

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042728**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.20

(21) Номер заявки
202091767

(22) Дата подачи заявки
2019.01.22

(51) Int. Cl. **C07D 471/14** (2006.01)
A61K 51/04 (2006.01)
C07B 59/00 (2006.01)

(54) **НОВЫЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ВИЗУАЛИЗИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ**(31) **18153326.6**(32) **2018.01.24**(33) **EP**(43) **2021.02.16**(86) **PCT/EP2019/051500**(87) **WO 2019/145294 2019.08.01**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АЦ ИММУНЕ СА (CH); ЛАЙФ
МОЛЕКУЛЯР ИМЭДЖИНГ
ЛИМИТЕД (GB)**

(72) Изобретатель:
**Церна Марион, Берндт Матиас,
Шиферштайн Ханно, Кастилло
Мелеан Джонни (DE), Крот Хайко
(CH), Молетт Жером (FR), Дарменси
Венсан, Габелльери Эмануэле (CH)**

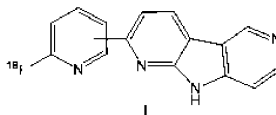
(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) **WO-A1-2015052105**

LUCA C. GOBBI ET AL.: "Identification of Three Novel Radiotracers for Imaging Aggregated Tau in Alzheimer's Disease with Positron Emission Tomography", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 60, no. 17, 14 September 2017 (2017-09-14), pages 7350-7370, XP055556419, US, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00632, page 7366, paragraph - page 7367; table 1; compound [¹⁸F]9, Scheme 7; page 7359, page 7358, paragraph Radiochemical Synthesis - page 7359, paragraph - page 7360

WO-A1-2018015549

(57) Изобретение относится к новому способу получения соединения формулы I



Описаны также диагностические композиции и их применение для селективного выявления нарушений и аномалий, связанных с тау-агрегатами, таких как болезнь Альцгеймера (AD), и другими тауопатиями, например визуализацией с использованием позитронно-эмиссионной томографии (PET).

B1**042728****042728****B1**

Область изобретения

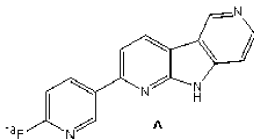
Изобретение относится к новому способу получения соединения формулы I, которое можно использовать для селективного выявления нарушений и аномалий, связанных с тау-агрегатами, таких как болезнь Альцгеймера (AD) и другие тауопатии, например, используя визуализацию позитронно-эмиссионной томографией (PET). Диагностическая композиция, содержащая полученное соединение, а также ее применение в диагностике и визуализации, также является объектом настоящей заявки.

Предпосылки изобретения

Болезнь Альцгеймера - это неврологическое расстройство, которое, как считается, вызвано амилоидными бляшками, внеклеточным скоплением аномальных отложений агрегатов амилоид-бета ($A\beta$) в мозге или в глазах. Другими основными neuropathological признаками при AD являются внутриклеточные нейрофибриллярные клубки (NFT), которые возникают в результате агрегации гиперфосфорилированного белка Тау (тубулин-ассоциированная единица), фосфорилированного Тау или патологического Тау и его конформеров. AD разделяет эту патологию со многими нейродегенеративными тауопатиями, в частности, с некоторыми типами лобно-височной деменции (FTD). В мозге больных AD тау патология (тауопатия) развивается позже, чем амилоидная патология, но все еще дискутируется, является ли $A\beta$ -белок, который составляет сущность гипотезы так называемого амилоидного каскада, возбудителем AD (Hardy et al., Science 1992, 256, 184-185, и совсем недавно, Musiek et al., Nature Neurosciences 2015, 18(6), 800-806, "Three dimensions of the amyloid hypothesis: time, space и "wingmen").

В настоящее время единственным точным способом диагностики AD является идентификация бляшек и клубков в ткани головного мозга путем гистологического анализа материалов биопсии или вскрытия после смерти человека. Помимо AD Тау играет важную роль в других (не AD) нейродегенеративных заболеваниях. Такие тауопатии без AD включают, например, надъядерный паралич (PSP), болезнь Пика (PiD) и кортикобазальную дегенерацию (CBD).

Было предложено, чтобы соединение общей формулы A использовалось для селективного выявления расстройств и аномалий, связанных с тау-агрегатами, таких как болезнь Альцгеймера (AD) и другие тауопатии, и некоторые способы получения этого соединения были описаны в предшествующем уровне техники.



Gobbi et al. описали в WO 2015/052105 способ, при котором соединение формулы A получали путем взаимодействия в микроволновом устройстве предшественника, имеющего нитрогруппу вместо ^{18}F , с ^{18}F фторидом. После стадии синтеза соединение формулы A очищали двухстадийным способом, включающим, помимо прочего:

- 1) ВЭЖХ с использованием подвижной фазы из метанола и триэтиламина и
- 2) повторная обработка с использованием картриджа для твердофазной экстракции для улавливания соединения формулы A и последующего элюирования из картриджа этанолом, разбавленным физиологическим раствором (0,9% NaCl в воде).

Способ давал соединение формулы A с выходом 26,1%.

Gobbi et al. в работе J. Med. Chem. 2017, объем 60, с. 7350-7370, кроме того, описали следующие два способа.

а) Микроволновый способ: ^{18}F фторид улавливали на катионообменном картридже и активность элюировали смесью Kryptofix®/карбонат калия. После добавления ацетонитрила смесь сушили при повышенной температуре. Сосуд с высушенной ^{18}F фторидной смесью затем переносили в микроволновое устройство и добавляли 0,5 мг соединения предшественника (незащищенное нитропроизводное) в 400 мкл ДМСО. Сосуд облучали микроволнами при 50 Вт в течение 240 с. Полученный раствор разбавляли и очищали препаративной ВЭЖХ (колонка C-18, ацетонитрильный/триметиламиновый буфер при pH 7,2).

Пиковый продукт собирали, разбавляли водой и пропускали через картридж C-18 Sep-Pak Plus. Картридж промывали водой и продукт, меченный ^{18}F , элюировали этанолом и разбавляли солевым раствором.

б) Метод термического нагрева: ^{18}F фторид улавливали на катионообменном картридже и активность элюировали смесью Kryptofix®/карбонат калия. После добавления ацетонитрила смесь сушили при повышенной температуре. Добавляли 0,5 мг соединения предшественника (незащищенное нитропроизводное) в 400 мкл ДМСО и раствор нагревали при 160°C в течение 10 мин. Полученный раствор разбавляли и очищали препаративной ВЭЖХ (колонка C-18, ацетонитрильный/триметиламиновый буфер, pH 7,2).

Пиковый продукт собирали, разбавляли водой и пропускали через картридж C-18 Sep-Pak Plus. Картридж промывали водой и продукт, меченный ^{18}F , элюировали этанолом и разбавляли солевым раствором.

Таким образом, способы получения соединения формулы А в вышеупомянутом предшествующем уровне техники имеют две стадии очистки/повторной обработки, причем способ является только частично автоматизированным в случае микроволновых способов, как показано на фиг. 1.

Нитропредшественник (и основной побочный продукт) по способу, описанному в предшествующем уровне техники, имеет плохую растворимость, особенно в этаноле, ацетонитриле и ацетонитрильных/водных буферных смесях, используемых для очистки (препаративная ВЭЖХ), особенно, если используются водные буферные смеси с нейтральным рН. В примерах предшествующего уровня техники использовали только 0,5-0,7 мг предшественника.

Задача настоящего изобретения состоит в том, чтобы предложить улучшенный способ получения соединения формулы I, который является более эффективным с точки зрения затрат и времени, чем способы предшествующего уровня техники (как показано на фиг. 2). Кроме того, должен быть улучшен выход по способу.

Описание фигур

Фиг. 1 - схематический обзор известного уровня техники, выбранного Gobbi et al.

Фиг. 2 - схематический обзор способа по настоящему изобретению.

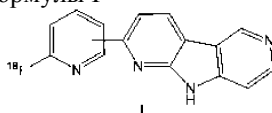
Фиг. 3 - настройка синтезатор GE Tracerlab FX.

Фиг. 4 - настройка синтезатор IBA Synthera.

Сущность изобретения

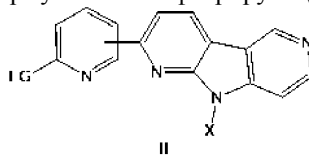
Настоящее изобретение относится к следующим пунктам.

1. Способ получения соединения формулы I



включающий стадии:

А) взаимодействия соединения формулы II с ^{18}F фторирующим агентом



где X представляет собой Н или PG;

LG представляет собой удаляемую группу и

PG представляет собой аминозащитную группу, и

В) необязательно, если X представляет собой PG, отщепления защитной группы PG, и

С) подвергания полученного соединения формулы I высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием подвижной фазы, содержащей этанол и воду.

2. Способ в соответствии с п.1, где X представляет собой PG, стадия В отсутствует, и защитную группу PG отщепляют на стадии А.

3. Способ в соответствии с п.1, где X представляет собой PG и защитную группу PG отщепляют на стадии В.

4. Способ в соответствии с любым из пп.1-3, где соотношение этанола и воды в подвижной фазе составляет от около 5/95 до около 80/20 об./об.

5. Способ в соответствии с любым из пп.1-4, где рН подвижной фазы составляет от около 0 до около 8, предпочтительно от около 1 до около 3, более предпочтительно от около 2 до около 3,0, еще более предпочтительно от около 2,2 до около 2,8.

6. Способ в соответствии с любым из пп.1-5, где подвижная фаза дополнительно содержит буфер, который предпочтительно выбран из дигидрофосфатов щелочных металлов, гидрофосфатов с двумя атомами щелочного металла, фосфатов с тремя атомами щелочного металла, ацетатов щелочных металла, ацетатов щелочноземельных металлов, формиатов щелочноземельных металлов, цитратов с одним, двумя или тремя атомами щелочного металла.

7. Способ в соответствии с любым из пп.1-6, где высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) осуществляют под давлением от около 50 до около 400 бар, предпочтительно от около 50 до около 250 бар.

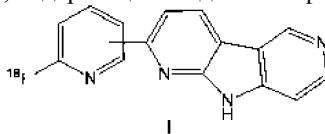
8. Способ в соответствии с любым из пп.1-7, где способ является автоматизированным способом, в котором стадию А, необязательную стадию В и стадию С осуществляют в автоматическом синтезаторе.

9. Способ в соответствии с любым из пп.1-8, где высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) дает фракцию, содержащую соединение формулы I, и эту фракцию подвергают стадии D) стерильной фильтрации.

10. Способ в соответствии с любым из пп.1-9, где способ не включает твердофазную экстракцию соединения формулы I после стадии С, предпочтительно где способ не включает твердофазную экстракцию соединения формулы I до или после стадии С.

11. Способ в соответствии с любым из пп.1-10, где соединение формулы I не подвергают хроматографии после высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на стадии С, предпочтительно где соединение формулы I не подвергают хроматографии иной, чем высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) на стадии С.

12. Диагностическая композиция, содержащая соединение формулы I



которое может быть получено способом в соответствии с любым из пп.1-12 и, необязательно, диагностически приемлемый носитель, разбавитель, адъювант или эксципиент.

13. Композиция в соответствии с п.12 для применения в диагностике.

14. Композиция в соответствии с п.12 для применения в визуализации тау-агрегатов, в частности для применения в позитронно-эмиссионной томографии для визуализации тау-агрегатов.

15. Композиция для применения в соответствии с п.13 или 14, где нарушение выбрано из следующих: болезнь Альцгеймера (AD), семейная болезнь AD, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменция боксеров, синдром Дауна, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, церебральная амилоидная ангиопатия, вызванная прионным белком, травматическое повреждение мозга (TBI), боковой амиотрофический склероз, Паркинсонизм-деменция - комплекс Гуама, болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками не Гуам-типа, заболевания, характеризующегося появлением аргирофильных зерен, кортикобазальная дегенерация (CBD), диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, сцепленная с хромосомой 17, болезнь Галлервордена-Шпатца, мультисистемная атрофия, болезнь Ниманна-Пика типа С, паллидо-понтон-нигральная дегенерация, болезнь Пика (PiD), прогрессирующий субкортикальный глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), подострый склерозирующий панэнцефалит, деменция с преобладанием нейрофибриллярных клубков, постэнцефалитический паркинсонизм, миотоническая дистрофия, Тау панэнцефалопатия, AD-подобные с астроцитами, некоторые прионные заболевания (GSS с Tau), мутации в LRRK2, хроническая травматическая энцефалопатия, семейная британская деменция, семейная датская деменция, лобно-височная дегенерация, гваделупский паркинсонизм, нейродегенерация с накоплением железа в мозге, умственная отсталость, связанная с SLC9A6, тауопатия белого вещества с глобулярными глиальными включениями, синдром травматического стресса, эпилепсия, деменция с тельцами Леви (LBD), наследственное кровоизлияние в мозг с амилоидозом (голландский тип), умеренное когнитивное нарушение (MCI), рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, атипичный паркинсонизм, ВИЧ-ассоциированная деменция, диабет зрелого возраста, старческий амилоидоз сердца, эндокринная опухоль, глаукома, амилоидоз глаза, первичная дегенерация сетчатки, дегенерация желтого пятна (такая как возрастная дегенерация желтого пятна (AMD)), друзы диска зрительного нерва, невропатия зрительного нерва, неврит зрительного нерва и решетчатая дистрофия; предпочтительно болезнь Альцгеймера.

16. Композиция для применения в соответствии с п.13 или 14, где нарушение выбрано из болезни Хантингтона, ишемического инсульта и психоза при AD.

17. Композиция для применения в соответствии с любым из пп.13-16, где композиция вводится путем инъекции.

18. Композиция, определенная в п.12, для использования в диагностике нарушения, связанного с тау-агрегатами, или для применения в диагностике тауопатии, в частности когда диагностика проводится с помощью позитронно-эмиссионной томографии.

19. Композиция для применения в соответствии с п.18, где тауопатией является 3R тауопатия.

20. Композиция для применения в соответствии с п.18, где тауопатией является 4R тауопатия.

