

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5347164号  
(P5347164)

(45) 発行日 平成25年11月20日(2013.11.20)

(24) 登録日 平成25年8月30日(2013.8.30)

(51) Int.Cl.

F 1

C07D 403/06 (2006.01)

C07D 403/06

C S P

C07D 403/12 (2006.01)

C07D 403/12

A61K 51/00 (2006.01)

A61K 49/02

C

請求項の数 31 (全 41 頁)

(21) 出願番号	特願2010-502341 (P2010-502341)
(86) (22) 出願日	平成20年4月4日(2008.4.4)
(65) 公表番号	特表2010-523596 (P2010-523596A)
(43) 公表日	平成22年7月15日(2010.7.15)
(86) 国際出願番号	PCT/US2008/059505
(87) 国際公開番号	W02008/124651
(87) 国際公開日	平成20年10月16日(2008.10.16)
審査請求日	平成23年3月25日(2011.3.25)
(31) 優先権主張番号	60/921,932
(32) 優先日	平成19年4月5日(2007.4.5)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	60/964,254
(32) 優先日	平成19年8月10日(2007.8.10)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者 513183463  
スレッショルド ファーマスティカルズ  
, インコーポレイテッド  
Threshold Pharmaceuticals, Inc.  
アメリカ合衆国 94080 カリフォル  
ニア サウス サンフランシスコ ハーバ  
ーウェイ 170 スイート 300  
170 Harbor Way, Sui  
te 300, South San F  
rancisco, CA 94080,  
U. S. A.  
(74) 代理人 100075166  
弁理士 山口 嶽

最終頁に続く

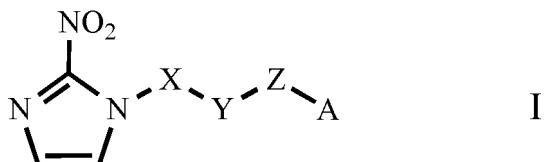
(54) 【発明の名称】ニトローアミダゾール低酸素造影剤

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 I の化合物。

## 【化 1】



10

式中：

X は、(C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub>) アルキレンイルであり、ここで、(C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub>) アルキレンイル炭素原子の 1 つが、-CO-、-CONR' -、-NR'CO-、-NR'-O- 及び -S- から選択された基で、置換されていてもよく；

Y は、下式のトリアゾリルであり；

【化 2】



## Anti-トリアゾール

## Syn-トリアゾール

Z は、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレン基であり、ここで、X<sup>1</sup>は、それぞれ、独立してヒドロキシル、チオール及びアミノからなる群から選択され；

A は、<sup>1 8</sup> F であり；そして、

R' は、Hであるか、又は、(C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub>)アルキル、-CO(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>)アルキル、-CONH(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>)アルキル及びCO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>)アルキルからなる群から選択される。

【請求項 2】

X が (C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub>) アルキレン基である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

Xが、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-及び-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-からなる群から選択される、請求項2に記載の化合物。

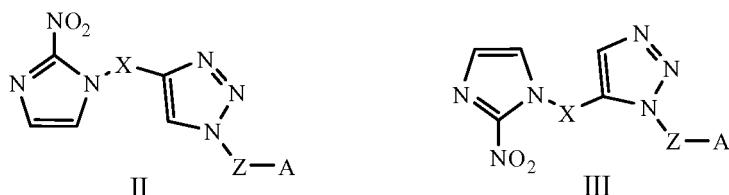
【請求項4】

Xが、-CONR'、-、-(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキルCONR'、-、-CONR'(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキル-及び(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキルCONR'(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキルからなる群から選択され、R'がH又は(C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>)アルキルである、請求項1に記載の化合物。

### 【請求項 5】

式 T-T 又は T-T-T の化合物である請求項 1 に記載の化合物。

【化 3】



式中：

Xは、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレンイルであり、

ここで、(C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub>)アルキレニル炭素原子の1つが、-CO-、-CONR'、-NR'、CO-、-NR'、-O-及び-S-から選択された基で、置換されてもよく；

Zは、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基であり、ここで、X<sup>1</sup>は、それぞれ、独立してヒドロキシリ、チオール及びアミノからなる群から選択され；

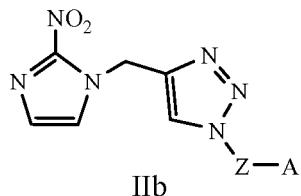
A は、<sup>1 8</sup> F であり；そして、

R' は、H であるか、又は ( $C_1 \sim C_6$ ) アルキル、-CO( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル、  
-CONH ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル及び  $CO_2$  ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキルからなる群から選択される。

【請求項 6】

式 II b の化合物。

## 【化4】



式中：

Zは、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない(C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>)アルキレニル基であり、ここで、X<sup>1</sup>は、それぞれ独立して、ヒドロキシル、チオール及びアミノからなる群から選択され；そして、

Aは、<sup>1-8</sup>Fである。

## 【請求項7】

Zが、ヒドロキシル、チオール及びアミノからなる群から独立して選択された1、2又は3個の基で置換されていてもよい(C<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>)アルキレニル基である、請求項1～6のいずれか一項に記載の化合物。

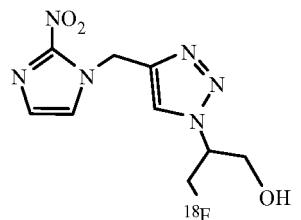
## 【請求項8】

Zが、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-及びCH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-からなる群から選択される、請求項7に記載の化合物。

## 【請求項9】

下式の化合物である請求項1に記載の化合物。

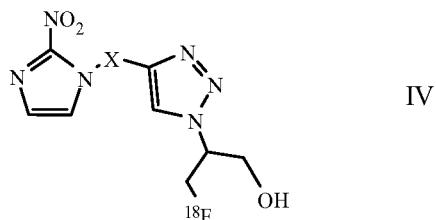
## 【化5】



## 【請求項10】

式I～Vの化合物。

## 【化6】



式中：

Xは、(C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>)アルキレニルであり、

ここで、(C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>)アルキレニル炭素原子の1つが、-CO-、-CONR'、-NR'CO-、-NR'-O-及び-S-から選択された基で、置換されていてもよく；

R'は、Hであるか、又は(C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>)アルキル、-CO(C<sub>1</sub>～C<sub>3</sub>)アルキル、

10

20

30

40

50

- C O N H ( C <sub>1</sub> ~ C <sub>3</sub> ) アルキル及び C O <sub>2</sub> ( C <sub>1</sub> ~ C <sub>3</sub> ) アルキルからなる群から選択される。

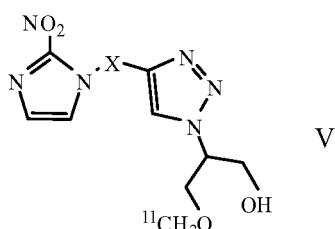
【請求項 1 1】

X が、( C <sub>1</sub> ~ C <sub>5</sub> ) アルキレニルであるか、或いは ( C <sub>1</sub> ~ C <sub>10</sub> ) アルキレニル炭素原子の 1 つが、- C O N R ' - 又は - N R ' C O - から選択された基で、置換されてもよい請求項 1 0 に記載の化合物。

【請求項 1 2】

式 V の化合物。

【化 7】



10

式中：

X は、( C <sub>1</sub> ~ C <sub>10</sub> ) アルキレニルであり、

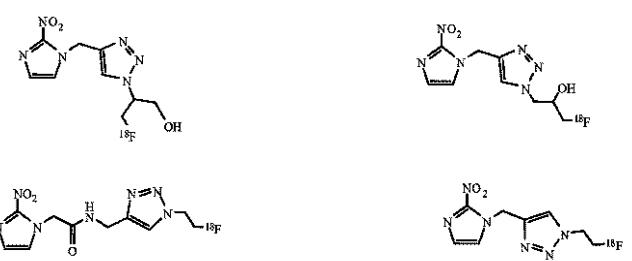
ここで、( C <sub>1</sub> ~ C <sub>10</sub> ) アルキレニル炭素原子の 1 つが、- C O - 、 - C O N R ' - 、 - N R ' C O - 、 - N R ' - 、 - O - 及び - S - から選択された基で、置換されてもよく；

R ' は、H であるか、又は ( C <sub>1</sub> ~ C <sub>6</sub> ) アルキル、- C O ( C <sub>1</sub> ~ C <sub>3</sub> ) アルキル、- C O N H ( C <sub>1</sub> ~ C <sub>3</sub> ) アルキル及び C O <sub>2</sub> ( C <sub>1</sub> ~ C <sub>3</sub> ) アルキルからなる群から選択される。

【請求項 1 3】

以下からなる群から選択された請求項 1 に記載の化合物。

【化 9】

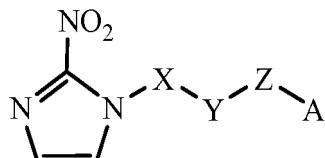


30

【請求項 1 4】

a) 請求項 1 の式 I の化合物を含有してなる、PETにより哺乳動物の細胞中の低酸素症を検出するための組成物。

【化 1 0】



40

I

( 式中、X 、 Y 、 Z 及び A は、請求項 1 で定義したと同様である。 )

【請求項 1 5】

X が ( C <sub>1</sub> ~ C <sub>4</sub> ) アルキレニル基である、請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

50

$X$  が、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-$  及び  $-CH_2-CH_2-CH_2-$  からなる群から選択される、請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

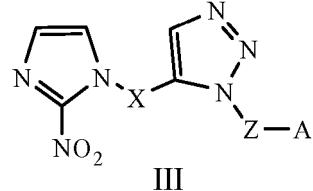
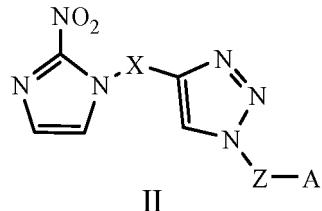
$X$  が、 $-CONR'$ 、 $-(C_1 \sim C_4)$  アルキル  $CONR'$ 、 $-CONR'$  ( $C_1 \sim C_4$ ) アルキル 及び  $-(C_1 \sim C_4)$  アルキル  $CONR'$  ( $C_1 \sim C_4$ ) アルキル からなる群から選択され、ここで、 $R'$  が  $H$  又は  $(C_1 \sim C_3)$  アルキルである、請求項 14 に記載の組成物。

【請求項 18】

式 I の化合物が、式 II 又は III の化合物である請求項 14 に記載の組成物。

【化 12】

10



式中：

$X$  は、 $(C_1 \sim C_{10})$  アルキレニルであり、

20

ここで、 $(C_1 \sim C_{10})$  アルキレニル炭素原子の 1 つが、 $-CO-$ 、 $-CONR'$ 、 $-NR'CO-$ 、 $-NR'-O-$  及び  $-S-$  から選択された基で、置換されていてもよく；

$Z$  は、1、2、3 若しくは 4 個の  $X^1$  で置換され又は置換されていない  $(C_1 \sim C_{10})$  アルキレニル基であり、ここで、 $X^1$  は、それぞれ、独立してヒドロキシル、チオール及びアミノからなる群から選択され；

$A$  は、 $^{1\sim 8}F$  であり；

$R'$  は、 $H$  であるか、又は  $(C_1 \sim C_6)$  アルキル、 $-CO(C_1 \sim C_3)$  アルキル、 $-CONH(C_1 \sim C_3)$  アルキル及び  $CO_2(C_1 \sim C_3)$  アルキルからなる群から選択される。

30

【請求項 19】

式 I の化合物が式 II の化合物である、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

$Z$  が、1、2 若しくは 3 個のヒドロキシル基又は 1、2 若しくは 3 個のヒドロキシ ( $C_1 \sim C_4$ ) アルキル基で置換されていてよい、 $(C_1 \sim C_4)$  アルキレニル基である請求項 14 ~ 19 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 21】

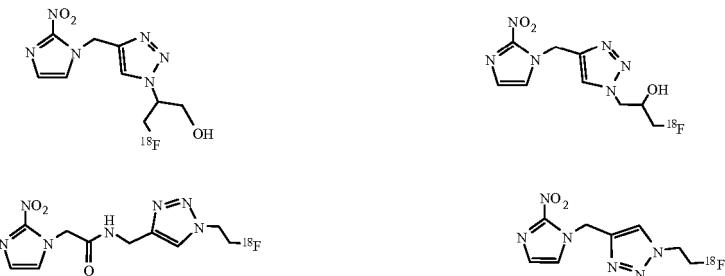
$Z$  が、 $-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$  及び  $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$  からなる群から選択される、請求項 20 に記載の組成物。

40

【請求項 22】

式 I の化合物が下式の化合物である、請求項 14 に記載の組成物。

## 【化13】



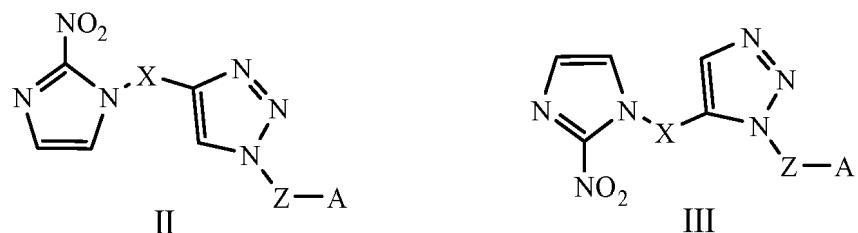
## 【請求項23】

10

低酸素細胞が、腫瘍細胞又は虚血性細胞である、請求項14に記載の組成物。

## 【請求項24】

請求項5の式II若しくはIIIの化合物又はそれらの混合物を調製する方法であって  
【化14】

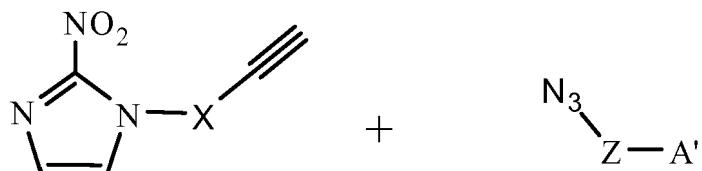


20

(式中：X、Z及びAは、請求項5で定義したと同様である。)：

a) アジド置換化合物A'-Z-N<sub>3</sub>を、アセチレン置換ニトロイミダゾールで処理する事(ここで、A'は脱離基である)；

## 【化15】



30

及び

b) A'を放射性標識化剤で置き換えることにより、ステップa)の生成物を放射性標識化することによって、化合物II若しくはIII又はその混合物を形成すること(ここで、Aは、<sup>18</sup>Fである。)

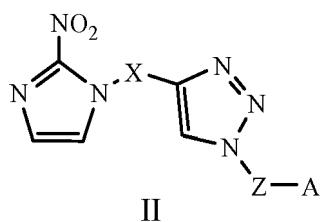
を含んでなる方法。

## 【請求項25】

式IIの化合物を調製する方法である請求項24に記載の方法。

## 【化16】

40



## 【請求項26】

放射性標識化剤がK<sup>18</sup>Fである、請求項24に記載の方法。

## 【請求項27】

検出を必要としている哺乳動物における低酸素癌の検出のための医薬の製造における請

50

求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の化合物の使用であって、前記検出が検出上有効量の前記化合物を哺乳動物に投与することを含んでなる使用。

【請求項 28】

前記化合物が、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の非放射性標識化化合物である、請求項 27 に記載の使用。

【請求項 29】

前記化合物が、直腸、局所、経口、舌下又は非経口的に投与される、請求項 27 に記載の使用。

【請求項 30】

前記化合物が、1日当たり、0.001から100 mg / kg (哺乳動物の体重) 投与 10  
される、請求項 27 に記載の使用。

【請求項 31】

前記化合物が、1日当たり、0.1から50 mg / kg (哺乳動物の体重) 投与される  
、請求項 27 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、イン ヴィヴォ (in vivo) で低酸素細胞の検出に有用な、新規な放射性標識化生体還元性トレーサーに関する。一側面において、本出願は、低いバックグラウンド取り込みを示し、良好な腫瘍 / バックグラウンド比を生じる新規な低酸素造影剤に関する。 20

【背景技術】

【0002】

陽電子放射断層撮影 (PET) は、疾患の検出に有効に用いられる分子イメージング技術である。PETイメージングシステムは、患者の組織における陽電子放射同位元素の分布に基づいて画像を創り出す。同位元素は、典型的には、細胞内で容易に代謝され若しくは局在化される分子 (例えば、グルコース) 又は細胞内部の受容体部位に化学的に結合する分子に共有結合した、F-18、C-11、N-13 又はO-15 のような、陽電子放射同位元素を含むプローブ分子の注射によって、患者に投与される。ある場合には、同位元素はイオン溶液として又は吸入によって患者に投与される。最も広く用いられる陽電子放射体標識化 PET 分子イメージングプローブの一つは、2-デオキシ-2-[<sup>18</sup>F]フルオロ-D-グルコース ([<sup>18</sup>F]FDG) である。 30

【0003】

グルコース輸送体及びヘキソキナーゼを主として標的とするグルコース類似体 [<sup>18</sup>F]FDG を用いる PET スキャニングは、癌の早期検出、病期診断及び再病期診断のための正確な臨床手段である。PET-FDG イメージングは、また、グルコース利用率の初期変化が結果予測と相關することが示されているので、癌の化学療法及び化学放射線療法をモニターするために用いられている。腫瘍細胞の特徴的な性質は、急速に増殖する腫瘍組織の高い代謝要求に起因する、加速された糖分解速度である。グルコースと同様に、FDG は、グルコース輸送体を介して癌細胞に取り込まれ、ヘキソキナーゼによってリン酸化されて FDG-6リン酸となる。FDG-6リン酸は、糖分解連鎖を先に進むことができず、又はその電荷のため細胞を離れることができず、その結果、高い糖分解速度を有する細胞が検出可能となる。 40

