

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-2637

(P2001-2637A)

(43) 公開日 平成13年1月9日 (2001.1.9)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード* (参考)
C 0 7 D 207/12		C 0 7 D 207/12	4 C 0 5 4
A 6 1 K 49/00		A 6 1 K 49/00	A 4 C 0 6 9
51/00		C 0 7 D 207/08	4 C 0 8 5
C 0 7 D 207/08		211/42	
211/42		A 6 1 K 49/02	A

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 11 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平11-177556
(22) 出願日 平成11年6月23日 (1999.6.23)

(71) 出願人 396020800
科学技術振興事業団
埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(71) 出願人 591146376
科学技術庁放射線医学総合研究所長
千葉県千葉市稲毛区穴川4丁目9番1号
(72) 発明者 入江 俊章
千葉県四街道市美しが丘1-12-14
(72) 発明者 伊古田 暢夫
東京都江東区東陽2-3-2-1105
(74) 代理人 100093230
弁理士 西澤 利夫

最終頁に続く

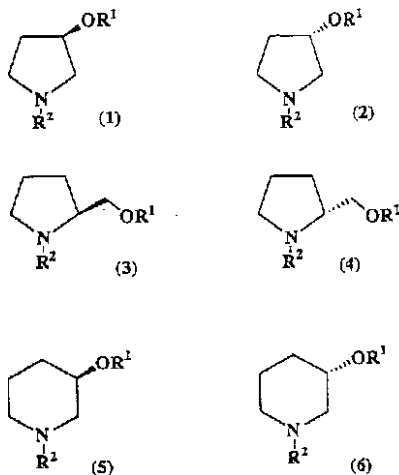
(54) 【発明の名称】 光学活性なN-置換ピロリジンおよびピペリジン誘導体及びこれを含有する中枢局所ブチリルコリンエステラーゼ活性測定用試薬

(57) 【要約】

【課題】 中枢BChE活性の測定を非侵襲的に行う。

【解決手段】 次の一般式

【化1】



(R¹ は COCH₂CH₂CH₃ で表されるブチリル基または COCH₂CH₂CH₂CH₃ で表されるバレリル基を示し、 R² は非放射性もしくは放射性低級アルキル基を

示す) で表される光学活性化合物を提供し、これを測定試薬として活用する。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次の一般式(1)又は(2)

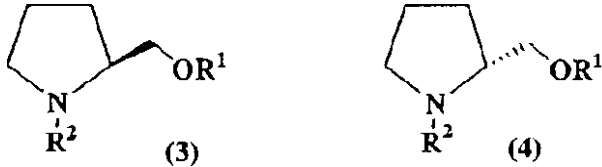
【化1】



(式中、 R^1 は $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるブチリル基または $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるパレリル基を示し、 R^2 は、非放射性低級アルキル基または放射性低級アルキル基を示す。)で表される光学活性な N-置換ピロリジン誘導体またはその塩。

【請求項2】 次の一般式(3)又は(4)

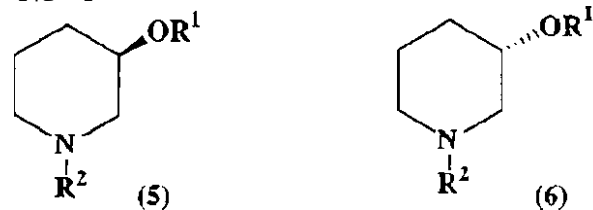
【化2】



(式中、 R^1 は $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるブチリル基または $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるパレリル基を示し、 R^2 は、非放射性低級アルキル基または放射性低級アルキル基を示す。)で表される光学活性な N-置換ピロリジン誘導体またはその塩。

【請求項3】 次の一般式(5)又は(6)

【化3】



(式中、 R^1 は $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるブチリル基または $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるパレリル基を示し、 R^2 は、非放射性低級アルキル基または放射性低級アルキル基を示す。)で表される光学活性な N-置換ピペリジン誘導体またはその塩。

【請求項4】 請求項1ないし3のいずれかのトレーサー化合物の1種以上を有効成分とする中枢局所ブチリルコリンエステラーゼ活性測定用試薬。

【請求項5】 請求項1ないし3のいずれかのトレーサー化合物の1種以上を用い、該化合物の加水分解物をCTあるいはラジオトレーサーにより測定する非侵襲的ブチリルコリンエステラーゼ活性の測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】この出願の発明は、光学活性

2

なN-置換ピロリジンおよびピペリジン誘導体と、これを含む、中枢局所ブチリルコリンエステラーゼ(以下、「BChE」と略称する)をポジトロン断層撮影法(^{11}C , ^{18}F を用いる)もしくは核磁気共鳴撮影法(^{13}C , ^{19}F を用いる)等により体外から非侵襲的に活性測定を行うための試薬並びにその測定方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術とその課題】脳内コリン作動性神経は記憶に深く関与しており、この神経系の障害がアルツハイマー痴呆症などにみられる記憶障害の原因であると考えられている。アルツハイマー病において、剖検脳の研究からアセチルコリンエステラーゼはコリン作動性神経の脱落に伴い活性が低下するが、その近縁酵素であるBChE活性は増加するため(E.K.Perry et al., British Medical Journal, 1978, 2, 1457-1459)、その活性測定は痴呆や老化の診断、治療の評価や病態解明に大きく貢献する。従来、中枢局所のBChE活性を測定する方法としては、死後の脳のホモジネートあるいは脳切片を組織化学的に染色し画像処理により測定する方法が知られている。しかしながら、これらの方法はいずれも死後の脳を対象としたものであり、生きているヒトや動物に適用することはできなかった。

