

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5043438号
(P5043438)

(45) 発行日 平成24年10月10日(2012.10.10)

(24) 登録日 平成24年7月20日(2012.7.20)

(51) Int.Cl.

F 1

A61K 51/00 (2006.01)A 61 K 49/02
A 61 K 49/02A
B**A61K 47/48 (2006.01)**A 61 K 49/02
A 61 K 47/48

C

請求項の数 7 (全 56 頁)

(21) 出願番号 特願2006-538954 (P2006-538954)
 (86) (22) 出願日 平成16年11月12日 (2004.11.12)
 (65) 公表番号 特表2007-511494 (P2007-511494A)
 (43) 公表日 平成19年5月10日 (2007.5.10)
 (86) 國際出願番号 PCT/GB2004/004792
 (87) 國際公開番号 WO2005/049005
 (87) 國際公開日 平成17年6月2日 (2005.6.2)
 審査請求日 平成19年9月6日 (2007.9.6)
 (31) 優先権主張番号 0326546.9
 (32) 優先日 平成15年11月14日 (2003.11.14)
 (33) 優先権主張国 英国(GB)

(73) 特許権者 305040710
 ジーイー・ヘルスケア・リミテッド
 イギリス国エイチピー7・9エヌエイ、バ
 ッキンガムシャー、リトル・チャルフォン
 ト、アメルシャム・プレイス
 (74) 代理人 100137545
 弁理士 荒川 智志
 (74) 代理人 100105588
 弁理士 小倉 博
 (74) 代理人 100129779
 弁理士 黒川 俊久

前置審査

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】阻害剤造影剤

(57) 【特許請求の範囲】

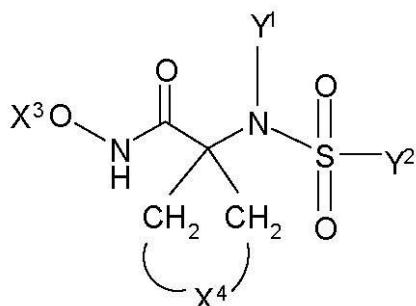
【請求項1】

次の式(I I)のP E T又はS P E C T用インビボ造影剤。

{阻害剤} - (A)_n - [造影基] (I I)

式中、{阻害剤}は以下の式(IVa)のメタロプロテイナーゼ阻害剤である。

【化1】



10

(IVa)

式中、

Y¹は-(C H₂)_w-(C=O)-Zであって、wは1~6の整数であり、ZはO H、C₁~₆アルコキシ、C₄~₁₀アリールオキシ又はN R¹R²であって、R¹及びR²

20

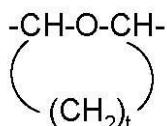
2 は各々独立にH、C₁~₆アルキル、C₃~₆シクロアルキル、C₁~₆フルオロアルキル又はC₄~₁₀アリールからなる群から選択され、

X³はH、CH₃又はCH₂Fであり、

X⁴は-(CH₂)_m- (mは、1、2又は3である)、-CH₂OCH₂-又はX⁵であり、

X⁵は次式の基であり、tは2又は3であり、

【化2】



10

Y²は式-[A¹]_p[O]_qA²の基であって、p及びqは0又は1であり、A¹はC₁~₁₀アルキレン、C₃~₈シクロアルキレン、C₁~₁₀ペルフルオロアルキレン、C₆~₁₀アリーレン又はC₂~₁₀ヘテロアリーレンであり、A²はH、C₁~₁₀アルキル、C₃~₈シクロアルキル、C₁~₁₀ペルフルオロアルキル、C₆~₁₀アリール又はC₂~₁₀ヘテロアリールであるが、ただし、p及びqが共に0である場合、A²はHではなく、

- (A)_n-はリンカー基であって、各Aは独立に-CR₂-、-CR=CR-、-CC-、-CR₂CO₂-、-CO₂CR₂-、-NRCO-、-CONR-、-NR(C=O)NR-、-NR(C=S)NR-、-SO₂NR-、-NRSO₂-、-CR₂OCCR₂-、-CR₂SCCR₂-、-CR₂NRCR₂-、C₄~₈シクロヘテロアルキレン基、C₄~₈シクロアルキレン基、C₅~₁₂アリーレン基もしくはC₃~₁₂ヘテロアリーレン基、アミノ酸、糖又は单分散ポリエチレングリコール(PEG)構成単位であり、

Rは独立にH、C₁~₄アルキル、C₂~₄アルケニル、C₂~₄アルキニル、C₁~₄アルコキシアルキル又はC₁~₄ヒドロキシアルキルから選択され、

nは0~10の整数であり、

前記造影基が、式(Iva)のメタロプロティナーゼ阻害剤のY¹の位置に結合しているとともに、哺乳類生体内への標識マトリックスメタロプロティナーゼ阻害剤の投与後に検出することができるものであって、

(i) ^{99m}Tc、¹¹¹In、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁷Ga又は⁶⁸Gaから選択される線放射体又は陽電子放射体である放射性金属イオン、

(ii) ¹²³Iである線放出型放射性ハロゲン、或いは

(iii) ¹⁸F、¹¹C又は¹³Nから選択される陽電子放出型放射性非金属から選択される。

【請求項2】

wが1、2又は3である、請求項1記載の造影剤。

【請求項3】

前記マトリックスメタロプロティナーゼ阻害剤がリガンドに結合しており、リガンドが放射性金属イオンと金属錯体を形成しており、放射性金属イオンが線放射体又は陽電子放射体である、請求項1又は請求項2記載の造影剤。

【請求項4】

請求項1乃至請求項3のいずれか1項記載の造影剤を生体適合性担体と共に哺乳類への投与に適した形態で含む医薬組成物。

【請求項5】

リガンドと請求項1記載の式(I)のマトリックスメタロプロティナーゼ阻害剤とのコンジュゲートであって、次の式IIbで表されるコンジュゲート。

{阻害剤}- (A)_n- [リガンド] (IIb)

式中、{阻害剤}、A及びnは請求項1で定義した通りである。

【請求項6】

請求項4記載の放射性医薬組成物の調製用キットであって、造影基が放射性金属イオンを含んでいて、当該キットが請求項5記載のコンジュゲートを含むキット。

40

50

【請求項 7】

請求項 4 記載の放射性医薬組成物の調製用キットであって、造影基が陽電子放出型放射性非金属又は 線放出型放射性ハロゲンを含んでいて、当該キットが前駆体を含んでおり、該前駆体が、請求項 1 乃至請求項 3 のいずれか 1 項記載のマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤の非放射性誘導体であり、非放射性誘導体が陽電子放出型放射性非金属源又は 線放出型放射性ハロゲン源との反応によって所望の放射性医薬を形成できる、キット。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

10

本発明はインビボイメージング用の画像診断造影剤に関する。本造影剤は、インビボ画像診断に適した造影基で標識したメタロプロテイナーゼ阻害剤を含む。

【背景技術】**【0002】**

マトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP) は、細胞外マトリックス (ECM) の分解又はリモデリングを媒介する 20 種以上の亜鉛依存性エンドペプチダーゼのファミリーである [Massova et al., FASEB J 12 1075 (1998)]。MMP ファミリーに属するものはいずれも血管壁のすべての成分を分解することができるため、ECM 成分の分解を伴う生理現象及び病理現象のいずれにおいても重要な役割を果たす。MMP は、細胞の挙動を制御する細胞 - マトリックス相互作用に干渉することができるため、その活性は細胞の分化、遊走、増殖及びアポトーシスのような様々なプロセスに影響を与える。生理的状況下での MMP 活性を細かく制御する負の調整制御は必ずしも適切に働くわけではない。MMP 活性の不適切な発現は、いくつかの病態における病理機序の一部を構成すると考えられている。そのため、MMP は、多くの炎症性、悪性及び変性疾患の治療用メタロプロテイナーゼ阻害剤 (MMPi) のターゲットとされている [Whittaker et al., Chem. Rev. 99, 2735 (1999)]。

20

【0003】

従って、MMP の合成阻害剤は多くの炎症性、悪性及び変性疾患の治療に有用であると考えられる。さらに、MMP の合成阻害剤がこれらの疾患の診断に有用であることも示唆されている。国際公開第 01 / 60416 号には、マトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP) 阻害剤のキレートコンジュゲート並びに診断用金属との金属錯体の調製におけるその使用が開示されている。記載された MMP 阻害剤の具体的な種類は、ヒドロキサメート類、特にスクシニルヒドロキサメートである。これらの化合物は、アテローム性動脈硬化症、心不全及び再狭窄のような細胞外マトリックス分解に関連した循環器病の診断に有用であると提案されている。好ましい MMP 阻害剤、キレート剤及びリンカーが記載されている。Zheng らの報文 [Nuc1. Med. Biol. 29 761 ~ 770 (2002)] には、陽電子放出断層撮影 (PET) トレーサー ¹¹C 及び ¹⁸F で標識した MMP 阻害剤の合成が記載されている。同報文に記載された化合物は、乳癌の非侵襲イメージングに有用であると記載されている。

30

【特許文献 1】 国際公開第 01 / 60416 号パンフレット

40

【特許文献 2】 国際公開第 91 / 01144 号パンフレット**【特許文献 3】** 米国特許第 4 885 363 号明細書**【特許文献 4】** 歐州特許出願公開第 0895988 号明細書**【特許文献 5】** 国際公開第 03 / 002489 号パンフレット**【特許文献 6】** 国際公開第 03 / 002157 号パンフレット**【非特許文献 1】** Massova et al., FASEB J 12 1075 (1998)**【非特許文献 2】** Whittaker et al., Chem. Rev. 99, 2735 (1999)**【発明の開示】**

50

【課題を解決するための手段】

【0004】

今回、造影基で標識した特定の種類のスルホンアミドヒドロキサメートマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤 (MMPi) が、インビボイメージング及び哺乳類の診断に有用な診断用造影剤であることが判明した。これらの化合物は、ナノモル未満の範囲のKiで、優れた MMP 阻害活性を示す。本発明のMMPi の尿中排泄特性は、適切なリンカー基、特にポリエチレングリコール (PEG) リンカー基の使用によって調節できる。

【0005】

本発明の造影剤は、特定のマトリックスメタロプロテイナーゼが関与することが知られている一連の病態（炎症性、悪性及び変性疾患）のインビボ画像診断に有用である。これらの病態としては、以下のものが挙げられる。

【0006】

(a) 各種 MMP が過剰発現するアテローム性動脈硬化症。MMP - 1、3、7、9、11、12、13 及びMT1-MMP のレベルの上昇が、ヒトのアテローム硬化型 plaque で検出されている [S. J. George, Exp. Opin. Invest. Drugs, 9 (5), 993 - 1007 (2000) 及び同報文の参考文献]。ヒトアテロームでの MMP - 2 の発現 [Z. Li et al., Am. J. Pathol., 148, 121 - 128 (1996)] 及び MMP - 8 の発現 [M. P. Herman et al., Circulation, 104, 1899 - 1904 (2001)] も報告されている。

10

20

【0007】

(b) 慢性心不全 (Peterson, J. T. et al., Matrix metalloproteinase inhibitor development for the treatment of heart failure, Drug Dev. Res., 2002, 55 (1), 29 - 44) には、心不全において MMP - 1、MMP - 2、MMP - 3、MMP - 8、MMP - 9、MMP - 13 及び MMP - 14 が上方制御されると報告されている。

【0008】

(c) 癌 [Vihinen et al., Int. J. Cancer, 99, p 157 - 166 (2002) では、MMP の癌への関与が概説されており、特に MMP - 2、MMP - 3、MMP - 7 及び MMP - 9 が強調されている]。

30

【0009】

(d) 関節炎 [Jackson et al., Inflamm. Res., 50 (4), p 183 - 186 (2001) 「Selective matrix metalloproteinase inhibition in rheumatoid arthritis - targeting gelatinase A activation」では、MMP - 2 が特に論じられている]。

【0010】

(e) 筋萎縮性側索硬化症 [Lim et al., J. Neurochem., 67, 251 - 259 (1996); MMP - 2 及び MMP - 9 が関与]。

40

【0011】

(f) MMP - 2、MMP - 9 及び MMP - 13 が関係すると報告されている脳転移 [Spinal. Circul. Res., 90, 520 - 530 (2002)]。

【0012】

(g) MMP - 2 及び MMP - 9 が関与すると報告されている脳血管疾患 [Lukes et al., Mol. Neurobiol., 19, 267 - 284 (1999)]。

【0013】

(h) MMP - 2 及び MMP - 9 が患部組織中で同定されているアルツハイマー病 [Backstrom et al., J. Neurochem., 58, 983 - 992 (1992)]。

50

【0014】

(i) MMP-2、MMP-3及びMMP-9が関与する神経炎症性疾患 [Mun-Bryce et al., Brain Res., 933, 42-49 (2002)]。

【0015】

(j) MMP-1、MMP-2、MMP-8及びMMP-9が上方制御されると報告されているCOPD(すなわち、慢性閉塞性肺疾患) [Segura-Valdez et al., Chest, 117, 684-694 (2000)]。

【0016】

(k) 眼病 [Kurpakus-Wheater et al., Prog. Histo. Cytochem., 36 (3), 179-259 (2001)].

10

【0017】

(l) 皮膚疾患 [Herouy, Y., Int. J. Mol. Med., 7 (1), 3-12 (2001)]。

【発明を実施するための最良の形態】

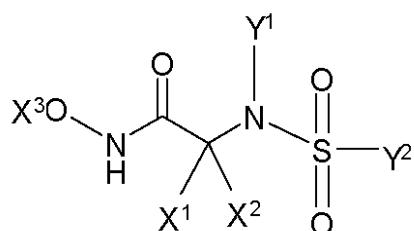
【0018】

第一の態様では、本発明は、造影基で標識した式(I)のメタロプロテイナーゼ阻害剤を含む造影剤であって、哺乳類生体内への標識マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤の投与後に造影基を検出することができる造影剤を提供する。

【0019】

【化1】

20



(I)

式中、

30

Y¹はH又は-(CH₂)_w-(C=O)-Zであって、wは1~6の整数であり、ZはOH、C_{1~6}アルコキシ、C_{4~10}アリールオキシ又はNR¹R²であって、R¹及びR²は各々独立にH、C_{1~6}アルキル、C_{3~6}シクロアルキル、C_{1~6}フルオロアルキル又はC_{4~10}アリールからなる群から選択され、

X¹及びX²はそれらが結合した炭素原子と共に脂環式又は二環式のC_{3~10}飽和環を形成しており、該飽和環はO、N及びSから選択される1又は2個のヘテロ原子を適宜含んでいてもよく、

X³はH、C_{1~3}アルキル又はC_{1~3}フルオロアルキルであり、

Y²は式-[A¹]_p[O]_qA²の基であって、p及びqは0又は1であり、A¹はC_{1~10}アルキレン、C_{3~8}シクロアルキレン、C_{1~10}ペルフルオロアルキレン、C_{6~10}アリーレン又はC_{2~10}ヘテロアリーレンであり、A²はH、C_{1~10}アルキル、C_{3~8}シクロアルキル、C_{1~10}ペルフルオロアルキル、C_{6~10}アリール又はC_{2~10}ヘテロアリールであるが、ただし、p及びqが共に0である場合、A²はHではない。

40

【0020】

式(I)において、Y¹は好ましくは-(CH₂)_w-(C=O)-Zであって、wは1、2又は3、最も好ましくは2又は3、理想的には2である。X³は好ましくはH、CH₃又はCH₂F、最も好ましくはH又はCH₃、理想的にはHである。Y²は好ましくはA²であって、A²はC_{6~10}アリール又はC_{2~10}ヘテロアリール又は-A¹[O]_qA²であり、A¹はC_{6~10}アリーレンであり、A²はC_{6~10}アリール又は

50

$C_{2 \sim 10}$ ヘテロアリールである。

【0021】

Z は好ましくは $N R^1 R^2$ であり、最も好ましくは、 R^1 及び R^2 の一方が H で、他方が H 以外から選択される。

【0022】

X^1 及び X^2 がそれらの結合した炭素原子と共に形成する適当な单環式環としては、シクロアルカン（シクロヘキサン又はシクロヘキサンなど）、ピペラジン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、テトラヒドロチオフェン及びテトラヒドロチオピランが挙げられる。適当な二環式環としては、ビシクロ [2.2.2] オクタン、ビシクロ [2.2.3] ノナン及び追加のエチレン架橋を有する二環式テトラヒドロピランが挙げられる。
X¹ 及び X² の環は、さらに、1 以上のヒドロキシリ、C_{1 ~ 3} アルコキシ又は C_{1 ~ 3} フルオロアルキル置換基を適宜含んでいてもよい。X¹ 及び X² がそれらの結合した炭素原子と共に形成する好ましい環は、C_{4 ~ 6} シクロアルキレン、又は単一のエーテル結合が組み込まれた四乃至六員環、最も好ましくは、シクロヘキサン、シクロヘキサン又はテトラヒドロピラン環である。

10

【0023】

本発明のスルホンアミドヒドロキサメートマトリックスメタロプロティナーゼ阻害剤は、好適には 100 ~ 2000 ダルトン、好ましくは 150 ~ 600 ダルトン、最も好ましくは 200 ~ 500 ダルトンの分子量を有する。阻害剤は、好ましくは合成品である。

20

【0024】

「標識」という用語は、MMPi 自体が造影基を含んでいるか、或いは造影基が以下の式 I I に示すように追加の核種として適宜リンカー基を介して結合していることを意味する。MMPi 自体が造影基を含む場合、「造影基」が MMPi の化学構造の一部を形成し、その天然存在量よりも格段に高レベルで存在する放射性又は非放射性同位体であることを意味する。こうした同位体の高又は濃縮レベルは、その同位体の天然存在量の好適には 5 倍以上、好ましくは 10 倍以上、最も好ましくは 20 倍以上、理想的には 50 倍以上、或いはその同位体の濃縮度が 90 % ~ 100 % となるレベルで存在する。「造影基」を含む MMPi の例を以下に記載するが、造影基が MMPi の化学構造中の同位体標識¹³C、¹¹C 又は¹⁸F であるように、¹³C 又は¹¹C レベルを高めた CH₃ 基及び¹⁸F レベルを高めたフルオロアルキル基が挙げられる。放射性同位元素³H 及び¹⁴C は適当な造影基ではない。

30

【0025】

「造影基」は哺乳類の体外から検出できるもの又はインビボ用に設計された検出器を用いて検出され、例えば血管内照射又は光学的検出器、例えば内視鏡又は施術内使用のために設計された放射能検出器で検出し得る。好ましい造影基は生体内投与後に非侵襲的方法で外部から検出できるものである。最も好ましい造影基は、放射性、特に放射性金属イオン、線放出型放射性ハロゲン及び陽電子放出型放射性非金属、特に SPECT 又は PET を用いた造影に適したものである。

【0026】

「造影基」は、好ましくは以下の (i) ~ (vii) から選択される。
(i) 放射性金属イオン、
(ii) 常磁性金属イオン、
(iii) 線放出型放射性ハロゲン、
(iv) 陽電子放出型放射性非金属、
(v) 過分極 NMR 活性核種、
(vi) インビボ光学イメージングに適したレポーター、
(vii) 血管内検出に適した 放射体。

40

【0027】

造影基が放射性金属イオン、すなわち放射性金属である場合、「放射性金属」という用語には、放射能をもつ遷移元素、ランタニド及びアクチニド、並びに金属主族元素が包含

50

される。半金属のヒ素、セレン及びテルルは除外される。適當な放射性金属は、陽電子放出体、例えば⁶⁴Cu、⁴⁸V、⁵²Fe、⁵⁵Co、^{94m}Tc又は⁶⁸Ga、放射体、例えば^{99m}Tc、¹¹¹In、^{113m}In又は⁶⁷Gaである。好ましい放射性金属は^{99m}Tc、⁶⁴Cu、⁶⁸Ga及び¹¹¹Inである。最も好ましい放射性金属は放射体、特に^{99m}Tcである。

【0028】

造影基が常磁性金属イオンである場合、適當なかかる金属イオンとしては、Gd(III)、Mn(II)、Cu(II)、Cr(III)、Fe(III)、Co(II)、Er(II)、Ni(II)、Eu(III)又はDy(III)が挙げられる。好ましい常磁性金属イオンはGd(III)、Mn(II)及びFe(III)であり、Gd(III)が特に好ましい。

10

【0029】

造影基が線放出型放射性ハロゲンである場合、放射性ハロゲンは¹²³I、¹³¹I又は⁷⁷Brから適宜選択される。好ましい線放出型放射性ハロゲンは¹²³Iである。

【0030】

造影基が陽電子放出型放射性非金属である場合、かかる陽電子放出体の適當なものとしては、¹¹C、¹³N、¹⁵O、¹⁷F、¹⁸F、⁷⁵Br、⁷⁶Br又は¹²⁴Iが挙げられる。好ましい陽電子放出型放射性非金属は¹¹C、¹³N、¹²⁴I及び¹⁸Fであり、特に好ましくは¹¹C及び¹⁸Fであり、最も好ましくは¹⁸Fである。

【0031】

造影基が過分極NMR活性核種である場合、かかるNMR活性核種は非ゼロ核スピンを有し、¹³C、¹⁵N、¹⁹F、²⁹Si及び³¹Pが挙げられる。これらのうち、¹³Cが好ましい、「過分極」という用語は、NMR活性核種の分極の程度がその平衡分極を超えていることを意味する。¹³Cの天然存在量(¹²Cと比較して)は約1%であり、適當な¹³C標識化合物は過分極する前に5%以上、好ましくは50%以上、最も好ましくは90%以上の存在量となるように適宜濃縮される。本発明のメタロプロテイナーゼ阻害剤の1以上の炭素原子は¹³Cで適宜濃縮され、これを次いで過分極させる。

20

【0032】

造影基がインビオ光学イメージングに適したレポーターである場合、レポーターは光学イメージング操作法で直接又は間接的に検出できる部分であればよい。レポーターは光散乱体(例えば着色又は未着色粒子)、光吸収体又は光放射体とし得る。さらに好ましくは、レポーターは発色団又は蛍光化合物のような色素である。色素は紫外乃至近赤外域の波長を有する電磁スペクトルの光と相互作用する色素とし得る。最も好ましくはレポーターは蛍光特性を有する。