21. Композиция для применения в соответствии с п.18, где нарушение выбрано из следующих: болезнь Альцгеймера (AD), семейная болезнь AD, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменция боксеров, синдром Дауна, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, церебральная амилоидная ангиопатия, вызванная прионным белком, травматическое повреждение мозга (TBI), боковой амиотрофический склероз, Паркинсонизм-деменция - комплекс Гуама, болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками не Гуам-типа, заболевания, характеризующегося появлением аргирофильных зерен, кортикобазальная дегенерация (CBD), диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, сцепленная с хромосомой 17, болезнь Галлервордена-Шпатца, мультисистемная атрофия, болезнь Ниманна-Пика типа С, паллидо-понтон-нигральная дегенерация, болезнь Пика (PiD), прогрессирующий субкортикальный глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), подострый склерозирующий панэнцефалит, деменция с преобладанием нейрофибриллярных клубков, постэнцефалитический паркинсонизм, миотоническая дистрофия, Тау панэнцефалопатия, AD-подобные с астроцитами, некоторые прионные заболевания (GSS с Tau), мутации в LRRK2, хроническая травматическая энцефалопатия, семейная британская деменция, семейная датская деменция, лобно-височная дегенерация, гваделупский паркинсонизм, нейродегенерация с накоплением

железа в мозге, умственная отсталость, связанная с SLC9A6, тауопатия белого вещества с глобулярными глиальными включениями, синдром травматического стресса, эпилепсия, деменция с тельцами Леви (LBD), наследственное кровоизлияние в мозг с амилоидозом (голландский тип), умеренное когнитивное нарушение (MCI), рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, атипичный паркинсонизм, ВИЧ-ассоциированная деменция, диабет зрелого возраста, старческий амилоидоз сердца, эндокринная опухоль, глаукома, амилоидоз глаза, первичная дегенерация сетчатки, дегенерация желтого пятна (такая как возрастная дегенерация желтого пятна (AMD)), друзы диска зрительного нерва, невропатия зрительного нерва, неврит зрительного нерва и решетчатая дистрофия; предпочтительно болезнь Альцгеймера.

22. Композиция для применения в соответствии с п.18, где нарушение выбрано из болезни Хантингтона, ишемического инсульта и психоза при AD.

23. Композиция для применения в соответствии с п.21, где нарушением является болезнь Альцгеймера (AD).

24. Композиция для применения в соответствии с п.21, где нарушением является болезнь Паркинсона или атипичный паркинсонизм.

25. Композиция для применения в соответствии с п.21, где нарушением является прогрессирующий надъядерный паралич (PSP).

26. Композиция для применения в соответствии с п.21, где нарушением является болезнь Пика (PiD).

27. Композиция для применения в соответствии с любым из пп.18-26, где тау-агрегаты визуализируют в головном мозге или в глазу.

28. Способ визуализации тау-агрегатов, в частности, способ визуализации тау-агрегатов позитронно-эмиссионной томографией, где пациенту вводят эффективное количество композиции, определенной в п.12.

29. Способ диагностики нарушения, связанного с тау-агрегатами, или тауопатией, где пациенту вводят эффективное количество композиции, определенной в п.12, в частности когда диагностика проводится с помощью позитронно-эмиссионной томографии.

30. Способ в соответствии с п.29, где тауопатией является 3R тауопатия.

31. Способ в соответствии с п.29, где тауопатией является 4R тауопатия.

32. Способ в соответствии с п.29, где нарушение выбрано из следующих: болезнь Альцгеймера (AD), семейная болезнь AD, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменция боксеров, синдром Дауна, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, церебральная амилоидная ангиопатия, вызванная прионным белком, травматическое повреждение мозга, боковой амиотрофический склероз, Паркинсонизм-деменция - комплекс Гуама, болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками не Гуам-типа, заболевания, характеризующегося появлением аргирофильных зерен, кортикобазальная дегенерация, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, сцепленная с хромосомой 17, болезнь Галлервордена-Шпатца, мультисистемная атрофия, болезнь Ниманна-Пика типа C, паллидо-понтон-нигральная дегенерация, болезнь Пика, прогрессирующий субкортикальный глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), подострый склерозирующий панэнцефалит, деменция с преобладанием нейрофибриллярных клубков, постэнцефалитический паркинсонизм, миотоническая дистрофия, Тау панэнцефалопатия, AD-подобные с астроцитами, некоторые прионные заболевания (GSS с Tau), мутации в LRRK2, хроническая травматическая энцефалопатия, семейная британская деменция, семейная датская деменция, лобно-височная дегенерация, гваделупский паркинсонизм, нейродегенерация с накоплением железа в мозге, умственная отсталость, связанная с SLC9A6, тауопатия белого вещества с глобулярными глиальными включениями, синдром травматического стресса, эпилепсия, деменция с тельцами Леви (LBD), наследственное кровоизлияние в мозг с амилоидозом (голландский тип), умеренное когнитивное нарушение (MCI), рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, атипичный паркинсонизм, ВИЧ-ассоциированная деменция, диабет зрелого возраста, старческий амилоидоз сердца, эндокринная опухоль, глаукома, амилоидоз глаза, первичная дегенерация сетчатки, дегенерация желтого пятна (такая как возрастная дегенерация желтого пятна (AMD)), друзы диска зрительного нерва, невропатия зрительного нерва, неврит зрительного нерва и решетчатая дистрофия; предпочтительно болезнь Альцгеймера.

33. Способ в соответствии с п.29, где нарушение выбрано из болезни Хантингтона, ишемического инсульта и психоза при AD.

34. Способ в соответствии с п.32, где нарушением является болезнь Альцгеймера (AD).

35. Способ в соответствии с п.32, где нарушением является болезнь Паркинсона или атипичный паркинсонизм.

36. Способ в соответствии с п.32, где нарушением является прогрессирующий надъядерный паралич (PSP).

37. Способ в соответствии с п.32, где нарушением является болезнь Пика (PiD).

38. Способ в соответствии с любым из пп.28-37, где тау-агрегаты визуализируют в головном мозге или в глазу.

39. Применение композиции, определенной в п.12, при изготовлении диагностического агента для

визуализации тау-агрегатов, в частности, для визуализации тау-агрегатов с помощью позитронно-эмиссионной томографии.

40. Применение композиции, определенной в п.12, при изготовлении диагностического агента для диагностики нарушения, связанного с тау-агрегатами, или для диагностики тауопатии, в частности когда диагностика проводится с помощью позитронно-эмиссионной томографии.

41. Применение в соответствии с п.40, где тауопатией является 3R тауопатия.

42. Применение в соответствии с п.40, где тауопатией является 4R тауопатия.

43. Применение в соответствии с п.40, где нарушение выбрано из следующих: болезнь Альцгеймера (AD), семейная болезнь AD, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменция боксеров, синдром Дауна, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, церебральная амилоидная ангиопатия, вызванная прионным белком, травматическое повреждение мозга, боковой амиотрофический склероз, Паркинсонизм-деменция - комплекс Гуама, болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками не Гуам-типа, заболевания, характеризующегося появлением аргирофильных зерен, кортикобазальная дегенерация, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, сцепленная с хромосомой 17, болезнь Галлервордена-Шпатца, мультисистемная атрофия, болезнь Ниманна-Пика типа C, паллидо-понтон-нигральная дегенерация, болезнь Пика, прогрессирующий субкортикальный глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), подострый склерозирующий панэнцефалит, деменция с преобладанием нейрофибриллярных клубков, постэнцефалитический паркинсонизм, миотоническая дистрофия, Тау панэнцефалопатия, AD-подобные с астроцитами, некоторые прионные заболевания (GSS с Tau), мутации в LRRK2, хроническая травматическая энцефалопатия, семейная британская деменция, семейная датская деменция, лобно-височная дегенерация, гваделупский паркинсонизм, нейродегенерация с накоплением железа в мозге, умственная отсталость, связанная с SLC9A6, тауопатия белого вещества с глобулярными глиальными включениями, синдром травматического стресса, эпилепсия, деменция с тельцами Леви (LBD), наследственное кровоизлияние в мозг с амилоидозом (голландский тип), умеренное когнитивное нарушение (MCI), рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, атипичный паркинсонизм, ВИЧ-ассоциированная деменция, диабет зрелого возраста, старческий амилоидоз сердца, эндокринная опухоль, глаукома, амилоидоз глаза, первичная дегенерация сетчатки, дегенерация желтого пятна (такая как возрастная дегенерация желтого пятна (AMD)), друзы диска зрительного нерва, невропатия зрительного нерва, неврит зрительного нерва и решетчатая дистрофия; предпочтительно болезнь Альцгеймера.

44. Применение в соответствии с п.40, где нарушение выбрано из болезни Хантингтона, ишемического инсульта и психоза при AD.

45. Применение в соответствии с п.43, где нарушением является болезнь Альцгеймера (AD).

46. Применение в соответствии с п.43, где нарушением является болезнь Паркинсона или атипичный паркинсонизм.

47. Применение в соответствии с п.43, где нарушением является прогрессирующий надъядерный паралич (PSP).

48. Применение в соответствии с п.43, где нарушением является болезнь Пика (PiD).

49. Применение в соответствии с любым из пп.39-48, где тау-агрегаты визуализируют в головном мозге или в глазу.

50. Применение композиции в соответствии с п.12 в качестве аналитического стандарта.

51. Применение композиции в соответствии с п.12 в качестве инструмента для скрининга in vitro.

52. Способ сбора данных для диагностики нарушения, связанного с тау-агрегатами, в образце или у пациента, включающий:

(a) приведение образца или конкретной части тела или области тела, предположительно содержащей тау-агрегат, в контакт с композицией, определенной в пункте 12, которая содержит соединение формулы I;

(b) предоставление возможности соединению формулы I связываться с тау-агрегатом;

(c) обнаружение соединения формулы I, связанного с тау-агрегатом; и

(d) необязательное соотнесение наличия или отсутствия соединения формулы I, связывающегося с тау-агрегатом, с наличием или отсутствием тау-агрегата в образце или конкретной части тела или области тела.

53. Способ определения количества тау-агрегатов в ткани и/или жидкости организма, включающий:

(a) предоставление образца, представляющего исследуемую ткань и/или биологическую жидкость;

(b) исследование образца на наличие тау-агрегата с композицией, определенной в пункте 12, которая содержит соединение формулы I;

(c) определение количества соединения формулы I, связанного с тау-агрегатом; и

(d) вычисление количества тау-агрегата в ткани и/или жидкости организма.

54. Способ сбора данных для определения предрасположенности к нарушению, связанному с тау-агрегатами у пациента, включающий обнаружение специфического связывания композиции, определенной в п.12, которая содержит соединение формулы I, с тау-агрегатом в образце или in situ, включающий стадии:

(a) приведение образца или определенной части тела или области тела, предположительно содержащей тау-агрегат, в контакт с композицией, определенной в п.12, которая содержит соединение формулы I, которое специфически связывается с тау-агрегатом;

(b) предоставление возможности соединению формулы I связываться с тау-агрегатом с образованием комплекса соединения/тау-агрегат;

(c) обнаружение образования комплекса соединения/тау-агрегат;

(d) необязательное соотнесение наличия или отсутствия комплекса соединения/тау-агрегат с наличием или отсутствием тау-агрегата в образце или конкретной части тела или области тела; и

(e) необязательное сравнение количества соединения/тау-агрегата с нормальным контрольным значением.

55. Способ сбора данных для мониторинга остаточного нарушения у пациента, страдающего нарушением, связанным с тау-агрегатами, которого лечили лекарственным препаратом, где способ включает:

(a) приведение образца или конкретной части тела или области тела, предположительно содержащей тау-агрегат, в контакт с композицией, определенной в п.12, которая содержит соединение формулы I, которое специфически связывается с тау-агрегатом;

(b) предоставление возможности соединению формулы I связываться с тау-агрегатом с образованием комплекса соединения/тау-агрегат;

(c) обнаружение образования комплекса соединения/тау-агрегат;

(d) необязательное соотнесение наличия или отсутствия комплекса соединения/тау-агрегат с наличием или отсутствием тау-агрегата в образце или конкретной части тела или области тела; и

(e) необязательное сравнение количества соединения/тау-агрегата с нормальным контрольным значением.

56. Способ сбора данных для прогнозирования восприимчивости пациента, страдающего нарушением, связанным с тау-агрегатами, и получающего лечение лекарственным препаратом, включающий:

(a) приведение образца или определенной части тела или области тела, предположительно содержащей тау-агрегат, в контакт с композицией, определенной в п.12, которая содержит соединение формулы I, которое специфически связывается с тау-агрегатом;

(b) предоставление возможности соединению формулы I связываться с тау-агрегатом с образованием комплекса соединения/тау-агрегат;

(c) обнаружение образования комплекса соединения/тау-агрегат;

(d) необязательное соотнесение наличия или отсутствия комплекса соединения/тау-агрегат с наличием или отсутствием тау-агрегата в образце или конкретной части тела или области тела; и

(e) необязательное сравнение количества соединения/тау-агрегата с нормальным контрольным значением.

Определения

Термин "алкил" относится к насыщенной прямой или разветвленной углеродной цепи, которая, если не указано иное, содержит от 1 до 6 атомов углерода.

"Hal" или "галоген" представляет собой F, Cl, Br и I. Предпочтительно "галоген" независимо в каждом случае выбран из F, Cl и Br, более предпочтительно из F и Cl, еще более предпочтительно представляет собой F.

Термин "аминозащитная группа" (PG), как используется в настоящем документе, означает любую защитную группу, которая подходит для защиты аминогруппы в процессе предполагаемой химической реакции. Примеры подходящих защитных групп хорошо известны специалисту в данной области. Подходящие защитные группы обсуждаются, например, в учебнике Greene and Wuts, *Protecting groups in Organic Synthesis*, third edition, с. 494-653, который включен в настоящий документ посредством ссылки. Защитные группы могут быть выбраны из карбаматов, амидов, имидов, N-алкиламинов, N-ариламинов, иминов, енаминов, боранов, N-P защитных групп, N-сульфенила, N-сульфонила и N-силила. Конкретными предпочтительными примерами защитных групп (PG) являются карбобензилокси (Cbz), (п-метоксибензил)оксикарбонил (Moz или MeOZ), трет-бутилоксикарбонил (BOC), 9-флуоренилметилоксикарбонил (FMOC), бензил (Bn), п-метоксибензил (PMB), 3,4-диметоксибензил (DMPM), п-метоксифенил (PMP), трифенилметил (тритил), метоксифенилдифенилметил (ММТ) или диметокситритил (DMT). Более предпочтительные примеры защитной группы PG включают трет-бутилоксикарбонил (BOC), диметокситритил (DMT) и трифенилметил (тритил). Еще одним предпочтительным примером защитной группы PG является трет-бутилоксикарбонил (BOC).