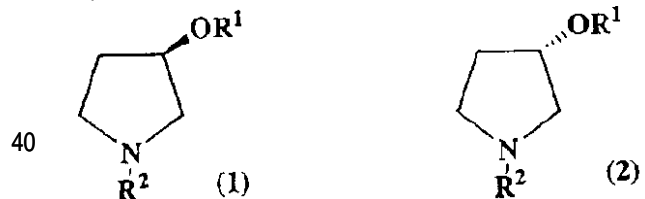
【0003】一方、アセチルコリンエステラーゼに関しては、放射性同位元素で標識されたアナログを用いてポジトロン断層撮影法により測定する方法が報告されている(Irie et al., J. Nucl. Med. 37, 649-655, 1996)。従って、このような状況においては、死後の脳ではなく、生きているヒトや動物を対象としてin vivoでもBChE活性を測定することのできる新しい技術的手段の実現が望まれていた。

【0004】

【課題を解決するための手段】この出願の発明は、以上のとおりの課題を解決するために、第1には、次の一般式(1)又は(2)

【0005】

【化4】



【0006】(式中、 R^1 は $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるブチリル基または $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるパレリル基を示し、 R^2 は、非放射性低級アルキル基または放射性低級アルキル基を示す。)で表される光学活性な N-置換ピロリジン誘導体またはその塩を提供する。また、この出願の発明は、第2には、次の一般式(3)又は(4)

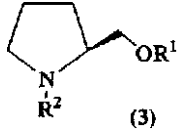
【0007】

50

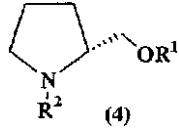
3

4

【化5】



(3)

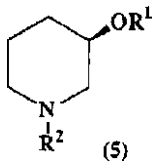


(4)

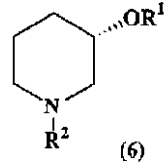
【0008】(式中、 R^1 は $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるブチリル基または $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるパレリル基を示し、 R^2 は、非放射性低級アルキル基または放射性低級アルキル基を示す。) で表される光学活性な N-置換ピロリジン誘導体またはその塩を提供する。さらに、この出願の発明は、第3には、次の一般式(5)又は(6)

【0009】

【化6】



(5)



(6)

【0010】(式中、 R^1 は $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるブチリル基または $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるパレリル基を示し、 R^2 は、非放射性低級アルキル基または放射性低級アルキル基を示す。) で表される光学活性な N-置換ピペリジン誘導体またはその塩を提供する。そしてこの出願の発明は、第4には、前記第1ないし第3の発明のいずれかのトレーサー化合物の1種以上を有効成分とする中枢局所ブチリルコリンエステラーゼ活性測定用試薬を、第5には、この化合物の加水分解物をCTあるいはラジオトレーサーにより測定する非侵襲的ブチリルコリンエステラーゼ活性の測定方法を提供する。

【0011】以上のとおりのこの出願の発明は、発明者らによる検討において、特定の性質を有するラジオトレーサーを用いて脳局所の放射能濃度を測定し、脳局所のBChE活性を求めることができることを見出し、その知見に基づいて完成されたものである。すなわち、上記測定のための条件として、

- 1) 脂溶性が高く容易に脳血液関門を通過して脳に入る、
- 2) 脳内でBChEにより特異的に加水分解される、

3) 加水分解により生成されるアルコール体は脂溶性が低く脳中に留まる、

4) 脳外で生成されたアルコール体は脳に移行しない、という性質を満たすことが必要であることから、これらの条件を満たす化合物について鋭意研究を重ねた結果、この出願の発明の新規な光学活性N-置換ピロリジンおよびピペリジン誘導体が見出された。

【0012】

【発明の実施の形態】この出願の発明は、上記のとおりの特徴をもつものであるが、以上にその実施の形態について説明する。まずこの発明の前記の一般式(1)(2)(3)(4)(5)(6)で表される光学活性なN-置換ピロリジン誘導体並びにN-置換ピペリジン誘導体においては、符号 R^1 は、 $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるブチリル基または $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるパレリル基である。

