

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-529884

(P2004-529884A)

(43) 公表日 平成16年9月30日(2004.9.30)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 51/00	A 6 1 K 49/02	A 4 C O 7 6
A 6 1 K 47/10	A 6 1 K 47/10	4 C O 8 4
A 6 1 K 47/22	A 6 1 K 47/22	4 C O 8 5
C O 7 K 1/13	C O 7 K 1/13	4 H O 4 5
C O 7 K 2/00	C O 7 K 2/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 119 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-567231 (P2002-567231)	(71) 出願人	503021180
(86) (22) 出願日	平成14年2月22日 (2002.2.22)		ブリストル・マイヤーズ・スクイブ・ファーマ・カンパニー
(85) 翻訳文提出日	平成15年8月26日 (2003.8.26)		B R I S T O L - M Y E R S S Q U I B
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/005155		B P H A R M A C O M P A N Y
(87) 国際公開番号	W02002/067859		アメリカ合衆国08543-4000 ニュージャージー州プリンストン、ローレンスビルー プリンストン・ロード、ポスト・オフィス・ボックス 4000
(87) 国際公開日	平成14年9月6日 (2002.9.6)		
(31) 優先権主張番号	60/271,389	(74) 代理人	100068526
(32) 優先日	平成13年2月26日 (2001.2.26)		弁理士 田村 恭生
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100098925
			弁理士 上田 敏夫
		(74) 代理人	100126778
			弁理士 品川 永敏
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 金属放射性医薬のためのアスコルビン酸類似体

(57) 【要約】

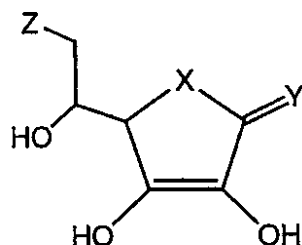
本発明は、金属放射性医薬を製造するための緩衝試薬およびキレート試薬としてのアスコルビン酸類似体の使用に関する。本発明は、放射性医薬の製造および安定化のための緩衝試薬、キレート試薬、および安定化剤としてのアスコルビン酸の使用、およびその製造および使用方法にも関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式： $M\text{-Ch-Ln}-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および(1)放射線誘発性分解に対して式： $M\text{-Ch-Ln}-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートを安定化させ、そして(2)放射性医薬組成物のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

【化 1】



(I)

10

[式中、XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、
YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は0-5 R^2 で置換された(C_1 - C_{10})アルキル、0-5 R^2 で置換された(C_3 - C_{10})シクロアルキル、0-5 R^2 で置換された(C_2 - C_{10})アルケニル、および0-5 R^2 で置換されたアリールから選ばれ、 R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、OH、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

20

の化合物または該医薬的に許容される塩を含む放射性医薬組成物。

【請求項 2】

該量が、(1)放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、(2)該放射性医薬のpHを制御するのに有効である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項 3】

該量が、(1)放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、(2)放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効である請求項1の放射性医薬組成物。

30

【請求項 4】

該量が、(1)放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、(2)放射性医薬のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効な請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項 5】

XがOである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項 6】

YがOである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項 7】

Zが水酸基である請求項1の放射性医薬組成物。

40

【請求項 8】

mが1～約5である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項 9】

mが1または2である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項 10】

mが1である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項 11】

mが1～約5であり、XがOであり、YがOである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項 12】

50

mが1または2であり、Xが0であり、Yが0であり、Zが水酸基である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項13】

mが1であり、Xが0であり、Yが0であり、およびZが水酸基である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項14】

式(1)の化合物の濃度が約2mg/mL～約200mg/mLである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項15】

金属放射性同位元素が約10mCi～約2000mCiのレベルで存在する請求項1の放射性医薬組成物。

10

【請求項16】

金属放射性同位元素が約5mCi/mL以上の濃度で存在する請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項17】

式： $M-Ch-Ln-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートが診断用放射性医薬である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項18】

式： $M-Ch-Ln-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートが治療用放射性医薬である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項19】

生体分子が抗体である請求項1の放射性医薬組成物。

20

【請求項20】

生体分子が抗体フラグメントである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項21】

生体分子がペプチドである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項22】

生体分子がペプチド模倣物である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項23】

生体分子が非ペプチドである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項24】

生体分子が、環式IIb/IIIaレセプターアンタゴニスト、RGD含有ペプチド、フィブリノーゲンレセプターアンタゴニスト、IIb/IIIaレセプターリガンド、フィブリンの重合部位に対するリガンド、ラミニン誘導体、フィブリノーゲンに対するリガンド、トロニンリガンド、IIIaタンパク質に対応するオリゴペプチド、ヒルジンベースのペプチド、IIb/IIIaレセプターリガンド、血栓、血小板結合もしくはアテローム斑結合ペプチド、フィブリン結合ペプチド、ヒルジンベースのペプチド、フィブリン結合タンパク質、IIb/IIIaレセプターと結合するグアニン誘導体、チロシン誘導体、白血球結合ペプチド、走化性ペプチド、白血球刺激物質、LTB4アンタゴニスト、ソマトスタチン類似体、セレクチン結合ペプチド、生物学的機能ドメイン、血小板因子4もしくは成長因子、血管形成(angiotogenic)腫瘍の脈管構造に発現するか、またはそれを上方調節する(upregulate)レセプターと結合する化合物、レセプター、VEGFレセプターFlk-1/KDR、Flt-1もしくはニューロピリン-1と高親和性に結合するペプチド、ポリペプチドもしくはペプチド模倣物、v3、v5、51、41、11もしくは22と結合するペプチド、ポリペプチドもしくはペプチド模倣物、レセプターチロシンキナーゼと相互作用する化合物、組織、臓器、酵素もしくは体液のレセプターもしくは結合部位と結合するタンパク質、抗体、抗体フラグメント、ペプチド、ポリペプチドもしくはペプチド模倣物、アルツハイマー病患者に蓄積することがわかっているアミロイドタンパク質、心筋もしくは腎臓のレセプターと結合する心房性ナチュレティック(naturetic)因子由来ペプチド、梗塞組織の領域と結合する抗ミオシン抗体、またはin vivo低酸素領域に局在するニトロイミダゾール誘導体である請求項1の放射性医薬組成物。

30

40

【請求項25】

50

キレーターが環式もしくは非環式ポリアミノカルボキシレート、ジアミンジチオール、トリアミドモノチオール、モノアミンモノアミドジチオール、モノアミンジアミドモノチオール、ジアミンジオキシム、またはヒドラジンである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項26】

キレーターが窒素、酸素、および硫黄から選ばれるドナー原子を有するテトラデンテートである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項27】

キレーターが、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、1,4,8,11-テトラアザズシクロテトラデカン-1,4,8,11-四酢酸(TETA)、1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7-三酢酸(D03A)、2-ベンジル-1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(2-Bz-DOTA)、(2-フェネチル)-1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1-アセチック-4,7,10-トリス(メチルアセチック)酸、2-ベンジル-シクロヘキシルジエチレントリアミン五酢酸、2-ベンジル-6-メチル-ジエチレントリアミン五酢酸、または6,6'-ビス[N,N,N",N"-テトラ(カルボキシメチル)アミノメチル]-4'-(3-アミノ-4-メトキシフェニル)-2,2':6',2"-テルピリジンである請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項28】

金属放射性同位元素が、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{203}Pb 、 ^{177}Lu 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd 、 ^{105}Rh 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{60}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、または ^{212}Bi である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項29】

金属放射性同位元素が $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{111}In 、 ^{203}Pb 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{49}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd 、 ^{105}Rh 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{60}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、または ^{67}Cu である請求項1の放射性医薬組成物。

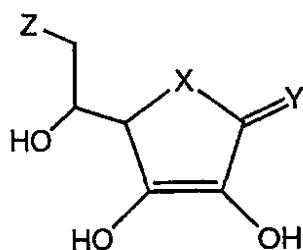
【請求項30】

金属放射性同位元素が ^{111}In 、 ^{90}Y 、または ^{177}Lu である請求項1の放射性医薬組成物。

【請求項31】

式： $\text{M}-\text{Ch}-\text{Ln}-(\text{BM})_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および式(I)：

【化2】



(I)

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10であり、

XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は、O- 5R^2 で置換された(C_1 - C_{10})アルキル、O- 5R^2 で置換された(C_3 - C_{10})シクロアルキル、O- 5R^2 で置換された(C_2 - C_{10})アルケニル、およびO- 5R^2 で置換されたアリールから選ばれ、

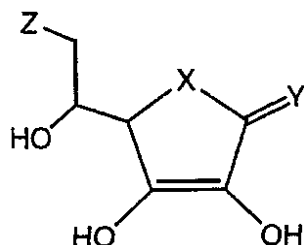
R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、 OH 、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

の化合物またはその医薬的に許容される塩を含む放射性医薬組成物(ただし、放射性医薬組成物はさらなる緩衝剤またはさらなるキレート試薬を含まない。)。

【請求項 3 2】

放射性医薬を、放射性医薬のpHを制御するのに有効な量の式(I)：

【化 3】



(I)

[式中、XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は、0-5 R^2 で置換された(C_1 - C_{10})アルキル、0-5 R^2 で置換された(C_3 - C_{10})シクロアルキル、0-5 R^2 で置換された(C_2 - C_{10})アルケニル、および0-5 R^2 で置換されたアリールから選ばれ、

R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、 OH 、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

の化合物と接触させることを含む該放射性医薬の緩衝方法。

【請求項 3 3】

該放射性医薬が式： $M-Ch-Ln-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートである請求項32の方法

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10である。]。

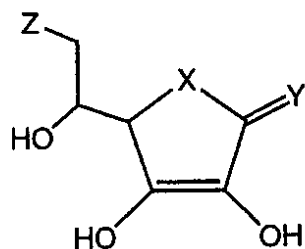
【請求項 3 4】

緩衝剤が放射性医薬の製造、放出、保存、および輸送(少なくとも1つ)中の該放射性医薬のpHを制御する請求項32の方法。

【請求項 3 5】

放射性医薬を、放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効な量の式(I)：

【化 4】



(I)

10

20

30

40

50

[式中、XはO、NR¹、またはCHR¹であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R¹は、0-5R²で置換された(C₁-C₁₀)アルキル、0-5R²で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル、0-5R²で置換された(C₂-C₁₀)アルケニル、および0-5R²で置換されたアリールから選ばれ、

R²は、それぞれ独立してNH₂、OH、CO₂H、C(=O)NH₂、NHC(=NH)NH₂、PO₃H₂、およびSO₃Hから選ばれる。]

の化合物と接触させることを含む該放射性医薬のキレート化方法。

【請求項36】

該放射性医薬が式：M-Ch-Ln-(BM)_mの放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートである請求項35の方法

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10である。]

【請求項37】

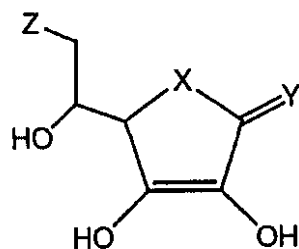
キレート試薬が放射性医薬の製造、放出、保存、および輸送(少なくとも1つ)中の放射性金属コロイドの形成を抑制する請求項35の方法。

【請求項38】

放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定させ、そして(1)放射性医薬のpHを制御し、(2)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)方法であって、

放射性医薬を、(1)放射線誘発性分解に対して放射性医薬を安定化させ、また、(2)放射性医薬のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

【化5】



(I)

[式中、XはO、NR¹、またはCHR¹であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R¹は、0-5R²で置換された(C₁-C₁₀)アルキル、0-5R²で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル、0-5R²で置換された(C₂-C₁₀)アルケニル、および0-5R²で置換されたアリールから選ばれ、

R²は、それぞれ独立してNH₂、OH、CO₂H、C(=O)NH₂、NHC(=NH)NH₂、PO₃H₂、およびSO₃Hから選ばれる。]

の化合物またはその医薬的に許容される塩と接触させることを含む方法。

【請求項39】

該量が、(1)放射線誘発性分解に対して放射性医薬を安定化し、(2)該放射性医薬のpHを制御するのに有効である請求項38の方法。

【請求項40】

該量が、(1)放射線誘発性分解に対して放射性医薬を安定化し、(2)放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効である請求項38の方法。

【請求項41】

該量が、(1)放射線誘発性分解に対して放射性医薬を安定化し、(2)該放射性医薬のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効である請求項38の方法。

【請求項42】

該放射性医薬が式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートである請求項38の方法

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10である。]

10

【請求項43】

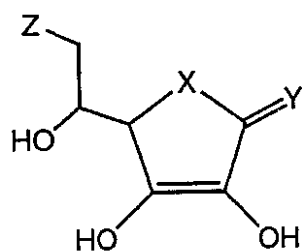
該量が、放射性医薬の製造、放出、保存、および輸送(少なくとも1つ)中の、放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、ならびに(1)放射性医薬組成物のpHを制御し、(2)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効である請求項38の方法。

【請求項44】

式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および(1)放射線誘発性分解に対して式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートを安定化させ、また、(2)放射性医薬組成物のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

20

【化6】



(I)

30

[式中、XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、

Yは、OまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は、O- $5R^2$ で置換された(C_1 - C_{10})アルキル、O- $5R^2$ で置換された(C_3 - C_{10})シクロアルキル、O- $5R^2$ で置換された(C_2 - C_{10})アルケニル、およびO- $5R^2$ で置換されたアリールから選ばれ、

40

R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、OH、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

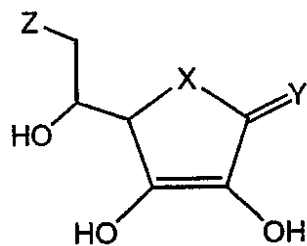
の化合物または該医薬的に許容される塩を含む安定な放射性医薬組成物の製造方法。

【請求項45】

予め決定された量の式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および(1)放射線誘発性分解に対して式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生

体分子コンジュゲートを安定化させ、また、(2)放射性医薬組成物のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

【化 7】



(I)

10

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10であり、

XはO、NR¹、またはCHR¹であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R¹は、0-5R²で置換された(C₁-C₁₀)アルキル、0-5R²で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル、0-5R²で置換された(C₂-C₁₀)アルケニル、および0-5R²で置換されたアリールから選ばれ、

20

R²は、それぞれ独立してNH₂、OH、CO₂H、C(=O)NH₂、NHC(=NH)NH₂、PO₃H₂、およびSO₃Hから選ばれる。]

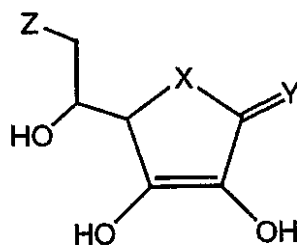
の化合物または該医薬的に許容される塩を含む密封バイアルを含むキット。

【請求項 4 6】

(a) 予め決定された量の式：M-Ch-Ln-(BM)_mの放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および(1)放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、また、(2)放射性医薬のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

30

【化 8】



(I)

40

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10であり、

XはO、NR¹、またはCHR¹であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R¹は、0-5R²で置換された(C₁-C₁₀)アルキル、0-5R²で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル、0-5R²で置換された(C₂-C₁₀)アルケニル、および0-5R²で置換されたアリールから選ばれ、

50

、 $0-5R^2$ で置換された(C_2-C_{10})アルケニル、および $0-5R^2$ で置換されたアリールから選ばれ、
 R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、 OH 、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

の化合物または該医薬的に許容される塩を含む第一バイアル、および

(b)医薬的に許容される担体または希釈剤を含む第二バイアルを含むキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、金属放射性医薬を製造するための緩衝試薬およびキレート試薬としてのアスコルビン酸類似体の使用に関する。特に、本発明は、放射性医薬の製造および安定化のための緩衝試薬、キレート試薬、および安定化剤としてのアスコルビン酸の使用に関する。本発明は、緩衝剤、キレート試薬、および安定化剤としてアスコルビン酸類似体を用いる安定な放射性医薬組成物の製造方法にも関する。

10

【背景技術】

【0002】

放射性医薬は放射性核種を含む薬剤である。放射性医薬は、種々の病気の診断または治療のための核医学で日常的に用いられる。それらは、典型的には一定の組成を持つ小有機もしくはは無機化合物である。それらは、化学量論的に放射性核種で標識されていない抗体または抗体フラグメントのような高分子でもあり得る。放射性医薬は、種々の病気の診断および治療のための化学的基盤を形成する。in vivo診断情報は、放射性医薬を静脈注射し、ガンマカメラを用いてその生体分布を測定することにより得られる。放射性医薬の生体分布は、放射性標識化合物の物理および化学的特質に依存し、病気の存在、進行、および状態に関する情報を得るのに用いることができる。

20

【0003】

放射性医薬は、その生体分布がもっぱらその物理化学的特性によって決定されるものと、その最終的な分布がそのレセプターとの結合または他の生物学的相互作用によって決定されるものの2つの主なクラスに分けることができる。後のクラスは、しばしば標的特異的放射性医薬と呼ばれる。

【0004】

金属放射性医薬は、金属放射性核種を含む。標的特異的金属放射性医薬は、標的化(ターゲティング)分子、リンカー、二機能性キレーター(BFC)、および金属放射性核種の4つの部分に分けることができる。標的化分子は、放射性核種を罹患組織のレセプター部位に運ぶビークルとして役立つ。標的化分子は、抗体のような高分子、またはペプチド、ペプチド模倣物、および非ペプチドを含む小生体分子(BM)であり得る。生体分子の選択は、標的とする病気や病気の状態に依存する。放射性核種は、放射線の供給源である。金属放射性核種の選択は、標的特定金属放射性医薬の意図した医学的用途(例えば、診断または治療)に依存する。BFCは、標的化分子と直接またはリンカーを介して共有結合し、数個の配位結合を介して金属放射性核種と強く結合する。BFCの選択は、金属放射性核種の性質および酸化状態によって主として決定される。該リンカーは、単純な炭化水素鎖または長いポリ(エチレングリコール)(PEG)、または薬物動態の修飾にしばしば用いられる「ナイーブな」ポリ陰イオンもしくは陽イオンペプチド配列であり得る。時折、代謝可能なリンカーを用いて血液クリアランスを増大させ、バックグラウンド活性を低下させて標的/バックグラウンド比を向上させる。

30

40

【0005】

金属放射性核種の使用は、金属と種々のキレーター周辺の配位環境を修飾することにより新しい放射性医薬を設計する多くの機会を提供する。金属放射性核種の配位化学は、該放射性医薬の金属キレートのジオメトリーと溶液安定性を決定するであろう。異なる金属放射性核種は、異なる配位化学を持ち、異なるドナー原子とキレーターフレームワークを持つBFCを必要とする。「金属必須」放射性医薬に関して、生体分布は、もっぱら金属キレ

50

ートの物理的特質によって決定される。標的特異的放射性医薬に関して、「金属タグ」は、放射性医薬の標的への取り込みと生体分布に重要な影響を持つかもしれない。これは、多くの場合、金属キレートが全体のサイズと分子量に大きく寄与するので、低分子に基づく金属放射性医薬ではとりわけそうである。従って、BFCの設計および選択は、新しい診断用もしくは治療用放射性医薬の開発にとって非常に重要である。

【0006】

金属放射性核種、例えば ^{99m}Tc 、 ^{117m}Sn 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、および ^{64}Cu は、診断的イメージング用に提案されてきた。核医薬に用いられる放射性医薬のほぼ80%は、 ^{99m}Tc 標識化合物である。臨床使用において ^{99m}Tc がそのような卓越した状態にある理由は、その好ましい物理的特性と核特性にある。6時間の半減期は、放射化学者が放射性医薬を合成し、核医学の実施者が有用な画像を得ることができるほど十分に長い。それと同時に、患者に有意の放射線量を与えることなくミリキュリー量の ^{99m}Tc 放射能を投与することができるほど十分に短い。単色の140KeV光子は、優れた空間的解像度の画像を与えるために、容易にコリメートされる(collimate)。更に、 ^{99m}Tc は、低コストの市販 ^{99}Mo - ^{99m}Tc ジェネレータから容易に利用可能である。

10

【0007】

生体分子の ^{99m}Tc 標識に関して、二機能的キレーターは、トリシン/水溶性ホスフィンまたはトリシン/ピリジン類似体もしくはトリシン/置換イミン-N含有複素環と組み合わせて用いると種々の三元リガンド系を形成する N_2S_2 ジアミンジチオール、 N_2S_2 ジアミンジチオール、 N_2S_2 モノアミドモノアミドジチオール、 N_3S アミンジアミドチオール、 N_3S トリアミドチオール、およびHYNICを含む。これら三元リガンド系は、米国特許5,744,120、米国特許6,010,679、米国特許5,879,659、およびPCT特許出願W098/53858に開示されている。種々の ^{99m}Tc 標識手法は、いくつかの総説に記載されている(Liu, S.およびEdwards, D. S. Chem. Rev. 1999, 99, 2235-2268; Jurisson, S.およびLydon, J. D. Chem. Rev. 1999, 99, 2205-2218; Liuら Bioconjugate Chem. 1997, 8, 621-636)。放射性標識後、得られる反応混合物を、所望によりSep Packまたは高速液体クロマトグラフィ(HPLC)のような1またはそれ以上のクロマトグラフィ法を用いて精製してよい。好ましい放射性標識手順は、標識後に精製することなくキレート化を達成することができるものである。

20

【0008】

^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{211}At 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd 、 ^{105}Rh 、 $^{186/188}\text{Re}$ 、および ^{67}Cu を含む金属放射性核種は、放射線療法にとって潜在的に有益である。これらの放射性核種のうち、ランタニド放射性同位元素が特に興味深い。低エネルギー エミッタの ^{177}Lu 、中間エネルギー エミッタの ^{149}Pm および ^{153}Sm 、および高エネルギー エミッタの ^{166}Ho および ^{90}Y を含む、選択すべきいくつかのランタニド放射性同位元素がある。イットリウムおよびランタニド金属は、同様の配位化学を共有する。キレーター技術およびそれらの配位化学はよく発展し、よく理解されている。

30

【0009】

^{90}Y 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{58}Ga 、 ^{89}Zr 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、および ^{67}Cu のような放射性核種に関して、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、およびそれらの誘導体は、BFCとして選ばれる候補であろう。DOTAのような大環式キレーターがそれらの高度に前有機体化された(preorganazed)大環式リガンドフレームワークにより高度に安定な金属キレーターを形成することが知られている。KrejcarekおよびTucker (Biochem. Biophys. Res. Commun. 1976, 77, 581-588)は、タンパク質と連結可能な混合無水物により活性化DTPA類似体を開発した。後に、Hnatowich et al (Science 1983, 220, 613-616)は、同じ目的にDTPAの環式無水物を用いた。これら線状BFCは、種々の金属イオンと結合し、熱力学的に安定な金属キレートを形成する。しかしながら、線状BFCの金属キレートは、動力学的に不安定であり、これが金属キレートから放射性核種が失われるのに寄与し、しばしば重度の骨髄毒性をもたらす。Gansow et al (Bioconjugate Chem. 1991, 2, 187-194; Inorg. Chem. 1986, 25, 2772-2781)は、改良された溶解安定性を有する金属キレートを形成する一連の置換DTPA類似体を製造した。

40

50

【0010】

Mearesと共同研究者ら、熱力学的安定性が高く動力的に不活性な ^{67}Cu および ^{90}Y キレート形成する大環式BFCを最初に合成した(Anal. Biochem. 1985, 148, 249-253; Nucl. Med. Biol. 1986, 13, 311-318; J. Am. Chem. Soc. 1988, 110, 6266-6267)。三次元の空洞を持つ大環式キレート(chelant)は、金属キレートの高い安定性、ドナー原子の特定の空間的配置を強化するかまたは異なるドナー原子をリガンドバックボーンに導入することによるある種の金属イオンに対する実質的な選択性、および非キレート型の前有機体化構造を導入する能力により特に興味深い。非キレートリガンドの前有機体化の程度が高まると複合体の安定性が高まるであろう。

【0011】

レニウムは、2つの同位元素、 ^{186}Re および ^{188}Re を持ち、腫瘍療法において有益と思われる。 ^{186}Re は半減期が3.68日で、治療時の画像化を可能にする放射($E_{\text{max}}=1.07\text{MeV}$ 、91%アバundance)および光子($E=137\text{keV}$ 、9%アバundance)を生じる。 ^{188}Re は半減期が16.98hで、強い放射($E_{\text{max}}=2.12\text{MeV}$ 、85%アバundance)と155keVガンマ光子(15%アバundance)を生じる。関連化学、医学的应用、および直接および間接的方法により $^{186/188}\text{Re}$ で標識した抗体については最近概説された(Fritzberg, A. R. et al. Pharmaceutical Res. 1988, 5, 325-334; Griffiths, G. L. et al. Bioconjugate Chem. 1992, 3, 91-99; Dilworth, J. R.およびParrott, S. J. Chem. Soc. Rev. 1998, 27, 43-55)。レニウム化学が周期的(periodic)関係のためにテクネチウム化学と非常に類似しているため、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識抗体に用いる方法を $^{186/188}\text{Re}$ を用いるものに適用すべきである。

【0012】

放射線療法に最も適切な同位元素を確認するのはしばしば難しい仕事であり、種々の因子を検討する必要がある。これらには、放射性核種の腫瘍への取り込みと保持、血液クリアランス、放射線送達率、半減期、および比活性、ならびに経済的方法を用いる放射性核種の大規模生産の可能性が含まれる。治療用放射性医薬のキーポイントは、放射線量の必要な量を腫瘍細胞に送達し、管理できない副作用を生じずに、細胞障害もしくは殺腫瘍効果を達成することである。

【0013】

治療用放射性核種の物理的半減期は、腫瘍部位における標的的特異的放射性医薬の生物学的半減期と一致すべきである。放射性核種の半減期が短か過ぎると、放射性医薬が最大標的/バックグラウンド比に達する前に、多くの減衰が起きてしまうであろう。一方、長過ぎる半減期は、正常な組織に不必要な放射線量をもたらすであろう。理想的には、放射性核種には、最小線量率($>0.4\text{Gy/h}$)を達成し、細胞周期の最も放射線に感受性な期におけるすべての細胞を照射するのに十分な長さの半減期があるべきである。放射性核種の半減期は、放射性医薬の製造、放出、および輸送に十分な時間をもたらすように十分長くなければならない。

