

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5167436号
(P5167436)

(45) 発行日 平成25年3月21日(2013.3.21)

(24) 登録日 平成24年12月28日(2012.12.28)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 D 471/04 (2006.01)
A 6 1 K 51/00 (2006.01)C O 7 D 471/04 1 0 8 Q
A 6 1 K 49/02 C

請求項の数 7 (全 29 頁)

(21) 出願番号 特願2012-540219 (P2012-540219)
 (86) (22) 出願日 平成24年5月29日(2012.5.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2012/063726
 (87) 国際公開番号 W02012/176587
 (87) 国際公開日 平成24年12月27日(2012.12.27)
 審査請求日 平成24年9月4日(2012.9.4)
 (31) 優先権主張番号 特願2011-140069 (P2011-140069)
 (32) 優先日 平成23年6月24日(2011.6.24)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 000230250
 日本メジフィジックス株式会社
 東京都江東区新砂3丁目4番10号
 (74) 代理人 100091502
 弁理士 井出 正威
 (72) 発明者 奥村 侑紀
 日本国千葉県袖ヶ浦市北袖3-1 日本メ
 ジフィジックス株式会社内
 (72) 発明者 眞矢 啓史
 日本国千葉県袖ヶ浦市北袖3-1 日本メ
 ジフィジックス株式会社内
 (72) 発明者 正山 祥生
 日本国千葉県袖ヶ浦市北袖3-1 日本メ
 ジフィジックス株式会社内

最終頁に続く

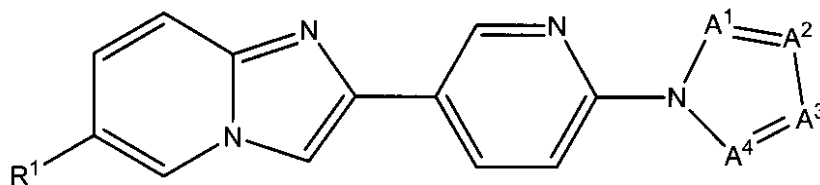
(54) 【発明の名称】 新規アミロイド親和性化合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記式(1):

【化1】



(1)

10

(式中、R¹ は放射性ハロゲン置換基、A¹、A²、A³及びA⁴のうち0~2個がNであり残りはCHである。)で表される化合物又はその塩。

【請求項2】

R¹ が、¹⁸F、⁷⁶Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I 及び ¹³¹I からなる群より選択される、請求項1記載の化合物又はその塩。

【請求項3】

[¹²³I]-6-ヨード-2-[2-(1H-ピロール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン、
 [¹²³I]-6-ヨード-2-[2-(ピラゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン、
 [¹²³I]

20

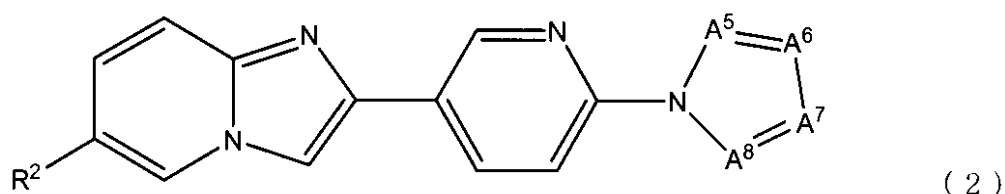
- 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - イミダゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1 , 3 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、及び、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンからなる群より選択される、請求項 2 に記載の化合物又はその塩。

【請求項 4】

10

下記式 (2) :

【化 2】



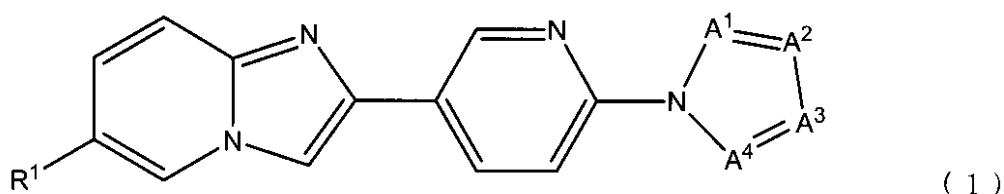
(式中、R²は非放射性ハロゲン置換基、ニトロ基、アルキル鎖の炭素数が1～4であるトリアルキルアンモニウム基、アルキル鎖の炭素数が1～4であるトリアルキルスタニル置換基及びトリフェニルスタニル基からなる群より選ばれる基、A⁵、A⁶、A⁷及びA⁸のうち0～2個がNであり残りはCHである。) で表される化合物又はその塩。

20

【請求項 5】

下記式 (1) :

【化 3】



30

(式中、R¹は放射性ハロゲン置換基、A¹、A²、A³及びA⁴のうち0～2個がNであり残りはCHである。) で表される化合物又はその塩を配合してなる、アルツハイマー病診断剤。

【請求項 6】

R¹が、¹⁸F、⁷⁶Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I及び¹³¹Iからなる群より選択される、請求項 4 に記載のアルツハイマー病診断剤。

【請求項 7】

[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - ピロール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - イミダゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1 , 3 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン、及び、[^{1 2 3} I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン

40

50

からなる群より選択される化合物又はその塩を配合してなる、請求項 6 に記載のアルツハイマー病診断剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は頭部変性疾患の診断に用いる化合物に関する。より詳しくは、アルツハイマー病を初めとするアミロイドが蓄積する疾患の診断において、病巣部位におけるアミロイドの検出に有用な化合物に関する。

【背景技術】

【0002】

アミロイドと呼ばれる繊維状蛋白質が体内の種々の器官あるいは組織に沈着することにより発症する疾患は、アミロイドーシスと総称されている。アミロイドーシスに共通しているのはアミロイドと呼ばれるシート構造に富んだ繊維状蛋白質が全身の諸臓器あるいは局所に沈着し、その臓器や組織における機能異常を生じる点である。

【0003】

アミロイドーシスの代表的疾患であるアルツハイマー病（以下、ADという）は、認知症の原因となる疾患として知られている。この病気は、漸次進行性にアミロイドが脳に沈着して死に至る疾患であるため、他のアミロイドーシスと比較しても社会的関心の高い疾患であるといえる。近年、先進各国では社会の高齢化に伴いAD患者数が急激に増加しており、社会的な問題となっている。

【0004】

病理組織学的見地によると、ADは、老人斑（senile plaques）の出現、神経原繊維変化（neurofibrillary tangles）及び広範な神経脱落の3つの脳内病理所見によって特徴付けられる。老人斑はアミロイドを主要構成成分とする構造物であり、AD発症における最初期、すなわち臨床症状が出現する10年以上前に出現する脳内の病理所見とされる。

【0005】

ADの診断は、CT及びMRI等の画像診断を補助的に組み合わせた上で、種々の認知機能評価（例えば、長谷川式スケール、ADAS-JCog、MMSE等）を行うことにより実施されている。しかし、このような認知機能評価に基づく方法は、発症初期における診断感度が低く、さらに、各個人が生来有する認知機能により診断結果が影響を受けやすいという欠点がある。また、確定診断には疾患部の生検が不可欠であるため、患者の存命中にADの確定診断を行うことは、現状では事実上不可能である（非特許文献1）。

【0006】

一方、老人斑を構成するアミロイドはアミロイド蛋白質（以下、Aという）の凝集体であることが報告されており、さらにAの凝集体がシート構造をとることで神経細胞毒性を示すことが多くの研究より報告されている。これらの知見に基づき、Aの脳内への沈着が引き金となり、その下流の現象として神経原繊維変化の形成及び神経脱落が起こるとする、いわゆる「アミロイドカスケード仮説」が提唱されている（非特許文献2）。

【0007】

このような事実に基づき、近年、アミロイドに高い親和性を有する化合物をマーカーとして用い、ADをインビボ（in vivo）で検出する試みがなされている。

このような脳内アミロイド画像診断用プローブの多くは、アミロイドに対する親和性が高く、かつ脳移行性の高い疎水性の低分子化合物を、種々の放射性核種、例えば ^{11}C 、 ^{18}F 及び ^{123}I 等で標識した化合物である。具体例として、6-ヨード-2-[4'-(N,N-ジメチルアミノ)フェニル]ベンゾチアゾール（以下、TZDMという）や6-ヒドロキシ-2-[4'-(N-メチルアミノ)フェニル]ベンゾチアゾール（以下、6-OH-BTA-1という）を始めとする種々のチオフラビン誘導体（特許文献1、非特許文献3）、(E)-4-メチルアミノ-4'-ヒドロキシスチルベン（以下、SB-13という）や(E)-4-ジメチルアミノ-4'-ヨードスチルベン（以下、m-I-SBという）を初めとするスチルベン化合物（特許文献2、非特許文献4、非特許文献5

10

20

30

40

50

)、6-ヨード-2-[4'-(N,N-ジメチルアミノ)フェニル]ベンゾオキサゾール(以下、IBOXという)、6-[2-(フルオロ)エトキシ]-2-[2-(2-ジメチルアミノチアゾール-5-イル)エテニル]ベンゾオキサゾールを初めとするベンゾオキサゾール誘導体(非特許文献6、非特許文献7)、2-(1-{6-[2-(フルオロ)エチル](メチル)アミノ}-2-ナフチル}エチリデン)マロノニトリル(以下、FDDNPという)を初めとするDDNP誘導体(特許文献4、非特許文献8)及び6-ヨード-2-[4'-(N,N-ジメチルアミノ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン(以下、IMPYという)を初めとするイミダゾピリジン誘導体(特許文献3、非特許文献9)等を¹¹Cや放射性ハロゲンで標識した化合物、イミダゾピリジン-フェニルに炭素を介して窒素含有5員芳香族複素環式基を結合した化合物を放射性ハロゲン等で標識した化合物(特許文献5、特許文献6)が報告されている。さらに、これらの画像診断用プローブの一部については、ヒトイメージング研究が実施され、AD患者において健常例とは明らかに異なる脳への放射能集積を示すことが報告されている(非特許文献10、非特許文献11、非特許文献12、非特許文献13)。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】特表2004-506723号公報

【特許文献2】特表2005-504055号公報

【特許文献3】特表2005-512945号公報

20

【特許文献4】特表2002-523383号公報

【特許文献5】国際公開第2007/063946号パンフレット

【特許文献6】国際公開第2010/128595号パンフレット

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】J. A. Hardy & G. A. Higgins, "Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis.", Science, 1992, 256, p.184-185

【非特許文献2】G. McKhann et al., "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

30

【非特許文献3】Z.-P. Zhuang et al., "Radioiodinated Styrylbenzenes and Thioflavins as Probes for Amyloid Aggregates.", J. Med. Chem., 2001, 44, p.1905-1914

【非特許文献4】Masahiro Ono et al., "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

【非特許文献5】H. F. Kung et al., "Novel Stilbenes as Probes for amyloid plaques.", J. American Chemical Society, 2001, 123, p.12740-12741

【非特許文献6】Zhi-Ping Zhuang et al., "IBOX(2-(4'-dimethylaminophenyl)-6-iodobensoxazole): a ligand for imaging amyloid plaques in the brain.", Nuclear Medicine and Biology, 2001, 28, p.887-894

