

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5710246号
(P5710246)

(45) 発行日 平成27年4月30日 (2015. 4. 30)

(24) 登録日 平成27年3月13日 (2015. 3. 13)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 475/04 (2006. 01)

A 6 1 N 5/10 (2006. 01)

A 6 1 K 31/519 (2006. 01)

A 6 1 K 51/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

C O 7 D 475/04 C S P

A 6 1 N 5/10 Z

A 6 1 N 5/10 M

A 6 1 K 31/519

A 6 1 K 49/02 B

請求項の数 21 (全 70 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2010-502521 (P2010-502521)
 (86) (22) 出願日 平成20年4月11日 (2008. 4. 11)
 (65) 公表番号 特表2010-523626 (P2010-523626A)
 (43) 公表日 平成22年7月15日 (2010. 7. 15)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2008/054409
 (87) 国際公開番号 W02008/125618
 (87) 国際公開日 平成20年10月23日 (2008. 10. 23)
 審査請求日 平成23年3月30日 (2011. 3. 30)
 (31) 優先権主張番号 07105980. 2
 (32) 優先日 平成19年4月11日 (2007. 4. 11)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

前置審査

(73) 特許権者 513039311
 メルク エ カンパニー
 スイス国、6460 アルトドルフ、バイ
 スハウスマッテ
 (74) 代理人 100069556
 弁理士 江崎 光史
 (74) 代理人 100111486
 弁理士 鍛冶澤 實
 (74) 代理人 100139527
 弁理士 上西 克礼
 (74) 代理人 100164781
 弁理士 虎山 一郎
 (72) 発明者 モーザー・ルードルフ
 スイス国、8200 シャッフハウゼン、
 ラーンハルデ、11

最終頁に続く

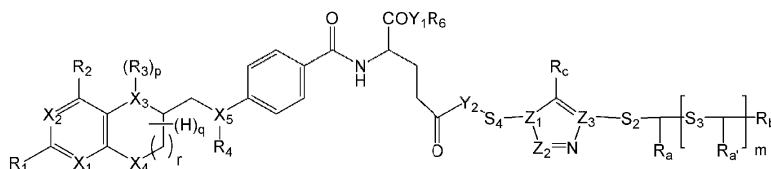
(54) 【発明の名称】 診断用画像及び放射線治療用の葉酸複合体及び対応する金属キレート錯体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 V または V a で表される化合物であって、

【化 1】



V

Chemical structure of a substituted benzamide derivative. The structure features a central benzamide core with various substituents. On the left, a benzene ring is substituted with R_1 , R_2 , X_1 , X_2 , X_3 , and X_4 , and is linked via a chain containing $(R_3)_p$, X_3 , and X_4 to a central benzene ring. This central benzene ring is also substituted with R_4 and R_5 , and is linked via a chain containing X_5 and R_4 to the amide group. The amide group is further substituted with Y_1 , S_4 , Z_1 , Z_2 , Z_3 , S_2 , S_3 , R_b , R_a , and R_7 .

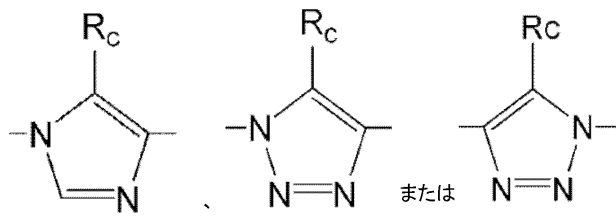
10

上記式 V および V_a における環

$$\begin{array}{c} \text{R}_c \\ | \\ -\text{Z}_1 \text{---} \text{Z}_3 \text{---} \\ | \quad \quad | \\ \text{Z}_2 \text{=N} \end{array}$$

20

【化 4】



30

40

50

$R' - CO - O -$ 、 $- O - CO - NR' -$ 、 $- NR' - CO - NR' -$ 、 $- CH = CH -$ 、 $- C \equiv C -$ 、 $- S -$ 、 $- SO_3 R' -$ 、 $- PR' -$ 、又は、非置換若しくは CN 、 Hal 、 NO_2 、 COR' 若しくは $COOR'$ で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキルであり、

R_a 、 R_a' 、 R_b は、互いに独立して、 H 、 $- OR'$ 、 $- COOR'$ 、 $- NHR'$ 、 $- CONHR'$ 、 $- SR'$ 、ホスフィン又は複素環基であり、ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキルであり、そして、

ここで、 R_a 、 R_a' 、 R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、 $- OH$ 、 $- COOH$ 、 $- NHR'$ 、 $- CONH_2$ 、 $- SH$ 、ホスフィン、又は、複素環基であり、

R_c は、 H 、 $CO_2 R'$ 、 COR' 、 $- SO_3 R'$ 、 $- NHR'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1 - C12$ アルキルであり、ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキルであり、

m は、0、1、2、3 又は 4 であり、

p は、1 であり、

q は、1 ~ 4 であり、そして、

r は、0 又は 1 である上記化合物。

【請求項 2】

S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 、 OH 、若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1 - C8$ アルキルであり、ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、 $- O -$ 、 $- CO -$ 、 $- CO - O -$ 、 $- NR' -$ 、 $- NR' - CO -$ 、 $- CO - NR' -$ で置換されてよく、ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキルである、請求項 1 に記載の化合物。

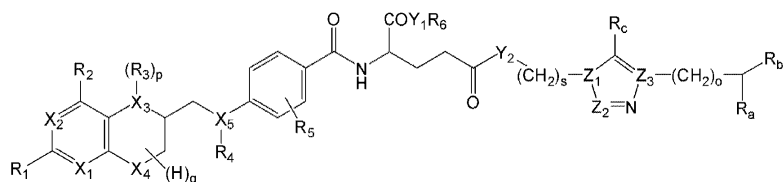
【請求項 3】

m が 0 であるかまたは m が 1 である、請求項 1 に記載の化合物。

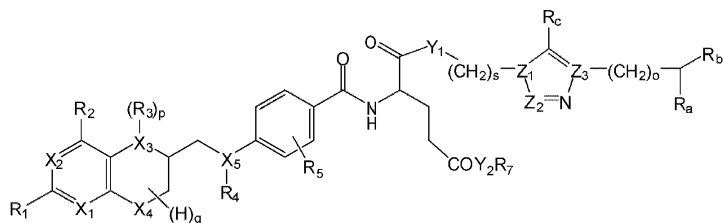
【請求項 4】

式 VI または式 VI a を有する請求項 1 に記載の化合物であって、

【化 5】



【化 6】

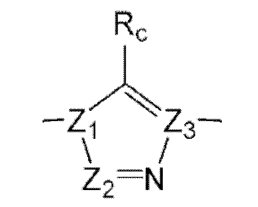


VIa

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、 N であり、上記式 VI および VI a における環

【化 7】



は、

【化 8】



10

であり、

Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、O 又は NH であり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ) カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ) カルボニルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

20

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、ハロ置換された C1 - C12 アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ) カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ) カルボニルであり、

30

R_6 、 R_7 は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルであり、

R_a 、 R_b は、互いに独立して、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、又は、(ピリジル、ピロリル、及びチアゾリルから選択される) 複素環基であり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_c は、H、 CO_2R' 、 COR' 、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

p は、1 であり、

q は、1 ~ 4 であり、

40

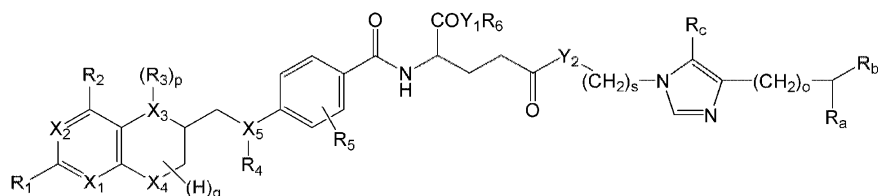
s は、1 ~ 8 であり、そして、

o は、1 ~ 6 である上記化合物。

【請求項 5】

式 VII、式 VII a または 式 VII b の化合物を有する請求項 1 に記載の化合物であって、

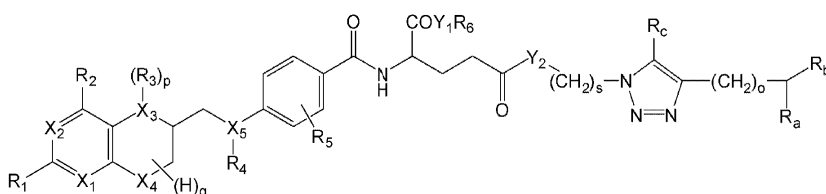
【化 9】



VII

10

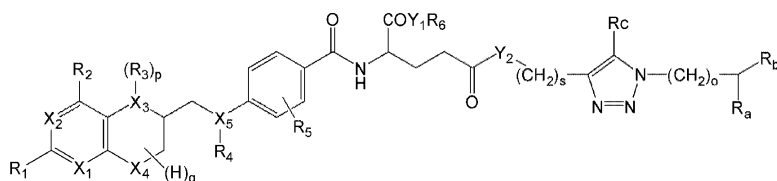
【化 10】



VIIa

20

【化 11】



VIIb

30

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、Nであり、

Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、O又はNHであり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、C2 - C12アルケニル、C2 - C12アルキニル、(C1 - C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H又はC1 - C6アルキルであり、

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、ハロ置換されたC1 - C12アルカノイルであり、

40

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、C2 - C12アルケニル、C2 - C12アルキニル、(C1 - C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12アルキルアミノ)カルボニルであり、

R_6 は、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであり、

R_a 、 R_b は、互いに独立して、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、又は、ピリジル、ピロリル及びチアゾリルから選択される複素環基であり、ここで、 R' は、H又はC1 - C6アルキルであり、

50

R_c は、 H 、 CO_2R' 、 COR' 、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1-C12$ アルキルであり、ここで、 R' は、 H 又は $C1-C6$ アルキルであり、

p は、1であり、

q は、1～4であり、

s は、1～8であり、そして、

o は、1～6である上記化合物。

【請求項6】

R_c は、 H 、 CO_2R' 、 COR' 、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ 、 $C1-C12$ アルキルであり、ここで、 R' は、 H 又は $C1-C6$ アルキルである、請求項1～5の何れか一項に記載の化合物。

10

【請求項7】

R_a は、 $-NH_2$ 、 R_b は、 $-OH$ 、そして R_c は、 H である、請求項1～6の何れか一項に記載の化合物。

【請求項8】

R_6 は H 、又は直鎖若しくは分岐 $C1-C12$ アルキルである、請求項1～7の何れか一項に記載の化合物。

【請求項9】

請求項1～8の何れか一項に記載の化合物及び放射線核種を含む錯体。

【請求項10】

20

放射線核種が、 ^{99m}Tc 、 $^{186}/^{188}Re$ 、 $^{111}In^{+3}$ 、 $^{67}/^{68}Ga^{+3}$ 、 $^{90}Y^{+3}$ 、 $^{109}Pd^{+2}$ 、 $^{105}Rh^{+3}$ 、 ^{177}Lu 、 $^{64}/^{67}Cu$ 、 ^{166}Ho 、 ^{213}Bi から選択される請求項9に記載の錯体。

【請求項11】

(i) 放射性核種のための複素環リガンド部位を合成するステップおよび適切な保護ブテロイン酸または葉酸誘導体に適切なリンカーを介して結合させるステップ；または1，3-環状付加によりアジド誘導体化葉酸を ^{18}F で標識化されたアルキン又はアルキン置換基と反応させるステップ；または1，3-環状付加によりアルキン又はアルキン置換基による誘導体化葉酸を ^{18}F で標識化されたアジドと反応させるステップ及び

(ii) 化合物を単離するステップを含む請求項1～8の何れか一項に記載の化合物の製造方法。

30

【請求項12】

任意に還元剤の存在下で、前記化合物を放射線核種と反応させ、前記錯体を形成するステップを含む、請求項9又は10に記載の錯体の製造方法。

【請求項13】

画像診断量又は治療上の有効量の少なくとも一つの請求項9又は10に記載の錯体、及びそのための薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項14】

診断剤として、または放射線治療剤として使用するための、請求項9又は10に記載の錯体。

40

【請求項15】

診断剤として、または放射線治療剤として使用するための、請求項13に記載の医薬組成物。

【請求項16】

葉酸レセプターが発現している細胞又は細胞集団の画像診断の方法において使用するための請求項9又は10に記載の錯体であって、当該方法は、請求項9又は10に記載の錯体を少なくとも一つ画像診断量で投与し、そして、前記の細胞又は細胞集団の診断画像を得るステップを含む、請求項9又は10に記載の錯体。

【請求項17】

葉酸レセプターが発現している細胞又は細胞集団の画像診断の方法において使用するた

50

めの請求項 13 に記載の医薬組成物であって、当該方法は、請求項 13 に記載の組成物を少なくとも一つ画像診断量で投与し、そして、前記の細胞又は細胞集団の診断画像を得るステップを含む、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

それを必要とする被験者に少なくとも一つの請求項 9 又は 10 に記載の錯体を治療上の有効量投与し、そして、前記の少なくとも一つの錯体が所望の組織に局在した後、組織に放射線照射し、所望の治療効果を得るステップを含む放射線治療方法において使用するための、請求項 9 又は 10 に記載の錯体。

【請求項 19】

それを必要とする被験者に少なくとも一つの請求項 13 の医薬組成物を治療上の有効量投与し、そして、前記の少なくとも一つの組成物が所望の組織に局在した後、組織に放射線照射し、所望の治療効果を得るステップを含む放射線治療方法において使用するための、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

組織サンプルにおいて葉酸レセプターを発現している細胞を生体外 (*in vitro*) で検出する方法であって、請求項 9 又は 10 に記載の錯体又は請求項 13 の組成物を有効量で十分な時間と条件で前記組織サンプルと接触させ、結合を生じさせ、画像形成技術によりその結合を検知することを含む前記方法。

【請求項 21】

一つ又は別々のバイアル中に、請求項 1 ~ 7 の何れか一項に記載の化合物、薬学的に許容できる還元剤の供給源、及び、錫塩などの任意の添加剤を含むシングル又はマルチバイアルキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規の葉酸複合体及び対応する金属キレート複合体とその医薬組成物、その製造方法、及び、画像診断及び放射線治療などの診断及び治療薬用途への使用に関する。

【背景技術】

【0002】

診断薬又は治療薬送達のための細胞特異的なターゲティングは、幅広く研究されている分野であり、非侵襲の診断薬及び / 又は治療薬用途の開発につながるものである。特に、ガンマ線又は光子として電磁放射線を放射する放射性物質を使用する核医学治療及び治療法分野においては、病原の評価及び / 又は治療効果のモニタが可能となる特定の組織を可視化するための強いシグナルを達成するために、又、他の組織への放射線障害の危険を回避しつつ特定の疾患部位を電離放射させるのに必要な量を送達させるための高放射線量を達成させるために、ターゲット細胞又は組織へのこれらの放射性物質の選択的局在が必要となる。

【0003】

葉酸受容体 (FR) は高親和性を有する膜結合性タンパク質であり、正常細胞においては限定的に発現するが、多くの種類の特定の細胞にしばしば過剰に発現する。特定の細胞としては、例えば、上皮腫瘍細胞 (卵巣、子宮内膜、胸部、結腸直腸、腎臓、肺、鼻咽頭など)、及び活性化 (しかし静止していない) マクロファージなどであり、これらは、炎症及び自己免疫性疾患を引き起こす。このため、正常細胞と比較してそれらの特定の細胞中において医薬品及び / 又は診断用薬剤の選択的濃縮を達成させるために、医薬品及び / 又は診断用薬剤のこれらの特異的な細胞集団への送達のための葉酸及びその誘導体の標的薬剤としての使用が必要となる。そのような葉酸複合体としては、葉酸放射性医薬品 (Leamon and Low, Drug Discov. Today 2001; 6:44-51)、化学療法薬の葉酸複合体 (Leamon and Reddy, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1127-41; Leamon et al, Bioconjugate Chem. 2005; 16:803-11)、タンパク質及びタンパク毒素 (Ward et al, J. Drug Target. 2000; 8:119-23; Leamon et al, J. Biol. Chem. 1993; 268:24847-54; Leamon and Low, J.

10

20

30

40

50

Drug Target. 1994; 2:101-12)、アンチセンスオリゴヌクレオチド(Li et al, Pharm. Res. 1998; 15:1540-45; Zhao and Lee, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1193-204)、リポソーム(Lee and Low, Biochim. Biophys. Acta-Biomembr. 1995; 1233:134-44); Gabizon et al, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1177-92)、ハプテン分子(Paulos et al, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1205-17); MRI造影剤 (Konda et al, Magn. Reson. Mat. Phys. Biol. Med. 2001; 12:104-13)などがある。

【 0 0 0 4 】

周知の葉酸放射性医薬品としては、例えば、 ^{125}I でラベルされたヒスタミンとの複合体(米国特許第4,136,159号明細書)、小金属キレートとの複合体、例えば、デフェロキサミン(米国特許第5,688,488号明細書)、非環状又は環状のポリアミノカルボキシレート(例えば、DTPA、DTPA-BMA、DOTA及びDO3A; 米国特許第6,221,334号明細書)、ビスアミノチオール(米国特許第5,919,934号明細書)、6-ヒドラジノニコチンアミド-ヒドラジド(Shuang Liu, Topics in Current Chemistry, vol 252 (2005), Springer Berlin/Heidelberg)、及びエチレンジス테인(米国特許第7,067,111号明細書)など、並びに、小ペプチド(米国特許第7,128,893号明細書)などが挙げられる。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 5 】

【 特許文献 1 】 米国特許第4,136,159号明細書

【 特許文献 2 】 米国特許第5,688,488号明細書

【 特許文献 3 】 米国特許第6,221,334号明細書

【 特許文献 4 】 米国特許第5,919,934号明細書

【 特許文献 5 】 米国特許第7,067,111号明細書

【 特許文献 6 】 米国特許第7,128,893号明細書

【 非特許文献 1 】 Leamon and Low, Drug Discov. Today 2001; 6:44-51

【 非特許文献 2 】 Leamon and Reddy, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1127-41

【 非特許文献 3 】 Leamon et al, Bioconjugate Chem. 2005; 16:803-11

【 非特許文献 4 】 Ward et al, J. Drug Target. 2000; 8:119-23

【 非特許文献 5 】 Leamon et al, J. Biol. Chem. 1993; 268:24847-54

【 非特許文献 6 】 Leamon and Low, J. Drug Target. 1994; 2:101-12

【 非特許文献 7 】 Li et al, Pharm. Res. 1998; 15:1540-45

【 非特許文献 8 】 Zhao and Lee, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1193-204

【 非特許文献 9 】 Lee and Low, Biochim. Biophys. Acta-Biomembr. 1995; 1233:134-44

【 非特許文献 10 】 Gabizon et al, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1177-92

【 非特許文献 11 】 Paulos et al, Adv. Drug Deliv. Rev. 2004; 56:1205-17

【 非特許文献 12 】 Konda et al, Magn. Reson. Mat. Phys. Biol. Med. 2001; 12:104-13

3

【 非特許文献 13 】 Shuang Liu, Topics in Current Chemistry, vol 252 (2005), Springer Berlin/Heidelberg

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 6 】

しかしながら、容易に合成でき、非標的組織比に対して最適な標的(例えば、腫瘍細胞、活性化マクロファージなど)を提示し、腎臓で消化され、高い選択性を有し、腫瘍細胞、活性化マクロファージ(及び高いFR発現を示し、依然同定されていない他の標的細胞)の早期の発見と治療を可能にする非侵襲的な手法における腫瘍イメージング剤として使用するための、さらなる高い選択性を有する放射性核種複合体への需要は依然存在する。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 7 】

10

20

30

40

50

出願人らは、今回、既知の複合体の欠点を克服し、低リガンド濃度における改善されたラベル能、複合体構造の安定化、良好な生体内分布、標的組織中への取り込みの増加、並びに非標的組織及び臓器からの良好なクリアランスなどの複数の利点を示すことにより現在の需要を満たした新規の葉酸複合体を見出した。これらの新規の葉酸複合体は、キレート部位及び薬理学的送達／結合部位を含む。新規の葉酸複合体は、画像診断法及び放射線治療用途に適した種々の放射性核種と安定なキレートを形成することができる。より具体的には、新規の複合体は、複素5員環をベースとし、少なくとも一つの放射性核種の結合によりそのレセプターとしての薬理学的実体のアフィニティーが失われないように設計されている。

【0008】

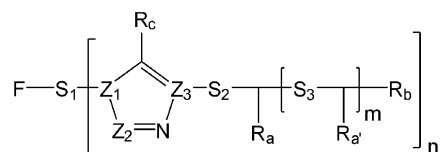
10

本発明は、第一の態様において新規の葉酸複合体に関連し、これ以後、本発明の化合物とも示す。そして、少なくとも一つの放射性核種を有するこれらの錯体（複合体）は上記で議論した関連技術の欠点の一つか二つ以上を解決することができる。

【0009】

特定の実施形態において、本発明は、式 I の化合物を対象とし、

【化1】



20

I

式中、

F は、葉酸又はその誘導体であり、

Z₁、Z₂、Z₃ は、互いに独立して、C 又は N であり、

S₁、S₂、S₃ は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの -CN、-Hal（ハロゲン）、-OH、-NH₂、-SH、-SO₃H 若しくは -NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C₁-C₁₂ アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH₂ 基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR'-、-N=、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-NR'-CO-O-、-O-CO-NR'-、-NR'-CO-NR'-、-CH=CH-、-C-C-、-S-、-SO₃R'-、-PR'-、又は、非置換若しくは -CN、-Hal、-NO₂、-COR' 若しくは -COOR' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、R' は、H 又は C₁-C₆ アルキルであり、

R_a、R_{a'}、R_b は、互いに独立して、H、-OR'、-COOR'、-NHR'、-CONHR'、-SR'、ホスフィン又は複素環基であり、

又は、上記で定義された F であり、ここで、R' は、H 又は C₁-C₆ アルキルであり、そして、

ここで、R_a、R_{a'}、R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、供与基 -OH、-COOH、-NHR'、-CONH₂、-SH、ホスフィン、又は、複素環基である。

R_c は、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又は非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C₁-C₁₂ アルキル、又は上記で定義された F であり、ここで、R' は、H 若しくは C₁-C₆ アルキルであり、

m は、0、1、2、3、又は 4 であり、そして、

n は、1 又は 2 である。

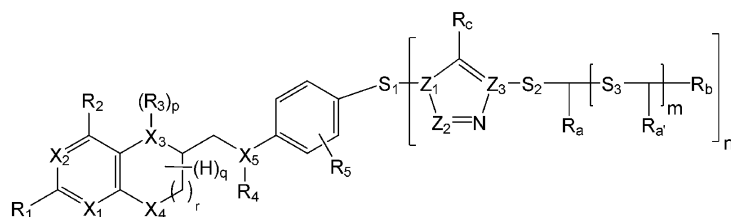
【0010】

ある実施形態において、本発明は式 I の化合物を対象とし、ここで、F は、式 II 又は

50

II' の化合物で示されるブテロイル誘導体で示される。

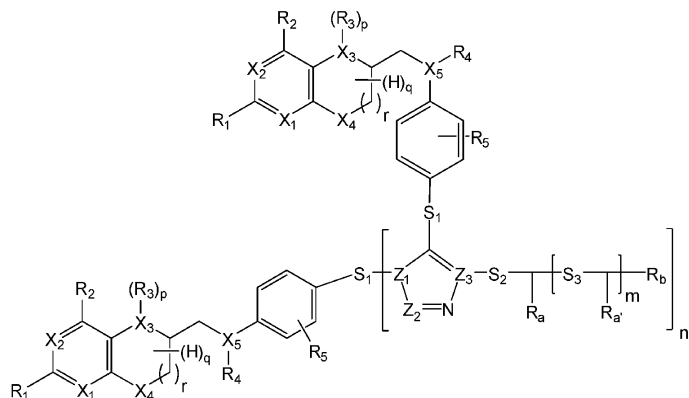
【化 2】



II

10

【化 3】



II'

20

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、及び X_5 は、互いに独立して、C又はNであり、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C又はNであり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、(C1-C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1-C12アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H又はC1-C6アルキルであり、

30

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、ハロ置換されたC1-C12アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、(C1-C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1-C12アルキルアミノ)カルボニルであり、

S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの $-CN$ 、 $-Hal$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 若しくは $-NO_2$ で置換された直鎖若しくは分岐C1-C12アルキルのスペーサーであり、

40

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-COO-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR'-$ 、 $-N=$ 、 $-NR'-CO-$ 、 $-CO-NR'-$ 、 $-NR'-COO-$ 、 $-O-CO-NR'-$ 、 $-NR'-CO-NR'-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_3R'-$ 、 $-PR'-$ 、又は、非置換若しくはCN、Hal、 NO_2 、 COR' 若しくは $COOR'$ で置換された5若しくは6員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、 R' は、H又はC1-C6アルキルであり、

R_a 、 R_a' 、 R_b は、互いに独立して、H、 $-OR'$ 、 $-COOR'$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONHR'$ 、 $-SR'$ 、ホスフィン又は複素環基、

50

又は、上記で定義された F であり、ここで、R' は、H 若しくは C 1 - C 6 アルキルであり、

そして、

ここで、R_a、R_a'、R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、供与基 - OH、- COOH、- NHR'、- CONH₂、- SH、ホスフィン、又は、複素環基であり、

R_c は、H、CO₂R'、COR'、- SO₃R'、- NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C 1 - C 12 アルキルであり、ここで、R' は、H 若しくは C 1 - C 6 アルキルであり、

m は、0、1、2、3、又は 4 であり、

n は、1 又は 2 であり、

p は、0、1、又は 2 であり、

q は、1 ~ 7 であり、そして、

r は、0 又は 1 である。

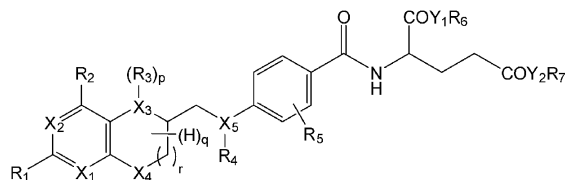
【0011】

本発明の範囲は、以下でもさらに示されるように、F 基が式 II 又は II' の化合物の範囲内であれば、基 R_a、R_a'、及び R_b のすべての可能な置換（示す示さないに関わらず）を含むものとする。

【0012】

他の実施形態においては、本発明は式 I の化合物を対象とし、ここで、F は、式 III で示されるような葉酸（例えば、プテロイル - グルタミン酸）誘導体で示される。

