

アルツハイマー病脳内タウ凝集体を標的とした
核医学分子イメージングプローブの開発に関する研究

2014

松村 憲志

目次

緒言	1	
第1章	タウイメージングプローブとしてのフェニルジアゼニル ベンゾチアゾール誘導体に関する検討	3
第1節	フェニルジアゼニルベンゾチアゾールを母核とした SPECT 用 タウイメージングプローブの合成と基礎的評価	5
1.1.1.	実験方法	6
1.1.2.	結果および考察	11
1.1.3.	小括	17
第2節	フェニルジアゼニルベンゾチアゾールを母核とした PET 用 タウイメージングプローブの合成と基礎的評価	18
1.2.1.	実験方法	19
1.2.2.	結果および考察	26
1.2.3.	小括	32
第2章	タウに対する選択的結合性の向上を目的とした芳香族ヘテロ環含有 スチリル誘導体の構造活性相関に関する検討	33
2.1.	実験方法	35
2.2.	結果および考察	57
2.3.	小括	72
第3章	ベンゾイミダゾピリジンを母核としたタウイメージングプローブの 開発	73
3.1.	実験方法	74
3.2.	結果および考察	82

3.3. 小括	94
結語	95
引用文献	97
謝辞	103

緒 言

現在、アルツハイマー病(AD)はアンメットメディカルニーズの高い代表的疾患のひとつとなっており、その診断法および治療法の開発が強く求められている。AD 脳内の病理学的特徴として、アミロイド β ペプチド凝集体(A β)を主成分とする老人斑と過剰リン酸化タウタンパク質凝集体(タウ)を主成分とする神経原線維変化の蓄積が知られている¹。これら異常蓄積物は AD 病態における重要なバイオマーカーであり、これらの生体イメージングから得られる情報は AD 診断および治療薬の開発研究に有益であると考えられる。特に、A β の蓄積は AD の最も早期に始まることから²、これまでに A β を高感度かつ非侵襲的に体外から検出することのできる positron emission tomography (PET)や single photon emission computed tomography (SPECT)を用いる核医学分子イメージングプローブの開発が活発に行われてきた³⁻⁷。しかし、この A β イメージングプローブを用いた臨床試験において、健常高齢者脳内にも A β の蓄積が認められる偽陽性群の存在が多数報告されており⁸、AD の画像診断を高精度に行うためには A β イメージングのみでは困難であると認識されつつある。一方、タウの蓄積は AD 発症以前より始まり、その蓄積量と臨床症状との間には高い相関性があることが報告されている⁹⁻¹¹。したがって、タウの生体イメージングは、A β イメージングに比べ、AD の早期診断や病状進行の判定に有効であると考えられる。本研究では、脳内に蓄積したタウを体外から非侵襲的に定量イメージングする方法を構築するため、タウに選択的結合性を有する核医学分子イメージングプローブの開発を計画した。

タウイメージングプローブに求められる条件として、①血液脳関門を通過すること、②タウへ選択的に結合すること、③非結合プローブが速やかに脳内から消失することが挙げられる。

そこで、これらの条件をもとに、タウ凝集阻害作用を有するフェニルジアゼニルベンゾチアゾール(PDB)^{12, 13}を母核として、放射性ヨウ素-123 および放射性フッ素-18 の効率良い導入を考慮した PDB および FPPDB 誘導体をタウイメージングプローブとして設計・合成した。合成した PDB および FPPDB 誘導体はリコンビナントタウ凝集体に対する結合性を示し、特に、置換基としてジメチルアミノ基を有する(E)-4-((6-iodobenzo[d]thiazol-2-yl)diaz-enyl)-N,N-dimethylaniline (PDB-3)および(E)-4-((6-(2-(2-(2-Fluoroethoxy)ethoxy)ethoxy)benzo[d]thiazol-2-yl)diaz-enyl)-N,N-dimethylaniline (FPPDB-3)は、AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* オートラジオグラフィ(ARG)および蛍光染色実験において、A β への結合性を示す一方で、脳内に蓄積したタウを明瞭に描出した。さらに、正常マウスを用いた体内放射能分布実験において PDB-3 および FPPDB-3 は脳移行性を示した。以上の結果より、本誘導体がタウイメージングプローブとしての基礎的性質を有することを認めた。

PDB-3 および FPPDB-3 はタウに高い結合性を示すとともに、A β にも高い結合性を示したことから、タウイメージングプローブとしてはタウに対するより高い選択的結合性が求

められた。そこで、PDB 骨格を基盤としてタウへの結合性に関与すると考えられる芳香族ヘテロ環の構造変換を行い、タウ結合性に関する構造活性相関に関する検討を行うことを計画した。すなわち、ベンゾチアゾールをはじめとする 5 種の異なる芳香族ヘテロ環構造を有する、スチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体を合成し、AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG を行うことによりタウへの選択的結合性を評価した。また、これまでの A β イメージングプローブの開発研究において、A β との相互作用には分子中のアミノ基が重要であることが示唆されていることから^{5, 7, 14-19}、タウと A β との選択的結合性が向上することを期待してジメチルアミノ基を除いたスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体も合成し、比較検討した。その結果、ジメチルアミノ基を有する全ての化合物の脳組織切片上における放射能集積は大きく相違することがないことを認めた。一方、ジメチルアミノ基を除いた化合物では、含有する芳香族ヘテロ環構造の種類によって脳組織切片上の放射能集積に相違が認められた。特に、ベンゾイミダゾールを母核とした(*E*)-6-iodo-2-styryl-1*H*-benzo[*d*]imidazole (SBI-2)は、脳白質への非特異的結合が認められる一方で、PDB-3 に比べてタウへの選択的結合性が向上した。さらに、正常マウスを用いた体内放射能分布実験において、SBI-2 は投与早期での高い脳移行性とその後の脳からの速やかな消失を示した。以上の結果より、SBI-2 がタウイメージングプローブとして有効である可能性が示された。

以上の結果を受けて、より高性能なタウイメージングプローブを開発するために SBI-2 をリード化合物として更なる構造の最適化を行った。すなわち、SBI-2 は部分構造であるエテニル基に由来する光異性化が起こることが問題点として考えられたことから、この光安定性を改善するためにエテニル基の部位を環状化させた 4 種のベンゾイミダゾピリジン(BIP)誘導体を新たに設計・合成した。合成した全ての BIP 誘導体において、光安定性が改善されたとともに、SBI-2 に比べて白質への非特異的集積の少ない明瞭なタウ描出画像を得ることに成功した。また、いずれの BIP 誘導体も正常マウスを用いた体内放射能分布実験において脳移行性を示し、特に、7-iodobenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (BIP-3)が最も良好な脳内挙動を示した。以上の結果より、BIP-3 はタウイメージングプローブとして有効であることを見出した。

以上、本研究は AD 脳内タウを標的とした核医学による生体イメージングに有効な分子プローブの開発に成果を収めたものであり、これらの知見は、今後の AD の早期診断および治療薬の開発研究に有益な情報を提供するものと考えられる。

これらの結果について、以下に詳述する。

第 1 章

タウイメージングプローブとしてのフェニルジアゼニル ベンゾチアゾール誘導体に関する検討

アルツハイマー病(AD)は認知症患者数の約 6 割を占める、アンメットメディカルニーズの高い代表的疾患のひとつとなっており、世界中で治療薬の開発研究が行われている。現在、AD の診断には問診や MRI などによる方法が一般的に用いられているが、これらの方法では重篤な脳障害が起こる前の早期段階で AD を診断することは困難である。したがって、治療薬の開発研究を効率良く遂行するためにも、AD の早期診断を可能にする診断技術の開発が望まれている。

AD 脳内の病理学的特徴として、アミロイド β ペプチド凝集体(A β)を主成分とする老人斑と過剰リン酸化タウタンパク質凝集体(タウ)を主成分とする神経原線維変化の蓄積が知られている¹。これら異常蓄積物は AD 病態における重要なバイオマーカーであり、これらの生体イメージングから得られる情報は AD 診断および治療薬の開発研究に有益であると考えられる。特に、A β の蓄積は AD の最も早期に始まることから²、これまでに A β を高感度かつ非侵襲的に体外から検出することのできる positron emission tomography (PET)や single photon emission computed tomography (SPECT)を用いる核医学分子イメージングプローブの開発研究が活発に行われてきた³⁻⁷。なかでも、^{[18F]florbetapir}⁷ (Figure 1-1A), ^{[18F]flutemetamol}⁵ (Figure 1-1B), ^{[18F]florbetaben}⁶ (Figure 1-1C)は PET 用 A β イメージングプローブとして米国 FDA によって承認され、世界中で臨床研究が行われている。これらのプローブを用いて行われる A β イメージングは、従来は死後剖検脳でしか確認できなかった脳内 A β の蓄積を生前に検出することを可能とし、AD の診断における強力なツールとして利用され始めた。しかし、この A β イメージングに関する臨床試験において、健常高齢者脳内にも A β の蓄積が認められる偽陽性群の存在が多数報告されたため⁸、AD の画像診断を高精度に行うためには A β イメージングのみでは困難であると認識されつつある²⁰。

一方、タウタンパク質は、正常時においては単量体として脳組織に多く存在する微小管結合タンパク質の一種であり、神経細胞の骨格維持の機能を果たしている。ヒト成人脳では、エキソンの選択的スプライシングの組み合わせにより 6 種のアイソフォームが存在する²¹。AD のような病的な環境下において、タウタンパク質は過剰にリン酸化されることで微小管との結合能を失い²²、遊離した単量体は互いに凝集し、最終的には β シート構造を有する神経原線維変化を形成して神経細胞内に蓄積する^{23, 24}。タウの蓄積は A β と同様、AD 発症以前より始まり、その蓄積の様子は Braak らによって Stage I ~VI の 6 段階に分類されている^{10, 25-27}。認知機能が正常に保たれている時期から海馬周辺の嗅内野にタウが蓄積し始め(Stage I ~ II), その蓄積は軽度認知障害(MCI)の段階では大脳辺縁系にまで広がる(Stage III ~IV)。AD を発症する段階(Stage V ~VI)ではタウ蓄積は新皮質にまで広がっており、その蓄積分布と臨床症状には高い相関性があることが報告されている^{9, 11, 28, 29}。したがって、

タウの生体イメージングは、 $A\beta$ イメージングに比べ、AD の早期診断に加えて病状進行の判定に対しても有効であると考えられることから、最近ではタウイメージングプローブの開発にも注目が集まっている。

タウイメージングプローブを開発するためには、①血液脳関門を通過すること、②タウへ選択的に結合すること、③非結合プローブが速やかに脳内から消失することを考慮する必要がある。これまでに、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5105}$ ^{30,31} (Figure 1-2A), $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ ³¹ (Figure 1-2B), $[^{18}\text{F}]\text{T807}$ ^{32,33} (Figure 1-2C), $[^{18}\text{F}]\text{T808}$ ^{34,35} (Figure 1-2D), $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ ^{36,37} (Figure 1-2E)などを含むタウイメージングプローブが開発されており³⁸⁻⁴¹、臨床研究も開始されている。しかし、タウイメージングプローブとして実用的なプローブは未だに開発されていないことから、更なるタウイメージングプローブの探索研究が必要であると考えられた。本研究では、より有効的なタウイメージングプローブの探索研究を行った。

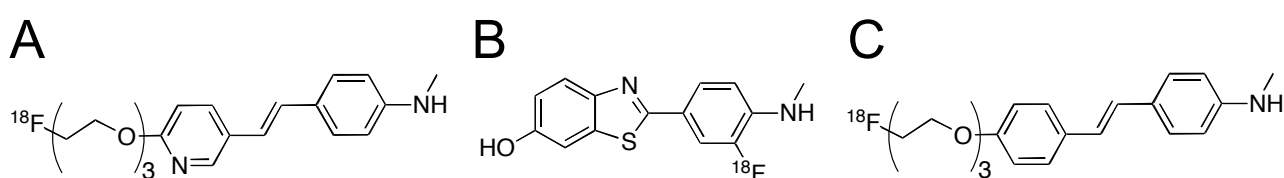


Figure 1-1. Chemical structure of $[^{18}\text{F}]\text{florbetapir}$ (A), $[^{18}\text{F}]\text{flutemetamol}$ (B), and $[^{18}\text{F}]\text{florbetaben}$ (C) as $A\beta$ imaging probes.

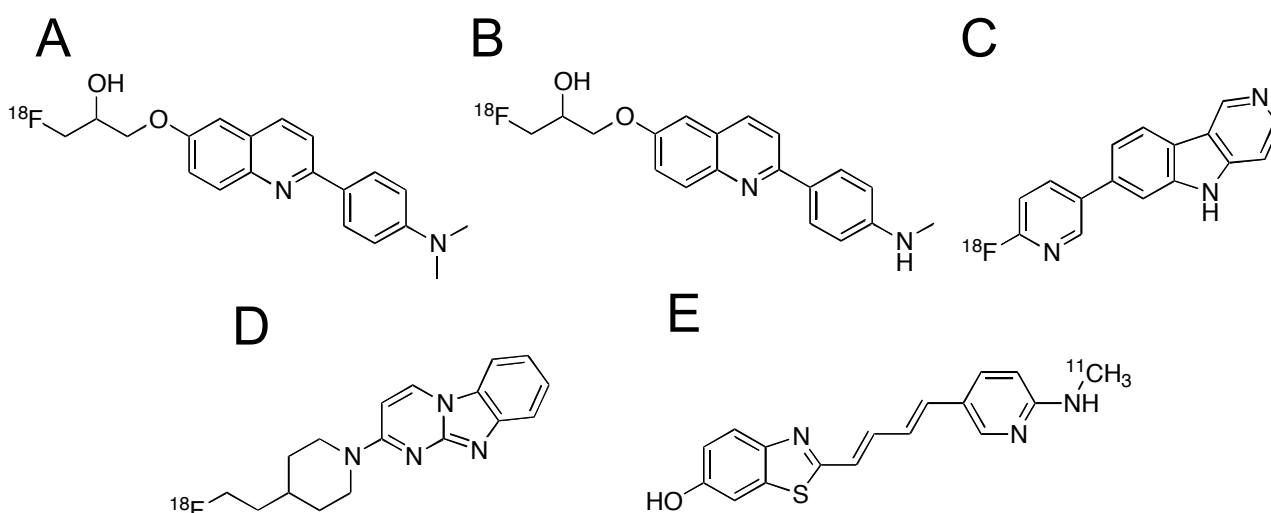


Figure 1-2. Chemical structure of $[^{18}\text{F}]\text{THK-5105}$ (A), $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ (B), $[^{18}\text{F}]\text{T807}$ (C), $[^{18}\text{F}]\text{T808}$ (D), and $[^{11}\text{C}]\text{PBB-3}$ (E) as tau imaging probes.

第 1 節

フェニルジアゼニルベンゾチアゾールを母核とした SPECT 用

タウイメージングプローブの合成と基礎的評価

過去の報告において、A β 凝集阻害作用を有するフラボン骨格を母核にした A β イメージングプローブが開発されており⁴²、A β 凝集阻害剤が A β への結合親和性を有していることが示された。したがって、タウ凝集阻害作用を有するタウ凝集阻害剤のうち、タウへの結合親和性を有している化合物も存在する可能性があると考えられた。

これまでに、タウ凝集作用を有する多数のタウ凝集阻害剤が報告されている⁴³⁻⁵¹。なかでも、フェニルジアゼニルベンゾチアゾール(PDB)骨格を母核とした 4-[2-(5-methoxy-2-benzothiazolyl)diazenyl]-*N,N*-dimethyl-benzenamine (Figure 1-3A)が高いタウ凝集阻害作用を有することが Honson らによって報告されている¹²。また、彼らは 72,455 種の化合物を用いたタウおよび A β に対する結合親和性に関するスクリーニングの結果、上記化合物が A β に比べてタウに対する高い選択的結合性を有することも報告している¹³。そこで、本研究では PDB 骨格を母核とした SPECT 用タウイメージングプローブの開発を計画した。すなわち、ベンゾチアゾールの 6 位に放射性ヨウ素-123 を導入し、フェニル基の 4 位に 3 種の置換基を導入した PDB 誘導体(Figure 1-3B)を設計・合成し、タウイメージングプローブとしての有用性を基礎的に評価した。なお、基礎的な実験に関しては、放射性ヨウ素-123 の代わりに、半減期が長く取り扱いの容易な放射性ヨウ素-125 を用いて行った。

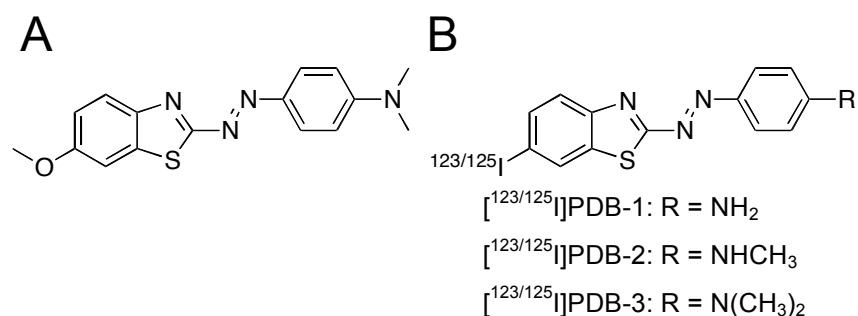


Figure 1-3. Chemical structure of a lead compound based on the PDB scaffold (A) and [^{123/125}I]PDB derivatives (B).

1.1.1. 実験方法

試薬・機器

試薬は、ナカライテスク株式会社、東京化成工業株式会社、和光純薬株式会社、Sigma Aldrich 社から購入した。中圧分取液体クロマトグラフィー装置には、山善株式会社製自動設定中圧分取液体クロマトグラフシステム(EPCLC-W-Prep 2XY; 送液ポンプ(ミキサー内蔵): No. 580D, 検出器(波長固定型): prep UV-254W, フラクションコレクター: FR-260)を使用し、HI-FLASH COLUMN (充填材: シリカゲル SiOH, ポアサイズ: 60 オングストローム, 粒子径: 40 μm , カラムサイズ: L あるいは 2L) および INJECT COLUMN (充填材: シリカゲル SiOH, ポアサイズ: 60 オングストローム, 粒子径: 40 μm , カラムサイズ: M あるいは L) を装着した。¹H-NMR には、日本電子株式会社製 JNM-AL 400 を用い、tetramethylsilane を内部標準物質として測定した。大気圧化学イオン化質量分析(APCI-MS)には、株式会社島津製作所製高速クロマトグラフ質量分析計 LCMS-2010 EV を用いて測定した。エレクトロスプレーイオン化質量分析(ESI-MS)には、株式会社島津製作所製高速クロマトグラフ質量分析計 LCMS-2020 を用いて測定した。電子イオン化質量分析(EI-MS)には、日本電子株式会社製 GCMate II を用いて測定した。A β ペプチド(Human, 1-42) [TFA form] は、株式会社ペプチド研究所より購入した。タウタンパク質は、大阪市立大学大学院医学研究科より提供された大腸菌より発現させた。蛍光波長の測定には、テカンジャパン株式会社製マイクロプレートリーダー インフィニット M200PRO および住友ベークライト株式会社製蛍光測定用黒色プレート S を使用した。¹²⁵I]NaI は、MP Biomedicals およびパーキンエルマー ジャパン株式会社より購入した。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)には、株式会社島津製作所製 LC-20AD あるいは LC-20AT を使用し、検出器として紫外スペクトル検出器 SPD-20A と日立アロカメディカル株式会社製シンチレーションサーベイメーター TCS-172 あるいはユニバーサル技研株式会社製 HPLC 用放射線検出器 US-3000T を使用した。逆相 HPLC 用カラムには、ナカライテスク株式会社製 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II 4.6 mm I.D. \times 150 mm を使用した。放射能の測定には、パーキンエルマー社製 Wallac WIZARD 1470 を用いて測定した。イメージングプレートは、富士フイルム株式会社製 BAS-SR2025 を使用した。イメージングプレートの読み込みには富士フイルム株式会社製バイオイメージングアナライザー BAS-5000 を使用し、解析には富士フイルム株式会社製 MultiGauge を使用した。蛍光染色像および免疫染色像は、株式会社キーエンス製 BZ-9000 を用いて観察した。AD 患者剖検脳組織切片は、京都大学大学院医学研究科および国立循環器病研究センター病院より提供されたものを使用した。健常者剖検脳組織切片は、BioChain より購入したものを使用した。

PDB 誘導体の合成

(E)-4-((6-Bromobenzo[d]thiazol-2-yl)diazenyl)aniline (1)

2-Amino-6-bromobenzothiazole (1.14 g, 5.00 mmol) を 50% 硫酸(30.0 mL) に溶解し、室温で 30 分間攪拌した。0 $^{\circ}\text{C}$ で亜硝酸ナトリウム(345 mg, 5.00 mmol) を少しずつ加え、そのまま 1 時間攪拌した。濃塩酸(3.00 mL) に溶解した aniline (465 μL , 5.00 mmol) を反応溶液に加えた後、精製水(27.0 mL) を加え、0 $^{\circ}\text{C}$ で 30 分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム

水溶液で中和してクロロホルム(200 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **1** を収量 400 mg (24.1%) で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.30 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.65 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 3.70 (s, 2H). MS (APCI) *m/z* 333 [MH⁺].

(E)-4-((6-Bromobenzo[*d*]thiazol-2-yl)diazenyl)-*N*-methylaniline (2)

2-Amino-6-bromobenzothiazole (1.14 g, 5.00 mmol)を 50%硫酸(30.0 mL)に溶解し、室温で 30 分間攪拌した。0 °C で亜硝酸ナトリウム(345 mg, 5.00 mmol)を少しずつ加え、そのまま 1 時間攪拌した。濃塩酸(3.00 mL)に溶解した *N*-methyl aniline (541 μL, 5.00 mmol)を加えた後、精製水(27.0 mL)を加え、0 °C で 30 分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和してクロロホルム(200 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **2** を収量 389 mg (22.4%) で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.29 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H), 7.77 (s, 1H), 7.64 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H), 2.89 (s, 3H). MS (APCI) *m/z* 347 [MH⁺].

(E)-4-((6-Bromobenzo[*d*]thiazol-2-yl)diazenyl)-*N,N*-dimethylaniline (3)

2-Amino-6-bromobenzothiazole (1.14 g, 5.00 mmol)を 50%硫酸(30.0 mL)に溶解し、室温で 30 分間攪拌した。0 °C で亜硝酸ナトリウム(345 mg, 5.00 mmol)を少しずつ加え、そのまま 1 時間攪拌した。濃塩酸(3.00 mL)に溶解した *N,N*-dimethyl aniline (638 μL, 5.00 mmol)を加えた後、精製水(27.0 mL)を加え、0 °C で 30 分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和してクロロホルム(200 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **3** を収量 99.6 mg (11.1%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.97-8.00 (m, 3H), 7.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.17 (s, 6H). MS (APCI) *m/z* 361 [MH⁺].

(E)-4-((6-(Tributylstannyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)diazenyl)aniline (4)

1 (89.7 mg, 0.260 mmol)を 1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (260 μL, 0.520 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(127 mg, 0.110 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加え、攪拌下、12 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **4** を収量 40.0 mg (28.4%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.93-7.96 (m, 3H), 7.57 (d, *J* = 8.0 Hz 1H), 6.74 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.41 (s, 2H), 0.88-1.57 (m, 27H). MS (APCI) *m/z* 545 [MH⁺].

(E)-N-Methyl-4-((6-(tributylstannyl)benzo[d]thiazol-2-yl)diazenyl)aniline (5)

2 (152 mg, 0.457 mmol)を1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (459 μ L, 0.915 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(139 mg, 0.120 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加え、攪拌下、12時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物**5**を収量59.0 mg (23.7%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.06 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.64 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 2.88 (s, 3H), 0.84-1.56 (m, 27H). MS (APCI) *m/z* 559 [MH⁺].

(E)-N,N-Dimethyl-4-((6-(tributylstannyl)benzo[d]thiazol-2-yl)diazenyl)aniline (6)

3 (100 mg, 0.280 mmol)を1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (281 μ L, 0.560 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(139 mg, 0.120 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加え、攪拌下、3時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物**6**を収量67.3 mg (42.0%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.99-8.03 (m, 3H), 7.92 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 3.18 (s, 6H), 0.88-1.68 (m, 27H). MS (APCI) *m/z* 573 [MH⁺].

(E)-4-((6-Iodobenzo[d]thiazol-2-yl)diazenyl)aniline (7: PDB-1)

4 (23.7 mg, 0.0430 mmol)をクロロホルム(10.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液(50.0 mg/mL, 5.00 mL)を加えて室温で20分間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物**7** (PDB-1)を収量10.0 mg (60.2%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.30 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.65 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 3.70 (s, 2H). MS (APCI) *m/z* 381 [MH⁺]. HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₃H₉IN₄S (M⁺) 379.9593, found 379.9598.

(E)-4-((6-Iodobenzo[d]thiazol-2-yl)diazenyl)-N-methylaniline (8: PDB-2)

5 (30.3 mg, 0.0542 mmol)をクロロホルム(10.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液(50.0 mg/mL, 5.00 mL)を加えて室温で20分間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物**8** (PDB-2)を収量15.0 mg (70.2%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.17 (s, 1H), 7.97 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 7.76-7.80 (m, 3H), 6.75 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.01 (s, 3H). MS (APCI) *m/z* 395 [MH⁺]. HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₄H₁₁IN₄S (M⁺) 393.9749, found 393.9754.

(E)-4-((6-Iodobenzo[d]thiazol-2-yl)diazenyl)-N,N-dimethylaniline (9: PDB-3)

6 (50.0 mg, 0.0870 mmol)をクロロホルム(10.0 mL)に溶解し, ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL, 5.00 mL)を加えて室温で 20 分間攪拌した. 飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後, クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸ナトリウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **9** (PDB-3) を収量 24.5 mg (70.2%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.17 (s, 1H), 8.00 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.75-7.78 (m, 3H), 6.77 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 3.18(s, 6H). MS (APCI) m/z 409 [MH^+]. HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{IN}_4\text{S}$ (M^+) 407.9906, found 407.9912.

^{125}I 標識 PDB 誘導体の合成

^{125}I 標識には, それぞれの非標識体に対応するトリブチルスズ標識前駆体を用い, スズ-ヨウ素交換反応により標識した. [^{125}I]NaI (3.7–7.4 MBq, 比放射能 81.4 TBq/mmol)を添加し, 1 N HCl (100 μL), 3% H_2O_2 (100 μL)に標識前駆体の酢酸エチル溶液(1.00 mg/mL, 200 μL)を加えた. 室温で 40 分間反応させた後, 還元剤として飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液(200 μL)を加え, 反応を停止した. 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(200 μL)を加え, 反応液を中和した後, 酢酸エチルで目的物を抽出した. 無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通して脱水した後, 溶媒を留去した. ^{125}I 標識したリガンドは, 対応する非放射性化合物を標品として逆相 HPLC (アセトニトリル/水 = 8/2)を用いて精製し, 酢酸エチルで目的物を抽出した. 無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後, 溶媒を留去した.

リコンビナントタウタンパク質凝集体の作製

Tau-441 発現ベクターを大腸菌(BL21)に導入後, 培養してモノマーのタウタンパク質を抽出, 精製した⁵². 精製したモノマーのタウタンパク質(1.00 mg/mL)にヘパリンナトリウム (0.100 mg/mL)を加え, 50.0 mM MES (pH 6.8, 100 mM NaCl, 0.500 mM EGTA)中において 37 °C で 3 日間インキュベートし, タウタンパク質凝集体を作製した. タウタンパク質凝集体の生成は SDS-PAGE および Thioflavin S (ThS)による蛍光飽和実験により確認した.

$\text{A}\beta_{1-42}$ 凝集体の作製

1 mM EDTA を含む 10 mM リン酸緩衝液(pH 7.4)を用い, $\text{A}\beta_{1-42}$ が 0.250 mg/mL の濃度になるように調製した. 37 °C で 42 時間インキュベートすることにより, $\text{A}\beta_{1-42}$ 凝集体溶液を作製した.

タウタンパク質および $\text{A}\beta_{1-42}$ 凝集体を用いた ThS の結合飽和実験

タウタンパク質凝集体(10.0 $\mu\text{g/mL}$)あるいは $\text{A}\beta_{1-42}$ 凝集体(10.0 $\mu\text{g/mL}$)と ThS (0.100-12.8 μM)の 10%EtOH 混合溶液を室温で 30 分間インキュベートした. 蛍光プレートリーダーを用いて ThS の蛍光強度を測定(タウタンパク質凝集体においては励起波長 440 nm, 蛍光波長 510 nm, $\text{A}\beta_{1-42}$ 凝集体においては励起波長 440 nm, 蛍光波長 480 nm における蛍光強度)し, GraphPad Prism (Graphpad Software Inc.)を用いて蛍光強度の飽和曲線より結合解離定数 (K_d 値)を求めた.

ThS を競合リガンドとした阻害実験

タウタンパク質凝集体(10.0 $\mu\text{g/mL}$)あるいは $\text{A}\beta_{1-42}$ 凝集体(10.0 $\mu\text{g/mL}$), ThS (1.50 μM), 各 PDB 誘導体(25.6 pM-10 μM)の 10% EtOH 混合溶液を室温で 30 分間インキュベートした。蛍光プレートリーダーを用いて ThS の蛍光強度を測定(タウ凝集体においては励起波長 440 nm, 蛍光波長 510 nm, $\text{A}\beta_{1-42}$ 凝集体においては励起波長 440 nm, 蛍光波長 480 nm における蛍光強度)し, GraphPad Prism (Graphpad Software Inc.)を用いて蛍光強度の阻害曲線より IC_{50} 値および結合阻害定数(K_i 値)を算出した。

AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* オートラジオグラフィ(ARG)

AD 患者剖検脳組織切片(93-year-old, female, 6 μm)を, xylene (15 min \times 2), 100% EtOH (1 min \times 2), 90% EtOH (1 min \times 1), 80% EtOH (1 min \times 1), 70% EtOH (1 min \times 1)および精製水(2.5 min \times 2)洗浄をすることで脱パラフィン処理を行った。 [^{125}I]9 ([^{125}I]PDB-3)の 50% EtOH 溶液(370 kBq/mL)を添加し, 室温で 2 時間インキュベートした。 50% EtOH 溶液(2 h \times 1)で洗浄後, イメージングプレートに 12 時間露光させ, バイオイメージングアナライザーにて分析を行った。 さらに, 隣接切片を用いてタウおよび $\text{A}\beta$ の免疫染色を行った。

AD 患者剖検脳組織切片を用いた免疫染色

In vitro ARG で使用した AD 患者剖検脳組織切片の隣接切片を用いて, タウおよび $\text{A}\beta$ の免疫染色を行った。 タウの免疫染色における 1 次抗体には, 抗リン酸化タウモノクローナル抗体(AT8, Thermo Scientific)を, $\text{A}\beta$ の免疫染色における 1 次抗体には, 抗 $\text{A}\beta_{1-42}$ モノクローナル抗体(BC05, WAKO)を用いた。 xylene (15 min \times 2), 100% EtOH (1 min \times 2), 90% EtOH (1 min \times 1), 80% EtOH (1 min \times 1), 70% EtOH (1 min \times 1)および精製水(2.5 min \times 2)洗浄をすることで脱パラフィン処理を行った。 抗原の賦活化には 0.01 M クエン酸緩衝液(pH 6.0)中におけるオートクレーブ(15 min)および蟻酸処理(5 min)を行った。 流水洗(5 min)した後, PBS-Tween 20 (2 min \times 1)で洗浄した。 1 次抗体溶液と室温で 1 時間反応させた後, PBS-Tween 20 (5 min \times 3)で洗浄した。 ヒストファイン シンプルステイン MAX-PO (MULTI) (ニチレイ バイオサイエンス)と室温で 30 分間反応させた後, PBS-Tween 20 (3 min \times 3)および TBS (5 min \times 1)で洗浄した。 最後に, DAB 溶液と室温で 1 分間反応させた。 精製水(1 min \times 1)で洗浄し, 反応を停止した。 脳組織切片を封入した後, 顕微鏡で観察した。

AD 患者剖検脳組織切片を用いた蛍光染色

AD 患者剖検脳組織切片を脱パラフィンした後, 9 (PDB-3)の 50% EtOH 溶液(200 μM)を添加し, 室温で 1 時間インキュベートした。 100% EtOH で洗浄後, 蛍光顕微鏡にて蛍光観察を行い, さらに同一切片を用いて ThS による蛍光染色を行った。

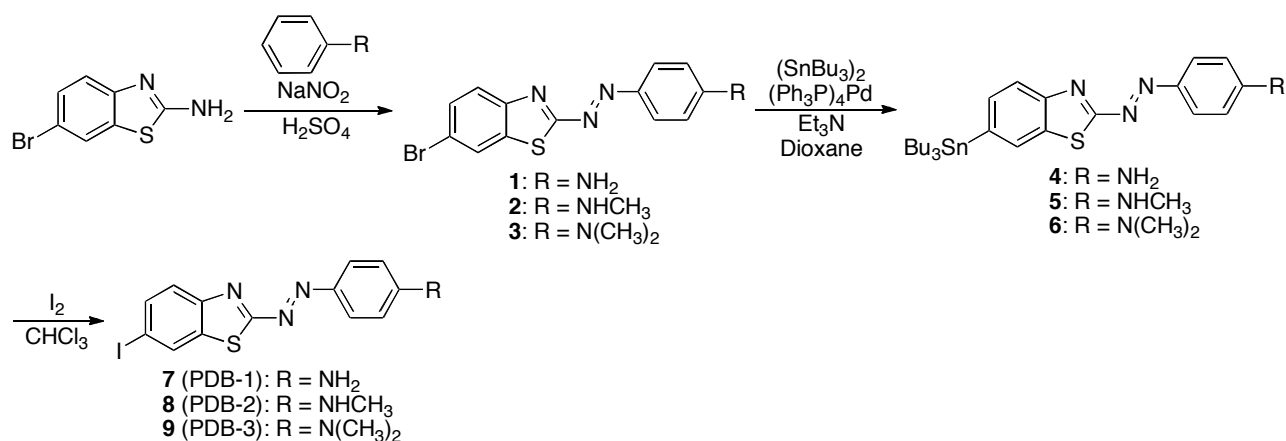
正常マウス体内放射能分布実験

^{125}I 標識 PDB 誘導体を 10% EtOH を含む生理食塩水で希釈した。 1 群 5 匹の 5 週齢 ddY 系雄性マウス(26-28 g)に, 1 匹あたり 8.51-11.1 kBq (100 μL)の ^{125}I 標識 PDB 誘導体を尾静脈より投与し, 2, 10, 30, 60 分後に屠殺, 採血後, 臓器を摘出し, 重量と放射能を測定した。

1.1.2. 結果と考察

PDB 誘導体の合成

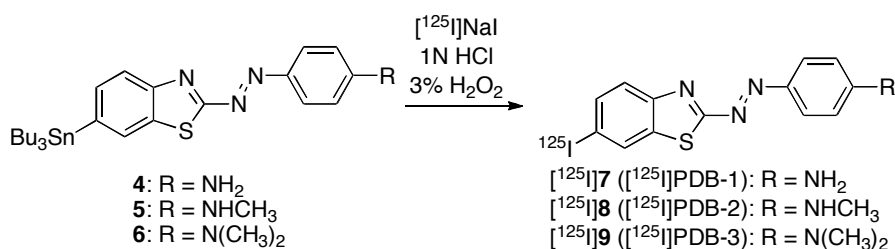
Scheme 1-1 に PDB 誘導体の合成経路を示す. 2-Amino-6-bromobenzothiazole を原料としたジアゾカップリング反応によって, 化合物 **1**, **2**, **3** を 11.1~24.1%の収率で得た. その後, ビストリブチルスズと反応させることによって標識前駆体である化合物 **4**, **5**, **6** を 23.7~42.0%の収率で得た. さらに, スズ-ヨウ素交換反応によって非標識体である化合物 **7** (PDB-1), **8** (PDB-2), **9** (PDB-3)を 60.2~70.2%の収率で得た.



Scheme 1-1. Synthetic route for PDB derivatives.

¹²⁵I 標識 PDB 誘導体の合成

Scheme 1-2 に ¹²⁵I 標識経路を示す. [¹²⁵I]**7** ([¹²⁵I]PDB-1), [¹²⁵I]**8** ([¹²⁵I]PDB-2), [¹²⁵I]**9** ([¹²⁵I]PDB-3)を放射化学的収率 30~40%, 放射化学的純度 99%以上で得た.



Scheme 1-2. Radiolabeling of PDB derivatives.

リコンビナントタウタンパク質凝集体の作製

大腸菌より発現させたモノマーのタウタンパク質を SDS PAGE により分析した結果, タウタンパク質の分子量と一致するバンドを検出した(Figure 1-4, lane 1). また, ヘパリンナトリウム共存下において室温で 3 日間インキュベートしたタウタンパク質を同様の方法を用いて分析した結果, タウタンパク質凝集体と考えられるバンドを確認した(Figure 1-4, lane 2).

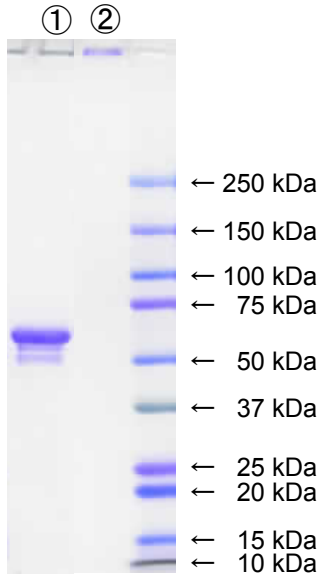


Figure 1-4. SDS PAGE of purified tau protein monomer (lane 1) and aggregates (lane 2).

タウタンパク質および A β ₁₋₄₂ 凝集体を用いた ThS の結合飽和実験

タウタンパク質凝集体および A β 凝集体の形成を確認するために、凝集体と結合することで蛍光を発する ThS を用いた、蛍光を指標とする結合飽和実験を行った。その結果、タウおよび A β 凝集体存在下において、ThS の蛍光強度が上昇した(Figure 1-5A and 5B)。得られた結合飽和曲線より算出したタウおよび A β 凝集体に対する ThS の K_d 値は、それぞれ 0.26 μ M および 1.0 μ M であった。

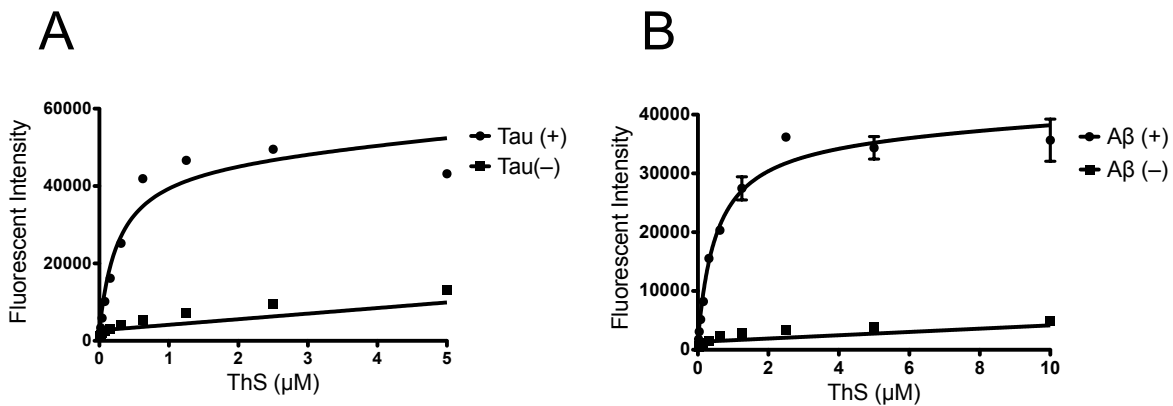


Figure 1-5. Saturation curves of fluorescent intensity of ThS for tau (A) and A β ₁₋₄₂ (B) aggregates.

ThS を競合リガンドとした阻害実験

各 PDB 誘導体のタウ凝集体に対する結合親和性を評価するために、ThS を競合リガンドとした阻害実験を行った。その結果、PDB 誘導体の添加量依存的に ThS の蛍光強度が減弱した(Figure 1-6A)。得られた阻害曲線より IC₅₀ 値を算出し、その値から K_i 値を算出した。 K_i 値の算出は Cheng-Prusoff equation⁵³: $K_i = IC_{50}/(1 + [L]/K_d)$ に基づいて算出した。7 (PDB-1), 8 (PDB-2), 9 (PDB-3) のタウに対する K_i 値はそれぞれ 7.27 nM, 1.37 nM, 0.48 nM であり、ジ

メチルアミノ基を有する **9** (PDB-3)がタウへの最も高い結合親和性を示した(Table 1-1). と
 ころで, AD 脳内における, もうひとつの異常蓄積物である A β は, タウと同様の β シート
 構造を形成することが知られている. したがって, タウに結合親和性を有する化合物は A β
 への結合親和性も示す可能性があるため, A β への結合親和性も同時に評価し(Figure 1-6B),
 タウへの結合親和性と比較した. **7** (PDB-1), **8** (PDB-2), **9** (PDB-3)の A β に対する K_i 値はそれ
 ぞれ 6.40 nM, 5.08 nM, 8.24 nM であった(Table 1-1). 競合阻害実験によって得られた K_i 値よ
 り, タウに対する選択的結合性を算出した結果, **9** (PDB-3)は A β に比べて 17.2 倍高いタウ
 に対する選択的結合性を有していることが示された(Table 1-1).

