H)。LCMS :质量实测值 $[M+H]^+$322，计算值 $C_{15}H_{17}BrNO_2$321。

[0181] 3(iii) 1-(2′ - 氟 -5′ - 硝基 - 联苯 -4- 基氧基)-4- 吡啶 -4- 基 - 丁 -2- 醇 (7)

[0182] 将 6(1eqv) 和 2- 氟 -5- 硝基苯基硼酸 (1eqv) 的混合物放入烘干的烧瓶中。加入甲苯和乙醇 (4 ： 1)，然后将该溶液加到碳酸钠水溶液 (1.9vol，2M) 中，然后用氮气清洗以除去溶解的氧。向反应混合物中加入钯 (0) 催化剂 (0.02eqv)，然后将其回流加热 1.5 小时。让反应在乙酸乙酯和水之间分配。将有机相分离，用盐水 (2x25mL) 洗涤，经无水硫酸钠干燥。产品然后经硅胶柱色谱法纯化，应用己烷和乙酸乙酯作为洗脱剂，得到所需的纯化产品，产率 59％。

[0183] ^{1}H-NMR :(400MHz，$CDCl_3$) δ 8.53(m，2H)，8.37(m，0.5H)，8.20(m，0.5H)，7.54(dd，1H，J ＝ 8Hz)，7.39(dd，1H，J ＝ 8Hz)，7.30(m，1H)，7.20(m，1H)，7.03(dd，1H，J ＝ 4Hz)，6.79(dd，1H，J ＝ 4Hz)，3.81-4.12(m，3H)，2.71-3.01(m，2H)，1.93(m.2H)，LCMS :质量实测值 $[M+H]^+$382，计算值 $C_{21}H_{19}FN_2O_4$ 381

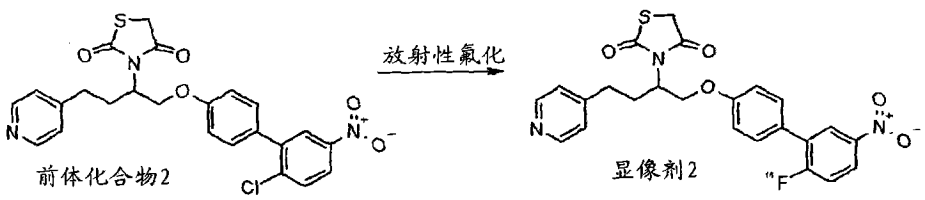
[0184] 3(iv) 3-[1-(2′ - 氟 -5′ - 硝基 - 联苯 -4- 基氧基甲基)-3- 吡啶 -4- 基 - 丙基]- 噻唑烷 -2，4- 二酮 (非放射活性显像剂 2)

[0185] 向三苯基膦 (2eqv) 于无水四氢呋喃的溶液中，加入偶氮二甲酸二乙酯 (2eqv)。将产生的橙溶液搅拌 10 分钟，然后加入 2，4- 噻唑啉二酮 (thiazolinedione)(2eqv)。再继续搅拌 15 分钟。向该反应物质中加入化合物 7(1eqv)，并将反应搅拌 2 小时。然后在减压下浓缩反应混合物，分离的产品通过反复的硅胶柱色谱法，应用己烷和乙酸乙酯作为洗脱剂，得到所需的纯化产品，产率 96％。

[0186] ^{1}H-NMR :(400MHz，$CDCl_3$) δ 8.54(d，2H，J ＝ 4Hz)，8.36(dd，1H，J ＝ 8Hz，4Hz)，8.21(m，1H)，7.52(d，2H，J ＝ 8Hz)，7.29(d，2H，J ＝ 8Hz)，7.15(d，2H，J ＝ 4Hz)，6.98(d，2H，J ＝ 8Hz)，4.77(m，IH)，4.54(t，1H，J ＝ 12Hz)，4.21(m，1H)，3.79(S，2H)，2.51-2.83(m，3H)，2.03-2.22(m，1H)，LCMS :质量实测值 $[M+H]^+$482，计算值 $C_{24}H_{20}FN_3O_5S$，481。

