

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2009年5月7日 (07.05.2009)

PCT

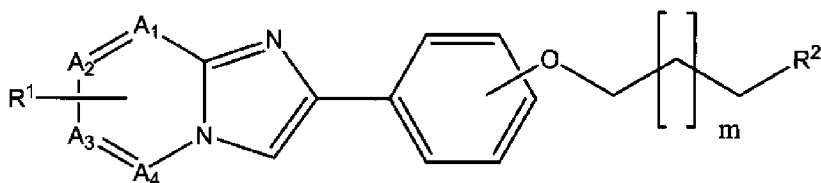
(10) 国際公開番号
WO 2009/057576 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 51/00 (2006.01) C07D 471/04 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2008/069502
- (22) 国際出願日: 2008年10月28日 (28.10.2008)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2007-282362
2007年10月30日 (30.10.2007) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本メジフィジックス株式会社 (NIHON MEDI-PHYSICS CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1360075 東京都江東区新砂3丁目4番10号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 谷藤 樹之 (TANI-FUJI, Shigeyuki) [JP/JP]; 〒2990266 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 Chiba (JP). 中村 大作 (NAKAMURA, Daisaku) [JP/JP]; 〒2990266
- (74) 代理人: 井出正威, 外 (IDE, Masatake et al.); 〒1020076 東京都千代田区五番町3-1 五番町グラウンドビル9階井出国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,

[続葉有]

(54) Title: USE OF NOVEL COMPOUND HAVING AFFINITY FOR AMYLOID, AND PROCESS FOR PRODUCTION OF THE SAME

(54) 発明の名称: 新規アミロイド親和性化合物の使用及び製造方法



(57) Abstract: The object is to provide a reagent for detecting amyloid in a biological tissue, which comprises a compound having affinity for amyloid and reduced in its toxicity such as mutagenicity, and which can detect amyloid *in vitro* and *in vivo* with high sensitivity. Thus, disclosed is a reagent for detecting amyloid deposited in a biological tissue, which comprises a compound represented by the formula (1) or a salt thereof. [Chemical formula] (1) wherein A¹, A², A³ and A⁴ independently represent a carbon or a nitrogen; R¹ represents a halogen substituent; R² represents a halogen substituent; and m represents an integer of 0 to 2, provided that at least one of R¹ and R² is a radioactive halogen substituent, and that at least one of A¹, A², A³ and A⁴ is a carbon and then R¹ binds to the at least one of A¹, A², A³ and A⁴ which is a carbon.

(57) 要約: アミロイドへの親和性を有し、かつ、変異原性等の毒性がおさえられた化合物を用いて、インビトロ (*in vitro*) 及びインビボ (*in vivo*) でアミロイドを高感度に検出し得る、生体組織中のアミロイドの検出試薬を提供する。下記式(1)で表される化合物またはその塩を含有してなる、生体組織に沈着したアミロイドの検出試薬。(式中、A¹、A²、A³及びA⁴はそれぞれ独立に炭素又は窒素、R¹はハロゲン置換基、R²はハロゲン置換基、mは0~2の整数である。ただし、R¹及びR²の少なくともいずれか一方は放射性ハロゲン置換基であり、かつ、A¹、A²、A³及びA⁴のうちの少なくとも一つは炭素であって、R¹は、炭素であるA¹、A²、A³及びA⁴に結合する。)

WO 2009/057576 A1



KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

明 細 書

新規アミロイド親和性化合物の使用及び製造方法

技術分野

- [0001] 本発明は、新規アミロイド親和性化合物の使用及び製造方法、特に、全身性アミロイドーシス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、生体組織中のアミロイド検査試薬に関する。

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 β 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。アミロイドとは、アミロイド β や変異トランスサイレチン、 β 2ミクログロブリンなど種々のアミロイド前駆体蛋白が生体内において凝集することにより形成される蛋白質凝集体の総称をいう。アミロイドは、いずれのアミロイド前駆体蛋白から形成されても、 β シートに富んだ特徴的な構造を有している。そのため、 β シートとの結合性を有するコンゴレッドやチオフラビンTなどの化合物はアミロイドとの親和性を有するという特徴がある。
- [0003] アミロイドーシスは、アミロイドの沈着様式により、全身性アミロイドーシスと限局性アミロイドーシスに分類される。

全身性アミロイドーシスは全身の様々な部分にアミロイド沈着が起こる疾患である。全身性アミロイドーシスとしては、例えば、肝臓でアミロイドを作り出し、それが全身の器官に沈着して障害を起こす家族性アミロイドーシス、心臓及び手関節等の大関節にアミロイドが沈着する老人性TTRアミロイドーシス、長期透析患者の骨、関節等に発症する透析アミロイドーシス、慢性関節リウマチ等の慢性の炎症性疾患に続発する急性期蛋白であるserum amyloid A由来のアミロイドが沈着して発症する反応性AAアミロイドーシス(続発性アミロイドーシス)、免疫グロブリン由来のアミロイドが全身諸臓器に沈着する免疫細胞性アミロイドーシスなどがある。

限局性アミロイドーシスは、一部の臓器のみにアミロイド沈着が起こる疾患である。限局性アミロイドーシスとしては、例えば、アミロイドが脳に蓄積するアルツハイマー病、脳血管アミロイドーシス、クロイツフェルト・ヤコブ病などの脳アミロイドーシスの他、II型糖尿病に伴う膵島やインスリノーマにアミロイドが沈着したり、心房にアミロイドが沈着する内分泌アミロイドーシス、皮膚にアミロイドが沈着する皮膚アミロイドーシス、皮膚や肺に結節状のアミロイド沈着が生じる限局性結節性アミロイドーシスなどが挙げられる。

[0004] アミロイドーシスの診断は、全身性アミロイドーシスの場合、まず、皮膚、腎臓、胃腸等の生検可能な部位から組織を採取し、コンゴレッド染色又はチオフラビンT染色することにより行われている。コンゴレッドは、アミロイドの β シート構造部分に親和性が高い蛍光性の化合物であり、その配向性により偏光顕微鏡下で複屈折を示すため、組織内のアミロイド沈着を選択的に染色することができる。同様に、チオフラビンTも、アミロイドに親和性を有する蛍光性の化合物であり、コンゴレッドと同様に使用されている。そして、この組織染色により陽性の所見が得られた後、抗体を用いた免疫染色等を組合せ、確定診断が行われる。しかしながら、コンゴレッドやチオフラビンTによる染色では、偏光顕微鏡下で観察しても陽性の判定が難しい場合がある。

[0005] 一方、近年、PET、SPECT、MRI等の画像診断装置が著しく普及したことに伴い、全身性アミロイドーシスを画像診断することも検討されている。

しかし、コンゴレッドやチオフラビンTは、標識して画像診断プローブとして使用した場合、アミロイドに対する結合特異性が劣り、良好な検出感度が得られないという欠点があった。

さらに、コンゴレッドは発癌性を有することから、人体の診断用途には使用することができない。

そこで、全身性アミロイドに親和性及び検出感度が高く、インビボ(in vivo)の検出にも使用できるアミロイド検出用蛍光試薬として、コンゴレッド誘導体である bis-(3-hydroxycarbonyl-4-hydroxy) styrylbenzene (BSB)やその誘導体が提案されている(非特許文献14、特許文献7)。BSBは、脳アミロイドーシス及び全身アミロイドーシスによるアミロイドに対する親和性が高く、その構造にベンジジン構造を持たないため、

発癌性の問題性が少なく、放射性標識して画像診断プローブとして使用することもできることが報告されている。

[0006] 一方、脳アミロイドシスの代表例であるアルツハイマー病(以下、ADという)については、生検を採取することが不可能であることから、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)で検出する試みが既になされている。

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¹¹C、¹⁸F及び¹²³I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)を初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)、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)。

また、国際公開第2007/002540号パンフレットには、アミロイド親和性基に、エチ

レングリコール又はポリエチレングリコールを介して、放射性同位体を標識部位に結合させた一連の化合物が、開示されている(特許文献5)。

さらに、国際公開第2007/063946号パンフレットには、脳内での代謝を抑える目的で、5員の芳香族複素環式基を結合させた一連の化合物が、開示されている(特許文献6)。

[0007] 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

特許文献4:特表2002-523383号公報

特許文献5:国際公開第2007/002540号パンフレット

特許文献6:国際公開第2007/063946号パンフレット

特許文献7:国際公開第2005/016888号パンフレット

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

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

非特許文献7:Furumoto Y et al., “[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

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

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 β -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

非特許文献14:D. M. Skovronsky et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 97, 7609

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0008] 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。

TZDM、IBOX及びm-I-SBのヨードを $[^{125}\text{I}]$ で標識した化合物は、正常マウスを用いた実験の結果、投与後2分点において、いずれも脳内への移行が認められている。しかしこれらの化合物は、正常組織からのクリアランスが十分ではなく、投与後の

時間経過に伴い、徐々に脳内に集積する傾向を示している(特表2005-512945号公報、Zhi-Ping Zhuang et al., Nuclear Medicine and Biology, 2001, 28, p.887-894、H. F. Kung et al., J. Am. Chem. Soc., 2001, 123, p.12740-12741)。正常組織からのクリアランスが十分でないと、アミロイド集積部位において十分なコントラストが得られないといった問題がある。SB-13を ^{11}C で標識した化合物については、ラットを用いた実験により正常組織からのクリアランスを有することが示されているが、そのクリアランス速度は十分に速いとはいえない(Masahiro Ono et al., Nuclear Medicine and Biology, 2003, 30, p.565-571)。

[0009] 一方、IMPYを初めとするイミダゾピリジン骨格を有する化合物は、投与後脳内へ移行してアミロイドに集積するといった性質を有すると共に、上述した化合物とは異なり正常組織からのクリアランスが早いといった優れた性質を有することが、 ^{125}I 標識化合物を用いた実験の結果明らかとされている。しかし、IMPYは、復帰突然変異試験にて陽性を示す化合物であり、この化合物を画像診断プローブとして用いるには、その投与量や投与形態につき十分な注意が必要となる。(国際公開第03/106439号パンフレット)

FDDNPについても、復帰突然変異試験にて陽性を示すことが、報告されている。(国際公開第03/106439号パンフレット)

[0010] アミロイドを標的とした画像診断プローブとしては、アミロイドへの親和性を有し、正常組織からのクリアランスが十分に早いといったIMPYの優れた性能を維持しつつ、変異原性等の毒性がおさえられた化合物を用いることが好ましいが、現在のところそのような性能を備えた化合物は開示されていない。

また、IMPYにおいて、アミロイドが沈着していない白質等への非特異的な集積が見られることが、我々の検討の結果、確認されている。AD診断剤として用いるためには、アミロイド沈着部位以外における非特異的な集積が抑えられた化合物を用いる必要があるが、そのような化合物はこれまで開示されていない。

[0011] 本発明は、アミロイドを標的としたプローブとして種々の化合物が開示されているものの、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という上記事情に鑑みてなされたものであり、アミロイド親和性を有する新規化合物

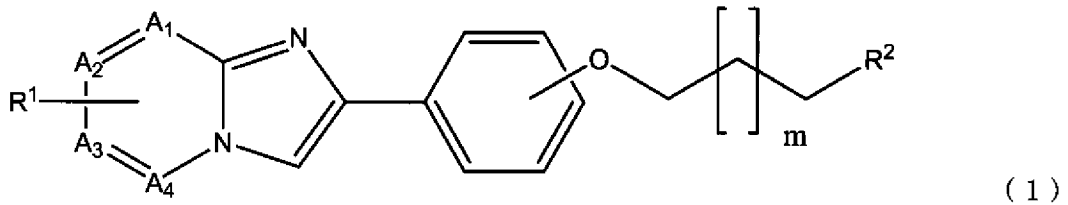
を提供することによって、インビトロ (in vitro) 及びインビボ (in vivo) でアミロイドを高感度に検出できるようにすることを目的とした。

課題を解決するための手段

[0012] 発明者はイミダゾピリジン-フェニル骨格又はそれに類似した骨格を有する化合物であって、そのフェニル基の炭素に酸素を結合させた特定の新規化合物がアミロイドに対する親和性を備え、かつ、変異原性等の毒性が低いこと、及び、該化合物群をプローブとして使用することにより、インビトロ (in vitro) 及びインビボ (in vivo) でアミロイドを高感度に検出し得ることを見出し、本発明を完成した。

[0013] すなわち、本発明は、一側面によれば、下記式(1)：

[0014] [化5]



[0015] で表される化合物又はその塩を含有してなる、生体組織に沈着したアミロイドの検出試薬を提供する。

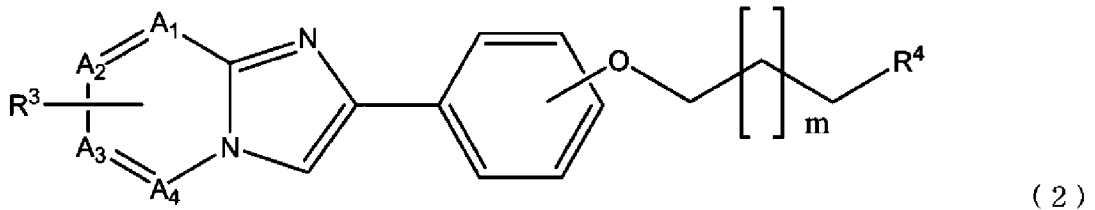
[0016] 生体組織としては、アミロイドーシスにおいてアミロイドが沈着することが知られている種々の組織とすることができる。このような生体組織の代表例としては、脳、心臓、肺、膵臓、骨、関節等が挙げられ、最も代表的な生体組織としては、脳が挙げられる。脳を対象とした場合における、代表的なアミロイドーシスは、アルツハイマー病及びレビー小体型痴呆である。

[0017] 式(1)中、 R^1 及び R^2 はハロゲン置換基であり、 R^1 及び R^2 の少なくともいずれか一方は放射性ハロゲン置換基である。ハロゲンとしては種々の核種を用いることができ、フッ素、臭素又はヨウ素を好ましく用いることができる。放射性ハロゲンとしては、種々の元素を用いることができ、 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 又は ^{131}I より選択されるハロゲンを好ましく、 ^{18}F 、 ^{123}I 又は ^{125}I より選択されるハロゲンを好ましい。

[0018] A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 はそれぞれ独立に炭素又は窒素であるが、少なくとも一つは炭素である必要がある。 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうちの3以上を炭素とすることが好ましく、全てを炭素とすることがより好ましい。なお、式(1)において、 R^1 は、炭素である A_1 、 A_2 、 A_3 又は A_4 に結合する。
また、 m は0～2の整数である。また、 R^1 の結合部位は、炭素である A_3 、すなわち、6位の炭素であることが好ましい。

[0019] 上記式(1)の化合物は新規化合物であり、本発明は、別の一側面によると、下記式(2)：

[0020] [化6]

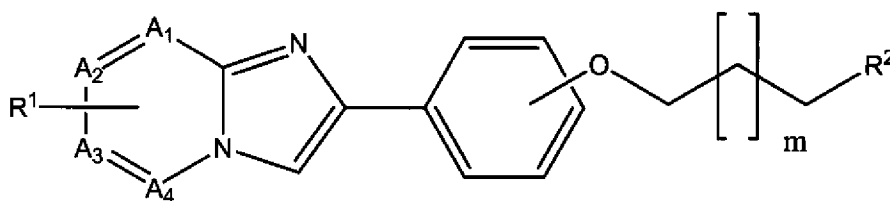


[0021] (式中、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 はそれぞれ独立に炭素又は窒素、 R^3 は非放射性ハロゲン置換基、ニトロ置換基、アルキル鎖の炭素数が1～4であるトリアルキルアンモニウム置換基、アルキル鎖の炭素数が1～4であるトリアルキルスタニル置換基、及びトリフェニルスタニル基からなる群より選ばれる基、 R^4 は非放射性ハロゲン置換基、メタンスルホン酸置換基、トリフルオロメタンスルホン酸置換基及び芳香族スルホン酸置換基からなる群より選ばれる基、 m は0～2の整数である。

ただし、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうちの少なくとも一つは炭素であって、 R^3 は、炭素である A_1 、 A_2 、 A_3 又は A_4 に結合する。)で表される化合物又はその塩と、放射性ハロゲンイオンとを含む反応溶液を調製する工程と、

前記反応溶液に反応条件を与えることによって、下記式(1)：

[0022] [化7]



(1)

[0023] (式中、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 はそれぞれ独立に炭素又は窒素、

R^1 はハロゲン置換基、

R^2 はハロゲン置換基、

m は0～2の整数である。

ただし、 R^1 及び R^2 の少なくともいずれか一方は放射性ハロゲン置換基であり、かつ、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうちの少なくとも一つは炭素であつて、 R^1 は、炭素である A_1 、 A_2 、 A_3 又は A_4 に結合する。) で表される化合物又はその塩を合成する工程と、を含むことを特徴とする、放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法を提供する。

[0024] 式(2)中、 R^3 は非放射性ハロゲン置換基、ニトロ置換基、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置換基、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置換基からなる群より選ばれる基である。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。

[0025] R^4 は非放射性ハロゲン置換基、メタンスルホン酸置換基、トリフルオロメタンスルホン酸置換基及び芳香族スルホン酸置換基からなる群より選ばれる基である。芳香族スルホン酸置換基としては、トルエンスルホン酸、ニトロベンゼンスルホン酸及びベンゼンスルホン酸を好ましく用いることができる。

[0026] R^3 及び R^4 の非放射性ハロゲン置換基としては、種々のハロゲンを用いることができるが、好ましく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、より好ましくは塩素、ヨウ素又は臭素を用いることができる。 R^3 及び R^4 のうち少なくとも一方が非放射性ハロゲン置換基であることが好ましい。

[0027] A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 はそれぞれ独立に炭素又は窒素であるが、少なくとも一つは炭素である必要がある。 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうちの3以上を炭素とすることが好ましく、全