40

【非特許文献7】Furumoto Y et al., "[11C]BF-227: A New 11C-Labeled 2-Ethenylbenzoxazole Derivative for Amyloid-Plaques Imaging.", European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2005, 32, Sup.1, P759

【非特許文献8】Eric D. Agdeppa et al., "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

【非特許文献9】Zhi-Ping Zhuang et al., "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

50

【非特許文献10】W. E. Klunk et al., "Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B.", Ann. Neurol., 2004, 55, p.306-319

【非特許文献11】Nicolaas P. L. G. Verhoeff et al., "In-Vivo Imaging of Alzheimer Disease -Amyloid With [11C]SB-13 PET.", American Journal of Geriatric Psychiatry, 2004, 12, p.584-595

【非特許文献12】Hiroyuki Arai et al., "[11C]-BF-227 AND PET to Visualize Amyloid in Alzheimer's Disease Patients", Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association, 2006, 2, Sup.1, S312

【非特許文献13】Christopher M. Clark et al., "Imaging Amyloid with I123 IMPY SPECT", Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association, 2006, 2, Sup.1, S342

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

上記の様に、アミロイドを対象とした画像診断プローブとして、種々の化合物が開示され、臨床応用に向けて検討が進められている。しかし、臨床使用に耐え得る性能を有することが確認された化合物は、未だ存在していない。また、幅広い臨床応用を考えると、PET核種のみならず、SPECT核種にて標識した場合においても十分な診断性能を有する化合物が望まれる。

【0011】

20

本発明は上記事情に鑑みてなされたものであり、アミロイドを標的とした画像診断プローブとして有効な新規化合物及び該化合物を配合したアルツハイマー病診断剤を得ることを目的とした。

【課題を解決するための手段】

【0012】

発明者等は検討を重ねた結果、イミダゾピリジンピリジニル骨格におけるピリジニル基の2'位炭素に、5員の窒素含有複素環を、該窒素含有複素環の窒素原子を介して結合させた化合物を用いることによって、十分な診断性能を有するアルツハイマー病診断剤が得られることを見出し、本発明を完成した。

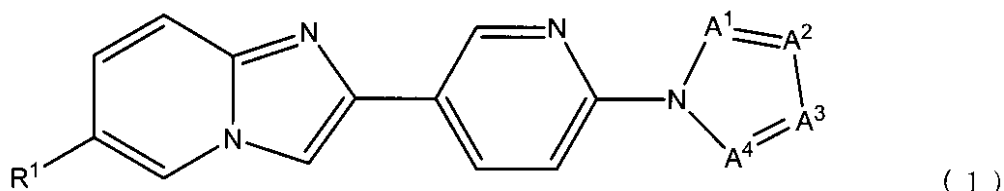
【0013】

30

本発明は、その一側面によると、下記式(1)：

【0014】

【化4】



40

で表される化合物又はその塩、及び前記式(1)で表される化合物又はその塩を配合してなるアルツハイマー病診断剤を提供する。

【0015】

式(1)中、R¹は放射性ハロゲン置換基である。R¹としては種々の放射性ハロゲンをを用いることができ、好ましくは¹⁸F、⁷⁶Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I及び¹³¹Iからなる群より選択される放射性ハロゲンをを用いることができ、より好ましくは¹⁸F又は¹²³Iを用いることができる。

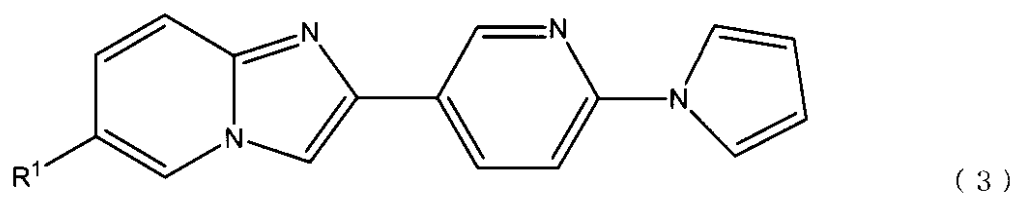
A¹、A²、A³及びA⁴は、これらのうち0～2個がNであり残りはCHであり、好ましくはこれらのうち1つ又は2つがNであり残りはCHである。

50

従って、本発明の好ましい実施形態によれば、下記式(3)～(9)：

【0016】

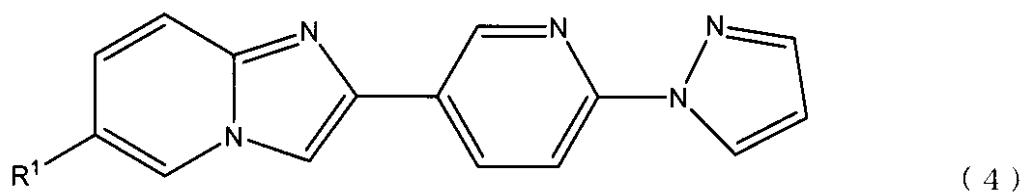
【化5】



10

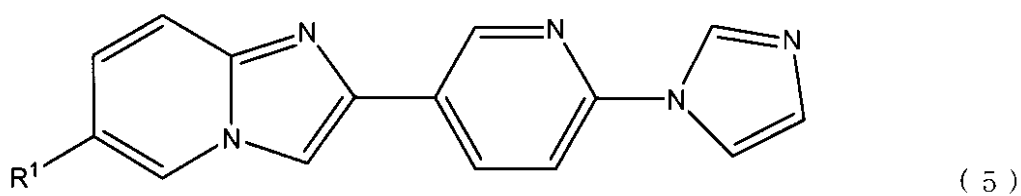
【0017】

【化6】



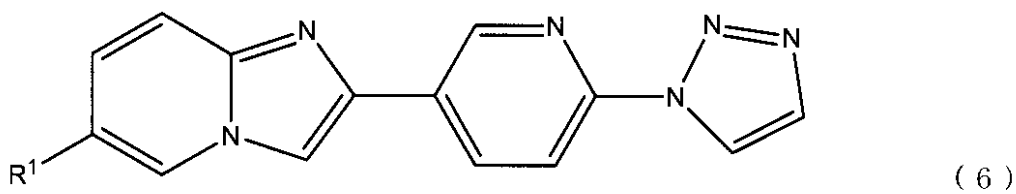
【0018】

【化7】



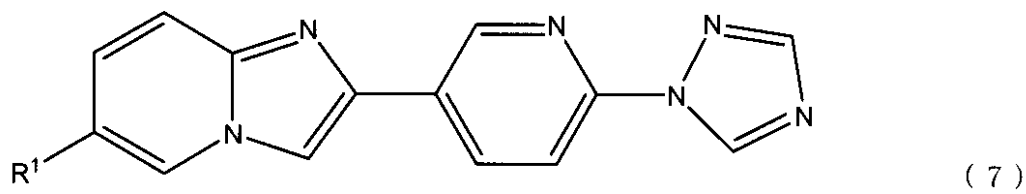
【0019】

【化8】



【0020】

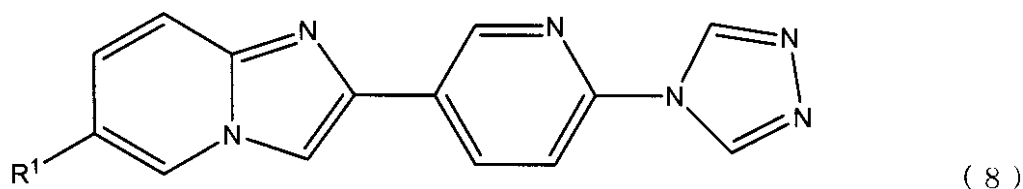
【化9】



【0021】

40

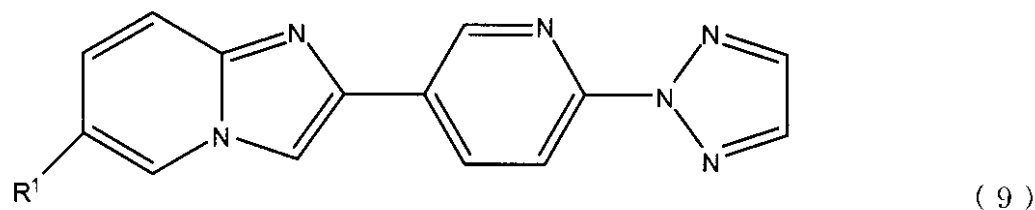
【化 1 0】



【 0 0 2 2 】

【化 1 1】

10



【 0 0 2 3 】

で表される化合物又はその塩、及び前記式 (3) ~ (9) で表される化合物又はその塩を配合してなるアルツハイマー病診断剤が提供される。

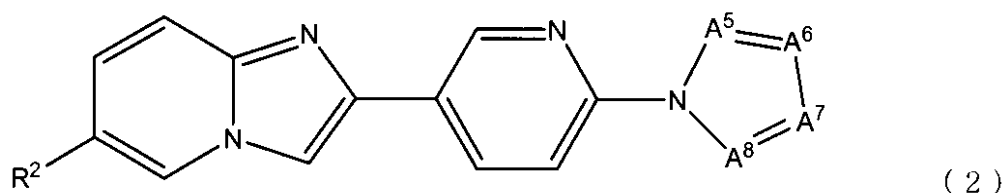
20

【 0 0 2 4 】

本発明は、その別の一側面によると、下記式 (2) :

【 0 0 2 5 】

【化 1 2】



30

【 0 0 2 6 】

で表される化合物又はその塩を提供する。

【 0 0 2 7 】

式 (2) 中、R² は非放射性ハロゲン置換基、ニトロ基、アルキル鎖の炭素数が 1 ~ 4 であるトリアルキルアンモニウム基、アルキル鎖の炭素数が 1 ~ 4 であるトリアルキルスタニル置換基及びトリフェニルスタニル基からなる群より選ばれる基、A⁵、A⁶、A⁷及びA⁸のうち 0 ~ 2 個がNであり残りはCHである。

【 0 0 2 8 】

式 (2) で表される化合物は、上述した式 (1) の化合物に対する標識前駆体として、好適に用いる事ができる。

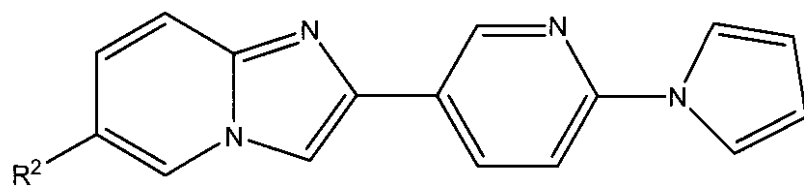
40

非放射性ハロゲン置換基としては、放射性フッ素を用いた求核置換反応における標的となりうるハロゲン又は放射性ヨウ素との間の同位体交換反応の標的となりうるハロゲンを用いることができ、好ましくは塩素、ヨウ素又は臭素を用いることができる。トリアルキルスタニル置換基としては種々の置換基を用いることができ、トリメチルスタニル置換基及びトリブチルスタニル置換基を好ましく用いることができる。