【0004】

FDG-PET イメージングは、多くの状況で有用であるが、癌をモニターするための限界も存在する。炎症組織における蓄積は、FDG-PET の特異性を制限する。逆に、非特異的な FDG の取り込みは、腫瘍応答予測のための PET の感度を制限する可能性もある。治療で誘発された細胞ストレス反応が、放射線療法及び化学療法薬によって処置された腫瘍細胞系に、FDG 取り込みの一時的な増大をもたらすことが示されている。更に、(例えば脳内における) 生理的に高い正常バックグラウンド活性は、身体の幾つかの領 50

域において、癌に関連した F D G 取り込みの定量化を不可能にする可能性がある。

**【 0 0 0 5 】**

これらの制限があるため、癌組織における他の酵素媒介性の転換を標的とする、他の P E T イメージングトレーサー、例えば D N A 複製のための 3' - [ F - 1 8 ] フルオロ - 3' - デオキシチミジン ( F L T ) 及びコリンキナーゼのための [ C - 1 1 ] ( メチル ) コリン、並びに超高特異活性受容体 - リガンド結合 ( 例えば、 1 6 [ F - 1 8 ] フルオロエストラジオール ) 及び潜在的遺伝子発現 ( 例えば、 [ F - 1 8 ] フルオロ - ガンシクロビル ) 等が開発されつつある。癌の非侵襲的 P E T イメージングに分子標的剤が大きな潜在的価値を有することが実証されている。

**【 0 0 0 6 】**

これらの研究は、非侵襲的 P E T イメージングが癌の特定の代謝標的に対して大いに価値のあることを実証している。P E T イメージングを患者の管理に組み入れることには明らかな臨床的価値があるにもかかわらず、制限も存在する。いくつかの例では、現在用いられているイメージングプローブは特異性を欠くか又はバックグラウンド特性に対して不十分なシグナルを有する。更に、治療的介入のために試験されている新しい生体標的は、治療可能性を評価するための新しいイメージングプローブを必要とする。

10

**【 0 0 0 7 】**

従って、癌用薬物開発を支援するため、更にヘルスケア提供者に、疾患を正確に診断し治療をモニターする手段を提供するために、腫瘍標的に非常に高い親和性及び特異性を示す補足的なバイオマーカーが求められている。そのようなイメージングプローブは、僅かナノモル量のトレーサーを患者に注射することにより、より小さな腫瘍を検出可能にし、患者の結果を劇的に改善することができる。

20

**【 0 0 0 8 】**

癌治療の臨床的成功の鍵は、特定の型の癌がどのように治療に反応するかを予測する能力である。腫瘍の特定の例において、腫瘍の表現型、大きさ及び位置等の要素は全て治療的処置の決定に劇的に影響する。様々な腫瘍を治療するために標準的な化学療法又は放射線治療計画が用いられるが、ある種の腫瘍型は標準的な治療計画に抵抗性を示し、従って患者の臨床結果を悪化させる可能性がある。

**【 0 0 0 9 】**

癌細胞成長の独特な性質のため、その増殖の性質は治療的処置の手がかりを与え得る。例えば、癌性腫瘍の急速かつ無秩序な成長のため、しばしば無秩序な血管新生が起り、不充分な血管形成環境がもたらされる ( Wang , J . 及び L . Maurer , P ositron Emission Tomography : Applications in Drug Discovery and Drug Development Cur r . Top . Med . Chem . , 2 0 0 5 , 5 : p 1 0 5 3 ~ 1 0 7 5 ) 。次に、 1 0 0 ~ 2 0 0  $\mu$ m が血管供給から除かれた環境は低酸素となる可能性があり、これは 1 0 m m H g 未満の組織 p O<sub>2</sub> で特徴付けられる。これらの低酸素状態に応答して、腫瘍の低酸素誘導因子 1 ( H I F - 1 ) の過剰発現は腫瘍の生存に必要な、血管内皮増殖因子 ( V E G F ) 、炭酸脱水酵素 IX ( C A - I X ) 及び糖分解酵素を始めとする、いくつかのタンパク質の上方制御を招く。

30

**【 0 0 1 0 】**

低酸素腫瘍は臨床的に問題となる。低酸素腫瘍は、放射線療法及び細胞毒性療法の両方の作用に抵抗性を示し、治療を失敗させる可能性がある ( Adams , G . 、 Hypox ia - mediated drugs for radiation and chemotherapy , Cancer , 1 9 8 1 . 4 8 : p 6 9 6 ~ 7 0 7 ; Moulder , J . 及び S . Rockwell , Hypoxic fractions of solid tumors : experimental techniques , methods of analysis , and a survey of existing data , Int . J . Radiat . Oncol . Biol . Phys . , 1 9 8 4 . 1 0 : p 6 9 5 ~ 7 1 2 ; Nordsmark , M . 、 M . Overgaard 及び J . O

40

50

vergaard、Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck、Radiother. Oncol. 1996. 41 : p 31 ~ 39)。更に、低酸素癌細胞は、患者の全身に侵襲的に広がることが知られている悪性癌と関連があるとされている(Brizele, D. M. ら、Tumour oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma、Cancer Res., 1996. 56 : p 941 ~ 943; Hockel, M. ら、Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the cervix、Cancer Res., 1996. 56 : p 941 ~ 943)。乳癌、子宮頸癌及び非小細胞肺癌を始めとするヒト癌のいくつかの型が低酸素となることがよく知られている(Vaupel, P. ら、Oxygenation of human tumors: evaluation of tissue oxygen distribution in breast cancers by computerized O<sub>2</sub> tension measurements、Cancer Res., 1991. 51 : p 3316 ~ 3322)。

#### 【0011】

低酸素腫瘍は、従来の放射線及び細胞毒性療法のいずれにも応答が不充分であるため、高圧O<sub>2</sub>、ARCON、放射線増感剤及び生体環元細胞毒性剤を始めとする、低酸素癌細胞を治療するためのいくつかの代替となるアプローチが存在する(Seddon, B. M. 及びP. Workman、The role of functional and molecular imaging in cancer drug discovery and development、Brit. J. Radiol. 2003. 76 : p S128 ~ S138)。最後の例において、ニトロイミダゾール化学種を含有する生体還元剤は、細胞内で還元され、最終的に細胞内に捕捉されるラジカルアニオン代謝産物を形成する。有酸素(oxic)環境では、ラジカルアニオンは、O<sub>2</sub>と反応し、前代謝状態に戻る。

#### 【0012】

治療のために生体還元に基づく療法を適切に計画するため、患者における腫瘍低酸素を確認する必要がある。腫瘍内部のpO<sub>2</sub>濃度を電極測定することによって腫瘍低酸素を求めるのは、どのように考へても非実用的な試みである。更に、この技法では表在する腫瘍を調べられるだけである。癌細胞の低酸素的性質を検出するための、より一般的で、より侵襲性の低い方法は、細胞内pO<sub>2</sub>に反比例して低酸素細胞内部に局在する放射性標識化生体還元性トレーサーに依存する。

#### 【0013】

イン ヴィヴォ(in vivo)で低酸素細胞を検出することのできるいくつかの生体還元性造影剤があり、それには[<sup>18</sup>F]F-MISO(Rasey, J. S. ら、Determining the hypoxic fraction in a rat glioma by uptake of radiolabeled fluoromisonidazole、Radiat. Res., 2000. 153 : p 84 ~ 92; Bentzen, L. ら、Feasibility of detecting hypoxia in experimental mouse tumours with <sup>18</sup>F-fluorinated tracers and positron emission tomography: a study evaluating <sup>18</sup>F-F luoromisonidazole and [<sup>18</sup>F]Fluoro-2-deoxy-D-glucose、Acta. Oncol., 2000. 39 : p 629 ~ 637)、[<sup>18</sup>F]F-EF1(Hustinx, R. ら、Non-invasive assessment of tumor hypoxia with the 2-nitro 40

10

20

30

40

50

imidazole  $^{18}\text{F}$  - E F I and PET、J. Nucl. Med.、1999.4:p99P(アブストラクト401)）、 $[^{18}\text{F}]$  - FETNIM(Chao, K. S.ら、A novel approach to overcome hypoxic tumor resistance: Cu-ATSM-guided intensity-modulated radiation therapy、Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.、2001.49:p1171~1182；Yang, D. J.ら、Development of  $^{18}\text{F}$ -labeled fluorouracil imidazole as a PET agent for imaging tumor hypoxia、Radiology、1995.194:p795~800；Gronroos, T.ら、Pharmacokinetics of  $[^{18}\text{F}]$  - FETNIM. A potential hypoxia marker for PET、J. Nucl. Med.、2001.42:p1397~1404）、 $[^{18}\text{F}]$  - FRP-170(Ishikawa, Y.ら、Development of  $[^{18}\text{F}]$  - FRP-170 injection for imaging hypoxia by PET、Kaku Igaku、2005.42:p1~10）及び $[^{62}\text{Cu}]$  - ATSM(Fujibayashi, Y.ら、Copper-62-ATSM-a new hypoxia imaging agent with high membrane permeability and low redox potential、J. Nucl. Med.、1997.38:p1155~1160)が含まれる。

10

20

#### 【0014】

臨床的に最も研究されている低酸素マーカーの1つは、 $[^{18}\text{F}]$  F-MISO、即ち、低酸素細胞放射線増感剤ミソニダゾールのフッ素類似体である。 $[^{18}\text{F}]$  F-MISOは首尾よく患者の低酸素腫瘍を同定するが、しかしながら、低酸素腫瘍への拡散が遅いため、イメージングまでにより長い取り込み時間を必要とし、加えて、高いバックグラウンド取り込みのため、腫瘍 / バックグラウンド比が小さくなる。代替物として、いくつかのグループが、正常酸素組織からのトレーサーの洗い流しを増大することにより腫瘍 / バックグラウンド比を高くすることを試みて、より脂肪親和性の低いニトロイミダゾールを調製している。

30

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0015】

これらの低酸素造影剤は臨床的に有望でありそうであるが、より速く、より正確な可能性がある低酸素評価のために、より短時間でピークシグナル対ノイズ比をもたらす、向上した薬物動態プロファイルを有する低酸素トレーサーが、依然として求められている。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0016】

本発明は、低いバックグラウンド取り込みを示し、高い腫瘍 / バックグラウンド比を生じる新規な低酸素造影剤に関する。より詳細には、本発明は、迅速な、顕著な腎クリアランスを示し、低いバックグラウンド取り込み、低い腹部取り込み及び一般に高い腫瘍 / バックグラウンド比を生じる、新規な2-ニトロイミダゾールをベースとする、低酸素造影剤に関する。

40

#### 【0017】

本発明は、イン ヴィヴォ(in vivo)で低酸素腫瘍を検出するのに有用な、新規な放射性標識化生体還元性トレーサーに関する。一実施形態において、トレーサーは、2-ニトロイミダゾール部分、トリアゾール、薬物動態を向上させる置換基を伴う代謝的に安定なリンカー及び単一光子放射コンピュータ断層撮影(SPECT)又は陽電子放射断層撮影(PET)イメージングに適した放射性同位元素からなる。好ましいイン ヴィヴォ(in vivo)イメージング手段は陽電子放射断層撮影である。低酸素細胞は、細胞毒性療法及び放射線療法に抵抗性であり、更に近傍の組織に増殖及び繁殖する高い傾

50

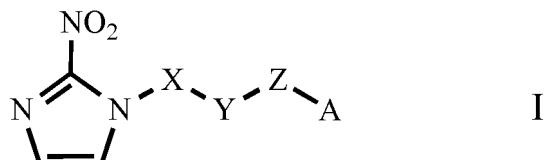
向を有するため、患者の癌の低酸素性を正確に評価することによって、治療計画を導き結果に大きな影響を及ぼすことができる。

【 0 0 1 8 】

一側面において、式 I を含んでなる化合物が提供される。

【 0 0 1 9 】

【化 1】



10

[ 0 0 2 0 ]

武中

Xは、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキニルであり、

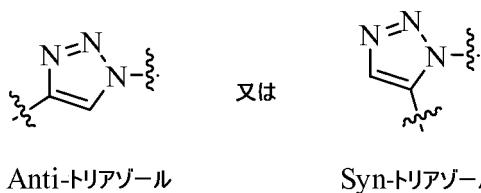
ここで、(C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub>)アルキレニル炭素原子の1つが、-CO-、-CONR'-、-NR'CO-、-NR'-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されていてもよいか、或いは(C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub>)アルキレニル基の2、3若しくは4個の隣接する原子が、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない、非置換の又は置換された(C<sub>3</sub> ~ C<sub>8</sub>)シクロアルキル又は(C<sub>3</sub> ~ C<sub>8</sub>)ヘテロシクロアルキル環を形成しているか、或いはこれらの組み合わせであり；

X<sup>1</sup>は、それぞれ独立して、ヒドロキシリル、チオール、アミノ、アルキル、アルコキシ、チオアルキル又はハロであり；

Yは、下式のトリアゾリルであり；

【 0 0 2 1 】

【化 2】



30

【 0 0 2 2 】

Zは、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基であり、ここで、炭素原子の1つは、-CO-、-CONR"-、-NR"CO-、-NR"-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されていてもよく、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基は、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されておらず；

A は、放射性元素であり；そして、

$R'$  及び  $R''$  は、それぞれ独立して H であるか、又は、それぞれ独立して、(  $C_1 \sim C_6$  ) アルキル、-CO( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル、-CONH( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル及び  $C_2O$  ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキルからなる群から選択される。

【 0 0 2 3 】

上記の1つの変形において、Xは、1、2若しくは3個のヒドロキシル基又は1、2若しくは3個の-NH<sub>2</sub>乃至NH(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキル基で置換されていてもよい、(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキレニル基である。他の変形において、Xは、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-及びCH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-からなる群から選択される。特定の変形において、Xは、-CONR'-、-(C 50

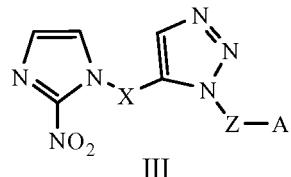
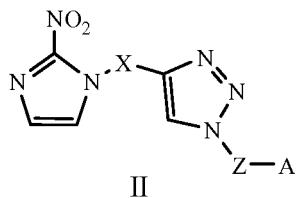
$C_1 \sim C_4$ ) アルキル CONR' -、 - CONR' ( $C_1 \sim C_4$ ) アルキル -、 - ( $C_1 \sim C_4$ ) アルキル CONR' ( $C_1 \sim C_4$ ) アルキルからなる群から選択され、 R' は、 H 又は ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキルである。上記化合物の特定の変形において、 X、 Z 又は A のいずれか 1 つは、  $^{11}C$  を含んでなる。

## 【0024】

他の側面において、式 II 又は III の化合物が提供される。

## 【0025】

## 【化3】



10

## 【0026】

式中、 X は、 1、 2、 3 若しくは 4 個の  $X^1$  で置換され又は置換されていない ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニルであり、 ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル炭素原子の 1 つは、 - CO -、 - CONR' -、 - NR'CO -、 - NR' -、 - O - 及び - S - から選択された基で、 置換されていてもよいか、 或いは ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル基の 2、 3 若しくは 4 個の隣接する原子は、 1、 2、 3 若しくは 4 個の  $X^1$  で置換され又は置換されていない、 非置換の又は置換された ( $C_3 \sim C_8$ ) シクロアルキル又は ( $C_3 \sim C_8$ ) ヘテロシクロアルキル環を形成しているか、 或いはその組み合わせであり；

$X^1$  は、 それぞれ独立して、 ヒドロキシリル、 チオール、 アミノ、 アルキル、 アルコキシ、 チオアルキル及びハロからなる群から選択され；

Z は、 炭素原子の 1 つが - CO -、 - CONR" -、 - NR"CO -、 - NR" -、 - O - 及び - S - から選択された基で置換されていてもよい、 ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル基であり、 1、 2、 3 若しくは 4 個の  $X^1$  で置換されているか置換されておらず；

A は、 放射性元素であり； そして、

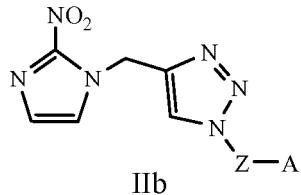
R' 及び R" は、 それぞれ独立して、 H であるか、 又はそれぞれ独立して、 ( $C_1 \sim C_6$ ) アルキル、 - CO ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル、 - CONH ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル及び  $CO_2$  ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキルからなる群から選択される。

## 【0027】

特定の一実施形態において、式 IIb を含んでなる化合物が提供される。

## 【0028】

## 【化4】



30

40

## 【0029】

式中、

Z は、 ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル基であり、 ここで、 ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル基の炭素原子の 1 つは、 - CO -、 - CONR" -、 - NR"CO -、 - NR" -、 - O - 及び - S - から選択された基で、 置換されていてもよく、 ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル基は、 1、 2、 3 若しくは 4 個の  $X^1$  で置換されているか置換されておらず；

R" は、 H であるか、 又は、 ( $C_1 \sim C_6$ ) アルキル、 - CO ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル、 - CONH ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル及び  $CO_2$  ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキルからなる群から選択され；

50

$X^1$ は、それぞれ独立して、ヒドロキシル、チオール、アミノ、アルキル、アルコキシ、チオアルキル又はハロであり；そして、

Aは、放射性元素である。

【0030】

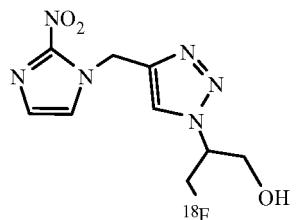
上記のそれぞれの特定の変形において、Zは、ヒドロキシル、チオール、アミノ、(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキル、(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルコキシ、チオ(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキル及びハロからなる群から独立に選択された1、2又は3個の基で置換されていてもよい、(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキレニル基である。上記化合物の一変形において、Zは、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-及びCH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-からなる群から選択される。  
10