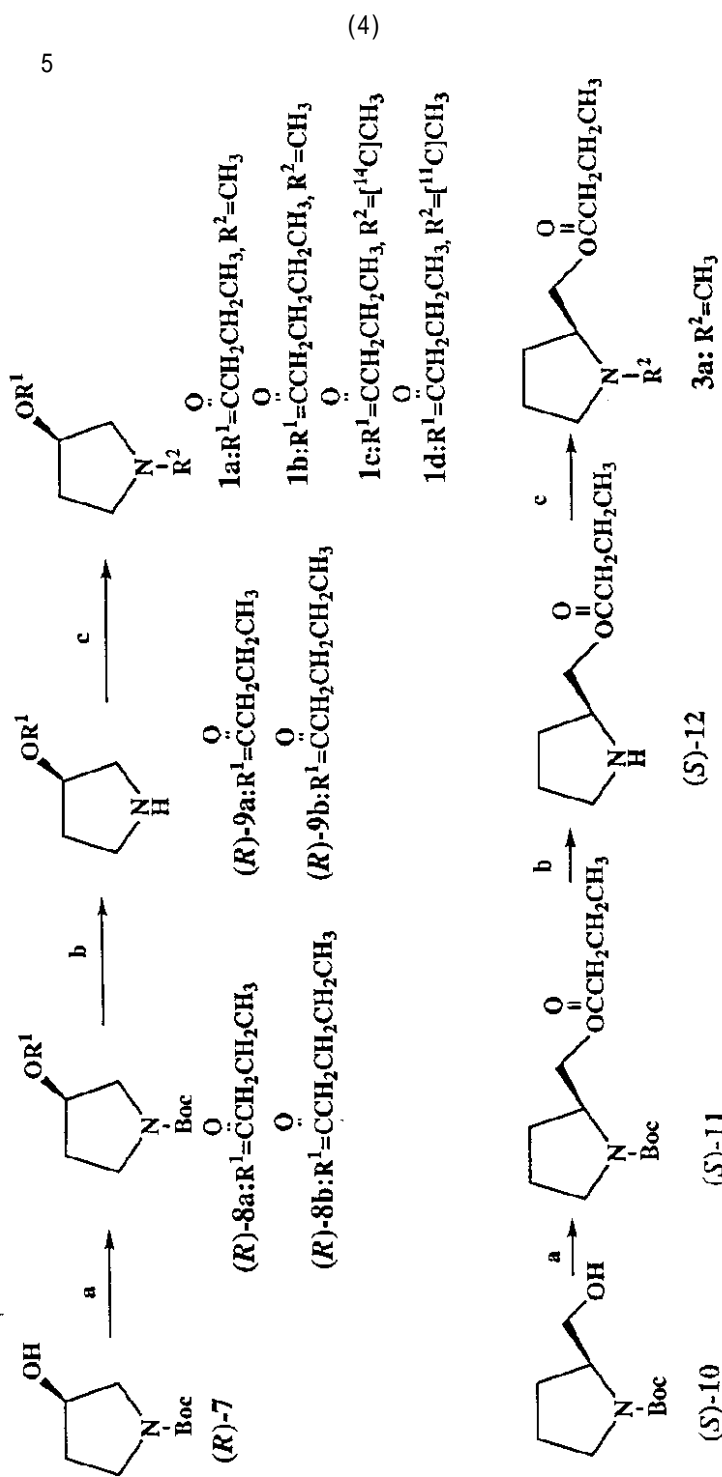
【0013】また、前記の符号 R^2 は、非放射性もしくは放射性のフッ素原子(F)等の置換基を適宜に有していてもよい低級アルキル基であるが、アルキル基の炭素数は6程度までのものが挙げられる。非放射性低級アルキル基を構成する炭素原子としては同位体 ^{13}C を有していてもよい。そして放射性低級アルキル基を構成する炭素原子としては ^{14}C または ^{11}C を、またフッ素原子としては ^{18}F を有しているものとして行うことができる。

【0014】より具体的に例示すると、非放射性低級アルキル基としては、 CH_3 、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ 、 $^{13}\text{CH}_3$ が、また、放射性低級アルキル基としては、 $^{14}\text{CH}_3$ 、 $^{11}\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2^{18}\text{F}$ が好適なものとして例示される。以上のとおりのこの出願の発明の光学活性なN-置換ピロリジン誘導体並びにN-置換ピペリジン誘導体は、無機物、または有機物との塩、錯塩等であってもよい。

【0015】そして、この発明の以上の光学活性化合物は、公知の方法をはじめとして各種の方法により製造することができる。たとえば、その代表例としての製造ルートは以下のように例示することができる。なお、反応式中の数字は、後述の実施例における化合物の表示に対応している。

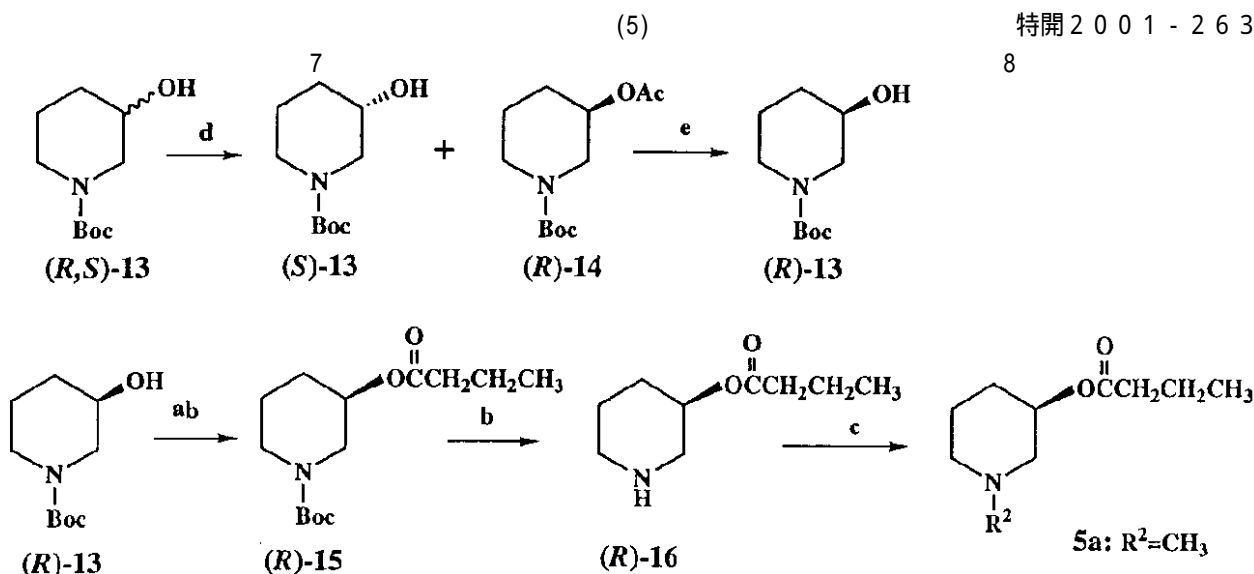
【0016】

40 【化7】



【0017】

【化8】



【0018】次に各工程について説明する。

工程(a)

N-tert-ブトキシカルボニルアルコール誘導体((R)-7、

および(R)-7から光延反応によって導かれる(S)-7、(R)-および(S)-10、ならびにラセミ体の(R,S)-13から酵素を用いる光学分割により得られる(R)-および(S)-13)をピリジン存在化、塩化ブチリルあるいは塩化バレリルと、塩化メチレン等の溶媒中室温にて反応させることにより、対応するN-tert-ブトキシカルボニルブチルエステル誘導体((R)-および(S)-8a、(R)-および(S)-11、(R)-および(S)-15)、ならびにN-tert-ブトキシカルボニルバレリルエステル誘導体((R)-および(S)-8b)が得られる。