【0014】

腫瘍療法のためのある標的化生体分子のための放射性核種を選択する際の他の実際的な考察事項には利用可能性と品質が含まれる。微量の不純物が放射性医薬の放射性化合物の純度と放射性標識に影響を及ぼし得るため、純度は十分で、再現可能でなければならない。腫瘍の標的レセプター部位は、典型的には数が限られている。これは、選ばれた放射性核種が高い比活性を持っていることを必要とする。比活性は、主として放射性核種の製造方法と分離技術に依存する。微量の金属汚染物質は、BFCに対して放射性核種としばしば競合し、それらの金属複合体が放射性標識BFC-BMコンジュゲートと結合するレセプターに対して競合するので、最小限でなければならない。

【0015】

腫瘍療法に関して、およびエミッタの両方を検討した。粒子は、1または2細胞直径以内に多量のエネルギーを放散するため、特に良い細胞障害性物質である。大部分のエミッタは、有害な娘産物に減衰する重元素であり、それらの透過範囲は組織でわずか $50\mu\text{m}$ に限られる。該放射性医薬が腫瘍細胞に内在化される場合、透過距離の短い(short-

10

20

30

40

50

ranged)粒子エミッタがより魅力的である。オーガ電子エミッタは、細胞膜を横切り、核近傍に来ることができる場合に限り、非常に強力であることがわかっている。これは、新しい治療用金属放射性医薬の設計のためにさらなる課題を生む。粒子エミッタは、エネルギーレベルに応じて比較的長い透過範囲(組織で2-12mm)を有する。長い透過距離は、異種の血流および/またはレセプター発現を有する固形腫瘍にとって特に重要である。

粒子エミッタは、標的組織の中にたとえ不均一に分散しても、より均一な線量分布をもたらす。腫瘍サイズおよび位置に応じて、エミッタの選択は異なるかもしれない。例えば ^{153}Sm および ^{177}Lu のような中程度もしくは低エネルギーのエミッタはより小さな転移に良いが、 ^{90}Y のような高エネルギーエミッタは更に大きな腫瘍に用いられる。

【0016】

放射性標識法の選択は、標識する生体分子のタイプと研究目的によって決まる。 ^{90}Y 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、および ^{67}Cu を含む放射性核種のための種々の放射性標識技術が、いくつかの総説に記載されている(Parker, D. Chem. Soc. Rev. 1990, 19, 271-291; Liu, F. and Wu, C. Pure & Appl. Chem. 1991, 63, 427-463; Anderson, C. J. and Welch, M. J. Chem. Rev. 1999, 99, 2219-2234; Volkert, W. A. and Hoffman, T. J. Chem. Rev. 1999, 99, 2269-2292; Liu, S and Edwards, D. S. Bioconjugate Chem. 2001, 12, 7-34)。

【0017】

ランタニド放射性核種による生体分子の放射性標識に有用な2つの一般的なアプローチ、前標識(pre-labeling)アプローチと後標識(post-labeling)アプローチがある。後標識アプローチにおいて、BFCは最初に生体分子と直接もしくはリンカーを介して結合し、BFC-BMコンジュゲートが形成される。必要ならば、放射性標識は、弱いキレート試薬の存在下で緩衝溶液中の放射性金属塩化物とBFC-BMコンジュゲートの反応により簡単に達成することができる。DTPAがコンジュゲートした生体分子は、通常、非常に高い放射性標識効率(速く、高い効率で標識)を持っており、および室温およびpH5-7で10分間以内に容易に標識することができる。高い放射性標識効率は、DTPA類似体の線状キレーターバックボーンの柔軟性に起因し得る。しかしながら、DOTAがコンジュゲートした生体分子の放射性標識動力学は通常遅い。この場合、速い標識と、高い放射性標識収率を達成するにはより高いpHと高い温度が必要であることが多い。後標識アプローチは、キレート化段階に存在する厳しい放射性標識条件に対して敏感でない生体分子に有用である。加熱に対して敏感な生体分子には、前標識アプローチが最良の選択肢であろう。

【0018】

前標識アプローチには、BFCを用いる金属キレートの形成、およびトレーサレベルに関する個別の工程における生体分子へのM-BFCキレートのコンジュゲーションが含まれる。このアプローチにおいて、該化学はよく特徴づけられ、該生体分子はキレート化工程に用いられる厳しい条件にさらされない。研究目的には、このアプローチは、短期間に原理の証拠を示すのに非常に有益である。しかしながら、このアプローチは、日常的臨床使用には、あまりにも複雑で時間がかかる。該アプローチは高い放射能レベルで放射性標識分子のクロマトグラフィによる分離を包含するので、大規模生産にも実用的ではない。

【0019】

放射性標識時の反応混合物のpHは、放射性医薬の放射化学的純度の再現性を保証するため、緩衝剤を用いて制御されることが多い。緩衝剤の選択は、キレート化の最適pH値に依存する。酢酸アンモニウムは、DTPA-およびDOTAコンジュゲート生体分子の ^{90}Y -または ^{111}In -標識にしばしば用いられる。緩衝剤濃度は、通常0.1-0.5Mである。

【0020】

放出放射性核種を含む放射性医薬組成物は、放射性医薬組成物の製造、放出、輸送、および保存時に放射線分解を受けるかもしれない。放射線分解時の放射性核種からの放出は、複合体もしくは化合物または近接した他の化合物の成分を攻撃し、細胞間および細胞内分解をもたらす。放射線分解減衰は、放射性金属キレート、または生物学的に活性な標的化分子の分解または破壊を生じ得る。標的化生体分子と結合しない放射線は、非標的組織

10

20

30

40

50

に蓄積されるであろう。投与前または投与時の放射性医薬組成物の分解は、標的化可能性を顕著に減少させ、治療用放射性医薬組成物の毒性を増加する。このように、放射性核種と標的化部分との結合を保証し、標的化物質の特異性の維持を保証することは重要である。

【0021】

放射線分解は、水酸基およびスーパーオキシドラジカルのようなフリーラジカルの形成により生じる(Garrison, W. M. Chem. Rev. 1987, 87, 381-398)。フリーラジカルは、有機分子に対して非常に反応性である。有機分子に対するこれらフリーラジカルの反応性は、治療用放射性医薬組成物の溶液安定性に影響を与える主な因子である。治療用放射性医薬組成物の安定化は、標的特異的治療用放射性医薬の開発において繰り返される課題である。従って、放射性標識生体分子の放射線分解を最小限にするための安定化剤としてのラジカルスカベンジャーを用いることは非常に重要である。

10

【0022】

安定化剤は、水酸基およびスーパーオキシドラジカルと容易に反応する「ラジカルスカベンジング酸化防止剤」である。治療用放射性医薬組成物のための安定化剤は、以下の特性を有するべきである: ヒトへの投与に用いるときに毒性がないか低い、標的細胞または組織への放射性標識化合物の送達またはレセプター結合に干渉しない、および妥当な期間(例えば、治療用放射性医薬の製造、放出、保存、および輸送時)、治療用放射性医薬を安定化する能力。

【0023】

ゲンチシン酸およびアスコルビン酸のようなラジカルスカベンジャーは、 ^{99m}Tc (DeRoschら, W095/33757)、および $^{186/188}\text{Re}$ (Anticancer Res. 1997, 17, 1783-1796)放射性医薬の安定化に用いられてきた。米国特許5,393,512は、 ^{186}Re および ^{131}I 標識抗体または抗体フラグメントのための安定化剤としてアスコルビン酸の使用を開示している。ゲンチシン酸およびゲンチシルアルコールは、放射性標識ペプチドの安定化剤として米国特許5,384,113にも開示された。米国特許5,093,105および5,306,482は、 ^{99m}Tc 放射性医薬の酸化防止剤としてのp-アミノ安息香酸、ゲンチシン酸、およびアスコルビン酸の使用を開示している。米国特許5,961,955は、放射性標識ペプチド、特に抗体のような放射性標識タンパク質の分解を、PVP(ポリビニルピロリジノン)を放射線保護剤として含むことにより改善する方法も開示している。

20

30

【0024】

金属放射性医薬組成物は、通常、金属放射性医薬の製造、放出、および輸送時の放射性医薬組成物の放射線分解による分解を抑制するための安定化剤、および放射性金属コロイドの形成を抑制するためのBFC-BMコンジュゲート、pH制御のための緩衝剤、弱いキレート試薬を含む。該pHは、生体分子の ^{90}Y -または ^{111}In 標識の成功および再現性にとって重要である。反応混合物のpH制御(pH4.0-8.0)は0.1-0.5M酢酸アンモニウムを使うことによってしばしば達成される。生体分子の ^{90}Y 標識に酢酸アンモニウムを使用する目的は2つある:(1)放射性標識工程時のpH制御、(2)酢酸アンモニウムは、弱 ^{90}Y アセテートを形成し、 $[\text{}^{90}\text{Y}]$ コロイドの形成を抑制することによって Y^{3+} のトランスファーリガンドとして作用する。放射線安定化剤は、放射性標識の前(すなわち、標識前添加)または後(すなわち、標識添後加)に反応混合物に添加することができる。しかしながら、緩衝剤および安定化剤の組み合わせは、高モル浸透圧濃度の放射性医薬組成物を生じることが多い。

40

【0025】

アスコルビン酸は酸化防止剤として知られ、種々の医薬および放射性医薬組成物に使われてきた。琥珀酸およびアミノカルボキシレートのような他の緩衝剤と異なり、アスコルビン酸は、アミノ基やカルボキシル基を含まない。当業者は、アスコルビン酸を、 ^{90}Y または ^{111}In 標識生体分子を製造するためのトランスファーリガンドおよび緩衝剤として使用することを予期しないであろう。従って、アスコルビン酸およびその類似体が、(1)放射性標識時の反応溶液のpHを制御するための緩衝剤、(2)放射性金属コロイドの形成を抑制するためのトランスファーリガンド、および(3)放射性医薬組成物の製造、放出、およ

50

び輸送時の放射性医薬組成物の安定化剤として3つ全ての目的に役立つことは極めて重要で、驚くべき、予期しないことである。

【0026】

(発明の要約)

アスコルビン酸を緩衝剤として用いる利点はいくつかある。アスコルビン酸は、医薬および放射性医薬としての適用について承認されてきた。アスコルビン酸は、 $pK_a4.2$ であり、緩衝能は $pH3.0-5.0$ である。より高濃度($> 50mg/mL$ または $0.25M$)でも、アスコルビン酸は pH 範囲 $5.5-6.0$ で十分な緩衝能力があるかもしれない。アスコルビン酸は1つが $pH > 4.2$ で脱プロトン化可能な2つの水酸基を含むので、放射性金属コロイドの形成を抑制するためのトランスファーリガンドとして用いることもできる。アスコルビン酸の定化剤としての使用が種々の診断用および治療用放射性医薬組成物について開示されているが(例えば、Deusch, E. A.ら/米国特許5,384,113/1995; Vanderheyden, J.-L.ら/米国特許5,393,512/1995; Flanagan, R. J.およびTartaglia, D./米国特許5,093,105/1992; Tartaglia, D.およびFlanagan, R. J./米国特許5,306,482/1994; Shochat, D.ら/米国特許5,961,955/1999; およびZamora, P. O.およびMerek, M. J./米国特許6,066,309/2000参照)、緩衝剤および/またはトランスファーリガンドとしてのアスコルビン酸の使用については教示または開示されていない。

10

【0027】

放射性標識を $pH4-6$ のアスコルビン酸存在下で行うと、アスコルビン酸は、この pH 範囲で十分な緩衝能を有するので、反応溶液に酢酸アンモニウムのような緩衝剤を必要としない。その際、アスコルビン酸は、特に高濃度の、よく知られた血管拡張剤であるアンモニウムカチオンによる副作用の可能性を排除し、放射性医薬組成物のモル浸透圧濃度の劇的な低下を生じるであろう。

20

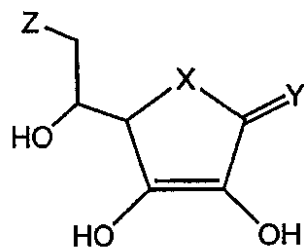
【0028】

(発明の詳細な説明)

[1]本発明のある態様では、式： $M-Ch-Ln-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および(1)放射線誘発性分解に対して式： $M-Ch-Ln-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートを安定化させ、そして(2)放射性医薬組成物の pH を制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

30

【化1】



(I)

40

[式中、XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は $O-5R^2$ で置換された (C_1-C_{10}) アルキル、 $O-5R^2$ で置換された (C_3-C_{10}) シクロアルキル、 $O-5R^2$ で置換された (C_2-C_{10}) アルケニル、および $O-5R^2$ で置換されたアリールから選ばれ、 R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、 OH 、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

の化合物または該医薬的に許容される塩を含む放射性医薬組成物を提供する。

【0029】

[2]本発明の別の態様では、該量が、(1)放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化

50

させ、(2)該放射性医薬のpHを制御するのに有効である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0030】

[3]本発明の別の態様では、該量が、(1)放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、(2)放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0031】

[4]本発明の別の態様では、該量が、(1)放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、(2)放射性医薬のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効な態様1の放射性医薬組成物を提供する。

10

【0032】

[5]本発明の別の態様では、Xが0である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0033】

[6]本発明の別の態様では、Yが0である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0034】

[7]本発明の別の態様では、Zが水酸基である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0035】

[8]本発明の別の態様では、mが1～約5である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0036】

[9]本発明の別の態様では、mが1または2である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

20

【0037】

[10]本発明の別の態様では、mが1である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0038】

[11]本発明の別の態様では、mが1～約5であり、Xが0であり、Yが0である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0039】

[12]本発明の別の態様では、mが1または2であり、Xが0であり、Yが0であり、Zが水酸基である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0040】

[13]本発明の別の態様では、mが1であり、Xが0であり、Yが0であり、およびZが水酸基である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

30

【0041】

[14]本発明の別の態様では、式(1)の化合物の濃度が約2mg/mL～約200mg/mLである態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0042】

[15]本発明の別の態様では、金属放射性同位元素が約10mCi～約2000mCiのレベルで存在する態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0043】

[16]本発明の別の態様では、金属放射性同位元素が約5mCi/mL以上の濃度で存在する態様1の放射性医薬組成物を提供する。

40

【0044】

[17]本発明の別の態様では、式： $M-Ch-Ln-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートが診断用放射性医薬である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0045】

[18]本発明の別の態様では、式： $M-Ch-Ln-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートが治療用放射性医薬である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0046】

[19]本発明の別の態様では、生体分子が抗体である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0047】

50

[20]本発明の別の態様では、生体分子が抗体フラグメントである態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0048】

[21]本発明の別の態様では、生体分子がペプチドである態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0049】

[22]本発明の別の態様では、生体分子がペプチド模倣物(peptidomimetic)である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0050】

[23]本発明の別の態様では、生体分子が非ペプチドである態様1の放射性医薬組成物を提供する。

10

【0051】

[24]本発明の別の態様では、生体分子が、環式IIb/IIIaレセプターアンタゴニスト、RGD含有ペプチド、フィブリノーゲンレセプターアンタゴニスト、IIb/IIIaレセプターリガンド、フィブリンの重合部位に対するリガンド、ラミニン誘導体、フィブリノーゲンに対するリガンド、トロンピンリガンド、IIIaタンパク質に対応するオリゴペプチド、ヒルジンベースのペプチド、IIb/IIIaレセプターリガンド、血栓、血小板結合もしくはアテローム斑結合ペプチド、フィブリン結合ペプチド、ヒルジンベースのペプチド、フィブリン結合タンパク質、IIb/IIIaレセプターと結合するグアニン誘導体、チロシン誘導体、白血球結合ペプチド、走化性ペプチド、白血球刺激物質、LTB4アンタゴニスト、ソマトスタチン類似体、セレクチン結合ペプチド、生物学的機能ドメイン、血小板因子4もしくは成長因子、血管形成(angiotogenic)腫瘍の脈管構造に発現するか、またはそれを上方調節する(upregulate)レセプターと結合する化合物、レセプター、VEGFレセプターFlk-1/KDR、Flt-1もしくはニューロピリン-1と高親和性に結合するペプチド、ポリペプチドもしくはペプチド模倣物、 α 3、 α 5、 α 1、 α 4、 α 1もしくは α 2と結合するペプチド、ポリペプチドもしくはペプチド模倣物、レセプターチロシンキナーゼと相互作用する化合物、組織、臓器、酵素もしくは体液のレセプターもしくは結合部位と結合するタンパク質、抗体、抗体フラグメント、ペプチド、ポリペプチドもしくはペプチド模倣物、アルツハイマー病患者に蓄積することがわかっているアミロイドタンパク質、心筋もしくは腎臓のレセプターと結合する心房性ナチュレティック(naturetic)因子由来ペプチド、梗塞組織の領域と結合する抗ミオシン抗体、またはin vivo低酸素領域に局在するニトロイミダゾール誘導体である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

20

30

【0052】

[25]本発明の別の態様では、キレーターが環式もしくは非環式ポリアミノカルボキシレート、ジアミンジチオール、トリアミドモノチオール、モノアミンモノアミドジチオール、モノアミンジアミドモノチオール、ジアミンジオキシム、またはヒドラジンである態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0053】

[26]本発明の別の態様では、キレーターが窒素、酸素、および硫黄から選ばれるドナー原子を有するテトラデンテートである態様1の放射性医薬組成物を提供する。

40

【0054】

[27]本発明の別の態様では、キレーターが、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、1,4,8,11-テトラアザズシクロテトラデカン-1,4,8,11-四酢酸(TETA)、1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7-三酢酸(D03A)、2-ベンジル-1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(2-Bz-DOTA)、(2-フェネチル)-1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1-アセチック-4,7,10-トリス(メチルアセチック)酸、2-ベンジル-シクロヘキシルジエチレントリアミン五酢酸、2-ベンジル-6-メチル-ジエチレントリアミン五酢酸、または6,6"-ビス[N,N,N",N"-テトラ(カルボキシメチル)アミノメチル]-4'-(3-アミノ-4-メトキシフェニル)-2,2':6',2"-テルピリジンである態様1の放射性医薬組成物を提供する。

50

[28]本発明の別の態様では、金属放射性同位元素が ^{177}Lu 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{203}Pb 、 ^{177}Lu 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd 、 ^{105}Rh 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{60}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{97}Ru 、または ^{212}Bi である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0055】

[29]本発明の別の態様では、金属放射性同位元素が $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{111}In 、 ^{203}Pb 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{149}Pm 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、 ^{47}Sc 、 ^{109}Pd 、 ^{105}Rh 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{60}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、または ^{67}Cu である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

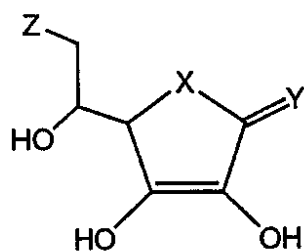
【0056】

[30]本発明の別の態様では、金属放射性同位元素が ^{111}In 、 ^{90}Y 、または ^{177}Lu である態様1の放射性医薬組成物を提供する。

【0057】

[31]本発明の別の態様では、式： $\text{M}-\text{Ch}-\text{Ln}-(\text{BM})_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および式(I)：

【化2】



(I)

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10であり、

XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は、0-5 R^2 で置換された(C_1-C_{10})アルキル、0-5 R^2 で置換された(C_3-C_{10})シクロアルキル、0-5 R^2 で置換された(C_2-C_{10})アルケニル、および0-5 R^2 で置換されたアリールから選ばれ、

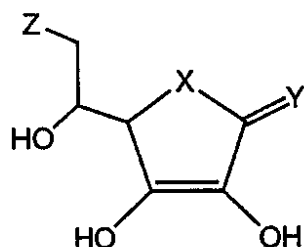
R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、OH、 CO_2H 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

の化合物またはその医薬的に許容される塩を含む放射性医薬組成物を提供する(ただし、放射性医薬組成物はさらなる緩衝剤またはさらなるキレート試薬を含まない。)

【0058】

[32]本発明の別の態様では、放射性医薬を、放射性医薬のpHを制御するのに有効な量の式(I)：

【化3】



(I)

10

[式中、XはO、NR¹、またはCHR¹であり、

Yは、OまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R¹は、0-5R²で置換された(C₁-C₁₀)アルキル、0-5R²で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル、0-5R²で置換された(C₂-C₁₀)アルケニル、および0-5R²で置換されたアリールから選ばれ、

R²は、それぞれ独立してNH₂、OH、CO₂H、C(=O)NH₂、NHC(=NH)NH₂、PO₃H₂、およびSO₃Hから選ばれる。]

の化合物と接触させることを含む該放射性医薬の緩衝方法を提供する。

20

【0059】

[33]本発明の別の態様では、該放射性医薬が式：M-Ch-Ln-(BM)_mの放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートである態様32の方法を提供する

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10である。]

【0060】

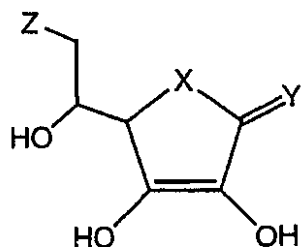
[34]本発明の別の態様では、緩衝剤が放射性医薬の製造、放出、保存、および輸送(少なくとも1つ)中の該放射性医薬のpHを制御する態様32の方法を提供する。

30

【0061】

[35]本発明の別の態様では、放射性医薬を、放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効な量の式(I)：

【化4】



(I)

40

[式中、XはO、NR¹、またはCHR¹であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R¹は、0-5R²で置換された(C₁-C₁₀)アルキル、0-5R²で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル、0-5R²で置換された(C₂-C₁₀)アルケニル、および0-5R²で置換されたアリールから選ばれ、

50

R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、 OH 、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

の化合物と接触させることを含む該放射性医薬のキレート化方法を提供する。

【0062】

[36]本発明の別の態様では、該放射性医薬が式： $M-Ch-Ln-(BM)_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートである態様35の方法を提供する

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10である。]

10

【0063】

[37]本発明の別の態様では、キレート試薬が放射性医薬の製造、放出、保存、および輸送(少なくとも1つ)中の放射性金属コロイドの形成を抑制する態様35の方法を提供する。

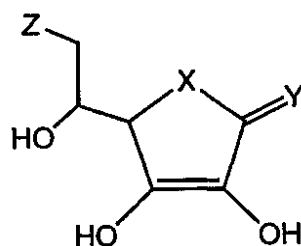
【0064】

[38]本発明の別の態様では、放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定させ、そして(1)放射性医薬のpHを制御し、(2)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)方法であって、

放射性医薬を、(1)放射線誘発性分解に対して放射性医薬を安定化させ、また、(2)放射性医薬のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

20

【化5】



(I)

30

[式中、XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は、 $O-5R^2$ で置換された(C_1-C_{10})アルキル、 $O-5R^2$ で置換された(C_3-C_{10})シクロアルキル、 $O-5R^2$ で置換された(C_2-C_{10})アルケニル、および $O-5R^2$ で置換されたアリールから選ばれ、

R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、 OH 、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

40

の化合物またはその医薬的に許容される塩と接触させることを含む方法を提供する。

【0065】

[39]本発明の別の態様では、該量が、(1)放射線誘発性分解に対して放射性医薬を安定化し、(2)該放射性医薬のpHを制御するのに有効である態様38の方法を提供する。

【0066】

[40]本発明の別の態様では、該量が、(1)放射線誘発性分解に対して放射性医薬を安定化し、(2)放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効である態様38の方法を提供する。

【0067】

[41]本発明の別の態様では、該量が、(1)放射線誘発性分解に対して放射性医薬を安定化し、(2)該放射性医薬のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制するのに有効で

50

ある態様38の方法を提供する。

【0068】

[42]本発明の別の態様では、該放射性医薬が式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートである態様38の方法を提供する

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10である。]

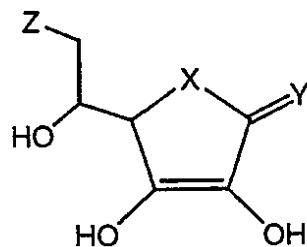
【0069】

[43]本発明の別の態様では、該量が、放射性医薬の製造、放出、保存、および輸送(少なくとも1つ)中の、放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、ならびに(2)放射性医薬組成物のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効である態様38の方法を提供する。

【0070】

[44]本発明の別の態様では、式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および(1)放射線誘発性分解に対して式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートを安定化させ、また、(2)放射性医薬組成物のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

【化6】



(I)

[式中、XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、

Yは、OまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は、 $O\text{-}5R^2$ で置換された $(C_1\text{-}C_{10})$ アルキル、 $O\text{-}5R^2$ で置換された $(C_3\text{-}C_{10})$ シクロアルキル、 $O\text{-}5R^2$ で置換された $(C_2\text{-}C_{10})$ アルケニル、および $O\text{-}5R^2$ で置換されたアリールから選ばれ、

R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、OH、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

の化合物または該医薬的に許容される塩を含む安定な放射性医薬組成物の製造方法を提供する。

【0071】

[45]本発明の別の態様では、予め決定された量の式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および(1)放射線誘発性分解に対して式： $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ の放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲートを安定化させ、また、(2)放射性医薬組成物のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

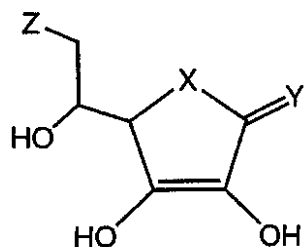
【化7】

10

20

30

40



(I)

10

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10であり、

XはO、NR¹、またはCHR¹であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R¹は、0-5R²で置換された(C₁-C₁₀)アルキル、0-5R²で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル、0-5R²で置換された(C₂-C₁₀)アルケニル、および0-5R²で置換されたアリールから選ばれ

20

、
R²は、それぞれ独立してNH₂、OH、CO₂H、C(=O)NH₂、NHC(=NH)NH₂、PO₃H₂、およびSO₃Hから選ばれる。]

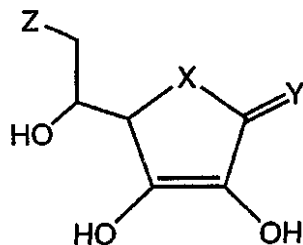
の化合物または該医薬的に許容される塩を含む密封バイアルを含むキットを提供する。

【0072】

[46]本発明の別の態様では、(a)予め決定された量の式：M-Ch-Ln-(BM)_mの放射性標識キレーター・生体分子コンジュゲート、および(1)放射線誘発性分解に対して該放射性医薬を安定化させ、また、(2)放射性医薬のpHを制御し、(3)放射性金属コロイドの形成を抑制する(少なくとも1つ)のに有効な量の式(I)：

