

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4026987号  
(P4026987)

(45) 発行日 平成19年12月26日(2007.12.26)

(24) 登録日 平成19年10月19日(2007.10.19)

(51) Int. Cl.	F I		
<b>C O 7 D 207/12</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 D 207/12	
<b>C O 7 D 207/08</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 D 207/08	
<b>A 6 1 K 49/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 49/00	A
<b>A 6 1 K 51/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 49/02	A

請求項の数 3 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願平11-177556	(73) 特許権者	503360115
(22) 出願日	平成11年6月23日(1999.6.23)		独立行政法人科学技術振興機構
(65) 公開番号	特開2001-2637(P2001-2637A)		埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(43) 公開日	平成13年1月9日(2001.1.9)	(73) 特許権者	301032942
審査請求日	平成15年8月18日(2003.8.18)		独立行政法人放射線医学総合研究所
			千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号
		(74) 代理人	100093230
			弁理士 西澤 利夫
		(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
		(72) 発明者	福士 清
			千葉県船橋市飯山満町2-536-1-3-804
			最終頁に続く

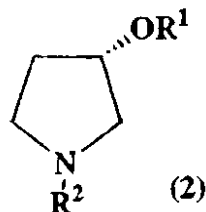
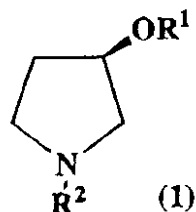
(54) 【発明の名称】 光学活性なN-置換ピロリジン誘導体及びこれを含有する中枢局所ブチリルコリンエステラーゼ活性測定用試薬

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

次の一般式(1)又は(2)

【化1】

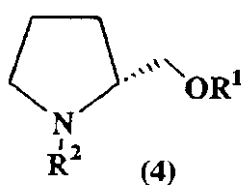
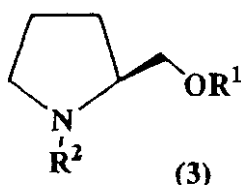


(式中、R<sup>1</sup>はCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>で表されるブチリル基またはCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>で表されるバレリル基を示し、R<sup>2</sup>は、非放射性低級アルキル基または放射性低級アルキル基を示す。)で表される光学活性なN-置換ピロリジン誘導体またはその塩。

【請求項2】

次の一般式(3)又は(4)

## 【化2】



(式中、 $R^1$ は $COCH_2CH_2CH_3$ で表されるブチリル基または $COCH_2CH_2CH_2CH_3$ 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。

10

## 【請求項3】

請求項1または2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。

## 【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、光学活性なN-置換ピロリジン誘導体と、これを含有する、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( $^{13}C$ ,  $^1F$ 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に関するものである。

20

## 【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。

30

## 【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. Nuc1. 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】

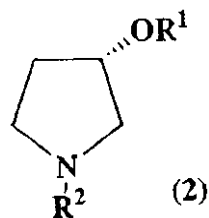
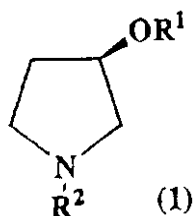
## 【課題を解決するための手段】

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)

40

## 【0005】

## 【化4】



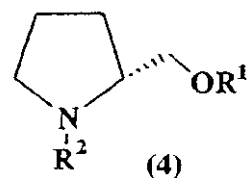
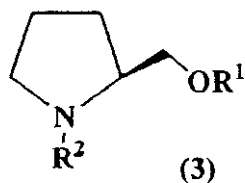
## 【0006】

(式中、 $R^1$  は  $COCH_2CH_2CH_3$  で表されるブチリル基または  $COCH_2CH_2CH_2CH_3$  で表されるバレリル基を示し、 $R^2$  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】

## 【化5】



## 【0008】

(式中、 $R^1$  は  $COCH_2CH_2CH_3$  で表されるブチリル基または  $COCH_2CH_2CH_2CH_3$  で表されるバレリル基を示し、 $R^2$  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。

## 【0010】

そしてこの出願の発明は、第3には、前記第1または第2の発明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-置換ピロリジン誘導体が見出された。