工程(b)

N-tert-ブトキシカルボニルブチルエステル誘導体((R)-および(S)-8a、(R)-および(S)-11、(R)-および(S)-15)、およびN-tert-ブトキシカルボニルバレリルエステル誘導体((R)-および(S)-8b)を10当量の塩酸/酢酸エチル等にて室温処理することにより対応するアミノエステル誘導体((R)-および(S)-9a、(R)-および(S)-9b、(R)-および(S)-12、(R)-および(S)-16)が得られる。

工程(c)

アミノエステル誘導体((R)-および(S)-9a、(R)-および(S)-9b、(R)-および(S)-12、(R)-および(S)-16)を炭酸カリウムのような塩基存在下、あるいは塩基非存在下ヨウ化メチル(¹¹C、¹³C、¹⁴Cにて標識されたものを含む)を反応させて1-6(R²=CH₃, ¹¹CH₃, ¹³CH₃, ¹⁴CH₃)が得られる。

工程(d)

ラセミ体のN-tert-ブトキシカルボニル-3-ヒドロキシピペリジン((R,S)-13)を、ピニル酢酸、リパーゼPS存在下、ペンタン等の溶媒中で反応させるとアセチル化されたN-tert-ブトキシカルボニル-3-アセトキシピペリジ

ン((R)-14)と未反応の(S)-13が光学純度100%で得られる。

工程(e)

20 N-tert-ブトキシカルボニル-3-アセトキシピペリジン((R)-14)を、メタノール等の溶媒中室温にて2N水酸化ナトリウム等で処理することにより(R)-13が得られる。

【0019】以上説明したとおりのこの出願の発明の光学活性なN-置換ピロリジン誘導体並びにN-置換ピペリジン誘導体は、中枢局所BChEをポジトロン断層撮影法もしくは核磁気共鳴撮影法等により体外から非侵襲的に活性測定を行うのに有用な測定試薬もしくはその調製のための材料となるものである。つまり、この発明において提供される中枢局所ブチリルコリンエステラーゼ活性測定用試薬は、上記化合物のうちのトレーサー化合物の1種以上を有効成分としている。

30 【0020】そしてこの発明の非侵襲的ブチリルコリンエステラーゼ活性の測定方法では、上記トレーサー化合物を用い、このものの加水分解物をCTあるいはラジオトレーサーにより測定する。ここでトレーサー化合物は、陽電子放出核種を持つものであることを意味している。

【0021】もちろん、この発明の上記光学活性化合物は、このトレーサー化合物としてだけでなく、脳内機序の解明や医薬品合成のための中間体等として有用であることは言うまでもない。次に実施例を示し、さらに詳しくこの出願の発明について説明する。

【0022】

【実施例】<実施例1>(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ヒドロキシピロリジン((R)-7) 1.0g(5.3ミリモル)を塩化メチレン10mlに溶かし、ピリジン790mg(10ミリモル)を加える。塩化ブチリル850mg(8ミリモル)を加え、室温で14時間反応させる。

【0023】酢酸エチル100mlを加えた後、有機層を水、5%塩酸水、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、

水で順次洗浄する。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を留去して得られた残さをカラムクロマトグラフィー（シリカゲルC-200, 溶出液：ヘキサン：酢酸エチル=4:1）にて精製すれば、(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ブチリルオキシピロリジン((R)-8a)を油状*

施光度; $[\alpha]_D^{20}$ -22.3° (c=0.8, CHCl₃)

元素分析; C₁₃H₂₃N₂O₄.

計算値(%) C, 60.68; H, 9.01; N, 5.44.

実測値(%) C, 60.41; H, 9.29; N, 5.23.

¹H NMR(CDCl₃) δ: 0.90(3H, t, CH₃), 1.42(9H, s, t-Bu), 1.60(m, 2H, CH₂), 1.

97(2H, m, CH₂), 2.24(2H, t, CH₂), 3.30-3.60(4H, m, 2xCH₂), 5.23(1H, brs, CH);

¹³C NMR(CDCl₃): 13.47(q), 18.30(t), 28.37(q), 30.67 and 31.52(t), 36.1

4(t), 43.53 and 43.90(t), 51.38 and 51.76(t), 72.56 and 73.46(d), 79

.38(s), 154.33(s), 173.19(s). IR(neat) cm⁻¹ 1736, 1697.

【0025】<実施例2>(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ブチリルオキシピロリジン((R)-8a) 500mg

(1.95ミリモル)を酢酸エチル 5 ml に溶かし、4N塩酸

/酢酸エチル 5 ml を氷冷下加える。室温で1時間反応

させた後、酢酸エチルを減圧下、室温以下にて留去し、

(R)-3-ブチリルオキシピロリジン塩酸塩を油状物質とし

て380 mg (施光度; $[\alpha]_D^{20}$ +11.1° (c=0.5, CHCl₃), ¹H

NMR(CDCl₃) δ: 0.89(3H, t, CH₃), 1.61(m, 2H, CH₂), 2.1

0-2.35(4H, m, CH₂), 3.30-3.65(4H, m, 2xCH₂), 5.32(1H,

m, CH), 9.95(2H, brs, HCl, NH); ¹³C NMR(CDCl₃): 13.49

施光度 $[\alpha]_D^{20}$ +11.5° (c=1, CHCl₃)

元素分析; C₈H₁₅N₂O₂.

計算値(%) C, 61.12; H, 9.62; N, 8.91.

