

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5606737号
(P5606737)

(45) 発行日 平成26年10月15日(2014.10.15)

(24) 登録日 平成26年9月5日(2014.9.5)

(51) Int. Cl.	F I
C07C 275/16 (2006.01)	C O 7 C 275/16 C S P
C07D 213/38 (2006.01)	C O 7 D 213/38
A61K 31/444 (2006.01)	A 6 1 K 31/444
A61K 51/00 (2006.01)	A 6 1 K 43/00
A61K 31/4402 (2006.01)	A 6 1 K 49/02
	B
	請求項の数 31 (全 56 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-536459 (P2009-536459)
 (86) (22) 出願日 平成19年11月7日(2007.11.7)
 (65) 公表番号 特表2010-509358 (P2010-509358A)
 (43) 公表日 平成22年3月25日(2010.3.25)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2007/083934
 (87) 国際公開番号 W02008/058192
 (87) 国際公開日 平成20年5月15日(2008.5.15)
 審査請求日 平成22年11月4日(2010.11.4)
 (31) 優先権主張番号 60/857,490
 (32) 優先日 平成18年11月8日(2006.11.8)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/878,678
 (32) 優先日 平成19年1月5日(2007.1.5)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 507412863
 モレキュラ インサイト ファーマシュー
 ティカルズ インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 ニューヨーク州 タリー
 タウン オールド ソウ ミル リバー
 ロード 777
 (74) 代理人 100129425
 弁理士 小川 護晃
 (74) 代理人 100154106
 弁理士 荒木 邦夫

最終頁に続く

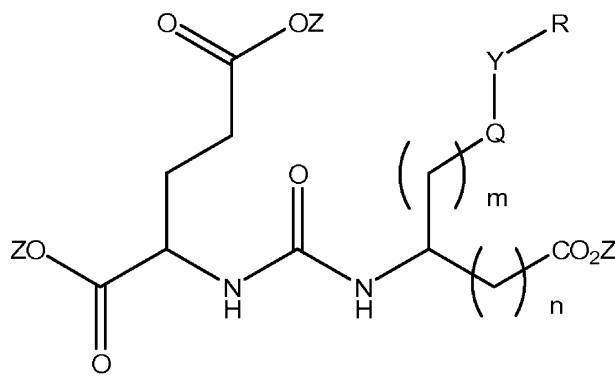
(54) 【発明の名称】 グルタミン酸のヘテロダイマー

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(I)の化合物

【化1】



(I)

(上式中、

Rは、C₆~C₁₂置換もしくは非置換アリール、C₆~C₁₂置換もしくは非置換ヘテロアリール、C₁~C₆置換もしくは非置換アルキルまたは-NR'R'であり、

Qは、C(O)、O、NR'、S、またはS(O)₂であり、

Yは、C(O)、O、NR'、S、またはS(O)₂であり、

Zは、HまたはC₁~C₄アルキルであり、

mは、0、1、2、3、4または5であり、

nは、0であり、

R'は、独立に、H、C₆~C₁₂置換もしくは非置換アリール、C₆~C₁₂置換もしくは非置換ヘテロアリールまたはC₁~C₆置換もしくは非置換アルキルであり、

置換されている場合のアリール、ヘテロアリールおよびアルキルは、ハロゲン、C₅~C₁₂ヘテロアリール、-NR'R'またはCOOZで置換されており、

さらに、

(i) RもしくはR'の少なくとも1つは、ハロゲンで置換されたC₆~C₁₂アリールもしくはC₆~C₁₂ヘテロアリールであり、または

(ii) RもしくはR'の少なくとも1つは、C₆~C₁₂ヘテロアリールである。) または式(I)の前記化合物の医薬的に許容される塩。

【請求項2】

前記ハロゲンは、放射性ハロゲン、I-123、I-125、I-131、I-124、Br-75、Br-77、またはF-18である、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

nは、0であり、

mは、0、1、2、3または4であり、

Qは、NR'であり、

Yは、C(O)であり、

Rは、C₆~C₁₂置換または非置換アリールである、請求項1に記載の化合物。

【請求項4】

Rが、ハロゲンで置換されたフェニル部分である、請求項3に記載の化合物。

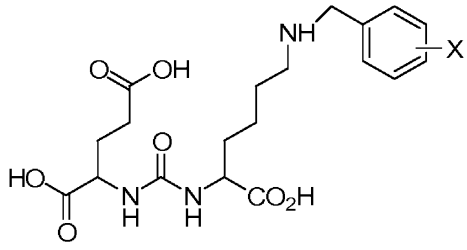
【請求項5】

以下の化合物

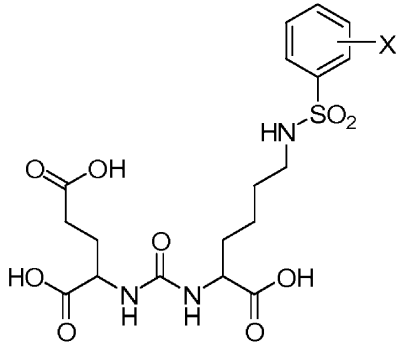
10

20

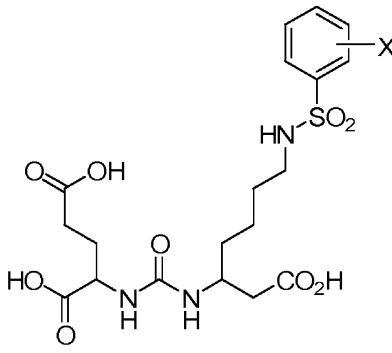
【化 2 A】



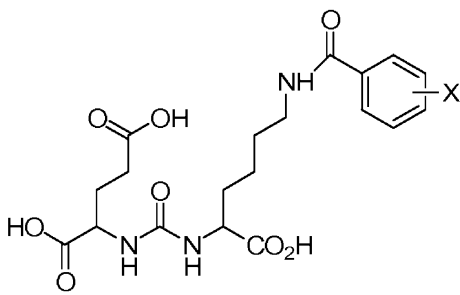
10



20

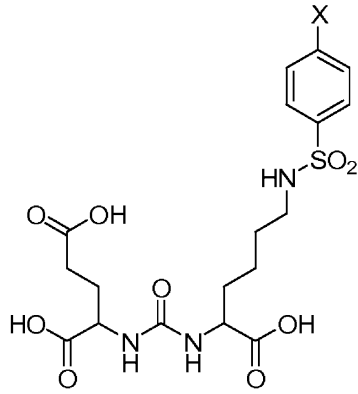


30

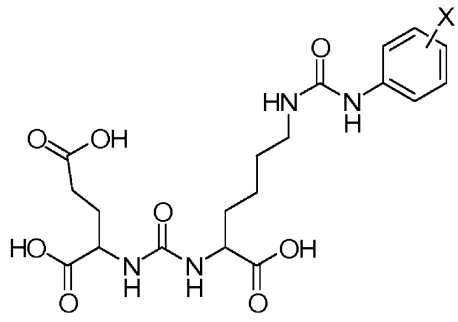


40

【化 2 B】

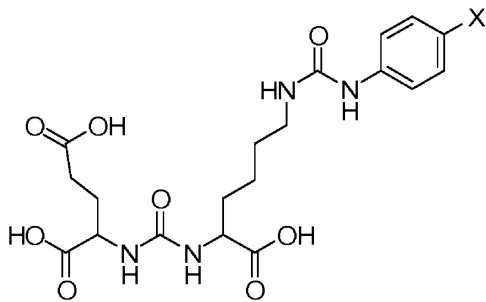


10



20

【化 2 C】



30

または前記化合物の医薬的に許容される塩であり、

上記化合物のいずれの前記カルボキシ基も、C₁ ~ C₄ アルキルで置換されていてもよく、

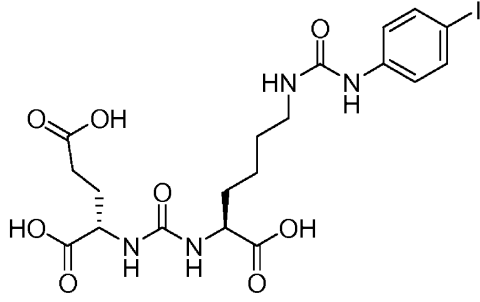
X は、ハロゲン、放射性ハロゲン、I - 123、I - 125、I - 131、I - 124、Br - 75、Br - 77、および F - 18 からなる群より選択される化合物または前記化合物の医薬的に許容される塩。

40

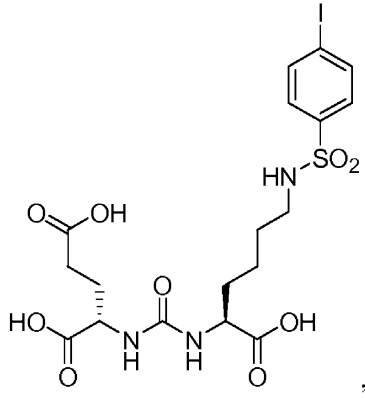
【請求項 6】

以下の化合物

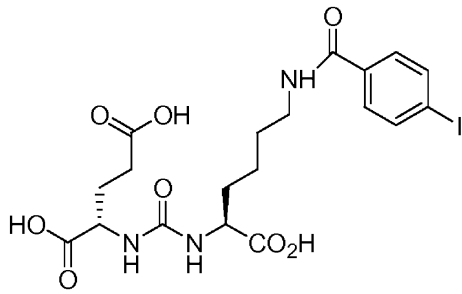
【化 3 A】



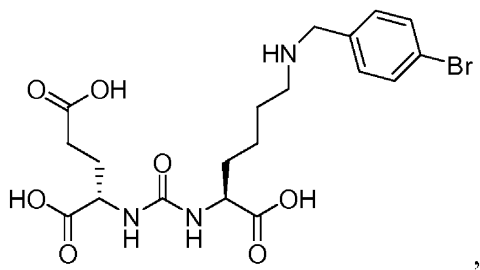
10



20

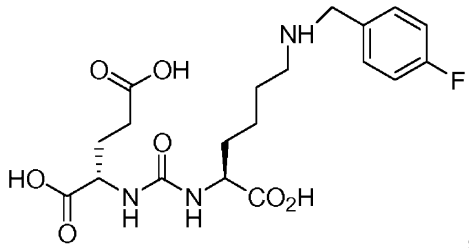


30

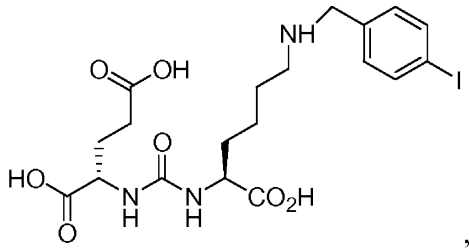


40

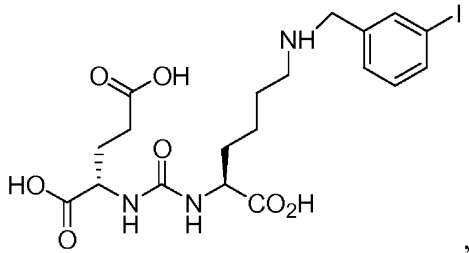
【化 3 B】



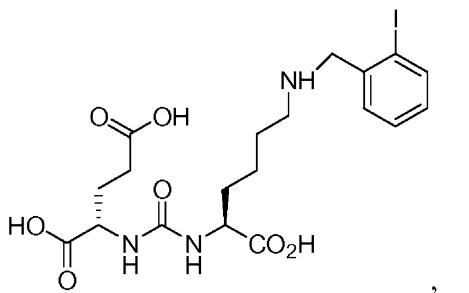
10



20



30



または前記化合物の医薬的に許容される塩。

【請求項 7】

n は、0 であり、

m は、0、1、2、3、または 4 であり、

Q は、NR' であり、

Y は、C(O) である、

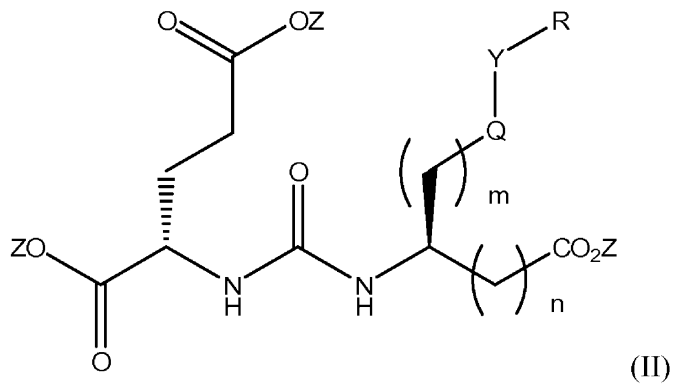
請求項 1 に記載の化合物。

40

【請求項 8】

前記化合物は、式 (II) :

【化 7】



10

である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 9】

請求項 1 に記載の化合物または塩を含んで構成される、放射性核種を含むキレート錯体。

【請求項 10】

前記放射性核種は、イメージング用放射性核種である、請求項 9 に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

20

【請求項 11】

前記放射性核種は、治療用放射性核種である、請求項 9 に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

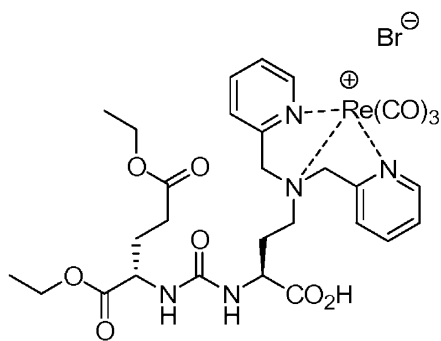
【請求項 12】

前記キレート錯体は、(テクネチウム - 99m) $Tc(CO)_3$ キレート錯体または(レニウム - 186 / 188) $Re(CO)_3$ キレート錯体である、請求項 9 に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

【請求項 13】

放射性核種を含むキレート錯体であって、前記キレート錯体は、

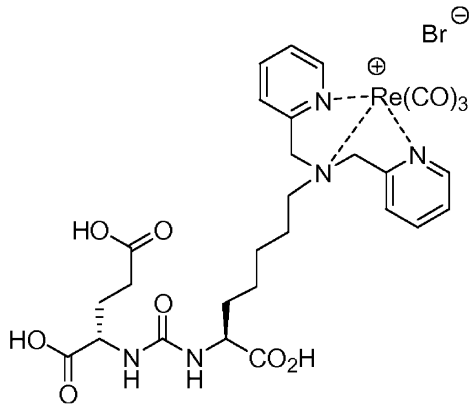
【化 8 A】



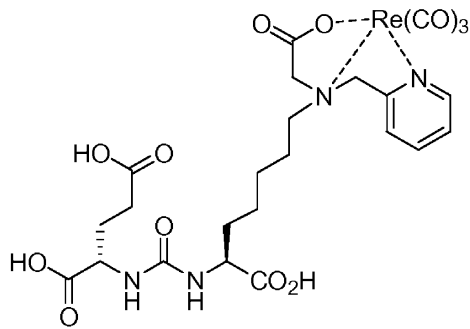
30

40

【化 8 B】



10



20

であり、

上記化合物のいずれの前記カルボキシ基も、 $C_1 \sim C_4$ アルキルで置換されていてもよい、

放射性核種を含むキレート錯体。

【請求項 14】

30

PSMAのIC₅₀阻害が20 nM未満であり、請求項1の式(I)を有する、グルタマート-尿素-リジンPSMA結合部分を含む化合物または医薬的に許容されるその塩であって、

前記グルタマート-尿素-リジンPSMA結合部分が、 $-NH_2$ または $-NH_2$ 基を介して結合したグルタマート-尿素- または $-$ アミノ酸ヘテロダイマーである、化合物または医薬的に許容されるその塩。

【請求項 15】

(i) 金属キレート化部分と、前記金属キレート化部分に結合した請求項14に記載の化合物または塩を含んで構成される化合物と、

(ii) 放射性核種と、
を含んで構成される、キット。

40

【請求項 16】

前記放射性核種は、テクネチウム-99m、レニウム-186、レニウム-188、またはそれらの組み合わせから選択される、請求項15に記載のキット。

【請求項 17】

有痛性および感覚性糖尿病性ニューロパシー、神経損傷、および前立腺癌、統合失調症、結腸直腸癌、炎症、筋萎縮性側索硬化症、または糖尿病性ニューロパシーに罹患した患者の治療方法に用いるための請求項14に記載の化合物または塩であって、

請求項14に記載の化合物または塩の治療有効量を前記患者に投与することを含み、

前記グルタマート-尿素-リジンPSMA結合部分は、 $-NH_2$ または $-NH_2$ 基

50

を介して結合したグルタメート - 尿素 - または - アミノ酸ヘテロダイマーである、
化合物または塩。

【請求項 18】

鎮痛が必要な患者の治療方法に用いるための請求項 14 に記載の化合物または塩であって、

前記方法は請求項 14 に記載の化合物または塩の治療有効量を前記患者に投与すること
を含み、

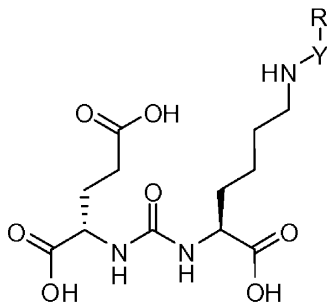
前記グルタメート - 尿素 - リジン P S M A 結合部分は、 - NH₂ または - NH₂ 基
を介して結合したグルタメート - 尿素 - または - アミノ酸ヘテロダイマーである、
化合物または塩。

10

【請求項 19】

前記化合物は、式 I i b :

【化 13】



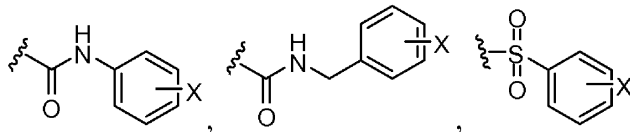
20

の化合物であり、

上式中、

- Y - R は、

【化 14】



30

からなる群より選択され、

X は、I、Br、Cl、および F からなる群より選択される、

請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 20】

前記キレート錯体は、(テクネチウム - 99m) Tc(CO)₃ キレート錯体または (レニウム - 186 / 188) Re(CO)₃ キレート錯体である、請求項 13 に記載の放射
性核種を含むキレート錯体。

40

【請求項 21】

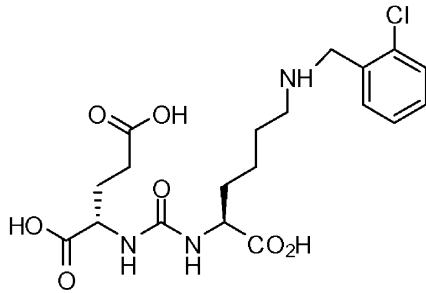
前記放射性核種は、イメージング用放射性核種である、請求項 13 に記載の放射性核種
を含むキレート錯体。

【請求項 22】

前記放射性核種は、治療用放射性核種である、請求項 13 に記載の放射性核種を含むキ
レート錯体。

【請求項 23】

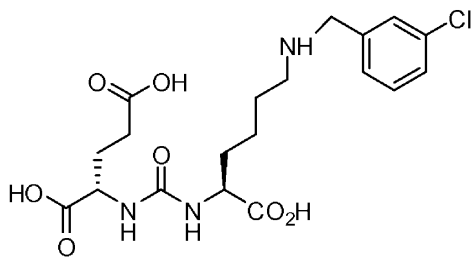
【化18】



10

(S,S)-2-({3-[1-カルボキシ-5-(2-クロロ-ベンジルアミノ)-ペンチル]-ウレイド}-ペンタン二酸、

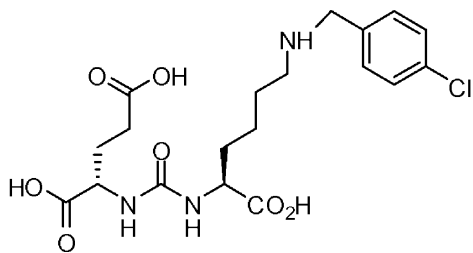
【化19】



20

(S,S)-2-({3-[1-カルボキシ-5-(3-クロロ-ベンジルアミノ)-ペンチル]-ウレイド}-ペンタン二酸、

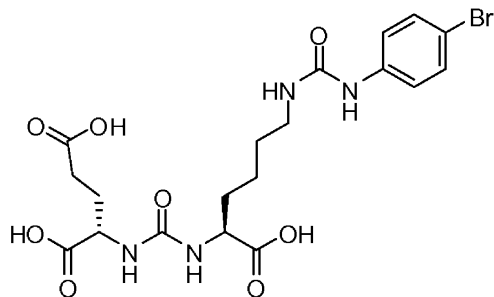
【化20】



30

(S,S)-2-({3-[1-カルボキシ-5-(4-クロロ-ベンジルアミノ)-ペンチル]-ウレイド}-ペンタン二酸、

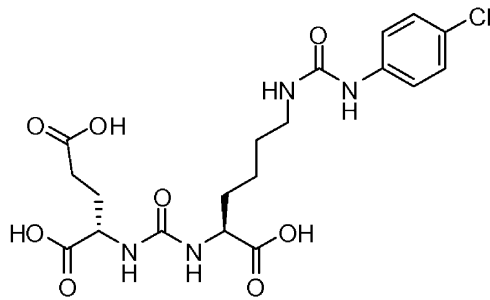
【化23】



40

2-({3-[1-カルボキシ-5-[3-(4-ブロモ-フェニル)-ウレイド]ペンチル]-ウレイド}-ペンタン二酸、

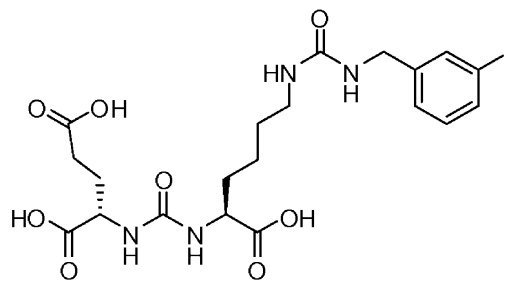
【化 2 4】



10

2 - (3 - { 1 - カルボキシ - 5 - [3 - (4 - クロロ - フェニル) - ウレイド] - ペンチル } - ウレイド) - ペンタン二酸、および