【化 4】



III

式中、

X₁、X₂、X₃、X₄、及び X₅ は、互いに独立して、C 又は N であり、

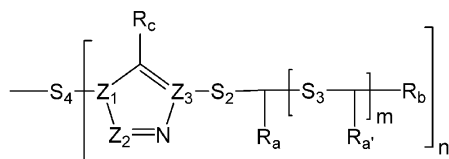
Y₁、Y₂ は、互いに独立して、C、O、又は N であり、

R₁ ~ R₄ 並びに p、q 及び r は、上記で定義された通りであり、

R₅ は、H、CN、Hal、NO₂、C 1 - C 12 アルキル、C 1 - C 12 アルコキシ、C 1 - C 12 アルカノイル、C 2 - C 12 アルケニル、C 2 - C 12 アルキニル、(C 1 - C 12 アルコキシ)カルボニル、及び(C 1 - C 12 アルキルアミノ)カルボニルであり、

R₆ 及び R₇ は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C 1 - C 12 アルキル、又は、式 IV の基であり、

【化 5】



IV

式中、

Z₁、Z₂、Z₃ は、互いに独立して、C 又は N であり、

S₂、S₃、S₄ は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの

10

20

30

40

50

- CN、- Hal、- OH、- NH₂、- SH、- SO₃H 若しくは - NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C₁ - C₁₂ アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH₂ 基は、独立して、- O -、- CO -、- CO - O -、- O - CO -、- NR' -、- N =、- NR' - CO -、- CO - NR' -、- NR' - CO - O -、- O - CO - NR' -、- NR' - CO - NR' -、- CH = CH -、- C - C -、- S -、- SO₃R' -、- PR' -、又は、非置換若しくは CN、Hal、NO₂、COR' 若しくは COOR' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、R' は、H 又は C₁ - C₆ アルキルであり、

R_a、R_a'、R_b は、互いに独立して、H、- OR'、- COOR'、- NHR'、- CONHR'、- SR'、ホスフィン又は複素環基であり、

10

又は、上記で定義された F であり、ここで、R' は、H 又は C₁ - C₆ アルキルであり、そして、

ここで、R_a、R_a'、R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、供与基 - OH、- COOH、- NHR'、- CONH₂、- SH、ホスフィン、又は、複素環基であり、

R_c は、H、CO₂R'、COR'、- SO₃R'、- NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C₁ - C₁₂ アルキル、又は、上記で定義された F であり、ここで、R' は、H 又は C₁ - C₆ アルキルであり、

m は、0、1、2、3、又は 4 であり、そして、

20

n は、1 又は 2 であり、

ただし、R₆ 及び R₇ の少なくとも一つは式 I V の基である。

【0013】

ある好ましい実施形態において、m は 0 である。他の好ましい実施形態において、m は 1 である。

【0014】

他の態様において、本発明は、本発明の化合物、及び、^{99m}Tc、¹⁸⁶/ ¹⁸⁸Re、¹¹¹In + ³、⁶⁷/ ⁶⁸Ga + ³、⁹⁰Y + ³、¹⁰⁹Pd + ²、¹⁰⁵Rh + ³、¹⁷⁷Lu、⁶⁴/ ⁶⁷Cu、¹⁶⁶Ho、²¹³Bi を含んだ錯体を提供する。

【0015】

30

さらなる態様において、本発明は、本発明の化合物、及び、それに対応する金属キレート錯体の製造方法を提供する。

【0016】

さらに、さらなる態様において、本発明は、本発明の錯体を少なくとも一つを画像診断量又は治療上の有効量及び薬学的に許容できるそれらのキャリアを含む医薬組成物を提供する。好ましい実施形態においては、医薬組成物は Tc - ^{99m}、Re - ¹⁸⁶ 又は Re - ¹⁸⁸ を含有する錯体を少なくとも一つ含む。

【0017】

さらなる態様において、本発明は、画像診断又は放射線治療が必要な被験者に簡便に有効量投与するための本発明の錯体及び / 又は医薬品組成物の使用を提供する。本発明の方法の被験者としては好ましくは動物又はヒトなどの哺乳類であり、好ましくはヒトである。

40

【0018】

さらなる態様において、本発明は、本発明の化合物の製造に必要な組成であって放射性核種それ自体以外のすべてを含むシングルバイアルキット又はマルチバイアルキットを提供する。

【0019】

本発明のさらなる特徴と利点については、本発明の下記の詳細な説明と特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

50

【 0 0 2 0 】

【図 1】本発明の化合物である式 I I I (4) とその錯体 (5) の一般化された合成図であり、ここで Z_1 は N、 Z_2 及び Z_3 は C である (L G は適切な脱離基を示し、P G は適切な保護基を示す)。

【図 2】本発明の化合物である式 I I I (9) とその錯体 (1 0) の一般化された合成図であり、ここで Z_1 及び Z_2 は N、 Z_3 は C である。

【図 3】(A) 4 時間及び 2 4 時間 p . i . の $^{99m}\text{Tc} - \text{His} - \text{葉酸}$ の生体内分布 ; (B) ペメトレキセドを予め注射した場合の 4 時間 p . i . の $^{99m}\text{Tc} - \text{His} - \text{葉酸}$ の生体内分布。

【図 4】(A) 1 時間、4 時間及び 2 4 時間 p . i . の $^{99m}\text{Tc} (\text{CO})_3 - \text{トリアゾール} - \text{葉酸}$ の生体内分布 ; (B) ペメトレキセドを予め注射した場合の 4 時間及び 2 4 時間 p . i . の $^{99m}\text{Tc} (\text{CO})_3 - \text{トリアゾール} - \text{葉酸}$ の生体内分布。

【図 5】ペメトレキセドがある場合とない場合の $^{99m}\text{Tc} - \text{His} - \text{葉酸}$ を使用した K B 腫瘍と腎臓の (A) 生体外 (E x v i v o) 及び (B) 生体外 (i n v i t r o) オートラジオグラム

【図 6 - 1】 $^{99m}\text{Tc} - \text{His} - \text{葉酸}$ を使用した胸腺欠損ヌードマウスにおける生体内分布研究における S P E C T / C T 図。

【図 6 - 2】 $^{99m}\text{Tc} - \text{His} - \text{葉酸}$ を使用した胸腺欠損ヌードマウスにおける生体内分布研究における S P E C T / C T 図。

【発明を実施するための形態】

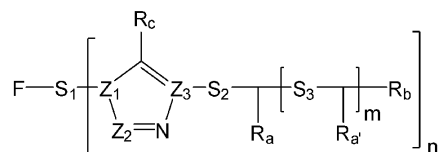
【 0 0 2 1 】

本発明は、最初の形態において、新規の葉酸複合体に関連し、これ以後、本発明の化合物ともいい、又、少なくとも一つの放射性核種を有する複合体は関連技術の欠点の一つが二つ以上を解決することができる。

【 0 0 2 2 】

特定の実施形態において、本発明は、式 I の化合物を対象とし、

【化 6】



I

式中、

F は、葉酸又はその誘導体であり、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C 又は N であり、

S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの - C N、- H a l、- O H、- N H ₂、- S H、- S O ₃ H 若しくは - N O ₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C 1 - C 1 2 アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の C H ₂ 基は、独立して、- O -、- C O -、- C O - O -、- O - C O -、- N R ' -、- N =、- N R ' - C O -、- C O - N R ' -、- N R ' - C O - O -、- O - C O - N R ' -、- N R ' - C O - N R ' -、- C H = C H -、- C - C -、- S -、- S O ₃ R ' -、- P R ' -、又は、非置換若しくは - C N、- H a l、- N O ₂、- C O R ' 若しくは - C O O R ' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、R ' は、H 又は C 1 - C 6 アルキルであり、

R_a 、 R_a' 、 R_b は、互いに独立して、H、- O R '、- C O O R '、- N H R '、- C O N H R '、- S R '、ホスフィン又は複素環基であり、

又は、上記で定義された F であり、ここで、R ' は、H 又は C 1 - C 6 アルキルであり、そして、

10

20

30

40

50

ここで、 R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b のうち少なくとも2つの近接する基は、供与基 - OH、- COOH、- NHR'、- CONH₂、- SH、ホスフィン、又は複素環基であり、 R_c は、H、COOR'、COR'、- SO₃R'、- NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つの - CN、- Hal 若しくは - NO₂で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12アルキル、又は、上記で定義されたFであり、ここで、R'は、H若しくはC1 - C6アルキルであり、

mは、0、1、2、3、又は4であり、そして、

nは、1又は2である。

【0023】

当業者であれば、 R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b （及び R_c ）の位置に一つか二つ以上のF基を組み合わせた式Iの化合物の組み合わせが本発明の一部であることが認識できるであろう（図式1に示したようにDGは供与基を示す）：

(i) 式Iの化合物のある具体的な組み合わせとしては、例えば、 $m = 0$ であり、残りの置換基 R_a 及び R_b のみが、- OH、- COOH、- NHR'、- CONH₂、- SH、ホスフィン、又は、複素環基から選択される2つの近接供与基を示し、 R_c がFを示しても良い。

【0024】

(ii) 式Iの化合物の他の組み合わせとしては、例えば、 R_a 及びその近接の $R_{a'}$ が（すなわち $m = 1$ ）、- OH、- COOH、- NHR'、- CONH₂、- SH、ホスフィン、又は、複素環基から選択される2つの近接供与基を示し、一つか二つ以上の $R_{a'}$ （ $m > 1$ に対して）、 R_b 及び R_c が、互いに独立して、F基を示しても良い。

【0025】

(iii) 式Iの化合物のさらなる具体的な組み合わせとしては、例えば、 R_b 及びその近接の $R_{a'}$ が（すなわち $m = 1$ ）、- OH、- COOH、- NHR'、- CONH₂、- SH、ホスフィン、又は、複素環基から選択される2つの近接供与基を示し、 R_a 、一つか二つ以上の $R_{a'}$ （ $m > 1$ に対して）、及び R_c が、互いに独立して、F基を示しても良い。

【0026】

式Iの化合物のさらなる具体的な組み合わせとしては（図式1には示していない）、例えば、二つの近接する $R_{a'}$ （すなわち $m = 2$ ）が、- OH、- COOH、- NHR'、- CONH₂、- SH、ホスフィン、又は複素環基から選択される2つの近接供与基を示し、 R_a 、一つか二つ以上の $R_{a'}$ （ $m > 2$ に対して）、 R_b 、及び R_c が、互いに独立して、F基を示しても良い。

【0027】

これらの組み合わせのすべては同じ化学的結合構造を必要としており、それ故、これらはすべて合成化学的に当業者により合成可能である。したがって、F基及び2つの近接供与基を有する式Iの化合物のすべての可能な組み合わせ（示す示さないに関わらず）は本発明の一部であると理解される。

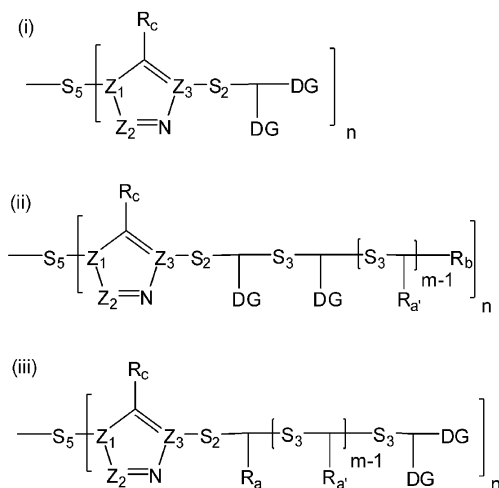
【0028】

10

20

30

【化 7】



図式 1

【 0 0 2 9 】

好ましい実施形態において、葉酸とその誘導体は（これ以後単に「葉酸」とも示される）、本発明における使用のために、ベンゾイル部分を介して（以下に定義される）リンカー S 1 と結合した縮合ピリミジン複素環をベースとした化合物を含む。ここで使用される「縮合ピリミジン複素環」としては、例えば、プテリジン又は二環式ピロロピリミジンなど 5 若しくは 6 員環の複素環をさらに融合させたピリミジンが挙げられる。

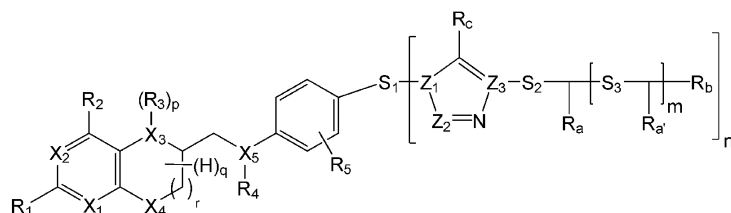
【 0 0 3 0 】

ここで使用される葉酸の好ましい典型例は、葉酸（プテロイル - グルタミン酸）骨格をベースとし、任意に、置換葉酸、ホリニン酸、プテロポリグルタミン酸、及び葉酸レセプター結合プテリジン、例えば、テトラヒドロプテリン、ジヒドロ葉酸、テトラヒドロ葉酸並びにデアザ（d e a z a）及びジデアザ（d i d e a z a）アナログを含む。葉酸は本発明の化合物のために使用される好ましい共役形成リガンドである。「デアザ」及び「ジデアザ」アナログという用語は、天然に存在する葉酸構造において一つか二つの窒素原子に置換された炭素原子を有すると当該技術分野で認識されるアナログを指す。例えば、デアザアナログとしては、1 - デアザ、3 - デアザ、5 - デアザ、8 - デアザ及び 10 - デアザアナログが挙げられる。ジデアザアナログとしては、例えば、1, 5 - ジデアザ、5, 10 - ジデアザ、8, 10 - ジデアザ及び 5, 8 - ジデアザアナログが挙げられる。好ましいデアザアナログ化合物としては、N - [4 - [2 - [(6 R) - 2 - アミノ - 1, 4, 5, 6, 7, 8 - ヘキサヒドロ - 4 - オキソピリド [2, 3 - d] ピリミジン - 6 - イル] エチル] ベンゾイル] - L - グルタミン酸（L o m e t r e x o l ; ロメトレキソール）及び N - [4 - [1 - [(2, 4 - ジアミノ - 6 - プテリジニル) メチル] プロピル] ベンゾイル] - L - グルタミン酸（E d a t r e x a t e ; エダトレキサート）が挙げられる。

【 0 0 3 1 】

特定の実施形態において、本発明は式 I I 及び I I ' の化合物を対象とし、

【化 8】



I I

10

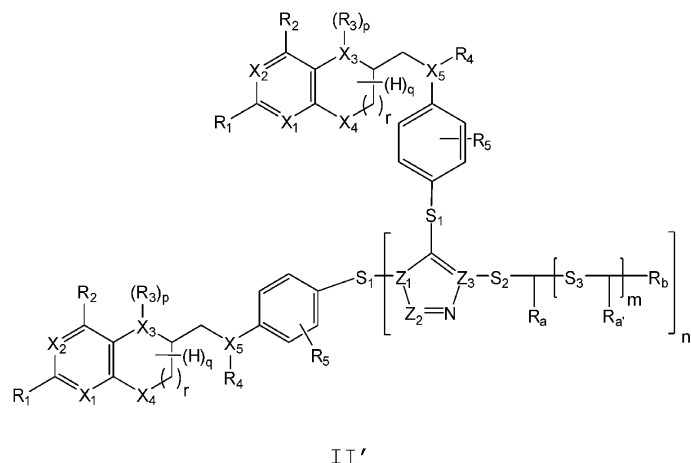
20

30

40

50

【化 9】



10

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、C 又は N であり、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C 又は N であり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ) カルボニル及び (C1 - C12

20

アルキルアミノ) カルボニルであり、

ここで R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、ハロゲン置換 C1 - C12 アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ) カルボニル及び (C1 - C12 アルキルアミノ) カルボニルであり、

S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの $-CN$ 、 $-Hal$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 若しくは $-NO_2$ で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルのスペーサーであり、

30

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR'-$ 、 $-N=$ 、 $-NR'-CO-$ 、 $-CO-NR'-$ 、 $-NR'-CO-O-$ 、 $-O-CO-NR'-$ 、 $-NR'-CO-NR'-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_3R'-$ 、 $-PR'-$ 、又は、非置換若しくは CN、Hal、 NO_2 、COR' 若しくは COOR' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b は、互いに独立して、H、 $-OR'$ 、 $-COOR'$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONHR'$ 、 $-SR'$ 、ホスフィン又は複素環基であり、

40

又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、そして、

ここで、 R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、供与基 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、ホスフィン、又は複素環基であり、

R_c は、H、 CO_2R' 、COR'、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルであり、ここで、 R' は、H 若しくは C1 - C6 アルキルであり、

m は、0、1、2、3 又は 4 であり、

n は、1 又は 2 であり、

50

p は、0、1 又は 2 であり、
 q は、1 ~ 7 であり、並びに、
 r は、0 は 1 である。

【0032】

本発明の範囲は、式 II 及び II' の化合物のうち上記で定義された F 基である基 R_a 、 $R_{a'}$ 及び R_b の可能なすべての組み合わせについても含まれることが理解される：第一に、これらの組み合わせは、さらに一つの F 基を有する式 II 及び II' の化合物を含む。これらは、(i) R_a が F 基、又は (ii) R_b が F 基、又は (iii) $R_{a'}$ が F 基である式 II 及び II' の化合物を含む。

【0033】

第二に、これらの組み合わせは、さらに二つの F 基を有する式 II 及び II' の化合物をさらに含む。これらは、(i) R_a 及び $R_{a'}$ が F 基、又は (ii) R_a 及び R_b が F 基、又は (iii) $R_{a'}$ 及び R_b が F 基である式 II 及び II' の化合物を含む。

【0034】

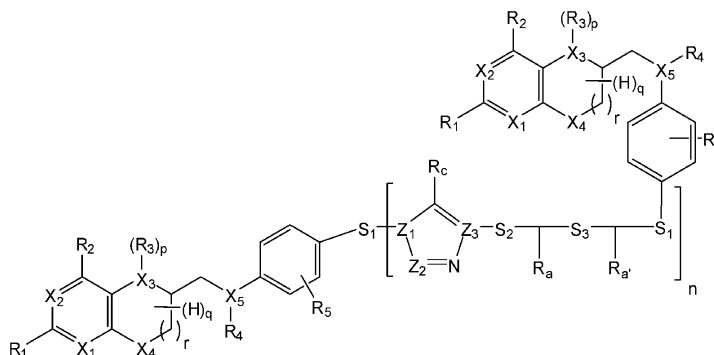
これらの組み合わせすべてにおいて、「m」は、2つの近接する供与基を有しているという要件を依然満たすように、調整されなければならないことが理解される。

【0035】

本発明によれば上記の組み合わせのうち選択された実施形態は、例えば、式 IIa、IIb、IIc、IId 及び IIE の化合物である。

【0036】

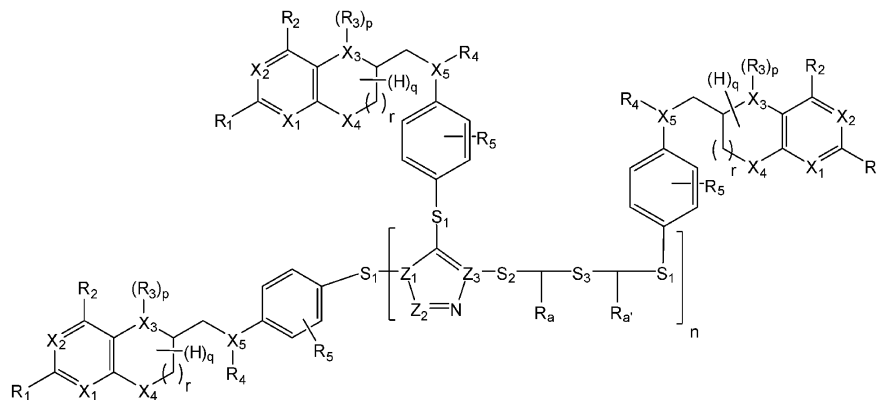
【化10】



IIa

【0037】

【化11】



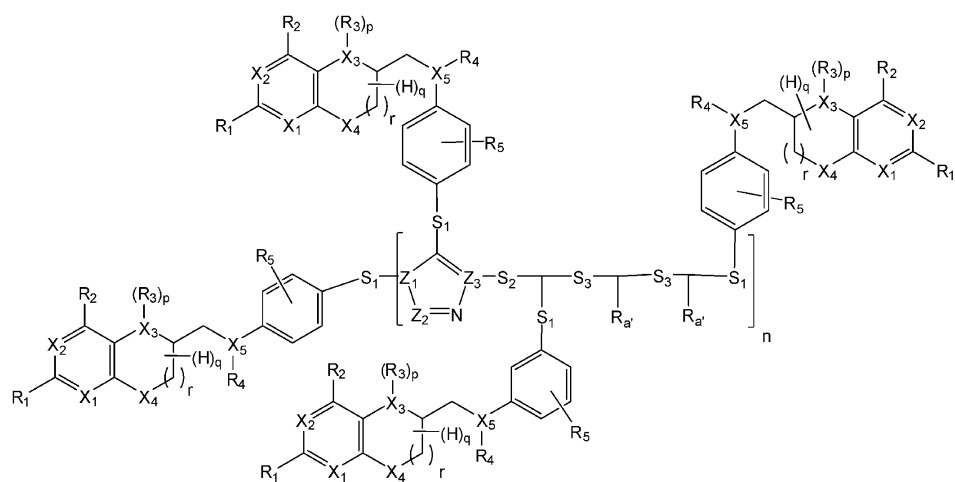
IIb

【0038】

10

IIc

【化 1 3】

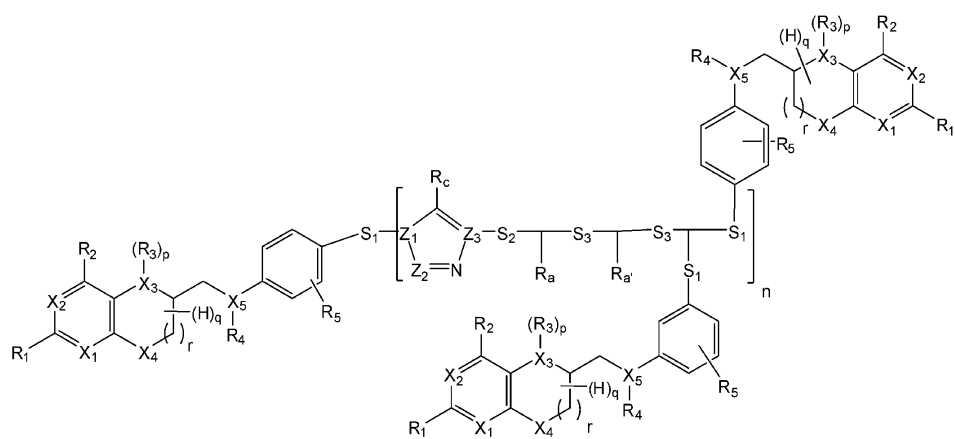


20

30

IId

【化 1 4】



40

Ile

50

【0041】

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、及び X_5 は、互いに独立して、C又はNであり、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C又はNであり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、-OR'、-NHR'、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、(C1-C12アルコキシ)カルボニル及び(C1-C12アルキルアミノ)カルボニルであり、

ここでR'は、H又はC1-C6アルキルであり、

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、ハロゲン置換C1-C12アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、NO₂、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、(C1-C12アルコキシ)カルボニル及び(C1-C12アルキルアミノ)カルボニルであり、

S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの-CN、-Hal、-OH、-NH₂、-SH、-SO₃H若しくは-NO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1-C12アルキルのスパーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR'-、-N=、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-NR'-CO-O-、-O-CO-NR'-、-NR'-CO-NR'-、-CH=CH-、-C=C-、-S-、-SO₃R'-、-PR'-、又は、非置換若しくはCN、Hal、NO₂、COR'若しくはCOOR'で置換された5若しくは6員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここでR'は、H又はC1-C6アルキルであり、

R_a 、 R_a' 、 R_b は、互いに独立して、-OH、-COOH、-NHR'、-CONH₂、-SH、ホスフィン又は複素環基であり、

ここで、R'は、H又はC1-C6アルキルであり、

R_c は、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1-C12アルキルであり、ここで、R'は、H若しくはC1-C6アルキルであり、

nは、1又は2であり、

pは、0、1又は2であり、

qは、1～7であり、並びに、

rは、0又は1である。

【0042】

本発明の範囲は式II及びIIa'のすべての可能な組み合わせ(示す示さないに関わらず)を含むと理解される。

【0043】

ある実施形態においては、 Z_1 はNであり、 Z_3 はCであり、 Z_2 はC又はNである。

別の実施形態においては、 Z_1 はCであり、 Z_2 及び Z_3 はNである。

【0044】

S_1 は、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal、OH、NH₂、SH、SO₃H若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1-C12アルキルであることが好ましく、そして、ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR'-、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-CH=CH-、-C=C-、又は、非置換若しくはCN、Hal、NO₂、COR'若しくはCOOR'若しくはその組み合わせで置換された5若しくは6員環の芳香環で置換されてよく、

10

20

30

40

50

ここでR'は、H又はC1 - C6アルキルである。

【0045】

より好ましくは、S₁は、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであり、そして、ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-NR'-、-NR'-CO-、-CO-NR'-で置換されてよく、ここでR'は、H又はC1 - C6アルキルである。

【0046】

S₂及びS₃は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal、OH、NH₂若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであることが好ましく、そして、ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-NR'-、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-CH=CH-、-C=C-で置換されてよく、ここでR'は、H又はC1 - C6アルキルである。

【0047】

より好ましくは、S₂及びS₃は、互いに独立して、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C8アルキルであり、そして、ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-NR'-、-NR'-CO-、-CO-NR'-で置換されてよく、ここでR'は、H又はC1 - C6アルキルであり、最も好ましくは、S₂及びS₃は、互いに独立して、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal、OH若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C6アルキルである。

【0048】

ある好ましい実施形態においては、m = 0であり、別の好ましい実施形態においては、m = 1である。

【0049】

さらなる好ましい実施形態においては、R_cは、H、CO₂R'、COR'、-NHR'又は非置換のC1 - C6アルキルであり、ここでR'は、H又はC1 - C6アルキルである。

【0050】

S₁及びR_cの好ましい実施形態としては、アミノ酸、短いペプチド、糖分子が挙げられる。当業者であれば選択方法は既知であろう。

【0051】

このように、さらなる好ましい実施形態において、本発明は、式IIの化合物を対象とし、ここで、S₁は、アミノ酸部分であり、すなわち、ここで、Fはアミノ酸部分と結合するペトリル部分を含む葉酸構造を示している。ここで使用される「アミノ酸」という用語は、アミノ基（例えば、NH₂又はNH₃⁺）とカルボン酸基（例えば、COOH又はCOO⁻）の両方を含む化合物である。特定の実施形態においては、アミノ酸としては、-アミノ酸、-アミノ酸、D-アミノ酸又はL-アミノ酸でよい。アミノ酸は天然に存在するアミノ酸で良く（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、又はヒスチジンなど）、また、これらの誘導体でも良い。誘導体の例としては、任意に置換されたアミノ酸、例えば、CN、Hal及び/又はNO₂から選択された一つか二つ以上の置換基を有するアミノ酸が挙げられる。また、アミノ酸としては、天然に存在しないあらゆるアミノ酸であっても良く、例えば、ノルロイシン、ノルバリン、L-若しくはD-ナフトアラニン、オルニチン、ホモアルギニン、及びペプチド分野で既知の他のペプチド（M. Bodanzsky, "Principles of Peptide Synthesis," 1st and 2nd revised ed., Springer-Verlag, New York, NY, 1984 and 1993、及び、Stewart and Young, "Solid Phase Peptide Synthesis," 2nd ed., Pierce Chemical Co., Rockfor