実測値(%) C, 60.95; H, 9.90; N, 8.81.

¹H NMR(CDCl₃) δ: 0.91(3H, t, CH₃), 1.60(m, 2H, CH₂), 1.70(1H, m, CH), 1.9

5(1H, m, CH), 2.20(2H, t, CH₂), 2.60-3.10(5H, m, 2xCH₂, NH), 5.15(1H, m, CH);

¹³C NMR(CDCl₃): 13.50(q), 18.31(t), 33.10(t), 36.23(t), 45.70(t), 53.

47(t), 75.34(d), 173.31(s).

IR(neat) cm⁻¹ 1730.

【0028】<実施例3>(R)-3-ブチリルオキシピロリ

ジン((R)-9a) 300 mg (1.91ミリモル)をアセトン5 ml

に溶かし、炭酸カリウム200 mg, ヨウ化メチル0.24mlを

加え室温で6時間反応させる。不溶物をろ過し溶媒を減

圧留去して得られた残さをカラムクロマトグラフィー

(シリカゲルC-200, 溶出液: エタノール: 酢酸エチル=

* 物質として1.13 g (収率83%) 得る。その物性値は以下のとおりである。

【0024】

【表1】

(q), 18.06(t), 30.94 (t), 35.81(t), 43.70(t), 50.15

(t), 71.91(d), 172.84(s) を得る。

【0026】塩酸塩300 mg (1.55ミリモル)をクロロホルム5 ml に溶かし、飽和したアンモニア/クロロホルム

溶液5 ml を氷冷下に加える。室温で5分反応させた後、

不溶物をろ過し溶媒を減圧留去して(R)-3-ブチリルオキ

シピロリジン((R)-9a)を油状物質として180mg (収率74

%) を得る。その物性値は以下のとおりである。

【0027】

【表2】

1:10)にて精製すれば、(R)-N-メチル-3-ブチリルオキ

シピロリジン(1a)を油状物質として140 mg (収率43

%) を得る。その物性値は以下のとおりである。

【0029】

【表3】

11
 施光度 $[\alpha]_D^{20} +1.5^\circ$ (c=2, MeOH)

元素分析: $C_9H_{17}NO_2$.

計算値(%) C, 63.12;H, 10.00;N, 8.18.

実測値(%) C, 62.99;H, 10.26;N, 7.95.

1H NMR($CDCl_3$) δ : 0.89(3H, t, CH_3), 1.57(m, 2H, CH_2), 1.78(1H, m, CH), 2.26(4H, m, $2 \times CH_2$), 2.31(3H, s, N- CH_3), 2.63(2H, m, CH_2), 2.77(1H, m, CH), 5.13(1H, m, CH); ^{13}C NMR($CDCl_3$): 13.51(q), 18.28(t), 32.45(t), 36.14(t), 41.83(q), 54.74(t), 61.98(t), 74.15(d), 173.44(s).

IR(neat) cm^{-1} 1734.

【0030】<実施例4>(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ヒドロキシピロリジン((R)-7) 500 mg (2.7 ミリモル)をテトラヒドロフラン 10 mlに溶かし、安息香酸685 mg (5.6 ミリモル)、トリフェニルホスフィン 1.47 g (5.6 ミリモル)、およびジエチルアゾジカルボキシラート 975mg (5.6 ミリモル)を加え室温で1時間撹拌する。

【0031】反応液に酢酸エチル100 mlを加えた後、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水で順次洗浄する。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を留去して得られた残さをカラムクロマトグラフィー(シリカゲルC-200, 溶出液:ヘキサン:酢酸エチル=4:1)にて精製すれば、(S)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ベンゾイルオキシピロリジンを白色結晶として640 mg (収率 82%) (施光度; $[\alpha]_D^{20} +39.5^\circ$ (c=1.1, $CHCl_3$); 融点, 65; 元素分析: $C_{16}H_{21}NO_4$. 計算値(%) C, 65.96;H,7.27;N, 4.81.実測値(%) C, 65.82;H, 7.47;N, 4.48.; 1H NMR($CDCl_3$) :1.45(9H,s,t-Bu),2.17(2H,m, CH_2), 3.40-3.65(4H,m, $2 \times CH_2$), 5.51(1H,m,CH), 7.40-7.60 (3H,m,aromatic protons), 7.90-8.10(2H,m,aromatic protons))を得る。ベンゾエート500 mg (1.7 ミリモル)をメタノール 5 ml に溶かし、2N水酸化ナト*

施光度; $[\alpha]_D^{20} +21.2^\circ$ (c=1.1, $CHCl_3$)

1H NMR($CDCl_3$) δ :1.23(9H, s, t-Bu), 1.30-1.66(4H, m, $2 \times CH_2$), 1.82(3H, s, CH_3), 2.87- 3.35 (4H, m, $2 \times CH_2$), 4.43-4.66(H, m, CH); ^{13}C NMR($CDCl_3$): 20.86(q), 21.54(t), 28.12 (q), 28.95(t), 43.52(t), 47.07(t), 67.78(d), 79.25(s), 154.57(s), 169.92(s).

【0034】一方、未反応のヒドロキシル体約 3 gをさらに2回同じ処理を行い、カラムクロマトグラフィーにて精製すれば未反応の(S)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ヒドロキシピペリジン((S)-13)を白色結晶として 0.