## 【0012】

## 【発明の実施の形態】

10

20

30

40

50

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)で表される光学活性なN-置換ピロ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 $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ で表されるバレリル基である。

【0013】

また、前記の符号 $R^2$ は、非放射性もしくは放射性的のフッ素原子(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 $^{13}\text{C}$ 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 $^{14}\text{C}$ または $^{11}\text{C}$ を、またフッ素原子としては $^{18}\text{F}$ を有しているものとすることができる。

10

【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、 $\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{F}$ 、 $\text{CHF}_2$ 、 $\text{CF}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ 、 $^{13}\text{CH}_3$ 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。

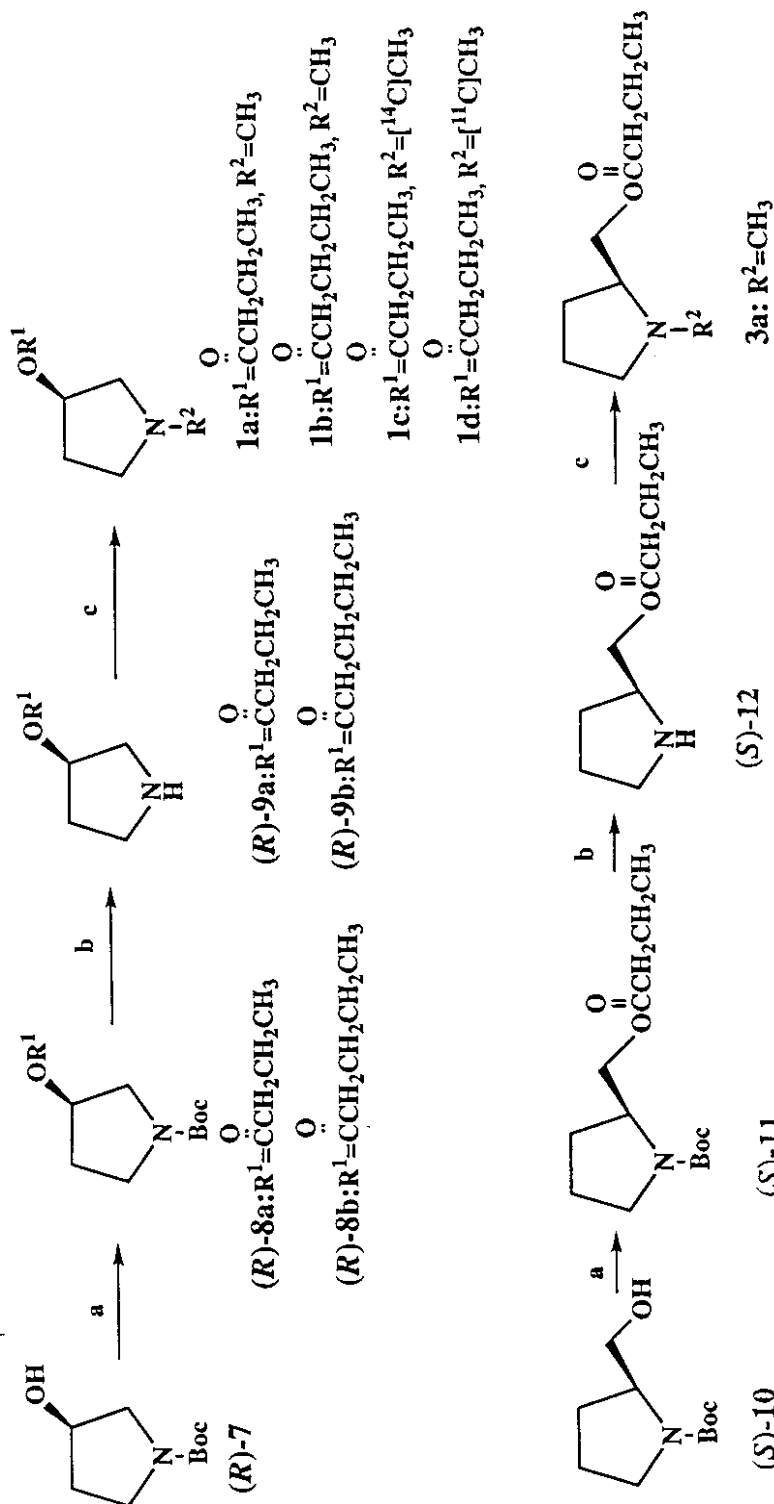
たとえば、その代表例としての製造ルートは以下のように例示することができる。

20

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】

【化7】



10

20

30

40

## 【 0 0 1 8 】

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 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、