10

20

30

40

50

d, IL, 1984を参照されたい、これらは両方とも引例として本出願に組み込まれる)である。アミノ酸及びアミノ酸アナログ/誘導体は商業的に購入することができ (Sigma Chemical Co.; Advanced Chemtech)、また、当分野で周知の方法で合成することもできる。別の特定の実施形態においては、アミノ酸はポリアミノ酸 (又はポリペプチドと呼ぶ) の一部であっても良く、ここでは、上記に定義した複数の同一の若しくは異なるアミノ酸が共有結合により結合、すなわち慣用のペプチド結合又は他の結合によって結合している。

【0052】

好ましいアミノ酸としては、例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸、グルタミン、アスパルチン (aspartine)、リジン、アルギニン、システイン及びこれらの誘導体が挙げられ、好ましいポリアミノ酸としては、これらの個々のホモポリマー (すなわち、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸など) が挙げられる。最も好ましいのは、任意に置換されたアスパラギン酸及びグルタミン酸である。

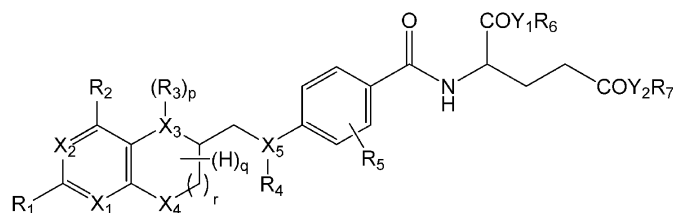
10

【0053】

このように、より特定の実施形態においては、本発明は式 III の化合物を対象とし、ここで、F は、式 III の化合物で示される 2 つの結合部位を有する プテロイルグルタミン酸 (若しくは葉酸) 骨格を示し、

【0054】

【化 15】



20

III

【0055】

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、C 又は N であり、
 Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又は N であり、
 R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ) カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ) カルボニルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

30

R_3 、及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、ハロ置換された C1 - C12 アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ) カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ) カルボニルであり、

40

p は、0、1 又は 2 であり、

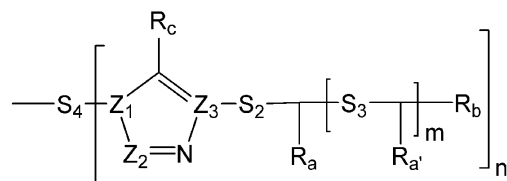
q は、1 ~ 7 であり、並びに、

r は、0 又は 1 であり、

R_6 及び R_7 は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキル、又は、式 IV の基であり、

【0056】

【化 16】



IV

【0057】

10

式中、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C又はNであり、
 S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの
 -CN、-Hal、-OH、-NH₂、-SH、-SO₃H若しくは-NO₂で置換され
 た直鎖若しくは分岐C1-C12アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-
 O-、-O-CO-、-NR'-、-N=、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-N
 R'-CO-O-、-O-CO-NR'-、-NR'-CO-NR'-、-CH=CH-
 、-C-C-、-S-、-SO₃R'-、-PR'-、又は、非置換若しくはCN、Ha
 l、NO₂、COR'若しくはCOOR'で置換された5若しくは6員環の芳香族炭素環
 若しくは複素環で置換されてよく、

20

ここで、R' は、H又はC1-C6アルキルであり、

R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b は、互いに独立して、H、-OR'、-COOR'、-NHR'、-
 CONHR'、-SR'、ホスフィン又は複素環基であり、

又は、上記で定義されたFであり、ここで、R' は、H又はC1-C6アルキルであり、
 そして、

ここで、 R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b のうち少なくとも2つの近接する基は、供与基-OH、-C
 OOH、-NHR'、-CONH₂、-SH、ホスフィン、又は、複素環基であり、

R_c は、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又は、非置換若しくは
 少なくとも一つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1-C1
 2アルキル、又は、上記で定義されたFであり、ここで、R' は、H又はC1-C6アル
 キルであり、

30

mは、0、1、2、3又は4であり、そして、

nは、1又は2であり、

ただし、 R_6 及び R_7 の少なくとも一つは式IVの基である。

【0058】

ある特定の実施形態においては、(i) Z_1 はN、 Z_3 はC、そして Z_2 はC又はNで
 あり、又は(ii) Z_1 はC、 Z_2 及び Z_3 はNである。

【0059】

好ましい実施形態においては、 S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、単結合、又は、
 非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal、OH、NH₂若しくはNO₂で置換され
 た直鎖若しくは分岐C1-C12アルキルであり、

40

ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-
 O-、-NR'-、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-CH=CH-、-C-C-
 で置換されてよく、ここで、R' は、H又はC1-C6アルキルである。

【0060】

より好ましくは、 S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、非置換若しくは少なくとも一
 つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1-C8アルキルであ
 り、

ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-

50

O -、-NR' -、-NR' - CO -、-CO - NR' - で置換されてよく、ここで、R' は、H又はC1 - C6アルキルである。

【0061】

最も好ましくは、S₂、S₃、S₄は、互いに独立して、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal、OH若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C6アルキルである。

【0062】

さらなる好ましい実施形態においては、R_cは、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又はC1 - C12アルキルであり、ここで、R'は、H又はC1 - C6アルキルである。

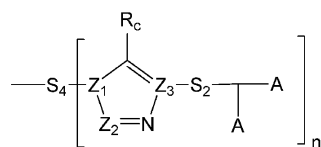
【0063】

特定の実施形態においては、本発明は式IIIの化合物を対象とし、ここで、(a) R₆はH、又は非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであり、R₇は式IVの基であり、(b) R₆は式IVの基であり、R₇はH、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであり、又は、(c) R₆及びR₇の両方が式IVの基である。さらなる特定の実施形態においては、mは0又は1である。

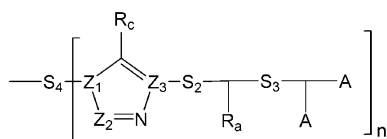
【0064】

このように本発明は、式IIIの化合物を対象とし、ここで、R₆及びR₇の少なくとも一つは、式IVa、IVbの基及び/又は式IVb'の基である。

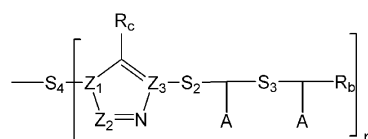
【化17】



IVa



IVb



IVb'

【0065】

式中、Z₁、Z₂、Z₃は、互いに独立して、C又はNであり、S₂、S₃、S₄は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの-CN、-Hal、-OH、-NH₂、-SH、-SO₃H若しくは-NO₂で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルのスペーサーであり、ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR' -、-N=、-NR' - CO -、-CO - NR' -、-NR' - CO - O -、-O - CO - NR' -、-NR' - CO - NR' -、-CH=CH-、-C=C-、-S-、-SO₃R' -、-PR' -、又は、非置換若しくはCN、Hal、NO₂、COR'若しくはCOOR'で置換された5若しくは6員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、R'は、H又はC1 - C6アルキルであり、

Aは、互いに独立して、-COOH、-NH₂、-CONH₂、又は-SHであり、

R_a、R_bは、互いに独立して、H、-OR'、-COOR'、-NHR'、-CONHR'、-SR'、ホスフィン又は複素環基であり、

又は、上記で定義されたFであり、ここで、R'は、H又はC1 - C6アルキルであり、

R_cは、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又は、非置換若しくは

10

20

30

40

50

少なくとも一つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C₁-C₁₂アルキル、又は、上記で定義されたFであり、ここで、R'は、H又はC₁-C₆アルキルであり、そして、
nは、1又は2である。

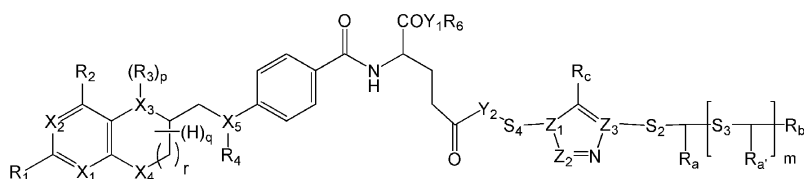
【0066】

F基と2つの隣接する供与基の組み合わせにおいて式IVの基と共に式IIIの化合物の(示す示さないに関わらず)すべての可能な組み合わせは、本発明の一部であることが理解される。これらは、式IIIの化合物を含み、ここで、R₆若しくはR₇の何れか一つ、又はその両方は式IVの基であり、そして、ここで、これらの各化合物において、R_a、R_{a'}、R_b及び/又はR_cはF基を示しても良い(そのために、例えば、式IVa、IVb及びIVb'の基の特定の実施例に示すようにR_a、R_{a'}、R_bの二つは隣接供与基である)。選択された化合物を式V及びV'、Va及びVa'、Vb及びVb'により示され、ここでR_cがF基となる可能性を示した。ここで示されないがR_a、R_{a'}、R_bがF基となる他のすべての組み合わせもまた発明の範囲内であることが理解される。

10

【0067】

【化18】

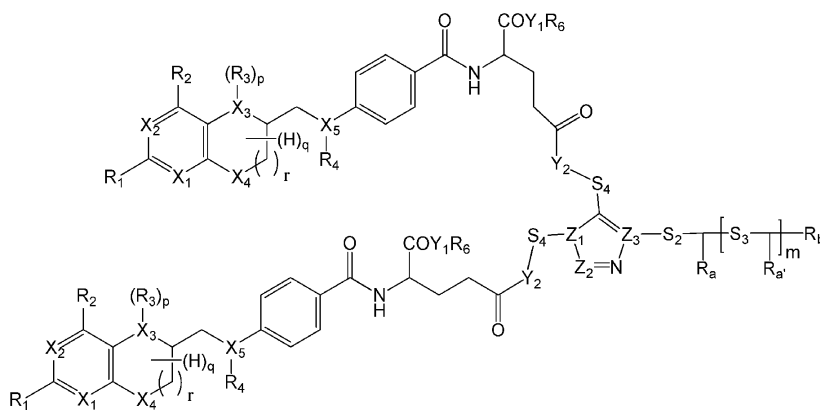


20

V

【0068】

【化19】



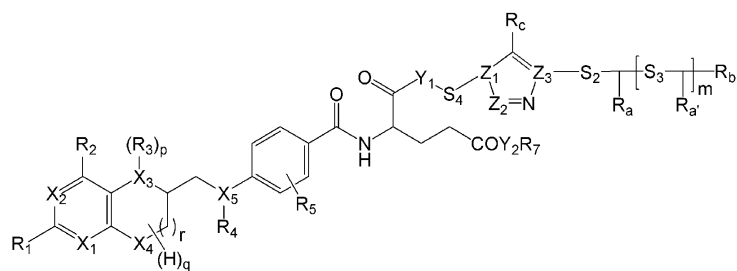
30

V'

【0069】

40

【化 2 0】

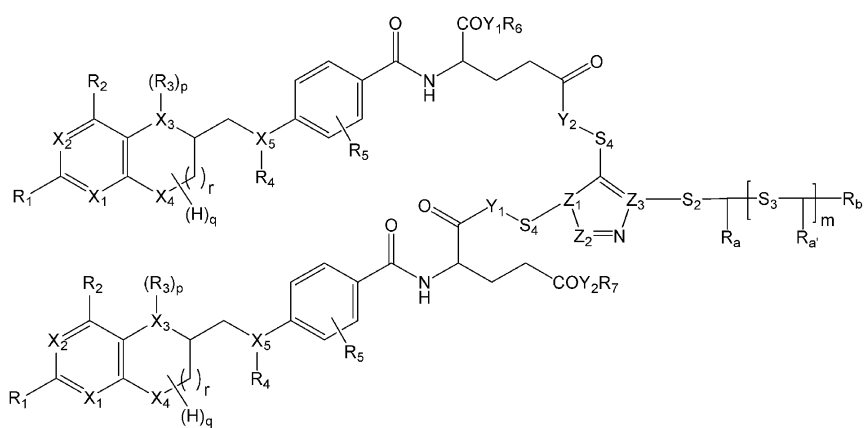


Va

10

【 0 0 7 0】

【化 2 1】

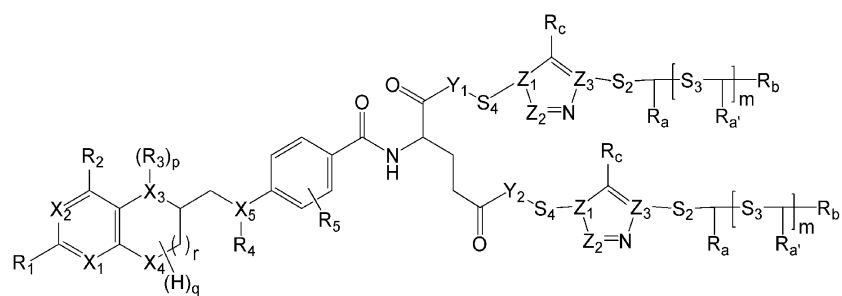


Va'

20

【 0 0 7 1】

【化 2 2】

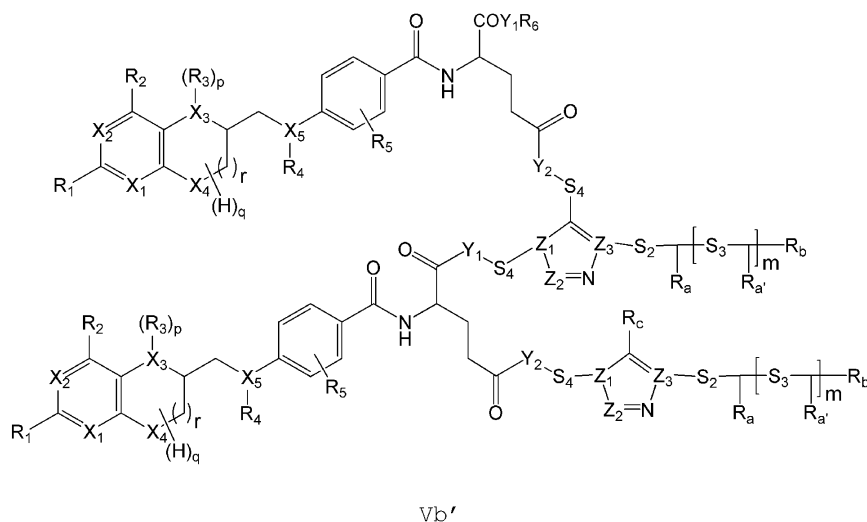


Vb

30

【 0 0 7 2】

【化 2 3】



10

【0073】

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、C 又は N であり；

Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又は N であり、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C 又は N であり；

20

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、ハロ置換された C1 - C12 アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、

30

R_6 及び R_7 は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルであり、

S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの $-CN$ 、 $-Hal$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 若しくは $-NO_2$ で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-COO-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR'-$ 、 $-N=$ 、 $-NR'-CO-$ 、 $-CO-NR'-$ 、 $-NR'-COO-$ 、 $-O-CO-NR'-$ 、 $-NR'-CO-NR'-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_3R'-$ 、 $-PR'-$ 、又は、非置換若しくは CN、Hal、 NO_2 、 COR' 若しくは $COOR'$ で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

40

ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b は、互いに独立して、H、 $-OR'$ 、 $-COOR'$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONHR'$ 、 $-SR'$ 、ホスフィン又は複素環基であり、

又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、そして、

ここで、 R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、供与基 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、ホスフィン、又は、複素環基であり、

50

R_c は、 H 、 CO_2R' 、 COR' 、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1-C12$ アルキル、又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、 H 又は $C1-C6$ アルキルであり、

m は、 0 、 1 、 2 、 3 又は 4 であり、

p は、 0 、 1 又は 2 であり、

q は、 $1 \sim 7$ であり、そして、

r は、 0 又は 1 である。

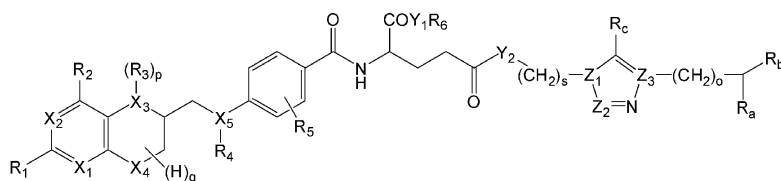
【0074】

より好ましい実施形態においては、本発明は、 S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 、 OH 、若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1-C8$ アルキルであり、そして、ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-NR'-$ 、 $-NR'-CO-$ 、 $-CO-NR'-$ で置換されてよく、ここで、 R' は、 H 又は $C1-C6$ アルキルである化合物を意図する。さらに特定の実施形態においては、 m は 0 又は 1 である。

【0075】

さらなる好ましい実施形態において、このように本発明は、例えば、式 VI 及び VI' 、式 VIa 及び VIa' 並びに式 VIb 及び VIb' の化合物を対象とする。

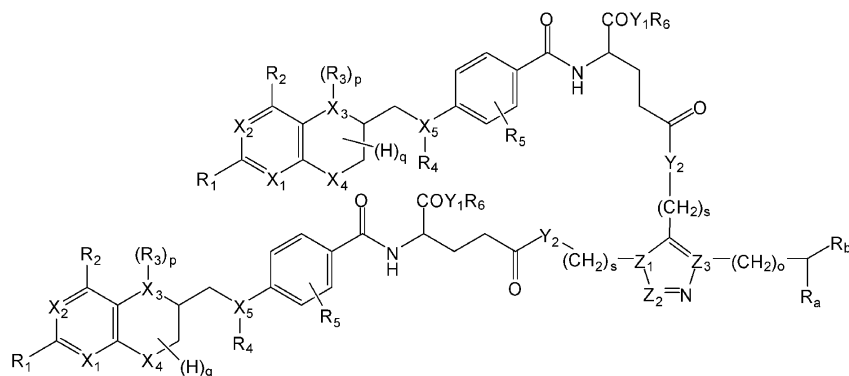
【化24】



VI

【0076】

【化25】



VI'

【0077】

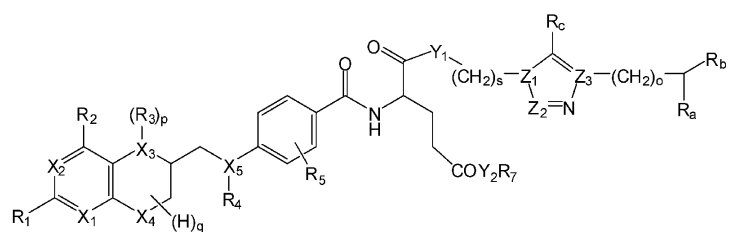
10

20

30

40

【化 2 6】

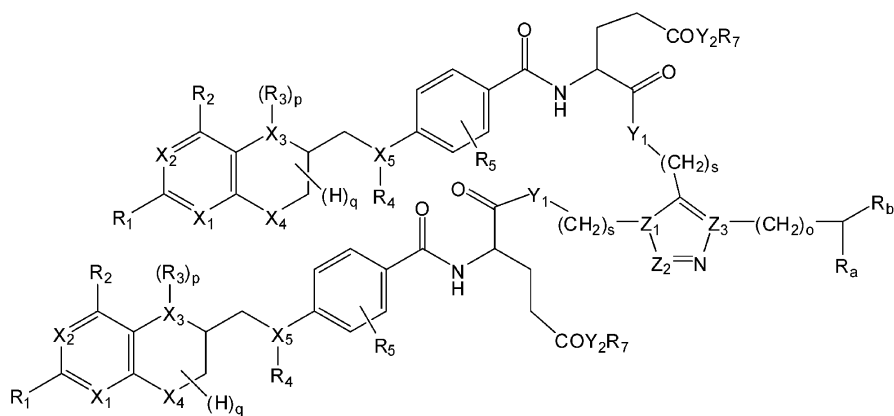


VIa

【 0 0 7 8】

10

【化 2 7】

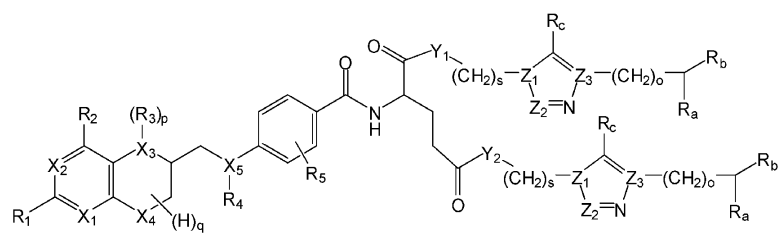


VIa'

20

【 0 0 7 9】

【化 2 8】

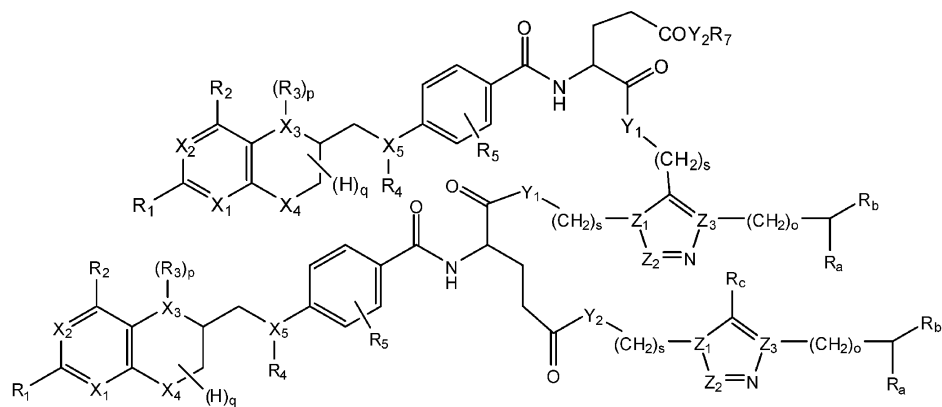


VIb

30

【 0 0 8 0】

【化 29】



10

VIb'

【0081】

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、N 又は C であり、
 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C 又は N であり、
 Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又は N であり、
 R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

20

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、ハロ置換された C1 - C12 アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、

30

R_6 、 R_7 は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルであり、

R_a 、 R_b は、互いに独立して、供与基であり、例えば、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、又は、(ピリジル、ピロリル、及びチアゾリルから選択される)複素環基であり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_c は、H、 CO_2R' 、 COR' 、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

40

p は、0、1 又は 2 であり、

q は、1 ~ 7 であり、

s は、1 ~ 8 であり、そして、

o は、1 ~ 6 である。

【0082】

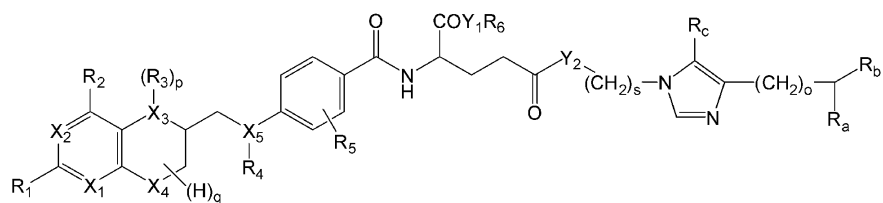
好ましくは、(i) Z_1 は N、 Z_3 は C、そして Z_2 は C 若しくは N、又は、(ii) Z_1 は C、 Z_2 及び Z_3 は N である。

【0083】

このように、さらなる好ましい実施形態において、本発明は式 VII 及び VII'、式 VIIa 及び VIIa'、並びに式 VIIb 及び VIIb' の化合物を対象とする。

50

【化 3 0】

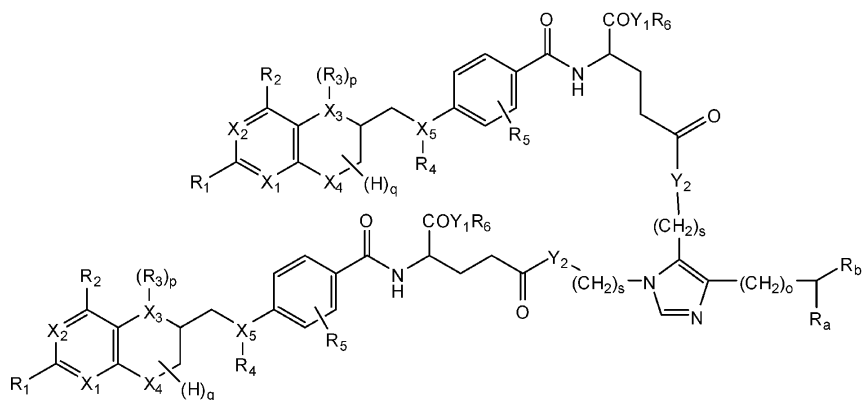


VII

10

【 0 0 8 4】

【化 3 1】

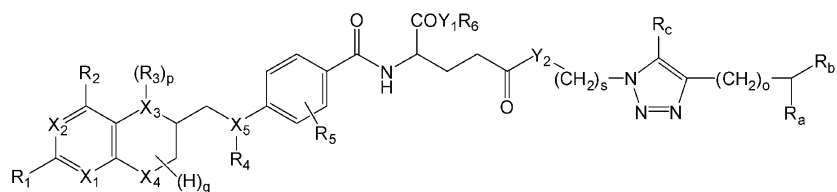


VII'

20

【 0 0 8 5】

【化 3 2】

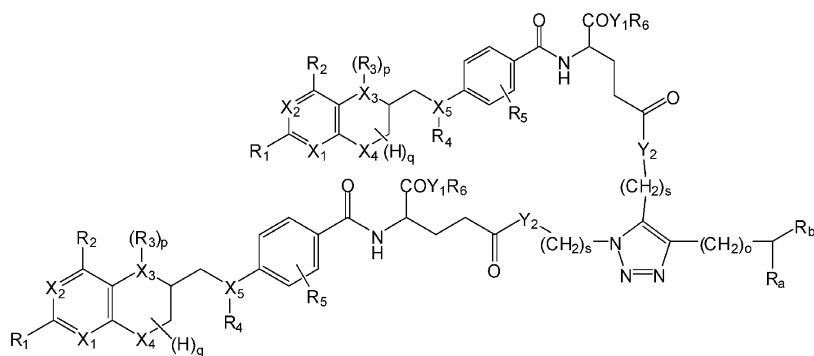


VIIa

30

【 0 0 8 6】

【化 3 3】



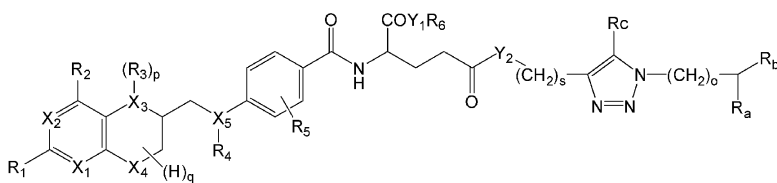
VIIa'