30

【0033】

好ましい有機発色団及び蛍光団レポーターとしては、広範に非局在化した電子系を有する基、シアニン、メロシアニン、インドシアニン、フタロシアニン、ナフタロシアニン、トリフェニルメチル、ポルフィリン、ピリリウム色素、チアピリリアップ色素、スクアリリウム色素、クロコニウム色素、アズレニウム色素、インドアニリン、ベンゾフェノキサジニウム色素、ベンゾチアフェノチアジニウム色素、アントラキノン、ナフトキノン、インダスレン、フタロイルアクリドン、トリスフェノキノン、アゾ色素、分子内及び分子間電荷移動色素及び色素鎖体、トロポン、テトラジン、ビス(ジチオレン)鎖体、ビス(ベンゼン-ジチオレート)鎖体、ヨードアニリン色素、ビス(S,O-ジチオレン)鎖体が挙げられる。蛍光タンパク質、例えば緑色蛍光タンパク質(GFP)及び吸収/発光特性の異なるGFPの修飾物も有用である。ある種の希土類金属(例えばヨーロピウム、サマリウム、テルビウム又はジスプロシウム)の鎖体も、蛍光ナノ結晶(量子ドット)のような特定の状況で用いられる。

40

【0034】

使用し得る発色団の具体例としては、フルオレセイン、スルホローダミン101(テキサスレッド)、ローダミンB、ローダミン6G、ローダミン19、インドシアニングリー

50

ン、Cy2、Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、マリーナブルー、パシフィックブルー、オレゴングリーン88、オレゴングリーン514、テトラメチルローダミン及びAlexaFluor350、AlexaFluor430、AlexaFluor532、AlexaFluor546、AlexaFluor555、AlexaFluor568、AlexaFluor594、AlexaFluor633、AlexaFluor647、AlexaFluor660、AlexaFluor680、AlexaFluor700及びAlexaFluor750が挙げられる。

【0035】

特に好ましいのは、400nm~3μm、特に600~1300nmの可視又は近赤外域に吸収極大を有する色素である。

10

【0036】

光学イメージングモダリティ及び測定法としては、例えば、ルミネセンスイメージング、内視鏡、蛍光内視鏡、光学的密着断層撮影、透過率イメージング、時間分解透過率イメージング、共焦点イメージング、非線形顕微鏡分析、光音響イメージング、音響光学イメージング、スペクトル分析、反射スペクトル分析、干渉分析、密着干渉計、拡散光学断層撮影及び蛍光媒介拡散光学断層撮影（連続波長、時間ドメイン及び周波数ドメインシステム）及び光の散乱、吸収、分極、発光、蛍光寿命、量子収率及び消光の測定などが挙げられる。

【0037】

造影基が血管内検出に適した放射体である場合は、かかる放射体として適したものとして、放射性金属、⁶⁷Cu、⁸⁹Sr、⁹⁰Y、¹⁵³Sm、¹⁸⁶Ru、¹⁸⁸Ru又は¹⁹²I及非金属³²P、³³P、³⁸S、³⁸Cl、³⁹Cl、⁸²Br及び⁸³Brが挙げられる。

20

【0038】

造影基は式(I)のMMPiの好ましくはY¹、Y²、Y³又はX¹/X²の位置、最も好ましくはY¹又はY²の位置に結合し、Y¹が-(CH₂)_w-(C=O)-Zであるときは、Y¹の位置が特に好ましい。造影基は、Y¹=-(CH₂)_w-(C=O)-NR¹R²部分のR¹又はR²の一方と結合又は含んでいるのが特に好ましい。

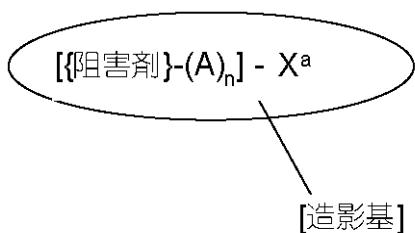
【0039】

本発明の造影剤は、好ましくは次の式(II)のものである。

30

【0040】

【化2】



(II)

40

式中、

{阻害剤}は式(I)のメタロプロテイナーゼ阻害剤であり、

- (A)_nはリンカーベースであって、各Aは独立に-CR₂-、-CR=CR-、-C-C-、-CR₂CO₂-、-CO₂CR₂-、-NRCO-、-CONR-、-NR(C=C)NR-、-NR(C=S)NR-、-SO₂NR-、-NRSO₂-、-CR₂O-CR₂-、-CR₂SCR₂-、-CR₂NRCR₂-、C₄~₈シクロヘテロアルキレン基、C₄~₈シクロアルキレン基、C₅~₁₂アリーレン基もしくはC₃~₁₂ヘテロアリーレン基、アミノ酸、糖又は単分散ポリエチレングリコール(PEG)構成単位であり、

50

Rは独立にH、C_{1～4}アルキル、C_{2～4}アルケニル、C_{2～4}アルキニル、C_{1～4}アルコキシアルキル又はC_{1～4}ヒドロキシアルキルから選択され、

nは0～10の整数であり、

X^aはH、OH、Hal、NH₂、C_{1～4}アルキル、C_{1～4}アルコキシ、C_{1～4}アルコキシアルキル、C_{1～4}ヒドロキシアルキルであるか、或いはX^aは造影基である。

【0041】

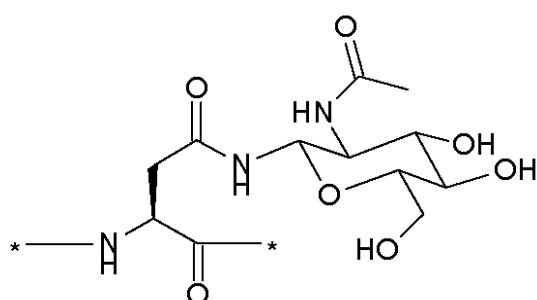
「アミノ酸」という用語は、Lアミノ酸又はDアミノ酸、アミノ酸類似体（例えば、ナフチルアラニン）又はアミノ酸擬態を意味し、それらは、天然素材又は純粋に合成由来のものであることができ、光学的に純粋、すなわち、単一の光学異性体、従ってキラルであるか、光学異性体の混合物であり得る。好ましくは、本発明のアミノ酸は、光学的に純粋である。

【0042】

「糖」という用語は、単糖類、二糖類又は三糖類を意味する。適当な糖としては、グルコース、ガラクトース、マルトース、マンノース及びラクトースが挙げられる。糖は、アミノ酸との結合を容易にするため適宜官能化してもよい。例えば、アミノ酸のグルコサミン誘導体を、ペプチド結合を介して他のアミノ酸に結合させることができる。アスパラギンのグルコサミン誘導体（Novabiochem社から市販）はその一例である。

【0043】

【化3】



10

20

式IIにおいて、X^aは好ましくは造影基である。これは、式(I I)のリンカー基-(A)_n-によってメタロプロテイナーゼ阻害剤の活性部位から造影基が遠ざかるという利点を有する。

30

これは、造影基が比較的嵩高い（例えば金属鎖体又は放射性ヨウ素原子）場合にMMP酵素への阻害剤の結合が損なわれないようにするために重要である。これは、嵩高い基が活性部位から遠ざかる自由度をもつようにするための柔軟性（例えば単純なアルキル鎖）及び/又は金属錯体を活性部位から遠ざけるシクロアルキル又はアリールのスペーサーのような剛直性の組合せによって達成することができる。

【0044】

リンカー基の性状は造影剤の生体分布を変化させるのにも使用できる。例えば、リンカーにエーテル基を導入すると、血漿タンパク質の結合を最小限にするのが容易になる。-(A)_n-が単分散ポリエチレングリコール(PEG)構成単位又はアミノ酸残基1～10個のペプチド鎖を含むと、リンカー基は生体内での造影剤の薬物動態及び血中クリアランスを変化させる機能をもつことができる。かかる「バイオモディファイアー」のリンカー基はバックグランド組織、例えば筋肉又は肝臓及び/又は血液からの造影剤のクリアランスを加速し、バックグラウンドの干渉の低減による良好な診断画像がもたらされる。バイオモディファイアーリンカー基は、肝臓を経る場合とは異なり、例えば腎臓を経る排出の特定の経路を優先するためにも使用し得る。

40

【0045】

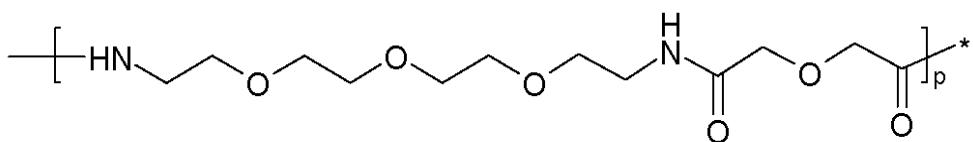
-(A)_n-がアミノ酸残基1～10個のペプチド鎖を含む場合、アミノ酸残基は好ましくはグリシン、リジン、アスパラギン酸又はセリンから選択される。-(A)_n-がPEG部分を含む場合、好ましくは、以下の式IIIA又は式IIBの単分散PEG様構

50

造のオリゴマー化で得られる単位、すなわち式 I I I A の 17 - アミノ - 5 - オキソ - 6 - アザ - 3 , 9 , 12 , 15 - テトラオキサヘプタデカン酸を含む。

【0046】

【化4】



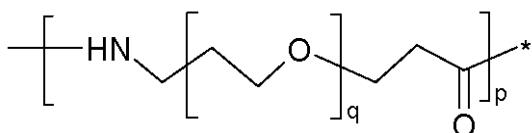
10

(IIIA)

式中、p は 1 ~ 10 の整数であり、C 末端単位 (*) は造影基に連結している。別法では、次の式 I I I B のプロピオン酸誘導体に基づく P E G 様構造も使用できる。

【0047】

【化5】



20

(IIIB)

式中、p は式 I I I A で定義した通りであり、q は 3 ~ 15 の整数である。式 I I I Bにおいて、p は好ましくは 1 又は 2 であり、q は好ましくは 5 ~ 12 である。

【0048】

リンカーカー基が P E G 又はペプチド鎖を含まない場合、好ましい - (A)_n - 基は原子が連結した骨格鎖を有し、2 ~ 10 原子、最も好ましくは 2 ~ 5 原子、特に好ましくは 2 又は 3 原子の - (A)_n - 部分をなす。2 原子の最小のリンカーカー基骨格鎖は造影基がメタロプロテイナーゼ阻害剤から十分離隔され、如何なる相互作用も最小限となるという利点を与える。

30

【0049】

アルキレン基又はアリーレン基のような非ペプチドリンカーカー基は、それが結合した M M P 阻害剤と顕著な水素結合相互作用をもたず、M M P 阻害剤にリンカーカーが巻きつかないという利点を有する。好ましいアルキレンスペーサー基は - (C H₂)_q - であり、q は 2 ~ 5 である。好ましいアリーレンスペーサーは次式のものである。

【0050】

【化6】



40

式中、a 及び b は独立に 0 、 1 又は 2 である。

【0051】

リンカーカー基 - (A)_n - は好ましくはジグリコール酸基、マレイミド基、グルタル酸、コハク酸、ポリエチレングリコール系単位又は式 I I I A の P E G 様単位を含む。

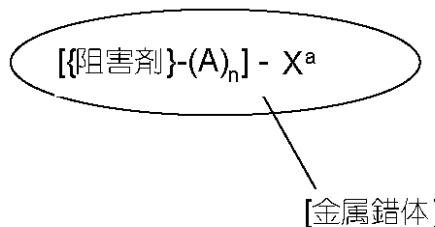
【0052】

50

造影基が金属イオンを含む場合、金属イオンは金属鎖体として存在する。かかるメタロプロテイナーゼ阻害剤の金属イオンとのコンジュゲートは好適には次の式 II a のものである。

【0053】

【化7】



10

(IIa)

式中、A、n 及び X^a は、上記の式 II で定義した通りである。

【0054】

「金属鎖体」という用語は、金属イオンと 1 以上のリガンドとの配位鎖体を意味する。金属鎖体は「トランスキレート化に対して耐性」、すなわち、金属の配位部位に対する他の潜在的な競合リガンドとリガンド交換を容易に行わないことが極めて好ましい。潜在的な競合リガンドには、ヒドロキサム酸 MMP i 部分自体及びインピトロ標品中の他の賦形剤（製剤に使用される例えは放射能保護物質又は抗微生物保存料）又は生体の内在性化合物（例えはグルタチオン、トランスフェリン又は血症タンパク質）がある。

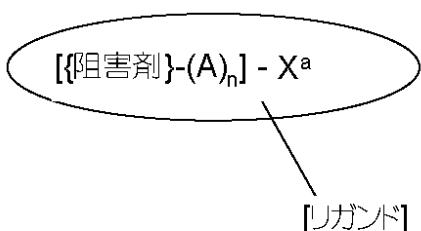
20

【0055】

式 II a の金属鎖体は次の式 II b のリガンドのコンジュゲートから誘導される。

【0056】

【化8】



30

(IIb)

式中、A、n 及び X^a は上記の式 II で定義した通りである。

【0057】

トランスキレート化に耐性である金属鎖体を形成する本発明の使用に適したリガンドとしては、（金属ドナー原子同士が炭素原子又は非配位複素環原子の非配位骨格で連結されていることによって）五又は六員キレート環が形成されるように 2 ~ 6 個、好ましくは 2 ~ 4 個の金属ドナー原子が配列したキレート剤、又はイソニトリル、ホスフィン又はジアゼニドなどの金属イオンに強力に結合するドナー原子を含む单座リガンドが挙げられる。キレート剤の部分として金属に良好に結合するドナー原子の例は、アミン、チオール、アミド、オキシム及びホスフィンである。ホスフィン類は強力な金属鎖体を形成し、单座又は二座ホスフィンであっても適當な金属鎖体を形成する。イソニトリル及びジアゼニドの線状構造は、それらがキレート剤に容易に取り込まれないようにするためであり、従って、典型的には单座リガンドとして使用される。適當なイソニトリルの例としては、t - プチルイソニトリルのような単純なアルキルイソニトリル及び m i b i (すなわち、1 - イソシアノ - 2 - メトキシ - 2 - メチルプロパン) のようなエーテル置換イソニトリルが挙

40

50

げられる。適当なホスフィンの例としては、テトロホスミン及び単座ホスフィン類、例えばトリス(3-メトキシプロピル)ホスフィンが挙げられる。適当なジアゼニドの例としては、リガンドのHYNIC系列、すなわちヒドラジン置換ピリジン又はニコチンアミドが挙げられる。

【0058】

好ましいリガンドは、キレート剤、及び動力学的に安定な金属錯体、例えばホスフィン、イソニトリル及びジアゼニドなどである。最も好ましいリガンドは、上記で定義したキレート剤である。

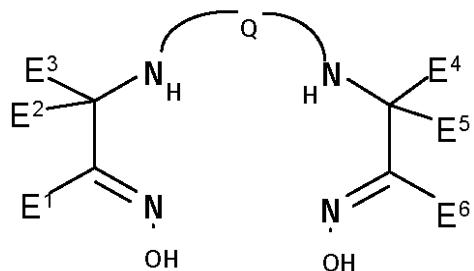
【0059】

トランスキレート化に耐性の金属鎖体を形成するテクネチウムの適当なキレート剤の例としては、特に限定されないが、以下の(i)~(v)が挙げられる。
10

(i) 次式のジアミンジオキシム。

【0060】

【化9】



10

20

式中、E¹ ~ E⁶ は各々独立に R 基であり、

各 R 基は H 又は C_{1~10} アルキル、C_{3~10} アルキルアリール、C_{2~10} アルコキシアルキル、C_{1~10} ヒドロキシアルキル、C_{1~10} フルオロアルキル、C_{2~10} カルボキシアルキル又は C_{1~10} アミノアルキルであるか、或いは 2 個以上の R 基がそれらと結合している原子と共に炭素環、複素環、飽和環又は不飽和環を形成するもので、R 基の 1 以上が MMP 阻害剤に結合しており、

Q は式 - (J)_f - の架橋基であり、

30

f は 3、4 又は 5 であり、各 J は独立に -O-、-NR- 又は -C(R)₂- であるが、ただし、- (J)_f - が、-O- 又は -NR- である J 基を最大 1 個しか含まないことを条件とする。

【0061】

好ましい Q 基は以下のものである。

Q = - (CH₂) (CHR) (CH₂) -、すなわちプロピレンアミンオキシムつまり PnAO 誘導体、

Q = - (CH₂)₂ (CHR) (CH₂)₂ -、すなわちペンチレンアミンオキシムつまり PentAO 誘導体、

Q = - (CH₂)₂ NR (CH₂)₂ -。

40

【0062】

E¹ ~ E⁶ は、好ましくは C_{1~3} アルキル、アルキルアリールアルコキシアルキル、ヒドロキシアルキル、フルオロアルキル、カルボキシアルキル又はアミノアルキルから選択される。最も好ましくは、各 E¹ ~ E⁶ 基は CH₃ である。

【0063】

MMP 阻害剤は好ましくは E¹ 又は E⁶ の R 基、又は Q 部分の R 基のいずれかで結合する。最も好ましくは、MMP 阻害剤は Q 部分の R 基に結合する。MMP 阻害剤が Q 部分の R 基に結合する場合は、R 基は好ましくはブリッジヘッド位置にある。かかる場合、Q は好ましくは - (CH₂) (CHR) (CH₂) -、- (CH₂)₂ (CHR) (CH₂)₂ - 又は - (CH₂)₂ NR (CH₂)₂ -、最も好ましくは - (CH₂)₂ 50

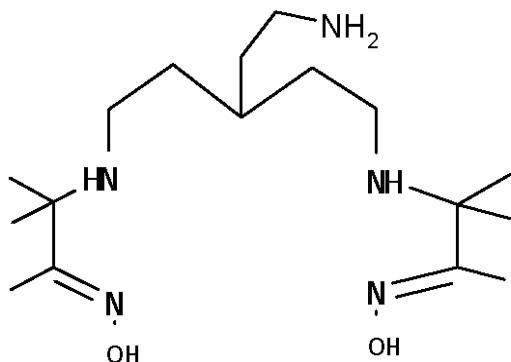
$\text{C}_2\text{H}_2(\text{CH}_2)(\text{CH}_2)_2$ - である。

【0064】

特に好ましい二官能性ジアミンジオキシムキレーターは、次式のものであり、MMP阻害剤はブリッジヘッド- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 基を介して結合している。

【0065】

【化10】



10

(キレーター1)

(i i) チオールトリアミドドナーセットを有する N_3S リガンド、例えばMAG₃ (メルカプトアセチルトリグリシン) 及び関連リガンド、又はジアミドピリジンチオールドナーセットを有するもの、例えばPic a。

20

(i i i) ジアミンジチオールドナーセットを有する N_2S_2 リガンド、例えばBAT又はECD (すなわちエチルシスティネート二量体) 又はアミドアミンジチオールドナーセットを有するもの、例えばMAMA。

(i v) テトラミン、アミドトリアミン又はジアミンジアミンドナーセットを有する開環又はマクロ環状リガンドである N_4 リガンド、例えばサイクラム、モノオキシサイクラム又はジオキシサイクラム。

(v) ジアミンジフェノールドナーセットを有する N_2O_2 リガンド。

【0066】

30

上記リガンドは特にテクネチウム、例えば ^{99}mTc 又は ^{99}mTc との錯形成に適しており、Jurisson et al [Chem. Rev., 99, 2205-2218 (1999)] にさらに詳細に記載されている。これらのリガンドは、他の金属、例えば銅 (^{64}Cu 又は ^{67}Cu)、バナジウム (例えば ^{48}V)、鉄 (例えば ^{52}Fe) 又はコバルト (例えば ^{55}Co) にも有用である。他の適当なリガンドとしては、Sandoz の国際公開第91/01144号に記載されたものがあり、インジウム、イットリウム及びガドリニウムに特に適したリガンド、特にマクロ環アミノカルボキシレート及びアミノホスホン酸リガンドが挙げられる。ガドリニウムの非イオン系 (すなわち中性) 金属鎖体を形成するリガンドは公知であり、米国特許第4885363号に記載されている。放射性金属イオンがテクネチウムである場合は、リガンドは好ましくは四座キレート剤である。テクネチウムに対する好ましいキレート剤はジアミンジオキシム又は上記 N_2S_2 又は N_3S のドナーセットを有するものである。

40

【0067】

多座ヒドロキサム酸はキレート剤であり、 ^{99}mTc を始めとする放射性金属と金属錯体を形成することが知られている [Safavy et al, Bioconj. Chem., 4, 194~198 (1993)]。しかし、本発明者らは、式(I)においてX³がHである場合のような单座ヒドロキサム酸である場合、ヒドロキサム酸MMPiが放射性金属の結合リガンドと効果的に競争し得ることを見出した。従って、X³がHである場合、リガンドの選択には特別な注意が必要である。すなわち、望ましくない [ヒドロキサム酸] - [放射性金属] の金属錯体の形成を避けるため、放射性金属のヒドロキサム酸

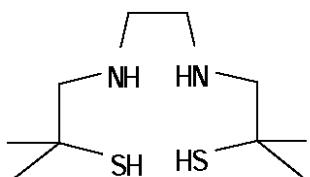
50

MMPiと効果的に競争するリガンドを選択することが必要である。かかるリガンドの適当なものとしては、ホスフィン；イソニトリル；テトラミン、アミドトリアミン又はジアミドジアミンドナーセットを有するN4キレート剤；チオールトリアミンドナー又はジアミドピリジンチオールドナーセットを有するN3Sキレート剤；或いはBATなどのジアミンジチオールドナーセット又はMAMAなどのアミドアミンジチオールドナーセットを有するN2S2キレート剤が挙げられる。かかるリガンドの好ましいものとしては、上記のN4、N3S及びN2S2キレート剤、最も好ましくはN4テトラミン及びN2S2ジアミンジチオール又はジアミドジチオールキレート剤、特にBATとして知られるN2S2ジアミンジチオールキレーターが挙げられる。

【0068】

10

【化11】



BAT

20

マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤は、結合が血中で容易に代謝されない態様で金属鎖体に結合するのが極めて好ましい。かかる代謝が起これば標識メタロプロテイナーゼ阻害剤が所望の生体内標的部位に到達する前に金属鎖体が切断されるからである。従つてマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤は好ましくは容易に代謝されない結合を介して本発明の金属鎖体に共有結合する。

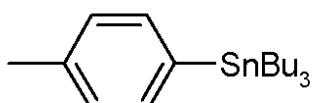
【0069】

造影基が放射性ハロゲン、例えばヨウ素である場合は、MMP阻害剤は以下の要素、すなわち：非放射性ハロゲン原子、例えばアリールのヨウ化物又は臭化物（放射性ヨウ素交換を可能とするため）、活性化アリール環（例えばフェノール基）、有機金属前駆体化合物（例えばトリアルキルスズ又はトリアルキルシリル）、有機前駆体、例えばトリアゼン又は求核置換反応のための良好な脱離基、例えばヨードニウム塩を含むように適宜選択される。放射性ハロゲン（例えば¹²³I及び¹⁸F）を取り込む方法は、Bolton、[J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485-528 (2002)]に記載されている。放射性ハロゲン、特にヨウ素が結合することができる適当なアリール基の例を以下に示す。