【化 2 6】



20

2 - (3 - { 1 - カルボキシ - 5 - [3 - (3 - ヨード - ベンジル) - ウレイド] - ペンチル } - ウレイド) - ペンタン二酸
からなる群より選択される、化合物。

【請求項 2 4】

前記放射性核種は、イメージング用放射性核種である、請求項 1 3 に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

30

【請求項 2 5】

前記放射性核種は、治療用放射性核種である、請求項 1 3 に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

【請求項 2 6】

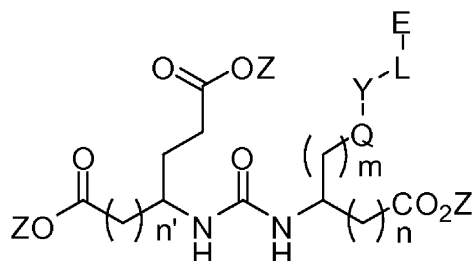
前記キレート錯体は、(テクネチウム - 99m) $Tc(CO)_3$ キレート錯体または(レニウム - 186 / 188) $Re(CO)_3$ キレート錯体である、請求項 1 3 に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

【請求項 2 7】

式 III の化合物

【化 2 9】

40



式 III

(上式中、

L は、結合、場合により置換された $C_1 \sim C_{15}$ のアルキル、アルケニル、もしくはア

50

ルキニル、または $-(CH_2)_qO)_s-$ であり、 q および s は独立に $1 \sim 10$ の整数であり；

E は、 $-NR'R'$ であり、

Q は、 $C(O)$ 、 O 、 NR' 、 S 、 $S(O)_2$ 、または $(CH_2)_p$ であり、

Y は、 $C(O)$ 、 O 、 NR' 、 S 、 $S(O)_2$ 、または $(CH_2)_p$ であり、

Z は、 H または $C_1 \sim C_4$ アルキルであり、

m は、 0 、 1 、 2 、 3 、 4 または 5 であり、

n は、 0 であり、

n' は、 0 であり、

p は、 0 、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 または 6 であり、

R' は、独立に、 H 、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換アリール、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、または $C_1 \sim C_{14}$ 置換もしくは非置換アルキルであり、置換されている場合のアリール、ヘテロアリール、およびアルキルは、ハロゲン、 $C_5 \sim C_{12}$ ヘテロアリール、 $-NR'R'$ または $COOZ$ で置換されている。))

またはそれらの医薬的に許容される塩。

【請求項 28】

請求項 27 に記載の化合物または塩を含んで構成される、放射性核種を含むキレート錯体。

【請求項 29】

前記放射性核種は、イメージング用放射性核種である、請求項 28 に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

【請求項 30】

前記放射性核種は、治療用放射性核種である、請求項 28 に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

【請求項 31】

前記放射性核種は、放射性銅である、請求項 9、13、または 28 のいずれか 1 項に記載の放射性核種を含むキレート錯体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2006年11月8日に出願された米国仮出願第60/857,490号明細書および2007年1月5日に出願された米国仮出願第60/878,678号明細書の優先権を主張し、これらの開示全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

少なくとも百万人の男性が前立腺癌に罹患し、60～80歳の間の米国男性の6人に1人がこの病気にかかるかと推定される。前立腺癌と診断される新しい症例は毎年300,000を超える。前立腺癌は、米国男性の6人に1人が罹患し、この疾病による死亡率は肺癌に次いで第2位である。現在世界中で外科的治療、放射線治療、薬物療法、および最小侵襲的治療に対して20億ドルが費やされ、その中の10億ドルが米国内によるものと推定されている。再発性転移性アンドロゲン非依存性前立腺癌の効果的な治療法は現在存在しない。現在の放射線治療が可能となるような迅速な前立腺癌の可視化および特異的ターゲティングを可能にする、新規な物質が必要とされている。

【0003】

N-アセチル化 - 結合酸性ジペプチダーゼ (NAALDase) は、グルタメートカルボキシペプチダーゼ II (GCP II) とも呼ばれており、神経系内でN-アセチルアスパルチル-グルタメート (NAAG) をN-アセチルアスパルテートおよびグルタメートに開裂するニューロペプチダーゼの一種であり、後述のようにNAALDaseによって四面体型中間体を介してNAAGが加水開裂される。この酵素は、活性部位に2つの

10

20

30

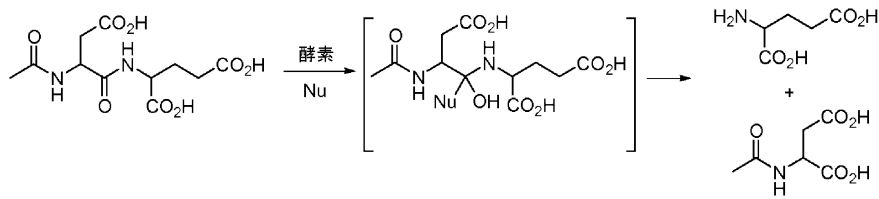
40

50

亜鉛原子を含有するメタロペプチダーゼの共触媒の種類の子型タンパク質である。

【0004】

【化1】



10

【0005】

神経系内でのその特性とは独立に、N A A L A D a s eの一形態が、ヒト前立腺腺癌において多量に発現されることが知られており、前立腺特異的膜抗原(P S M A)と呼ばれている。N A A L A D a s e / P S M A 遺伝子は、複数のm R N A スプライシング型を産生することが知られており、従来の免疫組織化学的証拠に基づいて、ヒトの脳および前立腺が異なるアイソフォームの酵素を発現していると推定されていた。

【0006】

ヒト前立腺特異的膜抗原(P S M A)は、葉酸ヒドロラーゼI (F O L H 1)とも呼ばれており、膜貫通型750アミノ酸子型糖タンパク質の一種であり、正常なヒト前立腺上皮で主として発現されるが、転移性疾患を含む前立腺癌において発現増加する。P S M Aは、ポリ- - グルタミン酸化葉酸に対して反応性を有する独特のエキソペプチダーゼであり、ポリ- - グルタミル末端を連続的に除去することができる。P S M Aは実質的にあらゆる前立腺癌で発現され、その発現は低分化転移性およびホルモン抵抗性癌においてさらに増加するため、前立腺のイメージングおよび治療のための非常に魅力的なターゲットとなる。P S M Aと相互作用し適切な放射性核種を運びガンドを開発することによって、前立腺癌の検出、治療、および管理のための有望で新規なターゲティングの選択肢を提供することができる。

20

【0007】

抗P S M Aモノクローナル抗体(m A b)7 E 1 1の放射性免疫複合形態は、P R O S T A S C I N T スキャンとも呼ばれており、現在では前立腺癌の転移および再発の診断に使用されている。種々の第I相および第II相試験で得られた初期の有望な結果から、P S M Aが治療ターゲットとして使用されてきた。P R O S T A S C I N Tは、P S M Aの細胞内ドメインを標的としており、前立腺腫瘍のほとんどの壊死部分に結合すると考えられている。¹⁻⁴より最近では、P S M Aの細胞外ドメインに結合するモノクローナル抗体が開発され、放射標識することで、動物のP S M A陽性前立腺腫瘍モデルに蓄積することが示されている。

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

モノクローナル抗体は腫瘍の検出および治療に有望であり続けているが、固形腫瘍に対する浸透性が低いために、リンパ腫の外部に臨床的成果が限定されている。固形腫瘍に対して高い浸透性を有する低分子量模倣薬は、1g当たりで高いパーセント値および特異的結合の高いパーセント値が得られるという明確な利点を有する。

40

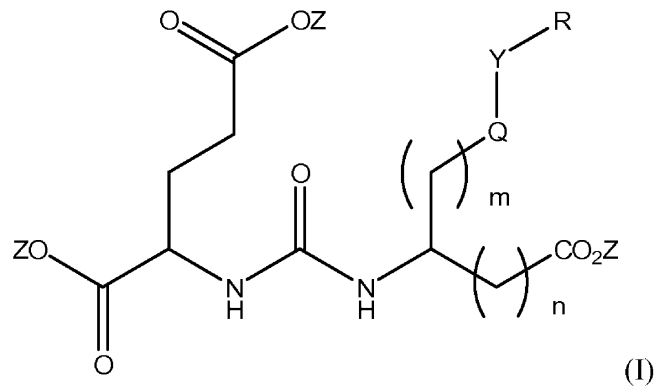
【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明の一態様は、式(I)の化合物

【0010】

【化2】



【0011】

(上式中、Rは、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換アリール、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、 $C_1 \sim C_6$ 置換もしくは非置換アルキル、または $-NR'R'$ であり、

Qは、 $C(O)$ 、 O 、 NR' 、 S 、 $S(O)_2$ 、 $C(O)_2(CH_2)_p$ であり、

Yは、 $C(O)$ 、 O 、 NR' 、 S 、 $S(O)_2$ 、 $C(O)_2(CH_2)_p$ であり、

Zは、Hまたは $C_1 \sim C_4$ アルキルであり、

mは、0、1、2、3、4または5であり、

nは、0、1、2、3、4、5または6であり、

pは、0、1、2、3、4、5または6であり、

R' は、H、 $C(O)$ 、 $S(O)_2$ 、 $C(O)_2$ 、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換アリール、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリールまたは $C_1 \sim C_6$ 置換もしくは非置換アルキルであり、

置換されている場合のアリール、ヘテロアリールおよびアルキルは、ハロゲン、 $C_6 \sim C_{12}$ ヘテロアリール、 $-NR'R'$ または $COOZ$ で置換されており、

さらに、

(i) Rもしくは R' の少なくとも1つが、ハロゲンで置換された $C_6 \sim C_{12}$ アリールもしくは $C_6 \sim C_{12}$ ヘテロアリールであり、または、

(ii) Rもしくは R' の少なくとも1つが、 $C_6 \sim C_{12}$ ヘテロアリールである。)

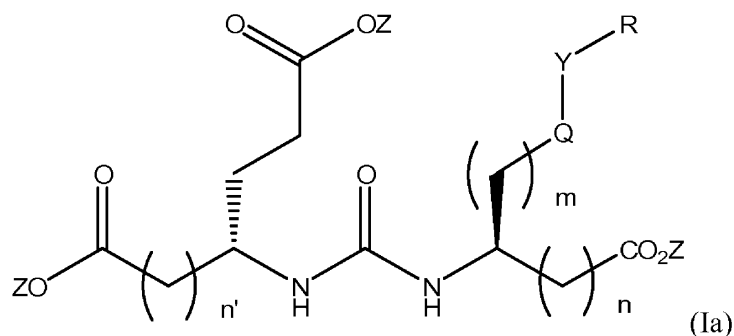
または式(I)の化合物の医薬的に許容される塩に関する。

【0012】

本発明の別の一態様は、式(Ia)の化合物

【0013】

【化3】



【0014】

(上式中、Rは、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換アリール、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、 $C_1 \sim C_6$ 置換もしくは非置換アルキル、または $-NR'R'$ であり、

Qは、 $C(O)$ 、 O 、 NR' 、 S 、 $S(O)_2$ 、 $C(O)_2(CH_2)_p$ であり、

Yは、 $C(O)$ 、 O 、 NR' 、 S 、 $S(O)_2$ 、 $C(O)_2(CH_2)_p$ であり、

Zは、Hまたは $C_1 \sim C_4$ アルキルであり、

mは、0、1、2、3、4、または5であり、

nは、0、1、2、3、4、5、または6であり、

n'は、0、1、2、3、4、5、または6であり、

pは、0、1、2、3、4、5、または6であり、

R'は、H、 $C(O)$ 、 $S(O)_2$ 、 $C(O)_2$ 、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換アリール、 $C_6 \sim C_{12}$ 置換もしくは非置換ヘテロアリール、または $C_1 \sim C_6$ 置換もしくは非置換アルキルであり、

置換されている場合のアリール、ヘテロアリール、およびアルキルは、ハロゲン、 $C_6 \sim C_{12}$ ヘテロアリール、 $-NR'R'$ 、または $COOZ$ で置換されており、

さらに、

(i) RもしくはR'の少なくとも1つが、少なくとも1つのハロゲンで置換された $C_6 \sim C_{12}$ アリールもしくは $C_6 \sim C_{12}$ ヘテロアリール、または

(ii) RもしくはR'の少なくとも1つが、置換もしくは非置換 $C_6 \sim C_{12}$ ヘテロアリールである。) 20

または式(Ia)の化合物の医薬的に許容される塩に関する。

【0015】

式(I)、(Ia)、(II)、または(IIa)の化合物の好ましい一実施形態においては、nは0または1であり、n'は0または1である。

【0016】

本発明は、グルタメート-尿素-リジンPSMA結合部分、ならびにそれらの診断および治療的処置における使用にも関する。一実施形態においては、本明細書に記載の尿素系類似体は、 $-NH_2$ または $-NH_2$ 基を介して結合したグルタメート-尿素-または $-$ アミノ酸ヘテロダイマーである。炭素またはヘテロ原子結合を介してXアミノ酸側鎖に結合した種々の補欠分子族を介して、構造中に放射線標識を組み込むことができる。本発明の化合物は、前立腺癌およびNAALADase阻害に関連する他の疾患の治療および管理のための標的薬剤、ならびに診断薬および治療薬として用途を見いだすことができる。 30

【0017】

適切な化学的部分、化学的部分の定義、賦形剤、ならびに投与方法および方式は、米国特許出願公開第2004/0054190号明細書および米国特許出願公開第2004/0002478号明細書、ならびに国際公開第02/22627号パンフレットおよび国際公開第03/060523号パンフレットに見ることができ、これらの記載内容全体が参照として本明細書に援用される。 40

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】(a)はTC-99m-glu-尿素-DpK(Tc-99m-MIP 1008)の、(b)はレニウム類似体の、(c)はレニウムジエステル錯体の、同時注入のHPLCクロマトグラムである。

【図2】(a)はPBS pH 7.2中、(b)はPBS中0.1Mのシステイン中、(c)はPBS中0.1MのDTPA中、(d)はPBS中5%マウス血清中、37°Cで6時間におけるGlu-尿素-DpK(Tc-99m-MIP 1008)のTc-99m錯体の安定性を示している。

【図3】(a)は、N-[N-[(S)-1,3-ジカルボキシプロピル]カルバモイル 50

]-S-3-ヨード-L-チロシン(I-131 DCIT)の粗反応物のHPLCクロマトグラムである(上段)。(b)は、2時間において精製したN-[N-[(S)-1,3-ジカルボキシプロピル]カルバモイル]-S-3-ヨード-L-チロシン(I-131 DCIT)のHPLCクロマトグラムである(中段)。(c)は、2日において精製したN-[N-[(S)-1,3-ジカルボキシプロピル]カルバモイル]-S-3-ヨード-L-チロシン(I-131 DCIT)のHPLCクロマトグラムである(下段)。

【図4】(a)はDMSO中、(b)は3%ゲンステレート(genistein)-6%アスコルベート/アスコルビン酸中、(c)はPBS(pH=7.2)中、(d)は食塩水中10%エタノール中、37°Cで3日で精製したI-131 MIP-1072のラジオ-HPLCクロマトグラムである。示されているように、I-131-1072(ピーク12分)は実験全体で依然として安定していた。

10

【図5】I-123 DCITがLNCaP細胞には特異的に結合しPC3細胞には特異的に結合しないこと(左の組)を示しており、このことが、LNCaP細胞中の非放射線標識化合物(中央の組)またはPMPA(右の組)により置換可能な計数より明らかとなっている。このヒストグラムは、平均±SEMを示しており、各実験は2回繰り返して行った。

【図6】非放射性2-{3-[1-カルボキシ-2-(4-ヒドロキシ-フェニル)-エチル]-ウレイド}-ペンタン二酸(DCT)を使用したPSMA細胞結合アッセイにおけるスキャッチャード(Scatchard)解析である。

20

【図7】PSMA陽性LNCaP細胞中の選択された化合物の生物学的評価を示している。

【図8】PSMA陽性LNCaP細胞中のリード化合物の生物学的評価を示している。

【図9】MIP-1072を使用したPSMA細胞結合アッセイにおけるスキャッチャード解析を示している。

【図10】I-131-MIP-1072の内部移行を示している。

【図11】(a)は、ラットミクロソーム中60分におけるI-131 MIP-1072パーシス(verses)フェナセチンの安定性を示している。(b)は、ラットミクロソーム中60分におけるI-131 MIP-1072パーシス(verses)DCITおよびフェナセチンの安定性を示している。

30

【図12】異種移植片腫瘍マウス中のI-131 MIP-1072の組織生体内分布を示している。

【図13】LNCaP細胞溶解物からのNAALADase活性の阻害を示している。

【図14】LNCaP細胞溶解物からのNAALADase活性の阻害を示している。

【図15】LNCaP細胞溶解物からのNAALADase活性の阻害を示している。

【図16】LNCaP細胞上のPSMAへの公知のNAALADase阻害剤131I-DCITの結合を阻害する、試験化合物の能力を試験したものを示している。細胞は、種々の濃度の試験化合物および131I-DCITとともに1時間インキュベートした後、洗浄し、計数してIC50値を求めた。

【図17】MIP-1072の直接結合分析である。¹²³I-MIP-1072(3nM、>1,000mCi/μmol)を、PSMA陽性LNCaP細胞またはPSMA陰性PC3細胞(300,000細胞/ウェル)とともに、非放射線の10μMのMIP-1072または10μMの特異的PSMA阻害剤(PMPA)いずれかの存在下および非存在下の両方でインキュベートした。

40

【図18】LNCaP細胞中の¹²³I-MIP-1072の飽和結合分析を示している。

【図19】¹²³I-MIP-1072の内部移行を示している。

【図20】LNCaP異種移植片を有するマウスにおける¹²³I-MIP-1072の取り込みを示している。¹²³I-MIP-1072(2μCi/マウス、>1,000mCi/μmol)の組織生体内分布を、LNCaP(PSMA陽性)腫瘍を有する又一

50

ドマウスからの選択された組織において評価した。結果は、選択した組織 1 g 当たりの注入量の % (% I D / g) として表している。

【図 2 1】 L N C a P および P C 3 異種移植片を有するマウスにおける ^{123}I -M I P - 1 0 7 2 の取り込みを示す。5 0 m g / k g P M P A による予備処置を行った (遮断) または行わなかった (正常)、L N C a P (P S M A 陽性) および P C 3 (P S M A 陰性) 腫瘍を有するヌードマウスからの選択された組織において、 ^{123}I -M I P - 1 0 7 2 (2 μCi / マウス、 $> 1, 0 0 0 \text{ mCi} / \mu\text{mol}$) の組織生体内分布を評価した。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 9 】

定義

「医薬的に許容される塩」は、遊離塩基の生物学的な有効性および性質を維持し、無機酸、たとえば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、サリチル酸などとの反応によって得られる塩を意味する。

【 0 0 2 0 】

「アルキル」は、直鎖、分岐、または環状の飽和脂肪族炭化水素を意味する。典型的なアルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、第 3 級ブチル、ペンチル、ヘキシルなどが挙げられる。アルキル基は、ヒドロキシル、シアノ、またはアルコキシからなる群より選択される 1 つ以上の置換基で場合により置換されていてもよい。アルキル基が R ' 置換基である場合、これは 1 ~ 6 個の炭素、より好ましくは 1 ~ 4 個の炭素の低級アルキル基である。