【化8】

30



(I)

40

[式中、Mは金属放射性同位元素であり、

Chは金属キレーターであり、

Lnは所望の連結基であり、

BMは生体分子であり、

mは1～約10であり、

XはO、NR¹、またはCHR¹であり、

YはOまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R¹は、0-5R²で置換された(C₁-C₁₀)アルキル、0-5R²で置換された(C₃-C₁₀)シクロアルキル

50

、 $0-5R^2$ で置換された(C_2-C_{10})アルケニル、および $0-5R^2$ で置換されたアリールから選ばれ、
 R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、 OH 、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

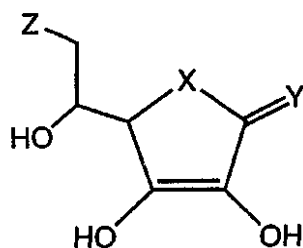
の化合物または該医薬的に許容される塩を含む第一バイアル、および

(a) 医薬的に許容される担体または希釈剤を含む第二バイアルを含むキットを提供する。

【0073】

[47] 本発明の別の態様では、式(I)：

【化9】



(I)

[式中、XはO、 NR^1 、または CHR^1 であり、

Yは、OまたはSであり、

Zは水酸基またはハロゲンであり、

R^1 は、 $0-5R^2$ で置換された(C_1-C_{10})アルキル、 $0-5R^2$ で置換された(C_3-C_{10})シクロアルキル、 $0-5R^2$ で置換された(C_2-C_{10})アルケニル、および $0-5R^2$ で置換されたアリールから選ばれ、

R^2 は、それぞれ独立して NH_2 、 OH 、 CO_2H 、 $C(=O)NH_2$ 、 $NHC(=NH)NH_2$ 、 PO_3H_2 、および SO_3H から選ばれる。]

の化合物または該医薬的に許容される塩を提供する。

【0074】

明確にするため、別の態様の文脈で述べた本発明のある特徴は1つの態様の組み合わせも提供するかも知れないことは十分理解される。逆に、簡潔さのため、1つの態様の文脈で述べた本発明の種々の特徴も、別々にかもしくはあらゆるサブコンビネーションで提供されるかも知れない。

【0075】

定義

本発明の放射性医薬組成物は、放射性同位元素 キレーター生体分子コンジュゲート、アスコルビン酸またはその類似体、および他の所望の医薬的賦形剤から成る。ガンマ線放出同位元素または陽電子放出同位元素から成る標的特異的放射性医薬は画像診断(造影)剤として有用である。ベータ粒子、アルファ粒子、またはオーガー電子放出同位元素から成る放射性医薬は、治療用放射性医薬として有用である。金属放射性同位元素は、直接、もしくはは所望によりリンカーを介して1またはそれ以上の生体分子と結合したBFCによってキレート化される。生体分子は、タンパク質、抗体、抗体フラグメント、一本鎖抗体、ポリペプチド、オリゴヌクレオチド、ペプチド、ペプチド模倣物、または非ペプチドである。好ましくは、生体分子は、10,000g/mol分子量以下のペプチド、ペプチド模倣物、および非ペプチドである。アスコルビン酸またはその類似体は3つの目的に役立つ。すなわち、それらは、放射性標識時のpH制御のための緩衝剤の役割、放射性金属コロイドの形成を抑制するためのキレート試薬の役割、そして放射性標識化合物の放射線誘発性分解からの保護をもたらす安定化剤の役割を果たす。画像診断または治療に有用なアルファ粒子、ベータ粒子、ガンマ線、陽電子、またはオーガー電子を放出する金属放射性同位元素には、 ^{99m}Tc

10

20

30

40

50

c、^{117m}Sn、¹¹¹In、⁹⁷Ru、²⁰³Pb、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、⁸⁹Zr、⁹⁰Y、¹⁷⁷Lu、¹⁴⁹Pm、¹⁵³Sm、¹⁶⁶Ho、²¹²Bi、⁴⁷Sc、¹⁰⁹Pd、¹⁰⁵Rh、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、⁶⁰Cu、⁶²Cu、⁶⁴Cu、および⁶⁷Cuが含まれる。

【0076】

金属放射性同位元素・キレーター生体分子(MBFC-BM)コンジュゲートの部分であるかもしれない好ましい生体分子の例には以下のものが含まれる。

【0077】

血栓塞栓性障害またはアテローム性動脈硬化症の診断のために、BMは、米国特許5,879,657に記載の環式IIb/IIIaレセプターアンタゴニスト化合物、米国特許4,578,079、4,792,525、PCT/US88/04403、PCT/US89/01742、PCT/US90/03788、PCTUS91/02356、およびOjima et al. 204th Meeting of the Amer. Chem. Soc. 1992、抄録44に記載のRGD含有ペプチド、ヨーロッパ特許出願90202015.5、90202030.4、90202032.2、90202032.0、90311148.2、90311151.6、90311537.6に記載のフィブリノーゲンレセプターアンタゴニストであるペプチド、PCTW093/23085のIIb/IIIaレセプターリガンド、フィブリンの重合部位のリガンド、ラミニン誘導体、フィブリノーゲンのリガンド、またはトロンピンリガンドとして記載の特異的結合ペプチドおよびポリペプチド(テクネチウム結合基を除く)、PCT/W090/00178に記載のIIIaタンパク質に対応するオリゴペプチド、PCT/W090/03391に記載のヒルジンベースのペプチド、PCT/W090/15818に記載のIIb/IIIaレセプターリガンド、PCT W092/13572(テクネチウム結合基を除く)またはGB9313965.7に記載の血栓、血小板結合、またはアテローム斑結合ペプチド、米国特許4,427,646および5,270,030に記載のフィブリン結合ペプチド、米国特許5,279,812に記載のヒルジンベースのペプチド、または米国特許5,217,705に記載のフィブリン結合タンパク質、米国特許5,086,069に記載のIIb/IIIaレセプター結合グアニン誘導体、またはヨーロッパ特許出願0478328A1およびHartman et. al., J. Med. Chem. 1992, 35,46-40に記載のチロシン誘導体、または酸化低密度リボタンパク質(LDL)を含む群から選ばれる。

【0078】

感染、炎症、または移植片拒絶の診断のためのBMは、PCTW093/17719(テクネチウム結合基を除く)、PCTW092/13572(テクネチウム結合基を除く)、または米国特許出願08-140000に記載の白血球結合ペプチド、欧州特許出願90108734.6、またはA. Fischman et. al., Semin. Nuc. Med., 1994,24,154に記載の走化性ペプチド、米国特許5,277,892に記載の白血球刺激物質、または同時係属のU.S.S.N.08/943,659に記載のLTB4アンタゴニストを含む群から選ばれる。

【0079】

癌診断用のBMは、英国特許出願8927255.3またはPCTW094/00489に記載のソマトスタチン類似体、PCTW094/05269に記載のセレクチン結合ペプチド、PCTW093/12819に記載の生物学的機能ドメイン、血小板因子4、または成長因子(PDGF、VEGF、EGF、FGF、TNF MCSF、またはインターロイキン11-8)の群から選ばれる。

【0080】

BMは、血管形成腫瘍脈管構造に発現するかまたはそれを上方調節するレセプターと結合する化合物であるかもしれない。VEGFレセプター、Flk1/KDR、Flt-1、およびニューロピリン-1を標的化するための標的化部分は、レセプターと高親和性に結合するペプチド、ポリペプチド、またはペプチド模倣物から成る。例えば、VEGFのVEGFRへの結合を競合的に阻害する、VEGFのC末端ドメインの23アミノ酸部分からなるペプチドが合成されている(Soke et. al., J. Biol. Chem., 1997, 272,31582-8)。塩基性FGFレセプター(bFGFR)と結合する11~23アミノ酸残基の線状ペプチドは、Cosic et. al., Mol. and Cell. Biochem., 1994,130,1-9に記載されている。bFGFRの好ましい線状ペプチドアンタゴニストは、16アミノ酸ペプチド、Met-Trp-Tyr-Arg-Pro-Asp-Leu-Asp-Glu-Arg-Lys-Gln-Gln-Lys-Arg-Gluである。Ghoら(Cancer Research, 1997,57,3733-40)は、内皮細胞表面のアンジオゲニンレセプターと高親和性に結合する小ペプチドの同定について記載している。好ましいペプチドは、Ala-Gln-Leu-Ala-Gly-Glu-Cys-Arg-Glu-Asn-Val-Cys-Met-Gly-Ile-Glu-Gly-Arg(

2つのCys残基が細胞内ジスルフィド結合を形成する)である。Yayon et.al.(Proc. Natl.A cad.Sci, USA, 1993,90,10643-7)は、ランダムファージ表現ペプチドライブラリから同定されたFGFRの他の線状ペプチドアンタゴニストについて記載している。2本の線状オクタペプチド、Ala-Pro-Ser-Gly-His-Tyr-Lys-GlyおよびLys-Arg-Thr-Gly-Gln-Tyr-Lys-Leuは、bFGFのそのレセプターとの結合を阻害するのに好ましい。

【0081】

腫瘍の脈管構造に発現したインテグリンに対する標的化部分は、v 3、v 5、5 1、4 1、1 1、および 2 2と結合するペプチド、ポリペプチド、およびペプチド模倣物を含む。PierschbacherおよびRouslahti(J. Biol. Chem. 1987,262,17294-17298)は、5 1および v 3と選択的に結合するペプチドについて記載している。U.S. 5,536,814は、インテグリン 5 1と高親和性に結合するペプチドについて記載している。BurgessおよびLim (J. Med. Chem. 1996,39, 4520-4526)は、v 3: シクロ[Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-Asp]、シクロ[Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-D-Asp]、および線状ペプチドArg-Gly-Asp-Arg-Gly-Aspと高親和性に結合する3つのペプチドの合成法を開示している。U.S. 5,770,565およびU.S. 5,766,591は、v 3と高親和性に結合するペプチドを開示している。U.S. 5,767,071およびU.S. 5,780,426は、v 3と高い親和性を持つ環外Argアミノ酸を有する環式ペプチドを開示している。Srivatsaら(Cardiovascular Res. 1997,36,408-428)は、v 3、シクロ[Ala-Arg-Gly-Asp-Mamb]の環式ペプチドアンタゴニストについて記載している。Tranら(Bioorg. Med. Chem. Lett. 1997,7,997-1002)は、avB3と高親和性に結合する環式ペプチドシクロ[Arg-Gly-Asp-Val-Gly-Ser-BTD-Ser-Gly-Val-Ala]を開示している。Arapら(Science 1998,279,377-380)は、v 3および v 5、Cys-Asp-Cys-Arg-Gly-Asp-Cys-Phe-Cysおよびシクロ[Cys-Asn-Gly-Asp-Cys]と結合する環式ペプチドについて記載している。Corbettら(Bioorg. Med. Chem. Lett. 1997,7,1371-1376)は、一連の v 3選択的ペプチド模倣物について記載している。そしてHaubnerら(Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1997,36,1374-1389)は、ペプチドライブラリから得たペプチドおよびペプチド模倣物の v 3アンタゴニストについて開示している。

【0082】

腫瘍の脈管構造のための別の標的化部分には、レセプターチロシンキナーゼと相互作用する化合物が含まれる。レセプターチロシンキナーゼ(TK)は、細胞を横切る細胞分裂誘起シグナルの核への伝達に重要な役割を果たす膜タンパク質である(Rewcastle, G. W. et al J. Med. Chem. 1995, 38, 3482-3487; Thompson, A. M. et al J. Med. Chem. 1997,40,3915-3925)。同定され、特徴付けられた多くのTKのうち、上皮増殖因子レセプター(EGFR)ファミリーのものは特に重要で、種々の異所性細胞増殖過程に関与していた。ヒトEGFレセプターの過剰発現は、数種のヒト腫瘍で大幅に増幅され(Fry, D. W. Exp. Opin. Invest. Drugs 1994,3,577-595; Jardines, L. et al Pathobiology 1993,61,268-282)、これはそのタンパク質標的の過剰リン酸化を伴った。発癌TKタンパク質による基質チロシン残基のこのリン酸化の増加は、悪性形質転換に必須の段階である。したがって、抗癌剤としてTKs(TKIs)インヒビターを開発することは大きな重要性がある(Burke, T. R. Jr. Drugs Future 1992 17, 119-131; Chang, C. J.およびGeahlen, R. J. Nat. Prod. 1992,55,1529-1560)。腫瘍細胞におけるEGFレセプターの過剰発現は、TKレセプターリガンド(チロシンキナーゼインヒビター)上にキレーターおよび放射性核種を結合することにより診断用および治療用放射性医薬を開発するための基礎も供給する。

【0083】

BMは、他の組織、臓器、酵素または体液上のレセプターまたは結合部位と結合するタンパク質、抗体、抗体フラグメント、ペプチド、ポリペプチド、またはペプチド模倣物も表すかもしれない。例には、アルツハイマー病患者に蓄積していることが示された アミロイドタンパク質、心筋および腎臓レセプターと結合する心房性ナチュレティック因子誘導ペプチド、梗塞組織の領域と結合する抗ミオシン抗体、またはin vivo低酸素領域に局在するニトロイミダゾール誘導体が含まれる。

【0084】

連結基 L_n は、いくつかの役割を果たし得る。第一に、該連結基は、金属キレート $M-C_h$ が生体分子と該生物学的標的との相互作用に干渉する可能性を最小限にするように、金属キレーター C_h と1またはそれ以上の生体分子BMの間のスペーシング基を供給する。連結基を試薬に組み込むことの必要性は、BMおよび $M-C_h$ の同一性に依存している。金属キレート $M-C_h$ がその生物学的標的との親和性を実質的に減少させずにBMと結合することができない場合に連結基を用いる。連結基は、 $M-C_h$ と結合するある基に複数の生体分子を独立して結合させる手段も提供する。

【0085】

連結基は、薬物動態調節物質を本発明の医薬に組み込む方法を提供する。薬物動態調節物質は、生体分子BMと生物学的標的との相互作用による以外の注射した医薬の生体分布を導くのに役立つ。多種多様な官能基は、制限されるものではないが、炭水化物、ポリアルキレングリコール、ペプチドもしくは他のポリアミノ酸、およびシクロデクストリンを含む薬物動態調節物質として役立つことができる。該調節物質は、親水性を増大または低下させ、そして血液クリアランス速度を増加または低下させるのに用いることができる。該調節物質は、医薬の除去経路を導くのに用いることができる。

10

【0086】

金属キレーターもしくは結合部分 C_h は、特定の適用のために選ばれた金属イオンと安定な複合体を形成するために選択される。診断用放射性医薬のためのキレーターもしくは結合部分は、画像化可能なガンマ線または陽電子放出を持つ放射性同位元素と安定なキレートを形成するために選択される。

20

【0087】

テクネチウムおよびレニウム同位元素用のキレーターは、ジアミンジチオール、トリアミドモノチオール、モノアミンモノアミドジチオール、モノアミンジアミドモノチオール、ジアミンジオキシム、およびヒドラジンから選択される。該キレーターは、一般に窒素、酸素、および硫黄から選ばれるドナー原子を持つテトラデンテートである。好ましい試薬は、アミン窒素およびチオール硫黄ドナー原子を有するキレーターおよびヒドラジン結合ユニットからなる。チオール硫黄原子およびヒドラジンは、該放射性医薬を合成するために試薬を用いる前に、もしくは好ましくは放射性医薬の合成時にin situで置換することができる保護基を持っていてよい。

【0088】

チオール保護基の具体例には、GreeneおよびWuts、「Protective Groups in Organic Synthesis」、John Wiley & Sons, New York (1991)、(この内容は本明細書の一部を構成する)に記載のものが含まれる。当該分野で知られているあらゆるチオール保護基を用いることができる。チオール保護基の例には、制限されるものではないが、以下のものが含まれる：アセトアミドメチル、ベンズアミドメチル、1-エトキシエチル、ベンゾイル、およびトリフェニルメチル。

30

【0089】

ヒドラジン結合ユニットのための保護基の具体例には、水素、アルキル、アリール、および複素環から選ばれる置換基を有するアルデヒドまたはケトンヒドラゾンであり得るヒドラゾンである。特に好ましいヒドラゾンは、同時係属のU.S.S.N. 08/476,296に記載されている(この内容は本明細書の一部を構成する)。

40

【0090】

金属放射性核種と結合すると、ヒドラジン結合ユニットはヒドラジドまたはジアゼニド基と称され、放射性核種の放射性医薬の残存部分への結合点として役立つ。ジアゼニド基は、末端(該基の1原子のみが放射性核種に結合している)かキレート化のいずれかであり得る。キレート化ジアゼニド基を持つため、該基の少なくとも1個の他の原子は、放射性核種にも結合しなければならない。金属と結合した原子はドナー原子と称される。

【0091】

^{111}In 、 ^{86}Y 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{89}Zr 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、および ^{67}Cu を含む放射性核種のキレート化用のキレーターは、ポリアミノカルボキシレート、例えば、ジエチレントリアミン五酢酸

50

(DTPA)、1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、1,4,8,11-テトラアザズシクロテトラデカン-1,4,8,11-四酢酸(TETA)、1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-三酢酸(D03A)、2-ベンジル-1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(2-Bz-DOTA)、(2-フェネチル)-1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1-アセチック-4,7,10-トリス(メチルアセチック)酸、2-ベンジルシクロヘキシルジエチレントリアミン五酢酸、2-ベンジル-6-メチル-ジエチレントリアミン五酢酸、および6,6"-ビス[N,N,N",N"-テトラ(カルボキシメチル)アミノメチル]-4'-(3-アミノ-4-メトキシフェニル)-2,2':6',2"-テルピリジンから選ばれる。市販品を利用できないこれらキレーターの合成方法は、Brechbiel, M.およびGansow, O., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1992,1,1175; Brechbiel, M.およびGansow, O., Bioconjugate Chem. 1991, 2,187; Deshpande, S., et. al., J. Nucl. Med. 1990,31, 473; Kruper, J., 米国特許5,064,956、およびToner, J., 米国特許4,859,777に開示されている(これらの内容は本明細書の一部を構成する)。

10

20

30

40

50

【0092】

治療用放射性医薬のためのキレーターもしくは結合部分は、アルファ粒子、ベータ粒子、オーガー、またはCoster-Kronig電子放出を持つ放射性同位元素を用いて安定な複合体を形成するために選択される。レニウム、銅、パラジウム、プラチナ、イリジウム、ロジウム、銀、および金同位元素のためのキレーターは、ジアミンジチオール、モノアミンモノアミドジチオール、トリアミドモノチオール、モノアミンジアミドモノチオール、ジアミンジオキシム、およびヒドラジンから選ばれる。イットリウム、ビスマス、およびランタニド同位元素のためのキレーターは、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)、1,4,8,11-テトラアザズシクロテトラデカン-1,4,8,11-四酢酸(TETA)、1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-三酢酸(D03A)、2-ベンジル-1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(2-Bz-DOTA)、(2-フェネチル)-1,4,7,10-テトラアザズシクロドデカン-1-アセチック-4,7,10-トリス(メチルアセチック)酸、2-ベンジルシクロヘキシルジエチレントリアミン五酢酸、2-ベンジル-6-メチル-ジエチレントリアミン五酢酸、および6,6"-ビス[N,N,N",N"-テトラ(カルボキシメチル)アミノメチル]-4'-(3-アミノ-4-メトキシフェニル)-2,2':6',2"-テルピリジンを含む環式および非環式ポリアミノカルボキシレートから選ばれる。

【0093】

放射性医薬の完全性は、ITLC、より好ましくはHPLCを用いる放射性標識化合物の放射化学的純度(RCP)により測定される。HPLCを用いる利点は、放射線分解的な分解によって生じる放射性不純物を最適クロマトグラフィ条件下で放射性医薬から分離することができることである。本発明の放射性医薬組成物の長期にわたる改良された安定性は、代表的な時点で得たサンプル中の放射性標識化合物のRCPの変化を測定することによって示すことができる。本発明の放射性医薬組成物は、標識後5日間まで凍結し、解凍し、再試験したサンプルの長期の安定性を保つのに効果的である。

【0094】

該放射性医薬の最初のRCPIは、主に、放射性標識条件、例えばpH、加熱時間、および時間に依存している。いったん、放射性医薬を高収量で製造すると、放射性医薬組成物を安定させる酸化防止剤の能力は、ある期間のRCP変化で評価される。

【0095】

治療用放射性医薬組成物は、放出および輸送時の大きな放射線分解を避けるため低温度で保存するのが好ましい。放出および輸送時の治療用放射性医薬組成物に用いる安定化剤の量および保存温度は、放射線分解による分解に対する特定放射性標識化合物の感受性に従って調整することができよう。

【0096】

アスコルビン酸はビタミンCとして知られており、^{99m}Tcおよび^{186/188}Re放射性医薬(W095/33757; Anticancer Res. 1997,17,1783-1796、米国特許5,093,105、および米国特許5,306,482)、または放射性標識ペプチド(米国特許5,393,512、米国特許5,384,113、および米

国特許5,961,955)の放射線分解による分解を防止するのに一般的に用いられる酸化防止剤である。アスコルビン酸は、生物学的目的に用いられる医薬組成物および他の製剤にしばしば使用される容易に利用可能なGRAS(一般に安全であると認識された)物質であり、最終製剤に200mg/mLもの高濃度で用いることができよう。本発明に開示の放射性医薬組成物にアスコルビン酸またはその類似体を用いる主な利点には以下のものが含まれる。(1)該放射性医薬は、高収率(>90%)で製造することができる。(2)放射性金属コロイドの形成は最小限である(<1%)。(3)放射性医薬組成物は、放射性医薬のRCPを維持しながら(>90%)数日間保存することができる。

【0097】

本明細書に記載の化合物は不斉中心を持つかもしれない。不斉置換原子を含む本発明の化合物は、光学活性形もしくはラセミ形で単離されるかもしれない。例えば、ラセミ形の分割もしくは光学活性出発物質からの合成による光学活性形の製造方法は当該分野でよく知られている。オレフィン、C=N二重結合などの多くの幾何異性体は、本明細書に記載の化合物中にも存在し得、全てのそのような安定な異性体は、本発明において予期される。本発明の化合物のシス(cis)およびトランス(trans)幾何異性体が記載されており、異性体混合物としてもしくは分離した異性体形として単離することができる。特定の立体化学や異性体形を具体的に示さない限り、全てのキラル形、ジアステレオマー形、ラセミ形、および全ての幾何異性体形の構造が意図される。本発明の化合物および中間体を製造するのに用いるすべての方法は本発明の一部であると考えられる。

10

【0098】

本明細書で用いている用語「置換(された)」は、所定の原子上の1またはそれ以上のあらゆる水素を示した基から選んで置き換えることを意味する(但し、所定の原子の正常な原子価を越えず、該置換が安定な化合物を生じる)。置換基がケト(すなわち=O)である時、原子上の2個の水素が置換される。ケト置換基は、芳香族部分には存在しない。環系(例えば、炭素環式もしくは複素環式)がカルボニル基または二重結合で置換されているというときは、カルボニル基または二重結合が環の部分である(すなわち、その中にある)ことを意図する。

20

【0099】

本発明は、本発明化合物において発生する原子の全ての同位元素を含むことを意図している。同位元素は、原子番号が同じで、異なる質量数を持つものを含む。一般的例として、限定されるものではないが、水素の同位元素はトリチウムおよび重水素を含む。炭素の同位元素は、C-13およびC-14を含む。

30

【0100】

あらゆる変数(例えばR⁵)は化合物のあらゆる成分または式に1回以上出現する場合、それぞれの出現におけるその定義は、他の全ての出現におけるその定義と独立している。このように、例えばある基がO-2R⁵で置換されていると示されているとすると、該基は所望により2個までのR⁵基で置換されていてよく、それぞれ出現するR⁵は、R⁹の定義とは独立して選択される。また、置換および/または変数の組み合わせは、そのような組み合わせが安定な化合物を生じる場合にのみ許される。

【0101】

置換基との結合が環の2つの原子を関連付ける結合を横切るとき、そのような置換基は、環上のあらゆる原子と結合してよい。置換基が、置換基がそれにより特定の式の化合物の残りの部分と結合している原子を示すことなく列挙されているとき、該置換基は、そのような置換基中のあらゆる原子を介して結合することができよう。置換基および/または変数の組み合わせは、そのような組み合わせが安定な化合物を生じる場合にのみ許される。

40

【0102】

本明細書で用いているように「アルキル」は、特定数の炭素原子を有する分岐鎖および直鎖飽和脂肪族炭化水素基の両方を含むことを意図している。アルキルの例には、限定されるものではないが、メチル、エチル、n プロピル、i プロピル、n ブチル、s ブチル

50

、t-ブチル、n-ペンチル、およびs-ペンチルが含まれる。「シクロアルキル」は、飽和環基、例えばシクロプロピル、シクロブチル、またはシクロペンチルを含むことを意図している。「アルケニル」は、直鎖または分岐鎖構造の炭化水素鎖、およびエテニルおよびプロペニルのような鎖に沿ったあらゆる安定な点で生じ得る1またはそれ以上の不飽和炭素-炭素結合を含むことを意図している。

【0103】

本明細書で用いている「ハロ」または「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、ブロモ、およびヨードを表し、また「対イオン」を用いて小さな負に荷電した種、例えば塩素、臭素、ヒドロキシド、アセテート、およびサルフェートを表す。

【0104】

本明細書で用いているように「炭素環」または「炭素環式残基」は、あらゆる安定な3~7員の単環式または二環式、または7~13員の二環式もしくは三環式を表すことを意図し、そのあらゆるものが置換されているか、所望により非置換であるか、または芳香族であってよい。そのような炭素環の例には、限定されるものではないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、アダマンチル、シクロオクタール、[3.3.0]ビシクロオクタン、[4.3.0]ビシクロノナン、[4.4.0]ビシクロデカン、[2.2.2]ビシクロオクタン、フルオレニル、フェニル、ナフチル、インダニル、アダマンチル、およびテトラヒドロナフチルが含まれる。