【0031】

上記のそれぞれの変形において、Aは、<sup>18</sup>F又は<sup>11</sup>C-Meである。上記の特定の変形において、Aは<sup>18</sup>Fである。上記の一変形において、下式の化合物が提供される。

【0032】

【化5】



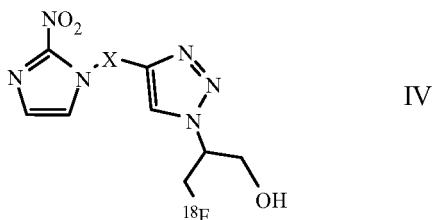
20

【0033】

他の実施形態において、式IVを含んでなる化合物が提供される。

【0034】

【化6】



30

【0035】

式中、

Xは、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニルであり、

ここで、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル炭素原子の1つが、-CO-、-CONR'-、-NR'CO-、-NR'C-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されていてもよいか、或いは(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基の2、3若しくは4個の隣接する原子が、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない、非置換の又は置換された(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)シクロアルキル若しくは(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)ヘテロシクロアルキル環を形成しているか、或いはその組み合わせであり；  
40

R'は、Hであるか、又は、(C<sub>1</sub>~C<sub>6</sub>)アルキル、-CO(C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>)アルキル、-CONH(C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>)アルキル及びCO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>)アルキルからなる群から選択され；

X<sup>1</sup>は、それぞれ独立して、ヒドロキシル、チオール、アミノ、(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキル、(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルコキシ、チオ(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキル及びハロからなる群から選択され  
50

る。

**【0036】**

上記化合物の特定の変形において、 $X$  が、1若しくは2個の $X^1$ で置換され又は置換されていない ( $C_1 \sim C_5$ ) アルキレニルであるか、或いは ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル炭素原子の1つが、-CONR'- 又は -NR'CO- から選択された基で、置換されていてもよいか、或いは ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル基の2、3若しくは4個の隣接する原子が、1、2若しくは3個の $X^1$ で置換され又は置換されていない、非置換の又は置換 ( $C_3 \sim C_8$ ) シクロアルキルを形成しており、ここで、 $X^1$ は、-OH 又は  $NH_2$  である。

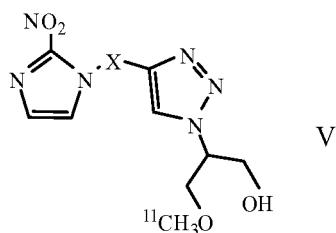
**【0037】**

他の実施形態において、式Vを含んでなる化合物が提供される。

10

**【0038】**

**【化7】**



**【0039】**

20

式中、

$X$  は、1、2、3若しくは4個の $X^1$ で置換され又は置換されていない ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニルであり、

ここで、( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル炭素原子の1つが、-CO-、-CONR'-、-NR'CO-、-NR'-、-O- 及び -S- から選択された基で、置換されていてもよいか、或いは ( $C_1 \sim C_{10}$ ) アルキレニル基の2、3若しくは4個の隣接する原子が、1、2、3若しくは4個の $X^1$ で置換され又は置換されていない ( $C_3 \sim C_8$ ) シクロアルキル又は ( $C_3 \sim C_8$ ) ヘテロシクロアルキル環を形成しているか、或いはこれらの組み合わせであり、

$R'$  は、Hであるか、又は、( $C_1 \sim C_6$ ) アルキル、-CO ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル、-CONH ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキル及び  $CO_2$  ( $C_1 \sim C_3$ ) アルキルからなる群から選択され；

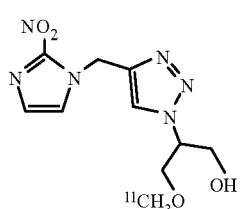
$X^1$  は、それぞれ独立して、ヒドロキシリ、チオール、アミノ、アルキル、アルコキシ、チオアルキル及びハロからなる群から選択される。

**【0040】**

上記の特定の変形において、下式を含んでなる化合物が提供される。

**【0041】**

**【化8】**



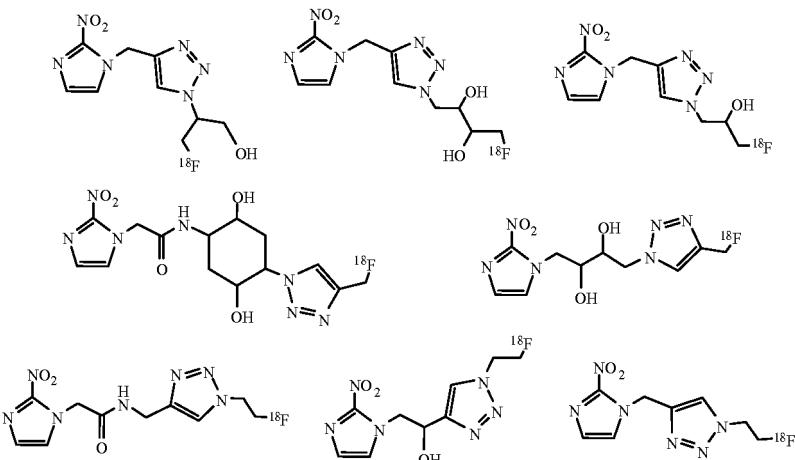
**【0042】**

上記化合物の他の側面において、以下の化合物が提供される。

**【0043】**

40

## 【化9】



10

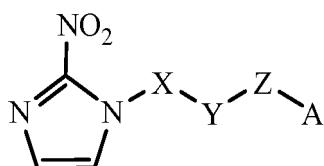
## 【0044】

他の実施形態において、

a ) 式Iの化合物を哺乳動物に投与すること；

## 【0045】

## 【化10】



20

## 【0046】

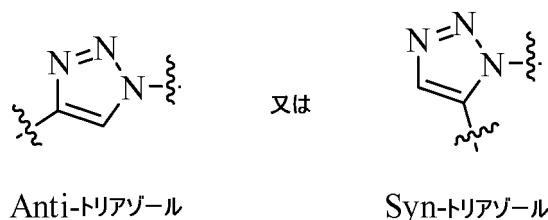
(式中、Xは、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニルであり、ここで、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル炭素原子の1つが、-CO-、-CONR'-、-NR'CO-、-NR'-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されていてもよい、或いは(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基の2、3若しくは4個の隣接する原子が、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない、非置換の又は置換された(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)シクロアルキル又は(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)ヘテロシクロアルキル環を形成しているか、或いはその組み合わせであり、

X<sup>1</sup>は、それぞれ独立して、ヒドロキシリル、チオール、アミノ、アルキル、アルコキシ、チオアルキル及びハロからなる群から選択され、

Yは、下式のトリアゾリルであり；

## 【0047】

## 【化11】



30

40

## 【0048】

Zは、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基であり、ここで、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基の炭素原子の1つは、-CO-、-CONR'-、-NR'CO-、-NR'-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されていてもよく、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基は、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換されているか置換されておらず、

Aは、放射性元素であり、

50

R' 及び R" は、それぞれ独立して、H であるか、又は、それぞれ独立して、(C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub>) アルキル、-CO(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>) アルキル、-CONH(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>) アルキル及び CO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>) アルキルからなる群から選択される。) :

並びに

b) 哺乳動物の低酸素細胞に保持された放射性元素の存在を PET によって検出すること : を含んでなる、

細胞の低酸素を検出する方法が提供される。

【 0 0 4 9 】

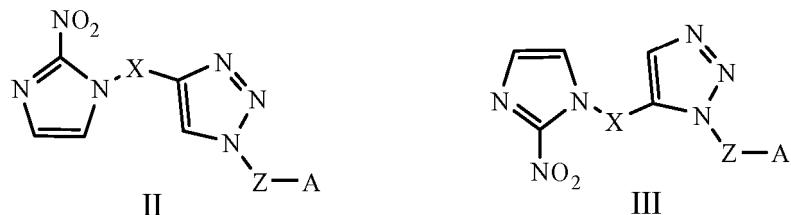
上記方法の特定の変形において、Xは、1、2若しくは3個のヒドロキシル基又は1、2、若しくは3個の-NH<sub>2</sub>乃至NH(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキル基で置換されていてもよい、(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキレン基である。上記の他の変形において、Xは、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-及びCH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-からなる群から選択される。上記方法の他の変形において、Xは、-CONR'-、-(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキルCONR'-、-CONR'(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキル-及び(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキルCONR'(C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>)アルキルからなる群から選択され、R'は、H又は(C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub>)アルキルである。

【 0 0 5 0 】

上記方法の特定の一変形において、化合物は、式 I-I 又は I-II の化合物である。

【 0 0 5 1 】

【化 1 2】



【 0 0 5 2 】

式中、Xは、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレンイルであり、ここで、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレンイル炭素原子の1つが、-CO-、-CONR'-、-NR'CO-、-NR'-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されてもよいか、或いは(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレンイル基の2、3若しくは4個の隣接する原子が、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない、非置換又は置換(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)シクロアルキル又は(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)ヘテロシクロアルキル環を形成しているか、又或いはこれらの組み合わせであり；

X<sup>1</sup>は、それぞれ独立して、ヒドロキシリ、チオール、アミノ、アルキル、アルコキシ、チオアルキル及びハロからなる群から選択され；

Zは、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基であり、ここで、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基の炭素原子の1つは、-CO-、-CONR"-、-NR"CO-、-NR"-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されていてもよく、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基は、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されておらず；

Aは、放射性元素であり；R'及びR"は、それぞれ独立して、Hであるか、又は、それ  
ぞれ独立して、(C<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>)アルキル、-CO(C<sub>1</sub>～C<sub>3</sub>)アルキル、-CONH(C<sub>1</sub>  
～C<sub>3</sub>)アルキル及びCO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>～C<sub>3</sub>)アルキルからなる群から選択される。

【 0 0 5 3 】

上記方法の一変形において、化合物は、式 I I の化合物である。上記方法のそれぞれの他の変形において、Zは、1、2若しくは3個のヒドロキシル基又は1、2若しくは3個のヒドロキシ( $C_1$ ~ $C_4$ )アルキル基で置換されていてもよい( $C_1$ ~ $C_4$ )アルキレンイル

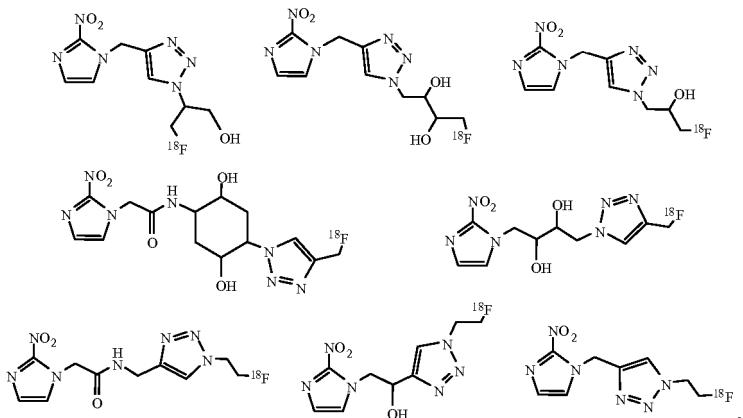
基である。上記方法の特定の一変形において、Zは、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH(CH<sub>2</sub>OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-及びCH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-からなる群から選択される。上記方法のそれぞれの特定の変形において、Aは、<sup>18</sup>F又は<sup>11</sup>C-Meである。この方法の他の特定の変形において、Aは<sup>18</sup>Fである。

【 0 0 5 4 】

上記方法の一変形において、化合物は以下の式を含んでなる。

【 0 0 5 5 】

【化 1 3】



【 0 0 5 6 】

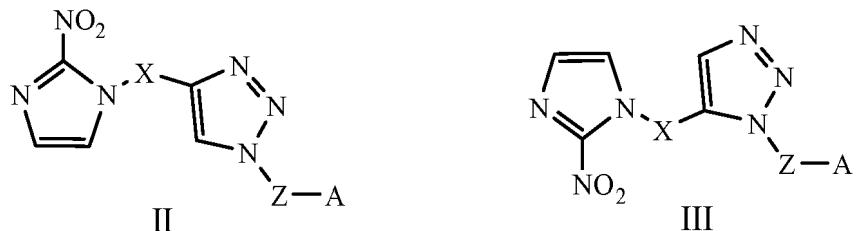
上記方法の特定の態様において、低酸素細胞は、腫瘍細胞又は虚血性細胞である。

【 0 0 5 7 】

他の実施形態において、式II若しくはIIIの化合物又はその混合物を調製する方法が提供され、

【 0 0 5 8 】

【化 1 4】



【 0 0 5 9 】

(式中、Xは、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレンイルであり、ここで、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレンイル炭素原子の1つが、-CO-、-CONR'-、-NR'CO-、-NR'-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されてもよいか、或いは(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレンイル基の2、3若しくは4個の隣接する原子が、1、2、3若しくは4個のX<sup>1</sup>で置換され又は置換されていない、非置換又は置換(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)シクロアルキル又は(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)ヘテロシクロアルキル環を形成しているか、或いはこれらの組み合わせであり；

$X^1$ は、それぞれ独立して、ヒドロキシル、チオール、アミノ、アルキル、アルコキシ、チオアルキル及びハロからなる群から選択され；

Zは、(C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>)アルキレニル基であり、(C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>)アルキレニル基の炭素原子の1つは、-CO-、-CONR"-、-NR"CO-、-NR"-、-O-及び-S-から選択された基で、置換されていてもよく、(C<sub>1</sub>～C<sub>10</sub>)アルキレニル基が、1、2、

3 若しくは 4 個の X<sup>1</sup>で置換されているか又は置換されておらず；

A は、放射性元素であり；そして、

R' 及び R'' は、それぞれ独立して、H であるか、又は、それぞれ独立して、(C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub>) アルキル、-CO(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>) アルキル、-CONH(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>) アルキル及び CO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub> ~ C<sub>3</sub>) アルキルからなる群から選択される。) :

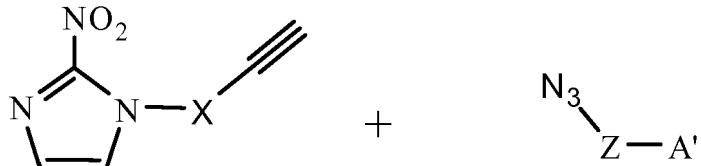
この方法は、

a ) アジド置換化合物 A' - Z - N<sub>3</sub> を、アセチレン置換ニトロイミダゾールで処理 (A' は脱離基である。) すること；及び

【0060】

【化15】

10



【0061】

b ) A' を放射性標識化剤で置き換えることによって、ステップ a ) の生成物を放射性標識化して、化合物 II 若しくは III 又はその混合物を形成すること (ここで、A は<sup>18</sup>F 又は<sup>11</sup>C である。) を含んでなる。

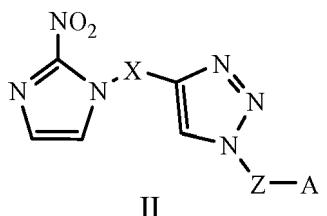
【0062】

20

上記の一変形において、化合物は下式の化合物である。

【0063】

【化16】



【0064】

30

上記方法の特定の変形において、放射性標識化剤は K<sup>18</sup>F である。

【図面の簡単な説明】

【0065】

【図1】静脈注射 (5 mM 溶液 200 μl) 120 分後の雄白マウスにおける化合物 1 の生体内分布を示す図である。

【図2】野生型ラットにおける化合物 1 の血漿及び尿薬理試験 (濃度 10 mM で 1 ml)

【図3】細胞毒性アッセイ (異なる濃度の化合物とインキュベートした A172 細胞)

【図4】細胞毒性アッセイ (異なる濃度の化合物とインキュベートした LSC174T 細胞)

【図5】細胞毒性アッセイ (異なる濃度の化合物とインキュベートした AML12 細胞)

40

【図6】PET 画像

【発明を実施するための形態】

【0066】

本発明を、以下により、詳細に記載する。しかしながら、本発明は多くの異なる形態で具体化することができ、本明細書に記載の実施形態に限定されるものであると解釈されるべきではない。むしろ、これらの実施形態は、この開示を徹底的かつ完全なものにし、当業者に本発明の範囲を充分に伝えるために提供されるものである。

【0067】

本明細書に記載の新規な化合物は、低酸素腫瘍をイメージングするために必要である必須の 2 - ニトロイミダゾール核を含有する。機構的には、低酸素条件下における細胞内生

50

体還元は、2-ニトロイミダゾール核を修飾し、次いで、これが細胞内部で、共有結合で媒介されて、配置される。有酸素条件下で、生体還元されたニトロイミダゾールは、その本来の状態に戻り、細胞内外に自由に拡散する。

#### 【0068】

本明細書に開示した新規な化合物は、また、有利なイメージング薬物動態特性を示す。これらの化合物は、腎排泄による有利なクリアランス特性を有し、従って、肝臓及び腸領域で低い取り込みを示す。これらの化合物は、血液及び筋肉組織の両方から迅速に排除され、従って、望ましい腫瘍／バックグラウンド比を生じる。更に、これらの有利なクリアランス特性は、「理想的な基準である(gold standard)」 [<sup>18</sup>F]F-MISOより早い時点で腫瘍／バックグラウンド比のピークを生じる。これらのトレーサーは、非低酸素腫瘍に対するよりも低酸素腫瘍に対して高度に選択性を示す。異種移植マウス及びラットにおいて、このトレーサーは低酸素腫瘍内に優先的に局在し、ほとんどの場合、2:1より大きい腫瘍／バックグラウンド比を有する。10

#### 【0069】

この一群の化合物は、例えば、化合物1が10,000nMまでの濃度で正常ヒト又は癌細胞において細胞毒性作用を示さないという点で、細胞レベルで無害であると考えられる。