従って、本発明の好ましい実施形態によれば、下記式 (1 0) ~ (1 6) で表される化合物が提供される。

【 0 0 2 9 】

【化 1 3】

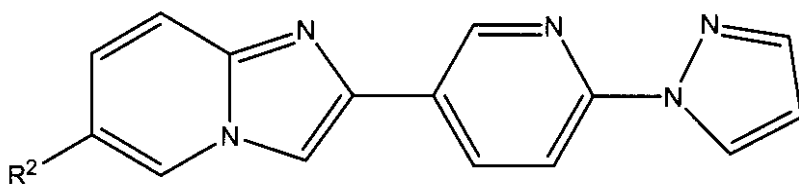


(1 0)

【 0 0 3 0】

【化 1 4】

10

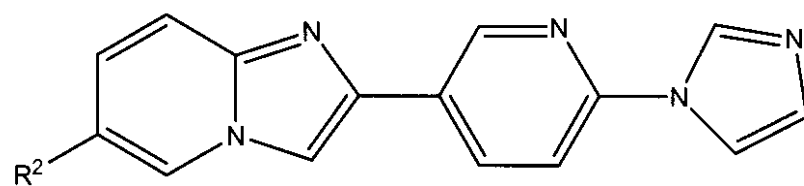


(1 1)

【 0 0 3 1】

【化 1 5】

20

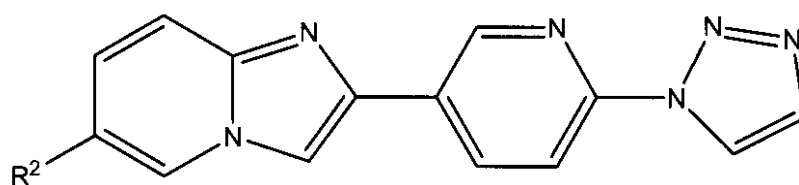


(1 2)

【 0 0 3 2】

【化 1 6】

30

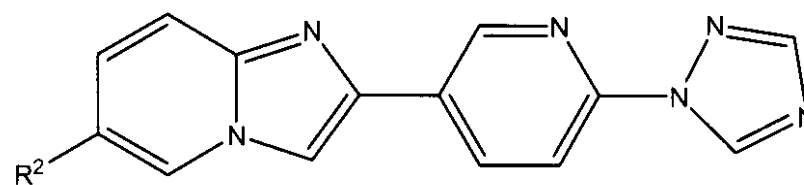


(1 3)

【 0 0 3 3】

【化 1 7】

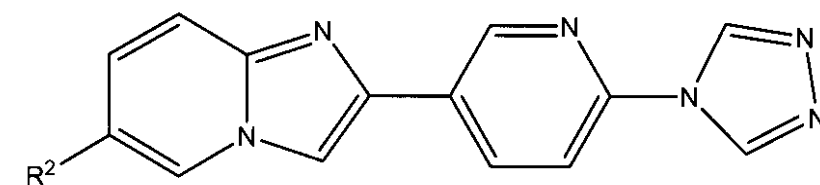
40



(1 4)

【 0 0 3 4】

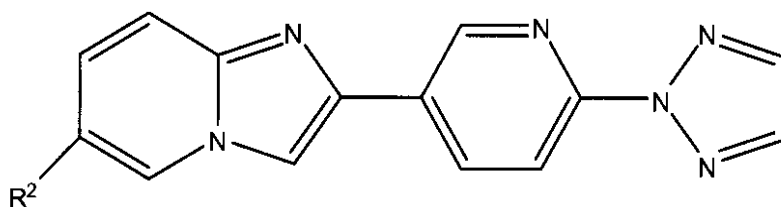
【化 1 8】



(1 5)

【 0 0 3 5】

【化 19】



(16)

【発明の効果】

【0036】

本発明により、生体内における良好なアミロイド描出能を有する、新規なアミロイド親和性化合物及びアルツハイマー病診断剤を得ることが可能となった。

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成スキーム

【図2】2-[2-(2H-1,2,3-トリアゾール-2-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成スキーム

【図3】2-[2-(1H-イミダゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成スキーム

【図4】2-[2-(1H-1,2,4-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成スキーム

【図5】2-[2-(ピラゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成スキーム

【図6】AD患者脳灰白質ホモジネート又はAD患者脳白質ホモジネートに結合した放射エネルギーの割合(%)

【図7】[¹²³I]-6-ヨード-2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを用いたAD患者脳切片のオートラジオグラフィー

【図8】[¹²³I]-6-ヨード-2-[2-(2H-1,2,3-トリアゾール-2-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを用いたAD患者脳切片のオートラジオグラフィー

【図9】[¹²³I]-6-ヨード-2-[2-(1H-イミダゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを用いたAD患者脳切片のオートラジオグラフィー

【図10】[¹²³I]-6-ヨード-2-[2-(1H-1,2,4-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを用いたAD患者脳切片のオートラジオグラフィー

【図11】[¹²³I]-6-ヨード-2-[2-(ピラゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを用いたAD患者脳切片のオートラジオグラフィー

【図12】[¹²³I]-IMPYを用いたAD患者脳切片のオートラジオグラフィー

【図13】抗アミロイド抗体を用いたAD患者脳切片の免疫染色

【発明を実施するための最良の形態】

【0038】

(放射性ハロゲン標識化合物の前駆体化合物の合成方法)

以下、2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンを例にとり、本発明の一つの実施形態に係る、放射性ハロゲン標識化合物の前駆体化合物の合成方法を説明する。本化合物は、本発明に係る放射性ヨウ素標識化合物の前駆体化合物として、好適に用いられる

10

20

30

40

50

化合物である。

なお、以下に記載した合成方法は、あくまでも好ましい合成法の例示であり、本発明に係る化合物の製法を限定する意図ではない。

【0039】

2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンの合成スキームを、図 1 に示す。2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンの合成にあたっては、まず、1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾールを、5 - アセチル - 2 - プロモピリジンと反応させ、5 - アセチル - 2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジンを合成する (図 1、step 1)。この工程は、例えば、下記の要領にて行なうことができる。

10

【0040】

まず、5 - アセチル - 2 - プロモピリジンと 1H - 1 , 2 , 3 , - トリアゾールをジメチルホルムアミドに溶解し、炭酸カリウムを添加する。この混合物を 100 にて 2 ~ 6 時間攪拌後、反応液を水に注いでジクロロメタンで抽出し、ジクロロメタン層を濃縮してクロマトグラム精製を行なうことにより、5 - アセチル - 2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジンを得る (図 1、step1)。炭酸カリウムの量は、反応中に発生する臭化水素酸を中和できる量であればよく、典型的には原料である 5 - アセチル - 2 - プロモピリジンと等量以上用いればよい。また、1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾールの量は、基質に対して過剰量であればよく、典型的には 5 - アセチル - 2 - プロモピリジンに対してモル比にして 3 . 0 倍程度用いればよい。

20

【0041】

次に、得られた 5 - アセチル - 2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジンをジクロロメタン及びトリエチルアミンに溶解し、0 程度まで冷却後、プロモトリメチルシランを添加する。この反応液を室温で 10 ~ 24 時間程度攪拌後、反応液を水に注いでジクロロメタンで抽出し、ジクロロメタン層を濃縮する。濃縮して得られた油状物質をよく乾燥し、テトラヒドロフランに溶解する。この混合物を 0 程度まで冷却後、N - プロモこはく酸イミドを添加し、室温で 10 ~ 60 分程度攪拌する。反応終了後、溶媒を留去してクロマトグラム精製を行なうことにより、5 - (2 - プロモアセチル) - 2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジンを得る (図 1、step2)。プロモトリメチルシランの量は反応基質に対して等量以上用いればよく、典型的には 5 - アセチル - 2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジンに対してモル比にして 2 . 0 倍程度用いればよい。また、トリエチルアミンの量は反応中に発生する臭化水素酸を中和できる量であればよく、典型的には臭化トリメチルシランに対して過剰量であればよい。N - プロモこはく酸イミドの量は反応基質に対して等量以上であればよいが、5 - アセチル - 2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジンとモル比にして 1 . 0 倍程度用いることが好ましい。

30

【0042】

得られた 5 - (2 - プロモアセチル) - 2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジンを、公知の方法 (例えば、文献 Zhi-Ping Zhuang et al., J. Med. Chem, 2003, 46, p.237-243 記載の方法) にて 2 - アミノ - 5 - ヨードピリジンと反応させて 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンを得る (図 1、step3)。

40

【0043】

そして、得られた 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンを、公知の方法 (たとえば、文献 Zhi-Ping Zhuang et al., J. Med. Chem, 2003, 46, p.237-243 記載の方法) にてビストリブチルスズと反応させ (図 1、step4)、精製することにより、目的物である 2 - [2 - (1H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンが得られる。

50

【 0 0 4 4 】

なお、イミダゾピリジン環における6位の置換基をトリブチルスタニル置換基以外のトリアルキルスタニル置換基とした化合物を得る場合は、図1のstep4でビストリブチルスズを用いる代わりに、目的に応じた種々のビストリアルキルスズを用いればよい。例えば、6位の置換基をトリメチルスタニル置換基とした化合物を合成する場合は、図1のstep4においてビストリメチルスズを用いて上記と同様の反応を行えばよい。また、イミダゾピリジン環における6位の置換基をニトロ基とした化合物は、図1のstep3で、2-アミノ-5-ヨードピリジンの代わりに2-アミノ-5-ニトロピリジンを用いて公知の方法にて反応させ、step4を省略する事によって得ることができる。

【 0 0 4 5 】

10

本発明に係るその他の前駆体化合物についても、一般に入手可能な原料を用い、当業者に公知の反応を組み合わせることにより、合成することができる。例えば、上記式(2)でA⁵がNでありA⁶、A⁷及びA⁸が何れもCHである化合物は、図1のstep1で、1H-1,2,3-トリアゾールの代わりにピラゾールを用いることにより、上記図1の工程に準じて合成することができる。また、上記式(2)でA⁵、A⁶、A⁷及びA⁸が何れもCHである化合物は、図1のstep1で、1H-1,2,3-トリアゾールの代わりにピロールを用いることにより、上記図1の工程に準じて合成することができる。

【 0 0 4 6 】

(放射性ハロゲン標識化合物の合成方法)

次に、放射性ヨード標識体化合物を例にとり、本発明の別の側面に係る、放射性ハロゲン標識化合物の製造方法について説明する。

20

【 0 0 4 7 】

放射性ヨード標識体化合物の合成は、上記の要領にて合成した標識前駆体化合物を不活性有機溶媒に溶解し、これに公知の方法にて得られた[¹²³I]ヨウ化ナトリウム溶液等を加え、酸及び酸化剤を加えて反応させることによって行うことができる。標識前駆体化合物を溶解させる不活性有機溶媒としては標識前駆体及び[¹²³I]ヨウ化ナトリウム等との間で反応性を有さない種々の溶媒を用いることができ、好ましくはアセトニトリルを用いることができる。

【 0 0 4 8 】

酸は種々のものを用いることができ、好ましくは塩酸を用いることができる。

30

酸化剤は、反応液中のヨウ素を酸化させることができるものであれば特に限定する必要はなく、好ましくは過酸化水素又は過酢酸を用いることができる。酸化剤の添加量は、反応溶液中のヨウ素を酸化させるのに十分な量であれば良い。