50

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)、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) 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) 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 ( $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$  にて標識されたものを含む) を反応させて1-6 ( $\text{R}^2=\text{CH}_3$ 、 $^{11}\text{CH}_3$ 、 $^{13}\text{CH}_3$ 、 $^{14}\text{CH}_3$ ) が得られる。

10

#### 【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。

#### 【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。

20

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) 1.0 g (5.3 ミリモル) を塩化メチレン10 ml に溶かし、ピロリジン 790 mg (10ミリモル) を加える。塩化ブチリル850 mg (8 ミリモル) を加え、室温で14時間反応させる。

30

#### 【0023】

酢酸エチル100 ml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。

40

#### 【0024】

##### 【表1】

施光度;  $[\alpha]_D^{20} - 22.3^\circ$  ( $c=0.8$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

元素分析;  $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ .

計算値(%) C, 60.68;H, 9.01;N, 5.44.

実測値(%) C, 60.41;H, 9.29; N, 5.23.

$^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.90(3H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.42(9H, s, t-Bu), 1.60(m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.97(2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.24(2H, t,  $\text{CH}_2$ ), 3.30-3.60(4H, m,  $2\times\text{CH}_2$ ), 5.23(1H, brs, CH);

$^{13}\text{C}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ): 13.47(q), 18.30(t), 28.37(q), 30.67 and 31.52(t), 36.14(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)  $\text{cm}^{-1}$  1736, 1697.

10

【 0 0 2 5 】

< 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) 500 mg (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;  $[\alpha]_D^{20} + 11.1^\circ$  ( $c=0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ),  $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ) : 0.89(3H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.61(m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.10-2.35(4H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.30-3.65(4H, m,  $2\times\text{CH}_2$ ), 5.32(1H, m, CH), 9.95(2H, brs, HCl, NH);  $^{13}\text{C}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ): 13.49(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。

20

【 0 0 2 6 】

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。

30

【 0 0 2 7 】

【表 2】

施光度  $[\alpha]_D^{20} + 11.5^\circ$  ( $c=1$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

元素分析;  $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_2$ .

計算値(%) C, 61.12; H, 9.62; N, 8.91.

実測値(%) C, 60.95; H, 9.90; N, 8.81.

$^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.91(3H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.60(m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.70(1H, m, CH), 1.95(1H, m, CH), 2.20(2H, t,  $\text{CH}_2$ ), 2.60-3.10(5H, m,  $2\times\text{CH}_2$ , NH), 5.15(1H, m, CH);

$^{13}\text{C}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ): 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)  $\text{cm}^{-1}$  1730.

【 0 0 2 8 】

< 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 = 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。

【 0 0 2 9 】

【表3】

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

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

計算値(%) C, 63.12; H, 10.00; N, 8.18.

実測値(%) C, 62.99; H, 10.26; N, 7.95.

$^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.89(3H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.57(m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.78(1H, m, CH), 2.26(4H, m,  $2\times\text{CH}_2$ ), 2.31(3H, s, N- $\text{CH}_3$ ), 2.63(2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.77(1H, m, CH), 5.13

(1H, m, CH);  $^{13}\text{C}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ): 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)  $\text{cm}^{-1}$  1734.

【 0 0 3 0 】

< 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

10

20

30

40

50



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 975 mg(5.6 ミリモル)を加え室温で1 時間攪拌する。

【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(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<sub>3</sub>); 融点, 65 ;元素分析: C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>. 計算値(%) C, 65.96;H, 7.27;N, 4.81.実測値(%) C, 65.82;H, 7.47;N, 4.48. ;<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) :1.45(9H,s,t-Bu),2.17(2H,m,CH<sub>2</sub>), 3.40-3.65(4H,m,2xCH<sub>2</sub>), 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水酸化ナトリウム2 mlを加え、室温にて1 時間反応させる。

10

【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<sub>3</sub>), 収率 90%)得る。

20

【0037】

<実施例 5 >

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 6 >

(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。

30

【0038】

【表 6】

化合物(R)-8b: 施光度  $[\alpha]_D^{20} -20.5^\circ$  (c=1.4, CHCl<sub>3</sub>);

元素分析, C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub>.

