ČESKÁ REPUBLIKA
ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

PATENTOVÁ LISTINA

Josef Kratochvíl
předseda
Úřadu průmyslového vlastnictví

Úřad průmyslového vlastnictví

udělil podle § 34 odst. 3 zákona č. 527/1990 Sb., v platném znění,

PATENT

číslo

310375

na vynález uvedený v přiloženém popisu.

V Praze dne: 22.04.2025

Za správnost:

Irena Korelová
oddělení rejstříků

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:
310 375
(13) Druh dokumentu: **B6**
(51) Int. Cl.:
C07D 419/06 (2006.01)
C07B 59/00 (2006.01)

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2022-502**
(22) Přihlášeno: **01.12.2022**
(40) Zveřejněno: **12.06.2024**
(Věstník č. 24/2024)
(47) Uděleno: **13.03.2025**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **23.04.2025**
(Věstník č. 17/2025)

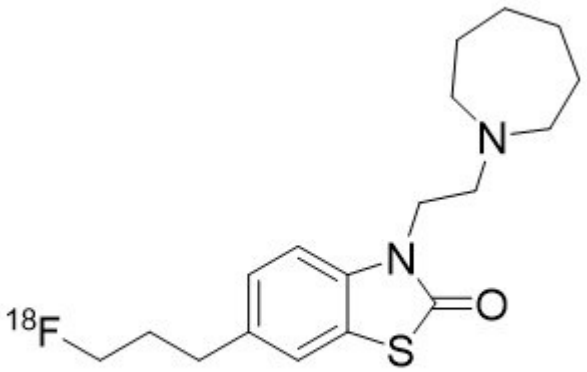
(56) Relevantní dokumenty:
US 2014328755 A1; WO 2022189304 A2; US 2012093726 A1.

(73) Majitel patentu:
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 6, Dejvice, CZ

(72) Původce:
Ing. Anna Marešová, Praha 9, Černý Most, CZ
Ing. Michal Jurášek, Ph.D., Praha 4, Modřany, CZ
prof. RNDr. Pavel Drašar, CSc., Praha 6, Liboc, CZ
doc. Ing. Bohumil Dolenský, Ph.D., Praha 4, Braník, CZ
doc. Ing. Alexander Popkov, Ph.D., Pardubice, Zelené Předměstí, CZ

(54) Název vynálezu:
Nová syntéza σ-1 receptorového traceru s [18F]

(57) Anotace:
Vynález představuje snadný způsob přípravy ligandu [^{18}F]FTC-146, při kterém se v prvním kroku dvoustupňové syntézy 6-(3-chlorpropyl)benzo[d]thiazol-2(3H)-on podrobí reakci s 1-(2-bromethyl)azepan-hydrobromidem a K_2CO_3 za vzniku prekurzoru AM-16, který se následně v druhém kroku syntézy podrobí fluoridaci pomocí [^{18}F] za vzniku [^{18}F]FTC-146.



[^{18}F]FTC-146

CZ 310375 B6

Nová syntéza σ-1 receptorového traceru s [^{18}F]

Oblast techniky

Vynález se týká syntézy receptor traceru pro neopioidní sigma receptor.

Dosavadní stav techniky

Receptory sigma (σ) patří k rodině neopioidních receptorů. Vazebné studie odhalily, že jsou přinejmenším známy dva podtypy, tj. σ-1 a σ-2. Jsou přítomné v plazmatické membráně a subcelulárních membránách. Zdá se, že receptory Sigma jsou spojeny s endoplazmatickým retikulem, kde působí jako modulátory signalizace Ca^{2+}. Mohou také regulovat funkci receptoru glutamátu NMDA, a tak ovlivnit uvolňování dopaminu neurotransmiteru.

Receptor σ-1 je neopioidní transmembránový protein zapojený do různých lidských patologií včetně neurodegenerativních onemocnění, zánětu a rakoviny. Dříve publikovaný ligand σ-1 [^{18}F]FTC-146 je považován za jeden z nejslibnějších nástrojů pro jaderné zobrazování a potenciálně klinickou diagnostiku různých neurologických stavů [1-4].