【 0 0 2 1 】

「アリール」は、共役電子系を有する少なくとも 1 つの環を有する芳香族基を意味し、このようなものとしては炭素環式アリール基、複素環式アリール基、およびビアリール基が挙げられる。アリール基は、ハロゲン、トリハロメチル、ヒドロキシル、S H、O H、N O₂、アミン、チオエーテル、シアノ、アルコキシ、アルキル、およびアミノからなる群より選択される 1 つ以上の置換基で場合により置換されていてもよい。アリール基の例としては、フェニル基、ナフチル (n a p t h y l) 基、およびアントラシル基が挙げられる。フェニル基および置換フェニル基が好ましい。「ヘテロアリール」は、1 ~ 3 個のヘテロ原子を環原子として有し、残りの環原子が炭素であるアリール基を意味する。ヘテロ原子としては、酸素、硫黄、および窒素が挙げられる。たとえば、複素環式アリール基としては、フラニル、チエニル、ピリジル、ピロリル、N - 低級アルキルピロロ、ピリミジル、ピラジニル、イミダゾリルなどが挙げられる。

【 0 0 2 2 】

合成

特に明記しない限り、すべての反応はアルゴン雰囲気下の乾燥ガラス器具中で行った。反応物は、B i o t a g e S P 4 を使用した中圧下のカラムクロマトグラフィーによって、または分取高压液体クロマトグラフィーによって精製した。

【 0 0 2 3 】

^1H N M R を B r u k e r 4 0 0 M H z 測定器上で記録した。スペクトルは、p p m として報告し、C D C l₃、D M S O - d₆、またはメタノール - d₄ 中の溶媒共鳴を基準としている。すべての溶媒は、S i g m a - A l d r i c h より購入した。試薬は、S i g m a A l d r i c h、B a c h e m、A k a a l、F i s h e r、A l f a A e s a r、A c r o s、および A n a s p e c より購入した。以下の略語を使用している。塩化メチレン (D C M)、酢酸エチル (E A)、ヘキサン (H e x)、ジクロロエタン (D C E)、ジメチルホルムアミド (D M F)、トリフルオロ酢酸 (T F A)、テトラヒドロフラン (T H F)、カルボニルジイミダゾール (C D I)、ジメチルアミノピリジン (D M A P)、トリエチルアミン (T E A)、トリフルオロメタンスルホン酸メチル (M e O T f)、(S) - 2 - アミノ - 6 - (ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - アミノ) - ヘキサン酸 (d p K)、グルタミン酸 (G l u)、ジイソプロピルエチルアミン (D I E

10

20

30

40

50

A)、ベンジルオキシカルボニル(CBZ)。

【0024】

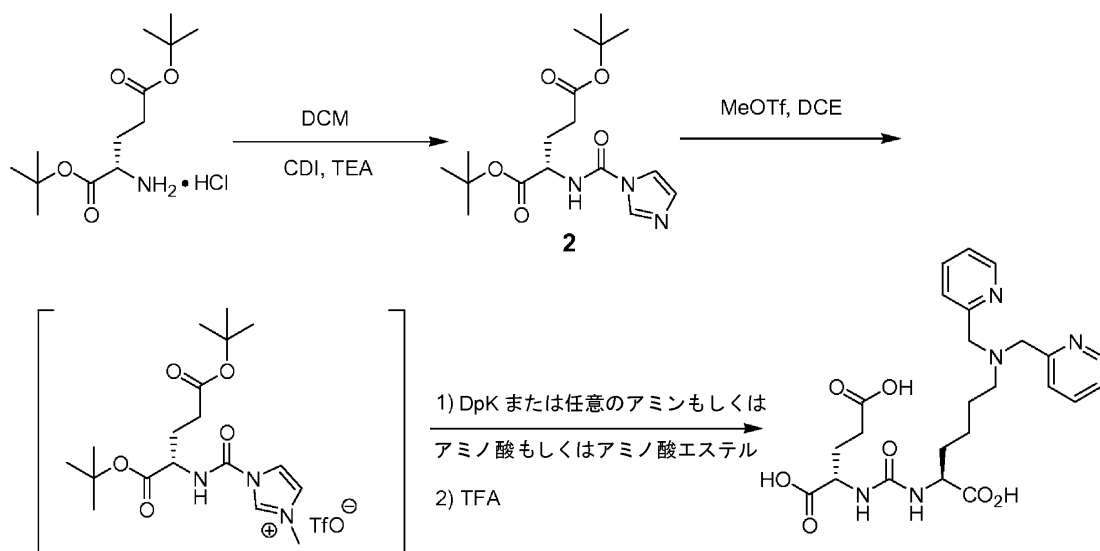
中間体の合成

以下の化合物のすべては、スキーム1に示す経路に従って、20～40%の範囲の全収率で調製した。第1のステップは、0 不活性条件下で行い、グルタミン酸のジ-t-ブチルエステルをCDIと共に塩基の存在下で使用して中間体のGlu-尿素-イミダゾール誘導体2を形成した。この中間体は、塩基性条件下でMeOTfを使用して活性化させると、メチル化イミダゾール3が得られ、これは不活性条件下で容易にアミンと反応した。DCM中20%TFAを室温で1～4時間使用して第3級ブチルエステル保護基を除去した。脱保護の終了後、反応物をロータリーエバポレーター上で濃縮するか、または窒素を吹き付けて乾燥させ、シリカカラム上での精製または再結晶を行った。最終生成物についてインピトロおよびインピボで試験を行った。

10

【0025】

【化4】



20

30

スキーム1. PSMA化合物の合成の一般経路。

【0026】

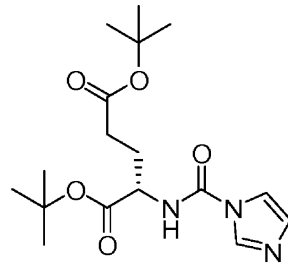
L-(S)-2-[(イミダゾール-1-カルボニル)-アミノ]-ペンタン二酸ジ-tert-ブチルエステル(2)

0 に冷却したグルタメートジ-t-ブチル塩酸塩(15.0g、51mmol)のDCM(150mL)中の懸濁液に、TEA(18mL)およびDMAP(250mg)を加えた。5分間攪拌した後、CDI(9.0g、56mmol)を加え、その反応物を室温に温めながら終夜攪拌した。反応物をDCM(150mL)で希釈し、飽和重炭酸ナトリウム(60mL)、水(2×100mL)、およびブライン(100mL)で洗浄した。その有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮すると、粗生成物が半固体として得られ、これを静置するとゆっくりと固化した。ヘキサン/酢酸エチルを使用してこの粗材料を粉砕すると白色固体が得られ、これを濾過し、ヘキサン(100mL)で洗浄し、乾燥させて所望の生成物(15.9g、45mmol、88%)を白色固体として得た。¹H NMR(400MHz、DMSO-d₆) 7.63(s, 1H)、7.00(br, 2H)、6.31(d, 1H)、4.02(m, 1H)、2.19(m, 2H)、1.86(m, 1H)、1.67(m, 1H)、1.39(s, 9H)、1.38(s, 9H)。ESMS m/z: 354(M+H)⁺。

40

【0027】

【化5】



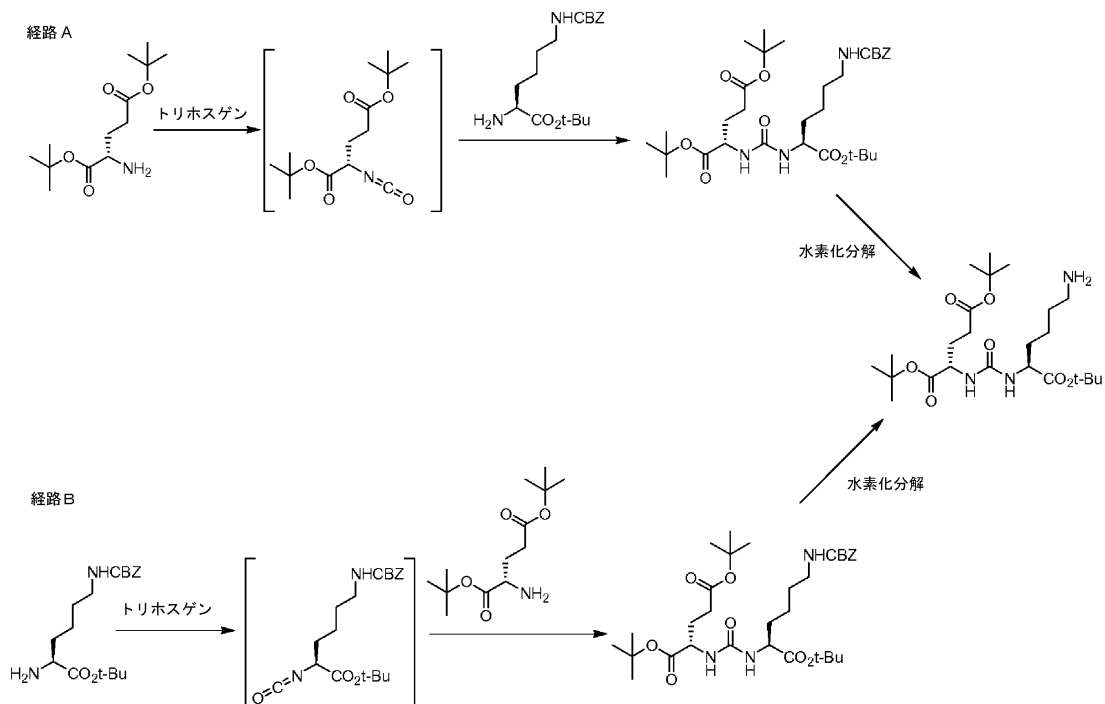
10

【0028】

あるいは、トリホスゲンを使用してその場で生成したイソシアネートを介して類似体を調製することができる。この方法は、以下のスキーム2に示すような、グルタメート残基の活性化およびリジン残基との結合によって（経路A）、またはリジン残基の活性化およびそれとグルタメートとの結合によって（経路B）のいずれかで行うことができる。

【0029】

【化6】



20

30

スキーム2.

40

【0030】

L - (S , S) - 2 - [3 - (5 - ベンジルオキシカルボニルアミノ - 1 - tert - ブトキシカルボニル - ペンチル - ウレイド) - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステル (3)

経路A . 丸底フラスコ中で、1 . 8 mL の TEA (13 . 2 mmol) を、20 mL の DCM 中の 1 . 8 g (6 mmol) の L - グルタミン酸ジ - tert - ブチルエステル塩酸塩と混合した。この溶液を、10 mL の DCM とトリホスゲン (0 . 7 g、2 . 2 mmol) との 0 の溶液に45分かけて滴下する。さらに30分間攪拌した後、15 mL の DCM 中に TEA (1 . 8 mL、13 mmol) を含有する H - lys - (Z) - O - t

50

- ブチルエステルHCl (2.2 g、6 mmol) の溶液を一度に加えた。この溶液を1時間攪拌した。反応物を濃縮し、50 mL の酢酸エチルで希釈し、2 N のNaHSO₄ (2 × 50 mL)、ブライン (50 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させて、黄色油を得た。

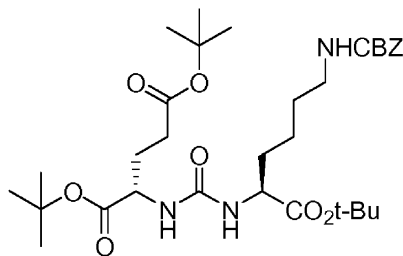
カラムクロマトグラフィーによって精製すると所望の生成物が透明油として得られ、これを静置すると固化して白色固体 (1.9 g、54%) となる。

【0031】

経路B. 丸底フラスコ中で、トリホスゲン (2.9 g、10 mmol) をDCM (50 mL) 中に懸濁させ、0 で攪拌する。H-リジン (Z) 遊離塩基 (9.1 g、27 mmol) およびDIEA (10.4 mL、60 mmol) DCM (50 mL) の溶液を上記トリホスゲン溶液に2.5時間かけて滴下した。2.5時間後、DIEA (10.4 mL、60 mmol) DCM (50 mL) を含有するL-グルタミン酸ジ-tert-ブチルエステル塩酸塩 (8 g、27 mmol) の溶液を一度に加え、45分間攪拌した。この反応物を濃縮乾固させ、150 mL の酢酸エチルで希釈し、2 N のNaHSO₄ (2 × 200 mL)、ブライン (150 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させて、黄色油を得た。この油をカラムクロマトグラフィー (SiO₂) によって精製すると、所望の生成物が透明油として得られ、これを静置すると固化して白色固体 (12.0 g、72%) となった。¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) 7.34 (m, 5H)、5.33 ~ 5.28 (m, 3H)、5.08 (d, J = 7.4 Hz, 2H)、4.38 ~ 4.29 (m, 2H)、3.15 (m, 2H)、2.32 ~ 2.01 (m, 2H)、1.90 ~ 1.50 (m, 8H)、1.43 ~ 1.40 (m, 27H, t-Bu)。ESMS m/z : 622 (M+H)⁺。

【0032】

【化7】



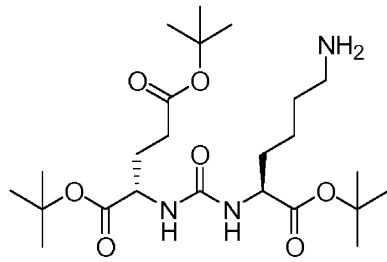
【0033】

2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - tert - ブトキシカルボニル - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステル (4)

2 - [3 - (5 - ベンジルオキシカルボニルアミノ - 1 - tert - ブトキシカルボニル - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステル (630 mg、1.0 mmol) のエタノール (20 mL) 中の溶液にギ酸アンモニウム (630 mg、10 当量) を加え、続いて10% Pd - Cを加え、得られた懸濁液を、完了するまでときどき攪拌しながら終夜静置した。反応物をセライトで濾過し、濃縮して、所望の生成物 (479 mg、98%) を蠟状固体として得た。¹H NMR (400 MHz、CDCl₃) 7.15 ~ 6.0 (bm, 4H, NH)、4.29 (m, 2H)、3.02 (m, 2H)、2.33 (m, 2H)、2.06 ~ 1.47 (m, 8H)、1.45 ~ 1.40 (m, 27H, t-Bu)。ESMS m/z : 488 (M+H)⁺。

【0034】

【化 8】



10

【 0 0 3 5 】

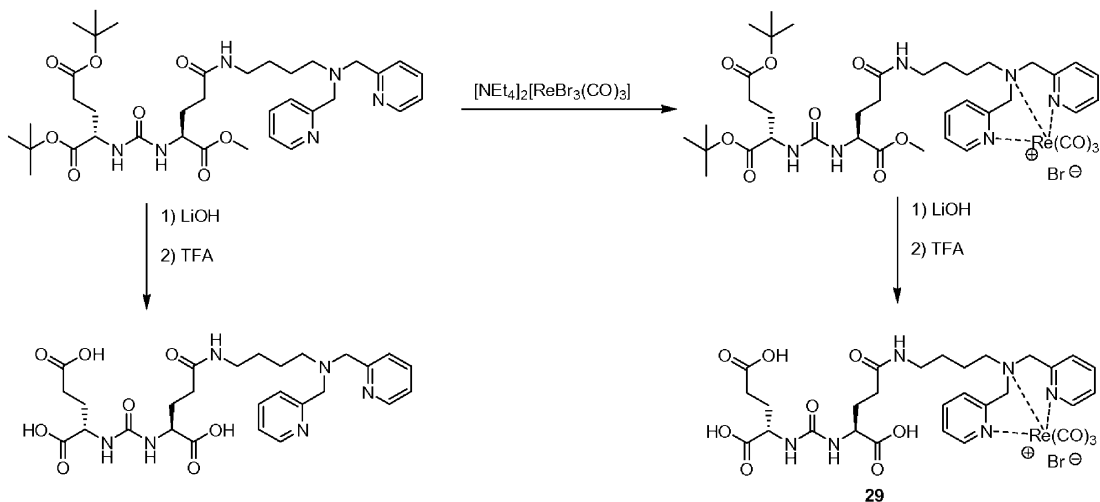
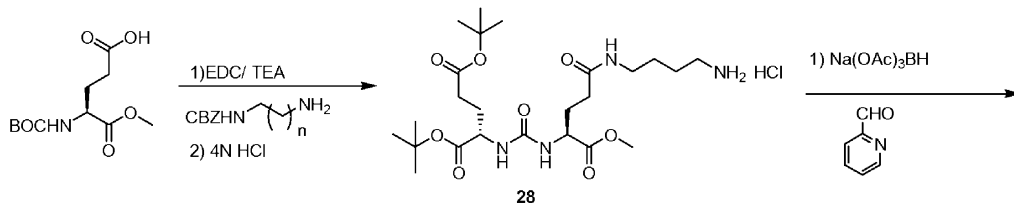
G l u - 尿素 - G l u テザーコアモデル化合物の合成

このシリーズでは、共役して尿素ダイマーを形成する前に、グルタミン酸またはリジンの側鎖上にテザーを組み込む。以下の例では、グルタミン酸の1つの側鎖カルボン酸が、放射性核種であるか、または放射性核種を含有するキレーター、原子、または官能基を取り付けるためのテザーに変更される（スキーム 4）。

【 0 0 3 6 】

【化 9】

20



30

スキーム 4.

40

【 0 0 3 7 】

2 - { 3 - [3 - (4 - アミノ - ブチルカルバモイル) - 1 - メトキシカルボニル - プロピル] - ウレイド } - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステル (2 8)

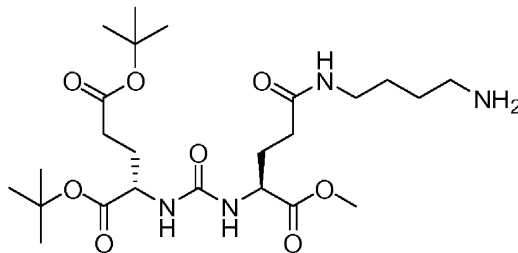
0 に冷却した N - B O C グルタミン酸 - メチルエステル B O C - G l u (O H) - O m e (9 6 0 m g , 3 . 7 m m o l) の D M F (6 m L) 中の溶液に、 E D C (8 4 5 m g , 1 . 3 当量) および T E A (1 . 3 m L) を加えた。10 分間攪拌した後、モノ保護化ジアミン N - C B Z - 1 , 4 - ジアミノブタン塩酸塩 (1 g , 3 . 8 m m o l) を加え、その反応物を室温まで温めながら終夜攪拌する。得られた粗反応物を E A (1 0 0 m L) で希釈し、水 (3 0 m L) 、 5 % クエン酸水溶液 (3 0 m L) 、 飽和重炭酸ナトリウ

50

ム (3 0 m L)、水 (3 0 m L)、およびブライン (3 0 m L) で洗浄した。その有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、粗生成物を濃厚シロップ (2 . 1 g) として得た。得られたシロップにジオキサン (1 0 m L) 中 4 N の H C l を加え、反応物を室温で 3 時間攪拌した。濃縮して塩酸塩としての蠟状固体 (1 . 8 g) を得た。この塩を、先行する実験の項で説明した活性化 L - (S) - 2 - [(イミダゾール - 1 - カルボニル) - アミノ] - ペンタン二酸ジ - t e r t - ブチルエステル (2) と結合させて、所望の完全に保護されたダイマー x (1 . 9 g) を得た。この材料を無水 E t O H (2 0 m L) 中に懸濁させ、過剰ギ酸アンモニウム (5 g) を加え、続いて炭素上に担持された 2 0 % P d (O H) ₂ (1 0 0 m g) を加え、得られた懸濁液を非常に穏やかに終夜攪拌して、C B Z 保護基を開裂させた。セライトで濾過し、濃縮して、所望の遊離アミン (1 . 4 g、2 . 7 m m o l、7 3 %、4 段階) を得た。¹ H N M R (4 0 0 M H z、C D C l ₃) 8 . 4 1 (b r、2 H)、7 . 3 6 ~ 9 b r、1 H)、6 . 4 4 (b s、1 H)、6 . 3 7 (b s、1 H)、4 . 3 7 ~ 4 . 2 9 (m、2 H)、3 . 7 1 (s、3 H)、3 . 2 0 ~ 1 . 5 0 (m、1 6 H)、1 . 4 5 (s、9 H)、1 . 4 3 (s、9 H)。E S M S m / z : 5 1 7 (M + H) ⁺。