【 0 0 4 9 】

ヨウ素以外の放射性ハロゲン標識体は、合成目的に応じた標識前駆体を、目的に応じた放射性ハロゲンで標識することによって合成することができる。例えば、[¹⁸F]-6-フルオロ-2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを合成する場合は、標識前駆体である6-ニトロ-2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを、相間移動触媒と炭酸カリウムの存在下で[¹⁸F]フッ化物イオンと反応させれば良い。

40

【 0 0 5 0 】

(本発明に係る診断剤の調製方法及び使用方法)

本発明に係る診断剤は、他の一般に知られている放射性診断剤と同様、本発明に係る放射性ハロゲン標識化合物を所望により適当なpHに調整された水又は生理食塩水、あるいはリンゲル液等に配合させた液として調製することができる。この場合における本化合物の濃度は、配合された本化合物の安定性が得られる濃度以下とする必要がある。本化合物の投与量は、投与された薬剤の分布を画像化するために十分な濃度であれば特に限定する必要はない。例えば、¹²³I標識化合物及び¹⁸F標識化合物の場合は、体重60kgの成人一人当たり50~600MBq程度、静脈投与又は局所投与して使用することができる

50

。投与された薬剤の分布は、公知の方法にて画像化することができ、例えば¹²³I 標識化合物の場合は SPECT 装置、¹⁸F 標識化合物の場合は PET 装置を用いて画像化することができる。

【0051】

以下、実施例、比較例及び参考例を記載して本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの内容に限定されるものではない。なお、下記実施例において、実験に供する各化合物の名称を、表1の様に定義した。

【0052】

【表1】

表1 実施例にて用いる評価化合物の化合物名称

化合物名	慣用名
化合物1	[¹²³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1, 2 - a] ピリジン
化合物2	[¹²³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1, 2 - a] ピリジン
化合物3	[¹²³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - イミダゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1, 2 - a] ピリジン
化合物4	[¹²³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1, 2, 4 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1, 2 - a] ピリジン
化合物5	[¹²³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1, 2 - a] ピリジン

【0053】

(実施例1) 2 - [2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1, 2 - a] ピリジンの合成

【0054】

1H - 1, 2, 3 - トリアゾール 207 mg (3.00 mmol 相当) をジメチルホルムアミド 5 mL に溶解したのち、5 - アセチル - 2 - プロモピリジン 200 mg (1.00 mmol 相当) と炭酸カリウム 414 mg (3.00 mmol 相当) を加え、100 で3時間加熱した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、飽和塩化アンモニウム水溶液と水を加え、ジクロロメタンで3回抽出を行った。合わせたジクロロメタン層を、水及び飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ジクロロメタン/酢酸エチル = 4/1) にて精製を行い 5 - アセチル - 2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン 57.2 mg (0.304 mmol 相当) を得た (図1、step1)。

【0055】

使用 NMR 装置: JNM - ECP - 500 (日本電子株式会社製)

¹H - NMR (溶媒: 重クロロホルム、共鳴周波数: 500 MHz): 9.05 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.65 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.46 (dd, J = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 8.34 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 2.68 (s, 3H)。

【0056】

5 - アセチル - 2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン 57.2 mg (0.304 mmol 相当) をジクロロメタン 2.0 mL およびトリエチルアミン 127 μL に溶解したのち、氷冷下、プロモトリメチルシラン 78.9 μL (0.608 mmol 相当) を滴下した。アルゴンガス雰囲気下、室温で一晩攪拌したのち、反応液に水を加えてジクロロメタンで3回抽出した。合わせたジクロロメタン層を水、飽和食塩水で洗

10

20

30

40

50

浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して得られた残渣をテトラヒドロフラン 2.0 mL に溶解し、氷冷下、N-ブロモコハク酸イミド 54.1 mg (0.304 mmol 相当) を加え、室温で 30 分間攪拌した。反応終了後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ジクロロメタン/酢酸エチル = 4/1) にて精製を行い、5 - (2 - ブロモアセチル) - 2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン 66.4 mg (0.249 mmol 相当) を得た (図 1、step2)。

【0057】

使用 NMR 装置: JNM - ECP - 500 (日本電子株式会社製)

¹H - NMR (溶媒: 重クロロホルム、共鳴周波数: 500 MHz): 9.12 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.67 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 8.51 (dd, J = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 4.44 (s, 2H)。

10

【0058】

5 - (2 - ブロモアセチル) - 2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン 66.4 mg (0.249 mmol 相当) と 2 - アミノ - 5 - ヨードピリジン 54.8 mg (0.249 mmol 相当) をアセトニトリル 2.0 mL に溶解し 100 の油浴にて 1.5 時間加熱還流した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、沈殿物をろ別したのち、アセトニトリルで洗浄し、減圧下乾燥させた。得られた粗結晶は、水 2 mL - メタノール 2 mL 混液に懸濁させたのち、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約 1 mL 加え、超音波洗浄器を用いて 5 分間振とうした。得られた混合物から、沈殿物をろ別して水でよく洗浄し、減圧下乾燥して、6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1, 2 - a] ピリジン 44.0 mg (0.113 mmol 相当) を得た (図 1、step3)。

20

【0059】

使用 NMR 装置: JNM - ECP - 500 (日本電子株式会社製)

¹H - NMR (溶媒: 重ジメチルスルホキシド、共鳴周波数: 500 MHz): 9.11 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.91 (brs, 1H), 8.82 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 8.57 (dd, J = 8.5, 2.3 Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.16 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 0.9 Hz, 1H), 7.45 (brs, 2H)。

【0060】

30

6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1, 2 - a] ピリジン 20 mg (0.0515 mmol 相当) をジオキサン 0.8 mL に溶解し、トリエチルアミン 0.2 mL を加えた後、ピストリブチルスズ 51.5 μL (0.130 mmol 相当) とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム 6.0 mg (触媒量) を加えた。反応混合物を 100 で 16 時間攪拌した後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 2/1) にて精製を行った。得られた粗結晶をヘキサン - 酢酸エチルを用いて再結晶を行い、2 - [2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1, 2 - a] ピリジン 8.7 mg (0.016 mmol 相当) を得た (図 1、step4)。

40

【0061】

使用 NMR 装置: JNM - ECP - 500 (日本電子株式会社製)

¹H - NMR (溶媒: 重クロロホルム、共鳴周波数: 500 MHz): 9.05 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.63 (brs, 1H), 8.48 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 8.28 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.03 (t, J = 14.7 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.85 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 1.64-1.49 (m, 6H), 1.36 (tt, J = 7.3, 7.3 Hz, 6H), 1.21-1.07 (m, 6H), 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 9H)。

【0062】

(実施例 2) [1²³I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1, 2 - a] ピリジン (化合物 1) の合成

50

【0063】

実施例1にて合成した2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンのアセトニトリル溶液(濃度:1mg/mL)90μLに、2mol/L塩酸85μL、641MBqの $[^1\ ^2\ ^3\text{I}]$ ヨウ化ナトリウム60μL、30%(W/V)過酸化水素10μLを添加した。当該混合液を40℃にて10分間静置した後、下記の条件のHPLCに付して $[^1\ ^2\ ^3\text{I}]$ -6-ヨード-2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン画分を分取した。

【0064】

HPLC条件:

カラム:YMC PackPro C8(商品名、YMC社製、サイズ:4.6×150mm)

移動相:0.1%トリフルオロ酢酸含有水/0.1%トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル=80/20 0/100(20分)

流速:1.0 mL/分

検出器:紫外可視吸光度計(検出波長:260nm)及び放射線検出器(raytest社 STEFFI型)

【0065】

当該画分に水5mLを添加した液をSep-Pak(登録商標)C18カラム(商品名:Sep-Pak(登録商標)Light C18 Cartridges、Waters社製、充填剤の充填量130mg)に通液し、 $[^1\ ^2\ ^3\text{I}]$ -6-ヨード-2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを当該カラムに吸着捕集した。このカラムを水1mLで洗浄した後、ジエチルエーテル1mLを通液して $[^1\ ^2\ ^3\text{I}]$ -6-ヨード-2-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを溶出させた。得られた放射エネルギーは合成直後において239MBqであった。また、下記の条件によるTLC分析を行ったところ、その放射化学的純度は99.1%であった。

【0066】

TLC分析条件:

TLCプレート:Silica Gel 60 F254(製品名、メルク社製)

展開相:酢酸エチル/メタノール/ジエチルアミン=100/4/1

検出器:Rita Star(製品名、raytest社製)

【0067】

(実施例3)2-[2-(2H-1,2,3-トリアゾール-2-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成

【0068】

1H-1,2,3-トリアゾール207mg(3.00mmol相当)をジメチルホルムアミド5mLに溶解したのち、5-アセチル-2-プロモピリジン200mg(1.00mmol相当)と炭酸カリウム414mg(3.00mmol相当)を加え、100℃で3時間加熱した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、飽和塩化アンモニウム水溶液と水を加え、ジクロロメタンで3回抽出を行った。合わせたジクロロメタン層を、水及び飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶離液:ジクロロメタン/酢酸エチル=4/1)にて精製を行い5-アセチル-2-(2H-1,2,3-トリアゾール-2-イル)ピリジン31.9mg(0.170mmol相当)を得た(図2、step1)。

【0069】

使用NMR装置:JNM-ECF-500(日本電子株式会社製)

^1H -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:500MHz): 9.13(d, J=2.3 Hz, 1H), 8.45(dd, J=8.6, 2.3 Hz, 1H), 8.21(d, J=8.6 Hz, 1H), 7.97(s, 2H), 2.69(s, 3H)。

10

20

30

40

50

【 0 0 7 0 】

5 - アセチル - 2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン 3 1 . 9 m g (0 . 1 7 0 m m o l 相当) をジクロロメタン 1 . 0 m L およびトリエチルアミン 7 1 μ L に溶解したのち、氷冷下、プロモトリメチルシラン 4 4 . 1 μ L (0 . 5 1 m m o l 相当) を滴下した。アルゴンガス雰囲気下、室温で一晩攪拌したのち、反応液に水を加えてジクロロメタンで 3 回抽出した。合わせたジクロロメタン層を水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して得られた残渣をテトラヒドロフラン 1 . 0 m L に溶解し、氷冷下、N - ブロモコハク酸イミド 3 3 . 3 m g (0 . 1 7 m m o l 相当) を加え、室温で 3 0 分間攪拌した。反応終了後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液 : ジクロロメタン / 酢酸エチル = 2 / 1) にて精製を行い、5 - (2 - ブロモアセチル) - 2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン 2 0 . 2 m g (0 . 0 7 6 m m o l 相当) を得た (図 2、step2)。

10

【 0 0 7 1 】

使用 NMR 装置 : J N M - E C P - 5 0 0 (日本電子株式会社製)

1 H - NMR (溶媒 : 重クロロホルム、共鳴周波数 : 5 0 0 M H z) : 9.18 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.49 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 8.24 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.98 (s, 2H), 4.45 (s, 2H)。