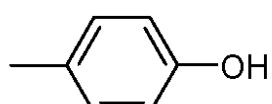
【0070】

30

【化12】



40

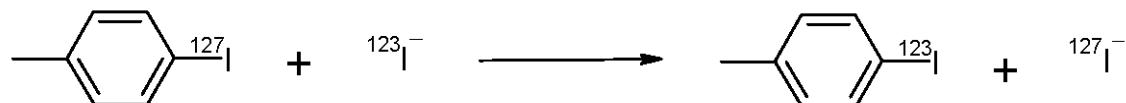


両者共に芳香族環上への容易な放射性ヨウ素置換を可能とする置換基を含んでいる。放射性ヨウ素を含む別の置換基は、例えば以下に示すような放射性ハロゲン交換による直接ヨウ素化によって合成できる。

【0071】

50

【化13】



造影基がヨウ素の放射性同位体である場合は、放射性ヨウ素原子は好ましくは芳香族環、例えばベンゼン環又はビニル基に共有結合で直接結合する。飽和脂肪族系に結合したヨウ素原子は生体内代謝を受けやすく、放射性ヨウ素が消失しやすいことが知られているからである。

10

【0072】

造影基がフッ素の放射性同位体（例えば¹⁸F）を含む場合は、放射性ハロゲン化は、アルキルプロミド、アルキルメシレート又はアルキルトリシレートのような良好な脱離基を有する適当な前駆体との¹⁸F-フロリドの反応を用いた直接標識によって実施し得る。¹⁸Fは、N-(CH₂)₃¹⁸Fを得るために¹⁸F(CH₂)₃OMs (Msはメシレート)のようなアルキル化剤を用いたアミン前駆体のN-アルキル化、或いは¹⁸F(CH₂)₃OMs又は¹⁸F(CH₂)₃Brを用いたヒドロキシル基のO-アルキル化によって導入することもできる。¹⁸Fは、¹⁸F(CH₂)₃OH反応物を用いたN-ハロアセチル基のアルキル化によって導入することもでき、-NH(CO)CH₂O(CH₂)₃¹⁸F誘導体を生じる。アリール系に関しては、アリールジアゾニウム塩からの窒素の¹⁸F-フロリド求核置換、アリールニトロ化合物又はアリール第四級アンモニウム塩がアリール-¹⁸F誘導体への適切な経路である。

20

【0073】

式(I)の第一級アミン含有MMPiも、Kahn他 [J. Lab. Comp. Radiopharm. 45, 1045~1053 (2002)] 及びBorch他 [J. Am. Chem. Soc. 93, 2897 (1971)] に教示されているように、¹⁸FC₆H₄-CHOを用いる還元的アミノ化によって¹⁸F標識することができる。この方法は、アリール第一級アミン例えばフェニル-NH₂又はフェニル-CH₂NH₂基を含む化合物などにも有効に応用することができる。

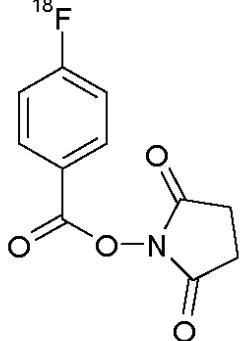
30

【0074】

式(I)のアミン含有MMP阻害剤は、次式のような¹⁸F標識活性エステルとの反応で¹⁸Fで標識することもでき、アミド結合で結合した生成物を生じる。

【0075】

【化14】



40

上記N-ヒドロキシスクシンイミドエステル及びそのペプチド標識のための使用は、Vaidyanathan他[Nucl. Med. Biol., 19(3), 275~281 (1992)] 及びJohnstrom他[Clin. Sci., 103 (Suppl. 48), 45~85 (2002)] に教示されている。

【0076】

50

¹⁻⁸F 標識誘導体の合成経路の詳細は、Bolton, J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485~528 (2002) に記載されている。

【0077】

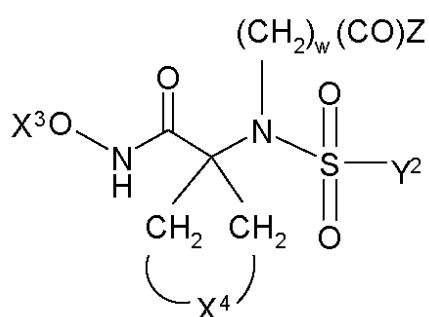
X³位置のPET放射性同位体標識の導入は、Fei他 [J. Lab. Comp. Radiopharm., 46, 343~351 (2003)] 又はZheng他 [Nucl. Med. Biol., 30, 753~760 (2003)] に教示されているように、例えば¹¹CH₃OSO₂CF₃のようなトリフレート誘導体を用いた対応ヒドロキサム酸誘導体 (X¹=H) のO-アルキル化によって達成し得る。¹¹C PET放射性標識は、Zheng他 [Nucl. Med. Biol., 31, 77~85 (2004)] に教示されているように、上記トリフレート誘導体を用いたフェノール性水酸基のアルキル化によっても導入できる。¹¹Cでのその他の標識法は、Antoni他 [「Handbook of Radiopharmaceuticals」、M.J. Welch及びC.S. Redvany (編者)、Wiley (2003)、第5章、141~194] に教示されている。

【0078】

本発明の好ましいマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤は次の式IVのものである。

【0079】

【化15】



(IV)

式中、

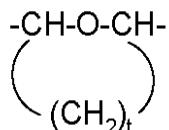
Y²、w 及び Z は上記で定義した通りであり、

X³ は H、CH₃ 又は CH₂F であり、

X⁴ は - (CH₂)_m - (m は、1、2 又は 3 である)、-CH₂OCH₂- 又は X⁵ であり、X⁵ は次式の基であり、t は 2 又は 3 である。

【0080】

【化16】



式 (IV)において、X³ は、好ましくは H 又は CH₃、最も好ましくは H であり、X⁴ は、好ましくは - (CH₂)₂ - 、-CH₂OCH₂- 又は t が 2 に等しい X⁵ 基である。X⁴ は、最も好ましくは - (CH₂)₂ - 又は -CH₂OCH₂- である。式 (IV) の好ましい Y²、w 及び Z 基は上記の式 (I) で記載した通りである。

【0081】

造影剤が式IVのMMP阻害剤を含み、造影基が線放出型放射性ハロゲンである場合、造影基は、好ましくは Y²、Z 又は X⁴ 置換基のいずれか、最も好ましくは Y² 又は Z 置換基に結合している。造影基が陽電子放出型放射性非金属である場合、好ましくは X³

10

20

30

40

50

、 X^4 、 Y^2 又は Z 、最も好ましくは X^4 又は Z の位置に結合している。 X^3 がHである場合、陽電子放出型放射性非金属は、最も好ましくは Z 又は X^4 の位置、最も好ましくは Z の位置に結合している。

【0082】

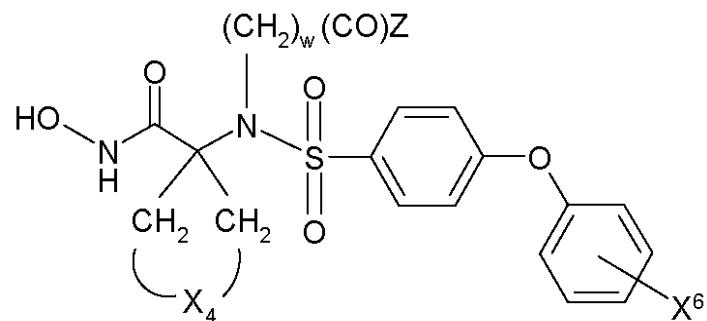
造影基が放射性又は常磁性金属イオンである場合は、 X^4 又は Z 置換基の一方は、好ましくは造影基に結合又は造影基を含む。最も好ましくは式IVの Z 置換基は、放射性又は常磁性金属イオン造影基に好ましくは結合又は造影基を含む。

【0083】

本発明の好ましいマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤は次の式Vのものである。

【0084】

【化17】



10

20

(V)

式中、

X^6 はH a l、R¹又はOR¹であり、R¹は、C_{1~3}アルキル又はC_{1~3}フルオロアルキルである。

【0085】

式(V)の好ましい X^4 、 w 及び Z は上記の式(IV)で記載した通りである。 w は、最も好ましくは2である。 X^6 は、好ましくはF、最も好ましくは4-フルオロである。

【0086】

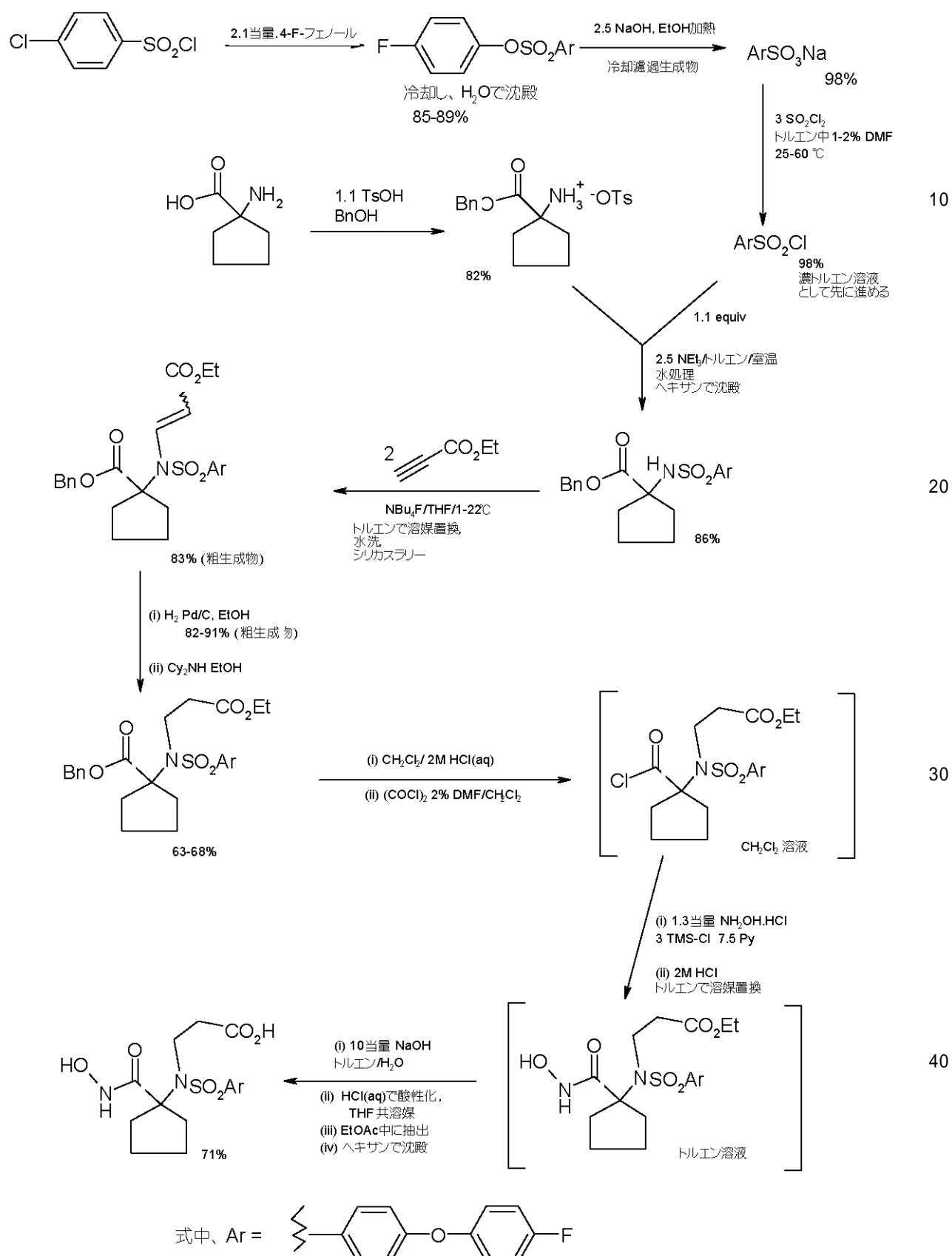
本発明の MMP 阻害剤化合物は、以下のスキーム1にまとめた通り調製することができる。

【0087】

30

【化18】

スキーム1：化合物1の合成



類似の MMPi 化合物 27 の合成は、欧州特許出願公開第 0895988 号及び実施例 5 に記載されている。合成法の文献は、Skiles 他の総説 [Curr. Med. Chem., 8, 425~474 (2001)] に挙げられている。

【0088】

本発明の造影剤が放射性又は常磁性金属イオンを含む場合、金属イオンは適宜、金属鎖体として存在する。かかる金属鎖体は適宜、式IIbのコンジュゲートと適當な金属イオンとの反応で調製される。式IIbのMMP阻害剤のリガンドコンジュゲート又はキレーターコンジュゲートは二官能性キレート法で調製できる。すなわち、官能基を結合したリガンド又はキレート剤の調製は周知である（それぞれ「二官能性リンカー」又は「二官能性キレート」）。結合させる官能基としては、アミン、チオシアネート、マレイミド及び活性エステル、例えばN-ヒドロキシスクシンイミド又はペントフルオロフェノールが挙げられる。本発明のキレーター-1はアミン官能性付与二官能性キレートの一例である。B A Tキレーターコンジュゲートの調製に使用できるチオラクトン系二官能性キレートについては、Baidoo他[Bioconj. Chem., 5, 114~118 (1994)]に記載されている。テクネチウム又はレニウムトリカルボニルコアの錯化に適した二官能性キレートは、Stichelberger他[Versatile synthetic approach to new bifunctional chelating agents tailor made for labeling with the fac-[M(CO)₃]⁺ core (M=Tc, ^{99m}Tc, Re): synthesis, in vitro, and in vivo behavior of the model complex [M(APPA)(CO)₃] (appa=[(5-アミノペンチル)-2-イル-メチル-アミノ]-酢酸); Nucl. Med. Biol., 30, 465~470 (2003)]に記載されている。二官能性HYNICリガンドは、Edwards他[Bioconj. Chem., 8, 146 (1997)]に記載されている。かかる二官能性キレートは、所望のコンジュゲートを形成するためのマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤上の適當な官能基と反応させることができる。阻害剤上のかかる適當な官能基としては、以下のものが挙げられる。

カルボキシル類（アミン官能性付与二官能性キレーターとのアミド結合形成用）、アミン類（カルボキシル又は活性エステル官能性付与二官能性キレーターとのアミド結合形成用）、ハロゲン類、メシレート類及びトシレート類（アミン官能性付与二官能性キレーターのN-アルキル化用）、及びチオール類（マレイミド官能性付与二官能性キレーターとの反応用）。

【0089】

本発明のMMP阻害剤の放射標識は「前駆体」を用いて好適に実施できる。造影基が金属イオンを含む場合は、かかる前駆体は後記の第四の実施形態で説明する通り、好適にはMMP阻害剤とリガンドとの「コンジュゲート」を含む。造影基が非金属放射性同位体、すなわち 線放出型放射性ハロゲン又は陽電子放出型放射性非金属を含む場合、かかる「前駆体」は好適には非放射性物質を含み、所望の非金属放射性同位体の好適な化学的形態との化学反応を最小限の段階数（理想的には單一段階）実施でき、多大な精製を必要性とせず（理想的にはそれ以上精製せず）に所望の放射能をもつ生成物を得ることができるように設計される。かかる前駆体は好適には良好な化学純度で得ることができ、適宜滅菌形態で供給される。

【0090】

本発明のMMP阻害剤の放射標識のための「前駆体」（リガンドコンジュゲートを含む）は以下の通り製造できると考えられる。

【0091】

-N(CH₂)₂OH又は-N(CH₂)₃OH誘導体の末端-OH基はトシリ又はメシリ基又はプロモ誘導体に転化し、次にこれを用いてアミノ官能性付与キレーターを結合すればよい。¹⁸F標識PET造影剤を得るため、上記前駆体のトシレート、メシレート又はプロモ基を[¹⁸F]フッ化物で置き換えてよい。

【0092】

放射性ヨウ素誘導体は対応するフェノール前駆体から調製することができる。アルキル

プロミド誘導体は、アミン官能性を付与したキレーターのN - アルキル化に使用することができる。ヨウ化フェニル誘導体もまた、放射性ヨウ素化合物の有機金属前駆体、例えばトリアルキルスズ又はトリメチルシリル(TMS)前駆体に転化することができる。ヨウ化フェニル誘導体は、また、¹⁸Fフッ化物による放射性フッ素化のためのアリールヨードニウム前駆体に転化することもできる。

【0093】

第一級アミン官能性を付与したMMP阻害剤は、酸無水物と反応してタイプ-N(CO)(CH₂)₃CO₂HのN-官能性とした前駆体を生じさせることができ、それを次に二官能性アミンを含有するリガンドに結合させることができる。かかる第一級アミン置換MMPiは、プロモ誘導体をベンジルアミンでアルキル化した後、ベンジル保護基を木炭上のパラジウム触媒を使用する水素化のような標準的な条件下で除去することによって調製することができる。10

【0094】

アミン官能性を付与したMMPiは、カルボキシル又は活性エステル官能性付与2官能性キレーターと直接又はリンカーを介して結合することができる。かかる化合物は、また、¹⁸F標識に適したアルキル化剤例えば¹⁸F(CH₂)₂OTS(TSはトシレート基)又は¹⁸F(CH₂)₂OMs(Msはメシレート基)と反応させてN(CH₂)₂¹⁸F置換基を有する対応するN-官能性付与アミン誘導体を生じさせることができる。別法では、アミンを最初に塩化クロロアセチルと反応させて-N(CO)CH₂ClのN-誘導体化したアミドを生じさせ、続いてHS(CH₂)₃¹⁸F又はHO(CH₂)₃¹⁸Fと反応させてそれぞれ-N(CO)CH₂S(CH₂)₃¹⁸F及び-N(CO)CH₂O(CH₂)₃¹⁸Fを生じさせる。20

【0095】

本発明の放射性金属鎖体は、適当なpHで式IIaのリガンドコンジュゲートに適当な酸化状態の放射性金属の溶液を反応させることにより調製することができる。溶液は好ましくは金属と弱く錯形成するリガンド(例えばグルコネート又はシトレーント)を含み、すなわち放射性金属鎖体はリガンドの交換又はトランスキレート化により調製する。かかる条件は金属イオンの加水分解のような不都合な副反応を抑制するのに有用である。放射性金属イオンが^{99m}Tcの場合は、通常の出発材料は⁹⁹Mo発生物質に由来のナトリウムペルテクネートである。テクネチウムは比較的非反応性であるTc(VII)酸化状態の^{99m}Tcペルテクネート中に存在する。そのため酸化状態の低いTc(I)~Tc(V)のテクネチウム鎖体の調製は通常は錯形成を促進するために、ナトリウムジチオナイト、ナトリウムビサルファイト、アスコルビン酸、ホルムアミジンスルフィン酸、スズイオン、Fe(II)又はCu(I)のような適当な薬学的に許容される還元剤の添加を必要とする。薬学的に許容される還元剤は好ましくはスズ塩、最も好ましくは塩化スズ、フッ化スズ又は酒石酸スズである。30

【0096】

造影基が過分極NMR活性核種、例えば過分極¹³C原子である場合、所望の過分極化合物は適当な¹³C富化ヒドロキサム酸誘導体への過分極ガス(例えば¹²⁹Xe又は³He)からの分極交換により調製することができる。40

【0097】

第二の態様では、本発明は哺乳類への投与に適した形態の生体適合性担体と共に上記造影剤を含む医薬組成物を提供する。「生体適合性担体」とは流体、特に液体であり、組成物が生理学的耐容性をもち、すなわち、毒性又は予定外の不快感を伴うことなく哺乳類生体内に投与できるように造影剤を懸濁又は溶解できるものである。生体適合性担体は適宜、注射用担体液体、例えば滅菌された発熱物質非含有の注射用水、水溶液、例えば生理食塩水(注射用の最終生成物が等張性又は非低張性であるように好都合に平衡されていてよい)、浸透圧調節物質(例えば生体適合性対イオンを有する血漿中カチオンの塩)、糖類(例えばグルコース又はスクロース)、糖アルコール(例えばソルビトール又はマンニトール)、グリコール(例えばグリセロール)又は他の非イオン性ポリオール物質(例えば

ポリエチレングリコール、プロピレングリコールなど)の1種以上の水溶液である。

【0098】

第三の態様では、本発明は、哺乳類への投与に適した形態の生体適合性担体(上記で定義)と共に造影基が放射性である上記造影剤を含む医薬組成物を提供する。かかる放射性医薬組成物は無菌状態を維持しながら皮下注射用の針で1回又は複数回穿刺するのに適したシール(例えばクリンプドオンセプタムシール蓋)と共に提供される何れかの容器中で供給されるのが適している。かかる容器は単回又は多数回の患者用量を含有することができる。好ましい多用量の容器には、多数回の患者用量を含む單一の大型バイアル(例えば $10 \sim 30 \text{ cm}^3$ 容量)を含み、これにより単回分の患者用量を臨床用等級のシリソジ内に様々な時間間隔で臨床状況に適した製剤の有効期限内に取り出すことができる。充填済みシリソジはヒト用単回用量を含むように設計され、従って好ましくは使い捨て又は他の臨床用途に適したシリソジである。充填済みシリソジは適宜放射線量からオペレーターを保護するためにシリソジシールドと共に提供してよい。適當なかかる放射性医薬品用シリソジシールドは当該分野で知られており、好ましくは鉛又はタンゲステンを含む。10

【0099】

造影基が ^{99}mTc を含む場合、画像診断用放射性医薬品に適した放射線の含量は生体内で造影される部位、取り込み及び標的のバックグラウンドに対する比に応じて、 ^{99}mTc の $180 \sim 1500 \text{ MBq}$ の範囲である。

【0100】

本発明の放射性医薬品は、以下の第五及び第六の実施形態に記載のキットにより調製することができる。別法では、放射性医薬品は、所望の滅菌製品を生じさせるために無菌製造条件下で調製することができる。放射性医薬品は、また、非無菌条件下で調製した後に、例えば線照射、高圧蒸気殺菌、乾式加熱又は化学的処理(例えばエチレンオキシドによる)を用いる最終的な殺菌を続けてもよい。好ましくは、本発明の放射性医薬品はキットから調製する。20

【0101】

第四の態様では、本発明は式(I)のマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤とリガンドのコンジュゲートを提供する。リガンドコンジュゲートは放射性金属イオン又は常磁性金属イオンのいずれかで標識されたマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤の製造に適している。好ましくはリガンドコンジュゲートは上記で定義した式IIbを有する。最も好ましくはリガンドコンジュゲートのMMP阻害剤は上記で定義した式IVを有する。本発明の第四の態様のコンジュゲートのリガンドは、好ましくはキレート剤である。好ましくはキレート剤は、ジアミンジオキシム、 N_2S_2 又は N_3S ドナーセットを有する。30