【 0 0 3 8 】

【 化 1 0 】



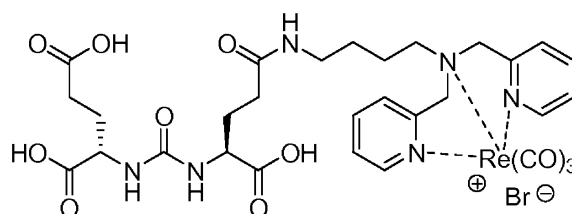
【 0 0 3 9 】

R e (C O) ₃ - 2 - (3 - { 3 - [4 - (ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - アミノ) - ブチルカルバモイル] - 1 - カルボキシ - プロピル } - ウレイド) - ペンタン二酸 [B r] (2 9) (M I P - 1 1 0 0)

ピリジン - 2 - カルボキシアルデヒドを使用して前述のように還元的アミノ化を行うことによって保護された中間体を調製した。M e O H 中の 2 M の L i O H で処理することで、メチルエステルを加水分解した。メタノールを除去し、過剰の D C M : T F A (1 : 1) を加え、その反応物を室温において終夜攪拌した。得られた粗材料を、前述の手順に従って所望のレニウム結合体に変換した。分取 H P L C によって所望の分子 (9 . 5 m g、1 6 %) を得た。¹ H N M R (4 0 0 M H z、D M S O - d ₆) 8 . 7 8 (m、2 H)、8 . 3 1 (b r、1 H)、7 . 9 5 (m、2 H)、7 . 5 9 (m、2 H)、7 . 3 9 (m、2 H)、6 . 6 0 ~ 6 . 3 3 (m、2 H)、4 . 8 9 (m、4 H)、4 . 0 0 (m、1 H)、3 . 7 6 (m、1 H)、3 . 2 0 ~ 1 . 2 (m、1 6 H) (3 C O ₂ H は見られず)。E S M S 8 4 2 (M - H) ⁺。

【 0 0 4 0 】

【 化 1 1 】



10

20

30

40

50

【0041】

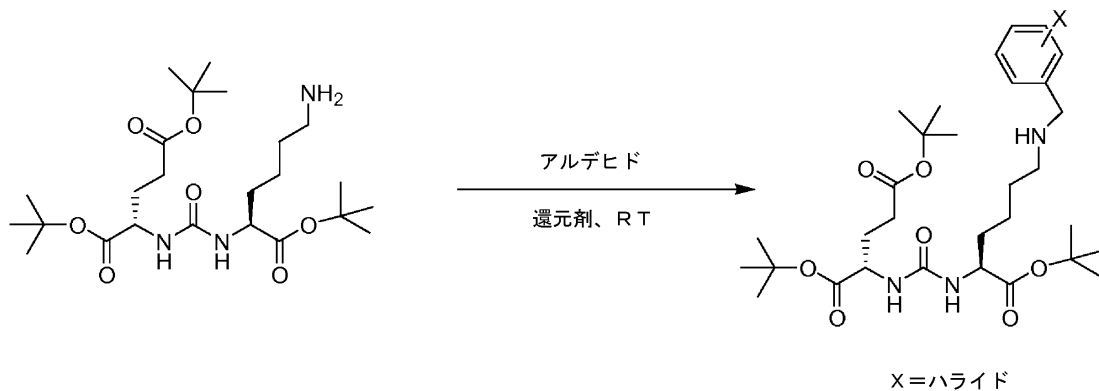
Glu - 尿素 - X - ベンジル - リジンコアモデル化合物の合成

以下の化合物はすべて、スキーム3に示す経路を使用して20～40%の範囲の全収率で調製した。Z-脱保護化Glu-尿素-リジンを適切なアルデヒド(0.9当量)と室温で1時間混合して、チフ塩基(chiff base)中間体を形成した。このチフ塩基を、1当量のトリアセトキシホウ水素化ナトリウムを使用して還元した。DCM中50%のTFAを室温で1時間使用して、この化合物を脱保護した。完了後、反応物をロータリーエバポレーター上で濃縮するか、または窒素を吹き付けて乾燥させ、塩化メチレンおよび水を使用して抽出した。その水層を蒸発乾固させて、脱保護された生成物を40～80%の収率で得た。

10

【0042】

【化12】



20

スキーム3. ハロゲン化PSMA化合物の合成の一般経路

【0043】

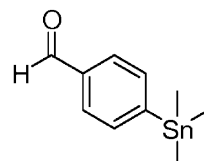
4 - トリメチルスタンナニル - ベンズアルデヒド (5)

4 - ヨードベンズアルデヒド (1.92 g, 8.27 mmol) の乾燥ジオキサン (60 mL) 中の溶液に、ヘキサメチルジスズ (4.1 mL, 19.8 mmol) を加え、続いて Pd(Ph₃P)Cl₂ (150 mg) を加え、得られた反応混合物を、反応が完了したと判断されるまで3時間加熱還流した。得られた反応物をセライトで濾過し、ヘキサン/酢酸エチル (9/1) を溶離剤として使用してカラムクロマトグラフィーによって精製して (2.24 g, 98%) を透明油として得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 9.97 (s, 1H)、7.81 (d, J = 7.8 Hz, 2H)、7.72 (d, J = 7.8 Hz, 2H)、0.29 (s, 9H)。ESMS m/z: 268 (Sn-クラスター)。

30

【0044】

【化13】



40

【0045】

2 - { 3 - [1 - tert - ブトキシカルボニル - 5 - (4 - トリメチルスタンナニル - ベンジルアミノ) - ペンチル] - ウレイド } - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステル (6)

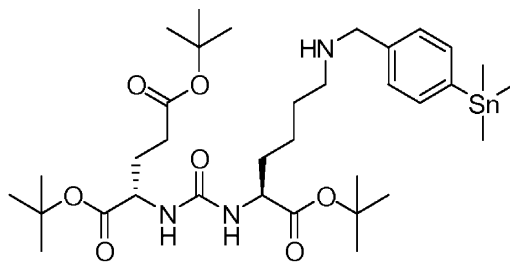
2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - tert - ブトキシカルボニル - ペンチル) - ウレイド

50

ジ - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステル (150 mg、0.31 mmol) の DCE (10 mL) 中の溶液に、4 - トリメチルスタニル - ベンズアルデヒド (82 mg、0.31 mmol) を加え、続いてトリアセトキシホウ水素化ナトリウム (98 mg、0.47 mmol) を加え、その反応物を 40 °C で終夜撹拌した。反応物を濃縮し、ヘキサン / 酢酸エチルを溶離剤として使用してカラムクロマトグラフィーによって精製すると、所望の生成物 (88 mg、38%) が濃厚シロップとして得られ、これは静置すると固化し始める。¹H NMR (400 MHz、DMSO - d₆) 7.48 (d, J = 7.4 Hz, 2H)、7.30 (d, J = 7.4 Hz, 2H)、6.27 (m, 2H, NH)、3.96 (m, 4H)、2.74 (bm, 2H)、2.21 (m, 2H)、1.87 (m, 2H)、1.65 ~ 1.19 (m, 7H)、1.35 (m, 27H, t - Bu)、0.23 (s, 9H)。ESMS m/z : 742 (Sn - クラスタ)。

【0046】

【化14】



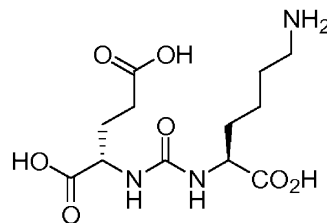
【0047】

(S, S) - 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸 (7) (MIP 1033)

スキーム 1 に示すものと同じ実験手順によって、8% の 2 - [3 - (5 - ベンジルオキシカルボニルアミノ - 1 - tert - ブチルカルボニル - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステルを得た。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護し、HPLC によって精製して所望の生成物を得た。¹H NMR (Z - 保護アミンのトリ - tert - ブチルエステル) (400 MHz、CDCl₃) 12.2 (s, 3H)、6.4 (s, 2H)、4.15 (m, 2H)、3.45 (m, 1H)、2.75 (bs, 1H)、2.2 (m, 4H)、1.90 (m, 2H)、1.65 (m, 2H)、1.50 (s, 2H)、1.35 (m, 2H)。ESMS m/z : 622 (M - H)⁺。

【0048】

【化15】



【0049】

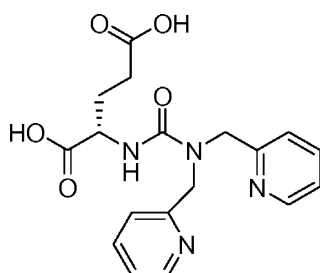
(S) - 2 - (3, 3 - ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - ウレイド) - ペンタン二酸 (8) (MIP 1025)

一般的合成と同じ実験手順によって、0.65 g、48% の 2 - (3, 3 - ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - ウレイド) - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステルを得た。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護し、HPLC によって精製して所望の生成物

を得た。 ^1H NMR (400 MHz、DMSO- d_6)、12.0 (bs, 2H)、8.68 (d, 2H)、8.00 (m, 2H)、7.41 (d, 4H)、7.14 (d, 1H)、4.73 (d, 4H)、3.96 (s, 1H)、2.18 (m, 2H)、1.80 (m, 2H)。

【0050】

【化16】



10

【0051】

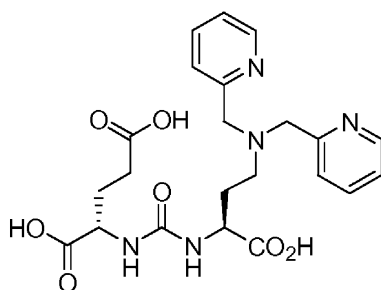
(S, S) - 2 - { 3 - [3 - (ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - アミノ) - 1 - カルボキシ - プロピル] - ウレイド } - ペンタン二酸 (9) (MIP 1028)

スキーム 1 中の一般的合成と同じ実験手順によって、0.16 g、35%の 2 - { 3 - [3 - (ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - アミノ) - 1 - カルボキシ - プロピル] - ウレイド } - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステルを得た。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護し、HPLCによって精製して所望の生成物を得た。 ^1H NMR (400 MHz、DMSO- d_6) 12.4 (br, 2H)、9.37 (s, 1H)、8.52 (d, 2H)、7.80 (t, 2H)、7.14 (dd, 4H)、6.45 (m, 2H)、4.49 (br, 4H)、4.12 (s, 1H)、4.05 (s, 1H)、3.21 (m, 2H)、2.24 (m, 2H)、1.80 (m, 2H)、1.40 (m, 2H)。ESMS m/z: (ジエチルエステル) 429 (M)⁺、451 (M+Na)。

20

【0052】

【化17】



30

40

【0053】

(S, S) - 2 - { 3 - [5 - (ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - アミノ) - 1 - カルボキシ - ペンチル] - ウレイド } - ペンタン二酸 (10) (MIP 1008)

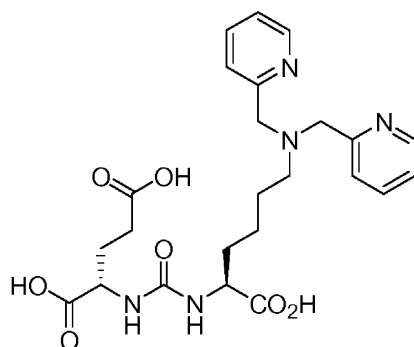
一般的合成と同じ実験手順によって、0.09 g、12%の 2 - { 3 - [5 - (ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - アミノ) - 1 - カルボキシ - ペンチル] - ウレイド } - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステルを得た。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護し、HPLCによって精製して所望の生成物を得た。 ^1H NMR (400 MHz、DMSO- d_6) 12.7 (s, 2H)、8.97 (s, 1H)、8.65 (dd, 2H)、7.91 (dd, 2H)、7.45 (m, 4H)、6.44 (d, 1H)、6.28 (d, 1H)、4.45 (br, 4H)、4.10 (m, 2H)、3.15 (br, 2H)

50

)、2.60 (m, 2H)、2.25 (m, 2H)、1.90 (m, 2H)、1.78 (m, 2H)、1.45 (m, 2H)。

【0054】

【化18】



10

【0055】

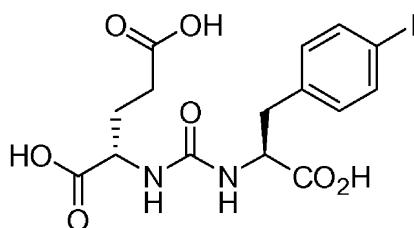
(S)-2-{{3-[1-カルボキシ-2-(4-ヨード-フェニル)-エチル]-ウレイド}}-ペンタン二酸(11)(MIP-1034)

一般的合成と同じ実験手順によって、0.038g、5%の2-{{3-[1-カルボキシ-2-(4-ヨード-フェニル)-エチル]-ウレイド}}-ペンタン二酸ジ-tert-ブチルエステルを得た。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護した。¹H NMR (400MHz、DMSO-d₆) 12.40 (s, 3H)、7.65 (dd, 2H)、7.05 (dd, 2H)、6.30 (m, 2H)、4.25 (s, 1H)、4.05 (s, 1H)、2.90 (m, 2H)、2.2 (m, 2H)、1.80 (m, 2H)。ESMS m/z: 429 (M)⁺、451 (M+Na)。

20

【0056】

【化19】



30

【0057】

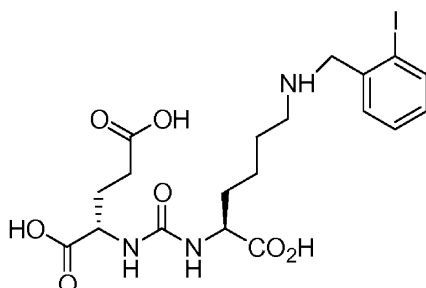
(S,S)-2-{{3-[1-カルボキシ-5-(2-ヨード-ベンジルアミノ)-ペンチル]-ウレイド}}-ペンタン二酸(12)(MIP-1035)

同じ一般手順、前述のように調製し保護した2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ-tert-ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護した(5.5mg、66%)。¹H NMR (400MHz、DMSO-d₆) 12.4 (s, 3H)、8.8 (s, 1H)、7.94 (m, 1H)、7.5 (m, 1H)、7.16 (t, 1H)、6.38 (m, 2H)、4.15 (m, 5H)、3.06 (s, 2H)、2.85 (s, 1H)、2.2 (m, 2H)、1.90 (m, 1H)、1.70 (m, 2H)、1.50 (s, 2H)、1.35 (m, 2H)。ESMS m/z: 536 (M+H)⁺。

40

【0058】

【化20】



10

【0059】

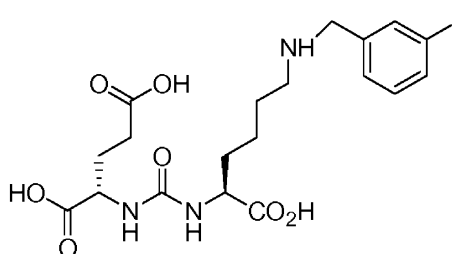
(S, S) - 2 - { 3 - [1 - カルボキシ - 5 - (3 - ヨード - ベンジルアミノ) - ペンチル] - ウレイド } - ペンタンジオイック (13) (M I P 1089)

同じ一般手順、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ - t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護した (4 . 1 m g 、 53 %) 。 ^1H NMR (400 MHz 、 DMSO - d_6) 12 . 4 (s , 3 H) 、 8 . 7 (s , 2 H) 、 7 . 9 (s , 1 H) 、 7 . 8 (d , 1 H) 、 7 . 44 (d , 1 H) 、 7 . 22 (t , 1 H) 、 6 . 25 (s , 2 H) 、 4 . 09 (m , 5 H) 、 2 . 89 (s , 1 H) 、 2 . 75 (s , 1 H) 、 2 . 2 (d , 2 H) 、 1 . 90 (m , 2 H) 、 1 . 65 (m , 2 H) 、 1 . 40 (m , 2 H) 。

20

【0060】

【化21】



30

【0061】

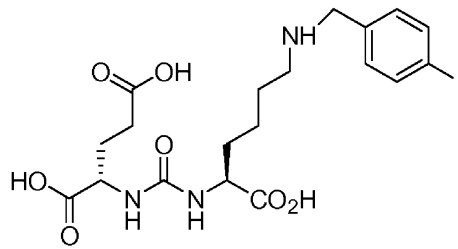
(S, S) - 2 - { 3 - [1 - カルボキシ - 5 - (4 - ヨード - ベンジルアミノ) - ペンチル] - ウレイド } - ペンタンジオイック (14) (M I P 1072)

同じ一般手順、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ - t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護した (12 m g 、 66 %) 。 ^1H NMR (400 MHz 、 DMSO - d_6) 12 . 4 (b s , 3 H) 、 8 . 8 (b r , 1 H) 、 7 . 8 (d , 2 H) 、 7 . 27 (d , 2 H) 、 6 . 35 (b r , 2 H) 、 4 . 1 (m , 4 H) 、 2 . 89 (m , 2 H) 、 2 . 2 (d , 2 H) 、 1 . 90 (m , 2 H) 、 1 . 65 (m , 4 H) 、 1 . 35 (m , 2 H) 。 E S M S m/z : 536 (M + H) $^+$ 。

40

【0062】

【化22】



10

【0063】

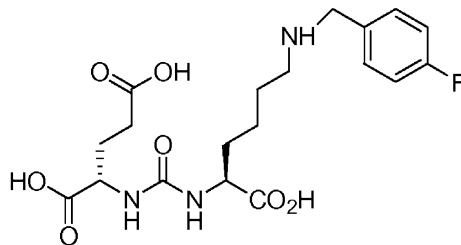
(S,S)-2-({3-[1-carboxy-5-(4-フルオロ-ベンジルアミノ)-ペンチル]-ウレイド}-ペンタンジオイック(15)(MIP 1090)

同じ一般手順、前述のように調製し保護した2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ t -ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護した。¹H NMR(400MHz、DMSO-d₆) 12.4(br, 3H)、8.7(br, 1H)、7.5(m, 2H)、7.3(m, 2H)、6.35(m, 2H)、4.1(m, 4H)、2.9(m, 2H)、2.2(d, 2H)、1.90(m, 2H)、1.60(m, 4H)、1.35(m, 2H)。ESMS m/z: 428(M+H)⁺、450(M+Na)。

20

【0064】

【化23】



30

【0065】

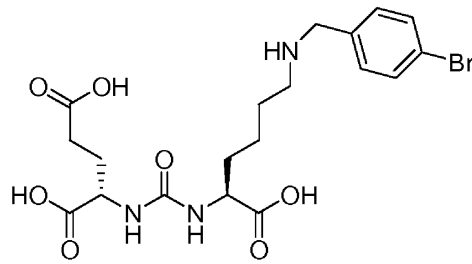
(S,S)-2-({3-[1-carboxy-5-(4-プロモ-ベンジルアミノ)-ペンチル]-ウレイド}-ペンタンジオイック(16)(MIP 1094)

同じ一般手順、前述のように調製し保護した2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ t -ブチルエステルを使用。¹H NMR(トリ t -ブチルエステル)(400MHz、CDCl₃) 7.52(d, 2H)、7.32(d, 2H)、6.28(m, 2H)、3.98(m, 2H)、2.55(t, 2H)、2.48(t, 2H)、2.22(m, 2H)、1.85(m, 2H)、1.62(m, 2H)、1.45(m, 2H)、1.37(s, 27H)、1.28(m, 2H) ESMS m/z: 642(M+H)⁺。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護した。ESMS m/z: 474(M+H)⁺。

40

【0066】

【化24】



10

【0067】

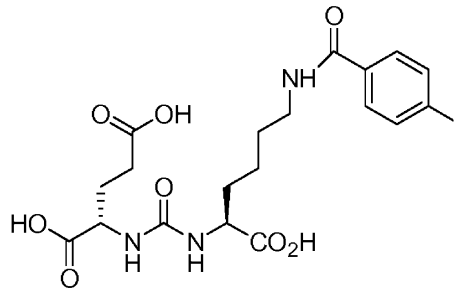
(S,S)-2-{{3-[1-carboxy-5-(4-bromobenzylamino)pentyl]-ureid}}-pentanedioic acid (17) (MIP 1044)

同じ一般手順、前述のように調製し保護した2-[3-(5-amino-1-carboxypentyl)-ureid]-pentanedioic acidジ t -ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護した。¹H NMR (400 MHz、DMSO-d₆) 12.4 (s, 3H)、8.45 (s, 1H)、7.8 (dd, 2H)、7.6 (dd, 2H)、6.3 (s, 2H)、5.75 (s, 1H)、4.1 (m, 4H)、3.2 (s, 2H)、2.25 (d, 2H)、1.90 (m, 1H)、1.65 (m, 2H)、1.4 (m, 2H)。

20

【0068】

【化25】



30

【0069】

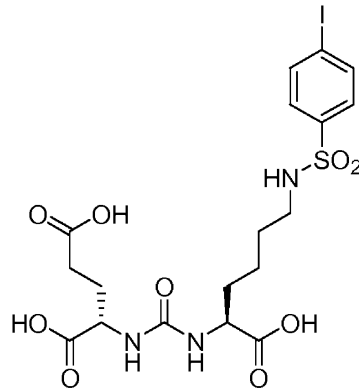
2-{{3-[1-carboxy-5-(4-iodobenzylamino)pentyl]-ureid}}-pentanedioic acid (18) (MIP 1097)