Термин "защитная группа амина карбамата" относится к защитной группе амина, содержащего группу * -CO-O, где звездочка обозначает связь с амином. Примерами являются карбобензилокси (Cbz), (п-метоксибензил)оксикарбонил (Moz или MeOZ), трет-бутилоксикарбонил (BOC) и 9-флуоренилметилоксикарбонил (FMOC).

Термин "удаляемая группа" (LG), как используется в настоящем документе, означает любую удаляемую группу и означает, что атом или группу атомов можно заменить другим атомом или группой атомов. Примеры приведены, например, в обзорах Synthesis (1982), с. 85-125, табл. 2, Carey and Sundberg, *Organische Synthese*, (1995), с. 279-281, табл. 5.8; или Netscher, *Recent Res. Dev. Org. Chem.*, 2003, 7, 71-

83, схемы 1, 2, 10 и 15 и другие). (Coenen, Fluorine-18 Labeling Methods: Features and Possibilities of Basic Reactions, (2006), в работе: Schubiger P.A., Friebe M., Lehmann L., (eds), PET-Chemistry - The Driving Force in Molecular Imaging. Springer, Berlin Heidelberg, с. 15-50, подробно: схема 4, с. 25, схема 5, с. 28, табл. 4, с. 30, фиг. 7, с. 33). Предпочтительно "удаляемая группа" (LG) выбрана из группы, состоящей из нитро, брома, йода, хлора, триалкиламмония, гидроксила, бороновой кислоты, йодония, сложного эфира сульфоновой кислоты. Более предпочтительно "удаляемая группа" (LG) представляет собой нитро или триметиламмоний. Следует понимать, что соединения, содержащие триалкиламмоний или йодоний, могут дополнительно содержать анион. Еще более предпочтительно "удаляемая группа" (LG) представляет собой нитро. Другой более предпочтительной "удаляемой группой" (LG) является триметиламмоний.

Термин "краун-эфир", как используется в настоящем документе, означает химические соединения, которые состоят из кольца, содержащего несколько эфирных групп. Более конкретно, термин "краун-эфир" относится предпочтительно к моноциклическим органическим группам, которые могут быть замещенными и содержать в кольце от 8 до 16 атомов углерода и от 4 до 8 гетероатомов, выбранных из N, O и S. Каждый из одного или нескольких необязательных заместителей может быть независимо выбран из любой органической группы, содержащей от 1 до 15 атомов углерода и, необязательно, от 1 до 6 гетероатомов, выбранных из N, O и S. Предпочтительными примерами "краун-эфира" являются необязательно замещенные моноциклические кольца, содержащие от 10 до 14 атомов углерода и от 5 до 7 гетероатомов, выбранных из N, O и S в кольце. Примерами "краун-эфиров" являются необязательно замещенные моноциклические кольца, содержащие 12 атомов углерода и 6 гетероатомов, выбранных из N и O в кольце. Конкретные примеры включают 18-краун-6, дибензо-18-краун-6. Предпочтительными примерами "краун-эфира" являются необязательно замещенные моноциклические кольца, содержащие от 10 до 14 атомов углерода и от 5 до 7 гетероатомов, выбранных из N, O и S в кольце. Примерами "краун-эфира" являются необязательно замещенные моноциклические кольца, содержащие 12 атомов углерода и 6 гетероатомов, выбранных из N и O в кольце, и диаза-18-краун-6.

Термин "криптан", как используется в настоящем документе, относится к классу полициклических соединений, относящихся к краун-эфирам, имеющим три цепи, присоединенные к двум атомам азота. Хорошо известным "криптаном" является 4,7,13,16,21,24-гексаокси-1,10-диазабицикло[8.8.8]гексакозан (Kryptofix®).

Термин тау, как используется в настоящем документе, относится к высокорастворимому белку, связывающему микротрубочки, в основном находящемуся в нейронах, и включает основные 6 изоформ, расщепленные или усеченные формы и другие модифицированные формы, такие как возникающие в результате фосфорилирования, гликозилирования, гликирования, пролил-изомеризации, нитрования, ацетилирования, полиаминирования, убиквитинирования, сумаоилирования и окисления. Патологические тау или тау-агрегаты (нейрофибриллярные клубки, NFT), как используется в настоящем документе, относятся к нерастворимым агрегатам гиперфосфорилированного тау-белка, относятся к нерастворимым агрегатам гиперфосфорилированного тау-белка, содержащим спаренные спиральные филаменты и прямые филаменты. Их присутствие является признаком AD и других заболеваний, известных как тауопатии.

Ген тау содержит 16 экзонов, причем основные изоформы тау-белка кодируются 11 из них. Альтернативный сплайсинг экзона 10 генерирует изоформы тау с тремя (экзон 10 отсутствует) или четырьмя (экзон 10 присутствует) повторными доменами, известными как 3R и 4R тау соответственно (A. Andreadis et al., Biochemistry 31, (1992) 10626-10633; M. Tolnay et al., IUBMB Life, 55(6): 299-305, 2003). При болезни Альцгеймера соотношение изоформ 3R и 4R сходно. В отличие от этого, при некоторых тауопатиях преимущественно присутствует одна из двух изоформ. В настоящем документе термин "3R тауопатия" относится к тауопатиям (таким как болезнь Пика (PiD)), при которых преимущественно присутствует изоформа 3R. В настоящем документе термин "4R тауопатия" относится к тауопатиям (таким как прогрессирующий надъядерный паралич (PSP) и кортикобазальная дегенерация (CBD)), при которых преимущественно присутствует изоформа 4R.

Как используется далее в описании изобретения и в формуле изобретения, термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к нетоксичным производным описанных соединений, где исходное соединение модифицируется путем получения его солей неорганических и органических кислот. Неорганические кислоты включают, но не ограничиваются ими, кислоты, такие как хлористоводородная, азотная или серная кислота. Органические кислоты включают, но не ограничиваются ими, карбоновые и сульфоновые кислоты, такие как алифатические, циклоалифатические, ароматические, арилифатические и гетероциклические кислоты. Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную группу, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены взаимодействием форм этих соединений в виде свободной кислоты или основания со стехиометрическим количеством подходящего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в их смеси. Перечень подходящих солей можно найти в обзоре Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990, с. 1445, который включен в настоящее описание в качестве ссылки.

"Фармацевтически приемлемый" или "диагностически приемлемый" определяются как относящиеся-

ся к таким соединениям, веществам, композициям и/или лекарственным формам, которые в рамках здравого медицинского суждения подходят для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соразмерно с разумным соотношением польза/риск.

Пациентами или субъектами по настоящему изобретению обычно являются животные, особенно млекопитающие, более конкретно, люди.

"Хроматография" или "жидкостная хроматография" означает способ разделения смеси соединений. Смесь растворяют в жидкости и транспортируют посредством "подвижной фазы" через "стационарную фазу". Разделение основано на взаимодействии соединений, содержащихся подвижной фазе, со стационарными фазами. Такие разные взаимодействия приводят к дифференциальному удержанию на стационарной фазе и, таким образом, влияют на разделение. Хроматография может быть препаративной или аналитической. Цель препаративной хроматографии состоит в разделении компонентов смеси и, таким образом, является одной из форм очистки. Аналитическая хроматография проводится с небольшим образцом материала и используется для определения пропорций соединений в смеси.

"Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)" представляет собой вид жидкостной хроматографии для разделения соединений с использованием очень мелких частиц стационарной фазы (≤ 10 мкм) и применения достаточно высоких давлений. Система ВЭЖХ обычно состоит из резервуара подвижной фазы (фаз), насоса, инжектора, разделительной колонки (содержащей неподвижную фазу) и детекторов. Для разделения радиоактивных соединений подходящие системы ВЭЖХ оснащены детектором радиоактивности. Необязательно, система ВЭЖХ имеет дополнительные детекторы, такие как, например, УФ, фотодиодная матрица, показатель преломления, проводимость, флуоресценция, масс-спектрометр.

"Твердофазная экстракция (SPE)" представляет собой процесс получения и/или очистки образца двумя или более отдельными стадиями. Сначала соединения растворяют или суспендируют в жидкой смеси растворителей и жидкий образец пропускают через стационарную (твердую) фазу. Некоторые соединения сохраняются на стационарной фазе, в то время как другие проходят через. На второй стадии оставшиеся соединения элюируют подходящим растворителем. Необязательно, неподвижную фазу промывают другим раствором перед стадией элюирования. В отличие от метода ВЭЖХ, размер используемых частиц намного больше (например, ≥ 25 мкм по сравнению с ВЭЖХ с типичным размером частиц ≤ 10 мкм) и, следовательно, приложенное давление намного ниже (для ВЭЖХ давление обычно > 50 бар).

"Картридж для твердофазной экстракции (картридж SPE)" представляет собой шприц или контейнер (например, Sep Pak®), предварительно заполненный стационарной фазой для SPE.

"Стерильная фильтрация" представляет собой метод стерилизации раствора путем фильтрации через микрофильтр. Микрофильтр представляет собой фильтр, имеющий, например, размер пор около 0,25 мкм или менее, предпочтительно от около 20 нм до около 0,22 мкм, который обычно используется для удаления микроорганизмов. Мембранные фильтры, используемые в микрофильтрации в производственных процессах, обычно изготавливаются из таких материалов, как смешанный сложный эфир целлюлозы, политетрафторэтилен (ПТФЭ), поливинилиденфторид (ПВДФ) или полиэфирсульфон (ПЭС).

Термин "автоматизированный", используемый в настоящем документе, означает проведение стадий синтеза и/или очистки на подходящем устройстве (синтезаторе).

Термин "радиопоглотитель" относится к соединению, которое снижает скорость разложения вследствие радиолиза. Предпочтительные радиопоглотители включают аскорбиновую кислоту и ее соли и гентизиновую кислоту и ее соли. Более предпочтительными радиопоглотителями являются аскорбиновая кислота, аскорбат натрия и их смеси.

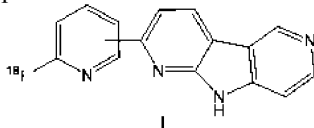
Подходящие "синтезаторы" для введения F-радиоактивной метки хорошо известны специалисту в данной области, включая, помимо прочего, IBA Synthera, GE Fastlab, GE Tracerlab MX, GE Tracerlab FX, GE Tracerlab FX, Trasis AllinOne, ORA Neptis Perform, ORA Neptis Mosaic, ORA Neptis Plug, Scintomics GPR, Synthera, Comecer Taddeo, Raytest Synchrom, Sofie Elixys, Eckert&Ziegler Modular Lab, Sumitomo Heavy Industries F100 F200 F300, Siemens Explora.

"Радиохимическая чистота" означает долю общей активности радионуклида, присутствующего в его установленной химической форме. Как правило, радиохимическая чистота определяется методом тонкослойной хроматографии или ВЭЖХ.

Предпочтительные определения, данные в разделе "Определения", применяются ко всем вариантам осуществления, описанным в настоящем документе, если не указано иное.

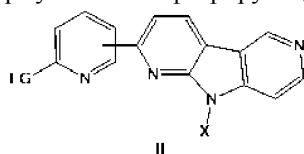
Способы по изобретению

В первом аспекте настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы I



Данный способ включает стадии:

А) взаимодействия соединения формулы II с ^{18}F фторирующим агентом



где X представляет собой H или PG;

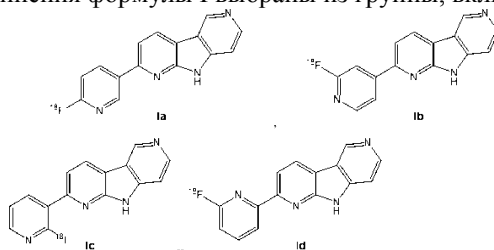
LG представляет собой удаляемую группу; и

PG представляет собой аминозащитную группу; и

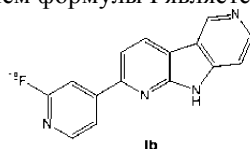
В) необязательно, если X представляет собой PG, отщепления защитной группы PG; и

С) подвергания полученного соединения формулы I высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием подвижной фазы, содержащей этанол и воду.

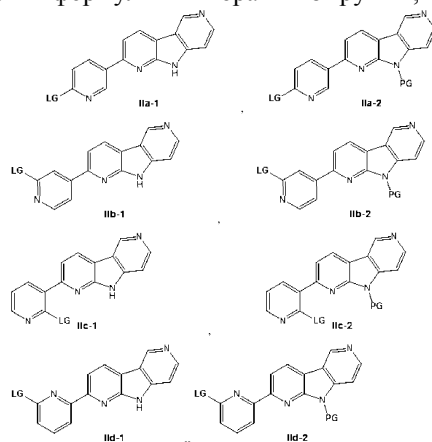
Предпочтительные соединения формулы I выбраны из группы, включающей



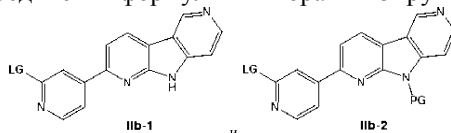
Более предпочтительным соединением формулы I является



Предпочтительные соединения формулы II выбраны из группы, включающей

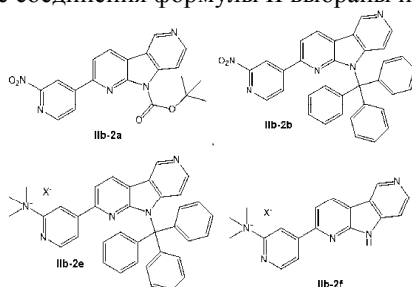


Более предпочтительные соединения формулы II выбраны из группы, включающей



В этих соединениях PG и LG имеют значения, определенные в разделе "Определения".