【0105】

本明細書で用いているように、用語「複素環」または「複素環式系」は、飽和、部分的に不飽和、もしくは不飽和(芳香族)の、炭素原子およびN、O、およびSからなる群から独立して選ばれる1~4個の異種原子からなる、あらゆる先に定義した複素環がベンゼン環と融合しているあらゆる二環式基を含む、安定な5~7員の単環式もしくは二環式もしくは7~10員の二環式複素環を意味することを意図する。窒素および硫黄異種原子は所望により酸化されていてよい。複素環は、安定な構造を生じるあらゆる異種原子または炭素原子でその側基と結合してよい。得られた化合物が安定であれば、本明細書に記載の複素環は炭素もしくは窒素原子上で置換されていてよい。複素環中の窒素は所望により四級化されていてよい。複素環中のSおよびO原子の総数が1を越えるときは、これら異種原子は互いに隣り合っていないことが好ましい。複素環中のSおよびO原子の総数が1以下であることが好ましい。本明細書で用いているように、用語「芳香族複素環式系」または「ヘテロアリール」は、炭素原子、およびN、O、およびSからなる群から独立して選ばれる1~4個の異種原子からなる、安定な5~7員の単環式もしくは二環式、または7~10員の二環式複素環式芳香族環を意味する。芳香族複素環中のSおよびO原子の総数は1以下であることが好ましい。

【0106】

複素環の例には、限定されるものではないが、アクリジニル、アゾシニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフラニル、ベンゾチオフェニル、ベンゾキザゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾテトラゾリル、ベンゾイソキサゾリル、ベンゾイソチアゾリル、ベンゾイミダゾリニル、カルバゾリル、4aH-カルバゾリル、カルボリニル、クロマニル、クロメニル、シンノリニル、デカヒドロキノリニル、2H,6H-15,2-ジチアジニル、ジヒドロフロ[2,3-b]テトラヒドロフラン、フラニル、フラザニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリル、1H-インダゾリル、インドレニル、インドリニル、インドリジニル、インドリル、3H-インドリル、イソベンゾフラニル、イソクロマニル、イソインダゾリル、イソインドリニル、イソインドリル、イソキノリニル、イソチアゾリル、イソキサゾリル、メチレンジオキシフェニル、モルホリニル、ナフチリジニル、オクタヒドロイソキノリニル、オキサジアゾリル、1,2,3-オキサジアゾリル、1,2,4-オキサジアゾリル、1,2,5-オキサジアゾリル、1,3,4-オキサジアゾリル、オキサゾリジニル、オキサゾリル、オキサゾリジニル、ピリミジニル、フェナントリジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサチイニル、フェノキサジニル、フタラジニル、ピペラジニル、ピペリジニル、プテリジニル、プリニル、ピラニル、ピラジニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリル、ピリダジニル、ピリドオキサ

10

20

30

40

50

ゾール、ピリドイミダゾール、ピリドチアゾール、ピリジニル、ピリジル、ピリミジニル、ピロリジニル、ピロリジニル、ピロリニル、2H-ピロリル、ピロリル、キナゾリニル、キノリニル、4H-キノリジニル、キノキサリニル、キヌクリジニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロイソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、6H-1,2,5-チアジアジニル、1,2,3-チアジアゾリル、1,2,4-チアジアゾリル、1,2,5-チアジアゾリル、1,3,4-チアジアゾリル、チアントレニル、チアゾリル、チエニル、チエノチアゾリル、チエノオキサゾリル、チエノイミダゾリル、チオフェニル、トリアジニル、1,2,3-トリアゾリル、1,2,4-トリアゾリル、1,2,5-トリアゾリル、1,3,4-トリアゾリル、およびキサントレニルが含まれる。好ましい複素環には、限定されるものではないが、ピリジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、ピロリジニル、イミダゾリル、インドリル、ベンゾイミダゾリル、1H-インダゾリル、オキサゾリジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾイソキサゾリル、オキソインドリル、ベンゾキサゾリニル、およびイサチノイルが含まれる。例えば上記複素環を含む融合環およびスピロ化合物も含まれる。

10

【0107】

本明細書で用いている用語「アミノ酸」は、塩基性アミノ基および酸性カルボキシル基の両方を含む有機化合物を意味する。この用語には、天然のアミノ酸(例えば、L-アミノ酸)、修飾された異常なアミノ酸(例えば、D-アミノ酸)、および生物学的に遊離形または結合形で生じることが知られているが、通常、タンパク質には生じないアミノ酸が含まれる。この用語には、例えば、RobertsおよびVellaccio (1983) The Peptides, 5: 342-429に開示しているような修飾された異常なアミノ酸が含まれる(この内容は本明細書の一部を構成する)。天然のタンパク質を生じるアミノ酸には、限定されるものではないが、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、セリン、トレオニン、チロシン、チロシン、トリプトファン、プロリン、およびバリンが含まれる。天然の非タンパク質アミノ酸には、限定されるものではないが、アルギノコハク酸、シトルリン、システインスルフィン酸、3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン、ホモシステイン、ホモセリン、オルニチン、3-モノヨードチロシン、3,5-ジヨードトリオシン、3,5,5'-トリヨードチロニン、および3,3',5,5'-テトラヨードチロニンが含まれる。本発明を実施するのに用いることができる修飾または異常なアミノ酸には、限定されるものではないが、D-アミノ酸、ヒドロキシリジン、4-ヒドロキシプロリン、N-Cbz-保護アミノ酸、2,4-ジアミノ酪酸、ホモアルギニン、ノルロイシン、N-メチルアミノ酪酸、ナフチルアラニン、フェニルグリシン、-フェニルプロリン、tert-ロイシン、4-アミノシクロヘキシルアラニン、N-メチル-ノルロイシン、3,4-デヒドロプロリン、N、N-ジメチルアミノグリシン、N-メチルアミノグリシン、4-アミノピペリジン-4-カルボン酸、6-アミノカプロン酸、trans-4-(アミノメチル)シクロヘキサンカルボン酸、2-、3-、および4-(アミノメチル)安息香酸、1-アミノシクロペンタンカルボン酸、1-アミノシクロプロパンカルボン酸、および2-ベンジル-5-アミノペンタン酸が含まれる。

20

30

【0108】

本明細書で用いている用語「ペプチド」は、ペプチド結合によって連結される2またはそれ以上のアミノ酸(本明細書に定義したような)からなる線状化合物を意味する。本発明に用いられる「ペプチド」は、分子量10,000ダルトン以下の、好ましくは5,000ダルトン以下の、より好ましくは2,500ダルトン以下の部分を表すことを意図している。用語「ペプチド」には、ペプチドと非ペプチド成分、例えば擬似ペプチドまたはペプチド模倣物残基もしくは他の非アミノ酸成分、の両方を含む化合物も含まれる。ペプチドと非ペプチド成分の両方を含むそのような化合物は、「ペプチド類似体」とも言われるかもしれない。

40

【0109】

「擬似ペプチド」または「ペプチド模倣物」は、例えば、ペプチド類似体とアミノ酸残基のアミド結合以外の連結基(擬似ペプチド結合)を用いるか、そして/または非アミノ酸置換基および/または修飾アミノ酸残基を用いることによりアミノ酸残基もしくはペプチドの構造がよく似た化合物である。「擬似ペプチド残基」はペプチド中に存在する擬似ペ

50

チドまたはペプチド模倣物の部分を意味する。

【0110】

用語「ペプチド結合」は、あるアミノ酸のカルボキシル基と第2アミノ酸のアミノ基の間の水分子の損失によって形成された共有アミド結合を意味する。

【0111】

用語「擬似ペプチド結合」には、正常なアミド結合の代わりにもしくは代替物として用いてよいペプチド結合同配体が含まれる。これら代替物またはアミド「等価」結合は、アミド結合の空間的要件とよく似た、分子を酵素分解に対して安定化させる、ペプチドまたはタンパク質中に通常みられない原子の組み合わせから形成される。

【0112】

用語「非ペプチド」は、バックボーンコア化合物、または好ましくは3個以下のアミノ酸またはアミノ酸模倣物中に3個以下のアミド結合を含む化合物を表す。

【0113】

それらの化合物を表すために本明細書で用いている用語「医薬的に許容される」は、堅実な医学的判断の範囲内で過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症なしにヒトまたは動物の組織と接触する使用に適した、妥当な利益/リスク比に見合ったそれら化合物、物質、組成物、および/または剤形を表す。

【0114】

本明細書で用いているように「医薬的に許容される塩」は、親化合物がその酸または塩基塩を作ることにより修飾される開示した化合物の誘導体を表す。医薬的に許容される塩の例には、限定されるものではないが、アミンのような塩基性残基の無機酸塩もしくは有機酸塩、およびカルボン酸のような酸性残基のアルカリ塩または有機塩が含まれる。医薬的に許容される塩には、通常は無毒性塩、または例えば無毒性の無機酸もしくは有機酸から形成された親化合物の第4アンモニウム塩が含まれる。例えば、そのような通常は無毒性塩には、無機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、スルファミン酸、リン酸、および硝酸から誘導されるもの、および有機酸、例えば酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、ステアリン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、パモン酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、スルファニル酸、2-アセトキシ安息香酸、フマル酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンジスルホン酸、シュウ酸、およびイセチオン酸が含まれる。

【0115】

本発明の医薬的に許容される塩は、常套的な化学的方法により塩基性または酸性部分を含む親化合物から合成することができる。一般に、そのような塩は、これら化合物の遊離酸または塩基形を、水もしくは有機溶媒(一般に、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルのような非水性媒質が好ましい)中、またはその2つの混合物中の、化学量論的量の適切な塩基または酸と反応させることにより製造することができる。適当な塩のリストは、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418に記載されている(この内容は本明細書の一部を構成する)。

【0116】

「安定な化合物」および「安定な構造」は、反応混合物から有益な程度の純度で単離し、また有効な治療剤に製剤化するのに耐えるように十分に強い化合物を意味する。

【0117】

放射性医薬の製造に有用な診断キットを製造するのに有用な凍結乾燥補助剤には、限定されるものではないが、マンニトール、乳糖、ソルビトール、デキストラン、フィコール、およびポリビニルピロリドン(PVP)が含まれる。

【0118】

放射性医薬の製造、および該放射性医薬の製造に有用な診断キットの製造に有用な可溶性補助剤には、限定されるものではないが、エタノール、グリセリン、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ソルビタ

10

20

30

40

50

ンモノオレエート、ポリソルベート、ポリ(オキシエチレン)ポリ(オキシプロピレン)ポリ(オキシエチレン)ブロック共重合体(Pluronic)、およびレシチンが含まれる。好ましい可溶化補助剤は、ポリエチレングリコールおよびPluronicである。

【0119】

放射性医薬の製造、および該放射性医薬の製造に有用な診断キットの製造に有用な静菌剤には、限定されるものではないが、ベンジルアルコール、塩化ザルコニウム、クロルブタノール、およびメチル、プロピルおよびブチルパラベンが含まれる。

【0120】

(実験)

放射性医薬の完全性は、ITLC、より好ましくはHPLCを用いる放射性標識化合物の放射化学的純度(RCP)で測定される。HPLCを用いる利点は、放射線分解による分解によって生じた放射性不純物を最適なクロマトグラフィ条件下で放射性医薬から分離することができることである。本発明の放射性医薬組成物の長期にわたる安定性の改良は、代表的な時点で得たサンプル中の放射性標識化合物のRCPの変化を測定することにより証明することができる。本発明の放射性医薬組成物は、5日間の定期的に凍結、解凍、および再試験したサンプルの長期安定性を維持するのに有効である。

10

【0121】

該放射性医薬の最初のRCPは、pH、加熱温度、および時間といった放射性標識条件に大きく依存する。放射性医薬が高収率で製造されると、一定期間にわたる放射性医薬のRCP変化により放射性医薬組成物の安定性を測定する。

20

【0122】

材料 酢酸(超純粋)、水酸化アンモニウム(超純粋)、アスコルビン酸(ナトリウム塩)、およびゲンチシン酸ナトリウムは、AldrichまたはSigma Chemical Co.から購入し、入手したまま使用した。 $^{90}\text{YCl}_3$ および $^{111}\text{InCl}_3$ (0.05N HCl中)は、NEN(登録商標)、N. Billerica、MAから購入した。高比活性の $^{177}\text{LuCl}_3$ は、University of Missouri Research Reactor, Columbia, MOから得た。

【0123】

分析的方法 HPLC方法1は、UV/可視検出器($\lambda=220\text{nm}$)、IN US無線検波器、およびZorbax C_{18} カラム(4.6mm x 250mm、ポアサイズ80 \AA)を用いるHP-1100 HPLC系を用いた。流速は1mL/minとし、92%溶媒A(0.025M酢酸アンモニウム緩衝液、pH6.8)および8%溶媒B(アセトニトリル)で出発し、90%溶媒Aおよび8%溶媒Bまでの移動相で18分流し、次いで40%溶媒Aおよび60%溶媒Bを用いて19~25分間定組成(isocratic)洗浄した。

30

【0124】

HPLC方法2は、UV/可視検出器($\lambda=220\text{nm}$)、IN US無線検波器、およびZorbax C_{18} カラム(4.6mm x 250mm、ポアサイズ80 \AA)を用いるHP-1100 HPLC系を用いた。流速は1mL/minとし、92%溶媒A(0.025M酢酸アンモニウム緩衝液、pH6.8)および8%溶媒B(アセトニトリル)で出発し、80%溶媒Aおよび20%溶媒Bまでの移動相で18分流し、次いで40%溶媒Aおよび60%溶媒Bを用いて19~25分間定組成洗浄した。

【0125】

HPLC方法3は、UV/可視検出器($\lambda=220\text{nm}$)、IN US無線検波器、およびZorbax C_{18} カラム(4.6mm x 250mm、ポアサイズ80 \AA)を用いるHP-1100 HPLC系を用いた。流速は1mL/minとし、92%溶媒A(0.025M酢酸アンモニウム緩衝液、pH6.8)および8%溶媒B(アセトニトリル)の定組成移動相で25分流し、次いで40%溶媒Aおよび60%溶媒Bを用いて26~30分間定組成洗浄した。

40

【0126】

ITLC方法は、逆相 C_{18} TLCプレート、および溶離剤としてメタノール、アセトンおよび生理食塩水の混合物(2:1:1=v:v:v)を用いた。この方法により、 $[\text{}^{90}\text{Y}]/[\text{}^{177}\text{Lu}]$ コロイドおよび $[\text{}^{90}\text{Y}]/[\text{}^{177}\text{Lu}]$ アセテートは起点に留まるが、放射性標識化合物は溶媒前方に移動する。

【0127】

実施例1

50

アスコルビン酸 (AA、0.1Mまたは20mg/mL、pH=7.35)を、緩衝剤、トランスファーリガンド、および放射線分解安定化剤として用いる⁹⁰Y-(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロ酢酸塩(20mCi)の製造。

(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-{2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロ酢酸塩を、米国特許出願09/456,300に記載のごとく製造し、次いで0.1Mアスコルビン酸緩衝液(pH7.35)に濃度100μg/mLとなるように溶解した。得られた溶液をさらに1-2分間、真空下で速やかに脱気した。清浄密封5mLバイアルに、(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-{2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)-プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテート、100μgを含む0.1Mアスコルビン酸(ナトリウム塩)緩衝液(pH7.35) 1.0mLを加えた。該溶液を再び真空下で脱気した。0.05N HCl中の⁹⁰YCl₃溶液(20.5mCi) ~10μLを加え、反応混合物を、95℃で5分間加熱した。室温に冷却後、得られた溶液のサンプルをゲンチシン酸ナトリウム(10mg/mL)を含む生理食塩水で50倍に希釈し、次いでHPLC(方法1、注入容量=5μL)で分析した。RCPは99.3%であった。保持時間は、14.7分であった。TLC(逆相C₁₈TLC)は[⁹⁰Y]コロイドおよび[⁹⁰Y]アセテートの不純物が最小限(0.38%)であることを示した。

10

20

30

40

【0128】

このことは、pH制御および[⁹⁰Y]コロイドの形成を抑制する弱トランスファーリガンド用の緩衝剤としてアスコルビン酸を使い、⁹⁰Y-(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテートを高収率および放射化学的純度で製造することができることを明らかに示している。この結果に基づいて、アスコルビン酸を、pH制御のための緩衝剤、[⁹⁰Y]コロイドの形成を抑制するためのトランスファーリガンド、および⁹⁰Y-(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテートの溶液安定性のための安定化剤として用いる際の最適放射性標識条件をみいだすために放射性標識実験を計画した。実験計画では4因子を考慮した。これには、pH値(5、6、および7)、加熱時間(5分間および35分間)、アスコルビン酸ナトリウムレベル(20mgおよび100mg)、および温度(50および95℃)が含まれる。各条件は2本のバイアルを含む。各バイアルの活性レベルは~10mCiであった。各バイアルからの反応混合物は、HPLCおよび逆相C₁₈TLCで特徴づけた。

【0129】

放射性標識の結果に基づいて、(1)加熱温度が95℃である限り、AAレベルはRCPに有意な影響を与えず、(2)pHはpH=5-7でRCPにほとんど影響を示さず、(3)より長い加熱時間は95℃で僅かに良いRCPをもたらし、(4)加熱温度は、RCPに対する最も支配的な因子であることは明らかである。

【0130】

50

実施例2

アスコルビン酸 (AA、0.1Mまたは20mg/mL、pH=5.0)を、緩衝剤、トランスファーリガンド、および放射線分解安定化剤として用いる-(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテート(100mCi)の製造および溶液安定性。

(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-{2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテートを、米国特許出願09/456,300に記載のごとく製造し、次いで0.1MAA緩衝液(pH5.0)に濃度100 μ g/mLとなるように溶解した。得られた溶液をさらに1-2分間、真空下で速やかに脱気した。清浄密封5mLバイアルに、(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-{2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)-プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテート500 μ gを含む0.1MAA緩衝液(pH5.0) 5.0mLを加えた。該溶液を再び真空下で脱気した。0.05N HCl中の $^{90}\text{YCl}_3$ 溶液(101.5mCi) ~ 75 μ Lを加え、反応混合物を、95 $^{\circ}\text{C}$ で30分間加熱した。室温に冷却後、得られた溶液のサンプルをゲンチシン酸ナトリウム(10mg/mL)を含む生理食塩水で50倍に希釈し、次いでHPLC(方法1、注入容量=5 μ L)で分析した。次いで、得られる混合物を5日間ドライアイスボックス(-78 $^{\circ}\text{C}$)に保持した。サンプルを、t=0(RCP=98.5%)、24h(RCP=98.4%)、68h(RCP=98.0%)、および120h(RCP=98.8%)で分析した。保持時間は14.8分であった。

【0131】

この実験は、以下の条件下(100mg AA、pH=5を含むAA溶液5mL中の ^{90}Y 100mCiにつき、(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテート 500 μ g、95 $^{\circ}\text{C}$ で30分間加熱)で、 ^{90}Y -(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテートを高PCR(>98%)で容易に製造でき、少なくとも5日間(RPC>96%)安定であることを明確に示した。アスコルビン酸は、 ^{90}Y 標識生体分子の日常的製造および安定化のための、緩衝剤、トランスファーリガンド、および放射線分解安定化剤として用いることができる。

【0132】

実施例3

緩衝剤、トランスファーリガンド、および放射線分解安定化剤としてアスコルビン酸(AA、0.1Mまたは20mg/mL)を用いる ^{111}In -(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロドデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)}カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテート(2.8mCi)の製造および溶液安定性。

10

20

30

40

50

(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-{2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル))-カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテートを、米国特許出願09/456,300に記載のごとく製造し、次いで0.1Mアスコルビン酸緩衝液(pH6.0)に濃度100 µg/mLとなるように溶解した。得られた溶液をさらに1-2分間、真空下で速やかに脱気した。清浄密封5mLバイアルに、(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-{2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)-プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル))-カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテート150 µgを含む0.1Mアスコルビン酸緩衝液(pH6.0) 2.0mLを加えた。該溶液を再び真空下で脱気した。0.05N HCl中の¹¹¹InCl₃溶液(2.8mCi) ~7 µLを加え、反応混合物を、100 °で5分間加熱した。室温に冷却後、得られた溶液のサンプルをHPLC(方法3、注入容量=10 µL)で分析した。次いで、得られる混合物を24時間温室に保持した。サンプルを、t=0(RCP=98.2%)および24h(RCP=98.6%)で分析した。保持時間は11.7分であった。

10

20

30

40

50

【0133】

このことは、アスコルビン酸を緩衝剤、トランスファーリガンド、および放射性分解安定化剤に用いて¹¹¹In-(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-{2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル))カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテートを高収率で製造することができるであろうことを明確に示した。¹¹¹In-(2S)-2-[(2,6-ジメチル-4-[3-(N-{2-[3-スルホ-2-(3-スルホ-2-{2-[1,4,7,10-テトラアザ-4,7,10-トリス(カルボキシメチル)シクロデシル]アセチルアミノ}プロピル)プロピル]エチル}カルバモイル)プロポキシ]フェニル}スルホニル)アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル))カルボニルアミノ)プロパン酸 トリフルオロアセテートは、溶液中で少なくとも24時間安定である。アスコルビン酸は、¹¹¹In標識生体分子の日常的製造および安定化のための、緩衝剤、トランスファーリガンド、および放射線分解安定化剤として用いることができる。

【0134】

実施例4

アスコルビン酸(AA、20mg/mL、または0.1M)を緩衝剤、トランスファーリガンド、および放射線分解安定化剤として用いる¹⁷⁷Lu-DOTA/(2S)-2-[(4-{3-[N-(2-{2-[(4S)-4-(N-{1-[N-(2-{4-[4({[(1S)-1-カルボキシ-2-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル))-カルボニルアミノ)エチル]アミノ}スルホニル)-3,5-ジメチルフェノキシ]ブタノイルアミノ}エチル)カルバモイル]-2-スルホエチル}カルバモイル)-4-アミノブタノイルアミノ]-3-スルホプロピル}エチル)カルバモイル]プロポキシ}-2,6-ジメチルフェニル)スルホニル]アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル))カルボニルアミノ)プロパン酸コンジュゲートビス(トリフルオロアセテート)の調製および溶液安定性。

清浄密封5mLバイアルに、米国特許出願09/456,300に開示のごとく製造したDOTA/(2S)-2-[(4-{3-[N-(2-{2-[(4S)-4-(N-{1-[N-(2-{4-[4({[(1S)-1-カルボキシ-2-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル))-カルボニルアミノ)エチル]アミノ}スルホニル)-3,5-ジメチルフェノキシ]ブタノイルアミノ}エチル)カルバモイル]-2-スルホエチル}カルバモイル)-4-アミノブタノイルアミノ]-3-スルホプロピル}エチル)カルバモイル]プロポキシ}-2,6-ジメチルフェニル)スルホニル]アミノ]-3-({7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル))-カルボニル

アミノ)プロパン酸コンジュゲート ビス(トリフルオロアセテート) 137 μ gを含む0.1Mアスコルビン酸緩衝液(pH6.0) 2.0mLを加えた。該溶液を減圧下で再度脱気した。0.05N HCl中の $^{177}\text{LuCl}_3$ 溶液($\sim 17\text{mCi}$) $\sim 6\mu\text{L}$ を加え、反応混合物を95 $^\circ\text{C}$ で45分間加熱した。室温に冷却後、得られた溶液のサンプルを、HPLC(方法2、注入容量=2 μL)および逆相 C_{18} TLCで分析した。放射化学的純度は0hで94.9%、標識後24hで95%であった。TLCは、起点で ^{177}Lu コロイドおよび ^{177}Lu アセテート不純物が最小限であることを示した(TLCで $\sim 1.2\%$)。

【 0 1 3 5 】

アスコルビン酸を緩衝剤、トランスファーリガンド、および放射線分解安定化剤に用い、 ^{177}Lu -DOTA/(2S)-2- $\{[(4-\{3-[N-(2-\{2-[(4S)-4-(N-\{1-[N-(2-\{4-[4(\{[(1S)-1\text{-カルボキシ-2-}(\{7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)\}-カルボニルアミノ)エチル]アミノ\}スルホニル)-3,5-ジメチルフェノキシ]ブタノイルアミノ\}エチル)カルバモイル]-2-スルホエチル\}カルバモイル)-4-アミノブタノイルアミノ]-3-スルホプロピル\}エチル)カルバモイル]プロポキシ}-2,6-ジメチルフェニル)スルホニル]アミノ\}-3-(\{7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)\}カルボニルアミノ)プロパン酸コンジュゲート ビス(トリフルオロアセテート)を高収率で製造できたことは明らかである。 ^{177}Lu -DOTA/(2S)-2- $\{[(4-\{3-[N-(2-\{2-[(4S)-4-(N-\{1-[N-(2-\{4-[4(\{[(1S)-1\text{-カルボキシ-2-}(\{7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)\}-カルボニルアミノ)エチル]アミノ\}スルホニル)-3,5-ジメチルフェノキシ]ブタノイルアミノ\}エチル)カルバモイル]-2-スルホエチル\}カルバモイル)-4-アミノブタノイルアミノ]-3-スルホプロピル\}エチル)カルバモイル]プロポキシ}-2,6-ジメチルフェニル)スルホニル]アミノ\}-3-(\{7-[(イミダゾール-2-イルアミノ)メチル]-1-メチル-4-オキソ(3-ヒドロキノリル)\}カルボニルアミノ)プロパン酸コンジュゲート ビス(トリフルオロアセテート)は溶液中で少なくとも24時間安定である。アスコルビン酸は、 ^{177}Lu 標識生体分子の日常的製造および安定化のための、緩衝剤、トランス$$

10

20

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
6 September 2002 (06.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/067859 A2

- (51) International Patent Classification: A61K (81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) International Application Number: PCT/US02/05155 (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (22) International Filing Date: 22 February 2002 (22.02.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/271,589 26 February 2001 (26.02.2001) US
- (71) Applicant: BRISTOL-MYERS SQUIBB PHARMA COMPANY [US/US]; Patent Department, P.O. Box 4000, Princeton, NJ 08543-4000 (US).
- (72) Inventor: LIU, Shuang; 17 Judith Road, Chelmsford, MA 01824 (US).
- (74) Agents: DOLAN, Peter, L. et al.; Patent Department, P.O. Box 4000, Princeton, NJ 08543-4000 (US).
- Published:
without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/067859 A2

(54) Title: ASCORBIC ACID ANALOGS FOR METALLORADIOPHARMACEUTICALS

(57) Abstract: The invention relates to the use of ascorbic acid analogs as buffering reagents and chelating agents for the preparation of metalloradiopharmaceuticals. Also, invention relates to the use of ascorbic acid as a buffering reagent, a chelating agent, and a stabilizer for the preparation and stabilization of radiopharmaceuticals and processes for making and using the same.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

TITLE

ASCORBIC ACID ANALOGS FOR METALLORADIOPHARMACEUTICALS

5 FIELD OF THE INVENTION

 This invention is related to the use of ascorbic acid analogs as buffering reagents and chelating agents for the preparation of metalloradiopharmaceuticals.