Dosud používaná syntéza ligandu σ-1 [^{18}F]FTC-146 využívá publikovanou šestistupňovou syntézu tosylesterového prekurzoru pro následnou radiofluoraci [5]

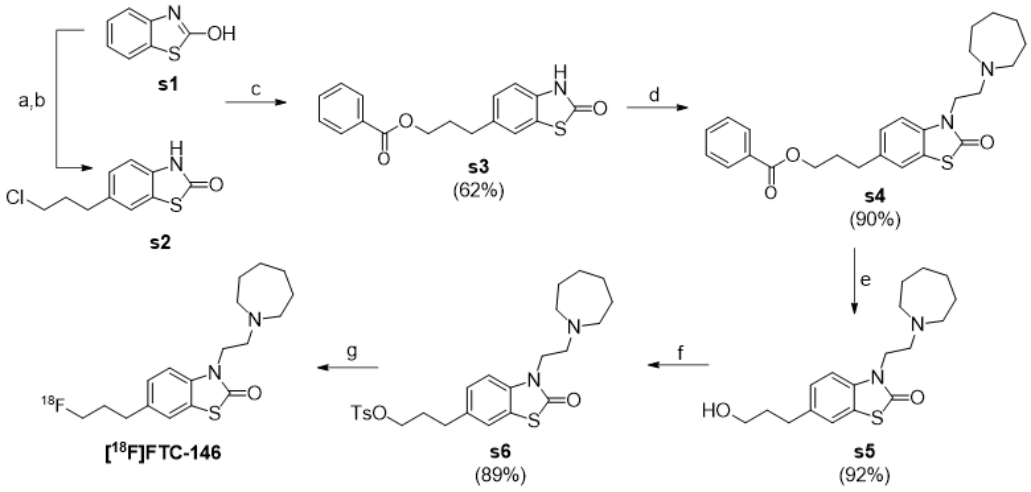


Schéma I Doposud používaná syntéza [^{18}F]FTC-146

[1] Brust, P.; Deuther-Conrad, W.; Lehmkuhl, K.; Jia, H.; Wünsch, B., Molecular imaging of σ1 receptors *in vivo*: Current status and perspectives. Curr. Med. Chem. 2014, 21 (1), 35-69;
[2] Nguyen, L.; Lucke-Wold, B. P.; Mookerjee, S.; Kaushal, N.; Matsumoto, R. R., Sigma-1 receptors and neurodegenerative diseases: towards a hypothesis of sigma-1 receptors as amplifiers of neurodegeneration and neuroprotection. Adv. Exp. Med. Biol. 2017, 964, 133-152;
[3] Agha, H.; McCurdy, C. R., *In vitro* and *in vivo* sigma 1 receptor imaging studies in different disease states. RSC Med. Chem. 2021, 12 (2), 154-177).
[4] Hjørnevik, T.; Cipriano, P. W.; Shen B.; Park J. H.; Gulaka P.; Holley D.; Gandhi H.; Yoon D.; Mittra E. S.; Zaharchuk G.; Gambhir S. S.; McCurdy C. R.; Chin F. T.; Biswal S., J. Nucl. Med. 2017, 58 (12), 2004-2009.
[5] James, M. L.; Shen, B.; Zavaleta, C. L.; Nielsen, C. H.; Mesangeau, C.; Vuppala, P. K.; Chan, C.; Avery, B. A.; Fishback, J. A.; Matsumoto, R. R.; Gambhir, S. S.; McCurdy, C. R.; Chin, F.

T., New positron emission tomography (PET) radioligand for imaging σ-1 receptors in living subjects. J. Med. Chem. 2012, 55 (19), 8272-8282.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu je dvoustupňová syntéza [^{18}F]FTC-146, což je podstatnou výhodou oproti doposud popsané šestistupňové syntéze (schéma I), která je komplikovaná a časově velice náročná. Vynález spočívá v jednostupňové přípravě chlorovaného prekurzoru označeného jako AM-16 a jeho použití při radiosyntéze [^{18}F]FTC-146. Takto připravený ligand byl analyticky charakterizován a využíván při předběžné autoradiografické vizualizaci receptorů σ-1 na řezech mozku myší.

Oproti popsané šestistupňové syntéze (schéma I) byla namísto prekurzoru na bázi tosylátu vyvinuta jednostupňovou syntéza (schéma II) prekurzorového analogu AM-16 obsahujícího chlor jako odstupující skupinu pro SN2 reakci s radioaktivním atomem ^{18}F. [^{18}F]-Fluorace AM-16 poskytla vysokou radiochemickou konverzi (RCC = 66,7 ±0,5 % hmotn.) se specifickou aktivitou 45,93 GBq/μmol. Radioligand byl použit pro vizualizaci distribuce receptoru σ-1 v mozkových řezech myši autoradiografií a charakterizován maximální specifickou vazbou (B_{max} = 72 pmol/g) a disociační konstantou (K_d = 1 nm).

Prvním krokem dvoustupňové syntézy je reakce 6-(3-chlorpropyl)benzo[d]thiazol-2(3*H*)-onu organickém rozpouštědle, s výhodou v DMF-toluen s 1-(2-bromethyl)azepan-hydrobromidem a K_2CO_3, čímž se získá prekurzor AM-16, který reakcí s fluoridačním médiem „[^{18}F]“ poskytne ligand [^{18}F]FTC-146. Studená, analogická syntéza byla provedena pro získání srovnávacího standardu.