#### 定義

本明細書では、単数形「a」、「an」、「the」は、文脈が明らかに別段の規定をしないかぎり複数の指示物を含む。20

#### 【0070】

「アルキル」は、典型的には約1から20原子の長さの炭化水素鎖を、指す。そのような炭化水素鎖は、分枝鎖でも直鎖でもよいが、典型的には、直鎖が好ましい。代表的なアルキル基には、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、1-メチルブチル、1-エチルプロピル、3-メチルペンチル等が含まれる。本明細書では、3個以上の炭素原子が参照されるとき、「アルキル」はシクロアルキルを含む。

#### 【0071】

「アルキレニル」は、2つの異なる基に2価結合している、典型的には約1から20原子の長さ又は1から10炭素原子の長さである、炭化水素鎖を指す。そのような炭化水素鎖は、分枝鎖でも直鎖でもよい。代表的なアルキレニル基には、エチレニル、プロピレニル、イソ-プロピレニル、ブチレニル、イソ-ブチレニル、ペンチレニル、1-メチルブチレニル、1-エチルプロピレニル、3-メチルペンチレニル等が含まれ、ここで2価結合は、アルキレニル基の任意の炭素原子にあるか、又は特に示されたとおりであってよい。本明細書では、3個以上の炭素原子に言及するとき、「アルキレニル」は、シクロアルキレニルをも含む。30

#### 【0072】

「アリール」は、それぞれ5又は6個の核炭素原子からなる1つ以上の芳香環を意味する。アリールは、多重のアリール環を含み、それらはナフチルのように縮合していくてもよく、ビフェニルのように縮合していくなくてもよい。アリール環は、また、1つ以上の環式炭化水素、ヘテロアリール又は複素環と、縮合していくても縮合していくなくてもよい。本明細書では、「アリール」は、ヘテロアリールを含む。40

#### 【0073】

「生体標的」は、任意の種々の疾患及び状態に関連する生物学的経路に関与する任意の生体分子であることができ、それらの疾患及び状態には、癌(例えば、白血病、リンパ腫、脳腫瘍、乳癌、肺癌、前立腺癌、胃癌、並びに、皮膚癌、膀胱癌、骨癌、子宮頸癌、結腸癌、食道癌、眼癌、胆嚢癌、肝臓癌、腎臓癌、咽頭癌、口腔癌、卵巣癌、脾臓癌、陰茎癌、腺腫、直腸癌、小腸癌、肉腫、精巣癌、尿道癌、子宮癌及び腫瘍)、糖尿病、神経変性疾患、心血管疾患、呼吸器疾患、消化器系疾患、感染症、炎症性疾患、自己免疫疾患等が含まれる。代表的な生物学的経路には、例えば、細胞周期の調節(例えば、細胞増殖及びアポトーシス)、血管新生、シグナル伝達経路、腫瘍抑制経路、炎症(COX-2)、50

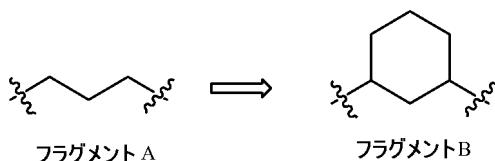
癌遺伝子及び成長因子受容体が含まれる。生体標的は、「標的生体高分子」又は「生体高分子」と称することもできる。生体標的は、酵素受容体、リガンド依存性イオンチャネル、Gタンパク質共役型受容体及び転写因子等の、受容体であることができる。生体標的は、好ましくは、酵素、膜輸送タンパク質、ホルモン及び抗体等の、タンパク質又はタンパク質複合体である。

## 【0074】

「隣接する原子」は、互いに隣接する原子を意味する。例えば、「(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキレニル基の2、3若しくは4個の隣接する原子は、非置換の又は置換された(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)シクロアルキル又は(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)ヘテロシクロアルキル環を形成する」という表現は、アルキレニル基又はリンカー中の2、3又は4個の隣接する原子が、例えば、(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)シクロアルキル又は(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)ヘテロシクロアルキル環の一部を形成することを意味する。例えば、下記のフラグメント「A」に表される3個の隣接炭素原子では、それらの原子がシクロヘキシル基等の非置換の(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)シクロアルキル基を形成するとき、そのフラグメントは、フラグメント「B」に示されるように形成されることができる。

## 【0075】

## 【化17】



10

20

## 【0076】

「シクロアルキル」は、好ましくは3から約12個の炭素原子、好ましくは3から8個の炭素原子、で構成される飽和の、部分的に不飽和の又は不飽和の、環式炭化水素鎖を指し、架橋環、縮合環又はスピロ環を含む。、

## 【0077】

「ヘテロアリール」は、1から4個のヘテロ原子、好ましくはN、O若しくはS又はそれらの組み合わせ、を含有するアリール基である。ヘテロアリール環は、また、1つ以上の環式炭化水素、複素環、アリール環又はヘテロアリール環と縮合していくてもよい。

## 【0078】

30

「複素環」又は「複素環式」は、不飽和性又は芳香族性を有し又は有しない、炭素ではない少なくとも1つの環原子を有する、3~12個の原子、好ましくは5~7個の原子、からなる1つ以上の環を意味する。好ましいヘテロ原子には、硫黄、酸素及び窒素が含まれる。

## 【0079】

本明細書では、「脱離基」は、例えば、アミン、チオール若しくはアルコール求核試薬又はその塩等の、求核試薬によって容易に置換される基を指す。そのような脱離基は、よく知られており、例えばカルボキシラート、N-ヒドロキシスクシンイミド、N-ヒドロキシベンゾトリアゾール、ハロゲン化物、トリフラート、トシラート、ノシラート、-OR及びSR等を含む。

40

## 【0080】

本明細書では、「リンカー」は、1から10個の原子を含んでなる鎖を指し、C、-NR-、O、S、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、CO、-C(NR)-等の、1、2若しくは3個の隣接し又は隣接しない原子又は基を含んでなっていてもよく、ここでRは、Hであるか、又は、それぞれ置換され又は置換されていない、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルキル、(C<sub>3</sub>~C<sub>8</sub>)シクロアルキル、アリール(C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub>)アルキル、ヘテロアリール(C<sub>1</sub>~C<sub>5</sub>)アルキル、アミノ、アリール、ヘテロアリール、ヒドロキシ、(C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>)アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシからなる群から選択される。即ち、例えば、リンカーは、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-

50

N H C ( O ) - C H<sub>2</sub> - 、 - C H<sub>2</sub> - C ( O ) N H - C H<sub>2</sub> - 、 - C H<sub>2</sub> - C ( O ) - C H<sub>2</sub> - 等の基を含むことができる。リンカー鎖は、また、多環式及び複素芳香環を含む、飽和環、不飽和環又は芳香環の一部を含んでいてもよい。本出願の化合物のある側面において、変数記号 X 及び Z は、リンカーであってもリンカー鎖であってもよい。本明細書では、「(C<sub>1</sub>~<sub>3</sub>)アルキル」という表現は、例えば、同じ意味を示すために、「C<sub>1</sub>~C<sub>4</sub>アルキル」と交換可能に用いられる。

#### 【0081】

「患者」及び「被験者」という用語は、特に全ての哺乳動物を含む、任意のヒト又は動物の被験者を指す。

#### 【0082】

本明細書では、「放射性化学品」は、共有結合した放射性同位元素を含有する任意の有機、無機又は有機金属化合物、任意の無機放射性イオン溶液（例えば、N a [ <sup>18</sup> F ] F イオン溶液）、又は任意の放射性ガス（例えば、[ <sup>11</sup> C ] CO<sub>2</sub>）を包含することが意図され、特に組織イメージングを目的として患者に投与（例えば、吸入、経口摂取又は静脈注射による）するための放射性分子イメージングプローブを含み、これらは当技術分野において、放射性医薬品、放射性トレーサー又は放射性リガンドとも称される。本発明は、主として、P E T イメージングシステムで用いる陽電子放射分子イメージングプローブの合成を対象としているが、本発明は、単一光子放射コンピュータ断層撮影 (S P E C T) 等の他のイメージングシステムに有用な放射性化学物質を始めとする、放射性核種を含む任意の放射性化合物の合成に容易に適応させることができる。

#### 【0083】

本明細書では、「放射性同位元素」又は「放射性元素」という用語は、放射性崩壊（即ち、陽電子放出）を示す同位元素及び放射性同位元素を含んでなる放射性標識化剤（例えば、[ <sup>11</sup> C ] メタン、[ <sup>11</sup> C ] 一酸化炭素、[ <sup>11</sup> C ] 二酸化炭素、[ <sup>11</sup> C ] ホスゲン、[ <sup>11</sup> C ] 尿素、[ <sup>11</sup> C ] 臭化シアン、並びに、炭素 - 11 を含有する種々の酸塩化物、カルボン酸、アルコール、アルデヒド及びケトン）を指す。そのような同位元素又は元素は、当技術分野において、放射性同位元素又は放射性核種とも称される。放射性同位元素は、本明細書において、元素の名称又は記号及び質量数の、一般に用いられる種々の組み合わせを用いて命名される（例えば、<sup>18</sup> F、F - 18 又はフッ素 - 18）。代表的な放射性同位元素には、I - 124、F - 18 フッ化物、C - 11、N - 13 及びO - 15 が含まれ、これらは、それぞれ、半減期 4.2 日、110 分、20 分、10 分及び2 分を有する。放射性同位元素は、好ましくは、極性非プロトン性溶媒等の有機溶媒に溶解される。好ましくは、本発明の方法で用いられる放射性同位元素には、F - 18、C - 11、I - 123、I - 124、I - 127、I - 131、Br - 76、Cu - 64、Tc - 99m、Y - 90、Ga - 67、Cr - 51、Ir - 192、Mo - 99、Sm - 153 及びTl - 201 が含まれる。好ましくは、本発明の方法で用いられる放射性同位元素は、F - 18 である。用いることのできる他の放射性同位元素には、As - 72、As - 74、Br - 75、Co - 55、Cu - 61、Cu - 67、Ga - 68、Ge - 68、I - 125、I - 132、In - 111、Mn - 52、Pb - 203 及びRu - 97 が含まれる。

#### 【0084】

本明細書では、「置換された」又は「置換基」は、1つ以上の水素原子を含んでなる化合物又は官能基が、-C<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、C<sub>2</sub>~<sub>5</sub>アルケニル、ハロゲン又はハロ（塩素、フッ素、臭素、ヨウ素原子）、-CF<sub>3</sub>、ニトロ、アミノ(-NH<sub>2</sub>、-NHR、-NR<sub>2</sub>等）、オキソ（即ち、-C(=O)-を形成）、-OH、カルボキシリ(-COOH)、-COOC<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、-OC<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、-CONHC<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、-NHCOC<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、-OSOC<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、-SOOC<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、-SOONHC<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、-NH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、アリール、ヘテロアリール等の基（置換基）で、置換されていることを意味し、これらの基のそれぞれが、更に置換されていてもよい。

#### 【0085】

「チオアルキル」は、非置換であるか、又は、C<sub>1</sub>~<sub>5</sub>アルキル、C<sub>2</sub>~<sub>5</sub>アルケニル、ハ

10

20

30

40

50

ロゲン又はハロ(塩素、フッ素、臭素、ヨウ素原子)、-CF<sub>3</sub>、ニトロ、アミノ(-NH<sub>2</sub>、-NHR、-NR<sub>2</sub>等)、オキソ(即ち、-C(=O)-を形成)、-OH、カルボキシル、-COOC<sub>1~5</sub>アルキル、-OC<sub>1~5</sub>アルキル、-CONHC<sub>1~5</sub>アルキル、-NHCOC<sub>1~5</sub>アルキル、-OSOC<sub>1~5</sub>アルキル、-SOOC<sub>1~5</sub>アルキル、-SOONHC<sub>1~5</sub>アルキル、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>C<sub>1~5</sub>アルキル、アリール及びヘテロアリールで置換されていてもよい、C<sub>1~10</sub>アルキル-S-基を意味する。

#### 【0086】

本明細書では、「トリアゾール」は、1,3,4-若しくは1,2,3-トリアゾール又はそれらの混合物を意味する。好ましい実施形態において、「トリアゾール」は、1-及び5-位('syn')で若しくは1-及び4-位('anti')において置換されている1,2,3-トリアゾール又はその混合物である。特に好ましい実施形態において、1,2,3-トリアゾールは、1-及び4-位で置換されている。

#### クリックケミストリー法

クリックケミストリーは、候補造影剤のライブラリーを迅速に作成する機会を化学者に提供し、このライブラリーから最適な薬力学的特性及び薬物動態特性を有する、潜在的な小分子PETイメージングトレーサーを同定することができる。クリックケミストリーは、最も実用的で信頼できる化学転換のみを利用する化学合成に対するモジュール式アプローチである。クリックケミストリー技術は、例えば、以下の文献に記載されており、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

1. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angewandte Chemie, International Edition* 2001, 40, 2004~2021  
 2. Kolb, H. C.; Sharpless, K. B. *Drug Discovery Today* 2003, 8, 1128~1137  
 Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angewandte Chemie, International Edition* 2002, 41, 2596~2599  
 3. Tornoe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. J. *Journal of Organic Chemistry* 2002, 67, 3057~3064  
 4. Wang, Q.; Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Finn, M. G. *Journal of the American Chemical Society* 2003, 125, 3192~3193  
 5. Lee, L. V.; Mitchell, M. L.; Huang, S.-J.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Wong, C.-H. *Journal of the American Chemical Society* 2003, 125, 9588~9589  
 6. Lewis, W. G.; Green, L. G.; Grynszpan, F.; Radic, Z.; Carlier, P. R.; Taylor, P.; Finn, M. G.; Barry, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41, 1053~1057  
 7. Manetsch, R.; Krasinski, A.; Radic, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K. B.; Kolb, H. C. *Journal of the American Chemical Society* 2004, 126, 12809~12818  
 8. Mocharla, V. P.; Colasson, B.; Lee, L. V.; Roep, S.; Sharpless, K. B.; Wong, C.-H.; Kolb, H. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 116~120  
 9. M. Whiting, J. Muldoon, Y.-C. Lin, S. M. Silve 50

rman、W. Lindstrom、A. J. Olson、H. C. Kolb、M. G. Finn、K. B. Sharpless、J. H. Elder、V. V. Fokin, *Angew. Chem.* 2006, 118, 1463~1467; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2006, 45, 1435~1439

上記の文献に記載されているような、他のクリックケミストリー官能基を用いることができるが、環化付加反応、特にアジドとアルキニル基との反応、の使用が好ましい。末端アルキン等のアルキンとアジドとは、1, 3 - 双極性環化付加され、1, 4 - 二置換 1, 2, 3 - トリアゾールを形成する。又は、アジド及びアルキニル試薬を用いて、1, 5 - 二置換 1, 2, 3 - トリアゾールを形成できる (Krasinski, A.、Fokin, V. V. 及び Barry, K. *Organic Letters* 2004, 1237~1240)。ヘテロDiels-Alder反応又は1, 3 - 双極性環化付加反応も用いることができるであろう (Huisgen 1, 3 - Dipolar Cycloaddition Chemistry (Vol. 1) (Padwa, A. 編), p 1~176, Wiley; Jorgensen *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2000, 39, 3558~3588; Tietze, L. F. 及び Kettschau, G. *Top. Curr. Chem.* 1997, 189, 1~120 参照)。特定の一実施形態において、本明細書に記載のクリックケミストリー法は、更に PET 標識が組み込まれている新規な化合物を提供する。

## 【0087】

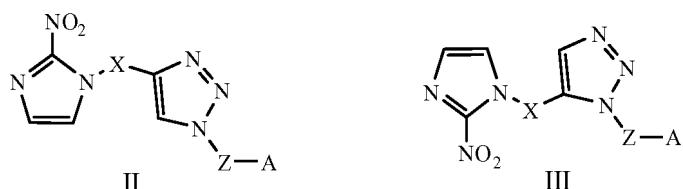
本出願を通じて言及された全ての文献の開示全体が参考により本明細書に組み込まれる。  
。

## 実験

式 II 及び III の化合物を合成するための一般的な手順を以下に概説する。

## 【0088】

## 【化18】



10

20

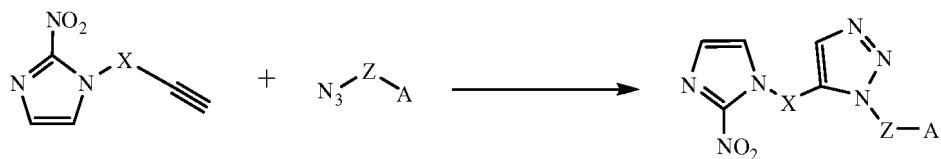
30

## 【0089】

1, 5 - 二置換 (「syn」) トリアゾール合成の一般スキーム :

## 【0090】

## 【化19】



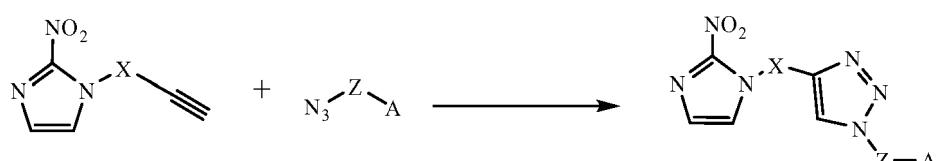
40

## 【0091】

1, 4 - 二置換 (「anti」) トリアゾール合成の一般スキーム :

## 【0092】

## 【化20】



## 【0093】

50

上記の一般スキームに示したとおり、Aが脱離基を含んでなるアルキル基等の基であるか又はAが脱離基である場合、本明細書に開示のとおり、Aを放射性同位元素又は放射性元素で代替し又は置換することによって、放射性同位元素又は放射性元素を含むトリアゾールを調製することができる。