* リウム2 mlを加え、室温にて1時間反応させる。

【0032】反応混合物に酢酸エチル100mlを加え、水で洗浄する。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を留去して得られた残さをカラムクロマトグラフィー(シリカゲルC-200, 溶出液;ヘキサン:酢酸エチル=1:1)にて精製すれば、(S)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ヒドロキシピロリジン((S)-7)を油状物質として290 mg (施光度; $[\alpha]_D^{20} +22.9^\circ$ (c=1, $CHCl_3$), 収率 90%) 得る。

<実施例5>ラセミ体の(R)-N-tert-3-ヒドロキシピペリジン((R,S)-13) 4.0 g (20ミリモル)を、ピニル酢酸 15ml、リパーゼPS(アマノ)2.0 g 存在下、ペンタン 100 ml 中にて室温4日間撹拌する。不溶物をろ過し溶媒を減圧留去して得られた残さをカラムクロマトグラフィー(シリカゲルC-200, 溶出液;ヘキサン:酢酸エチル=1:3)にて精製すれば、(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-アセトキシピペリジン((R)-14)を油状物質として 1.05 g (収率 22%) 得る。物性値は以下のとおりである。

【0033】

【表4】

9 g (収率 23%) 得る。物性値は以下のとおりである。

【0035】

【表5】

13
 旋光度 $[\alpha]_D^{20} +9.9^\circ$ (c=1, CHCl₃)

融点 ; 40-42°C

元素分析 ; C₁₀H₁₉NO₃.

計算値(%) C, 59.67; H, 9.52; N, 6.96.

実測値(%) C, 59.78; H, 9.68; N, 6.81.

¹H NMR(CDCl₃) δ: 1.41(9H, s, t-Bu), 1.35-2.05(4H, m, 2xCH₂), 2.24(1H, br s, OH), 2.71-3.17(2H, m, CH₂), 3.48-3.95(3H, m, CH₂, CH); ¹³C NMR(CDCl₃): 22.51(t), 28.07(q), 32.36(t), 43.47(t), 50.29(t), 65.59(d), 79.24(s), 154.71(s).

【0036】<実施例6>(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-アセトキシピペリジン((R)-14) 0.5g(2.1ミリモル)をメタノール5mlに溶かし、2N水酸化ナトリウム2.5mlを加え、室温にて2時間反応させる。反応混合物に酢酸エチル50mlを加え、水で洗浄する。

【0037】有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を留去して得られた残さをカラムクロマトグラフィー(シリカゲルC-200, 溶出液:ヘキサン:酢酸エチル=1:1)にて精製すれば、(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ヒドロキシピペリジン((R)-13)を白色結晶として390mg(収率95%)を得る。

旋光度 $[\alpha]_D^{20} -9.6^\circ$ (c=1, CHCl₃)

化合物(R)-8b: 旋光度 $[\alpha]_D^{20} -20.5^\circ$

元素分析, C₁₄H₂₅NO₄.

計算値(%) C, 61.96; H, 9.29; N, 5.16.

実測値(%) C, 62.03; H, 9.61; N, 5.01;

¹H NMR(CDCl₃) δ: 0.87(3H, t, CH₃), 1.20-1.70(4H, m, 2xCH₂), 1.34(9H, s, t-Bu), 2.00(2H, m, CH₂), 2.26(2H, m, CH₂), 3.30-3.55(4H, m, 2xCH₂), 5.22(1H, br s, CH); ¹³C NMR(CDCl₃): 13.56(q), 22.09(t), 26.86(t), 28.37(q), 30.65 and 31.47(t), 34.00(t), 43.52 and 43.94(t), 51.36 and 51.75(t), 72.62 and 73.46(d), 79.38(s), 154.32(s), 173.21(s).

【0039】

化合物(R)-9b: 旋光度 $[\alpha]_D^{20} +15.9^\circ$ (c=0.9, CHCl₃);

元素分析, C₉H₁₇NO₂.

計算値(%) C, 63.12; H, 10.00; N, 8.18.

実測値(%) C, 63.38; H, 10.410; N, 7.91;

¹H NMR(CDCl₃) δ: 0.81(3H, t, CH₃), 1.28(2H, m, CH₂), 1.45(2H, m, CH₂), 1.70(1H, m, CH), 1.95(1H, m, CH), 2.20(2H, m, CH₂), 2.75-3.10(4H, m, 2xCH₂), 3.63(1H, brs, NH), 5.15(1H, m, CH); ¹³C NMR(CDCl₃): 13.53(q), 22.07(t), 26.84(t), 32.88(t), 34.00(t), 45.40(t), 53.06(t), 75.06(d), 173.38(s).

【0040】

* 融点 ; 40-42

<実施例7>実施例4によって得られた(S)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ヒドロキシピロリジン((S)-7)を用いて実施例1から3と同様の操作により(S)-N-メチル-3-ブチリルオキシピロリジン(2a)が得られる。

<実施例8>(R)-3-ヒドロキシピロリジン((R)-7)から実施例1から3と同様の操作により(R)-N-メチル-3-バレリルオキシピロリジン(1b)を、また(S)-3-ヒドロキシピロリジン((S)-7)から(S)-N-メチル-3-バレリルオキシピロリジン(2b)が得られる。

【0038】

【表6】

化合物(R)-8b: 旋光度 $[\alpha]_D^{20} -20.5^\circ$ (c=1.4, CHCl₃);

【表7】

【表8】

化合物1b: 旋光度 $[\alpha]_D^{20} + 2.9^\circ$ ($c=2.5$, CHCl_3);

元素分析, $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}_2$.

計算値(%) C, 64.83; H, 10.34; N, 7.56.

実測値(%) C, 64.59; H, 10.62; N, 7.80;

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0.78(3H, t, CH_3), 1.21(2H, m, CH_2), 1.40(2H, m, CH_2), 1.70(1H, m, CH), 2.20(4H, m, $2 \times \text{CH}_2$), 2.22(3H, s, N- CH_3), 2.69(2H, m, CH_2), 2.70(1H, m, CH), 5.06(1H, m, CH); $^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3)$: 13.51(q), 22.05(t), 26.78(t), 32.36(t), 33.90(t), 41.74(q), 54.66(t), 61.89(t), 74.06(d), 173.46(s).