てを炭素とすることがより好ましい。なお、式(2)において、 R^3 は、炭素である A_1 、 A_2 、 A_3 又は A_4 に結合する。

また、 m は0～2の整数である。

[0028] さらに、本発明によると、イミダゾピリジンフェニル骨格フェニル基の炭素に、酸素を介して、末端が置換されたアルキル基を結合させた化合物が提供されるが、この酸素の結合部位はフェニル基の4'位炭素であることが好ましい。また、 R^3 の結合部位は、炭素である A_3 、すなわち、6位の炭素であることが好ましい。

[0029] 上記式(2)で示される前駆体化合物又はその塩と放射性ハロゲンイオンとを含む反応溶液を調製する工程は、例えば、該前駆体化合物又はその塩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放射性ハロゲンイオン含有溶液を加えることにより行うことができる。

不活性有機溶媒は、該前駆体化合物又はその塩及び放射性ハロゲンイオン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、例えば、用いる放射性ハロゲンが放射性ヨウ素の場合は、メタノールを好ましく用いることができ、用いる放射性ハロゲンが放射性フッ素の場合はアセトニトリルを好ましく用いることができる。

上記式(1)で表される化合物又はその塩を合成する工程において反応溶液に与える反応条件は、式(2)の化合物の R^3 又は R^4 を、反応溶液に添加された放射性ハロゲンイオンで置換する反応を進行させる条件であれば特に限定はされず、放射性ハロゲンイオンの種類に応じた公知の反応条件を使用することができる。

[0030] 本発明の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法において、放射性ハロゲンイオンとしては、例えば、 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 又は ^{131}I を用いることができる。 R^1 で示されるハロゲン置換基が ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 又は ^{131}I である式(1)の化合物を製造する場合、放射性ハロゲンイオンとして ^{123}I イオン、 ^{124}I イオン、 ^{125}I イオン又は ^{131}I イオンがそれぞれ使用され、式(2)の化合物としては、 R^3 が非放射性ヨウ素、アルキル基の炭素数が1～4であるトリアルキルスタニル置換基又はトリフェニルスタニル置換基である化合物を使用することが好ましい(この場合、 R^2 及び R^4 は非放射性ハロゲン置換基である)。

R^1 で示されるハロゲン置換基が ^{18}F である式(1)の化合物を製造する場合、放射性ハ

ロゲンイオンとして ^{18}F イオンが使用され、式(2)の化合物としては、 R^3 がニトロ置換基又はアルキル基の炭素数が1~4であるトリアルキルアンモニウム置換基である化合物を使用することが好ましい(この場合、 R^2 及び R^4 は非放射性ハロゲン置換基である)。

R^1 で示されるハロゲン置換基が ^{75}Br 又は ^{76}Br である式(1)の化合物を製造する場合、放射性ハロゲンイオンとして ^{75}Br イオン又は ^{76}Br イオンがそれぞれ使用され、式(2)の化合物としては、 R^3 が非放射性シユウ素である化合物を使用することが好ましい(この場合、 R^2 及び R^4 は非放射性ハロゲン置換基である)。

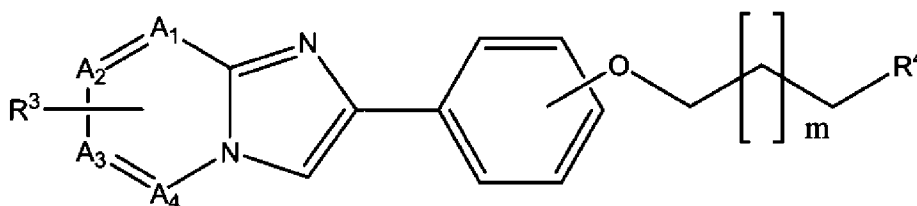
R^2 で示されるハロゲン置換基が ^{18}F である式(1)の化合物を製造する場合、放射性ハロゲンイオンとして ^{18}F イオンが使用され、式(2)の化合物としては、 R^4 がメタンスルホン酸置換基、トリフルオロメタンスルホン酸置換基又は芳香族スルホン酸置換基である化合物を使用することが好ましい(この場合、 R^1 及び R^3 は非放射性ハロゲン置換基である)。

R^2 で示されるハロゲン置換基が ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 又は ^{131}I である式(1)の化合物を製造する場合、放射性ハロゲンイオンとして ^{123}I イオン、 ^{124}I イオン、 ^{125}I イオン又は ^{131}I イオンがそれぞれ使用され、式(2)の化合物としては、 R^4 が非放射性ヨウ素である化合物を使用することが好ましい(この場合、 R^1 及び R^3 は非放射性ハロゲン置換基である)。

R^2 で示されるハロゲン置換基が ^{75}Br 又は ^{76}Br である式(1)の化合物を製造する場合、放射性ハロゲンイオンとして ^{75}Br イオン又は ^{76}Br イオンがそれぞれ使用され、式(2)の化合物としては、 R^4 が非放射性シユウ素である化合物を使用することが好ましい(この場合、 R^1 及び R^3 は非放射性ハロゲン置換基である)。

[0031] また、本発明は、更に別の一側面によると、下記式(2)：

[0032] [化8]



(2)

[0033] (式中、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 はそれぞれ独立に炭素又は窒素、

R^3 は非放射性ハロゲン置換基、ニトロ置換基、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置換基、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、

R^4 は非放射性ハロゲン置換基、メタンスルホン酸置換基、トリフルオロメタンスルホン酸置換基及び芳香族スルホン酸置換基からなる群より選ばれる基、

m は0~2の整数である。

ただし、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうちの少なくとも一つは炭素であつて、 R^3 は、炭素である A_1 、 A_2 、 A_3 又は A_4 に結合する。)で表される放射性ハロゲン標識有機化合物合成用の前駆体化合物又はその塩を提供する。

[0034] 式(2)において、 A^1 、 A^2 、 A^3 及び A^4 、並びに、 R^3 及び R^4 の好ましい態様は、上記製造方法に関して記載したものと同一である。

発明の効果

[0035] 本発明により、アミロイドへの親和性を有し、かつ、変異原性等の毒性がおさえられているため広範囲のアミロイドーシスに関連するアミロイドのインビトロ(in vitro)及びインビボ(in vivo)での検出に使用可能なアミロイド検出試薬並びにその製造方法及び製造用中間体を得ることが可能となる。

発明を実施するための最良の形態

[0036] (放射性ハロゲン標識有機化合物調製用の前駆体化合物の合成方法)

以下、6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを例にとり、本発明の一つの側面に係る、放射性ハロゲン標識有機化合物調製用の前駆体化合物の合成方法を説明する。

[0037] まず、4'-ヒドロキシアセトフェノンと臭化第二銅とを反応させ、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェンを合成する(図1-1、工程1)。このときの反応は定法、例えば文献(King L. Carroll & Ostrum G. Kenneth, Journal of Organic Chemistry, 1964, 29(12), p.3459-3461)記載の方法に従って行うことができる。

[0038] 次に、上記で合成した2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェンを2-アミノ-5-ブロモピリジンと反応させ、6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシ)フェニルイミダゾ[1, 2-a]ピリジンを合成する(図1-1、工程2)。この工程は、下記の要領にて行うことができ

る。

- [0039] まず、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノンと2-アミノ-5-ブロモピリジンとをアセトニトリル等の不活性溶媒に溶解し、還流温度にて2~6時間反応させると、6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの臭化水素酸塩が生成し、白色沈殿を生じる。このときの溶媒としては、アセトニトリルの他、メタノールやアセトンといった、同様の反応にて通常用いられる溶媒を用いることができる。また、反応温度は還流することができる温度であればよく、例えばアセトニトリルを溶媒とした場合は90℃とすることができる。なお、用いる溶媒の量は、反応に十分な量であればよいが、多過ぎると反応物の沈殿を得ることができないため、注意が必要である。例えば、10mmol相当の2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノンを用いて反応させる場合は、約40~50mLの溶媒を用いればよい。
- [0040] 次に、反応液をろ過して沈殿物をろ別後、この白色沈殿をメタノール/水混液(1:1)に懸濁し、これに飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を沈殿物に対して大過剰となるように加えると、6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジンが遊離して沈殿が生ずる。この新たに生じた沈殿をろ取することによって、本工程の目的物である6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを得ることができる(図1-1、工程2)。メタノール/水混液の量は、反応させるために十分な量であれば特に限定する必要はないが、多すぎると生成物の析出の妨げとなるため注意が必要である。例えば、10mmol相当の2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノンを用いた場合であれば、40~100mL程度のメタノール/水混液を用いればよい。また、炭酸水素ナトリウムの量は、反応基質である前記沈殿物に対して大過剰であれば特に限定する必要はなく、例えば、前記条件にて反応させる場合であれば、25mL程度の飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を反応液に添加すればよい。
- [0041] 次いで、合成した6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを十分に乾燥させた後、N, N-ジメチルホルムアミドに溶解し、炭酸カリウム及び3-ブロモ-1-フルオロプロパンを添加して室温下一晩程度攪拌することにより、6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを得る(図1-1、工程3)。炭酸カリウムの量は、反応中に3-ブロモ-1-フルオロプロ

パンから発生する臭化水素酸を中和できる量であれば良く、典型的には副原料である3-ブロモ-1-フルオロプロパンに対してモル比にして2倍程度用いればよい。また、3-ブロモ-1-フルオロプロパンの量は、反応基質に対して過剰量であれば良く、典型的には反応基質である6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジンに対してモル比にして1.5倍程度用いればよい。

- [0042] 得られた6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンをジオキササンに溶解し、トリエチルアミンを加えた後、ビストリブチルスズ及び触媒量のテトラキストリフェニルホスフィンパラジウムを添加する。この反応液を約90°Cに加熱して約24時間反応させた後、溶媒を留去し、クロマトグラム精製を行って、目的物である6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを得ることができる(図1-1、工程4)。このとき、ビストリブチルスズの量は、反応基質に対して過剰量となる条件を満たす量であればよく、具体的には反応基質である6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンに対してモル比にして1.5倍程度であれば良い。
- [0043] なお、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、工程4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、工程4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。
- [0044] イミダゾピリジン環における官能基の結合部位を、6位の炭素以外の炭素とした化合物は、工程2で用いた2-アミノ-5-ブロモピリジンの代わりに、ピリジン環における臭素の結合部位が種々異なる化合物を用いることによって得ることができる。例えば、官能基の結合部位をイミダゾピリジン環の8位の炭素とする場合は、工程2において、2-アミノ-5-ブロモピリジンの代わりに、2-アミノ-3-ブロモピリジンを用いればよい。
- [0045] また、放射性ハロゲンによる標識部位をイミダゾピリジン環の2位の炭素に結合したアルコキシフェニル置換基とする前駆体化合物は、工程3において3-ブロモ-1-フルオロプロパンの代わりに3-ブロモ-1-プロパノールを用い、生成した化合物に、

パラトルエンスルホニルクロリド等を反応させることによって得ることができる。例えば、6-ブロモ-2-[4'-(3"-パラトルエンスルホニルオキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの場合は、下記の要領にて合成することができる。

[0046] まず、上記合成した6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジンをN, N-ジメチルホルムアミドに溶解し、炭酸カリウム及び3-ブロモ-1-プロパノールを添加して室温下一晩程度攪拌することにより、6-ブロモ-2-[4'-(3"-ヒドロキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを得る。これをピリジンに溶解し、氷浴下パラトルエンスルホニルクロリドを加えた後、室温で反応させ、目的物である6-ブロモ-2-[4'-(3"-パラトルエンスルホニルオキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを得ることができる。このとき、パラトルエンスルホニルクロリドの量は、反応基質に対して過剰量であればよく、具体的には反応基質である6-ブロモ-2-[4'-(3"-ヒドロキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンに対してモル比にして2倍程度であれば良い。

[0047] なお、イミダゾピリジン環の2位フェニル基に結合するアルコキシ置換基が、4'位以外に結合する化合物、例えば3'位にフルオロプロポキシ基が結合した、6-トリブチルスタニル-2-[3'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを合成するには、工程1において、4'-ヒドロシアセトフェノンの代わりに3'-ヒドロシアセトフェノンを原料に用いて、上記と同様な反応を行えばよい。

[0048] (放射性ハロゲン標識有機化合物の合成方法)

次に、2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²³I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンを例にとり、本発明の別の一側面に係る、放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法について説明する。

[0049] 2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²³I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの製造においては、まず、標識に供する[¹²³I]ヨウ化ナトリウム溶液を得る。[¹²³I]放射性ヨウ素は、例えば、キセノンガスをターゲットとしてプロトン照射を行うといった、公知の方法にて得ることができる。この[¹²³I]放射性ヨウ素を公知の方法を用いて[¹²³I]ヨウ化ナトリウム溶液とし、標識に用いる。

[0050] 次に、標識前駆体である6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ

シ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンを不活性有機溶媒に溶解し、前記 ^{123}I ヨードバルクを水で溶解した液、酸及び酸化剤を加えて反応させ、目的物である2-[4'-(3''-フルオロプロポキシ)フェニル]-6- ^{123}I ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンを得る。前駆体を溶解させる不活性有機溶媒としては標識前駆体及び ^{123}I ヨードバルク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、好ましくはメタノールを用いることができる。

[0051] 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。

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。

[0052] 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、2-[4'-(3''- ^{18}F フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ブロモイミダゾ[1, 2-a]ピリジンを合成する場合は、標識前駆体である6-ブロモ-2-[4'-(3''-パラトルエンスルホニルオキシプロポキシ)フェニル]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 ^{18}F フッ化物イオンと反応させれば良い。

[0053] (本発明に係る検出試薬の使用方法及び調製方法)

アミロイドは前駆蛋白の種類により多くの異なる構造を有するが、 β シート構造を有する点で共通している。チオフラビンTやコンゴレッドを初めとする、アミロイドを対象とした多くの染色試薬は、この β シート構造を認識ターゲットとしており、アミロイドの種類によらず、同様の染色能を有していることが知られている。

本発明に係る式(1)の化合物は、アミロイド β 蛋白質(以下、 $A\beta$ という)を前駆体とするアミロイドに親和性を有し、しかも、広範囲のアミロイドに結合することが知られているチオフラビンTのアミロイドに対する結合阻害作用を有する。

したがって、本発明に係る式(1)の化合物は、チオフラビンTと同様に、アミロイド蛋白質の β シート構造に親和性を有していると考えられる。このことは、本発明に係る式(1)の化合物が、多種のアミロイドに対して、同様の親和性を有していることを示唆している。

すなわち、本発明のアミロイド検出試薬は、チオフラビンTやコンゴレッドと同様に、全身性アミロイドーシス及び限局性アミロイドーシスの診断に使用することができる。ここにおいて、全身性アミロイドーシスとしては、免疫グロブリン性アミロイドーシス、反応性AAアミロイドーシス、家族性アミロイドーシス、透析アミロイドーシス、老人性アミロイドーシスなどが挙げられる。限局性アミロイドーシスとしては、脳アミロイドーシス、内分泌アミロイドーシス、皮膚アミロイドーシス、限局性結節性アミロイドーシスなどが挙げられる。

- [0054] 本発明のアミロイド検出試薬は、生検を対象としたインビトロ(in vitro)で使用する試薬として使用できるだけでなく、かつ、変異原性等の毒性がおさえられた化合物を用いているので、放射性診断剤としてインビボ(in vivo)で使用する試薬として使用することができる。
- [0055] 本発明に係るアミロイド検出試薬は、他の一般に知られている放射性診断剤と同様、上記式(1)で示され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、ヨウ素-123 (^{123}I) 標識化合物及びフッ素-18 (^{18}F) 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。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、例えばヨウ素-123 (^{123}I) 標識化合物の場合はSPECT装置、フッ素-18 (^{18}F) 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。
- [0056] 本発明のアミロイド検出試薬を生体に投与することにより、脳、心臓、肺、消化管、血管、肝臓、膵臓、腎臓、関節、骨等の生体組織に沈着したアミロイドを画像化することができ、生検の採取が困難な生体組織、例えば、脳、心臓、肺、膵臓、骨及び関節におけるアミロイド沈着を画像化するために有用である。

実施例

- [0057] 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。

(実施例I)

下記実施例において、実験に供する各化合物の名称を、表1-1の様に定義した。

[0058] [表1-1]

表 1 - 1

化合物名	慣用名
化合物 I-1	6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン
化合物 I-2	2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン
化合物 I-3	6-ブロモ-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン
化合物 I-4	2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン
化合物 I-5	2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリミジン
化合物 I-6	2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²⁵ I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン
化合物 I-7	2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²³ I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン
化合物 I-8	6-ブロモ-2-[4'-(3"-[¹⁸ F]フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン
化合物 I-9	2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-[¹²³ I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン

[0059] (実施例I-1)6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成

[0060] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)の酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液を加え、加熱還流した。5時間後、反応液を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-1、工程1)。

[0061] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン2.15g(10.0mmol相当)と2-アミノ-5-ブロモピリジン1.74g(10.0mmol相当)をアセトニトリル50mLに溶解し、105°C

の油浴にて6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20 mL-メタノール20 mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約25 mL加え、超音波洗浄器で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-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジン2.41 g (8.32 mmol相当)を得た(図1-1、工程2)。

[0062] 十分に乾燥させ水分を取り除いた6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジン290 mg (1.0 mmol相当)をN, N-ジメチルホルムアミド10 mLに溶解し、これに炭酸カリウム413 mg (3.0 mmol相当)を加えた。これに1-ブロモ-3-フルオロプロパン138 μ L (1.5 mmol相当)を加え、室温下20.5時間攪拌した。反応終了後、反応液を水に注ぎクロロホルムで3回抽出した。合わせたクロロホルム層は飽和食塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。得られた粗生成物をリサイクル分取HPLC (HPLC装置: LC-908 (製品名、日本分析工業社製)、カラム: JAIGEL 2H (製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相: クロロホルム)を用いて精製し、6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン302 mg (0.866 mmol相当)を得た(図1-1、工程3)。