10 This invention is particularly related to the use of ascorbic acid as a buffering reagent, a chelating agent, and a stabilizer for the preparation and stabilization of radiopharmaceuticals. This invention is also related to processes of making stable radiopharmaceutical

15 compositions using ascorbic acid analogs as buffering agents, chelating agents, and stabilizers.

BACKGROUND

 Radiopharmaceuticals are drugs containing a radionuclide. Radiopharmaceuticals are used routinely in nuclear medicine for the diagnosis or therapy of various diseases. They are typically small organic or inorganic compounds with a definite composition. They can also be macromolecules, such as antibodies or

20 antibody fragments, that are not stoichiometrically labeled with a radionuclide. Radiopharmaceuticals form the chemical basis for the diagnosis and therapy of various diseases. The in vivo diagnostic information is obtained by intravenous injection of the

25 radiopharmaceutical and determining its biodistribution using a gamma camera. The biodistribution of the radiopharmaceutical depends on the physical and chemical

30

WO 02/067859

PCT/US02/05155

properties of the radiolabeled compound and can be used to obtain information about the presence, progression, and state of disease.

Radiopharmaceuticals can be divided into two primary classes: those whose biodistribution is determined exclusively by their chemical and physical properties; and those whose ultimate distribution is determined by their receptor binding or other biological interactions. The latter class is often called target-specific radiopharmaceuticals.

Metalloradiopharmaceuticals include a metallic radionuclide. A target-specific metalloradiopharmaceutical can be divided into four parts: a targeting molecule, a linker, a bifunctional Chelator (BFC), and a metallic radionuclide. The targeting molecule serves as a vehicle, which carries the radionuclide to the receptor site at the diseased tissue. The targeting molecules can be macromolecules such as antibodies or small biomolecules (BM), including peptides, peptidomimetics, and non-peptides. The choice of biomolecule depends upon the targeted disease or disease state. The radionuclide is the radiation source. The selection of metallic radionuclide depends on the intended medical use (e.g., diagnostic or therapeutic) of the target specific metalloradiopharmaceutical. The BFC is covalently attached to the targeting molecule either directly or through a linker and binds strongly to the metallic radionuclide via several coordination bonds. Selection of a BFC is largely determined by the nature and oxidation state of the metallic radionuclide. The linker can be a simple hydrocarbon chain or a long poly(ethylene glycol) (PEG) or a "naïve" poly anionic or cationic peptide sequence, which is often used for modification of pharmacokinetics. Sometimes, a

WO 02/067859

PCT/US02/05155

metabolizeable linker is used to increase the blood clearance and to reduce the background activity, thereby improving the target-to-background ratio.

The use of metallic radionuclides offers many opportunities for designing new radiopharmaceuticals by modifying the coordination environment around the metal with a variety of chelators. The coordination chemistry of the metallic radionuclide will determine the geometry of the metal chelate and the solution stability of the radiopharmaceutical. Different metallic radionuclides have different coordination chemistries, and require BFCs with different donor atoms and chelator frameworks. For "metal essential" radiopharmaceuticals, the biodistribution is exclusively determined by the physical properties of the metal chelate. For target-specific radiopharmaceuticals, the "metal tag" may have significant impact on the target uptake and biodistribution of the radiopharmaceutical. This is especially true for metalloradiopharmaceuticals based on small molecules since in many cases the metal chelate contributes greatly to the overall size and molecular weight. Therefore, the design and selection of the BFC is very important for the development of a new diagnostic or therapeutic radiopharmaceutical.

25 Metallic radionuclides, such as ^{99m}Tc , ^{117m}Sn , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , and ^{64}Cu , have been proposed for diagnostic imaging. Nearly 80% of radiopharmaceuticals used in nuclear medicine are ^{99m}Tc -labeled compounds. The reason for such a preeminent position of ^{99m}Tc in clinical use is its favorable physical and nuclear characteristics. The 6 h half-life is long enough to allow a radiochemist to carry out radiopharmaceutical synthesis and for nuclear medicine practitioners to collect useful images. At the same time, it is short enough to permit administration of millicurie amounts of

WO 02/067859

PCT/US02/05155

^{99m}Tc radioactivity without significant radiation dose to the patient. The monochromatic 140 KeV photons are readily collimated to give images of superior spatial resolution. Furthermore, ^{99m}Tc is readily available from commercial ⁹⁹Mo-^{99m}Tc generators at low cost.

For ^{99m}Tc-labeling of biomolecules, bifunctional chelators include N₂S₂ diaminedithiols, N₂S₂ diaminedithiols, N₂S₂ monoamidemonoamidedithiols, N₂S₂ aminediamidedithiols, N₃S triamidedithiols, and HYNIC, which forms various ternary ligand systems when used in combination with tricine/water soluble phosphines, or tricine/pyridine analogs or tricine/substituted imine-N containing heterocycles. These ternary ligand systems have been disclosed in U.S. Patent No. 5,744,120; U.S. Patent No. 6,010,679; U.S. Patent No. 5,879,659; and PCT Patent Application WO 98/53858. Various ^{99m}Tc-labeling techniques have been described in several reviews (Liu, S. and Edwards, D. S. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2235-2268; Jurisson, S. and Lydon, J. D. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2205-2218; Liu et al. *Bioconjugate Chem.* **1997**, 8, 621-636). After radiolabeling, the resulting reaction mixture may optionally be purified using one or more chromatographic methods, such as Sep-Pack or high performance liquid chromatography (HPLC). The preferred radiolabeling procedures are those in which the chelation can be achieved without post-labeling purification.

Metallic radionuclides, including ⁹⁰Y, ¹⁷⁷Lu, ¹⁴⁹Pm, ¹⁵³Sm, ¹⁶⁶Ho, ²¹¹At, ⁴⁷Sc, ¹⁰³Pd, ¹⁰⁵Rh, ^{186/188}Re, and ⁶⁷Cu, are potentially useful for radiotherapy. Among these radionuclides, lanthanide radioisotopes are of particular interest. There are several lanthanide isotopes to choose, including low energy β -emitter ¹⁷⁷Lu, medium energy β -emitters, ¹⁴⁹Pm and ¹⁵³Sm, and high-energy β -emitters, ¹⁶⁶Ho and ⁹⁰Y. Yttrium and lanthanide metals

WO 02/067859

PCT/US02/05155

share similar coordination chemistry. The chelator technology and their coordination chemistry are well developed and well understood.

For radionuclides, such as ^{90}Y , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{62}Cu , ^{64}Cu and ^{67}Cu , diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA), tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetracetic acid (DOTA) and their derivatives would be the candidates of choice as BFCs. The macrocyclic chelators such as DOTA are known to form highly stable metal chelates due to their highly preorganized macrocyclic ligand framework. Krejcarek and Tucker (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1976**, 77, 581-588) developed an activated DTPA analog via a mixed anhydride, which can be linked to proteins. Later, Hnatowich et al (*Science* **1983**, 220, 613-616) used the cyclic anhydride of DTPA for the same purpose. These linear BFCs bond to various metal ions and form thermodynamically stable metal chelates. However, metal chelates of linear BFCs are kinetically labile, which contributes to the loss of radionuclide from the metal chelate and often leads to severe bone marrow toxicity. Gansow et al (*Bioconjugate Chem.* **1991**, 2, 187-194; *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 2772-2781) prepared a series of substituted DTPA analogs, which form metal chelates with improved solution stability.

Meares and coworkers were the first to synthesize macrocyclic BFCs (*Anal. Biochem.* **1985**, 148, 249-253; *Nucl. Med. Biol.* **1986**, 13, 311-318; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 6266-6267), which form ^{67}Cu and ^{90}Y chelates with high thermodynamic stability and kinetic inertness. Macrocyclic chelants with three-dimensional cavities are of particular interest because of the high stability of the metal chelates, the substantial selectivity for certain metal ions, either by enforcing a specific spatial arrangement of donor atoms or by introducing

WO 02/067859

PCT/US02/05155

different donor atoms into the ligand backbone, and their capability to adopt a preorganized conformation in the unchelated form. The higher the degree of preorganization of an unchelated ligand, the more stable the complex will be.

Rhenium has two isotopes, ^{186}Re and ^{188}Re , which might be useful in tumor therapy. ^{186}Re has a half-life of 3.68 days with β -emission ($E_{\text{max}} = 1.07$ MeV, 91% abundance) and a gamma-photon ($E = 137$ keV, 9% abundance) which should allow imaging during therapy. ^{188}Re has a half-life of 16.98 h with an intense β -emission ($E_{\text{max}} = 2.12$ MeV, 85% abundance) and 155 keV gamma photons (15% abundance). The related chemistry, medical applications, and antibody labeling with $^{186/188}\text{Re}$ by direct and indirect methods have recently been reviewed (Fritzberg, A. R. et al. *Pharmaceutical Res.* **1988**, 5, 325-334; Griffiths, G. L. et al. *Bioconjugate Chem.* **1992**, 3, 91-99; Dilworth, J. R. and Parrott, S. *J. Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 43-55). Since the rhenium chemistry is very similar to technetium chemistry due to the periodic relationship, the methods used for antibody labeling with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ should apply to that with $^{186/188}\text{Re}$.

Identifying the most appropriate isotope for radiotherapy is often a difficult task and requires weighing a variety of factors. These include tumor uptake and retention, blood clearance, rate of radiation delivery, half-life and specific activity of the radionuclide, and the feasibility of large-scale production of the radionuclide in an economical fashion. The key point for a therapeutic radiopharmaceutical is to deliver the requisite amount of radiation dose to the tumor cells and to achieve a cytotoxic or tumoricidal effect while not causing unmanageable side-effects.

The physical half-life of the therapeutic radionuclide should match the biological half-life of

WO 02/067859

PCT/US02/05155

the target-specific radiopharmaceutical at the tumor site. If the half-life of the radionuclide is too short, much of the decay will have occurred before the radiopharmaceutical has reached maximum
5 target/background ratio. On the other hand, too long a half-life would cause unnecessary radiation dose to normal tissues. Ideally, the radionuclide should have a long enough half-life to attain a minimum dose rate (> 0.4 Gy/h) and to irradiate all the cells during the most
10 radiation sensitive phases of the cell cycle. The half-life of a radionuclide has to be long enough to allow adequate time for manufacturing, release, and transportation of the radiopharmaceutical.

Other practical considerations in selecting a
15 radionuclide for a given targeting biomolecule for tumor therapy include availability and quality. The purity has to be sufficient and reproducible, as trace amounts of impurities can affect the radiolabeling and the radiochemical purity of the radiopharmaceutical. The
20 target receptor sites in tumors are typically limited in number. This requires that the chosen radionuclide have high specific activity. The specific activity depends primarily on the method of production and separation technique of the radionuclide. Trace metal contaminants
25 must be minimized as they often compete with the radionuclide for the BFC and their metal complexes compete for receptor binding with the radiolabeled BFC-EM conjugate.

For tumor therapy, both α and β -emitters have been
30 investigated. Alpha particles are particularly good cytotoxic agents because they dissipate a large amount of energy within one or two cell diameters. Most α -emitters are heavy elements that decay to hazardous daughter products and their penetration range is limited
35 to only 50 μm in tissue. The short-ranged particle

WO 02/067859

PCT/US02/05155

emitters are more attractive if the radiopharmaceutical is internalized into tumor cells. Auger electron emitters are shown to be very potent but only if they can cross the cell membrane and come into close proximity with the nucleus. This creates extra challenges for the design of new therapeutic metalloradiopharmaceuticals. The β -particle emitters have relatively long penetration range (2 - 12 mm in the tissue) depending upon the energy level. The long-range penetration is particularly important for solid tumors that have heterogeneous blood flow and/or receptor expression. The β -particle emitters yield a more homogeneous dose distribution even when they are heterogeneously distributed within the target tissue. Depending on the tumor size and location, the choice of the β -emitter may be different. For example, medium or low energy β -emitters such as ^{153}Sm and ^{177}Lu are better for smaller metastases while high-energy β -emitters such as ^{90}Y are used for larger tumors.

The choice of radiolabeling approach depends on the type of biomolecules to be labeled and the purpose of the study. Various radiolabeling techniques for radionuclides, including ^{90}Y , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{62}Cu , ^{64}Cu and ^{67}Cu , have been described in several reviews (Parker, D. *Chem. Soc. Rev.* **1990**, *19*, 271-291; Liu, F. and Wu, C. *Pure & Appl. Chem.* **1991**, *63*, 427-463; Anderson, C. J. and Welch, M. J. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2219-2234; Volkert, W. A. and Hoffman, T. J. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2269-2292; Liu, S and Edwards, D. S. *Bioconjugate Chem.* **2001**, *12*, 7-34).

There are two general approaches, the pre-labeling approach and the post-labeling approach, useful for the radioabeling of biomolecules with lanthanide radionuclides. In the post-labeling approach, a BFC is first attached to the biomolecule either directly or via

WO 02/067859

PCT/US02/05155

a linker to form the BFC-BM conjugate. The radiolabeling can be accomplished simply by the reaction of the BFC-BM conjugate with the radiometal chloride in a buffer solution in the presence of weak chelating agent, if necessary. DTPA-conjugated biomolecules usually have very high radiolabeling efficiency (fast and high yield labeling), and can be readily labeled within 10 min at room temperature and pH 5 - 7. The high radiolabeling efficiency can be attributed to the flexibility of the linear chelator backbone of DTPA analogs. However, the radiolabeling kinetics of DOTA-conjugated biomolecules is usually slow. In this case, higher pH and elevated temperatures are often needed to achieve fast labeling and high radiolabeling yield. The post-labeling approach is useful for biomolecules that are not sensitive to the harsh radiolabeling conditions present in the chelation step. For biomolecules, which are sensitive to heating, the pre-labeling approach might be the best alternative.

The pre-labeling approach involves formation of the metal chelate with a BFC, and conjugation of the M-BFC chelate to a biomolecule in a separate step on the tracer level. In this approach, the chemistry is well defined, and the biomolecule is not exposed to the harsh conditions used in the chelation step. For research purposes, this approach is very useful to demonstrate the proof of principle in a short period of time. However, this approach is too complex and time consuming for routine clinical use. It is also not practical for large-scale production, since it involves chromatographic separations of radiolabeled molecules at high levels of radioactivity.

During radiolabeling, the pH of the reaction mixture is often controlled with a buffering agent to assure the reproducibility for the radiochemical purity

WO 02/067859

PCT/US02/05155

of the radiopharmaceutical. The choice of a buffering agent depends upon the optimum pH value for chelation. Ammonium acetate is often used for the ^{90}Y - or ^{111}In -labeling of DTPA- and DOTA-conjugated biomolecules. The
5 buffer concentration is normally 0.1 - 0.5 M.

A radiopharmaceutical composition including β -emitting radionuclides may undergo radiolysis during the preparation, release, transportation, and storage of the radiopharmaceutical composition. During radiolysis,
10 emissions from the radionuclide attack other constituents of the complex or compound, or other compounds in proximity, which results in inter- and intramolecular decomposition. Radiolytic decay can result in decomposition or destruction of the radiometal
15 chelate or the biologically active targeting molecule. Radioactivity that is not linked to the targeting biomolecule will accumulate in non-targeting tissues. Decomposition of the radiopharmaceutical composition prior to or during administration dramatically decreases
20 the targeting potential and thus increases the toxicity of the therapeutic radiopharmaceutical composition. Thus, it is important to ensure that the radionuclide is linked to the targeting moiety and to ensure that specificity of the targeting agent is preserved.

Radiolysis is caused by the formation of free radicals such as hydroxyl and superoxide radicals (Garrison, W. M. *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 381-398). Free radicals are very reactive towards organic molecules. The reactivity of these free radical towards organic
30 molecules is a major factor influencing the solution stability of a therapeutic radiopharmaceutical composition. Stabilization of the therapeutic radiopharmaceutical composition is a recurrent challenge in the development of target-specific therapeutic
35 radiopharmaceuticals. Therefore, it is very important to

WO 02/067859

PCT/US02/05155

use a radical scavenger as a stabilizer to minimize radiolysis of the radiolabeled biomolecules.

5 A stabilizer is a "radical scavenging antioxidant" that readily reacts with hydroxyl and superoxide radicals. The stabilizing agent for therapeutic radiopharmaceutical composition should possess the following characteristics: low or no toxicity when it is used for human administration, no interference with the delivery or receptor binding of the radiolabeled
10 compound to the target cells or tissue(s), and the ability to stabilize the therapeutic radiopharmaceutical for a reasonable period of time (e.g., during the preparation, release, storage and transportation of the therapeutic radiopharmaceutical).

15 Radical scavengers such as gentisic acid and ascorbic acid have been used to stabilize ^{99m}Tc (DeRosch, et al, WO95/33757) and $^{186/188}\text{Re}$ (*Anticancer Res.* **1997**, 17, 1783-1796) radiopharmaceuticals. U.S. Patent 5,393,512 discloses the use of ascorbic acid as a
20 stabilizing agent for ^{186}Re and ^{131}I -labeled antibodies or antibody fragments. Gentisic acid and gentisyl alcohol were also disclosed in U.S. Patent 5,384,113 as stabilizers for radiolabeled peptides. U.S. Patents 5,093,105 and 5,306,482 disclose the use of *p*-
25 aminobenzoic acid, gentisic acid and ascorbic acid as antioxidants for ^{99m}Tc radiopharmaceuticals. U.S. Patent 5,961,955 also discloses a method of ameliorating degradation of radiolabeled peptides, especially radiolabeled proteins such as antibodies, by including
30 PVP (polyvinylpyrrolidinone) as a radioprotectant.

A metalloradiopharmaceutical composition usually includes the BFC-BM conjugate, a buffering agent for pH control, a weak chelating agent to prevent radiometal colloid formation, and a stabilizer to prevent
35 radiolytic degradation of the radiopharmaceutical

WO 02/067859

PCT/US02/05155

composition during the preparation, release and transportation of the metalloradiopharmaceutical. The pH is critical for the success and reproducibility of the ^{90}Y - or ^{111}In -labeling of biomolecules. Controlling pH (pH 4.0 - 8.0) in the reaction mixture is often achieved by using 0.1 - 0.5 M ammonium acetate. There are two purposes in using ammonium acetate for the ^{90}Y -labeling of biomolecules: (1) pH control during radiolabeling process and (2) ammonium acetate acts as a transfer ligand for Y^{3+} by forming a weak ^{90}Y -acetate and preventing the formation of $[\text{Y}^{90}]\text{colloid}$. The radiation stabilizer can be added into the reaction mixture before (i.e., pre-labeling addition) or after (i.e., post-labeling addition) the radiolabeling. However, the combination of a buffering agent and a stabilizer often results in high osmolarity of the radiopharmaceutical composition.

Ascorbic acid is known as an antioxidant and has been used in various pharmaceutical and radiopharmaceutical compositions. Unlike other buffering agents such as succinic acid and aminocarboxylates, ascorbic acid contains no amino or carboxylic groups. One skilled in the art would not expect to use ascorbic acid as a buffering agent and transfer ligand for the preparation of ^{90}Y or ^{111}In -labeled biomolecules. Therefore, it is of great significance, surprising and unexpected that ascorbic acid and its analogs can serve all three purposes: (1) as a buffering agent to control the pH of the reaction solution during radiolabeling; (2) as a transfer ligand to prevent the formation of radiometal colloid; and (3) as a stabilizer for the radiopharmaceutical composition during preparation, release, and transportation of the radiopharmaceutical composition.

35

WO 02/067859

PCT/US02/05155

SUMMARY OF THE INVENTION

There are several advantages using ascorbic acid as a buffering agent. Ascorbic acid has been approved for pharmaceutical and radiopharmaceutical applications.

5 Ascorbic acid has a pKa of 4.2 and has the buffering capacity at pH 3.0 -5.0. At higher concentrations (>50 mg/mL or 0.25 M), it may also have sufficient buffering capacity at the pH range 5.5-6.0. Since ascorbic acid contains two hydroxyl groups, one of which is

10 deprotonable at pH > 4.2, it can also be used as a transfer ligand to prevent the formation of radiometal colloids. Although the use of ascorbic acid as a stabilizer has been disclosed for a variety of diagnostic and therapeutic radiopharmaceutical

15 compositions (see, e.g., Deausch, E. A. et al./U.S. Patent No. 5,384,113/1995; Vanderheyden, J.-L., et al./U.S. Patent No. 5,393,512/1995; Flanagan, R. J. and Tartaglia, D./U.S. Patent No. 5,093,105/1992; Tartaglia, D. and Flanagan, R. J./U.S. Patent No. 5,306,482/1994;

20 Shochat, D. et al./U.S. Patent No. 5,961,955/1999; and Zamora, P. O. and Merek, M. J./U.S. Patent No. 6,066,309/2000), there is no teaching or disclosure on the use of ascorbic acid as a buffering agent and/or as a transfer ligand.

25 If the radiolabeling is performed in the presence of ascorbic acid at pH 4 - 6, there is no need for a buffering agent such as ammonium acetate in the reaction solution because ascorbic acid has sufficient buffering capacity at this pH range. In doing so, it will

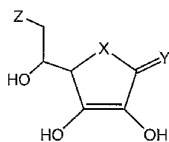
30 eliminate possible side effect from ammonium cation, a well-known vasodilator, particularly at high concentrations, and will result in dramatic reduction of the osmolarity of the radiopharmaceutical composition.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[1] One embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition comprising a
 5 radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula $M\text{-Ch-Ln}-(\text{EM})_m$; and an amount of a compound of formula (I):



10

(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,
 wherein

X is O, NR^1 , or CHR^1 ;

15 Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

R^1 is selected from: $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_3\text{-C}_{10})$ cycloalkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ alkenyl substituted with 0-5 R^2 , and aryl substituted
 20 with 0-5 R^2 ; and

R^2 is independently selected at each occurrence from: NH_2 , OH, CO_2H , $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, PO_3H_2 , and SO_3H ;

WO 02/067859

PCT/US02/05155

wherein the amount of the compound of formula (I) is effective to: (1) stabilize the radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(BM)_n against radiation induced degradation and to at least one of (2) control the pH of the radiopharmaceutical composition and (3) prevent radiometal colloid formation.

[2] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment 1 wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced degradation and (2) control the pH of the radiopharmaceutical.

[3] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced degradation and (2) prevent radiometal colloid formation.

[4] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced degradation, (2) control the pH of the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

[5] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein X is O.

5 [6] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein Y is O.

[7] Another embodiment of the present invention
10 provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein Z is hydroxyl.

[8] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment
15 [1] wherein m is 1 to about 5.

[9] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein m is 1 or 2.

20

[10] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein m is 1.

25 [11] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein m is 1 to about 5; X is O; and Y is O.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

[12] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein m is 1 or 2; X is O; Y is O; and Z is hydroxyl.

5

[13] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein m is 1; X is O; Y is O; and Z is hydroxyl.

10 [14] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the concentration of the compound of formula (I) is about 2 mg/mL to about 200 mg/mL.

15 [15] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the metallic radioisotope is present at a level of about 10 mCi to about 2000 mCi.

20 [16] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the metallic radioisotope is present at a concentration of greater than about 5 mCi/mL.

25 [17] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(BM)_m is a diagnostic radiopharmaceutical.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

[18] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_n$ is a therapeutic radiopharmaceutical.

[19] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the biomolecule is an antibody.

[20] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the biomolecule is an antibody fragment.

[21] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the biomolecule is a peptide.

[22] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the biomolecule is a peptidomimetic.

[23] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the biomolecule is a non-peptide.

[24] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment

WO 02/067859

PCT/US02/05155

[1] wherein the biomolecule is a cyclic IIb/IIIa receptor antagonist; an RGD containing peptide; a fibrinogen receptor antagonist; a IIb/IIIa receptor ligand; a ligand for the polymerization site of fibrin;

5 a laminin derivative; a ligand for fibrinogen; a thrombin ligand; an oligopeptide that corresponds to the IIIa protein; a hirudin-based peptide; a IIb/IIIa receptor ligand; a thrombus, platelet binding, or atherosclerotic plaque binding peptide; a fibrin binding

10 peptide; a hirudin-based peptide; a fibrin binding protein; a guanine derivative that binds to the IIb/IIIa receptor; a tyrosine derivative; a leukocyte binding peptide; a chemotactic peptide; a leukostimulatory agent; an LTB4 antagonist; a somatostatin analog; a

15 selectin binding peptide; a biological-function domain; a platelet factor 4 or growth factor; a compound that binds to a receptor that is expressed or upregulated in angiogenic tumor vasculature; a peptide, polypeptide or peptidomimetic that binds with high affinity to the

20 receptors VEGF receptors Flk-1/KDR, Flt-1, or neuropilin-1; a peptide, polypeptide or peptidomimetic that binds to $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 1\beta 1$, or $\alpha 2\beta 2$; a compound that interacts with receptor tyrosine kinases; a protein, antibody, antibody fragment, peptide,

25 polypeptide, or peptidomimetic that binds to receptors or binding sites on a tissue, organ, enzyme or fluid; a β -amyloid protein that has been demonstrated to accumulate in patients with Alzheimer's disease; an atrial natriuretic factor derived peptide that binds to

30 myocardial or renal receptor; an antimyosin antibody that binds to areas of infarcted tissue; or a nitroimidazole derivative that localizes in hypoxic areas in vivo.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

- [25] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the chelator is a cyclic or acyclic polyaminocarboxylate, a diaminedithiol, a triamidemonothiol, a monoaminemonoamidedithiol, a monoaminediamidemonothiol, a diaminedioxime, or a hydrazine.
- 10 [26] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the chelator is tetradentate, with donor atoms selected from nitrogen, oxygen and sulfur.
- 15 [27] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the chelator is diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA); 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA); 20 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-1,4,8,11-tetraacetic acid (TETA); 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triacetic acid (DO3A); 2-Benzyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (2-Bz-DOTA); alpha-(2-phenethyl)-1,4,7,10- 25 tetraazacyclododecane-1-acetic-4,7,10-tris(methylacetic) acid; 2-benzyl-cyclohexyldiethylenetriaminepentaacetic acid; 2-benzyl-6-methyl-diethylenetriaminepentaacetic acid; or 6,6'-bis[N,N,N",N"-tetra(carboxymethyl)aminomethyl]-4'-(3-amino-4-methoxyphenyl)-2,2':6',2"-terpyridine.
- 30

WO 02/067859

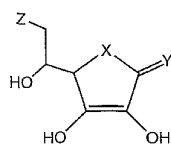
PCT/US02/05155

[28] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the metallic radioisotope is ^{177}Lu , ^{149}Pm , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{203}Pb , ^{177}Lu , ^{47}Sc , ^{109}Pd , ^{105}Rh , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{60}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{97}Ru , or ^{212}Bi .