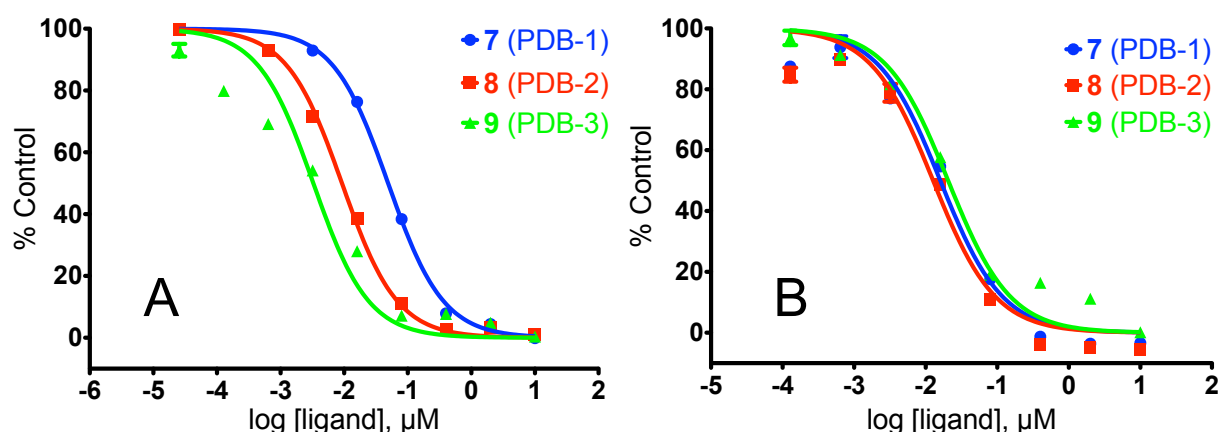


Figure 1-6. Inhibition curves for the binding of ThS to tau (A) and A β_{1-42} (B) aggregates (n = 3).

Table 1-1. Inhibition of the binding of ThS to tau and A β_{1-42} aggregates.

Compound	K_i (nM) ^a		K_i ratio of A β_{1-42} /Tau
	Tau	A β_{1-42}	
7 (PDB-1)	7.27 ± 0.09	6.40 ± 0.57	0.88
8 (PDB-2)	1.37 ± 0.02	5.08 ± 0.45	3.71
9 (PDB-3)	0.48 ± 0.01	8.24 ± 0.08	17.2

^aValues are the mean ± standard error for three independent experiments.

AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG

ThS を用いた競合阻害実験において, 最も高いタウへの結合親和性および A β との選択
 的結合性を示した **9** (PDB-3)に関して, AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG を行
 った. その結果, [¹²⁵I]**9** ([¹²⁵I]PDB-3)は, 脳組織の灰白質に顕著な放射能集積を示した(Figure
 1-7A). この[¹²⁵I]**9** ([¹²⁵I]PDB-3)の放射能集積と, その隣接切片を用いた A β およびタウの免
 疫染色画像(Figure 1-7B and 7C)を比較した結果, [¹²⁵I]**9** ([¹²⁵I]PDB-3)は A β に対する結合親和
 性を示したものの, 脳組織に蓄積したタウを描出したことが明らかとなった. また, 健常
 者脳組織切片には顕著な放射能集積は認められなかった(Figure 1-7D).

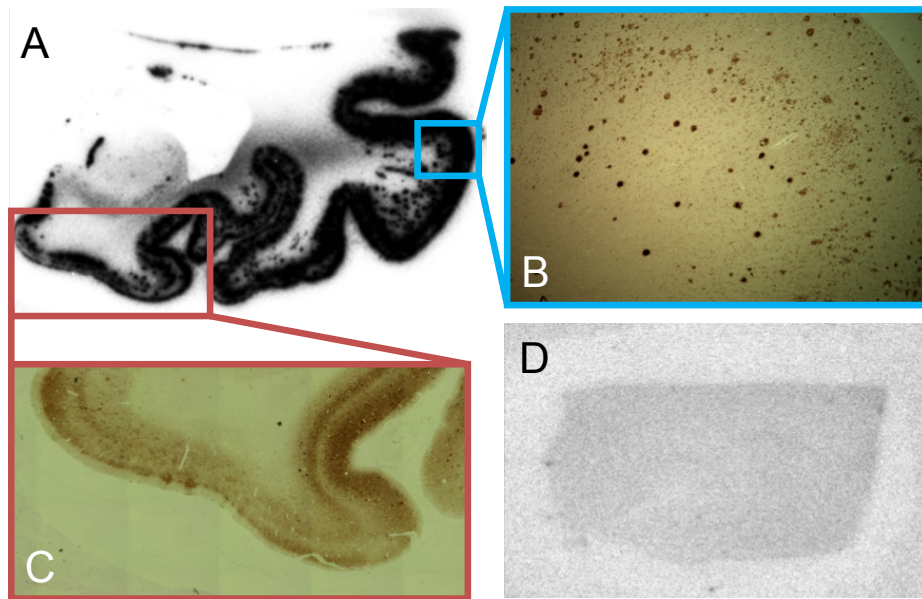


Figure 1-7. *In vitro* autoradiography of [^{125}I]**9** ([^{125}I]PDB-3) (A) and immunohistochemical staining with an antibody against $\text{A}\beta_{1-42}$ (B) and phosphorylated tau (C) in brain sections from an AD patient. *In vitro* autoradiography of [^{125}I]**9** ([^{125}I]PDB-3) in a healthy control brain section (D).

AD 患者剖検脳組織切片を用いた蛍光染色

脳組織に蓄積したタウへの結合親和性を詳細に検討するため、蛍光物質でもある **9** (PDB-3)を用いた蛍光染色を行った。その結果、脳組織切片上において多数の蛍光スポットが観察された(Figure 1-8A)。さらに、同一切片を用いて、タウの蛍光染色試薬でもある ThS による同様の蛍光染色実験を行った結果、**9** (PDB-3)によって得られた蛍光スポットと一致する蛍光染色画像が得られた(Figure 1-8B)。これらの結果より、**9** (PDB-3)が AD 脳内に蓄積したタウを明瞭に描出していることが明らかとなった。

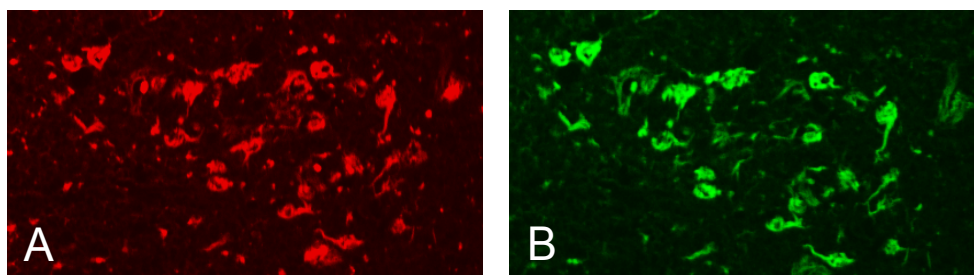


Figure 1-8. Fluorescent staining with **9** (PDB-3) (A) or ThS (B) in the entorhinal cortex of the AD brain sections.

正常マウス体内放射能分布実験

各 PDB 誘導体の脳移行性を評価するために、正常マウスを用いた体内放射能分布実験を行った。その結果を Table 1-2 および Figure 1-9 に示す。投与後 2 分における $[^{125}\text{I}]7$ ($[^{125}\text{I}]$ PDB-1), $[^{125}\text{I}]8$ ($[^{125}\text{I}]$ PDB-2), $[^{125}\text{I}]9$ ($[^{125}\text{I}]$ PDB-3)の脳内放射能($\text{Brain}_{2\text{ min}}$)は、それぞれ 0.96%ID/g, 1.03%ID/g, 0.94%ID/g となり、全ての PDB 誘導体がマウス脳へ移行していることが示された。正常マウスには標的となるタウ蓄積が存在しないため、タウイメージングプローブとして機能するためには、プローブが速やかに脳内から消失する必要がある。しかし、全ての PDB 誘導体において、経時的な脳内放射能滞留が認められた($\text{Brain}_{60\text{ min}} = 2.89 \sim 3.23\% \text{ID/g}$)。投与後 2 分および 60 分の脳内放射能比($\text{Brain}_{2\text{ min}/60\text{ min}}$)は、いずれの PDB 誘導体も低い値となったため($\text{Brain}_{2\text{ min}/60\text{ min}} = 0.30 \sim 0.33$)、脳内挙動の改善が必要であると考えられた。また、全ての PDB 誘導体は、投与後 2 分における腎臓への取り込み($\text{Kidney}_{2\text{ min}} = 9.54 \sim 17.4\% \text{ID/g}$)に比べて肝臓への取り込みの方が高く($\text{Liver}_{2\text{ min}} = 25.2 \sim 28.5\% \text{ID/g}$)、その後、徐々に肝臓から腸へ排泄される($\text{Intestine}_{60\text{ min}} = 8.10 \sim 22.9\% \text{ID/g}$)挙動を示した。なお、脱ヨウ素に伴う胃への集積は比較的低かったことから($\text{Stomach}_{60\text{ min}} = 2.28 \sim 6.34\% \text{ID}$)、生体内において著しい脱ヨウ素は起きていないことが示唆された。

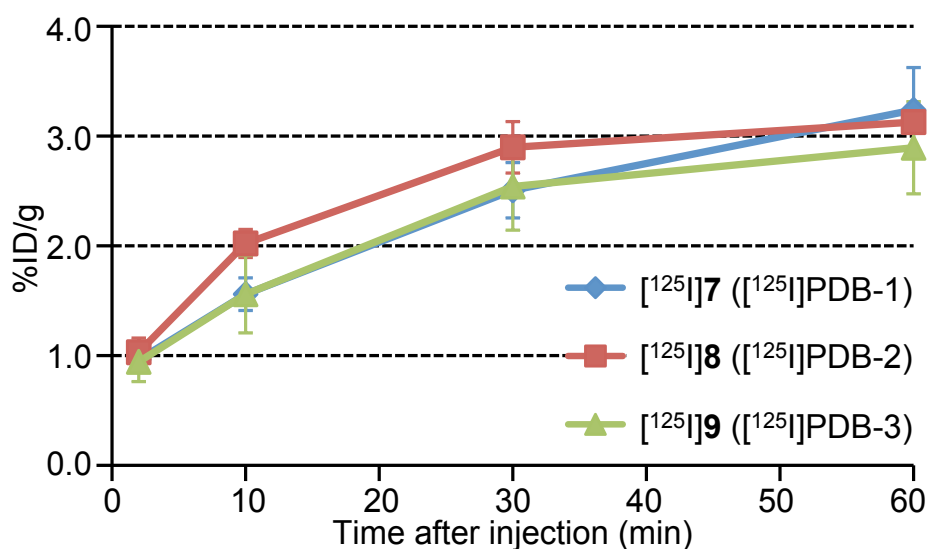


Figure 1-9. Comparison of brain uptake and washout of radioactivity after injection of ^{125}I labeled PDB derivatives into normal mice (n = 5).

Table 1-2. Biodistribution of radioactivity after injection of ¹²⁵I labeled PDB derivatives in normal mice^a

Tissue	Time after injection (min)			
	2	10	30	60
¹²⁵ I]7 ([¹²⁵ I]PDB-1)				
Blood	8.44 (1.10)	4.05 (0.41)	3.27 (0.15)	2.56 (0.26)
Liver	28.5 (2.51)	27.7 (0.51)	19.1 (1.69)	15.5 (1.32)
Kidney	9.54 (0.68)	10.4 (0.75)	9.70 (0.80)	8.88 (0.50)
Intestine	1.18 (0.41)	1.96 (0.60)	7.49 (1.35)	13.6 (3.53)
Spleen	5.78 (1.80)	8.54 (0.43)	8.07 (1.37)	7.84 (1.29)
Pancreas	3.36 (0.37)	5.25 (0.34)	5.22 (0.49)	4.04 (0.40)
Heart	12.8 (1.29)	7.28 (1.53)	5.32 (0.86)	3.58 (0.62)
Lung	18.8 (2.63)	10.0 (0.59)	6.56 (0.27)	5.23 (0.71)
Stomach ^b	0.76 (0.51)	1.28 (0.30)	2.28 (0.16)	3.69 (0.43)
Brain	0.96 (0.07)	1.56 (0.15)	2.50 (0.25)	3.23 (0.39)
¹²⁵ I]8 ([¹²⁵ I]PDB-2)				
Blood	6.04 (0.75)	3.64 (0.36)	2.40 (0.31)	1.83 (0.14)
Liver	27.2 (2.66)	23.6 (2.24)	18.6 (2.71)	13.2 (1.36)
Kidney	17.4 (2.68)	17.4 (1.95)	10.8 (1.34)	7.67 (1.37)
Intestine	2.11 (0.41)	6.27 (0.56)	17.1 (0.86)	22.9 (5.47)
Spleen	13.8 (5.09)	17.8 (1.25)	12.2 (1.51)	9.74 (1.26)
Pancreas	4.90 (2.33)	10.7 (2.32)	9.80 (1.64)	7.20 (0.67)
Heart	21.2 (1.28)	12.3 (1.31)	7.2 (2.71)	5.24 (1.36)
Lung	45.7 (4.89)	17.9 (1.56)	8.96 (3.57)	8.96 (1.03)
Stomach ^b	0.81 (0.12)	1.47 (0.20)	2.03 (0.51)	2.28 (0.41)
Brain	1.03 (0.13)	2.02 (0.13)	2.90 (0.23)	3.13 (0.10)
¹²⁵ I]9 ([¹²⁵ I]PDB-3)				
Blood	7.12 (1.11)	3.13 (2.20)	2.24 (1.88)	1.55 (1.88)
Liver	25.2 (3.23)	15.2 (4.31)	11.3 (4.85)	6.43 (1.43)
Kidney	11.1 (2.03)	11.3 (1.86)	8.04 (1.44)	9.53 (1.43)
Intestine	1.46 (0.33)	2.80 (0.72)	6.72 (0.76)	8.10 (0.90)
Spleen	5.70 (1.37)	5.92 (1.24)	4.93 (0.75)	3.15 (0.61)
Pancreas	3.04 (0.52)	4.96 (1.12)	5.15 (1.17)	8.11 (1.24)
Heart	12.6 (1.84)	7.15 (2.60)	4.25 (2.52)	4.13 (2.30)
Lung	29.3 (6.05)	11.7(7.63)	7.78 (7.64)	6.55 (8.09)
Stomach ^b	0.71 (0.09)	1.25 (0.11)	2.21 (0.70)	6.34 (6.61)
Brain	0.94 (0.18)	1.56 (0.35)	2.54 (0.40)	2.89 (0.42)

^aEach value represents the mean (SD) for 5 animals.

^bExpressed as % injected dose per organ.

1.1.3. 小括

本節において、タウ凝集阻害剤であるフェニルジアゼニルベンゾチアゾール(PDB)骨格を母核とした新規 SPECT 用タウイメージングプローブを設計・合成し、その有用性に関する基礎的評価を行い、以下に述べる結果を得た。

- (1) 置換基の異なる 3 種の PDB 誘導体を合成した。
- (2) リコンビナントタウおよび A β 凝集体を用いた結合親和性評価の結果、全ての PDB 誘導体はタウへの高い結合親和性を示した。特に、ジメチルアミノ基を有する **9** (PDB-3) は、3 種の PDB 誘導体の中で最も高いタウへの結合親和性および A β との選択的結合性を示した。
- (3) AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{9}$ ($[^{125}\text{I}]\text{PDB-3}$)は A β への結合性も示したものの、脳組織に蓄積したタウを描出した。
- (4) AD 患者剖検脳組織切片を用いた **9** (PDB-3)による蛍光染色実験の結果、ThS による蛍光染色画像と一致する、明瞭なタウ描出画像を得た。
- (5) 正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果、全ての $[^{125}\text{I}]\text{PDB}$ 誘導体は脳移行性を示したものの、経時的な脳内放射能滞留が認められた。

以上の結果より、A β との選択的結合性および脳内挙動を改善するための分子修飾が必要ではあるが、 $[^{123}\text{I}]\text{PDB-3}$ はタウへの高い結合親和性を有していることから新規 SPECT 用タウイメージングプローブとしての基礎的性質を有することが明らかとなった。

第 2 節

フェニルジアゼニルベンゾチアゾールを母核とした PET 用

タウイメーキングプローブの合成と基礎的評価

第 1 章第 1 節において、正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果、PDB 誘導体 (Figure 1-10A) は投与早期における脳移行性を示す一方で、経時的な脳内放射能滞留が認められた。この原因のひとつとして、PDB 誘導体の高い脂溶性が考えられた。理想的な脳内挙動を示すためには、脂溶性の指標である $\log P$ の値が 1~3 程度であることが望ましいことが報告されている⁵⁴。PDB-3 の $\log P$ 値は 3.84 であったことから、脳内挙動を改善するためには PDB 誘導体の脂溶性を低減する必要があると考えられた。そこで、本研究では PDB 誘導体の脳内挙動の改善を目的としたタウイメーキングプローブの開発を計画した。

著者の所属研究室では、脂溶性を高める原因となったと考えられる分子中のヨウ素原子を、PET 用核種であるフッ素原子に置換することによって脳内挙動を改善することに成功している^{55, 56}。そこで、簡便かつ脂溶性の増加を伴わずに、分子中にフッ素原子を導入する方法として報告されている fluoro-pegylation (FPEG)⁵⁷⁻⁵⁹ を導入した FPPDB 誘導体 (Figure 1-10B) を新たに設計・合成し、第 1 章第 1 節と同様の評価を行い、PET 用タウイメーキングプローブとしての有用性に関する基礎的評価を行った。

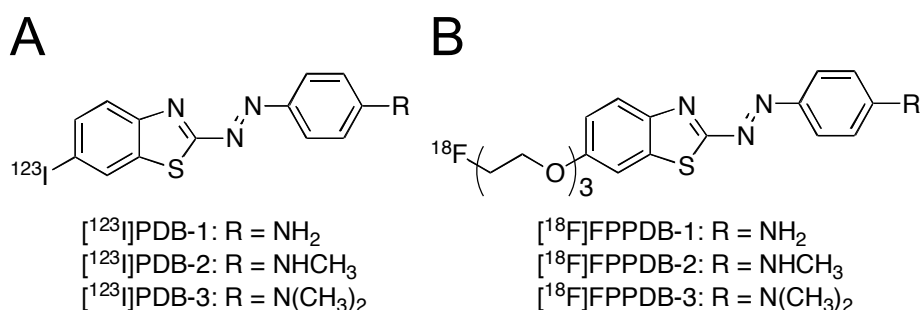


Figure 1-10. Chemical structure of $[^{123}\text{I}]\text{PDB}$ (A) and $[^{18}\text{F}]\text{FPPDB}$ (B) derivatives.

1.2.1. 実験方法

試薬・機器

第1章第1節と同じ試薬・機器を使用した。また、放射能の測定にはパーキンエルマー株式会社製 Wallac WIZARD 1480 を使用した。

FPPDB 誘導体の合成

2-(2-(2-Fluoroethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate (10)

Triethylene glycol bis(*p*-toluenesulfonate) (9.17 g, 20.0 mmol)をテトラヒドロフラン(60.0 mL)に溶解し、テトラブチルアンモニウムフルオリド(24.0 mL, 1 M テトラヒドロフラン溶液)を加えて、攪拌下、14.5 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **10** を収量 2.98 g (48.7%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 4.60 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.48 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.17 (t, *J* = 4.1 Hz, 2H), 3.62-3.76 (m, 8H), 2.45 (s, 3H)。

1-(2-(2-(2-Fluoroethoxy)ethoxy)ethoxy)-4-nitrobenzene (11)

4-Nitrophenol (695 mg, 5.00 mmol)をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解し、**10** (1.53 g, 5.00 mmol)および炭酸カリウム(13.8 g, 10.0 mmol)を加えた後、105 °C で 20 時間攪拌した。反応溶液を室温に戻した後、酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣をクロロホルム/メタノール(20/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **11** を収量 1.25 g (91.3%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.20 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 6.99 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H), 4.63 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.51 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.23 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.91 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.72-3.80 (m, 6H)。

4-(2-(2-(2-Fluoroethoxy)ethoxy)ethoxy)aniline (12)

アルゴン雰囲気下、**11** (1.25 g, 4.56 mmol)をジクロロメタン(30.0 mL)に溶解した。Pd/C (12.5 g)を加えた後、慎重に容器内を水素ガスで置換し、室温で 8.5 時間激しく攪拌した。セライト濾過により不溶物を除去し、メタノールで洗浄した。溶媒を減圧留去し、目的物 **12** を収量 1.03 g (92.5%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.76 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.63 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 4.62 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.50 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.06 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.71-3.83 (m, 8H), 3.45 (s, 2H)。

6-(2-(2-(2-Fluoroethoxy)ethoxy)ethoxy)benzo[*d*]thiazol-2-amine (13)

チオシアン酸カリウム(2.05 g, 21.1 mmol)を酢酸(5.00 mL)に溶解し、**12**の酢酸溶液(523 mg/mL, 2.00 mL)を滴下した。さらに、臭素の酢酸溶液(131 μL/mL, 2.00 mL)を滴下して室温で 23.5 時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液およびクロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱

水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物**13**を収量230 mg (18.2%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.44 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.93 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 6.07 (s, 2H), 4.62 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.50 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.15 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.87 (t, *J* = 4.9 Hz, 2H), 3.71-3.81 (m, 6H).

(E)-4-((6-(2-(2-(2-Fluoroethoxy)ethoxy)ethoxy)benzo[*d*]thiazol-2-yl)diazenyl)aniline

(14: FPPDB-1)

13 (300 mg, 1.00 mmol)を50%硫酸(10.0 mL)に溶解し、室温で30分間攪拌した。0 °Cで亜硝酸ナトリウム(69.0 mg, 1.00 mmol)を少しずつ加え、そのまま1時間攪拌した。濃塩酸(1.00 mL)に溶解した aniline (91.0 μL, 1.00 mmol)を反応溶液に加えた後、精製水(27.0 mL)を加え、0 °Cで30分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、クロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **14** (FPPDB-1)を収量 35.0 mg (8.66%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.88 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.60 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.12 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 6.89 (s, 2H), 6.73 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 4.57 (t, *J* = 3.8 Hz, 1H), 4.45 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.20 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.79 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.58-3.71 (m, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₉H₂₁FN₄O₃S (M⁺) 404.1318, found 404.1324.

(E)-4-((6-(2-(2-(2-Fluoroethoxy)ethoxy)ethoxy)benzo[*d*]thiazol-2-yl)diazenyl)-*N*-methylaniline

(15: FPPDB-2)

13 (210 mg, 0.700 mmol)を50%硫酸(10.0 mL)に溶解し、室温で30分間攪拌した。0 °Cで亜硝酸ナトリウム(48.3 mg, 0.700 mmol)を少しずつ加え、そのまま1時間攪拌した。濃塩酸(1.00 mL)に溶解した *N*-methyl aniline (76.0 μL, 0.700 mmol)を反応溶液に加えた後、精製水(10.0 mL)を加え、0 °Cで30分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、クロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **15** (FPPDB-2)を収量 120 mg (41.0%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.83-7.86 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 8.9, 2.7 Hz, 1H), 6.72 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 4.57 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.45 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.23 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.89 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.68-3.74 (m, 6H), 2.93 (s, 3H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₂₀H₂₃FN₄O₃S (M⁺) 418.1475, found 418.1472.

(E)-4-((6-(2-(2-(2-Fluoroethoxy)ethoxy)ethoxy)benzo[*d*]thiazol-2-yl)diazenyl)-*N,N*-dimethylaniline

(16: FPPDB-3)

13 (300 mg, 1.00 mmol)を50%硫酸(10.0 mL)に溶解し、室温で30分間攪拌した。0 °Cで亜硝酸ナトリウム(69.0 mg, 1.00 mmol)を少しずつ加え、そのまま1時間攪拌した。濃塩酸(1.00

mL)に溶解した *N,N*-dimethyl aniline (127 μ L, 1.00 mmol)を反応溶液に加えた後、精製水(10.0 mL)を加え、0 °C で 30 分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、クロロホルム(200 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **16** (FPPDB-3)を収量 110 mg (50.9%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.89 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.13 (dd, *J* = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 4.57 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.45 (t, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.21 (t, *J* = 4.4 Hz, 2H), 3.80 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.59-3.71 (m, 6H), 3.30 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₂₁H₂₅FN₄O₃S (M⁺) 432.1631, found 432.1635.

2-(2-(2-(4-Aminophenoxy)ethoxy)ethoxy)ethan-1-ol (17)

4-Aminophenol (2.18 g, 20.0 mmol)をジメチルホルムアミド(10.0 mL)に溶解し、2-[2-(2-chloroethoxy)ethoxy]ethanol (2.91 mL, 20.0 mmol)および炭酸カリウム(2.76 g, 20.0 mmol)を加えた後、105 °C で 20 時間攪拌した。反応溶液を室温に戻した後、酢酸エチル(100 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣をクロロホルム/メタノール(20/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **17** を収量 1.80 g (37.3%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.73 (dd, *J* = 6.6, 2.3 Hz, 2H), 6.61 (dd, *J* = 6.6, 2.3 Hz, 2H), 4.03 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.80 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.68-3.72 (m, 6H), 3.59 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.31 (s, 2H).

2-(2-(2-((2-Aminobenzo[*d*]thiazol-6-yl)oxy)ethoxy)ethoxy)ethan-1-ol (18)

チオシアン酸カリウム(1.78 g, 18.4 mmol)を酢酸(5.00 mL)に溶解し、**17** の酢酸溶液(887 mg/mL, 1.00 mL)を滴下した。さらに、臭素の酢酸溶液(228 μ L/mL, 2.00 mL)を滴下して室温で 12 時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液およびクロロホルム(100 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣をクロロホルム/メタノール(20/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **18** を収量 483 mg (44.0%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.39 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.90 (dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, 1H), 5.76 (s, 2H), 4.12 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.84 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 3.76 (t, *J* = 4.1 Hz, 2H), 3.70-3.72 (m, 4H), 3.62 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H).

(*E*)-4-((6-((2,2,3,3-Tetramethyl-4,7,10-trioxa-3-siladodecan-12-yl)oxy)benzo[*d*]thiazol-2-yl)diazene)aniline (19)

18 (875 mg, 2.94 mmol)を 50%硫酸(20.0 mL)に溶解し、室温で 30 分間攪拌した。0 °C で亜硝酸ナトリウム(203 mg, 2.94 mmol)を少しずつ加え、そのまま 1 時間攪拌した。濃塩酸(2.00 mL)に溶解した aniline (268 μ L, 2.94 mmol)を反応溶液に加えた後、精製水(10.0 mL)を加え、0 °C で 30 分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、クロロホルム(100 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで

脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(4/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **19** の中間体 **19'** を収量 123 mg (10.4%) で得た。**19'** (123 mg, 0.310 mmol) をテトラヒドロフラン 20.0 mL に溶解し、室温で 1 時間攪拌した。精製水を加えて反応を停止した後、酢酸エチル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(4/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **19** を収量 94.0 mg (58.8%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.76 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.04 (dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 4.13 (t, *J* = 4.4 Hz, 2H), 3.80 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.60-3.70 (m, 6H), 3.49 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 0.82 (s, 9H), 0.01 (s, 6H).

(*E*)-*N*-Methyl-4-((6-((2,2,3,3-tetramethyl-4,7,10-trioxa-3-siladodecan-12-yl)oxy)benzo[*d*]thiazol-2-yl)diazenyl)aniline (**20**)

18 (488 mg, 1.64 mmol) を 50%硫酸(10.0 mL)に溶解し、室温で 30 分間攪拌した。0 °C で亜硝酸ナトリウム(113 mg, 1.64 mmol)を少しずつ加え、そのまま 1 時間攪拌した。濃塩酸(2.00 mL)に溶解した *N*-methyl aniline (177 μL, 1.64 mmol)を反応溶液に加えた後、精製水(10.0 mL)を加え、0 °C で 30 分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、クロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣をクロロホルム/メタノール(10/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **20** の中間体 **20'** を収量 545 mg (79.9%) で得た。**20'** (545 mg, 1.31 mmol) をテトラヒドロフラン 10.0 mL に溶解し、室温で 1 時間攪拌した。精製水を加えて反応を停止した後、酢酸エチル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(4/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **20** を収量 125 mg (18.0%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.83-7.86 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.13 (dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, 1H), 6.72 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H), 4.23 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.89 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.67-3.77 (m, 6H), 3.56 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 2.93 (s, 3H), 0.89 (s, 9H), 0.06 (s, 6H).

Di-*tert*-butyl 4-[6-[8-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-3,6-dioxaoctanoxy]benzothiazol-2-yl]diazenyl]phenylimidodicarbonate (**21**)

19 (160 mg, 0.310 mmol) をジクロロメタン(10.0 mL)に溶解し、DMAP (触媒量)、トリエチルアミン(215 μL, 1.55 mmol)および(Boc)₂O (338 mg, 1.55 mmol)を加え、室温で 26.5 時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **21** を収量 172 mg (77.6%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.99 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.95 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.16 (dd, *J* = 8.9, 2.5 Hz, 1H), 4.20 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.84 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 3.61-3.69 (m, 6H), 3.49 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 1.38 (s, 18H), 0.82 (s, 9H),

0.01 (s, 6H).

tert-Butyl (*E*)-methyl(4-(((6-((2,2,3,3-tetramethyl-4,7,10-trioxa-3-siladodecan-12-yl)oxy)benzo[*d*]thiazol-2-yl)diazonyl)phenyl)carbamate (**22**)

20 (125 mg, 0.240 mmol)をジクロロメタン(20.0 mL)に溶解し、DMAP (触媒量), トリエチルアミン(33.0 μ L, 0.240 mmol)および(Boc)₂O (103 mg, 0.470 mmol)を加え、室温で3.5時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **22** を収量 151 mg (85.9%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.99-8.03 (m, 3H), 7.55-7.57 (m, 3H), 7.22 (dd, J = 9.2, 2.5 Hz, 1H), 4.26 (t, J = 4.6 Hz, 2H), 3.90 (t, J = 4.6 Hz, 2H), 3.68-3.76 (m, 6H), 3.56 (t, J = 5.3 Hz, 2H), 3.35 (s, 3H), 1.50 (s, 9H), 0.88 (s, 9H), 0.06 (s, 6H).

Di-*tert*-butyl 4-[6-[8-(4-methylbenzenesulfonyloxy)-3,6-dioxaoctanoxy]benzothiazol-2-yl]diazonyl]phenylimidodicarbonate (**23**)

21 (100 mg, 0.140 mmol)をテトラヒドロフラン(10.0 mL)に溶解し、テトラブチルアンモニウムフルオリド(170 μ L, 1 M テトラヒドロフラン溶液)を加えて室温で6時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣をピリジン(10.0 mL)に溶解し、*p*-toluenesulfonyl chloride (54.0 mg, 0.280 mmol)を加えて室温で6時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **23** を収量 85.0 mg (80.2%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.04-8.07 (m, 3H), 7.80 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.32-7.35 (m, 5H), 7.16 (dd, J = 9.2, 2.5 Hz, 1H), 4.16-4.24 (m, 4H), 3.69-3.73 (m, 4H), 3.63-3.65 (m, 2H), 3.89 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.44 (s, 18H).

(*E*)-2-(2-(2-((2-((4-((*tert*-Butoxycarbonyl)(methyl)amino)phenyl)diazonyl)benzo[*d*]thiazol-6-yl)oxy)ethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate (**24**)

22 (130 mg, 0.210 mmol)をテトラヒドロフラン(12.0 mL)に溶解し、テトラブチルアンモニウムフルオリド(250 μ L, 1 M テトラヒドロフラン溶液)を加えて室温で2時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣をピリジン(10.0 mL)に溶解し、*p*-toluenesulfonyl chloride (38.0 mg, 0.200 mmol)を加えて室温で6時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **24** を収量 20.0 mg (29.9%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01-8.05 (m, 3H), 7.80 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.48 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.32-7.33 (m, 3H), 7.14 (dd, J = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 4.22 (t, J = 4.3 Hz, 2H), 4.17 (t, J = 4.6 Hz, 2H),

3.89 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.69-3.73 (m, 4H), 3.63-3.65 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 1.51 (s, 9H).

(E)-2-(2-(2-((2-((4-(Dimethylamino)phenyl)diazenyl)benzo[d]thiazol-6-yl)oxy)ethoxy)ethoxy)ethan-1-ol (25)

18 (298 mg, 1.00 mmol)を 50%硫酸(10.0 mL)に溶解し、室温で 30 分間攪拌した。0 °C で亜硝酸ナトリウム(69.0 mg, 1.00 mmol)を少しずつ加え、そのまま 1 時間攪拌した。濃塩酸(1.00 mL)に溶解した *N,N*-dimethyl aniline (127 μ L, 1.00 mmol)を反応溶液に加えた後、精製水(10.0 mL)を加え、0 °C で 30 分間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、クロロホルム(200 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **25** を収量 219 mg (50.9%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.94-8.00 (m, 4H), 7.08 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 4.20-4.21 (m, 2H), 3.88-3.90 (m, 2H), 3.70-3.77 (m, 8H), 3.12 (s, 6H). MS (ESI) m/z 431 [MH⁺].

(E)-2-(2-(2-((2-((4-(Dimethylamino)phenyl)diazenyl)benzo[d]thiazol-6-yl)oxy)ethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate (26)

25 (219 mg, 0.509 mmol)をピリジン(10.0 mL)に溶解し、*p*-toluenesulfonyl chloride (193 mg, 1.02 mmol)を加えて室温で 6 時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **26** を収量 134 mg (45.0%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.93-7.99 (m, 3H), 7.79 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.26-7.32 (m, 3H), 7.07 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 4.16-4.21 (m, 4H), 3.87 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H), 3.67-3.72 (m, 4H), 3.63-3.64 (m, 2H), 3.15 (s, 6H), 2.42 (s, 3H). MS (ESI) m/z 585 [MH⁺].

[¹⁸F]標識 FPPDB-1 および FPPDB-2 の合成

¹⁸F を陰イオン交換カラム Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge に保持させた後、K₂CO₃水溶液(33.0 mM, 300 μ L)によって溶出した。MeCN (300 μ L)に Kryptofix2.2.2. (10.0 mg, 26.6 μ mol)および ¹⁸F 含有 K₂CO₃ 水溶液(7.4 GBq)を加え、アルゴン気流下で 120 °C に加熱して共沸脱水した。この共沸脱水操作を、さらに二回繰り返した。残渣を MeCN (200 μ L)に溶解し、各標識前駆体(1.00 mg)が入ったバイアルに加え、100 °C で 10 分間加熱した。1 N HCl (100 μ L)を加え、さらに 10 分間加熱した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した後、酢酸エチルで分液し、有機層を減圧留去した。反応溶液を移動相に溶解させてフィルターに通した後、逆相 HPLC(アセトニトリル/水 = 5/5)を用いて精製した。

[¹⁸F]標識 FPPDB-3 の合成

¹⁸F を陰イオン交換カラム Sep-Pak Accell Plus QMA Plus Light Cartridge に保持させた後、

K₂CO₃水溶液(33.0 mM, 300 μL)によって溶出した. MeCN (300 μL)に Kryptofix2.2.2. (10.0 mg, 26.6 μmol)および ¹⁸F 含有 K₂CO₃ 水溶液(7.4 GBq)を加え, アルゴン気流下で 120 °C に加熱して共沸脱水した. この共沸脱水操作を, さらに二回繰り返した. 残渣を MeCN (200 μL)に溶解し, 各標識前駆体(1.00 mg)が入ったバイアルに加え, 100 °C で 10 分間加熱した. 反応溶液を移動相に溶解させてフィルターに通した後, 逆相 HPLC(アセトニトリル/水 = 6/4)を用いて精製した.

リコンビナントタウタンパク凝集体および Aβ₁₋₄₂凝集体の作製

第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

タウタンパク質および Aβ₁₋₄₂凝集体を用いた ThS の結合飽和実験

第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

ThS を競合リガンドとした阻害実験

第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG

[¹⁸F]16 ([¹⁸F]FPPDB-3)の 10% EtOH 溶液 (370 kBq/mL)を調製し, 第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

AD 患者剖検脳組織切片を用いた免疫染色

第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

AD 患者脳組織切片を用いた蛍光染色

第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

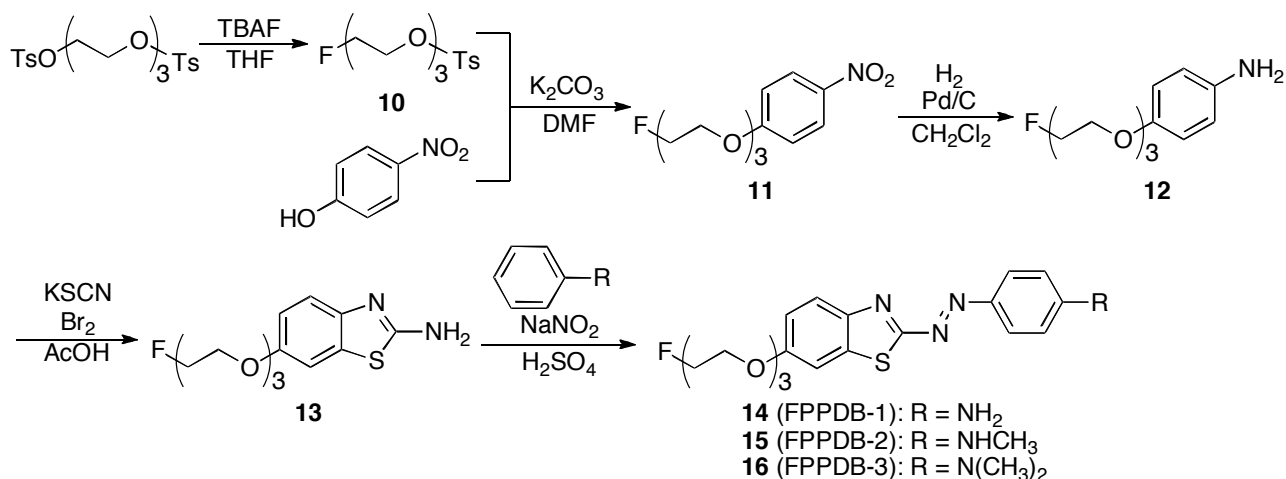
正常マウス体内放射能分布実験

第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

1.2.2. 結果と考察

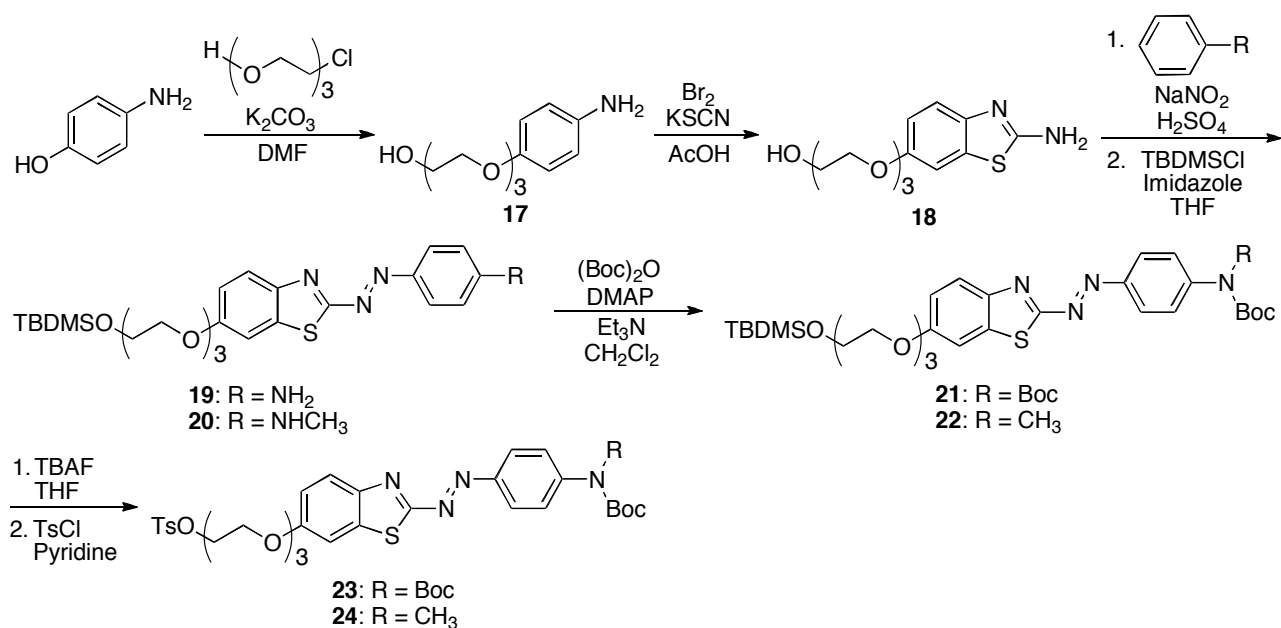
FPPDB 誘導体の合成

Scheme 1-3 に FPPDB 誘導体の合成経路を示す。4 段階の反応で、化合物 **13** を 7.49% の収率で得た。 **13** を原料としたジアゾカップリング反応によって、化合物 **14** (FPPDB-1), **15** (FPPDB-2), **16** (FPPDB-3) を 8.66~50.9% の収率で得た。



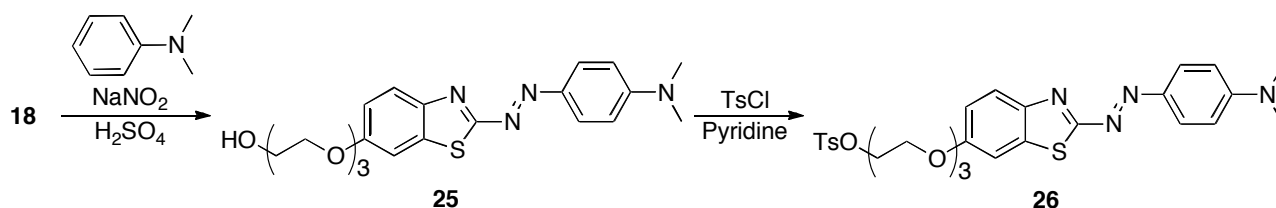
Scheme 1-3. Synthetic route for FPPDB derivatives.