[0187] 实施例 2 :显像剂 2 的合成

[0188]

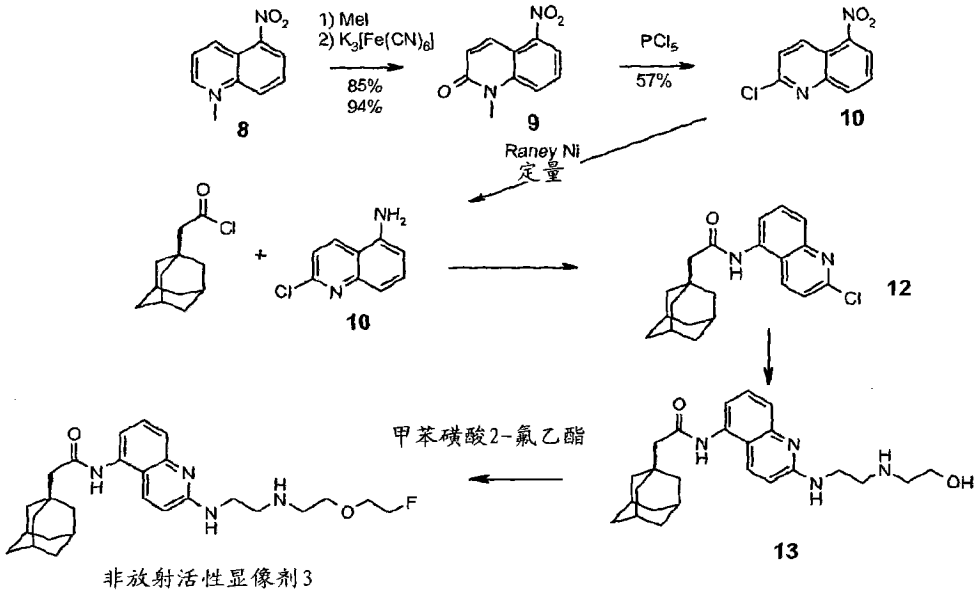


[0189] 前体化合物 2 应用如上所述非放射活性显像剂 2 的方法制备，但其中步骤 (iii)

中合成了 1-(2′ -氯 -5′ -硝基 - 联苯 -4- 基氧基)-4- 吡啶 -4- 基 - 丁 -2- 醇，而不是 1-(2′ -氟 -5′ -硝基 - 联苯 -4- 基氧基)-4- 吡啶 -4- 基 - 丁 -2- 醇。前体化合物 2 的放射氟化，例如应用 [F-18] 氟化物，在乙腈中、在碳酸钾和 Kryptofix(222 六氧二氮双环二十六烷) 存在下进行，得到显像剂 2。

[0190] 实施例 3 :非放射活性显像剂 3 的合成

[0191]



[0192] 5(i) N- 甲基 -5- 硝基喹啉 (8)

[0193] 将 5- 硝基喹啉 (2.0g，11.49mmol)、无水甲苯 (2mL) 和无水甲基碘 (1mL) 的混合物回流 6 小时。将亮红色的结晶甲碘化物过滤和用甲苯洗涤。浓缩滤液，并再次用甲基碘在甲苯中回流，以获得更多的物质。重复该过程，直到任何进一步的产量变得可忽略不计。产量＝ 1500mg(60％)，^{1}H-NMR(300MHz，DMSO) δ ＝ 9.70(1H，d，J ＝ 6Hz，Ar-H)，9.52(1H，d，J ＝ 9Hz，Ar-H)，8.93(1H，d，J ＝ 9Hz，Ar-H)，8.78(1H，d，J ＝ 9Hz，Ar-H)，8.46-8.36(2H，m，Ar-H)，4.73(3H，s，N-CH_3)。