40

50

【 0 0 8 7 】

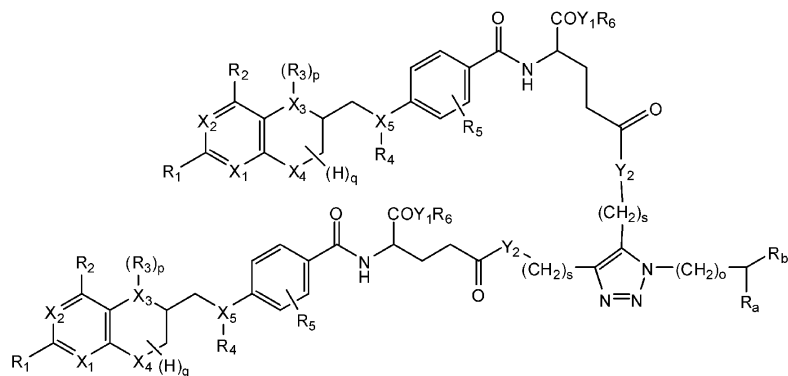
【 化 3 4 】



VIIb

【 0 0 8 8 】

【 化 3 5 】



VIIb'

【 0 0 8 9 】

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、N又はCであり、

Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又はNであり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、C2 - C12アルケニル、C2 - C12アルキニル、(C1 - C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H又はC1 - C6アルキルであり、

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、ハロ置換されたC1 - C12アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、C2 - C12アルケニル、C2 - C12アルキニル、(C1 - C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12アルキルアミノ)カルボニルであり、

R_6 は、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであり、

R_a 及び R_b は、互いに独立して、供与基であり、例えば、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、又は、(ピリジル、ピロリル、及びチアゾリルから選択される)複素環基であり、ここで、 R' は、H又はC1 - C6アルキルであり、

R_c は、H、 CO_2R' 、 COR' 、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであり、ここで、 R' は、H又はC1 - C6アルキルであり、

pは、0、1又は2であり、

10

20

30

40

50

q は、1 ~ 7 であり、
s は、1 ~ 8 であり、そして、
o は、1 ~ 6 である。

【0090】

さらなる好ましい実施形態においては、 R_c は、 H 、 CO_2R' 、 COR' 、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ であり、ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキル又は $C1 - C12$ アルキルである。最も好ましい実施形態においては、 R_a は、 $-NH_2$ 、 R_b は、 $-OH$ 、そして R_c は、 H である。好ましくは、 o は 1、2、3 又は 4 である。

【0091】

略称「N」及び「C」は、すべての可能な飽和度を示し、例えば、N は $-NH-$ 及び $-N=$ 結合を含み、C は、 $-CH_2-$ 及び $-CH=$ 結合を含むことが理解される。

10

【0092】

略称 $(H)_q$ は、示されている環（例えば、 X_3 、 C_6 、 C_7 及び X_4 ）におけるすべての H 置換を示すと理解される。例えば、 $q = 5$ は完全飽和の非置換アナログ（ $X_3 = X_4 = N$ 、 $p = 0$ ）であり、また、 $q = 7$ は完全飽和の非置換 5, 8 - ジデアザアナログ（ $X_3 = X_4 = C$ 、 $p = 0$ ）であり、そして、 $q = 1$ は完全に不飽和のアナログで $X_3 = X_4 = N$ 、 $p = 0$ である。

【0093】

ある好ましい実施形態においては、 R_1 及び R_2 は、互いに独立して、 H 、アルキル、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ で良く、より好ましくは $-OR'$ 、 $-NHR'$ で良い。

20

【0094】

ある好ましい実施形態においては、 R_3 は H 、ホルミル、 $C1 - C12$ アルキル又は $C1 - C12$ アルカノイルである。

【0095】

別の好ましい実施形態においては、 R_4 は H 、ニトロソ、 $C1 - C12$ アルコキシ又は $C1 - C12$ アルカノイルである。

【0096】

ある好ましい実施形態においては、 R_6 は、 H 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1 - C12$ アルキルであり、より好ましくは、 R_6 は H 、又は直鎖若しくは分岐 $C1 - C12$ アルキルである。最も好ましい実施形態においては、 R_6 は H である。

30

【0097】

別の好ましい実施形態においては、 R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b は、互いに独立して、 H 、 $-OR'$ 、 $-COOR'$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONHR'$ 、 $-SR'$ 、又は（ピリジル、ピロリル、及びチアゾリルから選択される）複素環基であり、又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキルである。さらに好ましくは、 R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b は、互いに独立して、 H 、 $-OR'$ 、 $-COOR'$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONHR'$ 、 $-SR'$ 、又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキルである。

【0098】

40

R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b のための好ましい供与基としては、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、又は、（ピリジル、ピロリル、及びチアゾリルから選択される）複素環基であり、ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキルである。 R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b のためのさらに好ましい供与基としては、互いに独立して、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ であり、ここで、 R' は、 H 又は $C1 - C6$ アルキルである。

【0099】

さらなる好ましい実施形態としては以下のものが挙げられる：

(i) $X_1 \sim X_5$ は N 、 R_1 は NH_2 、 R_2 は O 、 R_4 は H 、 s は 1、3 又は 5、そして他のすべてのパラメータは、式 VII、VII a 又は VII b で定義された通りである、

50

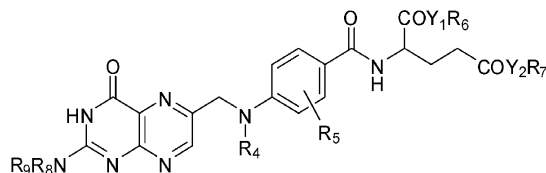
(i i) $X_1 \sim X_5$ は N、Y は O、 R_1 は NH_2 、 R_2 は O、 R_3 は H、メチル又はホルミル、 R_4 は H、メチル又はホルミル、 R_6 は H、メチル又はエチル、s は 1、3 又は 5、そして他のすべてのパラメータは、式 V I I、V I I a 又は V I I b で定義された通りである、

(i i i) $X_1 \sim X_5$ は N、Y は O、 R_1 は NH_2 、 R_2 は O、 R_3 は H、メチル又はホルミル、 R_4 は H、 R_6 は H、s は 1、3 又は 5、 R_a 及び R_b は -OH、そして他のすべてのパラメータは、式 V I I、V I I a 又は V I I b で定義された通りである。

【 0 1 0 0 】

このようにさらなる特定の実施形態において、本発明は式 V I I I の化合物を対象とする。

【 化 3 6 】



VIII

式中、

Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又はNであり、

R_8 、 R_9 は、互いに独立して、H、ホルミル、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C 1 - C 1 2 アルキルであり、

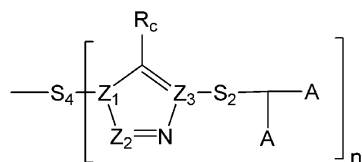
R_4 は、H、ニトロソ、C 1 - C 1 2 アルキル、C 1 - C 1 2 アルコキシ、C 1 - C 1 2 アルカノイル、ハロ置換された C 1 - C 1 2 アルカノイルであり、そして、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C 1 - C 1 2 アルキル、C 1 - C 1 2 アルコキシ、C 1 - C 1 2 アルカノイル、C 2 - C 1 2 アルケニル、C 2 - C 1 2 アルキニル、(C 1 - C 1 2 アルコキシ)カルボニル、及び、(C 1 - C 1 2 アルキルアミノ)カルボニルであり、

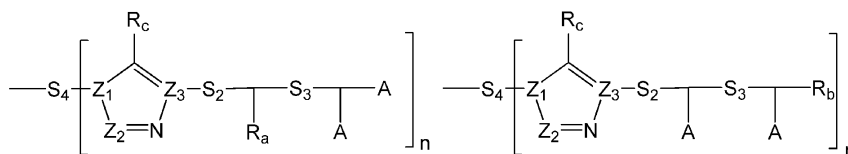
R_6 及び R_7 は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C 1 - C 1 2 アルキル、又は、式 I V a、I V b の基、及び / 又は式 I V b ' の基であり、

【 0 1 0 1 】

【 化 3 7 】



IVa



IVb

IVb'

【 0 1 0 2 】

式中、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C 又は N であり、

S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの

10

20

30

40

50

-CN、-Hal、-OH、-NH₂、-SH、-SO₃H若しくは-NO₂で置換された直鎖若しくは分岐C₁-C₁₂アルキルのスペーサーであり、
 ここで、一つか二つ以上の非近接のCH₂基は、独立して、-O-、-CO-、-COO-、-O-CO-、-NR'-、-N=、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-NR'-CO-O-、-O-CO-NR'-、-NR'-CO-NR'-、-CH=CH-、-C≡C-、-S-、-SO₃R'-、-PR'-、又は、非置換若しくはCN、Hal、NO₂、COR'若しくはCOOR'で置換された5若しくは6員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、ここで、R'は、H又はC₁-C₆アルキルであり、
 Aは、互いに独立して、-COOH、-NH₂、-CONH₂、又はSHであり、
 R_a、R_bは、互いに独立して、H、-OR'、-COOR'、-NHR'、-CONHR'、-SR'、ホスフィン又は複素環基であり、
 又は、上記で定義されたFであり、ここで、R'は、H又はC₁-C₆アルキルであり、
 R_cは、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくはNO₂で置換された直鎖若しくは分岐C₁-C₁₂アルキル、又は、上記で定義されたFであり、ここで、R'は、H又はC₁-C₆アルキルであり、そして、
 nは、1又は2である。

【0103】

好ましくは、(i) Z₁はN、Z₃はC、そしてZ₂はC若しくはN、又は、(ii) Z₁はC、Z₂及びZ₃はNである。

【0104】

「アルキル」という用語は、単独で又は組み合わせで使用される時、1～12の炭素原子を含んだ直鎖若しくは分岐アルキル基を指し、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、sec-ブチル、イソブチル、t-ブチル、ペンチルイソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル及びその類似物である。好ましいアルキル基は1～8の炭素原子を、より好ましくは1～4の炭素原子を含有する。

【0105】

ここで使用される「アルケニル」という用語は、単独で又は他の基との組み合わせで使用される時、2～12の炭素原子を含んだ直鎖若しくは分岐アルキレンを指し、例えば、メチレン、エチレン、プロピレン、イソプロピレン、ブチレン、t-ブチレン、sec-ブチレン、イソブチレン、アミレン、イソアミレン、ペンチレン、イソペンチレン、ヘキシレン及びその類似物である。好ましいアルケニル基は2～6の炭素原子を含有する。

【0106】

ここで使用される「アルキニル」という用語は、一つか二つ以上の炭素-炭素三重結合を含む直鎖若しくは分岐を有する炭素原子鎖を指す。好ましいアルキニル基は2～12の炭素原子を、より好ましくは2～6の炭素原子を含有する。

【0107】

ここで使用される「アルコキシ」という用語は、酸素で置換された上記で定義したアルキルを指し、例えば、メトキシ、エトキシ、プロボキシ、イソプロボキシ、ブトキシ、tert-ブトキシ及びその類似物である。

【0108】

ここで使用される「アルカノイル」という用語は、カルボニルで末端が置換された上記で定義したホルミル又はアルキルを指し、例えば、アセチル、プロパノイル、ブタノイル、ペンタノイル及びその類似物である。

【0109】

ここで使用される「アルキルアミノ」という用語は、窒素で置換された上記で定義したアルキルを指し、モノアルキルアミノ(例えば、メチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、tert-ブチルアミノ及びその類似物)とジアルキルアミノ(例えば、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、メチルプロピルアミノ及びその類似物)の両方が挙げられる。

【0110】

ここで使用される「ハロ」という用語は、すべての7属元素を指し、そして、フルオロ、クロロ、ブロモ、ヨード及びアスタチン(o)を含む。

【0111】

「5若しくは6員環の芳香族炭素環若しくは複素環」という用語は、5若しくは6員環の芳香族炭素環、例えば、フェニル、シクロヘブチル、シクロヘキシル及びシクロペンチル、並びに、N、S、O及びPから選択されるヘテロ原子を少なくとも一つ含有する5若しくは6員環の芳香族複素環、例えば、ピリジル、ピペリジノ、ピペラジノ、モルホリノ、イミダゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、チアゾリル、ピロリジニル及びピラゾリルを指す。

10

【0112】

ここで使用される「複素環」という用語は、N、S、O、及びP、好ましくはN又はSから選択される少なくとも一つのヘテロ原子を含む飽和複素環又は不飽和複素環を指す。飽和複素環の例としては、テトラヒドロフリル、ピロリジニル、ピラゾリジニル、イミダゾリジニル、ピペリジル、モルホリニル、チアモルホリニル及びピペラジニルが挙げられる。不飽和複素環の例としては、フリル、ピロリル、チエニル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、及びピラゾリル、ピリジル、ピリミジニル、ピラジニル、及びピリダジニルが挙げられる。

【0113】

これらの複素環基は、アルキル、例えばメチル若しくはエチル、ハロゲン原子、又はフェニルで置換されても良い。複素環基がフェニルで置換される場合、複素環基中の2つの近接の炭素原子がフェニル基と結合することで縮合環を形成すれば良い。縮合環の例としては、ベンゾチアゾリル、ベンゾフリル、キアノゾリニル、及びキノキサリニルが挙げられる。好ましい複素環基としては、ピリジル、ピロリル、及びチアゾリルが挙げられる。

20

【0114】

ここで使用される「ホスフィン」という用語は、例えば、トリアリールホスフィン、トリアルキルホスフィン及びトリス(ジアルキルアミノ)ホスフィンで置換基を有していても良く、並びにその類似物が挙げられる。これらの具体的な例としては、例えば、1,2-ビス(ジメチルホスフィノ)エタン及びトリス-ヒドロキシメチレンホスフィンが挙げられる。

30

【0115】

ここで使用される「任意に置換される」という用語は、C(1-6)アルキル、C(1-6)アルケニル、C(1-6)アシル、アリールC(1-6)アルキルアリール、シアノ、ニトロ及びハロ、好ましくはC(1-6)アルキル、シアノ、ニトロ及びハロ、最も好ましくはC(1-4)アルキルが挙げられる。

【0116】

他の態様において、本発明は、本発明の化合物、及び ^{99m}Tc 、 ^{186}Re 、 $^{111}\text{In}^{+3}$ 、 $^{67}\text{Ga}^{+3}$ 、 $^{90}\text{Y}^{+3}$ 、 $^{109}\text{Pd}^{+2}$ 、 $^{105}\text{Rh}^{+3}$ 、 ^{177}Lu 、 ^{64}Cu 、 ^{166}Ho 、 ^{213}Bi を含む錯体も提供し、今後、本発明の錯体とも示す。好ましくは、本発明の錯体は、 ^{99m}Tc 、 ^{186}Re 又は ^{186}Re を含む。テクネチウムは、画像診断剤に特に有効であり、好ましくは一つか二つ以上の放射性核種、 ^{99m}Tc 、 ^{94m}Tc 又は ^{96}Tc である。上記にも示したとおり、医学画像のための好ましい放射性同位体は ^{99m}Tc である。その140keVガンマ光子が、広く利用されているガンマカメラとの使用に理想的である。それは短い半減期(6時間)を有し、患者の線量測定を考慮すると好ましい。レニウムは、放射線治療剤として特に有効であり、好ましくは、放射性核種、 ^{186}Re 若しくは ^{188}Re 、又はこれらの混合物である。

40

【0117】

さらなる態様において、本発明は、また、本発明の化合物の合成方法を提供する。合成の第一の方法においては、放射性核種のための複素環リガンド部位を最初に合成し、その

50

後、適切な保護されたプテロイン酸または葉酸誘導体に適切なリンカーを介して結合させ、最適な最終化合物を得る（例えば、図1を参照）。

【0118】

ある特定の実施形態例においては、例えば、この合成方法においては、アミノ末端、カルボキシ末端において適切に保護されるヒスチジン断片の、適切な離脱基LGを有したリンカーS3との第一のステップにおけるカップリングを含む。第一にグルタミン酸残基との、その後の葉酸残基とのその後のカップリングにより、脱保護した上で適切な放射性核種と複合体化できる最終の葉酸複合体が得られる。

【0119】

多くのカップリングステップのための適切な条件を選択すること、並びに、適切な保護基PG（例えば、Greene & Wuts, Eds., Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd Ed., 1991, John Wiley & Sons, NYを参照）及び離脱基LG（例えば、ハロゲン、トシレート、メシレート、トリフレート、カーボネート基）を選択することは、当業者にとって周知である。

【0120】

合成の第二の方法においては、葉酸又はプテロイン酸部分、及びリガンド部位部分を最初に合成し、ここで葉酸又はプテロイン酸部分はアジド基を有し、リガンド部位部分はアルキン基を有し（又はその逆）、その後、熱的条件下若しくは触媒の存在下で付加環化によりカップリングされ、最適な最終化合物を得る（Kolb and Sharpless, Drug Discovery Today2003, 8, 1128; Kolb et al. Angew. Chem. Int. Ed. 2001, 40, 2004; Rostovtsev, V. V. et al. Angew. Chem. Int. Ed.2002, 41, 2596; 米国出願公開第2005/02222427号明細書; 国際公開第06/116629号）。

【0121】

これらの反応は、Huisgen 1,3-双極性環状付加（熱的条件）及びClick反応（触媒条件）として周知であり、文献に記載されている（Kolb and Sharpless, Drug Discovery Today2003, 8, 1128; Kolb et al. Angew. Chem. Int. Ed. 2001, 40, 2004; Rostovtsev et al. Angew. Chem. Int. Ed.2002, 41, 2596; 米国出願公開第2005/02222427号明細書; 国際公開第06/116629号）。より具体的には、複素5員環が、アジド R_a-N_3 のアルキン $R_b-C \equiv C-R_c$ との環状付加により得られたトリアゾールである式Iの化合物であり、並びに、アジド R_a-N_3 のシアン化物 $R_b-C \equiv N$ との環状付加により得られたトリアゾールである式Iの化合物である。すべての可能な組み合わせがここで意図され、例えば、 R_a が葉酸誘導体、 R_b がキレート部位又はその前駆体、並びに、 R_b が葉酸誘導体、 R_a がキレート部位又はそれら前駆体である場合などである。このように、反応のモジュールと多様な性質により、放射性同位体を葉酸へ結合させるための多くの種類のリンカーの使用が可能となる。

【0122】

ある特定の実施形態においては、環状付加は熱的条件、例えば10～200℃、好ましくは10～100℃の範囲の温度で行われる。

【0123】

別の実施形態においては、環状付加は、例えば遷移金属錯体（Ru及びCu(I)など）の触媒存在下で行われる。好ましい触媒は、Cu(I)塩であり、例えば、塩化Cu(I)、臭化Cu(I)、沃化Cu(I)である。若しくは代わりに、Cu(I)は、Cu(II)のその場還元（in situ reduction）により得ることができる。この反応は例えば、メタノール、エタノール、2-プロパノール、第3級ブタノール、n-ブタノール、及び/又は水、又は、これらの緩衝液などの、プロトン性溶媒又は非プロトン性溶媒中で、広い温度範囲（例えば、10～100℃、好ましくは室温）で、様々なpHで（例えば4～12）、酸化又は還元条件で、保護基の必要なしに他の官能基の存在下で、行うことができる。

【0124】

適切な条件を選択することは当業者にとり周知である（例えば、また、引例として本出

10

20

30

40

50

願に組み込まれる米国出願公開第2005/02222427号明細書を参照)。

【0125】

したがって、ある反応例においては、アルキニル誘導体化キレート部位又はその前駆体(例えば、プロパルギルグリシン)は、標準的な条件下(例えば、アスコルビン酸ナトリウム、 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ 、 $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1)、室温)でアジド葉酸と結合する。その代わりに、標準的な条件下で、 $\text{Cu}(\text{I})$ 触媒による環状付加で、アジドにより官能化されたキレート部位又はその前駆体は、最適なアルキン置換葉酸又はその誘導体と結合する。その後、両方のクリック(click)生成物は $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ により標識化され、SPECTトレーサーを供給する。

【0126】

明らかに、両方のルートがあることで、異なるキレート部位(及び、それ故、放射性金属)と結合するための多くの種類のリンカーを葉酸に組み込むことができる。

具体的な実施形態については実施例の項で議論する。

【0127】

本発明は、本発明の化合物の標識化を含み、最初に本発明の化合物を得て、そして、一般的に還元剤の存在下で、上記で特定した放射性核種、好ましくは $\text{Tc}-99\text{m}$ 、 $\text{Re}-186$ 又は $\text{Re}-188$ と、化合物を反応させ本発明の化合物と放射性核種の間に金属キレート錯体を形成するステップを含む本発明の錯体の合成方法もさらに提供する。還元剤としては、周知の還元剤で良いが、亜ジチオン酸イオン又は錫イオンが好ましい。特定の実施形態においては、金属としてレニウムを含有した本発明の錯体の製造は、酸化状態が $+5 \sim +7$ のレニウムを使用してなされると良い。レニウムが $\text{Re}(\text{VII})$ 状態の化合物の例としては、 NaReO_4 又は KReO_4 である。 $\text{Re}(\text{V})$ は、グルコン酸レニウム、グルコヘプタン酸レニウム、酒石酸レニウム、クエン酸レニウムとして利用可能である。レニウム錯体を形成することができる他のレニウム試薬もまた使用して良い。

【0128】

さらなる態様において、本発明は、画像診断量又は治療上の有効量の少なくとも一つの本発明の錯体、及びそのための薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物を提供する。好ましい実施形態においては、医薬組成物は、 $\text{Tc}-99\text{m}$ 、 $\text{Re}-186$ 又は $\text{Re}-188$ を含有する錯体を少なくとも一つ含む。

【0129】

ここで使用される薬学的に許容できるキャリアは、適切な用量で存在し、溶媒、分散媒、抗菌剤、抗真菌剤、等張剤、及び薬学的に許容できるこれらの類似物を含む。このような媒及び剤の使用は当分野で周知である。

【0130】

さらなる態様において、本発明は、画像診断又は放射線治療が必要な被験者に簡便に有効量投与するための本発明の錯体及び/又は医薬品組成物の使用を提供する。本発明の方法の被験者としては好ましくは動物又はヒトなどの哺乳類であり、好ましくはヒトである。

【0131】

このように、特定の実施形態においては、本発明は、葉酸レセプターが発現している細胞又は細胞集団の画像診断の方法を提供し、当該方法は、画像診断量の本発明の錯体又は組成物を少なくとも一つ投与し、そして、前記の細胞又は細胞集団の診断画像を得るステップを含む。

【0132】

本発明の錯体及び/又は組成物は、また、それを必要とする被験者の治療に有効な放射線治療剤として使用されても良い。

【0133】

このように、他の特定の実施形態においては、本発明は、それを必要とする被験者に少なくとも一つの本発明の錯体又は組成物を治療上の有効量投与し、そして、前記の少なくとも一つの本発明の錯体又は組成物が所望の組織に局在した後、組織に放射線照射し、所

10

20

30

40

50

望の治療効果を得るステップを含む放射線治療方法を提供する。

【0134】

さらなる別の実施形態において、本発明は、それを必要とする被験者に少なくとも一つの本発明の錯体又は組成物を画像診断上又は治療上の有効量投与し、前記の少なくとも一つの本発明の錯体又は組成物が所望の組織に局在した後、組織に放射線照射し、前記組織の診断画像を得て治療の進行を追跡するステップを含む並行する画像診断と放射線治療の方法を提供する。

【0135】

少なくとも一つの本発明の錯体又は組成物により標識化された葉酸レセプターが発現する細胞又は組織（すなわち、腫瘍細胞と腫瘍組織）の画像は、放射線検出器、例えば、
- 放射線検出器で検出することができる。そのような手順は、シンチグラフィーを利用する。単一光子放射コンピュータ断層撮影（SPECT）などの断層撮影イメージングも、また、視覚化改善のために利用することができる。このような放射線検出器の選択と使用は、当分野の通常の技術を有するものの技術的範囲内である。それ故、投与される本発明の錯体又は組成物の画像診断量は、上記で述べた被験者の臓器又は他の部位の診断画像を得られるのに十分な量となるように選択されれば良い。投与される本発明の錯体又は組成物の治療上の有効量は、所望の放射線治療効果が得られるのに十分な量となるように選択されれば良い。より具体的には、治療上の有効量は、錯体が十分に癌に局在化し癌の成長又はサイズを停止及び／又は消失させるであろう少なくとも一つの本発明の錯体の量である。ここで示された癌の成長又はサイズは、本発明の方法又は他の周知の画像診断手順によりモニタすることができる。画像診断又は放射線治療のための投与量を決定する際、明らかに、最適な放射線核種、例えば、 ^{99m}Tc 、 ^{186}Re 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{90}Y 、 ^{109}Pd 、 ^{105}Rh 、 ^{177}Lu 、 ^{64}Cu 、 ^{166}Ho 、 ^{213}Bi 、好ましくは、 $\text{Tc}-^{99m}$ 、 $\text{Re}-^{186}$ 又は $\text{Re}-^{188}$ の比放射能が考慮される。

【0136】

一般に、投与される単位用量は、約0.01mCi～約300mCi、好ましくは10mCi～約200mCiの放射能を有している。注入する溶液としては、好ましい単位投与量は、約0.01mL～約10mLである。例えば、静脈投与の後、放射線同位体で標識化した試薬を被験者に投与した後、必要であれば、数分から数時間又はもう少し長い時間内で、臓器又は腫瘍の生体内（*in vivo*）の画像形成を行うことができる。典型的には、投与された用量のうち十分な量が蓄積し、約0.1～1時間以内に画像形成される。

【0137】

本発明の錯体及び／又は組成物は、適切な手段、例えば、非経口的により（例えば、静脈内投与）、筋肉注射で、若しくは腹腔内に、又はあらゆる他の適切な方法により投与されれば良い。例えば、本発明の錯体及び／又は組成物は、ボラス投与又は注入速度が遅い静脈注射により被験者に投与すれば良い。注入のための適切な形態としては、上記に述べた本発明の錯体及び／又は組成物の消毒された水性溶液又は分散体及び無消毒された粉末が挙げられる。

【0138】

錯体又は医薬組成物は消毒されていることが好ましい。消毒は慣用技術のあらゆる方法で行うことができ、これに制限されないが、抗菌の抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサル及びその類似物などの添加が挙げられる。

【0139】

本発明の錯体及び／又は組成物は、また、被験者から取得した組織生検において葉酸レセプターが発現している細胞の、生体外（*in vitro*）の検知に使用されても良い。それ故、さらなる実施形態において、本発明は、本発明の錯体及び／又は組成物を有効量で十分な時間と条件で組織サンプルと接触させ、結合を生じさせ、画像形成技術により