#### 一般的な実験条件

全ての反応は、Ar雰囲気下、オープン乾燥したガラス容器中で行なった。シリカゲルカラートリッジを用いる順相精製の勾配条件を EtOAc : Hexane混合物について、以下に挙げる。実験続行時間はカラム容量(c.v.)で示す。検出波長は254 nmに設定した。反応溶媒は、無水グレードを購入し、更に精製することなく用いた。

【0094】

10

【表1】

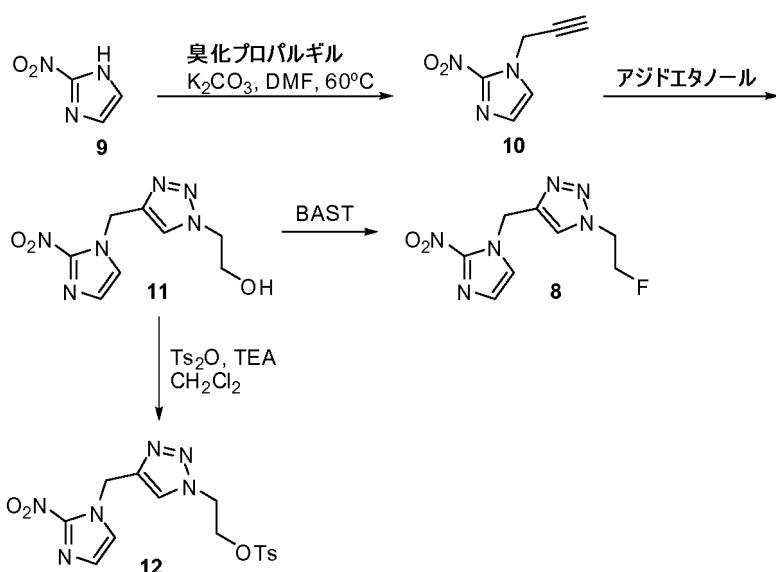
時間 (c.v.)	0	1.8	19.6	5.4	0	1.8
EtOAc %	0	0	100	100	0	0

【0095】

化合物8及び12の調製。

【0096】

【化21】



【0097】

2-ニトロ-1-(プロパ-2-イニル)-1H-イミダゾール(10)：

丸底フラスコに、2-ニトロイミダゾール(500 mg、4.42 mmol)、臭化プロパルギル(631 mg、5.31 mmol)、炭酸カリウム(733 mg、5.31 mmol)及びDMF(5 mL)を加えた。反応物を室温で一晩攪拌した。TLC(EtOAc)により、反応の完了が示された。反応物を水(20 mL)に注ぎ、EtOAc(3 × 20 mL)中に抽出した。合一した有機物を水(5 × 20 mL)で洗浄した。次いで、有機層を真空中で濃縮し、溶離液としてEtOAc : Hexaneを用いてシリカゲルカラートリッジで精製して、淡黄色の固体として571 mg(収率85%)の10を得た。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), δ: 2.63(1H, d, J = 5.6 Hz), 5.23(2H, d, J = 2.4 Hz), 7.20(1H, d, J = 1.2 Hz), 7.46(1H, s)。MS(低分解能)：C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>計算値：151.04；実測値：152.10(M+H)。

【0098】

2-(4-((2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)メチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)エタノール(11)：

40

50

丸底フラスコに、ニトロプロピン 10 (150 mg、0.99 mmol) 及びアジドエタノール (86 mg、0.99 mmol) を加えた。このフラスコに CuSO<sub>4</sub> (0.04 M、100 μL) 及びアスコルビン酸ナトリウム (0.1 M、100 μL) を添加した。16 時間後、反応物を EtOAc に注ぎ、NH<sub>4</sub>OH で洗浄した。有機物を合一し、残留物を、溶離液として、EtOAc : Hex、次いで DCM : MeOH、を用いて、cold bath flash system で精製して、清澄無色の油として 180 mg (収率 76.3%) の 11を得た。MS (低分解能) : C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> 計算値: 238.08；実測値: 239.10 (M + H)。

## 【0099】

2 - (4 - ((2 - ニトロ - 1H - イミダゾール - 1 - イル) メチル) - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) エタノール (11) :

丸底フラスコに、ニトロプロピン 10 (150 mg、0.99 mmol) 及びアジドエタノール (86 mg、0.99 mmol) を加える。反応物を 60 度で一晩攪拌する。残留物を、溶離液として、EtOAc : Hex、次いで DCM : MeOH、を用いて、cold bath flash system で精製して、清澄無色の油として 11を得る。

## 【0100】

1 - (2 - フルオロエチル) - 4 - ((2 - ニトロ - 1H - イミダゾール - 1 - イル) メチル) - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾール (8) :

アルコール 11 (20 mg、0.084 mmol) の DCM (5 mL) 溶液を含有する丸底フラスコに、BAST (20.3 mg、0.126 mmol) を 0 度で添加した。反応物を 0 度で 1 時間攪拌した。反応物を真空中で濃縮し、溶離液として EtOAc : Hex を用いてシリカゲルカートリッジで精製して、清澄無色の油として 12 mg (収率 60%) の 8を得た。

## 【0101】

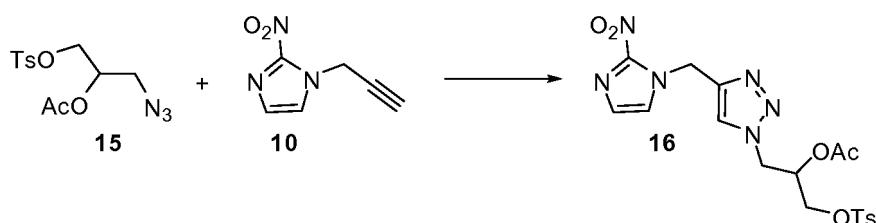
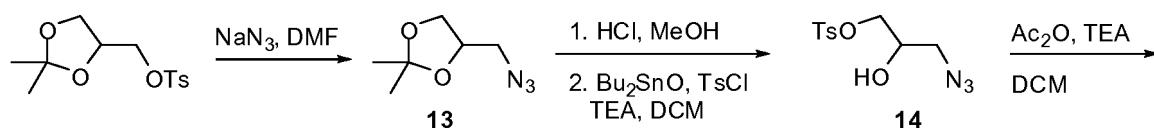
2 - (4 - ((2 - ニトロ - 1H - イミダゾール - 1 - イル) メチル) - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) エチル 4 - メチルベンゼンスルホネート (12) :

アルコール 11 (160 mg、0.672 mmol)、TEA (136 mg、1.34 mmol) 及び DCM (5 mL) を含有する丸底フラスコに、Ts<sub>2</sub>O (263 mg、0.806 mmol) を添加した。反応物を室温で 4 時間攪拌した。TLC により、反応の完了が示された。反応物を真空中で濃縮し、溶離液として EtOAc : Hex を用いてシリカゲルカートリッジで精製して、淡橙色の油として 140 mg (収率 53%) の 12を得た。MS (低分解能) : C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S 計算値: 392.092；実測値: 393.10 (M + H)。

化合物 3 及び 16 の調製。

## 【0102】

## 【化22】



## 【0103】

4 - (アジドメチル) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン (13) :

(2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - イル) メチル 4 - メチルベンゼン

50

スルホネート(5.73g、20.00mmol)のDMF(40mL)溶液に、アジ化ナトリウム(2.6g、40.00mmol)を添加し、反応混合物を80℃で18時間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させ、水(100mL)で希釈し、酢酸エチル(3×75mL)で3回抽出し、それをH<sub>2</sub>O(100mL)、ブライン(100mL)で連続して洗浄し、最後にMgSO<sub>4</sub>上で乾燥した。溶媒を真空下で除去して、褐色の油として2.2gの13を得た(収率76%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) : 4.21-4.27(m, 1H), 4.02(dd, J=6.4, 8.4Hz, 1H), 3.74(dd, J=6.0, 8.4Hz, 1H), 3.36(dd, J=4.8, 12.8Hz, 1H), 3.26(dd, J=5.6, 12.8Hz, 1H), 1.43(s, 3H), 1.33(s, 3H)。

10

## 【0104】

3-アジド-2-ヒドロキシプロピル 4-メチルベンゼンスルホネート(14) : 4-(アジドメチル)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン 13(2.2g、13.99mmol)をメタノール(25mL)に溶解した。この溶液にHC1のジエチルエーテル溶液(2M、5mL)を0℃で添加した。混合物を室温で一晩攪拌し、その後、減圧下で濃縮して黄色の油を得て、これを精製することなく次のステップに用いた。0.5時間乾燥した後、残留物をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(30mL)に溶解し、Bu<sub>2</sub>SnO(0.071mg、0.3mmol)、次いでTSC1(2.86g、15.0mmol)及びTEA(2.2mL、16mmol)で処理した。室温で3時間攪拌した後、水(30mL)を添加し、有機層を分離した。水層をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(2×50mL)で抽出し、有機層をH<sub>2</sub>O(50mL)及びブライン(50mL)で連続して洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥した。溶媒を真空下で除去し、溶離液として33%EtOAc/ヘキサンを用いて残留物をシリカゲルで精製して、清澄無色の油として1.86gの14を得た(収率48%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) : 7.77(d, J=8.0Hz, 2H), 7.34(d, J=8.0Hz, 2H), 3.96-4.09(m, 3H), 3.31-3.40(m, 2H), 2.43(s, 3H)。MS(低分解能) : C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S 計算値: 271.06; 実測値: 294.1(M+Na<sup>+</sup>)。

20

## 【0105】

1-アジド-3-(トシリオキシ)プロパン-2-イル アセテート(15) : 3-アジド-2-ヒドロキシプロピル 4-メチルベンゼンスルホネート14(1.83g、6.70mmol)をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(15mL)に溶解し、TEA(1.4mL、10.00mmol)、触媒量のDMAP及び無水酢酸(0.95mL、10.00mmol)で、室温で処理した。1時間攪拌した後、反応混合物にシリカを添加し、溶媒を蒸発させ、残留物を、50%EtOAc/ヘキサンを溶離液として用いて、シリカゲルで精製して、濃厚な清澄無色の油として2.07gの15を得た(収率98.8%)。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) : 7.79(d, J=8.4Hz, 2H), 7.37(d, J=8.0Hz, 2H), 5.02-5.07(m, 1H), 4.09-4.21(m, 2H), 3.43-3.53(m, 2H), 2.46(s, 3H), 2.05(s, 3H)。MS(低分解能) : C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S 計算値: 313.07; 実測値: 314.1(M+H<sup>+</sup>)。

30

## 【0106】

1-(4-((2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)メチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)-3-(トシリオキシ)プロパン-2-イル アセテート(16) : 2-ニトロ-1-(プロパ-2-イニル)-1H-イミダゾール10(0.2g、1.32mmol)を60℃で一晩、1-アジド-3-(トシリオキシ)プロパン-2-イルアセテート15(0.41g、1.32mmol)と共に加熱する。残留物をシリカゲルクロマトグラフィ(MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、1:10)で精製して16を得る。

40

## 【0107】

1-(4-((2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)メチル)-1H-1,2,

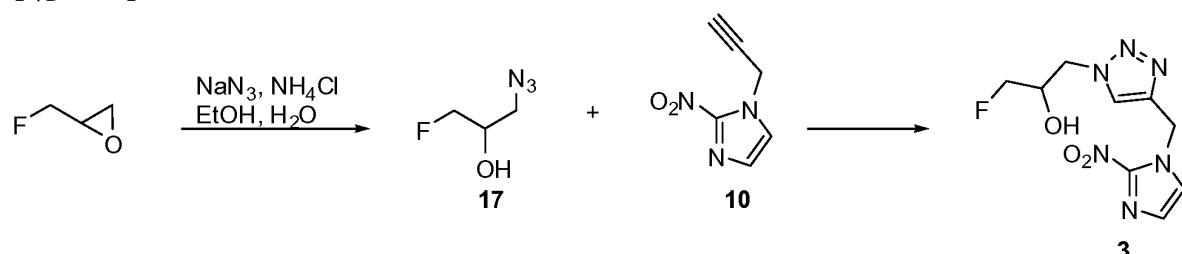
50

, 3 - トリアゾール - 1 - イル ) - 3 - ( トシリオキシ ) プロパン - 2 - イル アセテート ( 16 ) :

2 - ニトロ - 1 - ( プロパ - 2 - イニル ) - 1 H - イミダゾール ( 0 . 2 g m、 1 . 3 2 mm o l ) 及び 1 - アジド - 3 - ( トシリオキシ ) プロパン - 2 - イル アセテート ( 0 . 4 1 g m、 1 . 3 2 mm o l ) の THF ( 2 . 5 mL ) 溶液を、 室温で CuI ( 0 . 0 2 5 g、 0 . 1 3 2 mm o l ) 及び DIPEA ( 0 . 3 mL、 1 . 4 6 mm o l ) で処理した。反応混合物を一晩攪拌した後、シリカを添加し、溶媒を減圧下で蒸発させ、シリカゲルクロマトグラフィ ( MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、 1 : 1 0 ) で精製して、白色の固体として 1 - ( 4 - ( ( 2 - ニトロ - 1 H - イミダゾール - 1 - イル ) メチル ) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル ) - 3 - ( トシリオキシ ) プロパン - 2 - イル アセテート ( 0 . 5 g、 8 1 % ) を得た。<sup>1</sup>H NMR ( CDCl<sub>3</sub>, 4 0 0 MHz ) : 7 . 7 6 - 7 . 7 8 ( m , 3 H ) , 7 . 3 5 - 7 . 3 9 ( m , 3 H ) , 7 . 1 5 ( br , 1 H ) , 5 . 6 8 ( d , J = 5 . 6 Hz , 2 H ) , 5 . 2 7 - 5 . 3 2 ( m , 1 H ) , 4 . 5 6 - 4 . 6 7 ( m , 2 H ) , 4 . 1 9 ( dd , J = 4 . 0 , 1 1 . 2 Hz , 1 H ) , 4 . 0 8 ( dd , J = 4 . 0 , 1 1 . 2 Hz , 1 H ) , 2 . 4 6 ( s , 3 H ) , 1 . 9 7 ( s , 3 H ) ; MS ( 低分解能 ) : C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S 計算値 : 4 6 4 . 1 1 ; 実測値 : 4 6 5 . 1 ( M + H<sup>+</sup> ) 。 10

#### 【 0 1 0 8 】

#### 【 化 2 3 】



20

#### 【 0 1 0 9 】

##### 1 - アジド - 3 - フルオロプロパン - 2 - オール ( 1 7 ) :

エピフルオロヒドリン ( 1 3 . 1 5 mm o l ) をエタノール ( 1 0 mL ) と水 ( 1 0 mL ) との混合物に溶解した。塩化アンモニウム ( 2 3 . 6 mm o l ) 、次いでアジ化ナトリウム ( 2 1 . 9 1 mm o l ) を添加した。得られた溶液を 5 0 mL で一晩攪拌した。エタノールを真空中で除去した。混合物を酢酸エチル ( 2 × 5 0 mL ) で抽出した。次いで、有機層を濃縮し、溶離液として EtOAc : Hex を用いてシリカゲルカラムで精製して、清澄無色の油として 7 4 0 mg の 1 7 を得た。<sup>1</sup>H NMR スペクトルは公表されている結果と一致した。 30

#### 【 0 1 1 0 】

1 - フルオロ - 3 - ( 4 - ( ( 2 - ニトロ - 1 H - イミダゾール - 1 - イル ) メチル ) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル ) プロパン - 2 - オール ( 3 ) :

バイアルにフルオロアジド 1 7 ( 6 9 0 mg、 5 . 7 9 mm o l ) 及び 1 - プロピニル - 2 - ニトロイミダゾール ( 8 7 6 mg、 5 . 7 9 mm o l ) を加えた。このフラスコに THF ( 3 mL ) 、 t - BuOH ( 3 mL ) 、水 ( 3 mL ) 、 CuSO<sub>4</sub> ( 1 8 5 mg、 1 . 1 6 mm o l ) 及びアスコルビン酸ナトリウム ( 1 . 1 5 g、 5 . 7 9 mm o l ) を添加した。1 6 時間後、反応物を EtOAc に注ぎ、 NH<sub>4</sub>OH で洗浄した。有機物を合併し、次いで、溶離液として EtOAc : Hex を用いて、その物質をシリカゲルカラムで精製した。その後、その物質を、 EtOAc : Hex を用いた再結晶によって、更に精製して、淡黄色の結晶 6 5 mg ( 収率 4 % ) を得た。<sup>1</sup>H NMR ( DMSO - d<sub>6</sub>, 4 0 0 MHz ) , δ : 4 . 0 4 ( 1 H , br d , J = 2 0 . 4 Hz ) , 4 . 2 0 - 4 . 4 7 ( 4 H , m ) , 5 . 5 3 ( 1 H , br s ) , 5 . 6 6 ( 2 H , s ) , 7 . 1 6 ( 1 H , s ) , 7 . 6 8 ( 1 H , s ) , 8 . 0 5 ( 1 H , s ) 。 40