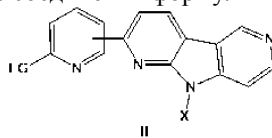
Еще более предпочтительные соединения формулы II выбраны из группы, включающей



где X^- представляет собой противоион, такой как противоион, выбранный из группы, включающий галоген, CF_3SO_3^- и CF_3CO_2^- .

Стадия А.

Стадия А включает взаимодействие соединения формулы II с ^{18}F фторирующим агентом

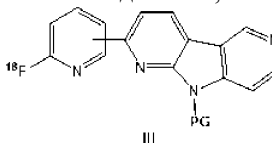


где X представляет собой H или PG;

LG представляет собой удаляемую группу и

PG представляет собой аминозащитную группу.

Если X представляет собой H, будет получено соединение, имеющее формулу I. Если X представляет собой PG, будет получено промежуточное соединение, имеющее формулу III



F фторирующие агенты хорошо известны специалисту в данной области. Может быть использован любой подходящий ^{18}F -фторирующий агент. Типичные примеры включают H^{18}F , щелочные или щелочноземельные ^{18}F -фториды (например, K^{18}F , Rb^{18}F , Cs^{18}F и Na^{18}F). Необязательно, ^{18}F -фторирующий агент может быть использован в сочетании с хелатирующим агентом, таким как криптант (например: 4,7,13,16,21,24-гексаокса-1,10-дизабицикло[8.8.8]-гексакозан - Kryptofix®) или краун-эфир (например: 18-краун-6). Альтернативно, ^{18}F -фторирующий агент может быть тетраалкиламмониевой солью ^{18}F или тетраалкилфосфониевой солью ^{18}F ; например, тетра(C_{1-6} алкил)аммониевая соль ^{18}F или тетра(C_{1-6} алкил)фосфониевая соль ^{18}F . Их примеры включают тетрабутиламмоний [^{18}F]фторид и тетрабутилфосфоний [^{18}F]фторид. Предпочтительно ^{18}F -фторирующий агент представляет собой K^{18}F , H^{18}F , Cs^{18}F , Na^{18}F или тетрабутиламмоний [^{18}F]фторид. В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения ^{18}F -фторирующий агент представляет собой K^{18}F . В другом более предпочтительном варианте осуществления ^{18}F -фторирующий агент представляет собой тетрабутиламмоний [^{18}F]фторид.

^{18}F -фторирование обычно проводят в растворителе, который предпочтительно выбирают из ацетонитрила, диметилсульфоксида, диметилформамида, диметилацетамида, амилового спирта, трет-бутилового спирта или их смесей, предпочтительно растворитель содержит или представляет собой ацетонитрил или ДМСО. Но также могут быть использованы другие растворители, которые хорошо известны специалисту в данной области. Растворитель может дополнительно в качестве сорастворителя содержать воду и/или другие спирты, такие как C_{1-6} линейные, разветвленные или циклические алканола. В одном предпочтительном варианте осуществления растворитель для проведения радиоактивной метки ^{18}F содержит диметилсульфоксид. В другом предпочтительном варианте осуществления растворитель для проведения радиоактивной метки ^{18}F содержит ацетонитрил. В одном предпочтительном варианте осуществления растворитель для введения радиоактивной метки ^{18}F представляет собой диметилсульфоксид. В другом предпочтительном варианте осуществления растворитель для введения радиоактивной метки ^{18}F представляет собой ацетонитрил.

^{18}F -фторирование обычно проводят в течение примерно 60 мин. Предпочтительное время реакции составляет максимум около 30 мин. Дальнейшее предпочтительное время реакции составляет самое большее около 15 мин. Типичное время реакции составляет около 1-15 мин, предпочтительно 5-15 мин, более предпочтительно 10-15 мин.

^{18}F -фторирование обычно проводят при температуре от около 60 до около 200°C при обычном нагреве или нагревании с использованием микроволнового излучения. В предпочтительном варианте осуществления ^{18}F -фторирование проводят при температуре от около 100 до около 180°C . В более предпочтительном варианте осуществления ^{18}F -фторирование проводят при температуре от около 100 до около 160°C . Предпочтительно ^{18}F -фторирование проводят при обычном нагревании. Под обычным нагреванием понимается любое нагревание без использования микроволн.

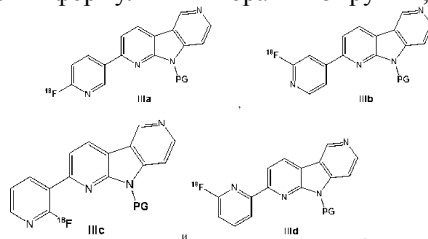
Количество исходного материала особо не ограничено. Например, в одной партии для получения соединения формулы I может быть использовано от около 0,5 до около 50 мкмоль соединения формулы II. В предпочтительном варианте осуществления изобретения используют от около 2 до около 25 мкмоль соединения формулы II. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения используют от около 2,5 до около 15 мкмоль соединения формулы II. В одном варианте осуществления изобретения используют по меньшей мере около 2 мкмоль соединения формулы II. В предпочтительном варианте осуществления изобретения используют по меньшей мере около 2,5 мкмоль соединения формулы II. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения используют по меньшей мере около 3 мкмоль соединения формулы II.

Обычно для получения соединения формулы I одной партией может быть использовано от около 0,5 до около 10 мг соединения формулы II. В предпочтительном варианте осуществления изобретения

используются от около 0,5 до около 5 мг соединения формулы II. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения используются от около 1 до около 3 мг соединения формулы II.

Если X представляет собой PG, будет получено промежуточное соединение, имеющее формулу III. Защитная группа PG может быть отщеплена на стадии A или на необязательной следующей стадии B.

Предпочтительные соединения формулы III выбраны из группы, включающей



В этих соединениях PG имеет значения, определенные в разделе "Определения".

Стадия B.

Стадия B. является необязательной стадией, которая включает отщепление защитной группы PG от соединения формулы III с получением соединения формулы I.

Как будет очевидно специалисту в данной области, эта стадия неприменима, если стадия A проводится с соединением формулы II, в котором X представляет собой водород, или если защитная группа PG уже отщеплена на стадии A.

Условия реакции отщепления для большого разнообразия защитных групп хорошо известны специалисту в данной области и могут быть выбраны, но не ограничены ими, из описанных в обзоре Greene and Wuts, Protecting groups in Organic Synthesis, third edition, с. 494-653, и обзоре P. J. Kocienski, Protecting Groups, 3rd Edition 2003, которые оба включены в настоящее описание в качестве ссылки.

Условия, которые используются на стадии B, будут зависеть от защитной группы, которая должна быть отщеплена, и, таким образом, конкретно не ограничены.

Возможные условия реакции включают: i) нагревание при температуре от около 60 до около 160°C, ii) добавление кислоты и нагревание при температуре от около 0 до около 160°C или iii) добавление основания и нагревание от около 0 до около 160°C.

Предпочтительными кислотами являются хлористоводородная кислота, серная кислота и фосфорная кислота. Одной предпочтительной кислотой является серная кислота. Другой предпочтительной кислотой является фосфорная кислота. Другой предпочтительной кислотой является хлористоводородная кислота. Предпочтительными основаниями являются гидроксид натрия, гидроксид калия.

Предпочтительным условием реакции является добавление кислоты и нагревание при температуре от около 25 до 160°C, предпочтительно от 25 до 120°C, более предпочтительно от 90 до 120°C. Предпочтительно реакционную смесь нагревают в течение от около 1 до около 20 мин, более предпочтительно в течение от около 5 до около 15 мин.

При желании стадии A и B могут быть выполнены в одном или разных реакционных сосудах. Предпочтительно стадии A и B проводят в одном и том же реакционном сосуде.

При желании раствор, полученный после стадии B, можно использовать как таковой на стадии C. Альтернативно, состав раствора можно адаптировать так, чтобы он был более подходящим для проведения ВЭЖХ. Например, буфер или разбавитель могут быть добавлены до стадии C.

Предпочтительными разбавителями являются этанол, вода или их комбинация.

Кроме того, pH раствора можно адаптировать. В предпочтительном варианте осуществления изобретения перед стадией C pH доводят до около 6 или менее, более предпочтительно около 4 или менее или еще более предпочтительно около 3 или менее. В предпочтительном варианте осуществления изобретения перед стадией C pH доводят до около 0 до около 6, более предпочтительно около 0 до около 4, еще более предпочтительно около 1 до около 3.

Стадия C.

Стадия C представляет собой стадию, на которой соединение формулы I, полученное на стадии A или, если используется, стадии B, подвергают ВЭЖХ с использованием подвижной фазы, содержащей этанол и воду.

В предшествующем уровне техники предполагалось, что для получения инъекционного индикатора необходимо использовать две хроматографические стадии, то есть сначала очистку с помощью ВЭЖХ, а затем повторную обработку с помощью SPE соединения формулы I. Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что, если в качестве подвижной фазы используется смесь этанола и воды, может быть исключено последующее улавливание соединения путем экстракции в твердой фазе. Следовательно, для очистки и приготовления можно использовать одну хроматографическую стадию. Это особенно важно в настоящем случае радиофторирования, поскольку период полураспада ^{18}F составляет всего около 110 мин, поэтому скорость способа получения инъекционной композиции соединения I имеет первостепенное значение.

Поскольку заявленный в настоящее время способ является более быстрым и менее сложным, чем

предыдущие способы, соединение формулы I может быть получено с более высоким выходом без поправки на радиоактивный распад.

Выбор смеси этанола и воды в качестве подвижной фазы имеет дополнительное преимущество в том, что эти два компонента являются диагностически приемлемыми, так что (в отличие от метанола, ацетонитрила, триэтиламина и триметиламина, которые используются в предшествующем уровне техники) они могут оставаться в композиции, которая вводится пациенту. Следовательно, выбор этанола и воды в качестве подвижной фазы значительно уменьшает время и затраты, необходимые для получения соединения формулы I, и/или дает более высокие выходы и более высокую радиохимическую чистоту, чем способы предшествующего уровня техники.

Способ по настоящему изобретению предпочтительно не включает твердофазную экстракцию соединения формулы I после стадии C, более предпочтительно способ по настоящему изобретению не включает твердофазную экстракцию соединения формулы I до или после стадии C.

Соединение формулы I предпочтительно не подвергают хроматографии после высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на стадии C, более предпочтительно соединение формулы I не подвергают хроматографии, иной, чем высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) стадии C.

Подвижная фаза, используемая в способе ВЭЖХ, содержит этанол и воду. Кроме того, могут содержаться кислота, основание, буфер, соль и/или радиопоглотитель и, возможно, их смеси.

Соотношение этанола и воды особо не ограничивается, но предпочтительно составляет от около 5/95 до около 80/20 об./об., более предпочтительно от около 5/95 до около 50/50 об./об., еще более предпочтительно от около 5/95 до около 20/80 об./об.

Величина pH подвижной фазы не ограничивается, но предпочтительно составляет от около 0 до около 8, предпочтительно от около 0 до около 6, более предпочтительно от около 1 до около 5, еще более предпочтительно от около 1 до около 3 и еще более предпочтительно от около 2,2 до около 2,8.

Возможные буферы могут включать соли, которые могут быть выбраны из дигидрофосфатов щелочных металлов, гидрофосфатов с двумя атомами щелочного металла, фосфатов с тремя атомами щелочного металла, ацетатов щелочных металлов, ацетатов щелочноземельных металлов, формиатов щелочноземельных металлов, цитрата с одним, двумя или тремя атомами щелочного металла, где предпочтительными щелочными и щелочноземельными металлами являются натрий и калий.

Возможными основаниями могут быть гидроксид натрия и/или гидроксид калия.

Если желательно, pH подвижной фазы можно регулировать с использованием неорганической или органической кислоты. Примеры неорганических кислот включают аскорбиновую кислоту, лимонную кислоту и уксусную кислоту. Примеры органических кислот включают соляную кислоту, серную кислоту и фосфорную кислоту, предпочтительно фосфорную кислоту.

Радиопоглотители представляют собой соединения, которые уменьшают разложение соединения формулы I путем радиолитического распада. Примеры включают аскорбиновую кислоту и соли аскорбиновой кислоты, гентициновую кислоту и соли гентициновой кислоты. Дополнительные примеры включают лимонную кислоту и соли лимонной кислоты. Более предпочтительными радиопоглотителями являются аскорбиновая кислота, аскорбат натрия и их смеси.

Предпочтительно подвижная фаза содержит от около 50 до около 500 мМ буфера (например, дигидрофосфат щелочного металла) с pH от около 1 до около 3, более предпочтительно от около 50 до около 250 мМ буфера (например, дигидрофосфат щелочного металла) с pH от около 1 до около 3, еще более предпочтительно от около 50 до около 150 мМ буфера (например, дигидрофосфат щелочного металла) с pH от около 1 до около 3.

Предпочтительная подвижная фаза содержит от около 5 до около 20% об./об. этанола, от около 95 до около 80% об./об. воды, от около 50 до около 150 мМ буфера (например, дигидрофосфат щелочного металла) с pH от около 1 до около 3 и, необязательно, радиопоглотитель. Более предпочтительная подвижная фаза содержит от около 5 до около 20% об./об. этанола, от около 95 до около 80% об./об. воды, от около 50 до около 150 мМ буфера (например, дигидрофосфат щелочного металла) с pH от около 2,2 до около 2,8 и, необязательно, радиопоглотитель.

Стационарные фазы для использования в способах ВЭЖХ хорошо известны и могут быть соответствующим образом выбраны специалистом в данной области. В предпочтительном варианте осуществления стационарная фаза представляет собой стационарную фазу с "обращенной фазой" (RP).

Примеры стационарных фаз ОФ-ВЭЖХ включают C18, C8, фенил, циано (например, цианопропил), пентафторфенил, амино (например, аминопропил), амид (например, C₁₀₋₂₄-алканоаминопропил), смолы, функционализированные фенилгексил, или смолы со смешанной фазой.

В одном варианте осуществления изобретения размер частиц стационарной фазы ВЭЖХ составляет от около 1,6 до около 15 мкм. В предпочтительном варианте осуществления изобретения размер частиц стационарной фазы ВЭЖХ составляет от около 5 до около 10 мкм. В другом варианте осуществления изобретения размер частиц стационарной фазы ВЭЖХ составляет около 10 мкм.