[0063] 6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン85 mg (0.24 mmol相当)をジオキサン10 mLに溶解し、トリエチルアミン2 mLを加えた後、これにビストリブチルスズ185 μ L (0.36 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20 mg (触媒量)を添加した。反応混合物を90°Cで24時間攪拌した後、溶媒を減圧下留去し、残渣をプレパラータイプTLC (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル=6/4)にて精製した。さらに得られた粗生成物をリサイクル分取HPLC (HPLC装置: LC-908 (製品名、日本分析工業社製)、カラム: JAIGEL 2H (製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相: クロロホルム)を用いて精製し、6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン42 mg (74.2 μ mol相当)を得た(図1-1、工程4)。

[0064] 得られた6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミ

ダゾ[1, 2-a]ピリジンのNMR測定結果(内部標準物質:テトラメチルシラン)は、以下の通りであった。

[0065] 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): δ 8.01-7.93 (m, 1H), 7.91-7.87 (m, 2H), 7.75-7.74 (m, 1H), 7.63-7.58 (m, 1H), 7.20-7.11 (m, 1H), 7.00-6.95 (m, 2H), 4.67 (dt, $J_{\text{HF}} = 47.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 2H), 4.15 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.20 (dq, $J_{\text{HF}} = 26.1$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 2H), 1.64-1.47 (m, 6H), 1.39-1.31 (m, 6H), 1.19-1.04 (m, 6H), 0.91 (t, $J = 7.2$ Hz, 9H)

[0066] (実施例I-2)2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[^{125}I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成

[0067] 6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンのメタノール溶液(濃度:1mg/mL)53 μL に、1mol/L塩酸 100 μL 、11.1MBqの[^{125}I]ヨウ化ナトリウム(容量として20 μL)、10%(W/V)過酸化水素10 μL を添加した。当該混合液を室温にて10分間静置した後、下記の条件のHPLCに付して2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[^{125}I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン画分を分取した。

[0068] HPLC条件:

カラム:Phenomenex Luna C18(商品名、Phenomenex社製、サイズ:4.6 \times 150mm)

移動相:0.1%トリフルオロ酢酸を含む水/0.1%トリフルオロ酢酸を含むアセトニトリル=80/20 \rightarrow 0/100(17分、直線グラジエント)

流速:1.0 mL/分

検出器:紫外可視吸光光度計(検出波長:282nm)及び放射線検出器(形式:STEFFI型、raytest社製)

[0069] 当該画分に水10mLを添加した液を逆相カラム(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、2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[^{125}I]ヨードイミダゾ[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、エタノール1mLを

通液して2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²⁵I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンを溶出させた。得られた化合物の放射エネルギーは5.5MBq(製造直後)であった。また、下記の条件によるTLC分析にて測定したところ、その放射化学的純度は96.0%であった。

[0070] TLC分析条件:

TLCプレート:RP-18F254(製品名、メルク社製)

展開相:メタノール/水=20/1

検出器:バイオイメージングアナライザー, BAS-2500(形式: BAS-2500、富士写真フィルム株式会社製)

[0071] (実施例I-3)2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²³I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成

[0072] 6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンのメタノール溶液(濃度:1mg/mL)70μLに、1mol/L塩酸 100μL、260~330MBqの[¹²³I]ヨウ化ナトリウム(容量として、30~60μL)、1mmol/Lヨウ化ナトリウム溶液 20μL、10%(W/V)過酸化水素20μLを添加した。当該混合液を50°Cで10分間加熱した後、実施例I-2と同様の条件のHPLCに付して2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²³I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン画分を分取し、2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²³I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンを得た。

[0073] 当該画分に水10mLを添加した液を逆相カラム(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、2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²³I]ヨードイミダゾ[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、エタノール1mLを通液して2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-[¹²³I]ヨードイミダゾ[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112~153MBqであった。また、実施例I-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97.0%であった。

[0074] (実施例I-4)6-ブロモ-2-[4'-(3"-パラトルエンシルホニルオキシプロポキシ)

フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成

- [0075] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させた液に、4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)を酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液に溶解させた液を加え、加熱還流した。5時間後、反応混合物を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-2、工程1)。
- [0076] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン2.15g(10.0mmol相当)と2-アミノ-5-ブロモピリジン1.74g(10.0mmol相当)をアセトニトリル50mLに溶解し、105°Cの油浴にて6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20mL-メタノール20mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約25mL加え、超音波洗浄器で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-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジン2.41g(8.32mmol相当)を得た(図1-2、工程2)。
- [0077] 十分に乾燥させ水分を取り除いた6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジン1.45g(5.0mmol相当)をN,N-ジメチルホルムアミド50mLに溶解し、これに炭酸カリウム2.07g(15.0mmol相当)を加えた。これに3-ブロモ-1-プロパノール680 μ L(7.5mmol相当)を加え、室温下17時間攪拌した。反応終了後、反応液を水に注ぎクロロホルムで3回抽出した。合わせたクロロホルム層は飽和食塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。得られた粗生成物をメタノールから再結晶して、6-ブロモ-2-[4'-(3"-ヒドロキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン1.28g(3.67mmol相当)を得た(図1-2、工程3)。
- [0078] 6-ブロモ-2-[4'-(3"-ヒドロキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン177mg(0.5mmol相当)をピリジン10mLに溶解し、氷浴下パラトルエンスルホ

ニルクロリド197mg(1.0mmol相当)を加えた。これを室温で16時間攪拌した後、水に注ぎ、クロロホルムで3回抽出した。合わせたクロロホルム層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。得られた粗生成物をリサイクル分取HPLC(HPLC装置:LC-908(製品名、日本分析工業社製)、カラム:JAIGEL 2H(製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相:クロロホルム)を用いて精製し、6-ブロモ-2-[4'-(3"-パラトルエンシルホニルオキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン87mg(0.17mmol相当)を得た(図1-2、工程4)。

[0079] 得られた6-ブロモ-2-[4'-(3"-パラトルエンシルホニルオキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンのNMR測定結果(内部標準物質:テトラメチルシラン)は、以下の通りであった。

[0080] 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): δ 8.26-8.24 (m, 1H), 7.84-7.80 (m, 2H), 7.77-7.74 (m, 2H), 7.74 (s, 1H), 7.50 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 7.26-7.23 (m, 2H), 7.21 (dd, J = 9.7, 2.0 Hz, 1H), 6.84-6.80 (m, 2H), 4.26 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.98 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.13 (quint., J = 6.0 Hz, 2H).

[0081] ^{13}C -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:125MHz): δ 158.67, 146.53, 144.79, 144.08, 132.77, 129.80, 127.87, 127.81, 127.28, 126.20, 125.43, 117.87, 114.63, 107.40, 106.76, 66.97, 63.08, 28.85, 21.60.

[0082] (実施例I-5)6-ブロモ-2-[4'-(3"- ^{18}F フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン

[0083] ^{18}F フッ化物イオン含有 H_2^{18}O (放射エネルギー4210MBq、合成開始時補正值)を、Sep-Pak Light QMA(商品名、日本ウォーターズ株式会社製)に通液し、 ^{18}F フッ化物イオンを吸着捕集した。次いで、該カラムに炭酸カリウム水溶液(66.7mmol/L、0.3mL)及び20mg(53.2 μ mol相当)のクリプトフィックス222(商品名、メルク社製)のアセトニトリル1.5mL溶液を通液して、 ^{18}F フッ化物イオンを溶出した。

[0084] これをヘリウムガスの通気下、100°Cに加熱して水を蒸発させた後、アセトニトリル(0.3mL \times 2)を加えて共沸させ、乾固させた。ここに上記実施例I-4にて合成した6-

6-ブロモ-2-[4'- (3"-パラトルエンスルホニルオキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン5mg (10.0 μ mol相当)のジメチルホルムアミド1.0mL溶液を加え、130°Cで10分間加熱した。反応液を30°Cまで冷却したのち、反応液にエーテル(3.5mL \times 3)を加え、その都度Sep-Pak Plus Silica(商品名、日本ウオーターズ社製)に通液した。通液後のエーテル溶液を、ヘリウムガスの通気下60°Cに加熱して濃縮し、濃縮液にメタノール/水/トリエチルアミン=800:200:1の混合液2mLを加え希釈した。

[0085] 得られた溶液をHPLC(カラム:Capcell Pak C18 MG (15mmi. d. \times 250mm、株式会社資生堂製)、溶離液:メタノール/水/トリエチルアミン=700/300/1)を用いて精製を行った。目的物を含む溶離液のフラクションに水100mLを加えて希釈した後、この液をSep-Pak Plus C18(商品名、日本ウオーターズ社製)に通液し、目的物を吸着捕集した。次いで該カラムを水20mLを通液して洗浄した後、エタノール4mLを通液して溶出し、6-ブロモ-2-[4'- (3"-[¹⁸F]フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンのエタノール溶液を得た。得られた放射エネルギー量は769MBq(合成開始後107分)であり、下記条件にてTLC分析を行ったところ、その放射化学的純度は95.9%であった。

[0086] 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:クロロホルム/メタノール/トリエチルアミン=500/10/0.5

検出器:Rita Star(製品名、raytest社製)

[0087] (実施例I-6)6-ブロモ-2-[4'- (2"-パラトルエンスルホニルオキシエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成

[0088] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)の酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液を加え、加熱還流した。5時間後、反応液を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さ

らに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-3、工程1)。

[0089] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン2.15g(10.0mmol相当)と2-アミノ-5-ブロモピリジン1.74g(10.0mmol相当)をアセトニトリル50mLに溶解し、105°Cの油浴にて6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20mL-メタノール20mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約25mL加え、超音波洗浄器で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-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1,2-a]ピリジン2.41g(8.32mmol相当)を得た(図1-3、工程2)。

[0090] エチレングリコール621mg(10.0mmol相当)を塩化メチレン100mLに溶解し、氷浴下これに酸化銀3.49g(15.0mmol相当)、ヨウ化カリウム350mg(2.1mmol相当)及びパラトルエンスルホンクロリド2.10g(11.0mmol相当)を加え、0°Cにて2時間攪拌した。反応混合物から不溶分をろ過し、さらに不溶分を酢酸エチルで洗浄した。ろ液と洗液をあわせて濃縮し、得られた粗生成物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=1/1)で精製して、2-ヒドロキシエチルパラトルエンスルホネート643mg(2.97mmol相当)を得た(図1-3、工程3)。

[0091] 2-ヒドロキシエチルパラトルエンスルホネート639mg(2.95mmol相当)のテトラヒドロフラン10mL溶液に、6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1,2-a]ピリジン388mg(1.34mmol相当)とトリフェニルホスフィン780mg(2.97mmol相当)を加え、さらにN,N-ジメチルホルムアミド6mLを加えて内容物を完溶させた。反応混合物にジイソプロピルアゾジカルボキシレート0.58mL(2.95mmol相当)を加え、室温下17時間攪拌した後、反応液を濃縮した。得られた粗生成物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=65/35)で精製し、目的物を含むフラクションから、クロロホルム不溶成分をろ別した後、さらにリサイクル分取HPLC(HPLC装置:LC-908(製品名、日本分析工業社製)、カラム:JAIGEL 2H(製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相:クロロホルム)を用

いて精製し、6-ブロモ-2-[4'-(2"-パラトルエンシルホニルオキシエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン79.7mg(164 μ mol相当)を得た(図1-3、工程4)。

[0092] 得られた6-ブロモ-2-[4'-(2"-パラトルエンシルホニルオキシエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンのNMR測定結果は、以下の通りであった。

[0093] 使用NMR装置:JNM-ECP-500(日本電子株式会社製)

^1H -NMR(溶媒:重ジメチルホルムアミド、共鳴周波数:500MHz): δ 8.73-8.71(m, 1H), 8.19-8.17(m, 1H), 7.81-7.77(m, 2H), 7.73-7.70(m, 2H), 7.41-7.38(m, 1H), 7.39-7.36(m, 2H), 7.20(dd, J = 9.5, 1.9 Hz), 6.85-6.81(m, 2H), 4.34-4.31(m, 2H), 4.19-4.15(m, 2H).

[0094] ^{13}C -NMR(溶媒:重ジメチルホルムアミド、共鳴周波数:125MHz): δ 158.32, 145.91, 145.24, 143.84, 133.15, 130.18, 127.83, 127.54, 127.19, 127.15, 126.90, 117.56, 114.86, 108.73, 105.80, 69.28, 65.88, 20.69.

[0095] (参考例I-1)6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン(非放射性フッ素化体)の合成

[0096] 本発明に係る化合物のアミロイドへの親和性、脂溶性並びに変異原性を調べるための試料として、6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの非放射性フッ素化体の合成を行った。

[0097] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)の酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液を加え、加熱還流した。5時間後、反応液を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-4、工程1)。

[0098] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン2.15g(10.0mmol相当)と2-アミノ-5-ブロモピリジン1.74g(10.0mmol相当)をアセトニトリル50mLに溶解し、105°C

の油浴にて6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20 mL-メタノール20mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約25mL加え、超音波洗浄器で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-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジン2.41g(8.32mmol相当)を得た(図1-4、工程2)。

[0099] 十分に乾燥させ水分を取り除いた6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1, 2-a]ピリジン290mg(1.0mmol相当)をN,N-ジメチルホルムアミド10mLに溶解し、これに炭酸カリウム413mg(3.0mmol相当)を加えた。これに1-ブロモ-3-フルオロプロパン138 μ L(1.5mmol相当)を加え、室温下20.5時間攪拌した。反応終了後、反応液を水に注ぎクロロホルムで3回抽出した。合わせたクロロホルム層は飽和食塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。得られた粗生成物をリサイクル分取HPLC(HPLC装置:LC-908(製品名、日本分析工業社製)、カラム:JAIGEL 2H(製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相:クロロホルム)を用いて精製し、6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン302mg(0.866mmol相当)を得た(図1-4、工程3)。

[0100] 得られた6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンのNMR測定結果(内部標準物質:テトラメチルシラン)は、以下の通りであった。

[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:500MHz): δ 8.23 (dd, $J = 1.9, 0.2$ Hz, 1H), 7.88-7.83 (m, 2H), 7.51-7.48 (m, 1H), 8.21 (dd, $J = 9.5, 1.9$ Hz, 1H), 6.99-6.95 (m, 2H), 4.67 (dt, $^2J_{\text{HF}} = 47.1$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 2H), 4.15 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.19 (dq, $^3J_{\text{HF}} = 25.9$ Hz, $J = 5.9$ Hz, 2H)。

[0102] ^{13}C -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:125MHz): δ 159.01, 146.61, 144.07, 127.81, 127.38, 126.15, 125.41, 117.87, 114.78, 107.41, 106.71, 80.71 (d, $^1J_{\text{C}} = 164.6$ Hz), 63.59 (d, $^3J_{\text{CF}} = 5.3$ Hz), 30.43 (d, $^2J_{\text{CF}} = 19.7$ Hz)。

- [0103] ^{19}F -NMR (溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:470MHz): δ -222.07 (dd, $^2J_{\text{HF}} = 4$ 7.1 Hz, $^3J_{\text{HF}} = 25.9$ Hz)。
- [0104] (参考例I-2) 2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン(非放射性フッ素化体)の合成
- [0105] 本発明に係る化合物のアミロイドへの親和性、脂溶性並びに変異原性を調べるための試料として、2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの非放射性フッ素化体の合成を行った。
- [0106] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)の酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液を加え、加熱還流した。5時間後、反応液を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-5、工程1)。
- [0107] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン441mg(2.0mmol相当)と2-アミノ-5-ヨードピリジン449mg(2.0mmol相当)をアセトニトリル15mLに溶解し、110°Cの油浴にて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10mL-メタノール10mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約10mL加え、超音波洗浄器で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、2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン526mg(1.56mmol相当)を得た(図1-5、工程2)。
- [0108] 十分に乾燥させ水分を取り除いた2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン673mg(2.0mmol相当)をN,N-ジメチルホルムアミド25mLに溶解し、これに炭酸カリウム831mg(6.0mmol相当)を加えた。これに1-ブロモ-3-フルオロプロパン275 μ L(3.0mmol相当)を加え、室温下24時間攪拌した。反応終了後、反応液を水に注ぎクロロホルムで3回抽出した。合わせたクロロホルム層

は水と飽和食塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム)で精製し、さらにリサイクル分取HPLC(HPLC装置:LC-908(製品名、日本分析工業社製)、カラム:JAIGEL 2H(製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相:クロロホルム)を用いて精製して、2-[4'- (3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン349mg(0.881mmol相当)を得た(図1-5、工程3)。

[0109] 得られた2-[4'- (3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンのNMR測定結果(内部標準物質:テトラメチルシラン)は、以下の通りであった。

[0110] 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): δ 8.37-8.35 (m, 1H), 7.88-7.84 (m, 2H), 7.72 (s, 1H), 7.42-7.39 (m, 1H), 7.32 (dd, $J = 9.4, 1.6$ Hz, 1H), 6.99-6.96 (m, 2H), 4.67 (dt, $^2J_{\text{HF}} = 47.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 2H), 4.15 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.20 (dq, $^3J_{\text{HF}} = 25.9$ Hz, $J = 6.0$ Hz, 2H)。

[0111] ^{13}C -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:125MHz): δ 159.01, 146.23, 144.16, 132.36, 130.28, 127.42, 126.05, 118.31, 114.77, 106.90, 80.72 (d, $^1J_{\text{CF}} = 164.6$ Hz), 74.80, 63.57 (d, $^3J_{\text{CF}} = 5.3$ Hz), 30.42 (d, $^2J_{\text{CF}} = 20.2$ Hz)。

[0112] ^{19}F -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:470MHz): δ -222.09 (dd, $^2J_{\text{HF}} = 4.7$ Hz, $^3J_{\text{HF}} = 25.9$ Hz)。

[0113] (参考例I-3)6-ブロモ-2-[4'- (2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン(非放射性フッ素化体)の合成

[0114] 本発明に係る化合物のアミロイドへの親和性、脂溶性並びに変異原性を調べるための試料として、6-ブロモ-2-[4'- (2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの非放射性フッ素化体の合成を行った。

[0115] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)の酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液を加え、加熱還流した。5時間後、反応液を室温まで冷却して

ろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-6、工程1)。

[0116] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン2.15g(10.0mmol相当)と2-アミノ-5-ブロモピリジン1.74g(10.0mmol相当)をアセトニトリル50mLに溶解し、105°Cの油浴にて6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20mL-メタノール20mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約25mL加え、超音波洗浄器で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-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1,2-a]ピリジン2.41g(8.32mmol相当)を得た(図1-6、工程2)。

[0117] 十分に乾燥させ水分を取り除いた6-ブロモ-2-(4'-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1,2-a]ピリジン578mg(2.0mmol相当)をN,N-ジメチルホルムアミド20mLに溶解し、これに炭酸カリウム830mg(6.0mmol相当)を加えた。これに2-フルオロエチルパラトルエンシルホネート510 μ L(3.0mmol相当)を加え、室温下44.5時間攪拌した。反応終了後、反応液を水に注ぎクロロホルムで3回抽出した。合わせたクロロホルム層は水および飽和食塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=100/1)で精製し、リサイクル分取HPLC(HPLC装置:LC-908(製品名、日本分析工業社製)、カラム:JAIGEL 2H(製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相:クロロホルム)を用いて精製した後、さらにプレパラータイプTLC(溶離液:クロロホルム/メタノール=50:1)で精製して、6-ブロモ-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジン446mg(1.33mmol相当)を得た(図1-6、工程3)。

[0118] 得られた6-ブロモ-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンのNMR測定結果(内部標準物質:テトラメチルシラン)は、以下の通りであつ

た。

[0119] 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): δ 8.23-8.21 (m, 1H), 7.87-7.84 (m, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.51-7.47 (m, 1H), 7.20 (dd, $J = 9.5, 1.9$ Hz, 1H), 7.01-6.97 (m, 2H), 4.84-4.71 (m, 2H), 4.30-4.21 (m, 2H)。

[0120] ^{13}C -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:125MHz): δ 158.62, 146.46, 144.06, 127.85, 127.41, 126.58, 125.42, 117.87, 114.91, 107.49, 106.74, 81.86 (d, $^1J_{\text{C}} = 170.8$ Hz), 67.15 (d, $^2J_{\text{CF}} = 20.2$ Hz)。

[0121] ^{19}F -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:470MHz): δ -223.80 (dd, $^2J_{\text{HF}} = 47.4$ Hz, $^3J_{\text{HF}} = 27.6$ Hz)。

[0122] (参考例I-4)2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジン(非放射性フッ素化体)の合成

[0123] 本発明に係る化合物のアミロイドへの親和性、脂溶性並びに変異原性を調べるための試料として、2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジンの非放射性フッ素化体の合成を行った。

[0124] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)の酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液を加え、加熱還流した。5時間後、反応液を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-7、工程1)。

[0125] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン441mg(2.0mmol相当)と2-アミノ-5-ヨードピリジン449mg(2.0mmol相当)をアセトニトリル15mLに溶解し、110°Cの油浴にて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10mL-メタノール10mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約10

mL加え、超音波洗浄器で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、2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン526mg(1.56mmol相当)を得た(図1-7、工程2)。

[0126] 十分に乾燥させ水分を取り除いた2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン368mg(1.1mmol相当)をN,N-ジメチルホルムアミド15mLに溶解し、これに炭酸カリウム453mg(3.3mmol相当)を加えた。これに2-フルオロエチルパラトルエンシルホネート280 μ L(1.6mmol相当)を加え、室温下22時間攪拌した。反応終了後、反応液を水に注ぎクロロホルムで3回抽出した。合わせたクロロホルム層は水および飽和食塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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=1/1)で精製し、さらにリサイクル分取HPLC(HPLC装置:LC-908(製品名、日本分析工業社製)、カラム:JAIGEL 2H(製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相:クロロホルム)を用いて精製して、2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン222mg(0.580mmol相当)を得た(図1-7、工程3)。

[0127] 得られた2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンのNMR測定結果(内部標準物質:テトラメチルシラン)は、以下の通りであった。

[0128] 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): δ 8.35-8.33 (m, 1H), 7.88-7.84 (m, 2H), 7.70 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 9.4, 1.8$ Hz, 1H), 7.01-6.97 (m, 2H), 4.84-4.71 (m, 2H), 4.30-4.22 (m, 2H)。

[0129] ^{13}C -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:125MHz): δ 158.62, 146.08, 144.16, 132.38, 130.30, 127.44, 126.52, 118.30, 114.91, 106.99, 81.86 (d, $^2J_{\text{CF}} = 170.8$ Hz), 74.82, 67.15 (d, $^3J_{\text{CF}} = 20.6$ Hz)。

[0130] ^{19}F -NMR(溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:470MHz): δ -223.74 (dd, $^2J_{\text{HF}} = 47.4$ Hz, $^3J_{\text{HF}} = 27.7$ Hz)。

[0131] (参考例I-5) 2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1,

2-a]ピリミジン(非放射性フッ素化体)の合成

- [0132] 本発明に係る化合物のアミロイドへの親和性、脂溶性並びに変異原性を調べるための試料として、2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリミジンの非放射性フッ素化体の合成を行った。
- [0133] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)を酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液に溶解させた液を加え、加熱還流した。5時間後、反応混合物を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-8、工程1)。
- [0134] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン646mg(3.0mmol相当)と2-アミノ-5-ヨードピリミジン668mg(3.0mmol相当)をアセトニトリル20mLに溶解し、110°Cの油浴にて8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10mL-メタノール10mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約15mL加え、超音波洗浄器で3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、2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリミジン737mg(2.19mmol相当)を得た(図1-8、工程2)。
- [0135] 十分に乾燥させ水分を取り除いた2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリミジン339mg(1.0mmol相当)をN,N-ジメチルホルムアミド20mLに溶解し、これに炭酸カリウム414mg(3.0mmol相当)を加えた。これに1-ブロモ-3-フルオロプロパン138 μ L(1.5mmol相当)を加え、室温下22時間攪拌した。反応終了後、反応液を水に注ぎクロロホルムで3回抽出した。合わせたクロロホルム層は飽和食塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過、濃縮した。得られた粗生成物をN,N-ジメチルホルムアミドから再結晶し、2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリミジン236mg(0.594

mmol相当)を得た(図1-8、工程3)。

- [0136] 得られた2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリミジンのNMR測定結果(内部標準物質:ジメチルスルホキシド)は、以下の通りであった。
- [0137] 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): δ 9.27 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.55 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.94-7.90 (m, 2H), 7.06-7.02 (m, 2H), 4.62 (dt, $^2J_{\text{HF}} = 47.2$ Hz, $J = 6.1$, 2H), 4.14 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.13 (dq, $^3J_{\text{HF}} = 25.5$ Hz, $J = 6.1$ Hz, 2H).
- [0138] ^{13}C -NMR(溶媒:重ジメチルスルホキシド、共鳴周波数:125MHz): δ 159.16, 154.12, 146.54, 146.26, 139.00, 127.60, 126.06, 115.21, 106.52, 81.15 (d, $^1J_{\text{CF}} = 161.7$ Hz), 74.43, 64.07 (d, $^3J_{\text{CF}} = 5.8$ Hz), 30.13 (d, $^2J_{\text{CF}} = 19.7$ Hz).
- [0139] ^{19}F -NMR(溶媒:重ジメチルスルホキシド、共鳴周波数:470MHz): δ -220.13 (tt, $^2J_{\text{HF}} = 47.2$ Hz, $^3J_{\text{HF}} = 25.5$ Hz).
- [0140] (参考例I-6) [^{125}I]-IMPYの合成
- [0141] アミロイド結合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、 [^{125}I]-IMPYを合成した。
- [0142] 文献(Zhi-Ping Zhuang et al., J. Med. Chem, 2003, 46, p.237-243)記載の方法に従い、6-トリブチルスタニル-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(1)を合成し、メタノールに溶解した(濃度:1mg/mL)。当該溶液53 μL に、1mol/L塩酸 75 μL 、13.5MBqの [^{125}I]ヨウ化ナトリウム20 μL 、10% (W/V)過酸化水素10 μL を添加した。当該混合液を50°Cにて10分間静置した後、実施例I-2と同様の条件のHPLCに付して [^{125}I]-IMPY画分を分取した。
- [0143] 当該画分に水10mLを添加した液を逆相カラム(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、 [^{125}I]-IMPY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、エタノール1mLを通液して [^{125}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2.6MBqであった。また、実施例I-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98.0%であった。

[0144] (参考例I-7) $[^{123}\text{I}]$ -IMPYの合成

[0145] $\log P_{\text{octanol}}$ 及び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、 $[^{123}\text{I}]$ -IMPYを合成した。

[0146] 文献(Zhi-Ping Zhuang et al., J. Med. Chem, 2003, 46, p.237-243)記載の方法に従い、6-トリブチルスタニル-2-[4'-(N,N-ジメチルアミノ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンを合成し、メタノールに溶解した(濃度:1mg/mL)。当該溶液53 μ Lに、1mol/L塩酸 100 μ L、190~240MBqの $[^{123}\text{I}]$ ヨウ化ナトリウム20~50 μ L、1mmol/Lヨウ化ナトリウム溶液 10 μ L、10%(W/V)過酸化水素10 μ Lを添加した。当該混合液を50°Cにて10分間静置した後、実施例I-2と同様の条件のHPLCに付して $[^{123}\text{I}]$ -IMPY画分を分取した。

[0147] 当該画分に水10mLを添加した液を逆相カラム(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、 $[^{123}\text{I}]$ -IMPY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、エタノール1mLを通液して $[^{123}\text{I}]$ -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47~56MBqであった。また、実施例I-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98.0%であった。

[0148] (参考例I-8) 2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6- $[^{125}\text{I}]$ ヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成

[0149] $\log P_{\text{HPLC}}$ の算出に用いる計算式を作成する目的で、下記の工程に従い、2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6- $[^{125}\text{I}]$ ヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジンを合成した。

[0150] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)を酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液に溶解させた液を加え、加熱還流した。5時間後、反応混合物を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブromo-4

’-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-9、工程1)。

[0151] 2-ブロモ-4’-ヒドロキシアセトフェノン2.15g(10.0mmol相当)と2-アミノ-5-ブロモピリジン1.74g(10.0mmol相当)をアセトニトリル50mLに溶解し、105°Cの油浴にて6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20mL-メタノール20mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約25mL加え、超音波洗浄器で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-ブロモ-2-(4’-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1,2-a]ピリジン2.41g(8.32mmol相当)を得た(図1-9、工程2)。

[0152] 6-ブロモ-2-(4’-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1,2-a]ピリジン138mg(0.476mmol相当)をジオキサン20mLに溶解し、トリエチルアミン2mLを加えた後、ビストリブチルスズ360 μ L(0.713mmol相当)と触媒量のテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム20mgを加えた。反応混合物を90°Cで22時間攪拌した後、溶媒を減圧下留去し、残渣をプレパラータイプTLC(溶離液:ヘキサン/酢酸エチル=1/4)にて精製した。さらに得られた粗生成物をリサイクル分取HPLC(HPLC装置:LC-908(製品名、日本分析工業社製)、カラム:JAIGEL 2H(製品名、日本分析工業社製)を2本連結、移動相:クロロホルム)を用いて精製し、6-トリブチルスタニル-2-(4’-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1,2-a]ピリジン47mg(94.9 μ mol相当)を得た(図1-9、工程3)。

[0153] 6-トリブチルスタニル-2-(4’-ヒドロキシフェニル)イミダゾ[1,2-a]ピリジンのメタノール溶液(濃度:1mg/mL)53 μ Lに、1mol/L塩酸75 μ L、136MBqの 125 Iヨウ化ナトリウム40 μ L、10%(W/V)過酸化水素10 μ Lを添加した。当該混合液を50°Cにて10分間静置した後、実施例I-2と同様の条件のHPLCに付して2-(4’-ヒドロキシフェニル)-6- 125 Iヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジン画分を分取した(図1-9、工程4)。

[0154] 当該画分に水10mLを添加した液を逆相カラム(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、2-(4’-ヒドロキシフェニル)-6- 125 Iヨードイミダゾ[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、エタノール1mLを通液して2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-[¹²⁵I]ヨードイミダゾ[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37.5MBqであった。また、実施例I-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96.5%であった。

[0155] (参考例I-9) 2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成

[0156] 臭化第二銅28.17g(126mmol相当)に酢酸エチル50mLを加えて懸濁させ、これに4'-ヒドロキシアセトフェノン8.18g(60.0mmol相当)の酢酸エチル50mL-クロロホルム50mL混液を加え、加熱還流した。5時間後、反応液を室温まで冷却してろ過を行い、ろ液を減圧濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解し、活性炭を加えて脱色操作を行った後、溶液をろ過、濃縮した。得られた粗生成物を、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:クロロホルム/メタノール=20/1)で精製し、さらに酢酸エチル-石油エーテルから再結晶を行い、2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン7.25g(33.7mmol相当)を得た(図1-10、工程1)。

[0157] 2-ブロモ-4'-ヒドロキシアセトフェノン441mg(2.0mmol相当)と2-アミノ-5-ヨードピリジン449mg(2.0mmol相当)をアセトニトリル15mLに溶解し、110°Cの油浴にて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10mL-メタノール10mL混液に懸濁させた後、これに飽和炭酸水素ナトリウム溶液を約10mL加え、超音波洗浄器で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、2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン526mg(1.56mmol相当)を得た(図1-10、工程2)。

[0158] 得られた2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンのNMR測定結果(内部標準物質:ジメチルスルホキシド)は、以下の通りであった。

[0159] 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): δ 8.86-8.84(m, 1H), 8.14(s, 1H), 7.78-7.74(m, 2H), 7.40-7.35(m, 2H), 6.86-6.82(m, 2H)。

- [0160] ^{13}C -NMR (溶媒: 重ジメチルスルホキシド、共鳴周波数: 125MHz): δ 158.08, 145.87, 143.87, 132.48, 131.72, 127.67, 124.99, 118.14, 116.14, 108.02, 75.85。
- [0161] (実施例I-7及び比較例I-1)アミロイド結合性の測定
- [0162] 本発明化合物のアミロイド親和性を、以下のin vitro結合試験により評価した。
- [0163] (1) $\text{A}\beta_{1-40}$ (ペプチド研究所)をリン酸緩衝液 (pH 7.4)で溶解して37°Cで72時間振盪することで、1mg/mLの凝集した $\text{A}\beta$ (以下本実施例において、アミロイドとする)懸濁液(以下、本実施例において、アミロイド懸濁液という)を得た。
- [0164] (2) 上記アミロイド懸濁液につき、文献(Naiki, H.ら、Laboratory Investigation, 74, p.374-383(1996))記載の方法に従ってチオフラビンT(Fluka社製)を用いた蛍光光度測定による定性実験を行い、(1)で得た凝集化 $\text{A}\beta$ がアミロイドであることを確認した(測定条件: 励起波長446nm、蛍光波長490nm)。
- [0165] (3) 上記実施例I-2の方法にて合成した化合物I-6のエタノール溶液(放射能濃度37MBq/mL)を調製し、これを0.1%牛血清アルブミンを含むリン酸緩衝液 (pH 7.4)で希釈して2-[4'-(3'-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジン総量として2nmol/L相当の溶液を調製した。
- [0166] (4) 96穴マイクロプレートの各ウェルに、上記(3)で調製した溶液 50 μL (最終濃度400pM)、アミロイド懸濁液を0.1%牛血清アルブミン含有リン酸緩衝液 (pH 7.4)に溶解した液(アミロイドの濃度は、試料溶液中のアミロイド濃度に応じて調整)50 μL を添加した後、同緩衝液150 μL を添加し、アミロイドの最終濃度が2.5、12.5、25、62.5、125、250、625、1000nmol/Lの液を調製した。
- [0167] (5) 当該マイクロプレートを22°Cで3時間、一定速度(400回転/分)で振盪した後、各ウェルの混合液をグラスファイバーフィルター(ミリポア社、MulletiscreenTM-FC)にて濾過することによりアミロイドに結合した化合物I-6及び遊離の化合物I-6を分離した。
- [0168] (6) 混合液を濾過したグラスファイバーフィルターについて、0.1%牛血清アルブミンを含むリン酸緩衝液で洗浄(0.5mL×5回)した後、グラスファイバーフィルターの放射能をオートウェル・ガンマシステム(Aloka社、ARC-301B)で測定した。
- [0169] (7) (6)の測定結果より化合物I-6のアミロイドへの結合量と添加したアミロイド量との

関係の評価した。非特異的結合については上記(4)において化合物I-2(非RI標識化合物)を100nM(最終濃度)となるように添加したサンプルより求めた(実施例I-7)。

[0170] (8)なお、上記参考例I-6にて合成した $[^{125}\text{I}]$ -IMPYにつき上記(2)～(6)と同様の操作を行い、対象データを得た(比較例I-1)。

[0171] 試料溶液中のアミロイド濃度と、上記(6)にて測定したグラスファイバーフィルター上の放射能カウントとの関係を図1-11に示す。グラスファイバーフィルター上の放射能がアミロイド濃度(添加量)に比例して増加していた(実施例I-7)。本実験における条件では、アミロイド及びそれに結合した化合物は、グラスファイバーに保持される。従って、グラスファイバー上の放射能カウントはアミロイドに結合した化合物量を反映した値であり、その放射能カウントをアミロイド濃度に対してプロットしたグラフの傾きは、化合物のアミロイド結合性の強さを表す指標となり得る値であるといえる。化合物I-6におけるグラスファイバーフィルター上の放射能カウントの値が、アミロイド濃度の増加に伴って増加していたことから、化合物I-6はアミロイドに結合する性質を有する化合物であることが示唆された。また、その直線の傾きは、 $[^{125}\text{I}]$ -IMPYにおける同様のプロットにおける傾きと同等以上であり、化合物I-6のアミロイド結合性の強さは、アミロイドへの強い親和性を有することが知られている $[^{125}\text{I}]$ -IMPYと同等以上であることが示唆された。