#### 【 0 1 1 1 】

50

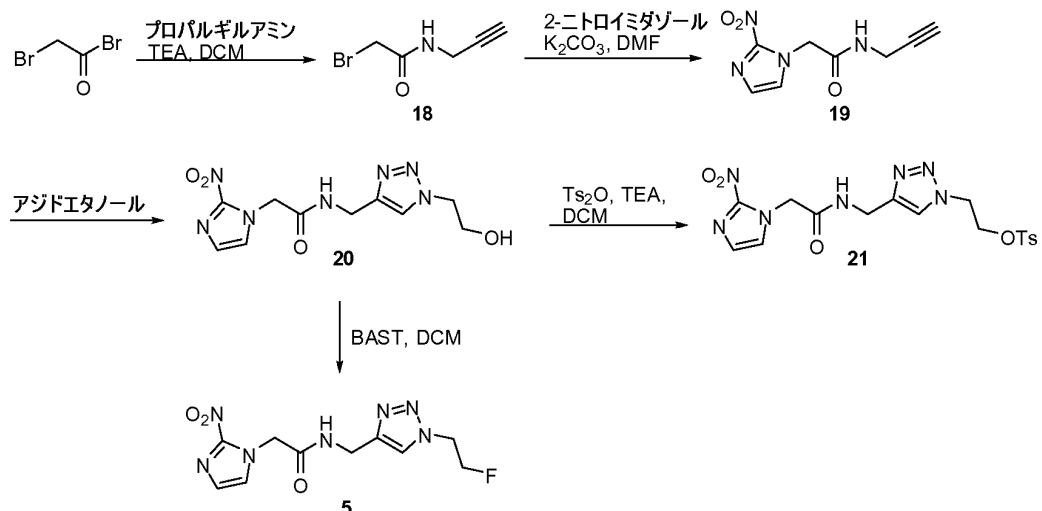
1 - フルオロ - 3 - ( ( 2 - ニトロ - 1 H - イミダゾール - 1 - イル ) メチル ) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル ) プロパン - 2 - オール ( 3 ) :

バイアルにフルオロアジド 17 ( 5 . 79 mmol ) 及び 1 - プロピニル - 2 - ニトロイミダゾール ( 5 . 79 mmol ) を加える。この溶液を 60 °C で一晩加熱する。次いで、溶離液として EtOAc : Hex を用いて、その物質をシリカゲルカラムで精製する。その後、EtOAc : Hex を用いて再結晶によって、その物質を更に精製して、淡黄色の結晶を得る。

化合物 5 及び 21 の調製。

【 0112 】

【 化 24 】



【 0113 】

2 - プロモ - N - ( プロパ - 2 - イニル ) アセトアミド ( 18 ) :

2 - プロモアセチルプロミド ( 10 g, 49 . 5 mmol ) 、 T E A ( 5 . 01 g, 49 . 5 mmol ) 及び D C M ( 20 mL ) を含有する丸底フラスコに、 0 °C で、 D C M ( 10 mL ) 溶液としてプロパルギルアミン ( 2 . 73 g, 49 . 5 mmol ) を 1 時間かけて滴加した。反応物を室温で一晩攪拌した。反応物を水 ( 20 mL ) に注ぎ、飽和 NaHCO<sub>3</sub> ( 1 × 20 mL ) で洗浄した。有機層を 1N HCl ( 1 × 20 mL ) で洗浄した。有機層を濃縮乾固し、溶離液として EtOAc : Hex を用いて、シリカゲルカートリッジで精製して、淡橙色の固体として 2 . 44 g ( 収率 28 % ) の 18 を得た。<sup>1</sup>H NMR ( CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz ), δ : 2 . 25 ( 1 H, s ), 3 . 84 ( 2 H, s ), 4 . 05 ( 2 H, s ), 6 . 82 ( 1 H, br s ) 。 MS ( 低分解能 ) : C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>BrNO 計算値 : 174 . 96 ; 実測値 : 176 . 00, 178 . 00 ( M + H ) 。

【 0114 】

2 - ( 2 - ニトロ - 1 H - イミダゾール - 1 - イル ) - N - ( プロパ - 2 - イニル ) アセトアミド ( 19 ) :

丸底フラスコに、アルキン 18 ( 1 . 56 g, 8 . 84 mmol ) 、 2 - ニトロイミダゾール 10 ( 1 g, 8 . 84 mmol ) 及び K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ( 1 . 22 g, 8 . 84 mmol ) の DMF ( 10 mL ) 溶液を加えた。反応物を一晩攪拌した。反応物を水 ( 100 mL ) で希釈し、生じた沈殿物 ( 1 . 2 g ) を濾別し、水 ( 2 × 40 mL ) で洗浄した。水層を EtOAc 中に抽出した。有機層を濃縮乾固し、沈殿物と合一した。その物質を、溶離液として EtOAc : Hex を用いてシリカゲルカートリッジで精製して、 19 の白色固体を得た ( 324 mg, 18 % ) 。 MS ( 低分解能 ) : C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 計算値 : 208 . 06 ; 実測値 : 209 . 10 ( M + H ) 。

【 0115 】

N - ( ( 1 - ( 2 - ヒドロキシエチル ) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 4 - イル ) メチル ) - 2 - ( 2 - ニトロ - 1 H - イミダゾール - 1 - イル ) アセトアミド ( 20 )

10

20

30

40

50

:

バイアルにアルキン（375mg、1.8mmol）及びアジドエタノール（157mg、1.8mmol）を加えた。このバイアルにTHF（5mL）、DIPSEA（345μL、1.98mmol）及びヨウ化銅（34.3mg、0.18mmol）を添加した。数時間後、アスコルビン酸ナトリウム（50mg）を添加して、反応を完了させた。次いでその物質を、溶離液としてEtOAc：Hexを用いて、シリカゲルカラムで精製した。その後、EtOAc：Hexを用いた再結晶によってその物質を更に精製して、固体として300mg（収率56%）の20を得た。

## 【0116】

N-((1-(2-ヒドロキシエチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)メチル)-2-(2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)アセトアミド（20）  
:

バイアルにアルキン（375mg、1.8mmol）及びアジドエタノール（157mg、1.8mmol）を加える。この溶液を60で一晩加熱する。次いで、その物質を、溶離液としてEtOAc：Hexを用いてシリカゲルカラムで精製する。その後、EtOAc：Hexを用いた再結晶によってその物質を更に精製して、固体として20を得た。

## 【0117】

2-(4-((2-(2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)アセトアミド)メチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)エチル-4-メチルベンゼンスルホネート（21）：

丸底フラスコに、アルコール20（106mg、0.359mmol）、TEA（36.3mg、0.359mmol）及びDCM（10mL）を加えた。Ts<sub>2</sub>O（117mg、0.359mmol）を一度に添加した。反応物を室温で4時間攪拌した。次いで、反応物を濃縮乾固し、溶離液としてEtOAc：Hexを用いてシリカゲルカートリッジで精製して、白色の固体として55mg（収率34%）の21を得た。MS（低分解能）：C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>S 計算値：449.11；実測値：450.1（M+H）。

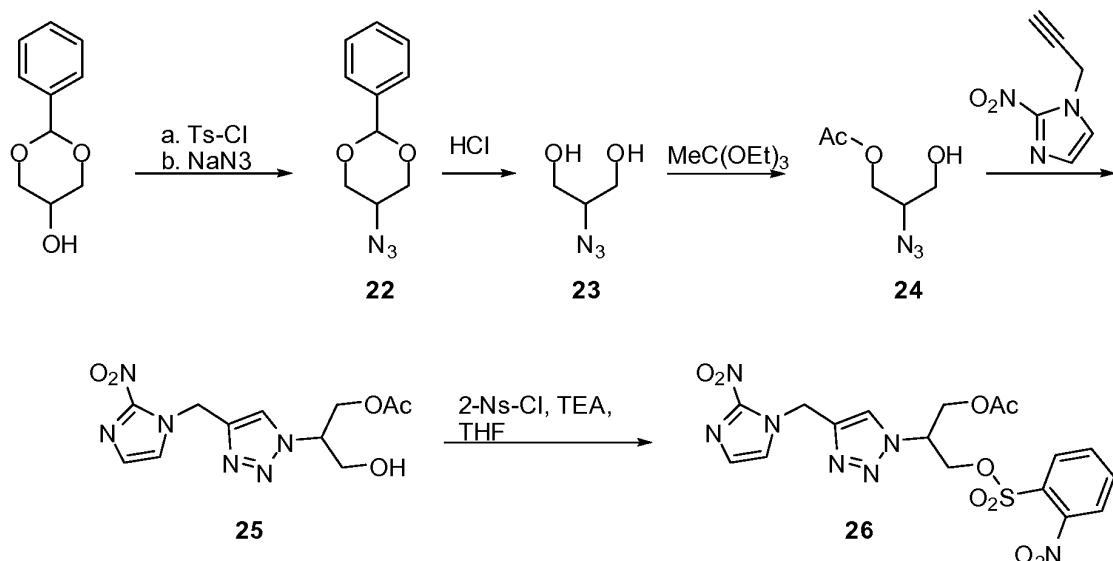
## 【0118】

N-((1-(2-フルオロエチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)メチル)-2-(2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)アセトアミド（5）：

アルコール20（20mg、0.07mmol）のDCM（5mL）溶液を含有する丸底フラスコに、0で、BAST（20.3mg、0.126mmol）を添加した。反応物を0で1時間攪拌した。反応物を真空中で濃縮し、溶離液としてEtOAc：Hexを用いてシリカゲルカートリッジで精製して、清澄無色の油として5を得た。  
化合物1及び26の調製。

## 【0119】

## 【化25】



## 【0120】

2 - フェニル - 1 , 3 - ジオキサン - 5 - イル 4 - メチルベンゼンスルホネート :  
 2 リットル丸底フラスコに、2 - フェニル - 1 , 3 - ジオキサン - 5 - オール ( 5 0 g  
 、 2 7 7 mmol ) 、トリエチルアミン ( 4 2 . 1 g 、 4 1 6 mmol ) 、 D M A P ( 3  
 . 3 9 g 、 2 7 . 7 mmol ) 及びジクロロメタン ( 1 L ) を加えた。反応物を 0 °C に冷  
 却した。この溶液に塩化トシリル ( 5 8 . 2 g 、 3 0 5 mmol ) を添加し、反応物を室温  
 で一晩攪拌した。反応物を水 ( 8 0 0 mL ) に注ぎ入れ、 D C M に抽出した。有機層を合  
 わせ、濃縮乾固した。粗混合物を E t O A c : H e x から再結晶して、白色の固体 8 8 g  
 ( 収率 9 6 % ) を得た。<sup>1</sup>H N M R ( C D C l<sub>3</sub> , 4 0 0 M H z ) , δ : 2 . 4 4 ( 3 H  
 , s ) , 4 . 0 9 ( 2 H , d d , J = 1 3 . 6 , 2 H z ) , 4 . 2 7 ( 2 H , d d , J =  
 1 3 . 6 , 1 . 6 H z ) , 4 . 5 1 ( 2 H , 擬似 t , J = 1 . 6 H z ) , 7 . 3 3 - 7 .  
 3 6 ( 5 H , m ) , 7 . 4 4 - 7 . 4 5 ( 2 H , m ) , 7 . 8 5 ( 2 H , d , J = 8 . 3  
 9 H z ) 。 M S ( 低分解能 ) : C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>S 計算値 : 3 3 4 . 0 9 ; 実測値 : 3 3 5 .  
 1 ( M + H ) 。  
 20

## 【0121】

5 - アジド - 2 - フェニル - 1 , 3 - ジオキサン ( 2 2 ) :  
 1 L 丸底フラスコに、2 - フェニル - 1 , 3 - ジオキサン - 5 - イル 4 - メチルベン  
 ゼンスルホネート ( 4 0 g 、 1 2 0 mmol ) 及び D M F ( 5 0 0 mL ) を加えた。 N a  
 N<sub>3</sub> ( 3 1 . 3 g 、 4 7 8 mmol ) を水溶液 ( 1 5 0 mL ) として添加した。反応物を  
 1 0 5 °C で 2 日間攪拌した。その後、反応物を濃縮乾固した。その固体を水 ( 7 0 0 mL )  
 に溶解し、 E t O A c ( 3 × 5 0 0 mL ) 中に抽出した。合一した有機層を水 ( 5 回 )  
 で洗浄し、濃縮乾固して、橙色の固体を得た。次いで、その物質をヘキサンから再結晶し  
 て、淡褐色の固体として 2 0 . 7 g ( 収率 8 4 % ) の 2 2 を得た。<sup>1</sup>H N M R ( C D C  
 l<sub>3</sub> , 4 0 0 M H z ) , δ : 3 . 6 7 ( 2 H , 擬似 t , J = 1 1 . 5 9 H z ) , 3 . 7 8  
 - 3 . 8 8 ( 1 H , m ) , 4 . 3 6 - 4 . 0 4 ( 2 H , m ) , 7 . 3 6 - 7 . 3 9 ( 3 H  
 , m ) , 7 . 4 5 - 7 . 4 7 ( 2 H , m ) 。 M S ( 低分解能 ) : C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> 計算値 :  
 2 0 5 . 0 9 ; 実測値 : 1 7 8 . 1 ( M + H - N<sub>2</sub> ) 。  
 40

## 【0122】

2 - アジドプロパン - 1 , 3 - ジオール ( 2 3 ) :  
 2 2 ( 2 1 . 7 g 、 1 0 6 mmol ) の E t<sub>2</sub>O ( 2 9 4 mL ) 溶液を含有する 1 L 丸  
 底フラスコに、濃 H C l ( 1 2 6 mL ) を加えた。反応物を室温で一晩攪拌した。次いで  
 、その物質を真空中シリカゲル上で濃縮し、溶離液として E t O A c : H e x ( 2 0 % E  
 t O A c から 1 0 0 % E t O A c ) を用いて精製して、黄色 / 琥珀色の油として 1 0 . 5  
 50

g (収率84%)の23を得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), δ: 1.94 (2H, br s), 3.63 - 3.68 (1H, m), 3.75 - 3.86 (4H, m)。

### 【0123】

2-アジド-3-ヒドロキシプロピル アセテート(24)：

2-アジドプロパン-1,3-ジオール23 (10.46 g, 89.3 mmol)をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (450 mL)に溶解し、室温で1時間、触媒量のp-トルエンスルホン酸一水和物 (340 mg, 1.8 mmol)及びオルト酢酸トリエチル (24.4 mL, 13.4 mmol)で処理した。オルトエステルの形成が完了した後、化学量論量の水 (2.4 mL, 13.4 mmol)を混合物に添加した。次いで混合物を40分間攪拌し、その後、真空中で濃縮した。溶離液としてEtOAc:Hex (5% EtOAcから100% EtOAc)を用いて残留物をシリカゲルカートリッジで精製して、清澄無色の油として8.14 g (収率57%)の24を得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), δ: 2.45 (1H, br s), 2.12 (3H, s), 3.63 - 3.78 (3H, m), 4.20 - 4.30 (2H, m)。

### 【0124】

3-ヒドロキシ-2-(4-((2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)メチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)プロピル アセテート(25)：

化合物24 (500 mg, 3.14 mmol)及び1-プロピニル-2-ニトロイミダゾール (475 mg, 3.14 mmol)を含有するバイアルを60で一晩加熱した。得られた固体を、溶離液としてEtOAc:Hexを用いてシリカゲルカートリッジで精製して、白色の固体504 mg (収率52%)を得た。

### 【0125】

3-ヒドロキシ-2-(4-((2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)メチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)プロピル アセテート(25)：

化合物24 (5.5 g, 34.9 mmol)のt-BuOH:THF:H<sub>2</sub>O (120 mL, 1:1:1)溶液を含有するバイアルに、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (435 mg, 1.75 mmol)、アスコルビン酸ナトリウム (691 mg, 3.49 mmol)及び1-プロピニル-2-ニトロイミダゾール (5.27 g, 34.9 mmol)を添加し、反応物を室温で一晩攪拌した。次いで、反応物をシリカ上で濃縮乾固した。得られた固体を、溶離液として50% EtOAc:Hex、次いで10% MeOH:DCMを用いてシリカゲルカートリッジで精製して、粘稠な黄色油9.17 g (収率90%)を得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), δ: 2.06 (3H, s), 4.11 - 4.13 (2H, m), 4.47 - 4.59 (2H, m), 4.81 - 4.84 (1H, m), 5.72 (2H, s), 7.17 (1H, d, J = 1.12 Hz), 7.38 (1H, d, J = 1.12 Hz), 7.88 (1H, s)。MS (低分解能) : C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub> 計算値：310.10；実測値：311.10 (M+H)。

### 【0126】

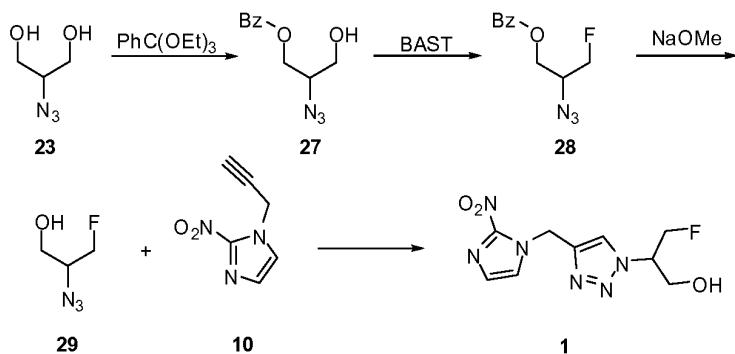
(2-(4-((2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)メチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)-3-(2-ニトロフェニルスルホニルオキシ)プロピル アセテート)26：

25 (9.17 g, 29.6 mmol)のDCM (200 mL)溶液を含有する丸底フラスコに、TEA (8.3 mL, 59.2 mmol)及び4分子ふるい (2 g)を0で加えた。反応物を1時間攪拌した。2-ニトロベンゼンスルホニルクロリド (7.87 g, 35.5 mmol)を添加し、反応物を室温まで昇温させた。反応物を室温で2時間攪拌した。反応物を真空中シリカゲル上で濃縮し、溶離液としてMeOH:DCM (2% MeOH:DCMから10% MeOH:DCM)を用いてシリカゲルカートリッジで精製して、淡黄色の固体9.74 gを得た。その物質を、EtOAc:Hexを用いて再結晶によって更に精製して、白色の固体4.5 g (収率30.5%)を得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), δ: 2.06 (3H, s), 4.54 (2H, d, J = 5.0 Hz), 7.17 (1H, d, J = 1.12 Hz), 7.38 (1H, d, J = 1.12 Hz), 7.88 (1H, s)。MS (高分解能) : C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S 計算値：438.12；実測値：439.12 (M+H)。