【 0 0 7 2 】

5 - (2 - ブロモアセチル) - 2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン 2 0 . 4 m g (0 . 0 7 6 4 m m o l 相当) と 2 - アミノ - 5 - ヨードピリジン 1 6 . 8 m g (0 . 0 7 6 4 m m o l 相当) をアセトニトリル 2 . 0 m L に溶解し 1 0 0 の油浴にて 1 . 5 時間加熱還流した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、沈殿物をろ別したのち、アセトニトリルで洗浄し、減圧下乾燥させた。得られた粗結晶は、水 2 m L - メタノール 2 m L 混液に懸濁させたのち、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約 1 m L 加え、超音波洗浄器を用いて 1 0 分間振とうした。得られた混合物から、沈殿物をろ別して水でよく洗浄し、減圧下乾燥して、6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン 1 0 . 4 m g (0 . 0 2 7 m m o l 相当) を得た (図 2、step3)。

20

【 0 0 7 3 】

使用 NMR 装置 : J N M - E C P - 5 0 0 (日本電子株式会社製)

1 H - NMR (溶媒 : 重ジメチルスルホキシド、共鳴周波数 : 5 0 0 M H z) : 9.13 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.96 (brs, 1H), 8.56 (dd, J = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.17 (s, 2H), 8.10 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.48 (brs, 2H)。

30

【 0 0 7 4 】

6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン 7 m g (0 . 0 1 8 m m o l 相当) をジオキサン 0 . 5 m L に溶解し、トリエチルアミン 0 . 1 m L を加えた後、ビストリブチルスズ 1 8 μ L (0 . 0 3 6 m m o l 相当) とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム 2 m g (触媒量) を加えた。反応混合物を 1 0 0 で 1 6 時間攪拌した後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液 : ヘキサン / 酢酸エチル = 2 / 1) にて精製を行った。得られた粗結晶をヘキサン - 酢酸エチルを用いて再結晶を行い、2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン 2 . 3 m g (0 . 0 0 4 m m o l 相当) を得た (図 2、step4)。

40

【 0 0 7 5 】

使用 NMR 装置 : J N M - E C P - 5 0 0 (日本電子株式会社製)

1 H - NMR (溶媒 : 重クロロホルム、共鳴周波数 : 5 0 0 M H z) : 9.09 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.52 (dd, J = 8.6, 2.1 Hz, 1H), 8.16 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.91 (s, 2H), 7.632 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.2 (d, J = 8

50

.9 Hz, 1H), 1.60-1.50 (m, 6H), 1.36 (tt, J = 7.3, 7.3 Hz, 6H), 1.20-1.06 (m, 6H), 0.91 (t, J = 7.1 Hz, 9H)。

【 0 0 7 6 】

(実施例 4) [¹ ² ³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン (化合物 2) の合成

【 0 0 7 7 】

実施例 3 にて合成した 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンのアセトニトリル溶液 (濃度 : 1 m g / m L) 4 5 μ L に、 2 m o l / L 塩酸 4 2 . 5 μ L、 3 4 1 M B q の [¹ ² ³ I] ヨウ化ナトリウム 3 0 μ L、 3 0 % (W / V) 過酸化水素 5 μ L を添加した。当該混合液を 4 0 ℃ にて 1 0 分間静置した後、下記の条件の H P L C に付して [¹ ² ³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン画分を分取した。

【 0 0 7 8 】

H P L C 条件 :

カラム : Y M C P a c k P r o C 8 (商品名、 Y M C 社製、サイズ : 4 . 6 × 1 5 0 m m)

移動相 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水 / 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル = 8 0 / 2 0 0 / 1 0 0 (2 0 分)

流速 : 1 . 0 m L / 分

検出器 : 紫外可視吸光度計 (検出波長 : 2 6 0 n m) 及び放射線検出器 (r a y t e s t 社 S T E F F I 型)

【 0 0 7 9 】

当該画分に水 5 m L を添加した液を S e p - P a k (登録商標) C 1 8 カラム (商品名 : S e p - P a k (登録商標) L i g h t C 1 8 C a r t r i d g e s、 W a t e r s 社製、充填剤の充填量 1 3 0 m g) に通液し、 [¹ ² ³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンを当該カラムに吸着捕集した。このカラムを水 1 m L で洗浄した後、ジエチルエーテル 1 m L を通液して [¹ ² ³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (2H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 2 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンを溶出させた。得られた放射エネルギーは合成直後において 9 1 . 8 M B q であった。また、下記の条件による T L C 分析を行ったところ、その放射化学的純度は 9 7 . 6 % であった。

【 0 0 8 0 】

T L C 分析条件 :

T L C プレート : S i l i c a G e l 6 0 F ₂₅₄ (製品名、メルク社製)

展開相 : 酢酸エチル / メタノール / ジエチルアミン = 1 0 0 / 4 / 1

検出器 : R i t a S t a r (製品名、 r a y t e s t 社製)

【 0 0 8 1 】

(実施例 5) 2 - [2 - (1H - イミダゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンの合成

【 0 0 8 2 】

イミダゾール 2 0 4 m g (3 . 0 0 m m o l 相当) をジメチルホルムアミド 5 m L に溶解したのち、 5 - アセチル - 2 - プロモピリジン 2 0 0 m g (1 . 0 0 m m o l 相当) と炭酸カリウム 4 1 4 m g (3 . 0 0 m m o l 相当) を加え、 1 0 0 ℃ で 3 時間加熱した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、飽和塩化アンモニウム水溶液と水を加え、ジクロロメタンで 3 回抽出を行った。合わせたジクロロメタン層を、水及び飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液 : ジクロロメタン / 酢酸エチル = 4 / 1) にて精製を行い 5 - アセチル - 2 - (1H - イミダゾール - 1 - イル) ピリジン 8 7 m g (0 . 4 6 2 m m o l 相当) を得た (図 3、step1)。

【0083】

使用NMR装置：JNM-ECP-500（日本電子株式会社製）

¹H-NMR（溶媒：重クロロホルム、共鳴周波数：500MHz）：9.03（d, J = 2.3 Hz, 1H）, 8.43（brs, 1H）, 8.38（dd, J = 8.5, 2.3 Hz, 1H）, 7.69（brs, 1H）, 7.44（d, J = 8.5 Hz, 1H）, 7.23（brs, 1H）, 2.66（s, 3H）。

【0084】

5 - アセチル - 2 - （1H-イミダゾール - 1 - イル）ピリジン 87 mg（0.462 mmol 相当）をジクロロメタン 3.0 mL およびトリエチルアミン 193 μL に溶解したのち、氷冷下、プロモトリメチルシラン 120 μL（0.924 mmol 相当）を滴下した。アルゴンガス雰囲気下、室温で一晩攪拌したのち、反応液に水を加えてジクロロメタンで3回抽出した。合わせたジクロロメタン層を水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して得られた残渣をテトラヒドロフラン 3.0 mL に溶解し、氷冷下、N-プロモコハク酸イミド 82.2 mg（0.462 mmol 相当）を加え、室温で30分間攪拌した。反応終了後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ジクロロメタン/酢酸エチル = 2/1）にて精製を行い、5 - （2 - プロモアセチル） - 2 - （1H-イミダゾール - 1 - イル）ピリジン 24.3 mg（0.091 mmol 相当）の粗結晶を得た（図3、step2）。

【0085】

5 - （2 - プロモアセチル） - 2 - （1H-イミダゾール - 1 - イル）ピリジンの粗結晶 24.3 mg（0.0876 mmol 相当）と2 - アミノ - 5 - ヨードピリジン 19.3 mg（0.0876 mmol 相当）をアセトニトリル 2.0 mL に溶解し100 の油浴にて1.5時間加熱還流した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、沈殿物をろ別したのち、アセトニトリルで洗浄し、減圧下乾燥させた。得られた粗結晶は、水 2 mL - メタノール 2 mL 混液に懸濁させたのち、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約 1 mL 加え、超音波洗浄器を用いて10分間振とうした。得られた混合物から、沈殿物をろ別して水でよく洗浄し、減圧下乾燥して、6 - ヨード - 2 - [2 - （1H-イミダゾール - 1 - イル）ピリジン - 5 - イル]イミダゾ[1, 2 - a]ピリジンの粗結晶を得た。得られた粗結晶をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：酢酸エチル/メタノール = 10/1）にて精製を行い、6 - ヨード - 2 - [2 - （1H-イミダゾール - 1 - イル）ピリジン - 5 - イル]イミダゾ[1, 2 - a]ピリジン 17.7 mg（0.046 mmol 相当）を得た（図3、step3）。

【0086】

使用NMR装置：JNM-ECP-500（日本電子株式会社製）

¹H-NMR（溶媒：重ジメチルスルホキシド、共鳴周波数：500MHz）：9.05（d, J = 2.3 Hz, 1H）, 8.94（s, 1H）, 8.55（s, 1H）, 8.48（dd, J = 8.5, 2.3 Hz, 1H）, 8.46（s, 1H）, 7.97（s, 1H）, 7.89（d, J = 8.5 Hz, 1H）, 7.47（brs, 2H）, 7.14（s, 1H）。

【0087】

6 - ヨード - 2 - [2 - （1H-イミダゾール - 1 - イル）ピリジン - 5 - イル]イミダゾ[1, 2 - a]ピリジン 10 mg（0.029 mmol 相当）をジオキサン 0.5 mL に溶解し、トリエチルアミン 0.1 mL を加えた後、ビストリブチルスズ 26 μL（0.052 mmol 相当）とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム 3 mg（触媒量）を加えた。反応混合物を100 で16時間攪拌した後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン/酢酸エチル = 2/1）にて精製を行った。得られた粗結晶をヘキサン - 酢酸エチルを用いて再結晶を行い、2 - [2 - （1H-イミダゾール - 1 - イル）ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ[1, 2 - a]ピリジン 3.1 mg（0.006 mmol 相当）を得た（図3、step4）。

【0088】

使用NMR装置：JNM-ECP-500（日本電子株式会社製）

^1H -NMR (溶媒: 重クロロホルム、共鳴周波数: 500 MHz): 8.99 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.44 (dd, J = 8.5, 2.3 Hz, 1H), 8.40 (brs, 1H), 8.02 (brs, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.68 (brs, 1H), 7.62 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.23 (brs, 1H), 7.22 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 1.62-1.50 (m, 6H), 1.36 (tt, J = 7.3, 7.3 Hz, 6H), 1.20-1.08 (m, 6H), 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 9H)。

【0089】

(実施例6) [^{123}I]-6-ヨード-2-[2-(1H-イミダゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン(化合物3)の合成

【0090】

実施例5にて合成した2-[2-(1H-イミダゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンのアセトニトリル溶液(濃度: 1 mg/mL) 45 μL に、2 mol/L塩酸 42.5 μL 、485 MBqの[^{123}I]ヨウ化ナトリウム30 μL 、30% (W/V)過酸化水素5 μL を添加した。当該混合液を40℃にて10分間静置した後、下記の条件のHPLCに付して[^{123}I]-6-ヨード-2-[2-(1H-イミダゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン画分を分取した。

【0091】

HPLC条件:

カラム: YMC PackPro C8 (商品名、YMC社製、サイズ: 4.6 \times 150 mm)

移動相: 0.1%トリフルオロ酢酸含有水/0.1%トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル = 90/10 0/100 (25分)

流速: 1.0 mL/分

検出器: 紫外可視吸光度計(検出波長: 260 nm)及び放射線検出器 (raytest社 STEFFI型)

【0092】

当該画分に水5 mLを添加した液をSep-Pak(登録商標) C18カラム(商品名: Sep-Pak(登録商標) Light C18 Cartridges、Waters社製、充填剤の充填量130 mg)に通液し、[^{123}I]-6-ヨード-2-[2-(1H-イミダゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを当該カラムに吸着捕集した。このカラムを水1 mLで洗浄した後、ジエチルエーテル1 mLを通液して[^{123}I]-6-ヨード-2-[2-(1H-イミダゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを溶出させた。得られた放射エネルギーは合成直後において40.1 MBqであった。また、下記の条件によるTLC分析を行ったところ、その放射化学的純度は91.3%であった。

【0093】

TLC分析条件:

TLCプレート: Silica Gel 60 F₂₅₄ (製品名、メルク社製)

展開相: 酢酸エチル/メタノール/ジエチルアミン = 100/4/1

検出器: Rita Star (製品名、raytest社製)

【0094】

(実施例7) 2-[2-(1H-1,2,4-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成

【0095】

1H-1,2,4-トリアゾール622 mg (9.00 mmol相当)をジメチルホルムアミド10 mLに溶解したのち、5-アセチル-2-プロモピリジン600 mg (3.00 mmol相当)と炭酸カリウム1.24 g (9.00 mmol相当)を加え、100℃で3時間加熱した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、飽和塩化アンモニウム水溶液と水を加え、ジクロロメタンで3回抽出を行った。合わせたジクロロメタン層を、水及び飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、得られた粗生成物

をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ジクロロメタン／酢酸エチル＝４／１）にて精製を行い５－アセチル－２－（１Ｈ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）ピリジン４８０ｍｇ（２．５５ｍｍｏｌ相当）を得た（図４、step1）。

【００９６】

５－アセチル－２－（１Ｈ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）ピリジン４８０ｍｇ（２．５５ｍｍｏｌ相当）をジクロロメタン１０ｍＬおよびトリエチルアミン１．０７ｍＬに溶解したのち、氷冷下、プロモトリメチルシラン６６２μＬ（５．１０ｍｍｏｌ相当）を滴下した。アルゴンガス雰囲気下、室温で一晩攪拌したのち、反応液に水を加えてジクロロメタンで３回抽出した。合わせたジクロロメタン層を水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して得られた残渣をテトラヒドロフラン１０ｍＬに溶解し、氷冷下、Ｎ－プロモこはく酸イミド４５４ｍｇ（２．５５ｍｍｏｌ相当）を加え、室温で３０分間攪拌した。反応終了後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ジクロロメタン／酢酸エチル＝２／１）にて精製を行い、５－（２－プロモアセチル）－２－（１Ｈ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）ピリジン６５７ｍｇ（２．４６ｍｍｏｌ相当）を得た（図４、step2）。

【００９７】

使用ＮＭＲ装置：ＪＮＭ－ＥＣＰ－５００（日本電子株式会社製）

¹Ｈ－ＮＭＲ（溶媒：重クロロホルム、共鳴周波数：５００ＭＨｚ）： ９．２７（brs，１Ｈ），９．０７（d，J＝２．１Hz，１Ｈ），８．４８（dd，J＝８．５，２．３Hz，１Ｈ），８．１５（s，１Ｈ），８．０６（d，J＝８．５Hz，１Ｈ），４．４３（s，２Ｈ）。

【００９８】

５－（２－プロモアセチル）－２－（１Ｈ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）ピリジン６５７ｍｇ（２．４６ｍｍｏｌ相当）と２－アミノ－５－ヨードピリジン５４１ｍｇ（２．４６ｍｍｏｌ相当）をアセトニトリル５．０ｍＬに溶解し１００℃の油浴にて１．５時間加熱還流した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、沈殿物をろ別したのち、アセトニトリルで洗浄し、減圧下乾燥させた。得られた粗結晶は、水２ｍＬ－メタノール２ｍＬ混液に懸濁させたのち、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約１ｍＬ加え、超音波洗浄器を用いて１０分間振とうした。得られた混合物から、沈殿物をろ別して水でよく洗浄し、減圧下乾燥して、６－ヨード－２－〔２－（１Ｈ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）ピリジン－５－イル〕イミダゾ〔１，２－a〕ピリジン６７５ｍｇ（１．７４ｍｍｏｌ相当）を得た（図４、step3）。

【００９９】

使用ＮＭＲ装置：ＪＮＭ－ＥＣＰ－５００（日本電子株式会社製）

¹Ｈ－ＮＭＲ（溶媒：重ジメチルスルホキシド、共鳴周波数：５００ＭＨｚ）： ９．３８（brs，１Ｈ），９．１０（d，J＝２．１Hz，１Ｈ），８．９６（brs，１Ｈ），８．５７（dd，J＝８．５，２．１Hz，１Ｈ），８．４９（s，１Ｈ），８．３１（s，１Ｈ），７．９６（d，J＝８．５Hz，１Ｈ），７．４９（brs，２Ｈ）。

【０１００】

６－ヨード－２－〔２－（１Ｈ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）ピリジン－５－イル〕イミダゾ〔１，２－a〕ピリジン１００ｍｇ（０．２５８ｍｍｏｌ相当）をジオキサン５．０ｍＬに溶解し、トリエチルアミン０．５ｍＬを加えた後、ビストリブチルスズ２５８μＬ（０．５１６ｍｍｏｌ相当）とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム２９．８ｍｇ（触媒量）を加えた。反応混合物を１００℃で１６時間攪拌した後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝２／１）にて精製を行った。得られた粗結晶をヘキサン－酢酸エチルを用いて再結晶を行い、２－〔２－（１Ｈ－１，２，４－トリアゾール－１－イル）ピリジン－５－イル〕－６－トリブチルスタニルイミダゾ〔１，２－a〕ピリジン４７ｍｇ（０．０８５ｍｍｏｌ相当）を得た（図４、step4）。

【０１０１】

使用ＮＭＲ装置：ＪＮＭ－ＥＣＰ－５００（日本電子株式会社製）

^1H -NMR (溶媒：重クロロホルム、共鳴周波数：500 MHz)：9.21 (s, 1H), 8.99 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.48 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.97 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.02 (t, J = 14.7 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.62 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 1.65-1.49 (m, 6H), 1.36 (tt, J = 7.3, 7.3 Hz, 6H), 1.21-1.07 (m, 6H), 0.91 (t, J = 7.3 Hz, 9H)。

【0102】

(実施例8) [$^1\text{ }^2\text{ }^3\text{I}$]-6-ヨード-2-[2-(1H-1, 2, 4-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン(化合物4)の合成

【0103】

実施例7にて合成した2-[2-(1H-1, 2, 4-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1, 2-a]ピリジンのアセトニトリル溶液(濃度：1 mg/mL) 90 μL に、2 mol/L塩酸 85 μL 、1127 MBqの [$^1\text{ }^2\text{ }^3\text{I}$]ヨウ化ナトリウム 60 μL 、30% (W/V)過酸化水素 10 μL を添加した。当該混合液を40℃にて10分間静置した後、下記の条件のHPLCに付して [$^1\text{ }^2\text{ }^3\text{I}$]-6-ヨード-2-[2-(1H-1, 2, 4-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン画分を分取した。

【0104】

HPLC条件：

カラム：YMC PackPro C8 (商品名、YMC社製、サイズ：4.6 \times 150 mm)

移動相：0.1%トリフルオロ酢酸含有水/0.1%トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル = 90/10 0/100 (20分)

流速：1.0 mL/分

検出器：紫外可視吸光度計(検出波長：260 nm)及び放射線検出器(raytest社 STEFFI型)

【0105】

当該画分に水5 mLを添加した液をSep-Pak(登録商標) C18カラム(商品名：Sep-Pak(登録商標) Light C18 Cartridges、Waters社製、充填剤の充填量130 mg)に通液し、 [$^1\text{ }^2\text{ }^3\text{I}$]-6-ヨード-2-[2-(1H-1, 2, 4-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを当該カラムに吸着捕集した。このカラムを水1 mLで洗浄した後、ジエチルエーテル1 mLを通液して [$^1\text{ }^2\text{ }^3\text{I}$]-6-ヨード-2-[2-(1H-1, 2, 4-トリアゾール-1-イル)ピリジン-5-イル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを溶出させた。得られた放射エネルギーは合成直後において536 MBqであった。また、下記の条件によるTLC分析を行ったところ、その放射化学的純度は95.5%であった。

【0106】

TLC分析条件：

TLCプレート：Silica Gel 60 F₂₅₄ (製品名、メルク社製)

展開相：酢酸エチル/メタノール/ジエチルアミン = 100/4/1

検出器：Rita Star (製品名、raytest社製)

【0107】

(参考例1) [$^1\text{ }^2\text{ }^3\text{I}$]-IMPYの合成

【0108】

アミロイド結合性の測定並びに脳集積性に関する検討における比較例に用いるため、下記の工程に従い、 [$^1\text{ }^2\text{ }^3\text{I}$]-IMPYを合成した。

【0109】

文献(Zhi-Ping Zhuang et al., J. Med. Chem, 2003, 46, p.237-243)記載の方法に従い、2-[4'-(N,N-ジメチルアミノ)フェニル]-6-トリブチルスタニルイミダゾ[1, 2-a]ピリジンを合成し、アセトニトリルに溶解した(濃度：1 mg/mL)。当該溶液50 μL に、2 mol/L塩酸 50 μL 、1075 MBqの [$^1\text{ }^2\text{ }^3\text{I}$]

10

20

30

40

50

ヨウ化ナトリウム 80 μ L、1 mmol/L ヨウ化ナトリウム溶液 23 μ L、30% (W/V) 過酸化水素 15 μ L を添加した。当該混合液を 40 にて 10 分間静置した後、実施例 2 と同様の条件による HPLC に付して [^{123}I] - IMPY 画分を分取した。

【0110】

当該画分に水 10 mL を添加した液を Sep-Pak C18 カラム (商品名: Sep-Pak (登録商標) Light C18 Cartridges、Waters 社製、充填剤の充填量 130 mg) に通液し、[^{123}I] - IMPY を当該カラムに吸着捕集した。このカラムを水 1 mL で洗浄した後、ジエチルエーテル 1 mL を通液して [^{123}I] - IMPY を溶出させた。得られた放射エネルギーは合成直後において 170 MBq であった。また、実施例 2 と同様の条件にて TLC 分析を行ったところ、その放射化学的純度は 98.5% であった。

10

【0111】

(実施例 9) オクタノール抽出法を用いた分配係数の測定

【0112】

化合物の血液脳関門 (以下、BBB とする) 透過性の指標として一般に知られているオクタノール抽出法を用いた分配係数 (以下、 $\log P_{\text{octanol}}$ とする) を測定した。