以上の結果より、化合物I-6は高いアミロイド結合性を有することが示唆された。

[0172] (実施例I-8～I-12、比較例I-2～I-6)アミロイド親和性の測定

本発明化合物のアミロイド親和性を、以下のin vitro結合試験により評価した。

[0173] (1) $A\beta_{1-40}$ (ペプチド研究所)をリン酸緩衝液(pH7.4)で溶解して37°Cで62～72時間振盪させ、1mg/mLの凝集 $A\beta$ 懸濁液(以下、本実施例にてアミロイド懸濁液という)を得た。

[0174] (2) 上記アミロイド懸濁液につき、文献(Naiki, H.ら、Laboratory Investigation, 74, p.374-383(1996))記載の方法に従ってチオフラビンT(Fluka社製)を用いた蛍光光度測定による定性実験を行い、(1)で得た凝集 $A\beta$ がアミロイドであることを確認した(測定条件:励起波長446nm、蛍光波長490nm)。

[0175] (3)文献(Wang, Y.ら、J. Labelled Compounds Radiopharmaceut.44, S239(2001))記載の方法に従い、2-(4'-アミノフェニル)ベンゾチアゾールを標識前駆体として $[^{125}\text{I}]2-(3'-\text{ヨード}-4'-\text{アミノフェニル})\text{ベンゾチアゾール}$ (以下、 $[^{125}\text{I}]3'-\text{I-BTA-O}$)を調製し、エタノールに溶解した。コンゴレッド、チオフラビンT及び6-メチル-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、6-Me-BTA-2)は、市販の試薬をそのまま秤量して用いた。

[0176] (4)2-(3'-ヨード-4'-アミノフェニル)ベンゾチアゾール(以下、3'-I-BTA-O)及びIMPYを、それぞれ文献(Wang, Y.ら、J. Labelled Compounds Radiopharmaceut.44, S239(2001))及び文献(Zhuang, Z.P.ら、J. Med. Chem.46,237(2003))記載の方法に従って合成した。

[0177] (5) $[^{125}\text{I}]3'-\text{I-BTA-O}$ 、各評価化合物及びアミロイドの最終濃度が表1-2記載の濃度となるように0.1%牛血清アルブミン含有リン酸緩衝液(pH 7.4)に溶解した試料を調製し、96穴マイクロプレートの各ウェル(容量約0.3mL)に充填した。

[0178] [表1-2]

表 1 - 2 試料溶液中における各化合物の最終濃度

実験	評価化合物	評価化合物濃度	$[^{125}\text{I}]3'-\text{I-BTA-O}$ 濃度	アミロイド
比較例 I-2	3'-I-BTA-O	0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 1000 nmol/L の各濃度	400 pmol/L	1 $\mu\text{mol/L}$
比較例 I-3	コンゴレッド			
比較例 I-4	チオフラビンT			
比較例 I-5	6-Me-BTA-2			
比較例 I-6	IMPY			
実施例 I-8	化合物 I-1			
実施例 I-9	化合物 I-2			
実施例 I-10	化合物 I-3			
実施例 I-11	化合物 I-4			
実施例 I-12	化合物 I-5			

[0179] (6)試料溶液を充填したマイクロプレートを、22°Cで3時間、一定速度(400回転/分)で振盪した後、各試料溶液をグラスファイバーフィルター(商品名:MulutiscreenTM-FC、ミリポア社製)にて濾過することにより、アミロイドに結合した $[^{125}\text{I}]3'-\text{I-BTA-O}$ と結合していない $[^{125}\text{I}]3'-\text{I-BTA-O}$ とを分離した。

[0180] (7)各試料溶液の濾過に用いたグラスファイバーフィルターを、0.1%牛血清アルブ

ミン含有リン酸緩衝液(pH 7.4)で洗浄(0.5mL×5回)し、グラスファイバーフィルター放射能をオートウェル・ガンマシステム(Aloka社製、形式:ARC-301B)で測定し、各試料溶液の放射能として阻害率の計算に用いた(以下、各評価化合物濃度が0の試料における放射能をA、評価化合物濃度が0.001nmol/L以上の試料における放射能をBとする)。

[0181] (8)別に、6-Me-BTA-2を15 μmol/L、 ^{125}I 3'-I-BTA-0を400pmol/L、 $A\beta_{1-40}$ を1 μmol/L配合させた液を調製し、上記(6)及び(7)と同様の操作を行って放射能を測定した。求めた放射能をバックグラウンド放射能とし、阻害率の計算に用いた(以下、BGとする)。

[0182] (9)上記(7)及び(8)にて測定した放射能を用い、下記式(1-1)：

[0183] [数1-1]

$$\frac{B - BG}{A - BG} \times 100 \quad (\%) \quad (1 - 1)$$

[0184] より阻害率を求めた。得られた阻害率をプロビット変換した値を評価化合物の濃度の対数に対してプロットしたグラフを作成し、最小二乗法にて近似直線を作成した。この直線を用い、放射能が各評価化合物無添加試料における値の半分となるような各評価化合物濃度を求め、各化合物の50%阻害濃度(以下、 $IC_{50\%}$ 値という)とした。この値を指標として用い、各評価化合物のアミロイド(凝集化 $A\beta_{1-40}$)親和性を評価した。

[0185] 各評価化合物における $IC_{50\%}$ 値を表1-3に示す。化合物I-1~I-5は、何れも100未満の $IC_{50\%}$ 値を示し、コンゴーレッド及びチオフラビンTよりも高いアミロイド(凝集化 $A\beta_{1-40}$)親和性を有していた。この結果より、化合物I-1~I-5は、良好なアミロイド(凝集化 $A\beta_{1-40}$)親和性を有する化合物であることが示された。特に、化合物I-1~I-4においては、3'-I-BTA-0及び6-Me-BTA-2よりも高くIMPYと同等のアミロイド(凝集化 $A\beta_{1-40}$)親和性を有していた。

[0186] [表1-3]

表 1-3 本発明化合物の IC₅₀% 値

実験	評価化合物	IC ₅₀ % 値 (nmol/L)
比較例 I-2	3'-I-BTA-0	10.1
比較例 I-3	コンゴレッド	>1000
比較例 I-4	チオフラビン T	>1000
比較例 I-5	6-Me-BTA-2	25.4
比較例 I-6	IMPY	0.8
実施例 I-8	化合物 I-1	1.4
実施例 I-9	化合物 I-2	0.9
実施例 I-10	化合物 I-3	1.8
実施例 I-11	化合物 I-4	0.9
実施例 I-12	化合物 I-5	55.4

[0187] (実施例I-13~I-14、比較例I-7)オクタノール抽出法を用いた分配係数の測定

[0188] 化合物の血液脳関門(以下、BBBという)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、logP_{octanol} という)を測定した。

[0189] オクタノール2mLに化合物I-7(実施例I-13)及び化合物I-8(実施例I-14)を含む溶液10 μ L及び10mmol/Lリン酸緩衝液(pH7.4)2mLを添加し、30秒間攪拌した。この混合液を低速遠心機で遠心分離(2000回転/分 \times 60分間)した後、オクタノール層及び水層を各1mL分取し、それぞれの放射能をオートウェル・ガンマシステム(Aloka社製、形式:ARC-301B)にて計測した。得られた放射能を用い、式(1-2)よりlogP_{octanol} 値を算出した。

[0190] [数1-2]

$$\log P_{\text{octanol}} = \log_{10} \left(\frac{\text{オクタノール層の放射能カウント}}{\text{水層の放射能カウント}} \right) \quad \dots \quad (1-2)$$

[0191] 結果を表1-4に示す。logP_{octanol} の値は、化合物I-7及び化合物I-8のいずれにおいても、1~3の間の値を示していた。BBBを透過可能な化合物においては、logP_{octanol} 値は1~3の間の値であることが知られている(Douglas D. Dischino et al., J.Nucl. Med., (1983), 24, p.1030-1038)。以上の結果より、両化合物は、IMPY同様にBBB透過性を有するものと示唆された。

[0192] [表1-4]

表 1 - 4 本発明化合物の $\log P_{\text{octanol}}$ 値

実験	化合物	$\log P_{\text{octanol}}$ 値
比較例 I-7	[^{123}I]-IMPY	2.1
実施例 I-13	化合物 I-7	2.1
実施例 I-14	化合物 I-8	2.0

[0193] (実施例I-15~I-19、比較例I-8)HPLCを用いた分配係数の測定

[0194] HPLCによる分配係数(以下、 $\log P_{\text{HPLC}}$ という)を下記の方法により測定した。この $\log P_{\text{HPLC}}$ は、化合物のBBB透過性の指標として一般に知られている $\log P_{\text{octanol}}$ と、pH 7.2~7.4において同等の値を有することが知られている値である(Franco Lombardo et al., J.Med.Chem., (2000), 43, p.2922-2927)。

[0195] まず、表1-5記載の各評価化合物を、濃度1mg/mLとなるように10%ジメチルスルホキシド含有メタノールに溶解し、試料溶液を調製した。この試料溶液1 μL につき、下記の条件によるHPLC分析を行い、溶媒の溶出時間(t_0)及び化合物の溶出時間(t_R)を求めた。

[0196] [表1-5]

表 1 - 5 各実験における評価化合物

実験	評価化合物
比較例 I-8	IMPY
実施例 I-15	化合物 I-1
実施例 I-16	化合物 I-2
実施例 I-17	化合物 I-3
実施例 I-18	化合物 I-4
実施例 I-19	化合物 I-5

[0197] HPLC条件:

カラム: Prodigy ODS (3) (製品名、phenomenex社製、サイズ: 4.6 \times 250 mm)
 移動相: 50mMトリエチルアミンりん酸(pH 7.2) / アセトニトリル = 40 / 60混液
 流速: 0.7mL / 分
 検出器: 紫外可視吸光光度計(検出波長: 282nm)

[0198] 得られた t_0 及び t_R を用い、下記計算式(1-3)より各評価化合物のリテンションファクター(以下、 K'_{HPLC} 値という)を求めた。

[0199] [数1-3]

$$K'_{\text{HPLC}} = (t_R - t_0) / t_0 \quad \cdots (1-3)$$

[0200] 別に、上記参考例I-8にて合成した2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-[^{125}I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン溶液(放射能濃度37MBq/mL)及び化合物I-6溶液(放射能濃度37MBq/mL)を、別々に用意したオクタノール2mLに10 μL ずつ添加し、さらにそれぞれの溶液に10mmol/Lリン酸緩衝液(pH7.4)2mLを加えた。各液を30秒間攪拌した後、2000回転/分の条件にて60分間遠心分離を行った。オクタノール相及び水相を各1mL分取し、放射能をオートウェル・ガンマシステム(Aloka社、形式:ARC-301B)にて計測した。得られた放射エネルギーより、上記の式(1-2)を用いて $\log P_{\text{octanol}}$ 値を算出した。

[0201] さらに、化合物I-2及び参考例I-9にて調製した2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン溶液のそれぞれについて上記と同様のHPLC分析を行い、それぞれの化合物における K'_{HPLC} 値を求めた。

[0202] 化合物I-2及び2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンにおける $\log_{10} K'_{\text{HPLC}}$ に対して、化合物I-6及び、2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-[^{125}I]ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンにおける $\log P_{\text{octanol}}$ 値をプロットしたグラフを作成し、直線の傾きとy切片を見積もった。この値を用い、 $\log P_{\text{octanol}}$ 値と $\log P_{\text{HPLC}}$ 値とがpH 7.2~7.4において等しいと仮定して、下記式(1-4)を求めた。

[0203] [数1-4]

$$\log P_{\text{HPLC}} = 0.96 (\log_{10} K'_{\text{HPLC}}) + 1.59 \quad \cdots (1-4)$$

[0204] 各評価化合物について求めた K'_{HPLC} を用い、上記計算式(1-4)に従って、各評価化合物における $\log P_{\text{HPLC}}$ 値を求めた。

[0205] 結果を、表1-6に示す。この表に示すように、 $\log P_{\text{HPLC}}$ 値は、化合物I-1~I-5のいずれにおいても、1~3の間の値を示していた。上述したように、BBBを透過可能な化合物においては、 $\log P_{\text{octanol}}$ 値は1~3の間の値であることが報告されている(Dougl

as D. Dischino et al., J.Nucl.Med., (1983), 24, p.1030-1038)。さらに、上述したように $\log P_{\text{octanol}}$ と $\log P_{\text{HPLC}}$ とは pH 7.2~7.4 において同等の値を有することが知られている (Franco Lombardo et al., J.Med.Chem., (2000), 43, p.2922-2927)。以上の結果より、化合物 I-1~I-5 は、BBB を透過する性質を有するものであることが示唆された。

[0206] [表1-6]

表 1-6 本発明化合物の $\log P_{\text{HPLC}}$ 値

実験	化合物	$\log P_{\text{HPLC}}$ 値
比較例 I-8	IMPY	2.1
実施例 I-15	化合物 I-1	2.0
実施例 I-16	化合物 I-2	2.1
実施例 I-17	化合物 I-3	1.9
実施例 I-18	化合物 I-4	1.9
実施例 I-19	化合物 I-5	1.8

[0207] (実施例 I-20~I-21、比較例 I-9) 脳内移行性及びクリアランスの測定(その1)

[0208] 化合物 I-7 (実施例 I-20) 及び 8 (実施例 I-21) を用い、雄性の Wistar 系ラット (7 週齢) における脳への放射能集積の経時的変化を測定した。

[0209] 化合物 I-7 (実施例 I-20) を 10mg/mL アスコルビン酸含有生理食塩液に溶解した液、化合物 I-8 (実施例 I-21) を 10mg/mL アスコルビン酸含有生理食塩液に溶解した液、及び上記参考例 I-7 にて調製した ^{123}I -IMPY (比較例 I-9) を 10mg/mL アスコルビン酸含有生理食塩液に溶解した液 (放射能濃度 20~30MBq/mL) 各 0.05mL を、チオペンタール麻酔下で尾静脈より上記ラットに投与した。投与後 2 分、5 分、30 分、60 分に腹部大動脈より脱血した上で脳を採取し、脳の放射能をオートウェル・ガンマシステム (形式: ARC-301B、Aloka 社製) を用いて計測し (以下、本実施例にて A とする)、さらに脳の質量を測定した。また、投与液を 1000 倍希釈した溶液 0.05mL について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、下記式 (1-5) より、各解剖時間点における、脳への単位重量当たりの放射能分布率 (%ID/g) を算出した。

各時間点において、実施例I-20及び比較例I-9については3匹、実施例I-21については2匹の動物を用いて実験を行った。

[0210] [数1-5]

$$\%ID/g = \frac{A}{B \times 1000 \times \text{脳の質量}} \times 100 \quad \dots (1-5)$$

[0211] 結果を表1-7に示す。表1-7に示すように、化合物I-7及び化合物I-8は、投与後2分点において、 ^{123}I -IMPYと同等以上の集積が認められ、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I-7及び化合物I-8は、 ^{123}I -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。

[0212] [表1-7]

表1-7 本発明化合物の静脈内投与後の脳への放射能分布率（ラット）

化合物		単位重量当たりの放射能分布率（%ID/g）			
		2分後	5分後	30分後	60分後
実施例 I-20	化合物 I-7	1.10	0.75	0.12	0.05
実施例 I-21	化合物 I-8	1.20	0.75	0.18	0.12
比較例 I-9	^{123}I -IMPY	1.02	0.99	0.20	0.08

[0213] (実施例I-22)脳内アミロイドの描出の確認

[0214] 本発明に係る化合物が脳内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。

[0215] (1) $A\beta_{1-40}$ (ペプチド研究所製)をリン酸緩衝液(pH7.4)で溶解して37°Cで72時間振盪させ、1mg/mLの凝集 $A\beta$ 懸濁液(以下、本実施例にてアミロイド懸濁液という)を得た。

[0216] (2) 雄性Wistar系ラット(7週齢)の片側扁桃核へ上記アミロイド懸濁液を25 μL (25 μg 相当)注入し、対照として、反対側の扁桃核にリン酸緩衝生理食塩液(pH7.4)を25 μL 注入した。アミロイド懸濁液及びリン酸緩衝生理食塩液(pH7.4)注入1日後のラットを、検体とした。

[0217] (3) 化合物I-7を10mg/mLアスコルビン酸含有生理食塩液に溶解し、試料溶液と

した(放射能濃度32MBq/mL)。この溶液を、上記ラットに尾静脈より投与した(投与量:0.5mL、投与した放射能:16MBq相当)。

[0218] (4)投与60分後に脳を摘出して、マイクローム(形式:CM3050S、LEICA社製)を用いて厚さ10 μ mの脳切片を作製した。当該脳切片をイメージングプレート上で20時間露光させた後、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)を用いて画像解析を行った。

[0219] (5)バイオイメージングアナライザーを用いた上記画像解析の終了後、チオフラビンTによる病理染色を行って蛍光顕微鏡(株式会社ニコン製、形式:TE2000-U型、励起波長:400~440nm、検出波長:470nm)を用いたイメージングを行い、当該切片上にアミロイドが沈着していることを確認した(図1-12b)。

[0220] アミロイド脳内注入ラットの脳切片におけるオートラジオグラム及びチオフラビンT染色のイメージを図1-12に示す。この図に示すように、アミロイド懸濁液を注入した側の扁桃核において、明らかな放射能集積が認められた。また、放射能集積部位におけるチオフラビンT染色の結果より、当該部位においてアミロイドが存在していることが確認された。一方、生理食塩液を注入した側の扁桃核においては、他の部位と比較した有意な放射能集積は確認されなかった。

この結果より、化合物I-7は、脳内アミロイドに集積する性能を有し、脳内アミロイドの描出能を有することが示唆された。

[0221] (実施例I-23~I-26)復帰突然変異試験

[0222] 化合物I-1、化合物I-2、化合物I-4及び化合物I-5の遺伝子突然変異誘発性を調べるため、ネズミチフス菌(*Salmonella typhimurium*)のTA98及びTA100を用いる復帰突然変異試験(以下、Ames試験という)を行った。