Scheme 1-4 に **14** (FPPDB-1) および **15** (FPPDB-2) の標識前駆体の合成経路を示す。5 段階の反応で、**14** (FPPDB-1) および **15** (FPPDB-2) の標識前駆体を総収率 6.01 および 0.769% で得た。



Scheme 1-4. Synthetic route for the precursors of FPPDB-1 and 2.

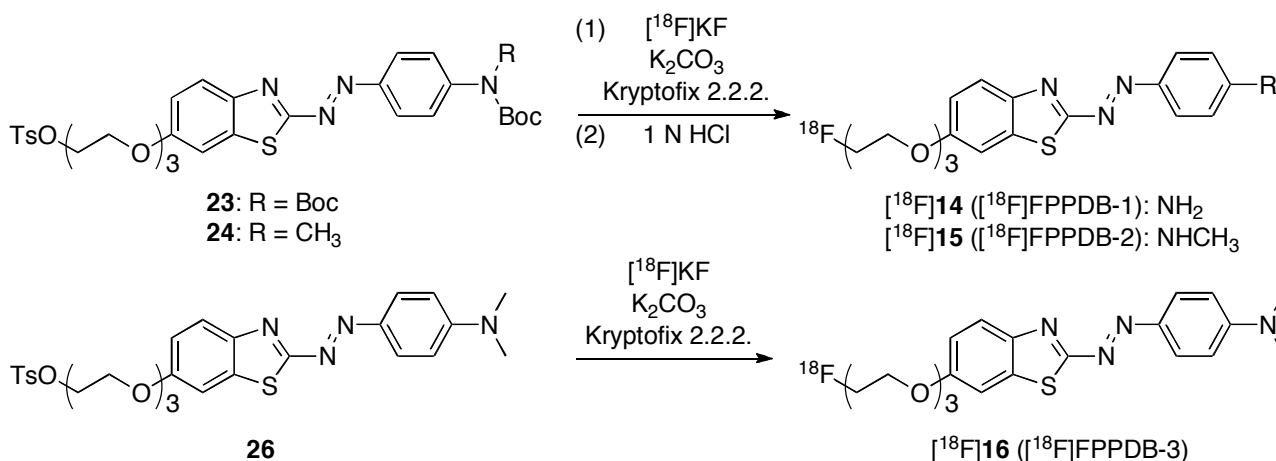
Scheme 1-5 に **16** (FPPDB-3)の標識前駆体の合成経路を示す. 4 段階の反応で, **16** (FPPDB-3)の標識前駆体を総収率 3.76%で得た.



Scheme 1-5. Synthetic route for the precursor of FPPDB-3.

[¹⁸F]標識 FPPDB 誘導体の合成

Scheme 1-6 に ¹⁸F 標識経路を示す. [¹⁸F]**14** ([¹⁸F]FPPDB-1), [¹⁸F]**15** ([¹⁸F]FPPDB-2), [¹⁸F]**16** ([¹⁸F]FPPDB-3)を放射化学的収率 22~35%, 放射化学的純度 99%以上で得た.



Scheme 1-6. Radiolabeling of FPPDB derivatives.

ThS を競合リガンドとした阻害実験

各 FPPDB 誘導体のタウ凝集体に対する結合親和性を評価するために, ThS を競合リガンドとした阻害実験を行った. その結果, FPPDB 誘導体の添加量依存的に ThS の蛍光強度が減弱した(Figure 1-11A). 得られた阻害曲線より **14** (FPPDB-1), **15** (FPPDB-2), **16** (FPPDB-3)のタウに対する K_i 値を算出した. その結果, FPPDB 誘導体のタウに対する K_i 値はそれぞれ 190 nM, 52.3 nM, 13.0 nM となり(Table 1-3), PDB 誘導体と同様, ジメチルアミノ基を有する FPPDB-3 が最も高いタウへの結合親和性を示した. しかし, **16** (FPPDB-3)は, **9** (PDB-3) ($K_i = 0.48$ nM for tau)に比べてタウに対する結合親和性が低下したことから, ベンゾチアゾールの 6 位に導入する置換基がタウに対する結合親和性に影響している可能性が示された. **14** (FPPDB-1), **15** (FPPDB-2), **16** (FPPDB-3)の A β に対する K_i 値は, それぞれ 285 nM, 43.8 nM, 20.0 nM となった. FPPDB 誘導体のタウに対する選択的結合性は, PDB 誘導体と同様, ジ

メチルアミノ基を有する **16** (FPPDB-3)が 3 種の FPPDB 誘導体の中で最も高かった(Table 1-3).

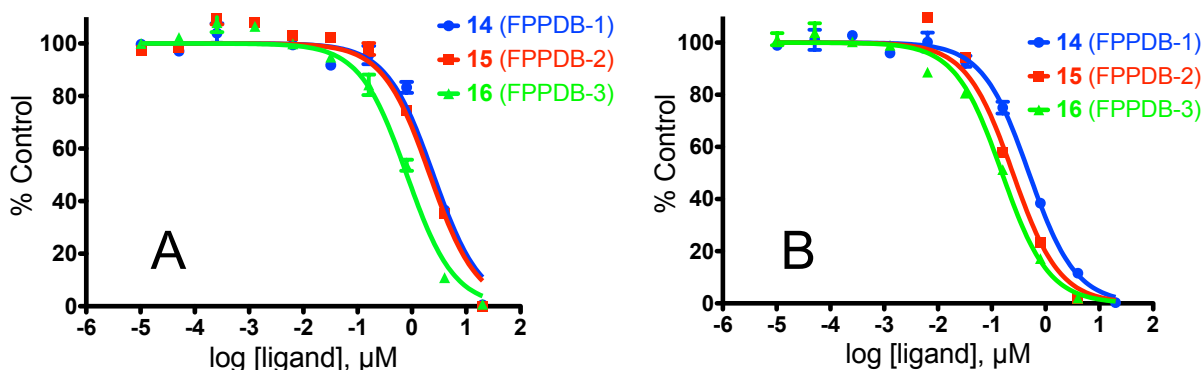


Figure 1-11. Inhibition curves for the binding of ThS to tau (A) and Aβ₁₋₄₂ (B) aggregates.

Table 1-3. Inhibition of the binding of ThS to tau and Aβ₁₋₄₂ aggregates.

Compound	K_i (nM) ^a		K_i ratio of Aβ ₁₋₄₂ /Tau
	Tau	Aβ ₁₋₄₂	
14 (FPPDB-1)	190 ± 15.0	285 ± 14.3	1.50
15 (FPPDB-2)	52.3 ± 1.24	43.8 ± 1.28	0.92
16 (FPPDB-3)	13.0 ± 0.12	20.0 ± 1.02	1.54

^aValues are the mean ± standard error for three independent experiments.

AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG

リコンビナントタウ凝集体を用いた ThS の競合阻害実験において、最も高いタウへの結合親和性および Aβ との選択的結合性を示した **16** (FPPDB-3)に関して、AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG を行った。その結果、¹⁸F]**16** (¹⁸F]FPPDB-3)は、¹²⁵I]**9** (¹²⁵I]PDB-3)と同様、脳組織の灰白質に顕著な放射能集積を示した(Figure 1-12A)。¹⁸F]**16** (¹⁸F]FPPDB-3)の放射能集積とその隣接切片を用いたタウおよび Aβ の免疫染色を比較した結果、¹⁸F]**16** (¹⁸F]FPPDB-3)は Aβ に対して結合親和性を示したものの(Figure 1-12B)、脳組織に蓄積したタウを描出していることが明らかとなった(Figure 1-12C)。ThS を競合リガンドとした阻害実験において、**16** (FPPDB-3)のタウに対する結合親和性は、**9** (PDB-3)に比べて低下したことが示唆されたが、*in vitro* ARG の結果より、**16** (FPPDB-3)は脳組織に蓄積したタウを描出するだけの十分な結合親和性を維持していることが示された。しかし、**9** (PDB-3)と同様、Aβ への結合親和性も有していることから、タウへの選択的結合性を向上するための分子修飾が必要であると考えられた。また、健常者脳組織切片には顕著な放射能集積は認められなかった(Figure 1-12D)。

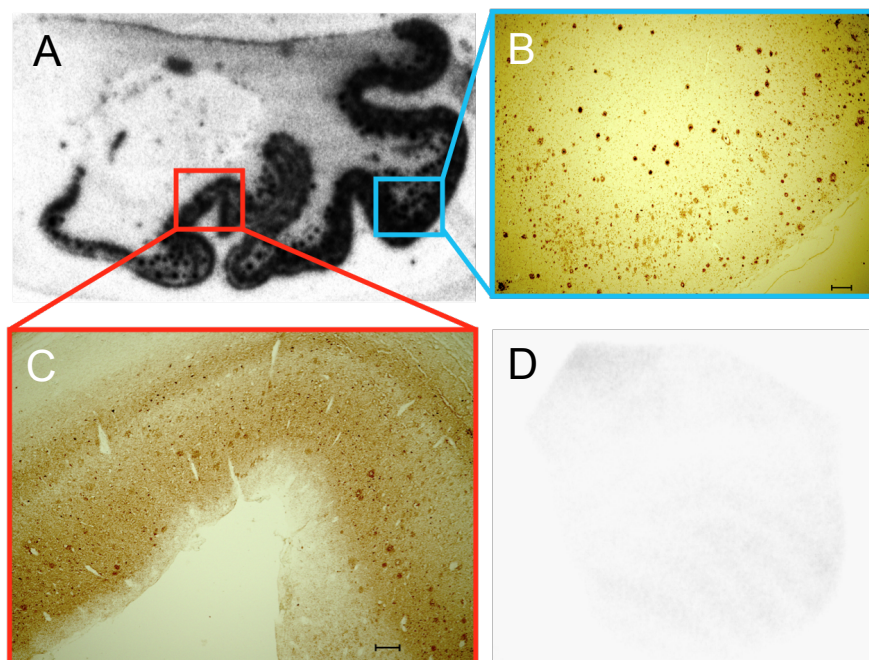


Figure 1-12. *In vitro* autoradiography of [¹⁸F]16 ([¹⁸F]FPPDB-3) (A) and immunohistochemical staining with an antibody against A β ₁₋₄₂ (B) and phosphorylated tau (C) in brain sections from the AD patient. *In vitro* autoradiography of [¹⁸F]16 ([¹⁸F]FPPDB-3) in a healthy control brain section (D).

AD 患者脳組織切片を用いた蛍光染色

脳組織切片上に蓄積したタウへの結合親和性を詳細に検討するため、**16** (FPPDB-3)を用いた蛍光染色を行った。その結果、**9** (PDB-3)と同様、総組織切片上において多数の蛍光スポットが観察された(Figure 1-13A)。さらに、同一切片を用いて、ThS による蛍光染色実験を行った結果、**16** (FPPDB-3)によって得られたスポットと一致する蛍光染色画像が得られたことから(Figure 1-13B), **16** (FPPDB-3)が AD 脳内に蓄積したタウを明瞭に描出していることが示された。

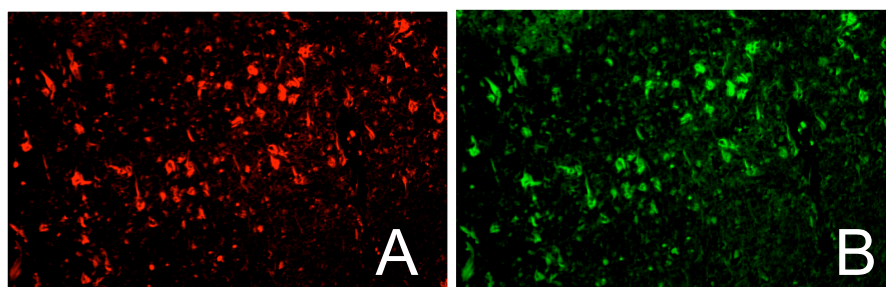


Figure 1-13. Fluorescent staining with **16** (FPPDB-3) (A) and ThS (B) in the entorhinal cortex of the AD brain sections.

正常マウス体内放射能分布実験

各 FPPDB 誘導体の脳移行性を評価するために、正常マウスを用いた体内放射能分布実験を行った。その結果を Table 1-4 および Figure 1-14 に示す。投与後 2 分における¹⁸F]14 ([¹⁸F]FPPDB-1), [¹⁸F]15 ([¹⁸F]FPPDB-2), [¹⁸F]16 ([¹⁸F]FPPDB-3)の脳内放射能(Brain_{2 min})は、それぞれ 4.16%ID/g, 3.71%ID/g, 4.28%ID/g となり、投与早期における脳への移行性は PDB 誘導体(Brain_{2 min} = 0.94~1.03%ID/g)に比べて高く、さらに、全ての FPPDB 誘導体は、その後の脳からの消失が認められた(Brain_{60 min} = 2.36~2.53%ID/g)。投与後 2 分および 60 分の脳内放射能比(Brain_{2 min/60 min})を比較した結果、PDB 誘導体の値(Brain_{2 min/60 min} = 0.30~0.33)に比べて、FPPDB 誘導体の値 (Brain_{2 min/60 min} = 1.51~1.76) の方が高かった。以上の結果より、PDB 誘導体において問題となっていた脳内放射能滞留が FPPDB 誘導体において改善されたことが示された。9 (PDB-3)の log P 値が 3.84 であったのに対し、16 (FPPDB-3)の log P 値は 2.05 に低減していたことから、この脳内挙動の改善にはプローブの脂溶性の低減が寄与していることが示唆された。また、全ての FPPDB 誘導体は、PDB 誘導体と同様、投与後 2 分における腎臓への取り込み(Kidney_{2 min} = 11.2~13.9%ID/g)に比べて肝臓への取り込みの方が高く(Liver_{2 min} = 18.0~20.2%ID/g)、その後、徐々に肝臓から腸へ排泄される(Intestine_{60 min} = 12.7~22.9%ID/g)挙動を示した。なお、脱フッ素に伴う骨への集積は比較的低かったことから、生体内において著しい脱フッ素は起きていないことが示された。

Table 1-4. Biodistribution of radioactivity after injection of ¹⁸F labeled FPPDB derivatives in normal mice^a

Tissue	Time after injection (min)			
	2	10	30	60
[¹⁸F]14 ([¹⁸F]FPPDB-1)				
Blood	3.15 (0.24)	2.92 (0.28)	3.41 (0.23)	3.10 (0.26)
Liver	19.3 (2.63)	23.4 (4.53)	17.7 (4.43)	16.1 (4.45)
Kidney	11.2 (1.42)	8.81 (1.13)	8.05 (1.28)	4.74 (1.90)
Intestine	4.32 (0.62)	6.07 (1.50)	8.70 (1.56)	12.7 (1.40)
Spleen	4.25 (0.48)	4.68 (0.74)	3.80 (0.59)	2.95 (0.43)
Pancreas	6.73 (0.44)	6.17 (0.41)	4.47 (0.34)	3.09 (0.54)
Heart	7.24 (1.23)	5.56 (0.92)	4.61 (1.30)	6.81 (1.41)
Lung	7.33 (1.66)	6.41 (1.46)	5.27 (1.39)	13.1 (1.51)
Stomach ^b	1.63 (0.24)	2.23 (0.34)	3.88 (0.50)	5.17 (0.50)
Brain	4.16 (0.29)	4.23 (0.24)	3.14 (0.20)	2.36 (0.19)
Bone	1.86 (0.48)	2.02 (0.46)	2.06 (0.43)	2.12 (0.32)
[¹⁸F]15 ([¹⁸F]FPPDB-2)				
Blood	3.45 (0.28)	2.48 (0.40)	2.25 (0.49)	2.64 (0.48)
Liver	18.0 (1.68)	22.1 (2.93)	15.4 (2.90)	10.7 (3.79)
Kidney	12.1 (1.12)	7.89 (2.02)	5.09 (2.19)	4.28 (1.88)

Intestine	3.20 (0.31)	8.30 (2.87)	17.3 (3.22)	21.8 (2.92)
Spleen	3.09 (0.43)	3.90 (0.62)	3.17 (0.61)	2.63 (0.46)
Pancreas	5.48 (0.54)	4.49 (0.67)	3.09 (0.69)	2.63 (0.59)
Heart	7.84 (0.58)	4.30 (1.57)	3.44 (1.80)	3.06 (1.60)
Lung	6.78 (0.60)	4.73 (1.04)	3.74 (1.17)	3.24 (1.07)
Stomach ^b	1.76 (0.48)	3.36 (0.93)	7.79 (1.67)	6.82 (1.53)
Brain	3.71 (0.42)	4.15 (0.54)	2.97 (0.50)	2.45 (0.55)
Bone	1.64 (0.47)	1.69 (0.45)	1.61 (0.36)	1.96 (0.42)
[¹⁸F]16 ([¹⁸F]FPPDB-3)				
Blood	3.04 (0.40)	1.83 (0.82)	2.19 (0.75)	2.68 (0.63)
Liver	20.2 (1.19)	19.3 (1.00)	13.1 (1.45)	9.32 (1.51)
Kidney	13.9 (1.50)	7.67 (3.42)	5.08 (3.67)	4.00 (3.75)
Intestine	2.94 (0.38)	4.99 (0.95)	14.4 (1.44)	22.9 (1.38)
Spleen	3.47 (0.80)	3.41 (0.80)	2.71 (0.80)	2.14 (0.76)
Pancreas	5.41 (0.69)	4.01 (1.03)	2.87 (0.63)	2.18 (0.67)
Heart	7.45 (0.84)	4.14 (1.87)	3.05 (1.64)	2.62 (1.45)
Lung	13.5 (3.51)	4.37 (4.60)	3.36 (3.70)	3.59 (3.18)
Stomach ^b	1.11 (0.07)	1.42 (0.35)	2.69 (0.44)	3.37 (1.26)
Brain	4.28 (0.45)	4.26 (0.37)	3.47 (0.54)	2.53 (0.54)
Bone	1.88 (0.47)	1.82 (0.50)	1.82 (0.49)	1.92 (0.33)

^aEach value represents the mean (SD) for 5 animals.

^bExpressed as % injected dose per organ.

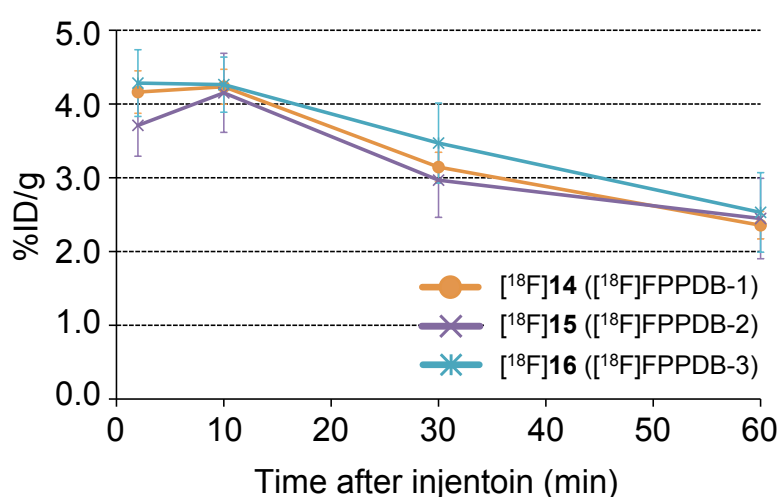


Figure 1-14. Comparison of brain uptake and washout of radioactivity after injection of ¹⁸F labeled FPPDB derivatives into normal mice (n = 5).

1.2.3. 小括

本節において、PDB 誘導体の脳内挙動の改善を目的とした新規 PET 用タウイメージングプローブを設計・合成し、その有用性に関する基礎的評価を行い、以下に述べる結果を得た。

- (1) 置換基の異なる 3 種の FPPDB 誘導体を合成した。
- (2) リコンビナントタウおよび A β 凝集体を用いた結合親和性評価の結果、PDB 誘導体と同様、ジメチルアミノ基を有する **16** (FPPDB-3)は、3 種の誘導体の中で最も高いタウへの結合親和性および A β との選択的結合性を示した。
- (3) AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、 $[^{18}\text{F}]\mathbf{16}$ ($[^{18}\text{F}]\text{FPPDB-3}$)は A β への結合性も示したものの、脳組織に蓄積したタウを描出した。
- (4) AD 患者剖検脳組織切片を用いた **16** (FPPDB-3)による蛍光染色実験の結果、ThS による蛍光染色画像と一致する、明瞭なタウ描出画像を得た。
- (5) 正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果、全ての $[^{18}\text{F}]\text{FPPDB}$ 誘導体は $[^{125}\text{I}]\text{PDB}$ 誘導体に比べて Log P 値が低減し、それに伴う脳内挙動が認められた。

以上の結果より、PDB 誘導体と同様、タウに対する選択的結合性を向上させるための分子修飾が必要ではあるが、 $[^{123}\text{I}]\text{PDB-3}$ に比べて脳内挙動が改善した $[^{18}\text{F}]\text{FPPDB-3}$ が、新規 PET 用タウイメージングプローブとしての基礎的性質を有することが明らかとなった。

第 2 章

タウに対する選択的結合性の向上を目的とした芳香族ヘテロ環含有

スチリル誘導体の構造活性相関に関する検討

第 1 章第 1 節において、PDB-3 (Figure 2-1A)は AD 患者剖検脳組織に蓄積したタウに対する高い結合親和性を示すとともに、 $A\beta$ への結合親和性も示したため、タウに対する選択的結合性の向上が必要であると考えられた。また、PDB-3 は正常マウスにおける経時的な脳内放射能滞留が認められたため、脳内挙動を改善する必要があると考えられた。そこで本研究では、これらの課題を解決することを目的とし、PDB-3 をリード化合物とした構造活性相関に関する検討を行うことを計画した。

まず、芳香族ヘテロ環構造がタウに対する結合親和性に与える影響を検証するために、異なる芳香族ヘテロ環構造を有する化合物を設計した(Figure 2-1B, a highlighted moiety in blue)。また、既存の $A\beta$ イメージングプローブの多くは、置換基としてアミノ基を有しているため^{5, 7, 14-19}、 $A\beta$ との選択的結合性の向上を期待してジメチルアミノ基を除いた化合物も設計した(Figure 2-1B, a highlighted moiety in red)。さらに、著者の所属研究室では、分子中のフェニル基をピリジル基に変更することによる脳内挙動の改善に成功している^{60, 61}。そこで、PDB 誘導体の脳内挙動を改善するために、フェニル基をピリジル基に変更した化合物も同時に設計した(Figure 2-1B, a highlighted moiety in pink)。また、一般的に毒性が高いことが知られているアゾ基⁶²をエテニル基に変更した(Figure 2-1B, a highlighted moiety in green)。

以上の分子設計をもとにして、ベンゾチアゾールをはじめとする異なるヘテロ環構造を有する、計 20 種類のスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体(Figure 2-2)を設計・合成し、タウイメージングプローブとしての有用性を評価した。また、第 1 章において、タウへの結合親和性を評価するために使用したリコンビナントタウは、AD 患者脳組織から抽出したタウと比べて、サイズおよび構造が異なることが報告されている⁶³。これらの相違は、ヒト脳組織に存在する 6 種類のタウのアイソフォームのうち、リコンビナントタウを構成するものは 1 種類であるのに対し、AD 患者脳組織より抽出したタウは 6 種類全てのアイソフォームがそれぞれ異なる割合で凝集体を形成していることに起因すると考えられた²¹。したがって、本研究ではタウへの結合親和性をより明確に評価するために、AD 患者脳組織切片を用いた結合親和性評価を基盤とした実験を行うこととした。

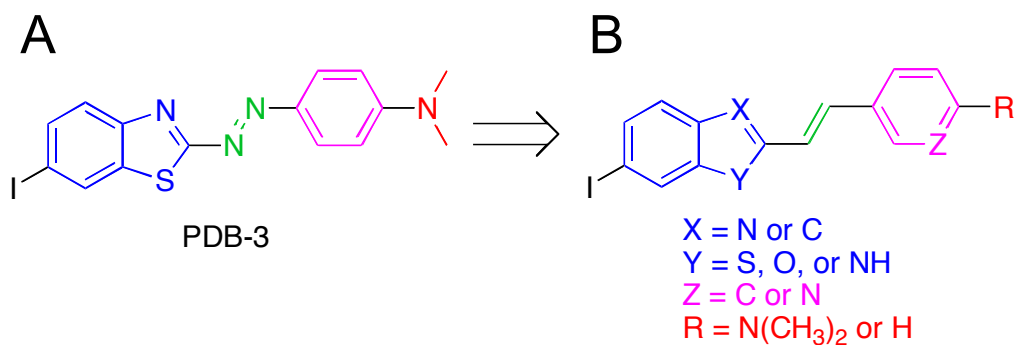


Figure 2-1. Design strategy for styryl and 3-vinyl pyridine derivatives.

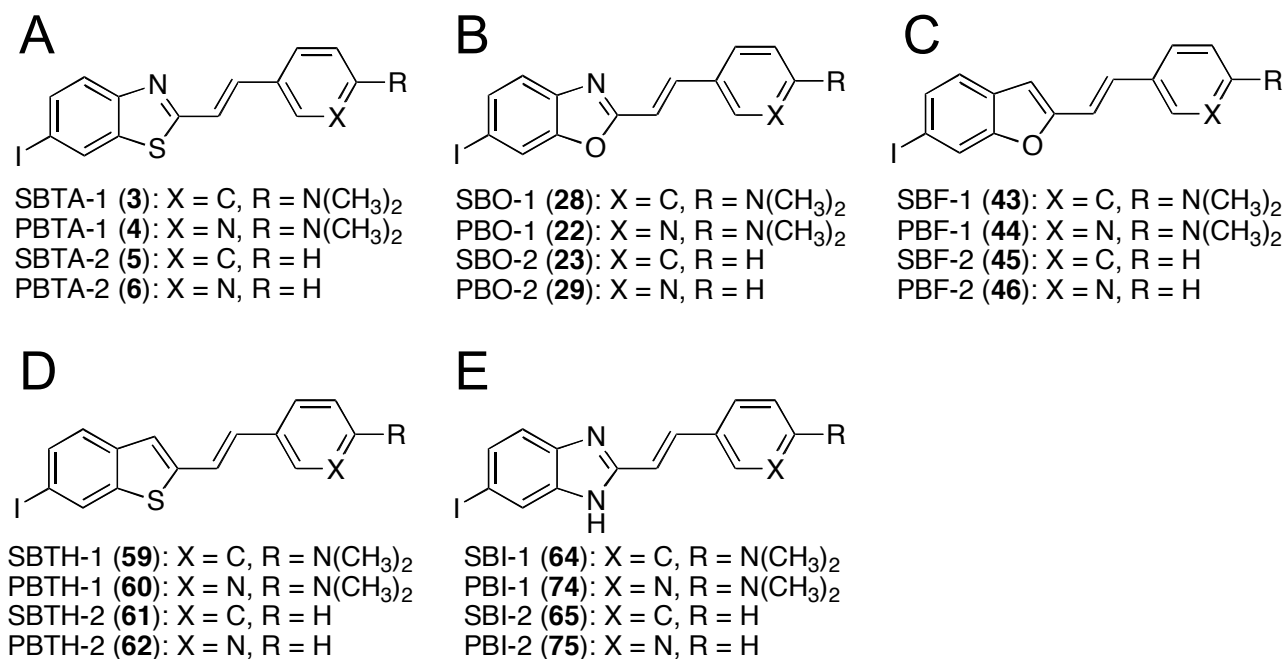


Figure 2-2. Chemical structure of styryl and 3-vinyl pyridine derivatives.

2.1. 実験方法

試薬・機器

第1章第1節と同じ試薬・機器を使用した。逆相 HPLC 用カラムには、ナカライテスク株式会社製 COSMOSIL 5C₁₈-AR-II あるいは MS-II 4.6 mm I.D.×150 mm を使用した。

SBTA および PBTA 誘導体の合成

N-(2,4-Diiodophenyl)acetamide (1)

2,4-Diiodoaniline (1.00 g, 2.90 mmol) をジクロロメタン(10.0 mL) に溶解し、無水酢酸(274 μ L, 2.90 mmol) を加えて室温で 12 時間攪拌した。反応終了後、精製水(50.0 mL) を加えてクロロホルム(50.0 mL×2) で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1) を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **1** を収量 786 mg (70.0%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (s, 1H), 8.01 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 2.23 (s, 3H).

6-Iodo-2-methylbenzo[d]thiazole (2)

1 (876 mg, 2.20 mmol) をジメチルホルムアミド (4.00 mL) に溶解し、硫化ナトリウム九水和物(1.59 g, 6.60 mmol) およびヨウ化銅(I) (42.0 mg, 0.220 mmol) を加えた後、80 °C で 12 時間攪拌した。反応溶液を室温に戻し、濃塩酸(2.00 mL) を加えて 80 °C で 12 時間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(20.0 mL) を加えて酢酸エチル(50.0 mL×2) で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4) を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **2** を収量 302 mg (50.0%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.16 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.73 (dd, J = 8.7, 1.7 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 2.82 (s, 3H). MS (ESI) m/z 276.0 [MH⁺].

(E)-4-(2-(6-Iodobenzo[d]thiazol-2-yl)vinyl)-N,N-dimethylaniline (3: SBTA-1)

2 (275 mg, 1.00 mmol) をメタノール(5.00 mL) に溶解し、*p*-dimethylaminobenzaldehyde (149 mg, 1.00 mmol) および水酸化ナトリウム(120 mg, 3.00 mmol) を加えて、攪拌下、24 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **3** (SBTA-1) を収量 203 mg (50.0%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.14 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.71 (dd, J = 8.7, 1.6 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 3.04 (s, 6H). HRMS (EI) m/z calcd for C₁₇H₁₅IN₂S (M⁺) 406.0001, found 405.9998.

(E)-5-(2-(6-Iodobenzo[d]thiazol-2-yl)vinyl)-N,N-dimethylpyridin-2-amine (4: PBTA-1)

2 (275 mg, 1.00 mmol) をメタノール(5.00 mL) に溶解し、6-(dimethylamino)nicotinaldehyde (74.6 mg, 0.500 mmol) および水酸化ナトリウム(60.0 mg, 1.50 mmol) を加えて、攪拌下、24 時

間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **4** (PBTA-1)を収量 60.0 mg (29.5%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.31 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.70-7.73 (m, 2H), 7.66 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 6.56 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.16 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₆H₁₄IN₃S (M⁺) 406.9953, found 406.9955.

(E)-6-Iodo-2-styrylbenzo[d]thiazole (5: SBTA-2)

2 (50.0 mg, 0.180 mmol)をメタノール(5.00 mL)に溶解し、benzaldehyde (18.6 μL, 0.180 mmol)および水酸化ナトリウム(21.8 mg, 0.550 mmol)を加えて、攪拌下、23 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **5** (SBTA-2)を収量 10.0 mg (15.2%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.55 (s, 1H), 7.75-7.82 (m, 4H), 7.70 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H), 7.39-7.47 (m, 3H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₅H₁₀INS (M⁺) 362.9579, found 362.9586.

(E)-6-Iodo-2-(2-(pyridin-3-yl)vinyl)benzo[d]thiazole (6: PBTA-2)

2 (50.0 mg, 0.180 mmol)をメタノール(5.00 mL)に溶解し、nicotinaldehyde (17.0 μL, 0.180 mmol)および水酸化ナトリウム(7.27 mg, 0.180 mmol)を加えて、攪拌下、10 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **6** (PBTA-2)を収量 30.0 mg (45.3%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.94 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.57 (d, *J* = 1.7 Hz, 2H), 8.24 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.71-7.84 (m, 4H), 7.47 (dd, *J* = 8.1, 4.9 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₄H₉IN₂S (M⁺) 363.9531, found 363.9536.

N-(4-Bromo-2-iodophenyl)acetamide (7)

4-Bromo-2-iodoaniline (1.49 g, 5.00 mmol)をジクロロメタン(15.0 mL)に溶解し、無水酢酸 (473 μL, 5.00 mmol)を加えて室温で 12 時間攪拌した。反応終了後、精製水(50.0 mL)を加えてクロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **7** を収量 1.50 g (88.5%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.12 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 2.24 (s, 3H).

6-Bromo-2-methylbenzo[d]thiazole (8)

7 (678 mg, 2.00 mmol)をジメチルホルムアミド (4.00 mL)に溶解し、硫化ナトリウム九水和物(721 mg, 6.00 mmol)およびヨウ化銅(I) (38.0 mg, 0.200 mmol)を加えた後、80 °Cで 8 時間攪拌した。反応溶液を室温に戻し、濃塩酸(1.60 mL)を加えて 80 °Cで 12 時間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(20.0 mL)を加えて酢酸エチル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラ

フィーに付し、目的物 **8** を収量 134 mg (29.5%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.54 (dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 2.82 (s, 3H). MS (ESI) *m/z* 228.0 [MH⁺].

(E)-4-(2-(6-Bromobenzo[*d*]thiazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylaniline (**9**)

8 (227 mg, 1.00 mmol) をメタノール(5.00 mL) に溶解し、*p*-dimethylaminobenzaldehyde (149 mg, 1.00 mmol) および水酸化ナトリウム(120 mg, 3.00 mmol) を加えて、攪拌下、24 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **9** を収量 179 mg (50.0%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.94 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.52 (dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.71 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 3.03 (s, 6H). MS (ESI) *m/z* 359.1 [MH⁺].

(E)-5-(2-(6-Bromobenzo[*d*]thiazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylpyridin-2-amine (**10**)

8 (227 mg, 1.00 mmol) をメタノール(5.00 mL) に溶解し、6-(dimethylamino)nicotinaldehyde (150 mg, 1.00 mmol) および水酸化ナトリウム(120 mg, 3.00 mmol) を加えて、攪拌下、3 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **10** を収量 150 mg (41.8%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.30 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.70 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* = 8.7, 2.0 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.55 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.15 (s, 6H). MS (ESI) *m/z* 360.1 [MH⁺].

(E)-6-Bromo-2-styrylbenzo[*d*]thiazole (**11**)

8 (114 mg, 0.500 mmol) をメタノール(5.00 mL) に溶解し、benzaldehyde (51.0 μL, 0.500 mmol) および水酸化ナトリウム(60.0 mg, 1.50 mmol) を加えて、攪拌下、14 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **11** を収量 50.0 mg (31.8%) で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.41 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H), 7.65-7.68 (m, 1H), 7.63 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H), 7.39-7.47 (m, 3H). MS (ESI) *m/z* 316.1 [MH⁺].

(E)-6-Bromo-2-(2-(pyridin-3-yl)vinyl)benzo[*d*]thiazole (**12**)

8 (114 mg, 0.500 mmol) をメタノール(5.00 mL) に溶解し、nicotinaldehyde (46.9 μL, 0.500 mmol) および水酸化ナトリウム(60.0 mg, 1.50 mmol) を加えて、攪拌下、10 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **12** を収量 49.0 mg (31.0%) で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.95 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.57 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 8.44 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.67-7.70 (m, 1H), 7.48 (dd, *J* = 7.8, 4.6 Hz, 1H). MS (ESI) *m/z* 317.1 [MH⁺].

(E)-*N,N*-Dimethyl-4-(2-(6-(tributylstannyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)vinyl)aniline (**13**)

9 (130 mg, 0.360 mmol)を1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (364 μ L, 0.730 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(180 mg, 0.116 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて、攪拌下、8時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **13** を収量 104 mg (50.0%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.89-7.91 (m, 2H), 7.50 (dd, J = 8.1, 0.9 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 3.02 (s, 6H), 0.87-1.59 (m, 27H). MS (ESI) m/z 571.4 [MH⁺].

(E)-N,N-Dimethyl-5-(2-(6-(tributylstannyl)benzo[d]thiazol-2-yl)vinyl)pyridin-2-amine (14)

10 (250 mg, 0.700 mmol)を1,4-ジオキサン(20.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (615 μ L, 1.23 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(350 mg, 0.260 mmol)およびトリエチルアミン(10.0 mL)を加えて、攪拌下、4時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **14** を収量 170 mg (48.4%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.30 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.90-7.92 (m, 2H), 7.70 (dd, J = 9.0, 2.3 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 6.53 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.12 (s, 6H), 0.88-1.65 (m, 27H). MS (ESI) m/z 572.4 [MH⁺].

(E)-2-Styryl-6-(tributylstannyl)benzo[d]thiazole (15)

11 (177 mg, 0.560 mmol)を1,4-ジオキサン(5.00 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (561 μ L, 1.12 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(278 mg, 0.240 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて、攪拌下、3時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **15** を収量 89.0 mg (30.1%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.94-7.97 (m, 2H), 7.33-7.59 (m, 8H), 0.88-1.61 (m, 27H). MS (ESI) m/z 528.3 [MH⁺].

(E)-2-(2-(Pyridin-3-yl)vinyl)-6-(tributylstannyl)benzo[d]thiazole (16)

12 (100 mg, 0.320 mmol)を1,4-ジオキサン(5.00 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (317 μ L, 0.630 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(157 mg, 0.140 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて、攪拌下、17.5時間加熱還流した。反応終了後に溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **16** を収量 76.0 mg (45.5%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.80 (s, 1H), 8.58 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 7.89-7.99 (m, 3H), 7.45-7.58 (m, 3H), 7.34 (dd, J = 8.1, 4.9 Hz, 1H), 0.88-1.66 (m, 27H). MS (ESI) m/z 529.3 [MH⁺].

SBO および PBO 誘導体の合成

6-Bromo-2-methylbenzo[d]oxazole (17)

2-Amino-5-bromophenol (561 mg, 3.00 mmol)を triethyl orthoacetate (656 μ L, 3.60 mmol)に溶解し, 1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin (DBDMH, 17.2 mg, 6.00×10^{-2} mmol)を加えて室温で 10 分間攪拌した. 反応終了後, 酢酸エチル(50.0 mL \times 2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸マグネシウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **17** を収量 560 mg (88.5%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.61 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $J = 7.8, 1.2$ Hz, 1H), 2.61 (s, 3H). MS (ESI) m/z 212.0 [MH^+].

(E)-5-(2-(6-Bromobenzo[*d*]oxazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylpyridin-2-amine (18)

17 (560 mg, 2.65 mmol)をメタノール(5.00 mL)に溶解し, 6-(dimethylamino)nicotinaldehyde (398 mg, 2.65 mmol)および水酸化ナトリウム(319 mg, 7.96 mmol)を加えて, 攪拌下, 2.5 時間加熱還流した. 析出した結晶を濾取し, メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **18** を収量 220 mg (24.1%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.33 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.43 (dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.17 (s, 6H). MS (ESI) m/z 344.1 [MH^+].

(E)-6-Bromo-2-styrylbenzo[*d*]oxazole (19)

17 (890 mg, 4.22 mmol)をメタノール(10.0 mL)に溶解し, benzaldehyde (430 μ L, 4.22 mmol)および水酸化ナトリウム(506 mg, 12.7 mmol)を加えて, 攪拌下, 13 時間加熱還流した. 析出した結晶を濾取し, メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **19** を収量 235 mg (18.6%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.05 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.82-7.86 (m, 3H), 7.71 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.56 (dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 1H), 7.45-7.47 (m, 3H), 7.34 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H). MS (ESI) m/z 300.1 [MH^+].

(E)-*N,N*-Dimethyl-5-(2-(6-(tributylstannyl)benzo[*d*]oxazol-2-yl)vinyl)pyridin-2-amine (20)

18 (100 mg, 0.290 mmol)を 1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (292 μ L, 0.580 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(145 mg, 0.130 mmol)およびトリエチルアミン (5.00 mL)を加えて, 攪拌下, 4 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **20** を収量 74.0 mg (45.7%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.32 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.74 (dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz, 1H), 7.64-7.70 (m, 2H), 7.61 (s, 1H), 7.37 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.83 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.56 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.15 (s, 6H), 0.88-1.77 (m, 27H). MS (ESI) m/z 556.4 [MH^+].

(E)-2-Styryl-6-(tributylstannyl)benzo[*d*]oxazole (21)

19 (235 mg, 0.790 mmol)を 1,4-ジオキサン(5.00 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (787 μ L, 1.57 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(390 mg, 0.340 mmol)および

トリエチルアミン (5.00 mL)を加えて、攪拌下、9 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **21** を収量 155 mg (38.6%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.36-7.42 (m, 4H), 7.09 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 0.8-1.61 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 512.4 [MH⁺].

(E)-5-(2-(6-Iodobenzo[*d*]oxazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylpyridin-2-amine (**22**: PBO-1)

20 (70.0 mg, 0.130 mmol)をクロロホルム(30.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL, 2.00 mL)を加えて室温で 2 時間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **22** (PBO-1)を収量 15.0 mg (30.4%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.33 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.73 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.61 (dd, *J* = 8.4, 1.5 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.79 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.56 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.16 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₆H₁₄IN₃O (M⁺) 391.01819, found 391.01764.