. 6 Hz), 4.75 (2 H, d t, J = 11.2, 6.80), 5.12 - 5.16 (1 H, m), 5.68 (2 H, d, J = 3.20), 7.17 (1 H, d, J = 0.8 Hz), 7.33 (1 H, d, J = 1.12 Hz), 7.75 - 7.87 (4 H, m), 8.09 (1 H, dd, J = 7.59, 1.2 Hz)。MS(低分解能) : C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>7</sub>O<sub>9</sub> S計算値: 495.08; 実測値: 496.10 (M + H)。

## 【0127】

## 【化26】



## 【0128】

## 2-アジド-3-ヒドロキシプロピル ベンゾエート(27) :

ニートの23(1.48 g、12.65 mmol)をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(127 mL)に溶解し、室温で1時間、触媒量のp-トルエンスルホン酸一水和物(0.048 g、20 μmol)及び(トリメトキシメチル)ベンゼン(3.26 mL、18.98 mmol)のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液で処理した。オルトエステルの形成完了後、化学量論量の水(340 μL、18.98 mmol)を混合物に添加した。次いで、混合物を40分間攪拌し、真空中で濃縮した。25% EtOAc:ヘキサンを用いて残留物をシリカゲルフラッシュクロマトグラフィで精製して、清澄無色の油として2.6 gのモノアシル化生成物27(収率93%)を得た。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 8.03 - 8.06(m, 2H), 7.58(t t, J = 1.6, 2.0, 1.6 1H), 7.43 - 7.47(m, 2H), 4.54(dd, J = 4.4, 12.0 Hz, 1H), 4.46(dd, J = 6.8, 12.0 Hz, 1H), 3.85 - 3.91(m, 1H), 3.80(dd, J = 4.8, 11.6 Hz, 1H), 3.73(dd, J = 6.0, 11.6 Hz, 1H)。

## 【0129】

## 2-アジド-3-フルオロプロピル ベンゾエート(28) :

化合物27(9 g、40.72 mmol)をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(70 mL)に溶解し、室温でBAST(3.75 mL、20.36 mmol)を滴下して処理した。1時間攪拌した後、更に3.75 mL(20.36 mmol)のBASTを室温で滴加した。更に1時間攪拌した後、更に3.75 mL(20.36 mmol)のBASTを室温で滴加し、反応混合物を12時間攪拌した。反応混合物を飽和NaHCO<sub>3</sub>でクエンチし、有機層をH<sub>2</sub>Oとブラインとで連続して洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥、溶媒を真空中で除去した。溶離液として25%エーテル:ヘキサンを用いて残留物をシリカゲルで精製して、清澄無色の油として3.24 g(収率37%)の28を得た。5 gの27も回収した。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 8.04 - 8.07(m, 2H), 7.60(t t, J = 1.6, 2.0, 1.6 1H), 7.45 - 7.49(m, 2H), 4.62 - 4.70(m, 1H), 4.52 - 4.57(m, 2H), 4.42 - 4.46(m, 1H), 3.98 - 4.08(m, 1H), 3.73(dd, J = 6.0, 11.6 Hz, 1H)。

## 【0130】

## 2-アジド-3-フルオロプロパン-1-オール(29) :

化合物28(1.63 g、7.30 mmol)をメタノール(15 mL)に溶解し、室

10

20

30

40

50

温においてNaOME(0.8g、14.8mmol)で処理した。1時間攪拌した後、シリカを反応混合物に添加し、溶媒を蒸発させ、溶離液として50%EtOAc:ヘキサンを用いてシリカゲルで精製して、清澄無色の油として0.828g(収率95%)の29を得た。<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) : 4.59-4.68(m, 1H), 4.47-4.56(m, 1H), 3.68-3.84(m, 3H)。

#### 【0131】

3-フルオロ-2-(4-((2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)メチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)プロパン-1-オール(1)：バイアルにアルキン10(1.9g、12.6mmol)及び29(1.5g、12.6mmol)を加える。溶液を60で一晩加熱する。次いでその物質を、溶離液として10 10%MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>を用いてシリカゲルカラムで精製する。その後、EtOAc:H<sub>ex</sub>を用いて再結晶によってその物質を更に精製して、固体として1を得る。

#### 【0132】

3-フルオロ-2-(4-((2-ニトロ-1H-イミダゾール-1-イル)メチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)プロパン-1-オール(1)：10(1.9g、12.6mmol)及び29(1.5g、12.6mmol)のt-BuOH:THF:H<sub>2</sub>O(22.5mL、1:1:1)溶液を、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O(0.31g、1.26mmol)及びアスコルビン酸ナトリウム(0.5g、2.52mmol)で処理し、室温で1時間攪拌した。有機溶媒を真空中で除去し、残留物をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>に溶解し、H<sub>2</sub>O、次いでブライインで連続して洗浄し、次にMgSO<sub>4</sub>上で乾燥した。その後、溶媒を真空中で濃縮し、溶媒として10%MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>を用いて残留物をシリカゲルで精製して、白色固体として1(3.00g、88%)を得た。EtOAc/ヘキサンから再結晶して、その生成物を更に精製した。<sup>1</sup>H NMR((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 400MHz) : 8.15(s, 1H), 7.57(d, J = 1.2Hz, 1H), 7.11(d, J = 1.2Hz, 1H), 5.79(s, 2H), 4.87-5.05(m, 2H), 4.82(dd, J = 4.0, 10.0Hz, 1H), 4.17-4.45(m, 1H), 4.03(t, J = 5.6Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 100MHz) : 141.8, 127.9, 127.1, 123.5, 83.0, 81.3, 63.0(d, J = 18.69Hz, 1C), 60.5(d, J = 6.73Hz, 1C), 44.8; <sup>19</sup>F NMR((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, 376MHz) 230.2(d, d, d, J = 19.18, 19.55, 21.60Hz, 1F); MS(低分解能) : C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>3</sub>計算値：270.09；実測値：271.1(M+H)。

#### [F-18] 標識化低酸素トレーサーの放射性標識化法の説明。放射性標識化用[F-18]フッ化物を調製するための一般的な調製法

この反応は、GINA-Starソフトウェアを使用するコンピュータで制御されるexplora(登録商標)RN化学反応モジュールで行なう。

#### 【0133】

##### [F-18] フッ化物イオンの調製：

サイクロトロンターゲットで生成される水性[F-18]フッ化物イオンを、化学反応モジュールに配置されたアニオン交換樹脂カートリッジに送り、そこに捕捉させる。次いで、炭酸カリウム(3mg)の水(0.4mL)溶液を用いて、F-18を反応器に溶出させる。次いで、アセトニトリル(1mL)に溶解したKryptofix(登録商標)222(20mg)を反応器に添加する。

#### 【0134】

その溶液を濃縮乾固して、アセトニトリル及び水を除去し(70~95)、減圧(250mbar)及びアルゴン流下)、それにより比較的乾燥した高度に活性化された形態の[F-18]フッ化物イオンが得られる。

#### [F-18] 8の放射性標識化反応。

#### 【0135】

前駆体12(20μmol)のアセトニトリル(0.9mL)溶液を乾燥[F-18]

フッ化物イオンに添加する。混合物を約110℃に10分間加熱して、[F-18]フッ化物イオンと反応させる。

#### 【0136】

反応混合物の精製及び滅菌濾過：

粗[F-18]-標識化トレーサー生成物溶液を試料ループ(1.5mL)に移し、その後、セミ分取HPLCカラム(例、ACE C18、5AQ、250×10mm、10%エタノール/10%水(v/v)、4.0mL/分)に注入する。

#### 【0137】

explora(登録商標)RN化学反応モジュールは、UV検出器及びガイガーミュラー(GM)検出器の両方を備えている。フロースルー放射性検出器及びUV(254nm)検出器でモニターしながら、生成物をカラムから集める。

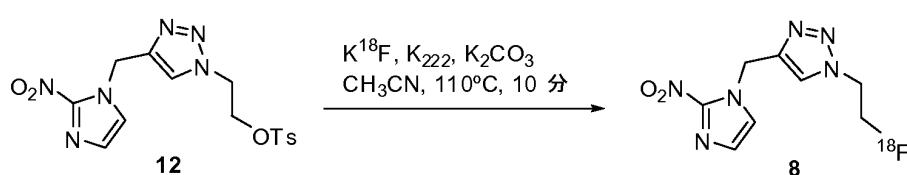
#### 【0138】

記載の溶出条件下、[F-18]8の保持時間は、約8~10分である。[F-18]-標識化トレーサーを含有する画分を滅菌フィルタ(0.22μm)に通し、滅菌バイアルに集める。集められる原薬の容量は、典型的には8~10mLである。

[F-18]8の放射性標識化反応

#### 【0139】

#### 【化27】



#### 【0140】

放射化学的収率：2.05%(崩壊補正)

放射化学的純度：100%

[F-18]3の放射性標識化反応。

#### 【0141】

アセトニトリル(0.5mL)とt-BuOH(0.5mL)との混合物に溶解した前駆体16(15±5mg、20~40μmol)の溶液を、無水[F-18]フッ化物を含有する反応器に加える。容器を125±15℃に7.5±2.5分間加熱して、[F-18]フッ化物でノシラート脱離基を置換させる。

#### 【0142】

冷却し、アセトニトリル及びt-ブタノールを蒸発させた後、塩酸水溶液(1.0N、0.8mL)を添加し、混合物を110±5℃に7.5±2.5分間加熱する。これにより、アセテート基が加水分解され、ヒドロキシリル基に変換する。この加水分解反応によって粗[F-18]3が形成される。反応混合物を冷却し、酢酸ナトリウム(2.0M、0.4mL)を添加して中和する。

#### 【0143】

反応混合物の精製及び滅菌濾過：

粗[F-18]-標識化トレーサー生成物溶液を試料ループ(1.5mL)に移し、その後、セミ分取HPLCカラム(例、Synergia、250×10mm、5%エタノール/95%水(v/v)、5.0mL/分)に注入する。

#### 【0144】

explora(登録商標)RN化学反応モジュールは、UV検出器及びガイガーミュラー(GM)検出器の両方を備えている。フロースルー放射性検出器及びUV(254nm)検出器でモニターしながら、生成物をカラムから集める。

#### 【0145】

20

30

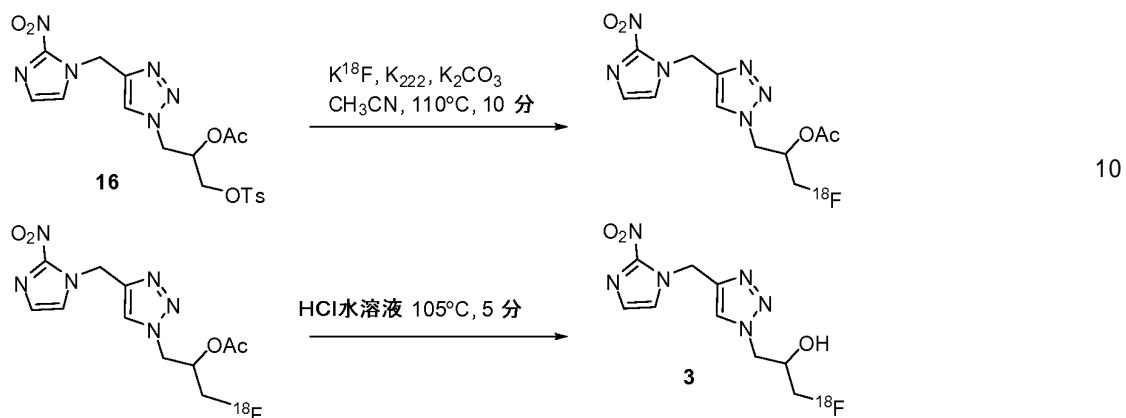
40

50

記載の溶出条件下、[F-18]3の保持時間は約8~10分である。[F-18]-標識化トレーサーを含有する画分を滅菌フィルタ(0.22μm)に通し、滅菌バイアルに集める。集められる原薬の容量は、典型的には8~10mLである。

## 【0146】

## 【化28】



## 【0147】

放射化学的収率：38.42%（崩壊補正）

放射化学的純度：100%

[F-18]5の放射性標識化反応。

## 【0148】

アセトニトリル(0.5mL)とt-BuOH(0.5mL)との混合物に溶解した前駆体21(15±5mg、20~40μmol)の溶液を、無水[F-18]フッ化物を含有する反応器に加える。容器を125±15に7.5±2.5分間加熱して、[F-18]フッ化物によるノシラート脱離基の置換を誘発する。

## 【0149】

反応混合物の精製及び滅菌濾過：

粗[F-18]-標識化トレーサー生成物溶液を試料ループ(1.5mL)に移し、その後、セミ分取HPLCカラム(例、Synergia、250×10mm、8%エタノール/92%21mMリン酸緩衝液(v/v)に溶解、4mL/分)に注入する。

## 【0150】

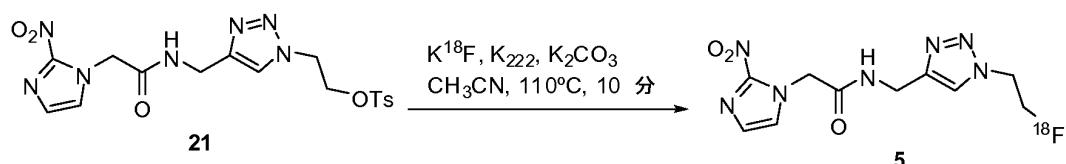
explora(RN)化学反応モジュールは、UV検出器及びガイガーミュラー(GM)検出器の両方を備えている。フロースルー放射性検出器及びUV(254nm)検出器でモニターしながら、生成物をカラムから集める。

## 【0151】

記載の溶出条件下、[F-18]5の保持時間は約7~9分である。[F-18]-標識化トレーサーを含有する画分を滅菌フィルタ(0.22μm)に通し、滅菌バイアルに集める。集められる原薬の容量は、典型的には8~10mLである。

## 【0152】

## 【化29】



## 【0153】

放射化学的収率：12.14%（崩壊補正）

放射化学的純度：40%

[F-18]1の放射性標識化反応。

10

20

30

40

50

## 【0154】

アセトニトリル(0.5mL)とt-BuOH(0.5mL)との混合物に溶解した前駆体26( $15 \pm 5\text{ mg}$ 、 $20 \sim 40\text{ }\mu\text{mol}$ )の溶液を、無水[F-18]フッ化物を含有する反応器に加える。容器を $125 \pm 15^\circ\text{C}$ に $7.5 \pm 2.5$ 分間加熱して、[F-18]フッ化物によるノシラート脱離基の置換を誘発する。

## 【0155】

冷却し、アセトニトリル及びt-ブタノールを蒸発させた後、塩酸水溶液(1.0N、0.8mL)を添加し、混合物を $110 \pm 5^\circ\text{C}$ に $7.5 \pm 2.5$ 分間加熱する。これによりアセテート基を加水分解して、ヒドロキシル基に変換する。この加水分解反応によって粗[F-18]1が形成される。反応混合物を冷却し、酢酸ナトリウム(2.0M、0.4mL)を添加して中和する。  
10

## 【0156】

反応混合物の精製及び滅菌濾過：

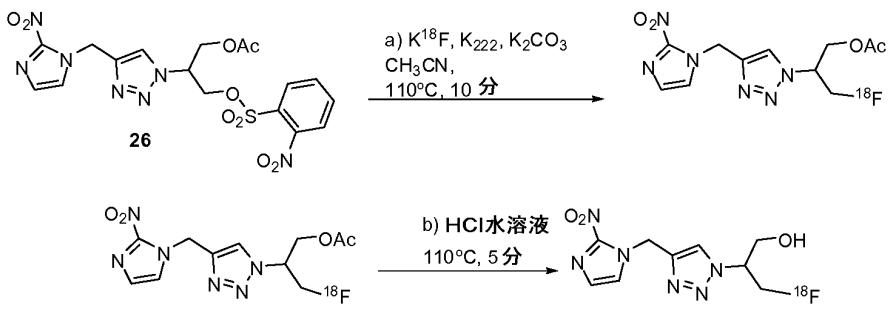
粗[F-18]1を含有する反応混合物をアルミナsep-pak littleに通して(未反応[F-18]フッ化物を除去し)、次いでHPLC試料ループに移す。粗反応材料を、セミ分取HPLCカラム(Waters ACE AQ逆相セミ分取カラム( $250 \times 10\text{ mm}$ )、p/nACE-126-2510,  $250 \times 10\text{ mm}$ 、5%エタノール/ $95\% 21\text{ mM}$ リン酸緩衝液に溶解、 $5.0\text{ mL}/\text{分}$ )を用いてクロマトグラフ分離によって精製した。直列接続したUV( $254\text{ nm}$ )検出器及び放射検出器を用いて、カラム流出液をモニターする。  
20

## 【0157】

explora(登録商標)RN化学反応モジュールは、UV検出器及びガイガーミュラー(GM)検出器の両方を備えている。フロースルー放射性検出器及びUV( $254\text{ nm}$ )検出器でモニターしながら、生成物をカラムから集める。記載の溶出条件下、[F-18]1の保持時間は約 $17 \pm 5$ 分である。空の滅菌捕集バイアルに、1~6%エタノール、 $75\text{ mg/mL}$ アスコルビン酸及び $95\% 21\text{ mM}$ リン酸を含有する滅菌希釈剤 $5 \sim 10\text{ mL}$ を予め充填する。HPLC精製カラムから溶離した精製[F-18]1の画分を、 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滅菌フィルタを通して予め充填した捕集バイアルに入れる。全放射能のインプロセスアッセイに基づいて、充分なアスコルビン酸及び滅菌希釈剤を添加して、アスコルビン酸濃度を5%( $50\text{ mg/mL}$ )に、そして放射能濃度を $30\text{ mCi/mL}$ 以下に調節する。  
30