丸底フラスコ中で、2-[3-(5-amino-1-carboxypentyl)-ureid]-pentanedioic acidジ t -ブチルエステル (300 mg、0.62 mmol) を水 (10 mL) および 1,4ジオキサン (10 mL) 中に懸濁させ、TEA (1.75 mL、1.25 mmol) を加え、次に4-iodobenzylaminoクロライドを加え、その混合物を50℃で終夜攪拌した。その反応混合物を蒸発乾固させて、DCM中に溶解させ、シリカゲル上でクロマトグラフィーを行うことで、所望の生成物 (375 mg、80%) を透明油として得た。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護し、続いてHPLC精製を行って、所望の生成物MIP-1097をより白い固体として得た (270 g、収率90%)。¹H NMR (400 MHz、DMSO-d₆) 7.97 (d, 2H)、7.68 (t, 1H)、7.53 (d, 2H)、6.35 (dd, 2H)、4.10 (m, 1H)、4.00 (m, 1H)、2.65 (m, 2H)、2.22 (m, 2H)、1.9 (m, 1H)、1.7 (m, 1H)、1.55 (m, 1H)、1.45 (m, 1H)、1.35 (m, 2H)、1.25 (m, 2H)、(3 CO₂Hは見られず)。ESMS m/z : 565 (M+H)⁺。

40

【0070】

【化26】



10

【0071】

2 - (3 - { 1 - カルボキシ - 5 - [3 - (4 - ヨード - フェニル) - ウレイド] - ペンチル } - ウレイド) - ペンタン二酸 (19) (MIP 1095)

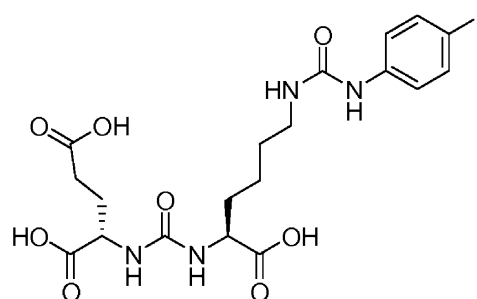
丸底フラスコ中で、4-ヨード-イソシアン酸フェニル (100 mg、0.41 mmol) を、TEA (0.057 mL、0.4 mmol) を含有するDCM (10 mL) 中に溶解させる。2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ t - ブチルエステル (200 mg、0.41 mmol) を加え、3時間攪拌した。反応混合物を蒸発乾固させ、得られた粗混合物をメタノール (5 mL) 中に溶解させた。水 (20 mL) へ滴下すると、白色沈殿物が得られ、これを回収し、水 (20 mL) で洗浄し、乾燥させると、所望のトリ - tert - ブチルエステルが白色固体として得られ、これを前述の方法で直接脱保護して、所望の生成物 (158 mg、53%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz、DMSO - d₆) 8.51 (s、1H)、7.5 (d、2H)、7.22 (d、2H)、6.3 (t、2H)、6.16 (t、1H)、4.05 (m、2H)、3.05 (m、2H)、2.24 (m、2H)、1.9 (m、1H)、1.68 (m、2H)、1.52 (m、1H)、1.38 (m、2H)、1.28 (m、2H)、(3 CO₂Hは見られず)。ESMS m/z : 565 (M + H)⁺

20

30

【0072】

【化27】



40

【0073】

Glu - 尿素 - フェニルグリシンの合成

(±) 3 - アミノ - 3 - (3 - ヨード - フェニル) - プロピオン酸 (20)

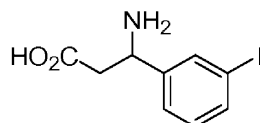
マロン酸 (2.2 g、21.5 mmol) および 3 - ヨードベンズアルデヒド (5 g、21.5 mmol) をエタノール (50 mL) 中に懸濁させ、酢酸アンモニウム (1.66 g、21.5 mmol) を加え、その反応物を終夜加熱還流させた。反応物を室温まで冷却し、濾過し、エタノールで洗浄し、続いてエーテルで洗浄し、乾燥させて生成物 (3.4 g、11.6 mmol、54%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz

50

z、DMSO-d₆) 7.80 (s, 1H)、7.64 (dd, J = 7.8 Hz, 1H)、7.42 (dd, J = 7.6 Hz, 1H)、7.16 (dd, J = 7.8 Hz, 1H)、7.14 (dd, J = 7.6 Hz, 1H)、4.21 (m, 1H)、2.36 (m, 2H)。

【0074】

【化28】



10

【0075】

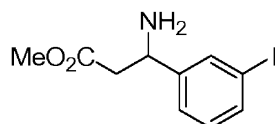
(±)-3-アミノ-3-(3-ヨード-フェニル)-プロピオン酸メチルエステル(21)

(±)3-アミノ-3-(3-ヨード-フェニル)-プロピオン酸(3.1g、10.6mmol)のメタノール中の懸濁液に塩化チオニル(0.95mL、12.7mmol)を加え、その反応物を室温において終夜攪拌した。濃縮し、エーテルを加えて粉碎すると白色固体が得られる。この固体を濾過し、エーテルで洗浄し、乾燥させると所望の生成物(3.5g、1.0mmol、95%)が白色固体として得られる。¹H NMR(400MHz、DMSO-d₆) 8.79 (br, 2H)、8.01 (s, 1H)、7.74 (d, J = 8.1 Hz, 1H)、7.57 (d, J = 7.8 Hz, 1H)、7.21 (dd, J = 8.1、7.8 Hz, 1H)、4.56 (br, 1H)、3.54 (s, 3H)、3.23 ~ 3.17 (m, 1H)、3.04 ~ 2.98 (m, 1H)。

20

【0076】

【化29】



30

【0077】

(S, R)および(S, S)-2-{3-[1-(3-ヨード-フェニル)-2-メトキシカルボニル-エチル]-ウレイド}-ペンタン二酸ジ-tert-ブチルエステル(22)

2-[(イミダゾール-1-カルボニル)-アミノ]-ペンタン二酸ジ-tert-ブチルエステル(370mg、1.05mmol)をDCE(10mL)中に溶解させ、0に冷却した。MeOTf(142μL、1.25mmol)を加え、20分間反応を進行させた。(±)3-アミノ-3-(3-ヨード-フェニル)-プロピオン酸メチルエステル(356mg、1.045mmol)を加え、その反応物を室温まで温め、次に55まで温めて終夜攪拌した。反応物をDCM(50mL)で希釈し、水(30mL)、5%クエン酸水溶液(30mL)、飽和重炭酸ナトリウム(30mL)、水(30mL)、およびブライン(30mL)で洗浄した。その有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して粗生成物を得た。その生成物をカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物(303mg、0.51mmol、49%)を白色発泡体として得た。¹H NMR(400MHz、CDCl₃) 7.66 (s, 1H)、7.57 (d, J = 7.6 Hz, 1H)、7.29 (s, 1H)、7.07 ~ 7.02 (m, 1H)、5.74 (br, 1H)、5.17 (br, 2H)、4.30 (m, 1H)、3.63 (s, 1.5H)、3.62 (s, 1.5H)、2.88 ~ 2.76 (m, 2H)、2.38 ~ 2.24 (m, 2H)、2.10 ~ 2.00 (m, 1H)、1.90 ~ 1.80 (m, 1H)、1

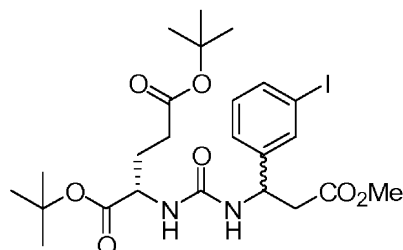
40

50

. 46 (s, 9H)、1.44 (s, 9H)。

【0078】

【化30】



10

【0079】

(S, R)および(S, S) - 2 - { 3 - [2 - カルボキシ - 1 - (3 - ヨード - フェニル) - エチル] - ウレイド } - ペンタン二酸 (23)

(±) 2 - { 3 - [1 - (3 - ヨード - フェニル) - 2 - メトキシカルボニル - エチル] - ウレイド } - ペンタン二酸ジ - tert - ブチルエステル (289 mg、0.49 mmol) をメタノール (3 mL) 中に溶解させた溶液に、2 M の LiOH (0.5 mL) を加え、その反応物を室温において終夜撹拌した。その反応物を水 (20 mL) で希釈し、その有機層を酢酸エチル (2 × 20 mL) で抽出し、続いて1 N の HCl を使用して pH 約 2 まで酸性化した。その水層を酢酸エチル (3 × 20 mL) で抽出し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮して、粗生成物 (206 mg、0.36 mmol、73%) を白色固体として得た。この粗材料に DCM (2 mL) を加え、続いて TFA (2 mL) を加え、その反応物を室温において終夜撹拌した。

20

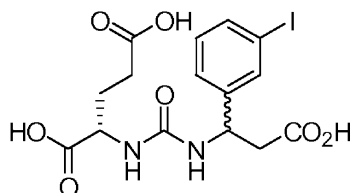
【0080】

濃縮し、続いて酢酸エチルから再結晶させて、所望の生成物 (22 mg、0.047 mmol、10%) を白色固体として得た。¹H NMR (400 MHz、DMSO - d₆) 12.39 (br, 3H)、7.64 (br, 1H)、7.56 (m, 1H)、7.30 (bm, 1H)、7.10 (bm, 1H)、6.72 (bm, 1H)、6.34 (bm, 1H)、4.94 (br, 1H)、4.03 (bm, 1H)、2.64 (br, 2H)、2.20 (br, 2H)、1.86 (br, 1H)、1.71 (br, 1H)。ESMS m/z : 463 (M - H)⁺。

30

【0081】

【化31】



40

【0082】

(S, S) - 2 - { 3 - [1 - カルボキシ - 5 - (2 - クロロ - ベンジルアミノ) - ペンチル] - ウレイド } - ペンタンジオイック (7) (MIP - 1137)

スキーム 1 に示すものと同じ一般手順、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ - t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物 (100 mg、45%) をオフホワイト固体として得た。¹H NMR (400 MHz、DMSO - d₆)

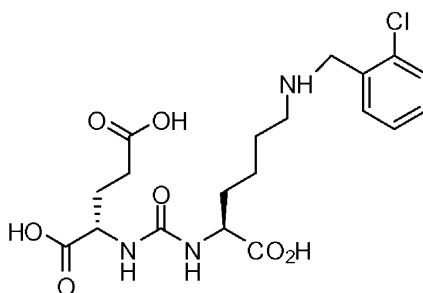
9.0 (br, 3H)、7.63 (d, 1H)、7.2 (m, 2H)、7.15 (d, 1H)、6.30 (d, 2H)、4.1 (m, 4H)、2.9 (br, 2H)、2.2 (

50

m, 2H)、1.90 (m, 2H)、1.60 (m, 4H)、1.35 (m, 2H)。ESMS m/z: 444 (M+H)⁺。

【0083】

【化32】



10

【0084】

(S,S)-2-({3-[1-carboxy-5-(3-chlorobenzylamino)pentyl]-ureid}-pentanジオイック(8)(MIP 1131))

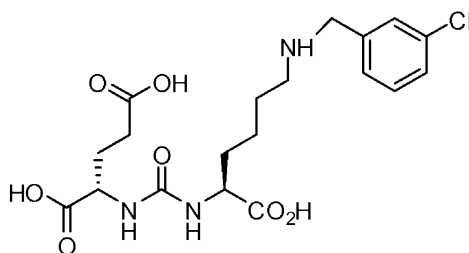
スキーム1に示すものと同じ一般手順、前述のように調製し保護した2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物(200mg、90%)をオフホワイト固体として得た。¹H NMR(400MHz、DMSO-d₆)

8.9(br, 3H)、7.6(s, H)、7.43(m, 3H)、6.39(br, 2H)、4.1(m, 4H)、2.9(br, 2H)、2.2(m, 2H)、1.90(m, 2H)、1.60(m, 4H)、1.35(m, 2H)。ESMS m/z: 444 (M+H)⁺。

20

【0085】

【化33】



30

【0086】

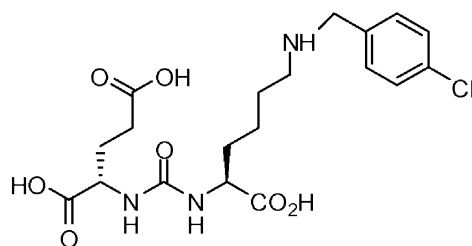
(S,S)-2-({3-[1-carboxy-5-(4-chlorobenzylamino)pentyl]-ureid}-pentanジオイック(9)(MIP 1135))

スキーム1に示すものと同じ一般手順、前述のように調製し保護した2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物を(10mg、66%)でオフホワイト固体として得た。ESMS m/z: 444 (M+H)⁺。

40

【0087】

【化34】



【0088】

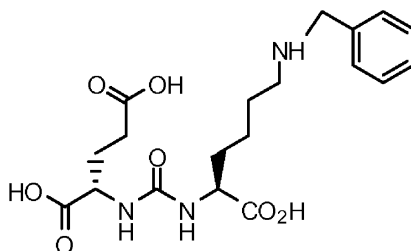
10

(S)-2-(3-((R)-5-(ベンジルアミノ)-1-カルボキシペンチル)ウレイド)ペンタン二酸(10)(MIP-1106)

スキーム1に示すものと同じ一般手順、前述のように調製し保護した2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ-tert-ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物(5mg、47%)をオフホワイト固体として得た。ESMS m/z : 410 (M+H)⁺。

【0089】

【化35】



20

【0090】

2-(3-{1-カルボキシ-5-[3-(フェニル)-ウレイド]-ペンチル}-ウレイド)-ペンタン二酸(11)(MIP-1111)

丸底フラスコ中で、イソシアン酸フェニル(100mg、0.84mmol)をDCM(10mL)中に溶解させ2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ-tert-ブチルエステル(409mg、0.84mmol)を加え、3時間撹拌した。その反応混合物を蒸発乾固させ、その粗混合物をフラッシュカラムクロマトグラフィー2:1ヘキサン/酢酸エチルによって精製すると、tert-ブチルエステルが白色固体として得られ、TFA/CH₂Cl₂を使用してこれを脱保護して、所望の生成物を得た。¹H NMR(400MHz、DMSO-d₆) 12.5(s, 3H)、8.54(s, 1H)、7.40(dd, 2H)、7.26(dd, 2H)、6.30(t, 2H)、6.17(t, 1H)、4.05(m, 2H)、3.05(m, 2H)、2.44(m, 2H)、1.90(m, 1H)、1.68(m, 2H) 1.52(m, 1H)。1.40(m, 2H)。1.29(m, 2H)。ESMS m/z : 439 (M+H)⁺。

30

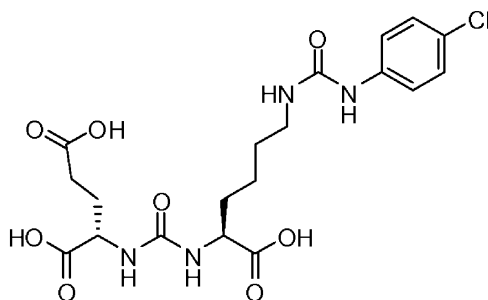
40

【0091】

、 6 . 1 0 (t , 1 H) 、 4 . 0 8 (m , 2 H) 、 3 . 0 5 (m , 2 H) 、 2 . 3 2 (m , 2 H) 、 1 . 9 0 (m , 1 H) 、 1 . 6 8 (m , 2 H) 、 1 . 5 2 (m , 1 H) 、 1 . 4 0 (m , 2 H) 、 1 . 3 0 (m , 2 H) 。 E S M S m / z : 4 7 4 (M + H) ⁺ 。

【 0 0 9 7 】

【 化 3 8 】



10

【 0 0 9 8 】

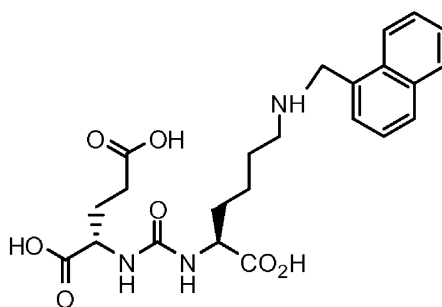
(S) - 2 - (3 - ((R) - 1 - カルボキシ - 5 - (イリジン ne - 1 - イルメチル アミノ) ペンチル) ウレイド) ペンタン二酸 (1 4) (M I P - 1 1 0 8)

スキーム A に示すものと同じ一般手順、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して、所望の生成物 (5 1 m g 、 7 0 %) をオフホワイト固体として得た。 ¹ H N M R (4 0 0 M H z 、 D M S O - d ₆) 8 . 9 (b r , 3 H) 、 7 . 9 5 (m , 5 H) 、 7 . 6 (m , 2 H) 、 6 . 3 5 (b r , 2 H) 、 4 . 1 (m , 4 H) 、 2 . 9 (b r , 2 H) 、 2 . 5 5 (m , 2 H) 、 2 . 2 5 (m , 2 H) 、 1 . 7 0 (m , 4 H) 、 1 . 3 (m , 2 H) 。 E S M S m / z : 4 6 0 (M + H) ⁺ 。

20

【 0 0 9 9 】

【 化 3 9 】



30

【 0 1 0 0 】

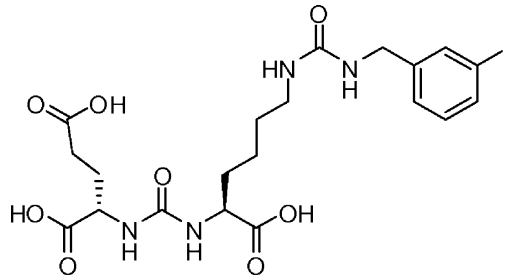
2 - (3 - { 1 - カルボキシ - 5 - [3 - (3 - ヨード - ベンジル) - ウレイド] - ペンチル } - ウレイド) - ペンタン二酸 (1 5) (M I P - 1 1 0 1)

スキーム 2 に示すものと同じ一般手順、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物を得た。 E S M S m / z : 5 7 9 (M + H) ⁺ 。

40

【 0 1 0 1 】

【化40】



10

【0102】

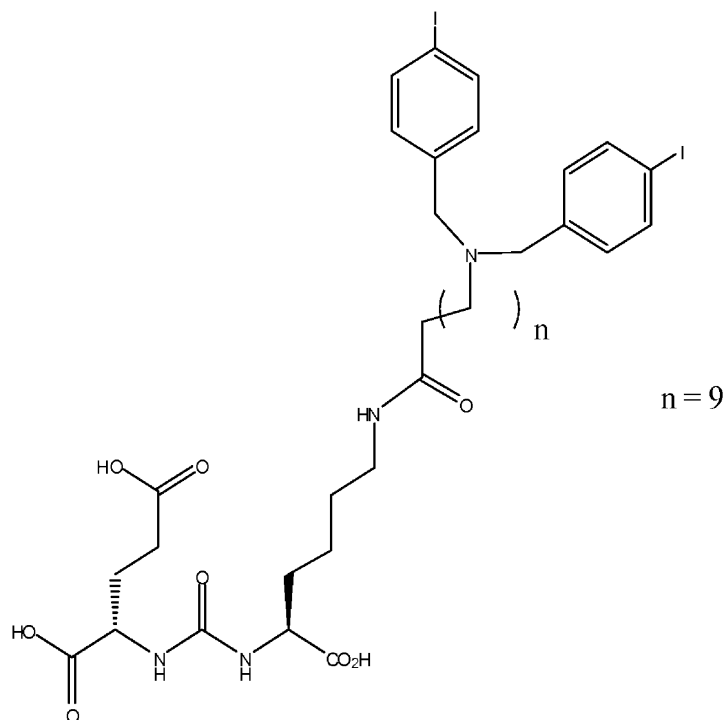
(19S, 23S) - 2 - (4 - ヨードベンジル) - 1 - (4 - ヨードフェニル) - 13, 21 - ジオキソ - 2, 14, 20, 22 - テトラアザペンタコサン - 19, 23, 25 - トリカルボン酸 (16) (MIP - 1130)

スキーム A に示すものと同じ一般手順、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物 (8.3 mg, 10%) をオフホワイト固体として得た。¹H NMR (400 MHz, DMSO - d₆) 7.8 (d)、7.3 (d)、6.3 (dd)、4.25 (br)、4.05 (m)、2.97 (m)、2.85 (br)、2.22 (m)、2.05 (m)、.90 (m)、1.64 (m)、1.48 (m)、1.35 (m)、1.2 (m)。ESMS m/z : 936 (M + H)⁺。