(E)-6-Iodo-2-styrylbenzo[*d*]oxazole (**23**: SBO-2)

21 (155 mg, 0.300 mmol)をクロロホルム(30.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL, 5.00 mL)を加えて室温で 1.5 時間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **23** (SBO-2)を収量 100 mg (95.1%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.16 (s, 1H), 7.81-7.85 (m, 3H), 7.71 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.45-7.46 (m, 3H), 7.34 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₅H₁₀INO (M⁺) 346.9807, found 346.9813.

(E)-4-(2-(6-Bromobenzo[*d*]oxazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylaniline (**24**)

2-Amino-5-bromophenol (935 mg, 5.00 mmol)および 4-(dimethylamino)cinnamic acid (955 mg, 5.00 mmol)を polyphosphoric acid (12.0 g)に溶解し、180 °C で 1 時間攪拌した。反応溶液を室温に戻し、精製水を加えて炭酸カリウムで中和した後、酢酸エチル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **24** を収量 130 mg (7.60%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.71 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.47-7.52 (m, 3H), 7.40 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 6.79 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 6.70 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 3.03 (s, 6H). MS (ESI) *m/z* 343.2 [MH⁺].

(E)-6-Bromo-2-(2-(pyridin-3-yl)vinyl)benzo[*d*]oxazole (**25**)

2-Amino-5-bromophenol (935 mg, 5.00 mmol)および 3-(3-pyridyl)acrylic acid (745 mg, 5.00 mmol)を polyphosphoric acid (5.00 g)に溶解し, 180 °C で 2 時間攪拌した. 反応溶液を室温に戻し, 精製水を加えて炭酸カリウムで中和した後, 酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸マグネシウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **25** を収量 1.40 g (93.3%)で得た. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.98 (s, 1H), 8.60 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 8.30 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.58 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 7.47-7.57 (m, 2H). MS (ESI) *m/z* 301.1 [MH⁺].

(E)-*N,N*-Dimethyl-4-(2-(6-(tributylstannyl)benzo[*d*]oxazol-2-yl)vinyl)aniline (**26**)

24 (130 mg, 0.380 mmol)を 1,4-ジオキサン(20.0 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (381 μL, 0.760 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(189 mg, 0.160 mmol)およびトリエチルアミン (10.0 mL)を加えて, 攪拌下, 3 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **26** を収量 30.0 mg (14.2%)で得た. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.71 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.49 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.36 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.71 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 3.03 (s, 6H), 0.88-1.58 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 555.4 [MH⁺].

(E)-2-(2-(Pyridin-3-yl)vinyl)-6-(tributylstannyl)benzo[*d*]oxazole (**27**)

25 (1.21 g, 4.03 mmol)を 1,4-ジオキサン(20.0 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (4.04 mL, 8.06 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(2.00 g, 1.73 mmol)およびトリエチルアミン (15.0 mL)を加えて, 攪拌下, 14 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **27** を収量 826 mg (40.1%)で得た. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.80 (s, 1H), 8.58 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.66-7.76 (m, 3H), 7.43 (d, *J* = 7.5, 1H), 7.29-7.32 (m, 1H), 7.15 (dd, *J* = 16.2, 1.4 Hz, 1H), 0.99-1.62 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 513.4 [MH⁺].

(E)-4-(2-(6-Iodobenzo[*d*]oxazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylaniline (**28**: SBO-1)

26 (30.0 mg, 5.00×10⁻² mmol)をクロロホルム(30.0 mL)に溶解し, ヨウ素のクロロホルム溶液(50.0 mg/mL, 3.00 mL)を加えて室温で 1 時間攪拌した. 飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後, クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸マグネシウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **28** (SBO-1)を収量 10.0 mg (50.0%)で得た. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.83 (s, 1H), 7.72 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.59 (dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.40 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.80 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 3.04 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₇H₁₅IN₂O

(M⁺) 390.0229, found 390.0227.

(E)-6-Iodo-2-(2-(pyridin-3-yl)vinyl)benzo[d]oxazole (29: PBO-2)

27 (226 mg, 0.500 mmol)をクロロホルム(20.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液(50.0 mg/mL, 3.00 mL)を加えて室温で1時間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **29** (PBO-2)を収量 80.6 mg (46.3%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.82 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.62 (dd, *J* = 4.9, 1.4 Hz, 1H), 7.91-7.94 (m, 2H), 7.78 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 7.67 (dd, *J* = 8.4, 1.5 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 7.8, 4.6 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₄H₉IN₂O (M⁺) 347.9760, found 347.9754.

SBF および PBF 誘導体の合成

4-Bromo-2-hydroxybenzaldehyde (30)

4-Bromophenol (6.50 mL, 61.2 mmol)をアセトニトリル(100 mL)に溶解し、トリエチルアミン(32.0 mL)および塩化マグネシウム(8.74 g, 91.8 mmol)を加えて室温で20分攪拌した。パラホルムアルデヒド(12.3 g, 411 mmol)を加え、攪拌下、4時間加熱還流した。反応溶液を室温に戻した後、希塩酸を用いて pH = 2.0 に調整し、ジエチルエーテル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **30** を収量 10.9 g (89.1%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 11.1 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.15-7.20 (m, 2H).

Ethyl 6-bromobenzofuran-2-carboxylate (31)

30 (5.00 g, 25.0 mmol)をジメチルホルムアミド(10.0 mL)に溶解し、bromoacetate (2.77 mL, 25.0 mmol)および炭酸カリウム(10.4 g, 75.0 mmol)を加えた後、105 °C で4時間攪拌した。反応溶液を室温に戻し、ジエチルエーテル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **31** を収量 4.40 g (65.7%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (s, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.44 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.45 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.43 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

(6-Bromobenzofuran-2-yl)methanol (32)

水素化アルミニウムリチウム(1.87 g, 49.3 mmol)をテトラヒドロフラン(50.0 mL)に懸濁させた後、氷冷下で攪拌した。**31** (4.40 g, 16.4 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(50.0 mL)を氷冷下で少しずつ滴下し、室温で1時間攪拌した。過剰の飽和硫酸ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、硫酸ナトリウム粉末により脱水した。ガラスフィルターで濾過した

後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **32** を収量 2.10 g (56.6%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.63 (s, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.32 (dd, *J* = 8.2, 1.6 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 4.65 (s, 2H).

6-Bromo-2-(bromomethyl)benzofuran (33)

32 (2.10 g, 9.29 mmol) をジエチルエーテル(10.0 mL) に溶解し、三臭化リン(441 μL, 4.65 mmol) を少しずつ滴下して室温で 1 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて中和し、酢酸エチル(50.0 mL×2) で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10) を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **33** を収量 1.80 g (67.3%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (s, 1H), 7.40 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 4.56 (s, 2H).

Diethyl ((6-bromobenzofuran-2-yl)methyl)phosphonate (34)

33 (1.80 g, 6.25 mmol) をトルエン(20.0 mL) に溶解し、亜リン酸トリエチル (1.16 mL, 6.88 mmol) を加えて、攪拌下、24 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1) を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **34** を収量 2.30 g (100%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.61 (s, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.33 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 6.62 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 4.09-4.16 (m, 4H), 3.35 (d, *J* = 21.2 Hz, 2H), 1.29-1.36 (m, 6H).

(E)-4-(2-(6-Bromobenzofuran-2-yl)vinyl)-N,N-dimethylaniline (35)

34 (1.74 g, 5.03 mmol) をメタノール(30.0 mL) に溶解し、*p*-dimethylaminobenzaldehyde (750 mg, 5.03 mmol) および 5 M ナトリウムメトキシド(5.00 mL, 25.0 mmol) を加えて、攪拌下、15 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **35** を収量 475 mg (27.7%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.60 (s, 1H), 7.42 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.34 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 6.51 (s, 1H), 3.01 (s, 6H). MS (ESI) *m/z* 342.1 [MH⁺].

(E)-5-(2-(6-Bromobenzofuran-2-yl)vinyl)-N,N-dimethylpyridin-2-amine (36)

34 (346 mg, 1.00 mmol) をメタノール(5.00 mL) に溶解し、6-(dimethylamino)nicotinaldehyde (150 mg, 1.00 mmol) および 5 M ナトリウムメトキシド(1.00 mL, 5.00 mmol) を加えて、攪拌下、24 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **36** を収量 200 mg (58.5%) で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.29 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.88 (dd, *J* = 9.0, 2.0 Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.70 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.07 (s, 6H). MS (ESI) *m/z* 343.1 [MH⁺].

(E)-6-Bromo-2-styrylbenzofuran (37)

34 (346 mg, 1.00 mmol)をメタノール(5.00 mL)に溶解し, benzaldehyde (102 μ L, 1.00 mmol) および 5 M ナトリウムメトキシド(0.200 mL, 1.00 mmol)を加えて, 攪拌下, 38 時間加熱還流した. 析出した結晶を濾取し, メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **37** を収量 198 mg (66.4%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.86 (s, 1H), 7.67 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.39-7.43 (m, 3H), 7.31-7.34 (m, 3H), 7.00 (s, 1H). MS (ESI) m/z 299.1 [MH^+].

(E)-3-(2-(6-Bromobenzofuran-2-yl)vinyl)pyridine (38)

34 (346 mg, 1.00 mmol)をメタノール(5.00 mL)に溶解し, nicotinaldehyde (93.9 μ L, 1.00 mmol)および 5 M ナトリウムメトキシド(0.200 mL, 1.00 mmol)を加えて, 攪拌下, 38 時間加熱還流した. 析出した結晶を濾取し, メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **38** を収量 117 mg (39.3%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.84 (s, 1H), 8.50 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.42-7.49 (m, 3H), 7.31 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.04 (s, 1H). MS (ESI) m/z 300.1 [MH^+].

(E)-*N,N*-Dimethyl-4-(2-(6-(tributylstannyl)benzofuran-2-yl)vinyl)aniline (39)

35 (171 mg, 0.500 mmol)を 1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (501 μ L, 1.00 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(248 mg, 0.215 mmol)および トリエチルアミン (5.00 mL)を加えて, 攪拌下, 3 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **39** を収量 100 mg (36.2%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.56 (s, 1H), 7.47 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.23-7.27 (m, 2H), 6.81 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.54 (s, 1H), 3.00 (s, 6H), 0.87-1.60 (m, 27H). MS (ESI) m/z 554.4 [MH^+].

(E)-*N,N*-Dimethyl-5-(2-(6-(tributylstannyl)benzofuran-2-yl)vinyl)pyridin-2-amine (40)

36 (200 mg, 0.580 mmol)を 1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (586 μ L, 1.17 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(291 mg, 0.250 mmol)および トリエチルアミン (10.0 mL)を加えて, 攪拌下, 5 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **40** を収量 100 mg (30.9%)で得た. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.27 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.67 (dd, $J = 8.9, 2.5$ Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.48 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.18-7.25 (m, 2H), 6.78 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.51-6.55 (m, 2H), 3.12 (s, 6H), 0.89-1.73 (m, 27H). MS (ESI) m/z 555.4 [MH^+].

(E)-Tributyl(2-styrylbenzofuran-6-yl)stannane (41)

37 (150 mg, 0.500 mmol)を 1,4-ジオキサン(5.00 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (504 μ L, 1.01 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(250 mg, 0.220 mmol)および

トリエチルアミン (5.00 mL)を加えて、攪拌下、15 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **41** を収量 65.0 mg (25.3%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.59-7.24 (m, 9H), 7.01 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.65 (s, 1 H), 0.86-1.56 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 511.4 [MH⁺].

(E)-3-(2-(6-(Tributylstannyl)benzofuran-2-yl)vinyl)pyridine (42)

38 (115 mg, 0.383 mmol)を1,4-ジオキサン(20.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (384 μL, 0.766 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(190 mg, 0.165 mmol)およびトリエチルアミン (16.0 mL)を加えて、攪拌下、15 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **42** を収量 41.5 mg (21.2%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.70 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 8.41 (dd, *J* = 4.9, 1.7 Hz, 1H), 8.06-8.09 (m, 1H), 7.53-7.56 (m, 2H), 7.44 (dd, *J* = 8.1, 4.9 Hz, 1H), 7.26-7.31 (m, 3H), 6.84 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H), 0.86-1.63 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 512.3 [MH⁺].

(E)-4-(2-(6-Iodobenzofuran-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylaniline (43: SBF-1)

39 (100 mg, 0.180 mmol)をクロロホルム(40.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL, 5.00 mL)を加えて室温で 30 分間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **43** (SBF-1)を収量 18.0 mg (25.6%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (s, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.22-7.24 (m, 2H), 6.75 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.70 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.49 (s, 1H), 2.99 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₈H₁₆INO (M⁺) 389.02769, found 389.02814.

(E)-5-(2-(6-Iodobenzofuran-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylpyridin-2-amine (44: PBF-1)

40 (100 mg, 0.180 mmol)をクロロホルム(50.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL, 2.00 mL)を加えて室温で 1.5 時間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **44** (PBF-1)を収量 20.0 mg (28.4%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.27 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.66 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H), 7.48 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 6.73 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.52-6.54 (m, 2H), 3.13 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₇H₁₅IN₂O (M⁺) 390.02295, found 390.02270.

(E)-6-Iodo-2-styrylbenzofuran (45: SBF-2)

41 (100 mg, 0.200 mmol)をクロロホルム(10.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液(50.0 mg/mL, 5.00 mL)を加えて室温で12時間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **45** (SBF-2)を収量 20.0 mg (29.5%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.83 (s, 1H), 7.28-7.54 (m, 8H), 6.97 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₆H₁₁IO (M⁺) 345.9855, found 345.9858.

(E)-3-(2-(6-Iodobenzofuran-2-yl)vinyl)pyridine (46: PBF-2)

42 (39.5 mg, 7.74×10⁻² mmol)をクロロホルム(20.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液(50.0 mg/mL, 1.00 mL)を加えて室温で1時間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **46** (PBF-2)を収量 20.0 mg (74.9%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.84 (s, 1H), 8.50 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.42-7.49 (m, 3H), 7.30 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₅H₁₀INO (M⁺) 346.9807, found 346.9810.

SBTH および PBTH 誘導体の合成

Methyl 6-bromobenzo[*b*]thiophene-2-carboxylate (47)

4-Bromo-2-fluorobenzaldehyde (808 mg, 4.00 mmol)をジメチルスルホキシド (5.00 mL)に溶解し、methyl mercaptoacetate (375 μL, 4.13 mmol)およびトリチルアミン(1.50 mL)を加えて80 °Cで3時間攪拌した。精製水を20.0 mL加えた後、析出した白色個体を濾取し、精製水で洗浄して目的物 **47** を収量 700 mg (64.8%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.40 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.64 (dd, *J* = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H).

(6-Bromobenzo[*b*]thiophen-2-yl)methanol (48)

水素化アルミニウムリチウム(756 mg, 19.9 mmol)をテトラヒドロフラン(20.0 mL)に懸濁させた後、氷冷下で攪拌した。**47** (1.79 g, 6.64 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(20.0 mL)を氷冷下で少しずつ滴下し、室温で3時間攪拌した。過剰の飽和硫酸ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、硫酸ナトリウム粉末により脱水した。ガラスフィルターで濾過した後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **48** を収量 1.20 g (74.7%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.95 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 4.92 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 1.89 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H).

6-Bromo-2-(bromomethyl)benzo[*b*]thiophene (49)

48 (1.20 g, 4.96 mmol)をジエチルエーテル(10.0 mL)に溶解し、三臭化リン(235 μ L, 2.48 mmol)を少しずつ滴下して室温で 1 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて中和し、酢酸エチル(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **49** を収量 1.51 g (100%) で得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.93 (s, 1H), 7.57 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.75 (s, 2H).

Diethyl ((6-bromobenzo[*b*]thiophen-2-yl)methyl)phosphonate (**50**)

49 (1.51 g, 4.96 mmol)をトルエン(40.0 mL)に溶解し、亜リン酸トリエチル (4.17 mL, 24.8 mmol)を加えて、攪拌下、44 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **50** を収量 2.47 g (100%)で得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.90 (s, 1H), 7.55 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.42 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 4.07-4.19 (m, 4H), 3.40 (d, $J = 21.3$ Hz, 2H), 1.28-1.39 (m, 6H).

(*E*)-4-(2-(6-Bromobenzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylaniline (**51**)

50 (2.81 g, 7.76 mmol)をメタノール(30.0 mL)に溶解し、*p*-dimethylaminobenzaldehyde (1.16 g, 7.76 mmol)および 5 M ナトリウムメトキシド(7.76 mL, 38.8 mmol)を加えて、攪拌下、24 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **51** を収量 500 mg (18.0%)で得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.87 (s, 1H), 7.50 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.37-7.41 (m, 3H), 7.06-7.10 (m, 2H), 6.92 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 3.00 (s, 6H). MS (ESI) m/z 358.1 [MH^+].

(*E*)-5-(2-(6-Bromobenzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylpyridin-2-amine (**52**)

50 (362 mg, 1.00 mmol)をメタノール(5.00 mL)に溶解し、6-(dimethylamino)nicotinaldehyde (150 mg, 1.00 mmol)および 5 M ナトリウムメトキシド(1.00 mL, 5.00 mmol)を加えて、攪拌下、24 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **52** を収量 100 mg (27.9%)で得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.25 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.66 (dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.06 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.14 (s, 6H). MS (ESI) m/z 359.1 [MH^+].

(*E*)-6-Bromo-2-styrylbenzo[*b*]thiophene (**53**)

50 (362 mg, 1.00 mmol)をメタノール(5.00 mL)に溶解し、benzaldehyde (102 μ L, 1.00 mmol)および 5 M ナトリウムメトキシド(0.200 mL, 1.00 mmol)を加えて、攪拌下、21.5 時間加熱還流した。析出した結晶を濾取し、メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **53** を収量 182 mg (58.0%)で得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.23 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.60 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.49-7.52 (m, 2H), 7.38-7.42 (m, 2H), 7.29-7.33 (m,

1H), 7.06 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H). MS (ESI) m/z 315.1 [MH^+].

(E)-3-(2-(6-Bromobenzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)pyridine (54)

50 (362 mg, 1.00 mmol)をメタノール(5.00 mL)に溶解し, nicotinaldehyde (93.9 μ L, 1.00 mmol)および5 M ナトリウムメトキシド(0.200 mL, 1.00 mmol)を加えて, 攪拌下, 37.5 時間加熱還流した. 析出した結晶を濾取し, メタノールおよび精製水で洗浄して目的物 **54** を収量 77.0 mg (24.4%)で得た. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.82 (s, 1H), 8.49 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.09 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.51-7.53 (m, 2H), 7.42 (dd, $J = 8.1, 4.9$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H). MS (ESI) m/z 316.1 [MH^+].

(E)-*N,N*-Dimethyl-4-(2-(6-(tributylstannyl)benzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)aniline (55)

51 (179 mg, 0.500 mmol)を1,4-ジオキササン(10.0 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (501 μ L, 1.00 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(248 mg, 0.215 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて, 攪拌下, 3 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **55** を収量 100 mg (35.1%)で得た. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.83 (s, 1H), 7.60 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.09-7.13 (m, 2H), 6.93 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 2.97 (s, 6H), 0.88-1.60 (m, 27H). MS (ESI) m/z 570.4 [MH^+].

(E)-*N,N*-Dimethyl-5-(2-(6-(tributylstannyl)benzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)pyridin-2-amine (56)

52 (179 mg, 0.500 mmol)を1,4-ジオキササン(10.0 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (501 μ L, 1.00 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(248 mg, 0.215 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて, 攪拌下, 3 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **56** を収量 100 mg (35.1%)で得た. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.25 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.66 (dd, $J = 9.0, 2.6$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.10 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 3.13 (s, 6H), 0.88-1.66 (m, 27H). MS (ESI) m/z 571.4 [MH^+].

(E)-Tributyl(2-styrylbenzo[*b*]thiophen-6-yl)stannane (57)

53 (182 mg, 0.580 mmol)を1,4-ジオキササン(5.00 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (581 μ L, 1.16 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(288 mg, 0.250 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて, 攪拌下, 10.5 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **57** を収量 59.0 mg (19.3%)で得た. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.86 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.34-7.40 (m, 4H), 7.29 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 0.88-1.60 (m, 27H). MS (ESI) m/z 527.3 [MH^+].

(E)-3-(2-(6-(Tributylstannyl)benzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)pyridine (58)

54 (78.0 mg, 0.248 mmol)を1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (248 μ L, 0.495 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(123 mg, 0.106 mmol)およびトリエチルアミン(8.00 mL)を加えて、攪拌下、2.5時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **58** を収量 35.2 mg (27.0%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.73 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.81 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.36-7.42 (m, 2H), 7.26-7.30 (m, 2H), 6.94 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 0.88-1.60 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 528.3 [MH⁺].

(E)-4-(2-(6-Iodobenzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylaniline (59: SBTH-1)

55 (100 mg, 0.180 mmol)をクロロホルム(40.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL, 5.00 mL)を加えて室温で20分間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **59** (SBTH-1)を収量 20.0 mg (28.1%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.31 (s, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.26-7.31 (m, 2H), 6.93 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 6.72 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 2.95 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₈H₁₆INS (M⁺) 405.00484, found 405.00538.

(E)-5-(2-(6-Iodobenzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylpyridin-2-amine (60: PBTH-1)

56 (100 mg, 0.180 mmol)をクロロホルム(20.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL, 2.00 mL)を加えて室温で20分間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **60** (PBTH-1)を収量 20.0 mg (28.1%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.24 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.65 (dd, *J* = 9.0, 2.6 Hz, 1H), 7.57 (dd, *J* = 8.1, 1.4 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 7.05 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.87 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 3.13 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₇H₁₅IN₂S (M⁺) 406.00010, found 405.99981.

(E)-6-Iodo-2-styrylbenzo[*b*]thiophene (61: SBTH-2)

57 (59.0 mg, 0.110 mmol)をクロロホルム(25.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL, 5.00 mL)を加えて室温で20分間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘ

キサラン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **61** (SBTH-2)を収量35.0 mg (86.2%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.10 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.35-7.39 (m, 2H), 7.26-7.30 (m, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.00 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₆H₁₁IS (M⁺) 361.9626, found 361.9631.

(E)-3-(2-(6-Iodobenzo[*b*]thiophen-2-yl)vinyl)pyridine (**62**: PBTH-2)

58 (32.7 mg, 6.68 × 10⁻² mmol)をクロロホルム(10.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液(50.0 mg/mL, 2.00 mL)を加えて室温で15分間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL × 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **62** (PBTH-2)を収量22.6 mg (100%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.73 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.51 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.62 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.30 (dd, *J* = 7.8, 4.6 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 6.96 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₅H₁₀INS (M⁺) 362.9579, found 362.9586.

SBI および PBI 誘導体の合成

4-Iodobenzene-1,2-diamine (**63**)

4-Iodo-2-nitroaniline (2.64 g, 10.0 mmol)を80%エタノール(60.0 mL)に溶解し、濃塩酸(2.50 mL)を加えた。powdered iron (2.23 g, 40.0 mmol)を加えて、攪拌下、6時間加熱還流した。反応溶液を室温に戻した後、沈殿物を濾過し、溶媒を減圧留去した。ろ液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて中和し、酢酸エチル(100 mL × 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **63** を収量1.98 g (89.1%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.78 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 6.62 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.57 (s, 2H). MS (APCI) *m/z* 235 [MH⁺].

(E)-4-(2-(6-Iodo-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylaniline (**64**: SBI-1)

63 (1.17 g, 5.00 mmol)および*p*-dimethylaminocinnamaldehyde (886 mg, 5.00 mmol)をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解した。ピロ亜硫酸ナトリウム(951 mg, 5.00 mmol)を加えて105 °Cで2時間攪拌した。精製水(50.0 mL)を加えた後、沈殿物を濾取し、精製水で洗浄して目的物**64** (SBI-1)を収量1.66 g (85.0%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.82 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.41 (dd, *J* = 1.7, 8.4 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 6.75 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 2.97 (s, 6H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₇H₁₆IN₃ (M⁺) 389.0389, found 389.0386.

(E)-6-Iodo-2-styryl-1*H*-benzo[*d*]imidazole (**65**: SBI-2)

63 (234 mg, 1.00 mmol)およびcinnamaldehyde (126 μL, 1.00 mmol)をジメチルホルムアミド

(5.00 mL)に溶解した。ピロ亜硫酸ナトリウム(190 mg, 1.00 mmol)を加えて 105 °C で 2 時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **65** (SBI-2)を収量 200 mg (57.8%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.90 (s, 1H), 7.67-7.71 (m, 3H), 7.43-7.48 (m, 3H), 7.36-7.39 (m, 2H), 7.22 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₅H₁₁N₂ (M⁺) 345.9967, found 345.9973.

(E)-4-(2-(6-Bromo-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)vinyl)-*N,N*-dimethylaniline (**66**)

4-Bromo-1,2-diaminobenzene (214 mg, 1.15 mmol)および *p*-dimethylaminocinnamaldehyde (403 mg, 1.15 mmol)をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解した。ピロ亜硫酸ナトリウム(219 mg, 1.15 mmol)を加えて 105 °C で 2 時間攪拌した。精製水(50.0 mL)を加えた後、沈殿物を濾取し、精製水で洗浄して目的物 **66** を収量 340 mg (86.7%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.62 (s, 1H), 7.51 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 6.84 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 6.74 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 2.99 (s, 6H). MS (APCI) *m/z* 342 [MH⁺].

(E)-6-Bromo-2-styryl-1*H*-benzo[*d*]imidazole (**67**)

4-Bromo-1,2-diaminobenzene (186 mg, 1.00 mmol)および cinnamaldehyde (126 μL, 1.00 mmol)をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解した。ピロ亜硫酸ナトリウム(190 mg, 1.00 mmol)を加えて 105 °C で 2 時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **67** を収量 200 mg (67.1%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.78 (s, 1H), 7.67-7.71 (m, 3H), 7.43-7.54 (m, 3H), 7.31-7.40 (m, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H). MS (ESI) *m/z* 299.1 [MH⁺].

tert-Butyl (E)-6-bromo-2-(4-(dimethylamino)styryl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole-1-carboxylate (**68**)

66 (682 mg, 2.00 mmol)をエタノール(5.00 mL)に溶解し、グアニジン塩酸塩(15.0 mol%)および(Boc)₂O (437 mg, 2.00 mmol)を加えて 40 °C で 2 時間攪拌した。溶媒を減圧留去した後、酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **68** を収量 700 mg (79.4%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.10 (s, 1H), 7.93 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.51-7.55 (m, 3H), 7.42 (dd, *J* = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 6.70 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.02 (s, 6H), 1.76 (s, 9H). MS (APCI) *m/z* 442 [MH⁺].

tert-Butyl (E)-6-bromo-2-styryl-1*H*-benzo[*d*]imidazole-1-carboxylate (**69**)

67 (200 mg, 0.670 mmol)をトリエチルアミン(5.00 mL)およびジクロロメタン(10.0 mL)に

溶解し、DMAP (触媒量)および(Boc)₂O (293 mg, 1.34 mmol)を加えて室温で 24 時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **69** を収量 200 mg (74.9%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.65-8.08 (m, 6H), 7.41-7.55 (m, 4H), 1.70 (s, 9H). MS (ESI) *m/z* 399.2 [MH⁺].

tert-Butyl (*E*)-2-(4-(dimethylamino)styryl)-6-(tributylstannyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole-1-carboxylate (**70**)

68 (352 mg, 0.80 mmol)を 1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (401 μL, 1.60 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(398 mg, 0.344 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて、攪拌下、3 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **70** を収量 210 mg (40.3%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.94 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.34 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.70 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.01 (s, 6H) 1.74 (s, 9H), 0.86–1.67 (m, 27H). MS (APCI) *m/z* 654 [MH⁺].

tert-Butyl (*E*)-2-styryl-6-(tributylstannyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole-1-carboxylate (**71**)

69 (200 mg, 0.500 mmol)を 1,4-ジオキサン(5.00 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (503 μL, 1.00 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(250 mg, 0.220 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて、攪拌下、2 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **71** を収量 41.0 mg (13.4%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92-8.03 (m, 3H), 7.63-7.76 (m, 3H), 7.32-7.43 (m, 4H), 1.76 (s, 9H), 0.88-1.63 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 611.4 [MH⁺].

(*E*)-3-(6-(Dimethylamino)pyridin-3-yl)acrylaldehyde (**72**)

6-(Dimethylamino)nicotinaldehyde (600 mg, 4.00 mmol)および(1,3-dioxolan-2-ylmethyl)triphenylphosphonium bromide (3.43 g, 8.00 mmol)をテトラヒドロフラン(25.0 mL)に懸濁させ、NaH (384 mg, 16.0 mmol)および 18-crown-6 (20.0 mg)を加えて室温で 2 時間攪拌した。反応溶液に NaH (384 mg, 16.0 mmol)を加え、室温でさらに 12 時間攪拌した。精製水を加えて反応を停止した後、ジエチルエーテル(50.0 mL×3)で抽出した。有機層を減圧留去した後、テトラヒドロフラン(50.0 mL)に溶解し、10%塩酸水溶液(20.0 mL)を加えて室温で 6 時間攪拌した。反応終了後、ジクロロメタン(100 mL×2)および 1 N 水酸化ナトリウム水溶液で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(2/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **72** を収量 1.22 g (86.6%)で得た。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.61 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.30 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.68 (dd, *J* = 9.2,

2.5 Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 6.50-6.57 (m, 2H), 3.18 (s, 6H). MS (ESI) m/z 177.2 [MH^+].

(E)-3-(Pyridin-3-yl)acrylaldehyde (73)

Nicotinaldehyde (470 μ L, 5.00 mmol)および(1,3-dioxolan-2-ylmethyl)triphenylphosphonium bromide (4.29 g, 10.0 mmol)をテトラヒドロフラン(25.0 mL)に懸濁させ, NaH (480 mg, 20.0 mmol)および 18-crown-6 (25.0 mg)を加えて室温で 2 時間攪拌した. 反応溶液に NaH (480 mg, 20.0 mmol)を加え, 室温でさらに 12 時間攪拌した. 精製水を加えて反応を停止した後, 酢酸エチル(50.0 mL \times 3)で抽出した. 有機層を減圧留去した後, テトラヒドロフラン(50.0 mL)に溶解し, 10%塩酸水溶液(20.0 mL)を加えて室温で 6 時間攪拌した. 反応終了後, クロロホルム(100 mL \times 2)および 1 N 水酸化ナトリウム水溶液で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸マグネシウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(2/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **73** を収量 565 mg (85.0%)で得た. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.71 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.64 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.51 (dd, $J = 8.1, 4.9$ Hz, 1H), 7.02 (dd, $J = 16.0, 7.5$ Hz, 1H).

(E)-5-(2-(6-Iodo-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)vinyl)-N,N-dimethylpyridin-2-amine (74: PBI-1)

63 (234 mg, 1.00 mmol)および **72** (176 mg, 1.00 mmol)をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解した. ピロ亜硫酸ナトリウム(190 mg, 1.00 mmol)を加えて 105 $^{\circ}C$ で 12 時間攪拌した. 反応終了後, 酢酸エチル(100 mL \times 2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸マグネシウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(2/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **74** (PBI-1)を収量 100 mg (25.6%)で得た. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.32 (s, 1H), 8.02-8.05 (m, 2H), 7.80 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 3.15 (s, 6H). HRMS (EI) m/z calcd for $C_{16}H_{15}IN_4$ (M^+) 390.0342, found 390.0335.

(E)-6-Iodo-2-(2-(pyridin-3-yl)vinyl)-1H-benzo[d]imidazole (75: PBI-2)

63 (234 mg, 1.00 mmol)および **73** (133 mg, 1.00 mmol)をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解した. ピロ亜硫酸ナトリウム(190 mg, 1.00 mmol)を加えて 105 $^{\circ}C$ で 11 時間攪拌した. 反応終了後にクロロホルム(100 mL \times 2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸マグネシウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣をクロロホルム/メタノール(20/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **75** (PBI-2)を収量 73.6 mg (21.2%)で得た. 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8.74 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.50 (dd, $J = 4.6, 1.5$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.60 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 8.7, 1.7$ Hz, 1H), 7.49 (dd, $J = 7.8, 4.9$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H). HRMS (EI) m/z calcd for $C_{14}H_{10}IN_3$ (M^+) 346.9920, found 346.9915.

(E)-5-(2-(6-Bromo-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)vinyl)-N,N-dimethylpyridin-2-amine (76)

4-Bromo-1,2-diaminobenzene (454 mg, 2.44 mmol)および **72** (430 mg, 2.44 mmol)をジメチル

ホルムアミド(5.00 mL)に溶解した。ピロ亜硫酸ナトリウム(464 mg, 2.44 mmol)を加えて 105 °C で 12 時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(2/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **76** を収量 648 mg (77.6%) で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.30 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.96 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.34 (dd, *J* = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 3.11 (s, 6H). MS (ESI) *m/z* 343.1 [MH⁺].

(E)-6-Bromo-2-(2-(pyridin-3-yl)vinyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole (77)

4-Bromo-1,2-diaminobenzene (186 mg, 1.00 mmol) および **73** (133 mg, 1.00 mmol) をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解した。ピロ亜硫酸ナトリウム(190 mg, 1.00 mmol)を加えて 105 °C で 11 時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣をクロロホルム/メタノール(20/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **77** を収量 176 mg (58.9%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.73 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.50 (dd, *J* = 4.9, 1.7 Hz, 1H), 8.12 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 7.45-7.50 (m, 2H), 7.35 (dd, *J* = 8.7, 1.7 Hz, 1H), 7.24 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H). MS (ESI) *m/z* 300.1 [MH⁺].

tert-Butyl (E)-6-bromo-2-(2-(6-(dimethylamino)pyridin-3-yl)vinyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole-1-carboxylate (78)

76 (648 mg, 1.89 mmol) をトリエチルアミン(15.0 mL) およびジクロロメタン(15.0 mL) に溶解し、DMAP (触媒量) および(Boc)₂O (827 mg, 1.89 mmol) を加えて室温で 24 時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **78** を収量 710 mg (84.8%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.36 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 9.2, 2.5 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 6.55 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 3.16 (s, 6H), 1.75 (s, 9H). MS (ESI) *m/z* 443.2 [MH⁺].

tert-Butyl (E)-6-bromo-2-(2-(pyridin-3-yl)vinyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole-1-carboxylate (79)

77 (176 mg, 0.590 mmol) をトリエチルアミン(8.00 mL) およびジクロロメタン(8.00 mL) に溶解し、DMAP (触媒量) および(Boc)₂O (257 mg, 1.18 mmol) を加えて室温で 25 時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **79** を収量 137 mg (58.2%) で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.84 (s, 1H), 8.57 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 7.87-8.01 (m,

4H), 7.79 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.43 (dd, $J = 8.7, 1.7$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J = 7.8, 4.6$ Hz, 1H), 1.75 (s, 9H). MS (ESI) m/z 400.2 [MH^+].

tert-Butyl (*E*)-2-(2-(6-(dimethylamino)pyridin-3-yl)vinyl)-6-(tributylstannyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole-1-carboxylate (80)

78 (110 mg, 0.250 mmol)を1,4-ジオキサン(5.00 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (249 μ L, 0.500 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(124 mg, 0.11 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて、攪拌下、6時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **80** を収量 30.0 mg (18.4%)で得た。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.16-8.36 (m, 1H), 7.68-8.00 (m, 3H), 7.31-7.41 (m, 2H), 6.15-6.56 (m, 1H), 4.91-5.32 (m, 1H), 2.90-3.15 (m, 6H), 1.68-1.75 (m, 9H), 0.84-1.65 (m, 27H). MS (ESI) m/z 655.5 [MH^+].

tert-Butyl (*E*)-2-(2-(pyridin-3-yl)vinyl)-6-(tributylstannyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole-1-carboxylate (81)

79 (79.2 mg, 0.198 mmol)を1,4-ジオキサン(8.00 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (800 μ L, 1.58 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(91.5 mg, 0.0792 mmol)およびトリエチルアミン(8.00 mL)を加えて、攪拌下、6.5時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **81** を収量 31.1 mg (25.9%)で得た。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.84 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.56 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.88-7.97 (m, 4H), 7.42 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.33 (dd, $J = 8.1, 4.9$ Hz, 1H), 1.75 (s, 9H), 0.87-1.60 (m, 27H). MS (ESI) m/z 612.4 [MH^+].

^{125}I 標識スチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体の合成 (Method A)

^{125}I 標識には、それぞれの非標識体に対応するトリブチルスズ標識前駆体を用い、スズヨウ素交換反応により標識した。1 N HCl (100 μ L)および3% H_2O_2 (100 μ L)に、 ^{125}I NaI (3.7-7.4 MBq, 比放射能 81.4 TBq/mmol)を添加し、標識前駆体のエタノール溶液あるいは0.1%酢酸含有メタノール溶液(1.00 mg/mL, 200 μ L)を加えた。室温で40分間反応させた後、還元剤として飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液(200 μ L)を加え、反応を停止した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(200 μ L)を加えて反応液を中和した後、酢酸エチルで目的物を抽出した。無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後、溶媒を留去した。 ^{125}I 標識したリガンドは、対応する非放射性化合物を標品として逆相 HPLC を用いて精製し、酢酸エチルで目的物を抽出した。逆相 HPLC カラムには、COSMOSIL 5C₁₈-AR-IIを使用した。無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後、溶媒を留去した。

^{125}I 標識スチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体の合成 (Method B)

^{125}I 標識には、それぞれの非標識体に対応するトリブチルスズ標識前駆体を用い、スズヨウ素交換反応により標識した。1 N HCl (100 μ L)および3% H_2O_2 (100 μ L)に、 ^{125}I NaI

(3.7–7.4 MBq, 比放射能 81.4 TBq/mmol)を添加し, 標識前駆体のエタノール溶液(1.00 mg/mL, 200 μ L)を加えた. 室温で 40 分間反応させた後, TFA (100 μ L)を加え, さらに室温で 20 分間攪拌して脱保護を行った. 還元剤として飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液(200 μ L)を加え, 反応を停止した. 飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した後, 酢酸エチルで目的物を抽出した. 無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後, 溶媒を留去した. 125 I 標識したリガンドは, 対応する非放射性化合物を標品として逆相 HPLC を用いて精製し, 酢酸エチルで目的物を抽出した. 逆相 HPLC カラムには, COSMOSIL 5C₁₈-MS-II を使用した. 無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後, 溶媒を留去した.

AD 患者剖検脳組織切片を用いた免疫染色

AD 患者剖検脳組織切片(76-year-old, male, frontal and temporal lobe, 6 μ m)を用いて, 第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG

[125 I]標識各化合物の 10%EtOH あるいは 50% EtOH 溶液 (370 kBq/mL)した. AD 患者剖検脳組織切片(76-year-old, male, frontal and temporal lobe, 6 μ m)を用いて, 第 1 章第 1 節と同様の方法を用いて行った.

スチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体の脳内挙動の比較

125 I 標識した各化合物を 10% EtOH および 0.1% Tween 80 を含む生理食塩水で希釈した. 1 群 5 匹の 5 週齢 ddY 系雄性マウス(26-28 g)に, 尾静脈より 1 匹あたり 19.6-29.4 kBq (100 μ L) の 125 I 標識各化合物を投与し, 2, 10, 30, 60 分後に屠殺, 採血後, 脳を摘出し, 重量と放射能を測定した. また, [125 I]65 ([125 I]SBI-2)に関しては, 主要な臓器を摘出し, 重量と放射能を測定した.

[125 I]65 ([125 I]SBI-2)の血漿中安定性評価

5 週齢 ddY 系雄性マウス(26–28 g)をイソフルランで麻酔して心臓採血を行った. 採取した血液は 4,000 \times g で 10 分間遠心分画し, 上清を回収した. [125 I]65 ([125 I]SBI-2) (370 kBq, 10.0 μ L, EtOH solution)およびマウス血漿サンプル(200 μ L)を混合した. 37°C で 60 分間インキュベートし, アセトニトリル(400 μ L)を加えた後, 4,000 \times g で 10 分間遠心分画した. 上清を回収してナカライテスク株式会社製 Cosmonice Filter (S) (0.45 μ m, 4 mm)で処理した後, 逆相 HPLC で分析した.

Log P 値測定

1-オクタノール(3.00 mL)および 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4, 3.00 mL) が入った遠心管に 125 kBq の放射性リガンドを加え, 2 分間ボルテックスした後, 4,000 \times g で 10 分間遠心分離した. 各層から 500 μ L ずつ溶液を採取した後, それぞれの放射能を測定し, 1-オクタノール/リン酸緩衝液の放射能比から分配係数を求めた.