[0223] 試験はS9mix無添加とS9mix添加の場合について実施した。陰性対象はジメチルスルホオキシドを用い、陽性対象はS9mix無添加の場合は2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミドを用い、S9mix添加の場合は2-アミノアントラセンを用いた。

[0224] 試験用プレートへの各試料の添加量は、化合物I-1及び化合物I-5については1250 μ g/プレートを最高用量として7用量(公比4)とし、化合物I-2及び化合物I-4につ

いては5000 μ g/プレートを最高用量として7用量(公比3)とした。被験物質と試験菌株(TA98又はTA100)、あるいは被験物質とS9mixと試験菌株とを混合後、軟寒天を用いて試験用プレート上の培地へ重層し、37°Cで48時間培養した。判定は、培養後のプレートにおける復帰突然変異コロニー数をカウントすることにより行い、復帰突然変異コロニー数が陰性対照の2倍以上の値を示し、更に濃度に依存して増加した場合を陽性とした。

[0225] 結果を表1-8に示す。化合物I-1、化合物I-2、化合物I-4及び化合物I-5処理群における復帰変異コロニー数は、いずれの菌株ともS9mix添加の有無および被験物質添加量にかかわらず、陰性対照物質処理群の2倍未満であった。以上の結果より、化合物I-1、化合物I-2、化合物I-4及び化合物I-5はAmes陰性と判定され、いずれも遺伝子突然変異誘発性は無いものと判断された。

[0226] [表1-8]

表 1 - 8 Ames 試験の結果

	化合物	変異原性			
		S9mix 無添加		S9mix 添加	
		TA98	TA100	TA98	TA100
実施例 I-2 3	化合物 I-1	陰性	陰性	陰性	陰性
実施例 I-2 4	化合物 I-2	陰性	陰性	陰性	陰性
実施例 I-2 5	化合物 I-4	陰性	陰性	陰性	陰性
実施例 I-2 6	化合物 I-5	陰性	陰性	陰性	陰性

[0227] (実施例I-27) 6-トリブチルスタニル-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成

[0228] 参考例I-3で得られた、6-ブロモ-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジン88mg(0.260mmol相当)をジオキサン10.0mLに溶解し、トリエチルアミン2.0mLを加えた後、ビストリブチルスズ0.20mL(0.39mmol相当)とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム20.1mg(触媒量)を加えた。反応混合物を90°Cで9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=4/1)にて精製を行い、6-トリブチルスタニル-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]

]ピリジン71.6mg(0.131mmol相当)を得た(図1-13、工程1)。

[0229] 得られた6-トリブチルスタニル-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンのNMR測定結果(内部標準物質:テトラメチルシラン)は、以下の通りであった。

[0230] 使用NMR装置:JNM-ECP-500(日本電子株式会社製)

$^1\text{H-NMR}$ (溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数:500MHz): δ 7.97 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.77 (dt, $J = 47.2, 4.1$ Hz, 2H), 3.99 (dt, $J = 28.0, 4.1$ Hz, 2H), 1.59-1.53 (m, 6H), 1.39-1.32 (m, 6H), 1.13-1.10 (m, 6H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 9H)。

[0231] $^{13}\text{C-NMR}$ (溶媒:重クロロホルム、共鳴周波数500MHz): δ 158.3, 145.6, 144.9, 131.2, 130.0, 127.4, 121.9, 116.9, 114.9, 106.4, 82.6, 81.3, 67.2, 29.0, 27.3, 13.6, 9.8。

[0232] (実施例I-28)2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-[^{123}I]ヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成

[0233] 6-トリブチルスタニル-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンのメタノール溶液(濃度:1mg/mL)35 μL に、1mol/L塩酸 100 μL 、614MBqの[^{123}I]ヨウ化ナトリウム(容量として、100 μL)、1mmol/Lヨウ化ナトリウム溶液 10 μL 、10%(W/V)過酸化水素20 μL を添加した。当該混合液を50 $^{\circ}\text{C}$ で10分間加熱した後、実施例I-2と同様の条件のHPLCに付して2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-[^{123}I]ヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジン画分を分取し、2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-[^{123}I]ヨードイミダゾ[1,2-a]ピリジンを得た。

[0234] 当該画分に水10mLを添加した液を逆相カラム(商品名:Sep-Pak(登録商標) Light C8 Cartridges、Waters社製、充填剤の充填量:145mg)に通液し、2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-[^{123}I]ヨードイミダゾ[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、エタノール1mLを通液して2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-[^{123}I]ヨードイミダゾ[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64MBqであった。また、下記の条件にてTLC分析を行ったところ、その放射化学的純度は97.0%であった。

[0235] 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:クロロホルム/メタノール/トリエチルアミン=100/1/2

検出器:Rita Star(製品名、raytest社製)

[0236] (実施例I-29、比較例I-10)オクタノール抽出法を用いた分配係数の測定

[0237] 実施例I-28にて調製した化合物I-9のジエチルエーテル溶液(実施例I-29)及び¹²³I-IMPYのジエチルエーテル溶液(比較例I-10)を、それぞれ10mg/mLアスコルビン酸含有生理食塩液にて希釈し、放射能濃度20~30MBq/mLとなるように調整した。調製した試料溶液各10μLをそれぞれオクタノール2mLに添加し、さらに、10mmol/Lリン酸緩衝液(pH7.4)2mLを添加して、30秒間攪拌した。この混合液を低速遠心機で遠心分離(2000回転/分×60分間)した後、オクタノール層及び水層を各1mL分取し、それぞれの放射能カウントをオートウェル・ガンマシステム(形式:ARC-301B、Aloka社製)にて計測した。得られた放射能カウントを用い、式(1-6)を用いてlogP_{octanol}値を算出した。

[0238] [数1-6]

$$\log P_{\text{octanol}} = \log_{10} \left(\frac{\text{オクタノール層の放射能カウント}}{\text{水層の放射能カウント}} \right) \quad \dots \quad (1-6)$$

[0239] 結果を表1-9に示す。logP_{octanol}の値は、化合物I-9においても、1~3の間の値を示していた。BBBを透過可能な化合物においては、logP_{octanol}値は1~3の間の値の値であることが知られている(Douglas D. Dischino et al., J.Nucl.Med., (1983), 24, p. 1030-1038)。以上の結果より、化合物I-9は、IMPY同様にBBB透過性を有するものと示唆された。

[0240] [表1-9]

表 1-9 本発明化合物の $\log P_{\text{octanol}}$ 値

実験	化合物	$\log P_{\text{octanol}}$ 値
比較例 I-10	$[^{123}\text{I}]-\text{IMPY}$	2.1
実施例 I-29	化合物 I-9	2.1

[0241] (実施例I-30、比較例I-11)脳内移行性及びクリアランスの測定(その2)

[0242] 化合物I-9を用い、雄性のWistar系ラット(7週齢)における脳への放射能集積の経時的変化を測定した。

[0243] 化合物I-9(実施例I-30)及び上記参考例にて調製した $[^{123}\text{I}]-\text{IMPY}$ (比較例I-11)を、それぞれ10mg/mLアスコルビン酸含有生理食塩液に溶解した液(放射能濃度20~31MBq/mL)を調製した。これらの液それぞれ0.05mLを、別々のWistar系ラット(7週齢)にチオペンタール麻酔下で尾静脈より投与した。投与後2分、5分、30分、60分に腹部大動脈より脱血した上で脳を採取し、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、残り全身の放射能量を同様に測定した(以下、本実施例にてBとする)。これらの測定結果を用い、下記式(1-7)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分布率(%ID/g)を算出した。

なお、実験は、各時間点において、3匹の動物を用いて行った。

[0244] [数1-7]

$$\%ID/g = \frac{A}{B \times \text{脳の質量}} \times 100 \quad \dots (1-7)$$

[0245] 結果を表1-10に示す。表1-10に示すように、化合物I-9は、 $[^{123}\text{I}]-\text{IMPY}$ 同様、投与後2分点において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I-9は $[^{123}\text{I}]-\text{IMPY}$ 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。

[0246] [表1-10]

表 1-10 本発明化合物の静脈内投与後の脳への放射能分布率 (ラット)

化合物		単位重量当たりの放射能分布率 (% ID/g)			
		2 分後	5 分後	30 分後	60 分後
実施例 I-30	化合物 I-9	0.72	0.49	0.07	0.02
比較例 I-11	¹²³ I-IMPY	1.19	0.97	0.23	0.09

[0247] (実施例I-31)脳内アミロイド描出の確認

[0248] (1) A β ₁₋₄₂ (和光純薬工業)をリン酸緩衝液(pH7.4)で溶解して37°Cで72時間振盪させ、1mg/mLの凝集A β 懸濁液(以下、本実施例にてアミロイド懸濁液という)を得た。

[0249] (2) 雄性Wistar系ラット(7週齢)の片側扁桃核へ上記アミロイド懸濁液を2.5 μ L(25 μ g相当)注入し、対照として、反対側の扁桃核にリン酸緩衝生理食塩液(pH7.4)を2.5 μ L注入した。アミロイド懸濁液及びリン酸緩衝生理食塩液(pH7.4)注入1日後のラットを、検体とした。

[0250] (3) 化合物I-9を10mg/mLアスコルビン酸含有生理食塩液に溶解した試料溶液(試料溶液中の放射能濃度21MBq/mL、実施例I-31)を調製した。この溶液を、上記ラットに、チオペンタール麻酔下で尾静脈より投与した(投与量:0.5mL、投与した放射能:11~15MBq相当)。

[0251] (4) 投与60分後に脳を摘出して、マイクローム(形式:CM3050S、LEICA社製)を用いて厚さ10 μ mの脳切片を作製した。当該脳切片をイメージングプレート上で20時間露光させた後、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)を用いて画像解析を行った。

[0252] (5) バイオイメージングアナライザーを用いた上記画像解析の終了後、チオフラビンTによる病理染色を行って蛍光顕微鏡(株式会社ニコン製、形式:TE2000-U型、励起波長:400~440nm、検出波長:470nm)を用いたイメージングを行い、当該切片上にアミロイドが沈着していることを確認した(図1-14)。

[0253] アミロイド脳内注入ラットの脳切片におけるオートラジオグラム及びチオフラビンT染色のイメージを図1-14に示す。この図に示すように、化合物I-9を投与した検体においても、アミロイド懸濁液を注入した側の扁桃核において、明らかな放射能集積が

認められた。一方、生理食塩液を注入した側の扁桃核においては、他の部位と比較した有意な放射能集積は確認されなかった。また、このオートラジオグラム上において、アミロイド注入部位以外における放射能集積はほとんど見られなかった。なお、チオフラビンT染色の結果より、放射能集積部位においてアミロイドが存在していることが確認されている(図1-14)。以上の結果より、化合物I-9は、脳内アミロイドに集積する性能を有し、脳内アミロイドの描出能を有することが示唆された。

[0254] (実施例I-32)染色体異常試験

[0255] 化合物I-4の染色体異常誘発性の有無を検討するため、チャイニーズ・ハムスター線維芽細胞株(CHL/IU細胞)を用いて、短時間処理法のS9無添加およびS9添加培養系列と連続処理法の24時間培養系列にて染色体異常試験を実施した。被験物質の添加量は、全ての培養系列において1.2、0.6、0.3、0.15 mg/mLの計4用量とした。

[0256] 染色体異常をもつ細胞の出現頻度が陰性対照群と比較して明らかに上昇し、かつ、用量依存性が認められた場合、または、単独な用量で明らかに上昇し、かつ、再現性が認められた場合には陽性と判定し、それ以外は陰性と判定した。

[0257] 試験の結果、化合物I-4で処理した全ての培養系列において、構造異常あるいは数的異常(倍数体)を有する細胞の出現頻度は、陰性対照群と同程度であった。一方、各培養系列の陽性対照群では、構造異常を有する細胞の出現頻度に顕著な増加が認められた。以上の結果から、当該試験条件下における化合物I-4の染色体異常誘発性は陰性と判断された。

[0258] (実施例I-33)小核試験

[0259] 化合物I-4の変異原性(in vivo)を検討するため、Crlj:CD1(ICR)系の雄性マウスの骨髓細胞を用いて小核を有する多染性赤血球(以下、MNPCEという)の誘発性を調べた。

[0260] 試験の用量として0 mg/kg(陰性対照群)、250、500、1000および2000 mg/kg(被験物質群)を設定した。単回経口投与後24および48時間後にマウスを屠殺し、骨髓塗抹標本作製して観察した。また、陽性対照群ではMMCを2 mg/kg単回腹腔内投与し、投与後24時間にマウスを屠殺後、骨髓塗抹標本作製して観察した。

[0261] 各投与群における小核を有するMNPCEの出現頻度に、用量依存性を伴う増加、ま

たは陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められる場合に陽性と判定し、それ以外は陰性と判定した。統計学的解析として各投与群のMNPCEの出現頻度および多染性赤血球(以下、PCEという)と総赤血球(以下、RBCという)の比率について陰性対照群と被験物質群および陽性対照群との間あるいは各群間でWilcoxonの順位和検定により有意差検定を実施した。なお、有意水準はそれぞれ危険率5%未満および1%未満とした。

[0262] 試験の結果、被験物質群の小核を有するMNPCEの出現頻度および、RBCに対するPCEの比率は、陰性対照群と比較して統計学的に有意な差は認められなかった。一方、陽性対照群の小核を有するMNPCEの出現頻度は、陰性対照群と比較して有意に増加した。以上の結果より、当該試験条件下において化合物I-4にマウス骨髄細胞に対する小核誘発作用は認められなかったことから、本被験物質の変異原性(in vivo)は陰性と判断された。

[0263] (実施例II-1～実施例II-2)アミロイド結合性の確認

本発明に係る化合物の結合機序を調べるため、アミリンを前駆体とするアミロイドを用い、チオフラビンTとの結合阻害実験を行った。アミリンは、II型糖尿病において膵臓に蓄積するアミロイドである。

[0264] (方法)

(1)アミリン(ヒト)(和光純薬工業)をリン酸緩衝液(pH7.4)で溶解して37°Cで72時間振盪させ、1mg/mLの凝集化アミリン懸濁液(以下、本実施例にてアミロイド懸濁液という)を得た。

[0265] (2)上記アミロイド懸濁液につき、文献(Naiki, H.ら、Laboratory Investigation, 74, p.374-383(1996))記載の方法に従ってチオフラビンT(Fluka社製)を用いた蛍光光度測定による定性実験を行い、(1)で得た凝集化アミリンがアミロイドであることを確認した(測定条件:励起波長446nm、蛍光波長490nm)。

[0266] (3)アミロイド懸濁液中のアミリン濃度が15 μ Mとなるように50mM リン酸緩衝液(pH 7.4)に溶解した。また、チオフラビンTの濃度が15 μ Mとなるように50mM グリシン-NaOH緩衝液(pH 8.5)に溶解した。

[0267] (4)各評価化合物及びアミロイドの最終濃度が表2-1記載の濃度となるように50m

M リン酸緩衝液(pH 7.4)に溶解したものを試料溶液とし、(3)で調製したアミロイド液及びチオフラビンT液 各50 μ L、試料溶液50 μ Lを96穴マイクロプレートの各ウェル(容量約0.3mL)に充填した。

[0268] [表2-1]

表 2 - 1 試料溶液中における各化合物の最終濃度

実験	評価化合物	評価化合物濃度	チオフラビンT濃度	アミロイド
実施例 II-1	化合物 I-1	0, 1.5, 15, 30	5 μ mol/L	2.6 μ mol/L
実施例 II-2	化合物 I-2	μ mol/L の各濃度		

[0269] (5) 50mM リン酸緩衝液(pH 7.4) 100 μ L及び50mM グリシン-NaOH緩衝液50 μ Lを混合したサンプルをブランクとし、(4)同様に操作して阻害率の計算に用いた(以下、BGとする)。

[0270] (6) 試料溶液を充填したマイクロプレートを、室温で30間静置した後、各試料溶液の蛍光強度を、マイクロプレートリーダー(型式:SPECTRA MAX GEMINI XS、Molecular Devices社製)で測定(測定条件:励起波長446nm、蛍光波長490nm)した(以下、各評価化合物濃度が0の試料における蛍光強度をA、評価化合物濃度が1.5 μ mol/L以上の試料における蛍光強度をBとする)。

[0271] (7) 上記(6)において測定した蛍光強度を用い、下記式(2-1):

[0272] [数2-1]

$$\text{阻害率} = \frac{B - BG}{A - BG} \times 100 \quad (\%) \quad (2-1)$$

[0273] より阻害率を求めた。

[0274] 各評価化合物における阻害率を表2-2に示す。化合物I-1及び化合物I-2共に、いずれの濃度においてもチオフラビンTの結合を阻害していた。この結果より、化合物I-1及び化合物I-2は、チオフラビンTの結合を競合的に阻害することが示された。チオフラビンTは、アミロイドの β シート構造を認識して結合することが一般に知られている。よって、化合物I-1及び化合物I-2は、チオフラビンTと同様のアミロイドへの結

合機序、すなわちβシート構造を認識して結合することが示唆された。

[0275] [表2-2]

表2-2 チオフラビンTのアミロイド（アミリン）への結合に対する本発明化合物の阻害率（%）

実験	評価化合物	阻害率（%）		
		評価化合物 濃度	評価化合物 濃度	評価化合物 濃度
		1.5 μmol/L	15 μmol/L	30 μmol/L
実施例 II-1	化合物 I-1	14.5	37.0	43.7
実施例 II-2	化合物 I-2	28.9	26.6	28.2

[0276] (実施例III)各臓器における放射能分布率の測定

[0277] 本発明に係わる化合物が目的とする臓器に分布し得ること、及び、良好な体外へのクリアランスを有することを確認するため、化合物I-9を用い、SD系ラット(8週齢)における各臓器への放射能集積の経時的変化を測定した。

[0278] 6-トリブチルスタニル-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]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)100 μLに、1mol/L硫酸 100 μL、1mmol/mLヨウ化ナトリウム10 μL、981MBqの¹²³I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度にて10分間静置した後、下記の条件のHPLCに付して¹²³I-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジン画分を分取した。