[29] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the metallic radioisotope is $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{111}In , ^{203}Pb , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{149}Pm , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{47}Sc , ^{109}Pd , ^{105}Rh , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{60}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu or ^{67}Cu .

[30] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition of embodiment [1] wherein the metallic radioisotope is ^{111}In , ^{90}Y , or ^{177}Lu .

[31] Another embodiment of the present invention provides a radiopharmaceutical composition comprising a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-CH-Ln-(BM)_m ; and a compound of formula (I):



(I)

WO 02/067859

PCT/US02/05155

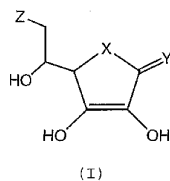
or a pharmaceutically acceptable salt thereof;
wherein

- M is a metallic radioisotope;
- 5 Ch is a metal chelator;
- Ln is an optional linking group;
- Bm is a biomolecule;
- m is 1 to about 10;
- X is O, NR^1 , or CHR^1 ;
- 10 Y is O or S;
- Z is hydroxyl or halogen;
- R^1 is selected from: $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ cycloalkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ alkenyl substituted with 0-5 R^2 , and aryl substituted with 0-5 R^2 ;
- 15 R^2 is independently selected at each occurrence from: NH_2 , OH, CO_2H , $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, PO_3H_2 , and SO_3H ;
- provided the radiopharmaceutical composition does
- 20 not comprise an additional buffering agent or an additional chelating agent.

- [32] Another embodiment of the present invention provides a method for buffering a radiopharmaceutical comprising contacting the radiopharmaceutical with an amount of a compound of formula (I):
- 25

WO 02/067859

PCT/US02/05155



5 or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein

X is O, NR¹, or CHR²;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

10 R¹ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with 0-5 R², (C₃-C₁₀)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted with 0-5 R²;

R² is independently selected at each occurrence
 15 from: NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and SO₃H;

wherein the amount is effective to control the pH of the radiopharmaceutical.

20 [33] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [32] wherein the radiopharmaceutical is a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(BM)_m;

WO 02/067859

PCT/US02/05155

wherein

M is a metallic radioisotope;

Ch is a metal chelator;

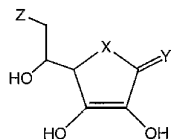
Ln is an optional linking group;

5 BM is a biomolecule; and

m is 1 to about 10.

[34] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [32] wherein the buffering agent controls the pH of the radiopharmaceutical during at least one of the preparation, release, storage, and transportation of the radiopharmaceutical.

15 [35] Another embodiment of the present invention provides a method for chelating a radiopharmaceutical comprising contacting the radiopharmaceutical with an amount of a compound of formula (I):



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

WO 02/067859

PCT/US02/05155

wherein

X is O, NR³, or CHR³;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

- 5 R³ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with 0-5 R², (C₃-C₁₀)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted with 0-5 R²;

R² is independently selected at each occurrence from:

- 10 NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and SO₃H;

wherein the amount is effective to prevent radiometal colloid formation.

- [36] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [35] wherein the radiopharmaceutical is a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(BM)_m;

wherein

M is a metallic radioisotope;

- 20 Ch is a metal chelator;

Ln is an optional linking group;

BM is a biomolecule; and

m is 1 to about 10.

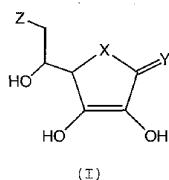
- 25 [37] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [35] wherein the chelating agent prevents radiometal colloid formation

WO 02/067859

PCT/US02/05155

during at least one of the preparation, release, storage, and transportation of the radiopharmaceutical.

[38] Another embodiment of the present invention provides a method for stabilizing a radiopharmaceutical against radiation induced degradation and at least one of (1) controlling the pH of the radiopharmaceutical and (2) preventing radiometal colloid formation; comprising contacting the radiopharmaceutical with an amount of a compound of formula (I):



or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein

X is O, NR^1 , or CHR^1 ;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

R^1 is selected from: $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_3\text{-C}_{10})$ cycloalkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ alkenyl substituted with 0-5 R^2 , and aryl substituted with 0-5 R^2 ;

WO 02/067859

PCT/US02/05155

R² is independently selected at each occurrence from: NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and SO₃H;

wherein the amount is effective to: (1) stabilize
5 the radiopharmaceutical against radiation induced degradation and to at least one of (2) control the pH of the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation.

10 [39] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [38] wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced degradation and (2) control the pH of the radiopharmaceutical.

15 [40] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [38] wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced degradation and (2) prevent
20 radiometal colloid formation.

[41] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [38] wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical
25 against radiation induced degradation, (2) control the pH of the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

[42] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [38] wherein the radiopharmaceutical is a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$

5 wherein

M is a metallic radioisotope;

Ch is a metal chelator;

Ln is an optional linking group;

BM is a biomolecule; and

10 m is 1 to about 10.

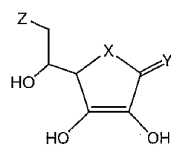
[43] Another embodiment of the present invention provides a method of embodiment [38] wherein the amount is effective to: stabilize the radiopharmaceutical
15 against radiation induced degradation and to at least one of (2) control the pH of the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation; during at least one of the preparation, release, storage, and transportation of the radiopharmaceutical.

20

[44] Another embodiment of the present invention provides a method for preparing a stable radiopharmaceutical composition comprising contacting a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the
25 formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$; and an amount of a compound of formula (I):

WO 02/067859

PCT/US02/05155



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

5 wherein

X is O, NR^1 , or CHR^1 ;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

R^1 is selected from: $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl substituted with
 10 0-5 R^2 , $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ cycloalkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ alkenyl substituted with 0-5 R^2 , and aryl substituted with 0-5 R^2 ; and

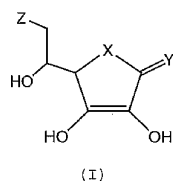
R^2 is independently selected at each occurrence
 from: NH_2 , OH, CO_2H , $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, PO_3H_2 , and
 15 SO_3H ;

wherein the amount of the compound of formula (I)
 is effective to: (1) stabilize the radiolabeled
 chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-
 $(\text{BM})_m$ against radiation induced degradation and to at
 20 least one of (2) control the pH of the
 radiopharmaceutical composition and (3) prevent
 radiometal colloid formation.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

[45] Another embodiment of the present invention provides a kit comprising a sealed vial comprising a predetermined quantity of a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$, and
 5 an amount of a compound of formula (I):



10 or a pharmaceutically acceptable salt thereof,
 wherein

- M is a metallic radioisotope;
- Ch is a metal chelator;
- Ln is an optional linking group;
- 15 BM is a biomolecule;
- m is 1 to about 10;
- X is selected from O, NR^1 , and CHR^1 ;
- Y is O or S;
- Z is hydroxyl or halogen;
- 20 R^1 is selected from: $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_3\text{-C}_{10})$ cycloalkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_2\text{-}$

WO 02/067859

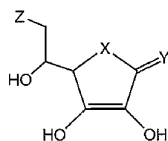
PCT/US02/05155

C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted with 0-5 R²; and

R² is independently selected at each occurrence from: NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and
 5 SO₃H;

wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(BM)_m against radiation induced degradation and to at least one of (2) control the pH of
 10 the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation.

[46] Another embodiment of the present invention provides a kit comprising (a) a first vial comprising a
 15 predetermined quantity of a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(BM)_m; and an amount of a compound of formula (I):



(I)

20

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,
 wherein

WO 02/067859

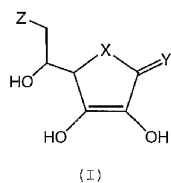
PCT/US02/05155

M is a metallic radioisotope;
Ch is a metal chelator;
Ln is an optional linking group;
BM is a biomolecule;
5 m is 1 to about 10;
X is selected from O, NR¹, and CHR¹;
Y is O or S;
Z is hydroxyl or halogen;
R¹ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with
10 0-5 R², (C₃-C₁₀)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-
C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted
with 0-5 R²; and
R² is independently selected at each occurrence
from: NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and
15 SO₃H;
wherein the amount is effective to: (1) stabilize
the radiopharmaceutical against radiation induced
degradation and to at least one of (2) control the pH of
the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal
20 colloid formation; and
(a) a second vial comprising a pharmaceutically
acceptable carrier or diluent.

[47] Another embodiment of the present invention
25 provides a novel compound of formula (I):

WO 02/067859

PCT/US02/05155



or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

5 wherein

X is O, NR^1 , or CHR^2 ;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

R^1 is selected from: $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl substituted with
 10 0-5 R^2 , $(\text{C}_3\text{-C}_{10})$ cycloalkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ alkenyl substituted with 0-5 R^2 , and aryl substituted with 0-5 R^2 ; and

R^2 is independently selected at each occurrence
 from: NH_2 , OH, CO_2H , $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, PO_3H_2 , and
 15 SO_3H .

It is appreciated that certain features of the invention, which are, for clarity, described in the context of separate embodiments, may also be provided in combination in a single embodiment. Conversely, various
 20 features of the invention which are for brevity, described in the context of a single embodiment, may also be provided separately or in any subcombination.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

DEFINITIONS

The radiopharmaceutical compositions of the present invention are comprised of a radioisotope-chelator-biomolecule conjugate, ascorbic acid or an analog thereof, and other optional pharmaceutical excipients. The target-specific radiopharmaceuticals comprised of a gamma ray-emitting isotope or positron-emitting isotope are useful as imaging agents. The radiopharmaceuticals comprised of a beta particle, alpha particle or Auger electron-emitting isotope are useful as therapeutic radiopharmaceuticals. The metallic radioisotope is chelated by the BFC attached directly or optionally via a linker to one or more biomolecules. Biomolecules are proteins, antibodies, antibody fragments, single-chain antibodies, polypeptides, oligonucleotides, peptides, peptidomimetics or non-peptides. Preferably, the biomolecules are peptides, peptidomimetics, and non-peptides of less than 10,000 g/mol molecular weight. The ascorbic acid or analog thereof serves three purposes: it acts as a buffering agent for pH control during radiolabeling, it acts as a chelating agent to prevent radiometal colloid formation, and it acts as a stabilizer to provide protection against radiation induced degradation of the radiolabeled compound. Metallic radionuclides that emit alpha particles, beta particles, gamma rays, positrons, or Auger electrons useful for imaging or therapy include ^{99m}Tc , ^{117m}Sn , ^{111}In , ^{97}Ru , ^{203}Pb , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{149}Pm , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{212}Bi , ^{47}Sc , ^{103}Pd , ^{105}Rh , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{60}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu and ^{67}Cu .

Examples of preferred biomolecules that may be part of the metallic radioisotope-chelator-biomolecule (M-BFC-BM) conjugate include the following.

For the diagnosis of thromboembolic disorders or atherosclerosis, BM is selected from the group including

WO 02/067859

PCT/US02/05155

the cyclic IIb/IIIa receptor antagonist compounds described in U.S. Patent 5,879,657; the RGD containing peptides described in U.S. Patents 4,578,079, 4,792,525, the applications PCT US88/04403, PCT US89/01742, PCT 5 US90/03788, PCT US91/02356 and by Ojima et. al. 204th Meeting of the Amer. Chem. Soc. **1992**, Abstract 44; the peptides that are fibrinogen receptor antagonists described in European Patent Applications 90202015.5, 90202030.4, 90202032.2, 90202032.0, 90311148.2, 10 90311151.6, 90311537.6, the specific binding peptides and polypeptides described as IIb/IIIa receptor ligands, ligands for the polymerization site of fibrin, laminin derivatives, ligands for fibrinogen, or thrombin ligands in PCT WO 93/23085 (excluding the technetium binding 15 groups); the oligopeptides that correspond to the IIIa protein described in PCT WO90/00178; the hirudin-based peptides described in PCT WO90/03391; the IIb/IIIa receptor ligands described in PCT WO90/15818; the thrombus, platelet binding or atherosclerotic plaque 20 binding peptides described in PCT WO92/13572 (excluding the technetium binding group) or GB 9313965.7; the fibrin binding peptides described in U.S. Patents 4,427,646 and 5,270,030; the hirudin-based peptides described in U.S. Patent 5,279,812; or the fibrin 25 binding proteins described in U.S. Patent 5,217,705; the guanine derivatives that bind to the IIb/IIIa receptor described in U.S. Patent 5,086,069; or the tyrosine derivatives described in European Patent Application 0478328A1, and by Hartman et. al., *J. Med. Chem.* **1992**, 30 35, 4640; or oxidized low density lipoprotein (LDL).

For the diagnosis of infection, inflammation or transplant rejection, BM is selected from the group including the leukocyte binding peptides described in PCT WO93/17719 (excluding the technetium binding group), 35 PCT WO92/13572 (excluding the technetium binding group)

WO 02/067859

PCT/US02/05155

or U.S. Ser. No. 08-140000; the chemotactic peptides described in Eur. Pat. Appl. 90108734.6 or A. Fischman et. al., *Semin. Nuc. Med.*, 1994, 24, 154; the leukostimulatory agents described in U.S. Patent 5,277,892; or the LTB₄ antagonists described in co-pending U.S.S.N. 08/943,659.

For the diagnosis of cancer, BM is selected from the group of somatostatin analogs described in UK Application 8927255.3 or PCT WO94/00489, the selectin binding peptides described in PCT WO94/05269, the biological-function domains described in PCT WO93/12819, Platelet Factor 4 or the growth factors (PDGF, VEGF, EGF, FGF, TNF MCSF or the interleukins Il1-8).

BM may also be a compound that binds a receptor that is expressed or upregulated in angiogenic tumor vasculature. For targeting the VEGF receptors, Flk-1/KDR, Flt-1, and neuropilin-1, the targeting moieties are comprised of peptides, polypeptides or peptidomimetics that bind with high affinity to the receptors. For example, peptides comprised of a 23 amino acid portion of the C-terminal domain of VEGF have been synthesized which competitively inhibit binding of VEGF to VEGFR (Soker, et. al., *J. Biol. Chem.*, 1997, 272, 31582-8). Linear peptides of 11 to 23 amino acid residues that bind to the basic FGF receptor (bFGFR) are described by Cosic et. al., *Mol. and Cell. Biochem.*, 1994, 130, 1-9. A preferred linear peptide antagonist of the bFGFR is the 16 amino acid peptide, Met-Trp-Tyr-Arg-Pro-Asp-Leu-Asp-Glu-Arg-Lys-Gln-Gln-Lys-Arg-Glu. Ghos et. al. (*Cancer Research*, 1997, 57, 3733-40) describe the identification of small peptides that bind with high affinity to the angiogenin receptor on the surface of endothelial cells. A preferred peptide is Ala-Gln-Leu-Ala-Gly-Glu-Cys-Arg-Glu-Asn-Val-Cys-Met-Gly-Ile-Glu-Gly-Arg, in which the two Cys residues form an

WO 02/067859

PCT/US02/05155

intramolecular disulfide bond. Yayon et. al. (Proc. Natl. Acad. Sci, USA, 1993, 90, 10643-7) describe other linear peptide antagonists of FGFR, identified from a random phage-displayed peptide library. Two linear
 5 octapeptides, Ala-Pro-Ser-Gly-His-Tyr-Lys-Gly and Lys-Arg-Thr-Gly-Gln-Tyr-Lys- Leu are preferred for inhibiting binding of bFGF to it receptor.

Targeting moieties for integrins expressed in tumor vasculature include peptides, polypeptides and
 10 peptidomimetics that bind to $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 1\beta 1$, and $\alpha 2\beta 2$. Pierschbacher and Rouslahti (*J. Biol. Chem.* **1987**, 262, 17294-17298) describe peptides that bind selectively to $\alpha 5\beta 1$ and $\alpha v\beta 3$. U.S. 5,536,814 describe peptides that bind with high affinity to the
 15 integrin $\alpha 5\beta 1$. Burgess and Lim (*J. Med. Chem.* **1996**, 39, 4520-4526) disclose the synthesis three peptides that bind with high affinity to $\alpha v\beta 3$: cyclo[Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-Asp], cyclo[Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-D-Asp] and the linear peptide Arg-Gly-Asp-Arg-Gly-Asp. U.S. 5,770,565
 20 and U.S. 5,766,591 disclose peptides that bind with high affinity to $\alpha v\beta 3$. U.S. 5,767,071 and U.S. 5,780,426, disclose cyclic peptides that have an exocyclic Arg amino acid that have high affinity for $\alpha v\beta 3$. Srivatsa et. al., (*Cardiovascular Res.* **1997**, 36, 408-428)
 25 describe the cyclic peptide antagonist for $\alpha v\beta 3$, cyclo[Ala-Arg-Gly-Asp-Mamb]. Tran et. al., (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 997-1002) disclose the cyclic peptide cyclo[Arg-Gly-Asp-Val-Gly-Ser-BTD-Ser-Gly-Val-Ala] that binds with high affinity to $\alpha v\beta 3$. Arap et. al. (*Science* **1998**, 279, 377-380) describe cyclic
 30 peptides that bind to $\alpha v\beta 3$ and $\alpha v\beta 5$, Cys-Asp-Cys-Arg-Gly-Asp-Cys-Phe-Cys, and cyclo[Cys-Asn-Gly-Asp-Cys]. Corbett et. al. (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 1371-1376) describe a series of $\alpha v\beta 3$ selective
 35 peptidomimetics. And Haubner et. al., (*Angew. Chem. Int.*

WO 02/067859

PCT/US02/05155

Ed. Engl. **1997**, 36, 1374-1389) disclose peptides and peptidomimetic $\alpha v \beta 3$ antagonists obtained from peptide libraries.

Alternative targeting moieties for tumor vasculature include compounds that interact with receptor tyrosine kinases. Receptor tyrosine kinases (TKs) are membrane proteins, which play a key role in the transduction of mitogenic signals across the cell to the nucleus (Rewcastle, G. W. et al *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 3482-3487; Thompson, A. M. et al *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 3915-3925). Of the many TKs that have been identified and characterized, those of the epidermal growth factor receptor (EGFR) family are particularly important, and have been implicated in a variety of ectopic cell proliferative processes. The over-expression of human EGF receptor is greatly amplified in several human tumors (Fry, D. W. *Exp. Opin. Invest. Drugs* **1994**, 3, 577-595; Jardines, L. et al *Pathobiology* **1993**, 61, 268-282), accompanied by an overphosphorylation of their protein targets. This increased phosphorylation of substrate tyrosine residues by oncogenic TK proteins is an essential step in the neoplastic transformation. Consequently, there has been great interest in developing inhibitors of TKs (TKIs) as anticancer drugs (Burke, T. R. Jr. *Drugs Future* **1992**, 17, 119-131; Chang, C. J. and Geahlen, R. *J. Nat. Prod.* **1992**, 55, 1529-1560). The over-expression of EGF receptors in tumor cells also provides the foundation for the development of diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals by attaching a chelator and a radionuclide onto the TK receptor ligand (tyrosine kinase inhibitor).

BM may also represent proteins, antibodies, antibody fragments, peptides, polypeptides, or peptidomimetics that bind to receptors or binding sites

WO 02/067859

PCT/US02/05155

on other tissues, organs, enzymes or fluids. Examples include the β -amyloid proteins that have been demonstrated to accumulate in patients with Alzheimer's disease, atrial natriuretic factor derived peptides that
5 bind to myocardial and renal receptors, antimyosin antibodies that bind to areas of infarcted tissues, or nitroimidazole derivatives that localize in hypoxic areas in vivo.

The linking group L_n can serve several roles.
10 First it provides a spacing group between the metal chelator, C_h , and the one or more of the biomolecules, BM, so as to minimize the possibility that the metal chelate $M-C_h$ will interfere with the interaction of the biomolecule with its biological target. The necessity
15 of incorporating a linking group in a reagent is dependent on the identity of BM and $M-C_h$. If metal chelate $M-C_h$ cannot be attached to BM without substantially diminishing its affinity for its biological target, then a linking group is used. A
20 linking group also provides a means of independently attaching multiple biomolecules to one group that is attached to $M-C_h$.

The linking group also provides a way of incorporating a pharmacokinetic modifier into the
25 pharmaceuticals of the present invention. The pharmacokinetic modifier serves to direct the biodistribution of the injected pharmaceutical other than by the interaction of the biomolecules, BM, with the biological target. A wide variety of functional groups
30 can serve as pharmacokinetic modifiers, including, but not limited to, carbohydrates, polyalkylene glycols, peptides or other polyamino acids, and cyclodextrins. The modifiers can be used to enhance or decrease hydrophilicity and to enhance or decrease the rate of

WO 02/067859

PCT/US02/05155

blood clearance. The modifiers can also be used to direct the route of elimination of the pharmaceuticals.

The metal chelator or bonding moiety, C_n , is selected to form stable complexes with the metal ion chosen for the particular application. Chelators or bonding moieties for diagnostic radiopharmaceuticals are selected to form stable chelates with the radioisotopes that have imageable gamma ray or positron emissions.

Chelators for technetium and rhenium isotopes are selected from diaminedithiols, triamidedemonothiols, monoaminemonoamidedithiols, monoaminediamidedemonothiols, diaminedioximes, and hydrazines. The chelators are generally tetradentate with donor atoms selected from nitrogen, oxygen and sulfur. Preferred reagents are comprised of chelators having amine nitrogen and thiol sulfur donor atoms and hydrazine bonding units. The thiol sulfur atoms and the hydrazines may bear a protecting group which can be displaced either prior to using the reagent to synthesize a radiopharmaceutical or preferably in situ during the synthesis of the radiopharmaceutical.

Exemplary thiol protecting groups include those listed in Greene and Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis" John Wiley & Sons, New York (1991), the disclosure of which is hereby incorporated by reference. Any thiol protecting group known in the art can be used. Examples of thiol protecting groups include, but are not limited to, the following: acetamidomethyl, benzamidomethyl, 1-ethoxyethyl, benzoyl, and triphenylmethyl.

Exemplary protecting groups for hydrazine bonding units are hydrazones which can be aldehyde or ketone hydrazones having substituents selected from hydrogen, alkyl, aryl and heterocycle. Particularly preferred

WO 02/067859

PCT/US02/05155

hydrazones are described in co-pending U.S.S.N. 08/476,296 the disclosure of which is herein incorporated by reference in its entirety.

The hydrazine-bonding unit when bound to a metal radionuclide is termed a hydrazido, or diazenido group and serves as the point of attachment of the radionuclide to the remainder of the radiopharmaceutical. A diazenido group can be either terminal (only one atom of the group is bound to the radionuclide) or chelating. In order to have a chelating diazenido group at least one other atom of the group must also be bound to the radionuclide. The atoms bound to the metal are termed donor atoms.

Chelators for chelation of radionuclides, including ¹¹¹In, ⁸⁶Y, ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga, ⁸⁹Zr, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu and ⁶⁷Cu, are selected from polyaminocarboxylates, such as diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA), 1,4,7,10-tetraazazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA), 1,4,8,11-tetraazazacyclotetradecane-1,4,8,11-tetraacetic acid (TETA), 1,4,7,10-tetraazazacyclododecane-1,4,7-triacetic acid (DO3A), 2-Benzyl-1,4,7,10-tetraazazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (2-Bz-DOTA), alpha-(2-phenethyl)-1,4,7,10-tetraazazacyclododecane-1-acetic-4,7,10-tris(methylacetic) acid, 2-benzyl-cyclohexyldiethylenetriaminepentaacetic acid, 2-benzyl-6-methyl-diethylenetriaminepentaacetic acid, and 6,6"-bis[N,N,N",N"-tetra(carboxymethyl)aminomethyl]-4'-(3-amino-4-methoxyphenyl)-2,2':6',2"-terpyridine.

Procedures for synthesizing these chelators that are not commercially available can be found in Brechbiel, M. and Gansow, O., *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1992**, 1, 1175; Brechbiel, M. and Gansow, O., *Bioconjugate Chem.* **1991**, 2, 187; Deshpande, S., et. al., *J. Nucl. Med.* **1990**, 31, 473; Kruper, J., U.S. Patent 5,064,956, and Toner, J.,

WO 02/067859

PCT/US02/05155

U.S. Patent 4,859,777, the disclosures of which are hereby incorporated by reference in their entirety.

Chelators or bonding moieties for therapeutic radiopharmaceuticals are selected to form stable complexes with the radioisotopes that have alpha particle, beta particle, Auger or Coster-Kronig electron emissions. Chelators for rhenium, copper, palladium, platinum, iridium, rhodium, silver and gold isotopes are selected from diaminedithiols, monoaminemonoamidedithiols, triamidemonothiols, monoaminediamidemonothiols, diaminedioximes, and hydrazines. Chelators for yttrium, bismuth, and the lanthanide isotopes are selected from cyclic and acyclic polyaminocarboxylates, including diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA), 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA), 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-1,4,8,11-tetraacetic acid (TETA), 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triacetic acid (DO3A), 2-Benzyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (2-Bz-DOTA), alpha-(2-phenethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1-acetic-4,7,10-tris(methylacetic) acid, 2-benzyl-cyclohexyldiethylenetriaminepentaacetic acid, 2-benzyl-6-methyl-diethylenetriaminepentaacetic acid, and 6,6"-bis[N,N,N"-tetra(carboxymethyl)aminomethyl]-4'-(3-amino-4-methoxyphenyl)-2,2':6',2"-terpyridine.

The integrity of a radiopharmaceutical is measured by the radiochemical purity (RCP) of the radiolabeled compound using ITLC or more preferably HPLC. The advantage of using HPLC is that radio-impurities caused by radiolytic degradation can be separated from the radiopharmaceutical under optimized chromatographic conditions. Improved stability over time for radiopharmaceutical compositions of this invention can

WO 02/067859

PCT/US02/05155

be demonstrated by determining the change in RCP of the radiolabeled compound in samples taken at representative time points. The radiopharmaceutical compositions of this invention are effective in maintaining the long-term stability of samples that have been frozen, thawed, and re-tested up to 5 days post-labeling.