【0113】

(方法)

化合物 1、化合物 2、化合物 3 及び化合物 4 を、水飽和 1-オクタノール溶液にてそれぞれ約 1 MBq/mL に調製し、試料溶液とした。各試料溶液を、それぞれ、3 つのマイクロチューブに 30 μ L ずつ添加した。各試料溶液を添加した 3 つのマイクロチューブに対し、水飽和 1-オクタノール及び 1-オクタノール飽和水の両者をそれぞれ 200 μ L、400 μ L、又は 800 μ L となるよう添加した (それぞれ、200 μ L 添加試料、400 μ L 添加試料、800 μ L 添加試料という)。各マイクロチューブを攪拌した後、5 分間振とうした ($20 \sim 25 \pm 2$, 回転数 20 回/分)。次いで、各マイクロチューブ内の混合液を遠心機 (形式: T2-MC、BECKMAN 社製) で遠心分離 (23 、 $3000 \text{ g} \times 20 \text{ 分}$) した後、オクタノール層及び水層をそれぞれ 50 μ L 分取し、放射能をオートウェル・ガンマシステム (形式: ARC-7001、アロカ社製) にて計測した。得られたカウントを用い、下記数式 (1) より $\log P_{\text{octanol}}$ を算出した。なお、 $\log P_{\text{octanol}}$ の値は、200 μ L 添加試料、400 μ L 添加試料、800 μ L 添加試料のそれぞれについて算出された値の平均値とした。

20

30

【0114】

【数 1】

$$\log P_{\text{octanol}} = \log_{10} \left(\frac{\text{オクタノール層の放射能カウント}}{\text{水層の放射能カウント}} \right) \quad \dots \quad (1)$$

【0115】

(結果)

結果を表 2 に示す。化合物 1、化合物 2、化合物 3 及び化合物 4 の $\log P_{\text{octanol}}$ の値は、それぞれ 2.10、2.05、1.91 及び 2.23 であった。BBB 透過性における化合物の最適な $\log P_{\text{octanol}}$ 値の範囲は 1 ~ 3 であることが知られている (Douglas D. Dischinger et al., J.Nucl.Med., (1983), 24, p.1030-1038)。以上の結果より、化合物 1、化合物 2、化合物 3 及び化合物 4 は、BBB 透過性を有することが示唆された。

40

【0116】

【表 2】

表 2 本発明化合物の $\log P_{\text{octanol}}$ 値

化合物	$\log P_{\text{octanol}}$ 値
化合物 1	2.10
化合物 2	2.05
化合物 3	1.91
化合物 4	2.23

10

【0117】

(実施例 10) 2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンの合成

【0118】

ピラゾール 407.9 mg (5.99 mmol 相当) をジメチルホルムアミド 10 mL に溶解したのち、5 - アセチル - 2 - ブロモピリジン 400.0 mg (1.99 mmol 相当) と炭酸カリウム 827.9 mg (5.99 mmol 相当) を加え、100 で 5 時間加熱した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、水を加え、ジクロロメタンで 2 回抽出を行った。合わせたジクロロメタン層を、水及び飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液 : ジクロロメタン / 酢酸エチル = 50 / 1) にて精製を行い 5 - アセチル - 2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン 304.0 mg (1.62 mmol 相当) を得た。(図 5、step 1)

20

【0119】

5 - アセチル - 2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン 100.0 mg (0.53 mmol 相当) をジクロロメタン 4 mL およびトリエチルアミン 230 μ L に溶解したのち、氷冷下、プロモトリメチルシラン 140 μ L (1.07 mmol 相当) を滴下した。アルゴンガス雰囲気下、室温で一晩攪拌したのち、反応液を水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して得られた残渣をテトラヒドロフラン 4 mL に溶解し、N-ブロモコハク酸イミド 94.3 mg (0.53 mmol 相当) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応終了後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液 : ジクロロメタン / 酢酸エチル = 50 / 1) にて精製を行い、5 - (2 - ブロモアセチル) - 2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン 100.0 mg (0.38 mmol 相当) を得た。(図 5、step 2)

30

【0120】

使用 NMR 装置 : JNM - ECP - 500 (日本電子株式会社製)

^1H - NMR (溶媒 : 重クロロホルム、共鳴周波数 : 500 MHz) : 9.02 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.63 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.38 (dd, J = 8.7, 1.9 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 6.52 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 4.41 (s, 2H)。

40

【0121】

5 - (2 - ブロモアセチル) - 2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン 100.0 mg (0.38 mmol 相当) と 2 - アミノ - 5 - ヨードピリジン 83.6 mg (0.38 mmol 相当) をアセトニトリル 3.8 mL に溶解し 100 の油浴にて 4 時間加熱還流した。反応終了後、反応液を室温まで冷却し、沈殿物をろ別したのち、アセトニトリルで洗浄し、減圧下乾燥させた。得られた粗結晶は、水 50 mL - メタノール 50 mL 混液に懸濁させたのち、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約 50 mL 加え、超音波洗浄器を用いて 1 時間振とうした。得られた混合物から、沈殿物をろ別して水でよく洗浄し、減圧下乾燥して、2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - ヨードイミダ

50

ゾ [1 , 2 - a] ピリジン 80 . 2 m g (0 . 2 1 m m o l 相当) を得た。(図 5、step 3)

【 0 1 2 2 】

使用 NMR 装置 : J N M - E C P - 5 0 0 (日本電子株式会社製)

¹ H - NMR (溶媒 : 重ジメチルスルホキシド、共鳴周波数 : 5 0 0 M H z) : 9.04 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.66 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.50 (dd, J = 8.3, 2.3 Hz, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.01 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.86 - 7.85 (m, 1H), 7.48 (s, 2H), 6.61 - 6.60 (m, 1H)。

【 0 1 2 3 】

2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - ヨードイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン 50 . 0 m g (0 . 1 2 9 m m o l 相当) をジオキサン 2 . 0 m L に溶解し、トリエチルアミン 0 . 5 m L を加えた後、ピストリブチルスズ 1 2 9 μ L (0 . 2 5 8 m m o l 相当) とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム 1 5 . 0 m g (触媒量) を加えた。反応混合物を 1 0 0 で 2 6 時間攪拌した後、溶媒を減圧下留去し、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離液 : ヘキサン / 酢酸エチル = 2 / 1) にて精製を行った。得られた粗結晶をヘキサン - 酢酸エチルを用いて再結晶を行い、2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン 2 5 . 1 m g (0 . 0 4 6 m m o l 相当) を得た。(図 5、step 4)

【 0 1 2 4 】

使用 NMR 装置 : J N M - E C P - 5 0 0 (日本電子株式会社製)

¹ H - NMR (溶媒 : 重クロロホルム、共鳴周波数 : 5 0 0 M H z) : 8.94 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.66 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 8.40 (dd, J = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.61 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 8.7 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 Hz, 9H)。

【 0 1 2 5 】

(実施例 1 1) [¹ ² ³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン (化合物 5) の合成

【 0 1 2 6 】

実施例 1 0 にて合成した 2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] - 6 - トリブチルスタニルイミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンのアセトニトリル溶液 (濃度 : 1 m g / m L) 90 μ L に、1 m o l / L 塩酸 1 70 μ L、4 2 6 M B q の [¹ ² ³ I] ヨウ化ナトリウム 60 μ L、30 % (W / V) 過酸化水素 10 μ L を添加した。当該混合液を 40 にて 10 分間静置した後、下記の条件の H P L C に付して [¹ ² ³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジン画分を分取した。

【 0 1 2 7 】

H P L C 条件 :

カラム : Y M C P a c k P r o C 8 (商品名、Y M C 社製、サイズ : 4 . 6 × 1 5 0 m m)

移動相 : 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有水 / 0 . 1 % トリフルオロ酢酸含有アセトニトリル = 80 / 20 10 / 90 (20 分)

流速 : 1 . 0 m L / 分

検出器 : 紫外可視吸光度計 (検出波長 : 2 6 0 n m) 及び放射線検出器 (r a y t e s t 社 S T E F F I 型)

【 0 1 2 8 】

当該画分に水 10 m L を添加した液を S e p - P a k (登録商標) C 1 8 カラム (商品名 : S e p - P a k (登録商標) L i g h t C 1 8 C a r t r i d g e s、W a t e r s 社製、充填剤の充填量 1 30 m g) に通液し、[¹ ² ³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2

10

20

30

40

50

- (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンを当該カラムに吸着捕集した。このカラムを水 1 mL で洗浄した後、ジエチルエーテル 1 mL を通液して [¹²³ I] - 6 - ヨード - 2 - [2 - (ピラゾール - 1 - イル) ピリジン - 5 - イル] イミダゾ [1 , 2 - a] ピリジンを溶出させた。得られた放射エネルギーは合成直後において 4.9 MBq であった。また、下記の条件による TLC 分析を行ったところ、その放射化学的純度は 97.8 % であった。

【 0129 】

TLC 分析条件：

TLC プレート：Silica Gel 60 F254 (製品名、メルク社製)

展開相：酢酸エチル / メタノール / ジエチルアミン = 100 / 4 / 1

検出器：Rita Star (製品名、raytest 社製)

【 0130 】

(実施例 12) アミロイド結合性の測定

【 0131 】

化合物 1、化合物 3、化合物 4、化合物 5 及び [¹²³ I] - IMPY のアミロイド凝集体に対する結合性を、以下の *in vitro* 結合試験により評価した。

【 0132 】

Analytical Biological Services 社 (米国) より市販されている AD 患者脳組織 (Frontal lobe) より調製した AD 患者脳灰白質ホモジネート及び AD 患者脳白質ホモジネートを用いて実施した。なお、本実験に使用した脳組織に関しては、灰白質にアミロイドの沈着が認められ、かつ白質にアミロイドが存在しないことを、共通ドナー由来の薄切切片を用いた抗アミロイド抗体 { Anti-Human Amyloid (N) (82E1) Mouse IgG MoAb (株式会社免疫生物研究所) } による免疫染色により確認している。

【 0133 】

(方法)

化合物 1、化合物 3、化合物 4、化合物 5 及び [¹²³ I] - IMPY を放射能濃度 50 MBq / mL になるよう 50 mmol / L の L - シス테인塩酸塩を含む生理食塩液を用いて調製した。調製した溶液を 0.1% ウシ血清アルブミン (以下、BSA とする) 含有 5 mmol / L リン酸緩衝生理食塩液を用いて反応溶液中における各被験物質の濃度が 0.05 ~ 5.5 pmol / L となるよう希釈し、試料溶液とした。96 穴マイクロプレートの各ウェルに、0.1% BSA 含有 5 mmol / L リン酸緩衝生理食塩液を 150 µL、調製した各試料溶液を 50 µL 添加したものを、各試料溶液ごとに 2 つずつ調製した。それぞれの試料溶液を添加した各 2 つのウェルのうち、一方に AD 患者脳灰白質ホモジネートを、他の一方に AD 患者脳白質ホモジネート (最終濃度 100 µg protein / mL) をそれぞれ 50 µL 添加し反応を開始した。反応溶液を 3 時間振とうした後 (22、400 rpm)、グラスファイバーフィルター (マルチスクリーン HTS FB、ミリポア社製) を用いて反応溶液をろ過した。ろ過後のフィルターを 0.1% BSA 含有 5 mmol / L リン酸緩衝生理食塩液で洗浄した後 (200 µL × 3 回)、フィルター残存放射能をオートウェル・ガンマシステム (形式：ARC-7001、アロカ社製) にて測定した。得られたカウントから添加放射エネルギーに対する AD 患者脳灰白質ホモジネート又は AD 患者脳白質ホモジネートへ結合した放射エネルギーの割合 (%) を算出した。なお、上記は 3 回繰り返し行った。