[0279] HPLC条件:

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

移動相:10mMギ酸緩衝液(pH3.0)/アセトニトリル=80/20→10/90(0分→30分)

流速:1.0 mL/分

検出器:紫外可視吸光光度計(検出波長:254nm)及び放射線検出器(raytest社 STEFFI型)

[0280] 当該画分に水10mL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130mg)に通液し、 $[^{123}\text{I}]-2-[4'-(2''\text{-フルオロエトキシ)フェニル}]-6\text{-ヨードイミダゾ}[1, 2-a]$ 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 $[^{123}\text{I}]-2-[4'-(2''\text{-フルオロエトキシ)フェニル}]-6\text{-ヨードイミダゾ}[1, 2-a]$ ピリジン(化合物I-9)を溶出させた。得られた放射エネルギー量は合成直後において473MBqであった。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98%であった。

[0281] 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)

[0282] 化合物I-9のジエチルエーテル溶液を、10mg/mLアスコルビン酸含有生理食塩液にて希釈し、放射能濃度8~12MBq/mLとなるように調整した。調製した試料溶液各0.2mLを、上記ラットに、無麻酔下で尾静脈より投与した。投与後5分、30分、60分、180分に腹部大動脈より脱血した後、表3記載の各臓器を採取した。採取した各臓器の質量および放射能を、実施例I-30と同様の方法にて計測した。加えて、臓器を採取した後のラットの全身(以下、残全身と称す)の放射能も計測した。これらの測定結果を用い、下記式(3)より、各時間点における、各臓器への単位質量当たりの放射能分布率(%ID/g)を算出した。

なお、実験は、各時間点において、3匹の動物を用いて行った。

[0283] [数3]

$$\%ID/g = \frac{\text{対象臓器の放射能 (cpm)}}{(\text{すべての臓器の放射能の和} + \text{残全身の放射能 (cpm)}) \times (\text{対象臓器の質量 (g)})} \times 100 \quad \dots (3)$$

[0284] 結果を表3に示す。表3に示すように、化合物I-9は、投与後5分において各臓器に分布した後、その放射能の大部分が小腸や大腸へと分布していた。加えて、その放射能分布率が、小腸から大腸へと移行していた。このことから、化合物I-9は、投与後、速やかに胆汁排泄され、良好な体外へのクリアランスを有することが示された。また、アミロイドが蓄積するとされる、脳、心臓、肺、脾臓、骨などを見てみると、各組

織共に、投与後5分において明らかな放射能集積がみられ、化合物I-9が分布していることが確認された。また、投与後5分と投与後180分の比((投与後5分の%ID/g)/(投与後180分の%ID/g))が、それぞれ、脳が94、心臓が18、肺が9、脾臓が9、骨が6と高い値を示していた。このことから、アミロイドが蓄積するとされる組織において、速やかな放射能分布および速やかなクリアランスがなされていることが示された。

以上より、生体組織中においてアミロイド検出試薬として必要な、投与後早期における放射能分布および速やかな体外クリアランスが達成されていることが示された。

[0285] [表3]

表3

組織 /臓器	投与後5分		投与後30分		投与後60分		投与後180分	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
血液	0.370	0.010	0.142	0.013	0.108	0.005	0.074	0.012
脳	0.701	0.039	0.067	0.010	0.026	0.004	0.007	0.001
心臓	0.551	0.036	0.111	0.007	0.059	0.004	0.030	0.006
肺	0.647	0.067	0.192	0.032	0.130	0.013	0.074	0.010
肝臓	2.399	0.130	0.337	0.019	0.178	0.022	0.067	0.008
脾臓	0.442	0.029	0.092	0.005	0.069	0.007	0.037	0.007
膵臓	0.650	0.027	0.236	0.022	0.115	0.012	0.073	0.053
胃	0.287	0.077	0.619	0.268	0.672	0.042	0.812	0.196
小腸	1.259	0.306	6.598	0.212	8.235	0.654	2.657	1.024
大腸	0.106	0.022	0.070	0.007	0.074	0.018	5.241	0.684
腎臓	1.114	0.112	0.560	0.073	0.302	0.034	0.108	0.026
副腎	3.914	0.521	0.457	0.090	0.260	0.014	0.017	0.030
骨	0.187	0.019	0.067	0.009	0.045	0.007	0.032	0.006
骨髄	0.815	0.211	0.075	0.066	0.000	0.000	0.000	0.000
筋肉	0.239	0.008	0.052	0.004	0.031	0.000	0.016	0.003

産業上の利用可能性

[0286] 本発明に係る生体組織中のアミロイド検出試薬は、全身性アミロイドーシスをはじめとするアミロイドーシスにおけるアミロイド蛋白質のインビトロ(in vitro)及びインビボ(in vivo)での診断剤に利用することができる。

図面の簡単な説明

[0287] [図1-1]6-トリブチルスタニル-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1,2-a]ピリジンの合成スキーム。

[図1-2]6-ブロモ-2-[4'-(3"-パラトルエンシルホニルオキシプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム

[図1-3]6-ブロモ-2-[4'-(2"-パラトルエンシルホニルオキシエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム

[図1-4]6-ブロモ-2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム。

[図1-5]2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム。

[図1-6]6-ブロモ-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム。

[図1-7]2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム。

[図1-8]2-[4'-(3"-フルオロプロポキシ)フェニル]-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリミジンの合成スキーム。

[図1-9][¹²⁵I]-2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム。

[図1-10]2-(4'-ヒドロキシフェニル)-6-ヨードイミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム。

[図1-11]試料溶液中のアミロイド濃度と放射能濃度との関係。

[図1-12](a)化合物I-7投与後の脳切片におけるオートラジオグラム及び(b)チオフラビンT染色試料の蛍光顕微鏡像(アミロイド懸濁液投与部位の拡大表示。)

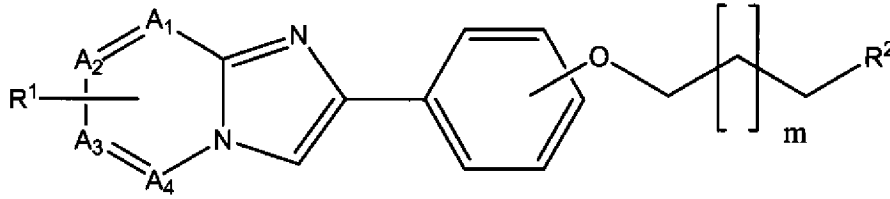
[図1-13]6-トリブチルスタニル-2-[4'-(2"-フルオロエトキシ)フェニル]イミダゾ[1, 2-a]ピリジンの合成スキーム。

[図1-14](a)化合物I-9投与後の脳切片におけるオートラジオグラム及び(b)チオフラビンT染色試料の蛍光顕微鏡像(アミロイド懸濁液投与部位の拡大表示。)

請求の範囲

[1] 下記式(1):

[化1]



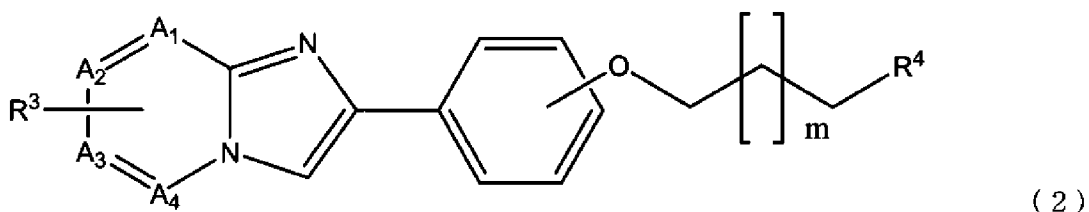
(1)

(式中、A₁、A₂、A₃及びA₄はそれぞれ独立に炭素又は窒素、
R¹はハロゲン置換基、
R²はハロゲン置換基、
mは0～2の整数である。

ただし、R¹及びR²の少なくともいずれか一方は放射性ハロゲン置換基であり、かつ、
A₁、A₂、A₃及びA₄のうち少なくとも一つは炭素であって、R¹は、炭素であるA₁、A₂、
A₃又はA₄に結合する。)で表される化合物又はその塩を含有してなる、生体組織
に沈着したアミロイドの検出試薬。

- [2] A₁、A₂、A₃及びA₄のうち、少なくとも3つが炭素である、請求項1記載の試薬。
- [3] A₁、A₂、A₃及びA₄が全て炭素である、請求項2記載の試薬。
- [4] R¹が、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁶Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I及び¹³¹Iからなる群より選択されたものである、
請求項1～3のいずれか1項に記載の試薬。
- [5] R²が、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁶Br、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I及び¹³¹Iからなる群より選択されたものである、
請求項1～4のいずれか1項に記載の試薬。
- [6] 生体組織が、脳、心臓、肺、脾臓、骨又は関節である請求項1～5の何れか1項に記載
の試薬。
- [7] 下記式(2):

[化2]

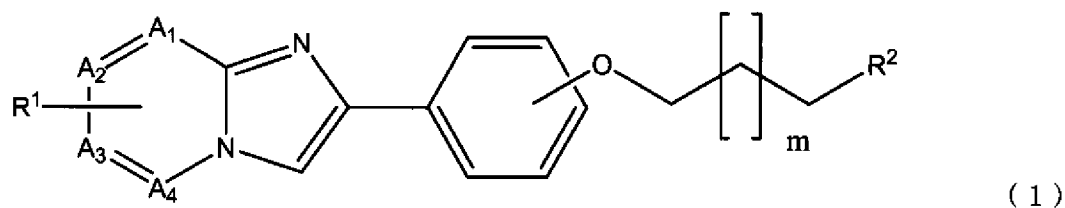


(式中、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 はそれぞれ独立に炭素又は窒素、 R^3 は非放射性ハロゲン置換基、ニトロ置換基、アルキル鎖の炭素数が1~4であるトリアルキルアンモニウム置換基、アルキル鎖の炭素数が1~4であるトリアルキルスタニル置換基、及びトリフェニルスタニル基からなる群より選ばれる基、 R^4 は非放射性ハロゲン置換基、メタンスルホン酸置換基、トリフルオロメタンスルホン酸置換基及び芳香族スルホン酸置換基からなる群より選ばれる基、 m は0~2の整数である。

ただし、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうちの少なくとも一つは炭素であって、 R^3 は、炭素である A_1 、 A_2 、 A_3 又は A_4 に結合する。) で表される化合物又はその塩と、放射性ハロゲンイオンとを含む反応溶液を調製する工程と、

前記反応溶液に反応条件を与えることによって、下記式(1)：

[化3]



(式中、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 はそれぞれ独立に炭素又は窒素、

R^1 はハロゲン置換基、

R^2 はハロゲン置換基、

m は0~2の整数である。

ただし、 R^1 及び R^2 の少なくともいずれか一方は放射性ハロゲン置換基であり、かつ、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうちの少なくとも一つは炭素であって、 R^1 は、炭素である A_1 、 A_2 、 A_3 又は A_4 に結合する。) で表される化合物又はその塩で表される化合物又はその

- 塩を合成する工程と、
を含むことを特徴とする、放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。
- [8] A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうち、少なくとも3つが炭素である、請求項7記載の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。
- [9] A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 が全て炭素である、請求項8記載の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。
- [10] R^3 が非放射性ヨウ素、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置換基からなる群より選ばれる基、
 R^2 及び R^4 が非放射性ハロゲン置換基、
放射性ハロゲンイオンが、 ^{123}I イオン、 ^{124}I イオン、 ^{125}I イオン及び ^{131}I イオンからなる群より選択されたもの、
 R^1 が ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 及び ^{131}I からなる群より選択されたものである、
請求項7~9のいずれか1項に記載の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。
- [11] R^3 がニトロ置換基又は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置換基、
 R^2 及び R^4 が非放射性ハロゲン置換基、
放射性ハロゲンイオンが、 ^{18}F イオン、
 R^1 が ^{18}F である、
請求項7~9のいずれか1項に記載の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。
- [12] R^3 が非放射性シュウ素、
 R^2 及び R^4 が非放射性ハロゲン置換基、
放射性ハロゲンイオンが、 ^{75}Br イオンまたは ^{76}Br イオン、
 R^1 が ^{75}Br または ^{76}Br である、
請求項7~9のいずれか1項に記載の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。
- [13] R^1 及び R^3 が非放射性ハロゲン置換基、
 R^4 がメタンスルホン酸置換基、トリフルオロメタンスルホン酸置換基及び芳香族スルホン酸置換基からなる群より選ばれる基、
放射性ハロゲンイオンが、 ^{18}F イオン、

R^2 が ^{18}F である、

請求項7～9のいずれか1項に記載の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。

[14] R^1 及び R^3 が非放射性ハロゲン置換基、

R^4 が非放射性ヨウ素、

放射性ハロゲンイオンが、 ^{123}I イオン、 ^{124}I イオン、 ^{125}I イオン及び ^{131}I イオンからなる群より選択されたもの、

R^2 が ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 及び ^{131}I からなる群より選択されたものである、

請求項7～9のいずれか1項に記載の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。

[15] R^1 及び R^3 が非放射性ハロゲン置換基、

R^4 が非放射性セウ素、

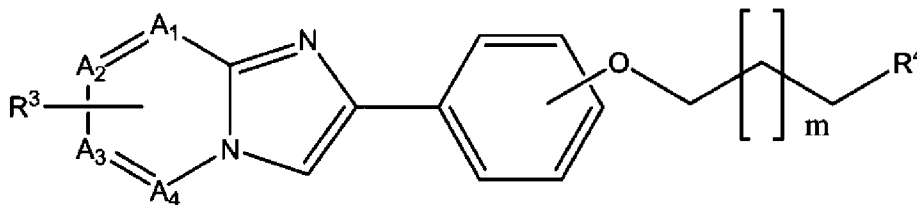
放射性ハロゲンイオンが、 ^{75}Br イオンまたは ^{76}Br イオン、

R^2 が ^{75}Br または ^{76}Br である、

請求項7～9のいずれか1項に記載の放射性ハロゲン標識有機化合物の製造方法。

[16] 下記式(2)：

[化4]



(2)

(式中、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 はそれぞれ独立に炭素又は窒素、

R^3 は非放射性ハロゲン置換基、ニトロ置換基、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置換基、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、

R^4 は非放射性ハロゲン置換基、メタンスルホン酸置換基、トリフルオロメタンスルホン酸置換基及び芳香族スルホン酸置換基からなる群より選ばれる基、

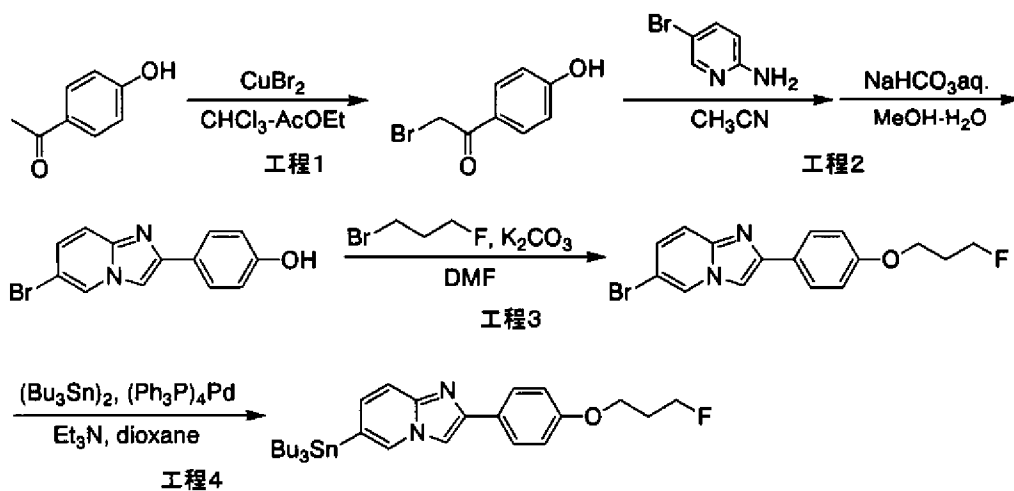
m は0～2の整数である。

ただし、 A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうちの少なくとも一つは炭素であって、 R^3 は、炭素である A_1 、 A_2 、 A_3 又は A_4 に結合する。)で表される放射性ハロゲン標識有機化合物合成

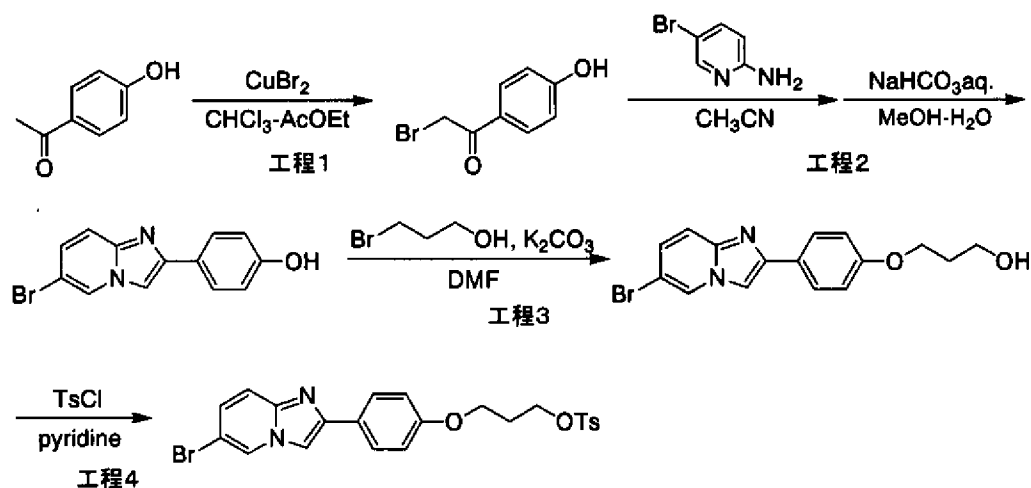
用の前駆体化合物又はその塩。

- [17] A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 のうち、少なくとも3つが炭素である、請求項16記載の放射性ハロゲン標識有機化合物合成用の前駆体化合物又はその塩。
- [18] A_1 、 A_2 、 A_3 及び A_4 が全て炭素である、請求項17記載の放射性ハロゲン標識有機化合物合成用の前駆体化合物又はその塩。