20

【0103】

【化41】



30

40

【0104】

レニウムの一般的実験：

SAAC - 阻害剤のレニウム錯体は、容易に入手可能な前駆体 [Net₄]₂ [Re(CO)₃Br₃] と SAAC - 阻害剤との反応から好都合に単離される。SAAC によって提供される供与体の組は、{M(CO)₃}⁺1 コアに対して有効なキレーターとして十分に立証されており、金属部位に対して必要な fac 配置が取り入れられるように設計

50

されているので、これらの錯体の調製はごく普通であった。

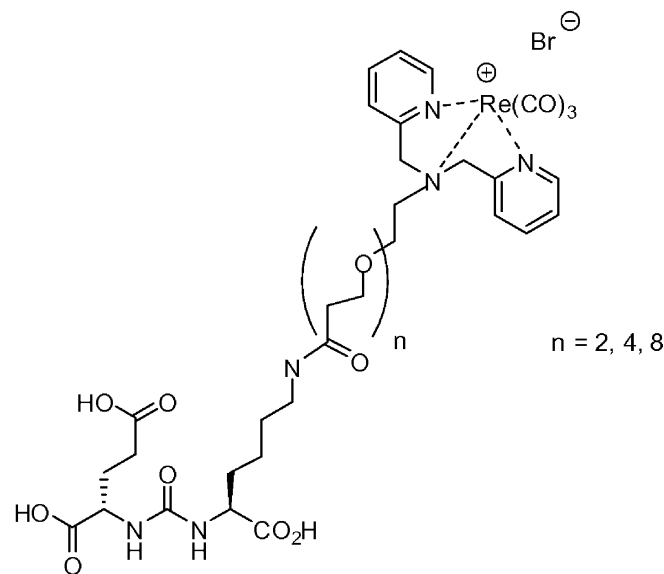
【0105】

{Re(I)(CO)₃}⁺系について、Tc-99mトリカルボニルコアと類似の反応化学に従った。[Net₄]₂[ReBr₃(CO)₃]を出発物質として使用することで、fac-{Re(CO)₃(L)₃}コアの形成が容易になった。[Net₄]₂[ReBr₃(CO)₃]は[ReBr(CO)₅]から容易に誘導された。Re(I)錯体の合成は、[Net₄]₂[ReBr₃(CO)₃]を適切なTECリガンドと1:1.2の比率で10mlのメタノール中で反応させることによって行った。この反応物を80℃で4時間加熱した。以下のすべての反応生成物は冷却後に、小型シリカカラムを使用してすべて精製し、10~30%の範囲の収率となった。

10

【0106】

【化42】



20

【0107】

Gl u - 尿素 - L y s - P E G 2 - R e D P :

30

[Re(CO)₃{(17R, 21S)-11, 19-ジオキソ-1-(イリジン-2-イル)-2-(イリジン-2-イルメチル)-5, 8-ジオキサ-2, 12, 18, 20-テトラアザトリコサン-17, 21, 23-トリカルボン酸}][Br](17)(MIP-1133)

スキーム1に示すものと同じ一般手順を使用し、前述のように調製し保護した2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用して、PEG2ジピリジル化合物の(17R, 21S)-11, 19-ジオキソ-1-(イリジン-2-イル)-2-(イリジン-2-イルメチル)-5, 8-ジオキサ-2, 12, 18, 20-テトラアザトリコサン-17, 21, 23-トリカルボン酸を調製した。一般的レニウム実験において記載した手順と同じ手順を使用してレニウムエステル錯体を調製した。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物(2mg, 20%)をオフホワイト固体として得た。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) 8.8(d)、8.00(dd)、7.55(d)、7.42(dd)、6.45(s)、3.95(m)、3.4~3.6(m)、2.45(m)、1.25(m)、1.1(m)、0.8(m)。ESMS m/z: 931(M+H)⁺。

40

【0108】

Gl u - 尿素 - L y s - P E G 4 - R e D P :

[Re(CO)₃{(23R, 27S)-17, 25-ジオキソ-1-(ピリジン-2-イル)-2-(ピリジン-2-イルメチル)-5, 8, 11, 14-テトラオキサ-2, 18, 24, 26-テトラアザノナコサン-23, 27, 29-トリカルボン酸}][B

50

r] (1 8) (K M 1 1 - 2 0 0)

スキーム A に示すものと同じ一般手順を使用し、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用して、PEG 4 ジピリジル化合物の (2 3 R , 2 7 S) - 1 7 , 2 5 - ジオキソ - 1 - (ピリジン - 2 - イル) - 2 - (ピリジン - 2 - イルメチル) - 5 , 8 , 1 1 , 1 4 - テトラオキサ - 2 , 1 8 , 2 4 , 2 6 - テトラアザノナコサン - 2 3 , 2 7 , 2 9 - トリカルボン酸を調製した。一般的レニウム実験において記載した手順と同じ手順を使用してレニウムエステル錯体を調製した。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物 (5 . 1 m g 、 2 9 . 6 %) を白色固体として得た。ESMS m / z : 1 0 1 9 (M + H) ⁺。

10

【 0 1 0 9 】

G l u - 尿素 - L y s - P E G 8 - R e D P :

[R e (C O) ₃ { (3 5 R , 3 9 S) - 2 9 , 3 7 - ジオキソ - 1 - (イリジン - 2 - イル) - 2 - (イリジン - 2 - イルメチル) - 5 , 8 , 1 1 , 1 4 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 - オクタオキサ - 2 , 3 0 , 3 6 , 3 8 - テトラアザヘンテトラコンタン - 3 5 , 3 9 , 4 1 - トリカルボン酸 }] [B r] (1 9) (M I P - 1 1 3 2)

スキーム A に示すものと同じ一般手順を使用し、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用して、PEG 8 ジピリジル化合物の (3 5 R , 3 9 S) - 2 9 , 3 7 - ジオキソ - 1 - (ピリジン - 2 - イル) - 2 - (ピリジン - 2 - イルメチル) - 5 , 8 , 1 1 , 1 4 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 - オクタオキサ - 2 , 3 0 , 3 6 , 3 8 - テトラアザヘンテトラコンタン - 3 5 , 3 9 , 4 1 - トリカルボン酸を調製した。一般的レニウム実験において記載した手順と同じ手順を使用してレニウムエステル錯体を調製した。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物 (8 . 0 m g 、 3 0 . 4 %) を白色固体として得た。ESMS m / z : 1 1 9 5 (M + H) ⁺。

20

【 0 1 1 0 】

G l u - 尿素 - L y s - C 1 1 P A M A - R e :

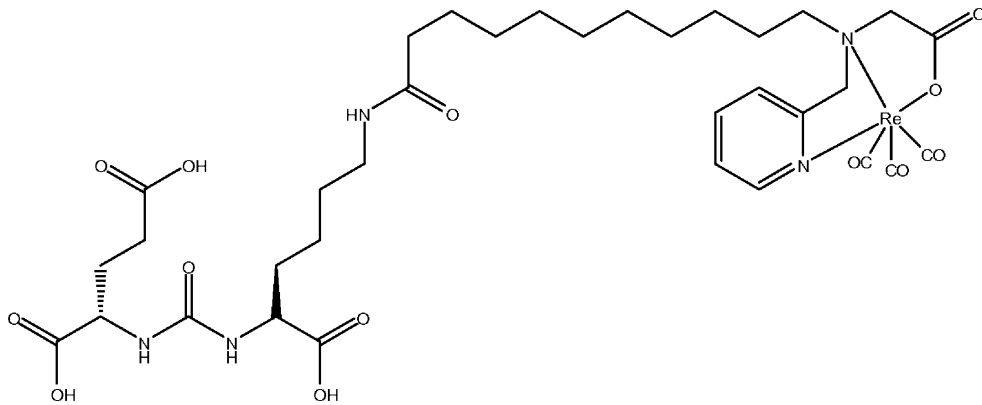
[R e (C O) ₃ { (1 9 R , 2 3 S) - 1 3 , 2 1 - ジオキソ - 2 - (イリジン - 2 - イルメチル) - 2 , 1 4 , 2 0 , 2 2 - テトラアザペンタコサン - 1 , 1 9 , 2 3 , 2 5 - テトラカルボン酸 }] (2 0) (M I P - 1 1 0 9)

スキーム A に示すものと同じ一般手順を使用し、前述のように調製し保護した 2 - [3 - (5 - アミノ - 1 - カルボキシ - ペンチル) - ウレイド] - ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用して、C 1 1 - P A M A 化合物の (1 9 R , 2 3 S) - 1 3 , 2 1 - ジオキソ - 2 - (イリジン - 2 - イルメチル) - 2 , 1 4 , 2 0 , 2 2 - テトラアザペンタコサン - 1 , 1 9 , 2 3 , 2 5 - テトラカルボン酸を調製した。一般的レニウム実験において記載した手順と同じ手順を使用してレニウムエステル錯体を調製した。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護して所望の生成物 (3 . 0 m g 、 7 5 %) をオフホワイト固体として得た。ESMS m / z : 9 2 2 (M + H) ⁺。

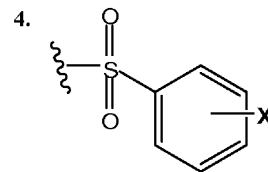
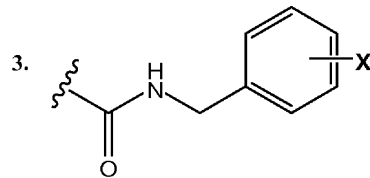
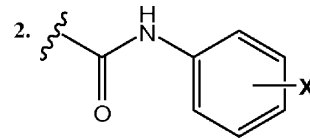
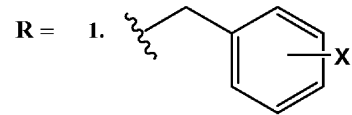
30

【 0 1 1 1 】

【化43】



10



X = I, Br, Cl, F, H

20

30

【0112】

以下の表1は、合成したPSMA阻害剤の研究のまとめである。

40

【0113】

【表 1】

MIP #	X	化合物の説明	IC ₅₀ (nM)
-	-	P M P A	10
1033	-	G l u - 尿素 - L y s	498
1137	2 - C l	2 - C l - ベンジル	245
1131	3 - C l	3 - C l - ベンジル	277
1135	4 - C l	4 - C l - ベンジル	2
1106	H	デス - ハロベンジル	2960
1111	H	デス - ハロジウレア	12
1129	4 - B r	4 - B r - ジウレア	2
1110	4 - C l	4 - C l - ジウレア	4
1108	-	2 - ナフィル (n a p h y l)	154
1101	3 - I	3 - I - ジウレア	10
1130	4 - ジー I	C 1 1 4 - ジー ヨード	300
1133	-	P E G 2 R e	227
KM11-200	-	P E G 4 R e	NA
1132	-	P E G 8 R e	1747
1109	-	C 1 1 P A M A - R e	696
1027	4 - I	4 - I - ベンゾイル	3*
1095	4 - I	4 - I - ジウレア	10*

表 1. 追加のまたは再試験した G l u - 尿素 - L y s 誘導体の
インビトロ細胞結合データのまとめ。

【 0 1 1 4 】

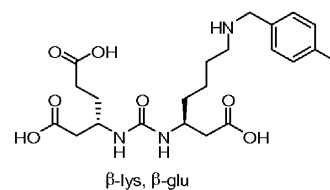
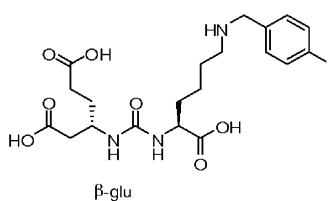
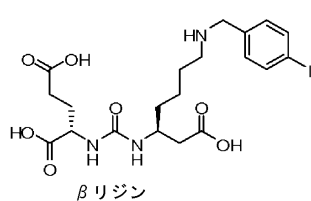
- アミノ酸類似体

MIP - 1072、MIP - 1095、MIP - 1027の - アミノ酸類似体が特に望ましいが、テクネチウム結合体およびその他のハロゲン類似体などの他の類似体への拡張も非常に望ましい。本発明者らは、現時点ではこの主張を支持する新しい例を得られていない。

【 0 1 1 5 】

【化 4 4】

MIP - 1072のβ - アミノ酸類似体



【 0 1 1 6 】

10

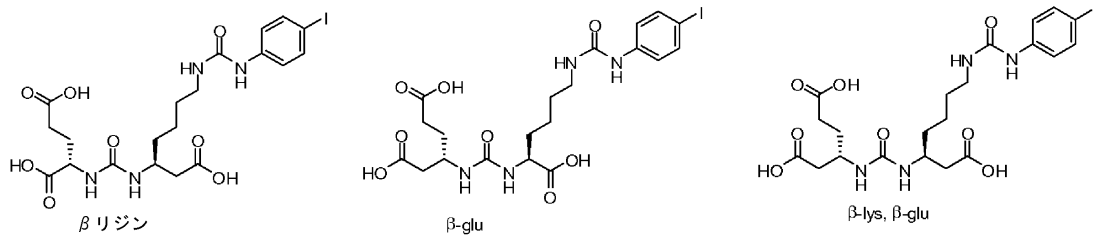
20

30

40

【化45】

MIP-1095のβ-アミノ酸類似体



10

【0117】

{ Re (CO)₃ }⁺ コアモデル錯体の合成

VII族金属のテクネチウムおよびレニウムの性質は、それらの周期的関係のために非常に類似している。これらの金属は類似の反応化学を示すと予想され、このことは、これら2種類の金属のトリカルボニル、窒素、およびチアゾールの化学反応の場合によく起こる。同様に、M(I)のスピ対のd⁶電子配置を安定化させるそれらの類似した大きさのため、過レニウム酸と過テクネチウム酸は非常に類似した反応挙動を有する。レニウム-TECを合成することによって、本発明者らは生成物を構造的に特徴付ける簡単な方法が得られた。TcとReとの間に周期的な関係があるということは、類似のレニウム錯体をモデル化することによってTc-99m放射性医薬品を設計できることを示している。

20

【0118】

一部の新規化合物は、質量分析、¹Hおよび¹³C NMR分光法などを含む従来方法による特性決定のために、巨視的な量のレニウムを使用して合成した。精製後、合成したレニウム錯体をHPLCカラムに通して精製し、滞留時間を測定し、Tc反応生成物と比較した。レニウム-TEC錯体も結晶化した。

【0119】

S AAC - 阻害剤のレニウム錯体は、容易に入手可能な前駆体 { Re (CO)₃ (H₂O)₃ }⁺ および [Net₄]₂ [Re (CO)₃ Br₃] と S AAC - 阻害剤との反応から好都合に単離される。S AACによって提供される供与体の組は、{ M (CO)₃ }⁺ コアに対して有効なキレーターとして十分に立証されており、金属部位に対して必要なfac配置が取り入れられるように設計されているので、これらの錯体の調製はごく普通であった。

30

【0120】

一般的実験

{ Re (I) (CO)₃ }⁺ 系について、Tc-99mトリカルボニルコアと類似の反応化学に従った。[Net₄]₂ [Re Br₃ (CO)₃] を出発物質として使用することで、fac - { Re (CO)₃ (L)₃ } コアの形成が容易になった。[Net₄]₂ [Re Br₃ (CO)₃] は [Re Br (CO)₅] から容易に誘導された。Re (I) 錯体の合成は、[Net₄]₂ [Re Br₃ (CO)₃] を適切なTECリガンドと1:1.2の比率で10mlのメタノール中で反応させることによって行った。この反応物を80℃で4時間加熱した。以下のすべての反応生成物は冷却後に、小型シリカカラムを使用してすべて精製し、10~30%の範囲の収率となった。

40

【0121】

[Re (CO)₃ (2 - { 3 - [3 - (ビス - ピリジン - 2 - イルメチル - アミノ) - 1 - カルボキシ - プロピル] - ウレイド } - ペンタンジエチルエステル)] [Br] (2 4)

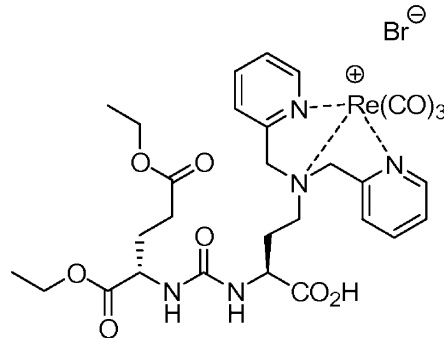
¹H NMR (400 MHz , DMSO - d₆) 8 . 6 5 (dd , 2 H) , 7 . 8 5 (dd , 2 H) , 7 . 7 (dd , 4 H) , 7 . 2 5 (dd , 2 H) , 6 . 4 2 (dd , 1 H) , 6 . 0 (dd , 1 H) , 4 . 5 (m , 2 H) , 4 . 1 6 (m , 2 H) , 3 . 8 0 (m , 4 H) , 2 . 4 5 (m , 2 H) , 2 . 0 (dd , 2 H) , 1 . 5 (m , 4 H) , 1 .

50

25 (m, 6H)。ESMS m/z : 812 ~ 815。

【0122】

【化46】



10

【0123】

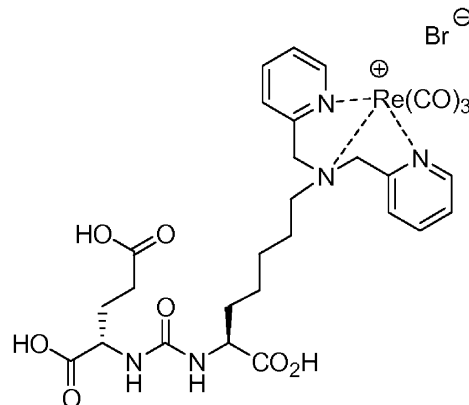
[Re(CO)₃(2-{3-[5-(ビス-ピリジン-2-イルメチル-アミノ)-1-カルボキシ-ペンチル]-ウレイド}-ペンタン二酸)][Br](25)(MIP 1029)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 12.6 (s, 2H), 8.91 (s, 1H), 8.63 (dd, 2H), 7.85 (dd, 2H), 7.75 (dd, 4H), 7.3 (dd, 2H), 6.44 (d, H), 6.28 (d, 1H), 4.45 (s, 2H), 4.10 (m, 2H), 3.15 (s, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.25 (m, 2H), 1.90 (m, 1H), 1.78 (m, 2H), 1.45 (m, 2H)。ESMS m/z : 770 ~ 774。

20

【0124】

【化47】



30

【0125】

2-{3-[1-カルボキシ-5-(カルボキシメチル-ピリジン-2-イルメチル-アミノ)-ペンチル]-ウレイド}-ペンタン二酸(26)

40

同一般手順、前述のように調製し保護した2-[3-(5-アミノ-1-カルボキシ-ペンチル)-ウレイド]-ペンタン二酸ジ t - ブチルエステルを使用。前述の方法を使用してこの化合物を脱保護した(2.2 mg, 65%)。 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 8.65 (d, 1H), 7.91 (dd, 1H), 7.56 (d, 1H), 7.45 (dd, 1H), 6.31 (m, 2H), 4.34 (s, 2H), 4.08 (m, 4H), 3.10 (m, 2H), 2.24 (m, 2H), 1.95 (m, 1H), 1.68 (m, 4H), 1.5 (m, 1H), 1.22 (m, 2H)。ESMS m/z : 469 (M+H)⁺。M+1 469。

【0126】

[Re(CO)₃(2-{3-[1-カルボキシ-5-(カルボキシメチル-ピリジン-

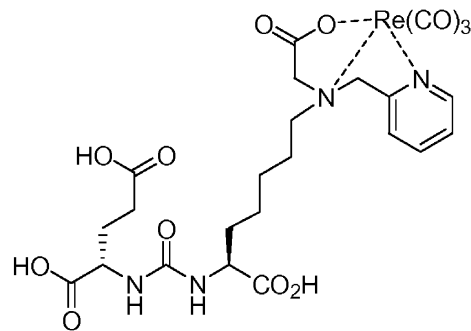
50

2 - イルメチル - アミノ) - ペンチル] - ウレイド} - ペンタン二酸)] (2 7)

$^1\text{H NMR}$ (4 0 0 \text{MHz}, \text{DMSO} - d_6) 8 . 7 5 (d , 1 \text{H})、 8 . 1 3 (d d , 1 \text{H})、 7 . 6 9 (d , 1 \text{H})、 7 . 5 7 (d d , 1 \text{H})、 6 . 4 5 (m , 2 \text{H})、 4 . 7 5 (m , 1 \text{H})、 4 . 5 0 (m , 1 \text{H})、 4 . 2 0 (m , 2 \text{H})、 3 . 6 1 (m , 4 \text{H})、 3 . 1 5 (m , 2 \text{H})、 2 . 3 8 (m , 1 \text{H})、 2 . 0 (m , 2 \text{H})、 1 . 7 5 (m , 4 \text{H})、 1 . 6 2 (m , 1 \text{H})、 1 . 2 5 (m , 2 \text{H})。 \text{ESMS } m/z 7 7 9 \sim 7 8 2 (M + 2 \text{Na})^+。