2.2. 結果と考察

SBTA および PBTA 誘導体の合成

Scheme 2-1A に SBTA および PBTA 誘導体の合成経路を示す。Scheme 2-1B にそれぞれの非標識体に対応する標識前駆体の合成経路を示す。3 段階の反応で、化合物 **3** (SBTA-1), **4** (PBTA-1), **5** (SBTA-2), **6** (PBTA-2)を 17.5, 10.3, 5.32, 15.9%の収率で得た。4 段階の反応で、それぞれの非標識体に対応する標識前駆体を 6.53, 5.29, 2.50, 3.68%の収率で得た。

SBO および PBO 誘導体の合成

Scheme 2-2A に PBO-1 および SBO-2 の合成経路を、Scheme 2-2B に SBO-1 および PBO-2 の合成経路を示す。4 段階の反応で、化合物 **22** (PBO-1)および **23** (SBO-2)を 2.96, 6.04%の収率で得た。3 段階の反応で、化合物 **28** (SBO-1)および **29** (PBO-2)を 5.40, 17.3%の収率で得た。

SBF および PBF 誘導体の合成

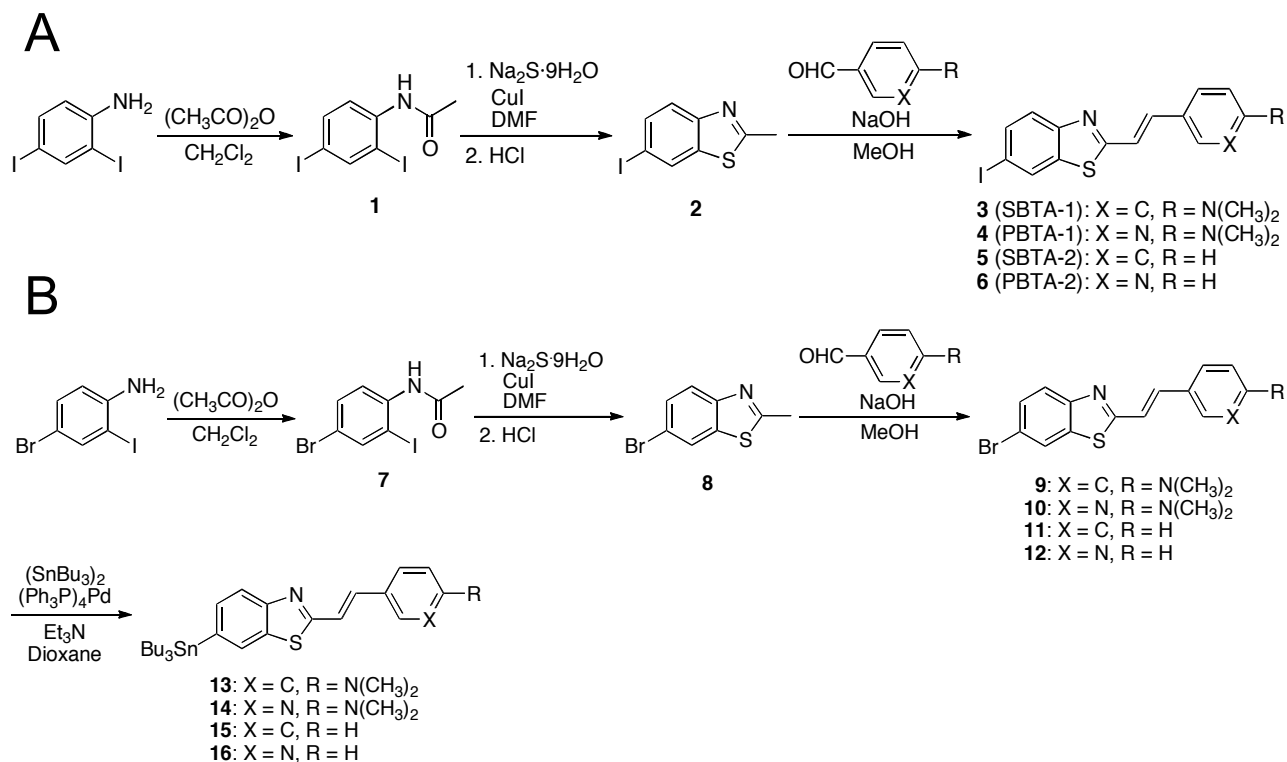
Scheme 2-3 に SBF および PBF 誘導体の合成経路を示す。8 段階の反応で、化合物 **43** (SBF-1), **44** (PBF-1), **45** (SBF-2), **46** (PBF-2)を 0.572, 1.14, 1.11, 1.39%の収率で得た。

SBTH および PBTH 誘導体の合成

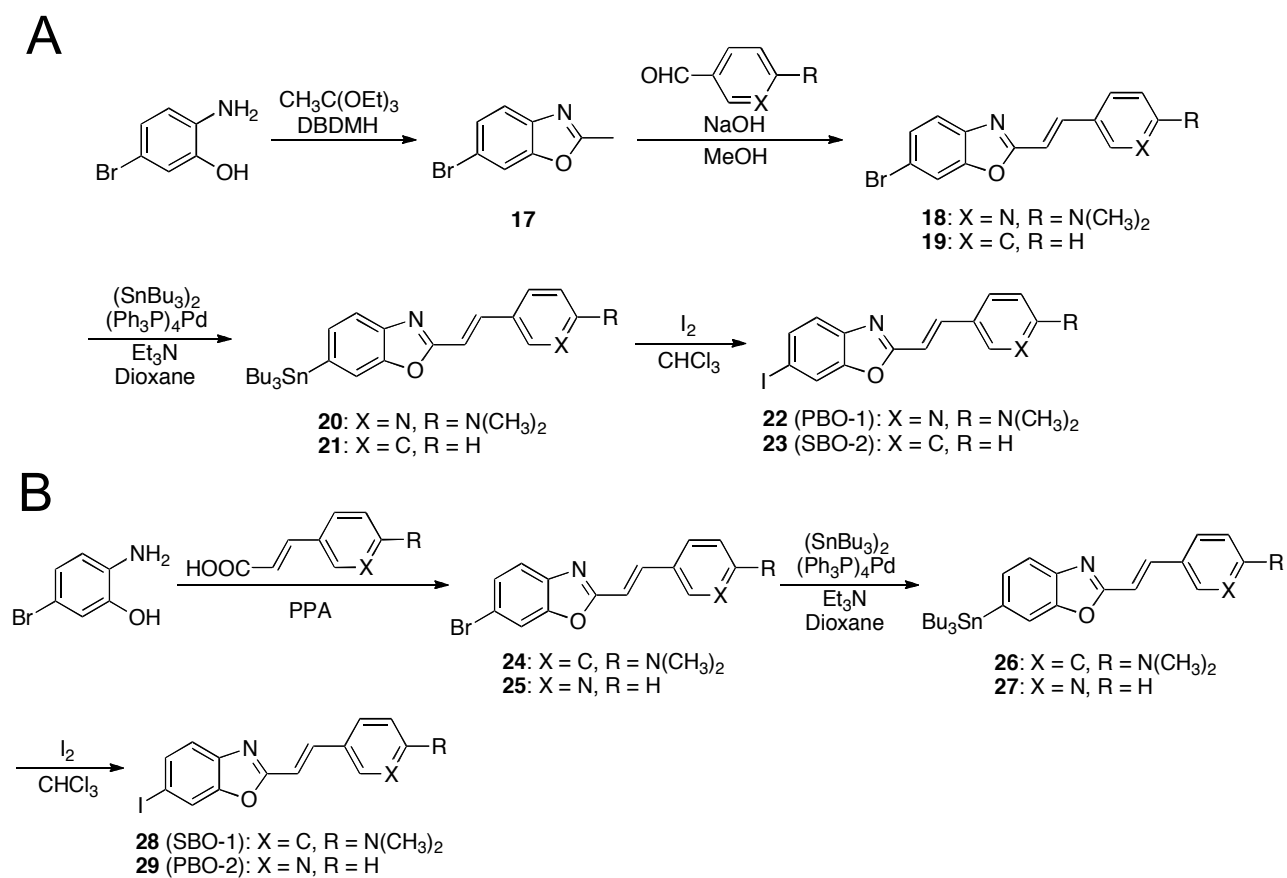
Scheme 2-4 に SBTH および PBTH 誘導体の合成経路を示す。7 段階の反応で、化合物 **59** (SBTH-1), **60** (PBTH-1), **61** (SBTH-2), **62** (PBTH-2)を 0.859, 1.33, 4.67, 3.19%の収率で得た。

SBI および PBI 誘導体の合成

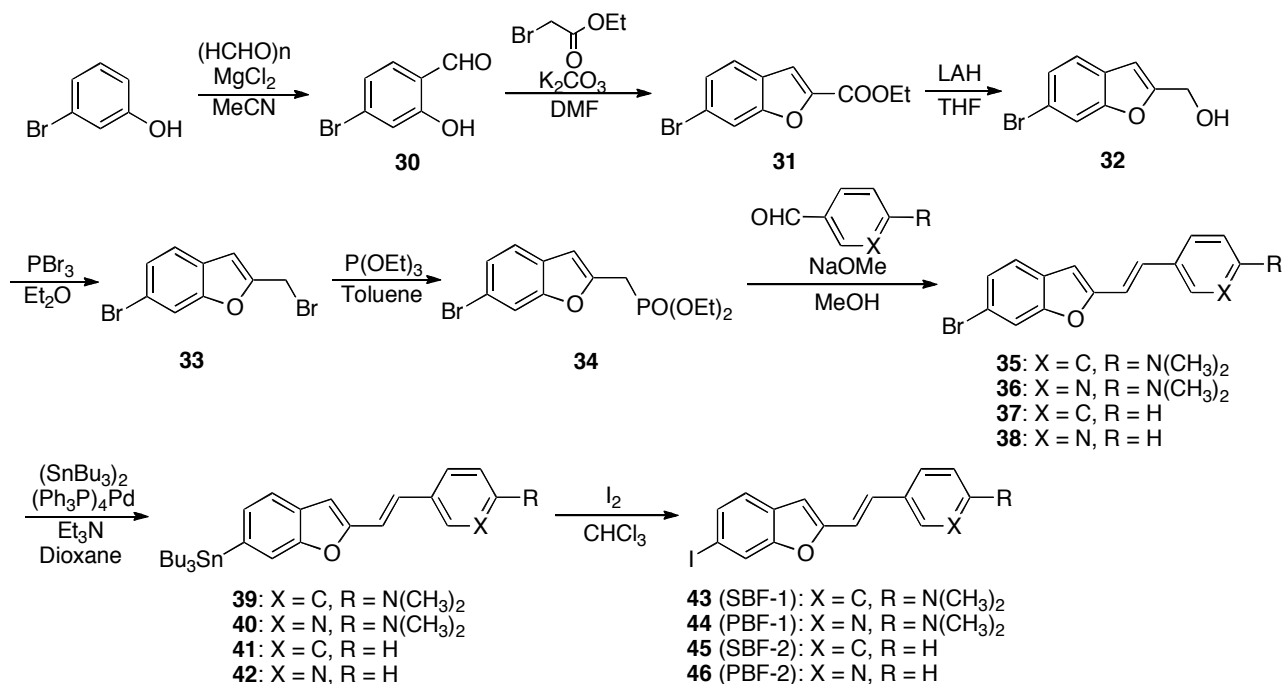
Scheme 2-5A に SBI 誘導体の合成経路を、Scheme 2-5B に SBI 誘導体の標識前駆体の合成経路を示す。Scheme 2-5C に PBI 誘導体の合成経路を、Scheme 2-5D に PBI 誘導体の標識前駆体の合成経路を示す。2 段階の反応で、化合物 **64** (SBI-1)および **65** (SBI-2)を 75.5, 51.5%の収率で得た。3 段階の反応で、それぞれの非標識体に対応する標識前駆体を 27.7 および 6.73%の収率で得た。2 段階の反応で、化合物 **74** (PBI-1)および **75** (PBI-2)を 22.2, 18.0%の収率で得た。4 段階の反応で、それぞれの非標識体に対応する標識前駆体を 10.5 および 7.55%の収率で得た。



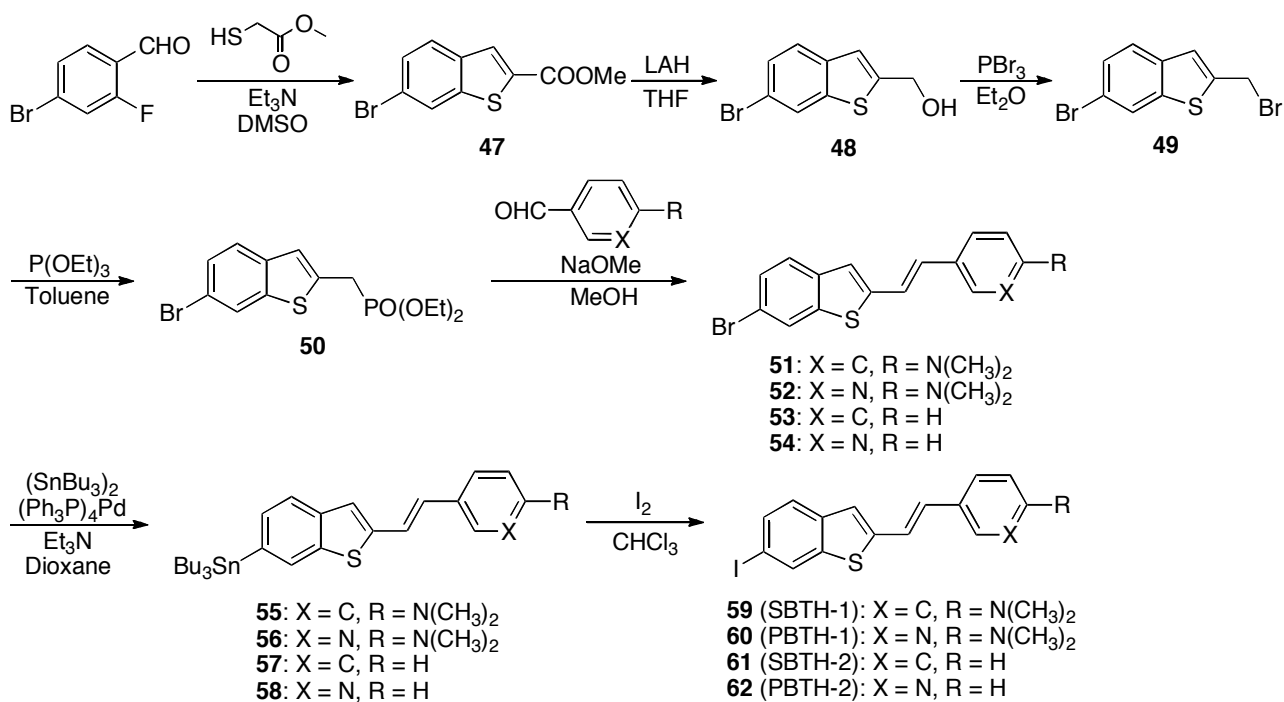
Scheme 2-1. Synthetic routes for SBTA and PBTA derivatives (A) and their precursors (B).



Scheme 2-2. Synthetic routes for SBO and PBO derivatives.

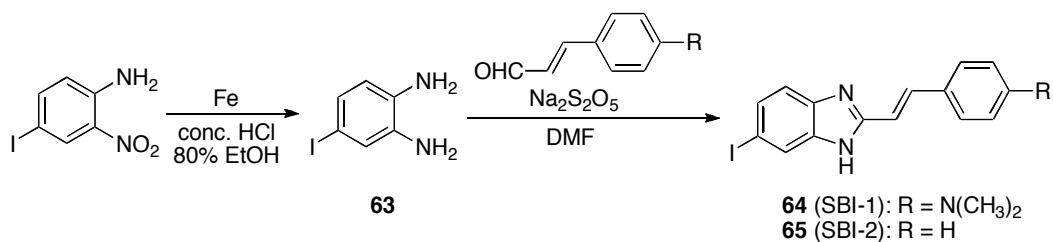


Scheme 2-3. Synthetic route for SBF and PBF derivatives.

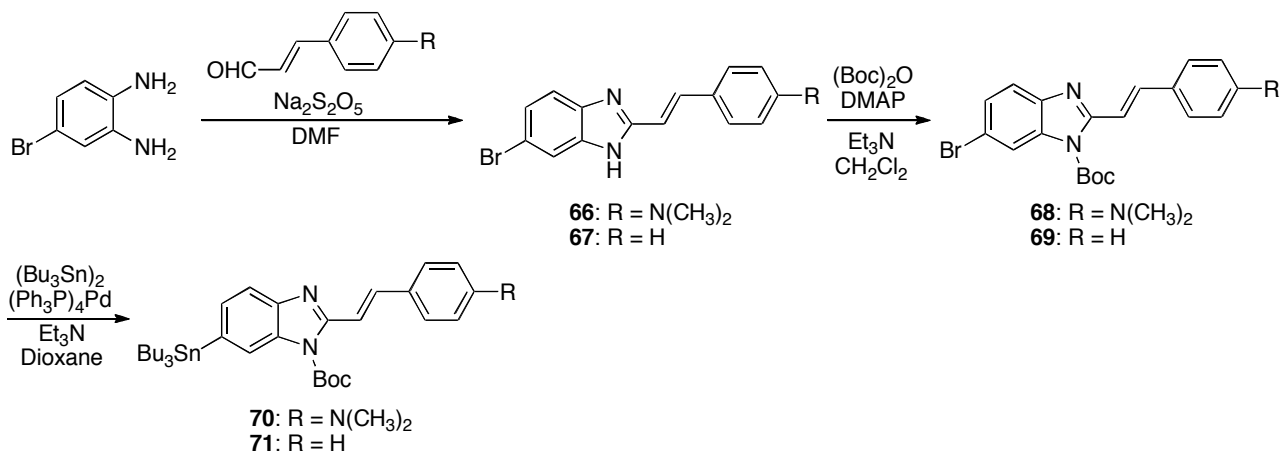


Scheme 2-4. Synthetic route for SBTH and PBTH derivatives.

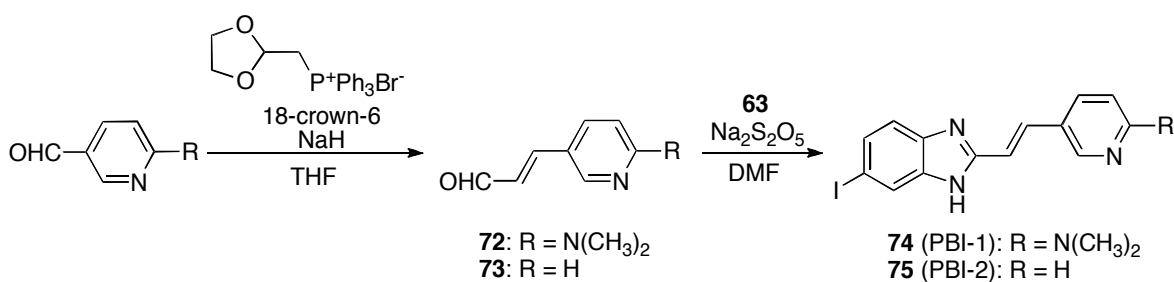
A



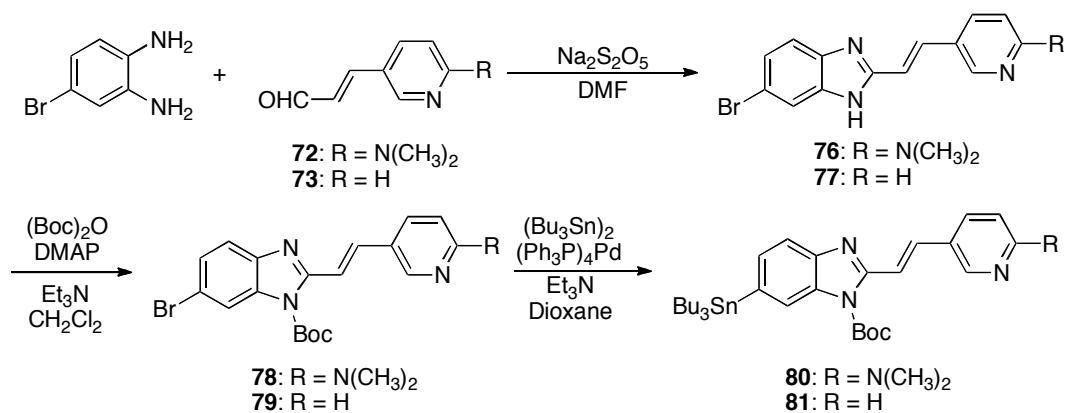
B



C



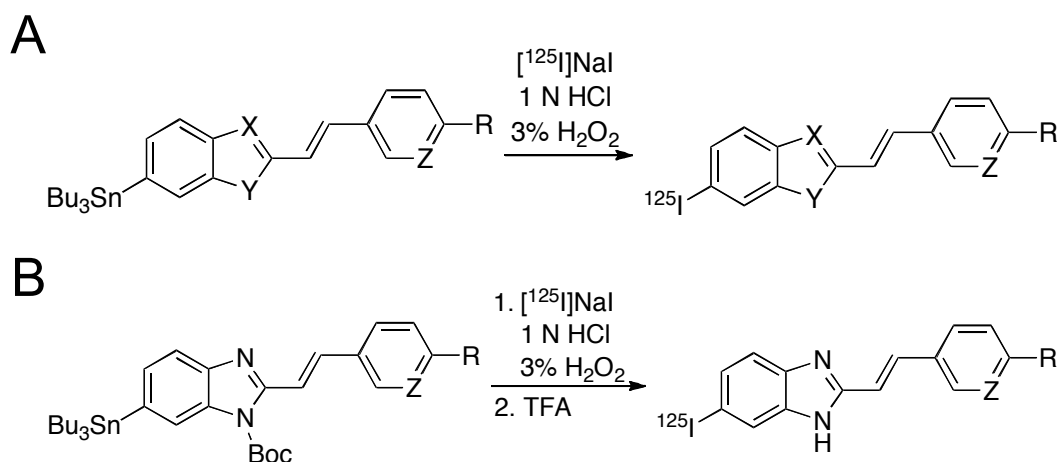
D



Scheme 2-5. Synthetic routes for SBI derivatives (A), precursors of SBI derivatives (B), PBI derivatives (C), and precursors of PBI derivatives (D).

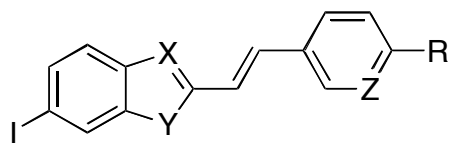
[¹²⁵I]標識スチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体の合成

Scheme 2-6A および 6B に各化合物の ¹²⁵I 標識経路を示す。 ¹²⁵I 標識は Table 2-1 に示す条件に従った。 Scheme 2-6A および 2-6B は、それぞれ Method A および Method B に対応する。 各標識体を放射化学的収率 12~85%、放射化学的純度 99%以上で得た。 逆相 HPLC 分析による各化合物の保持時間は Table 2-1 に示す結果となった。 スチリル誘導体およびビニルピリジン誘導体は、エテニル基に由来する光異性化が起こる可能性があることが一般的に知られている^{64,65}。 本研究で合成した 20 種類の化合物のうち、18 種類の化合物について HPLC 分析時におけるシグナルピークが 2 本検出されたことから、本誘導体においても分子中のエテニル基に由来する光異性化が起こっている可能性が示された。



Scheme 2-6. Radiolabeling of styryl and 3-vinyl pyridine derivatives.

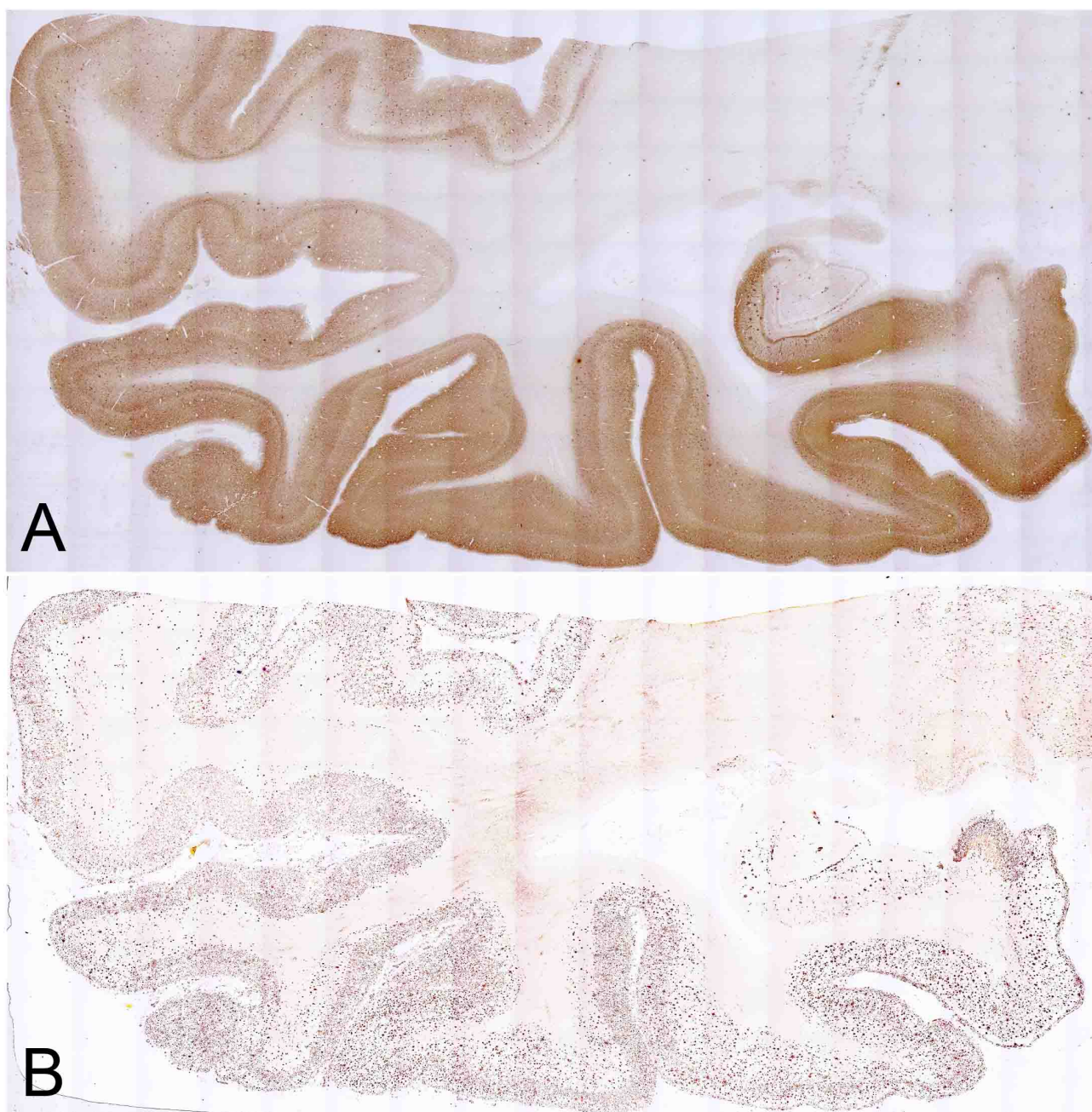
Table 2-1. Summary of the method and solvent used in radiolabeling, HPLC condition used in purification of each compound, and the retention time of each compound.



Compound	X	Y	Z	R	(Method), Solvent	Mobile Phase MeCN/H ₂ O	Retention Time (min)
3 (SBTA-1)	N	S	C	N(CH ₃) ₂	(A), EtOH	8/2	12.0 and 16.9
4 (PBTA-1)	N	S	N	N(CH ₃) ₂	(A), EtOH	8/2	9.53 and 11.1
5 (SBTA-2)	N	S	C	H	(A), EtOH	8/2	8.67 and 11.6
6 (PBTA-2)	N	S	N	H	(A), EtOH	8/2	5.50 and 7.09
28 (SBO-1)	N	O	C	N(CH ₃) ₂	(A), EtOH	8/2	10.4 and 12.6
22 (PBO-1)	N	O	N	N(CH ₃) ₂	(A), EtOH	8/2	7.25 and 7.95
23 (SBO-2)	N	O	C	H	(A), EtOH	8/2	7.04 and 8.88
29 (PBO-2)	N	O	N	H	(A), EtOH	6/4	9.24 and 9.85
43 (SBF-1)	C	O	C	N(CH ₃) ₂	(A), MeOH (0.1% AcOH)	65/35 (0.1% TFA)	4.68 and 8.21
44 (PBF-1)	C	O	N	N(CH ₃) ₂	(A), MeOH (0.1% AcOH)	4/6 (0.1% TFA)	7.24 and 8.06
45 (SBF-2)	C	O	C	H	(A), MeOH (0.1% AcOH)	85/15 (0.1% TFA)	9.57
46 (PBF-2)	C	O	N	H	(A), EtOH	8/2	6.38 and 9.10
59 (SBTH-1)	C	S	C	N(CH ₃) ₂	(A), MeOH (0.1% AcOH)	7/3 (0.1% TFA)	3.27 and 7.20
60 (PBTH-1)	C	S	N	N(CH ₃) ₂	(A), MeOH (0.1% AcOH)	4/6 (0.1% TFA)	8.56 and 11.5
61 (SBTH-2)	C	S	C	H	(A), MeOH (0.1% AcOH)	85/15 (0.1% TFA)	9.06 and 12.8
62 (PBTH-2)	C	S	N	H	(A), EtOH	8/2	7.29 and 14.5
64 (SBI-1)	N	NH	C	N(CH ₃) ₂	(B), EtOH	6/4 (0.1% Et ₃ N)	8.73 and 11.1
74 (PBI-1)	N	NH	N	N(CH ₃) ₂	(B), EtOH	5/5 (0.1% Et ₃ N)	6.65 and 8.86
65 (SBI-2)	N	NH	C	H	(B), EtOH	5/5 (0.1% Et ₃ N)	10.3 and 11.1
75 (PBI-2)	N	NH	N	H	(B), EtOH	4/6 (0.1% Et ₃ N)	7.36

AD 患者剖検脳組織切片を用いた免疫染色

本章では、各化合物のタウと $A\beta$ への選択的結合性をより明確に評価するために、AD 患者剖検脳組織中で、タウと $A\beta$ の蓄積分布が異なる部位(側頭葉および前頭葉)を以下の評価に用いた。まず、側頭葉の脳組織切片におけるタウおよび $A\beta$ の蓄積分布を調べるために、それぞれの免疫染色を行った。その結果、タウおよび $A\beta$ が側頭葉の灰白質において異なる蓄積分布を示していることが明らかとなった(Figure 2-3A and 3B)。一方で、前頭葉の脳組織切片においても同様の免疫染色を行った結果、前頭葉の灰白質に $A\beta$ の蓄積を認めたが(Figure 2-3D)、タウの蓄積は認められなかった(Figure 2-3C)。したがって、より高性能なタウイメージングプローブとして機能するためには、側頭葉および前頭葉のうち、タウの蓄積が認められた側頭葉にのみ集積し、さらに、その集積がタウの蓄積分布と一致する必要があると考えられた。



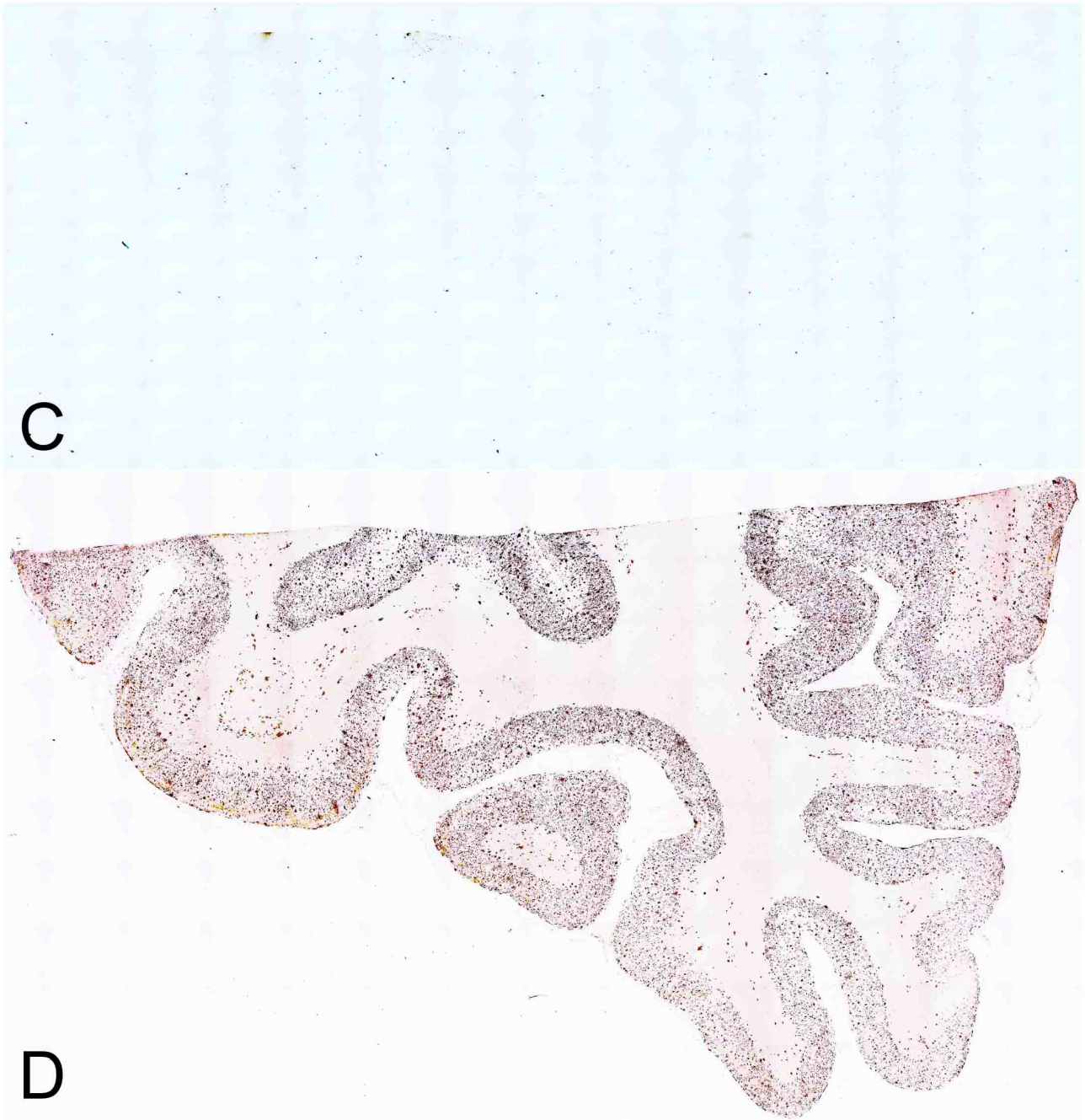


Figure 2-3. Immunohistochemical staining with an antibody against phosphorylated tau (AT8: A and C) and A β ₁₋₄₂ (BC05: B and D) in brain sections of temporal lobe (A and B) and frontal lobe (C and D) from an AD patient (76-year-old, male).

AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG

¹²⁵I 標識したスチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体に関して、AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG を行った。Figure 2-4 には、置換基としてジメチルアミノ基を有するスチリル誘導体(3:SBTA-1, 28:SBO-1, 43:SBF-1, 59:SBTH-1, 64:SBI-1)および3-ビニルピリジン誘導体(4:PBTA-1, 22:PBO-1, 44:PBF-1, 60:PBTH-1, 74:PBI-1)による *in vitro* ARG の結果を示す。Figure 2-4A~4D には、ベンゾチアゾールを母核とした 3:SBTA-1 および 4:PBTA-1 による *in vitro* ARG の結果を示す。どちらの化合物も前頭葉の脳組織切片上への放射能集積を示し(Figure 2-4B and 4D)、免疫染色の結果(Figure 2-3C and 3D)と比較した結果、3:SBTA-1 および 4:PBTA-1 は、脳組織中の A β へ強く結合していることが示唆された。Figure 2-4E~4H にはベンゾオキサゾールを母核とした 28:SBO-1 および 22:PBO-1 による *in vitro* ARG の結果を、Figure 2-4I~4L にはベンゾフランを母核とした 43:SBF-1 および 44:PBF-1 による *in vitro* ARG の結果を、Figure 2-4M~4P にはベンゾチオフェンを母核とした 59:SBTH-1 および 60:PBTH-1 による *in vitro* ARG の結果を、Figure 2-4Q~4T にはベンゾイミダゾールを母核とした 64:SBI-1 および 74:PBI-1 より得られた *in vitro* ARG の結果を示す。いずれの化合物においても 3:SBTA-1 および 4:PBTA-1 と同様、前頭葉の灰白質への放射能集積を認めた(Figure 2-4F, 4H, 4J, 4L, 4N, 4P, 4R, and 4T, respectively)。以上の結果より、ジメチルアミノ基を有する全てのスチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体は、含有する芳香族ヘテロ環構造の種類に関わらず、脳組織に蓄積した A β への高い結合親和性を有していることが明らかとなった。また、いずれの化合物においても側頭葉の灰白質への放射能集積が認められたが(Figure 2-4A, 4C, 4E, 4G, 4I, 4K, 4M, 4O, 4Q, and 4S, respectively)、側頭葉にはタウおよび A β が蓄積しているため(Figure 2-3A and 3B)、A β に対する高い結合親和性を有している化合物を用いた *in vitro* ARG において、タウに対する選択的結合性を詳細に評価することは困難であると考えられた。以上より、ジメチルアミノ基を有する全てのスチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体において、含有する芳香族ヘテロ環構造の種類による脳組織切片上への放射能集積には顕著な相違は認められず、タウを明瞭に描出するのに十分なタウに対する選択的結合性が高い化合物を見出すことはできなかった。

Figure 2-5 には、置換基のジメチルアミノ基を除いたスチリル誘導体(5:SBTA-2, 23:SBO-2, 45:SBF-2, 61:SBTH-2, 65:SBI-2) および 3-ビニルピリジン誘導体(6:PBTA-2, 29:PBO-2, 46:PBF-2, 62:PBTH-2, 75:PBI-2)の *in vitro* ARG の結果を示す。Figure 2-5A~5D には、ベンゾチアゾールを母核とした 5:SBTA-2 および 6:PBTA-2 による *in vitro* ARG の結果を示す。どちらの化合物も、ジメチルアミノ基を有する 3:SBTA-1 および 4:PBTA-1 と同様、前頭葉の脳組織切片上への放射能集積を示したことから(Figure 2-5B and 5D)、ジメチルアミノ基を除いても、脳組織切片上に蓄積した A β への高い結合親和性を有していることが明らかとなった。Figure 2-5E~5H にはベンゾオキサゾールを母核とした 23:SBO-2 および 29:PBO-2 による *in vitro* ARG の結果を、Figure 2-5I~5L にはベンゾフランを母核とした 45:SBF-2 および 46:PBF-2 による *in vitro* ARG の結果を、Figure 2-5M~5P にはベンゾチオフェンを母核とした 61:SBTH-2 および 62:PBTH-2 による *in vitro* ARG 結果を示す。いずれの化合物も脳組織中の A β への結合親和性が認められた(Figure 2-5F, 5H, 5J, 5L, 5N, and 5P, respectively)。

ベンゾイミダゾールを母核とした **65:SBI-2** および **75:PBI-2** は、前頭葉への放射能集積が認められなかったことから、ジメチルアミノ基を除くことによって脳組織切片上の $A\beta$ への結合親和性が低下したことが示された(Figure 2-5R and 5T). 一方、**65:SBI-2** および **75:PBI-2** は側頭葉への放射能集積は維持されていたことから、これらの化合物はタウに対する結合親和性を有している可能性が示された(Figure 2-5Q and 5S). **65:SBI-2** によって得られた側頭葉における *in vitro* ARG 画像を、タウおよび $A\beta$ の免疫染色画像と比較した結果、**65:SBI-2** の脳組織切片上への放射能集積(Figure 2-5V)は、 $A\beta$ の蓄積(Figure 2-5W)に比べて、タウの蓄積(Figure 2-5U)に一致していることが示された.

以上の結果より、ジメチルアミノ基を除いたスチリル誘導体および 3-ビニルピリジン誘導体の脳組織切片上への放射能集積には、含有する芳香族ヘテロ環構造の種類によって相違が認められ、特に、ベンゾイミダゾールを母核とした **65:SBI-2** および **75:PBI-2** は、 $A\beta$ に比べてタウへの選択的結合性を有する可能性が示された.