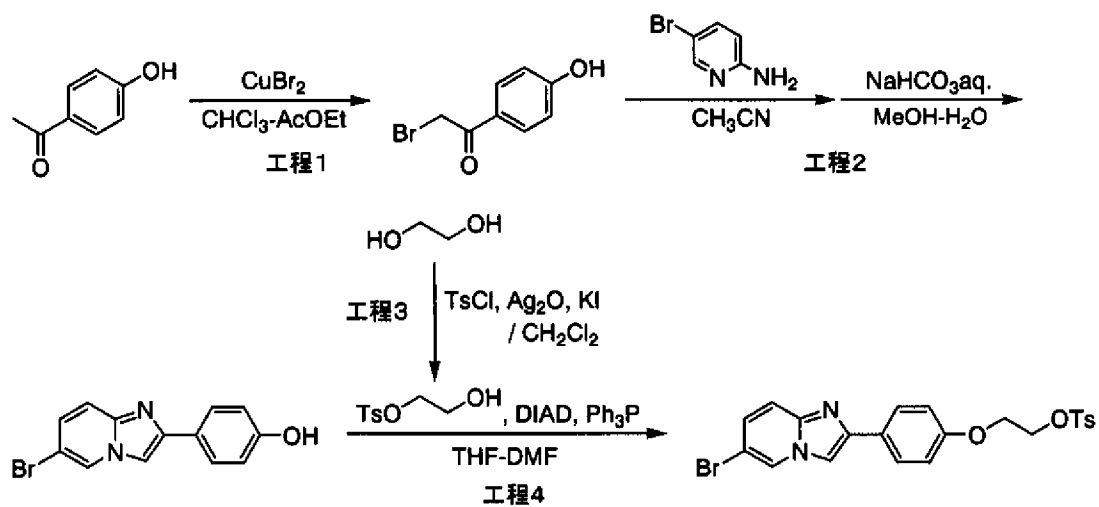
[図1-1]



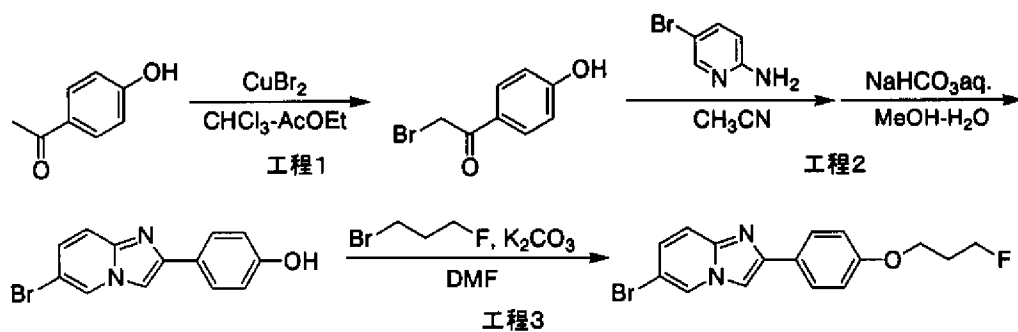
[図1-2]



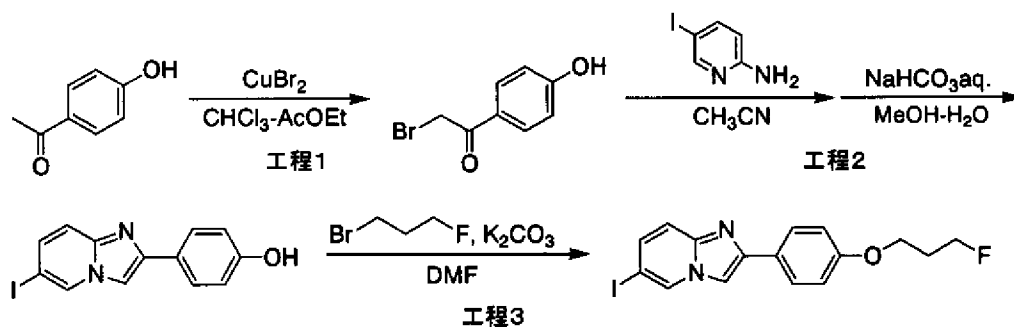
[図1-3]



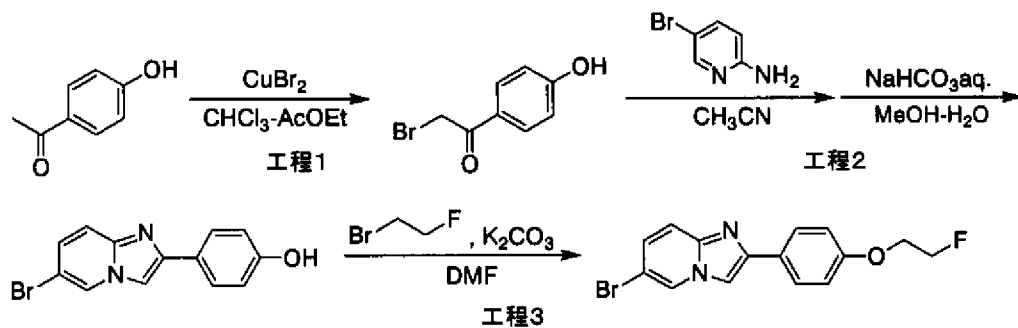
[图1-4]



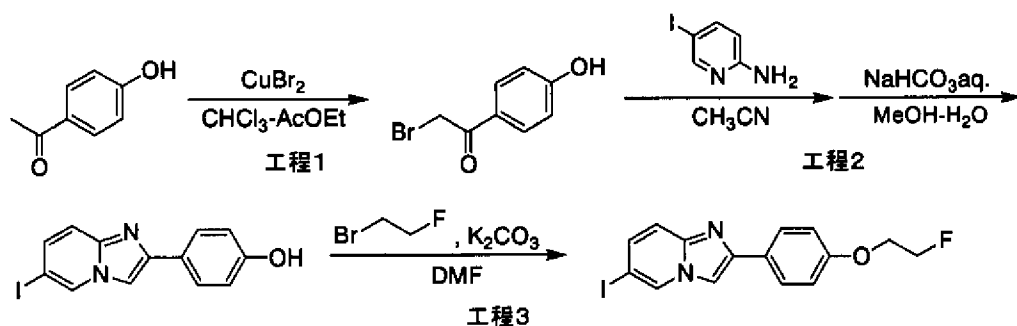
[图1-5]



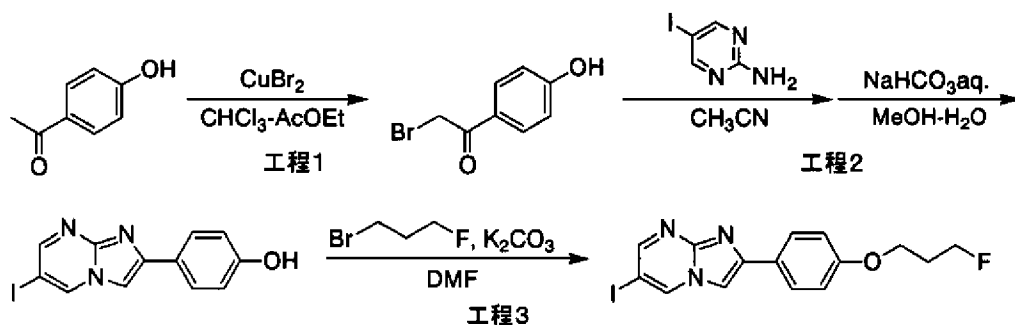
[图1-6]



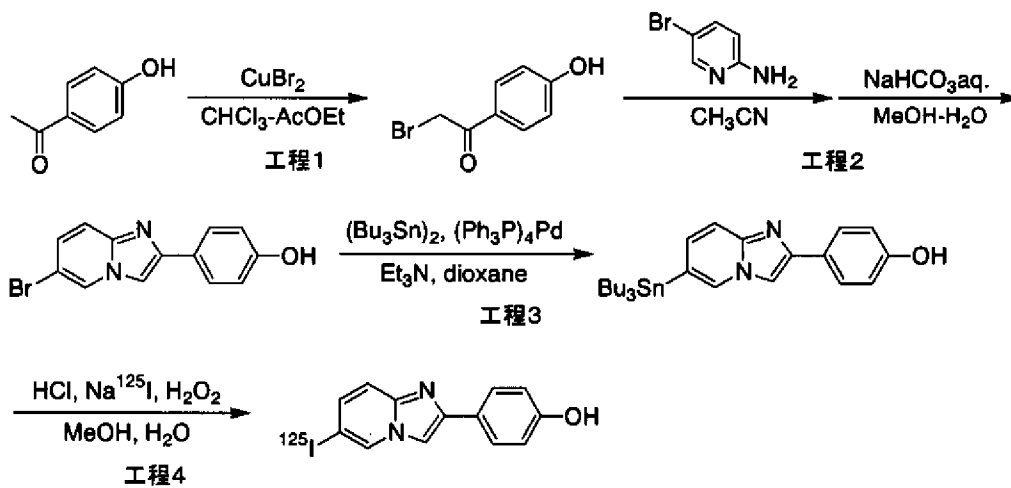
[图1-7]



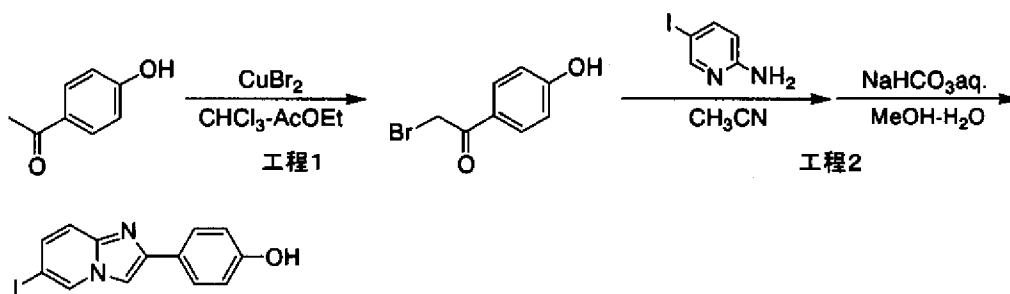
[图1-8]



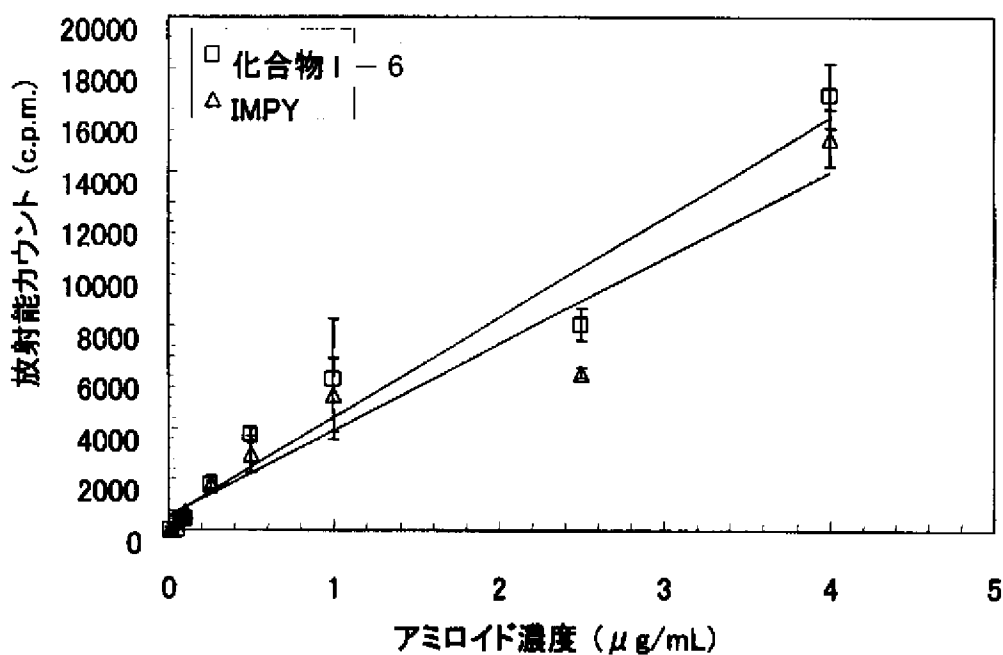
[図1-9]



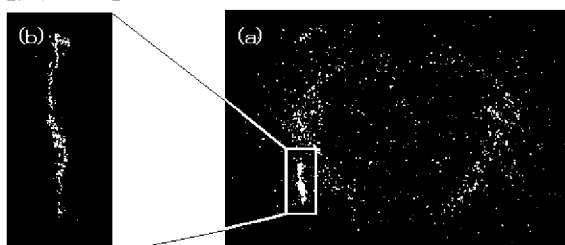
[図1-10]



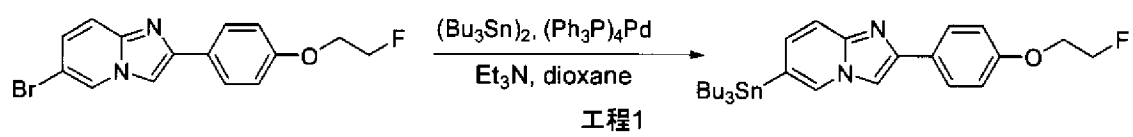
[図1-11]



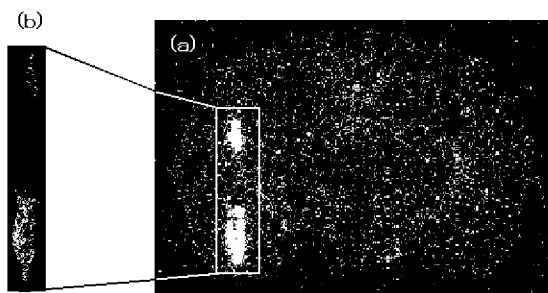
[図1-12]



[図1-13]



[図1-14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2008/069502

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K51/00(2006.01) i, C07D471/04(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K51/00, C07D471/04

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2008
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2008	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2008

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (STN), JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII), JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 63-91391 A (Ortho Pharmaceutical Corp.), 22 April, 1988 (22.04.88), Claims; page 7, lower column; example 3 & US 4727145 A & US 4791117 A & US 4833149 A & US 4871745 A & EP 261912 A2	16-18 1-15
P, X	WO 2007/135890 A1 (Nihon Medi-Physics Co., Ltd.), 29 November, 2007 (29.11.07), Full text (Family: none)	1-18

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 21 November, 2008 (21.11.08)	Date of mailing of the international search report 02 December, 2008 (02.12.08)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/069502

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2005-512945 A (The Trustees of the University of Pennsylvania), 12 May, 2005 (12.05.05), & WO 2002/085903 A2 & EP 1381604 A2 & US 2004/0131545 A1	1-18
A	WO 2001/074813 A2 (ORTHO MCNEIL PHARMACEUTICAL, INC.), 11 October, 2001 (11.10.01), & US 2001/0051632 A1 & EP 1268478 A	1-18
A	JP 2004-525192 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), 19 August, 2004 (19.08.04), & US 2003/0212096 A1 & EP 1381363 A & WO 2002/092086 A1	1-18
A	JP 2001-43978 A (Mitsui Chemicals, Inc.), 16 February, 2001 (16.02.01), (Family: none)	1-18
A	WO 2005/066177 A1 (SCHERING PLOUGH LTD.), 21 July, 2005 (21.07.05), & US 2005/0182059 A1 & EP 1699799 A & WO 2005/066177 A1	1-18
A	JP 2005-526749 A (Novartis AG.), 08 September, 2005 (08.09.05), & US 2005/0169837 A1 & EP 1483262 A & WO 2003/074519 A1	1-18

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. A61K51/00(2006.01)i, C07D471/04(2006.01)i

B. 調査を行った分野
 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. A61K51/00, C07D471/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2008年
日本国実用新案登録公報	1996-2008年
日本国登録実用新案公報	1994-2008年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
 BIOSIS(STN), CAplus(STN), EMBASE(STN), MEDLINE(STN), REGISTRY(STN), JSTPlus(JDreamII), JMEDPlus(JDreamII), JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 63-91391 A (オーソ・ファーマシューチカル・コーポレーション) 1988.04.22,	16-18
A	特許請求の範囲, 第7頁下欄, 実施例3 & US 4727145 A & US 4791117 A & US 4833149 A & US 4871745 A & EP 261912 A2	1-15

C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー	の日の後に公表された文献
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)	「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日 21.11.2008	国際調査報告の発送日 02.12.2008
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 安居 拓哉 電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	WO 2007/135890 A1 (日本メジフィジックス株式会社) 2007. 11. 29, 全文参照 (ファミリーなし)	1-18
A	JP 2005-512945 A (ザ・トラスティーズ・オブ・ザ・ユニバーシテ ィ・オブ・ペンシルバニア) 2005. 05. 12, & WO 2002/085903 A2 & EP 1381604 A2 & US 2004/0131545 A1	1-18
A	WO 2001/074813 A2 (ORTHO MCNEIL PHARMACEUTICAL, INC.) 2001. 10. 11, & US 2001/0051632 A1 & EP 1268478 A	1-18
A	JP 2004-525192 A (エフ・ホフマンーラ ロシュ アーゲー) 2004. 08. 19, & US 2003/0212096 A1 & EP 1381363 A & WO 2002/092086 A1	1-18
A	JP 2001-43978 A (三井化学株式会社) 2001. 02. 16, (ファミリーなし)	1-18
A	WO 2005/066177 A1 (SCHERING PLOUGH LTD.) 2005. 07. 21, & US 2005/0182059 A1 & EP 1699799 A & WO 2005/066177 A1	1-18
A	JP 2005-526749 A (ノバルティス アクチエンゲゼルシャフト) 2005. 09. 08, & US 2005/0169837 A1 & EP 1483262 A & WO 2003/074519 A1	1-18