【0041】<実施例9>(S)-N-tert--ブトキシカルボニル-2-ヒドロキシ置換ピロリジン((S)-10)を用いて実施例1から3と同様の操作により(S)-N-メチル-2-ブチリルオキシ置換ピロリジン(3a)を、また(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-2-ヒドロキシ置換ピロリジン((R)-1*

*0)から(R)-N-メチル-2-ブチリルオキシ置換ピロリジン(4a)が得られる。

【0042】

【表9】

化合物(S)-11: 旋光度 $[\alpha]_D^{20} - 34.8^\circ$ ($c=0.8$, CHCl_3);

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0.90(3H, t, CH_3), 1.42(9H, s, t-Bu), 1.60(2H, m, CH_2), 1.70-2.00(4H, m, $2 \times \text{CH}_2$), 2.25(2H, t, CH_2), 3.31(2H, m, CH_2), 3.85-4.20(3H, m, CH, CH_2); $^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3)$: 13.59(q), 18.36(t), 22.96 and 23.66(t), 27.88 and 28.75(t), 28.40(q), 36.12(t), 46.45(t), 55.50(d), 64.51(t), 79.60(s), 154.41(s), 173.38(s).

【0043】

【表10】

化合物(S)-12·HCl: 旋光度 $[\alpha]_D^{20} + 10.5^\circ$ ($c=0.8$, CHCl_3);

融点, 70-72 °C;

元素分析, $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_2 \cdot \text{HCl}$.

計算値(%) C, 52.04; H, 8.74; N, 6.74.

実測値(%) C, 52.24; H, 8.96; N, 6.50;

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0.92(3H, t, CH_3), 1.63(m, 2H, CH_2), 1.80(1H, m, CH), 1.90-2.20(3H, m, CH, CH_2), 2.40(2H, m, CH_2), 3.30(2H, m, CH_2), 3.85(1H, m, CH), 4.25-4.50(2H, m, CH_2), 9.80(2H, brs, HCl, NH); $^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3)$: 13.57(q), 18.04(t), 23.50(t), 27.00(t), 35.80(t), 45.25(t), 58.05(d), 61.98(t), 173.16(s). (S)-12: $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0.90(3H, t, CH_3), 1.30-2.00(5H, m, $2 \times \text{CH}_2$, CH), 2.25(2H, m, CH_2), 2.80(2H, m, CH, NH), 3.30-3.70(3H, m, CH_2 , CH), 3.88(1H, m, CH), 4.03(1H, m, CH); $^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3)$: 13.63(q), 18.38(t), 25.27(t), 27.93(t), 36.09(t), 46.47(t), 58.68(d), 67.37(t), 173.67(s).

化合物(S)-12は時間の経過とともに転位して一部アミド体になる。アミドアルコール体; $^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3)$: 13.84(q), 18.16(t), 24.35(t), 28.23(t), 36.91(t), 48.05(t), 61.03(d), 67.47(t), 174.43(s); IR(neat) cm^{-1} 734 (エステルCO), 1624 (アミドCO).

【0044】

【表11】

17
化合物3a : 施光度 $[\alpha]_D^{20} -32.4^\circ$ (c=1.1, CHCl₃),

元素分析, C₁₀H₁₉NO₂.

計算値(%) C, 64.80; H, 10.34; N, 7.56.

実測値(%) C, 64.53; H, 10.60; N, 7.52 ;

¹H NMR(CDCl₃) δ : 0.89(3H, t, CH₃), 1.25-1.80(5H, m, CH, 2xCH₂), 1.80-1.95(1H, m, CH), 2.20-2.40(4H, m, 2xCH₂), 2.37(3H, s, N-CH₃), 3.00(1H, m, CH), 4.04(2H, m, CH₂); ¹³C NMR(CDCl₃): 13.56(q), 18.32(t), 22.70(t), 28.24(t), 36.07(t), 41.36(q), 57.56(d), 63.74(t), 66.34(t), 173.60(s).

【0045】<実施例10>実施例5により得られる(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-3-ヒドロキシピペリジン((R)-13)を用いて実施例1から3と同様の操作により(R)-N-メチル-3-ブチリルオキシピペリジン(5a)を、また(S)-N-tert-

*シピペリジン((S)-13)から(S)-N-メチル-3-ブチリルオキシピペリジン(6a)が得られる。

【0046】

【表12】

化合物(R)-15 : 施光度 $[\alpha]_D^{20} +13.2^\circ$ (c=0.6, CHCl₃);

¹H NMR(CDCl₃) δ : 0.91(H, t, CH₃), 1.41(9H, s, t-Bu), 1.45-1.80(6H, m, 3xCH₂), 2.26(2H, m, CH₂), 2.20-3.55 (4H, m, 2xCH₂), 4.74(1H, m, CH); ¹³C NMR(CDCl₃): 13.42(q), 1.25(t), 21.75(t), 28.16(q), 29.12(t), 36.34(t), 43.33(t), 47.28(t), 67.69(d), 79.57(s), 154.83(s), 172.83(s).

【0047】

【表13】

化合物(R)-16 : 施光度 $[\alpha]_D^{20} +20.7^\circ$ (c=0.8, CHCl₃);

元素分析, C₉H₁₇NO₂.

計算値(%) C, 63.12; H, 10.00; N, 8.18.

実測値(%) C, 62.97; H, 10.26; N, 7.91 ;

¹H NMR (CDCl₃) δ : 0.90(3H, t, CH₃), 1.35-1.90(6H, m, 3xCH₂), 2.20(2H, m, CH₂), 2.70(3H, m, CH₂, NH), 3.00(2H, m, CH₂), 4.72(1H, m, CH); ¹³C NMR(CDCl₃): 13.52(q), 18.42(t), 23.74(t), 29.40(t), 36.33(t), 45.61(t), 49.67(t), 68.90(d), 172.94(s).