[0194] LCMS 质量实测值＝ $[M+H)^+$190，计算值 $C_{10}H_9N_2O_2$ ＝ 189。

[0195] 5(ii) 1- 甲基 -5- 硝基 - 喹诺酮 (9)

[0196] 将 N- 甲基喹啉 (5.0g，26.45mmol) 溶于水 (50mL) 中，并在冰浴冷却到 0℃。搅拌中同时加入于水 (50mL) 中的铁氰化钾 (19.2g，58.19mmol) 和于水 (8mL) 中的氢氧化钠 (5.3g，132.25mmol)。见加入于 10 分钟内完成，和氧化剂加入于 30 分钟内完成。将反应混合物在 0℃搅拌 90 分钟，在室温搅拌 18 小时。将黄色的结晶沉淀喹诺酮 (carbostyril) 过滤，用少量冷水洗涤，干燥得到黄色固体 (3.55g，66％产率)。

[0197] ^{1}H-NMR(300MHz，DMSO) δ ＝ 8.15(1H，d，J ＝ 9Hz，Ar-H)，7.94-7.78(3H，m，Ar-H)，6.84(1H，d，J ＝ 9Hz，Ar-H)，3.68(3H，s，N-CH_3)。LCMS 质量实测值＝ $[M+H)^+$205，计算值 $C_{10}H_8N_2O_3$ 204。

[0198] 5(iii) 2- 氯 -5- 硝基喹啉 (10)

[0199] 在 0℃向喹诺酮 9(1.5g，7.35mmol) 于邻二氯苯中的溶液中，慢慢加入三氯氧磷 (25mL)，然后回流 12 小时。反应混合物然后倾入冰冷的水中淬火，然后用氯仿萃取。溶剂然后经无水硫酸钠干燥，过滤，蒸发，得到粘性剩余物。经用水研磨获得浅棕色固体的产品

(520mg,34%产率)。

[0200] ^{1}H-NMR(300MHz, $CDCl_3$) δ = 9.02(1H, d, J = 9Hz, Ar-H),8.43(1H, d, J = 9Hz, Ar-H),8.36(1H,d,J = 9Hz,Ar-H),7.87(1H,t,J = 9Hz,Ar-H,7.66(1H,d,J = 9Hz,Ar-H)。

[0201] LCMS 质量实测值= $[M+H)^+$209,计算值 $C_9H_5N_2O_2Cl$ 208。

[0202] 5(iv) 2-氯-5-氨基喹啉(11)

[0203] 将2-氯-5-硝基喹啉(300mg,1.44mmol)加入到冰醋酸(3mL)中,并在65℃搅拌。向混合物中加入铁粉(403mg),并继续搅拌5小时。然后将反应混合物冷却,浓缩,剩余物用水(20mL)稀释,通过加入碳酸钠溶液调节pH。该产品然后用乙酸乙酯萃取(3x15mL)。合并后的提取物用盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥,过滤和蒸发,得到棕色油的产品(260mg > 90%产率)。

[0204] ^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$) δ = 8.11(1H,d,J = 9Hz,Ar-H),7.55-7.44(2H,m,Ar-H),7.30(1H, d, J = 9Hz, Ar-H),6.82(1H, d, J = 9Hz, Ar-H)。LCMS 质量实测值= $[M+H)^+$179,计算值 $C_9H_7N_2Cl$ 178。

[0205] 5(v) N-(2-氯喹啉-5-基)-2-(金刚烷基)乙酰胺(12)

[0206] 向1-金刚烷乙酸(423mg,2.18mmol)于中无水二氯甲烷(15mL)的溶液中,加入HOBt(98mg,0.725mmol)和EDCl(350mg,1.81mmol),反应混合物然后在0℃搅拌1小时。加入溶于二氯甲烷(5mL)中的2-氯-5-氨基喹啉(260mg,1.45mmol),随后加入三乙胺(500μl,3.63mmol),并将混合物搅拌过夜。反应混合物然后经加水淬火,用更多的二氯甲烷提取。合并后的有机层经无水硫酸钠干燥,过滤和蒸发。该产品经硅胶柱色谱法分离,应用乙酸乙酯作为洗脱剂,得到黄棕色固体(460mg 90%产率)。