Обычно колонка ВЭЖХ имеет диаметр от около 2,0 до около 50 мм и длину от около 50 до около 300 мм. В предпочтительном варианте осуществления изобретения колонка ВЭЖХ имеет диаметр от около 4,6 до около 20 мм и длину от около 150 до около 250 мм. В более предпочтительном варианте

осуществления изобретения колонка ВЭЖХ имеет размер 10×250 мм.

Скорость потока, используемая в высокоэффективной жидкостной хроматографии, не ограничена и может составлять от около 1 до около 20 мл/мин, более типично от около 2 до около 15 мл/мин, еще более типично от около 2 до около 7 мл/мин.

Давление, используемое в высокоэффективной жидкостной хроматографии, конкретно не ограничивается и может находиться в диапазоне от около 50 до около 400 бар, обычно от около 50 до около 250 бар, более типично от около 50 до 200 бар.

В одном варианте осуществления изобретения для получения соединения формулы I используются от около 1 до около 500 ГБк [^{18}F] фторида. В предпочтительном варианте осуществления изобретения для получения соединения формулы I используются от около 50 до около 500 ГБк [^{18}F] фторида. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения для получения соединения формулы I используются от около 100 до около 500 ГБк [^{18}F] фторида. В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения для получения соединения формулы I используются от около 200 до около 500 ГБк [^{18}F] фторида.

В одном варианте осуществления изобретения для получения соединения формулы I используются около 10 ГБк или более [^{18}F] фторида. В предпочтительном варианте осуществления изобретения для получения соединения формулы I используются около 50 ГБк или более [^{18}F] фторида. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения для получения соединения формулы I используются около 100 ГБк или более [^{18}F] фторида. В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения для получения соединения формулы I используются около 200 ГБк или более [^{18}F] фторида.

В одном варианте осуществления изобретения получают около 10 ГБк или более радиомеченого соединения формулы I. В предпочтительном варианте осуществления изобретения получают около 20 ГБк или более радиомеченого соединения формулы I. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения получают около 50 ГБк или более радиомеченого соединения формулы I. В еще более предпочтительном варианте осуществления изобретения получают около 100 ГБк или более радиомеченого соединения формулы I.

В одном варианте осуществления изобретения, соединение формулы I получают с радиохимической чистотой по меньшей мере около 90%. В предпочтительном варианте осуществления изобретения соединение формулы I получают с радиохимической чистотой по меньшей мере около 93%. В предпочтительном варианте осуществления изобретения соединение формулы I получают с радиохимической чистотой по меньшей мере около 95%. В более предпочтительном варианте осуществления изобретения соединение формулы I получают с радиохимической чистотой по меньшей мере около 98%.

Необязательные стадии.

Поскольку этанол и вода содержатся в подвижной фазе, фракция ВЭЖХ, содержащая соединение формулы I, может быть непосредственно использована в виде препарата для инъекций, если желательно. Альтернативно, фракция ВЭЖХ, содержащая соединение формулы I, может быть смешана с другими диагностически приемлемыми компонентами, такими как диагностически приемлемый носитель, разбавитель, адъювант или эксципиент, для приготовления инъекционной композиции соединения формулы I.

Если желательна стадия D, после стадии C может проводиться стерильная фильтрация. Если добавляются дополнительные компоненты, стерильная фильтрация может проводиться до или после их добавления.

В одном варианте осуществления стадия A, необязательная стадия B и стадия C выполняются с использованием устройства автоматического синтеза. Примеры таких автоматических устройств синтеза включают, но не ограничиваются ими, IBA Synthera, GE Fastlab, GE Tracerlab MX, GE Tracerlab FX, GE Tracerlab FX, Trasis AllinOne, ORA Neptis Perform, ORA Neptis Mosaic, ORA Neptis Plug, Scintomics GPR, Synthera, Comacer Taddeo, Raytest Synchrom, Sofie Elixys, Eckert&Ziegler Modular Lab, Sumitomo Heavy Industries F100 F200 F300, и Siemens Explora.

Один предпочтительный способ включает следующие стадии:

A) взаимодействие соединения формулы II, где LG=нитро и PG=Вос, с [^{18}F]-фторирующим агентом, предпочтительно выбранным из K^{18}F и тетрабутиламмоний [^{18}F] фторида, в ДМСО при температуре от около 100 до около 180°C, предпочтительно от около 120 до около 180°C, более предпочтительно от около 140 до около 160°C, где защитная группа Вос отщепляется в условиях введения радиоактивной метки,

C) очистка с помощью ВЭЖХ соединения формулы I с использованием буферной смеси этанол/дигидрофосфат натрия (от около 5 до около 20% EtOH), где буфер имеет pH от около 1 до около 3, предпочтительно от около 2,2 до около 2,8, и,

D) если желательно, смешивание фракции ВЭЖХ, содержащей соединение формулы I, с дополнительными диагностически приемлемыми компонентами состава, предназначенными для введения пациенту. При желании фракцию ВЭЖХ пропускают через стерильный фильтр до или после смешивания с другими диагностически приемлемыми компонентами состава.

Другой предпочтительный способ включает следующие стадии:

A) взаимодействие соединения формулы II, где LG=триметиламмоний и PG=третил, с [^{18}F]-

фторирующим агентом, предпочтительно выбранным из $K^{18}F$ и тетрабутиламмоний $[^{18}F]$ фторида, в ДМСО или ацетонитриле при температуре от около 80 до около 180°C, предпочтительно от около 100 до около 180°C,

В) добавление фосфорной кислоты и нагревание при температуре от около 90 до около 120°C в течение от около 1 до около 15 мин,

С) очистка с помощью ВЭЖХ соединения формулы I с использованием буферной смеси этанол/дигидрофосфат натрия (от около 5 до около 20% EtOH), где буфер имеет pH от около 1 до около 3, предпочтительно от около 2,2 до около 2,8, и,

Д) если желательно, смешивание фракции ВЭЖХ, содержащей соединение формулы I, с дополнительными диагностически приемлемыми компонентами состава, предназначенными для введения пациенту. Если желательно фракцию ВЭЖХ пропускают через стерильный фильтр до или после смешивания с другими диагностически приемлемыми компонентами состава.

Если не указано иное, каждый водород в соединениях формул I-III может представлять собой 1H или 2H (дейтерий).

Способ по настоящему изобретению может обеспечить диагностическую композицию, содержащую соединение формулы I. Ввиду быстроты и уменьшенной сложности настоящего способа количество ^{18}F -меченного соединения I может быть выше, чем в традиционных способах. Этот способ также обеспечивает соединение формулы I с высокой радиохимической чистотой (например, по меньшей мере примерно 90%, предпочтительно по меньшей мере примерно 93%, более предпочтительно по меньшей мере примерно 95%, еще более предпочтительно по меньшей мере примерно 98%) при высоких уровнях радиоактивности (например, по меньшей мере около 20 ГБк соединения формулы I, предпочтительно по меньшей мере около 50 ГБк соединения формулы I, более предпочтительно по меньшей мере около 100 ГБк соединения формулы I).

Растворимые диагностические композиции пригодны для использования в диагностике. Они особенно подходят для диагностики нарушения, связанного с тау-агрегатами, или для визуализации тау-агрегатов, особенно для визуализации тау-агрегатов с использованием позитронно-эмиссионной томографии (PET).

Диагностические композиции.

"Диагностическая композиция" определяется в настоящем изобретении как композиция, содержащая соединение формулы I. Для применений *in vivo* диагностическая композиция должна быть в виде, подходящем для введения млекопитающим, таким как человек. Предпочтительно диагностическая композиция дополнительно содержит физиологически приемлемый носитель, разбавитель, адъювант или эксципиент. Введение пациенту предпочтительно осуществляют путем инъекции композиции в виде раствора.

Такая композиция может, необязательно, содержать дополнительные ингредиенты, такие как растворители, буферы; диагностически приемлемые солибулизаторы; и диагностически приемлемые стабилизаторы или антиоксиданты.

Диагностически приемлемые эксципиенты хорошо известны в области фармацевтики и описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publishing Co., New Jersey (1975). Диагностический эксципиент может быть выбран с учетом стандартной фармацевтической практики. Эксципиент должен быть приемлемым в том смысле, что он не является вредным для реципиента.

Предпочтительно диагностическая композиция содержит от около 1 до около 20% об./об. этанола в расчете на общее количество этанола и воды. Более предпочтительно диагностическая композиция содержит от около 1 до около 15% об./об. этанола в расчете на общее количество этанола и воды. Еще более предпочтительно диагностическая композиция содержит от около 5 до около 10% об./об. этанола в расчете на общее количество этанола и воды. В дополнение к вышеуказанным компонентам диагностическая композиция содержит воду. Количество воды выбирается таким образом, чтобы общее количество композиции составляло 100%.

Соединения формулы I следует вводить инъекцией. Примеры такого введения включают одно или несколько из следующих: внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, интратекальное, интравентрикулярное, интрауретральное, интратеральное, внутричерепное, внутримышечное или подкожное введения соединений; и/или с использованием методов инфузии. Для парентерального введения соединения лучше всего использовать в виде стерильного раствора, который может содержать другие наполнители. Растворы должны быть подходящим образом забуферены (предпочтительно до pH от 3 до 9, более предпочтительно от 4,0 до 8,5), если необходимо. Получение подходящих парентеральных композиций в стерильных условиях легко осуществляется стандартными фармацевтическими методами, хорошо известными специалистам в данной области.

Диагностические композиции по изобретению могут быть составлены способом, известным как таковой специалисту в данной области, как описано, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publishing Co., New Jersey (1975).

Доза обнаруживаемых меченых соединений формулы I может варьироваться в зависимости от кон-

кретного соединения, которое вводится, веса пациента, размера и типа образца и других переменных, что будет очевидно для специалиста в данной области. Обычно масса может предпочтительно находиться в диапазоне от около 0,001 до около 100 мкг на дозу пациента, предпочтительно от около 0,01 до около 50 мкг на дозу пациента. Радиоактивная доза может составлять, например, от около 100 до около 600 МБк, более предпочтительно от около 150 до около 450 МБк на инъекцию, еще более предпочтительно от около 150 до около 200 МБк.

В частности, в одном варианте осуществления заболевания или нарушения, которые могут быть обнаружены и отслежены с помощью обнаруживаемых меченых соединений формулы I, представляют собой заболевания или состояния, связанные с агрегатами тау-белков, такие как тауопатии 3R или 4R.

Заболевания или состояния, которые могут быть обнаружены и отслежены с помощью детектируемых меченых соединений, полученных способом по настоящему изобретению, включают нейродегенеративные нарушения, такие как тауопатии. Примеры заболеваний и состояний, которые можно обнаружить и контролировать, вызваны или связаны с образованием нейрофибриллярных поражений. Это преобладающая патология головного мозга при тауопатии. Заболевания и состояния включают гетерогенную группу нейродегенеративных заболеваний или состояний, включая заболевания или состояния, которые показывают сосуществование тау и амилоидных патологий. Примеры заболеваний, включающих тау-агрегаты, обычно перечислены как тауопатии, и они включают, но не ограничиваются ими, следующие: болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменция боксеров, синдром Дауна, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, церебральная амилоидная ангиопатия, вызванная прионным белком, травматическое повреждение мозга, боковой амиотрофический склероз, Паркинсонизм-деменция - комплекс Гуама, болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками не Гуам-типа, заболевание, характеризующееся появлением аргирофильных зерен, кортикобазальная дегенерация, диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, лобно-височная деменция с паркинсонизмом, сцепленная с хромосомой 17, болезнь Галлервордена-Шпатца, мультисистемная атрофия, болезнь Ниманна-Пика типа C, паллидо-понтонигральная дегенерация, болезнь Пика, прогрессирующий субкортикальный глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), подострый склерозирующий панэнцефалит, деменция с преобладанием нейрофибриллярных клубков, постэнцефалитический паркинсонизм, миотоническая дистрофия, Тау панэнцефалопатия, AD-подобные с астроцитами, некоторые прионные заболевания (GSS с Тау), мутации в LRRK2, хроническая травматическая энцефалопатия, семейная британская деменция, семейная датская деменция, лобно-височная дегенерация, гваделупский паркинсонизм, нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге, умственная отсталость, связанная с SLC9A6, тауопатия белого вещества с глобулярными глиальными включениями, синдром травматического стресса, эпилепсия, деменция с тельцами Леви (LBD), наследственное кровоизлияние в мозг с амилоидозом (голландский тип), умеренное когнитивное нарушение (MCI), рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, атипичный паркинсонизм, ВИЧ-ассоциированная деменция, диабет зрелого возраста, старческий амилоидоз сердца, эндокринная опухоль, глаукома, амилоидоз глаза, первичная дегенерация сетчатки, дегенерация желтого пятна (такая как возрастная дегенерация желтого пятна (AMD)), друзы диска зрительного нерва, невропатия зрительного нерва, неврит зрительного нерва и решетчатая дистрофия. Предпочтительно заболевания или состояния, которые могут быть обнаружены и отслежены, включают болезнь Альцгеймера (AD), семейную болезнь AD, болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменцию боксеров, синдром Дауна, болезнь Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, миозит с включенными тельцами, церебральную амилоидную ангиопатию, вызванную прионным белком, травматическое повреждение мозга (TBI), боковой амиотрофический склероз, паркинсонизм - деменцию - комплекс Гуама, болезнь двигательных нейронов с нейрофибриллярными клубками не Гуам-типа, заболевание, характеризующееся появлением аргирофильных зерен, кортикобазальную дегенерацию (CBD), диффузные нейрофибриллярные клубки с кальцификацией, лобно-височную деменцию с паркинсонизмом, сцепленную с хромосомой 17, болезнь Галлервордена-Шпатца, мультисистемную атрофию, болезнь Ниманна-Пика типа C, паллидо-понтонигральную дегенерацию, болезнь Пика (PiD), прогрессирующий субкортикальный глиоз, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), подострый склерозирующий панэнцефалит, деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, постэнцефалитический паркинсонизм, миотоническую дистрофию, Тау панэнцефалопатию, AD-подобные с астроцитами, некоторые прионные заболевания (GSS с Тау), мутации в LRRK2, хроническую травматическую энцефалопатию, семейную британскую деменцию, семейную датскую деменцию, лобно-височную дегенерацию, гваделупский паркинсонизм, нейродегенерацию с накоплением железа в головном мозге, умственную отсталость, связанную с SLC9A6 и тауопатию белого вещества с глобулярными глиальными включениями, более предпочтительно болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Крейтцфельда-Якоба, деменцию боксеров, боковой амиотрофический склероз, заболевание, характеризующееся появлением аргирофильных зерен, кортикобазальную дегенерацию, лобно-височную деменцию с паркинсонизмом, сцепленную с хромосомой 17, болезнь Пика, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), деменцию с преобладанием нейрофибриллярных клубков, Паркинсонизм-деменция - комплекс Гуама, болезнь Галлервордена-Шпатца и лобно-височную дегенерацию. Предпочтительно заболеванием или состоянием является болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или атипичный паркинсонизм, прогрессирующий надъядерный

паралич (PSP или болезнь Пика (PiD), более предпочтительно болезнь Альцгеймера.