その結合を検知することを含む、組織サンプル中の葉酸レセプターを発現している細胞、例えば、腫瘍細胞を、生体外 (in vitro) で検出する方法を提供する。

【0140】

サンプルは、当業者に周知の手順、例えば、組織生検又は体液からの単離、気管吸引、又は肺サンプル、及びその類似手順により、単離することができる。

【0141】

試験される組織サンプルは、葉酸レセプターが発現する細胞を含有すると疑われるあらゆる組織が挙げられ、例えば、腫瘍細胞、上皮細胞、腎臓、胃腸又は肝胆道系などである。サンプルは、例えば、薄切により、断片化することができ、顕微鏡検査と結合した錯体の観察を促進する。また、本発明の錯体又は組成物とのインキュベーションの前又は後に、サンプルを適切な固定剤により固定することもでき、これによりサンプル組織の組織学的特質が改善される。

10

【0142】

細胞上での本発明の錯体の葉酸レセプターへの結合に十分な時間と条件としては、標準的な組織培養条件、すなわち、生理学的媒体中で本発明の錯体又は組成物の一つと共に、サンプルを生体外 (in vitro) で培養させ、インキュベートさせる。このような条件は、当業者に周知である。その代わりに、サンプルを固定することができ、その後、等張性又は生理学的緩衝液中で本発明の錯体又は組成物とインキュベートさせる。

【0143】

腫瘍細胞の生体外 (in vitro) 検知のための前記の本発明の錯体の典型的な量は、約 1 ng/l ~ 約 $1000 \text{ } \mu\text{g/l}$ の範囲とすることができる。好ましい量としては、約 $1 \text{ } \mu\text{g/l}$ ~ 約 $100 \text{ } \mu\text{g/l}$ である。腫瘍細胞の生体外 (in vitro) 診断に使用される好ましい錯体は、生体内用と同様のもの、及び、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{86}Re 、 $^{111}\text{In}^{+3}$ 、 $^{67}\text{Ga}^{+3}$ 、 $^{90}\text{Y}^{+3}$ 、 $^{109}\text{Pd}^{+2}$ 、 $^{105}\text{Rh}^{+3}$ 、 ^{177}Lu 、 ^{64}Cu 、 ^{166}Ho 、 ^{213}Bi が挙げられ、好ましくは、 $\text{Tc} - ^{99\text{m}}$ 、 $\text{Re} - 186$ 又は $\text{Re} - 188$ である。

20

【0144】

存在する化合物の一つの細胞結合を検知するためには、サンプルを、選択された錯体の存在中でインキュベートすることができ、その後、洗浄し、その後、シンチレーション・カウンタでカウントする。代わりとなる方法は適用され、それは当業者に周知である。

30

【0145】

診断又は放射線治療用途のためには、それが使用される部位又はその近くで本発明の錯体を製造すると都合が良い。したがって、さらなる態様において、本発明は、本発明の錯体又は組成物の製造に必要な組成であって放射性核種それ自体以外のすべてを含むシングルバイアルキット又はマルチバイアルキットを提供する。したがって、好ましい本発明のシングルバイアルキットは、本発明の化合物及び薬学的に許容できる還元剤の供給源、例えば、錫塩などを含む。さらに、任意に、キットはさらに添加剤を含む。例えば、キットは、薬学的に許容できる酸又は塩基により緩衝化され、pH が錯体形成に必要な値に調整される。このようなシングルバイアルキットは、任意に、交換リガンド、例えば、グルコヘプタン酸、グルコン酸、マンニトール、マレイン酸、クエン酸又は酒石酸を含んでも良く、そして、又は、反応修飾剤、例えば、ジエチレントリアミンペンタ酢酸又はエチレンジアミンテトラ酢酸もまた含んでも良い。さらなる添加剤、例えば、可溶化剤 (例えば、シクロデキストリン)、抗酸化剤 (例えば、アスコルビン酸) 及び/又はフィラー (例えば、 NaCl) が使用されても良く、これにより、最終生成物の放射化学的純度及び安定性が改善され、キットの生産を補助することとなる。放射性核種、例えば、 Tc 又は Re は、溶液の形態、例えば、過テクネチウム酸又は過レニウム酸溶液で別に添加される。

40

【0146】

好ましい本発明のマルチバイアルキットは、一つのバイアル中に、放射性核種それ自体以外の不安定な放射性核種錯体の製造に必要な組成、すなわち、交換リガンド及び薬学的に許容できる還元剤、例えば、錫塩などを含む。本発明の化合物は、第二のバイアル中に

50

、任意の添加剤、例えば、pHを適切な値に調整するのに適当な緩衝液と共に、含まれる。任意に、放射性核種は、添加される溶液の形態で与えられる、例えば、過テクネチウム酸又は過レニウム酸溶液である。

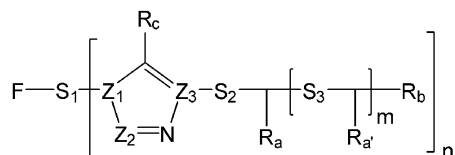
【0147】

キットのすべての組成は、液体形態、凍結状態又は乾燥形態で良い。好ましい実施形態においては、キットの組成は凍結乾燥形態で提供される。

なお、本願は、特許請求の範囲に記載の発明に関するものであるが、他の態様として以下も包含し得る。

1. 式 I の化合物であって、

【化38】



式中、

F は、葉酸又はその誘導体であり、

Z₁、Z₂、Z₃ は、互いに独立して、C 又は N であり、

S₁、S₂、S₃ は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの -CN、-Hal、-OH、-NH₂、-SH、-SO₃H 若しくは -NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C₁-C₁₂ アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH₂ 基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR'-、-N=、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-NR'-CO-O-、-O-CO-NR'-、-NR'-CO-NR'-、-CH=CH-、-C-C-、-S-、-SO₃R'-、-PR'-、又は、非置換若しくは -CN、-Hal、-NO₂、-COR' 若しくは -COOR' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、R' は、H 又は C₁-C₆ アルキルであり、

R_a、R_{a'}、R_b は、互いに独立して、H、-OR'、-COOR'、-NHR'、-CONHR'、-SR'、ホスフィン又は複素環基であり、

又は、上記で定義された F であり、ここで、R' は、H 又は C₁-C₆ アルキルであり、そして、

ここで、R_a、R_{a'}、R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、供与基 -OH、-COOH、-NHR'、-CONH₂、-SH、ホスフィン、又は、複素環基であり、

R_c は、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又は非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C₁-C₁₂ アルキル、又は上記で定義された F であり、ここで、R' は、H 若しくは C₁-C₆ アルキルであり、

m は、0、1、2、3、又は 4 であり、そして、

n は、1 又は 2 である上記化合物。

2. 式 II 又は II' を有する上記 1 に記載の化合物であって、

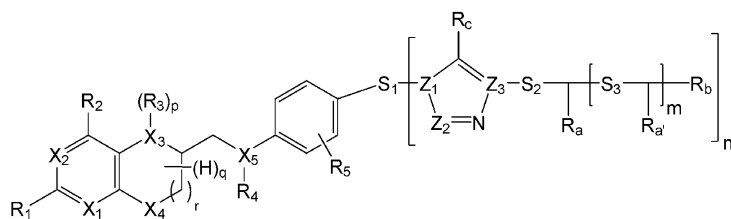
10

20

30

40

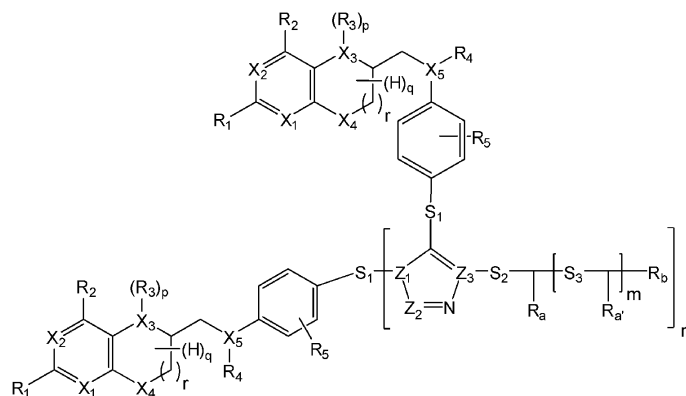
【化 3 9】



II

【化 4 0】

10



II'

20

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、及び X_5 は、互いに独立して、C又はNであり、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C又はNであり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、(C1-C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1-C12アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H又はC1-C6アルキルであり、

30

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、ハロ置換されたC1-C12アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、(C1-C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1-C12アルキルアミノ)カルボニルであり、

S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの $-CN$ 、 $-Hal$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 若しくは $-NO_2$ で置換された直鎖若しくは分岐C1-C12アルキルのスペーサーであり、

40

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR'-$ 、 $-N=$ 、 $-NR'-CO-$ 、 $-CO-NR'-$ 、 $-NR'-CO-O-$ 、 $-O-CO-NR'-$ 、 $-NR'-CO-NR'-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_3R'-$ 、 $-PR'-$ 、又は、非置換若しくは $-CN$ 、Hal、 NO_2 、 COR' 若しくは $COOR'$ で置換された5若しくは6員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、 R' は、H又はC1-C6アルキルであり、

R_a 、 $R_{a'}$ 、 R_b は、互いに独立して、H、 $-OR'$ 、 $-COOR'$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONHR'$ 、 $-SR'$ 、ホスフィン又は複素環基、

50

又は、上記で定義された F であり、ここで、R' は、H 若しくは C 1 - C 6 アルキルであり、

そして、

ここで、R_a、R_a'、R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、供与基 - OH、- COOH、- NHR'、- CONH₂、- SH、ホスフィン、又は、複素環基であり、

R_c は、H、CO₂R'、COR'、- SO₃R'、- NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C 1 - C 12 アルキルであり、ここで、R' は、H 若しくは C 1 - C 6 アルキルであり、

m は、0、1、2、3、又は 4 であり、

n は、1 又は 2 であり、

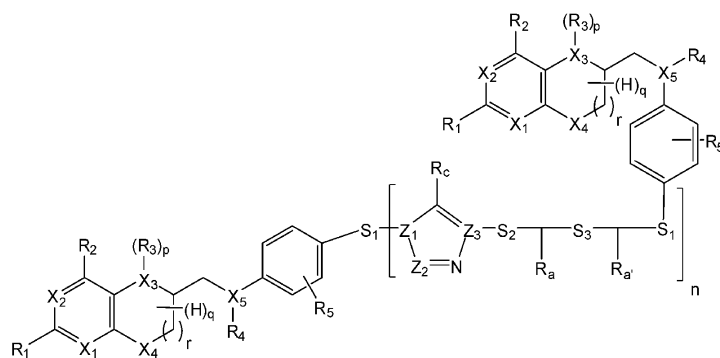
p は、0、1、又は 2 であり、

q は、1 ~ 7 であり、そして、

r は、0 又は 1 である上記化合物。

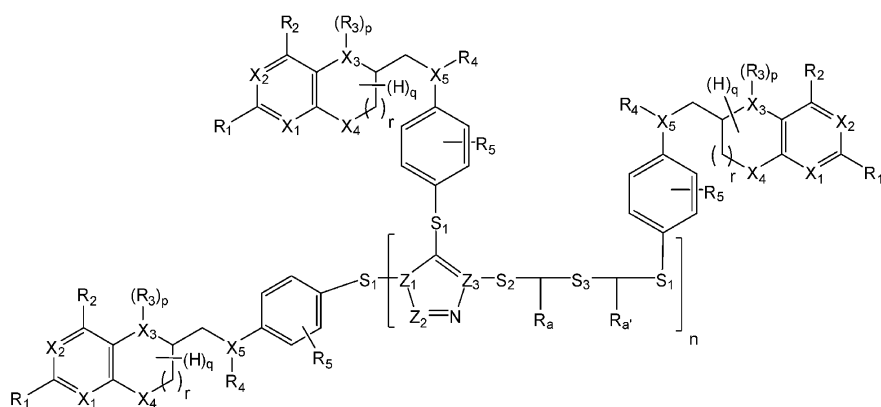
3. 式 II a、II b、II c、II d 及び II e を有する上記 1 又は 2 に記載の化合物であって、

【化 4 1】



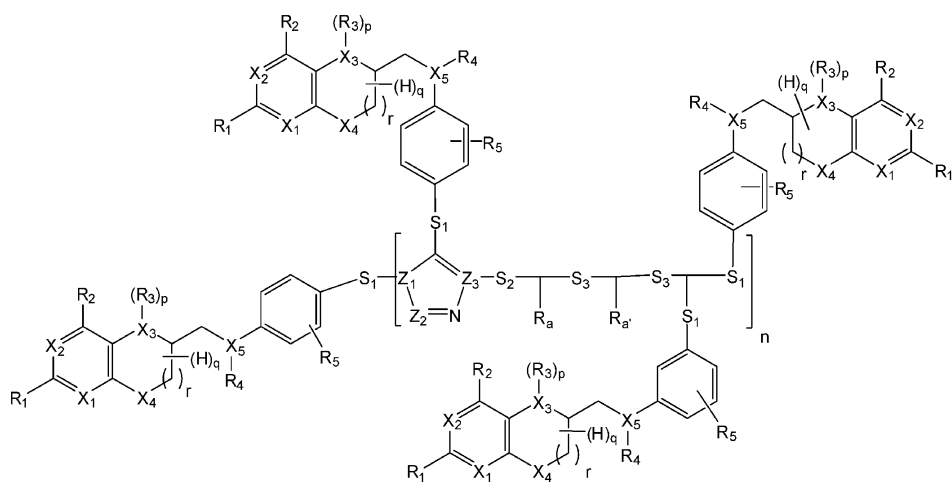
IIa

【化 4 2】



IIb

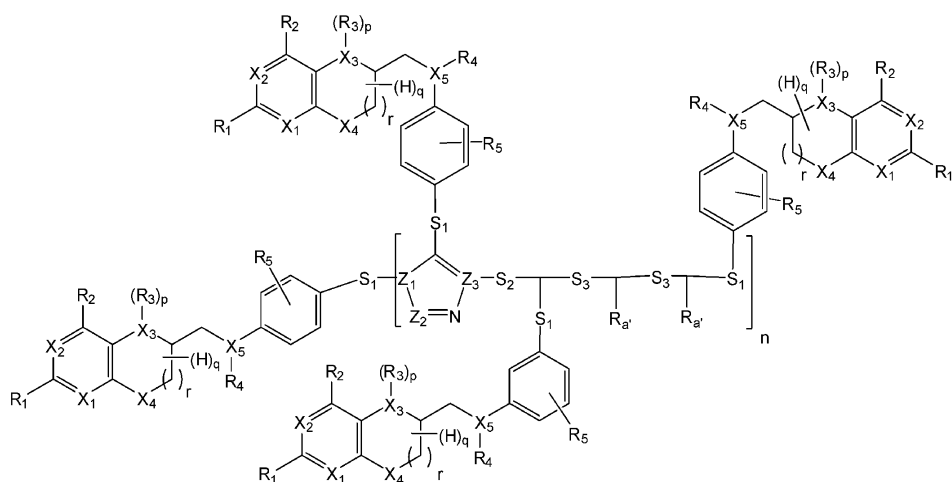
【化 4 3】



10

IIc

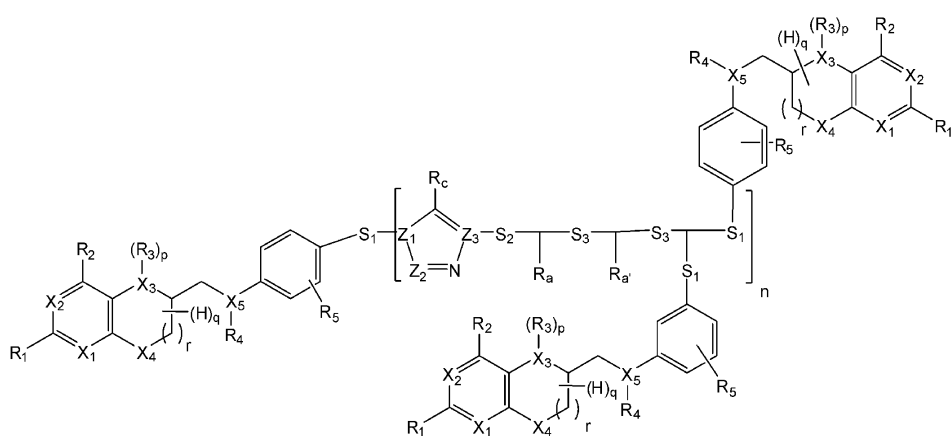
【化 4 4】



20

IIId

【化 4 5】



40

IIe

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、及び X_5 は、互いに独立して、C又はNであり、

50

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C 又は N であり、
 R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、-OR'、-NHR'、C1-C12 アルキル、C1-C12 アルコキシ、C1-C12 アルカノイル、C2-C12 アルケニル、C2-C12 アルキニル、(C1-C12 アルコキシ)カルボニル及び(C1-C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、

ここで R' は、H 又は C1-C6 アルキルであり、

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1-C12 アルキル、C1-C12 アルコキシ、C1-C12 アルカノイル、ハロゲン置換 C1-C12 アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、NO₂、C1-C12 アルキル、C1-C12 アルコキシ、C1-C12 アルカノイル、C2-C12 アルケニル、C2-C12 アルキニル、(C1-C12 アルコキシ)カルボニル及び(C1-C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、

S_1 、 S_2 、 S_3 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの -CN、-Hal、-OH、-NH₂、-SH、-SO₃H 若しくは -NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C1-C12 アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH₂ 基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR'-、-N=、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-NR'-CO-O-、-O-CO-NR'-、-NR'-CO-NR'-、-CH=CH-、-C=C-、-S-、-SO₃R'-、-PR'-、又は、非置換若しくは -CN、Hal、NO₂、COR' 若しくは COOR' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで R' は、H 又は C1-C6 アルキルであり、

R_a 、 R_a' 、 R_b は、互いに独立して、-OH、-COOH、-NHR'、-CONH₂、-SH、ホスフィン又は複素環基であり、

ここで、R' は、H 又は C1-C6 アルキルであり、

R_c は、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C1-C12 アルキルであり、ここで、R' は、H 若しくは C1-C6 アルキルであり、

n は、1 又は 2 であり、

p は、0、1 又は 2 であり、

q は、1 ~ 7 であり、並びに、

r は、0 は 1 である上記化合物。

4. S_1 は、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal、OH、NH₂、SH、SO₃H 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C1-C12 アルキルであり、そして、一つか二つ以上の非近接の CH₂ 基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR'-、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-CH=CH-、-C=C-、又は、非置換若しくは CN、Hal、NO₂、COR' 若しくは COOR' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香環で置換されてよく、ここで R' は、H 又は C1-C6 アルキルである、上記 1 ~ 3 の何れか一項に記載の化合物。

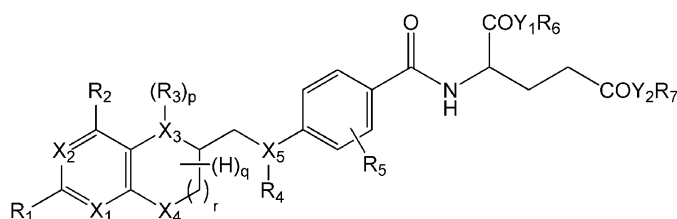
5. S_2 及び S_3 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal、OH、NH₂ 若しくは NO₂ で置換された直鎖若しくは分岐 C1-C12 アルキルであり、そして、一つか二つ以上の非近接の CH₂ 基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-NR'-、-NR'-CO- で置換されてよく、ここで R' は、H 又は C1-C6 アルキルである、上記 1 ~ 4 の何れか一項に記載の化合物。

6. Z_1 は N であり、 Z_3 は C であり、 Z_2 は C 又は N である、上記 1 ~ 5 の何れか一項に記載の化合物。

7. Z_1 は C であり、 Z_2 及び Z_3 は N である、上記 1 ~ 5 の何れか一項に記載の化合物。

8. m が 0 又は 1 である、上記 1 ~ 7 の何れか一項に記載の化合物。

9. 式 I I I を有する上記 1 に記載の化合物であって、
【化 4 6】



III

10

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、及び X_5 は、互いに独立して、C 又は N であり、

Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又は N であり、

R_1 、及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、ハロ置換された C1 - C12 アルカノイルであり、

20

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、

p は、0、1 又は 2 であり、

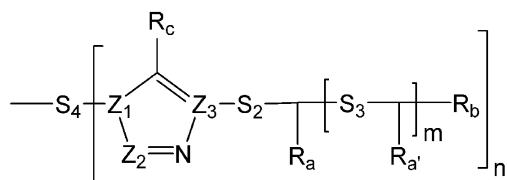
q は、1 ~ 7 であり、並びに、

r は、0 又は 1 であり、

R_6 及び R_7 は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキル、又は、式 I V の基であり、

30

【化 4 7】



IV

40

式中、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C 又は N であり、

S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの $-CN$ 、 $-Hal$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 若しくは $-NO_2$ で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、 $-O-$ 、 $-CO-$ 、 $-CO-O-$ 、 $-O-CO-$ 、 $-NR'-$ 、 $-N=$ 、 $-NR'-CO-$ 、 $-CO-NR'-$ 、 $-NR'-CO-O-$ 、 $-O-CO-NR'-$ 、 $-NR'-CO-NR'-$ 、 $-CH=CH-$ 、 $-C=C-$ 、 $-S-$ 、 $-SO_3R'-$ 、 $-PR'-$ 、又は、非置換若しくは CN、Hal

50

1、 NO_2 、 COR' 若しくは COOR' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、 R' は、 H 又は $\text{C}1 - \text{C}6$ アルキルであり、

R_a 、 R_a' 、 R_b は、互いに独立して、 H 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{CONHR}'$ 、 $-\text{SR}'$ 、ホスフィン又は複素環基であり、

又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、 H 又は $\text{C}1 - \text{C}6$ アルキルであり、そして、

ここで、 R_a 、 R_a' 、 R_b のうち少なくとも 2 つの近接する基は、供与基 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、ホスフィン、又は、複素環基であり、

R_c は、 H 、 $\text{CO}_2\text{R}'$ 、 COR' 、 $-\text{SO}_3\text{R}'$ 、 $-\text{NHR}'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $\text{C}1 - \text{C}12$ アルキル、又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、 H 又は $\text{C}1 - \text{C}6$ アルキルであり、

m は、0、1、2、3、又は 4 であり、そして、

n は、1 又は 2 であり、

ただし、 R_6 及び R_7 の少なくとも一つは式 IV の基である上記化合物。

10. Z_1 は N 、 Z_3 は C 、そして Z_2 は C 又は N である、上記 9 に記載の化合物。

11. Z_1 は C 、 Z_2 及び Z_3 は N である、上記 9 に記載の化合物。

12. R_6 は、 H 、又は非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $\text{C}1 - \text{C}12$ アルキルであり、 R_7 は、式 IV の基である、上記 9 に記載の化合物。

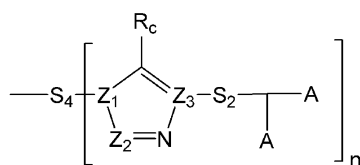
13. R_6 は、式 IV の基であり、 R_7 は、 H 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $\text{C}1 - \text{C}12$ アルキルである、上記 9 に記載の化合物。

14. R_6 及び R_7 の両方が式 IV の基である、上記 9 に記載の化合物。

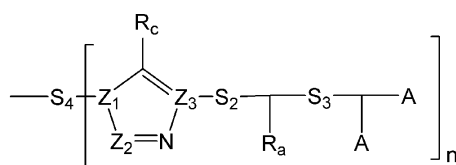
15. 式 III の上記 9 に記載の化合物であって、

R_6 及び R_7 の少なくとも一つは、式 IV a、IV b の基及び / 又は式 IV b' の基であり、

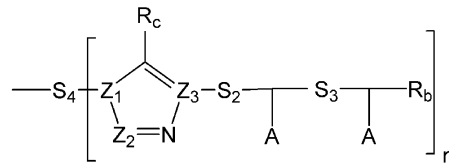
【化 48】



IVa



IVb



IVb'

式中、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、 C 又は N であり、

S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの $-\text{CN}$ 、 $-\text{Hal}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 若しくは $-\text{NO}_2$ で置換された直鎖若しくは分岐 $\text{C}1 - \text{C}12$ アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CO}-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CO}-$ 、 $-\text{NR}'$ 、 $-\text{N}=\text{NR}'$ 、 $-\text{CO}-\text{NR}'$ 、 $-\text{CO}-\text{NR}'$ 、 $-\text{NR}'$ 、 $-\text{CO}-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{CO}-\text{NR}'$ 、 $-\text{NR}'$ 、 $-\text{CO}-\text{NR}'$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{C}-\text{C}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{SO}_3\text{R}'$ 、 $-\text{PR}'$ 、又は、非置換若しくは CN 、 Hal

10

20

30

40

50

1、 NO_2 、 COR' 若しくは COOR' で置換された 5 若しくは 6 員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、 R' は、 H 又は $\text{C}1 - \text{C}6$ アルキルであり、

A は、互いに独立して、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、又は $-\text{SH}$ であり、

R_a 、 R_b は、互いに独立して、 H 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{COOR}'$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{CONHR}'$ 、 $-\text{SR}'$ 、ホスフィン又は複素環基であり、

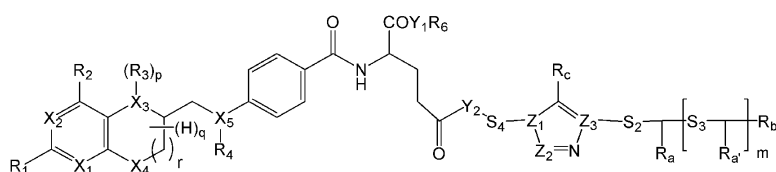
又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、 H 又は $\text{C}1 - \text{C}6$ アルキルであり、

R_c は、 H 、 $\text{CO}_2\text{R}'$ 、 COR' 、 $-\text{SO}_3\text{R}'$ 、 $-\text{NHR}'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN 、 Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $\text{C}1 - \text{C}12$ アルキル、又は、上記で定義された F であり、ここで、 R' は、 H 又は $\text{C}1 - \text{C}6$ アルキルであり、そして、

n は、1 又は 2 である上記化合物。

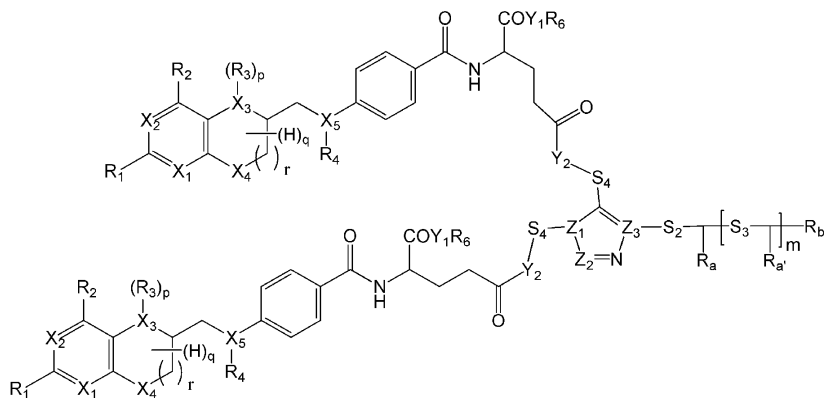
16. 式 V 及び V' 、 Va 及び Va' 、 Vb 及び Vb' の化合物を有する上記 1 に記載の化合物であって、