[0207] ^{1}H-NMR(400MHz,CD_3OD) δ = 8.41(1H,d,J = 8Hz,Ar-H),7.86-7.79(2H,m,Ar-H),7.71(1H, d, J = 8Hz, Ar-H),7.56(1H, d, J = 8Hz, Ar-H),2.29(2H, s, CH_2),2.03(1H, bs, NH),1.84-1.72(15H,m,金刚烷H)。LCMS 质量实测值= $[M+H)^+$355,计算值 $C_{21}H_{23}ON_2Cl$ 354。

[0208] 5(vi) N-(2-(2-(2-羟基乙基氨基)喹啉-5-基)-2-(金刚烷基)乙酰胺(13)

[0209] 将N-(2-氯喹啉-5-基)-2-(金刚烷基)乙酰胺(12)(400mg,1.13mmol)溶于乙醇(8mL),加入N-(2-羟乙基)-乙二胺(4mL),并将混合物回流14小时。除去溶剂,用冷水洗涤。剩余物然后用二氯甲烷提取,再用饱和碳酸钠溶液洗涤。有机层经无水硫酸钠干燥,加入石油醚,将产品沉淀,为棕色结晶固体(400mg 83%产率)。

[0210] LCMS 质量实测值= $[M+H)^+$423,计算值 $C_{25}H_{34}N_4O_2$ 422

[0211] 5(vii) 2-(1-金刚烷基)-N-(2-(2-氟乙氧基)乙基)-乙-1,2二氨基)氨基)喹啉-5-基)乙酰胺(非放射活性显像剂3)

[0212] 将N-(2-(2-(2-羟基乙基氨基)喹啉-5-基)-2-(金刚烷基)乙酰胺(13)(160mg,0.38mmol)溶于无水二甲基甲酰胺(5mL)中,然后加入碳酸铯(135mg,0.42mmol)。加入甲苯磺酸氟乙酯的二甲基甲酰胺溶液(106mg,2mL,0.42mmol)。反应混合物然后在55℃搅拌24小时,用水淬火,然后用乙酸乙酯萃取。有机层然后经无水硫酸钠干燥,过滤和蒸发。该产品经硅胶柱色谱法分离,应用乙酸乙酯作为洗脱剂,得到淡绿色固体(30mg20%产率)。

[0213] ^{1}H-NMR(400MHz, $CDCl_3$) δ = 8.28(1H, bs, Ar-H),7.82(1H, bs, Ar-H),7.35(2H, bs,Ar-H),6.58(1H,bs,Ar-H),4.68(1H,bs,NH),4.26(2H,s,CH_2F),3.80-3.43(8H,m,CH_2),2.22(2H,s,CH_2CO),2.00(4H,s,CH_2),1.83-1.60(15H,m,金刚烷H)。

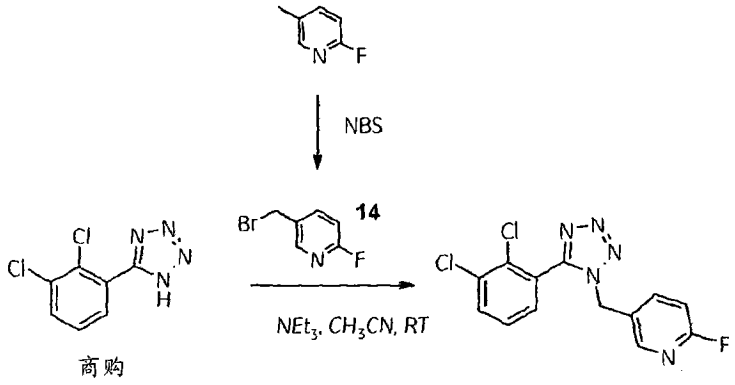
[0214] ^{1}H-NMR(400MHz, CD_3OD) δ = 7.99(1H, d, J = 8Hz, Ar-H),7.52(2H, m, Ar-H), 7.27(1H, d, J = 8Hz, Ar-H),6.80(1H, d, J = 8Hz, Ar-H),4.26(2H,1, J = 8Hz, CH_2F), 3.84-3.66(6H, m, CH_2),3.54(2H, bs, CH_2),2.25(2H, S, CH_2CO),2.02(2H, s, CH_2), 1.81-1.73(15H,m,金刚烷 H)。LCMS 质量实测值= $[M+H)^+$469,计算值 $C_{27}H_{37}N_4O_2F$ 468。