【0048】

【表14】

化合物5a : 施光度 $[\alpha]_D^{20} +15.5^\circ$ (c=2, CHCl₃);

元素分析, C₁₀H₁₉NO₂.

計算値(%) C, 64.83; H, 10.34; N, 7.56.

実測値(%) C, 64.68 ; H, 10.54; N, 7.33;

¹H NMR(CDCl₃) δ : 0.88(3H, t, CH₃), 1.39(1H, m, CH), 1.55(3H, m, CH₂, CH), 1.65(2H, m, CH₂), 2.10-2.30(4H, m, 2xCH₂), 2.19(3H, s, N-CH₃), 2.38(1H, m, CH), 2.57(1H, m, CH), 4.82(1H, m, CH); ¹³C NMR(CDCl₃): 13.49(q), 18.38(t), 22.32(t), 28.59(t), 36.24(t), 46.19(q), 55.16(t), 58.98(t), 68.88(d), 173.02(s).

【0049】<実施例11>(R)-3-ブチリルオキシピペリジン((R)-9a) 15mg (100 μ mol) と [¹⁴C]CH₃I (1 mCi) をアセトン中50-55℃にて20分反応する。過剰の無水塩酸を含む酢酸エチルを反応液に加えた後、溶媒を減圧留去する。残さを0.2ml のメタノールに溶かしTLC(P

reparativethinlayer chromatography) にて精製する(展開溶媒 酢酸エチル/イソプロパノール/アンモニア = 15/5/1)。

【0050】標品(1a)と同じR_f値(0.8)で、放射活性を有する部分を集め、メタノール/クロロホルム = 1/2

にて抽出し、(R)-N-[¹⁴C]メチル-3-ブチリルオキシピロリジン(1c:R¹=COCH₂CH₂CH₃, R²=¹⁴CH₃)が得られる。放射化学収率は[¹⁴C]MeIから計算して80%以上である。
 <実施例12>(R)-3-ブチリルオキシピロリジン((R)-9a)1mgを0.3mlのジメチルフォルムアミドに溶かした反応容器に[¹¹C]MeIを加えて70℃で3分加熱する。反応液をHPLC(高速液体クロマトグラフィ-)にてそのまま精製する(カラム:逆相MegapakSIL C18-10,直径7.5mm,長さ250mm;溶出溶媒:20%アセトニトリル:80%酢酸アンモニア-酢酸バッファ-(3mM, pH4.9);flow rate:6ml/分)。放射活性のあるピークを集め(ピークトップ9.7分)溶媒を留去し(R)-N-[¹¹C]メチル-3-ブチリルオキシピロリジン(1d:R¹=COCH₂CH₂CH₃, R²=¹¹CH₃)が得られる。

【0051】一部をTLC(シリカゲル、F-60-254, Merck製)にスポットし、標品(1a)とともに酢酸エチル/イソプロパノール/アンモニア=15/5/1にて展開し、ニンヒドリン発色および放射能定量により標識化合物のRf値と標品のRf値が一致することを確認した。

<試験例1>ラット大脳皮質を抽出し、0.1Mリン酸バッファ-(pH7.4)を用い100mg tissue/mlのホモジネートを調製した。このホモジネート200μl¹⁴Cにて標識した実施例11により得た化合物1cのリン酸バッファ-溶液20μl(1mCi)を加え、経時的にインキュベーションしてブチリルコリンエステラーゼによる加水分解速度をラジオTLCにより定量した。

【0052】一方同じ反応系にブチリルコリンエステラーゼの特異的阻害剤であるisoOMPAを加えて同じ実験を行なうと加水分解速度は著しく阻害され、その特異性は87%であった。また、エステル体と加水分解産物であるアルコール体のオクタノール-水系における分配係数はそれぞれ0.55と0.008であり、エステル体は脂溶性で脳*

*血液関門を通過しやすく、一方アルコール体は親水性で脳内に留まる性質を有している。

【0053】この発明の各種標識化合物を用いた相対反応速度と特異性を表1に示す。なお、トレーサー化合物1C、2C、3C、4C、5Cおよび6Cは、各々、一般式(1)(2)(3)(4)(5)(6)において、符号R¹はCOCH₂CH₂CH₃を、符号R²は、¹⁴CH₃を示す光学活性化合物を示している。いずれの化合物もブチリルコリンエステラーゼに対する特異性は高く、またその反応速度に関しては多様な値が得られ、測定の目的に応じて各種の化合物を選択できることが示され、これらの有効性が明らかになった。

【0054】

【表15】

化合物	相対速度	ブチリルコリンエステラーゼに対する特異性
1c	30	87
2c	25	90
3c	100	90
4c	60	95
5c	15	88
6c	1	80

【0055】

【発明の効果】以上詳しく説明したように、この出願の発明によって、死後の脳ではなく、生きているヒトや動物を対象としてin vivoでもBChE活性を測定することのできる試薬等として有用な、新規な光学活性N-置換ピロリジン誘導体並びにN-置換ピペリジン誘導体が提供される。

【0056】そして、この出願の発明によって、これら光学活性化合物を用いての非侵襲的なBChE活性の測定が可能になる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷
// C07M 7:00

識別記号

F I

テマコード(参考)

(72)発明者 福土 清
千葉県船橋市飯山満町2-536-1-3-804

Fターム(参考) 4C054 AA02 CC02 DD01 EE26 FF01
4C069 AA12 BA01 BC06
4C085 AA08 HH03 HH07 JJ02 KA29
KB56 LL13