The initial RCP of a radiopharmaceutical is largely dependent on radiolabeling conditions such as pH, heating temperature and time. Once a radiopharmaceutical is prepared in high yield, the ability of an antioxidant to stabilize a radiopharmaceutical composition is measured by the RCP change over a certain period of time.

Therapeutic radiopharmaceutical compositions are preferably stored at low temperature to avoid extensive radiolysis during release and transportation. The amount of the stabilizer used in the therapeutic radiopharmaceutical composition and storage temperature during release and transportation may be adjusted according to the sensitivity of a specific radiolabeled compound towards radiolytic decomposition.

Ascorbic acid is known as vitamin C, and is a commonly used antioxidant to prevent radiolytic decomposition of ^{99m}Tc and $^{186/188}\text{Re}$ radiopharmaceuticals (WO95/33757; *Anticancer Res.* **1997**, 17, 1783-1796; US patent 5,093,105, and US patent 5,306,482) or radiolabeled peptides (US patent 5,393,512; US patent 5,384,113 and US patent 5,961,955). Ascorbic acid is readily available GRAS (generally recognized as safe) substance often used in pharmaceutical compositions and other formulations used for biological purpose and may be used at levels as high as 200 mg/mL of the final formulation. The major advantages of using ascorbic acid or its analogs in a radiopharmaceutical composition disclosed in this invention include: (1) the

WO 02/067859

PCT/US02/05155

radiopharmaceutical can be prepared in high yield (>90%); (2) the radiometal colloid formation is minimal (<1%); and (3) the radiopharmaceutical composition can be stored for several days, while maintaining the RCP
5 (>90%) of the radiopharmaceutical.

The compounds herein described may have asymmetric centers. Compounds of the present invention containing an asymmetrically substituted atom may be isolated in optically active or racemic forms. It is well known in
10 the art how to prepare optically active forms, such as by resolution of racemic forms or by synthesis from optically active starting materials. Many geometric isomers of olefins, C=N double bonds, and the like can also be present in the compounds described herein, and
15 all such stable isomers are contemplated in the present invention. Cis and trans geometric isomers of the compounds of the present invention are described and may be isolated as a mixture of isomers or as separated isomeric forms. All chiral, diastereomeric, racemic
20 forms and all geometric isomeric forms of a structure are intended, unless the specific stereochemistry or isomeric form is specifically indicated. All processes used to prepare compounds of the present invention and intermediates made therein are considered to be part of
25 the present invention.

The term "substituted," as used herein, means that any one or more hydrogens on the designated atom is replaced with a selection from the indicated group, provided that the designated atom's normal valency is
30 not exceeded, and that the substitution results in a stable compound. When a substituent is keto (i.e., =O), then 2 hydrogens on the atom are replaced. Keto substituents are not present on aromatic moieties. When a ring system (e.g., carbocyclic or heterocyclic) is
35 said to be substituted with a carbonyl group or a double

WO 02/067859

PCT/US02/05155

bond, it is intended that the carbonyl group or double bond be part (i.e., within) of the ring.

The present invention is intended to include all isotopes of atoms occurring in the present compounds.

5 Isotopes include those atoms having the same atomic number but different mass numbers. By way of general example and without limitation, isotopes of hydrogen include tritium and deuterium. Isotopes of carbon include C-13 and C-14.

10 When any variable (e.g., R⁵) occurs more than one time in any constituent or formula for a compound, its definition at each occurrence is independent of its definition at every other occurrence. Thus, for example, if a group is shown to be substituted with 0-2
15 R⁵, then said group may optionally be substituted with up to two R⁵ groups and R⁵ at each occurrence is selected independently from the definition of R⁹. Also, combinations of substituents and/or variables are permissible only if such combinations result in stable
20 compounds.

When a bond to a substituent is shown to cross a bond connecting two atoms in a ring, then such substituent may be bonded to any atom on the ring. When a substituent is listed without indicating the atom via
25 which such substituent is bonded to the rest of the compound of a given formula, then such substituent may be bonded via any atom in such substituent. Combinations of substituents and/or variables are permissible only if such combinations result in stable
30 compounds.

As used herein, "alkyl" is intended to include both branched and straight-chain saturated aliphatic hydrocarbon groups having the specified number of carbon atoms. Examples of alkyl include, but are not limited

WO 02/067859

PCT/US02/05155

to, methyl, ethyl, n-propyl, i-propyl, n-butyl, s-butyl, t-butyl, n-pentyl, and s-pentyl. "Cycloalkyl" is intended to include saturated ring groups, such as cyclopropyl, cyclobutyl, or cyclopentyl. "Alkenyl" is
5 intended to include hydrocarbon chains of either a straight or branched configuration and one or more unsaturated carbon-carbon bonds which may occur in any stable point along the chain, such as ethenyl and propenyl.

10 "Halo" or "halogen" as used herein refers to fluoro, chloro, bromo, and iodo; and "counterion" is used to represent a small, negatively charged species such as chloride, bromide, hydroxide, acetate, and sulfate.

15 As used herein, "carbocycle" or "carbocyclic residue" is intended to mean any stable 3- to 7-membered monocyclic or bicyclic or 7-to 13-membered bicyclic or tricyclic, any of which may be saturated, partially unsaturated, or aromatic. Examples of such carbocycles
20 include, but are not limited to, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, adamantyl, cyclooctyl, [3.3.0]bicyclooctane, [4.3.0]bicyclononane, [4.4.0]bicyclodecane, [2.2.2]bicyclooctane, fluorenyl, phenyl, naphthyl,
25 indanyl, adamantyl, and tetrahydronaphthyl.

As used herein, the term "heterocycle" or "heterocyclic system" is intended to mean a stable 5-to 7-membered monocyclic or bicyclic or 7-to 10-membered bicyclic heterocyclic ring which is saturated partially
30 unsaturated or unsaturated (aromatic), and which consists of carbon atoms and from 1 to 4 heteroatoms independently selected from the group consisting of N, O and S and including any bicyclic group in which any of the above-defined heterocyclic rings is fused to a
35 benzene ring. The nitrogen and sulfur heteroatoms may

WO 02/067859

PCT/US02/05155

optionally be oxidized. The heterocyclic ring may be attached to its pendant group at any heteroatom or carbon atom which results in a stable structure. The heterocyclic rings described herein may be substituted on carbon or on a nitrogen atom if the resulting compound is stable. A nitrogen in the heterocycle may optionally be quaternized. It is preferred that when the total number of S and O atoms in the heterocycle exceeds 1, then these heteroatoms are not adjacent to one another. It is preferred that the total number of S and O atoms in the heterocycle is not more than 1. As used herein, the term "aromatic heterocyclic system" or "heteroaryl" is intended to mean a stable 5-to 7-membered monocyclic or bicyclic or 7-to 10-membered bicyclic heterocyclic aromatic ring which consists of carbon atoms and from 1 to 4 heteroatoms independently selected from the group consisting of N, O and S. It is preferred that the total number of S and O atoms in the aromatic heterocycle is not more than 1.

Examples of heterocycles include, but are not limited to, acridinyl, azocinyl, benzimidazolyl, benzofuranyl, benzothiofuranyl, benzothiophenyl, benzoxazolyl, benzthiazolyl, benztriazolyl, benztetrazolyl, benzisoxazolyl, benzisothiazolyl, benzimidazolinyl, carbazolyl, 4aH-carbazolyl, carbolinyl, chromanyl, chromenyl, cinnolinyl, decahydroquinolinyl, 2H,6H-1,5,2-dithiazinyl, dihydrofuro[2,3-b]tetrahydrofuran, furanyl, furazanyl, imidazolidinyl, imidazolinyl, imidazolyl, 1H-indazolyl, indolenyl, indolinyl, indolizinyl, indolyl, 3H-indolyl, isobenzofuranyl, isochromanyl, isoindazolyl, isoindolinyl, isoindolyl, isoquinolinyl, isothiazolyl, isoxazolyl, methylenedioxyphenyl, morpholinyl, naphthyridinyl, octahydroisoquinolinyl, oxadiazolyl, 1,2,3-oxadiazolyl, 1,2,4-oxadiazolyl, 1,2,5-oxadiazolyl,

WO 02/067859

PCT/US02/05155

1,3,4-oxadiazolyl, oxazolidinyl, oxazolyl, oxazolidinyl,
pyrimidinyl, phenanthridinyl, phenanthrolinyl,
phenazinyl, phenothiazinyl, phenoxathiinyl,
phenoxazinyl, phthalazinyl, piperazinyl, piperidinyl,
5 pteridinyl, purinyl, pyranyl, pyrazinyl, pyrazolidinyl,
pyrazolinyl, pyrazolyl, pyridazinyl, pyridooxazole,
pyridoimidazole, pyridothiazole, pyridinyl, pyridyl,
pyrimidinyl, pyrrolidinyl, pyrrolinyl, 2H-pyrrolyl,
pyrrolyl, quinazolinyl, quinolinyl, 4H-quinolizinyll,
10 quinoxalinyl, quinuclidinyl, tetrahydrofuranlyl,
tetrahydroisoquinolinyl, tetrahydroquinolinyl, 6H-1,2,5-
thiadiazinyl, 1,2,3-thiadiazolyl, 1,2,4-thiadiazolyl,
1,2,5-thiadiazolyl, 1,3,4-thiadiazolyl, thianthrenyl,
thiazolyl, thienyl, thienothiazolyl, thienooxazolyl,
15 thienoimidazolyl, thiophenyl, triazinyl, 1,2,3-
triazolyl, 1,2,4-triazolyl, 1,2,5-triazolyl, 1,3,4-
triazolyl, and xanthenyl. Preferred heterocycles
include, but are not limited to, pyridinyl, furanyl,
thienyl, pyrrolyl, pyrazolyl, pyrrolidinyl, imidazolyl,
20 indolyl, benzimidazolyl, 1H-indazolyl, oxazolidinyl,
benzotriazolyl, benzisoxazolyl, oxindolyl,
benzoxazolinyll, and isatinoyl. Also included are fused
ring and spiro compounds containing, for example, the
above heterocycles.

25 The term "amino acid" as used herein means an
organic compound containing both a basic amino group and
an acidic carboxyl group. Included within this term are
natural amino acids (e.g., L-amino acids), modified and
unusual amino acids (e.g., D-amino acids), as well as
30 amino acids which are known to occur biologically in
free or combined form but usually do not occur in
proteins. Included within this term are modified and
unusual amino acids, such as those disclosed in, for
example, Roberts and Vellaccio (1983) The Peptides, 5:
35 342-429, the teaching of which is hereby incorporated by

WO 02/067859

PCT/US02/05155

reference. Natural protein occurring amino acids include, but are not limited to, alanine, arginine, asparagine, aspartic acid, cysteine, glutamic acid, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, serine, threonine, tyrosine, tyrosine, tryptophan, proline, and valine. Natural non-protein amino acids include, but are not limited to arginosuccinic acid, citrulline, cysteine sulfinic acid, 3,4-dihydroxyphenylalanine, homocysteine, homoserine, ornithine, 3-moniodotyrosine, 3,5-diiodotyrosine, 3,5,5'-triiodothyronine, and 3,3',5,5'-tetraiodothyronine. Modified or unusual amino acids which can be used to practice the invention include, but are not limited to, D-amino acids, hydroxylysine, 4-hydroxyproline, an N-Cbz-protected amino acid, 2,4-diaminobutyric acid, homoarginine, norleucine, N-methylaminobutyric acid, naphthylalanine, phenylglycine, 3-phenylproline, tert-leucine, 4-aminocyclohexylalanine, N-methyl-norleucine, 3,4-dehydroproline, N,N-dimethylaminoglycine, N-methylaminoglycine, 4-aminopiperidine-4-carboxylic acid, 6-aminocaproic acid, trans-4-(aminomethyl)cyclohexanecarboxylic acid, 2-, 3-, and 4-(aminomethyl)benzoic acid, 1-aminocyclopentanecarboxylic acid, 1-aminocyclopropanecarboxylic acid, and 2-benzyl-5-aminopentanoic acid.

The term "peptide" as used herein means a linear compound that consists of two or more amino acids (as defined herein) that are linked by means of a peptide bond. A "peptide" as used in the presently claimed invention is intended to refer to a moiety with a molecular weight of less than 10,000 Daltons, preferable less than 5,000 Daltons, and more preferably less than 2,500 Daltons. The term "peptide" also includes

WO 02/067859

PCT/US02/05155

compounds containing both peptide and non-peptide components, such as pseudopeptide or peptidomimetic residues or other non-amino acid components. Such a compound containing both peptide and non-peptide components may also be referred to as a "peptide analog".

A "pseudopeptide" or "peptidomimetic" is a compound which mimics the structure of an amino acid residue or a peptide, for example, by using linking groups other than amide linkages between the peptide mimetic and an amino acid residue (pseudopeptide bonds) and/or by using non-amino acid substituents and/or a modified amino acid residue. A "pseudopeptide residue" means that portion of an pseudopeptide or peptidomimetic that is present in a peptide.

The term "peptide bond" means a covalent amide linkage formed by loss of a molecule of water between the carboxyl group of one amino acid and the amino group of a second amino acid.

The term "pseudopeptide bonds" includes peptide bond isosteres which may be used in place of or as substitutes for the normal amide linkage. These substitute or amide "equivalent" linkages are formed from combinations of atoms not normally found in peptides or proteins which mimic the spatial requirements of the amide bond and which should stabilize the molecule to enzymatic degradation.

The term "non-peptide" refers to a compound in comprised of preferably less than three amide bonds in the backbone core compound or preferably less than three amino acids or amino acid mimetics.

The phrase "pharmaceutically acceptable" is employed herein to refer to those compounds, materials, compositions, and/or dosage forms which are, within the

WO 02/067859

PCT/US02/05155

scope of sound medical judgment, suitable for use in contact with the tissues of human beings and animals without excessive toxicity, irritation, allergic response, or other problem or complication, commensurate with a reasonable benefit/risk ratio.

As used herein, "pharmaceutically acceptable salts" refer to derivatives of the disclosed compounds wherein the parent compound is modified by making acid or base salts thereof. Examples of pharmaceutically acceptable salts include, but are not limited to, mineral or organic acid salts of basic residues such as amines; and alkali or organic salts of acidic residues such as carboxylic acids. The pharmaceutically acceptable salts include the conventional non-toxic salts or the quaternary ammonium salts of the parent compound formed, for example, from non-toxic inorganic or organic acids. For example, such conventional non-toxic salts include those derived from inorganic acids such as hydrochloric, hydrobromic, sulfuric, sulfamic, phosphoric, and nitric; and the salts prepared from organic acids such as acetic, propionic, succinic, glycolic, stearic, lactic, malic, tartaric, citric, ascorbic, pantoic, maleic, hydroxymaleic, phenylacetic, glutamic, benzoic, salicylic, sulfanilic, 2-acetoxybenzoic, fumaric, toluenesulfonic, methanesulfonic, ethane disulfonic, oxalic, and isethionic.

The pharmaceutically acceptable salts of the present invention can be synthesized from the parent compound which contains a basic or acidic moiety by conventional chemical methods. Generally, such salts can be prepared by reacting the free acid or base forms of these compounds with a stoichiometric amount of the appropriate base or acid in water or in an organic solvent, or in a mixture of the two; generally, nonaqueous media like ether, ethyl acetate, ethanol,

WO 02/067859

PCT/US02/05155

isopropanol, or acetonitrile are preferred. Lists of suitable salts are found in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418, the disclosure of which is hereby
5 incorporated by reference.

"Stable compound" and "stable structure" are meant to indicate a compound that is sufficiently robust to survive isolation to a useful degree of purity from a reaction mixture, and formulation into an efficacious
10 therapeutic agent.

Lyophilization aids useful in the preparation of diagnostic kits useful for the preparation of radiopharmaceuticals include but are not limited to mannitol, lactose, sorbitol, dextran, Ficoll, and
15 polyvinylpyrrolidone (PVP).

Solubilization aids useful in the preparation of radiopharmaceuticals and in diagnostic kits useful for the preparation of said radiopharmaceuticals include but are not limited to ethanol, glycerin, polyethylene
20 glycol, propylene glycol, polyoxyethylene sorbitan monooleate, sorbitan monooleate, polysorbates, poly(oxyethylene)poly(oxypropylene)poly(oxyethylene) block copolymers (Pluronic) and lecithin. Preferred solubilizing aids are polyethylene glycol, and
25 Pluronic.

Bacteriostats useful in the preparation of radiopharmaceuticals and in diagnostic kits useful for the preparation of said radiopharmaceuticals include but are not limited to benzyl alcohol, benzalkonium
30 chloride, chlorbutanol, and methyl, propyl or butyl paraben.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

EXPERIMENTAL

The integrity of a radiopharmaceutical is measured by the radiochemical purity (RCP) of the radiolabeled compound using ITLC or more preferably HPLC. The advantage of using HPLC is that radio-impurities caused by radiolytic degradation can be separated from the radiopharmaceutical under optimized chromatographic conditions. Improved stability over time for radiopharmaceutical compositions of this invention can be demonstrated by determining the change in RCP of the radiolabeled compound in samples taken at representative time points. The radiopharmaceutical compositions of this invention are effective in maintaining the long-term stability of samples that have been frozen, thawed, and re-tested periodically for 5 days.

The initial RCP of a radiopharmaceutical is largely dependent on radiolabeling conditions such as pH, heating temperature and time. Once a radiopharmaceutical is prepared in high yield, the stability of the radiopharmaceutical composition is measured by the RCP change of the radiopharmaceutical over a certain period of time.

Materials. Acetic acid (ultra-pure), ammonium hydroxide (ultra-pure), ascorbic acid (sodium salt), and sodium gentisate were purchased from either Aldrich or Sigma Chemical Co., and were used as received. $^{90}\text{YCl}_3$ and $^{111}\text{InCl}_3$ (in 0.05 N HCl) were purchased from NEN[®], N. Billerica, MA. High specific activity $^{177}\text{LuCl}_3$ was obtained from University of Missouri Research Reactor, Columbia, MO.

Analytical Methods. HPLC method 1 used a HP-1100 HPLC system with a UV/visible detector ($\lambda = 220 \text{ nm}$), an IN-US radio-detector, and a Zorbax C₁₈ column (4.6 mm x

WO 02/067859

PCT/US02/05155

250 mm, 80 Å pore size). The flow rate was 1 mL/min with the mobile phase starting with 92% solvent A (0.025 M ammonium acetate buffer, pH 6.8) and 8% solvent B (acetonitrile) to 90% solvent A and 8% solvent B at 18 min, followed by an isocratic wash using 40% of solvent A and 60% solvent B from 19 to 25 min.

HPLC method 2 used a HP-1100 HPLC system with a UV/visible detector ($\lambda = 220$ nm), an IN-US radio-detector, and a Zorbax C₁₈ column (4.6 mm x 250 mm, 80 Å pore size). The flow rate was 1 mL/min with the mobile phase starting with 92% solvent A (0.025 M ammonium acetate buffer, pH 6.8) and 8% solvent B (acetonitrile) to 80% solvent A and 20% solvent B at 18 min, followed by an isocratic wash using 40% of solvent A and 60% solvent B from 19 to 25 min.

HPLC method 3 used a HP-1100 HPLC system with a UV/visible detector ($\lambda = 220$ nm), an IN-US radio-detector, and a Zorbax C₁₈ column (4.6 mm x 250 mm, 80 Å pore size). The flow rate was 1 mL/min with an isocratic mobile phase with 92% solvent A (0.025 M ammonium acetate buffer, pH 6.8) and 8% solvent B (acetonitrile) over 25 min, followed by an isocratic wash using 40% of solvent A and 60% solvent B from 26 to 30 min.

The ITLC method used reverse phase C₁₈ TLC plates and a mixture of methanol, acetone and saline (2:1:1 = v:v:v) as eluant. By this method, the radiolabeled compounds migrate to the solvent front while [⁹⁰Y]/²⁷⁷Lu]colloid and [⁹⁰Y]/¹⁷⁷Lu]acetate remain at the origin.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

EXAMPLE 1

Preparation ^{90}Y -(2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl) cyclododecyl)acetylamino)propyl)-propyl]ethyl)carbamoyl)propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-((7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))carbonylamino)propanoic Acid Trifluoroacetate Salt (20 mCi) Using Ascorbic Acid (AA, 0.1 M or 20 mg/mL, pH = 7.35) as a buffer agent, Transfer Ligand and Radiolytic Stabilizer.

(2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl) cyclododecyl)acetylamino)propyl)propyl]ethyl)carbamoyl)-propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-((7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate salt was prepared as disclosed in US Patent Application No. 09/456,300 and was subsequently dissolved in 0.1 M ascorbic acid buffer (pH 7.35) to give a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$. The resulting solution was immediately degassed under vacuum for another 1 - 2 min. To a clean sealed 5 mL vial was added 1.0 mL of 0.1 M ascorbic acid (sodium salt) buffer (pH 7.35) containing 100 μg of (2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl) cyclododecyl)acetylamino)propyl)propyl]ethyl)carbamoyl)-propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-((7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate. The solution was degassed again under vacuum. Upon addition of $\sim 10 \mu\text{L}$ of $^{90}\text{YCl}_3$ solution (20.5 mCi) in 0.05 N HCl, the reaction mixture was heated at 95 $^{\circ}\text{C}$ for 5 min. After cooling to room temperature, a sample of the

WO 02/067859

PCT/US02/05155

resulting solution was diluted 50-fold with saline containing sodium gentisate (10 mg/mL), and was then analyzed by HPLC (Method 1, injection volume = 5 µL). The RCP was 99.3%. The retention time was 14.7 min.

5 The TLC (reverse phase C₁₈ TLC) showed minimal (0.38%) [⁹⁰Y]colloid and [⁹⁰Y]acetate impurities.

This clearly shows that ⁹⁰Y-(2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-{2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-{2-[1,4,7,10-tetraaza-

10 cyclododecyl]acetylamino}propyl)-

-propyl]ethyl]carbamoyl)propoxy]phenyl)sulfonyl]amino]-3-({7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl)}carbonylamino)propanoic acid

trifluoroacetate can be prepared in high yield and
15 radiochemical purity using ascorbic acid as a buffer agent for pH control and a weak transfer ligand to prevent the formation of [⁹⁰Y]colloid. Based on the results, a radiolabeling experiment was designed to find optimal radiolabeling conditions in using ascorbic acid

20 as a buffering agent for pH control, a transfer ligand to prevent [⁹⁰Y]colloid formation, and as a stabilizer for the solution stability of ⁹⁰Y-(2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-{2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-{2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)

25 cyclododecyl]acetylamino}propyl)propyl]ethyl]carbamoyl)-propoxy]phenyl)sulfonyl]amino]-3-({7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl)}carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate. Four factors were considered in the experimental design.

30 These include pH value (5, 6, and 7), heating time (5 min and 35 min), sodium ascorbic level (20 mg and 100 mg), and temperature (50 °C and 95 °C). Each condition contains two vials. The activity level for each vial was ~10 mCi. The reaction mixture from each vial was
35 characterized by HPLC and reverse phase C₁₈ TLC.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

Based on the radiolabeling results, it is clear that (1) AA level does not have a significant effect on the RCP as long as the heating temperature is 95 °C; (2) the pH shows little effect on the RCP at pH = 5 - 7; (3) a longer heating time gives slightly better RCP at 95 °C; and (4) heating temperature is the most dominant factor on RCP.

EXAMPLE 2

Preparation and Solution Stability of ⁹⁰Y-(2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)cyclododecyl)acetylamino]propyl)propyl)ethyl)carbamoyl]-propoxy]phenyl)sulfonyl]amino]-3-({7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl)}-carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate (100 mCi Level) Using Ascorbic Acid (AA, 20 mg/mL or 0.1 M, pH = 5.0) as the buffer agent, Transfer Ligand and Radiolytic Stabilizer.

(2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)cyclododecyl)acetylamino]propyl)propyl)ethyl)carbamoyl]-propoxy]phenyl)sulfonyl]amino]-3-({7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl)}-carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate was prepared as disclosed in US Patent Application No. 09/456,300 and was subsequently dissolved in 0.1 M AA buffer (pH 5.0) to give a concentration of 100 µg/mL. The resulting solution was immediately degassed under vacuum for another 1 - 2 min. To a clean sealed 5 mL vial was added 5.0 mL of 0.1 M ascorbic acid buffer (pH 5.0) containing 500 µg of (2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-

WO 02/067859

PCT/US02/05155

4,7,10-tris(carboxymethyl)
cyclododecyl]acetylamino)propyl)
propyl]ethyl]carbamoyl)propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-
(7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-
5 hydroquinolyl))carbonylamino)propanoic acid
trifluoroacetate. The solution was degassed again under
vacuum. Upon addition of ~75 µL of ⁹⁰YCl₃ solution
(101.5 mCi) in 0.05 N HCl, the reaction mixture was
heated at 95 °C for 30 min. After cooling to room
10 temperature, a sample of the resulting solution was
diluted 50-fold with saline containing sodium gentisate
(10 mg/mL), and was then analyzed by HPLC (Method 1,
injection volume = 5 µL). The resulting mixture was
then kept in a dry-ice box (-78 °C) for 5 days. Samples
15 were analyzed at t = 0 (RCP = 98.5%), 24 h (RCP =
98.4%), 68 h (RCP = 98.0%), and 120 h (RCP = 98.8%). The
retention time was 14.8 min.

This experiment clearly demonstrated that ⁹⁰Y-(2S)-2-
[({2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-
20 [1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)
cyclododecyl]acetylamino)-
-propyl)propyl]ethyl]carbamoyl)-
propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-((7-[(imidazol-2-
ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
25 carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate can be
readily prepared in high RCP (>98%) under the following
conditions: 500 µg (2S)-2-[({2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-
sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-
tris(carboxymethyl)
30 cyclododecyl]acetylamino)propyl)propyl]ethyl]carbamoyl)-
propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-((7-[(imidazol-2-
ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate for 100
mCi of ⁹⁰Y in 5 mL of AA solution containing 100 mg AA,
35 pH=5.0, heating at 95 °C for 30 min and remains stable

WO 02/067859

PCT/US02/05155

for at least 5 days (RCP > 96%). Ascorbic acid can be used as a buffer agent, a transfer ligand, and a radiolytic stabilizer for the routine preparation and stabilization of ⁹⁰Y-labeled biomolecules.