[0215] 实施例 4 :显像剂 3 的合成

[0216] 可应用如上所述非放射活性显像剂 3 的合成方法,通过在最后一步应用甲苯磺酸 2-[^{18}F]- 氟乙基酯 (2-[^{18}F]-fluoroethyltosylate) 代替甲苯磺酸 2- 氟乙基酯,获得显像剂 3。

[0217] 实施例 5 :非放射活性显像剂 4 的合成

[0218]



[0219] 7(i) 3- 溴甲基 -6- 氟吡啶 (14)

[0220] 将 2- 氟 -5- 甲基吡啶 (1.20g,10.8mmol) 加入 100mL 烘干燥圆底烧瓶中,用干燥的氮气冲洗。加入无水四氯化碳 (50mL),随后加入 NBS(1.92g,10.8mmol) 和催化量的 AIBN。将反应回流加热 5 小时。通过硅藻土过滤除去琥珀酰亚胺,和减压下蒸发除去四氯化碳。该产品在硅胶柱色谱法后得到分离 [洗脱剂 :15-40% 乙酸乙酯 - 己烷],为固体 (1.15g, 56%产率)。

[0221] ^{1}H-NMR :(300MHz, CD_3OD) δ 8.26(s,1H, Ar)8.02(t,1H, J = 9Hz, Ar)7.02-7.12(d, 1H, J = 9Hz, Ar)4.62(s,2H, CH2)LCMS :$[M+H]^+$ 189/191,计算值 C_6H_6BrFN 190。

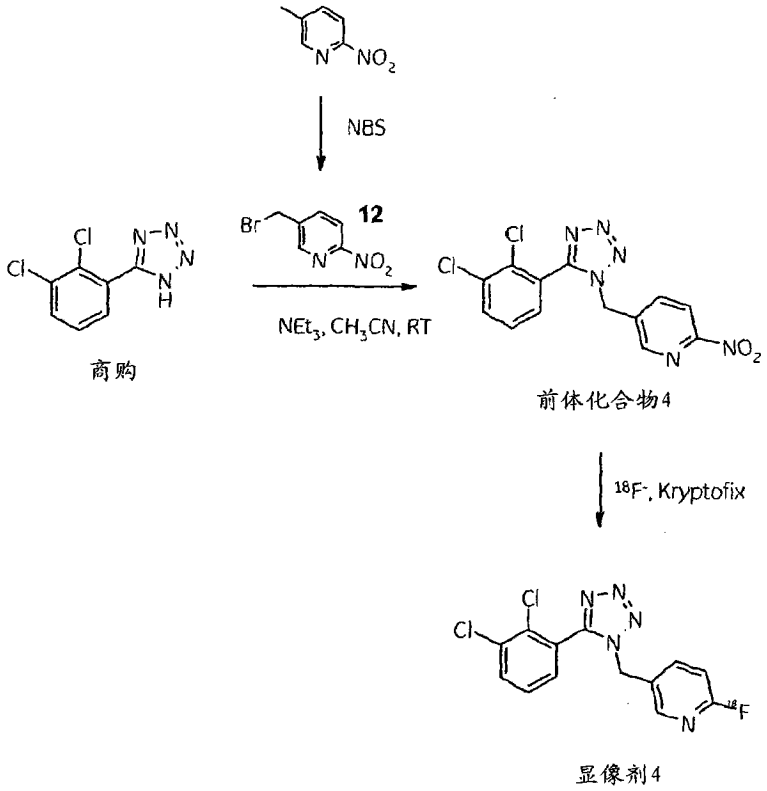
[0222] 7(ii) 5-[5-(2,3- 二氯 - 苯基)- 四唑 -1- 基甲基]-2- 氟吡啶 (非放射活性显像剂 4)