【化 49】



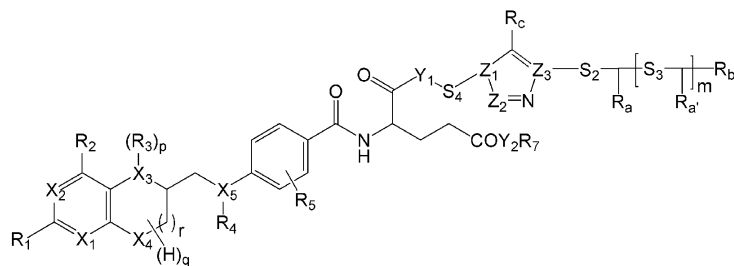
V

【化 50】



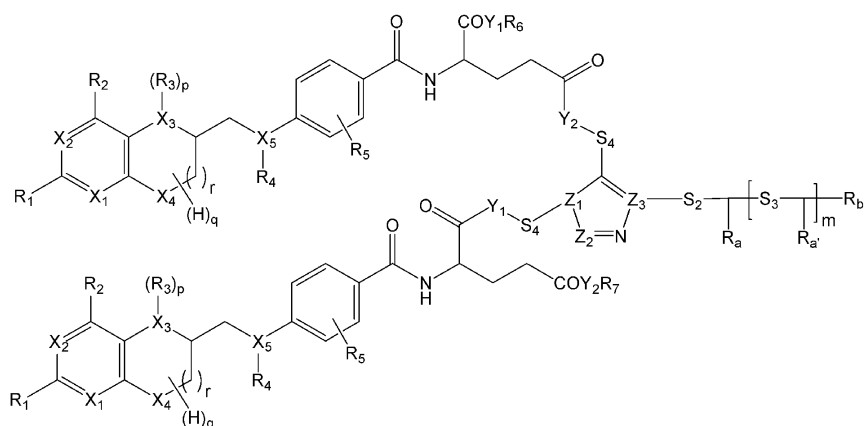
V'

【化 51】



Va

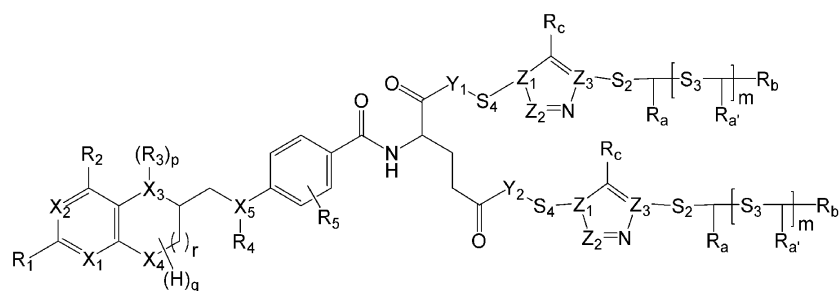
【化 5 2】



10

Va'

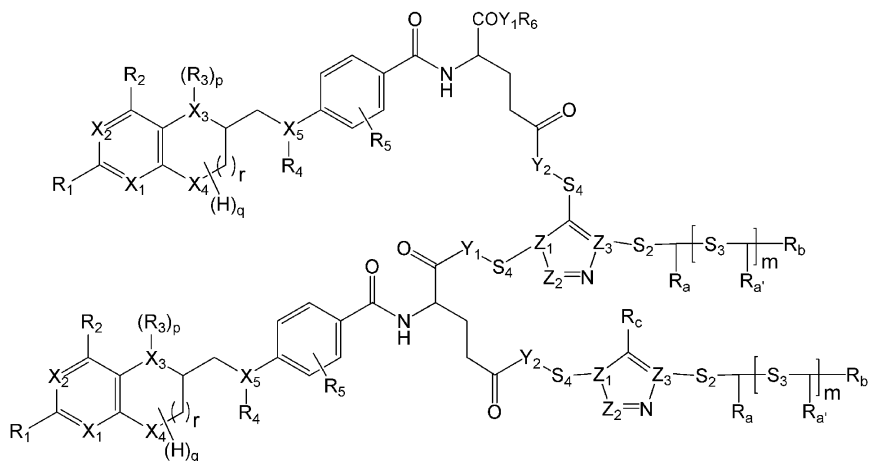
【化 5 3】



20

Vb

【化 5 4】



30

Vb'

40

式中、

 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、及び X_5 は、互いに独立して、C又はNであり； Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又はNであり、 Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C又はNであり； R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、-OR'、-NHR'、C1-C12アルキル、C1-C12アルコキシ、C1-C12アルカノイル、C2-C12アルケニル、C2-C12アルキニル、(C1-C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1-C12アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、R'は、H又はC1-C6アルキルであり、

50

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、 $C1 - C12$ アルキル、 $C1 - C12$ アルコキシ、 $C1 - C12$ アルカノイル、ハロ置換された $C1 - C12$ アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、 $C1 - C12$ アルキル、 $C1 - C12$ アルコキシ、 $C1 - C12$ アルカノイル、 $C2 - C12$ アルケニル、 $C2 - C12$ アルキニル、($C1 - C12$ アルコキシ)カルボニル、及び、($C1 - C12$ アルキルアミノ)カルボニルであり、

R_6 及び R_7 は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1 - C12$ アルキルであり、

S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して、単結合、又は、非置換若しくは少なくとも一つの -CN、-Hal、-OH、- NH_2 、-SH、- SO_3H 若しくは - NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1 - C12$ アルキルのスペーサーであり、

ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-O-CO-、-NR'-、-N=、-NR'-CO-、-CO-NR'-、-NR'-CO-O-、-O-CO-NR'-、-NR'-CO-NR'-、-CH=CH-、-C=C-、-S-、- SO_3R' -、-PR'-、又は、非置換若しくはCN、Hal、 NO_2 、COR' 若しくはCOOR' で置換された5若しくは6員環の芳香族炭素環若しくは複素環で置換されてよく、

ここで、 R' は、H又は $C1 - C6$ アルキルであり、

R_a 、 R_a' 、 R_b は、互いに独立して、H、-OR'、-COOR'、-NHR'、-CONHR'、-SR'、ホスフィン又は複素環基であり、

又は、上記で定義されたFであり、ここで、 R' は、H又は $C1 - C6$ アルキルであり、そして、

ここで、 R_a 、 R_a' 、 R_b のうち少なくとも2つの近接する基は、供与基-OH、-COOH、-NHR'、-CONH₂、-SH、ホスフィン、又は、複素環基であり、

R_c は、H、 CO_2R' 、COR'、- SO_3R' 、-NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1 - C12$ アルキル、又は、上記で定義されたFであり、ここで、 R' は、H又は $C1 - C6$ アルキルであり、

mは、0、1、2、3又は4であり、

pは、0、1又は2であり、

qは、1～7であり、そして、

rは、0又は1である上記化合物。

17. S_2 、 S_3 、 S_4 は、互いに独立して非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal、OH、若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 $C1 - C8$ アルキルであり、ここで、一つか二つ以上の非近接の CH_2 基は、独立して、-O-、-CO-、-CO-O-、-NR'-、-NR'-CO-、-CO-NR'- で置換されてよく、ここで、 R' は、H又は $C1 - C6$ アルキルである、上記16に記載の化合物。

18. mが0である、上記16に記載の化合物。

19. mが1である、上記16に記載の化合物。

20. 式VI及びVI'、式VIa及びVIa'並びに式VIb及びVIb'の化合物を有する上記1に記載の化合物であって、

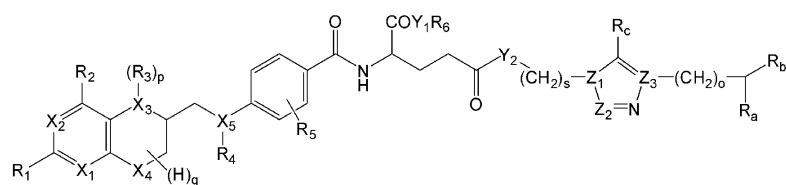
10

20

30

40

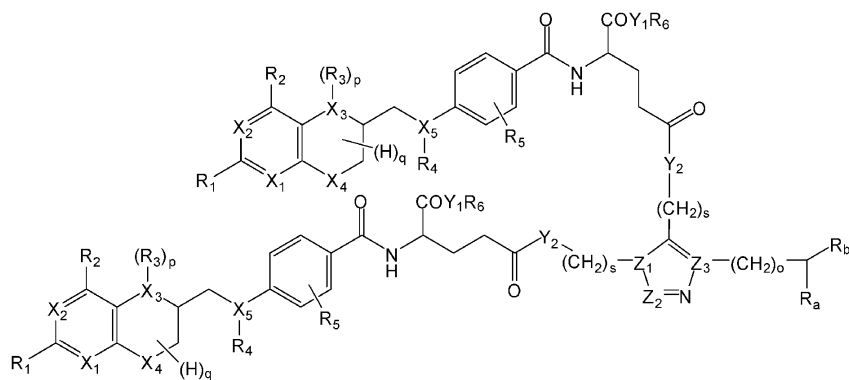
【化 5 5】



VI

10

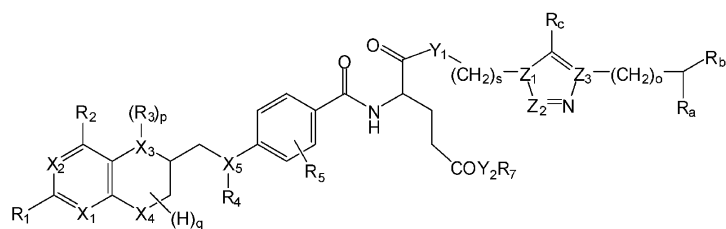
【化 5 6】



VI'

20

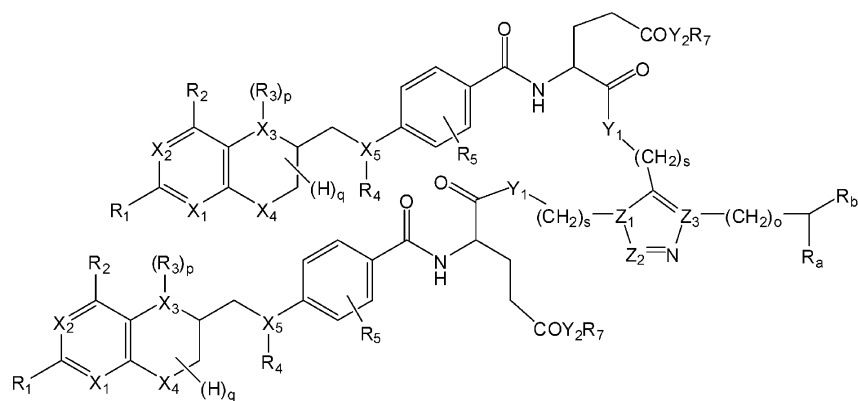
【化 5 7】



VIa

30

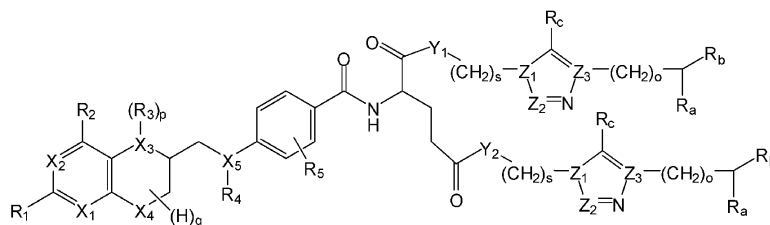
【化 5 8】



VIa'

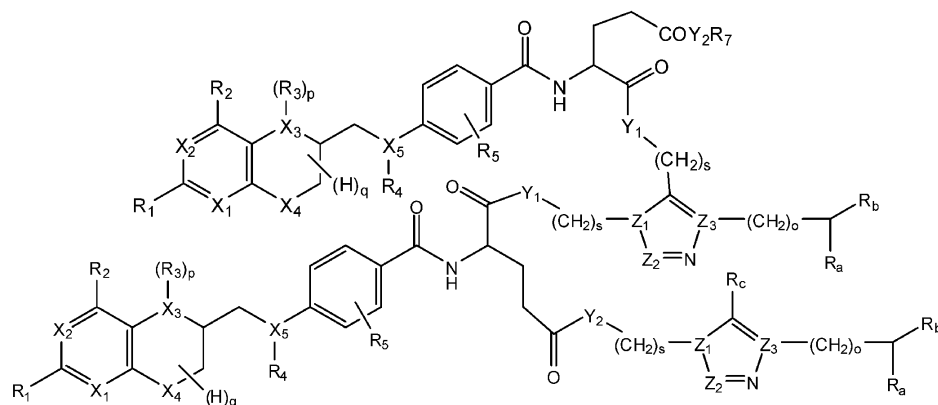
40

【化 59】



VIb

【化 60】



VIb'

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、N 又は C であり、

Z_1 、 Z_2 、 Z_3 は、互いに独立して、C 又は N であり、

Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又は N であり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、ハロ置換された C1 - C12 アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12 アルキル、C1 - C12 アルコキシ、C1 - C12 アルカノイル、C2 - C12 アルケニル、C2 - C12 アルキニル、(C1 - C12 アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12 アルキルアミノ)カルボニルであり、

R_6 、 R_7 は、互いに独立して、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルであり、

R_a 、 R_b は、互いに独立して、供与基であり、例えば、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NHR'$ 、 $-CONH_2$ 、 $-SH$ 、又は、(ピリジル、ピロリル、及びチアゾリルから選択される)複素環基であり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

R_c は、H、 CO_2R' 、 COR' 、 $-SO_3R'$ 、 $-NHR'$ 、又は、非置換若しくは少なくとも一つの CN、Hal 若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐 C1 - C12 アルキルであり、ここで、 R' は、H 又は C1 - C6 アルキルであり、

p は、0、1 又は 2 であり、

q は、1 ~ 7 であり、

10

20

30

40

50

s は、1～8であり、そして、

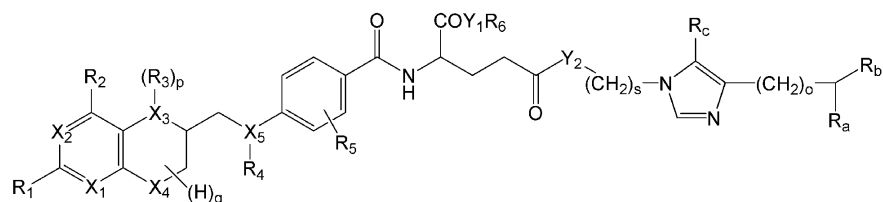
o は、1～6である上記化合物。

21. Z₁ はN、Z₃ はC、そしてZ₂ はC又はNである、上記20に記載の化合物。

22. Z₁ はC、Z₂ 及びZ₃ はNである、上記20に記載の化合物。

23. 式VII及びVII'、式VIIa及びVIIa'、並びに式VIIb及びVIIb'の化合物を有する上記1に記載の化合物であって、

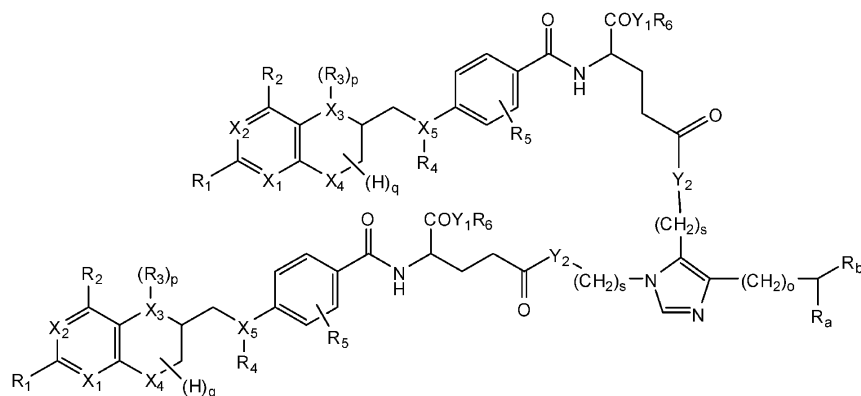
【化61】



10

VII

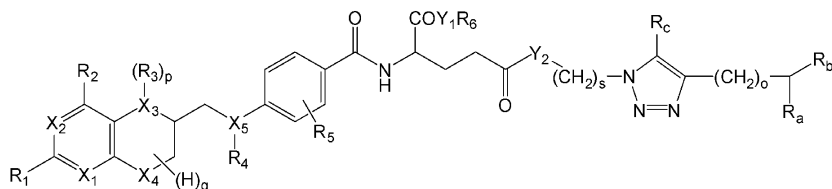
【化62】



20

VII'

【化63】

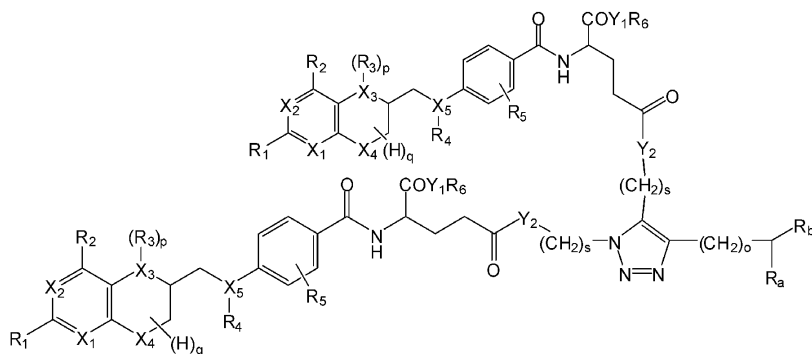


30

VIIa

40

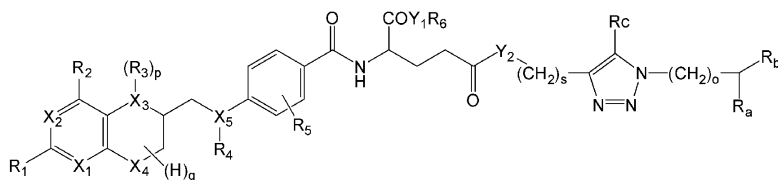
【化 6 4】



10

VIIa'

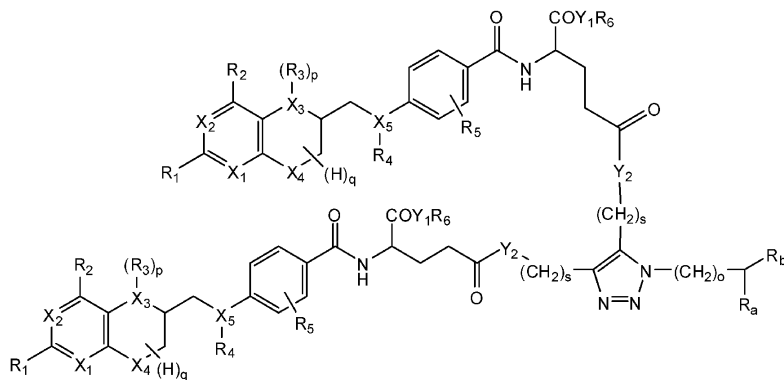
【化 6 5】



20

VIIb

【化 6 6】



30

VIIb'

式中、

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 及び X_5 は、互いに独立して、N又はCであり、

Y_1 、 Y_2 は、互いに独立して、C、O、又はNであり、

R_1 及び R_2 は、互いに独立して、H、Hal、 $-OR'$ 、 $-NHR'$ 、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、C2 - C12アルケニル、C2 - C12アルキニル、(C1 - C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12アルキルアミノ)カルボニルであり、ここで、 R' は、H又はC1 - C6アルキルであり、

40

R_3 及び R_4 は、互いに独立して、H、ホルミル、イミノメチル、ニトロソ、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、ハロ置換されたC1 - C12アルカノイルであり、

R_5 は、H、CN、Hal、 NO_2 、C1 - C12アルキル、C1 - C12アルコキシ、C1 - C12アルカノイル、C2 - C12アルケニル、C2 - C12アルキニル、(C1 - C12アルコキシ)カルボニル、及び、(C1 - C12アルキルアミノ)カルボニルであり、

50

R_6 は、H、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであり、

R_a 、 R_b は、互いに独立して、供与基であり、例えば、-OH、-COOH、-NHR'、-CONH₂、-SH、又は、(ピリジル、ピロリル、及びチアゾリルから選択される)複素環基であり、ここで、R'は、H又はC1 - C6アルキルであり、

R_c は、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、又は、非置換若しくは少なくとも一つのCN、Hal若しくは NO_2 で置換された直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルであり、ここで、R'は、H又はC1 - C6アルキルであり、

pは、0、1又は2であり、

qは、1～7であり、

sは、1～8であり、そして、

oは、1～6である上記化合物。

24. R_c は、H、CO₂R'、COR'、-SO₃R'、-NHR'、C1 - C12アルキルであり、ここで、R'は、H又はC1 - C6アルキルである、上記1～23の何れか一項に記載の化合物。

25. R_a は、-NH₂、 R_b は、-OH、そして R_c は、Hである、上記1～24の何れか一項に記載の化合物。

26. R_6 はH、又は直鎖若しくは分岐C1 - C12アルキルである、上記1～25の何れか一項に記載の化合物。

27. 上記1～26の何れか一項に記載の化合物及び放射線核種を含む錯体。

28. 放射線核種が、^{99m}Tc、¹⁸⁶/¹⁸⁸Re、¹¹¹In⁺3、⁶⁷/⁶⁸Ga⁺3、⁹⁰Y⁺3、¹⁰⁹Pd⁺2、¹⁰⁵Rh⁺3、¹⁷⁷Lu、⁶⁴/⁶⁷Cu、¹⁶⁶Ho、²¹³Biから選択される上記27に記載の錯体。

29. (i) 放射性核種のための複素環リガンド部位を合成するステップ、(ii) 適切な保護プテロイン酸または葉酸誘導体に適切なリンカーを介して結合させるステップ、及び(iii) 化合物を単離するステップを含む上記1～26の何れか一項に記載の化合物の製造方法。

30. (i) 1, 3 - 環状付加によりアジド誘導体葉酸を¹⁸Fで標識化されたアルキン又はアルキン置換基と反応させるステップ及び(ii) 化合物を単離するステップを含む上記1～26の何れか一項に記載の化合物の製造方法。

31. (i) 1, 3 - 環状付加によりアルキン又はアルキン置換基による誘導体葉酸を¹⁸Fで標識化されたアジドと反応させるステップ及び(ii) 化合物を単離するステップを含む上記1～26の何れか一項に記載の化合物の製造方法。

32. 任意に還元剤の存在下で、前記化合物を放射線核種と反応させ、前記錯体を形成するステップを含む、上記27又は28に記載の錯体の製造方法。

33. 画像診断量又は治療上の有効量の少なくとも一つの上記27又は28に記載の錯体、及びそのための薬学的に許容できるキャリアを含む医薬組成物。

34. 画像診断が必要な被験者に簡便に有効量投与するために有益な診断剤の製造における、上記27又は28に記載の錯体又は上記33に記載の医薬品組成物の使用。

35. 放射線治療が必要な被験者に簡便に有効量投与するために有益な放射線治療剤の製造における、上記27又は28に記載の錯体又は上記33に記載の医薬品組成物の使用。

36. 葉酸レセプターが発現している細胞又は細胞集団の画像診断の方法であって、当該方法は、上記27又は28に記載の錯体又は上記33に記載組成物を少なくとも一つ投与し、そして、前記の細胞又は細胞集団の診断画像を得るステップを含む。

37. それを必要とする被験者に少なくとも一つの上記27又は28に記載の錯体又は上記33の組成物を治療上の有効量投与し、そして、前記の少なくとも一つの錯体又は組成物が所望の組織に局在した後、組織に放射線照射し、所望の治療効果を得るステップを含む放射線治療方法。

38. 組織サンプルにおいて葉酸レセプターを発現している細胞を生体外(in vitro)で検出する方法であって、上記27又は28に記載の錯体又は上記33の組成物を

10

20

30

40

50

有効量で十分な時間と条件で前記組織サンプルと接触させ、結合を生じさせ、画像形成技術によりその結合を検知することを含む前記方法。

39. 一つ又は別々のバイアル中に、上記1～25の何れか一項に記載の化合物、薬学的に許容できる還元剤の供給源、及び、錫塩などの任意の添加剤を含むシングル又はマルチバイアルキット。

【0148】

ここで開示され請求された化合物、錯体（複合体）、組成物及び／又は方法のすべては、本発明の開示の範囲内で必要以上の実験をすることなしに作成され実施されることができる。本発明の範囲を逸脱することなく、本発明に変形を加えても良いことは当業者にとって明白である。ここで与えられる実施例は網羅することなく例示を意図したものである；したがって、ここに示された実施例により本発明を如何なる方法であっても制限するべきではない。

【実施例】

【0149】

材料と方法

融点はBuch i - 535装置で測定し、補正を行っていない。赤外スペクトルは、J a s c o製のFT / IR - 6200 ATR - IRに記録した。核磁気共鳴スペクトルは内部標準として対応する溶媒と共に、B r u k e r製の300 MHz、400 MHz又は500 MHzのスペクトロメータにより記録した。化学シフトは、テトラメチルシラン（0.00 ppm）に対して百万分の一（ppm）で記録した。結合定数の値ⁿJは、ヘルツ(Hz)で与えられ；¹H - NMRスペクトルを示すために実施例の項では以下の記号が使用される：一重線（s）、ブロード一重線（bs）、二重線（d）、三重線（t）、多重線（m）、二重線の二重線（dd）。複雑な多重線の化学シフトについては、その多重線の範囲として与えられる。低分解能質量スペクトル（LR - MS）は、M i c r o m a s s Q u a t t r o m i c r o（登録商標）API LC - ESIで記録し、高分解能質量スペクトル（HR - MS）は、B r u k e r製のFTMS 4.7 T B i o A P E X I I（ESI）で記録した。

【0150】

すべての水に鋭敏な反応は、炎熱乾燥させたガラス製品中でアルゴン雰囲気中で行った。反応は薄層クロマトグラフィー（TLC、シリカゲル60 F - 254がプレコートされたガラスでサポートされたプレートであるE M S c i e n c e 0.25 mm厚さ上で行った）又はHPLCでモニタした。HPLCは、調整可能な吸収検出器L - 7400を備えたM e r c k - H i t a c h iのL - 7000システムで行った。HPLC分析のために以下のシステムを使用した：HPLCシステム1：X B r i d g e（登録商標）カラム（C18、5 μm、4.6 x 150 mm、水）；0.1% TFA_{aq}（溶媒A）、アセトニトリル（溶媒B）、1 mL / 分；0～1分、95% A；1～15分、95% A；15～20分、5% A；20～22分、5% A；22～25分、95% A；HPLCシステム2：X T e r r a（登録商標）カラム（MSC18、5 μm、4.6 x 150 mm、水）；0～15分5% B；15～20分95% B。セミプレップHPLC（S e m i p r e p H P L C）は、個々の実験の項で示す溶媒系を使用して、X B r i d g eカラム（C18、5 μm、10 x 150 mm、水）で行った。