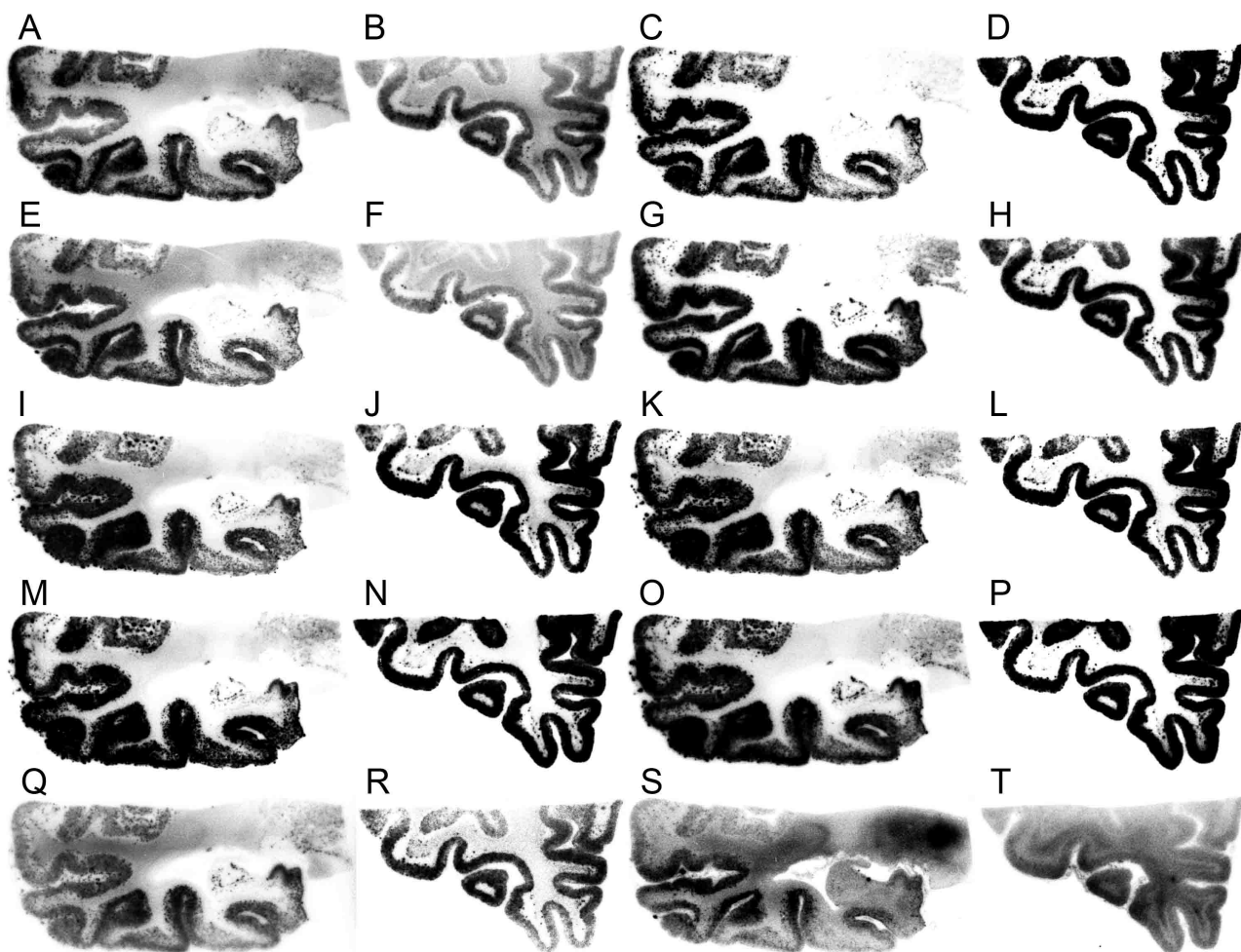


Figure 2-4. Comparison of *in vitro* autoradiography of [^{125}I]3:SBTA-1 (A and B), [^{125}I]4:PBTA-1 (C and D), [^{125}I]28:SBO-1 (E and F), [^{125}I]22:PBO-1 (G and H), [^{125}I]43:SBF-1 (I and J), [^{125}I]44:PBF-1 (K and L), [^{125}I]59:SBTH-1 (M and N), [^{125}I]60:PBTH-1 (O and P), [^{125}I]64:SBI-1 (Q and R), and [^{125}I]74:PBI-1 (S and T) in brain sections from the AD patient. A, C, E, G, I, K, M, O, Q, and S are brain sections of temporal lobe and B, D, F, H, J, L, N, P, R, and T are brain sections of frontal lobe from the AD patient.

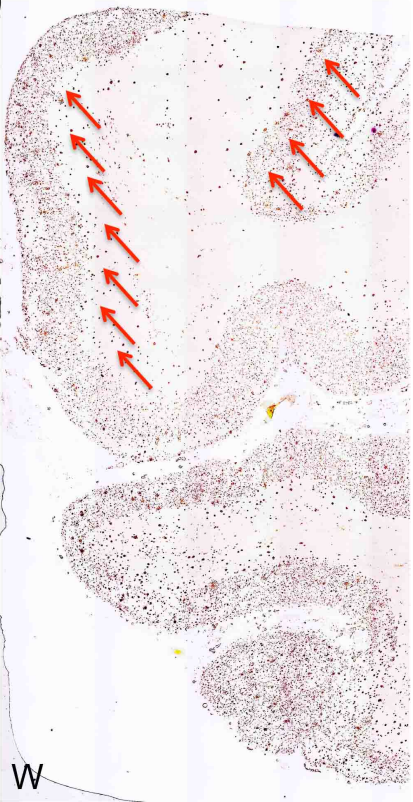
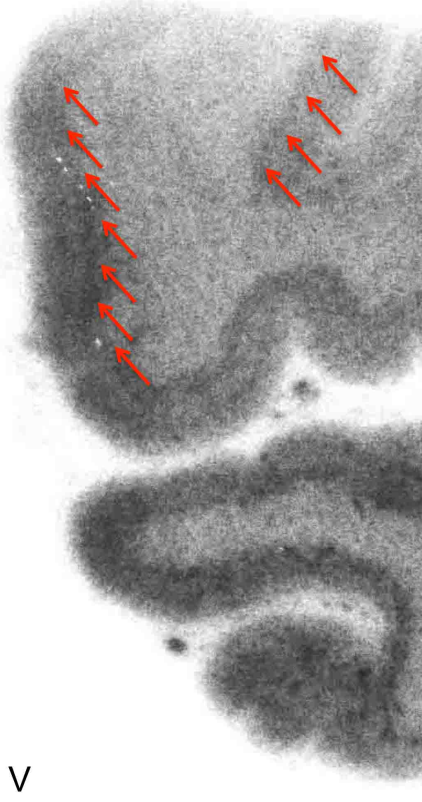
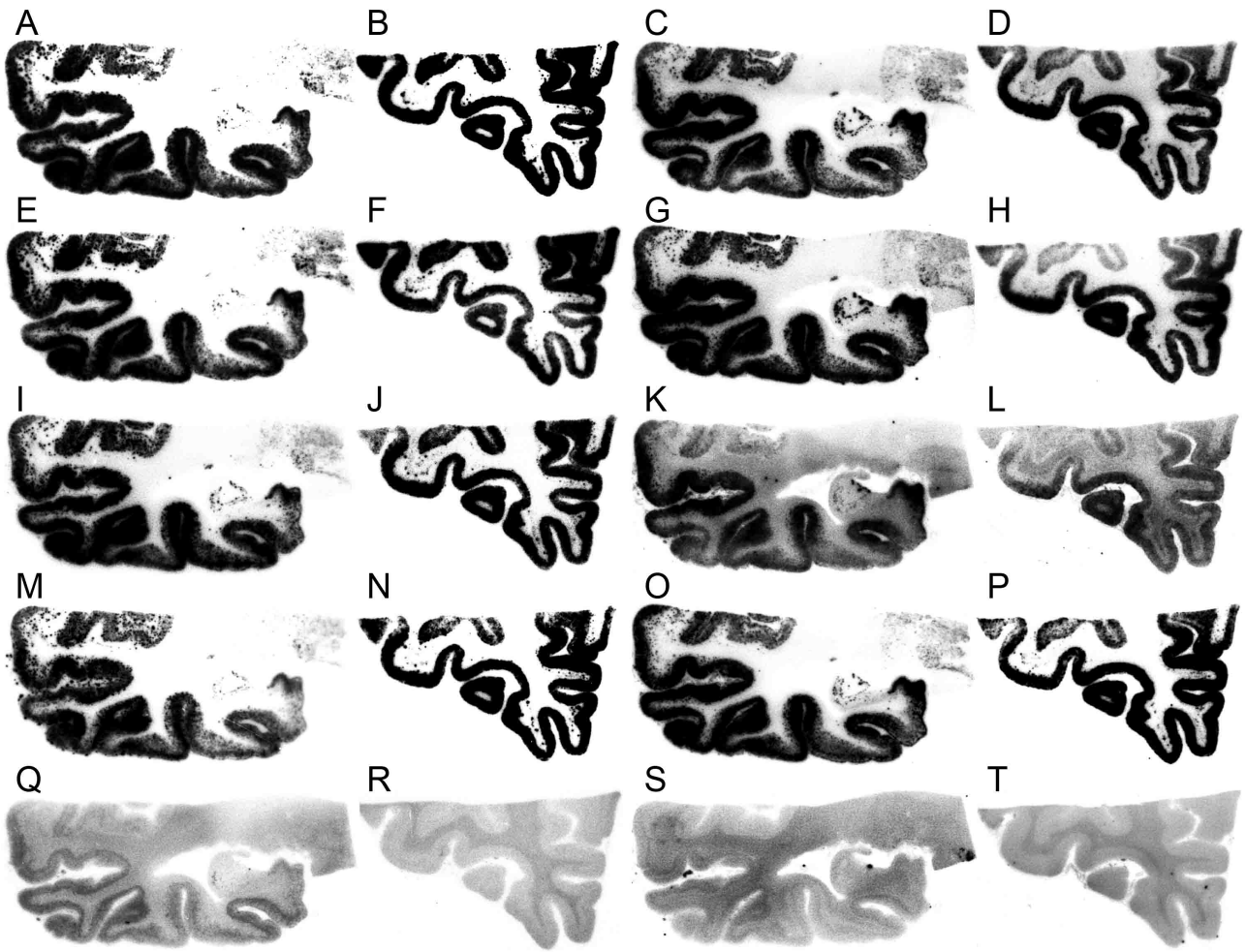


Figure 2-5. Comparison of *in vitro* autoradiography of [¹²⁵I]5:SBTA-2 (A and B), [¹²⁵I]6:PBTA-2 (C and D), [¹²⁵I]23:SBO-2 (E and F), [¹²⁵I]29:PBO-2 (G and H), [¹²⁵I]45:SBF-2 (I and J), [¹²⁵I]46:PBF-2 (K and L), [¹²⁵I]61:SBTH-2 (M and N), [¹²⁵I]62:PBTH-2 (O and P), [¹²⁵I]65:SBI-2 (Q and R), and [¹²⁵I]75:PBI-2 (S and T) in brain sections from the AD patient. A, C, E, G, I, K, M, O, Q, and S are brain sections of temporal lobe. B, D, F, H, J, L, N, P, R, and T are brain sections of frontal lobe. U, V, W are high magnification images of Figure 2-3A, 5Q, and 3B, respectively.

スチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体の脳内挙動の比較

各化合物の脳移行性を評価するために、正常マウスを用いた体内放射能分布実験を行った。その結果を Table 2-2 に示す。それぞれの芳香族ヘテロ環を母核とするスチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体の脳内挙動をまとめて Figure 2-6 に示す。

スチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体は、含有する芳香族ヘテロ環構造の種類によって脳内挙動が大きく異なった。投与後2分と60分における脳内放射能の比(Brain_{2 min/60 min})を比較した結果、ベンゾイミダゾール(Brain_{2 min/60 min} = 9.88~61.5)、ベンゾオキサゾール(Brain_{2 min/60 min} = 1.16~16.5)、ベンゾチアゾール(Brain_{2 min/60 min} = 1.27~12.5)、ベンゾフラン(Brain_{2 min/60 min} = 0.90~4.72)、ベンゾチオフェン(Brain_{2 min/60 min} = 0.70~2.13)を母核とする化合物の順に高かったことから、ベンゾイミダゾールを母核とした化合物群が最も良好な脳内挙動を示すことが明らかとなった。AD患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、タウへの選択的結合性が示された [¹²⁵I]65 ([¹²⁵I]SBI-2)の投与後2分および60分における脳内放射能は、それぞれ Brain_{2 min} = 3.69%ID/g および Brain_{60 min} = 0.06%ID/g であった。それらの値の比(Brain_{2 min/60 min} = 61.5)は、第1章第1節における [¹²⁵I]PDB-3 (Brain_{2 min/60 min} = 0.33)に比べて高い値となったことから、 [¹²⁵I]65 ([¹²⁵I]SBI-2)は PDB-3 に比べて優れた脳内挙動を示すことが明らかとなった。以上の結果より、ベンゾイミダゾールを母核とした [¹²⁵I]65 ([¹²⁵I]SBI-2)は、 [¹²⁵I]PDB-3 に比べてタウへの選択的結合性および優れた脳内挙動を有したため、タウイメージングプローブとして有効である可能性が示された。

また、それぞれの芳香族ヘテロ環構造を母核とするスチリルおよび3-ビニルピリジン誘導体の脳内挙動を比較した結果、ジメチルアミノ基を有するスチリル誘導体(SBTA-1, SBO-1, SBF-1, SBTH-1, SBI-1)に比べて、ジメチルアミノ基を除いたスチリル誘導体(SBTA-2, SBO-2, SBF-2, SBTH-2, SBI-2)およびジメチルアミノ基を有する3-ビニルピリジン誘導体(PBTA-1, PBO-1, PBF-1, PBTH-1, PBI-1)の方が良好な脳内挙動を示す傾向を示した。

さらに、ジメチルアミノ基を除き、かつフェニル基をピリジル基に変更した化合物(PBTA-2, PBO-2, PBF-2, PBTH-2, PBI-2)の脳内挙動は、ジメチルアミノ基を有するスチリル誘導体(SBTA-1, SBO-1, SBF-1, SBTH-1, SBI-1)に比べて著しい脳内挙動の改善を示した。

Table 2-2. Brain uptake of radioactivity after injection of each derivative in normal mice^a, ratio of radioactivity accumulation at 2 and 60 min postinjection, and log P value.

Compound	Time after injection (min)				Brain _{2min/60min}	Log P
	2	10	30	60		
[¹²⁵ I]3 (SBTA-1)	1.49 (0.18)	1.72 (0.28)	1.79 (0.22)	1.41 (0.35)	1.27 ^b	3.15
[¹²⁵ I]4 (PBTA-1)	2.48 (0.36)	2.83 (0.20)	1.96 (0.18)	1.21 (0.27)	2.34 ^c	3.25
[¹²⁵ I]5 (SBTA-2)	2.48 (0.24)	2.78 (0.12)	2.34 (0.27)	1.58 (0.19)	1.76 ^c	3.95
[¹²⁵ I]6 (PBTA-2)	3.75 (0.40)	2.15 (0.11)	0.68 (0.07)	0.30 (0.07)	12.5	3.32
[¹²⁵ I]28 (SBO-1)	2.09 (0.22)	2.01 (0.09)	2.08 (0.16)	1.80 (0.14)	1.16	3.37
[¹²⁵ I]22 (PBO-1)	2.88 (0.10)	3.20 (0.21)	1.93 (0.28)	1.10 (0.08)	2.91 ^c	3.20
[¹²⁵ I]23 (SBO-2)	3.90 (0.17)	3.32 (0.19)	2.67 (0.27)	1.75 (0.18)	2.23	3.95
[¹²⁵ I]29 (PBO-2)	5.61 (0.61)	2.87 (0.31)	0.78 (0.10)	0.34 (0.05)	16.5	3.35
[¹²⁵ I]43 (SBF-1)	1.05 (0.07)	1.15 (0.05)	1.10 (0.12)	1.17 (0.11)	0.90	2.11
[¹²⁵ I]44 (PBF-1)	1.30 (0.15)	1.58 (0.16)	1.42 (0.09)	1.07 (0.21)	1.48 ^c	2.52
[¹²⁵ I]45 (SBF-2)	1.09 (0.09)	1.47 (0.12)	1.44 (0.13)	1.40 (0.14)	1.05 ^c	2.38
[¹²⁵ I]46 (PBF-2)	2.88 (0.22)	2.53 (0.17)	1.38 (0.25)	0.61 (0.11)	4.72	3.13
[¹²⁵ I]59 (SBTH-1)	0.87 (0.07)	0.84 (0.09)	0.93 (0.08)	0.88 (0.09)	1.06 ^b	2.40
[¹²⁵ I]60 (PBTH-1)	1.41 (0.14)	1.86 (0.11)	1.47 (0.07)	1.13 (0.09)	1.65 ^c	2.85
[¹²⁵ I]61 (SBTH-2)	0.98 (0.05)	1.16 (0.09)	1.31 (0.04)	1.40 (0.05)	0.70	2.34
[¹²⁵ I]62 (PBTH-2)	2.41 (0.10)	2.56 (0.23)	1.81 (0.13)	1.20 (0.13)	2.13 ^c	2.95
[¹²⁵ I]64 (SBI-1)	3.36 (0.26)	1.65 (0.18)	0.69 (0.11)	0.34 (0.06)	9.88	2.23
[¹²⁵ I]74 (PBI-1)	2.85 (0.53)	1.22 (0.06)	0.26 (0.04)	0.08 (0.01)	35.6	3.11
[¹²⁵ I]65 (SBI-2)	3.69 (0.23)	1.20 (0.08)	0.18 (0.02)	0.06 (0.01)	61.5	3.25
[¹²⁵ I]75 (PBI-2)	3.21 (0.26)	0.61 (0.08)	0.12 (0.01)	0.06 (0.01)	53.5	3.15

^aEach value was expressed as %ID/g and represents the mean (SD) for 5 animals.

^bExpressed as the Brain_{30 min}/Brain_{60 min} ratio.

^cExpressed as the Brain_{10 min}/Brain_{60 min} ratio.

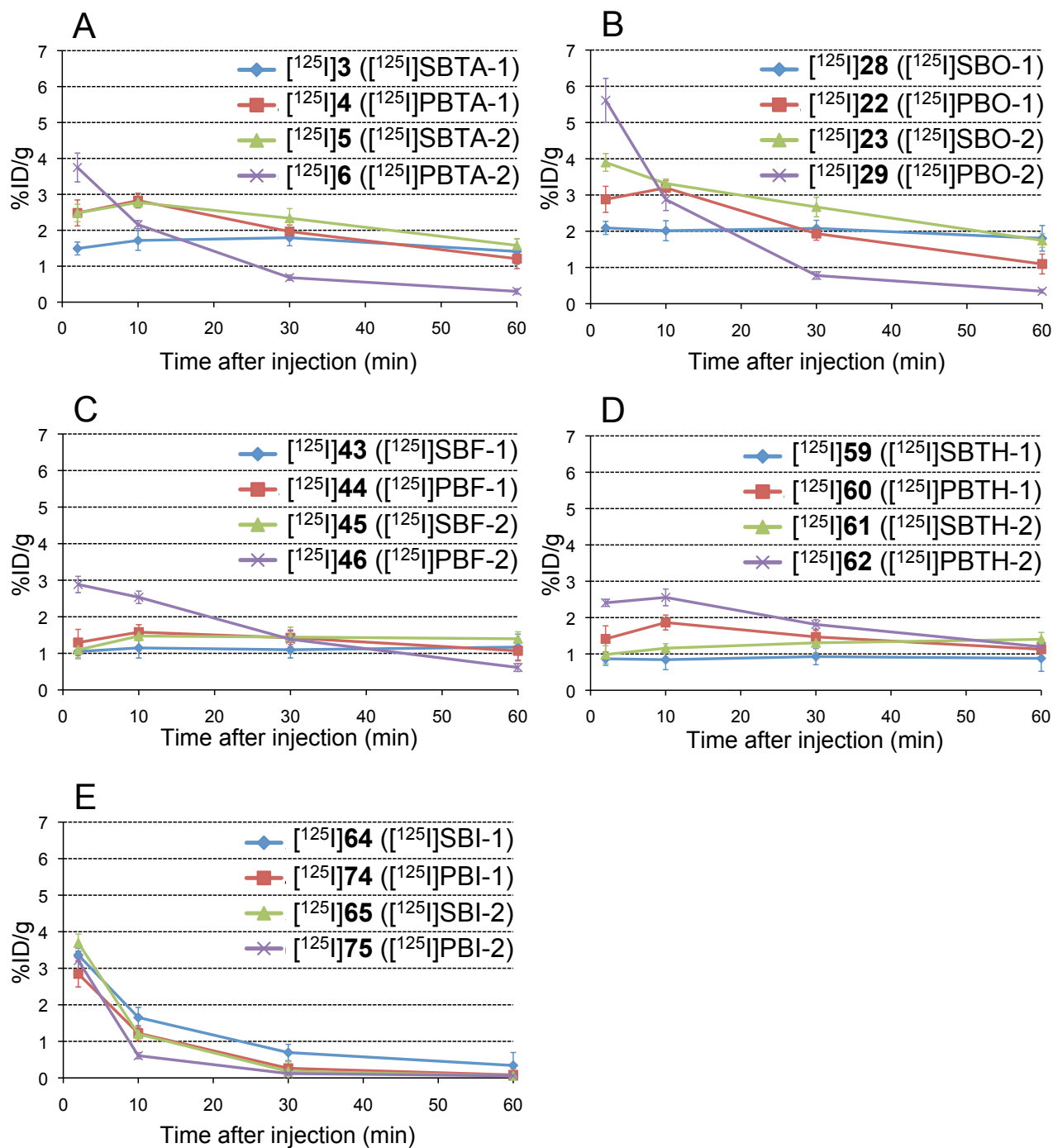


Figure 2-6. Comparison of brain uptake and washout of radioactivity after injection of ^{125}I -labeled benzothiazole (A), benzoxazole (B), benzofuran (C), benzothiophene (D), and benzimidazole (E) substituted styryl and 3-vinyl pyridine derivatives into normal mice ($n = 5$).

$[^{125}\text{I}]\mathbf{65}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$)の正常マウス体内放射能分布実験

正常マウスを用いた $[^{125}\text{I}]\mathbf{65}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$)の体内放射能分布実験を行った。その結果を下に示す(Table 2-3)。投与後2分における腎臓への取り込み(Kidney_{2 min} = 12.3%ID/g)に比べて肝臓への取り込みの方が高く(Liver_{2 min} = 17.1%ID/g)、その後、徐々に肝臓から腸へ排泄される(Intestine_{60 min} = 30.6%ID/g)挙動を示した。また、脱ヨウ素により起こる甲状腺への集積は比較的低かったことから(Thyroid_{60 min} = 0.11%ID)、生体内において著しい脱ヨウ素は起きていないことが示された。

Table 2-3. Biodistribution of radioactivity after injection of $[^{125}\text{I}]\mathbf{65}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$) in normal mice^a

Tissue	Time after injection (min)			
	2	10	30	60
Blood	3.45 (0.31)	1.89 (0.22)	0.89 (0.18)	0.43 (0.06)
Liver	17.1 (2.06)	14.1 (2.88)	5.42 (1.40)	2.65 (0.57)
Kidney	12.3 (0.74)	9.28 (0.43)	4.17 (1.44)	2.30 (1.16)
Intestine	3.87 (1.04)	11.9 (2.70)	18.2 (3.77)	30.6 (1.55)
Spleen	8.65 (3.13)	3.26 (0.10)	0.89 (0.14)	0.72 (0.20)
Pancreas	9.39 (0.89)	3.13 (0.18)	1.55 (1.49)	1.10 (0.72)
Heart	8.58 (0.55)	2.58 (0.20)	1.17 (0.99)	0.35 (0.07)
Lung	14.5 (2.66)	6.64 (1.67)	4.41 (2.21)	2.48 (1.02)
Stomach ^b	1.65 (0.26)	3.01 (1.32)	2.65 (2.05)	2.63 (1.21)
Brain	3.69 (0.23)	1.20 (0.08)	0.18 (0.02)	0.06 (0.01)
Thyroid ^b	0.08 (0.01)	0.04 (0.00)	0.06 (0.01)	0.11 (0.01)

^aEach value represents the mean (SD) for 5 animals.

^bExpressed as % injected dose per organ.

$[^{125}\text{I}]\mathbf{65}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$)の血漿中安定性評価

マウス血漿中における $[^{125}\text{I}]\mathbf{65}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$)の安定性を評価した。マウス血漿中で60分間インキュベートしたサンプルを逆相 HPLC で分析した結果、未変化体のピークのみが検出された(Figure 2-7)。以上の結果より、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{65}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$)は、マウス血漿中において60分まで安定に存在することが示された。

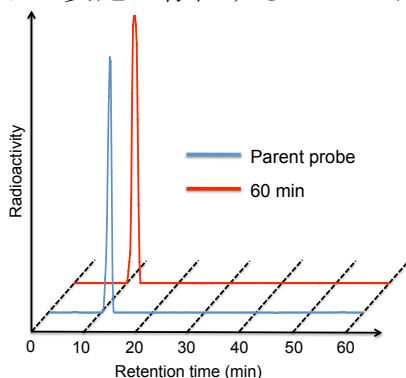


Figure 2-7. HPLC analysis of $[^{125}\text{I}]\mathbf{65}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$) in mouse plasma before (blue line) and after incubation for 60 min (red line) at 37 °C.

2.3. 小括

本章において、PDB-3 のタウへの選択的結合性の向上および脳内挙動の改善を目的とした構造活性相関に関する検討を行った。すなわち、タウへの選択的結合性の向上を目的として、芳香族ヘテロ環構造および置換基であるアミノ基が、タウおよび A β への結合性に与える影響を検証した。また、脳内挙動の改善を目的として、フェニル基をピリジル基に変換した。さらに、毒性が高いことが知られているアゾ基をエテニル基に変換した。以上の分子設計に基づいた、計 20 種類のスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体を設計・合成し、タウイメージングプローブとしての有用性に関する基礎的評価を行い、以下に述べる結果を得た。

- (1) 含有する芳香族ヘテロ環構造および置換基の異なる、計 20 種類のスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体を合成した。
- (2) AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、置換基にジメチルアミノ基を有するスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体は、芳香族ヘテロ環構造の種類による放射能集積に顕著な相違を示さなかった。
- (3) AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、ジメチルアミノ基を除いたスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体は、芳香族ヘテロ環構造の種類による放射能集積に相違が認められ、特に、ベンゾイミダゾールを母核とした [¹²⁵I]65 ([¹²⁵I]SBI-2) は、脳組織切片上のタウの蓄積分布に対応した放射能集積を示した。
- (4) 正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果、ベンゾイミダゾールを母核とした [¹²⁵I]65 ([¹²⁵I]SBI-2) は、投与早期における高い放射能集積およびその後の速やかな脳からの消失を示した。

以上の結果より、ベンゾイミダゾールを母核とした [¹²³I]SBI-2 が、タウイメージングプローブとして有効である可能性が示された。

第3章

ベンゾイミダゾピリジンを母核とした

タウイメージングプローブの開発

第2章において、ベンゾイミダゾールを母核とした SBI-2 (Figure 3-1A)が、タウイメージングプローブとして有効であることが示された。しかし、SBI-2 は AD 脳内に蓄積した A β に比べ、タウに対する選択的結合性を示すとともに、脳白質への非特異的結合が認められた。そこで、本研究ではプローブの脳白質への非特異的結合を抑えることによる脳灰白質と白質とのコントラストの向上を目的として、SBI-2 をリード化合物とした構造最適化を行うこととした。

まず、ヨウ素の導入位置の変化による影響を検討するため、ヨウ素の導入位置をベンゾイミダゾールの6位からフェニル基の4位に変更した SBI-3 (Figure 3-1B)を設計・合成した。また、第2章において、スチリル誘導体はエテニル基の部位に由来する光異性化が起こることが示唆されたことから、この光異性化を防止するために、SBI-2 および SBI-3 のエテニル基の部位を環状化した、ベンゾイミダゾピリジン(BIP)を母核とする BIP-1 (Figure 3-1C) および BIP-2 (Figure 3-1D)を設計・合成した。また、第2章における正常マウスを用いた脳内挙動評価の結果、分子中のジメチルアミノ基を除くことによって脳内挙動の改善が認められた。この要因のひとつとして、アミノ基を除くことによる分子量の低減が考えられた。そこで、プローブの更なる脳内挙動の改善を目的として、分子中のフェニル基を除いた BIP-3 (Figure 3-1E)および BIP-4 (Figure 3-1F)も設計・合成し、第2章と同様の方法を用いて評価した。

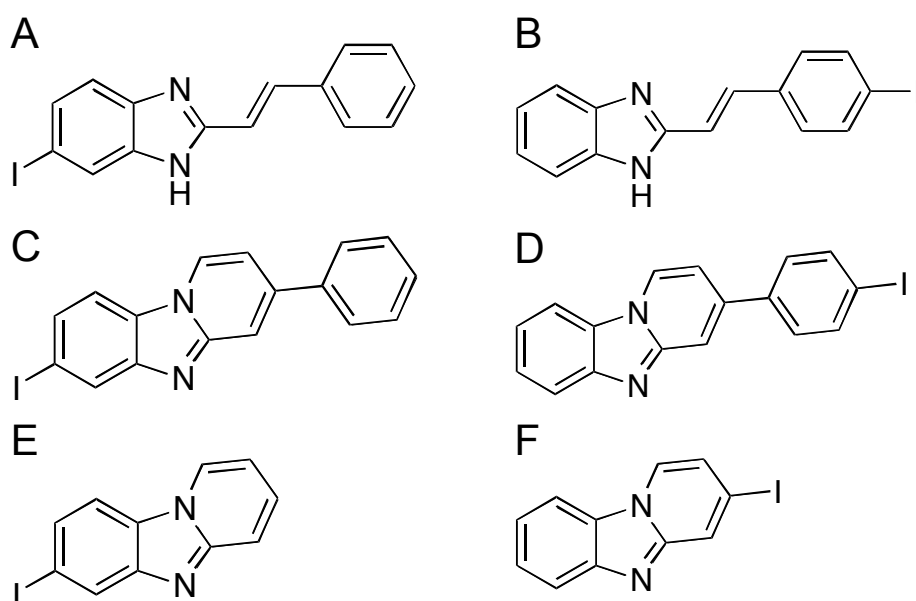


Figure 3-1. Chemical structure of SBI-2 (A), SBI-3 (B), BIP-1 (C), BIP-2 (D), BIP-3 (E), and BIP-4 (F).

3.1 実験方法

試薬・機器

第2章と同じ試薬・機器を使用した。[¹²³I]NaI は、富士 RI ファーマ株式会社から購入したものをを使用した。

SBI-3 の合成

(E)-3-(4-Iodophenyl)acrylaldehyde (1)

4-Iodobenzaldehyde (1.15 g, 4.96 mmol)および(1,3-dioxolan-2-ylmethyl)triphenylphosphonium bromide (4.26 g, 9.91 mmol)をテトラヒドロフラン(50.0 mL)に懸濁させ、NaH (475 mg, 19.8 mmol)および 18-crown-6 (10.0 mg)を加えて室温で2時間攪拌した。反応溶液に NaH (475 mg, 19.8 mmol)を加え、室温で12時間攪拌した。精製水を加えて反応を停止した後、ジエチルエーテル(50.0 mL×3)で抽出した。有機層を減圧留去した後、テトラヒドロフラン(50.0 mL)に溶解し、10%塩酸水溶液(20.0 mL)を加えて室温で6時間攪拌した。反応終了後、ジクロロメタン(100 mL×2)および1 N 水酸化ナトリウム水溶液で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **1** を収量 1.28 g (100%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.40 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.71 (dd, *J* = 15.8, 7.6 Hz, 1H). MS (ESI) *m/z* 259.1 [MH⁺].

(E)-2-(4-Iodostyryl)-1*H*-benzo[*d*]imidazole (2: SBI-3)

1,2-Phenylenediamine (108 mg, 1.00 mmol)および **1** (258 mg, 1.00 mmol)をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解した。ピロ亜硫酸ナトリウム(190 mg, 1.00 mmol)を加えて105 °Cで2時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **2** (SBI-3) を収量 30.0 mg (8.67%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.85 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.67 (dd, *J* = 6.1, 3.2 Hz, 2H), 7.52 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.35 (dd, *J* = 5.8, 2.9 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₅H₁₁IN₂ (M⁺) 345.9967, found 345.9971.

(E)-3-(4-Bromophenyl)acrylaldehyde (3)

4-Bromobenzaldehyde (925 mg, 5.00 mmol)および(1,3-dioxolan-2-ylmethyl)triphenylphosphonium bromide (4.29 g, 10.0 mmol)をテトラヒドロフラン(50.0 mL)に懸濁させ、NaH (480 mg, 20.0 mmol)および 18-crown-6 (20.0 mg)を加えて室温で2時間攪拌した。反応溶液に NaH (480 mg, 20.0 mmol)を加え、室温で12時間攪拌した。精製水を加えて反応を停止した後、ジエチルエーテル(50.0 mL×3)で抽出した。有機層を減圧留去した後、テトラヒドロフラン(50.0 mL)に溶解し、10%塩酸水溶液(20.0 mL)を加えて室温で6時間攪拌した。反

応終了後、ジクロロメタン(100 mL×2)および 1 N 水酸化ナトリウム水溶液で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **3** を収量 491 mg (46.8%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.39-7.44 (m, 3H), 6.70 (dd, *J* = 16.0, 7.6 Hz, 1H).

(E)-2-(4-Bromostyryl)-1H-benzo[d]imidazole (4)

1,2-Phenylenediamine (108 mg, 1.00 mmol)および **3** (210 mg, 1.00 mmol)をジメチルホルムアミド(5.00 mL)に溶解した。ピロ亜硫酸ナトリウム(190 mg, 1.00 mmol)を加えて 105 °C で 2 時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチル(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **4** を収量 120 mg (40.3%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.85 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.67 (dd, *J* = 6.1, 3.2 Hz, 2H), 7.52 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.35 (dd, *J* = 5.8, 2.9 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H). MS (ESI) *m/z* 299.1 [MH⁺].

tert-Butyl (E)-2-(4-bromostyryl)-1H-benzo[d]imidazole-1-carboxylate (5)

4 (192 mg, 0.640 mmol)をトリエチルアミン(5.00 mL)およびジクロロメタン(5.00 mL)に溶解し、DMAP (触媒量)および(Boc)₂O (281 mg, 1.29 mmol)を加えて室温で 2.5 時間攪拌した。反応終了後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **5** を収量 105 mg (41.0%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.86-7.97 (m, 3H), 7.73-7.75 (m, 1H), 7.48-7.51 (m, 4H), 7.31-7.35 (m, 2H), 1.75 (s, 9H). MS (ESI) *m/z* 399.2 [MH⁺].

tert-Butyl (E)-2-(4-(tributylstannyl)styryl)-1H-benzo[d]imidazole-1-carboxylate (6)

5 (105 mg, 0.260 mmol)を 1,4-ジオキサン(5.00 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (264 μL, 0.530 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(131 mg, 0.110 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて、攪拌下、9.5 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/10)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **6** を収量 30.0 mg (18.6%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92-7.96 (m, 3H), 7.73-7.75 (m, 1H), 7.49-7.59 (m, 4H), 7.29-7.37 (m, 2H), 1.76 (s, 9H), 0.88-1.61 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 611.5 [MH⁺].

BIP-1 の合成

2-Bromo-4-phenylpyridine (7)

Dimethylaminoethanol (DMAE, 1.50 mL, 15.0 mmol)をヘキサン(20.0 mL)に溶解し、氷冷下

で攪拌した。 *n*-BuLi (2.5 M hexane solution, 12.0 mL, 30.0 mmol)を氷冷下で少しずつ滴下し、そのまま 30 分間攪拌した。 4-phenylpyridine (776 mg, 5.00 mmol)のヘキサン溶液(30.0 mL)を氷冷下で少しずつ滴下し、そのまま 1 時間攪拌した。 反応溶液を-78 °C に冷却した後、四臭化炭素(6.30 g, 18.0 mmol)のヘキサン溶液(15.0 mL)を少しずつ滴下し、そのまま 50 分間攪拌した。 氷冷下で精製水を加えて反応を停止した後、酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した。 有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **7** を収量 645 mg (55.1%)で得た。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.38 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.66-7.67 (m, 1H), 7.56-7.58 (m, 2H), 7.42-7.49 (m, 4H). MS (ESI) *m/z* 234.1 [MH⁺].

7-Bromo-3-phenylbenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (**8**)

7 (645 mg, 2.75 mmol)をキシレン(30.0 mL)に溶解し、2,4-dibromoaniline (690 mg, 2.75 mmol), ヨウ化銅(I) (105 mg, 0.550 mmol), 炭酸セシウム(2.67 g, 8.26 mmol)および 1,10-phenanthroline (198 mg, 1.10 mmol)を加えた後、攪拌下、24 時間加熱還流した。 反応溶液を室温に戻し、酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した。 有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **8** を収量 78.4 mg (8.80%)で得た。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.47 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.45-7.55 (m, 4H), 7.19 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H). MS (ESI) *m/z* 323.1 [MH⁺].

3-Phenyl-7-(tributylstannyl)benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (**9**)

8 (95.0 mg, 0.294 mmol)を 1,4-ジオキサン(20.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (295 μL, 0.588 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(146 mg, 0.126 mmol)およびトリエチルアミン(16.0 mL)を加えて、攪拌下、3 時間加熱還流した。 反応終了後、溶媒を減圧留去した。 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **9** を収量 26.7 mg (17.0%)で得た。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.48 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.87-7.89 (m, 2H), 7.72 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.44-7.53 (m, 4H), 7.12 (dd, *J* = 7.2, 1.7 Hz, 1H), 0.87-1.63 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 535.4 [MH⁺].

7-Iodo-3-phenylbenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (**10**: BIP-1)

9 (24.7 mg, 0.0463 mmol)をクロロホルム(15.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL)を 1.00 mL 加えて室温で 1.5 時間攪拌した。 飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液で反応を停止した後、クロロホルム(50.0 mL×2)で抽出した。 有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/2)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **10** (BIP-1)を収量 10.3 mg (60.2%)で得た。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.18 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 8.19-8.22 (m, 2H), 7.93-7.99 (m, 3H), 7.66 (dd, *J* = 8.4, 1.4 Hz, 1H), 7.51-7.57 (m, 2H), 7.46-7.51 (m, 2H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₇H₁₁IN₂ (M⁺) 369.9967, found 369.9960.

BIP-2 の合成

3-Bromobenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (11)

2-Bromoaniline (855 mg, 5.00 mmol)をキシレン(5.00 mL)に溶解し, 2,4-dibromopyridine (1.41 g, 6.00 mmol), ヨウ化銅(I) (191 mg, 1.00 mmol), 炭酸セシウム(4.89 g, 15.0 mmol)および 1,10-phenanthroline (360 mg, 2.00 mmol)を加えた後, 攪拌下, 9.5 時間加熱還流した. 反応溶液を室温に戻し, 酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸マグネシウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **11** を収量 615 mg (50.0%)で得た. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.32 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.86-7.90 (m, 2H), 7.56 (dd, *J* = 7.3, 7.3 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 7.3, 7.3 Hz, 1H), 6.96 (dd, *J* = 7.1, 1.8 Hz, 1H). MS (ESI) *m/z* 247.1 [MH⁺].

3-(4-Bromophenyl)benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (12)

11 (123 mg, 0.500 mmol)をトルエン(5.00 mL)およびエタノール(5.00 mL)に溶解し, 4-bromobenzenboronic acid (100 mg, 0.500 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(58.0 mg, 5.00×10⁻² mmol)および炭酸カリウム(14.0 mg, 0.100 mmol)を加えた後, 攪拌下, 11 時間加熱還流した. 反応溶液を室温に戻した後, 酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した後, 無水硫酸マグネシウムで脱水し, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **12** を収量 90.0 mg (55.9%)で得た. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.18 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 8.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.82 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.52 (dd, *J* = 7.3, 7.3 Hz, 1H), 7.37-7.42 (m, 2H). MS (ESI) *m/z* 323.1 [MH⁺].

3-(4-(Tributylstannyl)phenyl)benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (13)

12 (90.0 mg, 0.280 mmol)を 1,4-ジオキサン(5.00 mL)に溶解し, ビス(トリブチルスズ) (280 μL, 0.560 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(139 mg, 0.120 mmol)およびトリエチルアミン(5.00 mL)を加えて, 攪拌下, 5 時間加熱還流した. 反応終了後, 溶媒を減圧留去した. 残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し, 目的物 **13** を収量 70.0 mg (47.0%)で得た. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.46 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.87-7.95 (m, 3H), 7.50-7.68 (m, 5H), 7.36 (dd, *J* = 8.0, 8.0 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J* = 7.1, 1.1 Hz, 1H), 0.88-1.66 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 535.4 [MH⁺].

3-(4-Iodophenyl)benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (14: BIP-2)

13 (70.0 mg, 0.130 mmol)をクロロホルム(30.0 mL)に溶解し, ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL)を 5.00 mL 加えて室温で 1 時間攪拌した. 飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液で反応を停止した後, クロロホルム(100 mL×2)で抽出した. 有機層を飽和食塩水で洗浄した

後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **14** (BIP-2)を収量 10.0 mg (20.6%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.60 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 8.63 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.00-8.04 (m, 3H), 7.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.80 (dd, *J* = 7.1, 7.1 Hz, 1H), 7.68 (dd, *J* = 7.3, 7.3 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₇H₁₁IN₂ (M⁺) 369.9967, found 369.9970.

BIP-3 の合成

7-Bromobenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (**15**)

2,5-Dibromoaniline (1.24 g, 5.00 mmol)をキシレン(5.00 mL)に溶解し、2-bromopyridine (585 μL, 6.00 mmol), ヨウ化銅(I) (190 mg, 1.00 mmol), 炭酸セシウム(4.89 g, 15.0 mmol)および 1,10-phenanthroline (360 mg, 2.00 mmol)を加えた後、攪拌下、22 時間加熱還流した。反応溶液を室温に戻し、酢酸エチル(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **15** を収量 834 mg (67.8%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.12 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.60-7.64 (m, 1H), 7.52 (dd, *J* = 8.7, 1.7 Hz, 1H), 7.06 (dd, *J* = 6.7, 6.7 Hz, 1H). MS (ESI) *m/z* 247.1 [MH⁺].

7-(Tributylstannyl)benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (**16**)

15 (834 mg, 3.39 mmol)を 1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (3.40 mL, 6.78 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(1.69 g, 1.46 mmol)およびトリエチルアミン(10.0 mL)を加えて、攪拌下、6 時間加熱還流した。反応終了後、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **16** を収量 510 mg (32.8%)で得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.46 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.40-7.42 (m, 1H), 6.84 (dd, *J* = 7.0, 7.0 Hz, 1H), 0.87-1.64 (m, 27H). MS (ESI) *m/z* 459.3 [MH⁺].