[0223] 在干燥的氮气气氛下向烘干的圆底烧瓶中加入 5-(2,3- 二氯 - 苯基)-1H- 四唑 (0.8g,3.7mmol)、无水二甲基甲酰胺 (8mL)。将溶液冷却至 0℃。加入三乙胺 (0.9g, 8.9mmol),搅拌 10 分钟,随后加入 3- 溴甲基 -6- 氟吡啶 (14)(0.85g,4.46mmol)。整个反应物质在室温下搅拌 12 小时。压力下除去溶剂,加水 (50mL),用乙酸乙酯 (4x15mL) 萃取。合并后的提取物经无水硫酸钠干燥,过滤和蒸发。粗反应物质然后通过硅胶柱色谱法纯化 (洗脱液 -30% -50% 乙酸乙酯 - 己烷的梯度),产生预期少量的 1,5- 二取代的化合物 (120mg,10%产率),和主要产品 2,5 二取代的化合物。^{1}H-NMR :(300MHz, $CDCl_3$) δ 7.91(s, 1H, Ar)7.76(dd,1H, Ar)7.68(m,1H, Ar)7.39(t,1H, J = 9Hz, Ar)7.28(s,1H, Ar)7.20(dd, 1H, Ar)6.93(dd,1H, Ar)5.48(s,2H, CH_2)

[0224] LCMS :质量实测值 $[M+H]^+$(324),计算值 $C_{13}H_8Cl_2FN_5$323。产率= 10%。

[0225] 实施例 6 :显像剂 4 的合成

[0226]



[0227] 8(i) 5-[5-(2,3- 二氯 - 苯基)- 四唑 -1- 基甲基]-2- 硝基 - 吡啶 (前体化合物 4)

[0228] 应用实施例 7 中非放射活性显像剂 4 所述的方法,但用 3- 溴甲基 -6- 硝基吡啶代替 3- 溴甲基 -6- 氟吡啶,制得了产率 12% 的前体化合物 4。^{1}H-NMR :(300MHz, $CDCl_3$) δ 8.38(s,1H,Ar)8.27(d,1H,J = 9Hz,Ar)7.95(d,1H,J = 9Hz,Ar) ;7.78(d,1H,J = 6Hz,Ar)7.42(t,1H,J = 9Hz,Ar)7.28(s,1H,Ar)5.62(s,2H,CH2)。

[0229] LCMS :质量实测值 $[M+H]^+$351,计算值 $C_{13}H_8Cl_2N_6O_2$ 350。

[0230] 8(ii) 5-[5-(2,3- 二氯 - 苯基)- 四唑 -1- 基甲基]-2-[^{18}F]- 氟 - 吡啶 (显像剂 4)

[0231] 应用例如 [F-18] 氟化物,在乙腈中、在碳酸钾和 Kryptofix 存在下,前体化合物 4 可被放射性氟化以提供显像剂 4。

[0232] 实施例 7 :非放射活性显像剂 5 的合成

[0233] 非放射活性显像剂 5 按照实施例 7 中非放射活性显像剂 4 所述制备,但用 3- 溴甲基 -2- 氟吡啶代替 3- 溴甲基 -6- 氟吡啶。

[0234] ^{1}H-NMR :(300MHz, $CDCl_3$) δ 8.22(d,1H,J = 3Hz,Ar)7.73(m,2H,Ar)7.4(t,1H,J = 9Hz, Ar)7.3(m.2H, Ar)7.22(m,1H, Ar)5.5(s,2H, CH_2)。LCMS :质量实测值 $[M+H]^+$324,计算值 $C_{13}H_8Cl_2FN_5$ 323