## 【0158】

## 【化30】



## 【0159】

放射化学的収率：34%(崩壊補正)

放射化学的純度：100%

## [F-18]1のための代替放射性標識化反応：

放射性[F-18]フッ化物を、K222/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液0.5mL(MeCN 9mL及びH<sub>2</sub>O 9mLに溶解したK222 660mg及びK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 210mg)を含有する3mLのVバイアルに移す。この[F-18]フッ化物を、Ar流下、 $3 \times 1\text{ mL}$ のMeCNで共沸乾燥する。アセトニトリル(1.0mL)に溶解した前駆体26(16  
40

$\pm 5 \text{ mg}$ 、 $20 \sim 40 \mu\text{mol}$ ) の溶液を、無水 [F-18] フッ化物を含有する反応器に加える。容器を  $95 \pm 5$  に  $7.5 \pm 2.5$  分間加熱して、[F-18] フッ化物によるノシラート脱離基の置換を誘発する。

#### 【0160】

冷却し、アセトニトリルを約  $0.1 \text{ mL}$  に蒸発させた後、 $\text{NaOH}$  水溶液 ( $0.05 \text{ N}$ 、 $2.0 \text{ mL}$ ) を添加し、混合物を  $60 \pm 5$  に  $3 \pm 1$  分間加熱する。これによりアセテート基が加水分解されて、ヒドロキシリル基に変換する。この加水分解反応によって粗[F-18]1が形成される。

#### 【0161】

反応混合物の精製及び滅菌濾過：

10

粗反応材料を、セミ分取HPLCカラム (Phenomenex Luna逆相セミ分取カラム ( $250 \times 10 \text{ mm}$ 、 $10 \mu$ )、 $6\%$ エタノール、 $5.0 \text{ mL}/\text{分}$ ) を用いてクロマトグラフ分離によって精製した。直列に接続されたUV ( $254 \text{ nm}$ ) 検出器及び放射検出器を用いて、カラム流出液をモニターする。

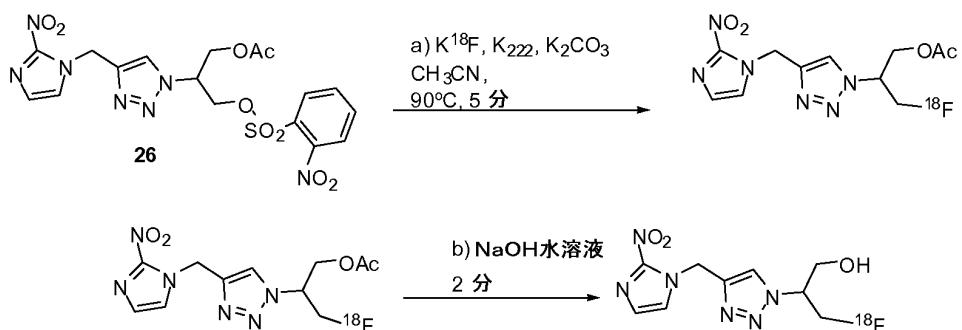
#### 【0162】

explora (登録商標) RN化学反応モジュールは、UV検出器及びガイガーミュラー(GM)検出器の両方を備えている。フロースルー放射性検出器及びUV ( $254 \text{ nm}$ ) 検出器でモニターしながら、生成物をカラムから集める。記載の溶出条件下、[F-18]1の保持時間は約  $17 \pm 5$  分である。空の滅菌捕集バイアルに、 $1\sim6\%$ エタノール、 $75 \text{ mg}/\text{mL}$  アスコルビン酸及び $95\%21 \text{ mM}$  リン酸を含有する滅菌希釈剤  $5\sim10 \text{ mL}$  を予め充填する。HPLC精製カラムから溶離した精製[F-18]1の画分を、 $0.2 \mu\text{m}$  滅菌フィルタを通して予め充填した捕集バイアルに入れる。全放射能のインプロセスアッセイに基づいて、充分なアスコルビン酸及び滅菌希釈剤を添加して、アスコルビン酸濃度を $5\%$  ( $50 \text{ mg}/\text{mL}$ ) に、そして、放射能濃度を $30 \text{ mCi}/\text{mL}$  以下に調節する。

20

#### 【0163】

#### 【化31】



30

#### 【0164】

放射化学的収率： $34\%$  (崩壊補正)

放射化学的純度： $100\%$

40

HX系列の生物学的データ

動物実験

#### 1) HX4の生体内分布及び生体内安定性

#### 1A：マウス試験

方法：化合物1をDMSOに溶解して、 $100 \text{ mM}$ の原液を得た。次いで、これを、 $3\%$  Solutolを含有する $1\times\text{PBS}$ で希釈して、濃度 $5 \text{ mM}$ とした。 $5 \text{ mM}$ の化合物1の溶液 $200 \mu\text{l}$ を、イソフルオラン麻酔下、マウスの尾静脈に注射した。インヴィヴォ(in vivo)取り込みは2時間であった。

#### 【0165】

血液試料及び尿試料を $30$ 、 $60$ 、 $90$ 及び $120$ 分に採取した。試料を直ちに氷上に

50

置いて化合物の分解を防いだ。120分に血液及び尿の試料採取が完了した後、マウスを頸部脱臼によって屠殺した。以下の全器官を次の順番で30~40分以内に摘出した。下部消化管、上部消化管、脾臓、胰臓、胆嚢、肝臓、心臓、腎臓、肺、両脚から筋肉約0.3g、背側皮膚約0.4g、全脳及び腹部内脂肪約0.4g。

#### 【0166】

これらの試料に比例する量の溶解用緩衝液(約5ml/組織g)を添加した後、動力式ホモジナイザを用いて組織を均質化した。血液試料及び尿試料に溶解用緩衝液50μlを添加した後、簡単にボルテックスミキサーに掛けた。器官均質化物200μlを、1.5mlエッペンドルフ管に取った。全ての試料を100で2分間加熱してタンパク質を変性し、その後、氷中に15分間置いた。次いで、ギ酸40μlを器官試料に加え、20μlを血液試料及び尿試料に加えた。全ての管をボルテックスミキサーにかけて、試料と酸を完全に混合した。次いで、試料を氷中に15分間置いた後、4で15分間、13,000rpmで遠心分離した。上清30μlをMSD分析のためにHPLCバイアルに移した。

10

#### 【0167】

組織溶解処理に関して上に記載したものと同じ方法を用いて、広範囲の化合物1濃度で標準曲線を作成した。標準中、化合物の対応するピークを最初に同定した。ピーク面積を測定し、標準相関曲線に変換して、試料中の化合物1濃度を推定した。各試料中の化合物の量は、%注射用量/g組織(%ID/g組織)として表す。

#### 1B：ラット試験

20

##### 方法：

化合物1の溶液を前述のとおり調製した。10mMの化合物1の溶液1mlを、イソフルオラン麻酔下、ラット(尾静脈)に静脈注射した。血液試料及び尿試料を注射前、注射後15、30、60、90及び120分に採取した。試料処理及びLC/MS測定は、1Aに記載したマウスの試料と同じである。

##### 結果：

##### マウスデータ(図1)：

マウスでは、化合物1の血中濃度は、30分で4.1%ID/gであり、120分では0.59%に低下した。尿中の高い%ID/g及び血液中の低い%ID/g(30分の尿で95.6%ID/g、30分の血液で4.1%ID/g)を考えると、血液クリアランス及び尿中排泄は迅速である。尿中排泄指数(120分における、血液%ID/gで除算した尿%ID/gの平均)は88.69であった。胆嚢及び消化管系の化合物1濃度は低い。

30

##### ラットデータ(図2)：

ラットでは、化合物1の血中濃度は、30分及び120分で、それぞれ0.67及び0.15%ID/gである。尿中濃度は、30分で、5.3%ID/gであった。尿中排泄指数(120分における、血液%ID/gで除算した尿%ID/gの平均)は36.62であった。従って、尿中の高い%ID/g及び血液中の低い%ID/gを考えると、ラットにおける化合物1の尿中排泄及び血液クリアランスは迅速である。

#### 2)ヒト正常細胞及び癌細胞系におけるHX4の細胞毒性アッセイ：

40

##### 方法：

このアッセイは、3-[4,5-ジメチルチアゾール-2-イル]-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミドを着色ホルマザン結晶に還元する生細胞の能力に基づくものである。Ls174Tヒト結腸直腸腺癌、A172ヒト脳神経膠芽腫、MRC5ヒト正常肺線維芽細胞及びALM12マウス正常肝細胞系をこの試験のために選択した。細胞を異なる濃度の化合物1(0、100、500、1,000、5,000、10,000nM)と共に24時間培養し、その後、0.5mg/mlの3-[4,5-ジメチルチアゾール-2-イル]-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミドと共に1時間インキュベートした。細胞を溶解し、ホルマザン結晶を2-プロパノールで1時間溶解し、得られた着色2-プロパノールの光学密度を測定した。光学密度に基づいて細胞生存百分率を算出した

50

○

[ 0 1 6 8 ]

## 結果

4種の（正常及び癌性）細胞系全てにおいて、異なる濃度の化合物1で処理した生細胞の数は、未処理の対照細胞と統計的に相違のないことが示された。従って、化合物1は、正常細胞又は癌細胞に対して細胞毒性でない（図3～図5）。

### イメージングプロトコル：(図6)

各PETスキャニング手順の持続時間（2時間まで）の間、イソフルラン／酸素吸入を用いて動物を麻酔した。各PETスキャニングの持続時間の間、麻酔した動物を温めたパッドに置いた。典型的な注射用量は250 $\mu$ Lであり、典型的には250 $\mu$ Ciの活性を含有した。F18標識化トレーサー投与に続いて直ちに連続動的PETスキャニングを開始した。

10

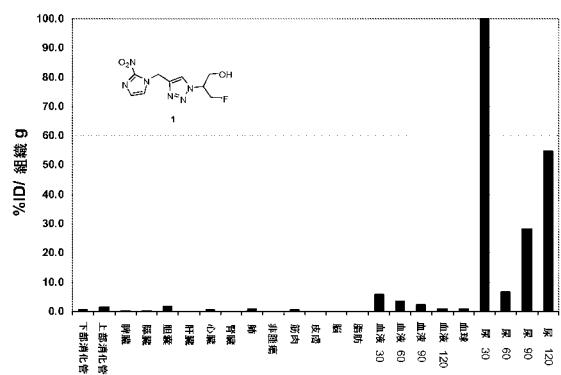
[ 0 1 6 9 ]

本発明の広い概念から逸脱することなく、上記の実施形態に変更を加え得ることを当業者は理解するであろう。従って、本発明は開示した特定の実施形態に限定されるものではなく、添付の請求の範囲に定義される本発明の精神及び範囲内の改変を含むものであることが理解される。いくつかの代表的な実施形態、態様及び変形を本明細書に記載したが、当業者はある種の修正、置換、追加、並びにそれらの実施形態、態様及び変形の組み合わせ及びある種の下位組み合わせを認識する。添付の請求の範囲は、そのような全ての修正、置換、追加、並びにそれらの実施形態、態様及び変形の組み合わせ及びある種の下位組み合わせをそれらの範囲内に包含するものであると解釈されることを意図している。

30

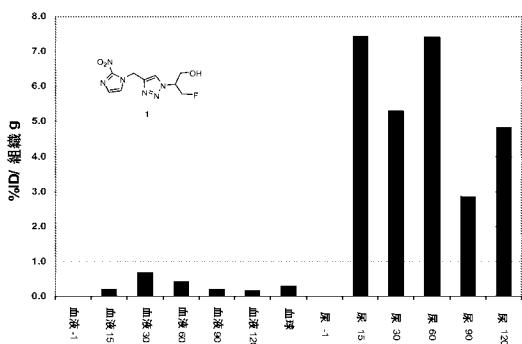
〔図1〕

静脈注射(5mM溶液200μl) 120分後の雄白マウスにおける化合物1の生体内分布



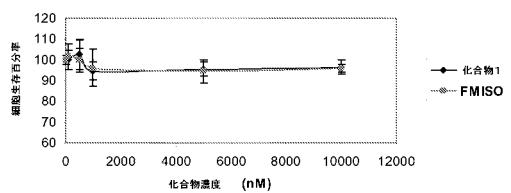
( 四 2 )

#### 野生型ラットにおける化合物1の血漿及び尿薬理試験(濃度10mMで1ml)



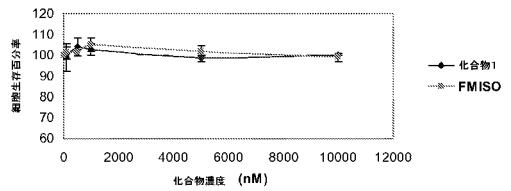
〔 図 3 〕

細胞毒性アセトフェノンの濃度の化合物と比較して、上記A172細胞



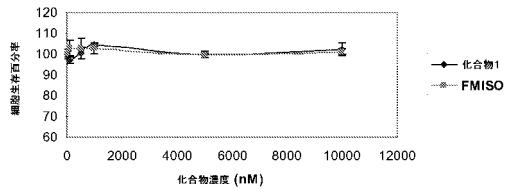
( 义 4 )

#### 細胞毒性アッセイ(異なる濃度の化合物とインキュベートした LS 174T 細胞)



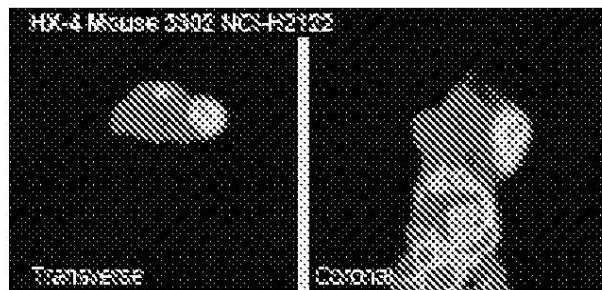
【図5】

#### 細胞毒性アッセイ(異なる濃度の化合物とインキュベートしたAML12細胞)

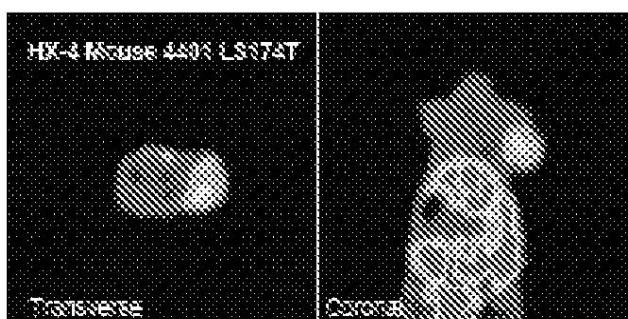


【図6】  
PET画像

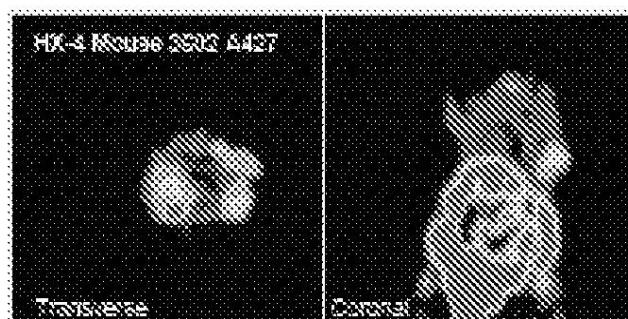
胸腺欠損マウスの低酸素NCI異種移植腫瘍



胸腺欠損マウスの低酸素LS174T異種移植腫瘍



胸腺欠損マウスの低酸素A427異種移植腫瘍



胸腺欠損ラットの非低酸素BXPC3異種移植腫瘍：



---

フロントページの続き

- (72)発明者 コルブ、ハルトムート  
アメリカ合衆国 90293 カリフォルニア パラヤ デル レイ パシフィックアヴェニュー  
6413
- (72)発明者 ウォルシュ、ジョセフ シー  
アメリカ合衆国 90272 カリフォルニア パシフィック パリサデス ガロウェイ ストリート 831
- (72)発明者 ガンガドハルマト、ウメシュー ピー  
アメリカ合衆国 90034 カリフォルニア ロサンゼルス バグレイ アヴェニュー 371  
4 アパートメント 6
- (72)発明者 カリミ、ファーハッド  
アメリカ合衆国 02048 マサチューセッツ マンスフィールド リッジビュー レーン 2  
4
- (72)発明者 パジェット、ヘンリー クリフトン  
アメリカ合衆国 90254 カリフォルニア ハーモサ ビーチ フォーティーンス ストリート 1225
- (72)発明者 カシ、ダーナラクシュミ  
アメリカ合衆国 90034 カリフォルニア ロサンゼルス オーヴァーランド アヴェニュー  
3230 アパートメント 115
- (72)発明者 ガオ、ツイヤン  
アメリカ合衆国 90034 カリフォルニア ロサンゼルス ウエストウッド ブールバード  
3729 アパートメント 8
- (72)発明者 リン、キアンワ  
アメリカ合衆国 91745 カリフォルニア ハシーナ ハイツ クレメンティーナ ドライヴ 2267
- (72)発明者 カリアー、トーマス リー  
アメリカ合衆国 18944 ペンシルヴァニア パーカシー ミル ロード 1811
- (72)発明者 ダクロス、ブライアン エイ  
アメリカ合衆国 49009 ミシガン カラマズー ベラ アヴェニュー 6568
- (72)発明者 ツアオ、ティミン  
アメリカ合衆国 90034 カリフォルニア ロサンゼルス オーヴァーランド アヴェニュー  
3701 アパートメント エイチ265

審査官 岡山 太一郎

- (56)参考文献 特表平10-506104(JP,A)  
特表2003-507354(JP,A)  
米国特許第05674693(US,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
C07D 403/00  
A61K 51/00  
Caplus / REGISTRY (STN)