Дополнительные примеры заболеваний или состояний, которые могут быть обнаружены и отслежены с помощью обнаруживаемых меченых соединений, полученных способом по настоящему изобретению, включают болезнь Хантингтона, ишемический инсульт и психоз при AD.

Способ по настоящему изобретению имеет ряд важных преимуществ по сравнению со способами предшествующего уровня техники. Поскольку после получения соединения формулы I требуется только одна стадия хроматографии без последующего изменения посредством SPE, установка намного проще, чем установки предшествующего уровня техники, в которых проводят две разные стадии хроматографии.

Метод оказался очень надежным. Вследствие выбора этанола и воды в качестве подвижной фазы с регулируемым pH можно использовать большие количества (например, >1 мг) предшественника без образования осадка.

F-Меченное соединение формулы I может быть надежно отделено от соединения-предшественника формулы II и возможных побочных продуктов.

Кроме того, могут быть достигнуты высокие выходы и чистота. Например, можно получить без поправки на радиоактивный распад выходы по меньшей мере около 35%. Активность продукта может быть по меньшей мере около 20 ГБк, предпочтительно по меньшей мере около 50 ГБк, более предпочтительно по меньшей мере около 100 ГБк. Радиохимическая чистота может составлять по меньшей мере около 95%, предпочтительно по меньшей мере около 98% как при низких, так и при высоких уровнях радиоактивности (например, при по меньшей мере около 100 ГБк).

Настоящее изобретение иллюстрируется следующими примерами, которые не следует рассматривать как ограничивающие.

Примеры

Сокращения.

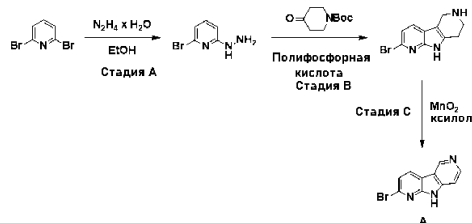
AD	болезнь Альцгеймера
Вос, ВОС	<i>трет</i> -бутилоксикарбонил
CBD	кортикобазальная дегенерация
d.c.	с поправкой на радиоактивный распад
д	дублет
дд	дублет дублетов
ДМФ	N,N-диметилформамид
ДМСО	диметилсульфоксид
DMTr-Cl	4,4'-(хлор(фенил)метилен)бис(метоксибензол)
dprrf	1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен
EI	электронная ионизация
ELSD	испарительный детектор светорассеяния
EOS	Завершение синтеза
ESI	ионизация электрораспылением
EtOH	этанол
FTD	лобно-височная деменция
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
HC	контрольная группа здоровых людей
ГБк	Гигабекерель
K ₂₂₂	4,7,13,16,21,24-гексаокса-1,10-диазабиккло[8.8.8]-гексакозан (Kryptofix 222)
МБк	Мегабекерель
МС	масс спектрометрия
MeCN	ацетонитрил
м	мультиплет
mc	центрированный мультиплет
n.c.a.	свободный от носителя
n.d.c.	без поправки на радиоактивный распад
ЯМР	спектроскопия ядерного магнитного резонанса: химические сдвиги (δ) приведены в м.д.
PET	Позитронно-эмиссионная томография
PiD	Болезнь Пика
PSP	прогрессирующий надъядерный паралич
кв	квадруплет (квартет)
КТ	комнатная температура
с	синглет
т	триплет
Тау	тау-белок, тау-депозиты, тау-агрегаты
TBI	Травматическое повреждение мозга
ТСХ	тонкослойная хроматография

Экспериментальные данные

Все реагенты и растворители были получены из коммерческих источников и использовались без дополнительной очистки. Протонные (^1H) спектры регистрировали на ЯМР-спектрометре Bruker DRX-400 МГц или на ЯМР-спектрометре Bruker AV-400 МГц в дейтерированных растворителях. Масс-спектры (МС) регистрировали на масс-спектрометре Advion CMS. Хроматографию проводили с использованием силикагеля (Fluka: силикагель 60, 0,063-0,2 мм) и подходящих растворителей, указанных в конкретных примерах. Флэш-очистка проводилась с помощью системы флэш-очистки Biotage Isolera One с использованием колонок HP-Sil (Biotage) или puriFlash (Interchim) и градиента растворителя, указанного в конкретных примерах. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинах с силикагелем с УФ-детектированием.

Синтез исследуемых соединений

Препаративный пример А



Стадия А.

Коммерчески доступный 2,6-дибромпиридин (4,12 г, 16,6 ммоль) суспендировали в этаноле (40 мл) и добавляли гидразингидрат (10 мл, 97,6 ммоль) в воде (~50-60%). Смесь нагревали на песочной бане при температуре ~115°C в течение 18 ч. Растворитель удаляли и остаток очищали хроматографией на силикагеле с использованием смеси этилацетат/н-гептан (60/40) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества не совсем белого цвета (3,05 г, 93%).

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ =7,33 (т, 1H), 6,83 (д, 1H), 6,67 (д, 1H), 6,00 (шир. с, 1H), 3,33-3,00 (шир. с, 2H).

Стадия В.

Указанное в заголовке соединение со стадии А выше (10 г, 53,2 ммоль) и коммерчески доступный 1-Вос-4-пиперидон (10,6 г, 53,2 ммоль) помещали в 500-мл колбу и перемешивали до гомогенности. Затем добавляли полифосфорную кислоту (80 г, содержание основного вещества H_3PO_4 115%) и смесь нагревали при температуре ~160°C на песочной бане. При температуре ~120°C Вос-защитную группу отщепляли, в результате чего происходило вспенивание реакционной смеси. После полного Вос-отщепления пена разрушалась, и темную реакционную смесь перемешивали при температуре ~160°C в течение 20 ч. Реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры и добавляли воду (400 мл). Реакционную смесь перемешивали/обрабатывали ультразвуком до тех пор, пока смолистый материал не растворялся. Затем реакционную смесь помещали в баню со льдом и pH раствора доводили до pH ~12 путем добавления твердых гранул гидроксида натрия (выделение тепла). Осадок собирали фильтрацией и промывали водой (400 мл) для удаления солей. Осадок растворяли в смеси дихлорметан/метанол (9/1; 1500 мл) при воздействии ультразвука и промывали водой (2×400 мл) для удаления оставшихся солей и нерастворимого вещества. Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и растворители удаляли при пониженном давлении. Темный остаток обрабатывали дихлорметаном (100 мл), обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин и осадок собирали фильтрованием. Осадок промывали дихлорметаном (40 мл) и сушили на воздухе, получая указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества бежевого цвета (3,5 г, 26%).

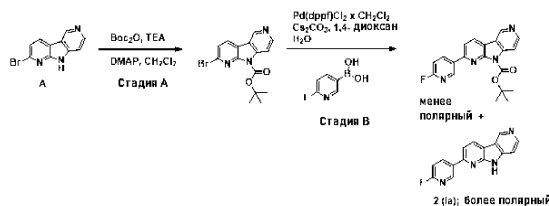
^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ =11,5 (шир. с, 1H), 7,72 (д, 1H), 7,15 (д, 1H), 3,86-3,82 (м, 2H), 3,06-3,00 (м, 2H), 2,71-2,65 (м, 2H).

Стадия С.

Указанное в заголовке соединение со стадии В выше (1,75 г, 6,94 ммоль) суспендировали в ксилоле (380 мл) и добавляли оксид марганца(IV) (6,62 г, 76,9 ммоль). Реакционную смесь затем нагревали при температуре ~160°C на песочной бане в течение 36 ч. Охлажденную реакционную смесь упаривали при пониженном давлении, остаток суспендировали в смеси дихлорметан/метанол (1/1; 400 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь затем фильтровали через бумажные фильтры для удаления оксида марганца(IV) и фильтр промывали метанолом (50 мл). Объединенные фильтраты упаривали при пониженном давлении и темный остаток очищали хроматографией на силикагеле (50 г HP-SIL-картридж), используя систему Biotage Isolera, с использованием градиента этилацетат/гептан (5/95-100/0) для удаления неполярных примесей, а затем дихлорметан/метанол (9/1→4/1), получая указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества темно-желтого цвета. Общий выход из 2 опытов составлял 1,77 г (51%).

^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ =12,52 (шир. с, 1H), 9,42 (с, 1H), 8,61 (д, 1H), 8,53 (д, 1H), 7,56-7,52 (м, 2H).

Пример 2.



Стадия А.

К суспензии указанного в заголовке соединения препаративного примера А (0,430 г, 1,73 ммоль) в дихлорметане (25 мл) добавляли триэтиламин (1,93 мл, 13,89 ммоль) и ди-трет-бутил дикарбонат (2,27 г, 10,02 ммоль). После добавления 4-(диметиламино)пиридина (0,042 г, 0,34 ммоль) реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 дней. Растворители удаляли при пониженном давлении и остаток очищали на картриджах HP-Sil SNAP (25 г), используя системы очистки Biotage Isolera One, применяя градиент этилацетат/н-гептан (5/95→100/0→100/0) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества не совсем белого цвета (0,558 г, 92%).

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ =9,28 (с, 1H), 8,73 (д, 1H), 8,22 (д, 2H), 7,59 (д, 1H), 1,80 (с, 9H).

Стадия В.

К смеси дегазированных 1,4-диоксана (3 мл) и воды (0,7 мл) в сосуде для микроволнового облучения добавляли комплекс [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (0,0058 г, 0,007 ммоль), затем указанное в заголовке соединение со стадии А выше (0,05 г, 0,143 ммоль), (6-фторпиридин-3-ил)борную кислоту (0,024 г, 0,17 ммоль) и карбонат цезия (0,092 г, 0,286 ммоль). Реакционную смесь затем нагревали при температуре $\sim 100^\circ\text{C}$ на песочной бане в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (80 мл) и водой (35 мл), органическую фазу отделяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и растворители упаривали в вакууме. Темный остаток очищали хроматографией на силикагеле (12 г, puriFlash, Interchim), используя систему Biotage Isolera, применяя градиент дихлорметан/метанол (100/0→98/2→95/5→90/10→80/20) с получением менее полярного Вос-защищенного соединения (0,0255 г, 49%) и более полярного указанного в заголовке соединения 2 в виде твердого вещества не совсем белого цвета (0,0116 г, 31%).

Более полярное, указанное в заголовке соединения 2:

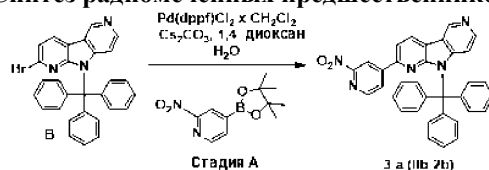
^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ =12,40 (шир. с, 1H), 9,40 (с, 1H), 9,05 (с, 1H), 8,78-8,70 (м, 2H), 8,51 (д, 1H), 8,02 (д, 1H), 7,50 (д, 1H), 7,36 (дд, 1H). MS (ESI): m/z =265,09 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Менее полярное Вос-защищенное соединение:

^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ =9,48 (с, 1H), 9,13 (д, 1H), 8,84-8,78 (м, 2H), 8,68 (д, 1H), 8,23 (д, 1H), 8,19 (д, 1H), 7,40 (дд, 1H), 1,75 (с, 9H).

Синтез указанного в заголовке соединения 2 впервые был описан WO 2015/052105 (пример 1) другим способом получения.

Синтез радиомеченных предшественников



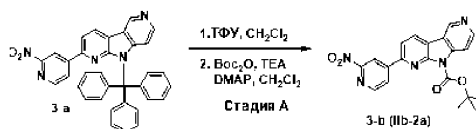
Пример 3-а.

Стадия А.

К смеси дегазированных 1,4-диоксана (4,3 мл) и воды (1 мл) в сосуде для микроволнового облучения добавляли комплекс [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (0,0084 г, 0,01 ммоль), указанное в заголовке соединение препаративного примера В (0,1 г, 0,2 ммоль), 2-нитро-4-(4,4,5,5-тетрамethyl-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридина (0,061 г, 0,245 ммоль) и карбонат цезия (0,133 г, 0,41 ммоль). Реакционную смесь затем нагревали при температуре $\sim 115^\circ\text{C}$ на песочной бане в течение 6 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (60 мл) и водой (20 мл), органическую фазу отделяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и растворители упаривали в вакууме. Темный остаток очищали хроматографией на силикагеле (25 г puriFlash-колонка, Interchim), используя систему Biotage Isolera, применяя градиент этилацетат/н-гептан (5/95→100/0→100/0) с получением указанного в заголовке соединения 3-а в виде твердого вещества бледно-желтого цвета (0,082 г, 75%).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ =9,32 (с, 1H); 8,56 (д, 1H), 8,48 (д, 1H), 8,33 (с, 1H); 8,30 (д, 1H), 7,85 (д, 1H), 7,69 (д, 1H), 7,58-7,54 (м, 5H), 7,32-7,25 (м, 10H), 6,48 (д, 1H). MS (ESI): m/z =534,28 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 3-b.
Способ а

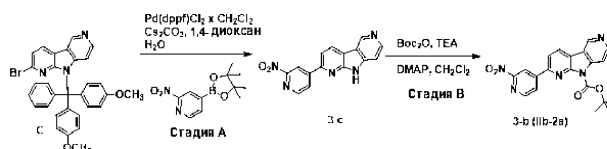


Стадия А.