【0102】

第五の態様では、本発明は、造影基が、リガンドの式(I)のマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤とのコンジュゲートを含む放射性金属を含む上記の放射性医薬組成物を調製するための非放射性キットを提供する。放射性金属が ^{99}mTc である場合はキットは生体適合性の還元剤を適切にはさらに含む。リガンドコンジュゲート、及び好ましい態様は、上の第四の態様に記載されている。

【0103】

かかるキットは例えば血流中への直接の注射によるヒトへの投与に適した滅菌された放射性医薬品を生じるように設計される。 ^{99}mTc についてはキットは、好ましくは凍結乾燥され、 ^{99}mTc 放射性同位体発生物質由来の滅菌 ^{99}mTc -ペルテクネテート(TcO_4^-)と共に希釈再調製することによりそれ以上操作せずにヒトへの投与に適した溶液を与えるように設計されている。適當なキットは、無菌状態及び/又は放射能安全性と、さらに適宜不活性ヘッドスペースガス(例えば窒素又はアルゴン)を維持することを可能とし、一方シリソジによる溶液の追加及び引き出しを可能にする密封容器を含む。好ましいかかる容器は、気密クロージャがオーバーシール(一般的にはアルミニウム製)と共に圧着されているセプタム密封バイアルである。かかる容器はクロージャが、必要に応じて、例えばヘッドスペースのガスを交換するか又は溶液からガスを抜くときに真空に耐4050

えることができるという追加の利点を有する。キットは、ナトリウムジチオナイト、ナトリウムビサルファイト、アスコルビン酸、ホルムアミジンスルフィン酸、スズイオン、Fe (II) 又はCu (I) のような生体適合性の還元剤と共に遊離の塩基塩又は酸塩のいずれかの形態のリガンド又はキレーターコンジュゲートを含む。生体適合性還元剤は好ましくはスズ塩、例えば塩化スズ又は酒石酸スズなどである。別法ではキットは、放射性金属を添加すると金属交換反応（すなわち、金属の転換）で所望の生成物を生じる金属錯体を適宜含有していてもよい。

【0104】

非放射性キットは適宜さらにトランスキレート剤、放射能保護剤、抗微生物保存料、pH調節剤又は充填剤のような別の成分を含んでいてもよい。「トランスキレート剤」とは急速に反応してテクネチウムと弱い鎖体を形成し、次いでリガンドにより置き換えられる化合物である。これによりテクネチウム錯体形成と競合するペルテクネテートの急速な還元による還元加水分解テクネチウム (RHT) の形成の危険性が最小限となる。適当なかかるトランスキレート剤は、弱い有機酸、すなわち3~7のpKaを有する有機酸と、生体適合性のカチオンの塩である。適当なかかる弱い有機酸は、酢酸、クエン酸、酒石酸、グルコン酸、グルコヘプトン酸、安息香酸、フェノール又はホスホン酸である。従って適当な塩は、酢酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、グルコン酸塩、グルコヘプトン酸塩、安息香酸塩、フェノレート又はホスホン酸塩である。好ましいかかる塩は酒石酸塩、グルコン酸塩、グルコヘプトン酸塩、安息香酸塩又はホスホン酸塩であり、最も好ましくはホスホン酸塩であり、特にジホスホン酸塩である。好ましいかかるトランスキレート剤はMDP、すなわちメチレンジホスホン酸の生体適合性カチオンとの塩である。「生体適合性カチオン」という用語は、イオン化した負帯電アニオンと塩を形成する正帯電した対イオンを意味し、正帯電した対イオンは、また、無毒性であり、従って哺乳類生体、特に人体に投与するのに適している。適当な生体適合性カチオンの例としては、アルカリ金属のナトリウム又はカリウム、アルカリ土類金属のカルシウム及びマグネシウム、並びにアンモニウムイオンが挙げられる。

【0105】

「放射能保護剤」という用語は水の放射線分解で生じる酸素含有フリーラジカルのような高度な反応性を有するフリーラジカルを捕獲することにより酸化還元過程のような分解反応を抑制する化合物を意味する。本発明の放射能保護剤はアスコルビン酸、p-アミノ安息香酸（すなわち4-アミノ安息香酸）、ゲンチシン酸（すなわち2,5-ジヒドロキシ安息香酸）及び上記生体適合性カチオンとのこれらの塩から適宜選択される。

【0106】

「抗微生物保存料」という用語は、細菌、酵母又はカビのような潜在的に有害な微生物の生育を抑制する薬剤を意味する。抗微生物保存料はまた用量に応じてある程度の殺菌作用も有する。本発明の抗微生物保存料の主な役割は、希釈再調製後の放射性医薬組成物中、すなわち放射性診断用品自身中の何れかのかかる微生物の生育を抑制することである。しかし、抗微生物保存料は、また、適宜希釈再調製前の本発明の非放射性キットの成分1種以上中の潜在的に有害な微生物の生育の抑制に使用し得る。適当な抗微生物保存料としては、パラベン類、すなわちメチル、エチル、プロピル又はブチルパラベン又はこれらの混合物、ベンジルアルコール、フェノール、クレゾール、セトリミド及びチオメルサールが挙げられる。好ましい抗微生物保存料はパラベン類である。

【0107】

「pH調節剤」という用語は、希釈再調製キットのpHがヒト又は哺乳類への投与のための許容限度（約pH4.0~10.5）内とするために有用な化合物又は化合物の混合物を意味する。かかるpH調節剤として適当なものとしては、薬学的に許容される緩衝物質、例えばトリシン、ホスフェート又はTRIS [すなわちトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン] 及び薬学的に許容される塩基、例えば炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム又はこれらの混合物が挙げられる。コンジュゲートが酸の塩の形態で用いられる場合は、pH調節剤は適宜、キットのユーザーが多段階手順の一部としてpHを調節できるように

10

20

30

40

50

個別のバイアル又は容器内に入れて提供することができる。

【0108】

「充填剤」という用語は、製造及び凍結乾燥の間の材料の取り扱いを容易にする薬学的に許容される增量剤を意味する。適當な充填剤としては、塩化ナトリウムのような無機塩及び水溶性糖類又は糖アルコール、例えばスクロース、マルトース、マンニトール又はトレハロースが挙げられる。

【0109】

第六の態様では、本発明は造影基が非金属放射性同位体、すなわち 線放出型放射性ハロゲン又は陽電子放出型放射性非金属を含む放射性医薬組成物の製造用キットを提供する。かかるキットは、滅菌放射性同位体源との反応により最小数の操作で所望の放射性薬品が得られるように、好ましくは無菌非発熱物質の形態で、以下で記述する「前駆体」を含む。かかる考え方は、放射性同位体が比較的短い半減期を有する放射性医薬品に関して、取り扱いの容易さとこれによる放射線薬剤師に対する低減された放射線量の観点から、特に重要である。従って、かかるキットの希釈再調製のための反応媒体は好ましくは水性であり、哺乳類への投与に適した形態である。前駆体は、上の第四の実施形態について記した密封容器に入れて好ましくは供給する。

10

【0110】

「前駆体」は、所望の非金属放射性同位体の好適な化学的形態をした化学反応が所望の放射能をもつ生成物を生じさせるために最少の段階数（理想的には単一の段階）と大した精製を必要とせず（理想的にはそれ以上精製せず）に実施することができるよう設計された滅菌非発熱性形態をしたマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤の非放射性誘導体を適切には含む。かかる前駆体は、良好な化学的純度で都合よく得ることができる。適當な前駆体は、BoltonのJ. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485-528 (2002)に記載されている例からくるものである。

20

【0111】

この実施形態の好ましい前駆体は、求電子又は求核ハロゲン化のいずれかを受け、アルキルハライド、フルオロアルキルハライド、トシレート、トリフレート（すなわち、トリフルオロメタンスルホネート）又はメシレートから選択されるアルキル化剤で容易にアルキル化され、或いはチオール部分をアルキル化してチオエーテル連鎖を形成する誘導体を含む。第一のカテゴリーの例は、以下の（a）～（c）である。

30

(a) トリアルキルスタンナン（例えば、トリメチルスタンニル又はトリブチルスタンニル）又はトリアルキルシラン（トリメチルシリル）などの有機金属誘導体、

(b) ハロゲン交換のための非放射性ヨウ化アルキル又は臭化アルキル及び求核ハロゲン化のためのアルキルトシレート、メシレート又はトリフレート、

(c) 求電子ハロゲン化に向けて活性化された芳香環（例えばフェノール）及び求核ハロゲン化に向けて活性化された芳香環（例えばアリールヨードニウム、アリールジアゾニウム、ニトロアリール）。

【0112】

容易にアルキル化を受ける好ましい誘導体は、アルコール、フェノール又はアミン基、特にフェノール類及び立体的に込み入っていない第一級又は第二級アミンである。

40

【0113】

チオール含有放射性同位体反応物をアルキル化する好ましい誘導体は、N-ハロアセチル基、特にN-クロロアセチル及びN-ブロモアセチル誘導体である。

【0114】

前駆体は、無菌製造条件下で使用して所望の滅菌非発熱性物質を生じさせることができる。前駆体は、また、非無菌条件下で調製した後に、例えば 線照射、高圧蒸気殺菌、乾式加熱又は化学的処理（例えばエチレンオキシドによる）を用いる最終的な殺菌を続けてもよい。好ましくは、前駆体は、滅菌非発熱性の形態で使用する。

【0115】

式IにおけるX³がHである場合、式IのMMPiに対する適當な前駆体はそれ故X³

50

がヒドロキサム酸部分に対する保護基 (P^G) である誘導体を含む。「保護基」という用語は、望ましくない化学反応を抑制又は抑圧するが、十分に反応性であるように設計されており、その結果、分子の他の部分を変えない十分にマイルドな条件下で問題になっている官能基からそれが開裂することができる基を意味する。脱保護した後、所望の生成物が得られる。保護基は当業者にはよく知られており、アミン基に対しては、Boc (Bocは、t-ブチルオキシカルボニルである)、Fmoc (Fmocは、フルオレニルメトキシカルボニルである)、トリフルオロアセチル、アリルオキシカルボニル、Dde [すなわち、1-4, 4-ジメチル-2, 6-ジオキソシクロヘキシリデン] エチル] 又はNpys (すなわち、3-ニトロ-2-ピリジンスルフェニル)、及びカルボキシル基に対しては、メチルエステル、t-ブチルエステル又はベンジルエステルから適切に選択される。
10 ヒドロキシル基に対しては、適当な保護基は、ベンジル、アセチル、ベンゾイル、トリチル (Trt) 又はトリアルキルシリル例えはテトラブチルジメチルシリルである。チオール基に対しては、適当な保護基は、トリチル及び4-メトキシベンジルである。ヒドロキサム酸部分のヒドロキシル基に対する好ましい保護基は、ベンジル又はトリアルキルシリルである。その他の保護基の使用については、「Protective Groups in Organic Synthesis」、Theodorora W. Greene及びPeter G. M. Wuts、(John Wiley & Sons, 1991) に記載されている。

【0116】

望ましい非金属放射性同位体の好ましい好適な化学形態としては、以下のものが挙げられる。
20

- (a) ハロゲン化物イオン (例えば、 $^{1,2,3}\text{I}$ ヨウ化物又は $^{1,8}\text{F}$ フッ化物) で特に置換反応のために水性媒体中のもの、
- (b) 良好的な脱離基例えはプロミド、メシレート又はトシレートを有する $^{1,1}\text{C}$ ヨウ化メチル又は $^{1,8}\text{F}$ フルオロアルキレン化合物、
- (c) アルキル化前駆体例えはN-クロロアセチル又はN-プロモアセチル誘導体などのS-アルキル化反応のためのHS(CH_2)₃ $^{1,8}\text{F}$ 。

【0117】

適当な上記「前駆体」の例、及びそれらの調製方法は、第一の実施形態 (上記) で記載されている。
30

【0118】

キットの「前駆体」は、固体支持体マトリックスに共有結合した状態で好ましくは供給される。こうすることにより、所望の放射性医薬品が溶液中に形成され、一方、出発材料及び不純物は固相に結合したままとなる。 $^{1,8}\text{F}$ -フッ化物を用いた固相求電子フッ素化のための前駆体は、国際公開第03/002489に記載されている。 $^{1,8}\text{F}$ -フッ化物による固相求核フッ素化のための前駆体は国際公開第03/002157号に記載されている。キットは適切に適合された自動化合成装置に装填することができるカートリッジを備えていてもよい。カートリッジは、固体支持体結合前駆体とは別に、望ましくないフッ化物イオンを除去するためのカラム、及び、反応混合物を蒸発させ生成物が所望通りに製剤化されるようにするために連結された適当な容器を備えていてもよい。合成に必要な試薬及び溶媒及び他の消耗品もまた、放射性物質の濃度、容量、デリバリー時間などに関する顧客の要望に合致するような方法で合成装置が操作できるようにするソフトウェアの入ったコンパクトディスクと共に組み込むことができる。好適には、キットのすべての要素を使い捨てとすることにより、試験相互間の混入の可能性を最小限にし、無菌であり、品質保証される。
40

【0119】

第八の態様では、本発明はアテローム性動脈硬化症、特に不安定な脆弱性のplaquesの画像診断のための上記のマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤造影剤の使用を開示する。

【0120】

10

20

30

40

50

その他の態様では、本発明は他の炎症性疾患、癌又は変性疾患の画像診断のための上記のマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤造影剤の使用を開示する。

【0121】

その他の態様では、本発明はプロキシミティ検出を用いたアテローム性動脈硬化症、特に不安定な脆弱性のplaquesの血管内検出のための上記のマトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤造影剤の使用を開示する。かかるプロキシミティ検出は、カテーテルのような血管内装置を用いるか、又は、手持ち式の検出器（例えば 線検出器）を用いて術中に成し遂げることができる。かかる血管内検出は、造影基がインビボ光学イメージング又は放射体に適したレポーター基である場合には、かかる部分は哺乳類生体外では容易に検出されないが、プロキシミティ検出には適していることから特に有用である。

10

【実施例】

【0122】

本発明を以下に詳述する非限定的な実施例により説明する。実施例1は化合物1, 1, 1 - トリス(2-アミノエチル)メタンの合成について説明する。実施例2は潜在的に有害なアジド中間体の使用を回避する1, 1, 1 - トリス(2-アミノエチル)メタンの別の合成法を提供する。実施例3はクロロニトロソアルカン前駆体の合成について説明する。実施例4は本発明の好ましいアミン置換二官能性ジアミンジオキシムの合成について説明する（キレーター1）。

【0123】

実施例5は、本発明のMMPi、化合物27の合成法を提供する。実施例6は、放射性ハロゲン化に適するフェノール置換MMPi（化合物23）の合成法を提供する。実施例7は、放射性ハロゲン化に適するヨードアニリン前駆体（化合物26）の合成法について説明する。実施例9は、本発明のMMPiのキレーターコンジュゲートの合成方法を提供する。実施例10は、PEGリンクマー基で官能性を付与したMMPiの合成法を提供する。実施例11は、PEGリンクマー基を有するキレーターコンジュゲートの合成法について説明する。実施例12は、PET放射標識に適するクロロアセチル前駆体の合成法を提供する。実施例13は、チオエーテル連鎖のフルオロアルキルMMPi誘導体の合成法を提供する。実施例14は、生物学的特性の修正を可能にするアミノ酸及び/又はPEG連鎖MMPiの範囲を提供する。

20

【0124】

実施例15及び16は、¹⁸F-MMPi放射標識のために適当な¹⁸F標識化合物の合成法を提供する。実施例17は、化合物45乃至48の合成法を提供する。実施例18は、本発明のMMPiの誘導体がMMP阻害剤としての生物学的活性を保持することを示すインビトロアッセイについて説明する。実施例19は、キレーターコンジュゲートについての一般的な^{99m}Tc放射標識方法を提供する。実施例20は、本発明の適当な前駆体に対する放射ヨウ素標識の手順を提供する。実施例21は、本発明の特定の¹⁸F誘導体の製剤を提供する。実施例22は、本発明の放射ヨウ素標識誘導体がインビボイメージング剤として機能する適切な血漿安定性を示す証拠を提供する。実施例23は、生体内腫瘍モデルにおける本発明の放射ヨウ素標識造影剤の取り込みについて説明する。これは本発明のリンクマー基を使用して体内分布を修正することができることを示す。化合物20A（すなわち、PEG3スペーサーを有する化合物24A）は、類似の血中の滞留を示したが、化合物24と比較して尿中排泄で10%の増加及びHBSでは対応する10%の減少を示した。そのため、生体調節物質の添加の結果薬物動態における変化がもたらされた。腫瘍中への取り込みは、化合物24Aの場合に見られたものよりわずかに低いが保持率はわずかに増大した。化合物32Aは、時間と共に消える高い初期血中保持率を示した。良好な腫瘍中への取り込み及び保持率が、注射後最大で1時間まで見られた。高い尿中排泄及び低い消化管（GI）排泄が見られた。阻害有効性を失わないこれら化合物による生体調節の薬効を実証するこれらの薬物動態は、より好ましく、生体調節物質（すなわち化合物24A）のない化合物のものとは著しく異なる。

40

【0125】

50

実施例24は、生体内腫瘍モデルにおける本発明の¹⁸F標識造影剤の取り込みについて説明する。実施例25は、アテローム性動脈硬化症の生体内モデルにおける本発明の造影剤の取り込みについて説明する。実施例26は、本発明の薬剤が生体内のアテローム性動脈硬化部位で取り込まれるオートラジオグラフィーの証拠を提供する。実施例27は、腫瘍モデルにおける腫瘍造影について説明する。

【0126】

実施例1

1,1,1-トリス(2-アミノエチル)メタンの合成

(段階a) : 3-(メトキシカルボニルメチレン)グルタル酸ジメチルエステル

トルエン(600ml)中のカルボメトキシメチレントリフェニルホスホラン(167g、0.5モル)をジメチル3-オキソグルタレート(87g、0.5モル)で処理し、反応混合物を36時間窒素雰囲気下で120°で油浴上に加熱した。次に反応混合物を真空下で濃縮し、油状の残留物を40/60石油エーテル/ジエチルエーテル1:1、600mlで粉状にした。トリフェニルホスフィン酸化物を沈殿させ、上清をデカントし、濾去した。真空下で蒸発させた残留物を高真空Bpt(0.2トル)でオープン温度180~200°C下にクーゲルロール蒸留し、3-(メトキシカルボニルメチレン)グルタル酸ジメチルエステル(89.08g、53%)を得た。

【0127】

NMR ¹H(CDC1₃) : 3.31(2H, s, CH₂)、3.7(9H, s, 3×OCH₃)、3.87(2H, s, CH₂)、5.79(1H, s, =CH,) ppm。

【0128】

NMR ¹³C(CDC1₃) : 36.56, CH₃, 48.7, 2×CH₃, 52.09及び52.5(2×CH₂) ; 122.3及び146.16 C=CH; 165.9, 170.0及び170.5 3×COO ppm。

【0129】

(段階b) : 3-(メトキシカルボニルメチレン)グルタル酸ジメチルエステルの水素化

メタノール(200ml)中の3-(メトキシカルボニルメチレン)グルタル酸ジメチルエステル(89g、267ミリモル)を(30時間)にわたって水素ガス(3.5バール)雰囲気下で(10%Pd/C:50%水)(9g)と共に振盪した。溶液をケイソウ土を通して濾過し、真空下に濃縮して、油状物として3-(メトキシカルボニルメチル)グルタル酸ジメチルエステルを得た、収量(84.9g、94%)。

【0130】

NMR ¹H(CDC1₃) : 2.48(6H, d, J=8Hz, 3×CH₂)、2.78(1H, 六重線, J=8Hz CH,) 3.7(9H, s, 3×CH₃)。

【0131】

NMR ¹³C(CDC1₃) : 28.6, CH; 37.50, 3×CH₃; 51.6, 3×CH₂; 172.28, 3×COO。

【0132】

(段階c) トリメチルエステルからトリアセテートへの還元及びエステル化

3つ口2L丸底フラスコ中に窒素雰囲気下で、テトラヒドロフラン(400ml)中の水素化リチウムアルミニウム(20g、588ミリモル)をテトラヒドロフラン(200ml)中のトリス(メトキシカルボニルメチル)メタン(40g、212ミリモル)で1時間慎重に処理した。激しい発熱反応が発生し、溶媒が激しく還流した。反応混合物を3日間還流下に90°Cで油浴上で加熱した。反応混合物を水素の放出が終了するまで酢酸(100ml)を慎重に滴加して失活させた。攪拌した反応混合物を穏やかな還流が生じる程度の速度で、無水酢酸溶液(500ml)で慎重に処理した。フラスコに蒸留装置を付け、次に90°C(油浴温度)で加熱し、テトラヒドロフランを留去した。無水酢酸(300ml)をさらに添加し、反応混合物を還流配置に戻し、140°Cの油浴中で5時間攪拌

10

20

30

40

50

し、加熱した。反応混合物を放冷し、濾過した。酸化アルミニウム沈殿物を酢酸エチルで洗浄し、合わせた濾液を真空(5 mmHg)下に50℃のウォーターバス温度でロータリーエバポレーター上で濃縮し、油状物を得た。油状物を酢酸エチル(500ml)に溶解し、飽和炭酸カリウム溶液で洗浄した。酢酸エチル溶液を分離し、硫酸ナトリウム上で乾燥し、真空下で濃縮して油状物を得た。油状物を高真空下でクーゲルロール蒸留し、油状物としてトリス(2-アセトキシエチル)メタン(45.3g、96%)を得た。沸点0.1mmHgで220℃。

【0133】

NMR ^1H (CDC₃)、1.66(7H, m, 3×CH₂, CH)、2.08(1H, s, 3×CH₃)；4.1(6H, t, 3×CH₂O)。NMR ^{13}C (CDC₃)、20.9、CH₃；29.34、CH；32.17、CH₂；62.15、CH₂O；171、CO。
10

【0134】

(段階d)：トリアセテートからのアセテート基の除去
メタノール(200ml)中のトリス(2-アセトキシエチル)メタン(45.3g、165mM)及び880アンモニア(100ml)を2日間油浴中80℃で加熱した。反応混合物を880アンモニア(50ml)でさらに処理し、24時間油浴中80℃で加熱した。880アンモニア(50ml)をさらに添加し、反応混合物を24時間80℃で加熱した。次に反応混合物を真空下で濃縮し、全溶媒を除去し、油状物を得た。これを880アンモニア(150ml)に溶解し、24時間80℃で加熱した。次に反応混合物を真空下で濃縮し、全溶媒を除去し、油状物を得た。クーゲルロール蒸留してアセトアミド沸点170～180℃0.2mmを得た。アセトアミドを含有するバルブをきれいに洗浄し、蒸留を続行した。トリス(2-ヒドロキシエチル)メタン(22.53g、92%)を沸点220℃0.2mmで蒸留した。
20