【 0 1 2 7 】

【 化 4 8 】



10

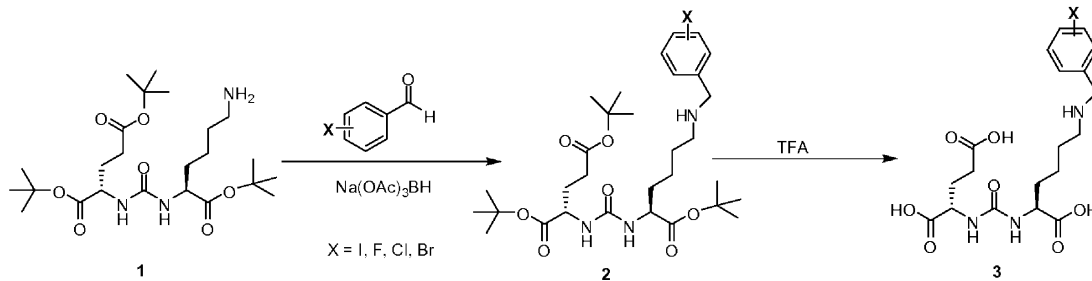
【 0 1 2 8 】

G l u - 尿素 - L y s (N - ベンジル - X) 類似体 (3) の合成

スキーム A に示す一般経路を使用して、一般構造 3 の化合物を 2 0 ~ 4 0 % の範囲の全収率で調製した。重要な合成中間体 (1) を適切なアルデヒドと室温で 1 時間反応させてイリジ (y r i d i) 塩基中間体を形成した。このイリジ塩基は単離せずに、その場でトリアセトキシホウ水素化ナトリウムを使用して還元した。DCM 中 5 0 % TFA を室温で 1 時間使用して、t - ブチルエステル保護基を除去した。脱保護完了後、反応物をロータリーエバポレーター上で濃縮し、HPLC またはフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 (3) を 4 0 ~ 8 0 % の収率で得た。

【 0 1 2 9 】

【 化 4 9 】



20

30

スキーム A. ハロゲン化 G l u - 尿素 - L y s (N - ベンジル - X) 類似体 (3) を合成するための一般経路。

40

【 0 1 3 0 】

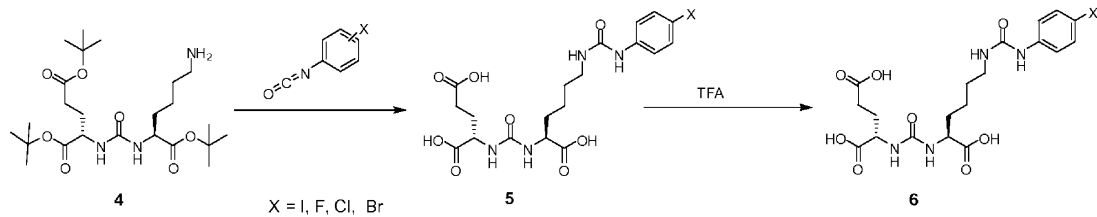
G l u - 尿素 - ウレイド (フェニル - X) 類似体の合成

スキーム B に示す経路によって、以下の一般構造 8 の化合物を 2 0 ~ 6 0 % の範囲の全収率で調製した。重要な合成中間体 (4) を適切なフェニルイソシアネートと室温で反応させて、良好な収率で所望の保護中間体 (5) を得た。室温で 1 時間 DCM 中 5 0 % TFA の存在下で t - ブチルエステル保護基を除去した。完了後、反応物をロータリーエバポレーター上で濃縮し、HPLC または再結晶によって精製して、所望の生成物 (6) を 4 0 ~ 9 0 % の収率で得た。

50

【 0 1 3 1 】

【 化 5 0 】



スキームB. ハロゲン化G l u -尿素-ウレイド (フェニルーX) 類似体を合成するための一般経路。

10

【 0 1 3 2 】

放射標識された錯体の調製および特性決定

テクネチウム - 9 9 m 標識

^{99m}Tc 標識錯体の調製は、 $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ を含有する溶液 $100\ \mu\text{L}$ を阻害剤 - S A A C の $10^{-4}\ \text{M}$ 溶液 $500\ \mu\text{L}$ に加えることによって行った。その混合物を 70°C で 30 分間加熱した。得られた生成物の放射化学的純度を、逆相 H P L C によって分析した。

【 0 1 3 3 】

放射標識化合物の溶液中および血清中の安定性を、時間および溶液条件の関数として求めた。具体的には、放射線標識および単離の後、生成物を室温で 6 時間保管し、その後 H P L C 分析を行って、標識保持の程度、および生成物の分解の可能性を調べた。 TcO_4^- の再形成および還元された材料 TcO_2 の存在を分析した。

20

【 0 1 3 4 】

インビボ安定性を予測しやすくするために、リガンドによる攻撃 (l i g a n d c h a l l e n g e) を行った。具体的には、H P L C で精製した錯体を 5% マウス血清中室温および 37°C でインキュベートすることによって、 ^{99m}Tc 錯体の安定性を調べた。システインおよび D T P A などの競合するリガンドが、 $\text{Tc} - 99\text{m}$ を錯体から抽出する能力を、 $0.1\ \text{M}$ の最終濃度で競合するリガンドを含有する溶液 (P B S p H 7 . 2) を使用して精製した錯体をインキュベートすることによって調べた。

30

【 0 1 3 5 】

標識競合試験の結果から、血清中または競合リガンド試験において 6 時間までは $\text{Tc} - 99\text{m}$ - 錯体の分解が起こらないことが示された。 37°C でのインキュベーションの 6 時間の結果を図 2 に示す。

【 0 1 3 6 】

D C T のヨウ素化

$100\ \mu\text{L}$ の、 $0.1\ \text{N}$ の NaOH 中の [I - 1 3 1] NaI を、I o d o g e n t u b e (商 標) (F i s h e r S c i e n t i f i c , P i e r c e) 中の D C T ($1\ \text{mg}/\text{mL}$) を含有する P B S (p H 7 . 2) 溶液に加えることによって、ヨウ素 - 1 3 1 で標識された化合物 N - [N - [(S) - 1 , 3 - ジカルボキシプロピル] カルバモイル] - S - 3 - ヨード - L - チロシン (I - 1 3 1 - D C I T) の調製を行った。この混合物を 3 分間ボルテックスし、室温で 20 分間保管した。

40

【 0 1 3 7 】

溶液中の放射標識化合物の安定性を時間の関数として求めた。具体的には、放射線標識および単離の後、生成物を室温で 48 時間保管し、その後 H P L C 分析を行って、標識保持の程度、および生成物の分解の可能性を調べた。 NaI の再形成および還元されたヨウ素酸塩の存在を分析した。標識安定性試験の結果から、I - 1 3 1 D C I T は室温で 2 日間まで有意な分解が起こらないことが示された。この試験結果を図 3 に示す。

【 0 1 3 8 】

50

100 μ lの、0.1 NのNaOH中の[I-131]NaIと、0.5%の酢酸を有する30 μ lのメタノールとを、IODOGEN TUBE (商標) (Fisher Scientific)中のMIP 1072 (1 mg/mL)を含有するPBS (pH 7.2)溶液に加えることによって、ヨウ素-131で標識された化合物2 - {3 - [1 - カルボキシ - 5 - (4 - ヨード - ベンゾイルアミノ) - ペンチル] - ウレイド} - ペンタン二酸 (I - 131 - MIP 1072)の調製を行った。この混合物を3分間ボルテックスし、室温で20分間保管した。

【0139】

溶液中の放射標識化合物の安定性を時間の関数として求めた。具体的には、放射線標識および単離の後、生成物を37で3日間保管し、その後HPLC分析を行って、標識保持の程度、および生成物の分解の可能性を調べた。NaIの再形成および還元されたヨウ素酸塩の存在を分析した。標識安定性試験の結果から、DMSO、10%エタノール/食塩水、PBS pH 7.2、および6%アスコルベート/3%ゲンチシン酸溶液中で、I - 131 1072は室温で3日間まで有意な分解が起こらないことが示された。この試験結果を図4に示す。

10

【0140】

SAAC - 尿素 - グルタメート結合体の生物学的特性決定

PSMA陽性LNCaP細胞、およびPSMA陰性PC3細胞を使用して、新しく調製したSAAC - 尿素 - Glu結合体のヒト前立腺癌細胞結合アッセイにおけるスクリーニングを行った。PSMA陽性細胞への特異的な取り込みまたは結合を示す化合物の腫瘍局在についてインビボで試験を行った。

20

【0141】

インビトロコールドスクリーニングアッセイ (cold screening assay) バーシス (verses) I - 131 DCIT

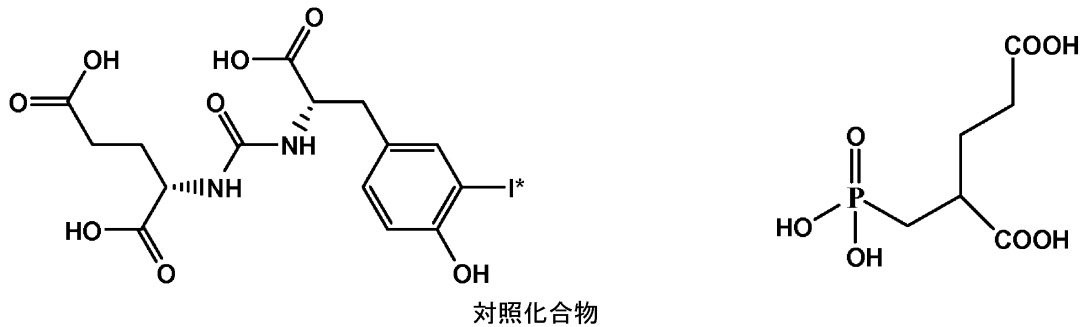
LNCaPおよびPC3ヒト前立腺癌細胞をAmerican Type Culture Collection (Rockville, MD)より入手した。LNCaP細胞は、10%ウシ胎児血清 (FBS)を追加したRPMI - 1640培地中に維持した。PC3細胞は、10%FBSを追加したF12K培地中で増殖させた。LNCaP細胞およびPC - 3細胞に対する放射標識化合物の結合、および非放射性誘導体との競合を、Tangらの方法 (Tang, H.; Brown, M.; Ye, Y.; Huang, G.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Zhai, H.; Chen, X.; Shen, T. Y.; Tenniswood, M., Prostate targeting ligands based on N - acetylated alpha - linked acidic dipeptidase (Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003, 307, 8 - 14))に適切な修正を加えたものに従って行った。細胞は12ウェルプレート中に約 4×10^5 細胞/ウェルで入れ、加湿インキュベーター中37 / 5%二酸化炭素において48時間インキュベートした後、化合物を加えた。それぞれ独自のSAAC - 尿素 - Glu結合体を調製し、0.5%のウシ血清アルブミン (BSA)とともに3 nMのI - 131 DCIT (公知の阻害剤)を含有する無血清細胞培養液で希釈した。試験化合物を使用せずにI - 131 DCITをインキュベートすることによって全結合量を求めた。プレートは室温で1時間インキュベートした。穏やかにピペット操作することによってプレートから細胞を取り出してエッペンドルフ管に移した。サンプルを15秒間10 K x gで微量遠心分離した。培養液を吸引し、得られたペレットは、新しいアッセイ媒体中に分散させた後に微量遠心分離することによって2回洗浄した。自動ガンマ計数器中で細胞ペレットを計数することによって、I - 131 DCITの細胞結合量を求めた。非特異的結合は、2 μ Mの非放射標識化合物または2 - ホスホノメチル - ペンタン二酸 (PMPA)を使用してインキュベートした後の細胞に関する計数として求めた。対照化合物を以下に示す。

30

40

【0142】

【化51】



10

【0143】

結合アッセイの2つの重要な化合物を上を示しており、I-DCIT (Kozikowskiら)、および $IC_{50} = 6 \text{ nM}$ の強力な阻害剤である2-ホスホノメチル-ペンタン二酸 (PMPA - 右側) である。

【0144】

(ii) インビトロ投与量スクリーニング

I-131 DCITは、LnCap細胞に特異的に結合し、PC3細胞には特異的に結合しないことが、LnCap細胞中でのみ非放射標識化合物またはPMPAによって置換可能な計数から明らかである(図5)。一定量のI-131 DCITの存在下で、種々の量の非放射標識DCITを加えてLnCap細胞をインキュベートすることによって結合定数を求め、各溶液の比放射能で除することによって、結合化合物のフェムトモル数を求めた(図6)。 K_d を求めると 264 nM となり B_{max} は 254 フェムトモルであった。LnCap細胞に対する結合がI-131 DCITと $2 \mu\text{M}$ で競合する化合物MIP-1008およびMIP-1033を種々の投与量で再試験して IC_{50} 値を求めた(図7および図8)。MIP-1072、MIP-1095、およびMIP-1097は IC_{50} 値が $< 50 \text{ nM}$ となったが、化合物MIP-1008およびMIP-1033は IC_{50} がそれぞれ 98 nM および 497 nM であった。化合物MIP-1025、MIP-1028、およびMIP-1029は結合を競合しなかった(表1)。

20

【0145】

MIP-1072がLnCap細胞に内部移行したことを示す図7のスキッチャード解析の結果を立証するために、MIP-1072のLnCap細胞中の取り込み速度をモニタした。各ウェルに、4および37において 100 nM のMIP-1072 ($2 \mu\text{Ci}$ /ウェル)を投与した。15分後にPSMAへの結合が平衡に達し、このことは4における曲線の平坦部によって示された。37でインキュベートした細胞は、平衡到達後もMIP-1072の内部移行が続いた。この結果(図10)はスキッチャードと一致しており、MIP-1072が実際に内部移行していることを示している。

30

【0146】

(iii) ミクロソームアッセイ実験

試験化合物のカタストロフィ的な分解をモニタするために、プールした雄ラット肝臓ミクロソーム (1 mg/mL , BD Biosciences)、NADPH再生システム (1.3 mM のNADP、 3.3 mM のグルコース6-ホスフェート、および 0.4 U/mL のグルコース6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ、BD Biosciences)、および試験化合物 ($50 \mu\text{M}$ のMIP-1072、 $50 \mu\text{M}$ のDCIT、および $100 \mu\text{M}$ のフェナセチン)を 0.1 M リン酸カリウム緩衝液 ($\text{pH} 7.4$)に加えた。この混合物を37において指定の時間(0、15、60分)インキュベートし、等体積の氷冷メタノール ($500 \mu\text{L}$)を加えることで反応を停止させた。得られたスラリーを次に $21,000 \times G$ で10分間遠心分離し、その上澄みを回収し、95:5の水:アセトニトリル (0.1% のギ酸含有)から40:60の水:アセトニトリル (0.1% のギ酸含有)のグラジエントを使用してAgilent LCMS model MSD SL上に

40

50

注入し、単一イオンモードで親イオンのみをモニタした。図11(a)および(b)に示す結果は、0分の時点に対する親イオンの分解として表されている。

【0147】

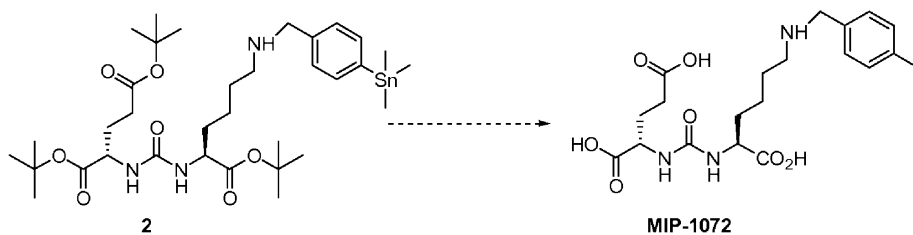
ラット肝臓マイクロソームを使用してMIP-1072の安定性を評価した。MIP-1072 (50 μM) およびフェナセチン (100 μM) をラット肝臓マイクロソームとともに37 °Cにおいて指定の時間インキュベートした。代謝されることが知られているフェナセチンを対照物質として使用した。インキュベーション時間中にMIP-1072はラット肝臓マイクロソームによって分解されなかった。しかし、フェナセチンは60分のインキュベーション後に22%分解した。

【0148】

LNCaP (PSMA陽性) 腫瘍およびPC3 (PSMA陰性) 腫瘍の両方を移植したマウスで組織分布を調べるために、リード化合物のMIP-1072をI-131で標識した。この化合物は以下に示す経路で放射標識した。

【0149】

【化52】



【0150】

組織の体内分布結果は、インビトロデータと一致し、LNCaP (PSMA陽性) 腫瘍中への顕著な取り込みが示された。これらの結果は、PC3 (PSMA陰性) 腫瘍中値の活性が非常にわずかであり高い特異性も示した。マウスの分布を示すグラフを以下に示す(図12)。

【0151】

N-[N-[(S)-1,3-ジカルボキシプロピル]カルバモイル]-S-3-ヨード-L-チロシン(I-131-DCIT)パーシス(verses)「非放射性」(cold)錯体を使用した生物学的評価は迅速な第1のスクリーンとなることが分かり、続いて線量曲線によって正確なIC50値を求めた。リードシリーズの化合物はIC50値<50 nMを示した。リードシリーズのインビトロデータでは、LNCaP腫瘍中で3% ID/gが蓄積して高い親和性が示され、LNCaP:PC3の比が15:1を超える高い特異性を示した。

【0152】

LNCaP細胞溶解プロトコル

2つのコンフルエントT75フラスコ

ピペットで培養液を上下させることでプレートから細胞を洗い落とす。

0.32 Mのスクロースで洗浄、再遠心分離する。

1 mLの50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.5%のTriton X-100中に細胞ペレットを再懸濁させる。

14000 rpmで1分間遠心分離して核を沈殿させる。

上澄みを取り出し50 uLのアリコートに分割する。

-80°Cで保管する。

【0153】

タンパク質アッセイ:

Bio-Rad Protein Standard II - 1.44 mg/ml

溶解ステップで界面活性剤を使用しているため、20 uLの試薬Sを、試験に必要なそれぞれ1 mLの試薬Aに加えることによって作業用試薬A'を調製する。(沈殿物が形成さ

10

20

30

40

50

れる場合は、加温およびボルテックスを行う)。

5つのタンパク質希釈物 - 0、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/mL を調製する。
25 μ L の標準 / 未知物質、100 μ L の A'、800 μ L の試薬 B の未知の混合物の 1 / 10、1 / 100、および 1 / 1000 希釈物も 2 つずつ調製する。混合
約 15 分後、750 nM において吸光度を測定する。

【0154】

NAALADase アッセイ：

Rxn 緩衝液：50 mM の Tris - HCl、pH 7.4、20 mM の CoCl₂、32 mM の NaCl

冷 NAG (100 mM ストック) を Rxn 緩衝液中で 1 / 100 に希釈して 1 mM にする。

600 μ L の緩衝液と LNCaP 細胞溶解物 (200 μ g) とを混合し、37 C で 3 分間
プレインキュベートする。

Rxn 緩衝液および LNCaP 細胞溶解物を 37 C で 3 分間プレインキュベートする。

1,000,000 CPM の ³H - NAG を加えた 6 μ L の 1 mM の NAG (最終濃度 1 μ M の場合) を加える (100 μ L の 1 mM の NAG + 10 μ L の ³H - NAG (10 μ Ci))。競合させるため PMPA を加える。

30 分間インキュベートする。

指定の時間において、100 μ L の反応混合物を取り出し、等体積の氷冷した 0.25 M
の KH₂PO₄、pH 4.3 を加えて rxn を停止させることによって、反応を停止させる。

1 / 2 の混合物を 250 mg の AG 50W - X4 陽イオン交換カラム (200 ~ 400
メッシュ、H⁺型、使用前に DI H₂O で膨潤させた樹脂) に加える。残りの 1 / 2 は
計数のため保存する。

カラムを 500 μ L の 1 : 1 の Rxn 緩衝液 / 0.25 M の KH₂PO₄ で洗浄する。

3 M の KCl (1.5 mL) で溶出させる。

クエンチングを最小限にするため、100 μ L の投入液、溶出液、および反応液 (1 : 6
で希釈) を計数する。

注記：

時間 = 0 の対照値を実験時点から減算する。

結果は、形成された pmol ³H - グルタメート / 分 / mg タンパク質で表される。

Grant は 10 分間のみ線形性が保たれると述べているが、Luthi - Carter
ら (J Pharm Exp Therap 1998 286 (2)) は、2 時間後も
なお線形性に影響はなく、消費された物質は 20% 未満であると述べている。