К раствору 3-а (0,0396 г, 0,074 ммоль) в дихлорметане (5 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (1,2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч и добавляли метанол (2 мл). Растворители упаривали в вакууме и остаток растворяли/суспендировали в метаноле (5 мл). Растворители упаривали в вакууме и остаток опять растворяли/суспендировали в метаноле (5 мл). Растворители упаривали в вакууме и остаток суспендировали в дихлорметане (2 мл). После добавления триэтиламина (1 мл, 7,2 ммоль), ди-трет-бутил дикарбоната (0,098 г, 0,43 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридина (0,0018 г, 0,014 ммоль) реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (50 мл) и водой (20 мл). Органическую фазу отделяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и растворители удаляли в вакууме. Остаток очищали на силикагеле (25 г puriFlash, Interchim), используя системы очистки Biotage Isolera One, применяя градиент этилацетат/н-гептан (5/95→100/0→100/0), элюируя неполярные побочные продукты, затем этилацетат/метанол (95/5) с получением указанного в заголовке соединения 3-б в виде твердого вещества бледно-желтого цвета (0,0184 г, 63%).

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ =9,36 (с, 1H), 9,15 (с, 1H), 8,82-8,76 (м, 2H), 8,57 (д, 1H), 8,45 (д, 1H), 8,36 (д, 1H), 8,07 (д, 1H), 1,87 (с, 9H). MS (ESI); m/z =391,82 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Способ b



Стадия А.

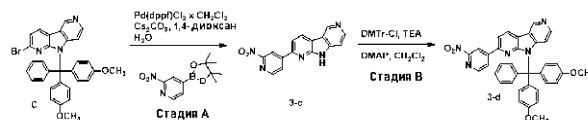
К смеси дегазированных 1,4-диоксана (2,2 мл) и воды (0,5 мл) в сосуде для микроволнового облучения добавляли комплекс [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (0,0042 г, 0,005 ммоль), затем указанное в заголовке соединение препаративного примера С (0,055 г, 0,1 ммоль), 2-нитро-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин (0,0305 г, 0,12255 ммоль) и карбонат цезия (0,067 г, 0,205 ммоль). Реакционную смесь затем нагревали при температуре ~115°C на песочной бане в течение 6 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (20 мл), осадок собирали фильтрацией, промывали водой (10 мл) и метанолом (5 мл) и сушили на воздухе с получением 3-с (0,0277 г, 95%).

Стадия В.

К суспензии сырого указанного в заголовке соединения со стадии А выше (0,0277 г, 0,095 ммоль) в дихлорметане (4 мл) добавляли триэтиламин (1 мл, 7,2 ммоль), ди-трет-бутил дикарбонат (0,2 г, 0,86 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридин (0,0036 г, 0,028 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, разбавляли этилацетатом (50 мл) и водой (20 мл). Органическую фазу отделяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и растворители удаляли в вакууме. Остаток очищали на силикагеле (25 г puriFlash, Interchim), используя системы очистки Biotage Isolera One, применяя градиент этилацетат/н-гептан (5/95→100/0→100/0), элюируя неполярные побочные продукты, затем этилацетат/метанол (95/5) с получением указанного в заголовке соединения 3-б в виде твердого вещества бледно-желтого цвета (0,0261 г, 70%).

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ =9,38 (с, 1H), 9,16 (с, 1H), 8,83-8,78 (м, 2H), 8,58 (д, 1H), 8,46 (д, 1H), 8,38 (д, 1H), 8,09 (д, 1H), 1,88 (с, 9H). MS (ESI); m/z =391,85 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 291,74 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$.

Пример 3-d.



Стадия А.

К смеси дегазированных 1,4-диоксана (2,2 мл) и воды (0,5 мл) в сосуде для микроволнового облучения добавляли комплекс [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (0,0042 г, 0,005 ммоль), затем указанное в заголовке соединение препаративного примера С (0,055 г, 0,1 ммоль), 2-нитро-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин (0,0305 г, 0,12255 ммоль) и карбонат цезия (0,067 г, 0,205 ммоль). Реакционную смесь затем нагревали при температуре ~115°C на песочной бане в течение 6 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (20 мл), осадок собирали

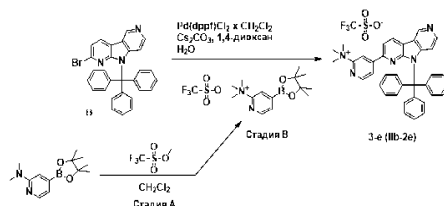
фильтрацией, промывали водой (10 мл) и метанолом (5 мл) и сушили на воздухе с получением 3-с в виде твердого вещества серого цвета (0,0277 г, 95%).

Стадия В.

К суспензии сырого указанного в заголовке соединения со стадии А выше (0,0277 г, 0,095 ммоль) в дихлорметане (4 мл) добавляли триэтиламин (1 мл, 7,2 ммоль), 4,4'-(хлор(фенил)метил)-бис-(метоксибензол) (0,081 г, 0,29 ммоль) и 4-(диметиламино)пиридин (0,0036 г, 0,028 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч, разбавляли этилацетатом (50 мл) и водой (20 мл). Органическую фазу отделяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и растворители удаляли в вакууме. Остаток очищали на силикагеле (25 g puriFlash, Interchim), используя системы очистки Biotage Isolera One, применяя градиент этилацетат/н-гептан (5/95→100/0→100/0) с получением указанного в заголовке соединения 3-д в виде твердого вещества бледно-желтого цвета (0,0261 г, 44%).

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ =9,32 (с, 1H), 8,58 (д, 1H), 8,50 (д, 1H), 8,36 (с, 1H), 8,30 (д, 1H), 7,85 (д, 1H), 7,74 (д, 1H), 7,52-7,42 (м, 6H), 7,27-7,23 (м, 4H), 6,80 (д, 4H), 6,49 (д, 1H), 3,78 (с, 6H).

Пример 3-е.



Стадия А.

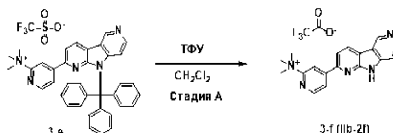
Коммерчески доступный N,N-диметил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин (0,25 г, 1 ммоль) растворяли в дихлорметане (5 мл). К полученному раствору по каплям при комнатной температуре добавляли метил трифторметансульфонат (0,124 мл, 1,1 ммоль). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрировали для удаления дихлорметана и остаток сушили в вакууме с получением стеклообразного/пенистого вещества желтого цвета, которое непосредственно использовали на следующей стадии.

Стадия В.

К раствору дегазированного 1,4-диоксана (12 мл) и воды (3 мл) в сосуде для микроволнового облучения добавляли комплекс [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (0,034 г, 0,04 ммоль), указанное в заголовке соединение препаративного примера В (0,4 г, 0,816 ммоль), сырое указанное в заголовке соединение со стадии А выше (~1 ммоль) и карбонат цезия (0,544 г, 1,68 ммоль). Реакционную смесь нагревали при температуре ~120°C на песочной бане в течение 6 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (150 мл) и водой (50 мл), органическую фазу отделяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и растворители упаривали в вакууме. Темный остаток очищали хроматографией на силикагеле (25 г HP-Ultra), используя систему Biotage Isolera, применяя градиент этилацетат/н-гептан (5/95→100/0→100/0), элюируя непрореагировавшее исходное вещество и неполярные побочные продукты. Градиент затем заменяли на дихлорметан/метанол (100/0→95/5→90/10) с получением диметиламин-производного в виде стеклообразного вещества бледно-желтого цвета (0,127 г, 29%; MS (ESI): m/z =532,27 $[\text{M}+\text{H}]^+$) и метиламин-производного в виде твердого вещества серого цвета (0,0547 г, 13%; MS (ESI): m/z =519,18 $[\text{M}+\text{H}]^+$). Градиент опять заменяли на дихлорметан/метанол (90/10→80/20) и выдерживали при (80/20) с получением указанного в заголовке соединения 3-е в виде твердого вещества коричневого цвета (0,104 г, 18%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ =9,47 (с, 1H); 8,89 (д, 1H), 8,55 (д, 1H), 8,35-8,32 (м, 2H), 8,29 (д, 1H), 7,63-7,57 (м, 5H), 7,48 (д, 1H), 7,34-7,25 (м, 10H), 6,48 (д, 1H), 3,60 (с, 9H). MS (ESI): m/z =546,26 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 3-f.

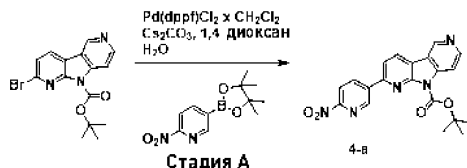


Стадия А.

3-е (0,199 г, 0,364 ммоль) суспендировали в дихлорметане (10 мл). После добавления трифторуксусной кислоты (10 мл) реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Растворители удаляли при пониженном давлении, остаток растворяли в метаноле (10 мл) и растворители удаляли при пониженном давлении. Обработку остатка метанолом повторяли еще два раза. Остаток затем суспендировали в дихлорметане (20 мл) и воздействовали ультразвуком в течение ~5 мин. Осадок собирали фильтрацией, промывали дихлорметаном (10 мл) и сушили на воздухе с получением указанного в заголовке соединения 3-f в виде твердого вещества серого цвета (0,127 г, 83%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ =13,76 (шир. с, 1H), 9,84 (с, 1H); 8,12 (д, 1H), 8,89 (д, 1H), 8,80 (д, 1H), 8,75 (с, 1H), 8,54-8,50 (м, 2H), 8,04 (д, 1H), 3,72 (с, 9H). MS (ESI): m/z =303,91 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 4-а



Стадия А.

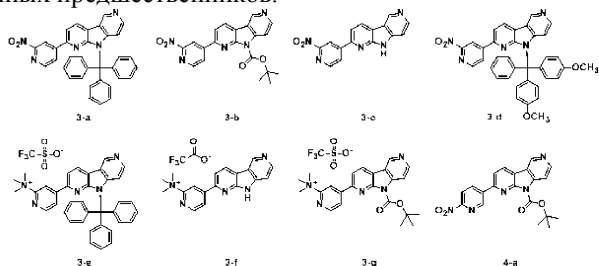
К смеси дегазированных 1,4-диоксана (3 мл) и воды (0,7 мл) в сосуде для микроволнового облучения добавляли комплекс [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (0,0058 г, 0,007 ммоль), затем указанное в заголовке соединения из примера 2, стадия А (0,05 г, 0,143 ммоль), 2-нитро-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин (0,0428 г, 0,17 ммоль) и карбонат цезия (0,092 г, 0,286 ммоль). Реакционную смесь затем нагревали при температуре ~100°C на песочной бане в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (80 мл) и водой (35 мл), органическую фазу отделяли, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и растворители упаривали в вакууме. Темный остаток очищали хроматографией на силикагеле (12 г, puriFlash, Interchim), используя систему Biotage Isolera, применяя градиент дихлорметан/метанол (100/0→98/2→95/5→90/10→80/20) с получением указанного в заголовке соединения 4-а в виде твердого вещества бледно-желтого цвета (0,0173 г, 31%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃/CD₃OD) δ=9,45 (д, 1H), 9,32 (с, 1H), 8,93 (дд, 1H), 8,68-8,64 (м, 2H), 8,46 (д, 1H), 8,35 (д, 1H), 8,14 (д, 1H), 1,82 (с, 9H). MS (ESI): m/z=392,13 [M+H]⁺.

Синтез указанного в заголовке соединения 4-а впервые был описан в WO 2015/052105 (пример 3а) другим способом синтеза.

Радиомечение предшественников с помощью ¹⁸F

Примеры радиомеченных предшественников.



Общий способ радиомечения А, выполненный с использованием tracerlab FX, как показано на фиг. 3 (радиомечение, удаление защитных групп, ВЭЖХ и SPE) - сравнительные примеры.

[¹⁸F]фторид улавливали на световом картридже Sep-Pak Accell Plus QMA (Waters) и элюировали раствором K₂CO₃/Kryptofix® 2.2.2. Воду удаляли с использованием потока He или N₂ при температуре 95°C и выпаривали совместно с MeCN (1 мл) досуха. После этого раствор растворенного предшественника добавляли к высушенному комплексу K[¹⁸F]F-Kryptofix. Реакционный сосуд герметично закрывали и нагревали в течение 15 мин при 150°C. Затем добавляли кислоту (HCl, H₂SO₄ или H₃PO₄) и смесь нагревали в течение 10 мин при температуре 150°C. Реакционную смесь разбавляли 1 мл NaOH и 2,4 мл подвижной фазы преп. ВЭЖХ, и сырой продукт очищали с помощью полупрепаративной ВЭЖХ (например, Phenomenex, Gemini C18, 5 мкм, 250×10 мм) при 4 мл/мин. Выделенный индикатор разбавляли водой (20 мл+10 мг/мл аскорбата натрия), улавливали на картридже C-18 Plus (Waters), промывали водой (10 мл+10 мг/мл аскорбата натрия), элюировали этанолом (1 мл) и смешивали с водой (14 мл+10 мг/мл аскорбата натрия).

Общий способ радиомечения В, выполненный с использованием tracerlab FX, как показано на фиг. 3 (радиомечение, ВЭЖХ и SPE) - сравнительные примеры.

[¹⁸F]фторид улавливали на световом картридже Sep-Pak Accell Plus QMA (Waters) и элюировали раствором K₂CO₃/Kryptofix® 2.2.2. Воду удаляли с использованием потока He или N₂ при температуре 95°C и выпаривали совместно с MeCN (1 мл) досуха. После этого раствор растворенного предшественника добавляли к высушенному комплексу K[¹⁸F]F-Kryptofix. Реакционный сосуд герметично закрывали и нагревали в течение 15 мин при 150°C. Реакционную смесь разбавляли 1 мл NaOH и 2,4 мл подвижной фазы преп. ВЭЖХ, и сырой продукт очищали с помощью полупрепаративной ВЭЖХ (например, Phenomenex, Gemini C18, 5 мкм, 250×10 мм) при 4 мл/мин. Выделенный индикатор разбавляли водой (20 мл+10 мг/мл аскорбата натрия), улавливали на картридже C-18 Plus (Waters), промывали водой (10 мл+10 мг/мл аскорбата натрия), элюировали этанолом (1 мл) и смешивали с водой (14 мл+10 мг/мл аскорбата натрия).