【 0134 】

(結果)

結果を図 6 及び表 3 に示す。AD 患者脳灰白質ホモジネートを加えた群では、AD 患者脳白質ホモジネートを添加した群と比較して結合の割合 (%) が総じて高い値を示した。したがって化合物 1、化合物 3、化合物 4 及び化合物 5 は、¹²³ I - IMPY と同様、脳内に沈着するアミロイドに対し結合性を有することが示唆された。

【 0135 】

【表 3】

表 3 AD 患者脳灰白質又は白質へ結合した放射エネルギーの割合 (%)

化合物	AD 患者脳組織に結合した放射エネルギーの割合 (%)	
	灰白質	白質
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

10

【0136】

(実施例 13) 脳内移行性及びクリアランスの測定

【0137】

化合物 1、化合物 2、化合物 3、化合物 4 及び化合物 5 を用い、雄性の Wistar 系ラット (8 週齢) における脳への放射能集積を測定した。

【0138】

(方法)

化合物 1、化合物 2、化合物 4 及び化合物 5 を 50 mmol/L の L-システイン塩酸塩を含む生理食塩液に溶解した液をそれぞれ調製し、試料溶液とした (放射能濃度はいずれも 37 MBq/mL)。化合物 3 を 10% エタノール及び 50 mmol/L の L-システイン塩酸塩を含む生理食塩液に溶解した液 (放射能濃度 37 MBq/mL) を調製し、試料溶液とした。これらの試料溶液を、無麻酔下で尾静脈より雄性の Wistar 系ラット (8 週齢) に投与した (投与量: 0.2 mL、投与した放射能: 7.4 MBq 相当)。投与後 2 分及び 60 分に無麻酔下で断頭し、血液及び脳を採取した。脳の質量を測定し、さらに脳の放射能をシングルチャンネルアナライザー (検出器型番: SP-20、応用光研工業株式会社製) を用いて計測した (以下、本実施例にて A とする)。また、血液を含む残り全身の放射エネルギーを同様に測定した (以下、本実施例にて B とする)。これらの測定結果を用い、下記数式 (2) より、各解剖時間点における、脳への単位質量当たりの放射能集積量 (%ID/g) を算出した。

20

30

【0139】

別に、[¹²³I]-IMPY を 50 mmol/L の L-システイン塩酸塩を含む生理食塩液に溶解した液 (放射能濃度 37 MBq/mL) を調製し、上記と同様の操作を行って、各解剖時間点における、脳への単位質量当たりの放射能集積量 (%ID/g) を算出した。

なお、本実施例においては、各時間点において、それぞれ 3 匹の動物を用いて実験を行った。

【0140】

【数 2】

40

$$\%ID/g = \frac{A}{B \times \text{脳の質量}} \times 100 \quad \dots (2)$$

【0141】

(結果)

結果を表 4 に示す。表 4 に示すように、化合物 1、化合物 2、化合物 3、化合物 4 及び化合物 5 は、投与後 2 分において、¹²³I-IMPY 同様、高い放射能集積が認められ、その後 60 分にかけて速やかに消失する傾向を示していた。この結果より、化合物 1、化合物 2、化合物 3、化合物 4 及び化合物 5 は、¹²³I-IMPY と同様、高い脳移行性及び速やかな脳からのクリアランスを有することが示唆された。

50

【 0 1 4 2 】

【表 4】

表 4 本発明化合物の静脈内投与後の脳への放射能集積（ラット）

化合物	単位質量当たりの放射能集積量（% ID/g）	
	2 分	6 0 分
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

10

【 0 1 4 3 】

(実施例 14) オートラジオグラフィーによるAD患者脳切片への化合物結合性確認

【 0 1 4 4 】

本発明に係る化合物がAD患者脳内のアミロイドを描出し得るかを評価するため、下記の実験を行った。

20

【 0 1 4 5 】

(方法)

(1) Analytical Biological Services社（米国）より市販されているAD患者脳組織を用いて、厚さ5 μmのAD患者脳切片を作製した。

(2) 各被験物質ごとに用意した脳切片を、順に15分間、5分間、5分間ずつ計3回PBSに浸漬し、次に1%BSA含有PBSに30分間浸漬することで親水化を行った。被験物質としては、化合物1、化合物2、化合物3、化合物4、化合物5及び[¹²³I]-IMPYを含む1%BSA含有PBS（放射能濃度10 kBq/mL）をそれぞれ調製して用いた。それぞれの被験物質に対し、上記親水化した脳切片をそれぞれ室温下で30分間浸漬した。その後、順に1%BSA含有PBSに5分間浸漬し、次いでPBSに5分間浸漬し、さらにPBSに5分間浸漬して脳切片の洗浄を行った。洗浄後の脳切片を十分に乾燥した後、イメージングプレート上で16時間露光させ、バイオイメージングアナライザー（形式：BAS-2500、富士写真フイルム株式会社製）を用いてオートラジオグラム画像解析を行った（図7、図8、図9、図10、図11、図12）。

30

(3) 別に、上記と同様の要領にて親水化処理を行った隣接切片を用いて抗アミロイド抗体によるアミロイド沈着部位の免疫染色を行った。抗アミロイド抗体にAnti-Human Amyloid (N) (82E1) Mouse IgG MoAb（株式会社免疫生物研究所）を用い、二次抗体にはAnti-Mouse IgG (H+L) Goat IgG Fab'-HRP（株式会社免疫生物研究所）を用いた。二次抗体に結合しているHRPに対してDAB+（3,3'-ジアミノベンジジンテトラヒドロクロライド）・基質キット（Dako）を適用することで、アミロイド沈着部位を検出した（図13）。

40

【 0 1 4 6 】

(結果)

化合物1、化合物2、化合物3、化合物4、化合物5及び[¹²³I]-IMPYを使用した溶液に浸漬させた切片におけるオートラジオグラムをそれぞれ図7、図8、図9、図10、図11及び図12に示す。本実験に使用したAD患者脳凍結切片の灰白質部分には、免疫染色によってアミロイドの沈着が確認でき（図13）、いずれのオートラジオグラム上でも、免疫染色によって確認したアミロイド沈着部位への化合物の結合が確認できた。以上の結果より、本発明に係る化合物1、化合物2、化合物3、化合物4及び化合物5は、[¹²³I]-IMPYと同様に脳内におけるアミロイド沈着部位を画像化し得ることが示された。

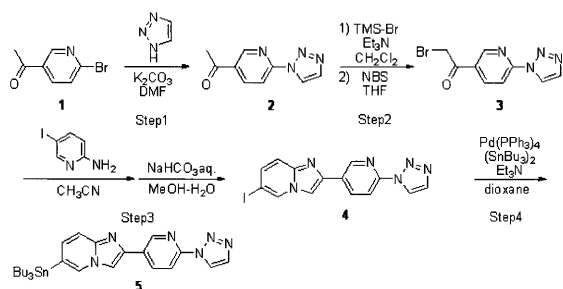
50

【産業上の利用可能性】

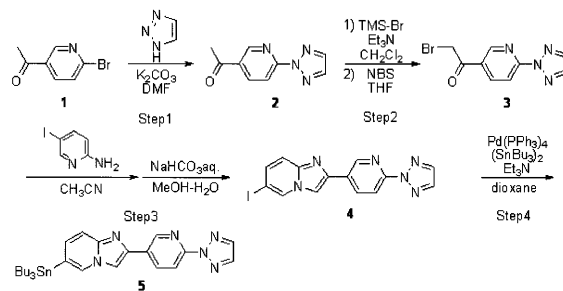
【0147】

本発明に係る化合物は、診断薬分野において利用することができる。

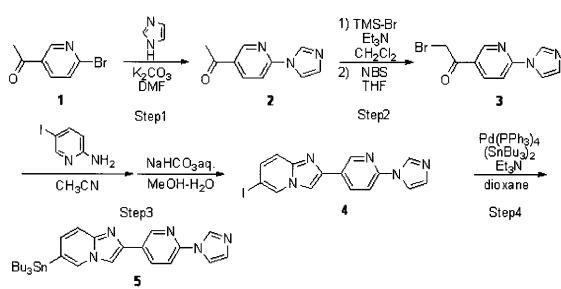
【図1】



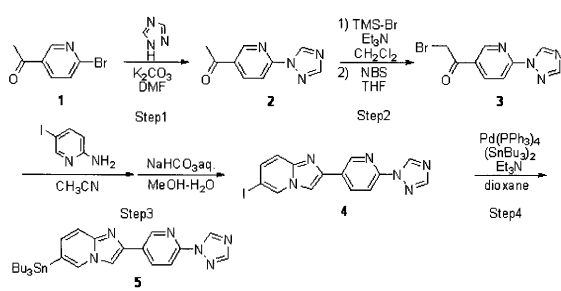
【図2】



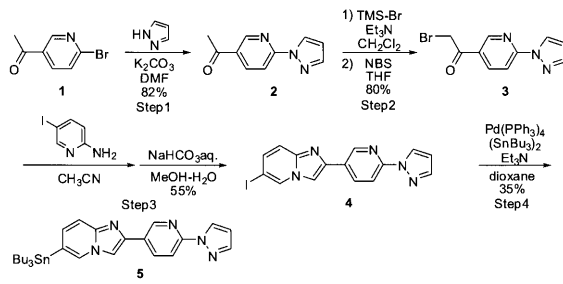
【図3】



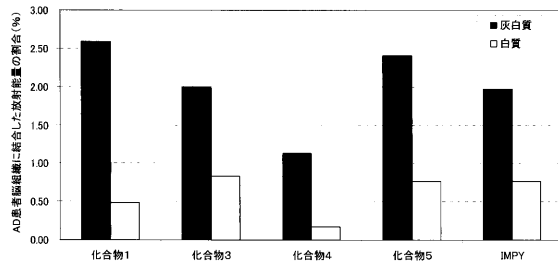
【図4】



【図5】



【図6】



【図7】



【図11】



【図12】



【図13】



【図8】



【図9】



【図10】



フロントページの続き

(72)発明者 大西 崇子

日本国千葉県袖ヶ浦市北袖3 - 1 日本メジフィジックス株式会社内

審査官 大野 晃

(56)参考文献 国際公開第2011/045415(WO, A2)

国際公開第2010/092111(WO, A2)

国際公開第2009/057578(WO, A1)

国際公開第2008/091195(WO, A1)

国際公開第2008/065785(WO, A1)

国際公開第2007/148755(WO, A1)

国際公開第2007/033080(WO, A2)

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

C07D 471/04

A61K 51/00

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)