【0155】

治療的処置

本化合物は、治療的処置のために NAALADase を阻害するために使用することができる。NAALADase 処置を受け入れることができる疾病としては、有痛性および
感覚性糖尿病性ニューロパシー、神経損傷、および前立腺癌、統合失調症、結腸直腸癌、
炎症、筋萎縮性側索硬化症、または糖尿病性ニューロパシーが挙げられる。本化合物は鎮
痛剤として使用することもできる。このような治療的処置のモデル化のガイダンスは、G
oodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (McGraw Hill, 10 editi
on, 2001), Pharmaceutical Preformulation and Formulation: A Practical Guide from Ca
ndidate Drug Selection to Commercial Dos
age Form, (CRC, 2001)、および Handbook of Pharm
aceutical Excipients, (Apha Publications,
5 edition, 2005) に見ることができる。

【0156】

類似体の競合的結合 (図16)

PSMAへの結合を ^{131}I -DCITと競合する非放射性類似体の能力について、PSMA陽性ヒト前立腺癌細胞系のLNCaP細胞において試験した。LNCaP細胞(300,000細胞/ウェル)を3nMの ^{131}I -DCITとともに、1~10,000nM MIP-1072の存在下、0.5%ウシ血清アルブミンを追加したRPMI-1640培地中で1時間インキュベートした後、洗浄し、ガンマ計数器中で計数した。特許出願を含めて本明細書に引用されるすべての文献は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0157】

MIP-1072の直接結合および内部移行

^{123}I -MIP-1072の前立腺癌細胞への直接結合について試験した(図17)。LNCaP細胞、またはPSMA陰性細胞系のPC3細胞を、0.5%ウシ血清アルブミンを追加したRPMI-1640培地中、3nMの ^{123}I -MIP-1072単独、または10 μM の非標識MIP-1072の存在下、または構造的に無関係のNALADase阻害剤である10 μM の2-(ホスホノメチル)-ペンタン二酸(PMPA)とともに1時間インキュベートした。細胞を洗浄し、ガンマ計数器中で計数した。

【0158】

MIP-1072の親和定数(K_d)を飽和結合分析によって求めた(図18)。LNCaP細胞は、HBS(50mMのHepes, pH7.5、0.9%の塩化ナトリウム)中30~100,000pMの ^{131}I -MIP-1072とともに、4 または37 において、10 μM の非標識MIP-1072(非特異的結合を求めるため)の非存在下または存在下で1時間インキュベートした。次に細胞を洗浄し、放射エネルギーをガンマ計数器上で測定した。特異的結合を全結合量と非特異的結合との間の差として計算した。過剰の非放射標識MIP-1072(10 μM)の存在下および非存在下で ^{123}I -MIP-1072(3pM~1,000nM)を滴定することによって行った飽和結合分析によって、MIP-1072とLNCaP細胞上のPSMAとの相互作用の親和定数(K_d)を測定した。グラフ・パッド・プリズム(Graph Pad Prism)ソフトウェアを使用した非線形回帰分析によって、4 において4.8nMの K_d 、および1,490フェムトモル/10⁶細胞のBmaxが求められた(図18)。この K_d は37 における8.1nMと顕著な差がなかった。しかし、Bmaxは37 において4 よりも大きく、それぞれ1,490対4,400フェムトモル/10⁶細胞であり、MIP-1072の内部移行を示している。以下の結果は2つの独立した分析の代表例である。

【0159】

LNCaP細胞中に内部移行するMIP-1072の能力を酸洗浄アッセイによって確認した(図19)。LNCaP細胞を、HBS中100nMの ^{123}I -MIP-1072とともに0~2時間4 および37 においてインキュベートした。指定の時間で、培地を除去し、細胞を弱酸性緩衝液(50mMのグリシン、150mMのNaCl、pH3.0)中4 で5分間インキュベートした。この短時間のインキュベーションの後、細胞を20,000 $\times g$ で5分間遠心分離した。得られた上澄みおよび細胞ペレットについてガンマ計数器中で計数した。MIP-1072のLNCaP細胞中への内部移行を示す飽和結合分析の結果を確認するために、本発明者らはMIP-1072のLNCaP細胞中への取り込み速度をモニタした。各ウェルに、4 および37 において100nMのMIP-1072(2 μCi /ウェル)を投与した。15分後にPSMAへの結合が平衡に達し、このことは4 における曲線の平坦部によって示された。37 でインキュベートした細胞は、平衡到達後もMIP-1072の内部移行が続いた。結果は、37 においてはペレットと関連する放射能は時間に依存し酸に鈍感な増加を示したが4 では示さず、このことは ^{123}I -MIP-1072は、37 において内部移行するが4 ではしないことを示している(図19)。

【0160】

^{123}I -MIP-1072の腫瘍取り込みおよび組織分布

10

20

30

40

50

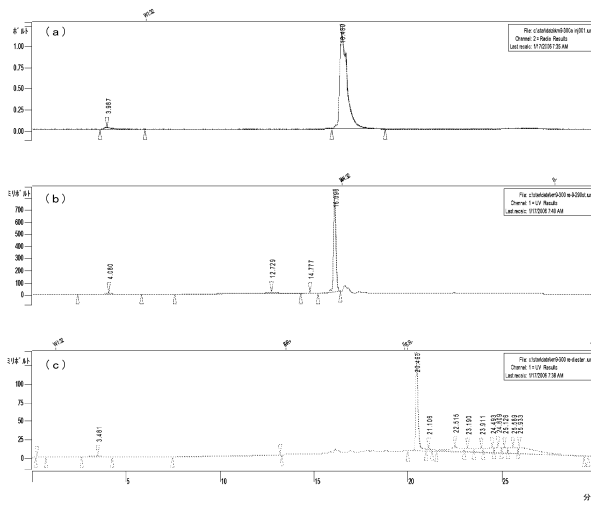
尾静脈を介してボラス注入として（約 2 μ Ci / マウス）一定体積 0.05 ml で投与した P S M A 陽性 L N C a P 異種移植片（約 100 ~ 200 mm³）を有する雄 N C r ノード（N C r N u d e）マウスの独立した複数の群において、¹²³I - M I P - 1072 の組織分布の定量分析を行った。注入から 0.25、1、2、4、8、および 24 時間後に、二酸化炭素で窒息させることによって動物（n = 5 / 各時点）を安楽死させた。組織（血液、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胃、大腸および小腸（内容物を有する）、睾丸、骨格筋、骨、脳、脂肪、および腫瘍）を解剖し、摘出し、湿潤時に秤量し、プラスチック管に移し、自動 計数器（L K B M o d e l 1282（W a l l a c O y , F i n l a n d））中で計数した。¹²³I - M I P - 1072 の L N C a P 腫瘍中と P C 3 腫瘍中との取り込みを比較し、この化合物が 2 - （ホスホノメチル） -

10

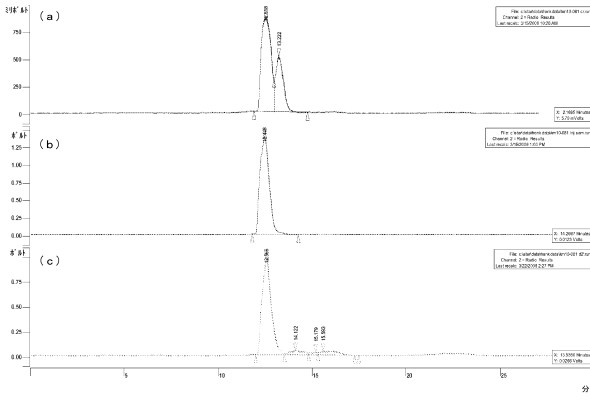
ペンタン二酸（P M P A）との競合を介した機序で機能することを示すため、L N C a P または P C 3 のいずれかの異種移植片を有する一部のマウスについて、¹²³I - M I P - 1072 の注入の 5 分前に、50 mg / kg P M P A であらかじめ処置し、選択した組織を注入から 1 時間後に回収した。M I P - 1072 の取り込みおよび曝露は、P S M A の発現が多い腎臓および L N C a P 異種移植片において最大であった。腎臓における取り込みのピークは 2 時間における 158 \pm 46 % I D / g であり、L N C a P 異種移植片では 1 時間における 17 \pm 6 % I D / g であった（図 20）。これらのターゲット組織における取り込みは迅速であり、一方 L N C a P 異種移植片における流出はより遅かった。¹²³I - M I P - 1072 は、P S M A を発現する L N C a P 腫瘍への局所化によって示されるようにインビゴの機序で機能するが、P S M A を発現しない P C 3 腫瘍では機能しないことが実証された（図 21）。さらに、この腫瘍および腎臓の両方は、マウスを P S M A の強力な阻害剤である P M P A で予備処置することによって遮断された。

20

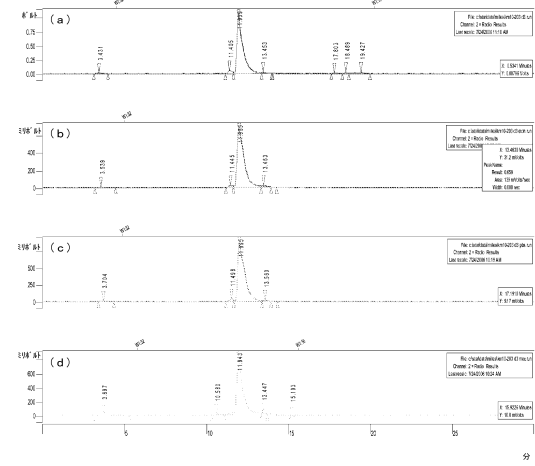
【図 1】



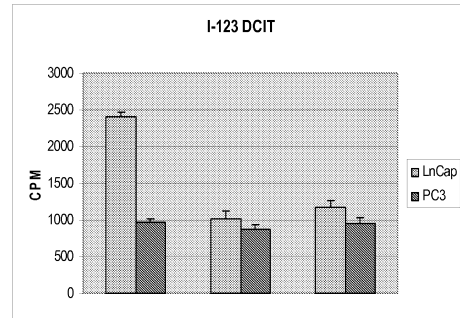
【 図 3 】



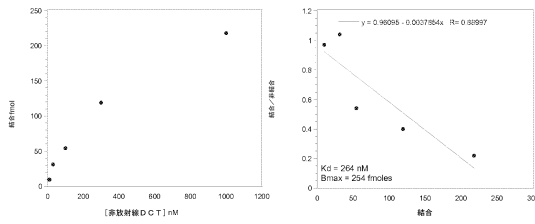
【 図 4 】



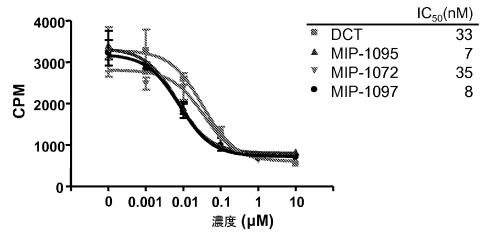
【 図 5 】



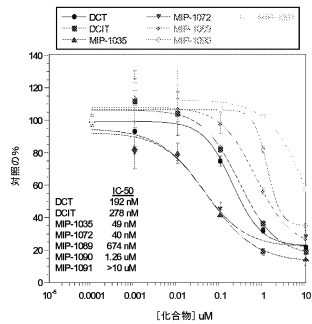
【 図 6 】



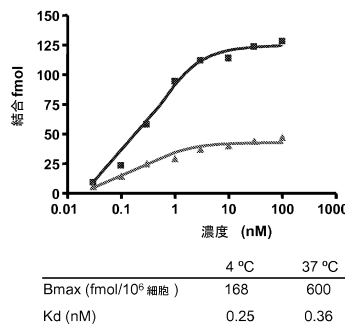
【 図 8 】



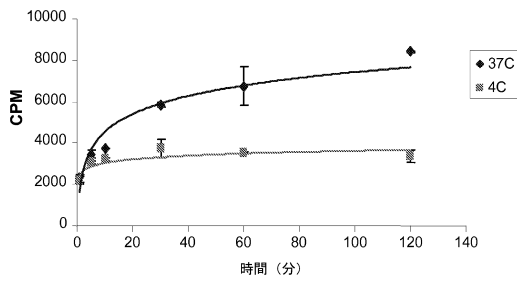
【 図 7 】



【 図 9 】

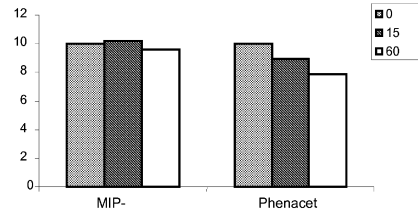


【 図 1 0 】

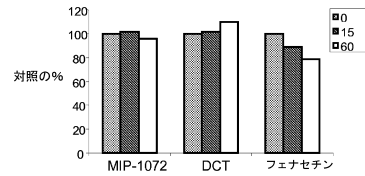


【 図 1 1 】

(a) ラット肝臓による MIP-1072 およびフェナセチンの代謝

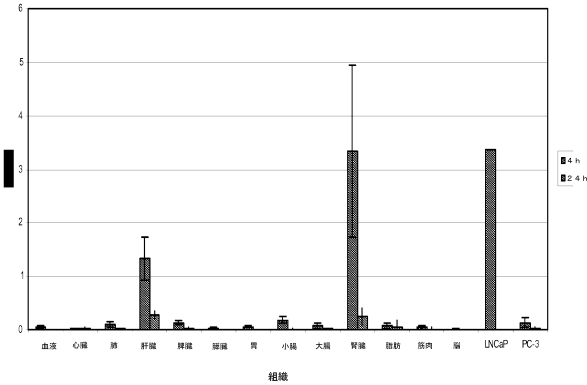


(b) ラット肝臓によるMIP-1072、DCT、およびフェナセチンの代謝

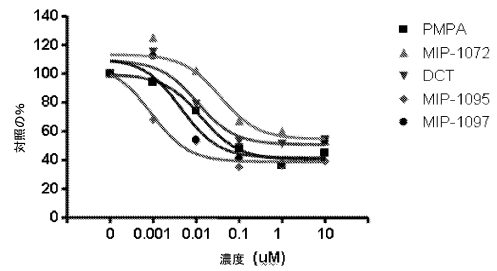


【 図 1 2 】

LNCaPおよびPC-3を有するSCIDマウスにおける [131I] MIP-1072の生体内分布



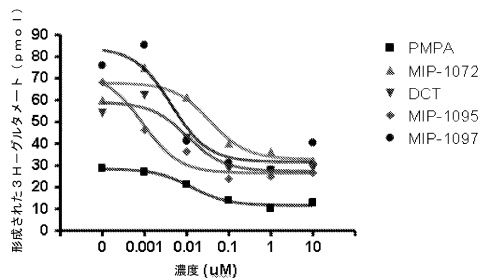
【 図 1 4 】



【 図 1 5 】

化合物	K_i (nM)
PMPA	2.2
DCT	1.8
MIP-1072	6.1
MIP-1095	0.2
MIP-1097	0.7

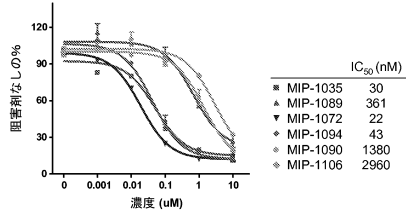
【 図 1 3 】



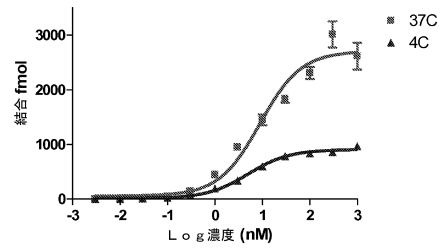
$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[S]}{K_m}}$$

$$[S] = 1000 \text{ nM} \quad K_m = 200 \text{ nM}$$

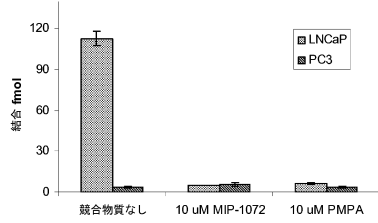
【 図 16 】



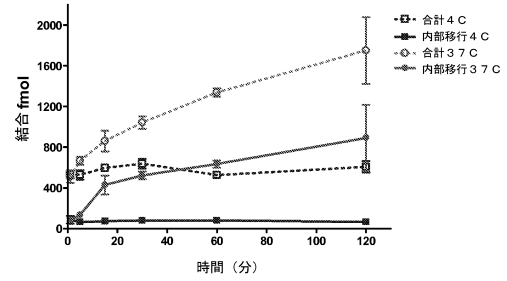
【 図 18 】



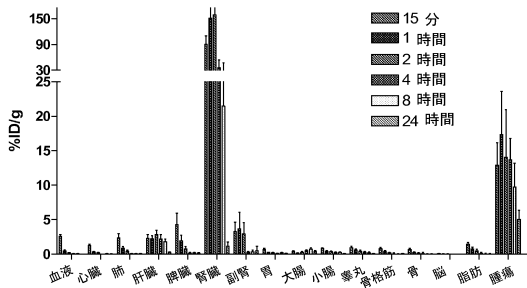
【 図 17 】



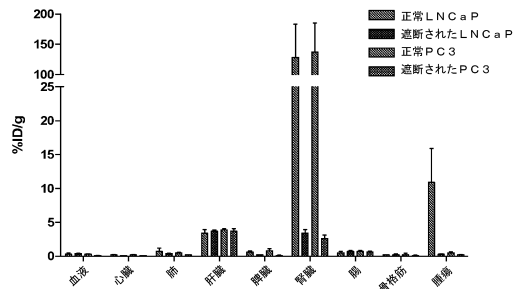
【 図 19 】



【 図 20 】



【 図 21 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 47/48	(2006.01)	A 6 1 K 49/02	C
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 K 31/4402	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 K 47/48	
A 6 1 P 25/18	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 21/02	(2006.01)	A 6 1 P 25/18	
C 0 7 C 275/24	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	
C 0 7 C 275/30	(2006.01)	A 6 1 P 21/02	
C 0 7 C 311/19	(2006.01)	C 0 7 C 275/24	
C 0 7 B 59/00	(2006.01)	C 0 7 C 275/30	
C 0 7 F 13/00	(2006.01)	C 0 7 C 311/19	
C 0 7 F 1/08	(2006.01)	C 0 7 B 59/00	
		C 0 7 F 13/00	Z
		C 0 7 F 1/08	C

- (72)発明者 バビッチ, ジョン, ダブリュ.
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 0 2 1 4 2、ケンブリッジ、セカンド ストリート 1 6
 0、モレキュラー インサイト ファーマシューティカルズ インコーポレーティッド内
- (72)発明者 ジンマーマン, クレイグ, エヌ.
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 0 2 1 4 2、ケンブリッジ、セカンド ストリート 1 6
 0、モレキュラー インサイト ファーマシューティカルズ インコーポレーティッド内
- (72)発明者 マレスカ, ケヴィン, ピー.
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ州 0 2 1 4 2、ケンブリッジ、セカンド ストリート 1 6
 0、モレキュラー インサイト ファーマシューティカルズ インコーポレーティッド内

審査官 上村 直子

- (56)参考文献 国際公開第2 0 0 6 / 0 9 3 9 9 1 (WO, A 1)
 特表2 0 0 5 - 5 1 9 9 5 7 (JP, A)
 特表2 0 0 6 - 5 1 8 9 8 6 (JP, A)
 特表2 0 0 2 - 5 4 3 0 8 4 (JP, A)
 国際公開第2 0 0 4 / 0 9 1 6 6 9 (WO, A 1)
 米国特許出願公開第2 0 0 4 / 0 0 5 4 1 9 0 (US, A 1)
 FOSS,C.A. et al., Radiolabeled Small-Molecule Ligands for Prostate-Specific Membrane A
 ntigen: In vivo Imaging in Experimental Models of Prostate Cancer, Clinical Cancer Res
 earch, 2 0 0 5 年, 11(11), , 4022-4028
 KOZIKOWSKI,A.P. et al., Synthesis of Urea-Based Inhibitors as Active Site Probes of Gl
 utamate Carboxypeptidase II: Efficacy as Analgesic Agents, Journal of Medicinal Che
 mistry, 2 0 0 4 年, 47(7), 1729-1738
 GUILARTE,T.R. et al., Glutamate carboxypeptidase II levels in rodent brain using [125I
]DCIT quantitative autoradiography, Neuroscience Letters, 2 0 0 5 年, 387(3), 141-144
 OLSZEWSKI,R.T. et al., NAAG peptidase inhibition reduces locomotor activity and some s
 tereotypes in the PCP model of schizophrenia via group II mGluR, Journal of Neurochem
 istry, 2 0 0 4 年, 89(4), 876-885

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 C A p l u s (S T N)

REGISTRY (STN)