5

EXAMPLE 3**Preparation and Solution Stability of ¹¹¹In-(2S)-2-**

10 [({2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)cyclododecyl]acetyl-amino)-propyl)propyl]ethyl)carbamoyl)-propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-({7-([imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate (2.8 mCi)
 15 **Using Ascorbic Acid (AA, 20 mg/mL or 0.1 M) as the Buffer agent, Transfer Ligand, and Radiolytic Stabilizer.**

(2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)cyclododecyl]acetyl-amino)propyl)propyl]ethyl)carbamoyl)-propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-({7-([imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate was prepared as disclosed in US Patent Application No.
 25 09/456,300 and was subsequently dissolved in 0.1 M ascorbic acid buffer (pH 6.0) to give a concentration of 100 µg/mL. The resulting solution was immediately degassed under vacuum for another 1 - 2 min. To a clean sealed 5 mL vial was added 2.0 mL of 0.1 M ascorbic acid
 30 buffer (pH 6.0) containing 150 µg of (2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)cyclododecyl]acetyl-amino)

WO 02/067859

PCT/US02/05155

propyl)propyl)ethyl)carbamoyl)-
 propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-((7-[(imidazol-2-
 ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
 carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate. The
 5 solution was degassed again under vacuum. Upon addition
 of ~7 µL of ¹¹¹InCl₃ solution (2.8 mCi) in 0.05 N HCl,
 the reaction mixture was heated at 100 °C for 5 min.
 After cooling to room temperature, a sample of the
 resulting solution was then analyzed by HPLC (Method 3,
 10 injection volume = 10 µL). The resulting mixture was
 then kept at room temperature for 24 hours. Samples
 were analyzed at t = 0 (RCP = 98.2%) and 24 h (RCP =
 97.6%). The retention time was 11.7 min.

This clearly demonstrated that ¹¹¹In-(2S)-2-[(2,6-
 15 Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-sulfo-2-(2-[1,4,7,10-
 tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)
 cyclododecyl)acetyl amino)
 propyl)propyl)ethyl)carbamoyl)-
 propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-((7-[(imidazol-2-
 20 ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
 carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate could be
 prepared in high yield using ascorbic acid as a buffer
 agent, a transfer ligand and a radiolytic stabilizer.
¹¹¹In-(2S)-2-[(2,6-Dimethyl-4-[3-(N-(2-[3-sulfo-2-(3-
 25 sulfo-2-(2-[1,4,7,10-tetraaza-4,7,10-tris(carboxymethyl)
 cyclododecyl)acetyl amino)propyl)propyl)ethyl)carbamoyl)-
 propoxy]phenyl)sulfonyl)amino]-3-((7-[(imidazol-2-
 ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
 carbonylamino)propanoic acid trifluoroacetate remains
 30 stable in solution for at least 24 hours. Ascorbic acid
 can be used as a buffer agent, a transfer ligand, and a
 radiolytic stabilizer for the routine preparation and
 stabilization of ¹¹¹In-labeled biomolecules.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

EXAMPLE 4

Preparation and Solution Stability of ¹⁷⁷Lu-

DOTA/(2S)-2-[[4-(3-[N-(2-{2-[(4S)-4-(N-{1-[N-(2-{4-[4-
 ({[(1S)-1-Carboxy-2-({7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-
 methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
 5 carbonylamino)ethyl]amino)sulfonyl]-3,5-
 dimethylphenoxy]butanoylamino)ethyl]carbamoyl]-2-
 sulfoethyl]carbamoyl]-4-aminobutanoylamino]-3-
 sulfopropyl]ethyl]carbamoyl]propoxy)-2,6-
 10 dimethylphenyl)sulfonyl]amino]-3-({7-[(imidazol-2-
 ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
 carbonylamino)propanoic Acid Conjugate
 Bis(trifluoroacetate) Using Ascorbic Acid (AA, 20 mg/mL
 or 0.1 M) as the buffer agent, Transfer Ligand and
 15 Radiolytic Stabilizer.

To a clean sealed 5 mL vial was added 2.0 mL of 0.1
 M ascorbic acid buffer (pH 6.0) containing 137 µg of
 DOTA/(2S)-2-[[4-(3-[N-(2-{2-[(4S)-4-(N-{1-[N-(2-{4-[4-
 ({[(1S)-1-Carboxy-2-({7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-
 20 methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
 carbonylamino)ethyl]amino)sulfonyl]-3,5-
 dimethylphenoxy]butanoylamino)ethyl]carbamoyl]-2-
 sulfoethyl]carbamoyl]-4-aminobutanoylamino]-3-
 sulfopropyl]ethyl]carbamoyl]propoxy)-2,6-
 25 dimethylphenyl)sulfonyl]amino]-3-({7-[(imidazol-2-
 ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl))-
 carbonylamino)propanoic Acid Conjugate
 Bis(trifluoroacetate) which was prepared as disclosed in
 US Patent Application No. 09/456,300. The solution was
 30 degassed again under vacuum. Upon addition of ~6 µL of
¹⁷⁷LuCl₃ solution (~17 mCi) in 0.05 N HCl, the reaction
 mixture was heated at 95 °C for 45 min. After cooling
 to room temperature, a sample of the resulting solution
 was analyzed by HPLC (Method 2, injection volume = 2 µL)
 35 and reverse phase C₁₈ TLC. The radiochemical purity was

WO 02/067859

PCT/US02/05155

94.9% at 0 h and 95% at 24 h post-labeling. The TLC showed minimal [^{177}Lu]colloid and [^{177}Lu]acetate impurities at the origin (~1.2% by TLC).

It is clear that ^{177}Lu -DOTA/(2S)-2-([4-(3-[N-(2-
 5 {2-[(4S)-4-(N-{1-[N-(2-[4-[4-([[(1S)-1-Carboxy-2-({7-
 [(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-
 hydroquinolyl)}carbonylamino)ethyl]amino)sulfonyl]-3,5-
 dimethylphenoxy]butanoylamino)ethyl]carbamoyl]-2-
 sulfoethyl]carbamoyl)-4-aminobutanoylamino]-3-
 10 sulfopropyl)ethyl]carbamoyl]propoxy)-2,6-
 dimethylphenyl)sulfonyl]amino)-3-({7-[(imidazol-2-
 ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl)}-
 carbonylamino)propanoic Acid Conjugate
 Bis(trifluoroacetate) could be prepared in high yield
 using ascorbic acid as a buffer agent, a transfer ligand
 15 and a radiolytic stabilizer. ^{177}Lu -DOTA/(2S)-2-([4-(3-
 [N-(2-[2-[(4S)-4-(N-{1-[N-(2-[4-[4-([[(1S)-1-Carboxy-2-
 ({7-[(imidazol-2-ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-
 hydroquinolyl)}carbonylamino)ethyl]amino)sulfonyl]-3,5-
 20 dimethylphenoxy]butanoylamino)ethyl]carbamoyl]-2-
 sulfoethyl]carbamoyl)-4-aminobutanoylamino]-3-
 sulfopropyl)ethyl]carbamoyl]propoxy)-2,6-
 dimethylphenyl)sulfonyl]amino)-3-({7-[(imidazol-2-
 ylamino)methyl]-1-methyl-4-oxo(3-hydroquinolyl)}-
 25 carbonylamino)propanoic Acid Conjugate
 Bis(trifluoroacetate) remains stable in solution for at
 least 24 hours. Ascorbic acid can be used as a buffer
 agent, a transfer ligand, and a radiolytic stabilizer
 for the routine preparation and stabilization of ^{177}Lu -
 30 labeled biomolecules.

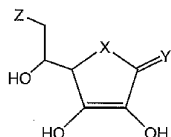
WO 02/067859

PCT/US02/05155

Claims

What is claimed is:

- 5 1. A radiopharmaceutical composition comprising a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_n$; and an amount of a compound of formula (I):



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein

- 15 X is O, NR^1 , or CHR^2 ;
 Y is O or S;
 Z is hydroxyl or halogen;
 R^1 is selected from: $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_3\text{-C}_{10})$ cycloalkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_2\text{-C}_{10})$ alkenyl substituted with 0-5 R^2 , and aryl substituted with 0-5 R^2 ; and
- 20

WO 02/067859

PCT/US02/05155

R^2 is independently selected at each occurrence from: NH_2 , OH , CO_2H , $C(=O)NH_2$, $NHC(=NH)NH_2$, PO_3H_2 , and SO_3H ;

wherein the amount of the compound of formula (I) is effective to: (1) stabilize the radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula $M-Ch-Ln-(EM)_m$ against radiation induced degradation and to at least one of (2) control the pH of the radiopharmaceutical composition and (3) prevent radiometal colloid formation.

2. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced degradation and (2) control the pH of the radiopharmaceutical.

3. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced degradation and (2) prevent radiometal colloid formation.

4. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced degradation, (2) control the pH of the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

5. The radiopharmaceutical composition of claim 1
wherein X is O.

6. The radiopharmaceutical composition of claim 1
5 wherein Y is O.

7. The radiopharmaceutical composition of claim 1
wherein Z is hydroxyl.

10 8. The radiopharmaceutical composition of claim 1
wherein m is 1 to about 5.

9. The radiopharmaceutical composition of claim 1
wherein m is 1 or 2.

15 10. The radiopharmaceutical composition of claim 1
wherein m is 1.

11. The radiopharmaceutical composition of claim 1
20 wherein m is 1 to about 5; X is O; and Y is O.

12. The radiopharmaceutical composition of claim 1
wherein m is 1 or 2; X is O; Y is O; and Z is hydroxyl.

25 13. The radiopharmaceutical composition of claim 1
wherein m is 1; X is O; Y is O; and Z is hydroxyl.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

14. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the concentration of the compound of formula (I) is about 2 mg/mL to about 200 mg/mL.
- 5 15. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the metallic radioisotope is present at a level of about 10 mCi to about 2000 mCi.
16. The radiopharmaceutical composition of claim 1
10 wherein the metallic radioisotope is present at a concentration of greater than about 5 mCi/mL.
17. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the radiolabeled chelator-biomolecule conjugate
15 of the formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ is a diagnostic radiopharmaceutical.
18. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the radiolabeled chelator-biomolecule conjugate
20 of the formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$ is a therapeutic radiopharmaceutical.
19. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the biomolecule is an antibody.
- 25 20. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the biomolecule is an antibody fragment.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

21. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the biomolecule is a peptide.

22. The radiopharmaceutical composition of claim 1
5 wherein the biomolecule is a peptidomimetic.

23. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the biomolecule is a non-peptide.

10 24. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the biomolecule is a cyclic IIb/IIIa receptor antagonist; an RGD containing peptide; a fibrinogen receptor antagonist; a IIb/IIIa receptor ligand; a ligand for the polymerization site of fibrin; a laminin
15 derivative; a ligand for fibrinogen; a thrombin ligand; an oligopeptide that corresponds to the IIIa protein; a hirudin-based peptide; a IIb/IIIa receptor ligand; a thrombus, platelet binding, or atherosclerotic plaque binding peptide; a fibrin binding peptide; a hirudin-
20 based peptide; a fibrin binding protein; a guanine derivative that binds to the IIb/IIIa receptor; a tyrosine derivative; a leukocyte binding peptide; a chemotactic peptide; a leukostimulatory agent; an LTB4 antagonist; a somatostatin analog; a selectin binding
25 peptide; a biological-function domain; a platelet factor 4 or growth factor; a compound that binds to a receptor that is expressed or upregulated in angiogenic tumor vasculature; a peptide, polypeptide or peptidomimetic that binds with high affinity to the receptors VEGF
30 receptors Flk-1/KDR, Flt-1, or neuropilin-1; a peptide, polypeptide or peptidomimetic that binds to $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$,

WO 02/067859

PCT/US02/05155

$\alpha 5\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 1\beta 1$, or $\alpha 2\beta 2$; a compound that interacts
 with receptor tyrosine kinases; a protein, antibody,
 antibody fragment, peptide, polypeptide, or
 peptidomimetic that binds to receptors or binding sites
 5 on a tissue, organ, enzyme or fluid; a β -amyloid protein
 that has been demonstrated to accumulate in patients
 with Alzheimer's disease; an atrial natriuretic factor
 derived peptide that binds to myocardial or renal
 receptor; an antimyosin antibody that binds to areas of
 10 infarcted tissue; or a nitroimidazole derivative that
 localizes in hypoxic areas in vivo.

25. The radiopharmaceutical composition of claim 1
 wherein the chelator is a cyclic or acyclic
 15 polyaminocarboxylate, a diaminedithiol, a
 triamidedithiol, a monoaminemonoamidedithiol, a
 monoaminediamidedithiol, a diaminedioxime, or a
 hydrazine.

20 26. The radiopharmaceutical composition of claim 1
 wherein the chelator is tetradentate, with donor atoms
 selected from nitrogen, oxygen and sulfur.

27. The radiopharmaceutical composition of claim 1
 25 wherein the chelator is diethylenetriaminepentaacetic
 acid (DTPA); 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-
 tetraacetic acid (DOTA); 1,4,8,11-
 tetraazacyclotetradecane-1,4,8,11-tetraacetic acid
 (TETA); 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triacetic
 30 acid (DO3A); 2-Benzyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-

WO 02/067859

PCT/US02/05155

1,4,7,10-tetraacetic acid (2-Bz-DOTA); alpha-(2-phenethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1-acetic-4,7,10-tris(methylacetic) acid; 2-benzyl-cyclohexyldiethylenetriaminepentaacetic acid; 2-benzyl-6-methyl-diethylenetriaminepentaacetic acid; or 6,6"-bis[N,N,N",N"-tetra(carboxymethyl)aminomethyl]-4'-(3-amino-4-methoxyphenyl)-2,2':6',2"-terpyridine.

28. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the metallic radioisotope is ^{177}Lu , ^{149}Pm , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{203}Pb , ^{177}Lu , ^{47}Sc , ^{105}Pd , ^{105}Rh , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{60}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{97}Ru , or ^{212}Bi .

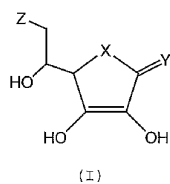
29. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the metallic radioisotope is $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{111}In , ^{203}Pb , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{149}Pm , ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{47}Sc , ^{105}Pd , ^{105}Rh , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{60}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu or ^{67}Cu .

30. The radiopharmaceutical composition of claim 1 wherein the metallic radioisotope is ^{111}In , ^{90}Y , or ^{177}Lu .

31. A radiopharmaceutical composition comprising a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(BM)_n ; and a compound of formula (I):

WO 02/067859

PCT/US02/05155



or a pharmaceutically acceptable salt thereof;

5 wherein

M is a metallic radioisotope;

Ch is a metal chelator;

Ln is an optional linking group;

BM is a biomolecule;

10 m is 1 to about 10;

X is O, NR¹, or CHR¹;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

R¹ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with
 15 0-5 R², (C₃-C₁₀)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-
 C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted
 with 0-5 R²;

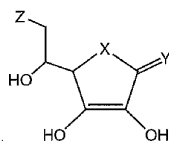
R² is independently selected at each occurrence
 from: NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and
 20 SO₃H;

WO 02/067859

PCT/US02/05155

provided the radiopharmaceutical composition does not comprise an additional buffering agent or an additional chelating agent.

- 5 32. A method for buffering a radiopharmaceutical comprising contacting the radiopharmaceutical with an amount of a compound of formula (I):



10

(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein

- X is O, NR^1 , or CHR^1 ;
 15 Y is O or S;
 Z is hydroxyl or halogen;
 R^1 is selected from: $(\text{C}_1\text{-C}_{10})$ alkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_3\text{-C}_{10})$ cycloalkyl substituted with 0-5 R^2 , $(\text{C}_3\text{-C}_{10})$ alkenyl substituted with 0-5 R^2 , and aryl substituted
 20 with 0-5 R^2 ;
 R^2 is independently selected at each occurrence from: NH_2 , OH, CO_2H , $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, PO_3H_2 , and SO_3H ;

WO 02/067859

PCT/US02/05155

wherein the amount is effective to control the pH
of the radiopharmaceutical.

33. The method of claim 32 wherein the
5 radiopharmaceutical is a radiolabeled chelator-
biomolecule conjugate of the formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$;
wherein

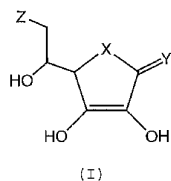
M is a metallic radioisotope;
Ch is a metal chelator;
10 Ln is an optional linking group;
BM is a biomolecule; and
m is 1 to about 10.

34. The method of claim 32 wherein the buffering agent
15 controls the pH of the radiopharmaceutical during at
least one of the preparation, release, storage, and
transportation of the radiopharmaceutical.

35. A method for chelating a radiopharmaceutical
20 comprising contacting the radiopharmaceutical with an
amount of a compound of formula (I):

WO 02/067859

PCT/US02/05155



or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

5 wherein

X is O, NR¹, or CHR¹;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

R¹ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with
 10 0-5 R², (C₃-C₁₈)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-
 C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted
 with 0-5 R²;

R² is independently selected at each occurrence from:
 NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and SO₃H;

15 wherein the amount is effective to prevent
 radiometal colloid formation.

36. The method of claim 35 wherein the
 radiopharmaceutical is a radiolabeled chelator-
 20 biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(EM)_m;
 wherein

M is a metallic radioisotope;

WO 02/067859

PCT/US02/05155

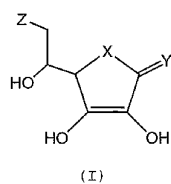
Ch is a metal chelator;
 Ln is an optional linking group;
 BM is a biomolecule; and
 m is 1 to about 10.

5

37. The method of claim 35 wherein the chelating agent prevents radiometal colloid formation during at least one of the preparation, release, storage, and transportation of the radiopharmaceutical.

10

38. A method for stabilizing a radiopharmaceutical against radiation induced degradation and at least one of (1) controlling the pH of the radiopharmaceutical and (2) preventing radiometal colloid formation; comprising
 15 contacting the radiopharmaceutical with an amount of a compound of formula (I):



20

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,
 wherein

X is O, NR¹, or CHR¹;

WO 02/067859

PCT/US02/05155

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

R¹ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with
0-5 R², (C₃-C₁₀)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-
5 C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted
with 0-5 R²;

R² is independently selected at each occurrence
from: NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and
SO₃H;

10 wherein the amount is effective to: (1) stabilize
the radiopharmaceutical against radiation induced
degradation and to at least one of (2) control the pH of
the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal
colloid formation.

15

39. The method of claim 38 wherein the amount is
effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical
against radiation induced degradation and (2) control
the pH of the radiopharmaceutical.

20

40. The method of claim 38 wherein the amount is
effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical
against radiation induced degradation and (2) prevent
radiometal colloid formation.

25

41. The method of claim 38 wherein the amount is
effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical
against radiation induced degradation, (2) control the

WO 02/067859

PCT/US02/05155

pH of the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation.

42. The method of claim 38 wherein the
5 radiopharmaceutical is a radiolabeled chelator-
biomolecule conjugate of the formula $M\text{-Ch-Ln-(BM)}_m$
wherein

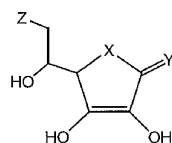
M is a metallic radioisotope;
Ch is a metal chelator;
10 Ln is an optional linking group;
EM is a biomolecule; and
m is 1 to about 10.

43. The method of claim 38 wherein the amount is
15 effective to: stabilize the radiopharmaceutical against
radiation induced degradation and to at least one of (2)
control the pH of the radiopharmaceutical and (3)
prevent radiometal colloid formation; during at least
one of the preparation, release, storage, and
20 transportation of the radiopharmaceutical.

44. A method for preparing a stable radiopharmaceutical
composition comprising contacting a radiolabeled
chelator-biomolecule conjugate of the formula $M\text{-Ch-Ln-}$
25 $(BM)_m$; and an amount of a compound of formula (I):

WO 02/067859

PCT/US02/05155



(I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

5 wherein

X is O, NR¹, or CHR¹;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

R¹ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with
 10 0-5 R², (C₃-C₁₀)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-
 C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted
 with 0-5 R²; and

R² is independently selected at each occurrence
 from: NH₂, OH, CO₂H, C(=O)NH₂, NHC(=NH)NH₂, PO₃H₂, and
 15 SO₃H;

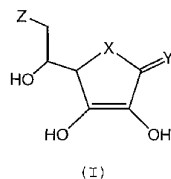
wherein the amount of the compound of formula (I)
 is effective to: (1) stabilize the radiolabeled
 chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-
 (BM)_m against radiation induced degradation and to at
 20 least one of (2) control the pH of the
 radiopharmaceutical composition and (3) prevent
 radiometal colloid formation.

WO 02/067859

PCT/US02/05155

45. A kit comprising a sealed vial comprising a predetermined quantity of a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula M-Ch-Ln-(BM)_m, and an amount of a compound of formula (I):

5



or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

10 wherein

M is a metallic radioisotope;

Ch is a metal chelator;

Ln is an optional linking group;

BM is a biomolecule;

15 m is 1 to about 10;

X is selected from O, NR¹, and CHR¹;

Y is O or S;

Z is hydroxyl or halogen;

20 R¹ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with 0-5 R², (C₃-C₁₀)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted with 0-5 R²; and

WO 02/067859

PCT/US02/05155

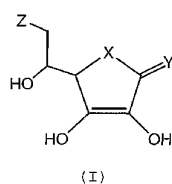
R^3 is independently selected at each occurrence from: NH_2 , OH , CO_2H , $C(=O)NH_2$, $NHC(=NH)NH_2$, PO_3H_2 , and SO_3H ;

wherein the amount is effective to: (1) stabilize
 5 the radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula $M-Ch-Ln-(BM)_m$ against radiation induced degradation and to at least one of (2) control the pH of the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation.

10

46. A kit comprising (a) a first vial comprising a predetermined quantity of a radiolabeled chelator-biomolecule conjugate of the formula $M-Ch-Ln-(BM)_m$; and an amount of a compound of formula (I):

15



or a pharmaceutically acceptable salt thereof,

20 wherein

M is a metallic radioisotope;
 Ch is a metal chelator;
 Ln is an optional linking group;

WO 02/067859

PCT/US02/05155

- BM is a biomolecule;
m is 1 to about 10;
X is selected from O, NR^1 , and CHR^1 ;
Y is O or S;
5 Z is hydroxyl or halogen;
R¹ is selected from: (C₁-C₁₀)alkyl substituted with 0-5 R², (C₃-C₁₀)cycloalkyl substituted with 0-5 R², (C₂-C₁₀)alkenyl substituted with 0-5 R², and aryl substituted with 0-5 R²; and
10 R² is independently selected at each occurrence from: NH_2 , OH, CO_2H , $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, PO_3H_2 , and SO_3H ;
wherein the amount is effective to: (1) stabilize the radiopharmaceutical against radiation induced
15 degradation and to at least one of (2) control the pH of the radiopharmaceutical and (3) prevent radiometal colloid formation; and
(b) a second vial comprising a pharmaceutically acceptable carrier or diluent.

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
6 September 2002 (06.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/067859 A3(51) International Patent Classification: A61K 51/00.
A61M 36/14

(21) International Application Number: PCT/US02/05155

(22) International Filing Date: 22 February 2002 (22.02.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 60/271,389 26 February 2001 (26.02.2001) US

(71) Applicant: BRISTOL-MYERS SQUIBB PHARMA
COMPANY (US/US); Patent Department, P.O. Box 4000,
Princeton, NJ 08543-4000 (US).(72) Inventor: LIU, Shuang; 17 Judith Road, Chelmsford, MA
01824 (US).(74) Agents: DOLAN, Peter, L. et al.; Patent Department, P.O.
Box 4000, Princeton, NJ 08543-4000 (US).(81) Designated States (national): AU, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG,
SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN,
YU, ZA, ZM, ZW.(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KI, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR,
GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).Published:
with international search report(88) Date of publication of the international search report:
28 November 2002For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/067859 A3

(54) Title: ASCORBIC ACID ANALOGS FOR METALLO-RADIOPHARMACEUTICALS

(57) Abstract: The invention relates to the use of ascorbic acid analogs as buffering reagents and chelating agents for the preparation of metallo-radiopharmaceuticals. Also, invention relates to the use of ascorbic acid as a buffering reagent, a chelating agent, and a stabilizer for the preparation and stabilization of radiopharmaceuticals and processes for making and using the same.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/05155
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 51/00; A61 M 36/14 US CL : 424/1.65 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 424/1.11, 1.65, 1.69, 9.1; 206/723, 569, 570 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EAST, BIOSIS, MEDLINE, USPTFUL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 6,066,309 A (ZAMORA et al) 23 May 2000 (23.05.2000), see entire document, especially, abstract; column 3, lines 30-68; column 4, lines 12-39; and columns 7-8, bridging paragraph.	1-46
Y	US 6,183,721 A (ALBERT et al) 06 February 2001 (06.02.2001), see entire document, especially, abstract; column 1, lines 48-68; column 2, lines 1-26; column 3, lines 15-19; column 4, lines 8-29; column 4, lines 55-62; and column 5, lines 5-28.	1-46
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 31 May 2002 (31.05.2002)		Date of mailing of the international report 28 AUG 2002
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20531 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer D. L. Jones Telephone No. (703)305-1235

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 14/435	C 0 7 K 14/435	
C 0 7 K 14/705	C 0 7 K 14/705	
C 0 7 K 16/00	C 0 7 K 16/00	
	A 6 1 K 43/00	

(81) 指定国 AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 シュアン・リユー

アメリカ合衆国 0 1 8 2 4 マサチューセッツ州チェルムズフォード、ジュディス・ロード 1 7 番

F ターム (参考) 4C076 AA12 BB11 CC50 DD38Q DD38Z DD59Q DD59Z DD60Q DD60Z FF36

FF61

4C084 AA12 MA05 NA03 ZB262

4C085 HH03 JJ02 KA03 KA09 KA11 KA29 KA32 KB02 KB07 KB09

KB10 KB11 KB12 KB15 KB41 KB44 KB55 KB56 KB82 LL18

4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA50 BA71 CA40 CA50 DA35 DA50

DA76 EA50 EA54 FA10