【0135】

NMR ^1H (CDC₃)、1.45(6H, q, 3×CH₂)、2.2(1H, 五重線, CH)；3.7(6H, t, 3×CH₂O)；5.5(3H, brs, 3×OH)。

【0136】

NMR ^{13}C (CDC₃)、22.13、CH；33.95、3×CH₂；57.8、3×CH₂O。
30

【0137】

(段階e)：トリオールのトリス(メタンスルホネート)への転化
ジクロロメタン(50ml)中のトリス(2-ヒドロキシエチル)メタン(10g、0.0676モル)の攪拌氷冷溶液にジクロロメタン(50ml)中の塩化メタンスルホニル(40g、0.349モル)の溶液を温度が15℃を超えないような速度で窒素下でゆっくり滴下した。次にジクロロメタン(50ml)に溶解したピリジン(21.4g、0.27ミリモル、4当量)を発熱反応で温度が15℃を超えないような速度で滴下して加えた。反応混合物を24時間室温で攪拌し続け、次に5N塩酸溶液(80ml)で処理し、層分離した。水層をジクロロメタン(50ml)でさらに抽出し有機抽出物を合わせ、硫酸ナトリウム上で乾燥し、濾過し、真空下で濃縮して過剰の塩化メタンスルホニルを含有するトリス[2-(メチルスルホニルオキシ)エチル]メタンを得た。理論上の収量は25.8gであった。
40

【0138】

NMR ^1H (CDC₃)、4.3(6H, t, 2×CH₂)、3.0(9H, s, 3×CH₃)、2(1H, 六重線, CH)、1.85(6H, q, 3×CH₂)。

【0139】

(段階f)：1,1,1-トリス(2-アジドエチル)メタンの調製
乾燥DMF(250ml)中のトリス[2-(メチルスルホニルオキシ)エチル]メタン[段階1(e)から、過剰の塩化メチルスルホニルに汚染されている](25.8g、50

67ミリモル、理論上)の窒素下での攪拌溶液を、アジ化ナトリウム(30.7g、0.47モル)で15分かけて少しづつ処理した。発熱が観察され、反応混合物を氷浴上で冷却した。30分後、反応混合物を24時間50度で油浴上で加熱した。反応混合物は茶色になった。反応混合物を放冷し、希炭酸カリウム溶液(200ml)で処理し、40/60石油エーテル/ジエチルエーテル10:1(3×150ml)で3回抽出した。有機抽出物を水(2×150ml)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥し、濾過した。石油/エーテル溶液にエタノール(200ml)を添加してトリアゾールを溶液中に保持し、真空中で容量を、200mlを下回らないように減量した。エタノール(200ml)を添加し、真空中に再濃縮し、エタノール溶液が200mlを下回らないように石油の痕跡を除去した。トリアゾールのエタノール溶液を段階1(g)に直接使用した。

10

【0140】

注意: アジドは潜在的に爆発性があるので、全溶媒を除去してはいけないし、常に希溶液を保持すべきである。

【0141】

溶液0.2ml未満を真空中に蒸発させてエタノールを除去し、この少量の試料でNMRを実施した。

【0142】

NMR ^1H (CDCl₃)、3.35(6H, t, 3×CH₂)、1.8(1H, 七重線, CH,)、1.6(6H, q, 3×CH₂)。

【0143】

(段階g): 1, 1, 1-トリス(2-アミノエチル)メタンの調製

エタノール(200ml)中のトリス(2-アジドエチル)メタン(15.06g、0.0676モル)(前反応から100%の収率と仮定)を10%Pd/C(2g、50%水)で処理し、12時間水素化した。反応容器を2時間毎に排気し、反応混合物から出てくる窒素を除去し、水素で補充した。NMR分析のために試料を取り、トリアジドのトリアミンへの完全な転化を確認した。

20

【0144】

警告: 還元しないアジドは蒸留で爆発することがある。反応混合物を、セライトパッドを通して濾過し、触媒を除去し、真空中で濃縮して油状物としてトリス(2-アミノエチル)メタンを得た。これを0.4mm/Hgで沸点180~200のクーゲルロール蒸留によりさらに精製し無色の油状物(8.1g、トリオールからの全収率82.7%)を得た。

30

【0145】

NMR ^1H (CDCl₃)、2.72(6H, t, 3×CH₂N)、1.41(H, 七重線, CH)、1.39(6H, q, 3×CH₂)。

【0146】

NMR ^{13}C (CDCl₃)、39.8(CH₂NH₂)、38.2(CH₂)、31.0(CH)。

【0147】

実施例2

40

1, 1, 1-トリス(2-アミノエチル)メタンの別の調製法(段階a): トリメチルエステルのp-メトキシ-ベンジルアミンによるアミド化

トリス(メチルオキシカルボニルメチル)メタン[2g、8.4ミリモル、上記段階1(b)の通り調製]をp-メトキシ-ベンジルアミン(25g、178.6ミリモル)に溶解した。蒸留のために装置を設置し、窒素気流下で、24時間120度で加熱した。反応の進行を収集されるメタノールの量でモニターした。反応混合物を室温まで冷却し、酢酸エチル30mlを添加し、次に沈殿したトリアミド生成物を30分間攪拌した。トリアミドを濾過により単離し、フィルター-ケーキを十分な量の酢酸エチルで数回洗浄し、過剰のp-メトキシ-ベンジルアミンを除去した。乾燥後、白色粉末4.6g、100%を得た。高度に不溶性の生成物をさらに精製又は特性化することなく直接次の段階で使用した

50

。

【0148】

(段階b) : 1, 1, 1 - トリス[2-(p-メトキシベンジルアミノ)エチル]メタンの調製

氷水浴中で冷却した1000ml 3つ口丸底フラスコで、段階2(a)からのトリアミド(10g、17.89ミリモル)を注意深く加え、250mlの1Mボラン溶液、ボラン(3.5g、244.3ミリモル)とする。添加完了後、氷水浴を除去し、反応混合物をゆっくり60℃に加熱する。反応混合物を20時間60℃で攪拌する。反応混合物の試料(1ml)を引き出し、0.5mlの5NのHClと混合し、30分間放置した。試料に0.5mlの50NaOH、次いで水2mlを加え、白色沈殿がすべて溶解するまで溶液を攪拌した。溶液をエーテル(5ml)で抽出し、蒸発させた。残留物を1mg/mlの濃度でアセトニトリルに溶解し、MSにより分析した。MSスペクトルでモノ-及びジアミド(M+H/z=520及び534)が観察された場合は、反応は完了していない。反応を完結させるため、さらに100mlの1MボランTHF溶液を加え、反応混合物を60℃でさらに6時間攪拌し、前の試料採取手順に従って新しい試料を引き出す。トリアミンへの完全な転化が完了するまで、必要に応じて1MのボランTHF溶液をさらに添加し続ける。

【0149】

反応混合物を室温まで冷却し、5NのHClをゆっくり添加する[注意：激しい泡沫形成が発生する!]。ガス放出が観察されなくなるまでHClを添加した。混合物を30分間攪拌し、次に蒸発させた。ケーキをNaOH水溶液(20~40%、1:2w/v)中に懸濁させ、30分間攪拌した。次に混合物を水で(3倍に)希釈した。次に混合物をジエチルエーテル(2×150ml)で抽出した[注意：ハロゲン化溶媒を使用してはいけない]。次に合わせた有機層を水(1×200ml)、塩水(150ml)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥した。蒸発後の収量：油状物として7.6g、84%。

【0150】

NMR ^1H (CDC₃)、: 1.45、(6H, m, 3×CH₂; 1.54、(1H, 七重線, CH); 2.60 (6H, t, 3×CH₂N); 3.68 (6H, s, ArCH₂); 3.78 (9H, s, 3×CH₃O); 6.94 (6H, d, 6×Ar); 7.20 (6H, d, 6×Ar)。

【0151】

NMR ^{13}C (CDC₃)、: 32.17、CH; 34.44、CH₂; 47.00、CH₂; 53.56、ArCH₂; 55.25、CH₃O; 113.78、Ar; 129.29、Ar; 132.61; Ar; 158.60、Ar;

(段階c) : 1, 1, 1 - トリス(2-アミノエチル)メタンの調製

1, 1, 1 - トリス[2-(p-メトキシベンジルアミノ)エチル]メタン(20.0グラム、0.036モル)をメタノール(100ml)に溶解し、Pd(OH)₂(5.0グラム)を添加した。混合物を水素化し(3バール、100℃、オートクレープ中)、5時間攪拌した。Pd(OH)₂をさらに2回に分けて(2×5グラム)それぞれ10及び15時間後に加えた。反応混合物を濾過し、濾液をメタノールで洗浄した。合わせた有機層を蒸発させ、残留物を真空(1×10⁻²、110℃)下で蒸留し、前述の実施例1と同様に1, 1, 1 - トリス(2-アミノエチル)メタン2.60グラム(50%)を得た。

【0152】

実施例33 - クロロ - 3 - メチル - 2 - ニトロソブタンの調製

2 - メチルブタ - 2 - エン(147ml、1.4モル)及び亜硝酸イソアミル(156ml、1.16モル)の混合物を、ドライアイス及びメタノールのバス中で-30℃に冷却し、オーバヘッドエア攪拌器で激しく攪拌し、温度を-20℃より下に維持するよう速度で、濃塩酸(140ml、1.68モル)を滴下して処理した。かなりの発熱があり

10

20

30

40

50

、過熱を防ぐために注意を払う必要があるのでこれに1時間要した。エタノール(100m1)を添加し、添加の終わりに形成されたスラリーの粘度を低下させ、反応混合物をさらに2時間-20~-10で攪拌し、反応を完了させた。沈殿物を真空中で濾過して回収し、4×30m1の冷(-20)エタノール及び100m1の氷冷水で洗浄し、真空乾燥し、白色固体としての3-クロロ-3-メチル-2-ニトロソブタンを得た。エタノール濾液及び洗浄液をあわせ、水(200m1)で希釈し、冷却し、-10で1時間放置したところ、3-クロロ-3-メチル-2-ニトロソブタンがさらに晶出した。沈殿物を濾過して回収し、少量の水で洗浄し、真空中で乾燥し、NMRによる純度>98%の3-クロロ-3-メチル-2-ニトロソブタンの総収量(115g 0.85モル、73%)を得た。

10

【0153】

NMR ^1H (CDCl_3)、異性体の混合物として(異性体1, 90%) 1.5 d、(2H, CH_3)、1.65 d、(4H, $2 \times \text{CH}_3$)、5.85, q、及び5.95, q、合計1H。(異性体2, 10%)、1.76 s、(6H, $2 \times \text{CH}_3$)、2.07 (3H, CH_3)。

【0154】

実施例4

ビス[$\text{N}-(1,1-\text{ジメチル}-2-\text{N}-\text{ヒドロキシイミンプロピル})2-\text{アミノエチル]$ - (2-アミノエチル)メタン(キレーター1)]

乾燥エタノール(30m1)中のトリス(2-アミノエチル)メタン(4.047g、27.9ミリモル)の溶液に、無水炭酸カリウム(7.7g、55.8ミリモル、2当量)を窒素雰囲気下で激しく攪拌しながら室温で添加した。3-クロロ-3-メチル-2-ニトロソブタン(7.56g、55.8ミリモル、2当量)の溶液を乾燥エタノール(100m1)に溶解し、この溶液75m1を反応混合物にゆっくり滴下した。次いで反応混合物をシリカに基づくTLC [プレートをジクロロメタン、メタノール、濃(0.88s g)アンモニア、100/30/5で処理し、ニンヒドリンを噴霧し加熱することによりTLCプレートを展開]に付した。モノ-、ジ-及びトリ-アルキル化生成物がその順序でのRFの増加を伴って観察された。3%アンモニア水中の7.5~75%アセトニトリル勾配におけるRPR逆相カラムを使用し分析HPLCを実施した。反応混合物を真空中で濃縮し、エタノールを除去し、水(110m1)に再懸濁させた。水性スラリーをエーテル(100m1)で抽出し、いくつかのトリアルキル化化合物及び親油性不純物を除去し、水層にモノ及び所望のジアルキル化生成物を残存させた。良好なクロマトグラフィーを確保するため水溶液を酢酸アンモニウム(2当量、4.3g、55.8ミリモル)で緩衝した。水溶液を自動分離用HPLCで精製する前に4で一晩保管した。

20

【0155】

収量(2.2g、6.4ミリモル、23%)。

【0156】

マススペクトル；陽イオン10Vcone電圧。測定値：344；計算M+H=344。

30

【0157】

NMR ^1H (CDCl_3)、1.24 (6H, s, $2 \times \text{CH}_3$)、1.3 (6H, s, $2 \times \text{CH}_3$)、1.25~1.75 (7H, m, $3 \times \text{CH}_2$, CH)、(3H, s, $2 \times \text{CH}_2$)、2.58 (4H, m, CH_2N)、2.88 (2H, t, CH_2N_2)、5.0 (6H, s, NH_2 , $2 \times \text{NH}$, $2 \times \text{OH}$)。

40

【0158】

NMR ^1H ((CD_3)₂SO) 1.1 4×CH; 1.29, 3×CH₂; 2.1 (4H, t, $2 \times \text{CH}_2$);

NMR ^{13}C ((CD_3)₂SO)、9.0 (4×CH₃)、25.8 (2×CH₃)、31.0 2×CH₂, 34.6 CH₂, 56.8 2×CH₂N; 160.3 C=N。

50

【0159】

HPLC 条件：流速 8 ml / 分 25 mm P RP カラム使用

A = 3 % アンモニア溶液（比重 = 0.88）/ 水；B = アセトニトリル

時間	% B
0	7.5
15	75.0
20	75.0
22	7.5
30	7.5

1回のラン当たり水溶液 3 ml をロードし、12.5 ~ 13.5 分の時間窓で収集する。

10

【0160】

実施例 5

3 - [(4 - フルオロビフェニル - 4 - スルホニル) - (1 - ヒドロキシカルバモイ
ルシクロペンチル) アミノ] プロピオン酸（化合物 27、従来技術）の合成

(段階 A) 1 - アミノシクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル p - トルエンスルホン酸塩 (12.1 グラム、30.9 ミリモル) 及びトリエチルアミン (10.0 mL、72 ミリモル) の水 (150 mL) 及び 1,4 - ジオキサン (150 mL) の溶液に、4 - フルオロビフェニル - 4 - スルホニルクロリド (8.8 グラム、32.5 ミリモル) を加えた。混合物を室温で 16 時間攪拌し、次いで溶媒の殆どを真空下で蒸発させて除去した。混合物を酢酸エチルで希釈し、希塩酸溶液、水、及びブライインで連続して洗浄した。溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥し、濃縮すると固体の 1 - (4 - フルオロビフェニル - 4 - スルホニルアミノ) シクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル 12.33 グラム (76%) が残った。

20

【0161】

(段階 B) 1 - (4 - フルオロビフェニル - 4 - スルホニルアミノ) シクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル (23.0 グラム、50.7 ミリモル) の乾燥 DMF (50.0 mL) 中の室温の溶液に、カリウムヘキサメチルジシラジド (12.2 グラム、61.1 ミリモル) を加え、45 分後に t - ブチル - (3 - ヨードプロピル) ジメチルシラン (18.3 グラム、60.9 ミリモル) を加えた。得られた混合物を室温で 16 時間攪拌した。追加のカリウムヘキサメチルジシラジド (3.0 グラム、15 ミリモル) 及び t - ブチル - (3 - ヨードプロピル) ジメチルシラン (4.5 グラム、15 ミリモル) を次に加えた。室温での攪拌をさらに 5 時間継続した。混合物を、飽和アンモニウム溶液を加えて失活させた。DMF を真空下で蒸発させて除去した。残留物をジエチルエーテル中に取り出し、水、塩酸希薄水溶液及びブライインで順次洗浄した。硫酸マグネシウム上で乾燥した後、ジエチルエーテルを蒸発させて黄色油状物を得た。これにヘキサン及び塩化メチレンを加えて出発物質の結晶化を引き起こし、濾過してそれを回収した。濾液からの溶媒の蒸発により、琥珀色の油状物としての粗 1 - [[3 - (t - ブチル - ジメチルシラニルオキシ) プロピル] - (4 - フルオロビフェニル - 4 - スルホニル) アミノ] - シクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル (27.35 グラム) を得た。

30

【0162】

(段階 C) 粗 1 - [[3 - (t - ブチル - ジメチルシラニルオキシ) プロピル] - (4 - フルオロビフェニル - 4 - スルホニル) アミノ] - シクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル (27.35 グラム) の塩化メチレン (450 mL) 中の室温の溶液に、三フッ化ホウ素エーテラート (11 mL, 89.4 ミリモル) を加えた。45 分後、反応物を、飽和アンモニウム溶液及び水を順次加えることにより失活させた。有機相を分離し、水とブライインで洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥した。真空下での溶媒の蒸発により、琥珀色の油状物としての粗 1 - [(4 - フルオロビフェニル - 4 - スルホニル) - (3 - ヒドロキシプロピル) アミノ] - シクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル (22.1 グラム) が提供された。

40

【0163】

50

(段階D) 粗1-[(4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)- (3-ヒドロキシプロピル)アミノ]-シクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル(22.1グラム)のアセトン(400mL)中の溶液を、氷浴中で冷却し、オレンジ色が持続するまでジョーンズ試薬(約20mL)で処理した。混合物を0から室温まで2時間にわたって攪拌した。過剰の酸化剤をイソプロパノール(1mL)で失活させた後、Celite(登録商標)を加え、混合物を濾過した。濾液を真空下で濃縮した。残留物を酢酸エチル中に取り出し、水とブラインで洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥し、濃縮して油状物としての粗1-[(2-カルボキシエチル)- (4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)アミノ]シクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル(21.4グラム)を得た。

【0164】

10

(段階E) 粗1-[(2-カルボキシエチル)- (4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)アミノ]シクロペンタンカルボン酸ベンジルエステル(21.4グラム)のDMF(500mL)中の室温の溶液に、炭酸カリウム(22.5グラム、163ミリモル)及びヨウ化メチル(3.7mL、59.4ミリモル)を加えた。混合物を、室温で16時間攪拌し、次に真空下で濃縮した。残留物を水中に取り出し、6Nの塩酸水溶液を用いて酸性にした。得られた混合物をジエチルエーテルと酢酸エチルの混合物で抽出した。有機抽出物を水とブラインで洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥した。琥珀色の油状物まで濃縮した後、1-[(4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)- (2-メトキシカルボニルエチル)アミノ]-シクロペンタン-1-カルボン酸ベンジルエステル(12.6グラム)の白色固体を、ヘキサン中15%の酢酸エチルで溶離するシリカに基づくフラッシュクロマトグラフィーにより単離した。

【0165】

20

(段階F) 1-[(4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)- (2-メトキシカルボニルエチル)アミノ]-シクロペンタン-1-カルボン酸ベンジルエステル(12.1グラム、22.4ミリモル)のメタノール(270mL)中の溶液を、10%のパラジウム/活性炭で処理し、3気圧のParr(登録商標)シェーカー中で3.5時間水素化した。触媒を除去するためにナイロン(孔径0.45μm)を通して濾過し、溶媒を蒸発させて白色発泡体としての1-[(4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)- (2-メトキシカルボニルエチル)アミノ]シクロペンタン-1-カルボン酸(10.1グラム、100%)を得た。

【0166】

30

(段階G) デイソプロピルエチルアミン(4.3mL、24.6ミリモル)及び(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリス-(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(11.0グラム、24.9ミリモル)を、1-[(4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)- (2-メトキシカルボニルエチル)アミノ]シクロペンタン-1-カルボン酸(10.1グラム、22.4ミリモル)のN,N-ジメチルホルムアミド(170mL)中の溶液に加えた。混合物を、4時間攪拌した。追加のデイソプロピルエチルアミン(7.8mL、44.6ミリモル)及びO-ベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩(4.64グラム、29.1ミリモル)を次に加え、得られた混合物を60で16時間攪拌した。真空下で濃縮した後、残留物を水中に取り出し、1Nの塩酸水溶液で酸性にした。混合物を酢酸エチルで抽出し、抽出物を、水、炭酸ナトリウム飽和水溶液及びブラインで順次洗浄した。溶液を硫酸マグネシウム上で乾燥し、濃縮して、7:3:1のヘキサン/酢酸エチル/塩化メチレンで粉末にすると、白色結晶性固体として提供される3-[(1-ベンジルオキシカルバモイルシクロペンチル)- (4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)アミノ]プロピオン酸メチルエステルの固体(10.65グラム、86%)が得られた。

【0167】

40

(段階H) 3-[(1-ベンジルオキシカルバモイルシクロペンチル)- (4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)アミノ]プロピオン酸メチルエステルの固体(10.65グラム、19.2ミリモル)のメタノール(250mL)中の溶液を、5%パラジウム

50

ム / 硫酸バリウムで処理し、3気圧の Parr (登録商標) シェーカー内で3時間水素化した。触媒を除去するためにナイロン(孔径0.45μm)を通して濾過した後、溶媒を蒸発させて白色発泡体としての3-[(4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)- (1-ヒドロキシカルバモイルシクロペンチル)アミノ]プロピオン酸メチルエステル(8.9グラム、100%)を得た。

【0168】

1H NMR (DMSO-d₆) 8.80 (br s, 1H)、7.85~7.75 (m, 6H)、7.32~7.25 (m, 2H)、3.54 (s, 3H)、3.52~3.48 (m, 2H)、2.73~2.69 (m, 2H)、2.24~2.21 (m, 2H)、1.86~1.83 (m, 2H)、1.60~1.40 (m, 4H)。 10

【0169】

(段階I) 3-[(4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)- (1-ヒドロキシカルバモイルシクロペンチル)アミノ]プロピオン酸メチルエステル(8.9グラム、19.2ミリモル)のメタノール(500mL)中の溶液を、1Nの水酸化ナトリウム水溶液(95mL、95ミリモル)で処理し、室温で5.5時間攪拌した。混合物を濃縮してメタノールを除去し、水で希釈し、6Nの塩酸水溶液で酸性にし、酢酸エチルで抽出した。水とブラインで洗浄した後、有機抽出物を硫酸マグネシウム上で乾燥し、濃縮して白色発泡体としての3-[(4-フルオロビフェニル-4-スルホニル)- (1-ヒドロキシカルバモイルシクロペンチル)アミノ]プロピオン酸を得て、それを酢酸エチルから結晶化させた(6.74グラム、78%)。Mp : 163~164。 20