7-Iodobenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (**17**: BIP-3)

16 (510 mg, 1.11 mmol)をクロロホルム(100 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL)を 10.0 mL 加えて室温で 11 時間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液で反応を停止した後、クロロホルム(100 mL×2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン (1/1)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **17** (BIP-3)を収量 210 mg (64.2%)で得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.10 (dd, *J* = 6.7, 0.9 Hz, 1H), 8.17-8.19 (m, 2H), 7.59-7.70 (m, 3H), 7.05 (dd, *J* = 6.7, 6.7 Hz, 1H). HRMS (EI) *m/z* calcd for C₁₁H₇IN₂ (M⁺) 293.9654, found 293.9660.

BIP-4 の合成

3-(Tributylstannyl)benzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (18)

11 (182 mg, 0.740 mmol)を 1,4-ジオキサン(10.0 mL)に溶解し、ビス(トリブチルスズ) (741 μ L, 1.48 mmol), テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(368 mg, 0.320 mmol)および トリエチルアミン(10.0 mL)を加えて、攪拌下、19.5 時間加熱還流した。反応終了後に溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン(1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **18** を収量 140 mg (41.3%)で得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.29 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 7.76-7.86 (m, 3H), 7.44 (dd, $J = 8.2, 8.2$ Hz, 1H), 7.26 (dd, $J = 8.0, 8.0$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 0.79-1.60 (m, 27H). MS (ESI) m/z 459.3 [MH^+].

3-Iodobenzo[4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridine (19: BIP-4)

18 (140 mg, 0.310 mmol)をクロロホルム(30.0 mL)に溶解し、ヨウ素のクロロホルム溶液 (50.0 mg/mL)を 5.00 mL 加えて室温で 1.5 時間攪拌した。飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液で反応を停止した後、クロロホルム(100 mL \times 2)で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、溶媒を減圧留去した。残渣を酢酸エチル/ヘキサン (1/4)を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物 **19** (BIP-4)を収量 50.0 mg (55.7%)で得た。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.91 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 8.31 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.53 (ddd, $J = 7.1, 7.1, 0.9$ Hz, 1H), 7.39 (ddd, $J = 8.2, 8.2, 0.9$ Hz, 1H), 7.28 (dd, $J = 7.1, 1.6$ Hz, 1H). HRMS (EI) m/z calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{IN}_2$ (M^+) 293.9654, found 293.9652.

^{125}I 標識 SBI-3 の合成

^{125}I 標識には、それぞれの非標識体に対応するトリブチルスズ標識前駆体を用い、スズ-ヨウ素交換反応により標識した。1 N HCl (100 μ L)および 3% H_2O_2 (100 μ L)に ^{125}I NaI (3.7-7.4 MBq, 比放射能 81.4 TBq/mmol)を添加し、標識前駆体のエタノール溶液(1.00 mg/mL, 200 μ L)を加えた。室温で 40 分間反応させた後、TFA (100 μ L)を加え、さらに室温で 20 分間攪拌して脱保護を行った。還元剤として飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液 (200 μ L)を加え、反応を停止した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した後、酢酸エチルで目的物を抽出した。無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後、溶媒を留去した。 ^{125}I 標識したリガンドは、対応する非放射性化合物を標品として逆相 HPLC を用いて精製し、酢酸エチルで目的物を抽出した。無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後、溶媒を留去した。逆相 HPLC 用カラムには、COSMOSIL 5C₁₈-MS-II 4.6 mm I.D. \times 150 mm を使用した。

^{125}I 標識 BIP 誘導体の合成

^{125}I 標識には、それぞれの非標識体に対応するトリブチルスズ標識前駆体を用い、スズ-ヨウ素交換反応により標識した。1 N HCl (100 μ L)および 3% H_2O_2 (100 μ L)に ^{125}I NaI (3.7-7.4 MBq, 比放射能 81.4 TBq/mmol)を添加し、標識前駆体のエタノール溶液あるいは

0.1%酢酸含有メタノール溶液(1.00 mg/mL, 200 μ L)を加えた。室温で 40 分間反応させた後、還元剤として飽和亜硫酸水素ナトリウム水溶液 (200 μ L)を加え、反応を停止した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (200 μ L)を加えて反応液を中和した後、酢酸エチルで目的物を抽出した。無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後、溶媒を留去した。 125 I 標識したリガンドは、対応する非放射性化合物を標品として逆相 HPLC を用いて精製し、酢酸エチルで目的物を抽出した。無水硫酸ナトリウムを充填したカラムを通し脱水した後、溶媒を留去した。逆相 HPLC 用カラムには、COSMOSIL 5C₁₈-AR-II 4.6 mm I.D.×150 mm を使用した。また、 123 I]**17** (123 I]BIP-3)の調製には 123 I]NaI を使用し、同様の方法で標識を行った。

AD 患者剖検脳組織切片を用いた免疫染色

第 2 章と同様の方法を用いて行った。

AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG 実験

AD 患者剖検脳組織切片(76-year-old, male, frontal and temporal lobe, 6 μ m)を, xylene (15 min ×2), 100% EtOH (1 min ×2), 90% EtOH (1 min ×1), 80% EtOH (1 min ×1), 70% EtOH (1 min ×1)および精製水(2.5 min ×2)洗浄をすることで脱パラフィン処理を行った。 125 I]標識各化合物の 10%あるいは 50% EtOH 溶液 (370 kBq/mL)を添加し、室温で 2 時間インキュベートした。50% EtOH 溶液(2 h ×1)で洗浄後、イメージングプレートに 12 時間露光させ、バイオイメージングアナライザーにて分析を行った。**17** (BIP-3)に関しては、MultiGauge を用いて脳組織切片上に集積した放射能を定量解析し、タウおよび A β の免疫染色陽性部位との相関関係を評価した。

SBI-3 および BIP 誘導体の脳内挙動の比較

125 I 標識した各化合物を 10% EtOH および 0.1% Tween 80 を含む生理食塩水で希釈した。1 群 5 匹の 5 週齢 ddY 系雄性マウス(26-28 g)に、尾静脈より 1 匹あたり 25.0-37.5 kBq (100 μ L) の 125 I 標識各化合物体を投与し、2, 10, 30, 60 分後に屠殺、採血後、脳を摘出し、重量と放射能を測定した。また、 125 I]**17** (125 I]BIP-3)に関しては、主要な臓器を摘出し、重量と放射能を測定した。

125 I]**17** (125 I]BIP-3)の血漿中安定性評価

第 2 章と同様の方法を用いて行った。

Log P 値測定

第 2 章と同様の方法を用いて行った。

123 I]**17** (123 I]BIP-3)の血液中代謝物分析

正常マウスとして 5 週齢 ddY 系雄性マウス(26-28 g)を用いた。 123 I]**17** (123 I]BIP-3)の 0.1%

Tween 80 および 10%EtOH を含有した生理食塩水を尾静脈より投与した(3.70 MBq, 100 μ L). 投与後 2 分, 10 分, 30 分後に屠殺し, ヘパリンナトリウム注で内壁をコーティングした試験管に血液を採取した. 血液中の放射能を測定後, 4 $^{\circ}$ C, 4,000 \times g で 5 分間遠心し, 血漿と細胞成分に分離した. 得られた血漿の 2 倍の体積のメタノールを加えてタンパクを変性させ, 4 $^{\circ}$ C, 4,000 \times g で 5 分間遠心した. 得られた上清は, ナカライテスク株式会社製 Cosmonice Filter (S) (0.45 μ m, 4 mm)を通し, 逆相 HPLC によって分析した.

[123 I]17 ([123 I]BIP-3)の脳内代謝物分析

正常マウスとして 5 週齢, 雄性の ddY マウスを用いた. [123 I]17 ([123 I]BIP-3)の 0.1% Tween 80 および 10%EtOH を含有した生理食塩水を尾静脈より投与し(3.70 MBq, 100 μ L), 2 分後に屠殺, 脳を摘出した. メタノール(2.00 mL)および TBS (2.00 mL)を用いてホモジネートを作製し, 4,000 \times g, 4 $^{\circ}$ C で 10 分間遠心分離後, 上清を採取した. 得られた上清は, ナカライテスク株式会社製 Cosmonice Filter (S) (0.45 μ m, 4 mm)を通し, 逆相 HPLC によって分析した.

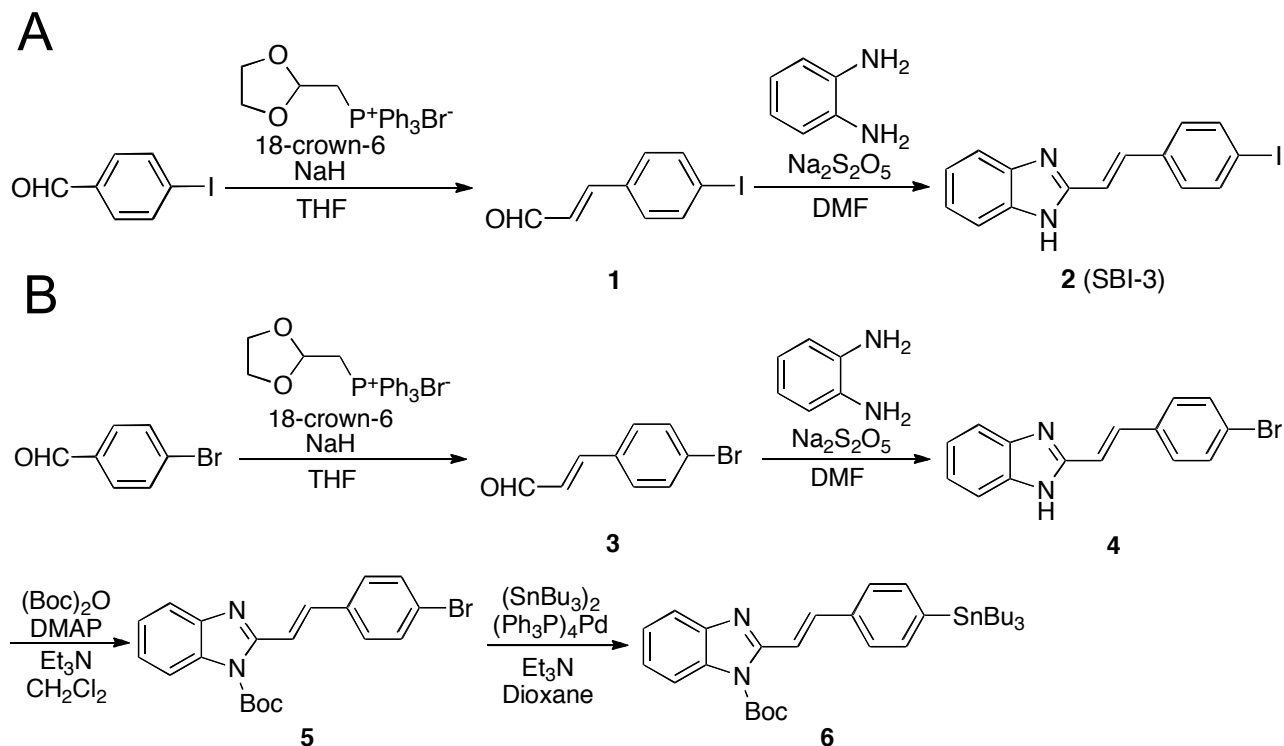
タウ過剰発現モデルマウス(P301S)を用いた SPECT 撮像

FX3300 (FX3300 imager; SII NanoTechnology Inc., Northridge, CA, USA) にて SPECT/CT 撮像を行った. ヒトタウを過剰発現するモデルマウス(P301S⁶⁶, 15-month-old, male)をイソフルランで麻酔し, 10%EtOH 含有生理食塩水に溶解させた [123 I]17 ([123 I]BIP-3) (18.5 MBq/100 μ L) を尾静脈投与した. 投与後 4–34 分間に SPECT 撮像を行った. SPECT 撮像には直径 1.0 mm, 焦点距離 9.0 mm のシングルピンホールコリメーターを使用し, エネルギー幅は 123 I の 159 keV を中心に 20%に設定, 回転半径 35 mm, 回転角度 360 $^{\circ}$, 投影時間 60 秒, 投影回数 32 回にて行った. SPECT 撮像後に CT 撮像(空間分解能 50 μ m, 管電圧 60 kV, 管電流 310 μ A)を行った. SPECT の投影データは 3 次元 ordered-subset expectation maximization (OSEM) 法による画像再構成を行い, CT の投影データはボクセルサイズ 0.177 \times 0.177 \times 0.177 mm での 512 \times 512 \times 512 の画像行列として Feldkamp の再構成法による画像再構成を行った. 3 次元データ解析視覚化用ソフトウェア AMIRA バージョン 5.1 (FEI Company) にて SPECT/CT の画像解析を行った.

3.2. 結果と考察

SBI-3 の合成

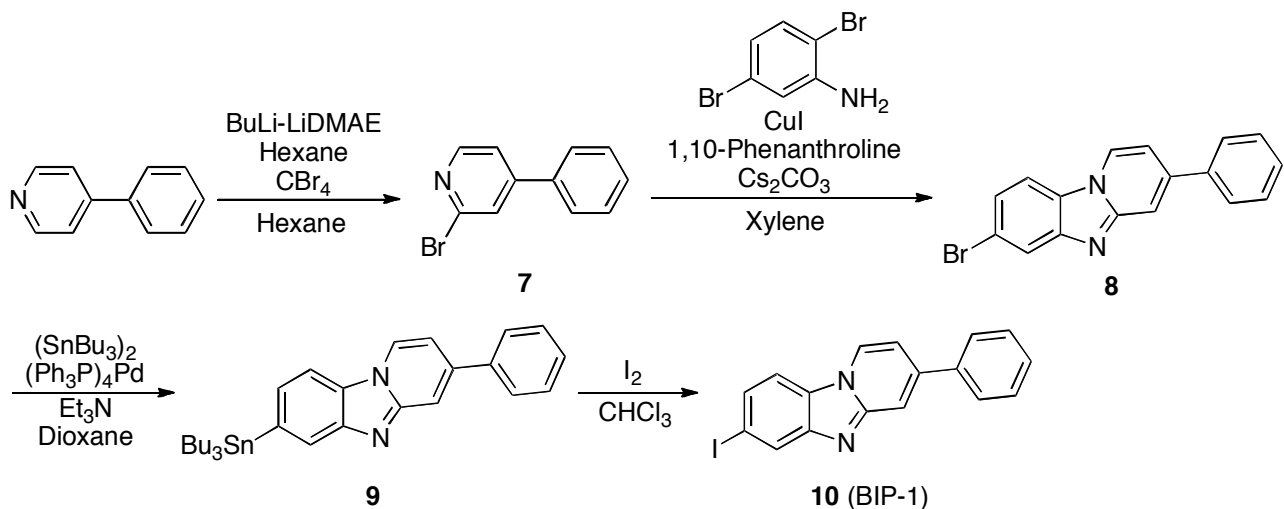
Scheme 3-1A に SBI-3 の合成経路を, Scheme 3-1B に SBI-3 の標識前駆体の合成経路を示す. 2 段階の反応で, 化合物 **2** (SBI-3) を 8.67% の収率で得た. 4 段階の反応で, SBI-3 の標識前駆体を 1.44% の収率で得た.



Scheme 3-1. Synthetic routes for SBI-3 (A) and its precursor (B).

BIP-1 の合成

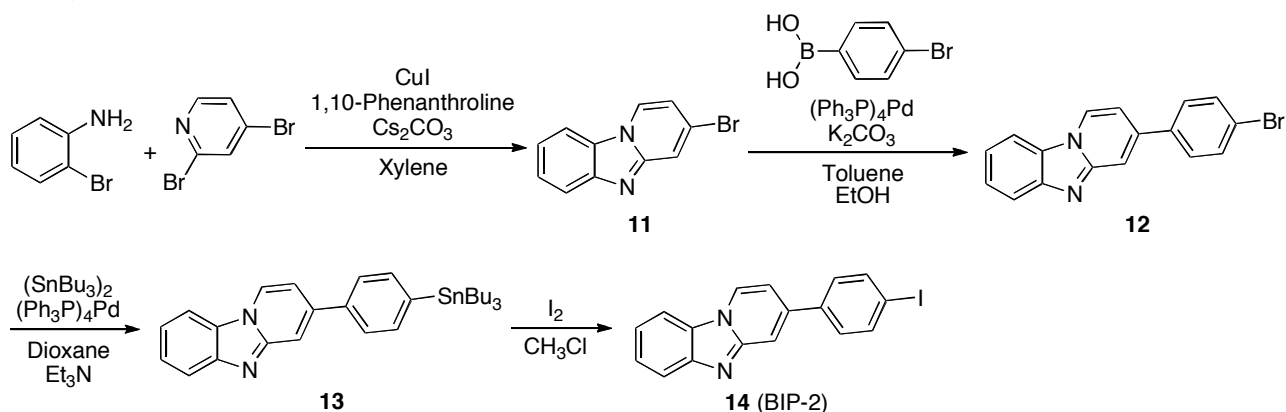
Scheme 3-2 に BIP-1 の合成経路を示す. 4 段階の反応で, 化合物 **10** (BIP-1) を 0.496% の収率で得た.



Scheme 3-2. Synthetic route for BIP-1.

BIP-2 の合成

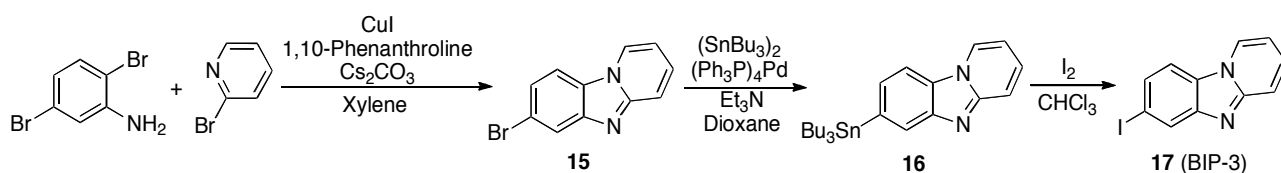
Scheme 3-3 に BIP-2 の合成経路を示す. 4 段階の反応で, 化合物 **14** (BIP-2) を 2.71% の収率で得た.



Scheme 3-3. Synthetic route for BIP-2.

BIP-3 の合成

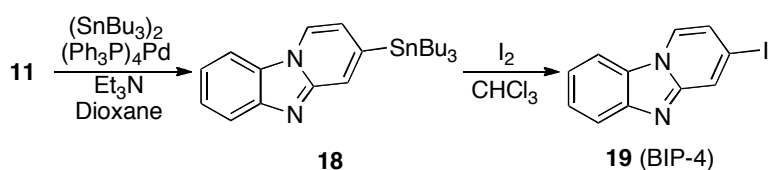
Scheme 3-4 に BIP-3 の合成経路を示す. 3 段階の反応で, 化合物 **17** (BIP-3) を 14.3% の収率で得た.



Scheme 3-4. Synthetic route for BIP-3.

BIP-4 の合成

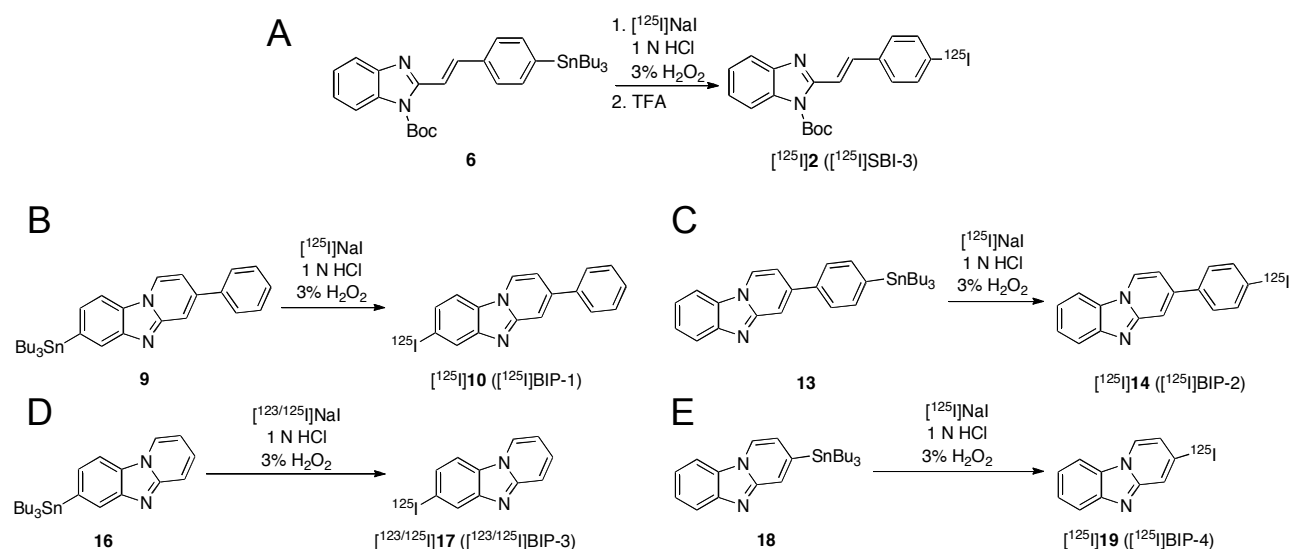
Scheme 3-5 に BIP-4 の合成経路を示す. 3 段階の反応で, 化合物 **19** (BIP-4) を 11.5% の収率で得た.



Scheme 3-5. Synthetic route for BIP-4.

^{125}I 標識 SBI-3 および BIP 誘導体の合成

Scheme 3-6 に各化合物の ^{125}I 標識経路を示す。 ^{125}I 標識は Table 3-1 に示す条件に従った。各化合物を放射化学的収率 45~85%, 放射化学的純度 99%以上で得た。逆相 HPLC の保持時間は Table 3-1 に示す結果となった。スチリル誘導体の分子中のエテニル基に由来すると考えられる光異性化は, ヨウ素の導入位置を変更した ^{125}I **2** (^{125}I SBI-3)にのみ観察されたが, エテニル基の部位を環状化した全ての BIP 誘導体において, 逆相 HPLC による分析時のシグナルピークが 1 本であったことから, 光による異性化は起きていないと考えられた。



Scheme 3-6. Radiolabeling of SBI-3 and BIP derivatives.

Table 3-1. Summary of the solvent used in radiolabeling, HPLC condition used in purification of each compound, and the retention time of each compound.

Compound	Solvent	Mobile Phase	Retention time (min)
2 (SBI-3)	EtOH	MeCN/H ₂ O = 6/4 (0.1% Et ₃ N)	5.22 and 5.98
10 (BIP-1)	EtOH	MeCN/H ₂ O = 6/4	13.5
14 (BIP-2)	MeOH (0.1% AcOH)	MeCN/H ₂ O = 35/65 (0.1% TFA)	6.29
17 (BIP-3)	EtOH	MeCN/H ₂ O = 5/5	8.55
19 (BIP-4)	EtOH	MeCN/H ₂ O = 5/5	7.12

AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG

¹²⁵I 標識した **2** (SBI-3)および BIP 誘導体に関して、AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG を行った。その結果を Figure 3-2 に示す。

SBI-2 のヨウ素の導入位置を変更した **2** (SBI-3)は前頭葉への放射能集積は示さず、タウ蓄積が認められた側頭葉の脳組織切片にのみ集積を示したことから、AD 脳内に蓄積したタウへの選択的結合性を維持していることが示された(Figure 3-2C and 2D)。しかし、SBI-2 と同様(Figure 3-2A and 2B)、脳白質への非特異的結合が高く、ヨウ素の導入位置による脳組織切片上への放射能集積には顕著な相違は認められなかった。

SBI-2 および **2** (SBI-3)のエテニル基の部位を環状化した、ベンゾイミダゾピリジンを母核とする **10** (BIP-1)および **14** (BIP-2)は、いずれも前頭葉の脳組織切片に放射能集積を認めなかったことから、A β への結合親和性は低いことが示された(Figure 3-2F and 2H)。一方で、**10** (BIP-1)および **14** (BIP-2)の側頭葉の脳灰白質への放射能集積は維持されており(Figure 3-2E and 2G)、SBI-2 および **2** (SBI-3)と同様、タウに対する結合親和性を有していることが示された。また、これらの化合物は脳白質への非特異的結合が低く、その結果、SBI-2 および **2** (SBI-3)と比べて灰白質と白質とのコントラストが高い画像を得ることに成功した。さらに、フェニル基を除いた **17** (BIP-3)および **19** (BIP-4)においても、**10** (BIP-1)および **14** (BIP-2)と同等の画像を得たことから(Figure 3-2I, 2J, 2K, and 2L)、フェニル基がタウへの結合親和性に与える影響は小さいことが示された。

17 (BIP-3)によって得られた側頭葉における *in vitro* ARG の拡大画像を、タウおよび A β の免疫染色画像と比較した結果、**17** (BIP-3)の側頭葉における脳組織切片上への放射能集積(Figure 3-2N)は、A β の蓄積(Figure 3-2O)に比べて、タウの蓄積(Figure 3-2M)に対応したことから、**17** (BIP-3)が AD 脳内に蓄積したタウを明瞭に描出していることが明らかとなった。

以上の結果より、ベンゾイミダゾピリジン骨格を有する BIP 誘導体は、スチリルベンゾイミダゾール骨格と同様、A β に比べてタウに対する選択的結合性を有しており、さらに、白質への非特異的集積が低かったことから、タウイメージングプローブの骨格として有望である可能性が示された。

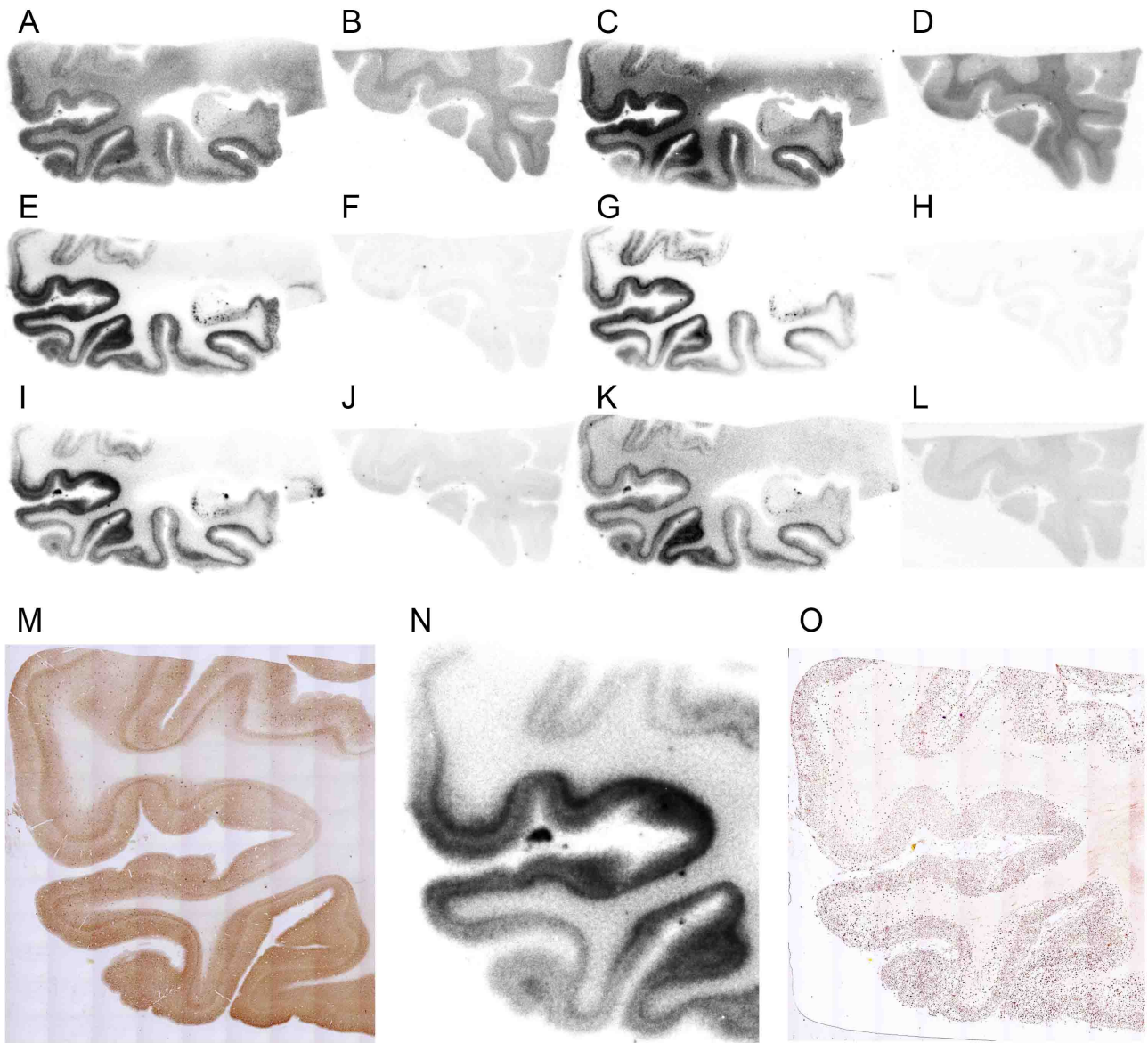


Figure 3-2. Comparison of *in vitro* autoradiography of [¹²⁵I]SBI-2 (A and B), [¹²⁵I]2:SBI-3 (C and D), [¹²⁵I]10:BIP-1 (E and F), [¹²⁵I]14:BIP-2 (G and H), [¹²⁵I]17:BIP-3 (I and J), and [¹²⁵I]19:BIP-4 (K and L) in brain sections of the AD patient. A, C, E, G, I, and K are brain sections of temporal lobe and B, D, F, H, J, and L are brain sections of frontal lobe. M, N, O are high magnification images of Figure 2-3A, Figure 3-2I, and Figure 2-3B, respectively.

AD 患者剖検脳組織切片を用いた $[^{125}\text{I}]\text{17}$ ($[^{125}\text{I}]\text{BIP-3}$)による *in vitro* ARG の定量評価および免疫染色陽性部位との比較

$[^{125}\text{I}]\text{17}$ ($[^{125}\text{I}]\text{BIP-3}$)による *in vitro* ARG で得られた脳組織切片上への放射能集積を定量し、タウおよびA β の免疫染色結果との相関を詳細に評価した。

前頭葉を①帯状回, ②直回, ③眼窩回, ④下前頭回の4箇所, 側頭葉を⑤横側頭回, ⑥上側頭回, ⑦中側頭回, ⑧下側頭回, ⑨海馬傍回, ⑩海馬の6箇所に分類した(Figure 3-3A and 3B). タウおよびA β の免疫染色陽性部位が各部位の全体の面積に占める割合を算出した結果, 前頭葉にはA β のみが蓄積していることが定量的に示された(Figure 3-3C, ①~④, red column). 一方で, 側頭葉には, A β に比べてタウの免疫染色陽性部位の割合の方が高いことが示された(Figure 3-3C, ⑤~⑩, blue and red column). タウおよびA β の免疫染色陽性部位の割合と $[^{125}\text{I}]\text{17}$ ($[^{125}\text{I}]\text{BIP-3}$)の放射能集積を比較した結果, $[^{125}\text{I}]\text{17}$ ($[^{125}\text{I}]\text{BIP-3}$)は, 前頭葉への放射能集積は低く(Figure 3-3C, ①~④, green column), 側頭葉への放射能集積は前頭葉の放射能集積に比べて高かったことから(Figure 3-3C, ⑤~⑩, green column), $[^{125}\text{I}]\text{17}$ ($[^{125}\text{I}]\text{BIP-3}$)の脳組織切片上への放射能集積は, A β に比べてタウの蓄積割合に相関していることが示された。

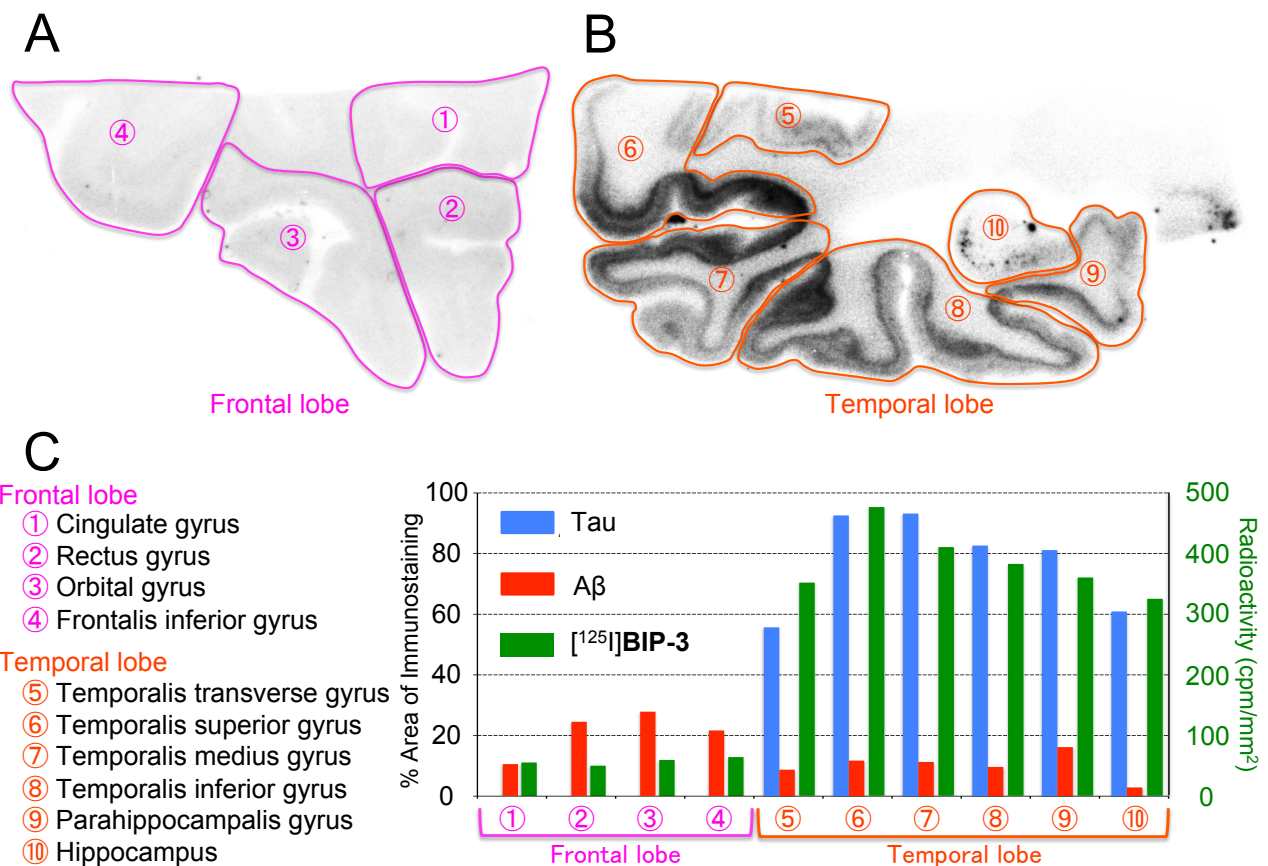


Figure 3-3. *In vitro* autoradiography of $[^{125}\text{I}]\text{17}$ ($[^{125}\text{I}]\text{BIP-3}$) in frontal lobe (A) and temporal lobe (B) sections from the AD patient. Radioactivity of $[^{125}\text{I}]\text{17}$ ($[^{125}\text{I}]\text{BIP-3}$) accumulated in frontal and temporal lobe sections (green column) and percent areas of immunohistochemical staining for tau (blue column) and A β (red column) in the same region (C).

2 (SBI-3)および BIP 誘導体の脳内挙動の比較

各化合物の脳移行性を評価するために、正常マウスを用いた体内放射能分布実験を行った。その結果を Table 3-2 および Figure 3-4 に示す。2 (SBI-3)および全ての BIP 誘導体は、SBI-2 と同様、投与早期における高い脳移行性およびその後の脳からの速やかな消失を示した。なかでも、2 (SBI-3)および 17 (BIP-3)の投与後 2 分における脳内放射能(Brain_{2 min})は、それぞれ 4.58%ID/g および 4.74%ID/g であり、リード化合物である SBI-2 (Brain_{2 min} = 3.69%ID/g)に比べて高い値であった。特に、17 (BIP-3)は、投与後 2 分および 60 分における脳内放射能の比(Brain_{2 min/60 min} = 79.0)が、SBI-2 (Brain_{2 min/60 min} = 61.5)に比べて高かったことから、SBI-2 をさらに上回る良好な脳内挙動を有することが示された。

Table 3-2. Brain uptake of radioactivity after injection of each derivative into normal mice^a, ratio of radioactivity accumulation at 2 and 60 min postinjection, and log P value.

Compound	Time after injection (min)				Brain _{2min} /Brain _{60min}	Log P
	2	10	30	60		
[¹²⁵ I]74 ^b ([¹²⁵ I]SBI-2)	3.69 (0.23)	1.20 (0.08)	0.18 (0.02)	0.06 (0.01)	61.5	3.25
[¹²⁵ I]2 ([¹²⁵ I]SBI-3)	4.58 (0.23)	1.89 (0.32)	0.48 (0.05)	0.28 (0.03)	16.4	1.45
[¹²⁵ I]10 ([¹²⁵ I]BIP-1)	3.51 (0.20)	2.14 (0.21)	0.65 (0.06)	0.23 (0.03)	15.3	2.64
[¹²⁵ I]14 ([¹²⁵ I]BIP-2)	2.73 (0.37)	1.73 (0.39)	0.57 (0.07)	0.26 (0.05)	10.5	2.61
[¹²⁵ I]17 ([¹²⁵ I]BIP-3)	4.74 (0.57)	0.65 (0.07)	0.12 (0.01)	0.06 (0.01)	79.0	3.22
[¹²⁵ I]19 ([¹²⁵ I]BIP-4)	2.37 (0.18)	0.36 (0.05)	0.09 (0.01)	0.06 (0.01)	39.5	2.35

^aEach value was expressed as %ID/g and represents the mean (SD) for 5 animals.

^bReferred to the chapter 2.

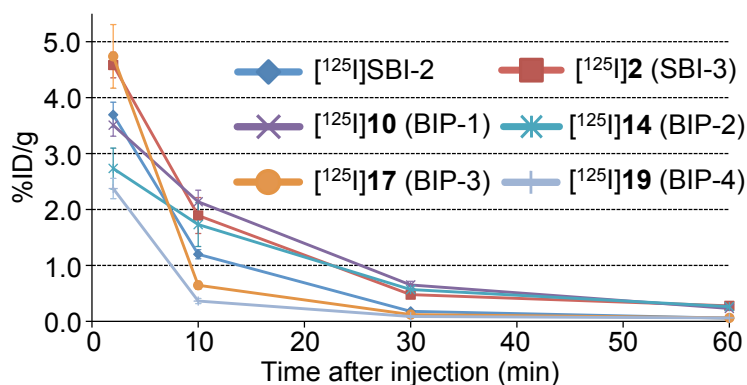


Figure 3-4. Comparison of brain uptake and washout of radioactivity after injection of each ¹²⁵I-labeled derivative into normal mice (n = 5).

[¹²⁵I]17 ([¹²⁵I]BIP-3)の正常マウス体内放射能分布実験

正常マウスを用いた[¹²⁵I]17 ([¹²⁵I]BIP-3)の体内放射能分布実験を行った。その結果をTable 3-3に示す。投与後2分における腎臓への取り込み(Kidney_{2 min} = 23.7%ID/g)と肝臓への取り込み(Liver_{2 min} = 19.9%ID/g)は同程度であった。その後、徐々に肝臓から腸へ排泄される(Intestine_{60 min} = 29.4%ID/g)挙動を示した。また、脱ヨウ素により起こる甲状腺への集積は比較的低かったことから(Thyroid_{60 min} = 0.22%ID)、生体内において著しい脱ヨウ素は起きていないことが示された。

Table 3-3. Biodistribution of radioactivity after injection of [¹²⁵I]17 ([¹²⁵I]BIP-3) into normal mice^a

Tissue	Time after injection (min)			
	2	10	30	60
Blood	5.20 (0.44)	2.94 (0.41)	1.30 (0.16)	1.11 (0.53)
Liver	19.9 (1.39)	14.4 (2.14)	6.29 (0.45)	5.25 (0.95)
Kidney	23.7 (2.44)	12.2 (1.55)	10.3 (5.11)	8.99 (4.47)
Intestine	5.41 (0.62)	11.6 (2.43)	21.4 (5.69)	29.4 (7.49)
Spleen	4.76 (0.39)	1.34 (0.28)	0.58 (0.16)	0.71 (0.11)
Pancreas	5.36 (0.91)	1.49 (0.47)	0.78 (0.47)	0.75 (0.30)
Heart	7.66 (1.21)	1.66 (0.75)	0.97 (0.26)	0.83 (0.24)
Lung	29.7 (4.63)	6.32 (1.16)	1.91 (0.29)	1.45 (0.23)
Stomach ^b	2.70 (0.56)	6.73 (1.64)	5.34 (1.26)	4.42 (2.43)
Brain	4.74 (0.57)	0.65 (0.07)	0.12 (0.01)	0.06 (0.01)
Thyroid ^b	0.09 (0.03)	0.06 (0.02)	0.13 (0.03)	0.22 (0.03)

^aEach value represents the mean (SD) for 5 animals.