計算値(%) C, 61.96;H, 9.29; N,5.16.

実測値(%) C, 62.03;H, 9.61; N,5.01 ;

40

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ:0.87(3H, t,CH<sub>3</sub>), 1.20-1.70(4H, m, 2xCH<sub>2</sub>), 1.34(9H, s, t-Bu), 2.00 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.26(2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.30-3.55(4H, m, 2xCH<sub>2</sub>), 5.22(1H, br s, CH) ; <sup>13</sup>CNMR(CDCl<sub>3</sub>): 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).

50

【 0 0 3 9 】

【 表 7 】

化合物(R)-9b: 旋光度  $[\alpha]_D^{20} +15.9^\circ$  (c=0.9, CHCl<sub>3</sub>) ;元素分析, C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>.

計算値(%) C, 63.12;H, 10.00;N, 8.18.

実測値(%) C, 63.38;H, 10.410;N, 7.91;

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.81(3H, t, CH<sub>3</sub>), 1.28(2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.45(2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.70(1H, m, CH), 1.95(1H, m, CH), 2.20(2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.75-3.10(4H, m, 2xCH<sub>2</sub>), 3.63(1H, brs, NH), 5.15 (1H, m, CH) ; <sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>): 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).

10

【 0 0 4 0 】

【 表 8 】

化合物1b: 旋光度  $[\alpha]_D^{20} +2.9^\circ$  (c=2.5, CHCl<sub>3</sub>) ;元素分析, C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>.

計算値(%) C, 64.83;H, 10.34;N, 7.56.

実測値(%) C, 64.59;H, 10.62;N, 7.80 ;

<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.78(3H, t, CH<sub>3</sub>), 1.21(2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.40(2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.70(1H, m, CH), 2.20 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>), 2.22(3H, s, N-CH<sub>3</sub>), 2.69(2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.70(1H, m, CH), 5.06 (1H, m, CH) ; <sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>): 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).

30

【 0 0 4 1 】

&lt; 実施例 7 &gt;

(S)-N-tert--ブトキシカルボニル-2-ヒドロキシメチルピロリジン((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-ブチリルオキシメチルピロリジン(3a)を、また(R)-N-tert-ブトキシカルボニル-2-ヒドロキシメチルピロリジン((R)-10)から(R)-N-メチル-2-ブチリルオキシメチルピロリジン(4a)が得られる。

40

【 0 0 4 2 】

【 表 9 】

化合物(S)-11 : 旋光度  $[\alpha]_D^{20} -34.8^\circ$  ( $c=0.8$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) ;

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 0.90(3H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.42(9H, s, t-Bu), 1.60(2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.70-2.00(4H, m,  $2 \times \text{CH}_2$ ), 2.25(2H, t,  $\text{CH}_2$ ), 3.31(2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.85-4.20(3H, m, CH,  $\text{CH}_2$ ) ;  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 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).

10

【 0 0 4 3 】

【 表 1 0 】

化合物(S)-12 · HCl : 旋光度  $[\alpha]_D^{20} +10.5^\circ$  ( $c=0.8$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) ;

融点, 70-72  $^\circ\text{C}$  ;

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 ;

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 0.92(3H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.63(m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.80(1H, m, CH), 1.90-2.20(3H, m, CH,  $\text{CH}_2$ ), 2.40(2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.30(2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.85(1H, m, CH), 4.25-4.50(2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 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:  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 0.90(3H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.30-2.00(5H, m,  $2 \times \text{CH}_2$ , CH), 2.25(2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.80(2H, m, CH, NH), 3.30-3.70(3H, m,  $\text{CH}_2$ , 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).