【0151】

[Re(Br)₃(CO)₃][Et₄N]₂は、AlbertoらのJ. Chem. Soc. Dalton. Trans. 1994, 2815に従い製造した。[^{99m}Tc(H₂O)₃(CO)₃]⁺は、AlbertoらのJ. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 3135に従い製造した。

【0152】

[Na][^{99m}TcO₄]は、⁹⁹Mo / ^{99m}Tc - 発生器（M a l l i n c k r o d t - T y c o、P e t t e n、T h e N e t h e r l a n d s）より0.9%生理食塩水と共に溶出させた。前駆体[¹⁸⁸Tc(OH₂)₃(CO)₃]⁺は、I s o l i n k（登録商標）キット（M a l l i n c k r o d t - T y c o、P e t t e n、T

10

20

30

40

50

he Netherlands) を使用して合成した。生体外 (in vitro) の研究及び生体内分布の実験には、最大の比放射能を得るために、HPLC を使用して、標識化されていない葉酸リガンドから放射性葉酸を単離した。精製していない錯体を SPECT/CT の研究に使用した。

【0153】

実施例 1 : Pte - Glu (H - His (t - (4 - N - ブチル)) - OH) - OH (5 - (4 - (4 - (2 - アミノ - 2 - カルボキシエチル) - 1H - イミダゾール - 1 - イル) ブチルアミノ) - 2 - (4 - ((2 - アミノ - 4 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロプテリジン - 6 - イル) メチルアミノ) ベンズアミド) - 5 - オキソペンタン酸) の合成

(a) Boc - His (t (4 - NH₂ Bu)) - OMe の合成

1 - アジド - 4 - クロロブタンは、Yao, L. et al, J. J. Org. Chem. 2004, 69, 1720 をベースとし修正し、合成した。そこで、7.87 g (121 mmol) の NaN₃ をアルゴン雰囲気下で 220 ml のジオキサンに懸濁させた。懸濁液に、18.86 g の 1 - ブロモ - 4 - クロロブタンを添加し、混合物を室温で 18 時間攪拌した。550 ml の水を添加した後、330 ml のジエチルエーテルで混合物を 2 回抽出した。合わせたエーテル抽出物を、330 ml の水及び 330 ml 塩化ナトリウム水溶液 (10%) で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮し、14.11 g の黄白色の油分として、1 - アジド - 4 - クロロブタンを約 95% の純度で得た。(¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : = 1.65 ~ 1.95 (m, C(2)H₂, C(3)H₂, 4H); 3.33 (t, ³J = 3.3, C(1)H₂, 2H); 3.57 (t, ³J = 6.2, C(4)H₂, 2H)。

【0154】

50 ml アセトン中の 24.24 g (90 mmol, 1.0 当量) Boc - His - OMe (Bachem より購入) のアルゴン雰囲気下の懸濁液に、13.68 g の (99 mmol, 1.1 当量) 炭酸カリウム、13.22 g の (99 mmol, 1.1 当量) 1 - アジド - 4 - クロロブタン及び 3.75 g の (25 mmol, 0.28 当量) ヨウ化ナトリウムを添加し、TLC が完全な変換を示すまで、混合物を加熱し還流した (TLC : SiO₂、ジクロロメタン/メタノール/9 : 1, Rf (生成物) = 0.58, Rf (出発物質) = 0.37)。二日後、約 85% の出発物質が消費された。生成物はクロマトグラフィー (SiO₂、酢酸エチル/n - ヘキサン/4 : 1) で単離し、11.74 g の Boc - His (t (4 - N₃ Bu)) - OMe を黄茶色の樹脂として得た (¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : = 1.44 (s, C(CH₃)₃, 9H); 1.5 ~ 1.6 (m, C_{Bu(3)}H₂, 2H); 1.8 ~ 1.9 (m, C_{Bu(2)}H₂, 2H); 3.00 (dd, ²J = 14.4, ³J = 4.7, C - His H_A, 1H); 3.08 (dd, ²J = 14.8; ³J = 5.5, C - His H_B, 1H); 3.31 (t, ³J = 6.6, N₃C_{Bu(4)}H₂, 2H); 3.70 (s, CH₃, 3H); 3.90 (t, ³J = 7.0, C_{Bu(1)}H₂, 2H); 4.53 (ddd, C - His H, 1H); 5.99 (d, ³J = 8.2, NH, 1H); 6.68 (s, C_{im(5)}H, 1H); 7.37 (s, C_{im(2)}H, 1H)。

【0155】

320 ml テトラヒドロフラン中の 11.73 g (32 mmol, 1.0 当量) の上記で得られた中間体 Boc - His (t (4 - N₃ Bu)) - OMe のアルゴン雰囲気下の溶液に、10.49 g (40 mmol, 1.25 当量) のトリフェニルホスフィンを添加した。混合物を室温で 19 時間攪拌した。32 ml の水を添加した後、さらに 4 時間攪拌し、真空下で混合物を濃縮し、約 50% のトリフェニルホスフィンオキシドを含有した黄色がかった樹脂として、21.70 g の所望の複素環リガンド部位の Boc - His (t (4 - NH₂ Bu)) - OMe が得られた。¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : = 1.43 (s, C(CH₃)₃, 9H); 1.4 ~ 1.55 (m, C_{Bu(3)}H₂, 2H); 1.7 - 1.9 (m, C_{Bu(2)}H₂, 2H); 2.69 (t, ³J = 6.9, C_{Bu(4)}H₂, 2H); 3.00 (dd, C - His H_A, 1H);

3.08 (dd, C - H_{i s} H_B, 1H); 3.70 (s, CH₃, 3H); 3.88 (t, ³J = 7.0, C_{Bu(1)} H₂, 2H); 4.52 (ddd, C - H_{i s} H, 1H); 5.95 (d, ³J = 7.9, NH, 1H); 6.67 (s, C_{im(5)} H, 1H); 7.20 ~ 7.75 (s, C_{im(2)} H, 1H)。

トリフェニルホスフィン酸化物: = 7.20 - 7.75 (m, Ph₃)。

【0156】

(b) H - Glu (NH (Boc - His (t - Bu - 4 - イル) OMe) - OtBu) の合成

40 ml のモノグリム (1, 2 - ジメトキシエタン) 中の 4.26 g (10 mmol, 1.0 当量) Fmoc - Glu - OtBu (Bachem より購入) 溶液に、1.38 g (12 mmol, 1.2 当量) の N - ヒドロキシスクシンイミドを添加した。混合物を 5 に冷却し、2.48 g (12 mmol, 1.2 当量) の N, N' - ジシクロヘキシル - カルボジイミド (DCC) を添加した。室温で 2 時間攪拌の後、すべての出発物質が消費され (TLC、SiO₂、酢酸エチル / ヘキサン / 1 : 1、R_f 生成物 = 0.43、R_f 出発物質 = 0.35)、次のステップに直接的に使用する溶液が形成された。

【0157】

次に、上記で得られた 40 ml のモノグリム (1, 2 - ジメトキシエタン) 中の Fmoc - Glu (OSu) - OtBu の溶液に、6.88 g (10 mmol, 純度 ~ 50%、1.0 当量) の Boc - His (t (4 - NH₂ Bu)) - OMe (ステップ (a) を参照) を添加した。大気温度中で 2 時間攪拌した後、混合物を約 15 g まで濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー (SiO₂、ジクロロメタン / メタノール / 25 : 1、TLC、SiO₂、ジクロロメタン / メタノール 9 : 1、R_f 生成物 = 0.46、R_f 出発物質 = 0.05) で生成物を精製し、黄色がかった発泡体として、2.29 g の Fmoc - Glu (NH (Boc - His (t - Bu - 4 - イル) OMe) - OtBu) が得られた。(¹H - NMR (300 MHz、CDCl₃) : = 1.39 (s, C(CH₃)₃, 9H); 1.3 ~ 1.5 (m, C_{Bu(3)} H₂, 2H); 1.44 (s, C(CH₃)₃, 9H); 1.63 ~ 1.75 (m, C_{Bu(2)} H₂, 2H); 1.85 ~ 1.95 (m, C - Glu H_A, 1H); 2.1 ~ 2.3 (m, C - Glu H_B, 1H); 2.24 (m, C - Glu H₂, 2H); 2.97 (2 dd, C - H_{i s} H₂, 2H); 3.1 ~ 3.3 (m, C_{Bu(4)} H₂, 2H); 3.64 (s, CH₃, 3H); 3.79 (t, C_{Bu(1)} H₂, 2H); 4.1 ~ 4.25 (t, C - Glu H; t, C - Fmoc H, 2H); 4.25 ~ 4.45 (m, C - Fmoc H₂, 2H); 4.52 (q, C - H_{i s} H, 1H); 5.82 (d, ³J = 7.6, N - Glu H, 1H); 5.95 (d, ³J = 8.1, N - H_{i s} H, 1H); 6.36 (s, N - Glu H, 1H); 6.61 (s, C_{im(5)} H, 1H); 7.20 ~ 7.30 (s, C_{im(2)} H, 1H); 7.20 ~ 7.80 (m, C_{Fmoc} H₈, 8H))。

【0158】

2.29 g (3.06 mmol, 1.0 当量) の Fmoc - Glu (NH (Boc - His (t - Bu - 4 - イル) OMe) - OtBu) と 50 ml ジクロロメタンの混合物に、3.0 ml のピペリジンを添加した。室温で 3 時間攪拌した後、フラッシュクロマトグラフィー (SiO₂、ジクロロメタン / メタノール 4 : 1、TLC、SiO₂、ジクロロメタン / メタノール 9 : 1、R_f 生成物 = 0.20、R_f 出発物質 = 0.51) で生成物を精製し、ピンク色の発泡体として、892 mg の H - Glu (NH (Boc - His (t - Bu - 4 - イル) OMe) - OtBu) を得た。¹H - NMR (300 MHz、CDCl₃) : = 1.42 (s, C(CH₃)₃); 1.35 ~ 1.55 (m, C_{Bu(3)} H₂); 1.46 (s, C(CH₃)₃); 1.75 ~ 1.9 (m, C_{Bu(2)} H₂; m, C_{b - Glu} H_A); 2.05 ~ 2.2 (m, C - Glu H_B); 2.35 (" t "、C - Glu H₂); 2.95 ~ 3.1 (2 dd, C - H_{i s} H₂); 3.22 (q、C_{Bu(4)} H₂); 3.41 (" dd "、C - Glu H); 3.67 (s, CH₃); 3.90 (t, C_{Bu(1)} H₂); 4.53 (ddd, C - H_{i s} H); 5.9

4 (d, $^3J = 8.4$, N - H i s H) ; 6.65 ~ 6.7 (s, NH ; s, C i m (5) H) ; 7.42 (s, C i m (2) H) .

【0159】

(c) P t e - G l u (H - H i s (t - (4 - N - ブチル)) - O H) - O H (5 - (4 - (4 - (2 - アミノ - 2 - カルボキシエチル) - 1 H - イミダゾール - 1 - イル) ブチルアミノ) - 2 - (4 - ((2 - アミノ - 4 - オキソ - 3, 4 - ジヒドロプテリジン - 6 - イル) メチルアミノ) ベンズアミド) - 5 - オキソペンタン酸) の合成

25.3 g のプテロイン酸と 1175 ml のギ酸の混合物を 3 時間還流した。室温まで冷却した後、2350 ml のメチル - t e r t . ブチルエーテルを添加した。結果として生じた懸濁液を室温で 2 時間攪拌し、沈殿物を濾別し、1600 ml の水で洗浄し、真空下 40 で乾燥させ、27.28 g の 10 - ホルミルプテロイン酸を得た。(1H - NMR (300 MHz, DMSO - d₆) : = 12.90 (bs, COOH, 1H) ; 11.40 (bs, N (3) H, 1H) ; 8.85 (s, CHO, 1H) ; 8.65 (s, C (7) H, 1H) ; 7.95 (d, Ph, 2H) ; 7.56 (d, Ph, 2H) ; 6.90 (bs, NH₂, 2H)) .

【0160】

128 ml の N, N - ジメチルホルミアミド中の上記で得られた 8.5 g の 10 - ホルミルプテロイン酸の懸濁液に、52 ml の N, N - ジメチルホルミアミド - ジイソプロピルアセタールを添加した。混合物を室温で 18 時間攪拌した。形成された沈殿物は濾別し、4 ml の N, N - ジメチルホルミアミドと 50 ml のアセトンで洗浄し、40 、真空下で乾燥させ、8.7 g の保護された N², N, N - ジメチルアミノメチレン - 10 - ホルミルプテロイン酸を得た(1H - NMR (300 MHz, DMSO - d₆ + D₂O) : = 8.70 (s, CHN, 1H) ; 8.63 (s, C (7) - H, CHO, 2H) ; 7.81 (d, Ph, 2H) ; 7.30 (d, Ph, 2H) ; 5.18 (C (6) CH₂, 2H) ; 3.19 (s, NCH₃, 3H) ; 3.08 (s, NCH₃, 3H)) .

【0161】

3 ml のテトラヒドロフラン中の 391 mg (0.90 mmol, 1.0 当量) の上記で得られた N², N, N - ジメチルアミノメチレン - 10 - ホルミル - プテロイン酸の、アルゴン雰囲気下の溶液に、Kunishima et al, Tetrahedron Letters, 40, 5327-5330, 1999 に従って合成した 274 mg (0.99 mmol, 1.1 当量) の DM TMM (4 - (4, 6 - ジメトキシ [1, 3, 5] トリアジン - 2 - イル) - 4 - メチル - モリホニウムクロライドと、473 mg (0.99 mmol, 1.1 当量) の H - G l u (NH (Boc - H i s (t - Bu - 4 - イル) OMe) - O t B u (ステップ (b) を参照) を添加した。懸濁液を室温で 3 時間攪拌し、その後、真空下で約 1.5 g まで濃縮した。2 ml の水を添加した後、遠心分離により溶液から分離し、沈殿物を形成した。沈殿物を 0.5 ml の水に再懸濁し、遠心分離で分離し、真空下で乾燥させ、黄色の発泡体として、526 mg の N² - N, N - ジメチルアミノメチレン - 10 - ホルミル - P t e - G l u (NH (Boc - H i s (t - Bu - 4 - イル) OMe) - O t B u を得た。 1H - NMR (300 MHz, CDCl₃) : = 1.39 (s, C (CH₃)₃) ; 1.3 ~ 1.45 (m, C B u (3) H₂) ; 1.46 (s, C (CH₃)₃) ; ~ 1.7 ~ 1.8 (m, C B u (2) H₂) ; 1.8 ~ 1.9 (m, C - G l u H_A) ; 2.1 ~ 2.4 (m, C - G l u H_B ; m, C - G l u H₂) ; 2.95 ~ 3.05 (2 dd, C - H i s H₂) ; 3.14 (s, C D M A M H_{3A}) ; 3.22 (s, C D M A M H_{3B}) ; 3.2 ~ 3.3 (m, C B u (4) H₂) ; 3.69 (s, CH₃) ; 3.8 ~ 3.9 (m, C B u (1) H₂) ; 4.4 ~ 4.6 (m, C - H i s H ; m, C - G l u H) ; 5.29 (s, C P t e (9) H₂) ; 5.60 (d, NH) ; 5.94 (d, NH) ; 6.70 (s, C i m (5) H) ; 6.95 (s, NH) ; 7.40 (d, $^3J = 8.6$, 2 x C P t e (5, ') H) ; 7.48 (s, C i m (2) H) ; 7.87 (d, $^3J = 8.6$, 2 x C P t e (6, ') H) ; 8.70 (s, C D M A M H) ; 8.80 (s, C F o r H) ; 8.93 (s, C P t e (7) H) .

【0162】

200mg (0.22mmol、1当量)の上記で得られたN²-N,N-ジメチルアミノメチレン-10-ホルミル-Pte-Glu(NH(Boc-His(t-Bu-4-イル)OMe)-OtBuに22mlの1MのHClを添加した。混合物を50℃で2時間攪拌した。約15℃に冷却した後、1.76gの固体水酸化ナトリウムを添加した。室温で、1時間攪拌した後、pHをギ酸の添加によりpH=2.5に調整した。逆相中圧液体クロマトグラフィー(RP-MPLC、固相:Europrep60-60C-18;60Å;35-70μm、140g;36cm×26mm、液相:0-10分、99.9% H₂O、0.1% HCOOH、10~40分、34.9% MeOH、65% H₂O、0.1% HCOOH)により生成物を単離し、黄色がかった樹脂として120mgのPte-Glu(H-His(t-(4-N-ブチル))-OH)-OHを得た。¹H-NMR(300MHz、D₂O及びD₂SO₄、cal.: (H₂O)=4.79): = 0.4~0.6(m、C_{Bu(3)}H₂); 0.75~0.9(m、C_{Bu(2)}H₂); ~1.1~1.25(m、C_{-GluHA}); 1.25~1.4(m、C_{-GluHB}); 1.50(t、³J=7.1、C_{-GluH₂}); 2.1~2.3(m、C_{Bu(4)}H₂); 2.45(2dd、C_{-HisH₂}); 3.1~3.3(t、C_{Bu(1)}H₂); 3.4~3.5(t、C_{-HisH}); 3.5~3.6(q、³J_E=4.6、³J_Z=9.44、C_{-GluH}); 4.08(s、C_{Pte(9)}H₂); ~6.49(s、C_{im(5)}H); 6.65(d、³J=6.7、2×C_{Pte(5)}H); 6.95(d、³J=6.1、2×C_{Pte(6)}H); 7.68(s、C_{im(2)}H); 7.83(s、C_{Pte(7)}H)。

10

20

【0163】

実施例2: Re(CO)₃-His-葉酸錯体の合成

実施例1で得られたPte-Glu(H-His(t-(4-N-ブチル))-OH)-OH____(5-(4-(4-(2-アミノ-2-カルボキシエチル)-1H-イミダゾール-1-イル)ブチルアミノ)-2-(4-(2-アミノ-4-オキソ-3,4-ジヒドロプテリジン-6-イル)メチルアミノ)ベンズアミド)-5-オキソペンタン酸)(15.0mg、23μmol)と、[Re(Br)₃(CO)₃][Et₄N]₂(20.0mg、26μmol)をH₂O/MeOH(4mL、1:1)中に懸濁し、pHを希釈NaHCO₃でpH8に調整した。HPLCで出発物質が完全に変換していると示されるまで、その結果生じた黄色の溶液を50℃で1.5時間攪拌した。混合物を室温まで冷却し、希釈HCl(0.1M)を添加してpHを2~3に調整した。沈殿物を遠心分離(10分、3500rpm)により単離し、減圧下で乾燥させ、茶色固体としてRe-錯体(5)を得たHR-MS: [M+H]⁺=920.2131(計算値、C₃₂H₃₅N₁₁O₁₀Re: 920.2126)、HPLC純度:>70%。

30

【0164】

実施例3: ^{99m}Tc(CO)₃-His-葉酸錯体の合成

実施例2と同じく、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中の実施例1で得られたPte-Glu(H-His(t-(4-N-ブチル))-OH)-OH____(5-(4-(4-(2-アミノ-2-カルボキシエチル)-1H-イミダゾール-1-イル)ブチルアミノ)-2-(4-(2-アミノ-4-オキソ-3,4-ジヒドロプテリジン-6-イル)メチルアミノ)ベンズアミド)-5-オキソペンタン酸)の原液を[Na][^{99m}TcO₄]に添加し、^{99m}Tc(CO)₃-His-葉酸を製造し、最終濃度10⁻⁵Mとなった。密閉反応バイアルを60分、100℃で加熱し、対応物を良好な収率(>98%)で形成した。

40

【0165】

実施例4: トリアゾール-葉酸の合成

a) 4-アジド-ブタン-アミンの合成

Boc保護された中間体アジド(0.42g、2.0mmol; Link et al J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 10598に従い製造した)を、CH₂Cl₂(5mL)に溶解し、トリフ

50

ルオロ酢酸 (TFA、1.0 mL) を添加した。混合物を室温で一晩放置し、その後、減圧下で濃縮し、無色の油分として、アジド - アミンに対応するアミンの TFA 塩を生じた (450 mg、定量的) : $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) = 8.19 \sim 7.80 (\text{bs}, 3\text{H})$ 、 $4.76 \sim 4.50 (\text{bs}, 1\text{H})$ 、 $3.32 (\text{t}, 2\text{H}, J = 6.5)$ 、 $3.30 \sim 2.92 (\text{m}, 2\text{H})$ 、 $1.81 \sim 1.70 (\text{m}, 2\text{H})$ 、 $1.70 \sim 1.58 (\text{m}, 2\text{H})$; LR-MS : $[\text{M} + \text{H}]^+ = 115.10$ (計算値 $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}_4 : 114.15$)。

【0166】

b) Glu(4-アジド-ブチルアミド)OMe の合成

アルゴン雰囲気下、炎熱乾燥させたフラスコ中で、乾燥 DMF (5 mL、4A を超える分子篩) 中に、BocGluOMe (261 mg、1.0 mmol) を溶解させ、そして、 Et_3N (210 μL 、1.5 当量) を添加した。HBTU (380 mg、1.0 mmol) を 0 で添加し、混合物を半時間攪拌した。活性化された酸の溶液を、カニユールを介して、0 で、 Et_3N (210 μL 、1.5 当量) を含有する乾燥 DMF (5 mL) 中の a) で得られたアジド - アミン TFA 塩 (228 mg、1.0 mmol) の溶液に移した。2 時間後、混合物を室温に暖め、一晩中攪拌した。減圧下で揮発性成分を除去し、残留物をシリカゲル上で $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH}$ (60 : 1 30 : 1) によるフラッシュクロマトグラフィーで精製し、無色の油分として対応する Boc 保護されたアミド生成物を得た (330 mg、92%) : $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) = 6.32 \sim 6.19 (\text{bs}, 1\text{H})$ 、 $5.35 \sim 5.24 (\text{bs}, 1\text{H})$ 、 $4.30 \sim 4.21 (\text{m}, 1\text{H})$ 、 $3.72 (\text{s}, 3\text{H})$ 、 $3.35 \sim 3.21 (\text{m}, 4\text{H})$ 、 $2.24 (\text{t}, 2\text{H}, J = 6.8)$ 、 $2.21 \sim 2.10 (\text{m}, 1\text{H})$ 、 $1.95 \sim 1.80 (\text{m}, 1\text{H})$ 、 $1.67 \sim 1.52 (\text{m}, 4\text{H})$ 、 $1.43 (\text{s}, 9\text{H})$; LR-MS : $[\text{M} + \text{H}]^+ = 358.20$ (計算値 $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_5 : 357.41$)。

【0167】

上記で得られた Boc 保護された中間体 (0.72 g、2.0 mmol) を CH_2Cl_2 (10 mL) に溶解させ、トリフルオロ酢酸 (TFA、1.5 mL) を添加した。混合物を室温で一晩中放置し、その後、減圧下で濃縮し、黄白色の油分として対応するアミンの TFA 塩を得た (740 mg、定量的) : $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) = 10.15 \sim 8.60 (\text{bs}, 3\text{H})$ 、 $6.74 (\text{t}, 1\text{H}, J = 5.6)$ 、 $4.14 (\text{dd}, 1\text{H}, J = 7.7 \text{ 及び } 3.7)$ 、 $3.80 (\text{s}, 3\text{H})$ 、 $3.31 \sim 3.26 (\text{m}, 2\text{H})$ 、 $3.25 \sim 3.18 (\text{m}, 2\text{H})$ 、 $2.59 \sim 2.45 (\text{m}, 2\text{H})$ 、 $2.38 \sim 2.27 (\text{m}, 1\text{H})$ 、 $2.24 \sim 2.13 (\text{m}, 1\text{H})$ 、 $1.63 \sim 1.50 (\text{m}, 4\text{H})$; LR-MS : $[\text{M} + \text{H}]^+ = 258.23$ (計算値 $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_3 : 257.29$)。

【0168】

c) 保護された__-(4-アジド-ブタノイル)-葉酸アミドの合成

アルゴン雰囲気下、炎熱乾燥させたフラスコ中で、乾燥 DMF (10 mL、4A を超える分子篩) 中に、N2-N, N-ジメチルアミノメチレン-10-ホルミル-プテロイン酸 (198 mg、0.5 mmol) を懸濁させ、そして、 Et_3N (104 μL 、0.75 mmol) を添加した。HBTU (380 mg、0.5 mmol) を 0 で添加し、混合物を 1 時間攪拌した。結果として生じたオレンジ色の溶液に、0 で、 Et_3N (210 μL 、1.5 mmol) を含有する乾燥 DMF (9 mL) 中の c) で得られたアミン TFA 塩 (186 mg、0.5 mmol) の溶液を添加した。結果として生じた透明の黄色溶液を 0 で 1 時間攪拌し、その後室温まで温めた。減圧下で揮発性成分を除去し、残留物をシリカゲル上で $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH}$ (17 : 1 10 : 1) によるフラッシュクロマトグラフィーで精製し、黄色固体として対応する保護されたアジド葉酸 (290 mg、92%) を得た : 融点 $125 \sim 130$; HR-MS : $[\text{M} + \text{Na}]^+ = 657.2617$ (計算値 $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_4\text{Na} : 657.2624$)。

【0169】

d) で得られた生成物 (63 mg、0.1 mmol) を 1 M の NaOH (3 mL) に溶解させ、室温で一晩中攪拌した。結果として生じた不透明の溶液を Celite (登録商標) を通す濾過により透明にした。その黄色溶液の pH を HCl (最初 37% HCl、その後 1 M の HCl) を添加することで pH ~ 2 に調整し、結果として生成物の沈殿が生じた。懸濁液を遠心分離し (10 分、3500 rpm)、黄白色の上澄みをデカンテーションし、固体の生成物を減圧下で乾燥させ、黄色の粉末として、アジド葉酸のペンタ - 塩酸塩を得た (75 mg、定量的) : 融点 > 200 ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) = 12.21 ~ 11.95 (bs, 1H)、8.64 (s, 1H)、8.18 (d, 1H、 $J = 7.2$)、7.85 (t, 1H、 $J = 5.7$)、7.65 (d, 2H、 $J = 9.0$)、7.00 ~ 6.82 (bs, 2H)、6.93 (t, 1H、 $J = 6.2$)、6.64 (d, 2H、 $J = 9.0$)、4.49 (d, 2H、 $J = 5.9$)、4.32 ~ 4.22 (m, 1H)、3.29 (t, 2H、 $J = 6.8$)、3.03 (q, 2H、 $J = 6.5$)、3.09 ~ 2.96 (m, 2H)、2.12 ~ 1.83 (m, 2H)、1.55 ~ 1.45 (m, 2H)、1.45 ~ 1.35 (m, 2H) (1NH 観察されず) ; HR-MS : $[M]^+ = 537.2127$ (計算値 $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_{11}\text{O}_5$: 537.2197) ; 元素分析 (計算%値 $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_{11}\text{O}_5$ (HCl)₅ 括弧内) C 39.16 (38.38)、H 4.09 (4.48)、N 21.43 (21.40)、O (11.11)、Cl (24.63)。