【0170】

1H NMR (DMSO-d₆) 12.30 (br s, 1H)、10.40 (br s, 1H)、8.77 (br s, 1H)、7.89~7.74 (m, 6H)、7.31~7.27 (m, 2H)、3.51~3.44 (m, 2H)、2.64~2.60 (m, 2H)、2.24~2.22 (m, 2H)、1.86~1.83 (m, 2H)、1.60~1.40 (m, 4H)。MS 449 (M-1)。

【0171】

実施例6

化合物23の合成

化合物1、O-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N,N-テトラメチルウロニウムテトラフルオロホウ酸塩又はTBTU及びN-メチルモルホリンのDMF中の攪拌された溶液に、チラミンを加えた。反応混合物を室温で24時間、不活性雰囲気下で反応するままにした。反応はHPLCでモニターした。完了後黄色い透明溶液を濃縮し、高真空中で4時間乾燥した。粗生成物を分離用HPLCで精製し88%の非純白の固体を得た。 30

【0172】

1H NMR (DMSO) : 10.5 (1H, s, NH) ; 9.3 (1H, s, NH) ; 8.8 (1H, s, OH) ; 8 (1H, s, OH) ; 7.8 (2H, J = 8.8 Hz, d, Harr) ; 7.3 (2H, J = 8 Hz, t, Harr) ; 7.2 (2H, d, J = 8 Hz, Harr) ; 7.1 (2H, J = 8.8 Hz, d, Harr) ; 7 (2H, J = 8.8 Hz, d, Harr) ; 6.7 (2H, J = 8.8 Hz, d, 2H) ; 3.4 (2H, m, CH₂) ; 3.1 (2H, m, CH₂) ; 2.7 (2H, m, CH₂)、2.6 (2H, m, CH₂) ; 2.2~1.9 (4H, m, CH₂) ; 1.5 (4H, m, CH₂) MS : (ESI) 586.2 (MH⁺) 及び 608.2 (MNa⁺) 40

HPLC : 純度98%。

【0173】

実施例7

化合物26の合成

化合物1、(7-アザベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリピロリジノホスホニアムヘキサフルオロホスフェート(PyAOP)及びN-メチルモルホリンのDMF中の 50

攪拌された溶液に、ヨードアニリンを加えた。反応混合物を室温で3日間、不活性雰囲気下で反応するままにした。反応はHPLCでモニターした。完了後溶液を濃縮し、高真空中で4時間乾燥した。粗生成物を分離用HPLCで精製し21%の固体を得た。

【0174】

MS : (ESI) 668 (MH⁺) 及び 690 (MNa⁺)

HPLC : 純度 100%。

【0175】

実施例8

化合物24の合成

段階A : 3 - ヨードチラミンの調製

10

ヨウ素溶液(1M、2m1)を、20m1のチラミン溶液(30%アンモニア中50mM)に室温でゆっくり加えた。5時間後、溶液を5m1まで濃縮し、0℃で一晩放置した。形成された非純白の沈殿物を濾過し、冷水で洗浄した。固体を高真空中で一晩乾燥した。

【0176】

¹H NMR (CD3OD) : 2.7 (2H, t, J = 7 Hz); 2.9 (2H, t, J = 7 Hz); 6.7 (1H, d, J = 8.1 Hz); 7.1 (1H, dd, J = 2.2 Hz, 8 Hz); 7.5 (1H, d, J = 2.2 Hz)。

【0177】

20

段階B

化合物1、O-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムテトラフルオロホウ酸塩又はTBTU及びN-メチルモルホリンのDMF中の攪拌された溶液に、3 - ヨードチラミン(段階A由来)を加えた。反応混合物を室温で24時間、不活性雰囲気下で反応するままにした。反応はHPLCでモニターした。完了後黄色い透明溶液を濃縮し、高真空中で4時間乾燥した。粗生成物を分離用HPLCで精製し、10%の非純白の固体(化合物24)を得た。

【0178】

MS (ESI) : 712 (MH⁺) 734 (MNa⁺)

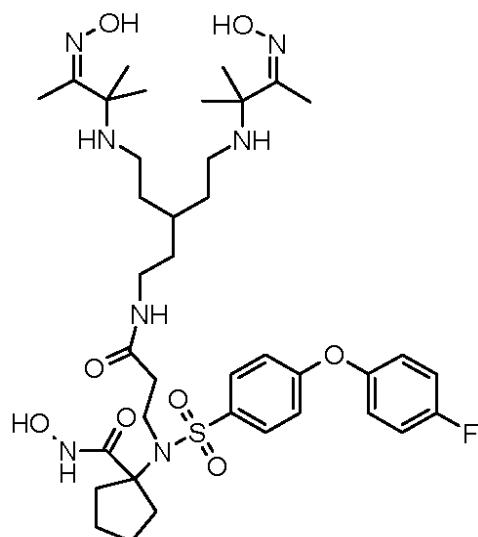
実施例9

30

キレーターMMPIコンジュゲート(化合物2)の合成

【0179】

【化19】



化合物2.

50

化合物1(5.1mg)、PyAOP(6.0mg)及びN-メチルモルホリン(2μL)を、ジメチルホルムアミド(0.5mL)に溶解し、混合物を2分間攪拌した。キレーター1(3.4mg)を加え、反応混合物を一晩攪拌した。20%アセトニトリル/水(8mL)を加え、生成物を分離用HPLC(カラム:Phenomenex Luna 10p C18(2)250×10mm、検出:230nm、溶媒A:H2O/0.1%TFA、溶媒B:CH3CN/0.1%TFA、流速:5mL/分、勾配:30分で20~60%B、tR:17分)を用いて精製した。凍結乾燥後、1mgの純粋物質を得て、LC-MS(カラム:Phenomenex Luna 5μ C18(2)250×4.6mm、検出:214nm、溶媒A:H2O/0.1%TFA、溶媒B:CH3CN/0.1%TFA、流速:1mL/分、勾配:20分で20~60%B、tR:14.32分、測定m/z:792.5、予測MH+:792.4)により特性を決定した。
10

【0180】

実施例10

アミノ-P EG リンカーから誘導されたMMPi(化合物4)の合成

段階(a) 1,11-ジアジド-3,6,9-トリオキサウンデカン

乾燥テトラエチレングリコール(19.4g、0.100モル)及び塩化メタンスルホニル(25.2g、0.220モル)のドライのTHF(100mL)中の溶液をアルゴン下に保ち、氷/水浴中で0℃に冷却した。フラスコにトリエチルアミン(22.6g、0.220モル)の乾燥THF(25mL)中の溶液を45分かけて滴下して加えた。1時間後冷却浴を取り外し、攪拌を4時間続けた。水(60mL)を加えた。混合物に炭酸水素ナトリウム(6g、pH8まで)及びアジ化ナトリウム(14.3g、0.220ミリモル)をその順番で加えた。THFを蒸留により除去し、水溶液を24時間還流させた(2層が形成された)。混合物を冷却し、エーテル(100mL)を加えた。水相を塩化ナトリウムで飽和させた。相を分離し、水相をエーテルで抽出した(4×50mL)。合わせた有機相をブラインで洗浄し(2×50mL)、乾燥させた(MgSO4)。濾過及び濃縮することにより22.1g(91%)の黄色い油状物を得た。生成物をそれ以上精製せずに次の段階で使用した。
20

【0181】

段階(b) 11-アジド-3,6,9-トリオキサウンデカンアミン

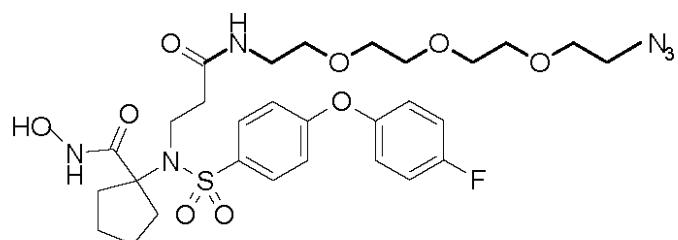
5%塩酸(200mL)中の1,11-ジアジド-3,6,9-トリオキサウンデカン(20.8g、0.085モル)の機械的に激しく攪拌された懸濁液に、エーテル(150mL)中のトリフェニルホスフィン(19.9g、0.073モル)の溶液を室温で3時間かけて加えた。反応混合物をさらに24時間攪拌した。相分離し、水相をジクロロメタンで抽出した(3×40mL)。水相を氷/水浴中で冷却し、pHを、KOHを加えて約12に調節した。生成物をジクロロメタン中に抽出した(5×50mL)。合わせた有機相を乾燥(MgSO4)した。濾過及び蒸発により14.0g(88%)の黄色い油状物を得た。MALDI-TOF質量分析(マトリックス:-シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸)による分析により、予想の219でM+Hピークが得られた。1H(500MHz)及び13C(125MHz)NMR分光法を用いる追加のキャラクタリゼーションにより構造を明らかにした。
30

【0182】

段階(c)(化合物1)-PEG(3)-N3の合成

【0183】

【化 2 0】



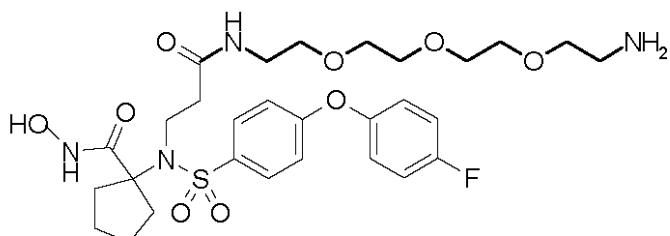
D M F (5 m l) 中の化合物 1 (4 1 m g、 8 7 μ モル) の溶液に、 1 1 - アジド - 3 , 6 , 9 - トリオキサウンデカンアミン (1 9 m g、 8 7 μ モル) 、 H A T U (A p p l i e d B i o s y s t e m s 、 3 3 m g、 8 7 μ モル) 及び D I E A (F l u k a 、 3 0 μ l 、 1 7 4 μ モル) を加えた。 1 時間の反応時間の後、混合物を濃縮し、残留物を分離用 H P L C (カラム Phenomenex Luna C 1 8 (2) 5 μ m 2 1 . 2 \times 2 5 0 m m 、溶媒 : A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 6 0 分で 3 0 ~ 6 0 % B の勾配、流速 1 0 . 0 m l / 分、 2 1 4 n m で U V 検出) により精製し、凍結乾燥後 3 3 . 9 m g (5 9 %) の生成物を得た。 L C - M S 分析 (カラム Phenomenex Luna C 1 8 (2) 3 μ m 5 0 \times 4 . 6 0 m m 、溶媒 : A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 1 0 分で 2 0 ~ 1 0 0 % B の勾配、流速 1 m l / 分、 2 1 4 n m で U V 検出、 E S I - M S) は、予想通り 4 . 8 8 分で m / z 6 6 7 . 4 (M H +) のピークを与えた。

【 0 1 8 4 】

段階 (d) 化合物 4 の合成

【 0 1 8 5 】

【化 2 1】



30

化合物 4

メタノール (4 m l) 中の (化合物 1) - P E G (3) - N 3 (4 . 7 m g、 7 μ モル) の溶液に、 P d / C (K o c h - L i g h t 、 約 1 0 m g) を加えた。混合物を水素雰囲気下 (1 気圧) の室温で 1 0 分間攪拌した。混合物を濾過して濃縮した。 L C - M S 分析 (カラム Phenomenex Luna C 1 8 (2) 3 μ m 5 0 \times 4 . 6 0 m m 、溶媒 : A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 1 0 分で 2 0 ~ 1 0 0 % B の勾配、流速 1 m l / 分、 2 1 4 n m で U V 検出、 E S I - M S) は、予想通り 4 . 1 7 分で m / z 6 4 1 . 4 (M H +) のピークを与えた。生成物はそれ以上精製せずにその後の段階で直接使用した。

【 0 1 8 6 】

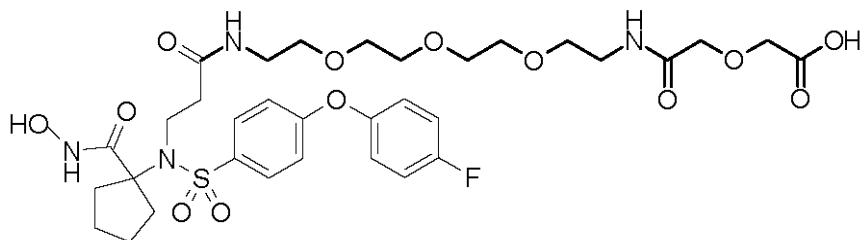
実施例 1 1

P E G (3) - ジグリコーリルスペーサーとのキレーターコンジュゲート (化合物 3) の合成

段階 (a) (化合物 1) - P E G (3) - ジグリコール酸の合成

【 0 1 8 7 】

【化22】



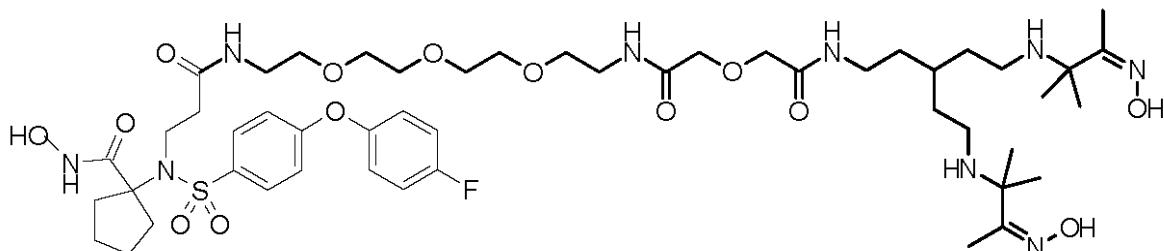
D M F (4 m l) 中の (化合物 1) - P E G (3) - N H 2 (実施例 6 、 2 5 m g 、 3 10
9 μ モル) の溶液に、ジグリコール酸無水物 (A c r o s 、 9 m g 、 7 8 μ モル) を加えた。 1 . 5 時間攪拌後、反応混合物を濃縮し、残留物を分離用 H P L C (カラム P h e n o m e n e x Luna C 1 8 (2) 5 μ m 2 1 . 2 \times 2 5 0 m m 、溶媒 : A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 6 0 分で 2 0 ~ 8 0 % B の勾配、流速 1 0 . 0 m l / 分、 2 1 4 n m で U V 検出) により精製し、 1 4 . 9 m g (5 1 %) の凍結乾燥した物質を得た。生成物を L C - M S 分析 (カラム P h e n o m e n e x Luna C 1 8 (2) 3 μ m 5 0 \times 4 . 6 0 m m 、溶媒 : A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 1 0 分で 2 0 ~ 1 0 0 % B の勾配、流速 1 m 1 / 分、 2 1 4 n m で U V 検出、 E S I - M S) により分析し、生成物に相当する 4 . 1 5 分における m / z 7 5 7 . 3 (M H +) のピークを与えた。追加のキャラクタリゼーションを、 N M R 分光法を用いて行った。 20

【0188】

段階 (b) : 化合物 3 の合成

【0189】

【化23】



化合物 3

D M F (3 m l) 中の (化合物 1) - P E G (3) - ジグリコール酸 (6 . 6 m g 、 9 μ モル) の溶液に、キレーター 1 (3 . 1 m g 、 9 μ モル) 、 H A T U (A p p l i e d B i o s y s t e m s 、 3 . 4 m g 、 9 μ モル) 及び D I E A (F l u k a 、 3 . 1 μ 1 、 1 8 μ モル) を加えた。 2 0 分の反応時間の後、混合物を濃縮し、残留物を分離用 H P L C (カラム P h e n o m e n e x Luna C 1 8 (2) 5 μ m 2 1 . 2 \times 2 5 0 m m 、溶媒 : A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 6 0 分で 1 0 ~ 8 0 % B の勾配、流速 1 0 . 0 m l / 分、 2 1 4 n m で U V 検出) により精製し、 4 . 2 m g (4 3 %) の凍結乾燥した生成物を得た。 L C - M S 分析 (カラム P h e n o m e n e x Luna C 1 8 (2) 3 μ m 5 0 \times 4 . 6 0 m m 、溶媒 : A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 1 0 分で 2 0 ~ 1 0 0 % B の勾配、流速 1 m l / 分、 2 1 4 n m で U V 検出、 E S I - M S 、 t R = 4 . 1 7 分、 m / z 1 0 8 2 . 5 (M H +)) 及び N M R 分光法により構造を確認した。 40

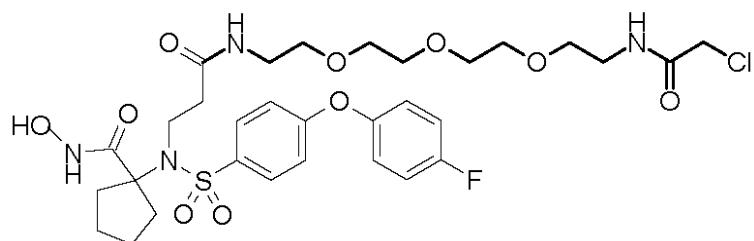
【0190】

実施例 1 2

P E T 造影用のクロロアセチル誘導体 (化合物 5) の合成

【0191】

【化24】



10

化合物5

新たに調製した無水クロロ酢酸（52mg、0.30ミリモル）及びDIEA（51μl、0.30ミリモル）を、DMF（10ml）中の化合物4（実施例10段階d、約0.15ミリモル）の溶液に加えた。1時間後反応混合物を濃縮し、残留物を分離用HPLC（カラムPhenomenex Luna C18 (2) 10 μm 50×250mm、溶媒：A = 水 / 0.1% TFA 及びB = アセトニトリル / 0.1% TFA、60分で30~40% Bの勾配、流速50.0ml / 分、214nmでUV検出）により精製し、25.8mg（24%）の凍結乾燥後の生成物を得た。LC-MS分析（カラムPhenomenex Luna C18 (2) 3 μm 50×4.60mm、溶媒：A = 水 / 0.1% TFA 及びB = アセトニトリル / 0.1% TFA、10分で20~100% Bの勾配、流速1ml / 分、214nmでUV検出、ESI-MS）は、予想通り6.01分でm/z 717.5 (MH⁺) のピークを与えた。

【0192】

実施例13

3-フルオロプロピルチオールのクロロアセチル化化合物への結合（化合物6）

段階(a) 3-トリチルスルファニル-プロパン-1-オール [Ph3C-S(CH₂)₃OH] の合成

TFA（10ml）中のトリフェニルメタノール（390.6mg、1.5ミリモル）を、TFA（10ml）中の3-メルカプトプロピルアルコール（129.6μl、1.5ミリモル）の攪拌された溶液に滴下して加えた。添加後、TFAを減圧下で蒸発させ、粗生成物を逆相分離クロマトグラフィー（Phenomenex Luna C18カラム、00G-4253-V0、溶媒A = 水 / 0.1% TFA 及びB = CH₃CN / 0.1% TFA、60分で70~80% Bの勾配、流速50ml / 分、254nmでUV検出）により直ちに精製し372mg（74%）の純粋な化合物を得た。（分析HPLC：Vydac C18カラム、218TP54：溶媒：A = 水 / 0.1% TFA 及びB = CH₃CN / 0.1% TFA、20分で70~80% Bの勾配、流速1.0ml / 分、保持時間5.4分、214及び254nmで検出）。構造をNMR分光法により確認した。

【0193】

段階(b) メタンスルホン酸3-トリチルスルファニル-プロピルエステル [Ph3C-S(CH₂)₃OMs] の合成

3-トリチルスルファニル-プロパン-1-オール（372.0mg、1.11ミリモル）のTHF（10ml）中の溶液に、トリエチルアミン（151.7mg、209μl、1.5ミリモル）及び塩化メシル（171.9mg、116.6μl、1.5ミリモル）を加えた。1時間の反応時間の後、沈殿を濾過して除去した。溶液を濃縮し、残留物を逆相HPLC（Phenomenex Luna C18カラム、00G-4253-V0、溶媒A = 水 / 0.1% TFA 及びB = CH₃CN / 0.1% TFA、60分で80~100% Bの勾配、流速50ml / 分、254nmで検出）により、318mg（69%）の純粋な化合物を得た。（分析HPLC：Vydac C18カラム、218TP54：溶媒：A = 水 / 0.1% TFA 及びB = CH₃CN / 0.1% TFA、20分で60~50

70% B の勾配、流速 1.0 ml / 分、保持時間 18.7 分、214 及び 254 nm で検出)。構造を NMR 分光法により確認した。

【0194】

段階 (c) (3-フルオロ-プロピルスルファニル) トリフェニルメタン [Ph3C-S(=O)(CH2)3F] の合成

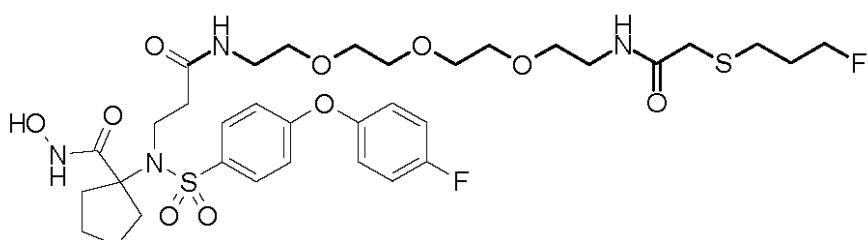
フッ化カリウム (1.4 mg、0.024 ミリモル) 及び Kryptofix 222 (9.0 mg、0.024 ミリモル) をアセトニトリル (0.2 ml) に溶解 (加熱) した。メタンスルホン酸 3-トリチルスルファニル-プロピルエステル (5 mg、0.012 ミリモル) のアセトニトリル (0.2 ml) の溶液を加えた。反応混合物を、80°で 90 分間加熱した。逆相分離クロマトグラフィー (Vydac C18 カラム、218 T P1022、溶媒 A = 水 / 0.1% TFA 及び B = CH3CN / 0.1% TFA、40 分で 40~90% B の勾配、流速 1.0 ml / 分、254 nm で検出) により精製した。純粋な物質の 2 mg (50%) の収量が得られた (分析 HPLC : Phenomenex Luna C18 カラム、0.0B-4.251-E0 : 溶媒 : A = 水 / 0.1% TFA 及び B = CH3CN / 0.1% TFA、10 分で 40~80% B の勾配、流速 2.0 ml / 分、保持時間 8.2 分、214 及び 254 nm で検出)。構造を NMR 分析により確認した。