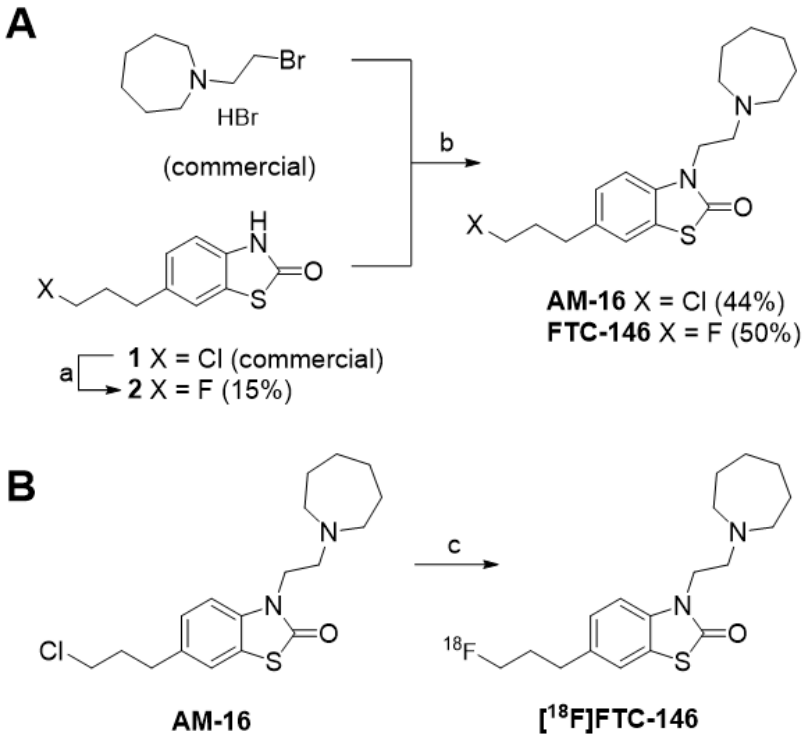


Schéma II Příklad studené (A) a horké syntézy (B) podle vynálezu

a) KF, 18-crown-6, TBAF, THF, 70 °C, 24 h; b) K_2CO_3, DMF-toluen, RT, 15 h. c) K_2CO_3, Bu_4NOMs, 50 % obj. AcCN, [^{18}F]F-, DMSO, 155 °C, 5 min.

Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1

K roztoku 6-(3-chlorpropyl)benzo[*d*]thiazol-2(3*H*)-onu (250 mg, 0,95 mmol) v DMF-toluen (10 ml, 2: 3 v/v, resp.) byl přidán 1-(2-bromethyl)azepan-hydrobromid (945 mg, 3,29 mmol) a K_2CO_3 (455 mg, 3,22 mmol). Směs byla míchána při pokojové teplotě přes noc (ca. 20 h). Poté byl přidán nasycený vodný roztok NaCl (10 ml) a směs byla extrahována AcOEt (3x 10 ml). Kombinovaná organická vrstva byla sušena nad Na_2SO_4, filtrována a rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku. Zbytek byl purifikován sloupcovou chromatografií na silikagelu (3 % obj. MeOH-DCM). Prekurzor **AM-16** (171 mg, 456 mmol) byl získán (po chromatografii) jako světle nažloutlý gel ve 44 % hmotn. výtěžku. R_f = 0,3 v AcOEt-MeOH (20:1 v/v, resp.).

Příklad 2

Ozářená [^{18}O]voda z cyklotronového terče (5,23 GBQ) byla přepuštěna přes prekondicionovanou kartridž QMA (10 ml, 0,5 m K_2CO_3), aby se zachytil fluorid [18F]$^-$. Následně byl fluorid [18F]$^-$ eluován 1 ml roztoku katalyzátoru fázového přenosu obsahujícího 20 mM Bu_4NOMs v 50 % obj. AcCN. Po eluci byl fluorid [18F]$^-$ sušen azeotropickou destilací za použití N_2 při 120 °C a poté byl přidán suchý AcCN (2 x 0,5 ml). K sušenému fluoridu [18F]$^-$ byl přidán **AM-16** (1,5 mg, 4,46 μmol) v DMSO (0,9 ml). Směs byla zahřívána na 155 °C po dobu 5 minut. Reakce byla zastavena vodou (2 ml) a přímo aplikována na polopreparativní HPLC (sloupec Luna C18, 250 x 10 mm; 45 % obj. AcCN, 0,1 % obj. TFA, tok = 4 ml/min). Frakce odebraná po 400 s byla znovu aplikována na sloupec spolu se vzorkem studené **FTC-146** pro identifikaci sloučeniny (sloupec Luna 5 μm PFP, 150 × 4,6 mm; 45 % obj. AcCN, 0,1 % obj. TFA, tok = 1,5 ml/min, RT = 5,8 min). Následně byla frakce zředěna destilovanou vodou (50 ml) a prošla prekondicionovanou kartridží SEP-Pak C_{18} (5 ml, 50 % obj. EtOH) a eluována EtOH (3 ml). Ligand **[^{18}F]FTC-146** byl izolován s RCY = 7,5 % hmotn. a RCP = 99,0 % hmotn. s SA = 45,93 MBq/μmol při celkové době syntézy t = 45 minut.