Общий способ радиомечения С, выполненный с использованием IBA Synthera+Synthera ВЭЖХ, как показано на фиг. 4 (радиомечение, ВЭЖХ).

[¹⁸F]фторид улавливали на световом картридже Sep-Pak Accell Plus QMA (Waters) и элюировали раствором K₂CO₃/Kryptofix® 2.2.2. Воду удаляли с использованием потока He или N₂ при температуре 95-110°C и выпаривали досуха. После этого раствор растворенного предшественника добавляли к высу-

шенному комплексу $K[^{18}F]F$ -Kryptofix. Реакционный сосуд герметично закрывали и нагревали в течение 15 мин при 150°C. Реакционную смесь разбавляли 0,5-1 мл 1 М H_3PO_4 и 3-3,5 мл водного компонента подвижной фазы преп. ВЭЖХ, и сырой продукт очищали с помощью полупрепаративной ВЭЖХ (например, Waters XBridge Peptide BEH C18, 130 Å, 10 мкм, 10×250 мм) при 3-6 мл/мин. Фракции, содержащие продукт (5-10 мл), собирали и разбавляли разбавляющей средой, содержащей 0-2 мл EtOH, 10-20 мл воды и 0-4 мл концентрата фосфатного буфера (Braun, 3,05 г додекагидрата динатриймоногидрофосфата, 0,462 г дигидрата дигидрофосфата натрия в 20 мл воды для инъекций) и/или аскорбата натрия (100-1000 мг) и/или цитрата натрия (100-1000 мг) и/или гентизиновой кислоты и/или гентизиновой кислоты (20-200 мг).

Общий способ радиомечения D, выполненный с использованием tracerlab FX, как показано на фиг. 3 (радиомечение, ВЭЖХ).

$[^{18}F]$ фторид улавливали на световом картридже Sep-Pak Accell Plus QMA (Waters) и элюировали раствором K_2CO_3 /Kryptofix® 2.2.2. Воду удаляли с использованием потока He или N_2 при температуре 95°C и выпаривали досуха с MeCN (1 мл). После этого раствор растворенного предшественника добавляли к высушенному комплексу $K[^{18}F]F$ -Kryptofix. Реакционный сосуд герметично закрывали и нагревали в течение 15 мин при 150°C. Реакционную смесь разбавляли 0,5-1 мл 1 М H_3PO_4 и 3-3,5 мл водного компонента подвижной фазы преп. ВЭЖХ, и сырой продукт очищали с помощью полупрепаративной ВЭЖХ (например, Waters XBridge Peptide BEH C18, 130 Å, 10 мкм, 10×250 мм или Gemini 5 мкм C18, 250×10 мм, Phenomenex: 00G-4435-N0) при 3-6 мл/мин. Фракции, содержащие продукт (5-10 мл), собирали и разбавляли разбавляющей средой, содержащей 0-2 мл EtOH, 10-20 мл воды, и 0-4 мл концентрата фосфатного буфера (Braun) и/или аскорбата натрия (100-1000 мг) и/или цитрата натрия (100-1000 мг) и/или цитрата натрия (20-200 мг).

Общий способ радиомечения E, выполненный с использованием tracerlab FX, как показано на фиг. 3 (радиомечение, удаление защитных групп, ВЭЖХ).

$[^{18}F]$ фторид улавливали на световом картридже Sep-Pak Accell Plus QMA (Waters) и элюировали раствором K_2CO_3 /Kryptofix® 2.2.2. Воду удаляли с использованием потока He или N_2 при температуре 95°C и выпаривали досуха с MeCN (1 мл). После этого раствор растворенного предшественника добавляли к высушенному комплексу $K[^{18}F]F$ -Kryptofix. Реакционный сосуд герметично закрывали и нагревали в течение 15 мин при 150°C. Затем добавляли 1 мл 0,5М H_2SO_4 и смесь нагревали в течение 10 мин при температуре 100°C. Реакционную смесь разбавляли 0,5-1 мл 1 М NaOH и 2-3 мл водного компонента подвижной фазы преп. ВЭЖХ, и сырой продукт очищали с помощью полупрепаративной ВЭЖХ (например, Waters XBridge Peptide BEH C18, 130 Å, 10 мкм, 10×250 мм или Gemini 5 мкм C18, 250×10 мм, Phenomenex: 00G-4435-N0) при 3-6 мл/мин. Фракции, содержащие продукт (5-10 мл), собирали и разбавляли разбавляющей средой, содержащей 0-2 мл EtOH, 10-20 мл воды, и 0-4 мл концентрата фосфатного буфера (Braun) и/или аскорбата натрия (100-1000 мг) и/или цитрата натрия (100-1000 мг) и/или цитрата натрия (20-200 мг).

Общий способ радиомечения F, выполненный с использованием IBA Synthera+Synthera ВЭЖХ, как показано на фиг. 4 (радиомечение, удаление защитных групп, ВЭЖХ).

$[^{18}F]$ фторид улавливали на световом картридже Sep-Pak Accell Plus QMA (Waters) и элюировали раствором K_2CO_3 /Kryptofix® 2.2.2. Воду удаляли с использованием потока He или N_2 при температуре 95-110°C и выпаривали досуха. После этого раствор растворенного предшественника добавляли к высушенному комплексу $K[^{18}F]F$ -Kryptofix complex. Реакционный сосуд герметично закрывали и нагревали в течение 5-10 мин при температуре 110-120°C. После фторирования добавляли 0,5-1 мл 1 М H_3PO_4 и реакционную смесь нагревали в течение 10-15 мин при температуре 100-110°C. Смесь разбавляли 3-3,5 мл водного компонента подвижной фазы преп. ВЭЖХ, и сырой продукт очищали с помощью полупрепаративной ВЭЖХ (например, Waters XBridge Peptide BEH C18, 130 Å, 10 мкм, 10×250 мм) при 3-6 мл/мин. Фракции, содержащие продукт (5-10 мл), собирали и разбавляли разбавляющей средой, содержащей 0-2 мл EtOH, 10-20 мл воды и 0-4 мл концентрата фосфатного буфера (Braun, 3,05 г додекагидрата динатриймоногидрофосфата, 0,462 г дигидрата дигидрофосфата натрия в 20 мл воды для инъекций) и/или аскорбата натрия (100-1000 мг) и/или цитрата натрия (100-1000 мг) и/или гентизиновой кислоты (20-200 мг).

Определение радиохимической чистоты

Радиохимическую чистоту определяли аналитической ВЭЖХ, например: колонка Atlantis T3, Waters, 100×4,6 мм, 3 мкм, 100; подвижная фаза А: 40 мМ ацетата натрия, в конце доведение до pH 5,0 с помощью ледяной уксусной кислоты; подвижная фаза В: 35% метанол в ацетонитриле; скорость потока: 1,8 мл/мин; градиент: 0-5 мин 15-32% В, 5-8 мин 32-80% В, 8-12 мин 80% В, 12-13 мин 80-15% В, 13-16 мин 15% В.

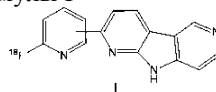
Результаты синтеза ^{18}F -Ib

#	Предшественник	Общий способ введения радиометки	Подвижная фаза преп. ВЭЖХ	Общее время синтеза [мин]	Исходная активность [ГБк]	Активность продукта [ГБк]	Уточненный выход нераспавшегося продукта [%]	Радиохимическая чистота EOS [%]
1*	2 мг 3a в 0,8 мл ДМСО	A	23% MeCN, 77% $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ буфер	≈ 74	375	36	9,6	97,6
2	2 мг 3b в 1 мл ДМСО	C	15% EtOH, 85% 100 mM NaH_2PO_4 (доведение до pH 2 с помощью H_3PO_4), +1 мг/мл аскорбиновой кислоты	≈ 60	230	85	37,0	99,3
3	2 мг	C	15% EtOH, 85% 100 mM	≈ 60	249	102	41,0	100
	3b в 1 мл ДМСО		NaH_2PO_4 (доведение до pH 2 с помощью H_3PO_4)					
4	2 мг 3b в 1 мл ДМСО	C	15% EtOH, 85% 100 mM NaH_2PO_4 (доведение до pH 2 с помощью H_3PO_4)	≈ 60	236	91	38,6	99,7
5*	2,4 мг 3b в 1 мл ДМСО	B	23% MeCN, 77% $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ буфер	≈ 70	5,1	0,34	6,7	99,0
6	2,8 мг 3f в 1 мл ДМСО	C	25% EtOH, 75% 50 mM NaOAc (доведение до pH 2)	55	1,0	0,18	17,8	100
7	3,1 мг 3e в 1 мл ДМСО	E	25% EtOH, 75% 50 mM NaOAc (доведение до pH 2)	60	3,4	0,6	17,7	100
8	2 мг 3b в 1 мл ДМСО	C	15% EtOH, 85% 100 mM NaH_2PO_4 (доведение до pH 2,4 с помощью H_3PO_4)	≈ 60	58,8	17,3	29,5	99,1
9	2 мг 3b в 1 мл ДМСО	C	15% EtOH, 85% 100 mM NaH_2PO_4 +400 mM NaCl (доведение до pH 2,4 с помощью H_3PO_4)	≈ 60	13,8	4,0	28,7	99,5
10	2 мг 3f в 1 мл ДМСО	C	15% EtOH, 85% 100 mM NaH_2PO_4 (доведение до pH 2,4 с помощью H_3PO_4)	≈ 60	9,2	1,5	17	100
11	2 мг 3e в 1 мл ДМСО	F	15% EtOH, 85% 100 mM NaH_2PO_4 (доведение до pH 2,4 с помощью H_3PO_4)	≈ 65	48	11,5	23,9	100
12	2 мг 3e в 1 мл MeCN	F	15% EtOH, 85% 100 mM NaH_2PO_4 (доведение до pH 2,4 с помощью H_3PO_4)	≈ 60	35,6	7	19,6	100
13	2 мг 3g в 1 мл ДМСО	C	15% EtOH, 85% 100 mM NaH_2PO_4 (доведение до pH 2,4 с помощью H_3PO_4)	≈ 60	1,1	0,066	5,9	99,6
	мл ДМСО		2,4 с помощью H_3PO_4)					

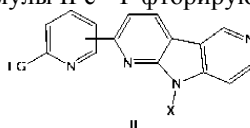
* Сравнительные примеры.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения соединения формулы I



включающий стадии:

A) взаимодействия соединения формулы II с ^{18}F фторирующим агентом

где X представляет собой H или PG;

LG представляет собой удаляемую группу и

PG представляет собой аминозащитную группу, выбранную из карбобензилокси, (п-метоксибензил)оксикарбонил, трет-бутилоксикарбонил, 9-флуоренилметилоксикарбонил, бензил, п-метоксибензил, 3,4-диметоксибензил, п-метоксифенил, трифенилметил, метоксифенилдибензилметил или диметокситритил, и,

В) если X представляет собой PG, отщепления защитной группы PG, и

С) подвергания полученного соединения формулы I высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием подвижной фазы, содержащей смесь этанола и воды.

2. Способ по п.1, где X представляет собой PG, стадия В отсутствует, и защитную группу PG отщепляют на стадии А, или где X представляет собой PG, и защитную группу PG отщепляют на стадии В.

3. Способ по п.1 или 2, где соотношение этанола и воды в подвижной фазе составляет от около 5/95 до около 80/20 об./об.

4. Способ по любому из пп.1-3, где рН подвижной фазы составляет от около 0 до около 8, предпочтительно от около 1 до около 3.

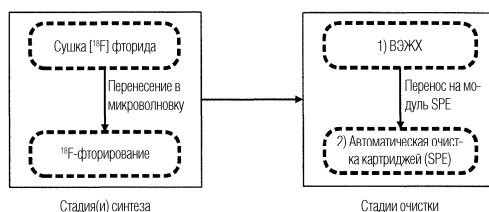
5. Способ по любому из пп.1-4, где подвижная фаза дополнительно содержит буфер, который предпочтительно выбран из дигидрофосфатов щелочных металлов, гидрофосфатов с двумя атомами щелочного металла, фосфатов с тремя атомами щелочного металла, ацетатов щелочных металлов, формиатов щелочных металлов и цитратов с одним, двумя или тремя атомами щелочного металла.

6. Способ по любому из пп.1-5, где высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) осуществляют под давлением от около 50 до около 400 бар, предпочтительно от около 50 до около 250 бар.

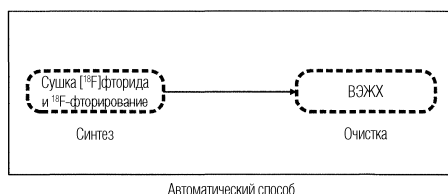
7. Способ по любому из пп.1-6, где высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) дает фракцию, содержащую соединение формулы I, и эту фракцию подвергают стадии D стерильной фильтрации.

8. Способ по любому из пп.1-7, где способ не включает твердофазную экстракцию соединения формулы I после стадии С, предпочтительно где способ не включает твердофазную экстракцию соединения формулы I до или после стадии С.

9. Способ по любому из пп.1-8, где соединение формулы I не подвергают хроматографии после высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на стадии С, предпочтительно где соединение формулы I не подвергают хроматографии, иной, чем высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) на стадии С.

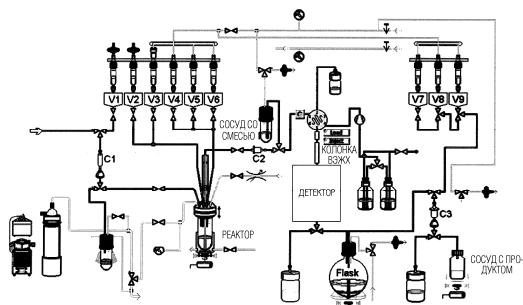


Фиг. 1

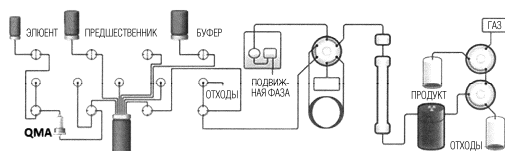


Автоматический способ

Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