【0195】

段階 (d) 化合物 6 の合成

【0196】

【化25】



化合物 6

3-フルオロ-トリチルスルファニル-プロパン (1.4 mg、4 μモル) を、TFA (50 μl)、トリイソプロピルセラン (5 μl) 及び水 (5 μl) の混合物中で攪拌した。混合物を、化合物 5 (1.5 mg、2 μモル) の水とアセトニトリルの 1 : 1 の混合物 (800 μl) 中の溶液に加えた。pH を、K2CO3 水溶液 (200 μl、0.5 g / ml) を添加して 10 に調整し、混合物を 60°で 25 分間加熱した。生成物を分離 HPLC (カラム Phenomenex Luna C18 (2) 5 μm 10.0 × 250 mm、溶媒 : A = 水 / 0.1% TFA 及び B = アセトニトリル / 0.1% TFA、60 分で 30~50% B の勾配、流速 5.0 ml / 分、214 nm で UV 検出) により精製し、0.9 mg (58%) の生成物を得た。LC-MS 分析 (カラム Phenomenex Luna C18 (2) 3 μm 50 × 4.60 mm、溶媒 : A = 水 / 0.1% TFA 及び B = アセトニトリル / 0.1% TFA、10 分で 10~80% B の勾配、流速 1 ml / 分、214 nm で UV 検出、ESI-MS、 $t_R = 6.25$ 、 $m/z 775.4$ (MH^+)) により構造を確認した。

【0197】

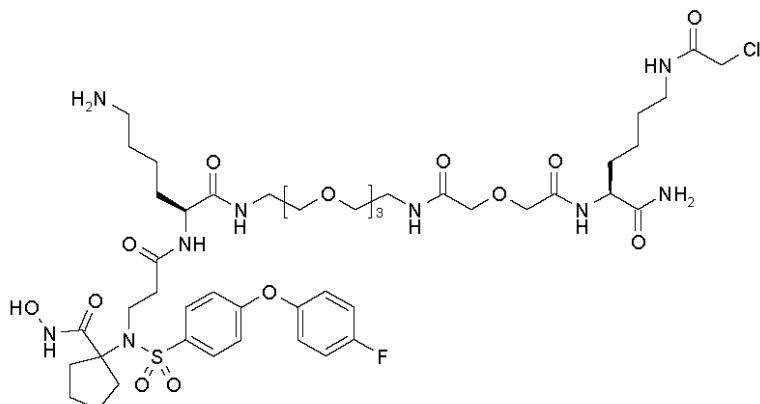
実施例 14

PET 造影用のクロロアセチル化アミノ酸及びPEG の誘導体

[化合物 1] - Lys - PEG (4) - ジグリコーリル - Lys (クロロアセチル) - NH2 (化合物 7)

【0198】

【化 2 6】



化合物 7

化合物 7 を、 F m o c 保護した R i n k アミド M B H A 樹脂 (N o v a b i o c h e m) 、 F m o c - L y s (D d e) - O H (N o v a b i o c h e m) 、 F m o c - L y s (B o c) - O H (N o v a b i o c h e m) 、 F m o c - アミノ - P E G - ジグリコール酸 (P o l y p u r e A S) 及び C P - 4 7 1 3 5 8 (P f i z e r) を使用して、 0 . 0 5 ミリモルの規模で手動式窒素気泡装置を用いて合成した。すべてのアミノ酸及び C P - 4 7 1 3 5 8 を、 カップリング試薬として H A T U / D I E A を用いてカップリングした。反応段階は、 K a i s e r テストにより分析した。 C P 化合物側鎖をカップリングした後、 C 末端リシンの D d e 基を標準的なヒドラジン処理によって開裂した。クロロ酢酸 (F l u k a) を新たに用意した左右対称の無水物によりカップリングした。それと同時に樹脂からの生成物の除去及び側鎖の B o c 保護基の開裂は、 2 . 5 % の H 2 O 及び 2 . 5 % のトリイソプロピルシランを含有する T F A 中で 2 時間行った。粗製物質をエーテルから沈殿させ、 分離 H P L C (カラム P h e n o m e n e x L u n a C 1 8 (2) 1 0 μ m 2 5 0 \times 1 0 mm、 溶媒： A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 6 0 分で 2 0 ~ 4 0 % B の勾配、 流速 5 . 0 m l / 分、 2 1 4 n m で U V 検出) により精製して 5 . 0 m g の白色固体を得た。

【 0 1 9 9 】

L C - M S による分析 (カラム P h e n o m e n e x L u n a C 1 8 (2) 3 μ m 2 . 0 \times 5 0 mm、 溶媒： A = 水 / 0 . 1 % T F A 及び B = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、 1 0 分で 1 0 ~ 8 0 % B の勾配、 流速 0 . 3 m l / 分、 2 1 4 n m 及び 2 5 4 n m で U V 検出、 E S I - M S ポジティブモード) は、 M H + に対して予想通りの 5 . 9 分で m / z 1 0 8 8 . 4 のピークを与えた。

【 0 2 0 0 】

固相ペプチド合成法を用いて、 化合物 8 ~ 2 2 を同じ方法で調製し、 M S により特性を明らかにした。

【 0 2 0 1 】

実施例 1 5

N - アルキル化のための 1 8 F - 標識誘導体の合成

3 - [1 8 F] フルオロプロピルトシレートの合成

【 0 2 0 2 】

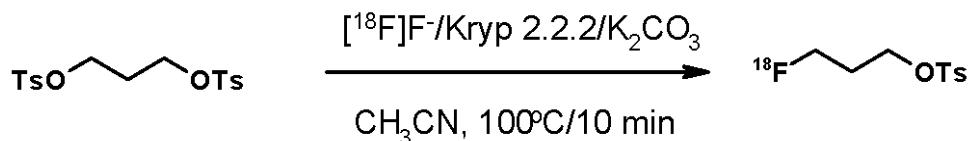
10

20

30

40

【化27】



2方向コックを通して、ガラスバイアルに用意したアセトニトリル(300 μl)中のKryptofix 2.2.2(10 mg)及び水(300 μl)中の炭酸カリウム(4 mg)を、プラスチックのシリンジ(1 ml)を用いて真鍮製ヒーター内に設置した炭素ガラスの反応容器中に移した。ターゲット用水中(0.5~2 ml)の¹⁸Fフッ化物(185~370 MBq)を、次に2方向コックを通して加えた。ヒーターを125℃にセットし、タイマーを始動させた。15分後、3個のアセトニトリルのアリコート(0.5 ml)を1分間隔で加えた。¹⁸Fフッ化物を、最大で合計40分まで枯渇させた。40分後、ヒーターを圧搾空気で冷却し、ポットの蓋を取り除き、1,3-プロパンジオール-ジ-p-トシレート(5~12 mg)及びアセトニトリル(1 ml)を加えた。ポットの蓋を元に戻し、ラインをストップバーで締めた。ヒーターを100℃にセットし、100℃/10分で標識した。標識後、3-[¹⁸F]フルオロプロピルトシレートを、Giloson RPHPLCで以下の条件を用いて単離した。

【0203】

20

カラム	u-bondapak C18 7.8×300 mm
溶離液	水(ポンプA) : アセトニトリル(ポンプB)
ループサイズ	1 ml
ポンプ速度	4 ml / 分
波長	254 nm
勾配	20分で5~90%の溶離液B
生成物Rt	12分

一旦単離したら、カットサンプル(約10 ml)を水(10 ml)で希釈し、調整済みのC18セッパック(sep pack)に装填した。セッパックを窒素で15分間乾燥させ、有機溶媒、ピリジン(2 ml)、アセトニトリル(2 ml)又はDMF(2 ml)を流して洗った。活性のほぼ99%が洗い流された。

30

【0204】

3-[¹⁸F]フルオロプロピルトシレートを、ピリジン中で還流させることによりアミンをN-アルキル化するために使用する。

【0205】

実施例16

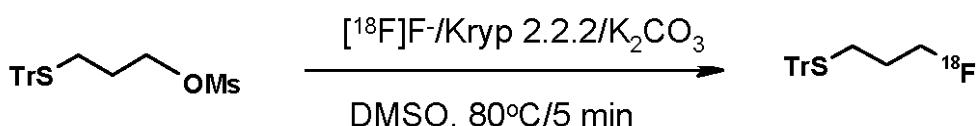
S-アルキル化のための[¹⁸F]-チオール誘導体

段階(a) : 3-[¹⁸F]フルオロ-トリチルスルファニル-プロパンの調製

【0206】

【化28】

40



2方向コックを通して、ガラスバイアルに用意したアセトニトリル(800 μl)中のKryptofix 2.2.2(10 mg)及び水(500 μl)中の炭酸カリウム(1 mg)を、プラスチックのシリンジ(1 ml)を用いて真鍮製ヒーター内に設置した炭素ガラスの反応容器中に移した。ターゲット用水中(0.5~2 ml)の¹⁸Fフッ化物(185~370 MBq)を、次に2方向コックを通して加えた。ヒーターを125℃にセットし

50

、タイマーを始動させた。15分後3個のアセトニトリルのアリコート(0.5ml)を1分間隔で加えた。18Fフッ化物を、最大で合計40分まで枯渇させた。40分後、ヒーターを圧搾空気で冷却し、ポットの蓋を取り除き、トリメチル-(3-トリチルスルファニル-プロポキシ)シラン(1~2mg)及びDMSO(0.2ml)を加えた。ポットの蓋を元に戻し、ラインをストップバーで締めた。ヒーターを80℃にセットし、80/5分で標識した。標識後、反応混合物をRP-HPLCで以下の条件を用いて単離した。

【0207】

カラム	u-bondapak C18 7.8×300mm	
溶離液	0.1%TFA/水(ポンプA):0.1%TFA/アセトニトリル(ポンプB)	10
ループサイズ	100μl	
ポンプ速度	4ml/分	
波長	254nm	
勾配	1分 40% B 15分 40~80% B 5分 80% B	

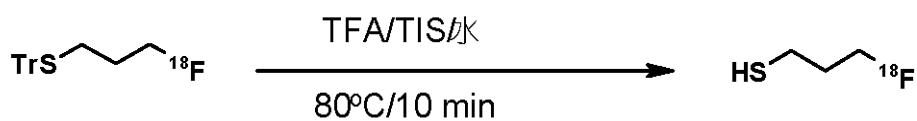
反応混合物をDMSO/水(1:1v/v、0.15ml)で希釈し、調整済みのt-C18セッパックに装填した。セッパックを水(10ml)で洗浄し、窒素で乾燥させ、3-[18F]フルオロ-1-トリチルスルファニル-プロパンを、4個のアセトニトリルのアリコート(1アリコート当たり0.5ml)で溶離した。

【0208】

段階(b):3-[18F]フルオロ-プロパン-1-チオールの調製

【0209】

【化29】



30

3-[18F]フルオロ-トリチルスルファニル-プロパンのアセトニトリル(1~2ml)中の溶液を、100/10分の窒素気流を用いて乾燥するまで蒸発させた。TFA(0.05ml)、トリイソプロピルシラン(0.01ml)及び水(0.01ml)の混合物を加え、続いて80/10分加熱して3-[18F]フルオロ-プロパン-1-チオールを生成させた。

【0210】

段階(c):-N(CO)CH2Cl前駆体との反応

クロロアセチル前駆体を標識する一般的方法は、段階(b)からの3-[18F]フルオロ-1-メルカブト-プロパンを含有する反応容器を圧搾空気で冷却し、次にアンモニア(27%水溶液、0.1ml)及び前駆体(1mg)の水溶液(0.05ml)を加え、混合物を80℃で10分間加熱する。

40

【0211】

実施例17

化合物45~48の合成

段階(a):アミノオキシ前駆体の合成

化合物45及び47を、Fmoc保護したRinkアミドMBHA樹脂(Novabiochem)から出発して、0.2ミリモルの規模で手動式窒素泡装置を用いて合成した。Fmocアミノ酸は、Novabiochemから購入し、单分散Fmoc-PAGEアミノ酸は、Polypure ASから購入した。Boc-(アミノオキシ)酢酸は、

50

F l u k a から購入した。D d e - L y s (F m o c) - O H を樹脂に結合した後、側鎖のF m o c 基を開裂し、続いてB o c (アミノオキシ) 酢酸をカップリングした。D d e 基は、標準的なヒドラジン処理により開裂した。リシンはH A T U / D I E A を用いてカップリングし、一方すべての他のカップリングにはP y A O P / D I E A を用いた。グルコースO - アセチル基をナトリウムメトキシドのメタノール溶液との反応により除去し、その後物質を固体支持体から開裂した。それと同時の樹脂からの生成物の除去及び側鎖保護基の開裂は、2 . 5 % のH 2 O 及び2 . 5 % のトリイソプロピルシリランを含有するT F A 中で1 ~ 2 時間行った。粗製物質を、分離H P L C (カラムPhenomenex Luna C 1 8 (2) 5 μm 2 1 . 2 × 2 5 0 mm、溶媒：A = 水 / 0 . 1 % T F A 及びB = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、6 0 分での適当な勾配、流速1 0 . 0 ml / 分、2 1 4 nmでUV検出) により精製して凍結乾燥後白色固体又は粘稠な無色の油状物を得た。生成物の本体は、L C - M S 分析 (カラムPhenomenex Luna C 1 8 (2) 3 μm 2 . 0 × 5 0 mm、溶媒：A = 水 / 0 . 1 % T F A 及びB = アセトニトリル / 0 . 1 % T F A 、1 0 分での適当な勾配、流速0 . 3 ml / 分、2 1 4 nm及び2 5 4 nmでUV検出、E S I - M S ポジティブモード) により確認した。
10

【 0 2 1 2 】

段階 (b) : 非放射性フッ素化合物4 6 及び4 8 を与える結合

4 - フルオロベンズアルデヒド及び4 - (3 - フルオロプロピル) ベンズアルデヒドはそれぞれF l u k a 及びF l u o r o c h e m から購入した。アミノオキシ前駆体 (約5 μモル、a 由来) の2 0 % アセトニトリル (3 ml) 中の溶液に、アルデヒド (5 倍過剰) を加えた。混合物を室温で1 5 分間攪拌し濃縮した。生成物を上の段階 (a) におけるのと同様にして精製及び分析をした。
20

【 0 2 1 3 】

実施例1 8

インピトロメタロプロテイナーゼ阻害アッセイ

化合物を次の市販の生体分子アッセイキットを使用してスクリーニングを行った。

【 0 2 1 4 】

M M P - 1 比色定量アッセイキット - カタログ番号A K - 4 0 4 、

M M P - 2 比色定量アッセイキット - カタログ番号A K - 4 0 8 、

M M P - 8 比色定量アッセイキット - カタログ番号A K - 4 1 4 、

M M P - 9 比色定量アッセイキット - カタログ番号A K - 4 1 0 、

M M P - 1 2 比色定量アッセイキット - カタログ番号A K - 4 0 2 、

これらは、Affiniti Research Products Ltd. (Palatine House, Matford Court, Exeter, EX2 8 N L, UK) から入手できる。
30

【 0 2 1 5 】

(a) 試験化合物調製

阻害剤は、粉末の形態で提供し、4 で保存した。各阻害剤についてD M S O 中の1 m M の原液を調製し、2 0 μl のアリコートに小分けし、これらのアリコートを - 2 0 で保存した。原液を希釈して8 つの濃度 (推奨 : 5 0 μM 、5 μM 、5 0 0 n M 、5 0 n M 、5 n M 、5 0 0 p M 、5 0 p M 及び5 p M) を与えた。希釈は、キットのアッセイ緩衝液で行った。阻害剤原液の5 倍希釈を、アッセイウェルに加えて行い、最終濃度範囲は1 0 μM ~ 1 p M である。
40

【 0 2 1 6 】

(b) 実験手順

詳細は、市販のキットにより提供されるが、次のように要約することができる。

【 0 2 1 7 】

- 上と同様にして試験化合物の希釈物を用意する、
- アッセイ緩衝液をプレートに加える、
- 試験化合物をプレートに加える、

- 標準キット阻害剤N N G Hを用意する(希釈係数はキットを参照)、
- N N G Hを対照阻害剤ウェルに加える、
- MMP酵素を用意する(希釈係数はキットを参照)、
- MMPをプレートに加える、
- プレートを37℃で~15分培養する、
- チオペプトリド(thiopeptolide)基質を用意する(希釈係数はキットを参照)、
- 基質をプレートに加える、
- Lab system EMSプレートリーダーによる37℃、414nmを、1時間にわたり2分毎にカウントする(MMP-1については30秒毎に20分間カウントする)、

(c) 結果

結果を表1に示す。

【0218】

【表1】

表1

化合物	MMP-1 (Ki)	MMP-2 (Ki)	MMP-8 (Ki)	MMP-9 (Ki)	MMP-12 (Ki)
20	-	0.15 ± 0.06nM (n=2)	-	0.043 ± 0.02nM (n=2)	0.11nM
21	194.9nM	1.15 ± 0.15nM (n=3)	0.87nM	0.820 ± 0.049 (n=3)	-
24	4948.5 ± 2684.9nM (n=2)	0.14 ± 0.06nM (n=3)	3.93nM	0.58 ± 0.3nM (n=3)	0.67 ± 0.14nM (n=2)
32	330nM	0.62 ± 0.15nM (n=4)	2.17nM	0.37 ± 0.092nM (n=4)	0.89 ± 0.21nM (n=2)
38	-	1.25 ± 0.28nM (n=3)	-	0.99 ± 0.40nM (n=3)	0.05nM
42	-	2.190 ± 1.510nM (n=2)	-	0.585 ± 0.175nM (n=2)	-
44	-	0.25 ± 0.12nM (n=3)	-	0.076 ± 0.074nM (n=2)	-
46	171.7 ± 25.0nM (n=2)	1.96 ± 1.0nM (n=3)	0.52nM	0.44 ± 0.177nM (n=3)	0.17nM
48	33.3nM	-	0.50nM	0.2nM	-

実施例19

99mTc放射標識(一般的方法)

99mTc錯体は、下記のものを窒素パージしたP46バイアルに加えることによって調製することができる:

1mlのN2をパージしたMeOH、

100μlのMeOH中の100μgのリガンド-MMPiコンジュゲート、

10

20

30

40

50

0.5mlのNa₂CO₃/NaHCO₃緩衝液(pH9.2)、
Tcジエネレータからの0.5mlのTcO₄-、
0.1mlのSnCl₂/MDP溶液(10.2mgのSnCl₂及び101mgの
メチレンジホスホン酸を含有する100mlのN₂バージした生理食塩水中の溶液)。

【0219】

ITLC(Instant thin layer chromatography-インスタント薄層クロマトグラフィー)を使用してRCPを測定する。SGプレート及びMeOH/(NH₄OAc, 1M)1:1の移動相は、開始点におけるRHT(還元加水分解Tc)、溶媒先端部におけるペルテクネート及び中間Rfにおけるテクネチウム錯体を示す。

10

【0220】

実施例20

前駆体の求電子放射ヨウ素標識の一般的手順

前駆体はすべて以下の手順に従って標識した:

10µL、0.1mMのNa₁₂₇I(0.01MのNaOH中、1×10-9モル)を、200µL、0.2MのNH₄OAc緩衝液(pH4)を含有するバイアルに加えた。この混合物をNa₁₂₃I(0.05MのNaOH中25.0µL、約500MBq)を含有するバイアルに加えた。合わせた溶液を、次にシラン処理したプラスチックバイアルに移した。5µL(2.5×10-8モル)の新たに調製した過酢酸水溶液(約5mM)を、反応バイアルに加えた。最後に、前駆体(MeOH中3mM溶液の34µL)を、反応バイアルに加え、溶液を3分間そのまま放置した。

20

【0221】

化合物をHPLCで精製した。

【0222】

HPLC法:

溶媒A: 水中0.1%TFA

溶媒B: MeCN中0.1%TFA

カラム: Phenomenex Luna 5 µm C18 (2) 150×4.6 mm

勾配:

30

時間	% B
0.0	30
20.0	70
20.20	100
23.20	100
23.70	30
30.0	30

【0223】

【表2】

表2: 放射ヨウ素標識した化合物のHPLC保持時間

40

前駆体	生成物名	保持時間(min)
化合物23	化合物24A	15.6
化合物19	化合物21A	7.6
化合物20	化合物20A	9.4
化合物31	化合物30A	9.1

実施例21

18F-標識誘導体の合成: 化合物46B及び48B

段階(a): 4-18F-ベンズアルデヒド

50

平底炭素ガラス反応容器 (4 ml) に、アセトニトリル (800 μl) 中の Kryptofix 222 (5 mg) と、炭酸カリウム [13.5 mg / ml (H₂O)、約 0.1 モル] (50 μl) とを加えた。容器を真鍮製ヒーター内に置き、3 PTFE ラインを取り付けた反応容器の蓋をきつく締めた。ライン 1 には 2 方向のコックを取り付け、ライン 2 は、廃液バイアルにつなぎ、ライン 3 は、閉塞した。実験のセットアップは、鉛の壁の背後に置いた。サイクロトロンターゲット用水中に含まれている 18F - フッ化物 (370 ~ 740 MBq、0.5 ~ 2 ml) を、2 方向コックを介して加えた。N₂ ラインを 2 方向コックにつなぎ、ヒーターを 110 °C にセットした。加熱を開始した後 10 分後に N₂ ラインを取り外し、アセトニトリル (0.5 ml) のアリコートを加えた。このプロセスを加熱開始後約 10.5 分及び 11 分に繰り返した。アセトニトリルの各添加に続いて N₂ ラインを 2 方向コックにつないだ。2 番目の窒素ラインを仕上がったライン 3 につなぎ、このライン中に存在した液体をすべて追い出した。18F - フッ化物は、最大で合計 30 分まで乾燥した。30 分後、ヒーターを圧搾空気で冷却し反応容器の蓋を取り外し、DMSO (1000 μl) 中の 4 - (トリメチルアンモニウム) ベンズアルデヒドトリフルオロメタンスルホネート [Poethko et al., J. Nucl. Med., 45 (5) p 892 ~ 902 (2004)] の方法により調製、0.5 ~ 0.8 mg、0.0016 ~ 0.0026 ミリモル] を加えた。3 PTFE ラインに栓をして閉じた。反応容器を 90 °C / 15 分の加熱をし、4 - 18F - ベンズアルデヒドを得た (典型的な結合収率約 50%)。粗生成物を、それ以上精製せずに使用した。

【0224】

10

段階 (b) : 結合手順

クエン酸 / Na₂HPO₄ 緩衝液 [500 μl、809 μL の 0.1 M クエン酸水溶液を 110 μL の 0.2 M の無水 Na₂HPO₄ の水溶液と混合して調製] に溶解した化合物 45 (2 mg、0.003 ミリモル) 及び化合物 47 (4 mg、0.002 ミリモル) を段階 (a) からの 4 - 18F - ベンズアルデヒド (粗生成物) に直接加えた。反応容器を 70 °C / 15 分で加熱し、粗製化合物 46B 又は 48B を得た。

【0225】

20

段階 (c) : 後処理手順及び製剤化

段階 (b) からの全体の反応混合物を、水で希釈して約 20 ml とし、調整済みの t - C18 セップパック [DMSO (5 ml) に続く水 (10 ml) により調整] に搭載した。搭載した t - C18 セップパックを、その後水 (2 × 5 ml) で、続いて DMSO (3 × 5 ml) で洗い流した。合わせた所望の生成物を含有する DMSO の排液を、HPLC 分離システムを用いて精製した:

30

カラム	Luna C18 (2) 10 × 10 mm (5 μ)
溶離液	水 (ポンプ A)、アセトニトリル (ポンプ B)
ループサイズ	2 ml
流速	3 ml / 分
波長	254 nm

調製用カラム上の化合物 46B 及び 48B に対する典型的な保持時間はそれぞれ 2.3 分及び 2.1 分であった。分離した HPLC ピーク物質を、水で希釈して約 20 ml の容積とし、調整済みの t - C18 セップパック [エタノール (5 ml) で、続いて水 (10 ml) で調整] に搭載した。搭載した t - C18 セップパックを、その後水 (1 × 5 ml) で、続いてエタノール (3 × 0.2 ml、1 × 0.4 ml) で洗い流した。合わせた所望の生成物を含有するエタノールの排液を、約 0.1 ml の容積まで蒸発させ、リン酸塩で緩衝した生理食塩水 (PBS, 1 ml) で約 10% のエタノールに製剤化した。製剤化した化合物の pH は、約 7 であった。

40

【0226】

実施例 22

化合物 24 の 123I 放射ヨウ素標識誘導体 (化合物 24A) の血漿及び生体内安定性化合物 24A について、化合物の安定性及び代謝を判断するために血漿及び生体内安定

50

性の検討を行った。ラット生体内の血漿安定性は、親化合物の R C P で、 37 における 2 時間の培養を通して 93 % から 80 % まで変化する良好な安定性を実証した。

【 0227 】

ラットにおける生体内の検討により、化合物 24 A の生体内時間を通したわずかな不安定性及び代謝の両方が示された。尿中の放射能が不十分なために、血漿及び胆汁の試料のみが分析可能であった。血漿試料中には時間を通して遊離のヨウ化物量の増加が見られるが、注射した全体の活性度の少量のみが存在した。1 個の代謝産物が血漿試料中に検出され、4 個が胆汁試料中に検出され、代謝も起こっていることを示した。

【 0228 】

実施例 23

10

生体内 L L C 腫瘍モデルにおける放射ヨウ素標識誘導体（化合物 24 A）の体内分布

1 × 10⁶ 個のルイス肺癌腫（L L C）細胞を、C 57 BL / 6 マウスの右の太ももの内側に皮下注射する。腫瘍は、体内分布を行う前の 15 日間成長するままにした。このモデルは、活性なゼラチナーゼ（MMP - 2）、コラゲナーゼ（MMP - 1 及び 8）の両方の発現レベルが示されている [Bae et al., Drugs Exp Clin Res., 29 (1) : 15 ~ 23 (2003)].