^bExpressed as % injected dose per organ.

[¹²⁵I]17 ([¹²⁵I]BIP-3)の血漿中安定性評価

マウス血漿中における[¹²⁵I]17 ([¹²⁵I]BIP-3)の安定性を評価した。マウス血漿中で60分間インキュベートしたサンプルを逆相 HPLC で分析した結果、未変化体のシグナルピークのみが検出された(Figure 3-5)。以上の結果より、[¹²⁵I]17 ([¹²⁵I]BIP-3)は、マウス血漿中において60分まで安定に存在することが示された。

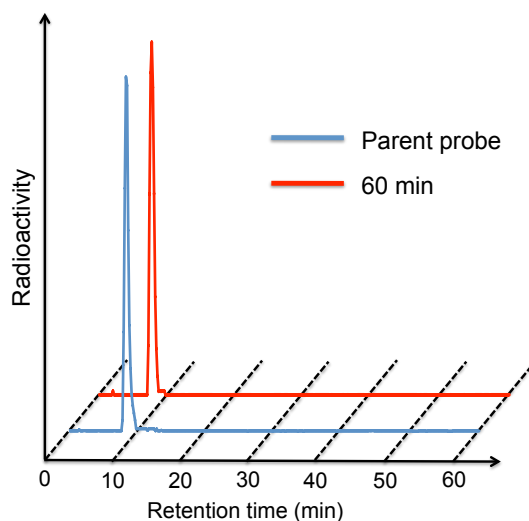


Figure 3-5. HPLC analysis of [¹²⁵I]17 ([¹²⁵I]BIP-3) in mouse plasma before (blue line) and after incubation for 1 h (red line) at 37 °C.

[¹²³I]17 ([¹²³I]BIP-3)の血液中代謝物分析

[¹²³I]17 ([¹²³I]BIP-3)をマウスに投与後、血液中に存在する放射性代謝物を逆相 HPLC によって分析した。その結果を Figure 3-6 および Table 3-4 に示す。[¹²³I]17 ([¹²³I]BIP-3)は、マウスに投与後、未変化体に比べて水溶性の高い代謝物が生成することが示された(Figure 3-6)。また、未変化体は Table 3-4 に示す割合で血液中に存在していた。

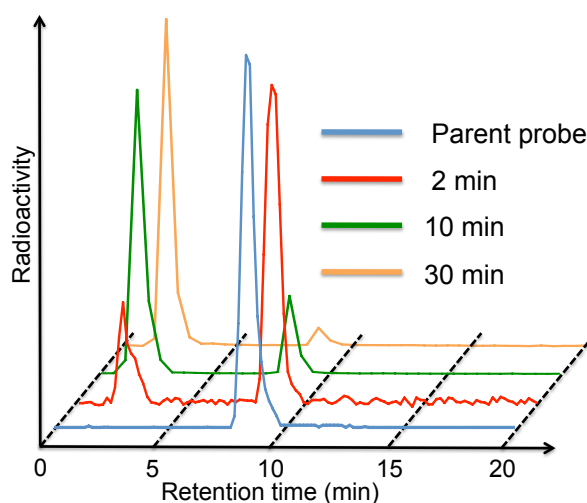


Figure 3-6. HPLC analysis of radioactivity in blood after injection of [¹²³I]17 ([¹²³I]BIP-3) into ddY mice.

Tabel 3-4 Percentages of the parent probe in blood at 2, 10, and 30 min postinjection into ddY mice.

Time after injection (min)	Percentages of the parent probe
2	83.1 ± 7.7
10	23.6 ± 2.2
30	8.4 ± 1.1

^aValues are the mean ± standard error for three independent experiments.

¹²³I]17 ([¹²³I]BIP-3)の脳内代謝物分析

[¹²³I]17 ([¹²³I]BIP-3)をマウスに投与後、脳内に存在する代謝物を逆相 HPLC によって分析した。その結果を Figure 3-7 に示す。脳ホモジネートを逆相 HPLC によって分析した結果、未変化体のシグナルピークのみが検出されたことから、[¹²³I]17 ([¹²³I]BIP-3)は、マウス脳内において安定に存在していることが示された。また、血液サンプル中において検出された代謝物は、脳へ移行しないことが示された。

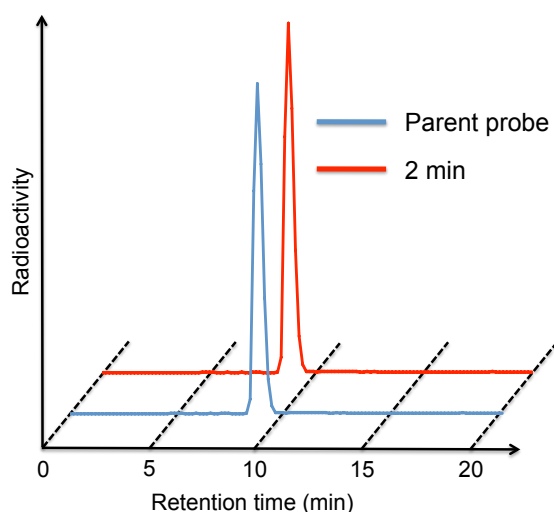


Figure 3-7. HPLC analysis of radioactivity in the brain homogenate at 2 min postinjection of [¹²³I]17 ([¹²³I]BIP-3) into ddY mice.

タウ過剰発現モデルマウス(P301S)を用いた SPECT 撮像

タウ過剰発現モデルマウスである P301S マウス(15-month-old, male)および同月齢の野生型マウスを用いた SPECT/CT 撮像を行い, $[^{123}\text{I}]\mathbf{17}$ ($[^{123}\text{I}]\text{BIP-3}$)の SPECT 用タウイメージングプローブとしての有用性についての評価を行った. その結果を Figure 3-8 に示す. P301S マウスの脳への $[^{123}\text{I}]\mathbf{17}$ ($[^{123}\text{I}]\text{BIP-3}$)の放射能集積は, 同月齢の野生型マウスの脳への放射能集積に比べて高かった. この結果より, $[^{123}\text{I}]\mathbf{17}$ ($[^{123}\text{I}]\text{BIP-3}$)は, マウス脳内に蓄積したタウの *in vivo* イメージングに応用可能であることが示唆された.

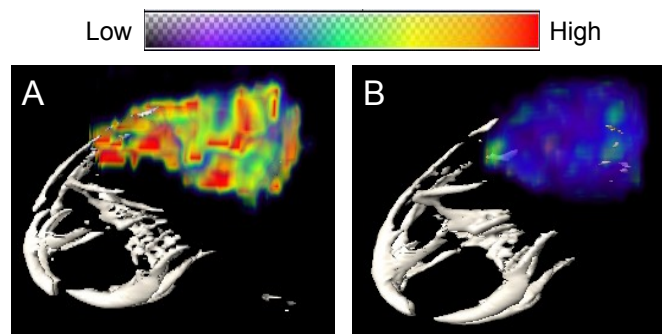


Figure 3-8. SPECT/CT images after injection of $[^{123}\text{I}]\mathbf{17}$ ($[^{123}\text{I}]\text{BIP-3}$) into a P301S mouse (A), and a wild-type mouse (B)

既存のタウイメージングプローブとの比較

本研究で開発した BIP-3 と既報のタウイメージングプローブを比較した結果をまとめて Table 3-5 に示す. 既報のタウイメージングプローブとして, [¹⁸F]THK-5105, [¹⁸F]THK-5117, [¹⁸F]T807, [¹⁸F]T808, [¹¹C]PBB3 が挙げられる. 現在, これらのタウイメージングプローブを用いた臨床研究が開始されているが, いずれも PET 用タウイメージングプローブであり, 今後, 患者数の増加が予測される AD の診断に対応するためには, より汎用性の高い SPECT 用タウイメージングプローブの方が好ましい. この汎用性の観点において, ¹²³I を標識核種とする SPECT 用タウイメージングプローブである [¹²³I]BIP-3 は, 既報の PET 用タウイメージングプローブと比較して大きな利点を有している. また, [¹²³I]BIP-3 の標識に要する工程は 1 段階であるが, その他のプローブはいずれも 2 段階であり, [¹²³I]BIP-3 に比べて標識に煩雑な操作を要する. また, AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において, [¹¹C]PBB3 を除く全てのタウイメージングプローブは, 選択的に AD 脳内に蓄積したタウを描出し, そのタウ描出画像には顕著な相違は認められなかった. さらに, 正常マウス脳内からの消失の指標である Brain_{2 min/60 min} を比較した結果, [¹²³I]BIP-3 が最も高い値を示したことから, [¹²³I]BIP-3 が他のプローブよりも良好な脳内挙動を有している可能性が示された. また, [¹⁸F]T808 は生体内における分子中からの放射性フッ素の脱離が起きることが, [¹¹C]PBB3 はエテニル基に由来すると考えられる光異性化が起きることが問題となっているが, [¹²³I]BIP-3, [¹⁸F]THK-5105, [¹⁸F]THK-5117 および [¹⁸F]T807 は生体内における分子中からの標識核種の顕著な脱離は認められなかった.

以上の結果より, [¹²³I]BIP-3 は, 既報のタウイメージングプローブと比べて優れた性能を有している可能性が示された.

Table 3-5. Comparison of the characters of [¹²³I]BIP-3 with those of other tau imaging probes reported previously.

Compound	Modality	Radiolabeling	<i>in vitro</i> ARG	Brain _{2min/60min}	Stability
[¹²³ I]BIP-3 (This work)	SPECT	1 step	Bind to tau selectively	79.0	Not observe deiodination
[¹⁸ F]THK-5105 ^{30, 31}	PET	2 steps	Bind to tau selectively	9.20	Not observe defluorination
[¹⁸ F]THK-5117 ³¹	PET	2 steps	Bind to tau selectively	23.3	Not observe defluorination
[¹⁸ F]T807 ^{32, 33}	PET	2 steps	Bind to tau selectively	7.17 ^a	Not observe defluorination
[¹⁸ F]T808 ^{34, 35}	PET	2 steps	Bind to tau selectively	2.91 ^b	Observe defluorination
[¹¹ C]PBB3 ^{36, 37}	PET	2 steps	Bind to both Aβ and tau	64.0	Observe photoisomerization

^aExpressed as Brain_{5 min/30 min}.

^bExpressed as Brain_{2.5 min/20 min}.

3.3 小括

本章において、前章で示した SBI-2 より高性能なタウイメージングプローブの開発を目的として、SBI-2 をリード化合物とした構造最適化を行った。そのため、ヨウ素の導入位置をベンゾイミダゾールの 6 位からフェニル基の 4 位に変更した SBI-3 を設計・合成した。また、スチリル誘導体で認められた光異性化の防止、脳内挙動の改善を期待した分子設計を基づく、ベンゾイミダゾピリジン(BIP)誘導体を合成した。それらのタウイメージングプローブとしての有用性に関する評価を行い、以下に述べる結果を得た。

- (1) SBI-2 をリード化合物として、ヨウ素の導入位置を変更した **2** (SBI-3) およびエテニル基の部位を環状化した 4 種のベンゾイミダゾピリジン(BIP)誘導体を新たに設計・合成した。
- (2) AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{2}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-3}$) はタウに対する選択的結合性を示したが、 $[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$ と同様、脳白質への非特異的集積が高く、ヨウ素の導入位置による放射能集積に顕著な相違は認められなかった。
- (3) AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、全てのベンゾイミダゾピリジン誘導体は、タウに対する選択的結合性を有していた。さらに、これらの化合物は脳白質への非特異的集積の低かったため、SBI-2 に比べて灰白質と白質とのコントラストが高い、明瞭なタウ描出画像を得ることに成功した。
- (4) 正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果 $[^{125}\text{I}]\mathbf{2}$ ($[^{125}\text{I}]\text{SBI-3}$) およびすべての $[^{125}\text{I}]$ 標識 BIP 誘導体は、投与早期における高い放射能集積およびその後の速やかな脳からの消失を示し、特に、 $[^{125}\text{I}]\mathbf{17}$ ($[^{125}\text{I}]\text{BIP-3}$) は $[^{125}\text{I}]\text{SBI-2}$ を上回る良好な脳内挙動を示した。

以上の結果より、ベンゾイミダゾピリジンを母核とした $[^{123}\text{I}]\text{BIP-3}$ が、タウイメージングプローブとして機能する可能性が示された。

結語

本研究では、AD 脳内タウ凝集体を標的とした核医学分子イメージングプローブの開発を行い、以下に述べる知見を得た。

1. タウ凝集阻害剤であるフェニルジアゼニルベンゾチアゾール(PDB)骨格を母核とした 3 種の PDB 誘導体を設計・合成し、新規 SPECT 用タウイメージングプローブとしての有用性に関する基礎的評価を行った。リコンビナントタウおよび A β 凝集体を用いた結合親和性評価の結果、全ての PDB 誘導体はタウへの高い結合親和性を示し、特に、ジメチルアミノ基を有する PDB-3 は、3 種の PDB 誘導体の中で最も高いタウへの結合親和性および A β との選択的結合性を示した。AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、 ^{125}I PDB-3 は A β への結合性も示したものの、脳組織に蓄積したタウへの結合親和性を示した。AD 患者剖検脳組織切片を用いた PDB-3 による蛍光染色実験の結果、ThS による蛍光染色画像と一致する、明瞭なタウ描出画像を得た。正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果、全ての PDB 誘導体は脳移行性を示したものの、経時的な脳内放射能滞留が認められた。以上の結果より、A β との選択的結合性および脳内挙動を改善するための分子修飾が必要ではあるが、 ^{123}I PDB-3 が新規 SPECT 用タウイメージングプローブとしての基礎的性質を有することが明らかとなった。
2. PDB 誘導体の脳内挙動の改善を目的とした 3 種の FPPDB 誘導体を合成し、新規 PET 用タウイメージングプローブとしての有用性に関する基礎的評価を行った。リコンビナントタウおよび A β 凝集体を用いた結合親和性評価の結果、PDB 誘導体と同様、ジメチルアミノ基を有する FPPDB-3 は、3 種の FPPDB 誘導体の中で最も高いタウへの結合親和性および A β との選択的結合性を示した。AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、 ^{18}F FPPDB-3 は A β への結合性も示したものの、脳組織切片上のタウへの結合性を維持していた。AD 患者剖検脳組織切片を用いた FPPDB-3 による蛍光染色実験の結果、ThS による蛍光染色画像と一致する、明瞭なタウ描出画像を得た。正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果、全ての FPPDB 誘導体は PDB 誘導体に比べて高い脳移行性を示し、その後の脳内から消失を示した。以上の結果より、PDB 誘導体と同様、A β との選択的結合性を向上させるための分子修飾が必要ではあるが、PDB-3 に比べて脳内挙動が改善した ^{18}F FPPDB-3 が新規 PET 用タウイメージングプローブとしての基礎的性質を有することが明らかとなった。
3. PDB-3 のタウへの選択的結合性の向上および脳内挙動の改善を目的とした構造活性相関に関する検討を行った。タウへの選択的結合性の向上を目的として、芳香族ヘテロ環構造および置換基であるアミノ基に注目した。また、脳内挙動の改善を目的として、フェ

ニル基をピリジル基に、さらに、毒性の高いアゾ基をエテニル基に変換した。以上の分子設計に基づいた計 20 種類のスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体を設計・合成し、タウイメーキングプローブとしての有用性に関する基礎的評価を行った。AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、置換基にジメチルアミノ基を有するスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体は、芳香族ヘテロ環構造の種類による放射能集積に顕著な相違を認めなかった。一方で、ジメチルアミノ基を除いたスチリルおよび 3-ビニルピリジン誘導体は、芳香族ヘテロ環構造の種類による放射能集積に相違が認められ、特に、ベンゾイミダゾールを母核とした^[125I]SBI-2 は、脳組織切片上のタウの蓄積分布に対応した放射能集積を示した。正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果、^[125I]SBI-2 は、投与早期における高い放射能集積およびその後の速やかな脳からの消失を示した。以上の結果より、^[123I]SBI-2 が、タウイメーキングプローブとして有効である可能性が示された。

4. ベンゾイミダゾールを母核とした SBI-2 の光異性化の防止および脳白質への集積を抑えることを目的として、SBI-2 をリード化合物とした更なる構造最適化を行った。ヨウ素の導入位置を変更した SBI-3 および 4 種のベンゾイミダゾピリジン(BIP)誘導体を新たに合成した。AD 患者剖検脳組織切片を用いた *in vitro* ARG において、^[125I]SBI-3 はタウに対する選択的結合性を示したが、^[125I]SBI-2 と同様、脳白質への非特異的集積が高く、ヨウ素の導入位置による放射能集積に顕著な相違は認められなかった。一方、^[125I]BIP 誘導体はタウへの選択的結合性を有していることに加えて、脳白質への非特異的集積が低かったことから、SBI-2 に比べて灰白質と白質とのコントラストが高い、明瞭なタウ描出画像を得ることに成功した。正常マウスを用いた体内放射能分布実験の結果、^[125I]SBI-3 および全ての^[125I]BIP 誘導体は、投与早期における高い放射能集積およびその後の速やかな脳からの消失を示し、特に、^[125I]BIP-3 は^[125I]SBI-2 を上回る良好な脳内挙動を示した。以上の結果より、ベンゾイミダゾピリジンを母核とした^[123I]BIP-3 が、タウイメーキングプローブとして機能する可能性が示された。

以上、本研究は AD 脳内タウを標的とした核医学による生体イメージングに有効な分子プローブの開発に成果を収めたものであり、これらの知見は、今後の AD の早期診断および治療薬の開発研究に有益な情報を提供するものと考えられる。

引用文献

1. Selkoe, D. J. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev*, **81**, 741-66 (2001).
2. Jack, C. R., Jr.; Knopman, D. S.; Jagust, W. J.; Shaw, L. M.; Aisen, P. S.; Weiner, M. W.; Petersen, R. C.; Trojanowski, J. Q. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol*, **9**, 119-28 (2010).
3. Klunk, W. E.; Engler, H.; Nordberg, A.; Wang, Y.; Blomqvist, G.; Holt, D. P.; Bergstrom, M.; Savitcheva, I.; Huang, G. F.; Estrada, S.; Ausen, B.; Debnath, M. L.; Barletta, J.; Price, J. C.; Sandell, J.; Lopresti, B. J.; Wall, A.; Koivisto, P.; Antoni, G.; Mathis, C. A.; Langstrom, B. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol*, **55**, 306-19 (2004).
4. Cselenyi, Z.; Jonhagen, M. E.; Forsberg, A.; Halldin, C.; Julin, P.; Schou, M.; Johnstrom, P.; Varnas, K.; Svensson, S.; Farde, L. Clinical validation of ¹⁸F-AZD4694, an amyloid- β -specific PET radioligand. *J Nucl Med*, **53**, 415-24 (2012).
5. Vandenberghe, R.; Van Laere, K.; Ivanoiu, A.; Salmon, E.; Bastin, C.; Triau, E.; Hasselbalch, S.; Law, I.; Andersen, A.; Korner, A.; Minthon, L.; Garraux, G.; Nelissen, N.; Bormans, G.; Buckley, C.; Owenius, R.; Thurfjell, L.; Farrar, G.; Brooks, D. J. ¹⁸F-flutemetamol amyloid imaging in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: a phase 2 trial. *Ann Neurol*, **68**, 319-29 (2010).
6. Rowe, C. C.; Ackerman, U.; Browne, W.; Mulligan, R.; Pike, K. L.; O'Keefe, G.; Tochon-Danguy, H.; Chan, G.; Berlangieri, S. U.; Jones, G.; Dickinson-Rowe, K. L.; Kung, H. P.; Zhang, W.; Kung, M. P.; Skovronsky, D.; Dyrks, T.; Holl, G.; Krause, S.; Friebe, M.; Lehman, L.; Lindemann, S.; Dinkelborg, L. M.; Masters, C. L.; Villemagne, V. L. Imaging of amyloid β in Alzheimer's disease with ¹⁸F-BAY94-9172, a novel PET tracer: proof of mechanism. *Lancet Neurol*, **7**, 129-35 (2008).
7. Clark, C. M.; Schneider, J. A.; Bedell, B. J.; Beach, T. G.; Bilker, W. B.; Mintun, M. A.; Pontecorvo, M. J.; Hefti, F.; Carpenter, A. P.; Flitter, M. L.; Krautkramer, M. J.; Kung, H. F.; Coleman, R. E.; Doraiswamy, P. M.; Fleisher, A. S.; Sabbagh, M. N.; Sadowsky, C. H.; Reiman, E. P.; Zehntner, S. P.; Skovronsky, D. M.; Group, A. A. S. Use of florbetapir-PET for imaging β -amyloid pathology. *JAMA*, **305**, 275-83 (2011).
8. Jack, C. R., Jr.; Lowe, V. J.; Weigand, S. D.; Wiste, H. J.; Senjem, M. L.; Knopman, D. S.; Shiung, M. M.; Gunter, J. L.; Boeve, B. F.; Kemp, B. J.; Weiner, M.; Petersen, R. C.; Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. *Brain*, **132**, 1355-65 (2009).
9. Gomez-Isla, T.; Hollister, R.; West, H.; Mui, S.; Growdon, J. H.; Petersen, R. C.; Parisi, J.

- E.; Hyman, B. T. Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, **41**, 17-24 (1997).
10. Braak, H.; Braak, E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging*, **18**, 351-7 (1997).
 11. Nelson, P. T.; Alafuzoff, I.; Bigio, E. H.; Bouras, C.; Braak, H.; Cairns, N. J.; Castellani, R. J.; Crain, B. J.; Davies, P.; Del Tredici, K.; Duyckaerts, C.; Frosch, M. P.; Haroutunian, V.; Hof, P. R.; Hulette, C. M.; Hyman, B. T.; Iwatsubo, T.; Jellinger, K. A.; Jicha, G. A.; Kovari, E.; Kukull, W. A.; Leverenz, J. B.; Love, S.; Mackenzie, I. R.; Mann, D. M.; Masliah, E.; McKee, A. C.; Montine, T. J.; Morris, J. C.; Schneider, J. A.; Sonnen, J. A.; Thal, D. R.; Trojanowski, J. Q.; Troncoso, J. C.; Wisniewski, T.; Woltjer, R. L.; Beach, T. G. Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature. *J Neuropathol Exp Neurol*, **71**, 362-81 (2012).
 12. Honson, N. S.; Jensen, J. R.; Abraha, A.; Hall, G. F.; Kuret, J. Small-molecule mediated neuroprotection in an *in situ* model of tauopathy. *Neurotox Res*, **15**, 274-83 (2009).
 13. Honson, N. S.; Johnson, R. L.; Huang, W.; Inglese, J.; Austin, C. P.; Kuret, J. Differentiating Alzheimer disease-associated aggregates with small molecules. *Neurobiol Dis*, **28**, 251-60 (2007).
 14. Mathis, C. A.; Mason, N. S.; Lopresti, B. J.; Klunk, W. E. Development of positron emission tomography β -amyloid plaque imaging agents. *Semin Nucl Med*, **42**, 423-32 (2012).
 15. Rowe, C. C.; Pejoska, S.; Mulligan, R. S.; Jones, G.; Chan, J. G.; Svensson, S.; Cselenyi, Z.; Masters, C. L.; Villemagne, V. L. Head-to-head comparison of ^{11}C -PiB and ^{18}F -AZD4694 (NAV4694) for β -amyloid imaging in aging and dementia. *J Nucl Med*, **54**, 880-6 (2013).
 16. Furukawa, K.; Okamura, N.; Tashiro, M.; Waragai, M.; Furumoto, S.; Iwata, R.; Yanai, K.; Kudo, Y.; Arai, H. Amyloid PET in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease with BF-227: comparison to FDG-PET. *J Neurol*, **257**, 721-7 (2010).
 17. Kung, H. F.; Choi, S. R.; Qu, W.; Zhang, W.; Skovronsky, D. ^{18}F stilbenes and styrylpyridines for PET imaging of A β plaques in Alzheimer's disease: a miniperspective. *J Med Chem*, **53**, 933-41 (2010).
 18. Ono, M.; Wilson, A.; Nobrega, J.; Westaway, D.; Verhoeff, P.; Zhuang, Z. P.; Kung, M. P.; Kung, H. F. ^{11}C -labeled stilbene derivatives as A β -aggregate-specific PET imaging agents for Alzheimer's disease. *Nucl Med Biol*, **30**, 565-71 (2003).
 19. Kung, M. P.; Hou, C.; Zhuang, Z. P.; Zhang, B.; Skovronsky, D.; Trojanowski, J. Q.; Lee, V. M.; Kung, H. F. IMPY: an improved thioflavin-T derivative for *in vivo* labeling of β -amyloid plaques. *Brain Res*, **956**, 202-10 (2002).
 20. Rabinovici, G. D.; Jagust, W. J. Amyloid imaging in aging and dementia: testing the amyloid hypothesis *in vivo*. *Behav Neurol*, **21**, 117-28 (2009).
 21. Hasegawa, M. Biochemistry and molecular biology of tauopathies. *Neuropathology*, **26**,

- 484-90 (2006).
22. Maas, T.; Eidenmuller, J.; Brandt, R. Interaction of tau with the neural membrane cortex is regulated by phosphorylation at sites that are modified in paired helical filaments. *J Biol Chem*, **275**, 15733-40 (2000).
 23. Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K.; Tung, Y. C.; Quinlan, M.; Wisniewski, H. M.; Binder, L. I. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **83**, 4913-7 (1986).
 24. Hernandez, F.; Avila, J. Tauopathies. *Cell Mol Life Sci*, **64**, 2219-33 (2007).
 25. Braak, H.; Braak, E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*, **82**, 239-59 (1991).
 26. Braak, H.; Braak, E. Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging*, **16**, 271-8; discussion 278-84 (1995).
 27. Braak, H.; Alafuzoff, I.; Arzberger, T.; Kretschmar, H.; Del Tredici, K. Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol*, **112**, 389-404 (2006).
 28. Delacourte, A.; David, J. P.; Sergeant, N.; Buee, L.; Wattez, A.; Vermersch, P.; Ghzali, F.; Fallet-Bianco, C.; Pasquier, F.; Lebert, F.; Petit, H.; Di Menza, C. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology*, **52**, 1158-65 (1999).
 29. Whitwell, J. L.; Josephs, K. A.; Murray, M. E.; Kantarci, K.; Przybelski, S. A.; Weigand, S. D.; Vemuri, P.; Senjem, M. L.; Parisi, J. E.; Knopman, D. S.; Boeve, B. F.; Petersen, R. C.; Dickson, D. W.; Jack, C. R., Jr. MRI correlates of neurofibrillary tangle pathology at autopsy: a voxel-based morphometry study. *Neurology*, **71**, 743-9 (2008).
 30. Okamura, N.; Furumoto, S.; Fodero-Tavoletti, M. T.; Mulligan, R. S.; Harada, R.; Yates, P.; Pejoska, S.; Kudo, Y.; Masters, C. L.; Yanai, K.; Rowe, C. C.; Villemagne, V. L. Non-invasive assessment of Alzheimer's disease neurofibrillary pathology using ¹⁸F-THK5105 PET. *Brain*, **137**, 1762-71 (2014).
 31. Okamura, N.; Furumoto, S.; Harada, R.; Tago, T.; Yoshikawa, T.; Fodero-Tavoletti, M.; Mulligan, R. S.; Villemagne, V. L.; Akatsu, H.; Yamamoto, T.; Arai, H.; Iwata, R.; Yanai, K.; Kudo, Y. Novel ¹⁸F-labeled arylquinoline derivatives for noninvasive imaging of tau pathology in Alzheimer disease. *J Nucl Med*, **54**, 1420-7 (2013).
 32. Xia, C. F.; Arteaga, J.; Chen, G.; Gangadharmath, U.; Gomez, L. F.; Kasi, D.; Lam, C.; Liang, Q.; Liu, C.; Mocharla, V. P.; Mu, F.; Sinha, A.; Su, H.; Szardenings, A. K.; Walsh, J. C.; Wang, E.; Yu, C.; Zhang, W.; Zhao, T.; Kolb, H. C. [¹⁸F]T807, a novel tau positron emission tomography imaging agent for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, **9**, 666-76 (2013).
 33. Chien, D. T.; Bahri, S.; Szardenings, A. K.; Walsh, J. C.; Mu, F.; Su, M. Y.; Shankle, W. R.; Elizarov, A.; Kolb, H. C. Early clinical PET imaging results with the novel PHF-tau radioligand [¹⁸F]-T807. *J Alzheimers Dis*, **34**, 457-68 (2013).

34. Chien, D. T.; Szardenings, A. K.; Bahri, S.; Walsh, J. C.; Mu, F.; Xia, C.; Shankle, W. R.; Lerner, A. J.; Su, M. Y.; Elizarov, A.; Kolb, H. C. Early clinical PET imaging results with the novel PHF-tau radioligand [¹⁸F]T808. *J Alzheimers Dis*, **38**, 171-84 (2014).
35. Zhang, W.; Arteaga, J.; Cashion, D. K.; Chen, G.; Gangadharmath, U.; Gomez, L. F.; Kasi, D.; Lam, C.; Liang, Q.; Liu, C.; Mocharla, V. P.; Mu, F.; Sinha, A.; Szardenings, A. K.; Wang, E.; Walsh, J. C.; Xia, C.; Yu, C.; Zhao, T.; Kolb, H. C. A highly selective and specific PET tracer for imaging of tau pathologies. *J Alzheimers Dis*, **31**, 601-12 (2012).
36. Maruyama, M.; Shimada, H.; Suhara, T.; Shinotoh, H.; Ji, B.; Maeda, J.; Zhang, M. R.; Trojanowski, J. Q.; Lee, V. M.; Ono, M.; Masamoto, K.; Takano, H.; Sahara, N.; Iwata, N.; Okamura, N.; Furumoto, S.; Kudo, Y.; Chang, Q.; Saido, T. C.; Takashima, A.; Lewis, J.; Jang, M. K.; Aoki, I.; Ito, H.; Higuchi, M. Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls. *Neuron*, **79**, 1094-108 (2013).
37. Hashimoto, H.; Kawamura, K.; Igarashi, N.; Takei, M.; Fujishiro, T.; Aihara, Y.; Shiomi, S.; Muto, M.; Ito, T.; Furutsuka, K.; Yamasaki, T.; Yui, J.; Xie, L.; Ono, M.; Hatori, A.; Nemoto, K.; Suhara, T.; Higuchi, M.; Zhang, M. R. Radiosynthesis, photoisomerization, biodistribution, and metabolite analysis of ¹¹C-PBB3 as a clinically useful PET probe for imaging of tau pathology. *J Nucl Med*, **55**, 1532-8 (2014).
38. Okamura, N.; Suemoto, T.; Furumoto, S.; Suzuki, M.; Shimadzu, H.; Akatsu, H.; Yamamoto, T.; Fujiwara, H.; Nemoto, M.; Maruyama, M.; Arai, H.; Yanai, K.; Sawada, T.; Kudo, Y. Quinoline and benzimidazole derivatives: candidate probes for *in vivo* imaging of tau pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci*, **25**, 10857-62 (2005).
39. Fodero-Tavoletti, M. T.; Okamura, N.; Furumoto, S.; Mulligan, R. S.; Connor, A. R.; McLean, C. A.; Cao, D.; Rigopoulos, A.; Cartwright, G. A.; O'Keefe, G.; Gong, S.; Adlard, P. A.; Barnham, K. J.; Rowe, C. C.; Masters, C. L.; Kudo, Y.; Cappai, R.; Yanai, K.; Villemagne, V. L. ¹⁸F-THK523: a novel *in vivo* tau imaging ligand for Alzheimer's disease. *Brain*, **134**, 1089-100 (2011).
40. Ono, M.; Hayashi, S.; Matsumura, K.; Kimura, H.; Okamoto, Y.; Ihara, M.; Takahashi, R.; Mori, H.; Saji, H. Rhodanine and thiohydantoin derivatives for detecting tau pathology in Alzheimer's brains. *ACS Chem Neurosci*, **2**, 269-75 (2011).
41. Watanabe, H.; Ono, M.; Kimura, H.; Matsumura, K.; Yoshimura, M.; Okamoto, Y.; Ihara, M.; Takahashi, R.; Saji, H. Synthesis and biological evaluation of novel oxindole derivatives for imaging neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett*, **22**, 5700-3 (2012).
42. Ono, M.; Yoshida, N.; Ishibashi, K.; Haratake, M.; Arano, Y.; Mori, H.; Nakayama, M. Radioiodinated flavones for *in vivo* imaging of β -amyloid plaques in the brain. *J Med Chem*, **48**, 7253-60 (2005).
43. Wischik, C. M.; Harrington, C. R.; Storey, J. M. Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol*, **88**, 529-39 (2014).

44. Bulic, B.; Pickhardt, M.; Mandelkow, E. Progress and developments in tau aggregation inhibitors for Alzheimer disease. *J Med Chem*, **56**, 4135-55 (2013).
45. Ballatore, C.; Crowe, A.; Piscitelli, F.; James, M.; Lou, K.; Rossidivito, G.; Yao, Y.; Trojanowski, J. Q.; Lee, V. M.; Brunden, K. R.; Smith, A. B., 3rd. Aminothienopyridazine inhibitors of tau aggregation: evaluation of structure-activity relationship leads to selection of candidates with desirable *in vivo* properties. *Bioorg Med Chem*, **20**, 4451-61 (2012).
46. Zheng, J.; Liu, C.; Sawaya, M. R.; Vadla, B.; Khan, S.; Woods, R. J.; Eisenberg, D.; Goux, W. J.; Nowick, J. S. Macrocyclic β -sheet peptides that inhibit the aggregation of a tau-protein-derived hexapeptide. *J Am Chem Soc*, **133**, 3144-57 (2011).
47. Schafer, K. N.; Murale, D. P.; Kim, K.; Cisek, K.; Kuret, J.; Churchill, D. G. Structure-activity relationship of cyclic thiocarbocyanine tau aggregation inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, **21**, 3273-6 (2011).
48. Bulic, B.; Pickhardt, M.; Mandelkow, E. M.; Mandelkow, E. Tau protein and tau aggregation inhibitors. *Neuropharmacology*, **59**, 276-89 (2010).
49. Bulic, B.; Pickhardt, M.; Schmidt, B.; Mandelkow, E. M.; Waldmann, H.; Mandelkow, E. Development of tau aggregation inhibitors for Alzheimer's disease. *Angew Chem Int Ed Engl*, **48**, 1740-52 (2009).
50. Brunden, K. R.; Trojanowski, J. Q.; Lee, V. M. Advances in tau-focused drug discovery for Alzheimer's disease and related tauopathies. *Nat Rev Drug Discov*, **8**, 783-93 (2009).
51. Chang, E.; Congdon, E. E.; Honson, N. S.; Duff, K. E.; Kuret, J. Structure-activity relationship of cyanine tau aggregation inhibitors. *J Med Chem*, **52**, 3539-47 (2009).
52. Han, D.; Qureshi, H. Y.; Lu, Y.; Paudel, H. K. Familial FTDP-17 missense mutations inhibit microtubule assembly-promoting activity of tau by increasing phosphorylation at Ser202 *in vitro*. *J Biol Chem*, **284**, 13422-33 (2009).
53. Cheng, Y.; Prusoff, W. H. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 percent inhibition (IC_{50}) of an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol*, **22**, 3099-108 (1973).
54. Dishino, D. D.; Welch, M. J.; Kilbourn, M. R.; Raichle, M. E. Relationship between lipophilicity and brain extraction of ^{11}C -labeled radiopharmaceuticals. *J Nucl Med*, **24**, 1030-8 (1983).
55. Cheng, Y.; Ono, M.; Kimura, H.; Kagawa, S.; Nishii, R.; Kawashima, H.; Saji, H. Fluorinated Benzofuran Derivatives for PET Imaging of β -Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease Brains. *ACS Med Chem Lett*, **1**, 321-325 (2010).
56. Cui, M.; Ono, M.; Kimura, H.; Ueda, M.; Nakamoto, Y.; Togashi, K.; Okamoto, Y.; Ihara, M.; Takahashi, R.; Liu, B.; Saji, H. Novel ^{18}F -labeled benzoxazole derivatives as potential positron emission tomography probes for imaging of cerebral β -amyloid plaques in Alzheimer's disease. *J Med Chem*, **55**, 9136-45 (2012).
57. Zhang, W.; Oya, S.; Kung, M. P.; Hou, C.; Maier, D. L.; Kung, H. F. ^{18}F

- Polyethyleneglycol stilbenes as PET imaging agents targeting A β aggregates in the brain. *Nucl Med Biol*, **32**, 799-809 (2005).
58. Chandra, R.; Oya, S.; Kung, M. P.; Hou, C.; Jin, L. W.; Kung, H. F. New diphenylacetylenes as probes for positron emission tomographic imaging of amyloid plaques. *J Med Chem*, **50**, 2415-23 (2007).
59. Stephenson, K. A.; Chandra, R.; Zhuang, Z. P.; Hou, C.; Oya, S.; Kung, M. P.; Kung, H. F. Fluoro-pegylated (FPEG) imaging agents targeting A β aggregates. *Bioconjug Chem*, **18**, 238-46 (2007).
60. Ono, M.; Cheng, Y.; Kimura, H.; Watanabe, H.; Matsumura, K.; Yoshimura, M.; Iikuni, S.; Okamoto, Y.; Ihara, M.; Takahashi, R.; Saji, H. Development of novel ¹²³I-labeled pyridyl benzofuran derivatives for SPECT imaging of β -amyloid plaques in Alzheimer's disease. *PLoS One*, **8**, e74104 (2013).
61. Watanabe, H.; Ono, M.; Iikuni, S.; Kimura, H.; Okamoto, Y.; Ihara, M.; Saji, H. Synthesis and biological evaluation of ¹²³I-labeled pyridyl benzoxazole derivatives: novel β -amyloid imaging probes for single-photon emission computed tomography. *RSC Adv*, **5**, 1009-1015 (2015).
62. Giger, M.; Baumgartner, H. R.; Zbinden, G. Toxicological effects of Evans blue and Congo red on blood platelets. *Agents Actions*, **4**, 173-80 (1974).
63. Rojo, L. E.; Alzate-Morales, J.; Saavedra, I. N.; Davies, P.; Maccioni, R. B. Selective interaction of lansoprazole and astemizole with tau polymers: potential new clinical use in diagnosis of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, **19**, 573-89 (2010).
64. Mishra, A.; Thangamani, A.; Chatterjee, S.; Chipem, F. A.; Krishnamoorthy, G. Photoisomerization of trans-2-[4'-(dimethylamino)styryl]benzothiazole. *Photochem Photobiol*, **89**, 247-52 (2013).
65. Lewis, F. D.; Yoon, B. A.; Arai, T.; Iwasaki, T.; Tokumatsu, K. Molecular Structure and Photochemistry of (*E*)- and (*Z*)-2-(2-(2-Pyridyl)ethenyl)indole. A Case of Hydrogen Bond Dependent One-Way Photoisomerization. *J Am Chem Soc*, **117**, 3029-3026 (1995).
66. Yoshiyama, Y.; Higuchi, M.; Zhang, B.; Huang, S. M.; Iwata, N.; Saido, T. C.; Maeda, J.; Suhara, T.; Trojanowski, J. Q.; Lee, V. M. Synapse loss and microglial activation precede tangles in a P301S tauopathy mouse model. *Neuron*, **53**, 337-51 (2007).

謝 辞

本研究の終わりに鑑み、終始御懇意なる御指導と御鞭撻を賜りました、京都大学大学院薬学研究科 佐治 英郎 教授に衷心より深甚なる謝意を表します。

同時に、本研究の遂行および本論文の作成において、終始懇切なる御指導と御教示を戴きました、京都大学大学院薬学研究科 小野 正博 准教授に厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行において、多くの有益な御助言と御協力を戴きました、京都大学環境安全保全機構 木村 寛之 助教ならびに京都大学大学院薬学研究科 渡邊 裕之 特定助教に厚く御礼申し上げます。

懇切なる御指導を戴きました、北海道医療大学薬学部 河嶋 秀和 准教授、国立循環器病研究センター研究所画像診断医学部 天満 敬 室長、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 上田 真史 准教授、福井大学高エネルギー医学研究センター 牧野 顕 助教、京都大学医学部附属病院 佐野 紘平 助教、北海道大学アイソトープ総合センター 志水 陽一 助教、武庫川女子大学大学院薬学研究科 有光 健治 助教、京都大学大学院薬学研究科 天野 博夫 研究員、宮崎 杏奈 研究員に厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行にあたり御協力を戴きました、京都大学大学院薬学研究科 程 妍 博士、林 瞬 修士、吉村 優志 修士、片柳 莉果子 学士、土井 雄貴 学士、飯國 慎平さん、北田 彩音 さんに深く感謝申し上げます。

アルツハイマー病患者剖検脳組織切片を御提供戴きました、京都大学大学院医学研究科 高橋 良輔 教授、国立循環器病研究センター病院 猪原 匡史 医長、岡本 洋子 博士に深く感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり討論に参加して戴きました、京都大学大学院薬学研究科 森 大輔 博士、小川 祐 博士、松田 洋和 博士、西郡 寛太郎 博士、原田 直弥 博士、屋木 祐亮 博士、平沢 真 修士、尾江 悟 修士、近藤 直哉 修士をはじめとする病態機能分析学分野の方々に深く感謝申し上げます。

最後に、研究に専念できるように支え、応援して戴いた家族、友人に心より感謝申し上げます。