Příklad 4

Referenční příklad studené syntézy pro přípravu standardu

K roztoku 6-(3-chlorpropyl)benzo[*d*]thiazol-2(3*H*)-onu (250 mg, 1,10 mmol) v THF (3 ml), byl přidán KF (320 mg, 5,52 mmol), 18-crown-6 (60 mg, 0,23 mmol) a TBAF (1440 mg, 5,52 mmol). Směs byla míchána při 70 °C (18 h). Po ochlazení byl přidán nasycený vodný roztok NaCl (10 ml). Směs byla extrahována AcOEt (3x 10 ml). Kombinovaný organický extrakt byl sušen nad Na_2SO_4, filtrován a rozpouštědla byla odstraněna za sníženého tlaku. Zbytek byl umístěn na sloupec silikagelu a chromatografován (3 % obj. MeOH-DCM). Fluorderivát **2** (35 mg, 0,17 mmol) byl získán jako světle nažloutlý olej v 15 % hmotn. výtěžku. R_f = 0,3 v DCM-MEOH 20:1 (v/v). LRMS-ESI: Pro $C_{10}H_{10}FNOS$ vypočteno 211,0 Da, nalezeno m/z 212,0 $[M+H]^+$.

Příklad 5

Referenční příklad studené syntézy pro přípravu standardu

Do roztoku **2** (35 mg, 0,17 mmol) v DMF/toluenu (1 ml, 2:3 v/v, resp.) byl přidán 1-(2-bromethyl)azepan-hydrobromid (143 mg, 0,50 mmol) a K_2CO_3 (69 mg, 50 mmol). Směs byla míchána při pokojové teplotě přes noc (ca. 20 h). Směs byla nalita do nasyceného vodného

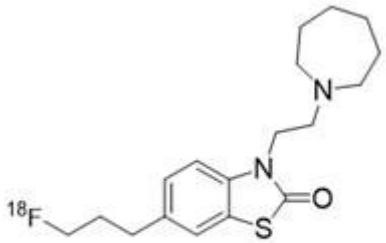
roztoku NaCl (10 ml) a extrahována AcOEt (3x 10 ml). Kombinovaná organická vrstva byla sušena nad Na_2SO_4, filtrována a rozpouštědla byla odpařena na rotačním výparníku. Takto získaná surová surová byla purifikována sloupcovou chromatografií (3 % obj. MeOH-DCM). Fluorderivát označený jako **FTC-146** (28 mg, 50 % hmotn.) byl po chromatografii získán jako světle nažloutlý gel. R_f = 0,3 v AcOEt-MeOH + 1% TEA (20:1 v/v, resp.).

Průmyslová využitelnost

Ligand **[^{18}F]FTC-146** je využit pro jaderné zobrazování a potenciálně klinickou diagnostiku různých neurologických stavů. Nová rychlá a efektivní metoda jeho přípravy podle vynálezu značně zefektivňuje jeho použití.

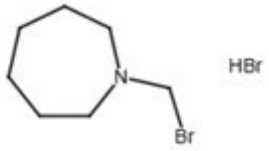
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob přípravy ligandu [^{18}F]FTC-146

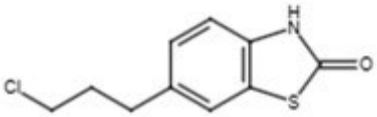


[^{18}F]FTC-146

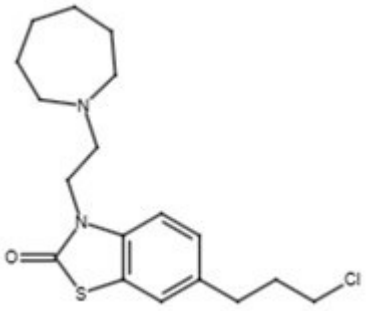
vyznačující se tím, že v prvním kroku dvoustupňové syntézy je podroben reakci 6-(3-chlorpropyl)benzo[*d*]thiazol-2(3*H*)-on vzorce II s 1-(2-bromethyl)azepan-hydrobromidem vzorce I a K_2CO_3 za vzniku prekurzoru AM-16, který je následně v druhém kroku syntézy podroben fluoridaci pomocí [^{18}F] za vzniku [^{18}F]FTC-146, kde vzorce jsou:



(I)



(II)



(AM-16).