【 0229 】

結果

体内分布の検討は、L L C 腫瘍モデルで実施した。化合物 24 A を、最初に血液から非常に素早く取り出し、肝胆道系（HBS）を通して最初に排出した。ある程度の滞留が、背景組織の低い取り込みで腫瘍組織内に見られた。結果の概要を下の表 3 に示す。

20

【 0230 】

【表3】

表3: LLC腫瘍モデルにおける¹²³I-標識化合物の体内分布

	注射後の時間 (min)							
	5		30		60		120	
	平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD
化合物 24A								
% ID 尿	7.17	0.36	6.89	1.44	5.5	2.19	7.22	0.86
% ID/g 腫瘍	0.6	0.18	0.56	0.12	0.48	0.06	0.6	0.07
腫瘍/血液	0.32	0.07	0.59	0.19	0.46	0.05	0.66	0.19
腫瘍/筋肉	1.19	0.12	1.6	0.14	1.41	0.43	1.87	0.94
腫瘍/肺	0.22	0.06	0.39	0.06	0.37	0.26	0.85	0.28
腫瘍/心臓	0.27	0.04	0.57	0.12	0.68	0.07	1.23	0.26
化合物 44A								
% ID 尿	3.94	0.04	5.85	2.22	6.36	1.16	9.42	2.37
% ID/g 腫瘍	1.14	0.21	0.5	0.02	0.66	0.12	0.53	0.1
腫瘍/血液	0.41	0.15	0.38	0.13	0.42	0.12	0.43	0.06
腫瘍/筋肉	1.91	1.24	1.57	0.14	2.3	0.16	2.8	0.71
腫瘍/肺	0.49	0.16	0.54	0.11	0.69	0.16	0.72	0.16
腫瘍/心臓	0.86	0.46	0.870	0.320	0.940	0.240	1.060	0.140
化合物 32A								
% ID 尿	9.82	4.99	35.20	4.08	54.06	7.63	64.10	7.29
% ID/g 腫瘍	2.58	0.27	2.67	0.43	2.03	0.37	1.34	0.25
腫瘍/血液	0.16	0.05	0.26	0.03	0.43	0.05	0.53	0.11
腫瘍/筋肉	1.66	0.43	2.80	0.68	4.88	2.10	3.92	0.60
腫瘍/肺	0.30	0.05	0.43	0.09	0.69	0.18	0.55	0.18
腫瘍/心臓	0.48	0.15	0.75	0.15	1.31	0.15	1.54	0.37
化合物 38A								
% ID 尿	6.37	0.26	40.17	8.53	68.53	5.54	78.75	1.69
% ID/g 腫瘍	2.08	0.38	2.14	0.37	1.06	0.35	0.42	0.10
腫瘍/血液	0.13	0.03	0.30	0.01	0.45	0.08	0.52	0.15
腫瘍/筋肉	1.22	0.18	2.19	0.27	2.27	0.58	1.82	0.52
腫瘍/肺	0.33	0.09	0.73	0.09	0.83	0.12	0.64	0.18
腫瘍/心臓	0.29	0.02	0.90	0.12	1.25	0.52	1.14	0.15
化合物 42A								
% ID 尿	6.89	0.43	16.98	2.47	31.69	3.61	48.07	3.27
% ID/g 腫瘍	2.26	0.46	2.67	0.37	2.35	0.40	1.29	0.24
腫瘍/血液	0.26	0.04	0.54	0.07	0.66	0.02	0.56	0.05
腫瘍/筋肉	1.46	0.22	3.22	0.09	3.52	0.54	2.51	0.87
腫瘍/肺	0.26	0.05	0.57	0.03	0.74	0.08	0.60	0.04
腫瘍/心臓	0.47	0.13	1.24	0.10	1.49	0.21	1.49	0.42
化合物 21A								
% ID 尿	5.62	1.75	26.73	3.14	39.99	3.28	52.08	3.70
% ID/g 腫瘍	1.64	0.29	2.20	0.32	1.97	0.16	1.60	0.14
腫瘍/血液	0.13	0.02	0.33	0.04	0.40	0.02	0.37	0.02
腫瘍/筋肉	0.92	0.11	1.72	0.35	2.30	0.20	2.44	0.07
腫瘍/肺	0.28	0.01	0.65	0.10	0.66	0.06	0.61	0.04
腫瘍/心臓	0.30	0.03	0.83	0.09	1.14	0.03	0.91	0.05

ただし: STD = 標準偏差、ID = 注射用量、尿 = 尿排出物

生体内腫瘍モデル中の¹⁸F-標識誘導体(化合物46B及び48B)の体内分布
化合物46B及び48Bによる体内分布を、実施例23のLLC腫瘍モデルで行った。
結果の概要を下に示す。

【0231】

【表4】

表3: ¹²³I-標識化合物の体内分布表4: インビボLLC腫瘍モデルにおける¹⁸F-1標識化合物の体内分布

	注射後の時間(min)							
	5		30		60		120	
	平均	STD	平均	STD	平均	STD	平均	STD
化合物46B								
% ID 尿	6.60	4.24	12.00	4.17	15.02	3.11	19.68	4.54
% ID/g 腫瘍	0.42	0.17	0.53	0.21	0.32	0.26	0.31	0.21
腫瘍/血液	0.18	0.05	0.47	0.24	0.73	0.54	0.73	0.51
腫瘍/筋肉	1.16	0.12	2.06	0.63	2.02	1.10	1.81	1.00
腫瘍/肺	0.21	0.09	0.55	0.21	0.60	0.53	0.80	0.79
腫瘍/心臓	0.37	0.11	1.15	0.33	1.54	1.12	1.33	1.02
化合物48B								
% ID 尿	0.24	0.08	15.29	6.90	56.89	14.89	59.33	10.10
% ID/g 腫瘍	2.53	0.52	2.33	0.08	1.81	0.63	1.62	0.18
腫瘍/血液	0.11	1.45	0.24	0.02	0.51	0.33	0.41	0.49
腫瘍/筋肉	1.55	1.45	2.92	0.79	4.40	5.59	3.55	1.25
腫瘍/肺	0.26	0.18	0.47	0.10	0.95	0.93	0.77	0.44
腫瘍/心臓	0.40	0.40	0.84	0.09	1.69	1.20	1.52	0.83

ただし: STD =標準偏差、 ID =注射用量、尿=尿排出物

実施例25

生体内アテローム性動脈硬化症のモデルにおける¹²³I-及び¹⁸F-標識化合物の体内分布

ApoE結紮モデル

ApoE-/-マウスは、ApoE遺伝子を欠損した遺伝子組換えノックアウトマウスであり、それ故これらの血漿コレステロール濃度を調節できない。その結果、ApoEマウスは、アテローム性動脈硬化性病変、高脂肪食の給餌により加速されるプロセスを発現する。病変発現のさらなる加速が、頸動脈を結紮することによって達成することができ、手術及び高脂肪食給餌の4週間以内に進行性病変部位の形成をもたらす。このモデルは、高いマクロファージ及びMMPの発現を伴うある程度の組織リモデリングを有することが示されており、Ivanらにより説明されている[Circulation, 105, 2686~2691(2002)]。

【0232】

これらの実験に対しては2つの対照:(1) ApoE二セ動物であって、マウスが同じ外科的介入を受けるが、縫合は頸動脈の真下を通るだけで次いで取り除かれるもの、(2) ApoE結紮マウスと同じ外科的結紮及び高脂肪給餌を受けるC57BL/6結紮動物を使用した。文献の報告は、これらの動物は、ある程度の組織リモデリングを有するが、活性なMMPの濃度は低いことを述べている[Ivan et al, Circulation, 105, 2686~2691(2002)]。

【0233】

結果を表4に示す。

【0234】

【表5】

表4: ApoEモデルにおける¹²³I- 及び¹⁸F-標識化合物の体内分布

	ApoE 結禁			ApoE 偽		
	注射後の時間					
	5 平均	STD	60 平均	STD	60 平均	STD
化合物 24A						
%ID/G 頸動脈	2.67	1.11	2.00	0.83	0.25	0.28
頸動脈/血液	0.94	0.22	1.97	0.99	0.19	0.21
頸動脈/肺	0.62	0.16	1.71	0.77	0.17	0.18
頸動脈/心臓	0.48	0.12	1.03	0.72	0.21	0.2
化合物 32A						
%ID/G 頸動脈	10.32	2.51	10.85	2.21	2.91	1.08
頸動脈/血液	0.46	0.18	1.21	0.28	0.69	0.59
頸動脈/肺	1.01	0.47	1.45	0.70	0.70	0.04
頸動脈/心臓	1.39	0.67	3.94	0.92	1.28	0.49
化合物 46B						
%ID/G 頸動脈	0.88	0.31	0.44	0.13	-	-
頸動脈/血液	0.42	0.16	0.61	0.40	-	-
頸動脈/肺	0.35	0.00	0.53	0.44	-	-
頸動脈/心臓	0.49	0.04	1.11	0.83	-	-
化合物 48B						
%ID/G 頸動脈	12.01	4.33	10.34	1.19	2.37	0.51
頸動脈/血液	0.40	0.08	0.96	0.11	0.2	0.09
頸動脈/肺	0.75	0.07	1.42	0.49	0.25	0.05
頸動脈/心臓	1.27	0.29	2.71	0.24	0.81	0.19

ただし: STD = 標準偏差、 ID = 注射用量

実施例 2 6

生体内アテローム性動脈硬化症のモデルにおける化合物 24 A 及び 32 A のオートラジオグラフィー

ウサギコレステロールモデル

ニュージーランド白ウサギに 1 % コレステロール食を 8 週間給餌し、 大動脈にアテローム性動脈硬化の病変発生を誘発させる。このモデルのバリデーションにより、 大動脈弓から下行大動脈へのマクロファージに富む進行性アテローム性動脈硬化の病変が発生することが示されている。簡潔には、 化合物 24 A 及び 32 A を、 コレステロール給餌ウサギに静脈内注射し、 注射 2 時間後安楽死させた。大動脈をそっくり除去し、 10 % の中性に緩衝したホルマリン中に固定した。大動脈を腹側正中線に沿って縦方向に開き、 正面をスタン I V で染色し、 それによって脂肪染色によりアテローム性動脈硬化病変の存在を検出する。大動脈を次に、 蛍光スクリーンに向かって一晩セットする。スクリーンを次に翌日に走査し、 大動脈組織内の放射活性領域を測定する。

【0235】

その結果は、 両化合物共、 大動脈内のアテローム性動脈硬化病変中への取り込みを示し、 正常な大動脈の領域中への取り込みは最小限であった。

10

20

30

40

50

【0236】**実施例27****生体内腫瘍モデルにおける造影**

造影は、MDA-MB-231腫瘍モデル（ヒト乳癌異種移植片モデル）で化合物24Aにより行った。文献の証拠により、MDA-MB-231細胞は、MMP-1（プロ及びアクティブ）（Benbow et al, Bacheimer et al）、MMP-2（Bacheimer et al, Lee et al）、MMP-3（Bacheimer et al）、MMP-7プロ（Bacheimer et al）、MMP-9プロ（アクティブではない）（Benbow et al, BacheimerらLee et al, Weber et al）、MMP-10、11及び14（すべてプロ）（Benbow et al, Bacheimer et al）を含む広範囲のMMPを発現することが実証されている。
10

【0237】

Bachmeier et al, Anticancer Res. 2001 11月～12月、21(6A)：3821～8、

Bae et al, Drugs Exp Clin Res. 2003; 29(1) : 15～23、

Benbow et al, Clin Exp Metastasis. 1999 5月、17(3) : 231～8、

Lee et al, Eur. J. Cancer, 2001; 37: 106～113、
20

Weber et al, Int J Oncol., 2002 2月、20(2) : 299～303。

【0238】

腫瘍「ホットスポット」は、注射後5分から120分まで見られ、重要な領域の筋肉に対する比は、すべての時点で2:1を超えた。結果を図3に示す。

【図面の簡単な説明】**【0239】**

【図1A】本発明のいくつかの化合物の化学構造を、それらが由来するMMPi（化合物1）を含めて示す図である。

【図1B】本発明のいくつかの化合物の化学構造を、それらが由来するMMPi（化合物1）を含めて示す図である。
30

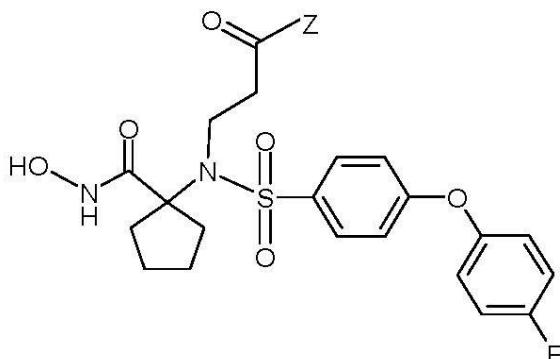
【図1C】本発明のいくつかの化合物の化学構造を、それらが由来するMMPi（化合物1）を含めて示す図である。

【図2】本発明の3個のMMPiの化学構造を示す図である。

【図3】実施例27から得られた画像を示す図である。

【図1A】

Figure 1.



化合物	Z
1.	-OH [従来技術]
2.	-NH-[キレーター1]
3.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-[キレーター1]
4.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH ₂
5.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ Cl
6.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ S(CH ₂) ₃ F
7.	-NH-Lys(CO)NH-(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Lys-[ε-クロロアセチル]-NH ₂
8.	-NH-Glu-NH ₂
9.	-NH-Lys-NH ₂
10.	-NH-Leu-NH ₂
11.	-NH-Lys-Glu-NH ₂
12.	-NH-Glu-Glu-NH ₂
13.	-NH-Leu-Glu-NH ₂
14.	-NH-Lys-Lys-NH ₂
15.	-NH-Gly-Lys-NH ₂
16.	-NH-Glu-Lys-NH ₂
17.	-NH-Leu-Lys-NH ₂
18.	-NH-Gly-Glu-NH ₂
19.	-NH-(Glu) ₅ -Tyr-NH ₂
20.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3-ヨード)-NH ₂
20A.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3- ¹²³ I)-NH ₂
21.	-NH-(Glu) ₅ -Tyr(3-ヨード)-NH ₂

【図1B】

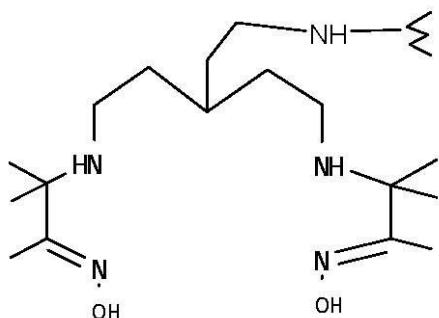
21A.	-NH-(Glu)-s-Tyr(3- ¹²³ I)-NH ₂
22.	-O-C ₆ F ₅
23.	-NH(CH ₂) ₂ -[C ₆ H ₄ -4-OH]
24.	-NH(CH ₂) ₂ -[C ₆ H ₃ -3-I-4-OH]
24A.	-NH(CH ₂) ₂ -[C ₆ H ₃ -3- ¹²³ I-4-OH]
25.	-NH-C ₆ H ₄ -4-SnBu ₃
26.	-NH-C ₆ H ₄ -4-I
30.	-Lys-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3- \equiv - \vdash)-NH ₂
30A.	-Lys-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3- ¹²³ I)-NH ₂
31.	-Lys-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
32.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr(3- \equiv - \vdash)-NH ₂
32A.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr(3- ¹²³ I)-NH ₂
33.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
34.	-Glu-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
35.	-Glu-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3- \equiv - \vdash)-NH ₂
36.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr-NH ₂
37.	-(Glu) ₅ -NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
38.	-(Glu) ₅ -NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3- \equiv - \vdash)-NH ₂
39.	-NH-Tyr-NH ₂
40.	-NH-Tyr(3- \equiv - \vdash)-NH ₂
41.	-(Lys) ₅ -NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr-NH ₂
42.	-(Lys) ₅ -NH(CH ₂ CH ₂ O) ₃ (CH ₂) ₂ NH(CO)CH ₂ OCH ₂ CO-NH-Tyr(3- \equiv - \vdash)-NH ₂

【図1C】

43.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr-NH ₂
44.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Tyr(3-ヨード)-NH ₂
45.	-(Lys- α -NH ₂) ε -COCH ₂ O-NH ₂
46.	-(Lys- α -NH ₂) ε -COCH ₂ O-N=CH-(4-F-フェニル)
46B	-(Lys- α -NH ₂) ε -COCH ₂ O-N=CH-(4- ¹⁸ F-フェニル)
47.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Lys- α -NH ₂ - ε -COCH ₂ O-NH ₂
48.	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Lys- α -NH ₂ - ε -COCH ₂ O-N=CH-(4-F-フェニル)
48B	-NH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ CONH(CH ₂ CH ₂ O) ₁₁ CH ₂ CH ₂ -CONH-Lys- α -NH ₂ - ε -COCH ₂ O-N=CH-(4- ¹⁸ F-フェニル)

脚注: 略号[アミノ酸]-NH₂は、アミノ酸カルボニル末端の末端-CONH₂アミド基を示す。

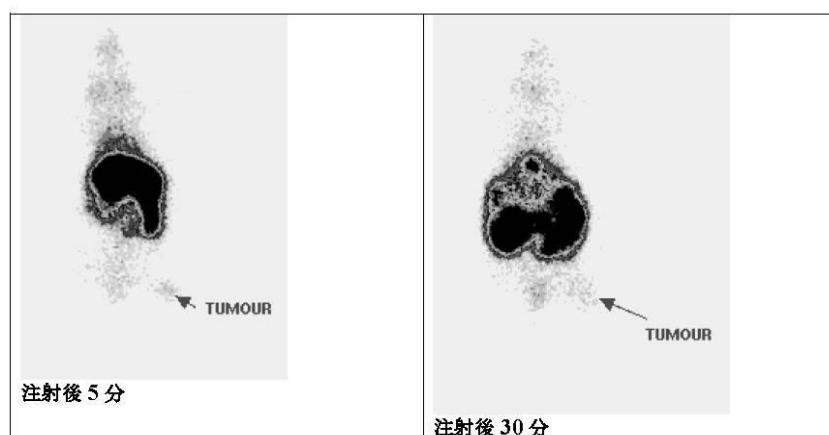
キレーター1は以下の通り。



【図 2】
Figure 2.

化合物	構造
27.	<p>[従来技術]</p>
28.	<p>[従来技術]</p>
29.	<p>[従来技術]</p>

【図 3】
Figure 3: インビボ画像



フロントページの続き

(72)発明者 カスバートソン, アラン

ノルウェー、エン - 0401・オスロ、ポストボクス・4220・ニイダーレン、ニイコベイエン
・1-2、アメルシャム・ヘルス・エーエス(番地なし)

(72)発明者 ソルバッケン, マグネ

ノルウェー、エン - 0401・オスロ、ポストボクス・4220・ニイダーレン、ニイコベイエン
・1-2、アメルシャム・ヘルス・エーエス(番地なし)

(72)発明者 ピュガート, エマ

ノルウェー、エン - 0401・オスロ、ポストボクス・4220・ニイダーレン、ニイコベイエン
・1-2、アメルシャム・ヘルス・エーエス(番地なし)

審査官 川崎 洋祐

(56)参考文献 特表2003-522807(JP,A)

米国特許出願公開第2002/0037916(US,A1)

特開2001-097854(JP,A)

特開平11-263735(JP,A)

欧州特許出願公開第00895988(EP,A1)

特開平11-322705(JP,A)

特表2001-512713(JP,A)

Zheng QH et al., Synthesis and preliminary biological evaluation of MMP inhibitor radiotracers [¹¹C]methyl-halo-CGS 27023A analogs, new potential PET breast cancer imaging agents., Nucl Med Biol., 2002年10月, 29巻7号, pp.761-770

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00 - 39/44

A61K 49/00 - 49/04

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)