[0235] 实施例 8 :显像剂 5 的合成

[0236] 10(i) 5-[5-(2,3- 二氯 - 苯基)- 四唑 -1- 基甲基]-2- 硝基 - 吡啶 (前体化合物 5)

[0237] 应用实施例 7 中非放射活性显像剂 4 所述的方法,但用 3- 溴甲基 -2- 硝基吡啶代

替 3- 溴甲基 -6- 氟吡啶，制得产率 11％的前体化合物 5。

[0238] ^{1}H-NMR :(300MHz, $CDCl_3$) δ 8.65(d,1H, J = 3Hz, Ar)7.68-7.86(m,3H, Ar)7.35-7.50(m,2H,Ar)5.79(s,2H,CH2)。

[0239] LCMS :质量实测值 $[M+H]^+$351，计算值 $C_{13}H_8Cl_2N_6O_2$ 350。

[0240] 10(ii) 5-[5-(2,3- 二氯 - 苯基)- 四唑 -1- 基甲基]-6-[^{18}F]- 氟 - 吡啶 (显像剂 5)

[0241] 应用例如 [F-18] 氟化物，在乙腈中、在碳酸钾和 Kryptofix 存在下，前体化合物 5 可被放射性氟化以提供显像剂 5。

[0242] 实施例 9 :确定 $P2X_2$ 结合的孔 - 形成试验

[0243] 该试验所用方法基于 DNA 结合染料 Yo Pro-1(喹啉鎓 (quinolinium)，4[3- 甲基 -2(3H)- 苯并亚噁唑基] 甲基)-1-[3- 三甲基 - 铵基] 丙基) 二氧化物) 的能力，以进入扩大的或“大孔形式”的 $P2X_7$ 受体并结合胞内 DNA/RNA，因此增加其荧光强度。Yo Pro-1 因此用于量化分析 $P2X_7$ 功能的抑制。该试验基于 Michel 等人发表的方法 (B. J. Pharmacol 1998 ;125 :1194-1201)。

[0244] 最初，将 HEK. 293 细胞与 $P2X_7$ cDNA 应用 LipofectamineTMLTX(Invitrogen) 短暂地转染 72 小时。使用前 48 小时，以 30,000 细胞 / 孔密度将细胞接种到聚 -D- 赖氨酸涂布的黑壁的清晰底板的 96- 孔中。于 100％ DMSO 中以 40mM 浓度制备各个测试化合物原液。

[0245] 48 小时孵化后，从转染细胞中除去培养基，将这些细胞清洗一次，并放入预先加热的蔗糖测定缓冲液中 (蔗糖 :280mM, KCl :5mM, CaCl2 :0.5mM, 葡萄糖 :10mM, HEPES :10mM, N- 甲基 -D- 葡萄糖胺 :10mM ;pH7.4)。将测试化合物以 10μM 和 100nM 的浓度加到板上，一式三份，并在 37℃孵育 30 分钟。DMSO 在实验中的最后浓度为 1％。此时间后，在 37℃以 1μM 和 30μM 的浓度分别加入 Yo Pro-1 染料和 Bz-ATP 溶液 60 分钟。然后在 485nM 激发和 530nM 发射处读荧光数。

[0246] 非选择性 P2X 通道拮抗剂 PPADS 在实验中被用作参考抑制剂。PPADS 的剂量响应在实验板上应用 200μM 的开始浓度，随后应用 1 比 6 的系列稀释在 200μM ～ 0.4nM 内进行。对于每个化合物的数据集，基于 3 个试验点产生的数据计算百分抑制值。