【0170】

f) トリアゾール - 葉酸の合成

合成 A : 保護されたアジド葉酸 (95 mg、0.15 mmol、d) で得られたものを、 $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1、6 mL) に溶解し、L-プロパルギルグリシン (17 mg、0.15 mmol)、 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (5.5 mg、20 mol%) 及びアスコルビン酸ナトリウム (12 mg、40 mol%) を添加した。HPLC (HPLC システム 1) で物質が完全に変換されたのが示されるまで、茶色の溶液を室温で一晩中攪拌した。金属捕捉樹脂 Quadrapure IDA (登録商標) (0.3 g) を添加し、時に振盪しつつ、混合物を一日室温に保った。結果として生じた黄色の溶液をデカンテーションし、減圧下で濃縮した。残留物を 1 M の NaOH (4 mL) にいれ、中間体 X の完全な脱保護が HPLC で確認されるように、一晩中室温で攪拌した。黄色の溶液の pH を HCl (最初 37% HCl、その後 1 M の HCl) を添加することで pH ~ 2 に調整し、結果として生成物の沈殿が生じた。懸濁液を遠心分離し (10 分、3500 rpm)、黄白色の上澄みをデカンテーションし、固体の生成物を減圧下で乾燥させた。粗生成物の HPLC 精製により ((X Bridge セミプレップカラム、定組成 (isocratic) 10% CH_3CN 、90% 水、TFA (0.1%))、黄色粉末として、所望のトリアゾール - 葉酸の一水和物のトリス - TFA 塩が得られた (113 mg、2 ステップで 75%) : $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 、水シグナル抑制プログラム使用) = 8.68 (bs, 1H)、8.27 (bs, 2H、 D_2O 交換)、8.20 (d, 1H、 D_2O 交換、 $J = 6.8$)、7.92 (s, 1H)、7.85 (t, 1H、 D_2O 交換、 $J = 5.7$)、7.65 (d, 2H、 $J = 8.1$)、7.5 ~ 7.0 (多重 bs, 2H、 D_2O 交換)、6.64 (d, 2H、 $J = 8.1$)、4.50 (s, 2H)、4.35 ~ 4.20 (m, 5H、1 プロトン D_2O 交換)、3.23 ~ 3.13 (m, 2H)、3.09 ~ 2.94 (m, 2H)、2.18 (t, 2H、 $J = 8.2$)、2.10 ~ 1.98 (m, 1H)、1.93 ~ 1.84 (m, 1H)、1.80 ~ 1.72 (m, 2H)、1.45 ~ 1.27 (m, 2H) ; HR-MS : $[M+H]^+ = 651.2738$ (計算値 $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_{12}\text{O}_7$: 650.2673) ; 元素分析 (計算%値 $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_{12}\text{O}_7$ (TFA)₃ (H_2O) 括弧内) C 40.30 (40.40)、H 4.20 (3.98)、N 16.86 (16.63)、O (22.16) ; 滴定で測定したフッ化物含有量 (計算値 : 16.63)。

【0171】

合成 B : 脱保護されたアジド葉酸 (36 mg、0.05 mmol ; e) で得られたもの)

を $t\text{-BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1 : 1、3 mL) に懸濁させ、L - プロパルギルグリシン (6 mg、0.053 mmol)、 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (2 mg、20 mol %) 及びアスコルビン酸ナトリウム (4 mg、40 mol %) を添加した。HPLC (HPLC システム 1) で出発物質が完全に変換されたのが示されるまで、混合物を 80 で 20 分間攪拌した。茶色の懸濁液を 1 M の NaOH を添加し溶解させ、Celite (登録商標) を通す濾過により透明にした。溶液の pH を 1 M の HCl を添加することで pH ~ 2 に調整し、生成物を沈殿させた。懸濁液を遠心分離 (10 分、3500 rpm)、上澄みをデカンテーションし、固体の生成物を減圧下で乾燥させ、オレンジ色固体として、所望のトリアゾール - 葉酸のペンタ - 塩酸塩 (42 mg、定量的) を得た。

【0172】

実施例 5 : $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ - トリアゾール - 葉酸錯体の合成

合成 A : トリアゾール - 葉酸リガンドの 50 μL の原液 (生理学的 (0.15 M) リン酸緩衝液 pH = 7.4 中で 10^{-2}M ~ 10^{-7}M) を $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{OH}_2)_3]^+$ (Alberto et al, J. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 3135 に従い合成した; 100 μL ; ~ 1 GBq/mL) の溶液に添加した。リン酸緩衝生理食塩水 (PBS、pH 7.4、350 μL) を添加し最終濃度を調整した。反応物を 100 で 50 分加熱した。放射線同位元素標識の収率は HPLC を介して決定した。錯体は HPLC を介して分析し、同一性は、慣用の方法に従って、HPLC システム 2 を使って対応する Re - 錯体の UV トレース比較して確認した (実施例 6 を参照)。

【0173】

ワンポット合成 B : 脱保護されたアジド葉酸 (ステップ 4 e) で得られたもの; 40 μL 、 MeOH/PBS 、pH 7.4 (5 : 1) 中で約 10^{-3}M を、L - プロパルギルグリシン (20 μL 、水中 10^{-2}M)、 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (5 μL 、水中 10^{-2}M) 及びアスコルビン酸ナトリウム (20 μL 、水中 10^{-2}M) と混合した。100 で 30 分間加熱した後、混合物を室温に冷却し、PBS (0.6 mL、0.15 M、pH 7.4) 中の $[\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ (100 μL 、~ 1 GBq/mL) に添加した。さらなる 100、60 分の加熱の後、所望の錯体のクリーンな形成を HPLC (HPLC システム 2) で確認した。

【0174】

実施例 6 : $\text{Re}(\text{CO})_3$ - トリアゾール - 葉酸錯体の合成

トリアゾール - 葉酸 (上記で得られたもの); トリ - トリフルオロ酢酸一水和物 (tri-trifluoroacetate mono-hydrate; 0.7 mg、0.7 μmol) 及び $[\text{Re}(\text{Br})_3(\text{CO})_3][\text{Et}_4\text{N}]_2$ (1.0 mg、1.4 μmol) を水 (0.5 mL) 中に懸濁させた。NaOH (0.1 M) を添加し、最終 pH を 8 とし、HPLC (HPLC システム 1) で出発アジド葉酸の完全な変換が示されるまで、50 で 1 時間攪拌して、黄色の溶液を生じた。この溶液を室温まで冷却し、pH を希釈 HCl 水溶液を添加することで pH ~ 2 に調整した。沈殿物を遠心分離 (3 分、16000 rpm) で分離し、NaOH (0.1 M) 中に溶解させ、HPLC (HPLC システム 1) で精製し、 $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\% \text{ TFA}$ 中に冷 Re - 錯体の標準溶液を得た。HR - MS : $[\text{M} + \text{H}]^+ = 921.2074$ (計算値 $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_{12}\text{O}_{10}\text{Re}$: 921.2078)、HPLC 純度 > 95 %。

【0175】

実施例 7 : 生体内 (in vivo) 実験

生体内分布の研究を 4 ~ 5 週年齢の雄の胸腺欠損ヌードマウス (NMR I、nu/nu; Charles River, The Netherlands) を使用して行った。動物を順化させ、腫瘍細胞接種の前 5 日より、葉酸が欠損している齧歯目の規定食を食べさせた。マウスには、各々の肩の皮下組織に、KB - 腫瘍細胞懸濁液 (5×10^6 細胞) を皮下接種した。腫瘍サイズがおおよそ 0.5 ~ 1.5 cm^3 のサイズに達したとき、放射性葉酸生体内分布の研究を、腫瘍細胞接種の後、約 14 日行った。実験は、3 重で行った。

$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ - His - 葉酸、及び $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ - トリアゾール - 葉酸

10

20

30

40

50

(100 μ L 中 1.5 MBq) を、各々、側尾部静脈 (lateral tail vein) より投与した。抗葉酸と組み合わせた実験のために、ペメトレキセド (PMX; Alimta (登録商標); Lilly, Bad Homburg, Germany) を製造者の指示に従い NaCl 0.9% で希釈した。放射性トレーサーの1時間前に側尾部静脈を介してそれを投与した (100 μ L 中 400 μ g)。 ^{99m}Tc -放射性葉酸単独又は予め注射された PMX と共に投与された後、1時間、4時間及び24時間で動物を屠殺した。選択した組織を分離し、秤量し、 γ -カウンターで放射能を測定し、組織の g あたりの注入活性 (injected activity) の割合 (%IA/g) を決定した。

【0176】

雄のヌードマウスによる KB - 腫瘍における抗葉酸ペメトレキセドの予めの注射がある場合 (表 1b、2b) とない場合の ^{99m}Tc -His-葉酸 (表 1a、b) と ^{99m}Tc -トリアゾール-葉酸 (表 2a、b) の得られた生体内分布のデータを表 1 ~ 4 に示した。値は、組織の g あたりの注入活性の割合 (%IA/g) で示した。表 1a 及び 2a の結果は、本発明の化合物が良好な腫瘍血液値を達成したことを、明確に示している。

【0177】

抗葉酸ペメトレキセドと組み合わせた実験は、表 1b 及び 2b に示した。この結果は、予め行う抗葉酸ペメトレキセドの投与でさらに高い特異性が観察できることを示している。

【0178】

【表 1】

表 1a ;

部位	時間 p.i.		
	1時間 p.i.	4時間 p.i.	24時間 p.i.
血液	0.18 \pm 0.10	0.12 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01
心臓	3.60 \pm 0.53	1.16 \pm 0.36	0.14 \pm 0.07
肺	1.04 \pm 0.12	0.69 \pm 0.09	0.16 \pm 0.07
脾臓	0.37 \pm 0.22	0.30 \pm 0.04	0.05 \pm 0.01
腎臓	23.96 \pm 10.11	24.56 \pm 3.17	6.70 \pm 1.12
胃	1.71 \pm 0.12	1.03 \pm 0.22	0.15 \pm 0.02
腸	3.84 \pm 2.23	1.51 \pm 0.29	0.18 \pm 0.14
肝臓	9.73 \pm 1.32	3.83 \pm 1.49	0.44 \pm 0.31
筋肉	1.56 \pm 0.07	1.09 \pm 0.26	0.19 \pm 0.03
骨	0.77 \pm 0.07	0.58 \pm 0.20	0.06 \pm 0.01
耳下腺	6.52 \pm 1.04	5.72 \pm 0.63	1.58 \pm 0.69
腫瘍右	2.75 \pm 0.62	4.35 \pm 0.71	3.34 \pm 0.34
腫瘍左	2.52 \pm 0.40	4.23 \pm 0.78	3.68 \pm 0.36
腫瘍~血液	18.56 \pm 10.47	38.00 \pm 8.33	184.23 \pm 65.88
腫瘍~肝臓	0.30 \pm 0.06	1.19 \pm 0.47	10.99 \pm 5.60
腫瘍~腎臓	0.12 \pm 0.05	0.18 \pm 0.03	0.53 \pm 0.10

【0179】

【表 2】

表 1 b ;

	ペメトレキセド* (Alimta (登録商標)) ; 時間 p.i.		
	1 時間 p.i.	4 時間 p.i.	2 4 時間 p.i.
血液	0.09 ± 0.04	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.00
心臓	1.57 ± 0.59	0.23 ± 0.04	0.08 ± 0.02
肺	0.72 ± 0.06	0.29 ± 0.08	0.07 ± 0.01
脾臓	0.18 ± 0.09	0.08 ± 0.02	0.03 ± 0.01
腎臓	7.94 ± 2.27	3.40 ± 1.14	1.81 ± 0.48
胃	1.58 ± 0.85	0.54 ± 0.11	0.43 ± 0.40
腸	4.81 ± 4.65	0.50 ± 0.13	0.23 ± 0.24
肝臓	3.91 ± 2.24	1.24 ± 0.49	0.24 ± 0.06
筋肉	1.02 ± 0.26	0.43 ± 0.08	0.18 ± 0.12
骨	0.53 ± 0.16	0.15 ± 0.02	0.04 ± 0.02
耳下腺	3.98 ± 1.17	1.68 ± 0.62	0.88 ± 0.23
腫瘍右	2.59 ± 0.62	3.56 ± 0.88	1.98 ± 0.24
腫瘍左	2.64 ± 0.71	4.21 ± 1.11	2.31 ± 0.62
腫瘍～血液	29.19 ± 4.82	110.10 ± 2.49	167.13 ± 56.47
腫瘍～肝臓	0.74 ± 0.18	3.05 ± 2.26	9.85 ± 4.63
腫瘍～腎臓	0.34 ± 0.06	1.20 ± 0.37	1.28 ± 0.55

10

20

【 0 1 8 0 】

30

【表 3】

表 2 a :

部位	Time p.i.			
				過剰葉酸
	1時間 p.i.	4時間 p.i.	24時間 p.i.	4 h p.i.
血液	0.12 ± 0.03	0.12 ± 0.04	0.02 ± 0.01	0.22 ± 0.36
心臓	2.17 ± 0.45	0.83 ± 0.05	0.11 ± 0.02	0.02 ± 0.02
肺	0.91 ± 0.23	0.63 ± 0.08	0.11 ± 0.07	0.05 ± 0.07
脾臓	0.38 ± 0.14	0.32 ± 0.07	0.06 ± 0.03	0.02 ± 0.04
腎臓	18.11 ± 2.53	27.33 ± 3.61	8.03 ± 3.40	0.18 ± 0.09
胃	1.39 ± 0.18	1.02 ± 0.04	0.15 ± 0.03	0.07 ± 0.05
腸	2.47 ± 0.94	0.76 ± 0.14	0.28 ± 0.27	1.26 ± 0.65
肝臓	2.95 ± 1.02	0.89 ± 0.42	0.14 ± 0.02	1.48 ± 1.26
筋肉	1.55 ± 0.22	0.82 ± 0.16	0.16 ± 0.08	< 0.01
骨	0.81 ± 0.17	0.48 ± 0.11	0.05 ± 0.02	< 0.01
耳下腺	-	-	-	-
腫瘍右	3.76 ± 1.03	5.35 ± 0.33	2.98 ± 0.76	0.09 ± 0.07
腫瘍左	4.61 ± 1.00	4.33 ± 1.00	3.37 ± 2.06	0.02 ± 0.03
腫瘍～血液	38.37 ± 16.16	42.14 ± 12.09	138.12 ± 40.31	
腫瘍～肝臓	1.58 ± 0.62	6.29 ± 2.74	22.28 ± 8.00	
腫瘍～腎臓	0.24 ± 0.09	0.18 ± 0.04	0.39 ± 0.09	

【 0 1 8 1 】

【表 4】

表 2 b :

	ベメトレキセド* (Alimta (登録商標)); 時間 p.i.
部位	4 時間 p.i.
血液	0.05 ± 0.04
心臓	0.34 ± 0.15
肺	0.31 ± 0.15
脾臓	0.08 ± 0.03
腎臓	4.22 ± 2.28
胃	0.70 ± 0.26
腸	0.53 ± 0.30
肝臓	0.49 ± 0.30
筋肉	0.35 ± 0.08
骨	0.18 ± 0.04
耳下腺	-
腫瘍右	2.79 ± 0.67
腫瘍左	2.56 ± 0.42
腫瘍～血液	68.31 ± 33.15
腫瘍～肝臓	7.16 ± 4.49
腫瘍～腎臓	0.71 ± 0.33

* 400 μ g、放射性トレーサーの1時間前に注射

【0182】

実施例 8：生体外 (Ex vivo / In vitro) オートラジオグラフィー

生体外 (ex vivo) オートラジオグラフィー：安楽死させた後、腫瘍と腎臓を分離し、凍結し、Tissue Tek に -80 で埋め込んだ。凍結させた腫瘍と腎臓は切片作成機 (Cryo-Star HM 560M、Walldorf、Germany) で 10 μ m のセクションに切り、スライド (Superfrost plus、Menzel、Braunschweig、Germany) 上にマウントした。一晩中 X 線カセット中の蛍光イメージスクリーン (Multisensitive screen、Packard Instruments Co.、Meriden、USA) に露出した。その後、スクリーンを蛍光撮像装置 (Cyclone、Packard、Instruments Co.、Groningen、The Netherlands) により読み取った。

【0183】

生体外 (in vitro) オートラジオグラフィー：生体外 (in vitro) オートラジオグラフィーは、生体外 (ex vivo) オートラジオグラフィーのための腫瘍と腎臓の近接のセクションで行った。腫瘍セクションのスライドを、室温で、10 分間、Tris-HCl 緩衝液、(8170 mM、pH 7.6、5 mM の $MgCl_2$ と共に) 中に 0.25 (w/v) BSA と共に、プレインキュベートした。その後、そのセクションを ^{99m}Tc -His-葉酸又は ^{99m}Tc -トリアゾール-葉酸 (1% BSA 含有 Tris-HCl 緩衝液中の 0.5 MBq/mL) の溶液に 60 分室温でインキュベートした。インキュベーションの後、セクションを 5 分間、冷 Tris-HCl 緩衝液 (25% B

S A) 中で2回、リンスし、その後、純粋T r i s - H C l 緩衝液中で5分間洗浄し、最終的には冷M i l l i Q でリンスした。セクションは空気乾燥させ、蛍光イメージングスクリーンに露出した。その結果を図5に示した。

【0184】

実施例9：S P E C T / C T 研究

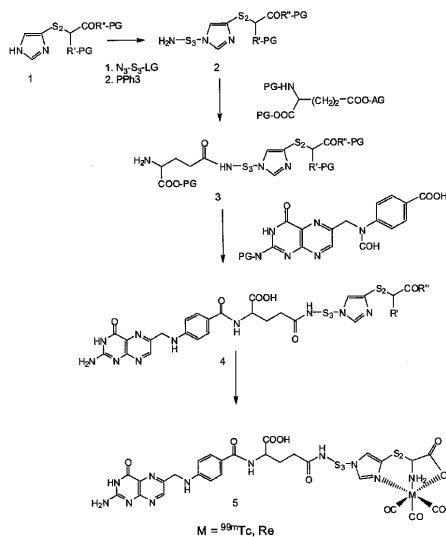
S P E C T / C T 画像形成は、4ヘッド多重化マルチ・ピンホールN a n o S P E C T (B i o s c a n I n c . , W a s h i n g t o n D . C .) により行った。各々のヘッドは9つの直径1.4mmのピンホールのタングステンコリメータを備え、直径37mmで長さ16mmの円筒形の部分を画像形成する。軸方向のF O V は、ユーザが画像形成する範囲に従い16~180mmの範囲で定義する動物のステップとシュート (s t e p - a n d - s h o o t) のヘリカル走査により広げられる。この研究で使用される口径であれば、140keVで、復元解像度がミリメートル未満で与えられた。1ビューあたりの捕捉時間は1000sを選択した。C T は、管電圧45kV、1ビューあたりの露光時間1000msで積算C T (t h e i n t e g r a t e d C T) により形成した。捕捉の後、S P E C T 及びC T のデータは、H i S P E C T ソフトウェア (B i o s c a n I n c . , W a s h i n g t o n D . C . , U S A) で反復して再構築した。S P E C T 及びC T の融合は、M I P t o o l ソフトウェア (v e r s i o n 1.20、B i o s c a n I n c .) を使用して行った。

その結果は図6に示した。

10

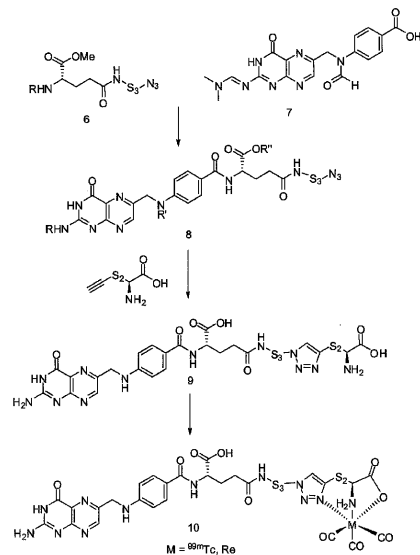
【図1】

Fig 1.



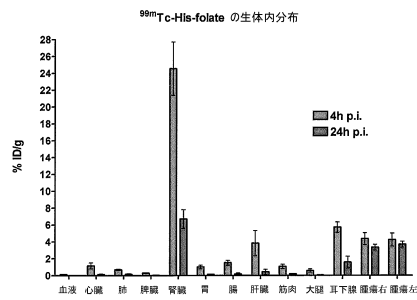
【図2】

Fig 2.

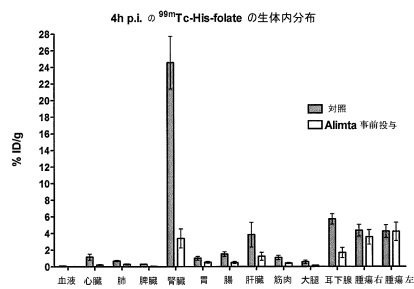


【図 3】

(A)

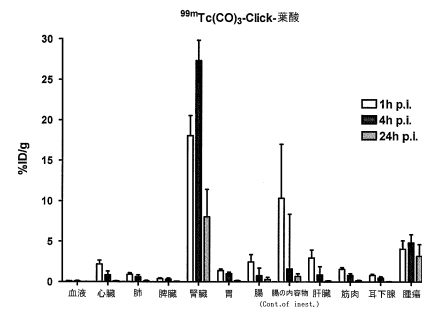


(B)

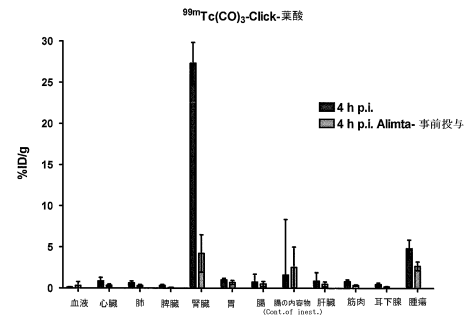


【図 4】

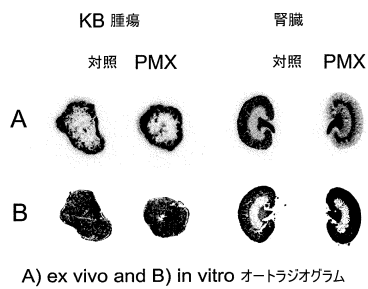
(A)



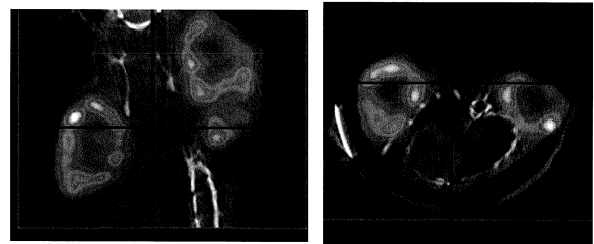
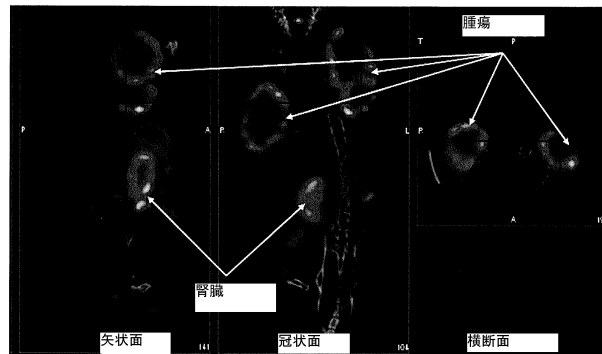
(B)



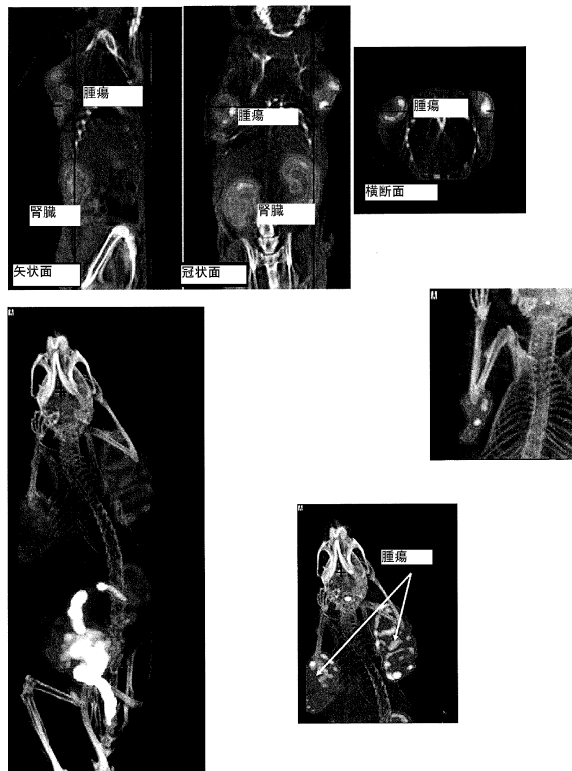
【図 5】



【図 6 - 1】



【図 6 - 2】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
G 0 1 T	1/161	(2006.01)	A 6 1 K	49/02	C
G 0 1 N	33/48	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 T	1/161	B
			G 0 1 N	33/48	M
			G 0 1 N	33/53	Y

- (72)発明者 シブリ・ロジャー
スイス国、5 4 0 0 バーデン、ヴァイテ・ガッセ、2 8
- (72)発明者 ミュラー・クリスティーナ・マクダレーナ
スイス国、5 4 1 5 ヌスバウメン、ハルデンストラーセ、2 4
- (72)発明者 グレーン・ヴィーオラ
スイス国、8 4 4 7 ダクセン、バーンホーフストラーセ、2
- (72)発明者 ミヒエル・ウルス
スイス国、8 4 9 2 ヴィーラ、エッゲラーストラーセ、3 1
- (72)発明者 シュバル・クリストフ
スイス国、9 0 5 0 アペンツェル、アルプシュタインストラーセ、6
- (72)発明者 ミント・トーマス・ライクトン
スイス国、4 0 5 3 パーゼル、ゼムパッハーストラーセ、2 2

審査官 伊藤 幸司

- (56)参考文献 特表2002-515462(JP,A)
特表2006-501149(JP,A)
特表2006-527167(JP,A)
Nuclear Medicine and Biology, 2003年, 30, pp. 811-817
Journal of Organometallic Chemistry, , 2004年, 689, pp. 4712-4721
Bioconjugate Chem., 2006年, 17(3), pp. 797-806
Org. Biomol. Chem., 2004年, 2(18), pp. 2593-2603
Bull. Korean Chem. Soc., 2006年, 27(8), pp. 1189-1193
J. Am. Chem. Soc., 2006年, 128(47), pp. 15096-15097

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 D
C 0 7 F
A 6 1 K
CAPLUS/REGISTRY(STN)