30

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)  $\text{cm}^{-1}$  734 (エステルC=O), 1624 (アミドC=O).

40

【 0 0 4 4 】

【 表 1 1 】

化合物3a : 旋光度  $[\alpha]_D^{20} -32.4^\circ$  ( $c=1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ),

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

計算値(%) C, 64.80; H, 10.34; N, 7.56.

実測値(%) C, 64.53; H, 10.60; N, 7.52 ;

$^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.89(3H, t,  $\text{CH}_3$ ), 1.25-1.80(5H, m, CH,  $2\times\text{CH}_2$ ), 1.80-1.95(1H, m, CH), 2.20-2.40(4H, m,  $2\times\text{CH}_2$ ), 2.37(3H, s, N- $\text{CH}_3$ ), 3.00(1H, m, CH), 4.04(2H, m,  $\text{CH}_2$ );  $^{13}\text{C}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ): 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).

10

【 0 0 4 9 】

< 実施例 8 >

(R)-3-ブチリルオキシピロリジン (R)-9a) 15mg (100  $\mu\text{mol}$ ) と  $[^{14}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$  (1 mCi) をアセトン中 50-55  $^\circ\text{C}$  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 PTLC (Preparative thin layer 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)。

20

【 0 0 5 0 】

標品 (1a) と同じ Rf 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- $[^{14}\text{C}]$ メチル-3-ブチリルオキシピロリジン (1c:  $\text{R}^1 = \text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{R}^2 = ^{14}\text{CH}_3$ ) が得られる。放射化学収率は  $[^{14}\text{C}]\text{MeI}$  から計算して 80% 以上である。

< 実施例 9 >

(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  $[^{14}\text{C}]\text{MeI}$  を加えて 70  $^\circ\text{C}$  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 (3 mM, pH 4.9); flow rate: 6 ml / 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- $[^{14}\text{C}]$ メチル-3-ブチリルオキシピロリジン (1d:  $\text{R}^1 = \text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{R}^2 = ^{14}\text{CH}_3$ ) が得られる。

30

【 0 0 5 1 】

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 >

ラット大脳皮質を摘出し、0.1M リン酸バッファ (pH 7.4) 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 200  $\mu\text{l}$   $[^{14}\text{C}]$  にて標識した実施例 1 により得た化合物 1c のリン酸バッファ溶液 20  $\mu\text{l}$  (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。

40

【 0 0 5 2 】

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。

【 0 0 5 3 】

50

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、および4Cは、各々、一般式(1)(2)(3)(4)において、符号R<sup>1</sup>はCOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>を、符号R<sup>2</sup>は、<sup>14</sup>CH<sub>3</sub>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

10

【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。

20

## フロントページの続き

審査官 井上 典之

- (56)参考文献 特開平06-327497(JP,A)  
特開昭62-230732(JP,A)  
国際公開第98/056763(WO,A1)  
国際公開第00/073257(WO,A1)  
仏国特許出願公開第02467846(FR,A1)  
Toshiaki IRIE et al., Design and evaluation of radioactive acetylcholine analogs for mapping brain acetylcholinesterase (AChE) in vivo, Nuclear Medicine and Biology, 1994年, Vol.21, No.6, pp.801-808  
L. DUBRAVKOVA et al., Some esters of N-methyl-3-hydroxypiperidines, Chemické Zvesti, 1956年, Vol.10, pp.421-425  
E. K. PERRY et al., Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia, British Medical Journal, 1978年11月25日, Vol.2, pp.1457-1459  
D. FREESE et al., Structure-activity relations of tertiary and quaternary pyrrolidine-carbinol esters and pyrrolidinol esters, Arzneimittel-Forschung, 1970年, Vol.20, No.4, pp.494-501  
Toshiaki IRIE et al., Brain acetylcholinesterase activity: Validation of a PET tracer in a rat model of Alzheimer's disease, The Journal of Nuclear Medicine, 1996年4月, Vol.37, No.4, pp.649-655

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D 207/00 ~ 207/50  
C07D 211/00 ~ 211/98  
A61K 49/00 ~ 49/04  
REGISTRY(STN)  
CA(STN)